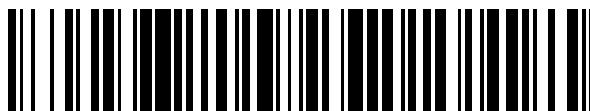


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 586 459**

51 Int. Cl.:

A61K 31/535	(2006.01)	C07D 413/12	(2006.01)
C07D 215/12	(2006.01)	C07D 413/14	(2006.01)
C07D 215/40	(2006.01)	C07D 417/12	(2006.01)
C07D 215/48	(2006.01)	C07D 417/14	(2006.01)
C07D 401/04	(2006.01)	C07D 453/02	(2006.01)
C07D 401/12	(2006.01)	C07D 471/04	(2006.01)
C07D 401/14	(2006.01)	A61P 3/00	(2006.01)
C07D 403/12	(2006.01)		
C07D 405/12	(2006.01)		
C07D 405/14	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.04.2009** **E 09739775 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.05.2016** **EP 2273992**

54 Título: **Quinolinas y análogos relacionados como moduladores de sirtuina**

30 Prioridad:

01.05.2008 US 126112 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
14.10.2016

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

VU, CHI, B.;
DISCH, JEREMY, S.;
SPRINGER, STEPHANIE, K.;
BLUM, CHARLES, A. y
PERNI, ROBERT, B.

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 586 459 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

Quinolinas y análogos relacionados como moduladores de sirtuina

Antecedentes

5 La familia de genes Reguladores de Información Silenciosa (SIR) representa un grupo altamente conservado de genes presentes en los genomas de organismos que varían de archaebacterias a eucariotas superiores. Las proteínas SIR codificadas participan en diversos procesos, desde la regulación del silenciamiento génico a la reparación de ADN. Las proteínas codificadas por miembros de la familia de genes SIR muestran alta conservación de secuencias en un dominio de núcleo de 250 aminoácidos. Un gen bien caracterizado en esta familia es el SIR2 de *S. cerevisiae*, que participa del silenciamiento de locus de HM que contienen información que especifica el tipo de acoplamiento de levadura, los efectos de la posición de los telómeros y el envejecimiento celular. La proteína Sir2 de levadura pertenece a una familia de histona deacetilasas. El homólogo de Sir2, CobB, en *Salmonella typhimurium*, funciona como una ADP-ribosil transferasa dependiente de NAD (nicotinamida adenina dinucleótido).

10 La proteína Sir2 es una deacetilasa de clase III que utiliza NAD como un cosustrato. A diferencia de otras deacetilasas, muchas de las cuales participan del silenciamiento génico, Sir2 es insensible a inhibidores de histona deacetilasa de clase I y II como la tricostatina A (TSA).

15 La desacetilación de acetil-lisina por Sir2 está estrictamente ligada a la hidrólisis de NAD, produciendo nicotinamida y un compuesto de acetil-ADP ribosa novedoso. La actividad de la deacetilasa 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 de histona deacetilasa dependiente de NAD.

20 Estudios bioquímicos han mostrado que Sir2 puede desacetilar fácilmente las colas amino-terminales de las histonas H3 y H4, resultando en la formación de 1-O-acetil-ADP-ribosa y nicotinamida. Las cepas con copias adicionales de SIR2 muestran un silenciamiento de ADN_r aumentado y una vida 30% más larga. Recientemente se ha mostrado que las copias adicionales del homólogo de SIR2 de *C. elegans*, sir-2.1, y el gen dSir2 de *D. melanogaster* extienden en gran medida la vida en esos organismos. Esto implica que la vía reguladora dependiente de SIR2 para el envejecimiento surgió temprano en la evolución y ha sido bien conservada. Hoy en día se cree que los genes Sir2 han evolucionado para mejorar la salud de un organismo y la resistencia al estrés para aumentar su oportunidad de sobrevivir a la adversidad.

25 En humanos, existen siete genes similares a Sir-2 (SIRT1-SIRT7) que comparten el dominio catalítico conservado de Sir2. SIRT1 es una proteína nuclear con el grado más alto de similitud secuencial con Sir2. SIRT1 regula múltiples objetivos celulares mediante desacetilación, incluyendo el supresor de tumores p53, el factor de señalización celular NF-κB y el factor de transcripción FOXO.

30 SIRT3 es un homólogo de SIRT1 que se conserva en procariotas y eucariotas. La proteína SIRT3 es dirigida a la cresta mitocondrial por un dominio único ubicado en el extremo N. SIRT3 tiene actividad de la proteína deacetilasa dependiente de NAD⁺ y está universalmente expresada, particularmente en tejidos metabólicamente activos. Tras la transferencia a la mitocondria, se cree que SIRT3 es escindida en una forma activa más pequeña por una peptidasa procesadora de matriz mitocondrial (MPP).

35 Hace 70 años se sabe que la restricción calórica mejora la salud y extiende la longevidad de los mamíferos. La vida de la levadura, como la de los metazoos, también se extiende mediante intervenciones que se parecen a la restricción calórica, tal como baja glucosa. El descubrimiento de que tanto la levadura como las moscas que carecen del gen SIR2 no viven más cuando se restringen calóricamente proporciona evidencia de que los genes SIR2 median los efectos de salud beneficiosos de una dieta de calorías restringidas. Más aun, las mutaciones que reducen la actividad de la vía (PKA) dependiente de cAMP (adenosina 3',5'-monofosfato) sensible a la glucosa de la levadura extienden la vida en células naturales pero no en cepas de sir2 mutantes, lo que demuestra que es probable que SIR2 sea un componente corriente abajo clave de la vía de restricción calórica.

40 El documento W02006/094237 divulga compuestos de acridina y quinolina como moduladores de sirtuina.

Compendio

En la presente se proporcionan compuestos moduladores de sirtuina novedosos y métodos de uso de los mismos.

En un aspecto, la invención proporciona compuestos moduladores de sirtuina de Fórmulas estructurales (I), (II) y (III) como se describe en detalle más adelante.

50 En otro aspecto, la invención proporciona métodos para utilizar compuestos moduladores de sirtuina o composiciones que comprenden compuestos moduladores de sirtuina. En ciertas realizaciones, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para una variedad de aplicaciones terapéuticas incluyendo, por ejemplo, aumentar la longevidad de una célula y tratar y/o prevenir una amplia variedad de enfermedades y trastornos incluyendo, por ejemplo, enfermedades o trastornos

relacionados con el envejecimiento o estrés, diabetes, obesidad, enfermedades neurodegenerativas, neuropatía inducida por quimioterapia, neuropatía asociada con un evento isquémico, enfermedades y/o trastornos oculares, enfermedad cardiovascular, trastornos de coagulación sanguínea, inflamación y/o enrojecimiento, etc. Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina también pueden utilizarse para tratar una enfermedad o trastorno en un sujeto que se beneficiaría por una actividad mitocondrial aumentada, para mejorar el rendimiento muscular, para aumentar los niveles de ATP muscular o para tratar o prevenir el daño del tejido muscular asociado con hipoxia o isquemia.

En otras realizaciones, los compuestos moduladores de sirtuina que disminuyen el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para una variedad de aplicaciones terapéuticas incluyendo, por ejemplo, aumentar la sensibilidad celular al estrés, aumentar la apoptosis, tratamiento de cáncer, estimulación del apetito y/o estimulación de aumento de peso, etc. Como se describe más adelante, los métodos comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto modulador de sirtuina.

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

Descripción detallada

1. Definiciones

Tal como se utilizan en la presente, los siguientes términos y frases tendrán los significados indicados a continuación. A menos que se especifique lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente tienen el mismo significado que comprende comúnmente un experto en la técnica.

El término "agente" se utiliza en la presente para denotar 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). La actividad de dichos agentes puede volverlos adecuados como un "agente terapéutico" que es una sustancia (o sustancias) biológicamente, fisiológicamente o farmacológicamente activa que actúa localmente o sistémicamente en un sujeto.

El término "biodisponible" cuando se refiere a un compuesto es reconocido en la técnica y se refiere a una forma de un compuesto que permite que el mismo, o una porción de la cantidad de compuesto administrado, sea absorbido por, incorporado a o de otro modo esté fisiológicamente disponible para un sujeto o paciente a quien se le administra.

"Porción biológicamente activa de una sirtuina" se refiere a una porción de una proteína sirtuina que tiene una actividad biológica, tal como la capacidad de desacetilar. Porciones biológicamente activas de una sirtuina puede comprender el dominio de núcleo de sirtuinas. Porciones biológicamente activas de SIRT1 que tienen No. de acceso de GenBank NP_036370 que abarca el dominio de unión NAD⁺ y el dominio de unión de sustrato, por ejemplo, pueden incluir a modo no taxativo, aminoácidos 62-293 del No. de acceso de GenBank NP_036370, que son codificados por los nucleótidos 237 a 932 del No. de acceso de GenBank NM_012238. Por lo tanto, esta región a veces es denominada el dominio de núcleo. Otras porciones biológicamente activas de SIRT1, también a veces son denominadas dominios de núcleo, incluyen aproximadamente los aminoácidos 261 a 447 del No. de acceso de GenBank NP_036370, que son codificados por los nucleótidos 834 a 1394 del No. de acceso de GenBank NM_012238; aproximadamente los aminoácidos 242 a 493 del No. de acceso de GenBank NP_036370, que son codificados por los nucleótidos 777 a 1532 del No. de acceso de GenBank NM_012238; o aproximadamente los aminoácidos 254 a 495 del No. de acceso de GenBank NP_036370, que son codificados por los nucleótidos 813 a 1538 del No. de acceso de GenBank NM_012238.

La expresión "animales de compañía" se refiere a gatos y perros. Tal como se utiliza en la presente, el término "perro(s)" denota cualquier miembro de la especie *Canis familiaris*, de la cual hay un gran número de diferentes razas. El término "gato(s)" se refiere a un animal felino que incluye gatos domésticos y otros miembros de la familia Felidae, género *Felis*.

"Diabetes" se refiere a alta azúcar en sangre o cetoacidosis, así como anomalías metabólicas generales crónicas que surgen de un estado prolongado de alta azúcar en sangre o una disminución en la tolerancia a la glucosa. "Diabetes" abarca tanto la forma tipo I como la tipo II (Diabetes Mellitus no insulino dependiente o DMNID) de la enfermedad. Los factores de riesgo para la diabetes incluyen los siguientes factores: cintura de más de 40 pulgadas para hombres o 35 pulgadas para mujeres, presión sanguínea de 130/85 mm Hg o más alta, triglicéridos por encima de 150 mg/dl, glucosa en sangre en ayunas mayor que 100 mg/dl o lipoproteína de alta densidad de menos de 40 mg/dl en hombres o 50 mg/dl en mujeres.

El término "ED₅₀" es reconocido en la técnica. En ciertas realizaciones, ED₅₀ significa la dosis de un fármaco que produce 50% de su respuesta o efecto máximo, o alternatively, la dosis que produce una respuesta predeterminada en 50% de los sujetos o preparaciones de prueba. El término "LD₅₀" es reconocido en la técnica. En ciertas realizaciones, LD₅₀ significa la dosis de un fármaco que es letal en 50% de los sujetos de prueba. La

expresión "índice terapéutico" es un término reconocido en la técnica que se refiere al índice terapéutico de un fármaco, definido como LD₅₀/ED₅₀.

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

- 5 La expresión "resistencia a la insulina" se refiere a un estado en el cual una cantidad normal de insulina produce una respuesta biológica subnormal con respecto a la respuesta biológica en un sujeto que no tiene resistencia a la insulina.

10 Un "trastorno de resistencia a la insulina", tal como se describe en la presente, se refiere a cualquier enfermedad o afección que es causada o contribuida por la resistencia a la insulina. Ejemplos incluyen: diabetes, obesidad, síndrome metabólico, síndromes de resistencia a la insulina, síndrome X, resistencia a la insulina, presión sanguínea alta, hipertensión, colesterol en sangre alto, dislipidemia, hiperlipidemia, enfermedad aterosclerótica incluyendo accidente cardiovascular, enfermedad de arteria coronaria o infarto del miocardio, hiperglicemia, hiperinsulinemia y/o hiperproinsulinemia, tolerancia a la glucosa alterada, liberación retrasada de insulina, complicaciones diabéticas, incluyendo enfermedad de arteria coronaria, angina de pecho, falla cardíaca congestiva, accidente cardiovascular, funciones cognitivas en demencia, retinopatía, neuropatía periférica, nefropatía, glomerulonefritis, glomeruloesclerosis, síndrome nefrótico, nefroesclerosis hipertensiva, algunos tipos de cáncer (tales como endometrial, de mama, próstata y colon), complicaciones del embarazo, mala salud reproductiva femenina (tal como irregularidades menstruales, infertilidad, ovulación irregular, síndrome de ovario poliquístico (SOP)), lipodistrofia, trastornos relacionados con colesterol, tales como cálculos biliares, colecistitis y coledocitis, gota, apnea del sueño obstructiva y problemas respiratorios, osteoartritis y prevención y tratamiento de pérdida ósea, por ejemplo osteoporosis.

25 La expresión "animales ganaderos" se refiere a cuadrúpedos domesticados, los cuales incluyen aquellos que son criados para carne y varios productos derivados, por ejemplo, un animal bovino, incluyendo ganado y otros miembros del género Bos, un animal porcino incluyendo cerdo doméstico y otros miembros del género Sus, un animal ovino incluyendo oveja y otros miembros del género Ovis, cabras domésticas y otros miembros del género Capra; cuadrúpedos domesticados que son criados para tareas específicas tales como para su uso como una bestia de carga, por ejemplo, un animal equino incluyendo caballos domésticos y otros miembros de la familia Equidae, género Equus.

30 El término "mamífero" es conocido en la técnica y mamíferos ejemplares incluyen humanos, primates, animales ganaderos (incluyendo bovinos, porcinos, etc.) animales de compañía (por ejemplo, caninos, felinos, etc.) y roedores (por ejemplo, ratones y ratas).

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

35 Las expresiones "administración parenteral" y "administrado parenteralmente" son reconocidas en la técnica y se refieren a modos de administración que no sean administración enteral y tópica, a menudo mediante inyección e incluyen, a modo no taxativo, inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardíaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal e intraesternal.

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

40 La expresión "portador farmacéuticamente aceptable" es reconocida en la técnica y se refiere a un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como una carga líquida o sólida, diluyente, excipiente, disolvente o material encapsulante, que participa en portar o transportar cualquier composición o componente en cuestión del mismo. Cada portador debe ser "aceptable" en el sentido que es compatible con la composición en cuestión y sus componentes y no es perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de papa; (3) celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etil celulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras de supositorios; (9) aceites, tales como aceite de maní, aceite de colza, aceite de girasol, 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 amortiguadores, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido alginico; (16) agua libre de pirógenos; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones tamponadora de fosfato; y (21) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas.

55 El término de tratamiento "profiláctico" o "terapéutico" es reconocido en la técnica y se refiere a la administración de un fármaco a un huésped. Si se administra antes de la manifestación clínica de la afección no deseada (por ejemplo, enfermedad u otro estado no deseado del animal huésped), entonces el tratamiento es profiláctico, es decir, protege al huésped contra el desarrollo de la afección no deseada, mientras que si se administra después de la

manifestación de la afección no deseada, el tratamiento es terapéutico (es decir, pretende disminuir, aliviar o mantener la afección no deseada existente o los efectos secundarios de los mismos).

La expresión "libre de pirógenos" con referencia a una composición, se refiere a una composición, que no contiene un pirógeno en una cantidad que conduciría a un efecto adverso (por ejemplo, irritación, fiebre, inflamación, diarrea, distrés respiratorio, choque endotóxico, etc.) en un sujeto al cual se ha administrado la composición. Por ejemplo, la expresión pretende abarcar las composiciones que son libres o básicamente libres de una endotoxina tal como, por ejemplo, un lipopolisacárido (LPS).

"Longevidad reproductiva" de una célula se refiere al número de células hijas producidas por una "célula madre" individual. "Envejecimiento cronológico" o "longevidad cronológica", por otro lado, se refiere al tiempo que una población de células que no se dividen sigue siendo viable cuando se priva de nutrientes. "Aumentar la longevidad de una célula" o "extender la longevidad de una célula", tal como se aplica a las 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 lidiar con estrés y daño de combate, por ejemplo, al ADN, proteínas; y/o aumentar la capacidad de células u organismos para sobrevivir y existir en un estado vivo por más tiempo en una afección particular, por ejemplo, estrés (por ejemplo, choque térmico, estrés osmótico, radiación de alta energía, estrés inducido químicamente, daño al ADN, nivel de sal inadecuado, nivel de nitrógeno inadecuado o nivel de nutrientes inadecuado). La longevidad puede aumentarse al menos aproximadamente 20%, 30%, 40%, 50%, 60% o entre 20% y 70%, 30% y 60%, 40% y 60% o más utilizando los métodos descritos en la presente.

"Compuesto activador de sirtuina" se refiere a un compuesto que aumenta el nivel de una proteína sirtuina y/o aumenta al menos una actividad de una proteína sirtuina. En una realización ejemplar, un compuesto activador de sirtuina puede aumentar al menos una actividad biológica de una proteína sirtuina al menos aproximadamente 10%, 25%, 50%, 75%, 100% o más. Las actividades biológicas ejemplares de proteínas sirtuina incluyen desacetilación, por ejemplo, de histonas y p53; extender la longevidad; aumentar la estabilidad genómica; silenciar la transcripción y controlar la segregación de proteínas oxidadas entre células madre e hijas.

"Proteína sirtuina" se refiere a un miembro de la familia de proteínas sirtuina deacetilasas o preferiblemente a la familia de sir2, que incluye las proteínas Sir2 de levadura (No. de acceso de GenBank P53685), Sir-2.1 de *C. elegans* (No. de acceso de GenBank NP_501912) y SIRT1 (No. de acceso de GenBank NM_012238 y NP_036370 (o AF083106)) y SIRT2 (No. de acceso de GenBank NM_012237, NM_030593, NP_036369, NP_085096 y AF083107) humanas. Otros miembros de la familia incluyen los cuatro genes adicionales similares a Sir-2 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). Sirtuinas preferidas son aquellas que comparten más similitudes con SIRT1, es decir, hSIRT1, y/o Sir2 que con SIRT2, tales como aquellos miembros que tienen al menos parte de la secuencia N-terminal presente en SIRT1 y ausente en SIRT2, tal como SIRT3.

"Proteína SIRT1" se refiere a un miembro de la familia de sir2 de sirtuina deacetilasas. En una realización, una proteína SIRT1 incluye las proteínas Sir2 de levadura (No. de acceso de GenBank P53685), Sir-2.1 de *C. elegans* (No. de acceso de GenBank NP_501912), SIRT1 humana (No. de acceso de GenBank NM_012238 o NP_036370 (o AF083106)) y SIRT2 humana (No. de acceso de GenBank NM_012237, NM_030593, NP_036369, NP_085096 o AF083107) y equivalentes y fragmentos de las mismas. En otra realización, una proteína SIRT1 incluye un polipéptido que comprende una secuencia que consiste, o consiste esencialmente, en la secuencia de aminoácidos indicada en los Nos. de acceso de GenBank NP_036370, NP_501912, NP_085096, NP_036369 o P53685. Las proteínas SIRT1 incluyen polipéptidos que comprenden toda o una porción de la secuencia de aminoácidos indicada en los Nos. de acceso de 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 Nos. de acceso de GenBank NP_036370, NP_501912, NP_085096, NP_036369 o P53685 y fragmentos funcionales de los mismos. Los polipéptidos de la invención también incluyen homólogos (por ejemplo, ortólogos y parálogos), variantes o fragmentos de los Nos. de acceso de GenBank NP_036370, NP_501912, NP_085096, NP_036369 o P53685.

"Proteína SIRT3" se refiere a un miembro de la familia de proteínas sirtuina deacetilasas y/o a un homólogo de una proteína SIRT1. En una realización, una proteína SIRT3 incluye las proteínas SIRT3 humana (Nos. de acceso de GenBank AAH01042, NP_036371 o NP_001017524) y SIRT3 de ratón (No. de acceso de GenBank NP_071878) y equivalentes y fragmentos de las mismas. En otra realización, una proteína SIRT3 incluye un polipéptido que comprende una secuencia que consiste, o consiste esencialmente en, la secuencia de aminoácidos establecida en los Nos. de acceso de GenBank AAH01042, NP_036371, NP_001017524 o NP_071878. Las proteínas SIRT3 incluyen polipéptidos que comprenden toda o una porción de la secuencia de aminoácidos indicada en los Nos. de acceso de GenBank AAH01042, NP_036371, NP_001017524 o NP_071878; la secuencia de aminoácidos indicada en los Nos. de acceso de 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 conservadoras; una secuencia de aminoácidos que es al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% idéntica a los Nos.

de acceso de GenBank AAH01042, NP_036371, NP_001017524 o NP_071878 y fragmentos funcionales de los mismos. Los polipéptidos de la invención también incluyen homólogos (por ejemplo, ortólogos y parálogos), variantes o fragmentos de los Nos. de acceso de GenBank AAH01042, NP_036371, NP_001017524 o NP_071878. En una realización, una proteína SIRT3 incluye un fragmento de proteína SIRT3 que se produce por escisión con una peptidasa procesadora de matriz mitocondrial (MPP) y/o una peptidasa intermedia mitocondrial (MIP).

Las expresiones "administración sistémica", "sistémicamente administrado", "administración periférica" y "administrado periféricamente" son reconocidas en la técnica y se refieren a la administración de una composición, material terapéutico u otro material que no sea directamente en el sistema nervioso, de modo que ingresa al sistema del paciente y, de este modo, queda sujeto al metabolismo y otros procesos similares.

La expresión "agente terapéutico" es reconocida en la técnica y se refiere a cualquier resto químico que es una sustancia biológicamente, fisiológicamente o farmacológicamente activa que actúa localmente o sistémicamente en un sujeto. La expresión también significa cualquier sustancia que se pretende para su uso en el diagnóstico, cura, mitigación, tratamiento o prevención de una enfermedad o en la mejora del desarrollo físico o mental deseable y/o las condiciones en un animal o humano.

La expresión "efecto terapéutico" es reconocida en la técnica y se refiere a un efecto local o sistémico en animales, particularmente mamíferos y más particularmente humanos, causado por una sustancia farmacológicamente activa. La frase "cantidad terapéuticamente efectiva" significa la cantidad de dicha sustancia que produce algún efecto local o sistémico deseado con una relación beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento. La cantidad terapéuticamente efectiva de dicha sustancia variará dependiendo del sujeto y condición de la enfermedad siendo tratada, el peso y edad del sujeto, la gravedad de la condición de la enfermedad, la manera de administración y similares, que puede ser determinados fácilmente por un experto en la técnica. Por ejemplo, ciertas composiciones descritas en la presente pueden administrarse en una cantidad suficiente para producir un efecto deseado con una relación beneficio/riesgo razonable aplicable a dicho tratamiento.

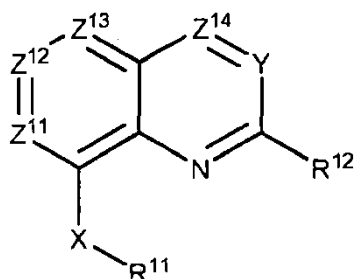
"Tratar" una afección o enfermedad se refiere a curar así como a aliviar al menos un síntoma de la afección o enfermedad.

La expresión "problemas de visión" se refiere a una visión disminuida, que a menudo es sólo parcialmente reversible o irreversible tras el tratamiento (por ejemplo, cirugía). Particularmente los problemas de visión graves se denominan "ceguera" o "pérdida de visión", lo que se refiere a una pérdida de visión completa, visión peor que 20/200 que no puede mejorarse con lentes correctivos o un campo visual de menos de 20 grados de diámetro (10 grados de radio).

2. Moduladores de sirtuina

En un aspecto, la invención proporciona compuestos moduladores de sirtuina novedosos para tratar y/o prevenir una amplia variedad de enfermedades y trastornos incluyendo, por ejemplo, enfermedades o trastornos relacionados con el envejecimiento o estrés, diabetes, obesidad, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades y/o trastornos oculares, enfermedad cardiovascular, trastornos de coagulación sanguínea, inflamación, cáncer y/o enrojecimiento, etc. Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina también pueden utilizarse para tratar una enfermedad o trastorno en un sujeto que se beneficiaría con una actividad mitocondrial aumentada, para mejorar el rendimiento muscular, para aumentar los niveles de ATP muscular o para tratar o prevenir daño del tejido muscular asociado con hipoxia o isquemia. Otros compuestos divulgados en la presente pueden ser adecuados para su uso en una composición farmacéutica y/o uno o más métodos divulgados en la presente.

La invención proporciona un compuesto representado por la Fórmula Estructural III:



(III), o una sal del mismo, en donde:

cada uno de Z^{11} , Z^{12} , Z^{13} y Z^{14} se selecciona independientemente de N y CR, en donde R se selecciona de hidrógeno, halo, -OH, -C≡N, alquilo C_1 - C_2 sustituido por fluoro, -O-(alquilo sustituido por fluoro C_1 - C_2), -S-(alquilo sustituido por fluoro C_1 - C_2), alquilo C_1 - C_4 , -(alquilo C_1 - C_2)-N(R^{14})(R^{14}), -O-CH₂CH(OH)CH₂OH, -O-alquilo (C_1 - C_4), -O-alquilo (C_1 - C_3)-N(R^{14})(R^{14}), -N(R^{14})(R^{14}), -S-alquilo (C_1 - C_4) y cicloalquilo C_3 - C_7 ;

Y se selecciona de N y CR¹³, en donde R¹³ se selecciona de hidrógeno, halo, -alquilo C₁-C₄, -O-(alquilo C₁-C₄) y -O-(alquilo sustituido por fluoro C₁-C₂);

no más de dos de Z¹¹, Z¹², Z¹³, Z¹⁴ e Y son N;

X se selecciona de -NH-C(=O)-†, -C(=O)-NH-†, -NH-C(=S)-†, -C(=S)-NH-†, -NH-S(=O)-†, -S(=O)-NH-†, -S(=O)₂-NH-†, -NH-S(=O)₂-†, -NH-S(O)₂-NR¹⁵-†, -NR¹⁵-S(O)₂-NH-†, -NH-C(=O)O-†, O-C(=O)-NH-†, -NH-C(=O)NH-†, -NH-C(=O)NR¹⁵-†, -NR¹⁵-C(=O)NH-†, -NH-NR¹⁵-†, -NR¹⁵-NH-†, -O-NH-†, -NH-O-†, -NH-C(=NR¹⁵)-†, -C(=NR¹⁵)-NH-†, -C(=O)-NH-CR¹⁵R¹⁶-†, -CR¹⁵SR¹⁶-NH-C(O)-†, -NH-C(=S)-CR¹⁵R¹⁶-†, -CR¹⁵R¹⁶-C(=S)-NH-†, -NH-S(O)-CR¹⁵R¹⁶-†, -CR¹⁵R¹⁶-S(O)-NH-†, -NH-S(O)₂-CR¹⁵R¹⁶-†, -CR¹⁵R¹⁶-S(O)₂-NH-†, -NH-C(=O)-O-CR¹⁵R¹⁶-†, -CR¹⁵R¹⁶-O-C(=O)-NH-†, -NH-C(=O)-NR¹⁴-CR¹⁵R¹⁶-†, -NH-C(=O)-CR¹⁵R¹⁶-† y -CR¹⁵R¹⁶-NH-C(=O)-O-†, en donde

† representa en donde X está unido a R¹¹ y:

R¹⁵ y R¹⁶ se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo C₁-C₄, CF₃ y -(alquilo C₁-C₄)-CF₃;

R¹¹ se selecciona de un carbociclo y un heterociclo, en donde R¹¹ está opcionalmente sustituido por uno a dos sustituyentes que se seleccionan independientemente de halo, -C≡N, alquilo C₁-C₄, cicloalquilo C₃-C₇, alquilo sustituido por fluoro C₁-C₄, =O, -O-R¹⁴, -S-R¹⁴, -(alquilo C₁-C₄)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -N(R¹⁴)(R¹⁴), -O-(alquilo C₂-C₄)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -C(O)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -C(O)-O-R¹⁴ y -(alquilo C₁-C₄)-C(O)-N(R¹⁴)(R¹⁴) y cuando R¹¹ es fenilo, R¹¹ está también opcionalmente sustituido por 3,4-metilendioxi, 3,4-metilendioxi sustituido por fluoro, 3,4-etilendioxi, 3,4-etilendioxi sustituido por fluoro, O-(heterociclo saturado), -O-(heterociclo saturado) sustituido por fluoro y O-(heterociclo saturado) sustituido por alquilo C₁-C₄, en donde

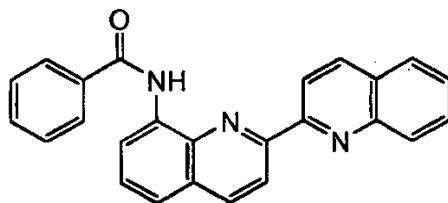
cada R¹⁴ se selecciona independientemente de hidrógeno y -alquilo C₁-C₄; o

dos R¹⁴ se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un heterociclo saturado de 4 a 8 miembros que opcionalmente comprende un heteroátomo adicional que se selecciona de N, S, S(=O), S(=O)₂ y O, en donde:

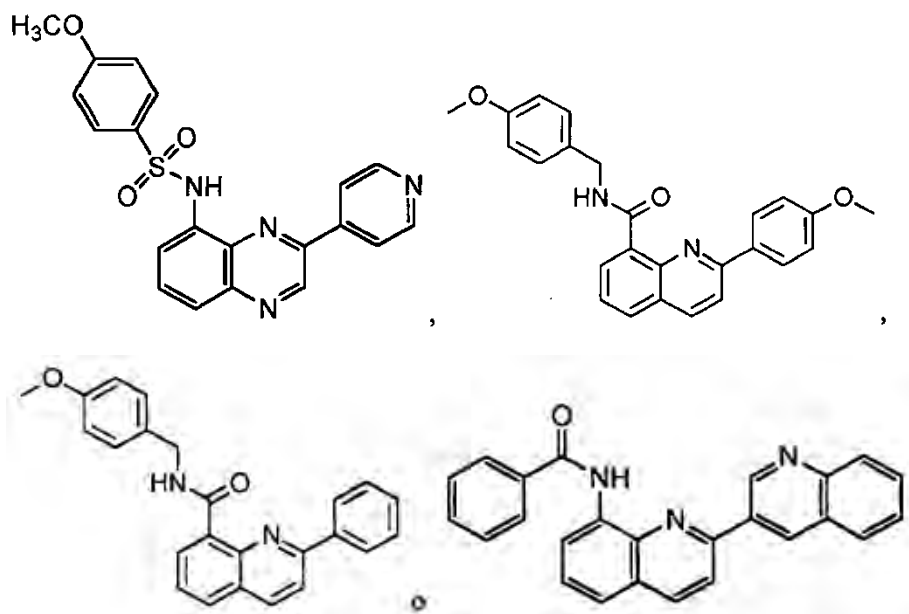
cuando R¹⁴ es alquilo, el alquilo está opcionalmente sustituido por uno o más -OH, -O-(alquilo C₁-C₄), fluoro, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₄), -N(alquilo C₁-C₄)₂, -NH(CH₂CH₂OCH₃) o -N(CH₂CH₂OCH₃)₂ y

cuando dos R¹⁴ se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un heterociclo saturado de 4 a 8 miembros, el heterociclo saturado está opcionalmente sustituido en un átomo de carbono por -OH, -alquilo C₁-C₄, fluoro, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₄), -N(alquilo C₁-C₄)₂, =NH(CH₂CH₂OCH₃) o -N(CH₂CH₂OCH₃)₂; y opcionalmente sustituido en cualquier átomo de nitrógeno sustituible por -alquilo C₁-C₄, alquilo C₁-C₄ sustituido por fluoro o -(CH₂)₂-O-CH₃; y

R¹² se selecciona de un carbociclo y un heterociclo unido al resto del compuesto a través de un átomo del anillo de carbono, en donde R¹² está opcionalmente sustituido por uno a dos sustituyentes que se seleccionan independientemente de halo, -C≡N, alquilo C₁-C₄, cicloalquilo C₃-C₇, alquilo sustituido por fluoro C₁-C₂, -O-R¹⁴, -S-R¹⁴, -S(O)-R¹⁴, -S(O)₂-R¹⁴, -(alquilo C₁-C₄)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -N(R¹⁴)(R¹⁴), -O-(alquilo C₂-C₄)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -C(O)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -(alquilo C₁-C₄)-C(O)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -O-fenilo, fenilo y un segundo heterociclo y cuando R¹² es fenilo, R¹² está también opcionalmente sustituido por 3,4-metilendioxi, 3,4-metilendioxi sustituido por fluoro, 3,4-etilendioxi, 3,4-etilendioxi sustituido por fluoro u -O-(heterociclo saturado) en donde cualquier fenilo, heterociclo saturado o segundo sustituyente de heterociclo de R¹² está opcionalmente sustituido por halo; -C≡N; alquilo C₁-C₄, alquilo sustituido por fluoro C₁-C₂, -O-(alquilo sustituido por fluoro C₁-C₂), -O-(alquilo C₁-C₄), -S-(alquilo C₁-C₄), -S-(alquilo sustituido por fluoro C₁-C₂), -NH-(alquilo C₁-C₄) y -N-(alquilo C₁-C₄)₂,



en donde el compuesto no es:

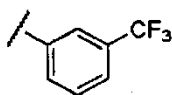


5 En ciertas realizaciones de Fórmula III:

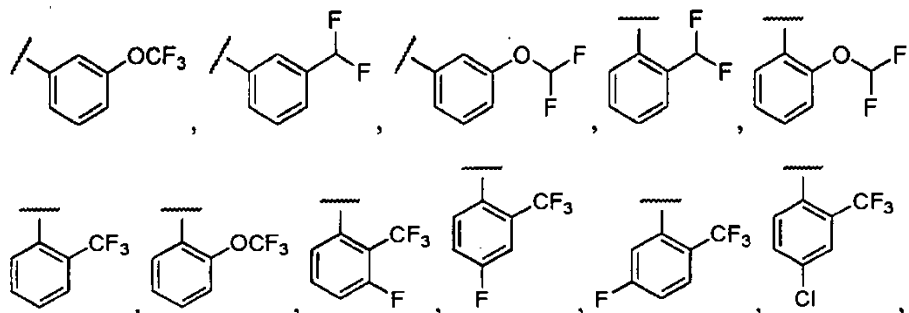
X se selecciona de -NH-C(=O)-, -C(=O)-NH-, -NH-C(=S)-, -C(=S)-NH-, -NH-S(=C)-, -S(=O)-NH-, -S(=O)₂-NH-, -NH-S(O)₂-NR¹⁵-, -NR¹⁵-S(O)₂-NH-, -NH-C(=O)O-, O-C(=O)-NH-, -NH-C(=O)NH-, -NH-C(=O)NR¹⁵-, -NR¹⁵-C(=O)NH-, -NH-NR¹⁵-, -NR¹⁵-NH-, -O-NH-, -NH-O-, -NH-C(=NR¹⁵)-, -C(=NR¹⁵)-NH-, -CR¹⁵R¹⁶-NH-C(O)-, -NH-C(=S)-CR¹⁵R¹⁶-, -CR¹⁵R¹⁶-C(=S)-NH-, -CR-S(O)-CR¹⁵R¹⁶-, -CR¹⁵R¹⁶-S(O)-NH-, -NH-S(O)₂-CR¹⁵R¹⁶-, -NH-S(O)₂-CR¹⁵R¹⁶-, -NH-S(O)-CR¹⁵R¹⁶-, -CR¹⁵R¹⁶-O-C(=O)-NH-, -NH-C(=O)-NR¹⁴-CR¹⁵R¹⁶-, -NH-C(=O)-CR¹⁵R¹⁶- y -CR¹⁵R¹⁶-NH-C(=O)-O-; y

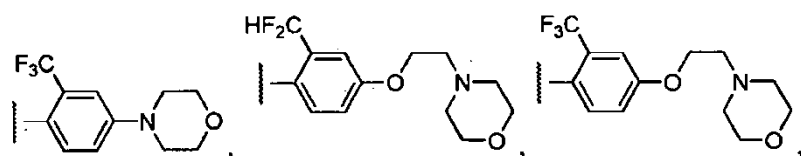
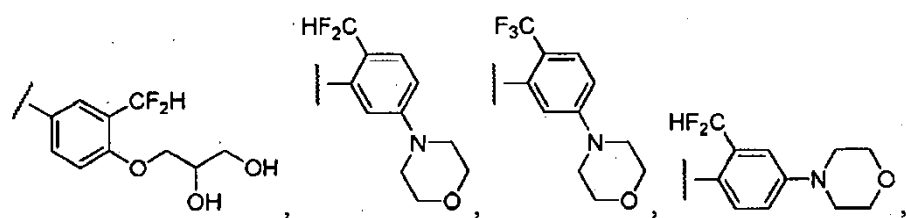
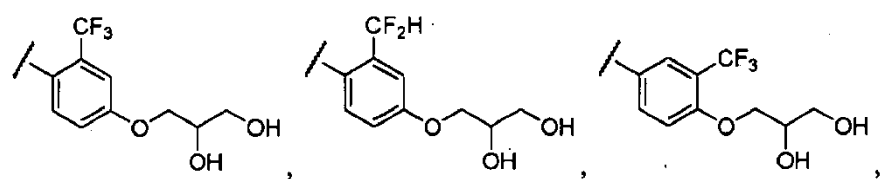
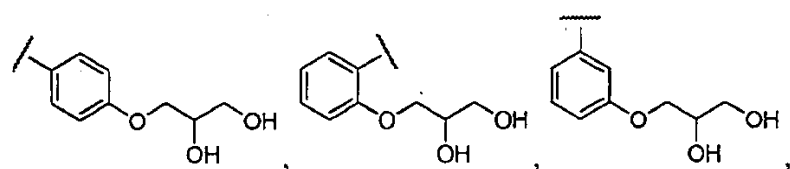
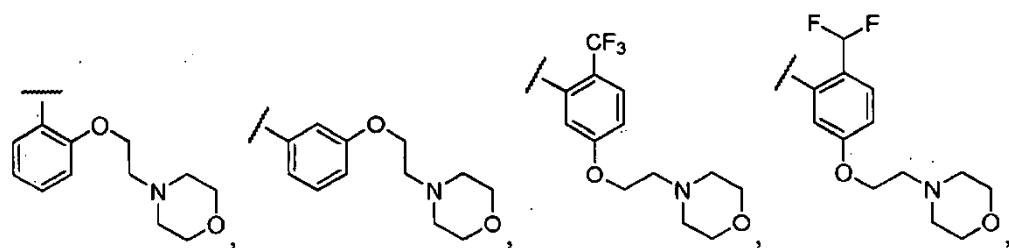
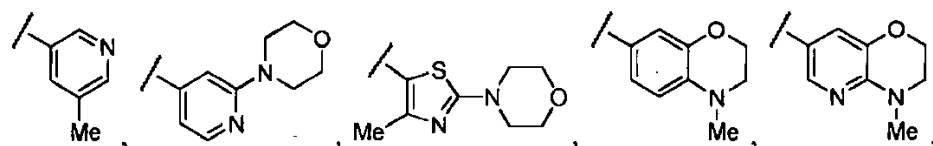
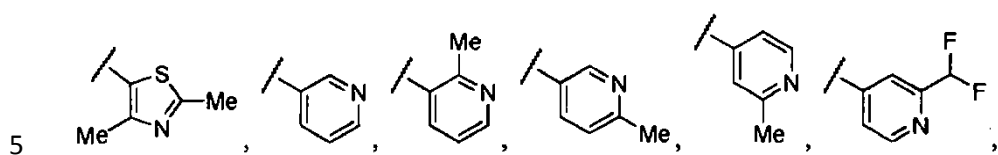
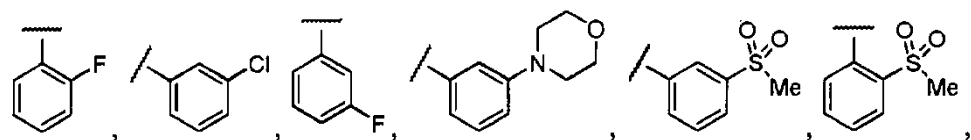
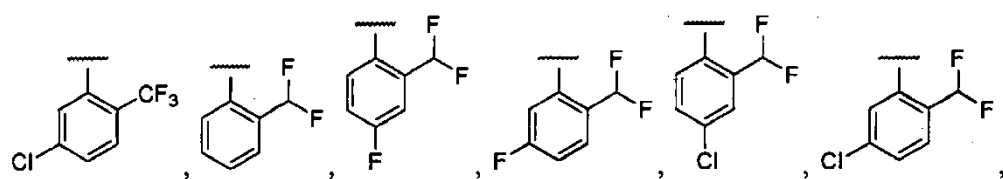
R¹² se selecciona de un carbociclo y un heterociclo monocíclico unido al resto del compuesto a través de un átomo del anillo de carbono, en donde R¹² está opcionalmente sustituido por uno a dos sustituyentes que se seleccionan independientemente de halo, -C≡N, alquilo C₁-C₄, cicloalquilo C₃-C₇, alquilo sustituido por fluoro C₁-C₂, -O-R¹⁴, -S-R¹⁴, -S(O)-R¹⁴, -S(O)₂-R¹⁴, -(alquilo C₁-C₄)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -N(R¹⁴)(R¹⁴), -O-(alquilo C₂-C₄)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -C(O)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -(alquilo C₁-C₄)-C(O)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -O-fenilo, fenilo y un segundo heterociclo y cuando R¹² es fenilo, R¹² está también opcionalmente sustituido por 3,4-metilendioxi, 3,4-metilendioxi sustituido por fluoro, 3,4-etilendioxi, 3,4-etilendioxi sustituido por fluoro u -O-(heterociclo saturado) en donde cualquier fenilo, heterociclo saturado o segundo sustituyente de heterociclo de R¹² está opcionalmente sustituido por halo; -C≡N; alquilo C₁-C₄, alquilo sustituido por fluoro C₁-C₂, -O-(alquilo sustituido por fluoro C₁-C₂), -O-(alquilo C₁-C₄), -S-(alquilo C₁-C₄), -S-(alquilo sustituido por fluoro C₁-C₂), -NH-(alquilo C₁-C₄) y -N-(alquilo C₁-C₄)₂. En un aspecto más específico de esta realización X se selecciona de -NH-C(=O)- o -C(=O)-NH-.

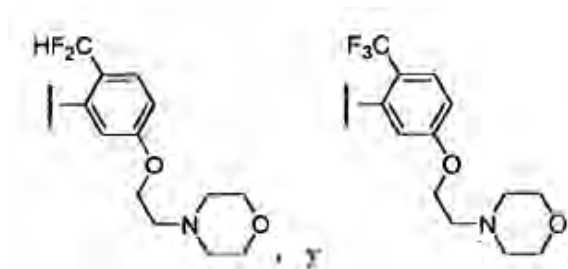
En otra realización adicional de Fórmula III, R¹² se selecciona de arilo y heteroarilo. En un aspecto de esta



realización, R¹² se selecciona de:

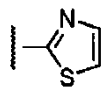




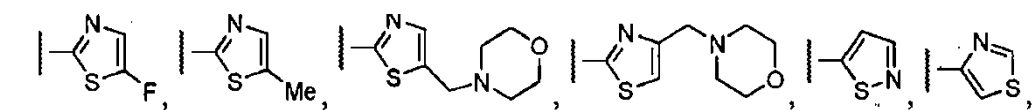


en donde R^{12} está adicionalmente sustituido opcionalmente.

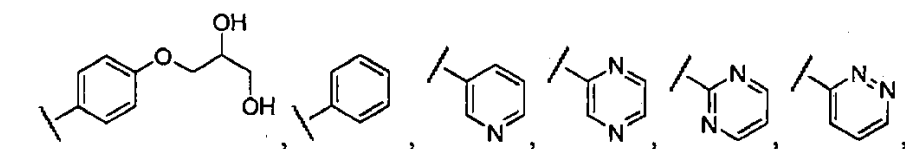
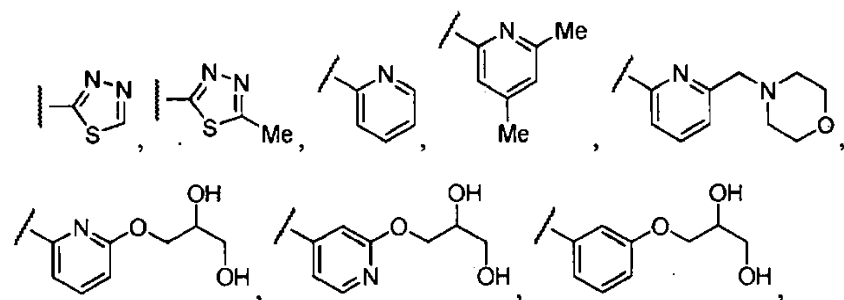
En otra realización adicional de Fórmula III, R^{11} se selecciona de:



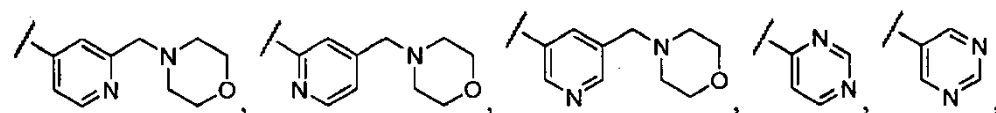
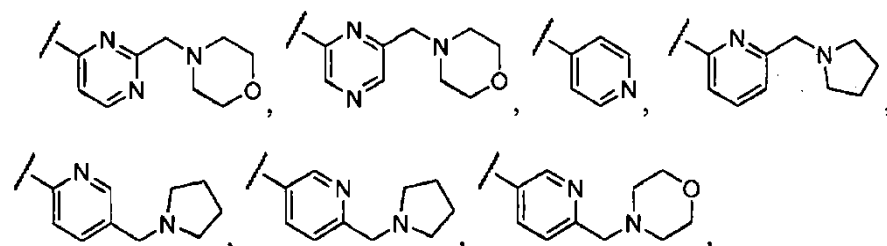
5



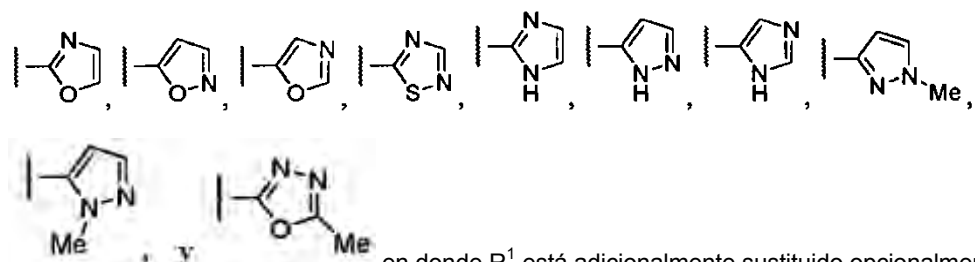
10



15

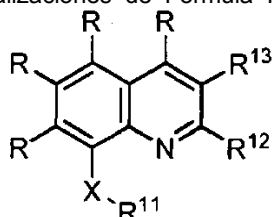


20



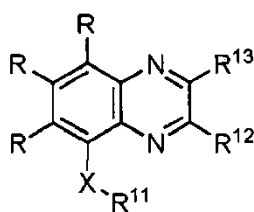
en donde R^1 está adicionalmente sustituido opcionalmente.

En ciertas realizaciones de Fórmula III, el compuesto está representado por una Fórmula Estructural que se

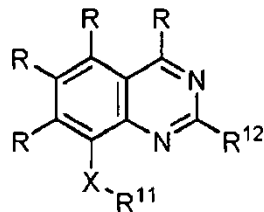


selecciona de:

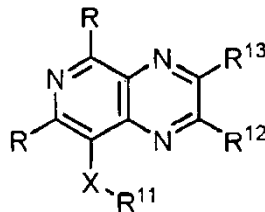
(IIIa),



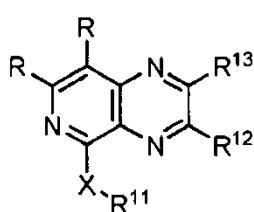
(IIIb),



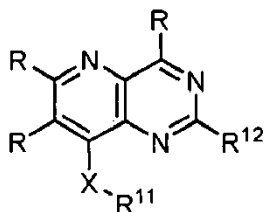
(IIIc),



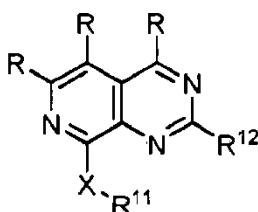
(IIIId),



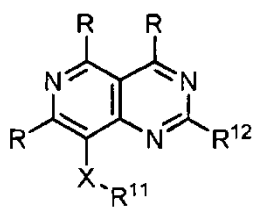
(IIIe),



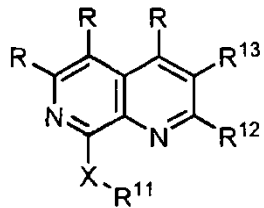
(IIIIf),



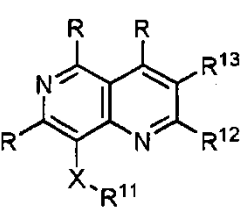
(IIIg),



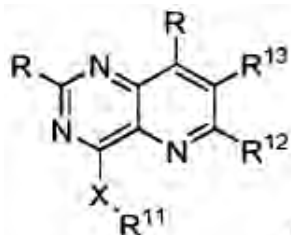
(IIIh),



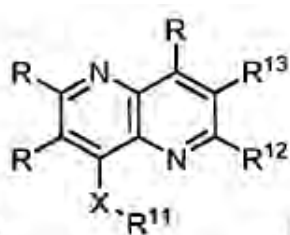
(IIIi),



(IIIj),



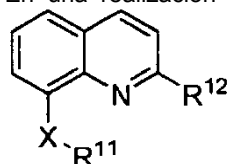
(IIIk), y



(IIIl)

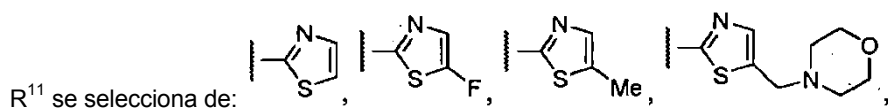
En un aspecto más específico de esta realización, el compuesto está representado por una Fórmula Estructural que se selecciona de IIIa, IIIi, IIIj, IIIk o IIIl. En un aspecto aun más específico de esta realización, el compuesto está representado por la Fórmula Estructural IIIa.

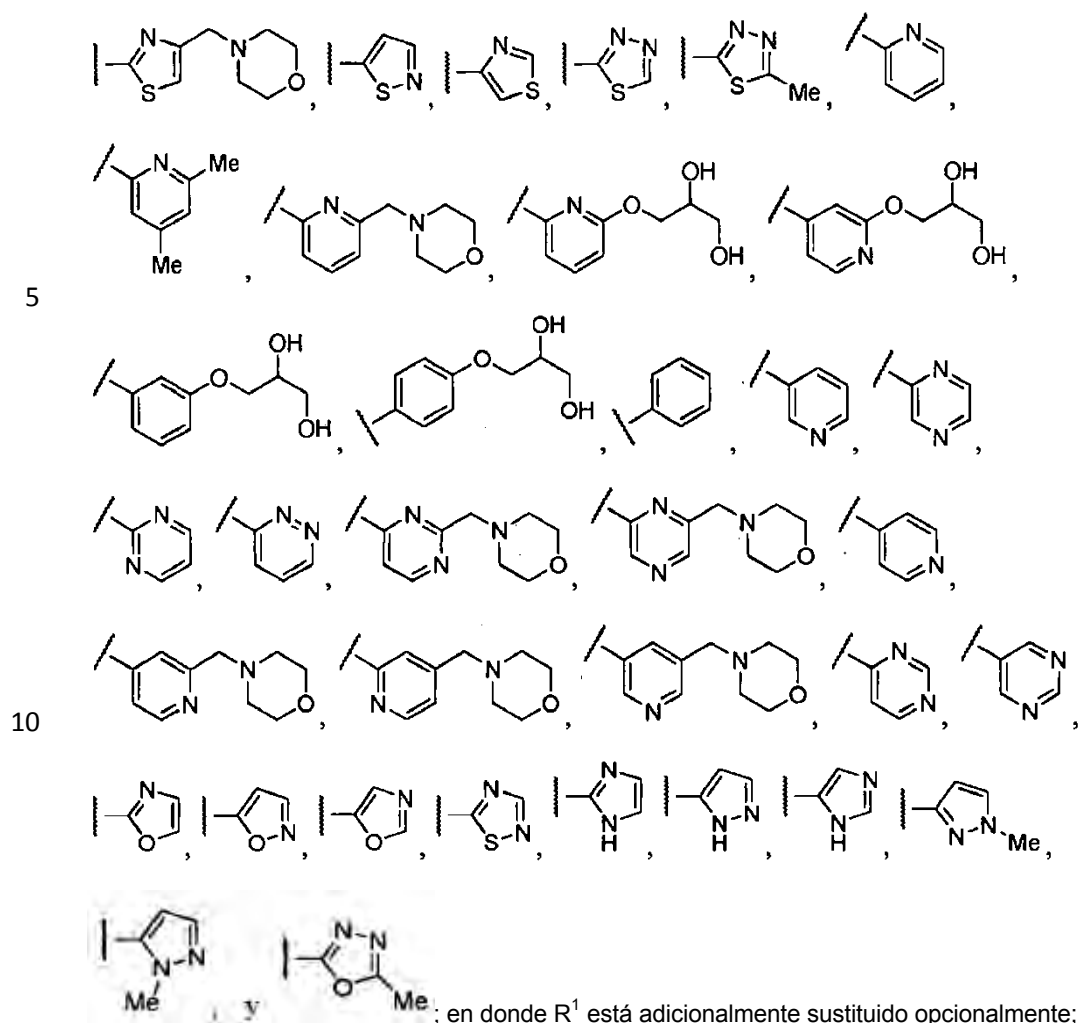
En una realización específica de Fórmula III, el compuesto está representado por la Fórmula Estructural IV:



(IV), o una sal del mismo, en donde:

X se selecciona de $-\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\dagger$ o $-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\dagger$;





15 R¹² se selecciona de fenilo y piridilo, en donde R¹² está opcionalmente sustituido por uno a dos sustituyentes que se seleccionan independientemente de halo, alquilo C₁-C₄, alquilo sustituido por fluoro C₁-C₂, -O-R¹⁴, -S(O)₂-R¹⁴, - (alquilo C₁-C₄)-N(R¹⁴)(R¹⁴) y -N(R¹⁴)(R¹⁴) y cuando R¹² es fenilo, R¹² está también opcionalmente sustituido por 3,4-metilendioxi, u O-(heterociclo saturado).

20 Los compuestos de la invención, incluyendo compuestos novedosos de la invención, también pueden utilizarse en los métodos descritos en la presente.

Los compuestos y sales de los mismos descritos en la presente también incluyen sus correspondientes hidratos (por ejemplo, hemihidrato, monohidrato, dihidrato, trihidrato, tetrahidrato) y solvatos. Los disolventes adecuados para la preparación de solvatos e hidratos generalmente pueden ser seleccionados por un experto en la técnica.

25 Los compuestos y sales de los mismos pueden estar presentes en forma amorfa o cristalina (incluyendo cocrystalina y polimorfa).

Los compuestos moduladores de sirtuina de la invención modulan de manera ventajosa el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina, particularmente la actividad de deacetilasa de la proteína sirtuina.

De manera separada o además de las propiedades anteriores, ciertos compuestos moduladores de sirtuina de la invención no tienen básicamente una o más de las siguientes actividades: inhibición de PI3-quinasa, inhibición de aldoreductasa, inhibición de tirosina quinasa, 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).

35 Carbocíclico incluye anillos monocíclicos de 5-7 miembros y bicíclicos de 8-12 miembros en donde los anillos monocíclicos o bicíclicos se seleccionan de saturados, insaturados y aromáticos. Carbociclos ejemplares incluyen ciclopentilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, adamantilo, fenilo y naftilo.

Heterocíclico incluye anillos monocíclicos de 4-7 miembros y bicíclicos de 8-12 miembros que comprenden uno o más heteroátomos seleccionados de, por ejemplo, átomos de N, O y S. En ciertas realizaciones, el grupo heterocíclico se selecciona de saturado, insaturado o aromático.

5 Anillos monocíclicos incluyen arilo o heteroarilo de 5-7 miembros, cicloalquilo de 3-7 miembros y heterociclilo no aromático de 5-7 miembros. Grupos monocíclicos ejemplares incluyen heterociclos sustituidos o insustituidos tales como tiazolilo, oxazolilo, oxazinilo, tiazinilo, ditianilo, dioxanilo, isoxazolilo, isotiozolilo, triazolilo, furanilo, tetrahidrofuranilo, dihidrofuranilo, piranilo, tetrazolilo, pirazolilo, pirazinilo, piridazinilo, imidazolilo, piridinilo, pirrolilo, dihidropirrolilo, pirrolidinilo, tiazinilo, oxazinilo, piperidinilo, piperazinilo, pirimidinilo, morfolinilo, tetrahidrotiofenilo, tiofenilo, ciclohexilo, ciclopentilo, ciclopropilo, ciclobutilo, cicloheptanilo, azetidino, oxetanilo, tiiranilo, oxiranilo, aziridinilo y tiomorfolinilo.

10 Grupos (arilo) aromáticos incluyen grupos aromáticos carbocíclicos tales como grupos fenilo, naftilo y anthracilo y grupos heteroarilo tales como imidazolilo, tienilo, furilo, piridilo, pirimidilo, piranilo, pirazolilo, pirroilo, pirazinilo, tiazolilo, oxazolilo y tetrazolilo. Grupos aromáticos también incluyen sistemas de anillos aromáticos policíclicos fusionados en los cuales un anillo aromático carbocíclico o un anillo heteroarilo se fusiona con uno o más anillos heteroarilo. Ejemplos incluyen benzotienilo, benzofurilo, indolilo, quinolinilo, benzotiazol, benzoxazol, bencimidazol, quinolinilo, isoquinolinilo e isoindolilo.

15 Sustituido por fluoro incluye de un sustituyente de fluoro hasta la sustitución per-fluoro. Alquilo C₁-C₂ sustituido por fluoro ejemplar incluye -CFH₂, CF₂H, -CF₃, -CH₂CH₂F, -CH₂CHF₂, -CHFCH₃, -CF₂CHF₂. Alquilo C₁-C₂ sustituido por per-fluoro, por ejemplo, incluye -CF₃ y -CF₂CF₃.

20 Sustituyentes adecuados en restos indicados como sustituidos o no sustituidos son aquellos que no interfieren sustancialmente con la capacidad de los compuestos divulgados de tener una o más de las propiedades divulgadas en la presente. Un sustituyente interfiere sustancialmente con las propiedades de un compuesto cuando la magnitud de la propiedad se reduce más de aproximadamente 50% en un compuesto con el sustituyente en comparación con un compuesto sin el sustituyente.

25 Combinaciones de sustituyentes y variables previstos por la presente invención son sólo aquellos que resultan en la formación de compuestos estables. Tal como se utiliza en la presente, el término "estable" se refiere a compuestos que poseen suficiente estabilidad como para permitir su fabricación y que mantienen la integridad del compuesto durante un periodo suficiente de tiempo como para ser útiles a los efectos detallados en la presente.

30 Los compuestos divulgados en la presente también incluyen variantes parcialmente o completamente deuteradas. En ciertas realizaciones, uno o más átomos de deuterio están presentes para estudios cinéticos. Un experto en la técnica puede seleccionar los sitios en los cuales están presentes los átomos de deuterio.

35 También están incluidas en la presente invención sales, particularmente sales farmacéuticamente aceptables, de los compuestos moduladores de sirtuina descritos en la presente. Los compuestos de la presente invención que poseen grupos funcionales suficientemente ácidos, suficientemente básicos o ambos pueden reaccionar con cualquier cantidad de bases inorgánicas y ácidos inorgánicos y orgánicos, para formar una sal. Alternativamente, los compuestos que están cargados inherentemente, 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).

40 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-toluenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido oxálico, ácido p-bromofenil-sulfónico, ácido carbónico, ácido succínico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido acético y similares. Ejemplos de dichas sales incluyen sulfato, piro-sulfato, bisulfato, sulfito, bisulfito, fosfato, monohidrogenofosfato, dihidrogenofosfato, metafosfato, pirofosfato, cloruro, bromuro, yoduro, acetato, propionato, decanoato, caprilato, acrilato, formato, isobutirato, caproato, heptanoato, propiolato, oxalato, malonato, succinato, suberato, sebacato, fumarato, maleato, butino-1,4-dioato, hexino-1,6-dioato, benzoato, clorobenzoato, metilbenzoato, dinitrobenzoato, hidroxibenzoato, metoxibenzoato, ftalato, sulfonato, xilenosulfonato, fenilacetato, fenilpropionato, fenilbutirato, citrato, lactato, gamma-hidroxibutirato, glicolato, tartrato, metanosulfonato, propanosulfonato, naftaleno-1-sulfonato, naftaleno-2-sulfonato, mandelato y similares.

50 Sales de adición de bases incluyen aquellas derivadas de bases inorgánicas, tales como amonio o álcali o hidróxidos de metal alcalinotérreo, carbonatos, bicarbonatos y similares. Dichas bases útiles para preparar las sales de la presente invención de esta forma incluyen hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de amonio, carbonato de potasio y similares.

55 De acuerdo con otra realización, la presente invención proporciona métodos para producirlos compuestos moduladores de sirtuina definidos anteriormente. Los compuestos pueden sintetizarse utilizando técnicas convencionales. De manera ventajosa, estos compuestos se sintetizan convenientemente a partir de materiales de partida fácilmente disponibles.

Transformaciones químicas sintéticas y metodologías útiles para sintetizar los compuestos moduladores de sirtuina descritos en la presente son conocidas en la técnica e incluyen, por ejemplo, aquellas descritas en R. Larock, *Comprehensive Organic Transformations* (1989); T. W. Greene y P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2a. 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 ejemplar, un compuesto modulator de sirtuina puede atravesar la membrana citoplasmática de una célula. Por ejemplo, un compuesto puede tener una permeabilidad celular de al menos aproximadamente 20%, 50%, 75%, 80%, 90% o 95%.

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

En ciertas realizaciones, un compuesto modulator de sirtuina no tiene ninguna capacidad sustancial para inhibir una histona deacetilasa (HDAC) clase I, una HDAC clase II o HDAC I y II, a concentraciones (por ejemplo, in vivo) efectivas para modular la actividad de la deacetilasa de sirtuina. Por ejemplo, en realizaciones preferidas el compuesto modulator de sirtuina es un compuesto activador de sirtuina y se elige para tener una EC_{50} para activar la actividad de sirtuina deacetilasa que es al menos 5 veces menor que la EC_{50} 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 analizar la actividad de HDAC I y/o HDAC II son bien conocidos en la técnica y los kits para realizar dicho ensayo pueden adquirirse comercialmente. Ver por ejemplo, BioVision, Inc. (Mountain View, CA; en Internet biovision.com) y Thomas Scientific (Swedesboro, NJ; en Internet tomassci.com).

En ciertas realizaciones, un compuesto modulator de sirtuina no tiene ninguna capacidad sustancial para modular los homólogos de la sirtuina. En una realización, un activador de una proteína sirtuina humana puede no tener ninguna capacidad sustancial para activar una proteína sirtuina de eucariotas inferiores, particularmente levadura o patógenos humanos, a concentraciones (por ejemplo, in vivo) efectivas para activar la actividad de la deacetilasa de sirtuina humana. Por ejemplo, un compuesto activador de sirtuina puede elegirse para que tenga una EC_{50} para activar una actividad de la deacetilasa de sirtuina humana, tal como SIRT1 y/o SIRT3, que es al menos 5 veces menor que la EC_{50} 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 de eucariotas inferiores, particularmente levadura o patógenos humanos, no tiene ninguna capacidad sustancial para inhibir una proteína sirtuina de humanos a concentraciones (por ejemplo, in vivo) efectivas para inhibir la actividad de la deacetilasa de una proteína sirtuina de una eucariota inferior. Por ejemplo, un compuesto inhibidor de sirtuina puede elegirse para que tenga una IC_{50} para inhibir una actividad de la deacetilasa de sirtuina humana, tal como SIRT1 y/o SIRT3, que es al menos 5 veces menor que la IC_{50} 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.

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

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

En otras realizaciones, un modulator de SIRT3 no tiene ninguna capacidad sustancial para modular otros homólogos de proteína sirtuina, tales como, por ejemplo, una o más de SIRT1, SIRT2, SIRT4, SIRT5, SIRT6 o SIRT7 humana, a concentraciones (por ejemplo, in vivo) efectivas para modular la actividad de la deacetilasa de SIRT3 humana. Por ejemplo, un compuesto modulator de sirtuina puede elegirse para que tenga una ED_{50} para modular la actividad de la deacetilasa de SIRT3 humana que es al menos 5 veces menor que la ED_{50} para modular

una o más de SIRT1, SIRT2, SIRT4, SIRT5, SIRT6 o SIRT7 humana e incluso más preferiblemente al menos 10 veces, 100 veces o incluso 1000 veces menor. En una realización, un modulador de SIRT3 no tiene ninguna capacidad sustancial para modular una proteína SIRT1.

En ciertas realizaciones, un compuesto modulador de sirtuina puede tener una afinidad de unión para una proteína sirtuina de aproximadamente 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M o menos. Un compuesto modulador de sirtuina puede reducir (activador) o aumentar (inhibidor) la K_m aparente de una proteína sirtuina para su sustrato o NAD⁺ (u otro cofactor) en un factor de al menos aproximadamente 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 50 o 100. En ciertas realizaciones, los valores de K_m se determinan utilizando el ensayo de espectrometría de masas descrito en la presente. Los compuestos activadores preferidos reducen la K_m de una sirtuina por su sustrato o cofactor a un alcance mayor que el causado por resveratrol a una concentración similar o reducen la K_m de una sirtuina para su sustrato o cofactor similar al causado por resveratrol a una concentración más baja. Un compuesto modulador de sirtuina puede aumentar la $V_{m\acute{a}x}$ 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 ED_{50} para modular la actividad de la deacetilasa 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 μ M, menos de aproximadamente 10 μ M, menos de aproximadamente 100 μ M o de aproximadamente 1-10 nM, de aproximadamente 10-100 nM, de aproximadamente 0,1-1 μ M, de aproximadamente 1-10 μ M o de aproximadamente 10-100 μ M. Un compuesto modulador de sirtuina puede modular la actividad de la deacetilasa de una proteína SIRT1 y/o SIRT3 en un factor de al menos aproximadamente 5, 10, 20, 30, 50 o 100, según se mide en un ensayo celular o en un ensayo en base a células. Un compuesto activador de sirtuina puede causar una inducción al menos aproximadamente 10%, 30%, 50%, 80%, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 50 veces o 100 veces mayor de la actividad de la deacetilasa de una proteína sirtuina con respecto a la misma concentración de resveratrol. Un compuesto modulador de sirtuina puede tener una ED_{50} para modular SIRT5 que es al menos aproximadamente 10 veces, 20 veces, 30 veces, 50 veces mayor que eso para modular SIRT1 y/o SIRT3.

3. Usos ejemplares

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

En ciertas realizaciones, la invención proporciona compuestos para su uso en la activación de una proteína sirtuina, por ejemplo, para aumentar 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 incluyendo, por ejemplo, aumentar la longevidad de una célula y tratar y/o prevenir una amplia variedad de enfermedades y trastornos incluyendo, por ejemplo, enfermedades o trastornos relacionados con el envejecimiento o estrés, diabetes, obesidad, enfermedades neurodegenerativas, enfermedad cardiovascular, trastornos de coagulación sanguínea, inflamación, cáncer y/o enrojecimiento, etc. Los métodos comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto modulador de sirtuina, por ejemplo, un compuesto activador de sirtuina.

Si bien los solicitantes no desean ceñirse a ninguna teoría, se cree que los activadores de la presente invención pueden interactuar con una sirtuina en el mismo lugar dentro de la proteína sirtuina (por ejemplo, sitio activo o sitio que afecta la K_m o $V_{m\acute{a}x}$ del sitio activo). Se cree que esta es la razón por la cual ciertas clases de activadores e inhibidores de sirtuina pueden tener similitudes estructurales sustanciales.

En ciertas realizaciones, los compuestos moduladores de sirtuina descritos en la presente pueden tomarse solos o en combinación con otros compuestos. En una realización, una mezcla de dos o más compuestos moduladores de sirtuina pueden administrarse a un sujeto que la 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 ejemplar, 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), suranim; NF023 (un antagonista de la proteína G); NF279 (un antagonista del receptor purinérgico); Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico); (-)-epigallocatecina (hidroxi en los sitios 3,5,7,3',4',5'); (-)-galato de epigallocatecina (sitios hidroxi 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; gosipetina (3,5,7,8,3',4'-hexahidroxiflavona), sirtinol y splitomicina. En otra realización, uno o más compuestos moduladores de sirtuina pueden administrarse con uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento o la prevención de varias enfermedades, incluyendo, por ejemplo, cáncer, diabetes, enfermedades neurodegenerativas, enfermedad cardiovascular, coagulación de la sangre, inflamación, enrojecimiento, obesidad, envejecimiento, estrés, etc. En varias 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 la presente); y (2) coadministración 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 han sido formulados en la misma composición (pero pueden estar presentes en el mismo kit o envase, tal como un envase de ampollas u otro envase de múltiples cámaras; recipientes sellados por separado conectados (por ejemplo, sobres de papel de aluminio) que pueden ser separados por el usuario; o un kit donde el compuesto modulador de sirtuina y otros agentes terapéuticos están en recipientes separados). Cuando se utilizan formulaciones separadas, el compuesto modulador de sirtuina puede administrarse a la vez, de manera intermitente, no simultáneamente, previamente, posteriormente o en combinación con las mismas con la administración de otro agente terapéutico.

En ciertas realizaciones, los métodos para reducir, prevenir o tratar enfermedades o trastornos utilizando un compuesto modulador de sirtuina también pueden comprender aumentar el nivel de proteína de una sirtuina, tal como SIRT1, SIRT2 y/o SIRT3 humana u homólogos de la misma. Pueden alcanzarse niveles de proteína crecientes al introducir 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 al introducir en la célula de mamífero un ácido nucleico que codifica la sirtuina, por ejemplo, aumentar el nivel de SIRT1 al introducir un ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos indicada en el No. de acceso de GenBank NP_036370 y/o aumentar el nivel de SIRT3 al introducir un ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos indicada en el No. de acceso de GenBank AAH01042.

Un ácido nucleico que se introduce en una célula para aumentar el nivel de proteína de una sirtuina puede codificar una proteína que es al menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% idéntica a la secuencia de una sirtuina, por ejemplo, proteína SIRT1 y/o SIRT3. Por ejemplo, el ácido nucleico que codifica la proteína puede ser al menos aproximadamente 80%, 85%, 90%, 95%, 98% o 99% idéntico a un ácido nucleico que codifica una proteína SIRT1 (por ejemplo, No. de acceso de GenBank NM_12238) y/o SIRT3 (por ejemplo, No. de acceso de GenBank BC001042). El ácido nucleico también puede ser un ácido nucleico que se hibrida, preferiblemente en condiciones de hibridación rigurosas, con un ácido nucleico que codifica una sirtuina natural, 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 utiliza un ácido nucleico que codifica una proteína que es diferente de una proteína sirtuina natural, tal como una proteína que es un fragmento de una sirtuina natural, la proteína es preferiblemente biológicamente activa, por ejemplo, es capaz de la desacetilación. Sólo es necesario expresar en una célula una porción de la sirtuina que es biológicamente activa. Por ejemplo, una proteína que difiere de la SIRT1 natural que tiene No. de acceso de GenBank NP_036370, preferiblemente contiene la estructura de núcleo de la misma. La estructura de núcleo a veces se refiere a los aminoácidos 62-293 del No. de acceso de GenBank NP_036370, que son codificados por los nucleótidos 237 a 932 del No. de acceso de GenBank NM_012238, que abarca la unión de NAD así como los dominios de unión de sustratos. El dominio de núcleo de SIRT1, también puede referirse a aproximadamente a los aminoácidos 261 a 447 del No. de acceso de GenBank NP_036370, que son codificados por los nucleótidos 834 a 1394 del No. de acceso de GenBank NM_012238; aproximadamente los aminoácidos 242 a 493 del No. de acceso de GenBank NP_036370, que son codificados por los nucleótidos 777 a 1532 del No. de acceso de GenBank NM_012238; o aproximadamente los aminoácidos 254 a 495 del No. de acceso de GenBank NP_036370, que son codificados por los nucleótidos 813 a 1538 del No. de acceso de GenBank NM_012238. Puede determinarse si la proteína retiene o no una función biológica, por ejemplo, capacidades de desacetilación, de acuerdo con métodos conocidos en la técnica.

En ciertas realizaciones, los métodos para reducir, prevenir o tratar enfermedades o trastornos utilizando un compuesto modulador de sirtuina también pueden comprender disminuir el nivel de proteína de una sirtuina, tal como SIRT1, SIRT2 y/o SIRT3 humana u homólogos de la misma. Disminuir un nivel de proteína sirtuina puede lograrse de acuerdo con métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, un ARNip, un ácido nucleico antisentido o un ribosoma dirigido a la sirtuina puede expresarse en la célula. También puede utilizarse un mutante de sirtuina negativo dominante, por ejemplo, un mutante que no es capaz de desacetilación. Por ejemplo, puede utilizarse un mutante H363Y de SIRT1 descrito, por ejemplo, en Luo *et al.* (2001) Cell 107:137. Alternativamente, pueden utilizarse agentes que inhiben la transcripción.

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

Envejecimiento/estrés

Se divulga un método que extiende la longevidad 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 restricción calórica, aumenta la resistencia de una célula al estrés o previene la apoptosis de una célula al contactar 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 ejemplar, los métodos comprenden poner en contacto la célula con un compuesto activador de sirtuina.

Los métodos descritos en la presente pueden utilizarse para aumentar la cantidad de tiempo que las células, particularmente las células primarias (es decir, células obtenidas de un organismo, por ejemplo, un humano), pueden mantenerse vivas en un cultivo celular. Las células madre embrionarias (ES) y células pluripotentes y las células

diferenciadas de las mismas, también pueden tratarse con un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de la proteína sirtuina para mantener las células o progenie de las mismas, en cultivo durante periodos de tiempo más largos. Dichas células también pueden utilizarse para el trasplante en un sujeto, por ejemplo, después de la modificación *ex vivo*.

- 5 En una realización, las células que se pretenden conservar durante largos periodos de tiempo pueden ser tratadas 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, medio de crecimiento biológico, etc.) o en tejidos u órganos. Por ejemplo, la sangre recogida de un individuo a efectos 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
- 10 células sanguíneas durante periodos de tiempo más largos. Adicionalmente, la sangre que se utiliza a efectos forenses también puede conservarse utilizando un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina. Otras células que pueden ser tratadas para extender su longevidad o proteger contra apoptosis incluyen células para el consumo, por ejemplo, de células de mamíferos no humanos (tales como carne) o células de plantas (tales como vegetales).
- 15 Los compuestos de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina también pueden aplicarse durante las fases de desarrollo y crecimiento en mamíferos, plantas, insectos o microorganismos, para, por ejemplo, alterar, retardar o acelerar el desarrollo y/o proceso de crecimiento.

- En otra realización, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para tratar células útiles para el trasplante o terapia celular, incluyendo, por ejemplo,
- 20 injertos de tejido sólido, trasplantes de órganos, suspensiones celulares, células madre, células de la médula ósea, etc. Las células o tejido pueden ser un autoinjerto, un aloinjerto, un isoinjerto o un xenoinjerto. Las células o tejido pueden ser tratados con el compuesto modulador de sirtuina antes de la administración/implante, concurrentemente con la administración/implante y/o después de la administración/implante en un sujeto. Las células o tejido pueden tratarse antes del retiro de las células del individuo donante, *ex vivo* después del retiro de las células o tejido del
- 25 individuo donante, o después del implante en el receptor. Por ejemplo, el individuo donante o receptor puede ser tratado 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 tejido (o individuos donantes/receptores) pueden ser tratados adicionalmente con otro agente terapéutico útil para prolongar la supervivencia del injerto, tal como, por ejemplo, un
- 30 agente inmunosupresor, una citoquina, un factor angiogénico, etc.

- En otras realizaciones, las células pueden ser tratadas 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 longevidad o prevenir la apoptosis. Por ejemplo, la piel puede protegerse del envejecimiento (por ejemplo, desarrollo de arrugas, pérdida de elasticidad, etc.) al tratar la piel o células epiteliales con un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel
- 35 y/o la actividad de una proteína sirtuina. En una realización ejemplar, 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. Afecciones de la piel o afecciones de la piel ejemplares que pueden ser tratadas de acuerdo con los métodos descritos en la presente incluyen trastornos o enfermedades asociados con o causados por inflamación, daño del sol o envejecimiento natural. Por ejemplo, las composiciones encuentran utilidad
- 40 en la prevención o tratamiento de dermatitis de contacto (incluyendo dermatitis de contacto irritante y dermatitis de contacto alérgica) dermatitis atópica (también conocida como eczema alérgico), queratosis actínica, trastornos de queratinización (incluyendo eczema), enfermedades de epidermolisis bullosa (incluyendo pénfigo), dermatitis exfoliativa, dermatitis seborreica, eritemas (incluyendo eritema multiforme y eritema nodoso), daño causado por el sol u otras fuentes de luz, lupus eritematoso discoide, dermatomiositis, psoriasis, cáncer de piel y los efectos del
- 45 envejecimiento natural. En otra realización, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para el tratamiento de heridas y/o quemaduras para promover la curación, incluyendo, 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 también pueden utilizarse como composiciones preventivas, por ejemplo, quimiopreventivas. Cuando se utiliza en un método de quimiopreventivo, la piel susceptible es tratada antes de cualquier afección visible en un individuo particular.
- 50

- Los compuestos moduladores de sirtuina pueden administrarse localmente o sistémicamente a un sujeto. En una realización, un compuesto modulador de sirtuina se administra localmente a un tejido u órgano de un sujeto mediante inyección, formulación tópica, etc.
- 55

- En otra realización, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede utilizarse para tratar o prevenir una enfermedad o afección inducida o exacerbada por senescencia celular en un sujeto; métodos para disminuir la tasa de senescencia de un sujeto, por ejemplo, después del inicio de la senescencia; métodos para extender la longevidad de un sujeto; métodos para tratar o prevenir una enfermedad o afección con relación a la longevidad; métodos para tratar o prevenir una enfermedad o afección con respecto a la
- 60

capacidad proliferativa de las células y métodos para tratar o prevenir una enfermedad o afección que resulta del daño o muerte celular. En ciertas realizaciones, el método no actúa disminuyendo la tasa de ocurrencia de enfermedades que acortan la longevidad de un sujeto. En ciertas realizaciones, un método no actúa reduciendo la letalidad causada por una enfermedad, tal como cáncer.

- 5 En 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 generalmente la longevidad de sus células y proteger sus células contra estrés y/o contra apoptosis. Se cree que tratar un sujeto con un compuesto descrito en la presente es similar a someter al sujeto a hormesis, es decir, leve estrés que es beneficioso para organismos y puede extender su longevidad.
- 10 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 consecuencias o enfermedades relacionadas con el envejecimiento, tales como accidente cerebrovascular, enfermedad cardíaca, falla cardíaca, artritis, presión sanguínea alta y enfermedad de Alzheimer. Otras condiciones que pueden ser tratadas incluyen trastornos oculares, por ejemplo, asociados con el envejecimiento de los ojos, tales como cataratas, glaucoma y degeneración macular.
- 15 Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina también pueden administrarse a sujetos para el tratamiento de enfermedades, por ejemplo, enfermedades crónicas, asociadas con muerte celular, para proteger las células de la muerte celular. Enfermedades ejemplares incluyen aquellas asociadas con la muerte celular neural, disfunción neuronal o muerte o disfunción celular muscular, tales como enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica, y
- 20 distrofia muscular; SIDA; hepatitis fulminante; enfermedades vinculadas con la degradación del cerebro, tales como enfermedad de Creutzfeld-Jakob, retinitis pigmentaria y degeneración cerebelar; mielodisplasia tal como anemia aplásica; enfermedades isquémicas tales como infarto del miocardio y accidente cerebrovascular; enfermedades hepáticas tales como hepatitis alcohólica, hepatitis B y hepatitis C; enfermedades de las articulaciones tales como osteoartritis; aterosclerosis; alopecia; daño a la piel debido a luz UV; liquen plano; atrofia de la piel; cataratas y rechazos de injertos. La muerte celular también puede ser causada por cirugía, terapia de fármacos, exposición química o exposición a radiación.
- 25

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

- 30

Enfermedad cardiovascular

En otra divulgación, la invención proporciona un método para tratar y/o prevenir una enfermedad cardiovascular al administrar a un sujeto que lo necesita un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina.

- 35

Las enfermedades cardiovasculares que pueden ser tratadas o prevenidas utilizando los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina incluyen cardiomiopatía o miocarditis; tal como cardiomiopatía idiopática, cardiomiopatía metabólica, cardiomiopatía alcohólica, cardiomiopatía inducida por fármacos, cardiomiopatía isquémica y cardiomiopatía hipertensiva. También son tratables o prevenibles utilizando los compuestos y métodos descritos en la presente los trastornos ateromatosos de los principales vasos sanguíneos (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 enfermedades vasculares que pueden ser tratadas o prevenidas incluyen aquellas relacionadas con la agregación de plaquetas, arteriolas retinales, las arteriolas glomerulares, el vasa nervorum, arteriolas cardíacas y lechos capilares asociados del ojo, del riñón, del corazón, y los sistemas nerviosos central y periférico. Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína también pueden utilizarse para aumentar los niveles de HDL en plasma de un individuo.

- 40
- 45

Otros trastornos que pueden ser tratados con compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina incluyen restenosis, por ejemplo, luego de intervención coronaria y trastornos relacionados con un nivel anormal de colesterol de alta densidad y baja densidad.

- 50

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

- 55

Muerte celular/cáncer

Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden administrarse a sujetos que han recibido recientemente, o es probable que reciban, una dosis de radiación o toxina. En una realización, la dosis de radiación o toxina es recibida como parte de un procedimiento relacionado con el trabajo o médico, por ejemplo, administrado como una medida profiláctica. En otra realización, la exposición a radiación o toxina no es recibida intencionalmente. En dicho caso, el compuesto se administra preferiblemente tan pronto como sea posible después de la exposición para inhibir la apoptosis y el desarrollo posterior de síndrome de radiación agudo.

Los compuestos moduladores de sirtuina también pueden utilizarse 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 utilizarse para tratar y/o prevenir cáncer. La restricción calórica se ha vinculado con una reducción en la incidencia de trastornos relacionados con la edad incluyendo cáncer. Por consiguiente, un aumento 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, tales como, por ejemplo, cáncer. Cánceres ejemplares que pueden ser tratados utilizando un compuesto modulador de sirtuina son los de cerebro y riñón; cánceres dependientes de hormonas, incluyendo cáncer de mama, próstata, testículo y ovario; linfomas y leucemias. En cánceres asociados con tumores sólidos, un compuesto de modulación puede administrarse directamente en el tumor. El cáncer de células sanguíneas, por ejemplo, leucemia, puede tratarse administrando un compuesto modulador en el torrente sanguíneo o en la médula ósea. También puede tratarse el crecimiento celular benigno, por ejemplo, verrugas. Otras enfermedades que pueden ser tratadas incluyen enfermedades autoinmunes, por ejemplo lupus eritematoso sistémico, escleroderma y artritis, en las cuales las células autoinmunes deben ser retiradas. Las infecciones virales tales como herpes, VIH, adenovirus y trastornos benignos y malignos asociados con HTLV-1 también pueden ser tratadas mediante la administración del compuesto modulador de sirtuina. Alternativamente, las células pueden ser obtenidas a partir de un sujeto, tratado ex vivo para retirar ciertas células indeseables, por ejemplo, células cancerosas y administradas nuevamente al mismo sujeto o a uno diferente.

Pueden coadministrarse agentes quimioterapéuticos con compuestos moduladores descritos en la presente como compuestos que poseen actividad anticáncer, por ejemplo, compuestos que inducen la apoptosis, compuestos que reducen la longevidad o compuestos que vuelven a las células sensibles a estrés. Pueden utilizarse agentes quimioterapéuticos por sí solos con un compuesto modulador de sirtuina descrito en la presente como un compuesto que induce la muerte celular o reduce la longevidad o aumenta la sensibilidad al estrés y/o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos. Además de quimioterapéuticos convencionales, los compuestos moduladores de sirtuina descritos en la presente también pueden utilizarse con ARN, ARNi u otros polinucleótidos para inhibir la expresión de los componentes celulares que contribuyen con la proliferación celular no deseada.

Las terapias de combinación que comprenden compuestos moduladores de sirtuina y un agente quimioterapéutico convencional pueden ser ventajosas con respecto a las terapias de combinación de la técnica debido a que la combinación permite al agente quimioterapéutico convencional ejercer un mayor efecto a una dosificación más baja. En una realización preferida, la dosis efectiva (ED_{50}) para un agente quimioterapéutico o una combinación de agentes quimioterapéuticos convencionales, cuando se utiliza en combinación con un compuesto modulador de sirtuina es al menos 2 veces menor que la ED_{50} para el agente quimioterapéutico solo, e incluso más preferiblemente 5 veces, 10 veces o incluso 25 veces menor. Por el contrario, el índice terapéutico (TI) para dicho agente quimioterapéutico o combinación de dicho agente quimioterapéutico cuando se utiliza en combinación con un compuesto modulador de sirtuina descrito en la presente puede ser al menos 2 veces mayor que el TI para el régimen quimioterapéutico convencional solo, e incluso más preferiblemente 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 utilizarse para tratar pacientes que sufren de enfermedades neurodegenerativas y lesión traumática o mecánica al sistema nervioso central (SNC), médula espinal o sistema nervioso periférico (SNP). La enfermedad neurodegenerativa típicamente implica reducciones en la masa y volumen del cerebro humano, que puede deberse a la atrofia y/o muerte de células cerebrales, que son mucho más profundas que aquellas en una persona saludable que son atribuibles al envejecimiento. Las enfermedades neurodegenerativas pueden evolucionar gradualmente, después de un largo periodo de función cerebral normal, debido a degeneración progresiva (por ejemplo, disfunción o muerte de neuronas) de regiones específicas del cerebro. Alternativamente, las enfermedades neurodegenerativas pueden tener un inicio rápido, tal como aquellas asociadas con trauma o toxinas. El inicio real de la degeneración cerebral puede producirse muchos años antes que la expresión clínica. Ejemplos de enfermedades neurodegenerativas incluyen, a modo no taxativo, enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Parkinson (EP), enfermedad de Huntington (EH), esclerosis lateral amiotrófica (ELA; enfermedad de Lou Gehrig), demencia con cuerpos de Lewy, corea-acantocitosis, esclerosis lateral primaria, enfermedades oculares (neuritis ocular), neuropatías inducidas por quimioterapia (por ejemplo, de 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 utilizarse para tratar estos trastornos y otros como se describe más adelante.

- La EA es un trastorno del SNC que resulta en la pérdida de memoria, comportamiento inusual, cambios de personalidad y un deterioro en las capacidades del pensamiento. Estas pérdidas están relacionadas con la muerte de tipos específicos de células cerebrales y la desintegración de las conexiones y su red de apoyo (por ejemplo, células gliales) entre ellas. Los síntomas más tempranos incluyen la pérdida de memoria reciente, confusión mental y cambios en la personalidad. La EP es un trastorno del SNC que resulta en movimientos corporales descontrolados, rigidez, temblor y disquinesia y está asociado con la muerte de células cerebrales en un área del cerebro que produce dopamina. La ELA (enfermedad de neuronas motoras) es un trastorno del SNC que ataca las neuronas motoras, componentes del SNC que conectan el cerebro con los músculos esqueléticos.
- La EH es otra enfermedad neurodegenerativa que provoca movimientos descontrolados, pérdida de facultades intelectuales y trastorno emocional. La enfermedad de Tay-Sachs y enfermedad de Sandhoff son enfermedades de almacenamiento de glicolípidos donde el gangliósido GM2 y los sustratos de glicolípidos relacionados para la β -hexosaminidasa se acumulan en el sistema nervioso y disparan la neurodegeneración aguda.
- Es bien conocido que la apoptosis juega un papel en la patogénesis del SIDA en el sistema inmune. Sin embargo, el VIH-1 también induce enfermedades neurológicas, las cuales pueden ser tratadas con compuestos moduladores de sirtuina de la invención.
- La pérdida neuronal también es una característica destacada de las enfermedades priónicas, tales como enfermedad de Creutzfeldt-Jakob en humanos, BSE en ganado (enfermedad de la vaca loca), enfermedad de tembladera 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 a estas enfermedades anteriores.
- En otra realización, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede utilizarse para tratar o prevenir cualquier enfermedad o trastorno relacionado con la axonopatía. La axonopatía distal es un tipo de neuropatía periférica que resulta en un poco de confusión metabólica o tóxica de neuronas del sistema nervioso periférico (SNP). Es la respuesta más común de los nervios a alteraciones metabólicas o tóxicas, y de este modo puede ser provocada por enfermedades metabólicas tales como diabetes, falla renal, síndromes de deficiencia tales como mala nutrición y alcoholismo, o los efectos de toxinas o fármacos. Aquellos con axonopatías distales a menudo presentan alteraciones sensoriomotoras simétricas en guante y calcetín. Los reflejos osteotendinosos y las funciones del sistema nervioso autónomo (SNA) también se pierden o disminuyen en las áreas afectadas.
- Las neuropatías diabéticas son trastornos neuropáticos que están asociados con la diabetes mellitus. Condiciones relativamente comunes que pueden estar asociadas con la neuropatía diabética incluyen parálisis del tercer nervio; mononeuropatía; mononeuritis múltiple; amiotrofia diabética; una polineuropatía dolorosa; neuropatía autonómica; y neuropatía toracoabdominal.
- La neuropatía periférica es el término médico para el daño a los nervios del sistema nervioso periférico, que puede ser causado ya sea por enfermedades nerviosas o por efectos secundarios de una enfermedad sistémica. Las principales causas de neuropatía periférica incluyen convulsiones, deficiencias nutricionales y VIH, aunque la diabetes es la causa más probable.
- En una realización ejemplar, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede utilizarse para tratar o prevenir esclerosis múltiple (EM), incluyendo EM recurrente y EM monosintomática, y otras afecciones desmielinizantes, tales como, por ejemplo, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (PDIC) o síntomas asociados con los mismos.
- En otra realización, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede utilizarse para tratar trauma a los nervios, incluyendo, trauma debido a enfermedad, lesión (incluyendo intervención quirúrgica) o trauma ambiental (por ejemplo, neurotoxinas, alcoholismo, etc.).
- Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina también pueden utilizarse para prevenir, tratar y aliviar síntomas de varios trastornos del SNP. La expresión "neuropatía periférica" abarca un amplio rango de trastornos en los cuales los nervios fuera del cerebro y nervios periféricos de la médula espinal se han dañado. Neuropatía periférica también puede referirse a una neuritis periférica o si muchos nervios están implicados, pueden utilizarse los términos polineuropatía o polineuritis.
- Las enfermedades del SNC que pueden tratarse con 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 del nervio periférico del plexo braquial).
- En otra realización, un compuesto activador de sirtuina puede utilizarse para tratar o prevenir una enfermedad de poliglutamina. Enfermedades de poliglutamina ejemplares incluyen atrofia muscular espinobulbar (enfermedad de Kennedy), enfermedad de Huntington (EH), atrofia dentatorubro-pálidoluisiana (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.

5 Se divulga un método para tratar una célula del sistema nervioso central para prevenir daño en respuesta a una disminución en el flujo de sangre a la célula. Típicamente la gravedad del daño que puede prevenirse dependerá en gran parte del grado de reducción en el flujo de sangre a la célula y la duración de la reducción. En una realización, puede prevenirse la muerte celular apoptótica o necrótica. En otra realización, puede prevenirse el daño mediado isquémico, tal como edema citotóxico o anoxemia del tejido del sistema nervioso central. En cada realización, la célula del sistema nervioso central puede ser una célula de la médula o una célula del cerebro.

10 Otro aspecto abarca administrar un compuesto activador de sirtuina a un sujeto para tratar una afección isquémica del sistema nervioso central. Un número de afecciones isquémicas del sistema nervioso central pueden ser tratadas por los compuestos activadores de sirtuina descritos en la presente. En una realización, la condición isquémica es un accidente cerebrovascular que resulta en cualquier tipo de daño al sistema nervioso central isquémico, tal como muerte celular apoptótica o necrótica, edema citotóxico o anoxia de tejido del sistema nervioso central. El accidente cerebrovascular puede impactar cualquier área del cerebro o puede ser causado por cualquier etiología que se conoce que comúnmente resulta en la ocurrencia de un accidente cerebrovascular. En una alternativa de la presente
15 realización, el accidente cerebrovascular es un accidente cerebrovascular troncoencefálico. En otra alternativa de la presente realización, el accidente cerebrovascular es un accidente cerebrovascular cerebelar. En otra realización, el accidente cerebrovascular es un accidente cerebrovascular embólico. En otra alternativa, el accidente cerebrovascular puede ser un accidente cerebrovascular hemorrágico. En otra realización, el accidente
20 cerebrovascular es un accidente cerebrovascular trombótico.

En otro aspecto, un compuesto activador de sirtuina puede administrarse para reducir el tamaño del infarto del núcleo isquémico que sigue a la afección isquémica del sistema nervioso central. Más aun, un compuesto activador de sirtuina también puede administrarse de forma beneficiosa para reducir el tamaño de la penumbra isquémica o zona de transición que sigue a la afección isquémica del sistema nervioso central.

25 En una realización, un régimen de fármaco de combinación puede incluir fármacos o compuestos para el tratamiento o la prevención de trastornos neurodegenerativos o afecciones secundarias asociadas con estas condiciones. Por lo tanto, un régimen de fármaco de combinación puede incluir uno o más activadores de sirtuina y uno o más agentes antineurodegeneración.

Trastornos de coagulación de la sangre

30 En otros aspectos, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para tratar o prevenir trastornos de coagulación de la sangre (o trastornos hemostáticos). Tal como se utiliza en la presente de manera intercambiable, las expresiones "hemostasia" y "coagulación de la sangre" se refieren al control de sangrado, incluyendo las propiedades fisiológicas de vasoconstricción y coagulación. La coagulación de la sangre ayuda a mantener la integridad de la circulación mamífera después de una
35 lesión, inflamación, enfermedad, defecto congénito, disfunción u otra interrupción. Además, la formación de coágulos de sangre no sólo limita el sangrado en caso de una lesión (hemostasia), sino que puede conducir a daño de órganos serios y muerte en el contexto de enfermedades ateroscleróticas mediante oclusión de una arteria o vena importante. La trombosis es de este modo la formación de un coágulo de sangre en el momento y lugar equivocados.

40 Por consiguiente, la presente invención proporciona tratamientos de anticoagulación y antitrombóticos con el objetivo de inhibir la formación de coágulos de sangre para prevenir o tratar trastornos de coagulación de la sangre, tales como infarto del miocardio, accidente cerebrovascular, pérdida de una extremidad por enfermedad arterial periférica o embolismo pulmonar.

45 Tal como se utiliza de manera intercambiable en la presente, "modular o modulación de la hemostasia" y "regular o regulación de la hemostasia" incluye la inducción (por ejemplo, estimulación o aumento) de la hemostasia, así como la inhibición (por ejemplo, reducción o disminución) de la hemostasia.

Se divulga un método para reducir o inhibir la hemostasia en un sujeto al administrar un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina. Las composiciones y métodos divulgados en la presente son útiles para el tratamiento o la prevención de trastornos trombóticos. Tal como se utiliza en la presente,
50 la expresión "trastorno trombótico" incluye cualquier trastorno o afección caracterizado por coagulación o actividad hemostática excesiva o no deseada o un estado hipercoagulable. Los trastornos trombóticos incluyen enfermedades o trastornos que implican la adhesión de plaquetas y formación de trombos y puede manifestarse como una propensión aumentada a formar trombosis, por ejemplo, un mayor número de trombosis, trombosis a una temprana edad, una tendencia familiar a la trombosis y trombosis en sitios inusuales.

55 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 afecciones secundarias asociadas con estas condiciones. 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 de anticoagulación o antitrombosis.

Control del peso

5 En otro aspecto, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para tratar o prevenir el aumento de peso u obesidad en un sujeto. Por ejemplo, pueden utilizarse compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina, por ejemplo, para tratar o prevenir la obesidad hereditaria, obesidad dietética, obesidad relacionada con hormonas, obesidad relacionada con la administración de medicación, 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

10 obeso, que probablemente se vuelva obeso, con sobrepeso o que probablemente vaya a tener sobrepeso. Los sujetos que probablemente se vuelvan obesos o que vayan a tener sobrepeso pueden identificarse, por ejemplo, en base a los antecedentes familiares, genérica, dieta, nivel de actividad, ingesta de medicamentos o varias combinaciones de los mismos.

15 En otras realizaciones, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden ser administrados a sujetos que sufren de una variedad de otras enfermedades y condiciones que pueden ser tratadas o prevenidas al promover la pérdida de peso en el sujeto. Dichas enfermedades incluyen, por ejemplo, presión sanguínea alta, hipertensión, colesterol en sangre alto, dislipidemia, diabetes tipo 2, resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia, enfermedad coronaria, angina de pecho, falla cardíaca congestiva, accidente cerebrovascular, cálculos biliares, colecistitis y colelitiasis, gota,

20 osteoartritis, apnea del sueño obstructiva y problemas respiratorios, algunos tipos de cáncer (tales como endometrial, de mama, de próstata y de colon), complicaciones en el embarazo, mala salud reproductiva femenina (tal como irregularidades menstruales, infertilidad, ovulación irregular), problemas de control de la vejiga (tal como inconsistencia por estrés); nefrolitiasis de ácido úrico; trastornos psicológicos (tal como depresión, trastornos alimenticios, imagen corporal distorsionada y baja autoestima). Finalmente, los pacientes con SIDA pueden

25 desarrollar lipodistrofia o resistencia a la insulina en respuesta a las terapias de combinación para SIDA.

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

30 En otras realizaciones, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para reducir el apetito y/o aumentar la saciedad, provocando de este modo la pérdida de peso o evitando el aumento de peso. Un sujeto que necesita dicho tratamiento puede ser un sujeto que tiene sobrepeso, es obeso o un sujeto que probablemente vaya a tener sobrepeso o se vuelva obeso. El método puede comprender administrar diariamente, o cada dos días, o una vez por semana, una dosis, por ejemplo, en la forma de una pastilla, a un sujeto. La dosis puede ser una "dosis que reduce el apetito".

35 En una realización ejemplar, 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.

40 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 medicaciones que pueden estimular el apetito o provocar aumento de peso, en particular, aumento de peso debido a factores que no sean retención de agua.

Trastornos metabólicos/diabetes

45 En otro aspecto, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para tratar o prevenir un trastorno metabólico, tal como resistencia a la insulina, un estado pre-diabético, diabetes tipo II y/o complicaciones de los mismos. La administración de los compuestos moduladores de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede aumentar la sensibilidad a la insulina y/o disminuir los niveles de insulina en un sujeto. Un sujeto que necesita dicho tratamiento puede ser un sujeto que

50 tiene resistencia a la insulina u otro síntoma precursor de diabetes tipo II, que tiene diabetes tipo II, o que es probable que desarrolle cualquiera de estas condiciones. Por ejemplo, el sujeto puede ser un sujeto que tiene resistencia a la insulina, por ejemplo, que tiene altos niveles circulantes de insulina y/o afecciones asociadas, tales como hiperlipidemia, dislipogénesis, hipercolesterolemia, tolerancia a la glucosa alterada, alto nivel de glucosa en sangre, otras manifestaciones del síndrome X, hipertensión, aterosclerosis y lipodistrofia.

55 En una realización ejemplar, 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 un trastorno metabólico. Por ejemplo, uno o más compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden administrarse en combinación con uno o más agentes antidiabéticos.

Enfermedades inflamatorias

En otros aspectos, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para tratar o prevenir una enfermedad o trastorno asociado con la inflamación. Compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden administrarse antes del inicio, al inicio o después del inicio de la inflamación. Cuando se usan profilácticamente, los compuestos se proporcionan preferiblemente antes de cualquier respuesta inflamatoria o síntoma. La administración de los compuestos puede prevenir o atenuar las respuestas inflamatorias o los síntomas.

En otra realización, compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para tratar o prevenir alergias y condiciones respiratorias, incluidos 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 utilizarse para tratar infecciones crónicas por hepatitis, incluidas hepatitis B y hepatitis C.

Adicionalmente, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para tratar enfermedades autoinmunes y/o inflamación asociada con enfermedades autoinmunes tales como artritis, incluyendo artritis reumatoide, artritis psoriática y espondilitis anquilosante, así como enfermedades autoinmunes de órganos-tejidos (por ejemplo, síndrome de Raynaud), colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, mucositis oral, escleroderma, miastenia gravis, rechazo a trasplante, choque endotóxico, sepsis, psoriasis, eczema, dermatitis, esclerosis múltiple, tiroiditis autoinmune, uveítis, lupus sistémico eritematoso, enfermedad de Addison, enfermedad poliglandular autoinmune (también conocida como síndrome poliglandular autoinmune) y enfermedad de Grave.

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

Enrojecimiento

En otro aspecto, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para reducir la incidencia o gravedad del enrojecimiento y/o sofocos que son síntomas de un trastorno. Por ejemplo, el método en cuestión incluye el uso de compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina, sola o en combinación con otros agentes, para reducir la incidencia o gravedad del enrojecimiento y/o sofocos en pacientes con cáncer. En otras realizaciones, el método proporciona el uso de compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina para reducir la incidencia o gravedad del enrojecimiento y/o sofoco en mujeres menopáusicas y postmenopáusicas.

En otro aspecto, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse como una terapia para reducir la incidencia o gravedad del enrojecimiento y/o sofocos que son efectos secundarios de la terapia con otro fármaco, por ejemplo, enrojecimiento inducido por fármacos. En ciertas realizaciones, un método para tratar y/o prevenir el enrojecimiento inducido por fármacos comprende administrar a un paciente que lo necesita una formulación que comprende al menos un compuesto que induce enrojecimiento y al 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 un enrojecimiento inducido por fármacos comprende administrar por separado uno o más compuestos que inducen el enrojecimiento y uno o más compuestos moduladores de sirtuina, por ejemplo, en donde el compuesto modulador de sirtuina y agente que induce enrojecimiento no han sido formulados en las mismas composiciones. Cuando se utilizan formulaciones separadas, el compuesto modulador de sirtuina puede administrarse (1) al momento de la administración del agente que induce el enrojecimiento, (2) intermitentemente con el agente que induce el enrojecimiento, (3) no simultáneamente con respecto a la administración del agente que induce el enrojecimiento, (4) antes de la administración del agente que induce el enrojecimiento, (5) posteriormente a la administración del agente que induce el enrojecimiento y (6) varias combinaciones de los mismos. Los agentes que inducen el enrojecimiento ejemplares incluyen, por ejemplo, niacina, faloxifeno, antidepresivos, antipsicóticos, quimioterapéuticos, bloqueadores de canales de calcio y antibióticos.

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

Se divulga un método para tratar y/o prevenir la hiperlipidemia con efectos secundarios de enrojecimiento 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 enrojecimiento 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 enrojecimiento de

antidepresivos o agente antipsicótico. Por ejemplo, compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse en conjunto (administrados por separado o juntos) con un inhibidor de recaptación de serotonina o un antagonista del receptor de 5HT2.

5 En ciertas realizaciones, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse como parte de un tratamiento con un inhibidor de recaptación de serotonina (IRS) para reducir el enrojecimiento. En otra realización representativa, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para reducir los efectos secundarios de enrojecimiento de agentes quimioterapéuticos, tales como ciclofosfamida y tamoxifén.

10 En otra realización, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para reducir los efectos secundarios de enrojecimiento de bloqueadores de canales de calcio, tales como amlodipina.

15 En otra realización, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para reducir los efectos secundarios de enrojecimiento de antibióticos. Por ejemplo, compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse en combinación con levofloxacina.

Trastornos oculares

Se divulga un método para inhibir, reducir o tratar de otro modo los problemas de visión al administrar a un paciente una dosificación terapéutica de un modulador de sirtuina seleccionado de un compuesto divulgado en la presente o una sal, profármaco o un derivado metabólico de la misma farmacéuticamente aceptable.

20 En ciertos aspectos de la invención, los problemas de visión son provocados por daño al nervio óptico o sistema nervioso central. En realizaciones particulares, el daño al nervio óptico es provocado por presión intraocular alta, tal como la creada por glaucoma. En otras realizaciones particulares, el daño al nervio óptico es provocado por hinchazón del nervio, que a menudo es asociado con una infección o una respuesta inmune (por ejemplo, autoinmune) tal como en neuritis óptica.

25 En ciertos aspectos de la invención, los problemas de visión son causados por daño retinal. En realizaciones particulares, el daño retinal es causado por alteraciones en el flujo de sangre hacia el ojo (por ejemplo, arteriosclerosis, vasculitis). En realizaciones particulares, el daño retinal es causado por una interrupción de la mácula (por ejemplo, degeneración macular exudativa o no exudativa).

30 Enfermedades retinales ejemplares incluyen degeneración macular asociada con la edad exudativa, degeneración macular asociada con la edad no exudativa, prótesis electrónica de retina y degeneración macular asociada con la edad de trasplante de EPR, epiteliopatía pigmentaria placoide multifocal aguda, necrosis retinal aguda, enfermedad de Best, oclusión de la arteria retinal de rama, oclusión de la vena retinal de rama, retinopatías autoinmunes asociadas y relacionadas con cáncer, oclusión de la arteria retinal central, oclusión de la vena retinal central, coriorretinopatía serosa central, enfermedad de Eales, membrana epimacular, degeneración en empalizada, 35 Macroaneurisma, edema macular diabético, edema macular de Irvine-Gass, agujero macular, membranas neovasculares subretinales, neuroretinitis subaguda unilateral difusa, edema macular cistoide no pseudofáquico, síndrome de presunta histoplasmosis ocular, desprendimiento de la retina exudativo, desprendimiento de la retina post operativo, desprendimiento de la retina proliferativo, desprendimiento de la retina regmatógeno, desprendimiento de la retina traccional, retinitis pigmentaria, retinitis por CMV, retinoblastoma, retinopatía del prematuro, retinopatía en perdigonada, retinopatía diabética de fondo, retinopatía diabética proliferativa, retinopatía de hemoglobinopatías, retinopatía de Purtscher, retinopatía de Valsalva, Retinosquiasis juvenil, Retinosquiasis senil, 40 síndrome de Terson y síndromes de las manchas blancas.

Otras enfermedades ejemplares incluyen infecciones oculares bacterianas (por ejemplo, conjuntivitis, queratitis, tuberculosis, sífilis, gonorrea), infecciones virales (por ejemplo, virus del herpes simplex ocular, virus zoster de la varicela, retinitis de citomegalovirus, virus de inmunodeficiencia humana (VIH)) así como necrosis retinal externa progresiva secundaria para VIH u otras enfermedades oculares asociadas con VIH y asociadas con inmunodeficiencia. Además, las enfermedades oculares incluyen infecciones fúngicas (por ejemplo, Candida choroiditis, histoplasmosis), infecciones por protozoos (por ejemplo, toxoplasmosis) y otras tales como toxocariasis ocular y sarcoidosis.

50 Se divulga un método para inhibir, reducir o tratar los problemas de 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), al administrar al sujeto que necesita dicho tratamiento una dosificación terapéutica de un modulador de sirtuina divulgado en la presente.

55 Se divulga un método para inhibir, reducir o tratar los problemas de visión en un sujeto que se somete a cirugía, incluyendo cirugía ocular y otras cirugías realizadas en la posición boca abajo tal como cirugía de la médula ósea, al administrar al sujeto que necesita dicho tratamiento una dosificación terapéutica de un modulador de sirtuina divulgado en la presente. Cirugías oculares incluyen cataratas, iridotomía y reemplazos de lentes.

Se divulga el tratamiento, incluyendo inhibición y tratamiento profiláctico, de enfermedades oculares asociadas con la edad, que incluyen cataratas, ojos secos, degeneración macular asociada con la edad (DME), daño retinal y similares, al administrar al sujeto que necesita dicho tratamiento una dosificación terapéutica de un modulador de sirtuina divulgado en la presente.

5 Se divulga la prevención o tratamiento de daño al ojo causado por estrés, lesión química o radiación, al administrar al sujeto que necesita dicho tratamiento una dosificación terapéutica de un modulador de sirtuina divulgado en la presente. La radiación o daño electromagnético al ojo pueden incluir el causado por CRT o exposición a la luz solar o UV.

10 En una realización, un régimen de fármaco de combinación puede incluir fármacos o compuestos para el tratamiento o la prevención de trastornos oculares o afecciones secundarias asociadas con estas condiciones. Por lo tanto, un régimen de fármaco de combinación puede incluir uno o más activadores de sirtuina y uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento de un trastorno ocular.

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

Enfermedades y trastornos mitocondriales

20 Se divulgan métodos para tratar enfermedades o trastornos que se beneficiarían de la actividad mitocondrial aumentada. Los métodos involucran administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto activador de sirtuina. La actividad mitocondrial aumentada se refiere a aumentar la actividad de las mitocondrias, manteniendo a la vez las cantidades generales de mitocondrias (por ejemplo, masa mitocondrial), aumentar la cantidad de mitocondrias aumentando así la actividad mitocondrial (por ejemplo, al estimular la biogénesis mitocondrial) o combinaciones de los mismos. En ciertas realizaciones, las enfermedades y trastornos que se beneficiarían de una actividad mitocondrial aumentada incluyen enfermedades o trastornos asociados con disfunción mitocondrial.

30 En ciertas realizaciones, los métodos para tratar enfermedades o trastornos que se beneficiarían de una actividad mitocondrial aumentada pueden comprender identificar a un sujeto que sufre de una disfunción mitocondrial. Los métodos para diagnosticar una disfunción mitocondrial pueden implicar análisis genéticos moleculares, patológicos y/o bioquímicos. Enfermedades y trastornos asociados con la disfunción mitocondrial incluyen enfermedades y trastornos en los cuales el déficit en la actividad de la cadena respiratoria mitocondrial contribuye al desarrollo de la patofisiología de dichas enfermedades o trastornos en un mamífero. Enfermedades o trastornos que se beneficiarían de la actividad mitocondrial en general incluyen, por ejemplo, enfermedades en las cuales la lesión oxidativa mediada por radicales libres conduce a la degeneración de tejido, las enfermedades en las cuales las células se someten de manera inapropiada a apoptosis, y enfermedades en las cuales las células no logran someterse a apoptosis.

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

45 Se divulgan métodos para tratar enfermedades o trastornos que se beneficiarían de una actividad mitocondrial aumentada al administrar a un sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto activador de sirtuina. Enfermedades o trastornos ejemplares incluyen, por ejemplo, trastornos neuromusculares (por ejemplo, ataxia de Friedreich, distrofia muscular, esclerosis múltiple, etc.), trastornos de inestabilidad neuronal (por ejemplo, trastornos con convulsiones, migraña, etc.), retraso en el desarrollo, trastornos neurodegenerativos (por ejemplo, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica, etc.), isquemia, acidosis tubular renal, neurodegeneración asociada con la edad y declive cognitivo, fatiga por quimioterapia, menopausia inducida por quimioterapia o asociada con la edad o irregularidades del ciclo menstrual u ovulación, miopatías mitocondriales, daño mitocondrial (por ejemplo, acumulación de calcio, excitotoxicidad, exposición al óxido nítrico, hipoxia, etc.) y desregulación mitocondrial.

55 La distrofia muscular se refiere a una familia de enfermedades que implican el deterioro de estructura y función neuromuscular, a menudo que resulta en atrofia del músculo esquelético y disfunción neuromuscular, tal como distrofia muscular de Duchenne. En ciertas realizaciones, los compuestos activadores de sirtuina pueden utilizarse para reducir la tasa de deterioro en las capacidades funcionales musculares y para mejorar el estado funcional muscular en pacientes con distrofia muscular.

En ciertas realizaciones, los compuestos moduladores de sirtuina pueden ser útiles para el tratamiento de miopatías mitocondriales. Las miopatías mitocondriales se encuentran en un rango de debilidad lentamente progresiva y leve de los músculos extraoculares a miopatías infantiles y encefalomiopatías de múltiples sistemas graves y fatales. Algunos síndromes han sido definidos con un poco de superposición entre ellos. Síndromes establecidos que afectan el músculo incluyen oftalmoplegia externa progresiva, el síndrome de Kearns-Sayre (con oftalmoplegia, retinopatía pigmentaria, defectos de la conducción cardíaca, ataxia cerebelar y sordera neurosensorial), el síndrome MELAS (encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios sensoriales similares a accidentes cerebrovasculares), el síndrome MERFF (epilepsia mioclónica y fibras rojas rasgadas), distrofia muscular de las extremidades y miopatía infantil (benigna o grave y fatal).

- 5
- 10

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

15 Desempeño muscular

Se divulgan métodos para mejorar el desempeño muscular al administrar 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, capacidad de realizar una tarea física tal como ejercicio, trabajo físico, actividades deportivas, etc.), inhibir o retardar fatigas físicas, potenciar los niveles de oxígeno en la sangre, potenciar la energía en individuos saludables, mejorar la capacidad de trabajo y resistencia, reducir la fatiga muscular, reducir el estrés, mejorar la función cardíaca y cardiovascular, mejorar la capacidad sexual, aumentar los niveles de ATP muscular y/o reducir el ácido láctico en la 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.

- 20
- 25
- 30

El desempeño deportivo se refiere a la capacidad de los músculos del atleta de desempeñarse cuando participa en actividades deportivas. Desempeño, fuerza, velocidad y resistencia deportivos mejorados se miden mediante un aumento en la fuerza de contracción muscular, aumento en la amplitud de la contracción muscular, reducción del tiempo de reacción muscular entre la estimulación y la contracción. Atletas se refiere a un individuo que participa en deportes a cualquier nivel y que buscan alcanzar un nivel mejorado de fuerza, velocidad y resistencia en su desempeño, tal como, por ejemplo, fisicoculturistas, ciclistas, corredores de larga distancia, corredores de corta distancia, etc. El desempeño deportivo mejorado se manifiesta mediante la capacidad de superar la fatiga muscular, capacidad de mantener la actividad por periodos de tiempo más largos y tener un entrenamiento más efectivo.

En el campo del desempeño muscular de atletas, es deseable crear condiciones que permitan la competencia o entrenamiento a niveles más altos de resistencia durante un periodo de tiempo prolongado.

- 35

Se contempla que los métodos de la presente invención también serán efectivos en el tratamiento de condiciones patológicas asociadas con músculos, incluyendo sarcopenia aguda, por ejemplo, atrofia muscular y/o caquexia asociada con quemaduras, descanso en cama, inmovilización de una extremidad o cirugía importante torácica, abdominal y/u ortopédica.

- 40
- 45

En ciertas realizaciones, la invención proporciona composiciones dietéticas novedosas que comprenden moduladores de sirtuina, un método para su preparación y un método para utilizar las composiciones para la mejora del desempeño deportivo. Por consiguiente, se proporcionan composiciones terapéuticas, alimentos y bebidas que tienen acciones para mejorar la resistencia física y/o inhibir las fatigas físicas para aquellas personas involucradas en los ejercicios ampliamente definidos incluyendo los deportes que requieren resistencia y trabajos que requieren repetidos esfuerzos musculares. Dichas composiciones dietéticas pueden comprender adicionalmente electrolitos, cafeína, vitaminas, carbohidratos, etc.

Otros usos

Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para tratar o prevenir las infecciones virales (tales como infecciones por influenza, herpes o virus del papiloma) o como agentes antifúngicos. En ciertas realizaciones, compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden administrarse como parte de una terapia con fármacos de combinación con otro agente terapéutico para el tratamiento de enfermedades virales. En otra realización, compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden administrarse como parte de una terapia con fármacos de combinación con otro agente antifúngico.

- 50
- 55

Sujetos que pueden ser tratados como se describe en la presente incluyen eucariotas, tales como mamíferos, por ejemplo, humanos, ovinos, bovinos, equinos, porcinos, caninos, felinos, primates no humanos, ratones y ratas. Las células que pueden ser tratadas incluyen células eucariotas, por ejemplo, de un sujeto descrito anteriormente, o células vegetales, células de levadura y células procariotas, por ejemplo, células bacterianas. Por ejemplo,

compuestos moduladores pueden administrarse a animales de granja para mejorar su capacidad de soportar condiciones agrarias más largas.

Los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina también pueden utilizarse para aumentar la longevidad, resistencia al estrés y resistencia a la apoptosis en plantas. En una realización, se aplica un compuesto a plantas, por ejemplo, periódicamente, o a hongos. En otra realización, las plantas son modificadas genéticamente para producir un compuesto. En otra realización, las plantas y frutas son tratadas con un compuesto antes de recolectarlas y enviarlas a aumentar la resistencia al daño durante el envío. Las semillas vegetales también pueden ponerse en contacto con compuestos descritos en la presente, por ejemplo, para conservarlas.

En otras realizaciones, los compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para modular la longevidad en células de levadura. Situaciones en las cuales puede ser deseable extender la longevidad de las células de levadura incluyen cualquier proceso en el cual se utiliza levadura, por ejemplo, al hacer cerveza, yogurt y artículos de panadería, por ejemplo, pan. El uso de levadura que tiene una longevidad extendida puede resultar en utilizar menos levadura o en dejar que la levadura se active durante periodos de tiempo más largos. La levadura u otras células de mamífero utilizadas para producir de manera recombinante proteínas también pueden ser tratadas como se describe en la presente.

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

Dosis más altas de compuestos moduladores de sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina también pueden utilizarse como un pesticida al interferir con la regulación de genes silenciados y la regulación de la apoptosis durante el desarrollo. En la presente realización, un compuesto puede aplicarse a plantas utilizando un método conocido en la técnica que asegura que el compuesto está bio-disponible para larvas de insectos y no plantas.

Al menos en vista de la vinculación entre la reproducción y 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

Otros métodos contemplados en la presente incluyen métodos de detección para identificar compuestos o agentes que modulan sirtuinas. Un agente puede ser un ácido nucleico, tal como un aptámero. Los ensayos pueden llevarse a cabo en un formato en base a células o libre de células. Por ejemplo, un ensayo puede comprender incubar (o poner en contacto) una sirtuina con un agente de prueba en condiciones en las cuales una sirtuina puede ser modulada por un agente conocido para modular la sirtuina y monitorear o determinar el nivel de modulación de la sirtuina en presencia del agente de prueba con respecto a la ausencia del agente de prueba. El nivel de modulación de una sirtuina puede determinarse al determinar su capacidad de desacetilar un sustrato. Sustratos ejemplares son péptidos acetilados que pueden ser obtenidos de BIOMOL (Plymouth Meeting, PA). Sustratos preferidos incluyen péptidos de p53, tales como aquellos que comprenden un K382 acetilado. Un sustrato particularmente preferido es el Fluór de Lys-SIRT1 (BIOMOL), es decir, el péptido acetilado Arg-His-Lys-Lys. Otros sustratos son péptidos de las histonas humanas H3 y H4 o un aminoácido acetilado. Los sustratos pueden ser fluorogénicos. La sirtuina puede ser SIRT1, Sir2, SIRT3 o una porción 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 ensayo de actividad fluorescente HDAC/descubrimiento de fármaco (AK-500, BIOMOL Research Laboratories) puede utilizarse para determinar el nivel de acetilación. Ensayos similares se describen 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 (separadamente o simultáneamente) descritos en la presente, que pueden servir como testigos positivos o negativos. Las sirtuinas para su uso en los ensayos pueden ser proteínas sirtuina de longitud completa o porciones de las mismas. Dado que se ha mostrado en la presente que los compuestos activadores parecen interactuar con el extremo N-terminal de SIRT1, las proteínas para su uso en los ensayos incluyen porciones N-terminales de sirtuinas, por ejemplo, aproximadamente los aminoácidos 1-176 o 1-255 de SIRT1; aproximadamente los aminoácidos 1-174 o 1-252 de Sir2.

En una realización, un ensayo de detección comprende (i) poner en contacto una sirtuina con un agente de prueba y un sustrato acetilado en condiciones apropiadas para que la sirtuina desacetile el sustrato en ausencia del agente de prueba; y (ii) determinar el nivel de acetilación del sustrato, en donde un nivel más bajo de acetilación del sustrato en presencia del agente de prueba con respecto a la ausencia del agente de prueba indica que el agente de prueba

estimula la desacetilación por parte de la sirtuina, mientras que un nivel más alto de acetilación del sustrato en presencia del agente de prueba con respecto a la ausencia del agente de prueba indica que el mejor agente inhibe la desacetilación por parte de la sirtuina.

Los métodos para identificar un agente que modula, por ejemplo, estimula, sirtuinas *in vivo* pueden comprender (i) poner en contacto una célula con un agente de prueba y un sustrato que es capaz de ingresar a la célula en presencia de un inhibidor de HDAC clase I y clase II en condiciones apropiadas para que la sirtuina desacetile el sustrato en ausencia del agente de prueba y (ii) determinar el nivel de acetilación del sustrato, en donde un nivel más bajo de acetilación del sustrato en presencia del agente de prueba con respecto a la ausencia del agente de prueba indica que el agente de prueba estimula la desacetilación por parte de la sirtuina, mientras que un nivel más alto de acetilación del sustrato en presencia del agente de prueba con respecto a la ausencia del agente de prueba indica que el agente de prueba inhibe la desacetilación por parte de la sirtuina. Un sustrato preferido es un péptido acetilado, que también es preferiblemente fluorogénico, como se describe más adelante en la presente. El método puede comprender además el lisado de células para determinar el nivel de acetilación del sustrato. Pueden agregarse sustratos para células a una concentración en el rango de aproximadamente 1 μ M a aproximadamente 10 mM, preferiblemente de aproximadamente 10 μ M a 1 mM, incluso más preferiblemente de aproximadamente 100 μ M a 1 mM, tal como aproximadamente 200 μ M. Un sustrato preferido es una lisina acetilada, por ejemplo, ϵ -acetil lisina (Flúor de Lys, FdL) o Flúor de Lys-SIRT1. Un inhibidor preferido de HDAC clase I y clase II es la tricostatina A (TSA), que puede utilizarse a concentraciones en el rango de aproximadamente 0,01 a 100 μ M, preferiblemente de aproximadamente 0,1 a 10 μ M, tal como 1 μ M. La incubación de células con el compuesto de prueba y el sustrato puede llevarse a cabo durante aproximadamente 10 minutos a 5 horas, preferiblemente durante aproximadamente 1-3 horas. Dado que la TSA inhibe todas las HDAC clase I y clase II y que ciertos sustratos, por ejemplo, Flúor de Lys, es un sustrato pobre para SIRT2 e incluso menos sustrato para SIRT3-7, dicho ensayo puede utilizarse para identificar moduladores de SIRT1 *in vivo*.

5. Composiciones farmacéuticas

Los compuestos moduladores de sirtuina descritos en la presente pueden formularse en una manera convencional utilizando uno o más portadores o excipientes fisiológicamente o farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo, los compuestos moduladores de sirtuina y sus sales y solvatos farmacéuticamente aceptables pueden formularse para su administración mediante, por ejemplo, inyección (por ejemplo, SubQ, IM, IP), inhalación o insuflación (ya sea a través de la boca o la nariz) o administración oral, bucal, sublingual, transdérmica, nasal, parenteral o rectal. En una realización, un compuesto modulador de sirtuina puede administrarse localmente, en el sitio donde están presentes las células objetivo, es decir, en un tejido, órgano o fluido específico (por ejemplo, sangre, fluido cerebroespinal, etc.).

En otra realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula estructural (III), como se definió anteriormente, o un compuesto que tiene la fórmula estructural (VI), en donde ya sea:

i. X es $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CR}^{15}\text{R}^{16}-\text{T}$; y
cada uno de Z^{11} , Z^{12} , Z^{13} , Z^{14} e Y es CR; o

ii. X es $-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-\text{CR}^{15}\text{SR}^{16}-\text{T}$; y
 R^{11} y R^{12} son cada uno arilo opcionalmente sustituido; o

iii. X es $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-\text{T}$; y
 R^{12} es heterociclo bicíclico; y

un portador farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos moduladores de sirtuina pueden formularse para una variedad de modos de administración, incluyendo administración sistémica y tópica o localizada. Las técnicas y formulaciones pueden encontrarse en general en Remington's Pharmaceutical Sciences, Meade Publishing Co., Easton, PA. Para la administración parenteral, se prefiere la inyección, incluyendo intramuscular, intravenosa, intraperitoneal y subcutánea. Para la inyección, los compuestos pueden formularse en soluciones líquidas, preferiblemente en soluciones amortiguadoras fisiológicamente compatibles tales como solución de Hank o solución de Ringer. Además, los compuestos pueden formularse en forma sólida y disolverse nuevamente o suspenderse inmediatamente antes de su uso. También pueden incluirse formas liofilizadas.

Para la administración oral, las composiciones farmacéuticas pueden tomar la forma de, por ejemplo, comprimidos, píldoras o cápsulas preparados mediante medios convencionales con excipientes farmacéuticamente aceptables tales como agentes aglutinantes (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o metilcelulosa de hidroxipropilo); rellenos (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina o hidrogenofosfato de calcio); lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco o sílice); desintegrantes (por ejemplo, almidón de papa o glicolato de almidón de sodio); o agentes humectantes (por ejemplo, laurilsulfato de sodio). Los comprimidos pueden ser recubiertos mediante métodos bien conocidos en la técnica. Preparaciones líquidas para la administración oral pueden tomar la forma de, por ejemplo, soluciones, jarabes o suspensiones, o pueden presentarse como un producto seco para la

constitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Dichas preparaciones líquidas pueden prepararse mediante medios convencionales con aditivos farmacéuticamente aceptables tales como agentes de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, derivados de celulosa o grasas comestibles hidrogenadas); agentes emulsionantes (por ejemplo, lecitina o acacia); vehículos no acuosos (por ejemplo, aceite de almendras, ésteres aceitosos, alcohol etílico o aceites vegetales fraccionados) y conservantes (por ejemplo, metil o propil-p-hidroxibenzoatos o ácido sórbico). Las preparaciones también pueden contener sales amortiguadoras, agentes saborizantes, colorantes o edulcorantes, según sea apropiado. Preparaciones para la administración oral pueden formularse de manera adecuada para proporcionar una liberación controlada del compuesto activo.

Para la administración mediante inhalación (por ejemplo, administración pulmonar), pueden administrarse de manera conveniente compuestos moduladores de sirtuina en la forma de una presentación de aerosol de 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 administrar una cantidad medida. Las cápsulas y cartuchos de, por ejemplo, gelatina, para su uso en un inhalador o insuflador pueden formularse de forma que contengan una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

Los compuestos moduladores de sirtuina pueden formularse para la administración parenteral mediante inyección, por ejemplo, mediante inyección de bolo o infusión continua. Las formulaciones para la inyección pueden presentarse en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o en recipientes de múltiples dosis, con un conservante agregado. Las composiciones pueden presentar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos aceitosos 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 libre de pirógenos estéril, antes de su uso.

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

Además de las formulaciones descritas anteriormente, los compuestos moduladores de sirtuina también pueden formularse como una preparación en depósito. Dichas formulaciones de acción prolongada pueden administrarse mediante implante (por ejemplo, subcutáneamente o intramuscularmente) o mediante inyección intramuscular. Por lo tanto, por ejemplo, los compuestos moduladores de sirtuina pueden formularse con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio de iones o como derivados moderadamente solubles, por ejemplo, como una sal moderadamente soluble. La fórmula de liberación controlada también incluye parches.

En ciertas realizaciones, los compuestos descritos en la presente pueden formularse para la administración al sistema nervioso central (SNC) (reseñado en Begley, *Pharmacology & Therapeutics* 104: 29-45 (2004)). Los abordajes convencionales para la administración de fármacos al SNC incluyen: estrategias neuroquirúrgicas (por ejemplo, inyección intracerebral o infusión intracerebroventricular); manipulación molecular del agente (por ejemplo, producción de una proteína de fusión quimérica que comprende un péptido de transporte que tiene una afinidad para una molécula de superficie de célula endotelial en combinación con un agente que es en sí incapaz de cruzar la BHE) en un intento de explotar una de las vías de transporte endógenas de la BHE; estrategias farmacológicas diseñadas para aumentar la solubilidad de lípidos de un agente (por ejemplo, conjugación de agentes solubles en agua un lípido o portadores de colesterol); y la interrupción transitoria de la integridad de la BHE mediante interrupción hiperosmótica (que resulta de la infusión de una solución de manitol en la arteria carótida o el uso de un agente biológicamente activo tal como un péptido de angiotensina).

Los liposomas son otro sistema de administración de fármacos que es fácilmente inyectable. Por consiguiente, en el método de la invención los compuestos activos también pueden administrarse en la forma de un sistema de administración de liposomas. Los liposomas son bien conocidos por un experto en la técnica. Pueden formarse liposomas a partir de una diversidad de fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina de fosfatidilcolinas. Los liposomas que pueden utilizarse para el método de invención abarcan todos los tipos de liposomas, incluyendo, a modo no taxativo, vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilamelares grandes y vesículas multilamelares.

Otra manera de producir una formulación, particularmente una solución, de un modulador de sirtuina tal como resveratrol o un derivado del mismo, es a través del uso de ciclodextrina. Por ciclodextrina se entiende α -, β - o γ -ciclodextrina. Las ciclodextrinas se describen en detalle en Pitha *et al.*, Patente de los Estados Unidos No. 4.727.064, que se incorpora a la presente a modo de referencia. Las ciclodextrinas son oligómeros cíclicos de glucosa; estos compuestos forman complejos de inclusión con cualquier fármaco cuya molécula puede ajustarse en las cavidades buscadoras de lipófilos de la molécula de ciclodextrina.

Las formas de dosificación de rápida desintegración o disolución son útiles para la absorción rápida, particularmente absorción bucal y sublingual, de agentes farmacéuticamente activos. Las formas de dosificación de fusión rápida son beneficiosas para pacientes, tales como pacientes mayores y pediátricos, quienes tienen dificultad para tragar

formas de dosificación sólidas típicas, tales como cápsulas y comprimidos. Adicionalmente, las formas de dosificación de fusión rápida superan las desventajas asociadas con, por ejemplo, formas de dosificación masticables, en donde la cantidad de tiempo que un agente activo permanece en la boca de un paciente juega un papel importante para determinar la cantidad de enmascaramiento del sabor y la medida en la que un paciente puede oponerse a la sensación arenosa en la garganta del agente activo.

Las composiciones farmacéuticas (incluidas preparaciones cosméticas) pueden comprender de aproximadamente 0,00001 a 100% tal como de 0,001 a 10% o de 0,1% a 5% en peso de uno o más compuestos moduladores de sirtuina descritos en la presente. En otra realización, 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.

En una realización, un compuesto modulador de sirtuina descrito en la presente se incorpora en una formulación tópica que contiene un portador tópico que en general se adecúa para la administración de fármacos tópica y que comprende cualquiera de dicho material conocido en la técnica. El portador tópico puede seleccionarse de modo de proporcionar la composición en la forma deseada, por ejemplo, como un ungüento, loción, crema, microemulsión, gel, aceite, solución o similar, y puede estar comprendido por un material de ya sea origen natural o sintético. Es preferible que el portador seleccionado no afecte de manera adversa el agente activo u otros componentes de la formulación tópica. Ejemplos de portadores tópicos adecuados para su uso en la presente incluyen agua, alcoholes y otros disolventes orgánicos no tóxicos, glicerina, aceite mineral, silicona, gel de petróleo, lanolina, ácidos grasos, aceites vegetales, parabenos, ceras y similares.

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

Los compuestos moduladores de sirtuina pueden incorporarse en ungüentos, los cuales son en general preparaciones semisólidas que se basan típicamente en petrolato u otros derivados de petróleo. La base de ungüento específico a utilizar, como apreciarán los expertos en la técnica, es una que proporcionará una administración de fármaco óptima y preferiblemente, proporcionará otras características deseadas como, por ejemplo, emoliencia o similar. Al igual que con otros portadores o vehículos, una base de ungüento debe ser inerte, estable, no irritante y no sensibilizadora.

Los compuestos moduladores de sirtuina pueden incorporarse en lociones, que son en general preparaciones a ser aplicadas a la superficie de la piel sin fricción y son típicamente preparaciones líquidas o semilíquidas en las cuales las partículas sólidas, incluyendo el agente activo, están presentes en una base de agua o alcohol. Las lociones son a menudo suspensiones de sólidos y pueden comprender una emulsión aceitosa líquida del tipo aceite en agua.

Los compuestos moduladores de sirtuina pueden incorporarse en cremas, las cuales en general son emulsiones líquidas viscosas o semisólidas, ya sea aceite en agua o agua en aceite. Las bases en crema son lavables en agua y contienen una fase de aceite, un emulsionante y una fase acuosa. La fase de aceite está en general comprendida por petrolato y un alcohol graso tal como alcohol de cetilo o estearilo; una fase acuosa a menudo, aunque no necesariamente, excede la fase de aceite en volumen y generalmente contiene un humectante. El emulsionante en una formulación de crema, como se explica en Remington, *supra*, es en general un surfactante no iónico, aniónico, catiónico o anfotérico.

Los compuestos moduladores de sirtuina pueden incorporarse en microemulsiones, que son en general dispersiones termodinámicamente estables e isotrópicamente claras de dos líquidos inmiscibles, tales como aceite y agua, estabilizadas por una película interfacial de moléculas surfactantes (Encyclopedia of Pharmaceutical Technology (New York: Marcel Dekker, 1992), volumen 9).

Los compuestos moduladores de sirtuina pueden incorporarse en formulaciones en gel, que son en general sistemas semisólidos que consisten en suspensiones compuestas por partículas inorgánicas pequeñas (sistemas de dos fases) o moléculas orgánicas grandes distribuidas básicamente uniformemente en un líquido portador (geles de una única fase). Aunque los geles comúnmente emplean un líquido portador acuoso, alcoholes y aceites también pueden utilizarse como el líquido portador.

Otros agentes activos también pueden incluirse en formulaciones, por ejemplo, otros agentes antiinflamatorios, analgésicos, agentes antimicrobianos, agentes antifúngicos, antibióticos, vitaminas, antioxidantes y agentes bloqueadores del sol comúnmente encontrados en formulaciones de protectores solares incluyendo, a modo no taxativo, antranilatos, benzofenonas (particularmente benzofenona-3), derivados de alcanfor, cinamatos (por ejemplo, octil metoxicinamato), dibenzoil metanos (por ejemplo, butil metoxidibenzoil metano), ácido p-aminobenzoico (PABA) y derivados de los mismos, y salicilatos (por ejemplo, octil salicilato).

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

Las afecciones de los ojos pueden ser tratadas o prevenidas mediante, por ejemplo, inyección sistémica, tópica, intraocular de un compuesto modulador de sirtuina, o mediante inserción de un dispositivo de liberación sostenida que libera un compuesto modulador de sirtuina. Un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede administrarse 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 la córnea y regiones internas del ojo, como por ejemplo, la cámara anterior, cámara posterior, cuerpo vítreo, humor acuoso, humor vítreo, córnea, iris/ciliar, lentes, coroides/retina y esclerótica. El vehículo oftálmico farmacéuticamente aceptable puede, por ejemplo, ser un ungüento, aceite vegetal o un material encapsulante. Alternativamente, los compuestos de la invención pueden inyectarse directamente en el humor vítreo o acuoso. En una alternativa adicional, los compuestos pueden administrarse sistémicamente, tal como mediante infusión o inyección intravenosa, para el tratamiento del ojo.

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

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

La toxicidad y eficacia terapéutica de los compuestos moduladores de sirtuina pueden determinarse por procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales experimentales. La LD₅₀ es la dosis letal para 50% de la población. La ED₅₀ es la dosis terapéuticamente efectiva para 50% de la población. La relación de dosis entre efectos tóxicos y terapéuticos (LD₅₀/ED₅₀) es el índice terapéutico. Los compuestos moduladores de sirtuina que exhiben índices terapéuticos grandes son preferidos. Aunque pueden utilizarse compuestos moduladores de sirtuina que exhiben efectos secundarios tóxicos, debe tenerse cuidado al diseñar un sistema de administración que dirige dichos compuestos al sitio de tejido afectado para minimizar el daño potencial a células no infectadas y, de este modo, reducir los efectos secundarios.

Los datos obtenidos de ensayos de cultivo celular y estudios en animales pueden utilizarse al formular un rango de dosificación para su uso en humanos. La dosificación de dichos compuestos puede encontrarse en un rango de concentraciones en circulación que incluyen la ED₅₀ con poca toxicidad o sin toxicidad. La dosificación puede variar en este rango dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración utilizada. Para cualquier compuesto, la dosis terapéuticamente efectiva puede estimarse inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular. Una dosis puede formularse en modelos de animales para alcanzar un rango de concentración en plasma en circulación que incluye la IC₅₀ (es decir, la concentración del compuesto de prueba que alcanza una inhibición medio-máxima de los síntomas) según se determina en cultivo celular. Dicha información puede utilizarse para determinar más precisamente las dosis útiles en humanos. Los niveles en plasma pueden medirse, por ejemplo, mediante cromatografía líquida de alto rendimiento.

6. Kits

También se proporcionan en la presente kits, por ejemplo, kits con fines terapéuticos o kits para modular la longevidad de las células o modular la apoptosis. Un kit puede comprender uno o más compuestos moduladores de sirtuina, por ejemplo, en dosis medidas previamente. Un kit puede comprender opcionalmente dispositivos para poner en contacto células con los compuestos e instrucciones para su uso. Los dispositivos incluyen jeringas, stents y otros dispositivos para introducir un compuesto modulador de sirtuina en un sujeto (por ejemplo, el vaso sanguíneo de un sujeto) o aplicarlo a la piel de un sujeto.

En otra realización, la invención proporciona una composición de materia que comprende un modulador de sirtuina de la presente invención y otro agente terapéutico (los mismos utilizados en terapias de combinación y composiciones de combinación) en formas de dosificación separadas, pero asociadas entre sí. La expresión "asociadas entre sí", tal como se utiliza en la presente, significa que las formas de dosificación separadas están envasadas juntas o unidas de otro modo entre sí de modo que es fácilmente evidente que las formas de dosificación separadas pretenden ser vendidas y administradas como parte del mismo régimen. El agente y modulador de sirtuina son preferiblemente envasados juntos en un envase de ampolla u otro envase de múltiples cámaras, o como recipientes sellados por separado conectados (tales como sobres de papel de aluminio o similares) que pueden ser separados por el usuario (por ejemplo, al rasgar las líneas de rotura entre los dos recipientes).

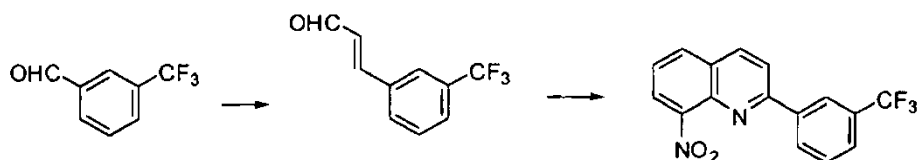
En otra realización, la invención proporciona un kit que comprende en recipientes separados, a) un modulador de sirtuina de la presente invención; y b) otro agente terapéutico tal como el descrito en otra parte de la memoria descriptiva.

La puesta en 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 son bien conocidas para un experto en la técnica. Dichas técnicas se explican completamente en la bibliografía. Ver, 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 los Estados Unidos No: 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).

Ejemplificación

La invención que ahora se describe en general, será comprendida más fácilmente con referencia a los siguientes ejemplos que se incluyen meramente a efectos de ilustración de ciertos aspectos y realizaciones de la presente invención y no pretenden limitar la invención de ninguna manera.

Preparación de 8-nitro-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina:

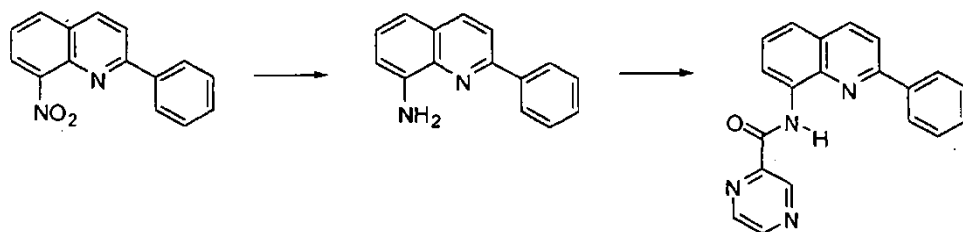


Se recogió 3-trifluorometilbenzaldehído (20,0 g, 0,115 mol) en 500 mL de CH_3CN junto con (trifenilfosforanilideno)acetaldehído (35 g, 0,115 mol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. Luego se concentró a presión reducida. El residuo resultante se recogió en 800 mL de pentano/ EtOAc 1:1 y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar (E)-3-(3-(trifluorometil)fenil)acrilaldehído bruto como un aceite rojo oscuro. Este material se recogió en 30 mL de CH_2Cl_2 . La mezcla resultante se agregó lentamente a una suspensión de 2-nitroanilina (4 g, 0,029 mol) en HCl concentrado (50 mL) a 90°C durante un período de 30 min. La mezcla de reacción resultante se agitó a 90°C durante 1 h más. La mezcla de reacción se enfrió hasta alcanzar la temperatura ambiente y se lavó con CH_2Cl_2 (2 x 100 mL). La capa acuosa se neutralizó con 5% de NaOH acuoso y se extrajo con CH_2Cl_2 . Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía (pentano/ EtOAc) para proporcionar 800 mg de 8-nitro-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina. EM (ESI) calculada para $\text{C}_{16}\text{H}_9\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_2$ (m/z): 318,06, encontrada: 319 [M+1].

El siguiente material se preparó de forma similar:

a. 8-nitro-2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolina

Preparación de N-(2-fenilquinolin-8-il)pirazina-2-carboxamida:



Paso 1) Preparación de 2-fenilquinolin-8-amina:

Se preparó 8-nitro-2-fenilquinolina de acuerdo con el procedimiento descrito por Elderfield *et al* en J. American Chemical Society (1946), vol 68, p. 1589. En un procedimiento típico se disolvió 8-nitro-2-fenilquinolina (510 mg) en 100 mL de MeOH. Después de la adición de 10% de Pd sobre C (50 mg), la mezcla de reacción se purgó completamente con nitrógeno. Luego se agitó vigorosamente a temperatura ambiente bajo 1 atm de hidrógeno durante 18 h. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 380 mg de 2-fenilquinolin-8-amina. EM (ESI) calculada para $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_2$ (m/z): 220,10, encontrada: 221 [M+1].

Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

- a. 2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-amina
- b. 2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-8-amina

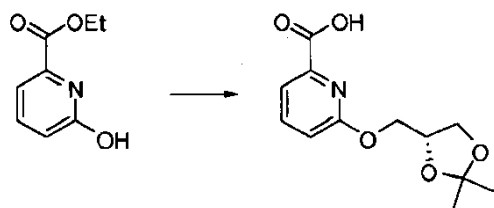
Paso 2) Preparación de N-(2-fenilquinolin-8-il)pirazina-2-carboxamida:

- 5 Se recogió 2-fenilquinolin-8-amina (60 mg, 0,27 mmol) en 2 mL de DMF junto con ácido pirazina-2-carboxílico (34 mg, 0,27 mmol), HATU (207 mg, 0,54 mmol) y DIEA (95 µL, 0,54 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. Luego se diluyó con EtOAc y se lavó con agua. La capa orgánica se secó (Na₂SO₄) y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante HPLC preparativa (utilizando CH₃CN acuoso tamponado con 0,1% de TFA) para proporcionar 10 mg del producto. EM (ESI) calculada para C₂₀H₁₄N₄O (m/z): 326,12, encontrada: 327 [M+1]
- 10

Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

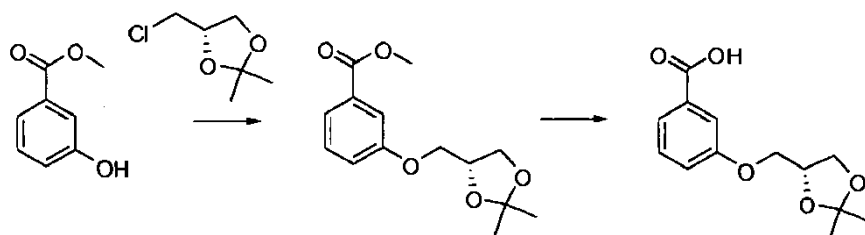
- a. N-(2-fenilquinolin-8-il)-3-(pirrolidin-1-il)benzamida
- b. N-(2-fenilquinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
- c. N-(2-fenilquinolin-8-il)-3-(trifluorometoxi)benzamida
- 15 d. N-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)pirazina-2-carboxamida
- e. N-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
- f. N-(2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-8-il)pirazina-2-carboxamida
- g. N-(2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
- h. N-(2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-8-il)benzamida
- 20 i. 2-fluoro-N-(2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-8-il)benzamida
- j. 3-fluoro-N-(2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-8-il)benzamida
- k. 4-fluoro-N-(2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-8-il)benzamida
- l. N-(2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-8-il)quinoxalina-2-carboxamida
- m. N-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)oxazol-4-carboxamida
- 25 n. N-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)tiofeno-2-carboxamida
- o. 3-metoxi-N-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)benzamida
- p. 2-fenil-N-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
- q. 3-(dimetilamino)-N-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)benzamida
- r. 3-((4-metilpiperazin-1-il)metil)-N-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)benzamida
- 30 s. N-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)tiazol-5-carboxamida
- t. 1-metil-N-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)-1H-imidazol-4-carboxamida
- u. 1-metil-N-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)-1H-imidazol-2-carboxamida
- v. N-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)-1H-pirazol-3-carboxamida
- w. 1-metil-N-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)-1H-pirazol-3-carboxamida
- 35 x. 3-(2-morfolinoetoxi)-N-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)benzamida

Preparación de ácido (R)-6-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metoxi)picolínico:



Se sometió 6-hidroxipicolinato de etilo (500 mg, 2,7 mmol), (R)-(2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metanol (1,11 mL, 3,0 eq) y NaH (60% dispersión en aceite mineral, 385 mg, 3,3 eq) en THF a reflujo 18 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta alcanzar la temperatura ambiente, se acidificó hasta alcanzar pH = 4, se agregó a salmuera y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó, se concentró y se recrystalizó a partir de pentano/etilacetato para obtener ácido (R)-6-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metoxi)picolínico (500 mg, 74% de rendimiento).

Preparación de ácido (R)-3-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metoxi)benzoico:



Paso 1) Preparación de (R)-metil 3-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metoxi)benzoato:

- Una mezcla de 3-hidroxibenzoato de metilo (10,0 g, 65,8 mmol), (S)-4-(clorometil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano (13,0 g, 98,7 mmol) y K_2CO_3 (18,0 g, 132 mmol) en DMF (100 ml) se agitó durante 18h a 160°C. La mezcla se diluyó con agua (150 mL) y se ajustó hasta alcanzar pH=6 mediante adición de HCl 3N. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (200 ml x 3) y las capas orgánicas combinadas se secaron ($MgSO_4$) y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (10% de acetato de etilo en éter de petróleo) para proporcionar (R)-metil 3-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metoxi)benzoato como un aceite marrón (8,5 g, 49% de rendimiento).

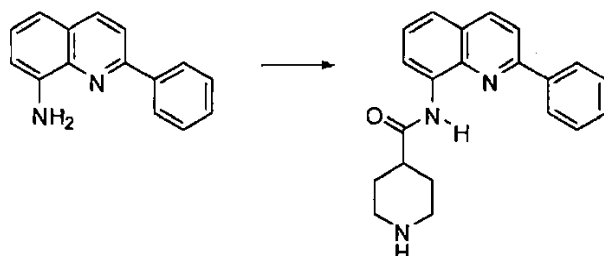
Paso 2) Preparación de ácido (R)-3-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metoxi)benzoico:

- A una solución de (R)-metil 3-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metoxi)benzoato (8,5 g, 32 mmol) en THF (80 ml) se agregó una solución de LiOH (2,3 g, 96 mmol) en agua (20 ml). La mezcla se agitó durante 15 horas a 40°C. La mezcla se concentró y se diluyó con solución saturada de Na_2CO_3 (50 ml), se lavó con acetato de etilo (50 ml x 2). La capa acuosa se ajustó hasta alcanzar pH = 4 mediante adición de HCl acuoso 3N. El precipitado se recogió mediante filtración y la torta del filtro se secó al vacío para obtener ácido (R)-3-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metoxi)benzoico como un sólido blanco, (5,8 g, 72% de rendimiento).

El siguiente material se preparó de forma similar:

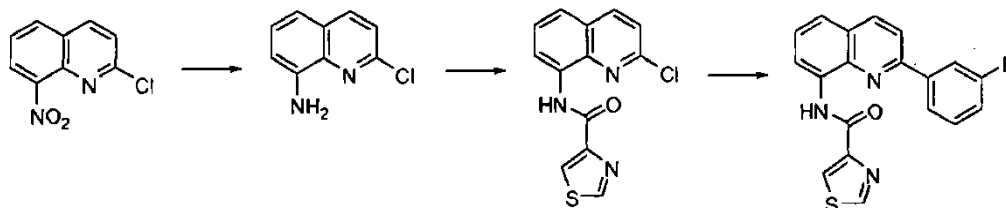
- a. Ácido (S)-3-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metoxi)benzoico

Preparación de N-(2-fenilquinolin-8-il)piperidina-4-carboxamida:



- Se sometió 2-fenilquinolin-8-amina (60 mg, 0,27 mmol) al mismo procedimiento general de acoplamiento de amida descrito anteriormente utilizando ácido 1-(terc-butoxicarbonil)piperidina-4-carboxílico. El intermediario resultante, denominado 4-(2-fenilquinolin-8-ilcarbamoi)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo, se trató adicionalmente con 2 mL de 25% de TFA en CH_2Cl_2 durante 6h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante HPLC preparativa (utilizando CH_3CN acuoso tamponado con 0,1% de TFA) para proporcionar 25 mg del producto. EM (ESI) calculada para $C_{21}H_{21}N_3O$ (m/z): 331,17, encontrada: 332 [M+1].

Preparación de N-(2-(3-fluorofenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida:



Se preparó 2-cloro-8-nitroquinolina de acuerdo con el procedimiento descrito por Kimber *et al* en Aust J. Chem. (2003), vol 56, pgs. 39-44.

5 Paso 1) Preparación de 2-cloroquinolin-8-amina:

Una solución de 2-cloro-8-nitroquinolina (1,02 gramos), polvo de hierro (2,05 gramos) y NH_4Cl (2,6 gramos) en EtOH:Agua 5:1 (50 mL) se sometió a reflujo durante 9 horas. Después de que la reacción se completó, la solución se enfrió hasta alcanzar 60°C y se filtró a través de celite. La torta se lavó con alcohol isopropílico y luego acetato de etilo. El filtrado se concentró hasta secarse, se disolvió en acetato de etilo y se lavó con agua, NaHCO_3 diluido acuoso, salmuera y se secó (Na_2SO_4) y se concentró hasta proporcionar un aceite. El producto deseado se cristalizó con la adición de pentano, sólido marrón (0,818 gramos).

Paso 2) Preparación de N-(2-cloroquinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida:

15 Una solución de 2-cloroquinolin-8-amina (222 mg), ácido tiazol-4-carboxílico (129 mg, 1eq), HATU (570 mg, 1,5 eq) y DIEA (246 μL , 2,0 eq) en DMF (3 mL) se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. El producto se precipitó mediante adición de agua (20 mL), el producto se recogió mediante filtración y se recrystalizó a partir de metanol para obtener el producto como un sólido gris (194 mg).

El siguiente material se preparó de forma similar:

a. 2-cloro-N-(pirazin-2-il)quinolina-8-carboxamida

Paso 3) Preparación de N-(2-(3-fluorofenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida:

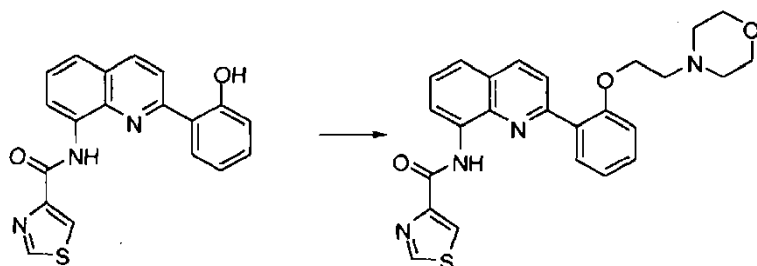
20 Una solución de N-(2-cloroquinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida (29 mg, 0,100 mmol), ácido 3-fluorofenilborónico (28 mg, 2 eq.), Cs_2CO_3 (65 mg, 2 eq.), $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2 \cdot \text{DCM}$ (4 mg, 0,05 eq.) en DME (2 mL) se calentó con microondas (140°C x 15 min.). La reacción se filtró y se concentró. El residuo se diluyó con acetato de etilo, se lavó con NaHCO_3 acuoso saturado, se secó (Na_2SO_4) y se concentró. El producto se purificó mediante cromatografía en columna (0 a 100% EtOAc en pentano) para obtener 8,6 mg de N-(2-(3-fluorofenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida. EM (ESI) calculada para $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{FN}_3\text{OS}$ (m/z): 350,08, encontrada: 350,1 $[\text{M}+1]$.

Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

- a. N-(2-(2-fluorofenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
- b. N-(2-(piridin-3-il)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
- c. N-(2-(piridin-4-il)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
- 30 d. N-(2-(3,5-difluorofenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
- e. N-(2-m-tolilquinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
- f. N-(2-(3-cianofenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
- g. N-(2-(3-(metilsulfonyl)fenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
- h. N-(2-(2-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
- 35 i. N-(2-(2-(metilsulfonyl)fenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
- j. N-(2-(4-(metilsulfonyl)fenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
- k. N-(2-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
- l. N-(2-(3-formilfenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
- m. N-(2-(piridin-3-il)quinolin-8-il)pirazina-2-carboxamida

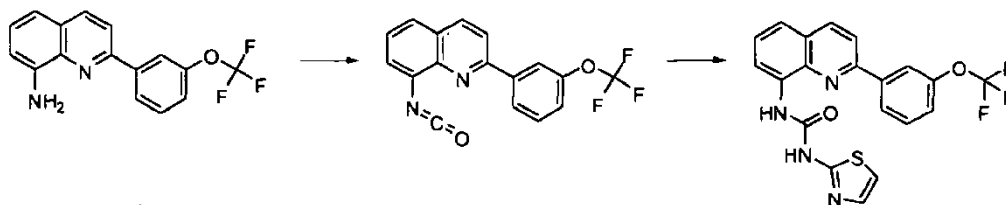
- n. N-(2-(6-fluoropiridin-3-il)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
 o. N-(2-(2-hidroxifenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
 p. N-(2-(3-hidroxifenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
 q. N-(2-(4-hidroxifenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
 5 r. N-(2-(2-metilpiridin-3-il)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
 s. N-(2-(2-metilpiridin-4-il)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
 t. N-(2-(6-metilpiridin-3-il)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
 u. N-(2-(5-fluoropiridin-3-il)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
 v. N-(2-(3-morfolinofenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
 10 w. N-(2-(3-(pirrolidin-1-il)fenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
 x. N-(2-(4-metil-3,4-dihidro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-7-il)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
 y. N-(2-p-tolilquinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
 z. N-(2-(3-fluoro-4-metilfenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
 aa. N-(2-(5-metilpiridin-3-il)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
 15 bb. N-(2-(5-(metilsulfonyl)piridin-3-il)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
 cc. N-(2-(6-morfolinopiridin-3-il)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida

Preparación de N-(2-(2-(2-morfolinoetoxi)fenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida:



- 20 Una solución de N-(2-(2-hidroxifenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida (0,1 g, 0,287 mmol), 4-(2-cloroetil)morfolina (0,129 g, 0,862 mmol) y carbonato de cesio (0,7 g, 2,15 mmol) en DMF (5 mL) se calentó con microondas (200°C x 2 horas). El material bruto se filtró y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (gradiente de 0 a 90% de acetato de etilo en pentano). EM (ESI) calculada para $C_{25}H_{24}N_4O_3S$ (m/z): 460,16, encontrada: 461 [M+1].

Preparación de 1-(tiazol-2-il)-3-(2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-8-il)urea:



- 25 Paso 1) Preparación de 8-isocianato-2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolina:
 A 2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-8-amina (252 mg, 0,830 mmol) en tolueno (10 mL) se agregó una mezcla de trifosgeno (82 mg, 0,275 mmol) en tolueno (5 mL). La mezcla se agitó durante 2 días para obtener 8-isocianato-2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolina, que se utilizó sin aislamiento.
 30 Paso 2) Preparación de 1-(tiazol-2-il)-3-(2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-8-il)urea:

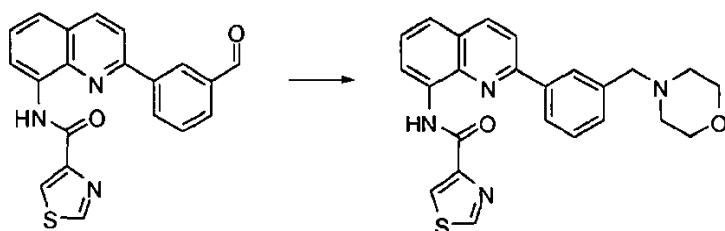
A una mezcla de 8-isocianato-2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolina (0,277 mmol) en tolueno (5 mL) se agregó 2-aminotiazol (0,553 mmol, 55 mg). La mezcla se concentró hasta secarse, se disolvió nuevamente en piridina y se calentó con microondas (140°C x 10 min). La mezcla de reacción se diluyó con CH₂Cl₂, se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado, agua, salmuera. La capa orgánica se secó (Na₂SO₄) y se concentró a presión reducida. La purificación mediante cromatografía en columna (0% a 100% de acetato de etilo en pentano) proporcionó el producto deseado. EM (ESI) calculada para C₂₀H₁₃F₃N₄O₂S (m/z): 430,07, encontrada: 431 [M+1].

Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

a. 1-(piridin-2-il)-3-(2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-8-il)urea

b. 1-(piridin-3-il)-3-(2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-8-il)urea

10 Preparación de N-(2-(3-(morfolinometil)fenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida:



Una solución de N-(2-(3-formilfenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida (54 mg, 0,150 mmol) y morfolina (37 µL, 0,450 mmol) en una mezcla de THF (4 mL) y etanol (8 mL) se agregó a Na(OAc)₃BH (95 mg, 0,450 mmol). La reacción se agitó 18 horas y NaBH₄ (17 mg, 3 eq) y ácido acético (500 µL) y la reacción se agitó durante 2 horas. La reacción se aplacó con mezcla de agua/metanol, se concentró hasta secarse y se diluyó con CH₂Cl₂. La solución resultante se lavó con NaOH 1N, agua, salmuera, se secó (Na₂SO₄) y se concentró. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice (0 a 10% metanol gradiente en CH₂Cl₂ modificado con 0,1% trietilamina). El producto se liofilizó en una mezcla de acetonitrilo/agua para obtener N-(2-(3-(morfolinometil)fenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida (46 mg, 71% de rendimiento). EM (ESI) calculada para C₂₄H₂₂N₄O₂S (m/z): 430,15, encontrada: 431 [M+1].

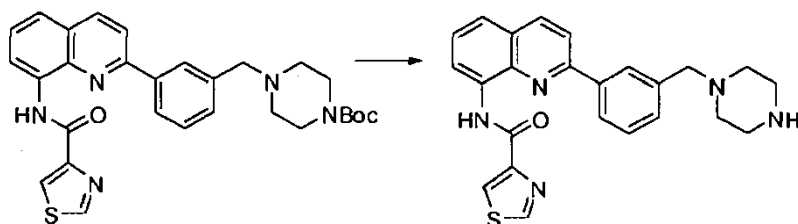
Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

a. N-(2-(3-(pirrolidin-1-ilmetil)fenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida

b. N-(2-(3-((dimetilamino)metil)fenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida

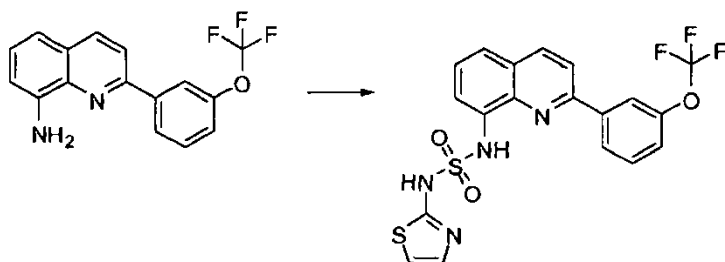
c. 4-(3-(8-(tiazol-4-carboxamido)quinolin-2-il)bencil)piperazina-1-carboxilato de terc-butilo

25 Preparación de clorhidrato de N-(2-(3-(piperazin-1-ilmetil)fenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida:



El 4-(3-(8-(tiazol-4-carboxamido)quinolin-2-il)bencil)piperazina-1-carboxilato de terc-butilo descrito previamente se trató con una mezcla de 25% de TFA en CH₂Cl₂ durante 18 horas y se concentró hasta secarse. El residuo se suspendió en CH₂Cl₂, se lavó con NaHCO₃ acuoso (sat.), se secó (Na₂SO₄) y se concentró. El residuo resultante se diluyó en una mínima cantidad de dioxano, se trató con un leve exceso de HCl en metanol y luego éter dietílico. La sal HCl de N-(2-(3-(piperazin-1-ilmetil)fenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida resultante se recogió mediante filtración (24 mg 32% de rendimiento en dos pasos). EM (ESI) calculada para C₂₄H₂₃N₅OS (m/z): 429,16, encontrada: 430 [M+1].

Preparación de N-(2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-8-il)-N'-2-tiazolil-sulfamida:



Una solución de 2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-8-amina (153 mg, 0,500 mmol) y trietilamina (104 μ L, 1,5 eq) en CH_2Cl_2 anhidro (10 mL) se enfrió hasta alcanzar 0°C . Se agregó una mezcla de ácido clorosulfónico (64 mg, 1,1 eq) en CH_2Cl_2 (3 mL) y la mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 30 minutos, se entibió hasta alcanzar la temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. Se agregó PCl_5 sólido (114 mg, 1,1 eq), la mezcla de reacción se calentó hasta alcanzar reflujo durante 1 hora y luego se enfrió hasta alcanzar la temperatura ambiente. La mezcla se dividió en 5 porciones iguales por volumen. A una porción se agregó 2-aminotiazol (200 mg) y DIPEA (0,200 mL). La mezcla se agitó durante 2,5 horas y se agregó agua. La capa orgánica se lavó con agua, salmuera, se secó (NaSO_4) y se concentró. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa y las fracciones se liofilizaron para proporcionar el producto como un sólido (10,9 mg, 23% de rendimiento). EM (ESI) calculada para $\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_3\text{S}_2$ (m/z): 466,04, encontrada: 467 $[\text{M}+1]$.

Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

a. N-(2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-8-il)pirrolidina-1-sulfonamida

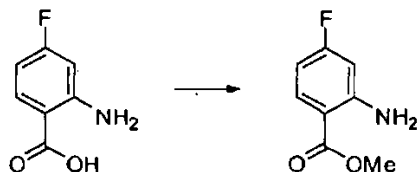
b. N-[2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-8-il]-N'-3-piridil-sulfamida

c. 4-(N-(2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-8-il)sulfamoil)piperazina-1-carboxilato de terc-butilo

d. N-(2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-8-il)piperazina-1-sulfonamida:

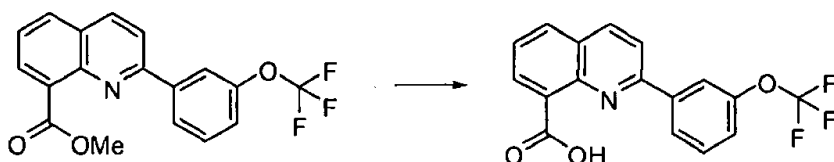
Para la preparación de N-(2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-8-il)piperazina-1-sulfonamida se desprotegió 4-(N-(2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolin-8-il)sulfamoil)piperazina-1-carboxilato de terc-butilo utilizando 25% de TFA en CH_2Cl_2 durante 3 horas y se concentró antes de purificarse.

Preparación de 2-amino-4-fluorobenzoato de metilo:



A una solución de ácido 2-amino-4-fluorobenzoico (2,0 g, 12,9 mmol) en metanol (50 mL) se agregó cloruro de tionilo (1,8 mL, 25,8 mmol). La mezcla se sometió a reflujo durante toda la noche y se concentró hasta secarse. El residuo se extrajo con CH_2Cl_2 (30 mL), se lavó mediante NaHCO_3 ac. (20 mL), agua y salmuera, se secó y se concentró para proporcionar 2-amino-4-fluorobenzoato de metilo como un sólido amarillo (1,4 g).

Preparación de ácido 2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolina-8-carboxílico:



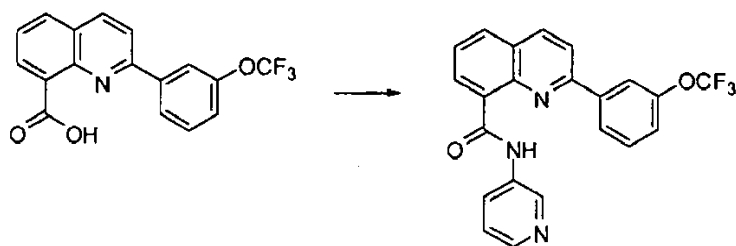
Se preparó 2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolina-8-carboxilato de metilo de acuerdo con el procedimiento descrito por Demaude *et al* en Journal of Combinatorial Chemistry (2004), vol 6, p. 768-775.

Preparación de ácido 2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolina-8-carboxílico: A una mezcla de 2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolina-8-carboxilato de metilo (1,1 g, 3,16 mmol) disuelta en THF (20 mL) se agregó una mezcla de hidróxido de litio (227 mg, 9,5 mmol) en agua (15 mL). La reacción se agitó 70 horas. La mezcla de reacción se concentró para eliminar el THF y la solución acuosa se ajustó hasta alcanzar pH=1 con HCl 4N (ac). El

sólido se recogió mediante filtración, se enjuagó con agua y se secó al vacío para obtener ácido 2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolina-8-carboxílico como un sólido amarillado (973 mg, 92% de rendimiento).

Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

- a. ácido 2-fenilquinolina-8-carboxílico
- 5 b. ácido 2-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxílico
- c. ácido 2-(2-cloropiridin-4-il)quinolina-8-carboxílico
- d. ácido 2-(2-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxílico
- e. ácido 2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxílico
- f. ácido 2-(4-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxílico
- 10 g. ácido 2-(5-metilisoxazol-3-il)quinolina-8-carboxílico
- h. ácido 2-(3-morfolinofenil)quinolina-8-carboxílico
- i. ácido 5-fluoro-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxílico
- j. ácido 6-fluoro-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxílico
- k. ácido 7-fluoro-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxílico
- 15 Preparación de N-(piridin-3-il)-2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolina-8-carboxamida:



- 20 A una mezcla de ácido 2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolina-8-carboxílico (1 gramo, 3,3 mmol) y HATU (1,71 g, 4,5 mmol) en DMF (30 mL) se agregó 3-aminopiridina (423 mg, 4,5 mmol) y luego DIPEA (1,03 mL, 6 mmol). La mezcla se agitó 18 horas, se agregó agua (150 mL) y el precipitado resultante se recogió mediante filtración. El material bruto se purificó mediante cromatografía (gel de sílice, gradiente 0 a 100% de acetato de etilo en pentano), la fracción deseada se concentró y el producto se recristalizó a partir de metanol para obtener el producto como un sólido blanco (550 mg, 45% de rendimiento).

EM (ESI) calculada para $C_{22}H_{14}F_3N_3O_2$ (m/z): 409,10, encontrada: 410 [M+1].

- 25 Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:
- a. N,2-difenilquinolina-8-carboxamida
- b. N-fenil-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- c. N-fenil-2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolina-8-carboxamida
- d. 2-fenil-N-(tiazol-2-il)quinolina-8-carboxamida
- 30 e. N-(tiazol-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- f. N-(tiazol-2-il)-2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolina-8-carboxamida
- g. 2-fenil-N-(pirazin-2-il)quinolina-8-carboxamida
- h. N-(pirazin-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- i. N-(pirazin-2-il)-2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolina-8-carboxamida
- 35 j. N-(piridin-2-il)-2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolina-8-carboxamida

- k. N-(piridin-4-il)-2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolina-8-carboxamida
- l. N-(4-metiltiazol-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- m. N-(1,3,4-tiadiazol-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- n. N-(5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- 5 o. N-(piridin-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- p. N-(piridin-3-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- q. N-(piridin-4-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- r. N-(5-terc-butil-1,3,4-tiadiazol-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- s. N-(1H-pirazol-3-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- 10 t. N-(piridin-2-ilmetil)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- u. N-(piridin-3-ilmetil)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- v. N-(piridin-4-ilmetil)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- w. N-(2-oxotetrahidrofuran-3-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- x. N-(tetrahidro-2H-piran-4-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- 15 y. N-ciclopentil-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- z. N-(pirimidin-4-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- aa. N-(5-metiltiazol-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- bb. N-(pirimidin-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- cc. N-(4-metilpirimidin-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- 20 dd. N-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- ee. N-(1,3-dimetil-1H-pirazol-5-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- ff. N-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- gg. N-(4,6-dimetilpiridin-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- hh. N-(4-feniltiazol-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- 25 ii. N-(benzo[d]tiazol-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- jj. N-(5-cloropiridin-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- kk. N-(2-cloropiridin-3-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- ll. N-(6-cloropiridin-3-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- mm. N-(3-metilisotiazol-5-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- 30 nn. N-(2-cloropiridin-4-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- oo. 5-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamido)furan-2-carboxilato de metilo
- pp. 2-(5-metilisoxazol-3-il)-N-(piridin-2-il)quinolina-8-carboxamida
- qq. 2-(5-metilisoxazol-3-il)-N-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- rr. 2-(5-metilisoxazol-3-il)-N-(tiazol-2-il)quinolina-8-carboxamida
- 35 s. 2-(5-metilisoxazol-3-il)-N-(pirimidin-4-il)quinolina-8-carboxamida
- tt. N-(5-metilisoxazol-3-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- uu. N-(3,4-dimetilisoxazol-5-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida

- vv. N-(tiazol-2-il)-2-(2-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- ww. N-(piridin-2-il)-2-(2-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- xx. N-(piridin-3-il)-2-(2-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- yy. N-(pirimidin-4-il)-2-(2-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- 5 zz. N-(quinuclidin-3-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- aaa. N-(6-cloropiridin-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- bbb. 2-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamido)tiazol-4-carboxilato de etilo
- ccc. N-(tiazol-2-il)-2-(4-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- ddd. N-(piridin-2-il)-2-(4-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- 10 eee. N-(piridin-3-il)-2-(4-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- fff. N-(pirimidin-4-il)-2-(4-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- ggg. N-(piridazin-3-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- hhh. 2-(3-morfolinofenil)-N-(tiazol-2-il)quinolina-8-carboxamida
- iii. 2-(3-morfolinofenil)-N-(piridin-2-il)quinolina-8-carboxamida
- 15 jjj. 2-(3-morfolinofenil)-N-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- kkk. 2-(3-morfolinofenil)-N-(pirimidin-4-il)quinolina-8-carboxamida
- lll. N-(4-(pirrolidin-1-ilmetil)tiazol-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- mmm. N-(4-(pirrolidin-1-ilmetil)tiazol-2-il)-2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolina-8-carboxamida
- nnn. N-(4-(morfolinometil)tiazol-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- 20 ooo. N-(4-(morfolinometil)tiazol-2-il)-2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolina-8-carboxamida
- ppp. 2-(piridin-3-il)-N-(tiazol-2-il)quinolina-8-carboxamida
- qqq. N-(pirazin-2-il)-2-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- rrr. N-(piridin-2-il)-2-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- s. N,2-di(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- 25 tt. N-(5-(morfolinometil)tiazol-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- uuu. N-(5-(morfolinometil)tiazol-2-il)-2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolina-8-carboxamida
- vvv. N-(4-(morfolinometil)tiazol-2-il)-2-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- www. N-(5-(morfolinometil)tiazol-2-il)-2-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- xxx. 2-(piridin-3-il)-N-(pirimidin-4-il)quinolina-8-carboxamida
- 30 yyy. 2-(piridin-3-il)-N-(5-(pirrolidin-1-ilmetil)tiazol-2-il)quinolina-8-carboxamida
- zzz. N-(5-(pirrolidin-1-ilmetil)tiazol-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- aaaa. N-(4-metiltiazol-2-il)-2-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- bbbb. N-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- cccc. N-(6-(pirrolidin-1-ilmetil)piridin-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- 35 dddd. N-(6-(morfolinometil)piridin-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- eeee. 2-(piridin-3-il)-N-(6-(pirrolidin-1-ilmetil)piridin-2-il)quinolina-8-carboxamida
- ffff. N-(6-(morfolinometil)piridin-2-il)-2-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida

- gggg. N-(benzo[d]tiazol-2-il)-2-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- hhhh. 2-(piridin-3-il)-N-(1,3,4-tiadiazol-2-il)quinolina-8-carboxamida
- iiii. N-(5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il)-2-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- jjjj. N-(3-metilisotiazol-5-il)-2-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- 5 kkkk. 2-(piridin-3-il)-N-(piridin-4-il)quinolina-8-carboxamida
- llll. N-(4-metiltiazol-2-il)-2-(3-morfolinofenil)quinolina-8-carboxamida
- mmmm. N-(5-metiltiazol-2-il)-2-(3-morfolinofenil)quinolina-8-carboxamida
- nnnn. N-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2-(3-morfolinofenil)quinolina-8-carboxamida
- oooo. N-(5-metiltiazol-2-il)-2-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- 10 pppp. N-(4,6-dimetilpiridin-2-il)-2-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- qqqq. N-(6-metilpiridin-2-il)-2-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- rrrr. N-(benzo[d]tiazol-2-il)-2-(3-morfolinofenil)quinolina-8-carboxamida
- s. 2-(3-morfolinofenil)-N-(1,3,4-tiadiazol-2-il)quinolina-8-carboxamida
- tttt. N-(5-metil-1,3,4-tiadiazol-2-il)-2-(3-morfolinofenil)quinolina-8-carboxamida
- 15 uuuu. N-(3-metilisotiazol-5-il)-2-(3-morfolinofenil)quinolina-8-carboxamida
- vvvv. 2-(3-morfolinofenil)-N-(piridin-4-il)quinolina-8-carboxamida
- www. N-(3-(morfolinometil)fenil)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- xxxx. N-(piridazin-3-il)-2-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- yyyy. N-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)-2-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- 20 zzzz. N-(5-fluoropiridin-2-il)-2-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- aaaa. N-(5-cloropiridin-2-il)-2-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- bbbb. N-(4,6-dimetilpiridin-2-il)-2-(3-morfolinofenil)quinolina-8-carboxamida
- cccc. N-(6-metilpiridin-2-il)-2-(3-morfolinofenil)quinolina-8-carboxamida
- dddd. 2-(3-morfolinofenil)-N-(piridazin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- 25 eeeee. 5-fluoro-N-(tiazol-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- ffff. 5-fluoro-N-(piridin-3-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- ggggg. 6-fluoro-N-(tiazol-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- hhhhh. 6-fluoro-N-(piridin-3-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- iiii. 7-fluoro-N-(tiazol-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- 30 jjjjj. N-(1-metil-1H-pirazol-3-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- kkkkk. N-(4-(morfolinometil)tiazol-2-il)-2-(2-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- lllll. N-(5-metil-1,3,4-oxadiazol-2-il)-2-(3-morfolinofenil)quinolina-8-carboxamida
- mmmmm. N-(5-fluoropiridin-2-il)-2-(3-morfolinofenil)quinolina-8-carboxamida
- nnnnn. N-(5-cloropiridin-2-il)-2-(3-morfolinofenil)quinolina-8-carboxamida
- 35 ooooo. 2-(3-morfolinofenil)-N-(pirazin-2-il)quinolina-8-carboxamida
- ppppp. N-(5-(pirrolidin-1-ilmetil)piridin-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- qqqqq. N-(6-(morfolinometil)piridin-3-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida

rrrrr. N-(6-(pirrolidin-1-ilmetil)piridin-3-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida

ss. N-(6-morfolinopiridin-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida

ttttt. N-(6-(pirrolidin-1-il)piridin-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida

uuuuu. N-(2-morfolinopiridin-4-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida

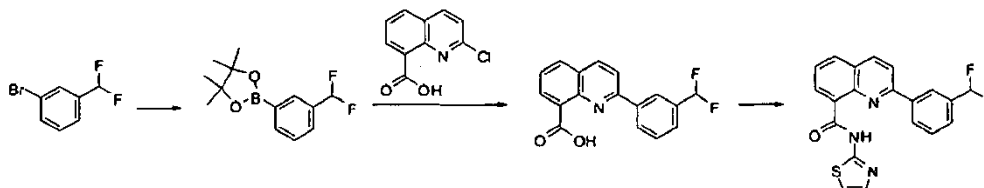
5 vvvvv. N-(2-(pirrolidin-1-il)piridin-4-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida

Preparación de 4-cloro-2-(difluorometil)piridina:



10 A una solución de 4-cloropicolinaldehído (1,0 gramos, 7,06 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (40 mL) enfriada hasta alcanzar -78°C se agregó trifluoruro de dietilaminoazufre (3,7 mL, 28,2 mmol) durante un período de 2 minutos. La solución se entibió hasta alcanzar la temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta alcanzar 0°C y se aplacó lentamente con la adición de una mezcla 1:1 de NaHCO_3 acuoso (sat.) y NaOH 1M. La solución se extrajo con CH_2Cl_2 (2x) y la capa orgánica se lavó con agua, salmuera, se secó (Na_2SO_4) y se concentró para obtener un aceite marrón rojizo (0,78 g, 68% de rendimiento). El producto se utilizó como tal en el siguiente paso.

15 Preparación de 2-(3-(difluorometil)fenil)-N-(tiazol-2-il)quinolina-8-carboxamida:



Paso 1) Preparación de 2-(3-(difluorometil)fenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano:

20 A una solución de 1-bromo-3-(difluorometil)benceno (5,0 g, 24,2 mmol) en DMF (30 mL) se agregó bis(pinacolato)diboro (12,5 g, 50,0 mmol), KOAc (4,9 g, 50,0 mmol) y $\text{Pd(dppf)Cl}_2 \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$ (0,5 g, 2,4 mmol). La mezcla de reacción se agitó bajo nitrógeno a 85°C durante 12 horas, luego la reacción se enfrió hasta alcanzar la temperatura ambiente y se agregó agua (20 mL). La mezcla se extrajo con acetato de etilo (3×30 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío, el residuo se purificó mediante cromatografía en columna (éter de petróleo : acetato de etilo=150:1) para obtener 2-(3-(difluorometil)fenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (4,5 g, 74% de rendimiento).

25 El siguiente material se preparó de forma similar:

a. 2-(difluorometil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina

Paso 2) Preparación de ácido 2-(3-(difluorometil)fenil)quinolina-8-carboxílico:

30 A una solución de ácido 2-cloroquinolina-8-carboxílico (3,1 g, 15,0 mmol) en DME (20 mL) y agua (2 mL) se agregó 2-(3-(difluorometil)fenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (4,5 g, 17,7 mmol), K_3PO_4 (5,2 g, 22,6 mmol) y $\text{Pd(dppf)Cl}_2 \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$ (0,50 g, 0,63 mmol). La mezcla de reacción se agitó bajo nitrógeno a 85°C durante 12 horas, luego la reacción se enfrió hasta alcanzar la temperatura ambiente y se agregó agua (20 mL). La mezcla se filtró y la torta del filtro se lavó con agua y el sólido se secó al vacío para proporcionar ácido 2-(3-(difluorometil)fenil)quinolina-8-carboxílico (3,6 g, 80% de rendimiento).

El siguiente material se preparó de forma similar:

35 a. ácido 2-(2-(difluorometil)piridin-4-il)quinolina-8-carboxílico

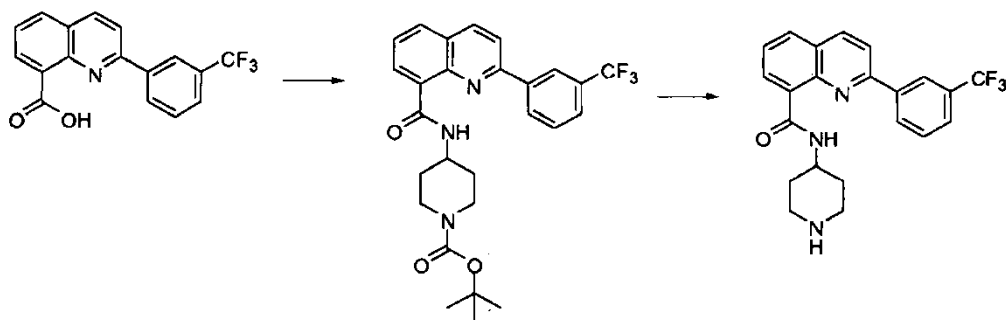
Paso 3) Preparación de 2-(3-(difluorometil)fenil)-N-(tiazol-2-il)quinolina-8-carboxamida:

40 Una mezcla de ácido 2-(3-(difluorometil)fenil)quinolina-8-carboxílico (250 mg, 0,84 mmol), tiazol-2-amina (84 mg, 1,2 mmol), HATU (0,64 g, 1,68 mmol) y DIPEA (0,22 g, 1,68 mmol) en DMF (25 mL) se agitó a 40°C durante 12 horas. Se agregó una solución saturada de NaHCO_3 (5 mL) y la mezcla se filtró, el residuo se lavó con metanol (2×5 mL) y el sólido se secó al vacío para proporcionar 2-(3-(difluorometil)fenil)-N-(tiazol-2-il)quinolina-8-carboxamida como un sólido (125 mg, 39% de rendimiento). EM (ESI) calculada para $\text{C}_{20}\text{H}_{13}\text{F}_2\text{N}_3\text{OS}$ (m/z): 381,07, encontrada: 382 [M+1].

Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

- a. 2-(3-(difluorometil)fenil)-N-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- b. 2-(3-(difluorometil)fenil)-N-(4-(pirrolidin-1-ilmetil)tiazol-2-il)quinolina-8-carboxamida
- c. 2-(3-(difluorometil)fenil)-N-(5-(pirrolidin-1-ilmetil)tiazol-2-il)quinolina-8-carboxamida
- 5 d. 2-(3-(difluorometil)fenil)-N-(5-(pirrolidin-1-ilmetil)piridin-2-il)quinolina-8-carboxamida
- e. 2-(3-(difluorometil)fenil)-N-(4-(morfolinometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- f. 2-(3-(difluorometil)fenil)-N-(3-(morfolinometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- g. 2-(3-(difluorometil)fenil)-N-(6-(morfolinometil)piridin-2-il)quinolina-8-carboxamida
- h. 2-(3-(difluorometil)fenil)-N-(6-(pirrolidin-1-ilmetil)piridin-2-il)quinolina-8-carboxamida
- 10 i. 2-(3-(difluorometil)fenil)-N-(6-(morfolinometil)piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- j. 2-(3-(difluorometil)fenil)-N-(6-(pirrolidin-1-ilmetil)piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- k. 2-(2-(difluorometil)piridin-4-il)-N-(tiazol-2-il)quinolina-8-carboxamida
- l. 2-(2-(difluorometil)piridin-4-il)-N-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida
- m. 2-(2-(difluorometil)piridin-4-il)-N-(6-(morfolinometil)piridin-2-il)quinolina-8-carboxamida
- 15 n. 2-(2-(difluorometil)piridin-4-il)-N-(5-metiltiazol-2-il)quinolina-8-carboxamida
- o. 2-(2-(difluorometil)piridin-4-il)-N-(pirimidin-4-il)quinolina-8-carboxamida
- p. 2-(3-(difluorometil)fenil)-N-(3-(pirrolidin-1-ilmetil)fenil)quinolina-8-carboxamida

Preparación de N-(piperidin-4-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida:

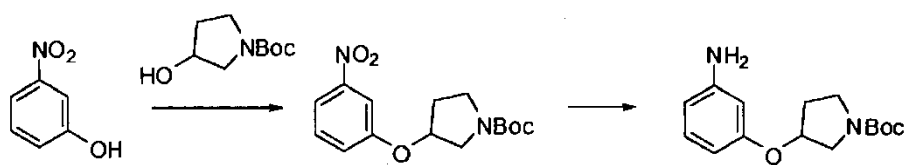


- 20 Se empleó el mismo procedimiento general de acoplamiento de amida detallado anteriormente utilizando 4-aminopiperidina-1-carboxilato de terc-butilo. El producto se desprotegió mediante tratamiento con 25% de TFA en CH_2Cl_2 durante 72 horas y se concentró hasta secarse. El residuo se disolvió en CH_2Cl_2 , se lavó con NaHCO_3 saturado ac., se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Después de agregar pentano, el producto se aisló como un sólido marrón claro (25 mg, 33% de rendimiento en 2 pasos). EM (ESI) calculada para $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}$ (m/z): 399,16, encontrada: 400 [M+1].
- 25

Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

- a. (S)-N-(pirrolidin-3-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- b. N-(3-(piperidin-4-iloxi)fenil)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
- 30 c. N-(3-(pirrolidin-3-iloxi)fenil)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida

Preparación de 3-(3-aminofenoxi)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butilo:



Paso 1) Preparación de 3-(3-nitrofenoxi)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butilo:

5 A una mezcla de 3-nitrofenol (4,0 g, 28,8 mmol), 3-hidroxipirrolidina-1-carboxilato de terc-butilo (5,94 g, 31,7 mmol), PPh_3 (8,3 g, 31,7 mmol) en THF (40 mL) a 0°C sobre argón se agregó DEAD (5,52 g, 31,7 mmol). La reacción se entibió hasta alcanzar la temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas. La mezcla de reacción se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna para obtener 3-(3-nitrofenoxi)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butilo (8,73 g, 98% de rendimiento)

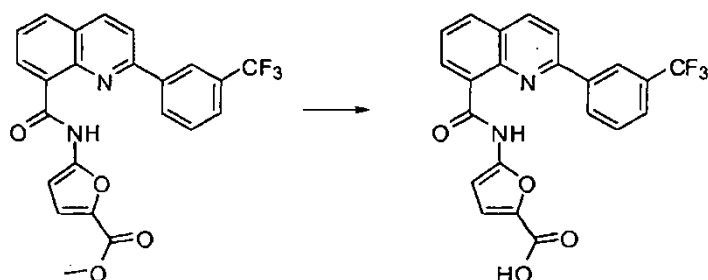
Paso 2) Preparación 3-(3-aminofenoxi)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butilo:

10 A una solución de 3-(3-nitrofenoxi)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butilo (8,73 g, 28,3 mmol) en metanol (50 mL) se agregó Níquel Raney (1,0 g). La solución se agitó sobre atmósfera de H_2 (1 atm) 18 horas. La mezcla se filtró, se concentró y se purificó mediante cromatografía para obtener 3-(3-aminofenoxi)pirrolidina-1-carboxilato de terc-butilo como un sólido blanco (5,47 g, 70% de rendimiento)

El siguiente material se preparó de forma similar:

a. 4-(3-aminofenoxi)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo

15 Preparación de ácido 5-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamido)furan-2-carboxílico:

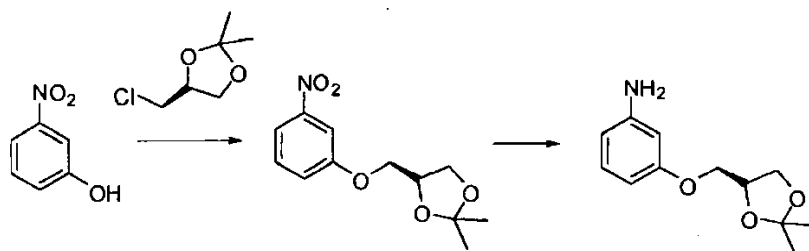


20 Una solución de 5-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamido)furan-2-carboxilato de metilo (12 mg) y NaOH (2 eq) en 50% THF acuoso (6 mL) se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla se concentró, se ajustó hasta alcanzar pH = 1 con HCl conc. y el precipitado resultante se recogió mediante filtración. La purificación mediante TLC proporcionó ácido 5-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamido)furan-2-carboxílico (5 mg). EM (ESI) calculada para $\text{C}_{22}\text{H}_{13}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_4$ (m/z): 426,08, encontrada: 427 $[\text{M}+1]$.

El siguiente material se preparó de forma similar:

a. ácido 2-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamido)tiazol-4-carboxílico

25 Preparación de (R)-3-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metoxi)anilina:



Paso 1) Preparación de (R)-2,2-dimetil-4-((3-nitrofenoxi)metil)-1,3-dioxolano:

30 Se recogió 3-nitrofenol (2,0 g, 14,37 mmol) en 20 ml de DMF anhidro junto con carbonato de potasio anhidro (4,96 g, 35,93 mmol) y (R)-4-(clorometil)-2,2-dimetil-1,3-dioxolano (2,55 mL, 18,68 mmol). La mezcla de reacción resultante se calentó en el reactor de microondas, con agitación, a 160°C durante 4 h. La mezcla de reacción bruta se enjuagó con agua, se filtró y se extrajo con diclorometano (3 x 15 mL).

Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía utilizando acetato de etilo: pentano para obtener el producto deseado como un aceite color ámbar (52%).

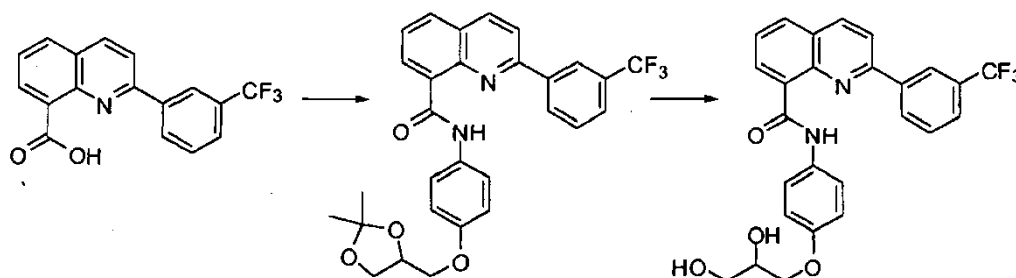
Paso 2) Preparación de (R)-3-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metoxi)anilina:

- 5 Bajo nitrógeno, se combinaron polvo de Fe (2,38 g, 42,54 mmol) y NH_4Cl (2,38 g, 42,54 mmol) y luego se agregó (R)- 2,2-dimetil-4-((3-nitrofenoxi)metil)-1,3-dioxolano (1,8 g, 7,09 mmol) y una mezcla 4:1 de isopropanol:agua (30 mL:10 mL). La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante 18 h. El material bruto se filtró a través de una almohadilla de Celite y el filtrado se concentró a presión reducida. La capa acuosa resultante se extrajo con diclorometano (3 x 15 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron a presión reducida para proporcionar (R)-3-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metoxi) (1,2 g, 79% de rendimiento). El material se utilizó en el siguiente paso sin purificación adicional.

Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

- a. 3-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metoxi)anilina
b. (S)-3-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metoxi)anilina
15 c. 4-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metoxi)anilina
d. (R)-4-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metoxi)anilina
e. (S)-4-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metoxi)anilina

Preparación de N-(4-(2,3-dihidroxiopropoxi)fenil)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida:

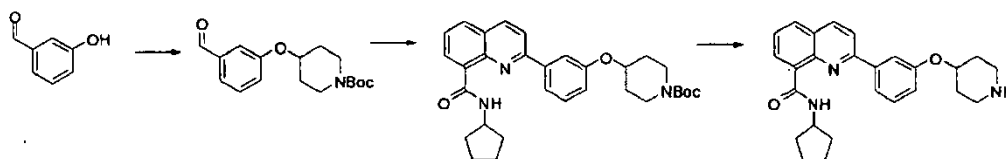


- 20 A una mezcla de 4-((2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il)metoxi)anilina (167 mg, 0,750 mmol), ácido 2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxílico (159 mg, 0,500 mmol), HATU (285 mg, 0,75 mmol) en NMP (5 mL) se agregó DIPEA (173 μL , 1,0 mmol). La reacción se agitó durante 72 horas a temperatura ambiente, se agregó agua (5 mL) y el precipitado resultante se recogió mediante filtración y se recristalizó a partir de etanol. El sólido amarillo se trató con una mezcla 1:3 de HCl 6N/Dioxano (8 mL) durante toda la noche. La mezcla se concentró hasta secarse, se trituroó con agua, se recogió mediante filtración, se lavó con agua y se secó para obtener N-(4-(2,3-dihidroxiopropoxi)fenil)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida (191 mg, 79% de rendimiento). EM (ESI) calculada para $\text{C}_{26}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_4$ (m/z): 482.15, encontrada: 483 $[\text{M}+1]$.

Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

- 30 a. N-(4-(2,3-dihidroxiopropoxi)fenil)-2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolina-8-carboxamida
b. N-(3-(2,3-dihidroxiopropoxi)fenil)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
c. N-(3-(2,3-dihidroxiopropoxi)fenil)-2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolina-8-carboxamida
d. (S)-N-(3-(2,3-dihidroxiopropoxi)fenil)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
e. (R)-N-(3-(2,3-dihidroxiopropoxi)fenil)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolina-8-carboxamida
35 f. (S)-3-(2,3-dihidroxiopropoxi)-N-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)benzamida
g. (S)-6-(2,3-dihidroxiopropoxi)-N-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)picolinamida

Preparación de N-ciclopentil-2-(3-(piperidin-4-iloxi)fenil)quinolina-8-carboxamida:



Paso 1) Preparación de 4-(3-formilfenoxi)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo:

5 A una mezcla de 3-hidroxibenzaldehído (1,0 g), 4-hidroxipiperidina-1-carboxilato de terc-butilo (1,67 g, 1,1 eq), trifetilfosfina (2,35 g, 1,1 eq) en THF (15 mL) a 0°C se agregó por goteo DEAD (6,74g, 4,75 eq). La mezcla se entibió hasta alcanzar la temperatura ambiente y se agitó durante 2 días. A la mezcla de reacción se agregó NaHCO₃ saturado (ac) y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (15 mL x3), se combinaron las capas orgánicas, se secaron (Na₂SO₄) y purificaron sobre cromatografía en columna en gel de sílice (10% de acetato de etilo en pentano) para obtener el producto deseado como un aceite amarillo claro (900 mg, 38% de rendimiento).

10 Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

a. (R)-3-(pirrolidin-3-iloxi)benzaldehído

Paso 2) Preparación de ácido 2-(3-(1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-iloxi)fenil)quinolina-8-carboxílico:

15 Se utilizó esencialmente el mismo procedimiento descrito en la preparación de ácido 2-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinolina-8-carboxílico para preparar ácido 2-(3-(1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-iloxi)fenil)quinolina-8-carboxílico utilizando 4-(3-formilfenoxi)piperidina-1-carboxilato de terc-butilo como el reactivo apropiado.

El siguiente material se preparó de forma similar:

a. ácido (R)-2-(3-(pirrolidin-3-iloxi)fenil)quinolina-8-carboxílico

Paso 3) Preparación de N-ciclopentil-2-(3-(piperidin-4-iloxi)fenil)quinolina-8-carboxamida:

20 El mismo procedimiento general de acoplamiento de amida descrito anteriormente se empleó utilizando ácido 2-(3-(1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-iloxi)fenil)quinolina-8-carboxílico y ciclopentilamina. La purificación mediante cromatografía en columna (1:5 acetato de etilo/pentano) y luego el tratamiento con HCl 4N/MeOH y la concentración produjeron el producto como un sólido amarillo. EM (ESI) calculada para C₂₆H₂₉N₃O₂ (m/z): 415,23, encontrada: 416 [M+1].

25 Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

a. 2-(3-(piperidin-4-iloxi)fenil)-N-(piridin-3-ilmetil)quinolina-8-carboxamida

b. (R)-N-ciclopentil-2-(3-(pirrolidin-3-iloxi)fenil)quinolina-8-carboxamida

c. (R)-N-(piridin-4-ilmetil)-2-(3-(pirrolidin-3-iloxi)fenil)quinolina-8-carboxamida

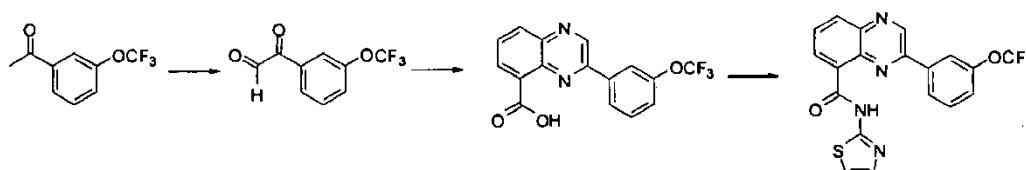
d. 2-(3-(piperidin-4-iloxi)fenil)-N-(tiazol-2-il)quinolina-8-carboxamida

30 e. 2-(3-(piperidin-4-iloxi)fenil)-N-(piridin-3-il)quinolina-8-carboxamida

f. 2-(3-(piperidin-4-iloxi)fenil)-N-(pirimidin-4-il)quinolina-8-carboxamida

g. N-(5-metiltiazol-2-il)-2-(3-(piperidin-4-iloxi)fenil)quinolina-8-carboxamida

Preparación de N-(tiazol-2-il)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinoxalina-5-carboxamida:



35

Paso 1) Preparación de 2-oxo-2-(3-(trifluorometoxi)fenil)acetaldehído: a una solución de 1-(3-(trifluorometoxi)fenil)etanol (5,0 g, 24,6 mmol) disuelta en 1,4-dioxano (75 mL) y agua (4 mL) se agregó SeO₂ (4,38 g, 39,4 mmol) en una porción. La mezcla se sometió a reflujo durante toda la noche. La mezcla se filtró para eliminar

el precipitado negro. El filtrado se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna (1:5 acetato de etilo/pentano) para proporcionar 2-oxo-2-(3-(trifluorometoxi)fenil)acetaldehído como un aceite amarillo (5,3 g, 98% de rendimiento).

El siguiente material se preparó de forma similar:

5 a. 2-oxo-2-(3-(trifluorometil)fenil)acetaldehído

Paso 2) Preparación de ácido 3-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinoxalina-5-carboxílico:

10 Se disolvió 2-oxo-2-(3-(trifluorometoxi)fenil)acetaldehído (1,0 g, 4,58 mmol) y ácido 2,3-diaminobenzoico (634 mg, 4,17 mmol) en EtOH (70 mL) y se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. El volumen se redujo hasta 30 mL, el precipitado se recogió mediante filtración, se lavó con etanol y se secó al vacío para proporcionar ácido 3-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinoxalina-5-carboxílico como un sólido grisáceo (1,0 g, rendimiento: 72% de rendimiento).

Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

a. ácido 3-fenilquinoxalina-5-carboxílico

b. ácido 3-(3-(trifluorometil)fenil)quinoxalina-5-carboxílico

Paso 3) Preparación de N-(tiazol-2-il)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinoxalina-5-carboxamida:

15 Una mezcla de ácido 3-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinoxalina-5-carboxílico (100 mg, 0,30 mmol), 2-aminotiazol (30 mg, 0,30 mmol), HATU (171 mg, 0,45 mmol) y DIEA (116 mg, 0,9 mmol) en DMF (10 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se agregó agua (20 mL) y el precipitado resultante se recogió mediante filtración y se secó al vacío para proporcionar N-(tiazol-2-il)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinoxalina-5-carboxamida como un sólido (115,5 mg, 92% de rendimiento). EM (ESI) calculada para $C_{19}H_{11}F_3N_4O_2S$ (m/z): 416,06, encontrada: 417 [M+1].

20 Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

a. 3-Fenil-N-(tiazol-2-il)quinoxalina-5-carboxamida

b. 3-Fenil-N-(piridin-3-il)quinoxalina-5-carboxamida

c. 3-Fenil-N-(piridin-2-il)quinoxalina-5-carboxamida

d. N-(Tiazol-2-il)-3-(3-(trifluorometil)fenil)quinoxalina-5-carboxamida

25 e. N-(Piridin-3-il)-3-(3-(trifluorometil)fenil)quinoxalina-5-carboxamida

f. N-(Piridin-3-il)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinoxalina-5-carboxamida

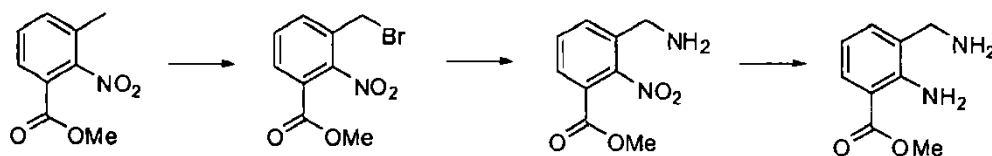
g. N-(Piridin-2-il)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinoxalina-5-carboxamida

h. N-(Pirimidin-4-il)-3-(3-(trifluorometoxi)fenil)quinoxalina-5-carboxamida

i. N-(Piridin-2-il)-3-(3-(trifluorometil)fenil)quinoxalina-5-carboxamida

30 j. N-(yrimidin-4-il)-3-(3-(trifluorometil)fenil)quinoxalina-5-carboxamida

Preparación de 2-amino-3-(aminometil)benzoato de metilo:



Paso 1) Preparación de 3-(bromometil)-2-nitrobenzoato de metilo:

35 A una mezcla de 3-metil-2-nitrobenzoato de metilo (45,0 g, 0,23 mol) y NBS (45,0 g, 0,25 mol) en CCl_4 (1500 mL) se agregó AIBN (1,2 g, 7,3 mmol) en porciones a reflujo. La mezcla se sometió a reflujo (48 horas) y el disolvente se retiró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice (6% a 10% gradiente de acetato de etilo en éter de petróleo) para obtener 2-amino-3-(aminometil)benzoato de metilo (9,0 g, 14% de rendimiento).

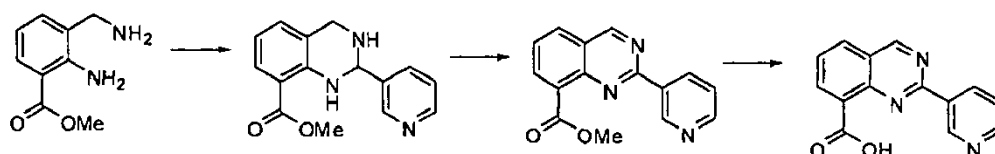
40 Paso 2) Preparación de 3-(aminometil)-2-nitrobenzoato de metilo

A una solución de 2-amino-3-(aminometil)benzoato de metilo (21,0 g, 76,9 mmol) en CH_2Cl_2 (300 mL) se agregó una solución de NH_3 saturado en metanol (1500 mL) a 0°C . La mezcla se agitó a $5-10^\circ\text{C}$ durante 12 horas. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice (5% metanol en CH_2Cl_2 modificado con 0,5% trietilamina) para obtener 3-(aminometil)-2-nitrobenzoato de metilo (16,0 g, 87% de rendimiento).

Paso 3) Preparación de 2-amino-3-(aminometil)benzoato de metilo:

Una mezcla de 3-(aminometil)-2-nitrobenzoato de metilo (8,0 g, 38,3 mmol) y 5% Pd/C (0,9 g, 5%) en metanol (500 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas. La mezcla se filtró y la torta del filtro se lavó con metanol. El disolvente se retiró al vacío para obtener 2-amino-3-(aminometil)benzoato de metilo (5,0 g, 72% de rendimiento).

Preparación de ácido 2-(piridin-3-il)quinazolina-8-carboxílico:



Paso 1) Preparación de 2-(piridin-3-il)-1,2,3,4-tetrahydroquinazolina-8-carboxilato de metilo:

Una mezcla de 2-amino-3-(aminometil)benzoato de metilo (5,0 g, 27,7 mmol), nicotinaldehído (3,0 g, 27,7 mmol) y ácido acético (2,0 mL) en dioxano (50 mL) se agitó en el microondas durante 20 minutos. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice (10% metanol en CH_2Cl_2) para proporcionar 2-(piridin-3-il)-1,2,3,4-tetrahydroquinazolina-8-carboxilato de metilo (4,0 g, 53% de rendimiento).

Paso 2) Preparación de 2-(piridin-3-il)quinazolina-8-carboxilato de metilo:

Una mezcla de 2-(piridin-3-il)-1,2,3,4-tetrahydroquinazolina-8-carboxilato de metilo (4,0 g, 14,8 mmol) y DDQ (5,0 g, 22,2 mmol) en CH_2Cl_2 (50 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice (5% metanol en CH_2Cl_2) para obtener 2-(piridin-3-il)quinazolina-8-carboxilato de metilo (3,5 g, 89% de rendimiento).

Paso 3) Preparación de ácido 2-(piridin-3-il)quinazolina-8-carboxílico:

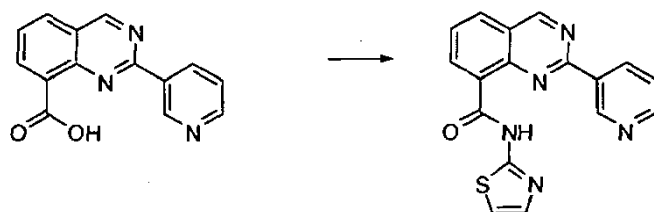
Una mezcla de 2-(piridin-3-il)quinazolina-8-carboxilato de metilo (3,5 g, 13,2 mmol) y LiOH (0,48 g, 19,8 mmol) en 1:1 THF/ H_2O (50 mL) se agitó a 50°C durante 2 horas. El disolvente se retiró al vacío y se agregó agua (20 mL). Se ajustó una solución acuosa hasta alcanzar pH = 3 con solución acuosa de clorhidrato 1N. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (3×50 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4), se concentraron al vacío y se purificaron mediante cromatografía en columna en gel de sílice (2,5% MeOH en CH_2Cl_2) para obtener ácido 2-(piridin-3-il)quinazolina-8-carboxílico (3,0 g, 90% de rendimiento).

El siguiente material se preparó de forma similar:

a. ácido 2-(3-(trifluorometil)fenil)quinazolina-8-carboxílico

b. ácido 2-(3-morfolinofenil)quinazolina-8-carboxílico

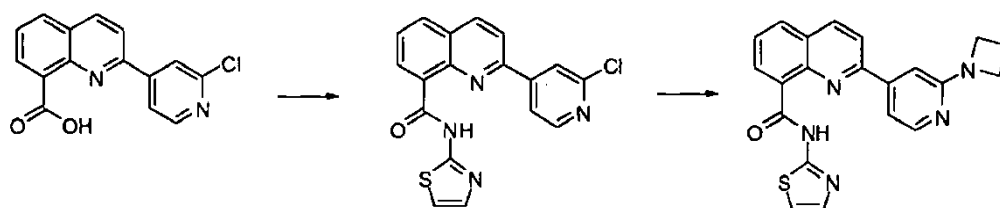
Preparación de 2-(piridin-3-il)-N-(tiazol-2-il)quinazolina-8-carboxamida:



Una mezcla de ácido 2-(piridin-3-il)quinazolina-8-carboxílico (250 g, 1,0 mmol), tiazol-2-amina (94 mg, 1,0 mmol), HATU (760 mg, 2,0 mmol) y DIPEA (260 mg, 2,0 mmol) en DMF (15 mL) se agitó a 50°C durante 12 horas. Se agregó agua (20 mL) y el precipitado se recogió mediante filtración, se lavó con agua (3×10 mL) y metanol (3×5 mL) para obtener 2-(piridin-3-il)-N-(tiazol-2-il)quinazolina-8-carboxamida (150 mg, 46% de rendimiento). EM (ESI) calculada para $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{N}_5\text{OS}$ (m/z): 333,07, encontrada: 334 $[\text{M}+1]$.

Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

- a. N-(tiazol-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinazolina-8-carboxamida
- b. N-(pirimidin-4-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinazolina-8-carboxamida
- c. 2-(piridin-3-il)-N-(tiazol-2-il)quinazolina-8-carboxamida
- d. N-(4-metiltiazol-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinazolina-8-carboxamida
- 5 e. N-(piridin-3-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinazolina-8-carboxamida
- f. N-(piridin-2-il)-2-(3-(trifluorometil)fenil)quinazolina-8-carboxamida
- g. N-(4-metiltiazol-2-il)-2-(piridin-3-il)quinazolina-8-carboxamida
- h. 2-(piridin-3-il)-N-(pirimidin-4-il)quinazolina-8-carboxamida
- i. N,2-di(piridin-3-il)quinazolina-8-carboxamida
- 10 j. N-(piridin-2-il)-2-(piridin-3-il)quinazolina-8-carboxamida
- k. 2-(3-morfolinofenil)-N-(tiazol-2-il)quinazolina-8-carboxamida
- l. N-(4-metiltiazol-2-il)-2-(3-morfolinofenil)quinazolina-8-carboxamida
- m. 2-(3-morfolinofenil)-N-(piridin-3-il)quinazolina-8-carboxamida
- n. 2-(3-morfolinofenil)-N-(piridin-2-il)quinazolina-8-carboxamida
- 15 Preparación de 2-(2-(azetidin-1-il)piridin-4-il)-N-(tiazol-2-il)quinolona-8-carboxamida:



Paso 1) Preparación de 2-(2-cloropiridin-4-il)-N-(tiazol-2-il)quinolona-8-carboxamida:

- 20 Una mezcla de ácido 2-(2-cloropiridin-4-il)quinolona-8-carboxílico (285 mg, 1,0 mmol), tiazol-2-amina (100 mg, 1,0 mmol), HATU (760 mg, 2,0 mmol) y DIPEA (258 mg, 2,0 mmol) en DMF (10 mL) se agitó a 50°C durante 10 horas. La mezcla se enfrió hasta alcanzar la temperatura ambiente y se agregó agua (20 mL). La mezcla se extrajo con acetato de etilo (3×25 mL) y la capa orgánica se secó sobre anhídrido Na_2SO_4 , se concentró al vacío y se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice (5% metanol en CH_2Cl_2) para proporcionar 2-(2-cloropiridin-4-il)-N-(tiazol-2-il)quinolona-8-carboxamida (290 mg, 79% de rendimiento).

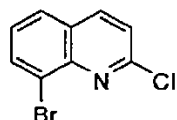
- 25 Paso 2) Preparación 2-(2-(azetidin-1-il)piridin-4-il)-N-(tiazol-2-il)quinolona-8-carboxamida:

- 30 Una mezcla de 2-(2-cloropiridin-4-il)-N-(tiazol-2-il)quinolona-8-carboxamida (200 mg, 0,55 mmol), azetidina (314 mg, 5,5 mmol), CsF (84 mg, 0,55 mmol) y $t\text{-BuOK}$ (185 mg, 1,65 mmol) en DMF (4 mL) bajo N_2 se calentó con microondas (150°C x 12 min). La mezcla de reacción se enfrió, se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo (3×10 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre gel de sílice (10% metanol en CH_2Cl_2) para obtener 2-(2-(azetidin-1-il)piridin-4-il)-N-(tiazol-2-il)quinolona-8-carboxamida como un sólido (50 mg, 23% de rendimiento). EM (ESI) calculada para $\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{OS}$ (m/z): 387, 12, encontrada: 388 $[\text{M}+1]$.

El siguiente material se preparó de forma similar:

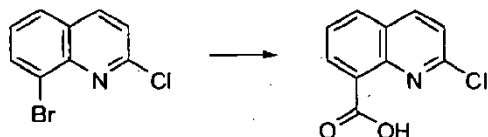
- a. 2-(2-morfolinopiridin-4-il)-N-(tiazol-2-il)quinolona-8-carboxamida

- 35 Preparación de 8-bromo-2-cloroquinolona:



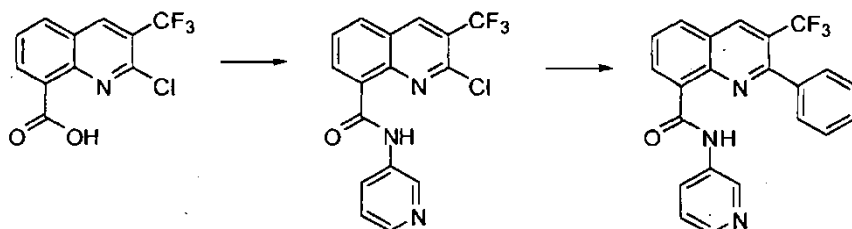
Se preparó 8-bromo-2-cloroquinolina de acuerdo con el procedimiento descrito por Cottet *et al* en Eur. J. Org. Chem. (2003), vol 8, pgs. 1559-1568.

Preparación de ácido 2-cloroquinolina-8-carboxílico:



- 5 A una solución de 8-bromo-2-cloroquinolina (14,3 g, 60 mmol) en tolueno (90 mL) a -75°C se agregó butyllitio en hexanos (2 mol/L, 30 mL) y la mezcla de reacción se mantuvo durante 20 min a -75°C . La mezcla de reacción se vertió sobre un exceso de hielo seco recientemente molido. Se agregó agua (200 mL) y la capa acuosa se lavó con acetato de etilo (3 x 100 mL), se acidificó hasta alcanzar pH 1 con HCl (ac) y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 100 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron y se concentraron para proporcionar ácido 2-cloroquinolina-8-carboxílico como un sólido blanco. Rendimiento 6,56 g (53,6%).
- 10

Preparación de 2-fenil-N-(piridin-3-il)-3-(trifluorometil)quinolina-8-carboxamida:



Paso 1) Preparación de ácido 2-cloro-3-(trifluorometil)quinolina-8-carboxílico:

- 15 Se preparó ácido 2-cloro-3-(trifluorometil)quinolina-8-carboxílico de acuerdo con el procedimiento descrito por Cottet *et al* en Eur. J. Org. Chem. (2003), vol 8, pgs. 1559-1568.

Paso 2) Preparación de 2-cloro-N-(piridin-3-il)-3-(trifluorometil)quinolina-8-carboxamida:

- 20 Una mezcla de ácido 2-cloro-3-(trifluorometil)quinolina-8-carboxílico (165 mg, 0,60 mmol), 3-aminopiridina (73 mg, 0,78 mmol), HATU (365 mg, 0,96 mmol), DIPEA (312 mg, 2,4 mmol) en CH_2Cl_2 (4 mL) se agitó a temperatura ambiente bajo N_2 durante toda la noche. La mezcla de reacción se lavó con agua (5 mL) y salmuera (3 x 5 mL). La solución orgánica se secó, se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice (25% de acetato de etilo en pentano para proporcionar 2-cloro-N-(piridin-3-il)-3-(trifluorometil)quinolina-8-carboxamida como un sólido blanco (36 mg 65% de rendimiento).

Los siguientes materiales se prepararon de forma similar

- a. 2-cloro-N-(piridin-2-il)-3-(trifluorometil)quinolina-8-carboxamida
- 25 b. 2-cloro-N-(tiazol-2-il)-3-(trifluorometil)quinolina-8-carboxamida

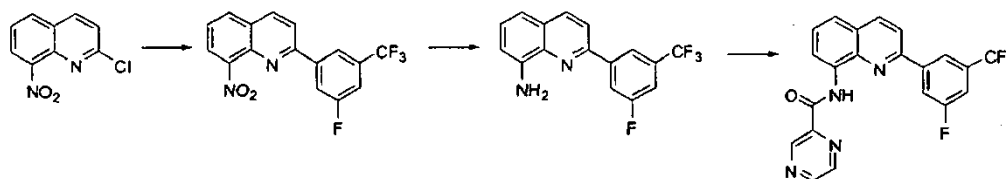
Paso 3) Preparación de 2-fenil-N-(piridin-3-il)-3-(trifluorometil)quinolina-8-carboxamida:

- 30 Una mezcla de 2-cloro-N-(piridin-3-il)-3-(trifluorometil)quinolina-8-carboxamida (136 mg, 0,39 mmol), ácido fenilborónico (62 mg, 0,51 mmol), $\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2 \cdot \text{CH}_2\text{Cl}_2$ (39 mg, 0,048 mmol), K_2CO_3 (167 mg, 1,2 mmol) en dioxano/ H_2O (4:1, 3 mL) se calentó (85°C x 2 horas) bajo un manto de nitrógeno. La mezcla de reacción se evaporó y el residuo se trituró con acetato de etilo. La mezcla se filtró, se concentró y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa para proporcionar 2-fenil-N-(piridin-3-il)-3-(trifluorometil)quinolina-8-carboxamida como un polvo blanco (62 mg, 41% de rendimiento). EM (ESI) calculada para $\text{C}_{22}\text{H}_{14}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}$ (m/z): 393,11, encontrada: 394[M+1].

Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

- a. 2-fenil-N-(piridin-2-il)-3-(trifluorometil)quinolina-8-carboxamida
- 35 b. 2-fenil-N-(tiazol-2-il)-3-(trifluorometil)quinolina-8-carboxamida

Preparación de N-(2-(3-fluoro-5-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)pirazina-2-carboxamida:



Paso 1) Preparación de 2-(3-fluoro-5-(trifluorometil)fenil)-8-nitroquinolina:

Una mezcla de 2-cloro-8-nitroquinolina (0,580 g, 2,78 mmol), ácido 3-fluoro-5-(trifluorometil)fenilborónico (0,675 g, 3,22 mmol), K_3PO_4 (1,1 g, 5,2 mmol) y $Pd(dppf)Cl_2 \cdot CH_2Cl_2$ (0,10 g, 0,122 mmol) en DMF (3 mL) y agua (1 mL) se calentó con microondas (125°C x 1 hora). La mezcla se filtró sobre celite y la torta de celite se lavó con acetato de etilo (30 mL). El filtrado se combinó con 60 mL de solución acuosa de bicarbonato de sodio saturado y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL). Se combinaron las capas orgánicas, se lavaron con salmuera, se secaron ($MgSO_4$) y se concentraron para proporcionar 2-(3-fluoro-5-(trifluorometil)fenil)-8-nitroquinolina. El producto se utilizó sin purificación adicional.

Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

- a. 2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)-8-nitroquinolina
- b. 8-nitro-2-(piridin-4-il)quinolina
- c. 8-nitro-2-(piridin-3-il)quinolina
- d. 2-(5-fluoropiridin-3-il)-8-nitroquinolina

Paso 2) Preparación de 2-(3-fluoro-5-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-amina:

Se recogió 2-(3-fluoro-5-(trifluorometil)fenil)-8-nitroquinolina bruta (2,78 mmol) en alcohol isopropílico (120 mL) y se agregó cloruro de amonio (150 mg, 2,8 mmol) en agua (20 mL). La mezcla se calentó hasta alcanzar 90°C, se agregó polvo de hierro (550 mg, 9,85 mmol) y la reacción se continuó agitando a 90°C durante 18 horas. La mezcla de reacción se filtró sobre celite y la torta de celite se lavó con acetato de etilo (150 mL). El filtrado se concentró y el residuo se recogió en NaOH acuoso 1N (80 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 25 mL). Se combinaron las capas orgánicas, se lavaron con salmuera, se secaron ($MgSO_4$) y se concentraron. El material bruto se purificó mediante cromatografía instantánea (un gradiente de 0 a 100% de acetato de etilo en pentano) para obtener 2-(3-fluoro-5-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-amina (0,42 g, 1,37 mmol, 49% de rendimiento en dos pasos).

Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

- a. 2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-amina
- b. 2-(piridin-4-il)quinolin-8-amina
- c. 2-(piridin-3-il)quinolin-8-amina
- d. 2-(5-fluoropiridin-3-il)quinolin-8-amina

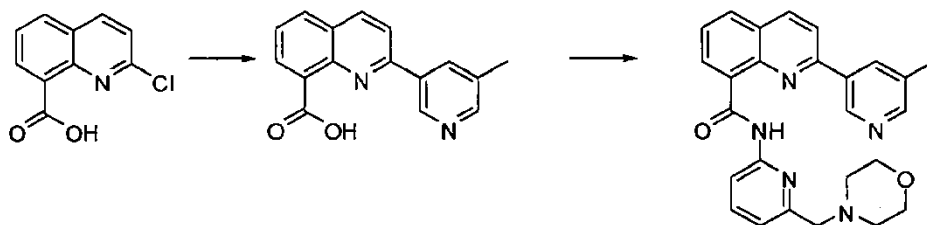
Paso 3) Preparación de N-(2-(3-fluoro-5-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)pirazina-2-carboxamida:

Se combinó ácido 2-pirazinacarboxílico (0,065 g, 0,51 mmol) con DIPEA (0,140 mL, 0,811 mmol) y HATU (0,200 g, 0,51 mmol) en 5 mL de DMF. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante diez minutos, momento en el cual se agregó 2-(3-fluoro-5-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-amina (0,12 g, 0,391 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas antes de agregarse 10 mL de agua. El precipitado resultante se recogió mediante filtración y los sólidos se trituraron en metanol para proporcionar N-(2-(3-fluoro-5-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)pirazina-2-carboxamida como un sólido beige (0,065 g, 31% de rendimiento). EM (ESI) calculada para $C_{21}H_{12}F_4N_4O$ (m/z): 412,09, encontrada: 413[M+1].

Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

- a. N-(2-(3-fluoro-5-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)benzamida
- b. N-(2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)picolinamida
- c. N-(2-(piridin-4-il)quinolin-8-il)pirazina-2-carboxamida
- d. N-(2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)pirazina-2-carboxamida
- e. N-(2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida

- f. N-(2-(3-fluoro-5-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)picolinamida
 g. N-(2-(3-fluoro-5-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)isonicotinamida
 h. N-(2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)isonicotinamida
 i. N-(2-(3-fluoro-5-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)tiazol-4-carboxamida
 5 j. N-(2-(4-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)benzamida
 k. 1-metil-N-(2-(piridin-3-il)quinolin-8-il)-1H-pirazol-3-carboxamida
 l. 1-metil-N-(2-(piridin-3-il)quinolin-8-il)-1H-imidazol-4-carboxamida
 m. N-(2-(5-fluoropiridin-3-il)quinolin-8-il)-1-metil-1H-pirazol-3-carboxamida
 n. 3-(2-morfolinoetoxi)-N-(2-(piridin-3-il)quinolin-8-il)benzamida
 10 Preparación de 2-(5-metilpiridin-3-il)-N-(6-(morfolinometil)piridin-2-il)quinolina-8-carboxamida:



Paso 1) Preparación de ácido 2-(5-metilpiridin-3-il)quinolina-8-carboxílico:

- Una mezcla de ácido 2-cloroquinolina-8-carboxílico (0,600 g, 2,8 mmol), ácido 5-metilpiridin-3-ilborónico (0,410 g, 3,0 mmol), K_3PO_4 (1,1 g, 5,2 mmol) y $Pd(dppf)Cl_2 \cdot CH_2Cl_2$ (0,10 g, 0,122 mmol) en DMF (3 mL) y agua (1 mL) se calentó con microondas (125°C x 1 hora). La mezcla se filtró sobre celite y la torta de celite se lavó con acetato de etilo (30 mL). El filtrado se combinó con 60 mL de solución acuosa de $NaHCO_3$ saturado y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL). Se combinaron las capas orgánicas, se lavaron con salmuera, se secaron ($MgSO_4$) y se concentraron. El material bruto se purificó mediante cromatografía instantánea (un gradiente de 0 a 100% de acetato de etilo en pentano) para obtener ácido 2-(5-metilpiridin-3-il)quinolina-8-carboxílico (0,535 g, 2,02 mmol).
 20 El siguiente material se preparó de forma similar:

El siguiente material se preparó de forma similar:

a. ácido 2-(2-metilpiridin-4-il)quinolina-8-carboxílico

Paso 2) Preparación de 2-(5-metilpiridin-3-il)-N-(6-(morfolinometil)piridin-2-il)quinolina-8-carboxamida:

- Se combinó ácido 2-(5-metilpiridin-3-il)quinolina-8-carboxílico (0,135 g, 0,51 mmol) con DIPEA (0,140 mL, 0,811 mmol) y HATU (0,200 g, 0,51 mmol) en DMF (5 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante diez minutos, momento en el cual se agregó 6-(morfolinometil)piridin-2-amina (0,090 g, 0,466 mmol). La mezcla se agitó 18 horas y luego se agregó agua (10 mL). El precipitado resultante se recogió mediante filtración y los sólidos se trituraron en metanol para obtener 2-(5-metilpiridin-3-il)-N-(6-(morfolinometil)piridin-2-il)quinolina-8-carboxamida como un sólido amarronado (0,045 g, 22% de rendimiento. EM (ESI) calculada para $C_{26}H_{25}N_5O_2$ (m/z): 439,20, encontrada: 440 [M+1].
 30 Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

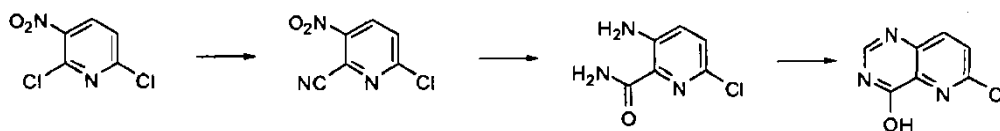
Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

a. 2-(2-metilpiridin-4-il)-N-(tiazol-2-il)quinolina-8-carboxamida

b. 2-(5-metilpiridin-3-il)-N-(tiazol-2-il)quinolina-8-carboxamida

c. 2-(5-metilpiridin-3-il)-N-(3-(morfolinometil)fenil)quinolina-8-carboxamida

- 35 Preparación de 6-cloropirido[3,2-d]pirimidin-4-ol:



Paso 1) Preparación de 6-cloro-3-nitropicolinonitrilo:

Una mezcla de 2,6-dicloro-3-nitropiridina (40 g, 207 mmol) y CuCN (22,32 g, 248 mmol) en 1-metil-2-pirrolidinona (160 ml) se calentó rápidamente hasta alcanzar 180°C durante 25 minutos. La mezcla se enfrió hasta alcanzar la temperatura ambiente y la solución marrón oscura se vertió en agua helada (1200 ml) y se agitó durante 30 min. La solución acuosa se extrajo con acetato de etilo y tolueno hirviendo, la capa orgánica se secó (Na₂SO₄) y se concentró a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice (5% a 25% gradiente de acetato de etilo en pentano) para proporcionar 6-cloro-3-nitropicolinonitrilo como un sólido amarillo. (15,75 g, 41,4% de rendimiento)

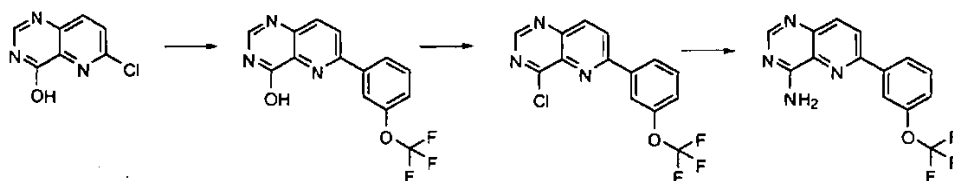
Paso 2) Preparación de 6-cloro-3-nitropicolinamida:

Una mezcla de 6-cloro-3-nitropicolinonitrilo (12 g, 65,4 mmol) y SnCl₂·H₂O (59 g, 262 mmol) en etanol (144 ml) se calentó hasta alcanzar 85°C durante 3 horas. La solución se concentró a presión reducida, se agregó agua y se agregó una solución de bicarbonato de sodio acuoso saturado hasta alcanzar pH=8. La mezcla se extrajo con acetato de etilo varias veces. Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron a presión reducida para proporcionar 6-cloro-3-nitropicolinamida en rendimiento cuantitativo.

Paso 3) Preparación de 6-cloropirido[3,2-d]pirimidin-4-ol:

Una suspensión de 6-cloro-3-nitropicolinamida (12 g, 70 mmol) en ortoformato de trietilo (490 ml) se sometió a reflujo durante 3 horas. Se formó una suspensión amarilla que se enfrió hasta alcanzar la temperatura ambiente. El precipitado se recogió mediante filtración y se secó al vacío para obtener 6-cloropirido[3,2-d]pirimidin-4-ol (10,44 g, 82% de rendimiento).

Preparación de 4-cloro-6-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirido[3,2-d]pirimidina:



Paso 1) Preparación de 6-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-ol:

Una mezcla de 6-cloropirido[3,2-d]pirimidin-4-ol (3 g, 16,5 mmol), CsCO₃ (16,1 g, 49,5 mmol), Pd(dppf)Cl₂ CH₂Cl₂ (2,4 g) y ácido 3-fluorofenilborónico (4 g, 19,8 mmol) en 1,4-dioxano (180 ml) se calentó hasta alcanzar reflujo durante 3,5 horas. La TLC mostró que la reacción se completó, el disolvente se eliminó y se agregó agua. La mezcla se neutralizó hasta alcanzar pH=7-8, con HCl 1N y luego se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron a presión reducida. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice para obtener 6-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-ol (2,63 g, rendimiento 52,6%).

Paso 2) Preparación de 4-cloro-6-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirido[3,2-d]pirimidina:

Una solución de 6-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-ol (1,2 g, 3,9 mmol) en SOCl₂ (10 mL) se sometió a reflujo durante 2 horas. La reacción se concentró a presión reducida y el residuo se recogió y se agregó a tolueno (10 mL) para obtener 4-cloro-6-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirido[3,2-d]pirimidina como un sólido marrón. Se utilizó como tal sin purificación adicional.

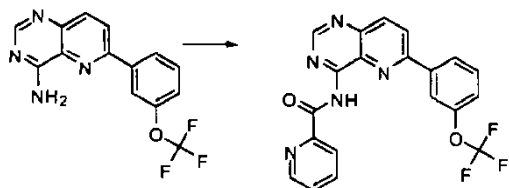
Paso 3) Preparación de 6-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-amina:

La 4-cloro-6-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirido[3,2-d]pirimidina sólida marrón obtenida en el paso 2 se agregó a una solución de NH₃ en propan-2-ol (50 mL, 12%) y se agitó a 35°C durante toda la noche. La reacción se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice (66% de acetato de etilo en pentano) para proporcionar 6-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-amina (0,2 g, 17% de rendimiento) como un sólido marrón.

El siguiente material se preparó de forma similar:

a. 6-(3-(trifluorometil)fenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-amina

Preparación de N-(6-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)picolinamida:

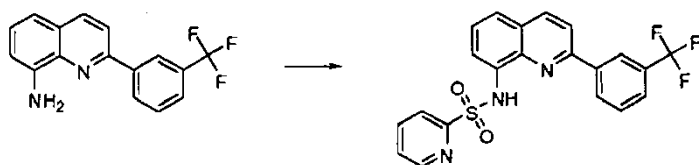


A una solución de 6-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-amina (50 mg, 163 mmol) en DMF (1 mL) se agregó HATU (124 mg, 330 mmol), ácido piridina-2-carboxílico (20 mg, 163 mmol) y DIPEA (0,07 mL, 330 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla de reacción se trató con agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó (MgSO₄), se concentró hasta secarse y el producto bruto se purificó mediante TLC preparativa (10% Metanol en CH₂Cl₂) para proporcionar N-(6-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)picolinamida como un sólido amarillo (57 mg, 85% de rendimiento). EM (ESI) calculada para C₂₀H₁₂F₃N₅O₂ (m/z): 411,09, encontrada: 412 [M+1].

Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

- a. N-(6-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)nicotinamida
- b. N-(6-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)-3-(trifluorometil)benzamida
- c. 3-(trifluorometil)-N-(6-(3-(trifluorometil)fenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)benzamida
- d. N-(6-(3-(trifluorometil)fenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)tiazol-2-carboxamida
- e. 4-(pirrolidin-1-ilmetil)-N-(6-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)benzamida
- f. N-(6-(3-(trifluorometil)fenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)tiazol-5-carboxamida
- g. N-(6-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)tiazol-4-carboxamida
- h. N-(6-(3-(trifluorometoxi)fenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)tiazol-5-carboxamida
- i. N-(6-(3-(trifluorometil)fenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)picolinamida
- j. N-(6-(3-(trifluorometil)fenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)nicotinamida
- k. 4-(pirrolidin-1-ilmetil)-N-(6-(3-(trifluorometil)fenil)pirido[3,2-d]pirimidin-4-il)benzamida

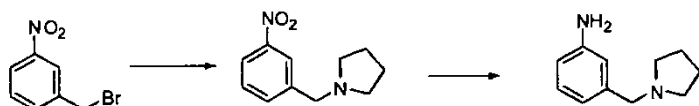
Preparación de N-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)piridina-2-sulfonamida:



A una solución de 2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-amina (0,10 g, 0,347 mmol) en CH₂Cl₂ (10 mL) se agregó DIPEA (0,120 mL, 0,695 mmol) y luego cloruro de piridina-2-sulfonilo (0,065 g, 0,366 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. Se agregó una solución acuosa de NaHCO₃ saturado (30 mL), el precipitado resultante se recogió mediante filtración y se lavó con metanol para obtener N-(2-(3-(trifluorometil)fenil)quinolin-8-il)piridina-2-sulfonamida (0,025 g, 17% de rendimiento).

EM (ESI) calculada para C₂₁H₁₄F₃N₃O₂S (m/z): 429,08, encontrada: 430 [M+1].

Preparación de 3-(pirrolidin-1-ilmetil)anilina:



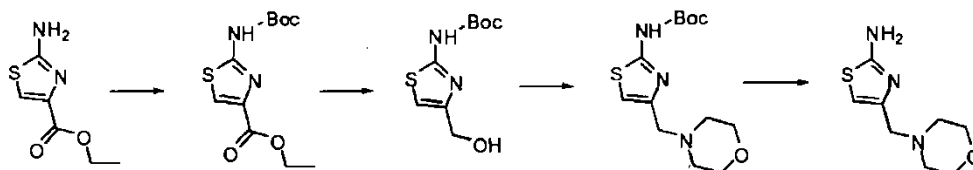
Se recogió 1-(bromometil)-3-nitrobenceno (5g, 23,1 mmol) en 100 mL de THF anhidro junto con pirrolidina (2,3 mL, 27,72 mmol) y K₂CO₃ (4,8 g, 34,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 h y luego se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 1-(3-nitrobencil)pirrolidina. Este material se recogió en 100 mL de EtOH absoluto y se agregó 10% de Pd sobre C (300 mg). La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente bajo 1 atm de hidrógeno durante 18 h. La mezcla luego se filtró a través de una

almohadilla de Celite y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 2,81 g de 3-(pirrolidin-1-ilmetil)anilina (70%).

Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

- a. 3-(morfolinometil)anilina
- 5 b. 4-(pirrolidin-1-ilmetil)anilina
- c. 4-(morfolinometil)anilina

Preparación de 4-(morfolinometil)tiazol-2-amina:



Paso 1) Preparación de 4-(hidroximetil)tiazol-2-ilcarbamato de terc-butilo:

- 10 Se recogió 2-aminotiazol-4-carboxilato de etilo (10,0 g, 58,1 mmol) y se colocó en 150 mL de THF anhidro junto con carbonato de di-terc-butilo (Boc_2O , 12,67 g, 58,1 mmol) junto con 10 mg de 4-(dimetil)aminopiridina (DMAP). La mezcla de reacción se agitó a 50°C durante 4 h y luego a temperatura ambiente durante 18 h. Luego se concentró a presión reducida para obtener un aceite espeso. Se agregó pentano y los materiales cristalinos resultantes se recogieron mediante filtración y se secaron para proporcionar 10,5 g de 2-(terc-butoxicarbonilamino)tiazol-4-carboxilato de etilo. Este material (10,5 g, 38,5 mmol) se disolvió en 300 mL de THF anhidro y se enfrió en un baño de hielo seco-acetonitrilo. Luego se agregó una solución de Super Hydride™ 1 M en THF (85 mL) durante un período de 10 min. La mezcla de reacción resultante se agitó a -45°C durante 2 h. Luego se agregó otra porción de Super Hydride™ 1 M en THF (35 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 h más a -45°C. La reacción se aplacó a -45°C mediante adición de 50 mL de salmuera. Tras entibiarse hasta alcanzar la temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía para proporcionar 6,39 g de 4-(hidroximetil)tiazol-2-ilcarbamato de terc-butilo (72%).
- 15
- 20

El siguiente material se preparó de forma similar:

- 25 a. 5-(hidroximetil)tiazol-2-ilcarbamato de terc-butilo

Paso 2) Preparación de 4-(morfolinometil)tiazol-2-amina:

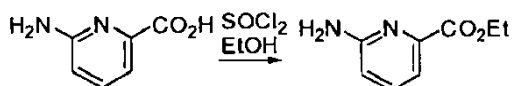
- Se recogió 4-(hidroximetil)tiazol-2-ilcarbamato de terc-butilo (2,0 g, 8,7 mmol) en 25 mL de CH_2Cl_2 junto con Et_3N (1,82 mL, 13,05 mmol) y se enfrió hasta alcanzar 0°C. Se agregó cloruro de metanosulfonilo (0,85 mL, 10,88 mmol) y la mezcla de reacción resultante se agitó a 0°C durante 60 min. Luego se agregó morfolina (3,0 mL, 35 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo resultante se recogió en EtOAc y se lavó con NaHCO_3 diluido acuoso, salmuera, se secó (Na_2SO_4) y se concentró a presión reducida. Este material se purificó mediante filtración a través de una columna corta de gel de sílice. El filtrado se concentró para proporcionar 1,88 g de terc-butil 4-(morfolinometil)tiazol-2-ilcarbamato. El grupo Boc se eliminó mediante tratamiento proporcional de 4-(morfolinometil)tiazol-2-ilcarbamato de terc-butilo con 20 mL de 25% de TFA en CH_2Cl_2 durante 18 h a temperatura ambiente. Después de que se eliminó todo el disolvente mediante concentración y secado al alto vacío, el residuo resultante se trató con una mezcla de pentano/EtOAc para proporcionar 2,17 g 4-(morfolinometil)tiazol-2-amina como un sólido blanco.
- 30
- 35

Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

1. a. 4-(pirrolidin-1-ilmetil)tiazol-2-amina
402. b. 5-(morfolinometil)tiazol-2-amina
3. c. 5-(pirrolidin-1-ilmetil)tiazol-2-amina

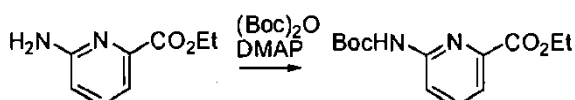
Preparación de 6-(pirrolidin-1-ilmetil)piridin-2-amina:

Paso 1) Preparación de 6-aminopicolinato de etilo:



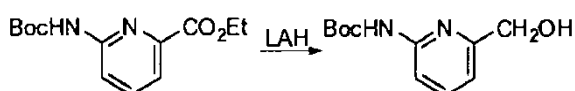
A una solución de ácido 2-amino-6-piridinacarboxílico (6,0 g, 43,5 mmol) en etanol (150 mL) se agregó SOCl_2 (12,0 g, 101 mmol) a 0°C . La mezcla de reacción resultante se agitó a reflujo durante 12 h. Tras enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. Se agregó suficiente solución saturada acuosa de Na_2CO_3 para ajustar el $\text{pH} = 9$. La mezcla se concentró a presión reducida y se agregó diclorometano (150 mL) al residuo resultante. La mezcla se agitó vigorosamente a temperatura ambiente durante 30 min y luego se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 6-aminopicolinato de etilo (5,5 g, 76%).

Paso 2) Preparación de 6-(terc-butoxicarbonilamino)picolinato de etilo:



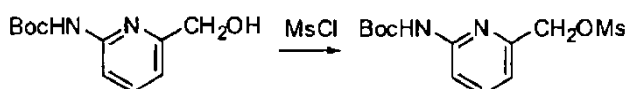
A una solución de 6-aminopicolinato de etilo (5,5 g, 33 mmol) en *t*-BuOH (120 mL) y acetona (40 mL) se agregó DMAP (0,08 g, 0,66 mmol) y dicarbonato de di-*t*-butilo (10,8 g, 49,5 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. El disolvente se eliminó mediante concentración a presión reducida y se agregó una mezcla de hexano/diclorometano (180 mL, 3:1). La mezcla resultante se enfrió hasta alcanzar -20°C durante 2 h. Los residuos resultantes se recogieron mediante filtración y se secaron para proporcionar 6-(terc-butoxicarbonilamino)picolinato de etilo (11,0 g, 91%).

Paso 3) Preparación de 6-(hidroximetil)piridin-2-ilcarbamato de terc-butilo:



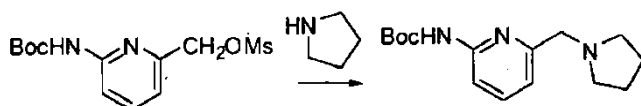
A una solución agitada de 6-(terc-butoxicarbonilamino)picolinato de etilo (11,0 g, 33 mmol) en THF (120 mL) bajo nitrógeno se agregó LiAlH_4 (3,80 g, 100 mmol) en THF (60 mL) durante un período de 30 min a 0°C . La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 6 h y cuidadosamente se aplacó mediante adición de agua (2,0 mL) y 10% solución de NaOH (4,0 mL) a 0°C . La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se secó (Na_2SO_4) y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía (1:1 éter de petróleo:acetato de etilo) para proporcionar 6-(hidroximetil)piridin-2-ilcarbamato de terc-butilo (3,0 g, 41%).

Paso 4) Preparación de 6-(terc-butoxicarbonilamino)piridin-2-il)metilmetanosulfonato:



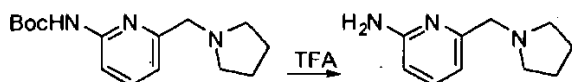
A una solución de 6-(hidroximetil)piridin-2-ilcarbamato de terc-butilo (3,0 g, 13,4 mmol) y DIPEA (5,0 g, 40 mmol) en acetonitrilo (30 mL) se agregó MsCl (2,0 g, 17,4 mmol) durante un período de 30 min a 0°C y la mezcla se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La reacción se aplacó mediante adición de NaHCO_3 acuoso saturado y se extrajo con acetato de etilo (3×60 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron a presión reducida para proporcionar esencialmente un rendimiento cuantitativo de metanosulfonato de 6-(terc-butoxicarbonilamino)piridin-2-il)metilo bruto.

Paso 5) Preparación de 6-(pirrolidin-1-ilmetil)piridin-2-ilcarbamato de terc-butilo:



Una mezcla que contiene metanosulfonato de 6-(terc-butoxicarbonilamino)piridin-2-il)metilo (1,30 g, 3,2 mmol), pirrolidina (0,46 g, 6,4 mmol) y K_2CO_3 (1,30 g, 9,6 mmol) en acetonitrilo (15 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. Se agregó NaHCO_3 acuoso saturado y la mezcla se concentró a presión reducida. La capa acuosa resultante se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron a presión reducida para proporcionar 6-(pirrolidin-1-ilmetil)piridin-2-ilcarbamato de terc-butilo (0,75 g, 2,7 mmol, 62% en dos pasos).

Paso 6) Preparación de 6-(pirrolidin-1-ilmetil)piridin-2-amina:

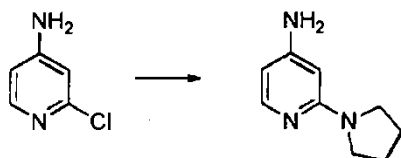


A una solución de 6-(pirrolidin-1-ilmetil)piridin-2-ilcarbamato de terc-butilo (750 mg, 2,7 mmol) en diclorometano (10 mL) se agregó TFA (4,0 mL) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 6 h y luego se concentró a presión reducida. Se agregó suficiente Na_2CO_3 acuoso saturado al residuo resultante para ajustar el pH = 9. La mezcla luego se extrajo con acetato de etilo (3×25 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na_2SO_4) y se concentraron a presión reducida para proporcionar 6-(pirrolidin-1-ilmetil)piridin-2-amina (440 mg, 92%).

El siguiente material se preparó de forma similar:

- a. 6-(morfolinometil)piridin-2-amina
- 10 b. 6-(morfolinometil)piridin-3-amina
- c. 5-(pirrolidin-1-ilmetil)piridin-2-amina
- d. 6-(pirrolidin-1-ilmetil)piridin-3-amina

Preparación de 2-(pirrolidin-1-il)piridin-4-amina:

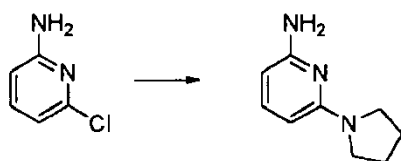


Una mezcla de 2-cloro-4-aminopiridina (2,29 g, 17,8 mmol) y pirrolidina (5,0 mL) se calentó por microondas a 200°C durante 10 min. Después de enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente, el sólido se filtró y se lavó con diclorometano (10 mL x 3). La torta del filtro se disolvió en K_2CO_3 acuoso y se extrajo con CH_2Cl_2 (40 mL x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para obtener 2-(pirrolidin-1-il)piridin-4-amina (2,3 g, 79% de rendimiento).

Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

- a. 2-morfolinopiridin-4-amina

Preparación de 6-(pirrolidin-1-il)piridin-2-amina:



Una mezcla de 4-cloro-2-aminopiridina (19,3 g, 0,150 mol), K_2CO_3 (41,7 g, 0,30 mol) y pirrolidina (32,0 g, 0,45 mol) en DMSO (150 mL) se agitó a 190°C durante 10 horas. Después de enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente, se agregó agua (300 mL) y se extrajo con acetato de etilo (150 mL x 4). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (25 mL x 3), se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío, el residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (10:1 acetato de etilo/éter de petróleo) para obtener 6-(pirrolidin-1-il)piridin-2-amina (9,0 g, 37% de rendimiento).

Los siguientes materiales se prepararon de forma similar:

- a. 6-morfolinopiridin-2-amina

Ejemplo 4

Actividad biológica

Un ensayo en base a espectrometría de masas se utilizó para identificar moduladores de actividad de SIRT1. El ensayo en base a espectrometría de masas utiliza un péptido que tiene 20 residuos de aminoácidos de la siguiente manera: Ac-EE-K(biotina)-GQSTSSHSK(Ac)NleSTEG-K(5TMR)-EE-NH₂ (SEQ ID NO: 1) en donde K(Ac) es un residuo de lisina acetilado y Nle es una norleucina. El péptido se etiqueta con el fluoróforo 5TMR (excitación 540 nm/emisión 580 nm) en el extremo C terminal. La secuencia del sustrato peptídico se basa en p53 con varias

modificaciones. Además, el residuo de metionina naturalmente presente en la secuencia se reemplazó por la norleucina debido a que la metionina puede ser susceptible a la oxidación durante la síntesis y purificación.

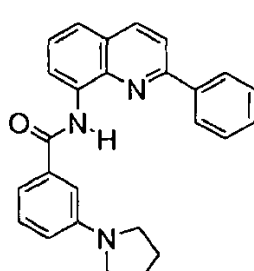
El ensayo de espectrometría de masas se lleva a cabo de la siguiente manera: sustrato peptídico 0,5 μM y βNAD^+ 120 μM se incuban con SIRT1 10 nM durante 25 minutos a 25°C en una solución amortiguadora de reacción (Tris-acetato 50 mM pH 8, NaCl 137 mM, KCl 2,7 mM, MgCl_2 1 mM, DTT 5 mM, 0,05% de BSA). Los compuestos de prueba pueden agregarse a la reacción como se describió anteriormente. El gen SirT1 se clona en un vector que contiene el promotor T7 y se transforma en BL21(DE3). Después de la incubación de 25 minutos con SIRT1 se agregan 10 μL de ácido fórmico al 10% para detener la reacción. Las reacciones se sellan y congelan para un análisis por espectrometría de masas posterior. La determinación de la masa del péptido de sustrato permite la determinación precisa del grado de acetilación (es decir, material de partida) en comparación con péptido deacetilado (producto).

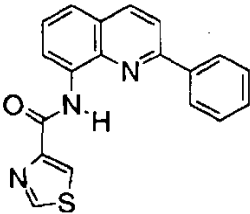
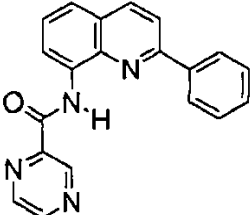
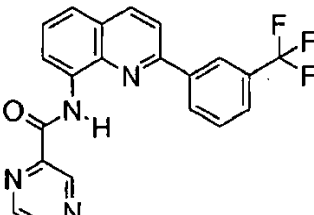
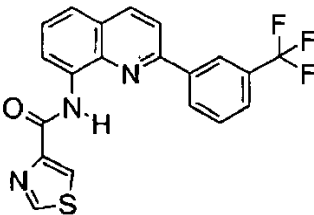
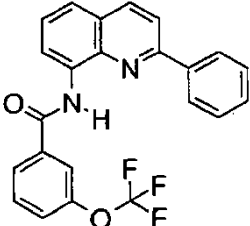
Se realiza un testigo para la inhibición de la actividad de la sirtuina al agregar 1 μL de nicotinamida 500 mM como un testigo negativo al comienzo de la reacción (por ejemplo, permite la determinación de inhibición de sirtuina máxima). Se realiza un testigo para la activación de sirtuina utilizando proteína sirtuina 10 nM, con 1 μL de DMSO en lugar del compuesto, para determinar la cantidad de desacetilación del sustrato en un punto de tiempo dado dentro del rango lineal del ensayo. Este punto de tiempo es el mismo que el utilizado para compuestos de prueba y, dentro del rango lineal, el criterio de valoración representa un cambio en la velocidad.

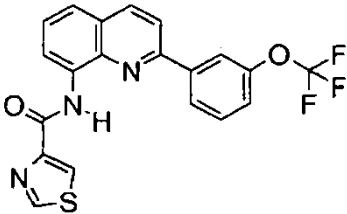
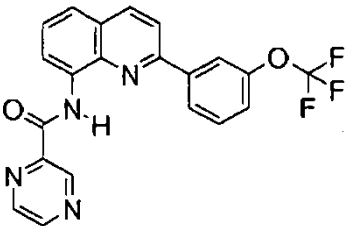
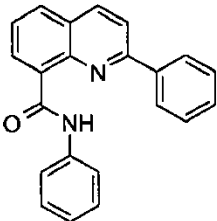
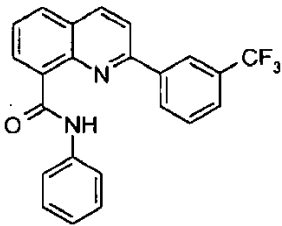
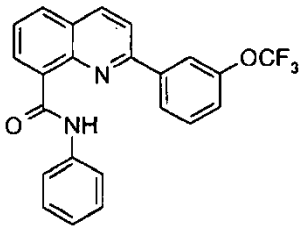
Para el ensayo anterior, la proteína SIRT1 se expresó y purificó de la siguiente manera. El gen SirT1 se clonó en un vector que contenía el promotor T7 y se transformó en BL21(DE3). La proteína se expresó mediante inducción con IPTG 1 mM como una proteína de fusión His-tag N-terminal a 18°C durante la noche y se cosechó a 30.000 x g. Las células se lisaron con lisosoma en solución amortiguadora de lisis (Tris-HCl 50 mM, Tris[2-carboxietil] fosfina (TCEP), ZnCl_2 10 μM , NaCl 200 mM) y fueron tratadas adicionalmente con sonicación durante 10 min para una lisis completa. La proteína se purificó en una columna Ni-NTA (Amersham) y las fracciones que contenían proteína pura se agruparon, concentraron y se pasaron por una columna de medición (Sephadex S200 26/60 global). El pico que contenía proteína soluble se recogió y pasó por una columna de intercambio iónico (MonoQ). La elución en gradiente (NaCl 200 mM - 500 mM) proporcionó proteína pura. Esta proteína se concentró y dializó contra solución amortiguadora de diálisis (Tris-HCl 20 mM, TCEP 2 mM) durante la noche. La proteína se separó y congeló a -80°C hasta el siguiente uso.

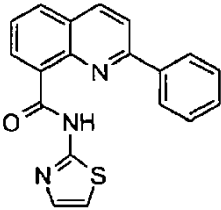
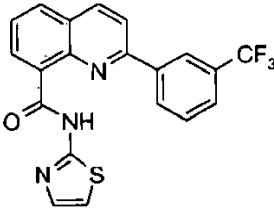
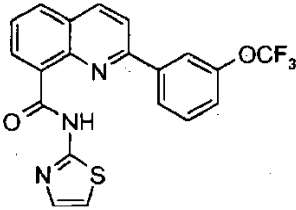
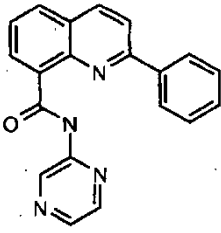
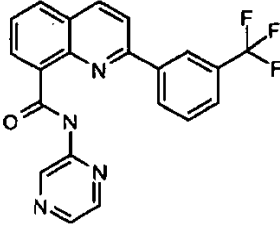
Los compuestos moduladores de sirtuina que activaron SIRT1 se identificaron utilizando el ensayo descrito anteriormente y se muestran a continuación en la Tabla 1. Los valores de $\text{EC}_{1,5}$ representan la concentración de compuestos de prueba que resultan en la activación del 150% de SIRT1. Los valores de $\text{EC}_{1,5}$ para los compuestos activadores están representados por A ($\text{EC}_{1,5} < 1,0 \mu\text{M}$), B ($\text{EC}_{1,5} 1\text{-}25 \mu\text{M}$), C ($\text{EC}_{1,5} > 25 \mu\text{M}$). La nivel de activación máximo porcentual está representado por A (nivel de activación $> 200\%$) o B (nivel de activación $< 200\%$). "NT" indica que el compuesto no fue evaluado en un ensayo particular.

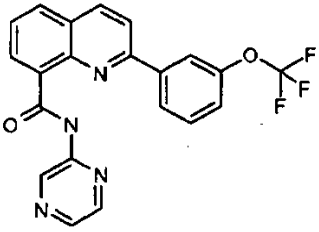
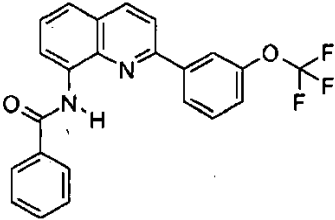
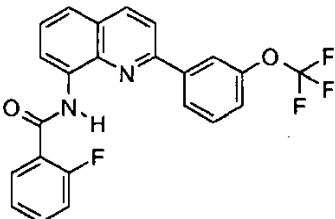
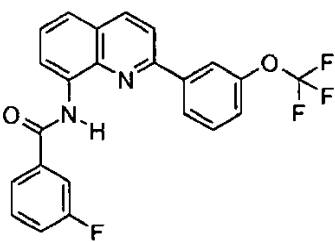
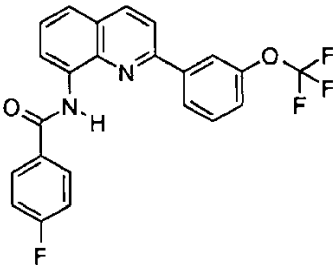
Tabla 1.

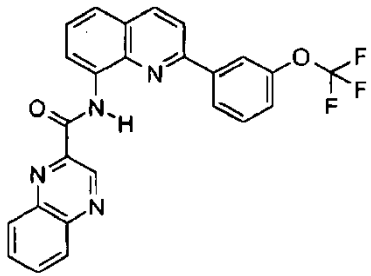
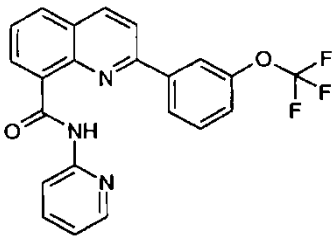
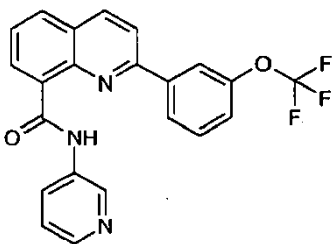
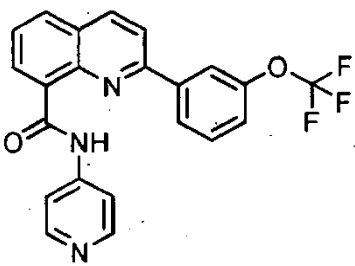
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	$\text{EC}_{1,5}$ (μM)	% Nivel act.
1	394		C	NT

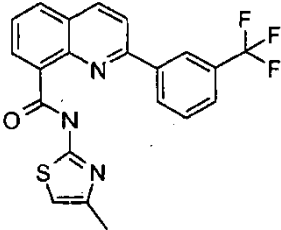
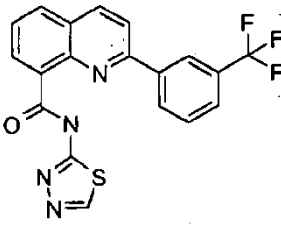
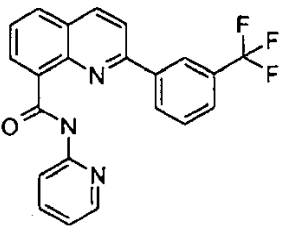
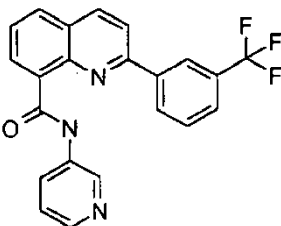
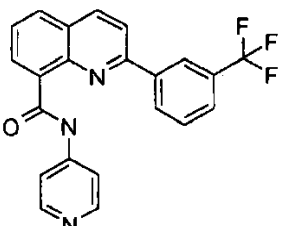
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
2	332		B	A
3	327		A	A
4	395		A	B
5	400		A	A
6	409		C	NT

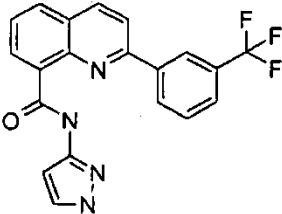
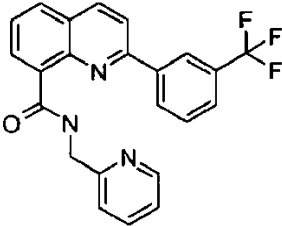
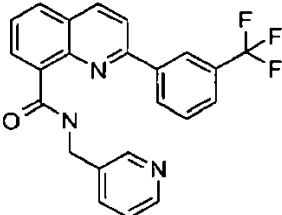
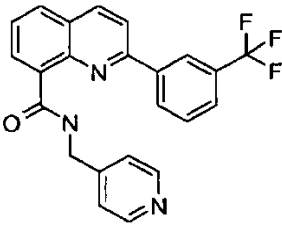
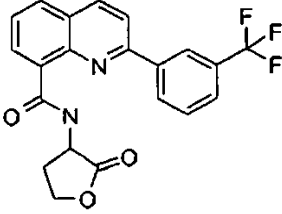
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
7	416		B	A
8	411		A	B
9	325		C	B
10	393		B	A
11	409		B	B

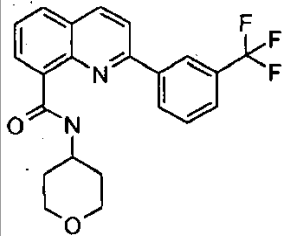
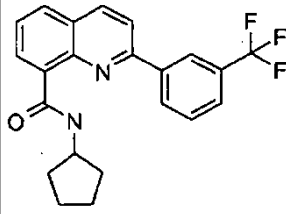
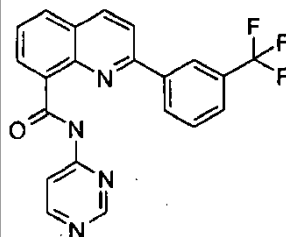
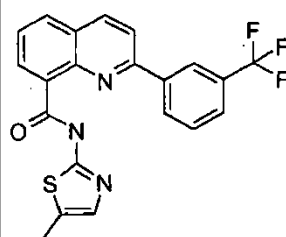
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
12	332		A	A
13	400		A	A
14	416		A	B
15	327		A	B
16	395		A	A

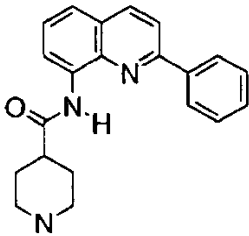
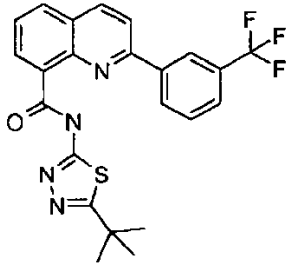
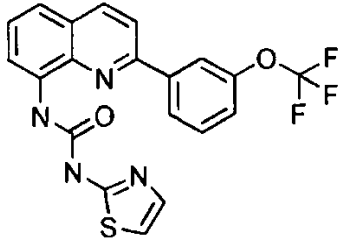
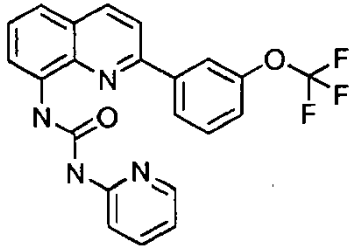
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
17	411		A	A
19	409		C	NT
20	427		C	NT
21	427		C	NT
22	427		C	NT

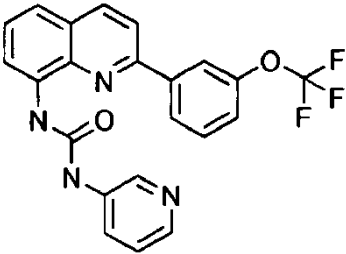
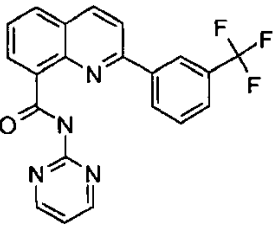
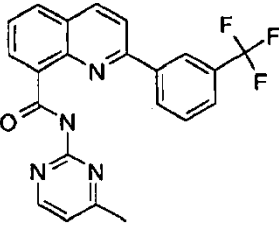
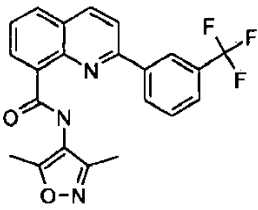
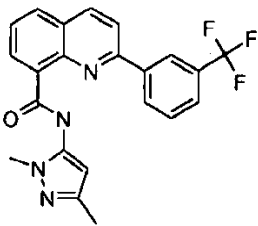
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
23	461		C	NT
24	410		A	A
25	410		A	A
26	410		B	A

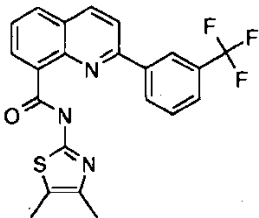
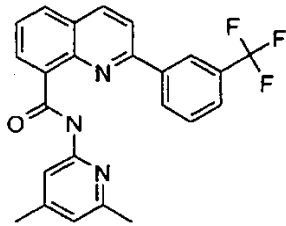
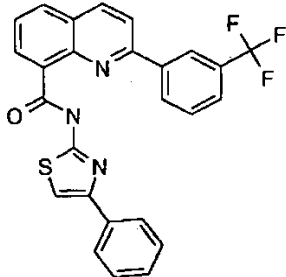
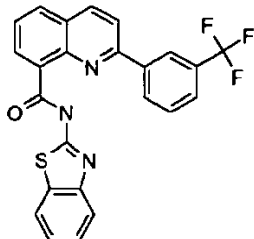
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
27	414		A	A
28	401		A	A
30	394		A	A
31	394		A	A
32	394		A	A

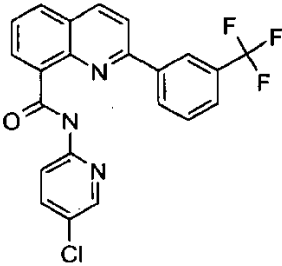
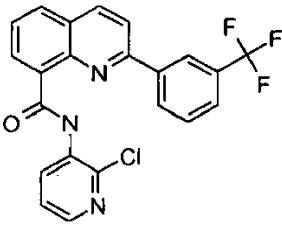
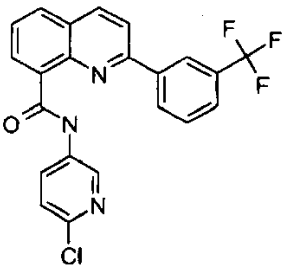
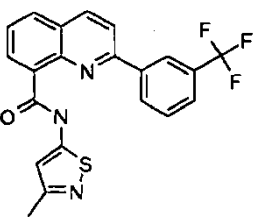
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
34	383		B	A
35	408		B	B
36	408		C	A
37	408		B	B
38	401		B	A

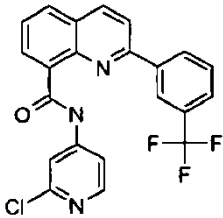
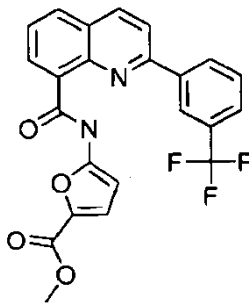
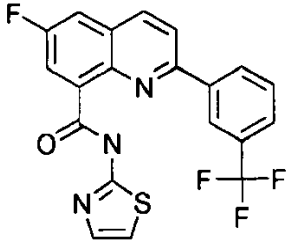
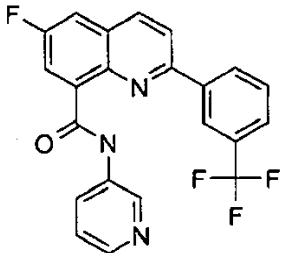
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
39	401		B	B
40	385		C	NT
41	395		A	A
42	414		A	B

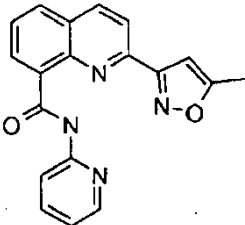
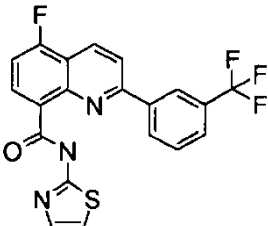
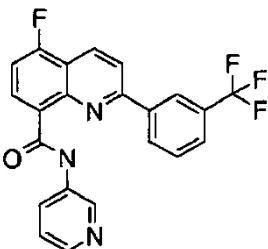
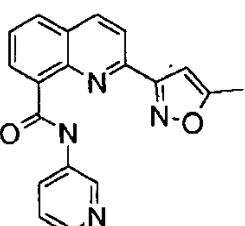
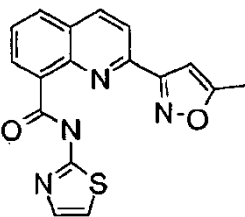
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
43	332		C	NT
44	457		A	B
45	431		A	B
46	425		A	B

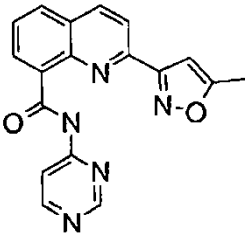
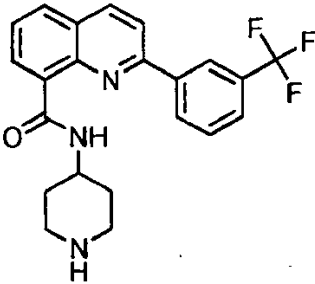
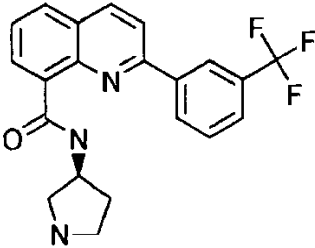
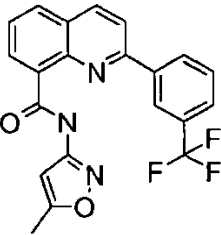
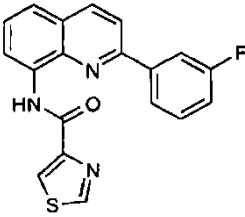
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
47	425		A	A
48	395		A	A
49	409		A	A
50	412		C	NT
51	411		B	A

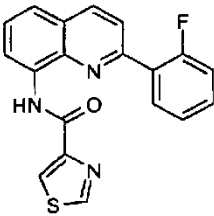
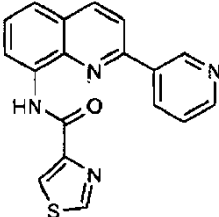
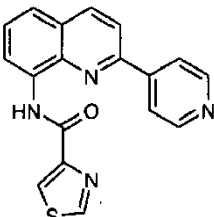
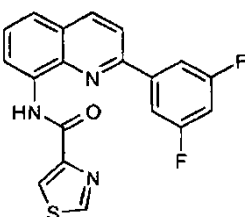
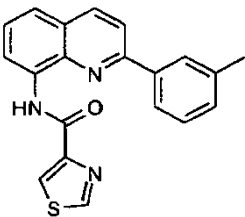
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
52	428		A	A
53	422		A	A
54	476		C	NT
55	450		A	A

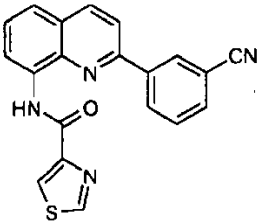
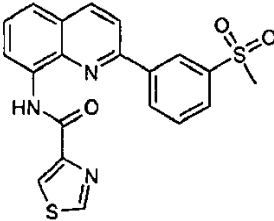
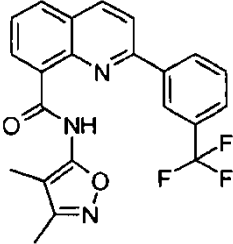
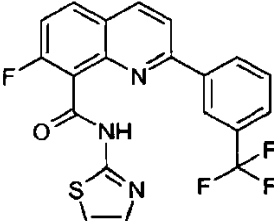
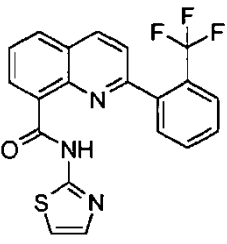
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
56	428		A	B
57	428		B	B
58	428		A	B
59	414		A	A

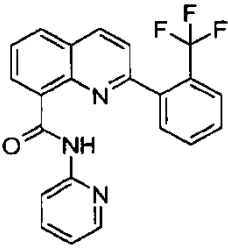
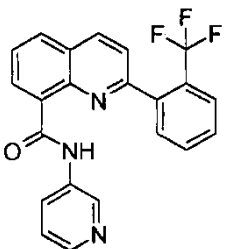
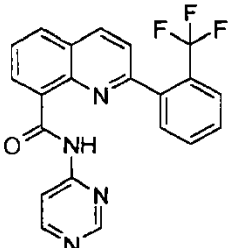
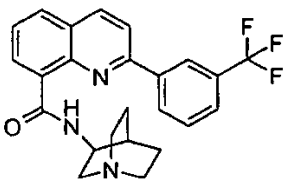
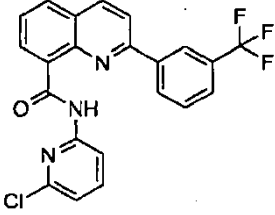
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
60	428		A	A
61	441		A	A
62	418		C	NT
63	412		C	NT

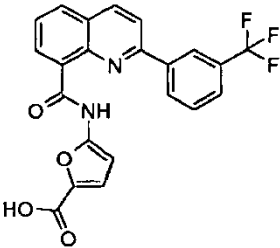
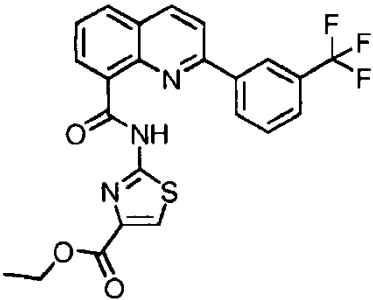
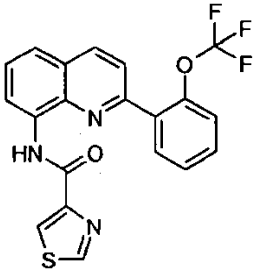
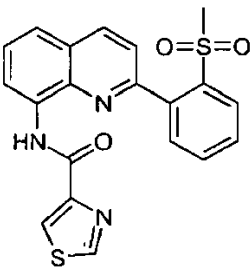
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
64	331		C	NT
66	418		C	NT
67	412		A	A
68	331		C	NT
69	337		C	NT

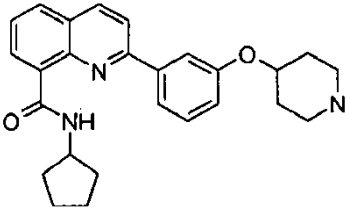
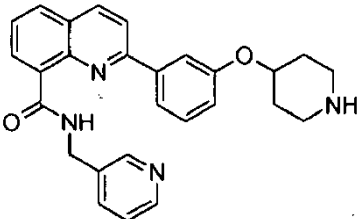
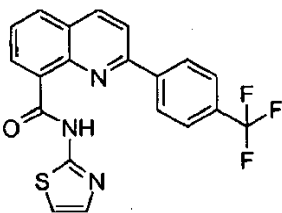
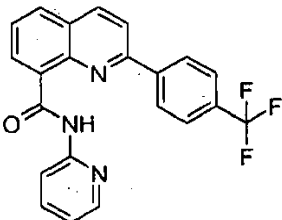
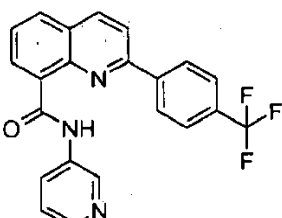
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
70	332		C	NT
71	400		B	A
72	386		C	B
73	398		B	B
74	350		B	B

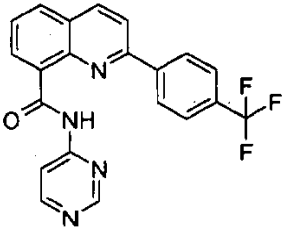
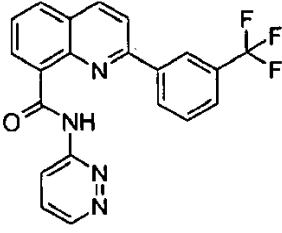
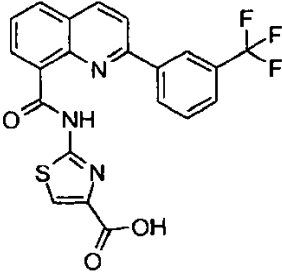
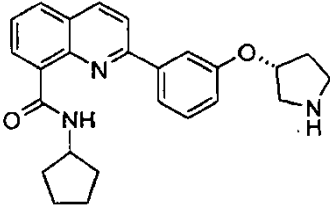
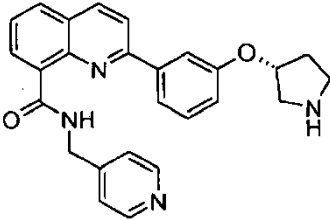
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
75	350		B	A
76	333		A	A
77	333		A	A
78	368		C	NT
79	346		A	B

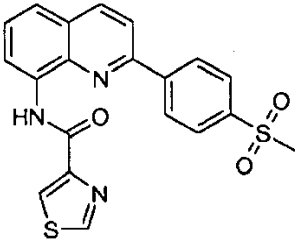
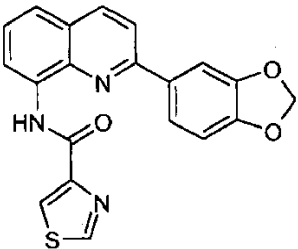
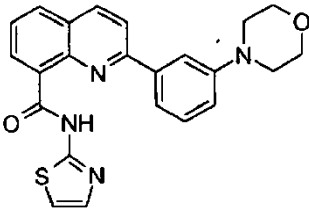
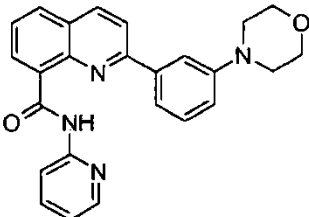
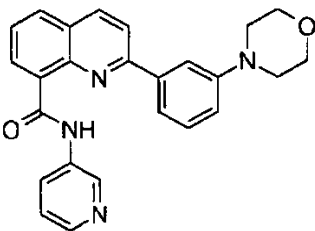
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
80	357		C	NT
81	410		A	A
82	412		B	A
83	418		B	A
84	400		B	A

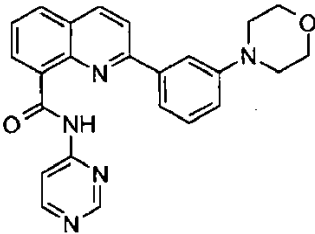
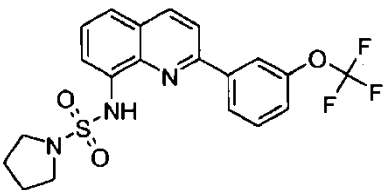
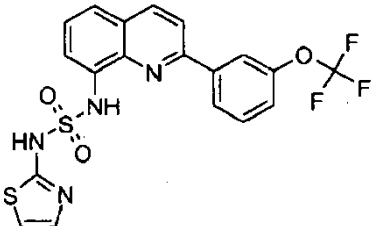
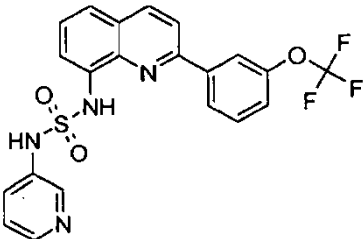
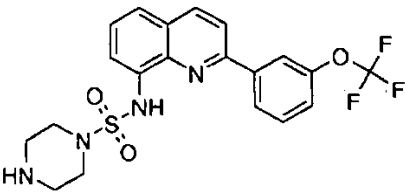
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
85	394		B	B
86	394		B	A
87	395		A	A
88	426		C	NT
89	428		C	NT

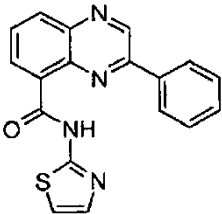
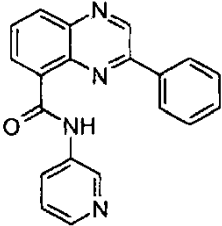
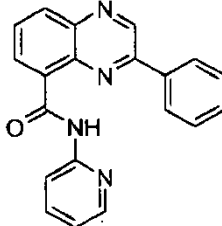
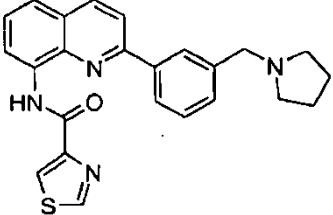
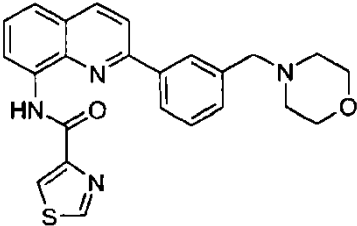
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
90	427		B	B
91	472		A	A
92	416		A	A
93	410		A	A

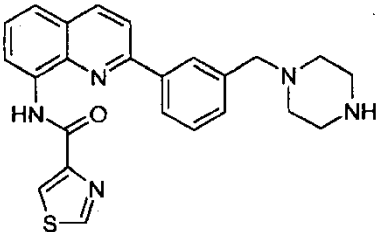
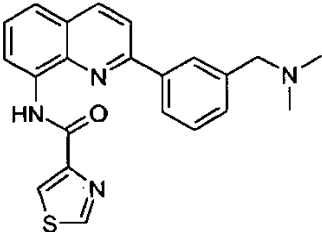
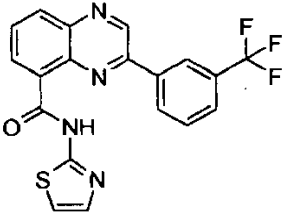
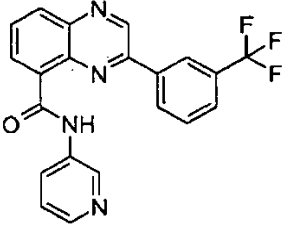
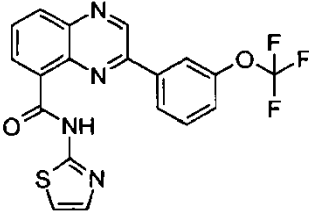
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
94	416		B	A
95	439		B	A
96	400		C	NT
97	394		C	NT
98	394		C	NT

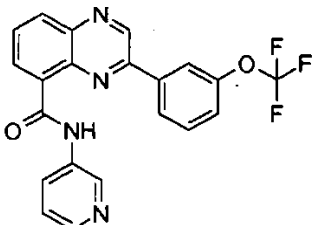
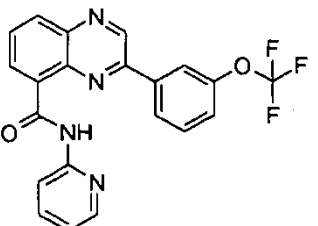
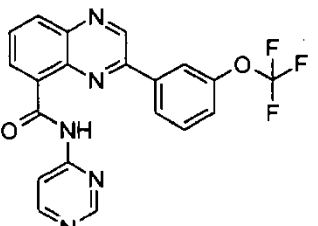
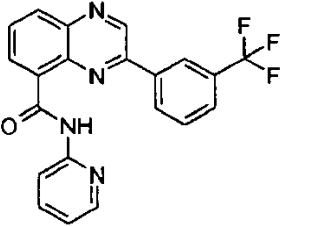
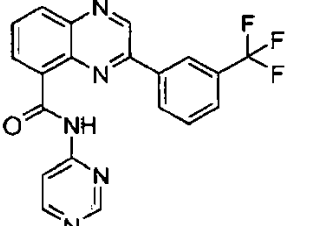
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
99	395		C	NT
100	395		A	A
101	444		B	A
102	402		B	A
103	425		B	A

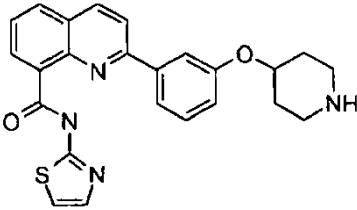
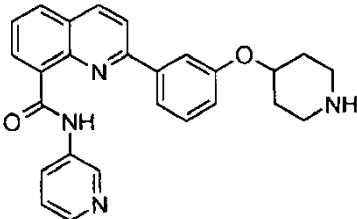
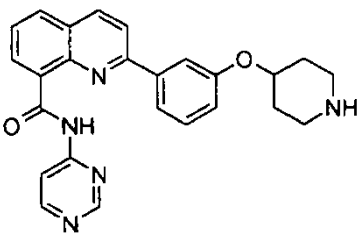
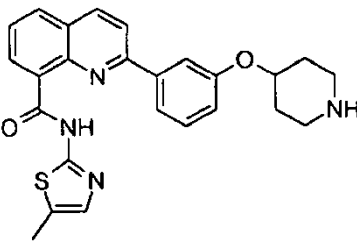
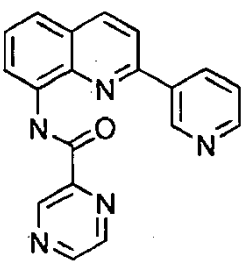
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
106	410		B	B
107	376		A	B
108	417		A	A
109	411		A	A
110	411		A	A

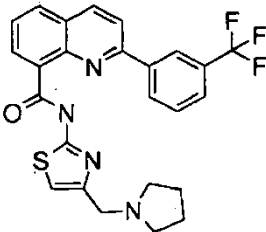
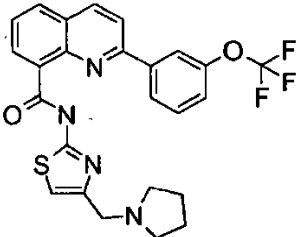
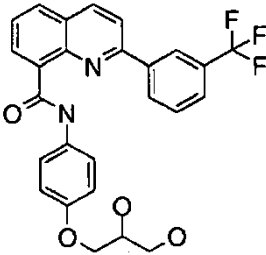
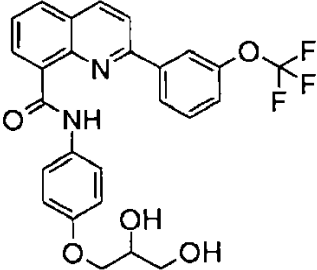
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
111	412		A	A
112	438		C	NT
113	467		C	NT
114	461		C	NT
115	453		B	B

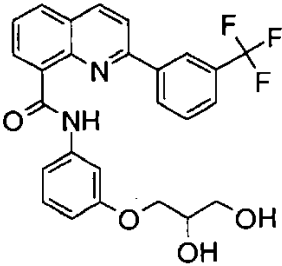
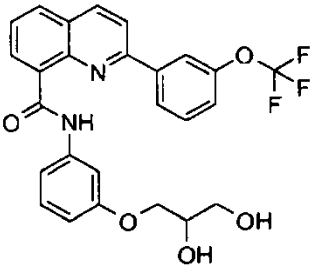
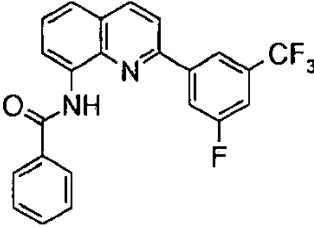
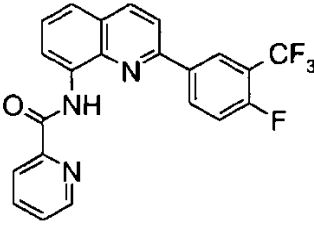
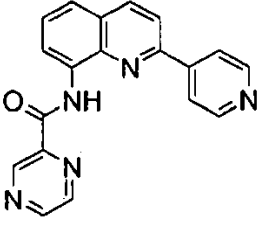
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
116	333		C	NT
117	327		B	B
118	327		B	B
119	415		A	A
120	431		A	A

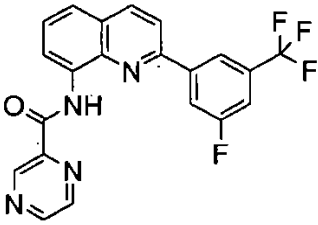
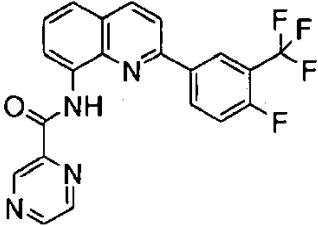
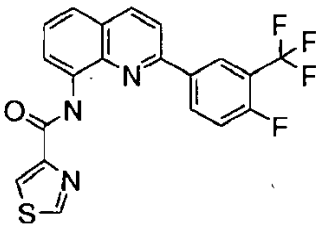
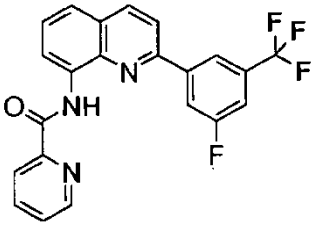
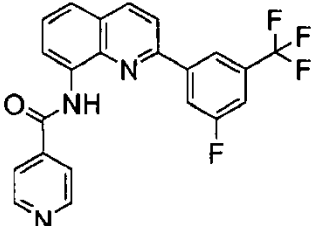
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
121	430		A	A
122	389		A	A
123	401		C	NT
124	395		A	B
125	417		C	NT

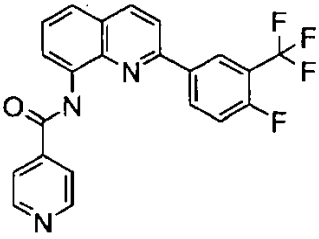
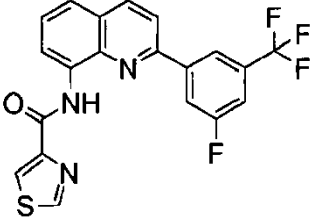
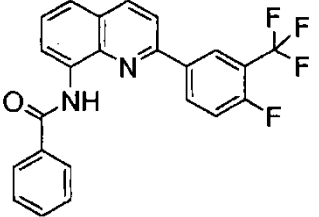
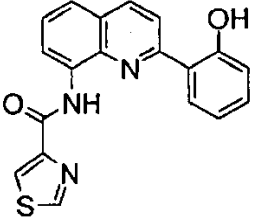
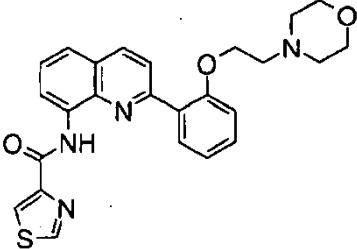
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
126	411		B	B
127	411		C	NT
128	412		C	NT
129	395		A	B
130	396		A	B

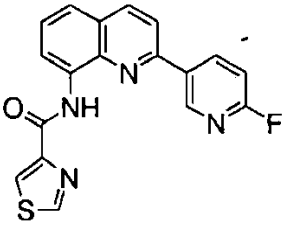
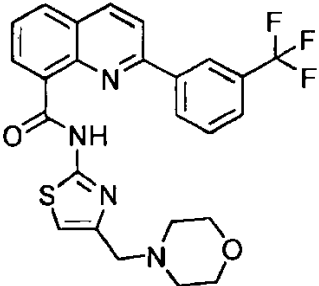
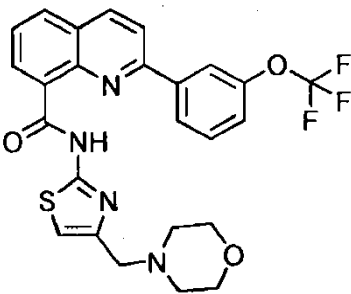
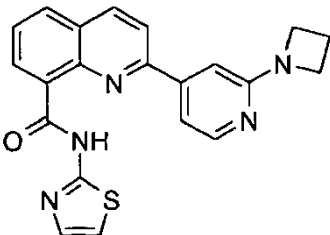
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
131	431		A	A
132	425		A	A
133	426		A	A
134	445		A	A
142	328		A	B

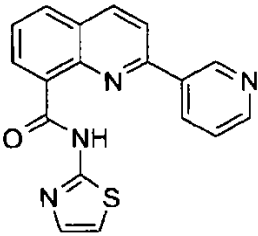
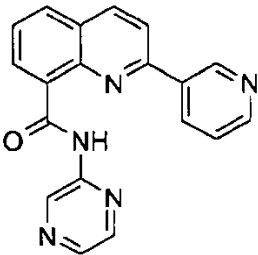
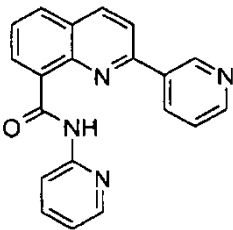
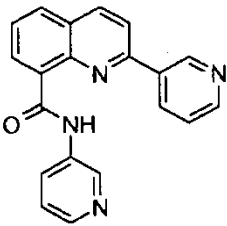
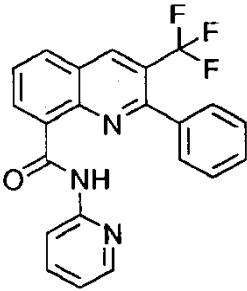
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
147	483		A	A
148	499		A	A
149	483		A	A
150	499		A	A

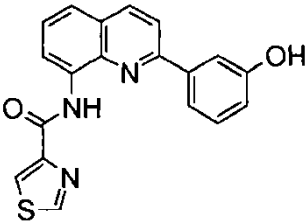
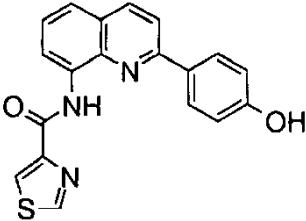
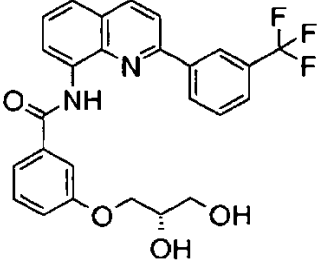
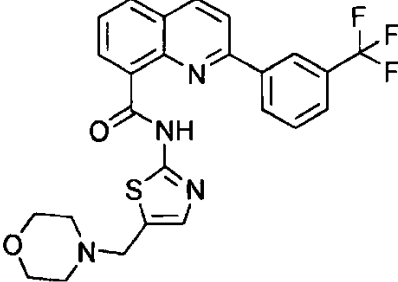
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
151	483		A	A
152	499		A	A
153	411		C	NT
154	412		A	B
155	328		C	NT

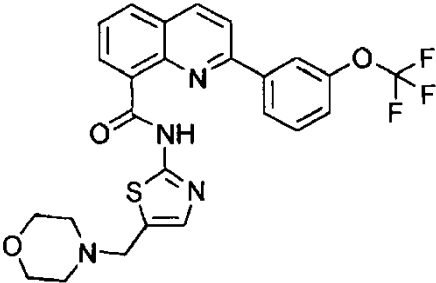
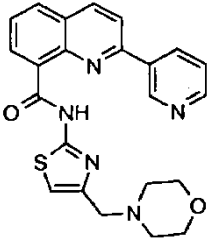
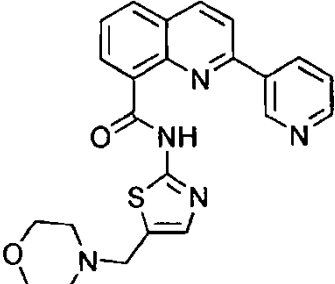
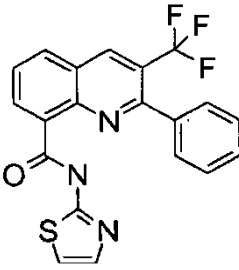
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
156	413		C	NT
157	413		C	NT
158	418		C	NT
159	412		C	NT
160	412		C	NT

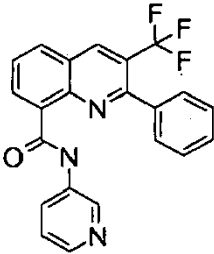
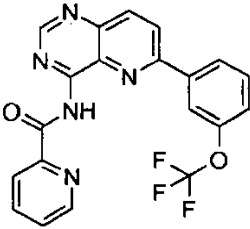
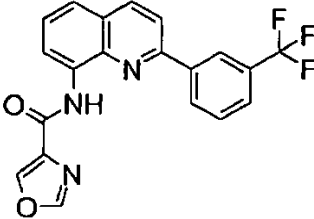
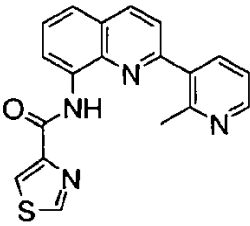
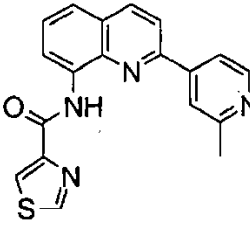
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
161	412		C	NT
169	418		C	NT
170	411		C	NT
174	348		B	A
175	461		B	A

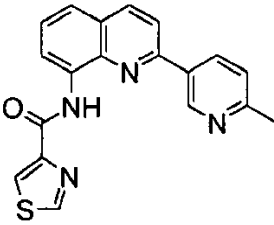
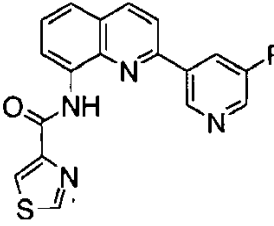
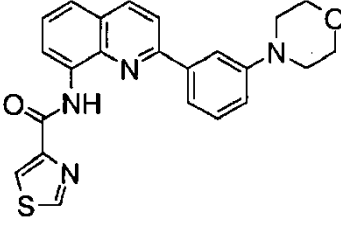
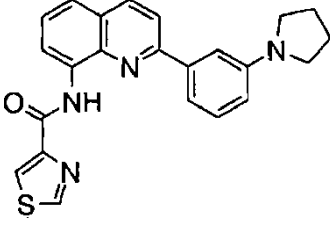
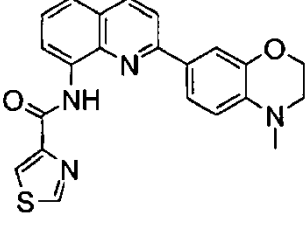
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
176	351		A	A
177	499		A	A
178	515		A	A
179	388		A	A

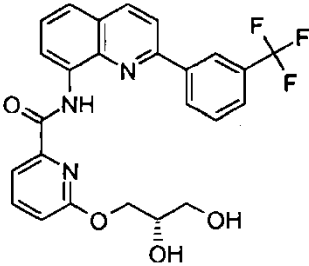
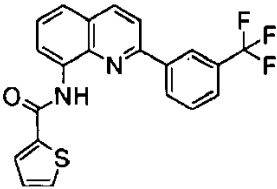
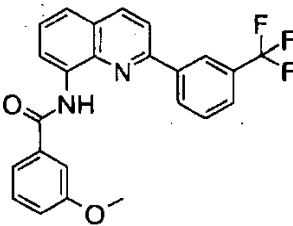
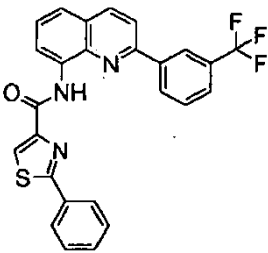
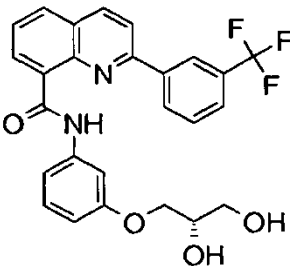
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
180	333		A	B
181	328		C	NT
182	327		A	B
183	327		C	NT
184	394		C	NT

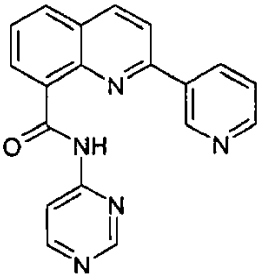
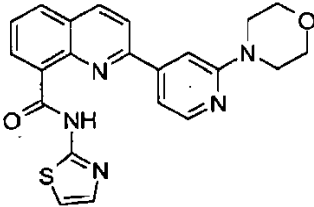
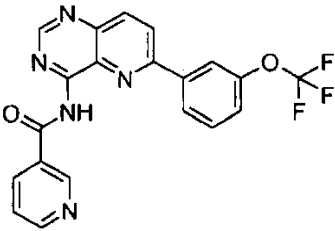
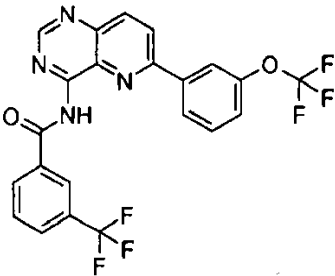
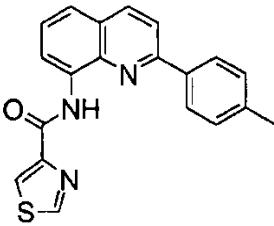
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
185	348		B	B
186	348		B	A
187	483		A	A
188	499		A	A

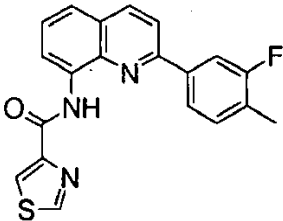
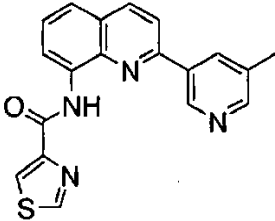
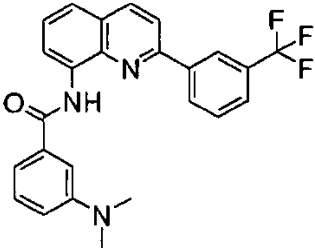
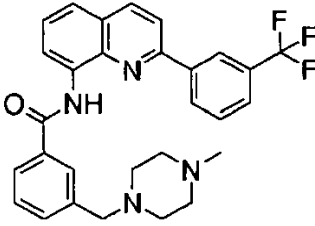
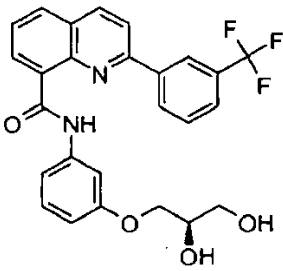
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
189	515		A	A
190	432		A	A
191	432		B	A
192	400		C	NT

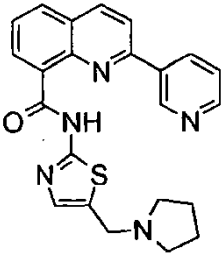
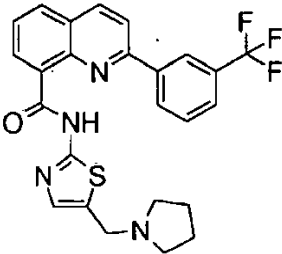
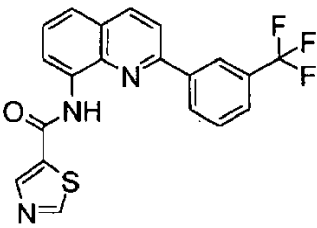
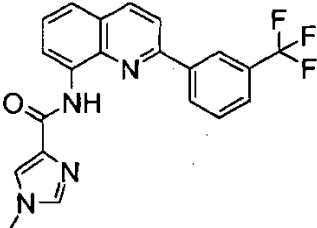
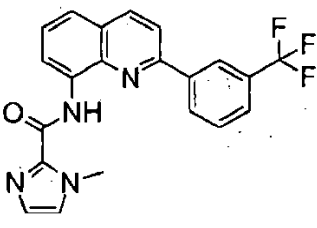
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
193	394		C	NT
194	412		A	A
195	384		A	B
196	347		A	A
197	347		A	A

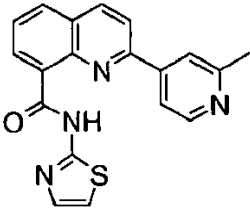
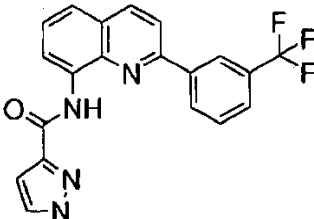
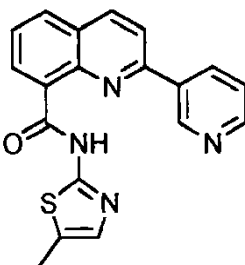
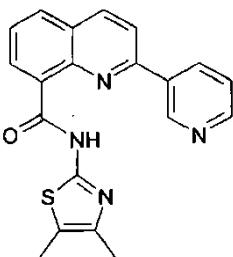
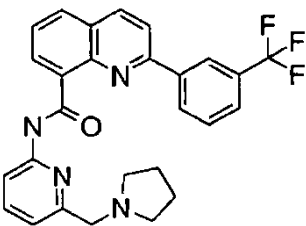
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
198	347		A	A
199	351		C	NT
200	417		A	A
201	401		C	NT
202	403		A	A

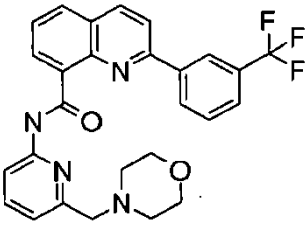
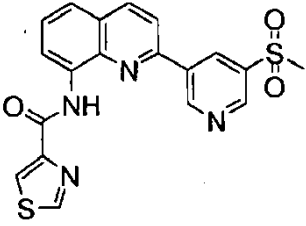
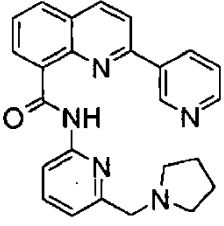
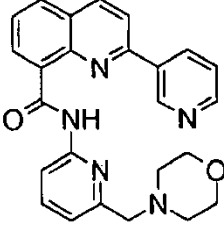
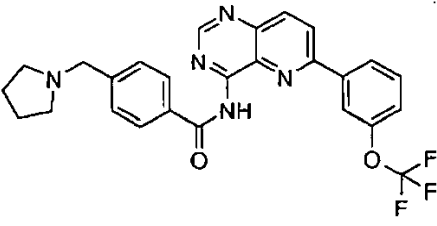
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
203	484		A	A
204	399		B	B
205	423		B	B
206	476		C	NT
207	483		A	A

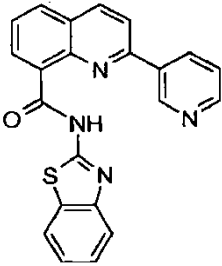
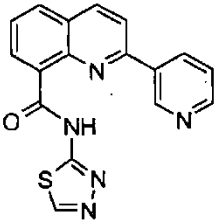
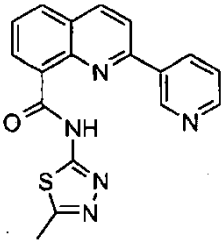
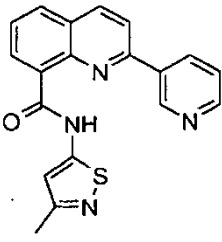
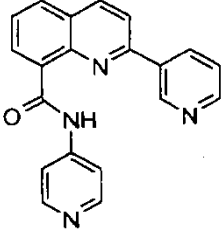
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
208	328		C	NT
209	418		A	B
210	412		B	A
211	479		C	NT
212	346		B	B

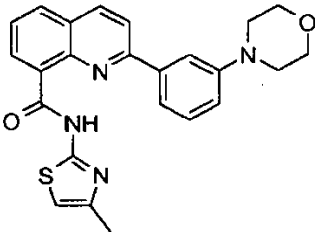
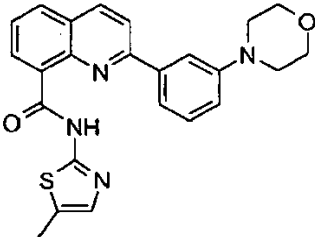
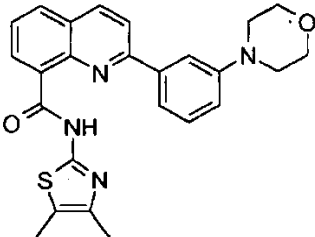
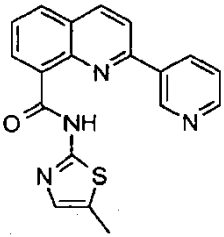
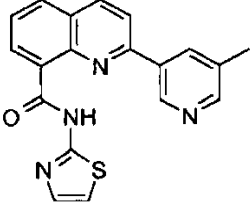
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
213	364		A	B
214	347		A	A
215	436		A	B
216	505		A	A
217	483		A	A

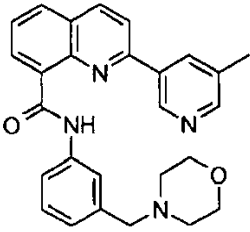
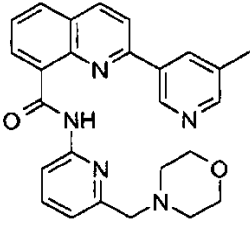
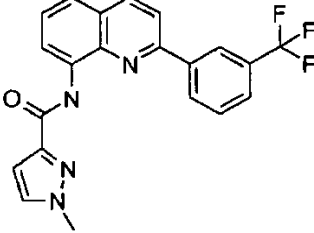
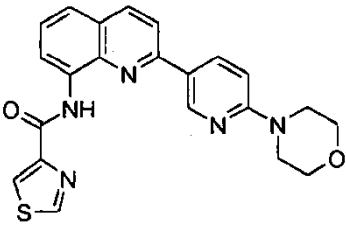
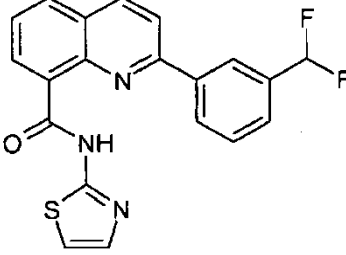
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
218	416		B	A
219	483		A	A
220	400		A	A
221	397		A	A
222	397		A	A

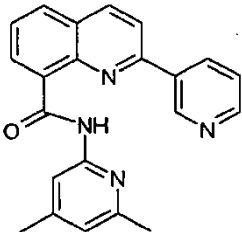
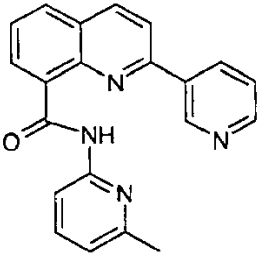
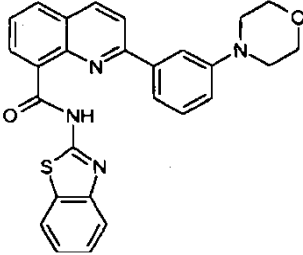
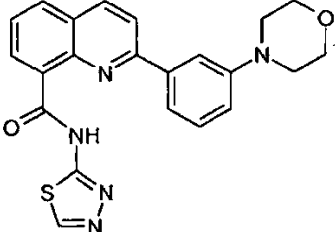
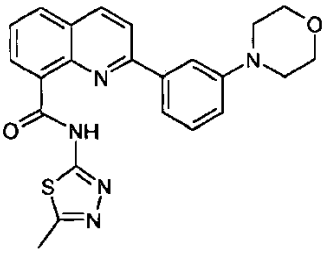
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
223	347		C	NT
224	383		A	A
225	347		C	NT
226	361		B	A
227	477		A	A

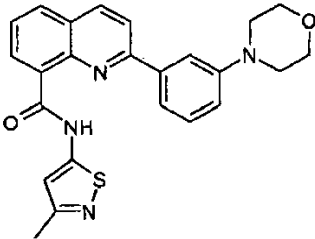
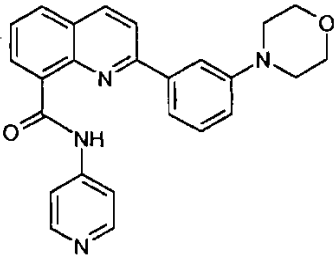
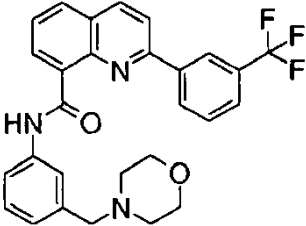
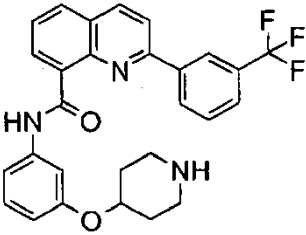
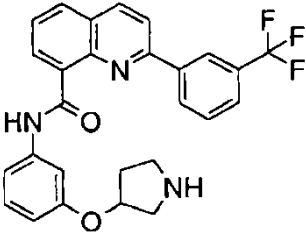
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
228	493		A	A
229	411		B	A
230	410		B	A
231	426		A	A
232	494		B	A

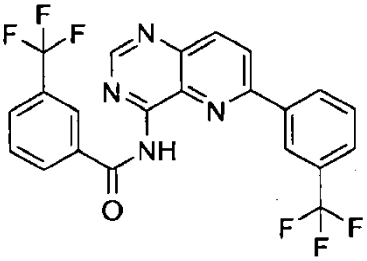
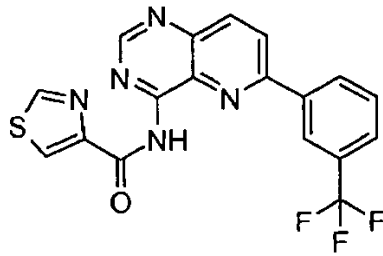
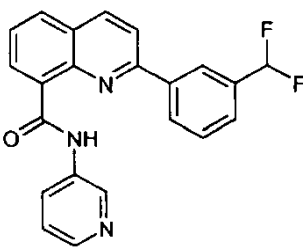
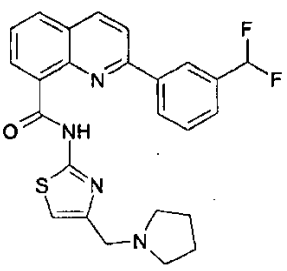
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
233	383		B	B
234	334		C	NT
235	348		C	NT
236	347		C	NT
237	327		C	NT

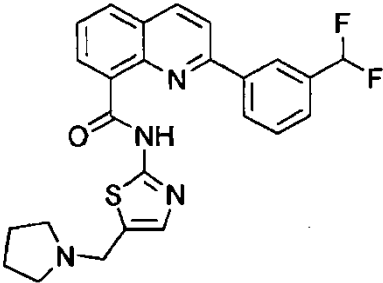
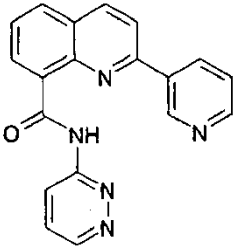
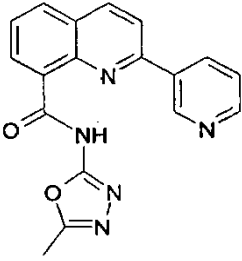
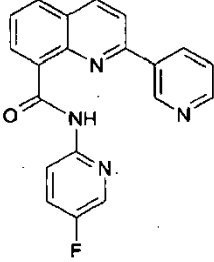
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
238	431		A	A
239	431		A	A
240	445		A	A
241	347		A	B
242	347		C	NT

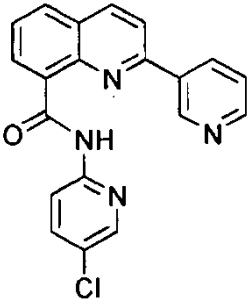
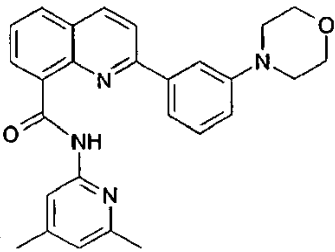
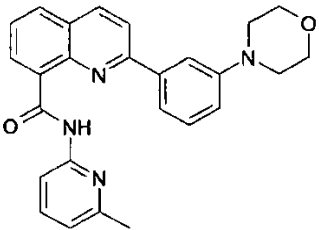
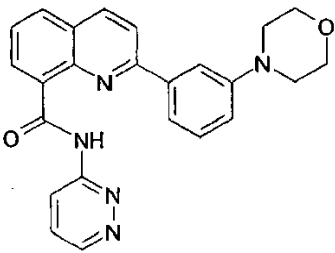
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
243	439		A	A
244	440		A	A
245	397		A	A
246	418		B	A
247	382		A	A

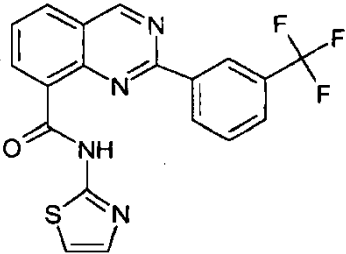
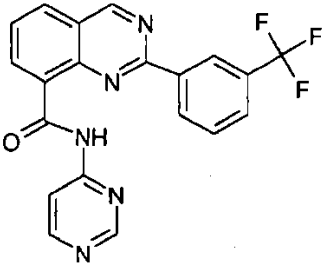
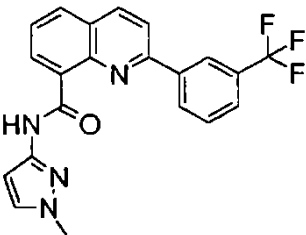
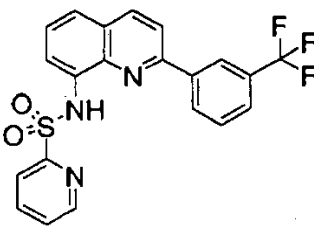
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
248	355		A	A
249	341		B	A
250	467		A	A
251	418		A	A
252	432		A	A

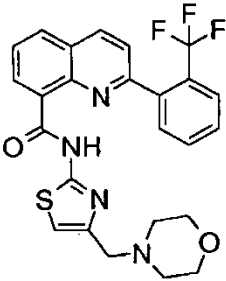
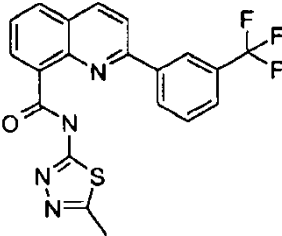
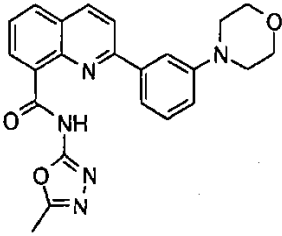
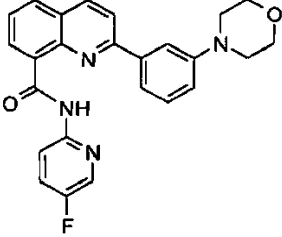
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
253	431		A	A
254	411		A	A
255	492		A	A
256	492		A	A
257	478		A	A

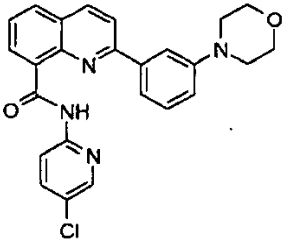
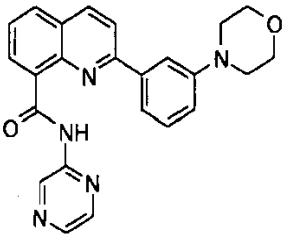
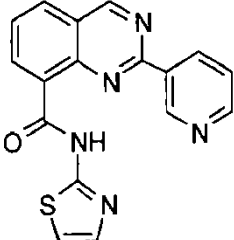
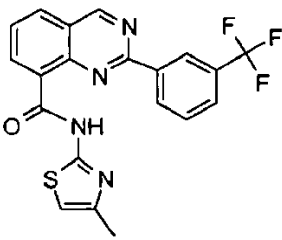
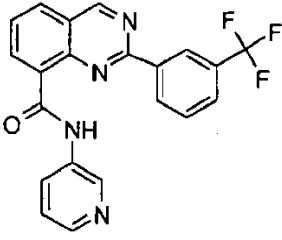
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
258	463		C	NT
259	402		A	A
260	376		A	A
261	465		A	A

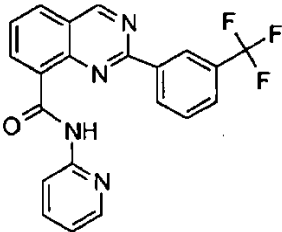
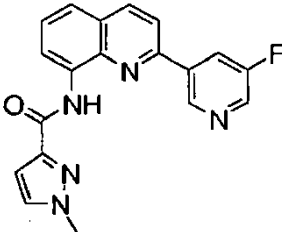
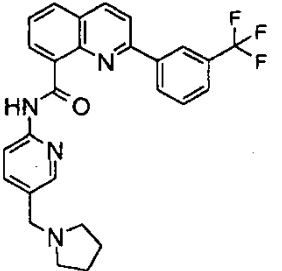
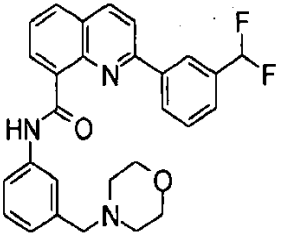
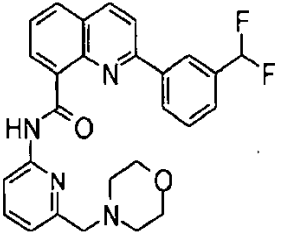
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
262	465		B	A
263	328		A	A
264	332		C	NT
265	345		C	NT

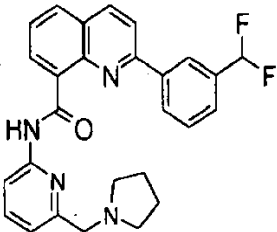
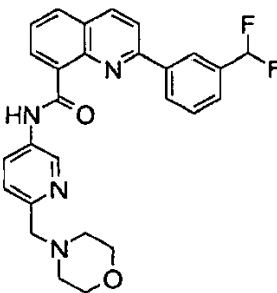
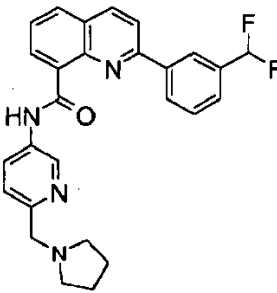
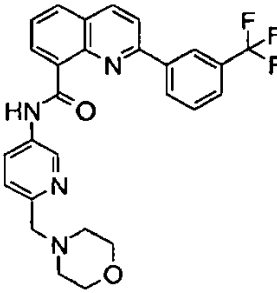
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
266	361		C	NT
267	439		A	A
268	425		A	A
269	412		A	A

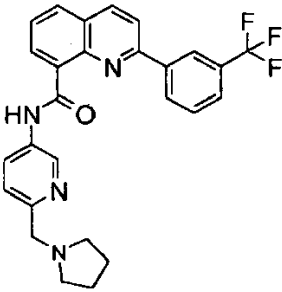
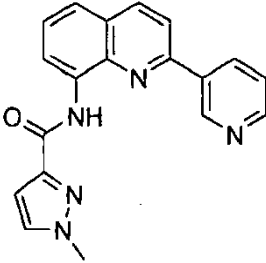
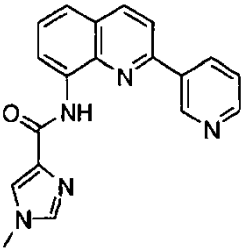
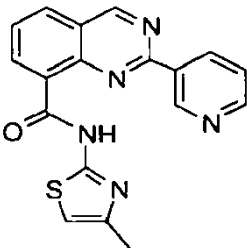
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
270	401		C	NT
271	396		B	B
272	397		A	A
273	430		C	NT

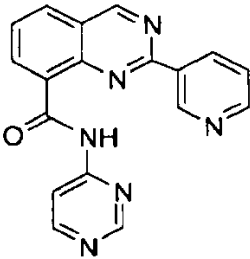
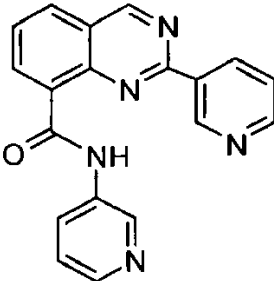
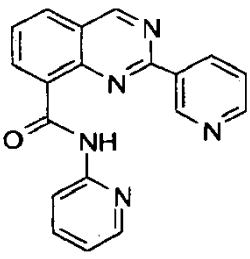
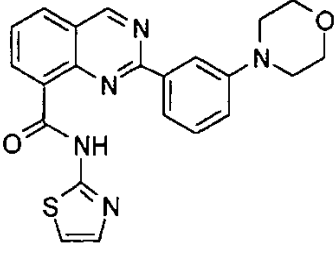
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
274	499		A	A
275	415		A	B
276	416		A	A
277	429		A	A

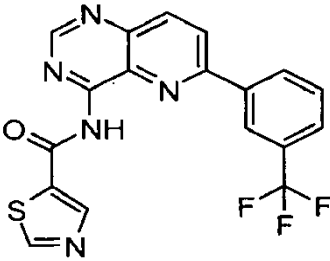
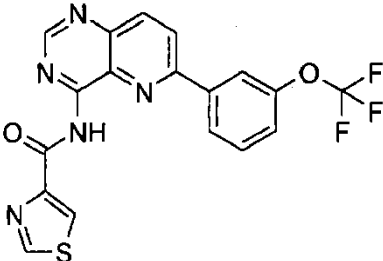
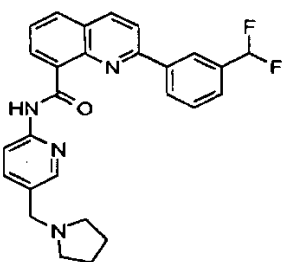
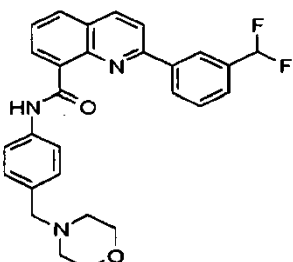
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
278	445		A	A
279	412		A	A
280	334		C	NT
281	415		B	A
282	395		C	NT

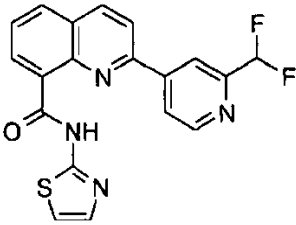
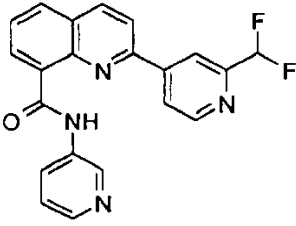
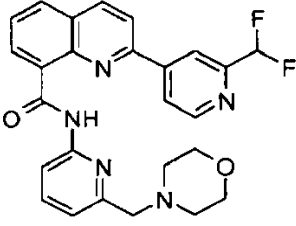
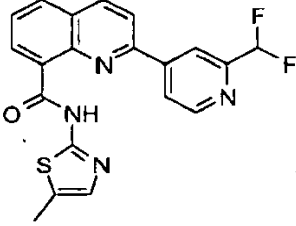
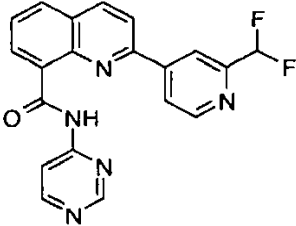
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
283	395		C	NT
284	348		C	NT
285	477		A	A
286	474		A	A
287	475		A	A

Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
288	459		A	A
289	475		A	A
290	459		A	A
291	493		A	A

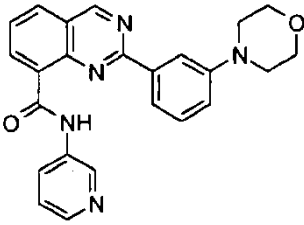
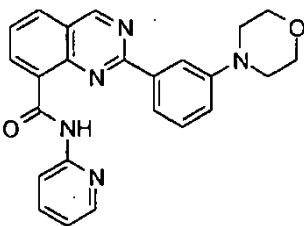
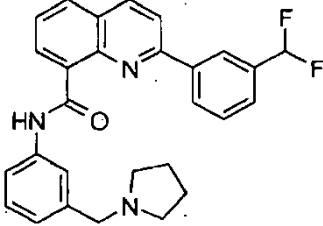
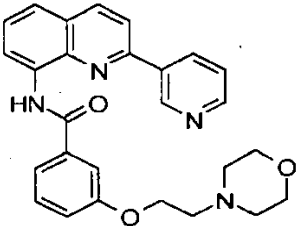
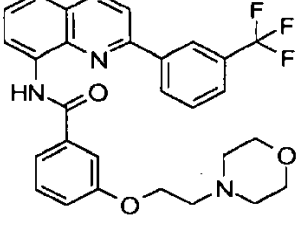
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
292	477		A	A
293	330		A	A
294	330		B	A
295	348		C	NT

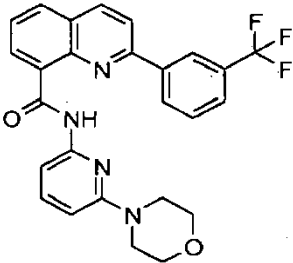
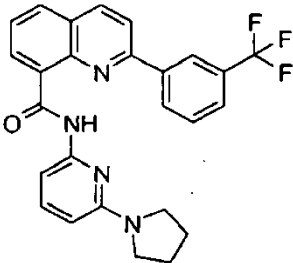
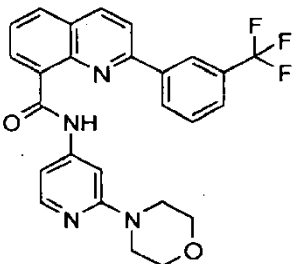
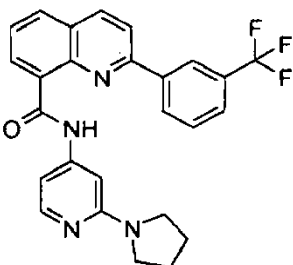
Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
296	329		C	NT
297	328		C	NT
298	328		C	NT
299	418		B	B

Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
300	402		B	A
301	418		A	A
302	459		A	A
303	474		A	A

Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
304	383		A	A
305	377		A	A
306	476		A	A
307	397		C	NT
308	378		A	A

Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
309	418		B	A
310	396		A	A
311	396		B	A
312	478		B	A
313	432		A	A

Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
314	412		A	B
315	412		A	A
316	458		A	A
317	455		B	A
318	522		C	NT

Comp. No.	[M+H] ⁺	Estructura	EC _{1,5} (μM)	% Nivel act.
319	479		A	A
320	463		A	A
321	479		A	A
322	463		A	A

En otra realización adicional de la invención, el compuesto se selecciona de cualquiera de los compuestos números 3, 4, 5, 8, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 24, 25, 27, 28, 30, 31, 32, 41, 42, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 52, 53, 55, 56, 58, 59, 60, 61, 67, 76, 77, 79, 81, 87, 91, 92, 93, 100, 107, 108, 109, 110, 111, 119, 120, 121, 122, 124, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 142, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 154, 176, 177, 178, 179, 180, 182, 187, 188, 189, 190, 194, 195, 196, 197, 198, 200, 202, 203, 207, 209, 213, 214, 215, 216, 217, 219, 221, 222, 224, 227, 228, 231, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 248, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 275, 278, 279, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 301, 302, 303, 304, 306, 308, 310, 316, 317 y 318.

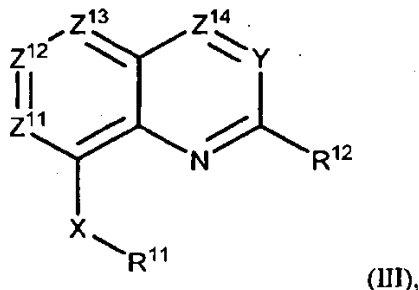
Equivalentes

La presente invención proporciona, entre otras cosas, compuestos activadores de sirtuina y métodos de uso de los mismos. Aunque se han descrito realizaciones específicas de la presente invención, la memoria descriptiva anterior es ilustrativa y no restrictiva. Muchas variaciones de la invención serán evidentes para aquellos expertos en la técnica en base a la revisión de esta memoria descriptiva. El alcance completo de la invención debería determinarse mediante referencia a las reivindicaciones.

5

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la fórmula:



o una sal del mismo, en donde:

cada uno de Z^{11} , Z^{12} , Z^{13} y Z^{14} se selecciona independientemente de N y CR, en donde R se selecciona de hidrógeno, halo, -OH, -C≡N, alquilo C₁-C₂ sustituido por fluoro, -O-(alquilo sustituido por fluoro C₁-C₂), -S-(alquilo sustituido por fluoro C₁-C₂), alquilo C₁-C₄, -(alquilo C₁-C₂)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -O-CH₂CH(OH)CH₂OH, -O-alquilo (C₁-C₄), -O-alquilo (C₁-C₃)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -N(R¹⁴)(R¹⁴), -S-alquilo (C₁-C₄) y cicloalquilo C₃-C₇;

Y se selecciona de N y CR¹³, en donde R¹³ se selecciona de hidrógeno, halo, -alquilo C₁-C₄, -O-(alquilo C₁-C₄) y -O-(alquilo sustituido por fluoro C₁-C₂);

no más de dos de Z^{11} , Z^{12} , Z^{13} , Z^{14} e Y son N;

X se selecciona de -NH-C(=O)-†, -C(=O)-NH-†, -NH-C(=S)-†, -C(=S)-NH-†, -NH-S(=O)-†, -S(=O)-NH-†, -S(=O)₂-NH-†, -NH-S(=O)₂-†, -NH-S(O)₂-NR¹⁵-†, -NR¹⁵-S(O)₂-NH-†, -NH-C(=O)O-†, O-C(=O)-NH-†, -NH-C(=O)NH-†, -NH-C(=O)NR¹⁵-†, -NR¹⁵-C(=O)NH-†, -NH-NR¹⁵-†, -NR¹⁵-NH-†, -O-NH-†, -NH-O-†, -NH-C(=NR¹⁵)-†, -C(=NR¹⁵)-NH-†, -C(=O)-NH-CR¹⁵R¹⁶-†, -CR¹⁵R¹⁶-NH-C(O)-†, -NH-C(=S)-CR¹⁵R¹⁶-†, -CR¹⁵R¹⁶-C(=S)-NH-†, -NH-S(O)-CR¹⁵R¹⁶-†, -CR¹⁵R¹⁶-S(O)-NH-†, -NH-S(O)₂-CR¹⁵R¹⁶-†, -CR¹⁵R¹⁶-S(O)₂-NH-†, -NH-C(=O)-O-CR¹⁵R¹⁶-†, -CR¹⁵R¹⁶-O-C(=O)-NH-†, -NH-C(=O)-NR¹⁴-CR¹⁵R¹⁶-†, -NH-C(=O)-CR¹⁵R¹⁶-† y -CR¹⁵R¹⁶-NH-C(=O)-O-†, en donde

† representa en donde X está unido a R¹¹ y:

R¹⁵ y R¹⁶ se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo C₁-C₄, CF₃ y -(alquilo C₁-C₄)-CF₃;

R¹¹ se selecciona de un carbociclo y un heterociclo, en donde R¹¹ está opcionalmente sustituido por uno a dos sustituyentes que se seleccionan independientemente de halo, -C≡N, alquilo C₁-C₄, cicloalquilo C₃-C₇, alquilo sustituido por fluoro C₁-C₄, =O, -O-R¹⁴, -S-R¹⁴, -(alquilo C₁-C₄)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -N(R¹⁴)(R¹⁴), -O-(alquilo C₂-C₄)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -C(O)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -C(O)-O-R¹⁴ y -(alquilo C₁-C₄)-C(O)-N(R¹⁴)(R¹⁴) y cuando R¹¹ es fenilo, R¹¹ está también opcionalmente sustituido por 3,4-metilendioxi, 3,4-metilendioxi sustituido por fluoro, 3,4-etilendioxi, 3,4-etilendioxi sustituido por fluoro, O-(heterociclo saturado), -O-(heterociclo saturado) sustituido por fluoro y O-(heterociclo saturado) sustituido por alquilo C₁-C₄, en donde

cada R¹⁴ se selecciona independientemente de hidrógeno y -alquilo C₁-C₄; o

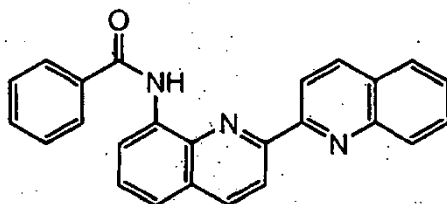
dos R¹⁴ se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un heterociclo saturado de 4 a 8 miembros que opcionalmente comprende un heteroátomo adicional que se selecciona de N, S, S(=O), S(=O)₂ y O, en donde:

cuando R¹⁴ es alquilo, el alquilo está opcionalmente sustituido por uno o más -OH, -O-(alquilo C₁-C₄), fluoro, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₄), -N(alquilo C₁-C₄)₂, -NH(CH₂CH₂OCH₃) o -N(CH₂CH₂OCH₃)₂ y

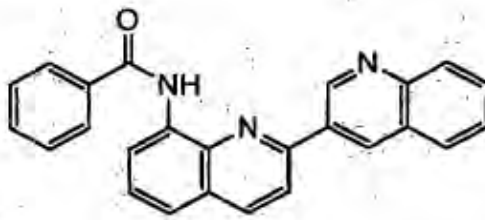
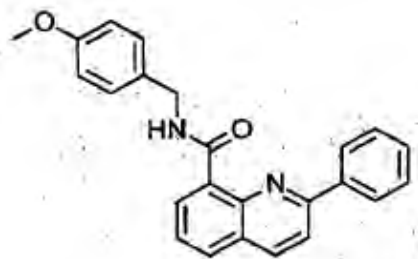
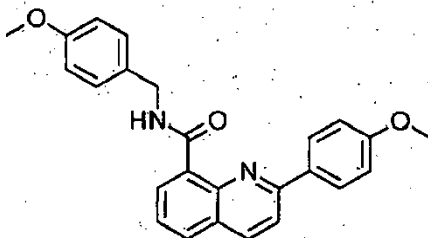
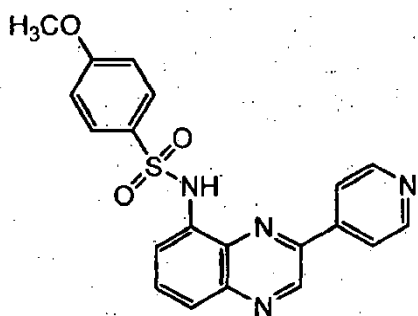
cuando dos R¹⁴ se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos para formar un heterociclo saturado de 4 a 8 miembros, el heterociclo saturado está opcionalmente sustituido en un átomo de carbono por -OH, -alquilo C₁-C₄, fluoro, -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₄), -N(alquilo C₁-C₄)₂, -NH(CH₂CH₂OCH₃) o -N(CH₂CH₂OCH₃)₂; y opcionalmente sustituido en cualquier átomo de nitrógeno sustituible por -alquilo C₁-C₄, alquilo C₁-C₄ sustituido por fluoro o -(CH₂)₂-O-CH₃; y

R¹² se selecciona de un carbociclo y un heterociclo unido al resto del compuesto a través de un átomo del anillo de carbono, en donde R¹² está opcionalmente sustituido por uno a dos sustituyentes que se seleccionan independientemente de halo, -C≡N, alquilo C₁-C₄, cicloalquilo C₃-C₇, alquilo sustituido por fluoro C₁-C₂, -O-R¹⁴, -S-R¹⁴, -S(O)-R¹⁴, -S(O)₂-R¹⁴, -(alquilo C₁-C₄)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -N(R¹⁴)(R¹⁴), -O-(alquilo C₂-C₄)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -C(O)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -(alquilo C₁-C₄)-C(O)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -O-fenilo, fenilo y un segundo heterociclo y cuando R¹² es fenilo,

R¹² está también opcionalmente sustituido por 3,4-metilendioxi, 3,4-metilendioxi sustituido por fluoro, 3,4-etilendioxi, 3,4-etilendioxi sustituido por fluoro u -O-(heterociclo saturado) en donde cualquier fenilo, heterociclo saturado o segundo sustituyente de heterociclo de R¹² está opcionalmente sustituido por halo; -C≡N; alquilo C₁-C₄, alquilo sustituido por fluoro C₁-C₂, -O-(alquilo sustituido por fluoro C₁-C₂), -O-(alquilo C₁-C₄), -S-(alquilo C₁-C₄), S-(alquilo sustituido por fluoro C₁-C₂), -NH-(alquilo C₁-C₄) y -N-(alquilo C₁-C₄)₂,



en donde el compuesto no es:



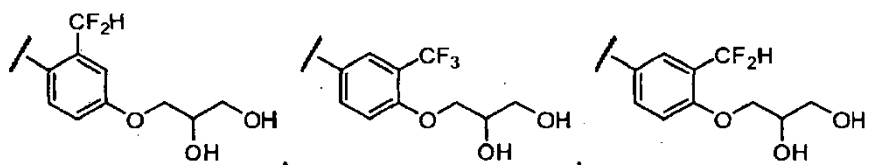
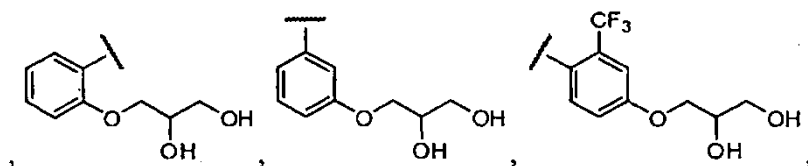
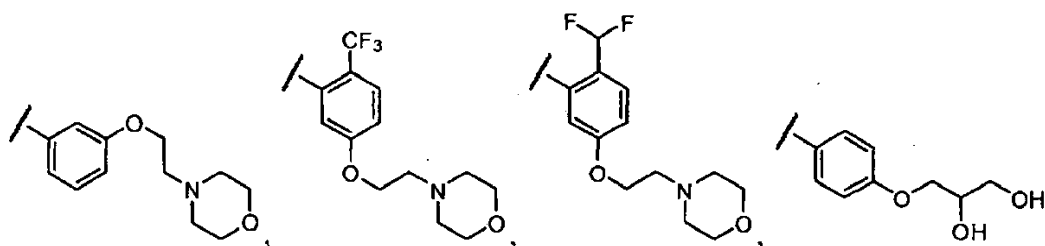
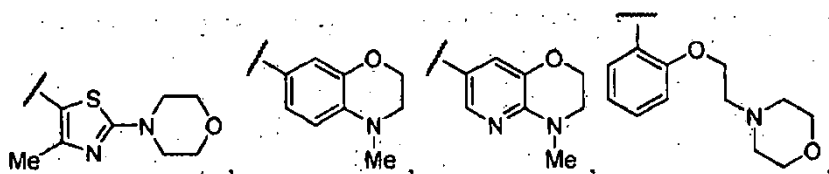
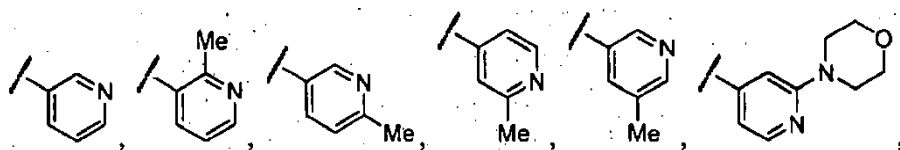
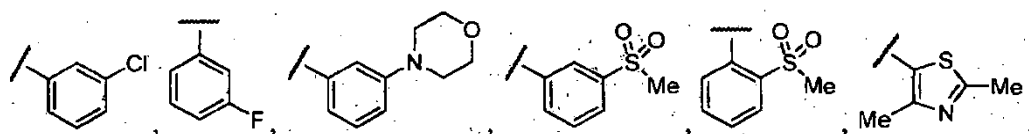
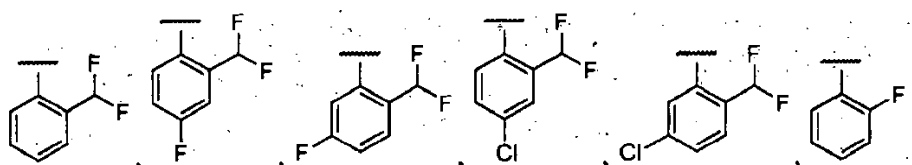
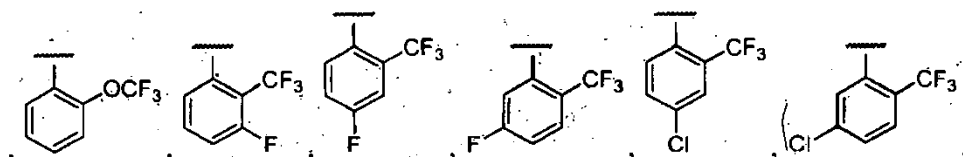
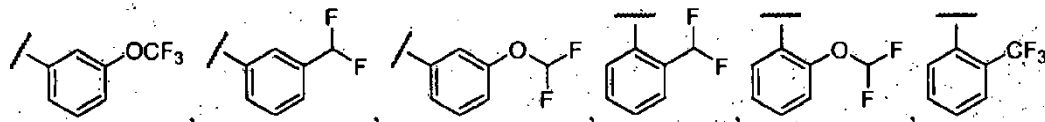
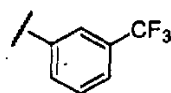
2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde:

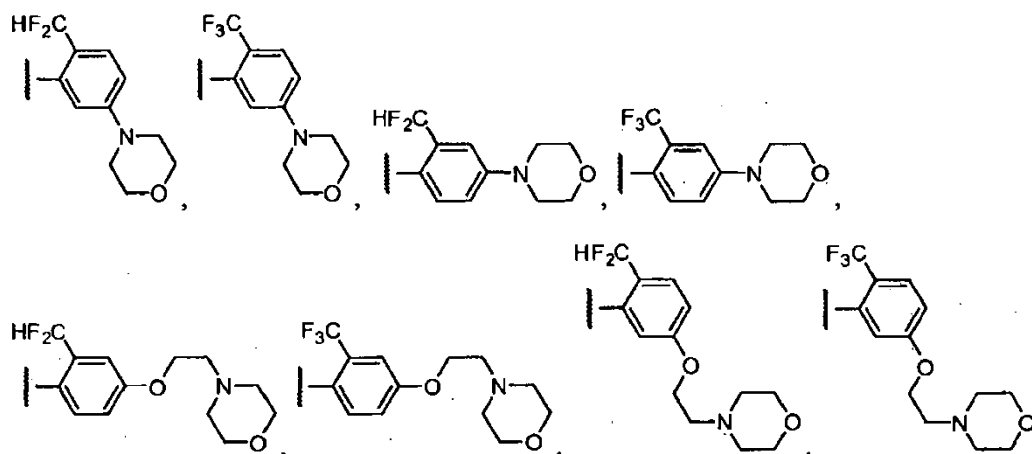
X se selecciona de -NH-C(=O)-, -C(=O)-NH-, -NH-C(=S)-, -C(=S)-NH-, -NH-S(=O)-, -S(=O)-NH-, -S(=O)₂-NH-, -NH-S(O)₂-NR¹⁵-, -NR¹⁵-S(O)₂-NH-, -NH-C(=O)O-, O-C(=O)-NH-, -NH-C(=O)NH-, -NH-C(=O)NR¹⁵-, -NR¹⁵-C(=O)NH-, -NH-NR¹⁵-, -NR¹⁵-NH-, -O-NH-, -NH-O-, -NH-C(=NR¹⁵)-, -C(=NR¹⁵)-NH-, -CR¹⁵R¹⁶-NH-C(O)-, -NH-C(=S)-CR¹⁵R¹⁶-, -CR¹⁵R¹⁶-C(=S)-NH-, -NH-S(O)-CR¹⁵R¹⁶-, -CR¹⁵R¹⁶-S(O)-NH-, -NH-S(O)₂-CR¹⁵R¹⁶-, -CR¹⁵R¹⁶-S(O)₂-NH-, -NH-C(=O)-O-CR¹⁵R¹⁶-, -CR¹⁵R¹⁶-O-C(=O)-NH-, -NH-C(=O)NR¹⁴-CR¹⁵R¹⁶-, -NH-C(=O)-CR¹⁵R¹⁶- y -CR¹⁵R¹⁶-NH-C(=O)-O-; y

R¹² se selecciona de un carbociclo y un heterociclo monocíclico unido al resto del compuesto a través de un átomo del anillo de carbono, en donde R¹² está opcionalmente sustituido por uno a dos sustituyentes que se seleccionan independientemente de halo, -C≡N, alquilo C₁-C₄, cicloalquilo C₃-C₇, alquilo sustituido por fluoro C₁-C₂, -O-R¹⁴, -S-R¹⁴, -S(O)-R¹⁴, -S(O)₂-R¹⁴, -(alquilo C₁-C₄)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -N(R¹⁴)(R¹⁴), -O-(alquilo C₂-C₄)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -O(O)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -(alquilo C₁-C₄)-C(O)-N(R¹⁴)(R¹⁴), -O-fenilo, fenilo y un segundo heterociclo y cuando R¹² es fenilo, R¹² está también opcionalmente sustituido por 3,4-metilendioxi, 3,4-metilendioxi sustituido por fluoro, 3,4-etilendioxi, 3,4-etilendioxi sustituido por fluoro u -O-(heterociclo saturado), en donde cualquier fenilo, heterociclo saturado, o segundo sustituyente de heterociclo de R¹² está opcionalmente sustituido por halo; -C≡N; alquilo C₁-C₄, alquilo sustituido por fluoro C₁-C₂, -O-(alquilo sustituido por fluoro C₁-C₂), -O-(alquilo C₁-C₄), -S-(alquilo C₁-C₄), -S-(alquilo sustituido por fluoro C₁-C₂), -NH-(alquilo C₁-C₄) y -N-(alquilo C₁-C₄)₂.

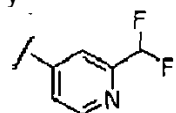
3. El compuesto de la reivindicación 1 o 2, en donde R¹² se selecciona de arilo y heteroarilo.

4. El compuesto de la reivindicación 3, en donde R¹² se selecciona de:



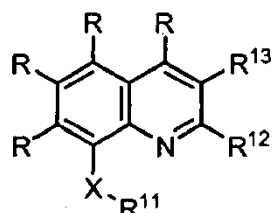


5 y

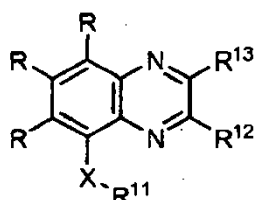


; en donde R^{12} está adicionalmente sustituido opcionalmente.

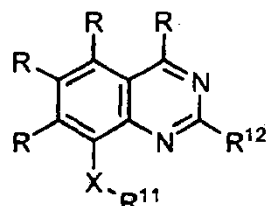
5. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 que se selecciona de cualquiera de:



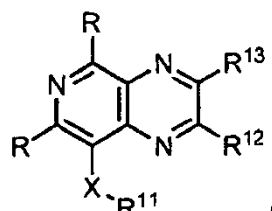
(IIIa),



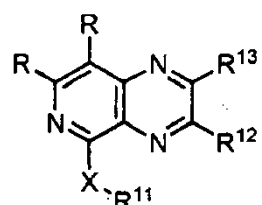
(IIIb),



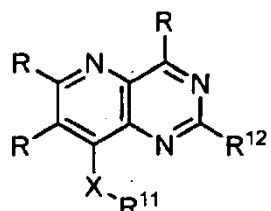
(IIIc),



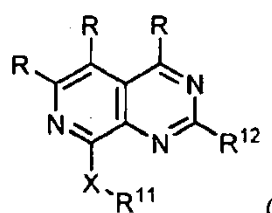
(IIIId),



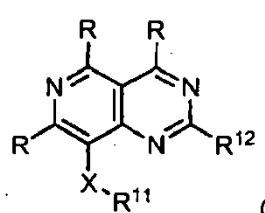
(IIIe),



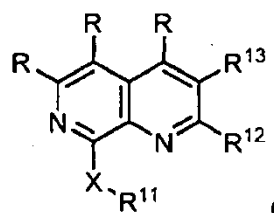
(IIIIf),



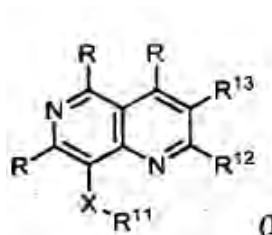
(IIIg),



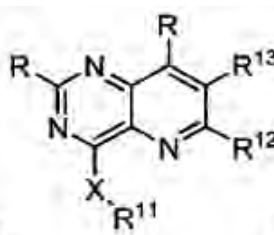
(IIIh),



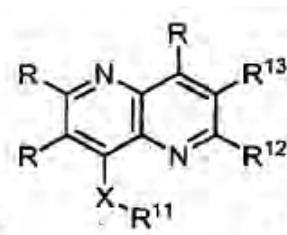
(IIIi),



(IIIj),



(IIIk), y



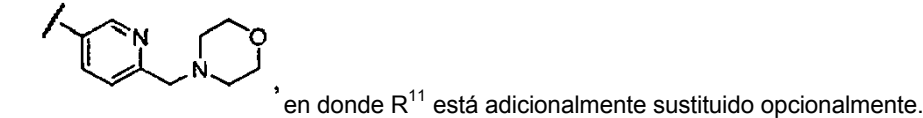
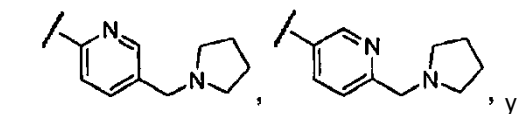
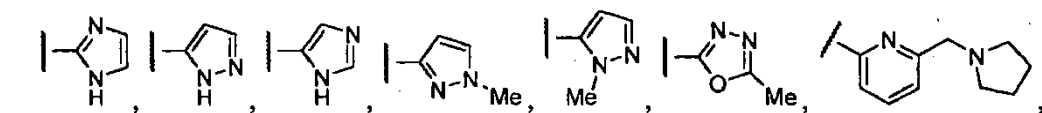
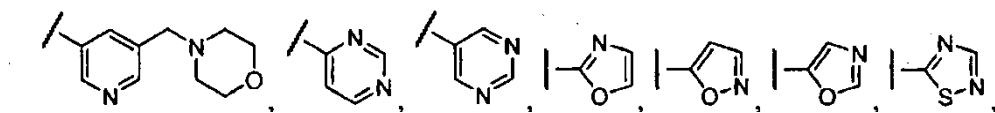
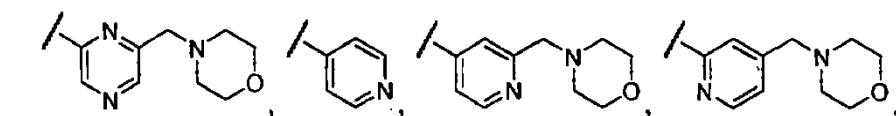
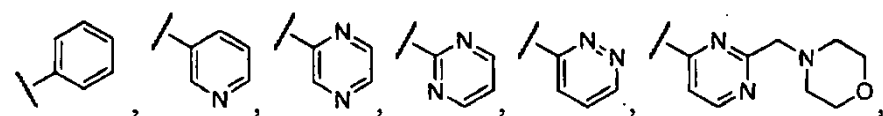
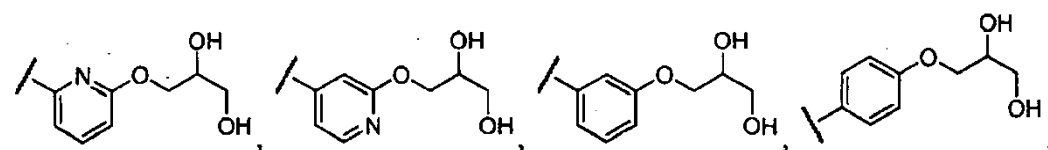
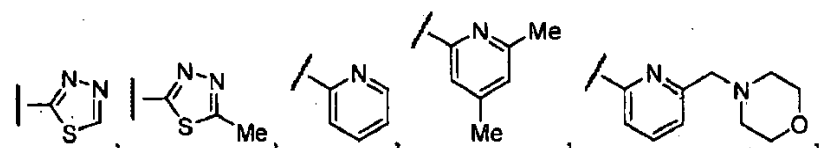
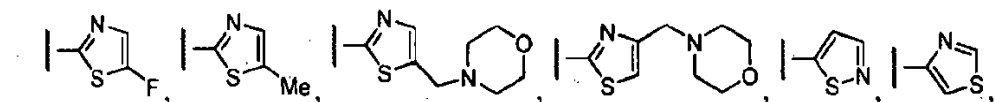
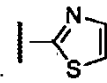
(III).

6. El compuesto de la reivindicación 5, en donde el compuesto está representado por una Fórmula Estructural que se selecciona de IIIa, IIIb, IIIc, IIIi, IIIj, IIIk y IIIl.

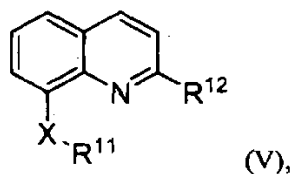
7. El compuesto de la reivindicación 6, en donde el compuesto está representado por la Fórmula Estructural IIIa.

8. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde X es -NH-C(=O)-† o -C(=O)-NH-†.

9. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde R¹¹ se selecciona de:



10. El compuesto de la reivindicación 9, representado por la fórmula:

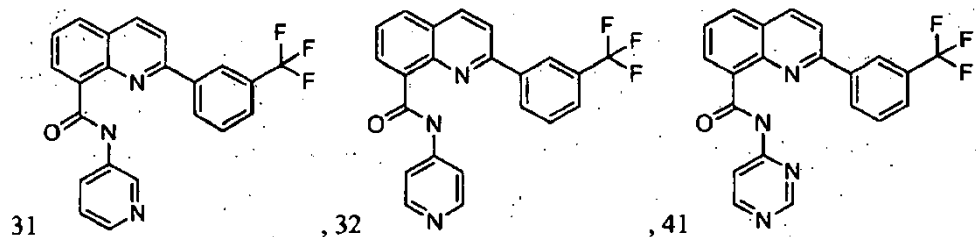
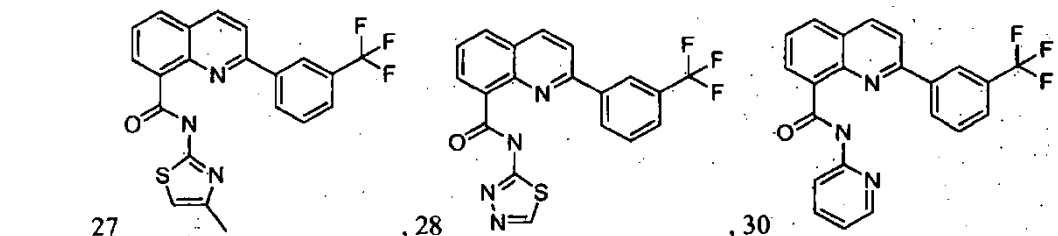
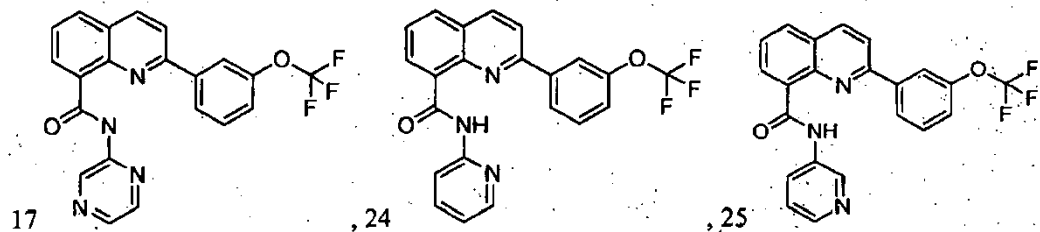
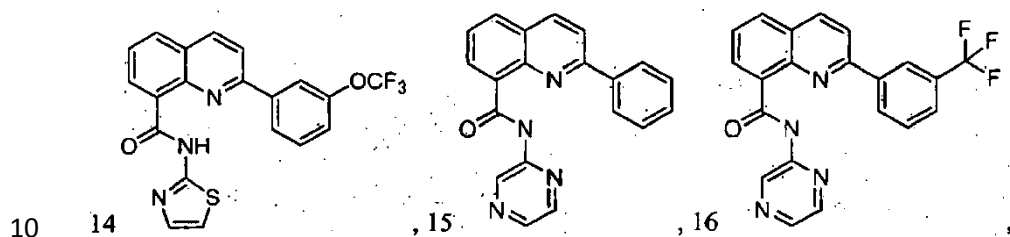
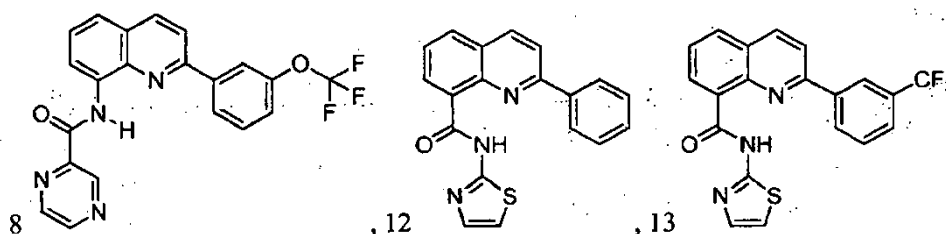
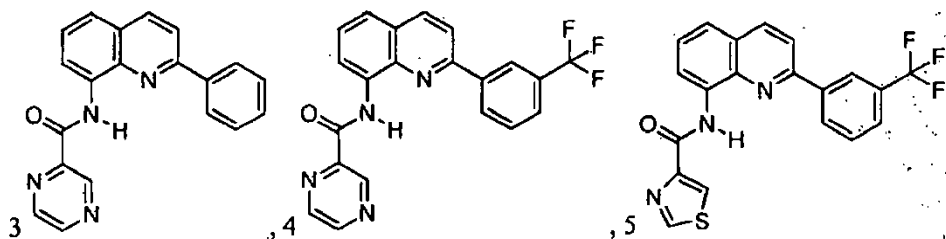


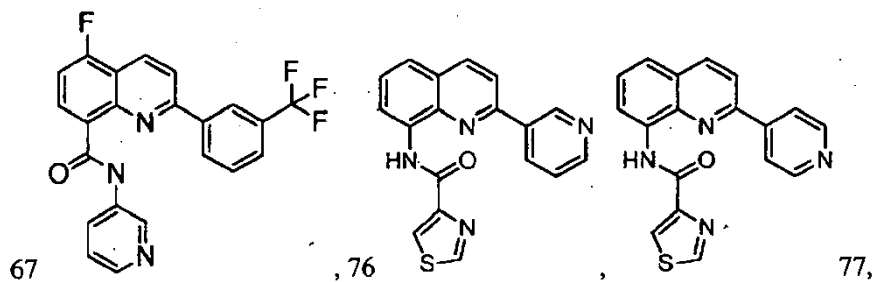
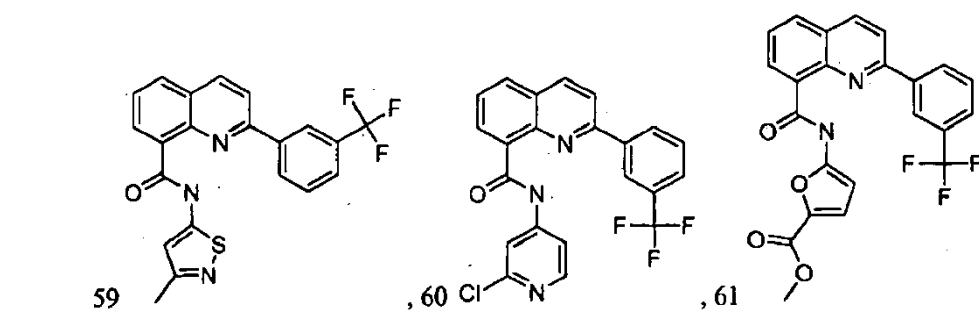
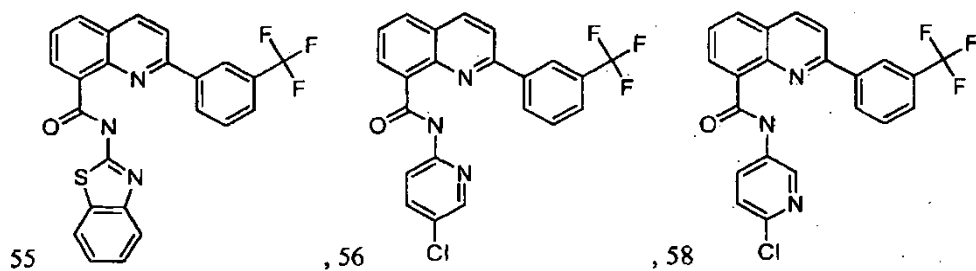
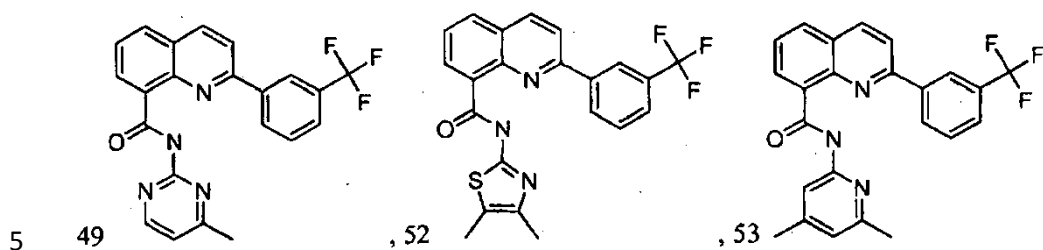
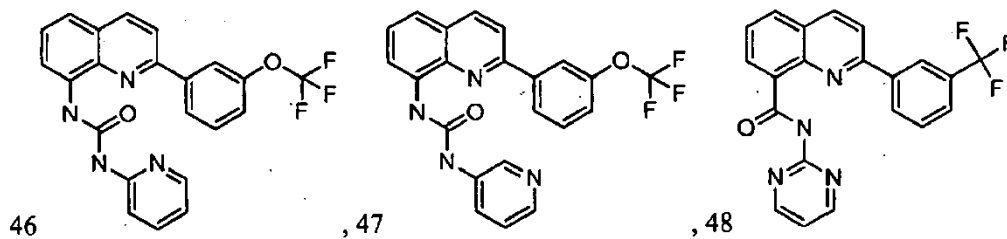
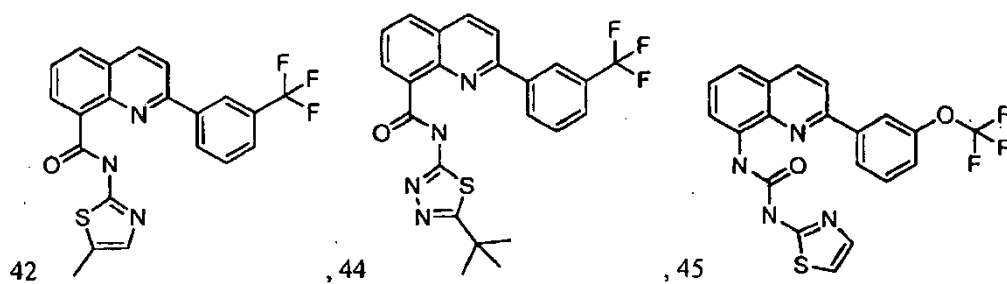
en donde:

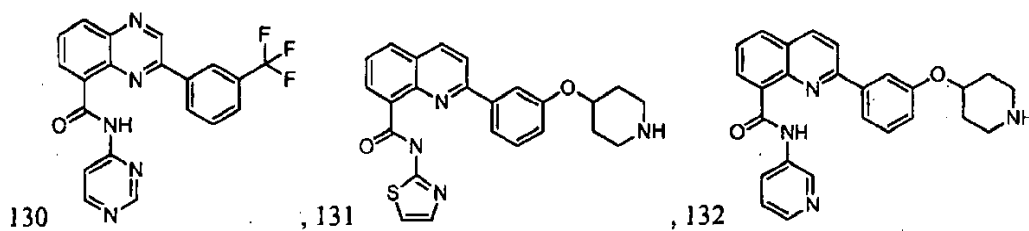
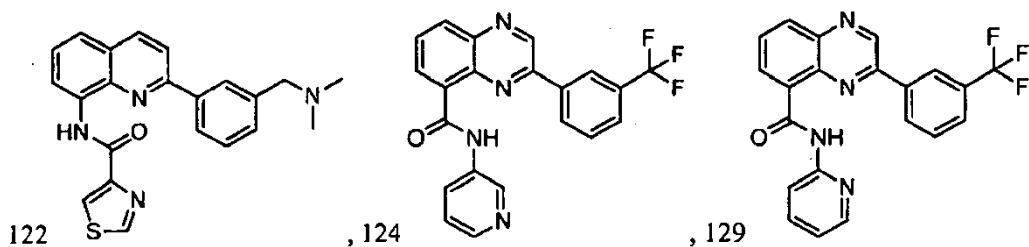
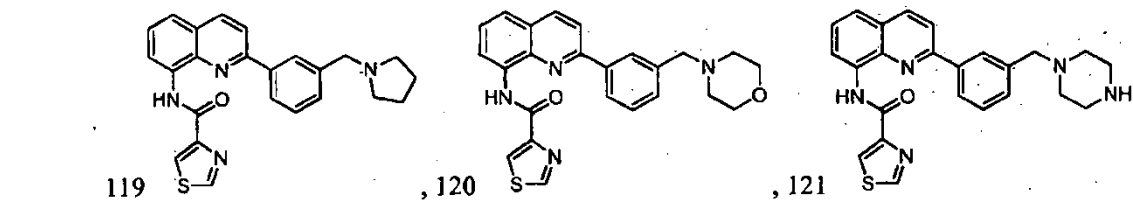
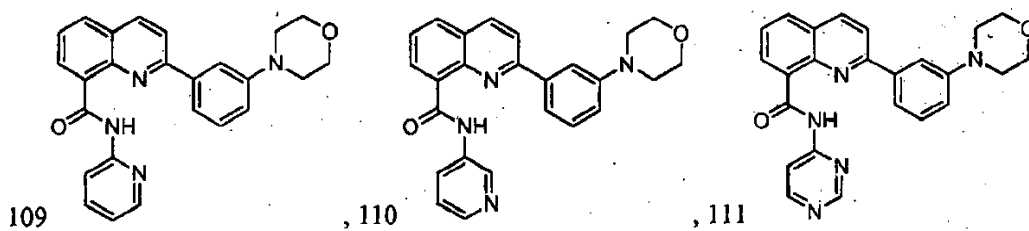
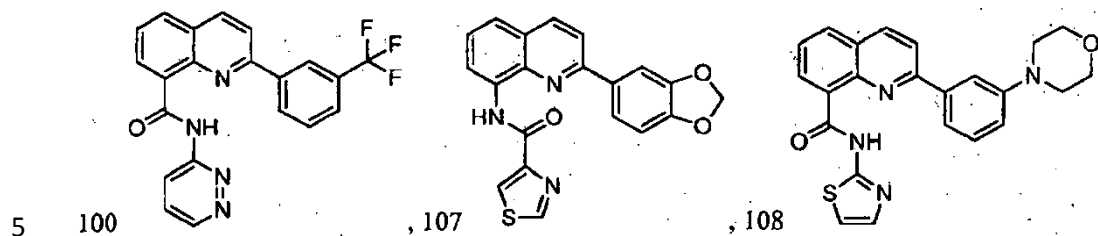
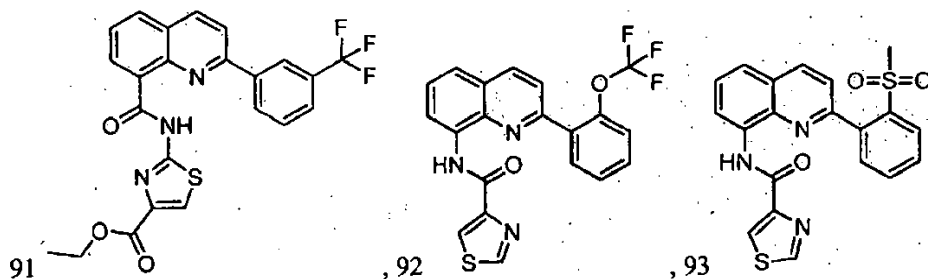
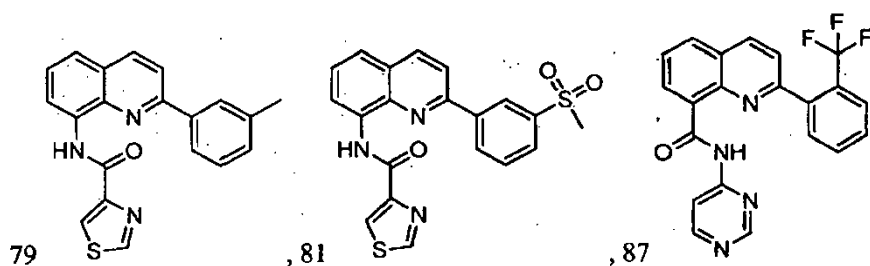
X se selecciona de -NH-C(=O)-† o -C(=O)-NH-†; y

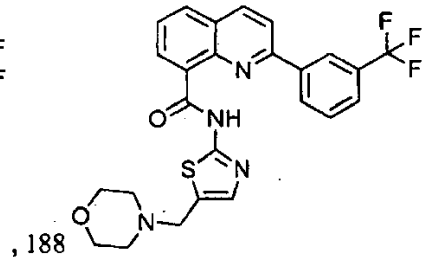
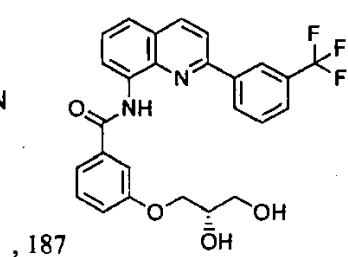
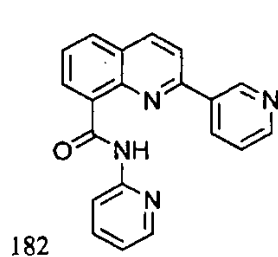
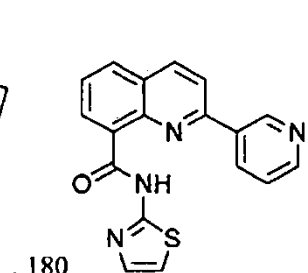
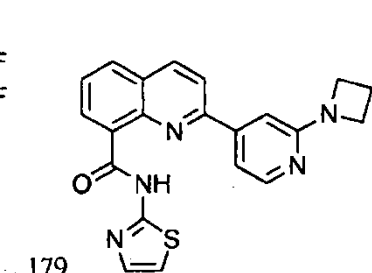
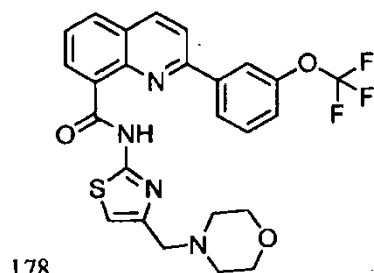
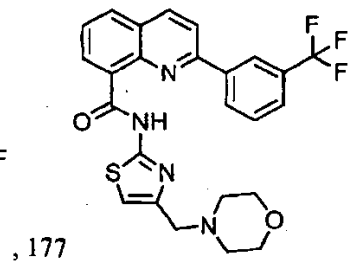
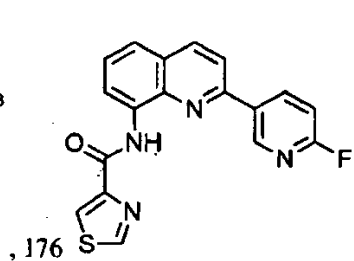
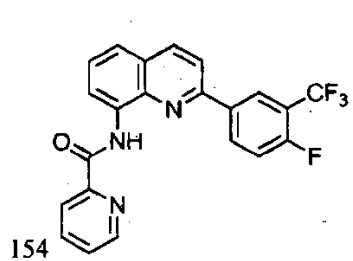
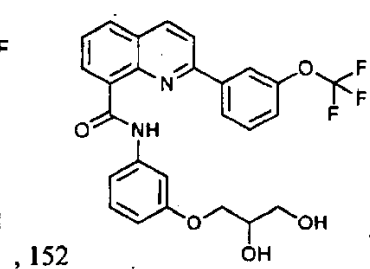
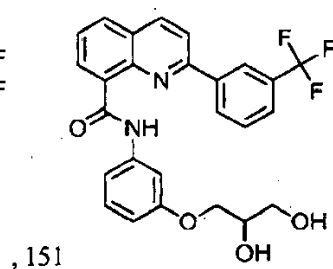
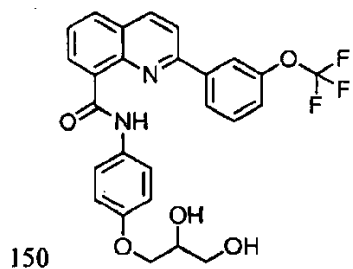
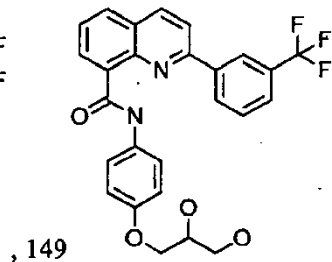
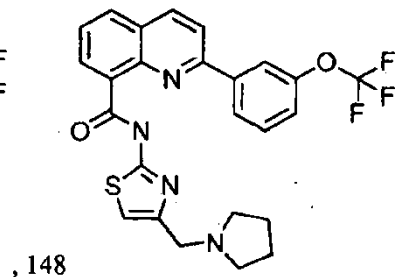
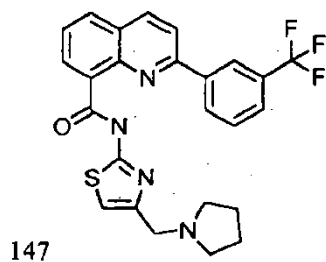
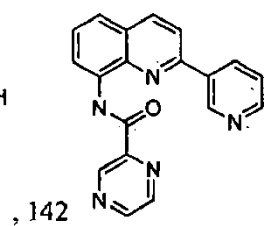
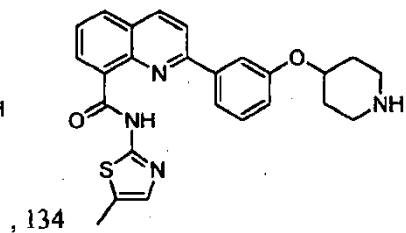
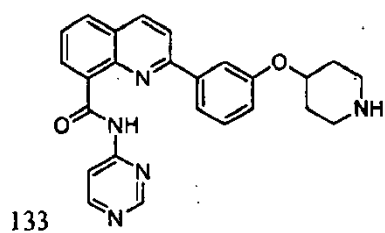
R^{12} se selecciona de fenilo y piridilo, en donde R^{12} está opcionalmente sustituido por uno a dos sustituyentes que se seleccionan independientemente de halo, alquilo C_1-C_4 , alquilo sustituido por fluoro C_1-C_2 , $-O-R^{14}$, $-S(O)_2-R^{14}$, $-(alquilo\ C_1-C_4)-N(R^{14})(R^{14})$ y $N(R^{14})(R^{14})$ y cuando R^{12} es fenilo, R^{12} está también opcionalmente sustituido por 3,4-metilendioxi, u O-(heterociclo saturado).

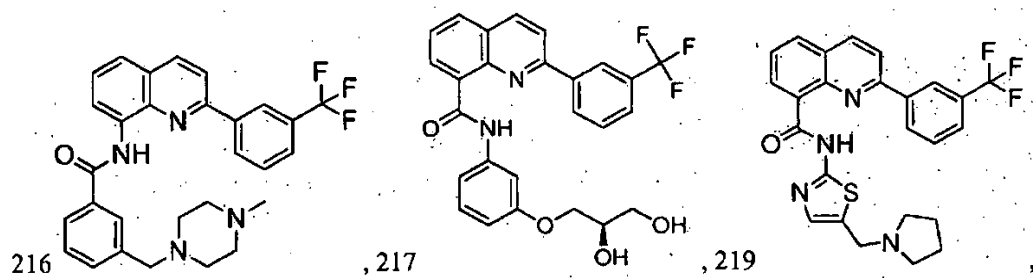
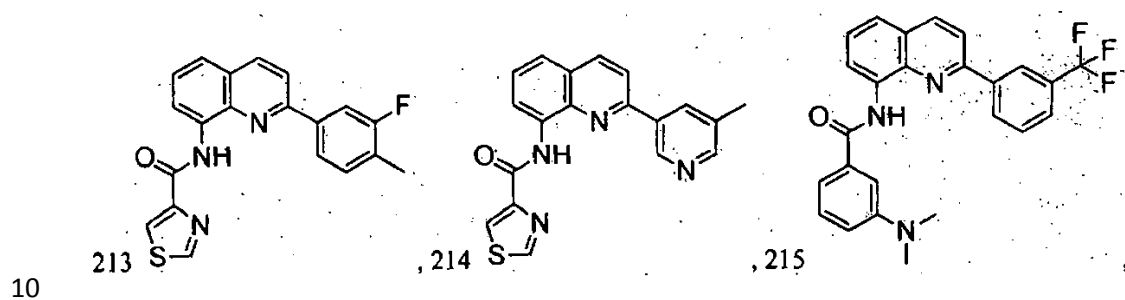
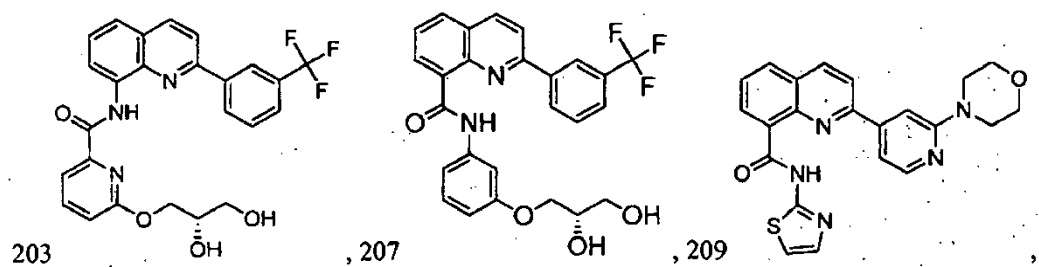
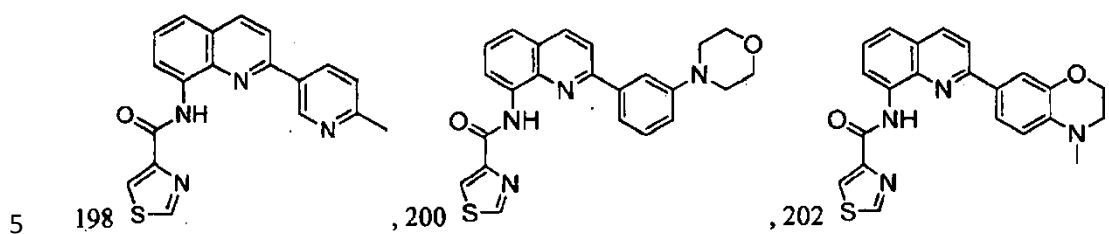
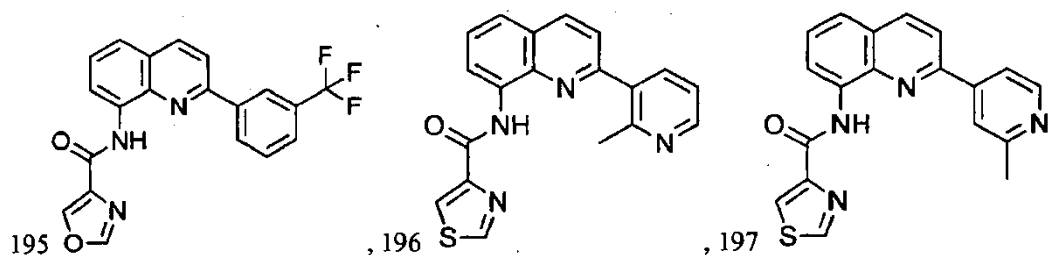
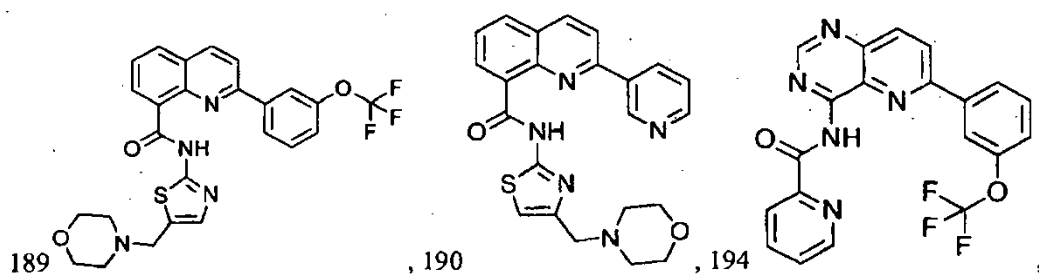
5 11. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto se selecciona de cualquiera de

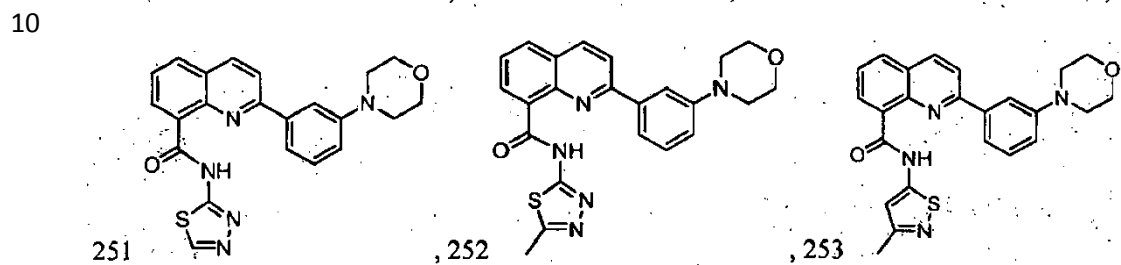
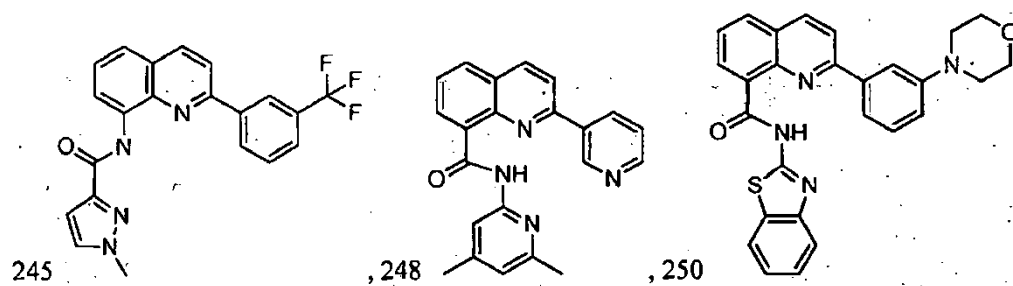
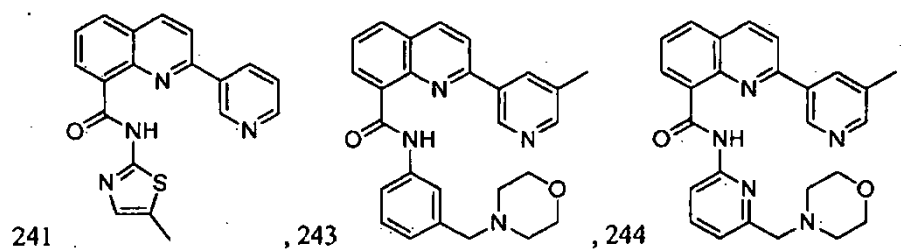
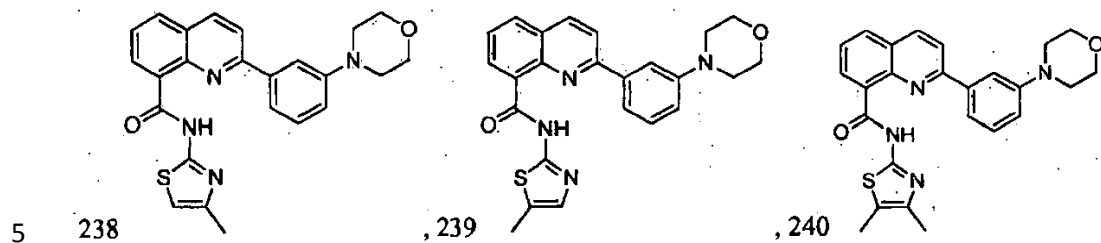
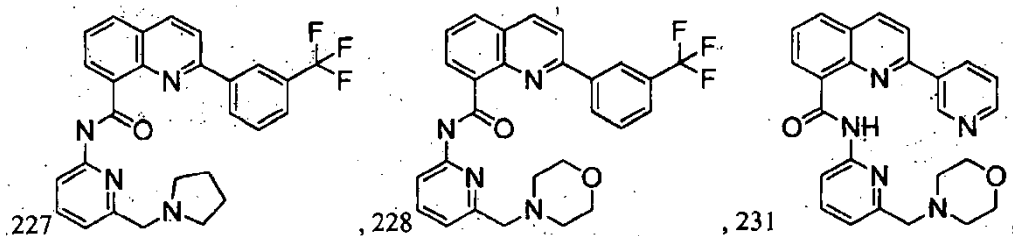
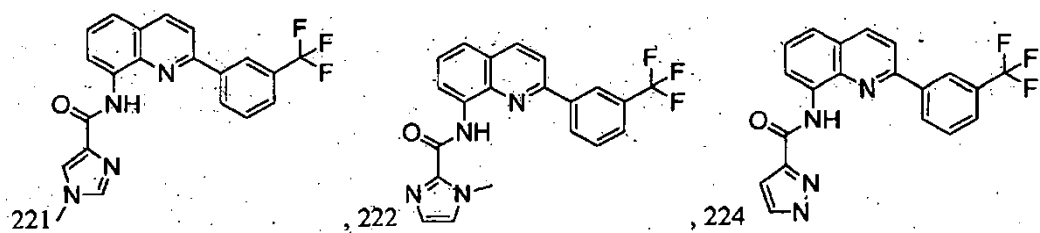


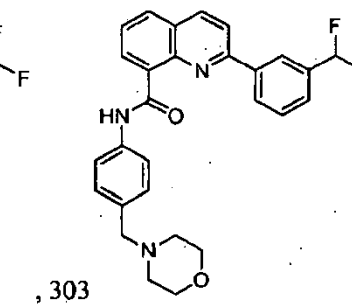
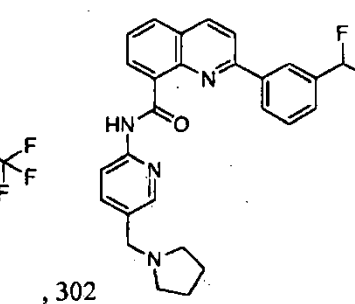
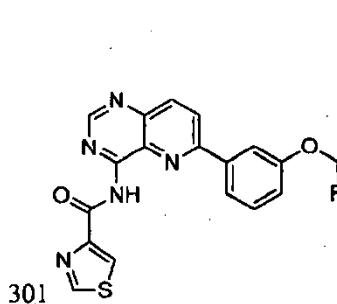
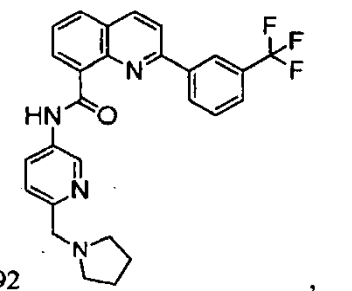
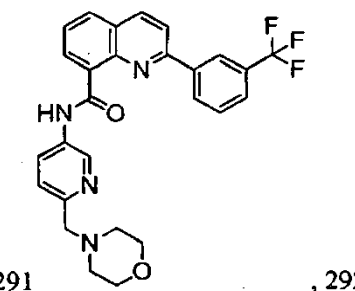
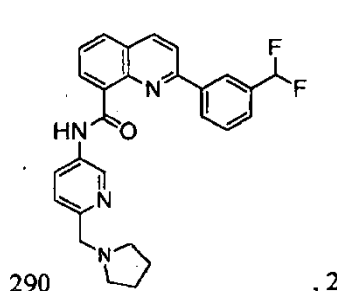
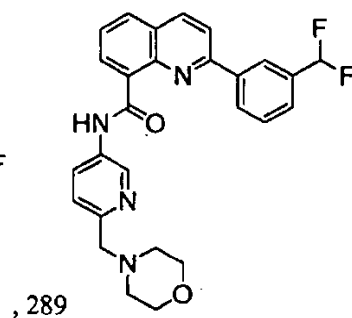
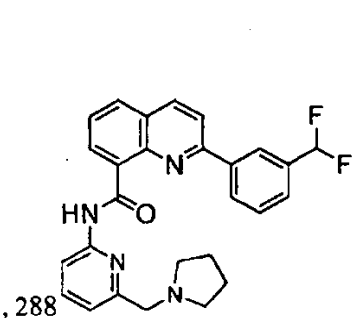
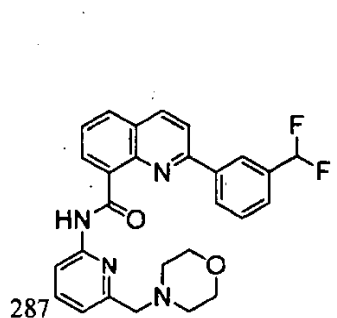
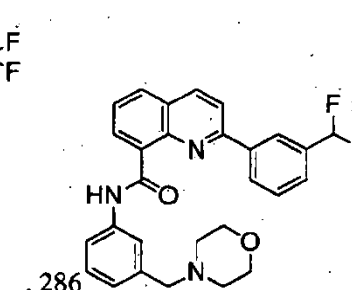
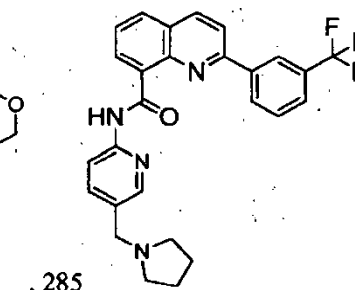
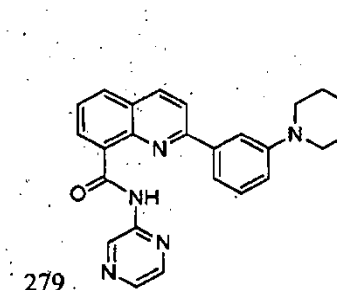
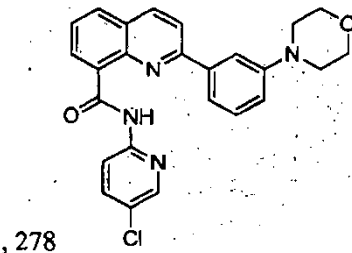
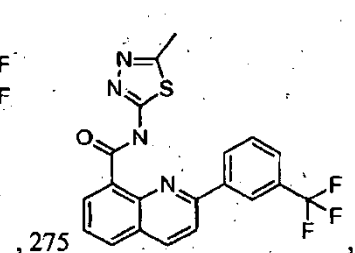
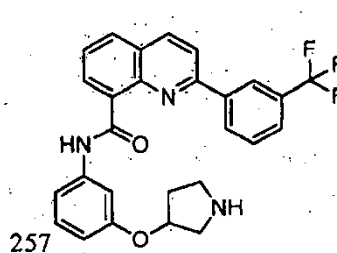
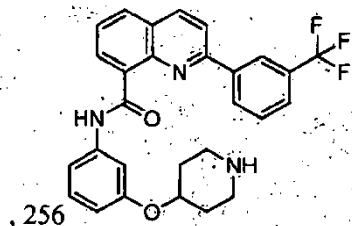
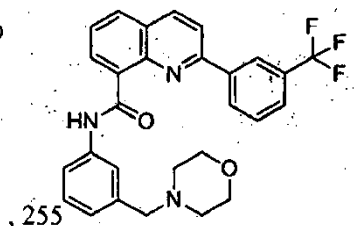
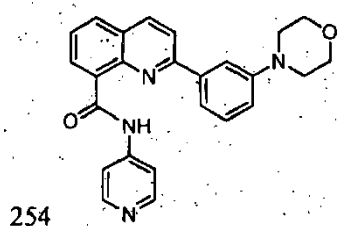


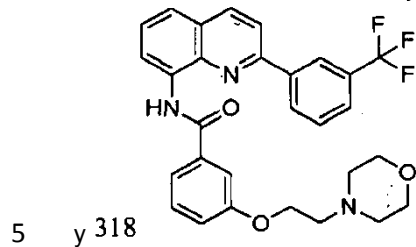
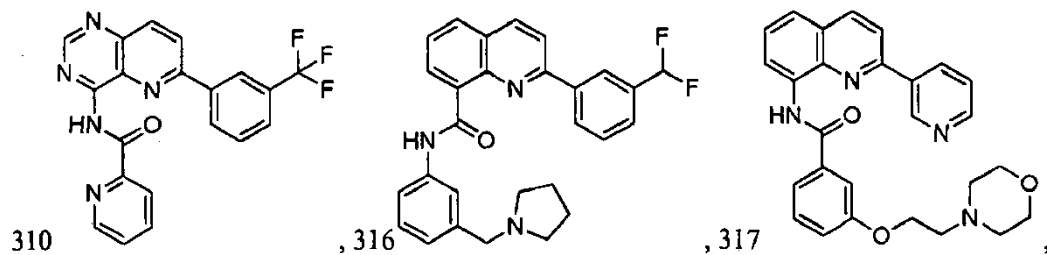
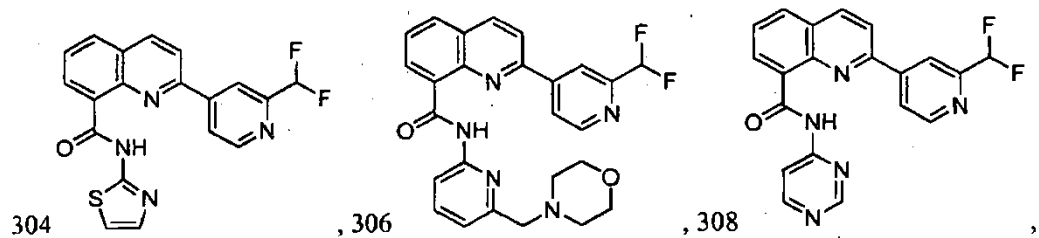




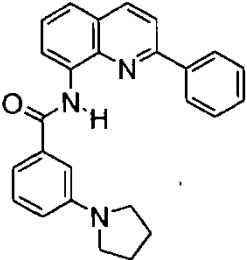
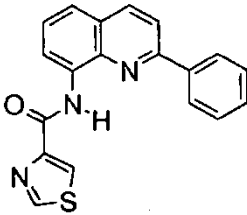
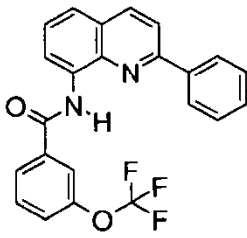
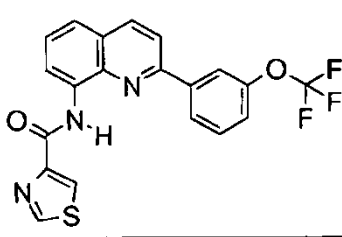
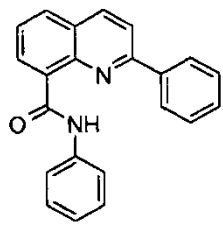


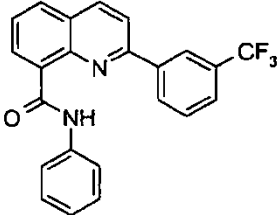
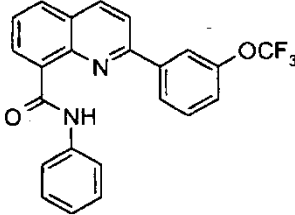
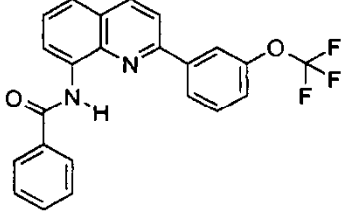
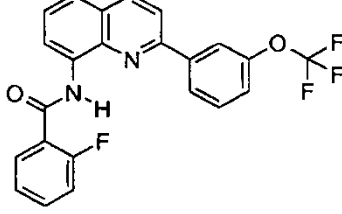
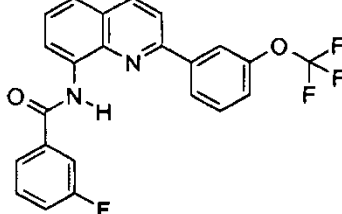


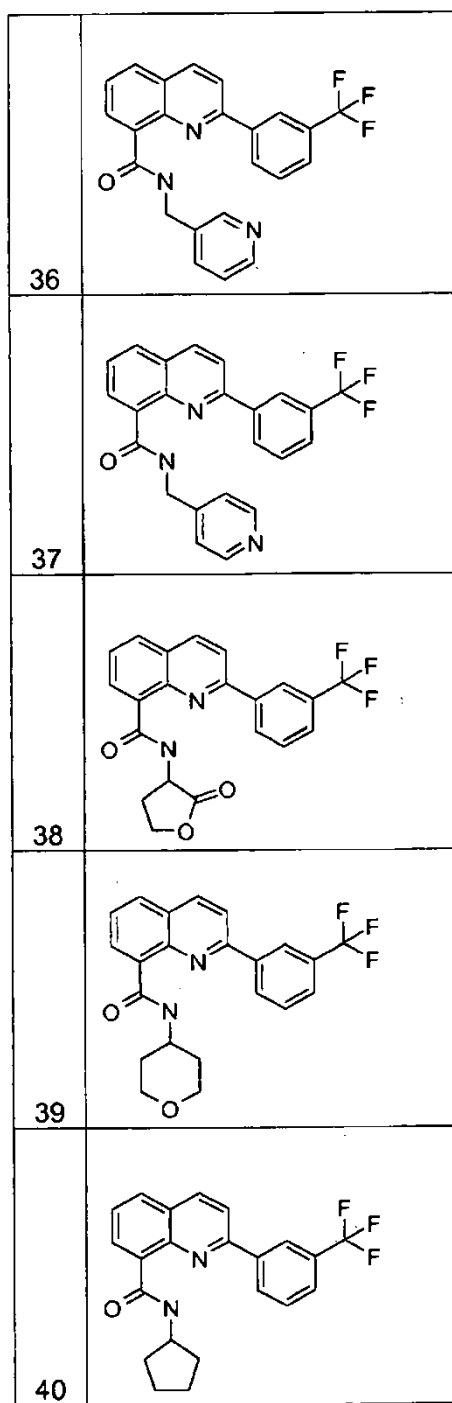
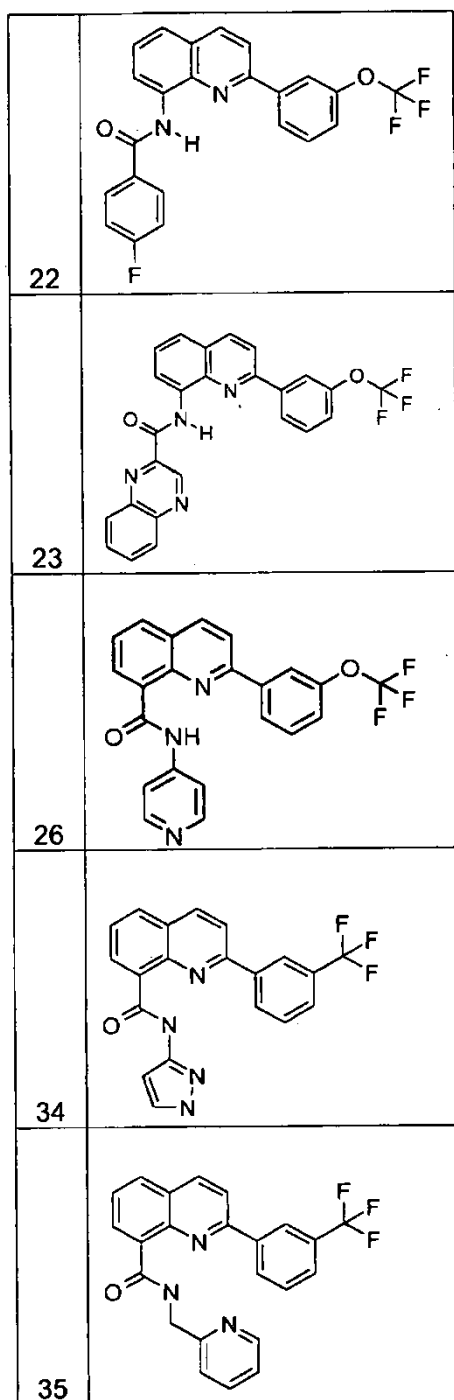




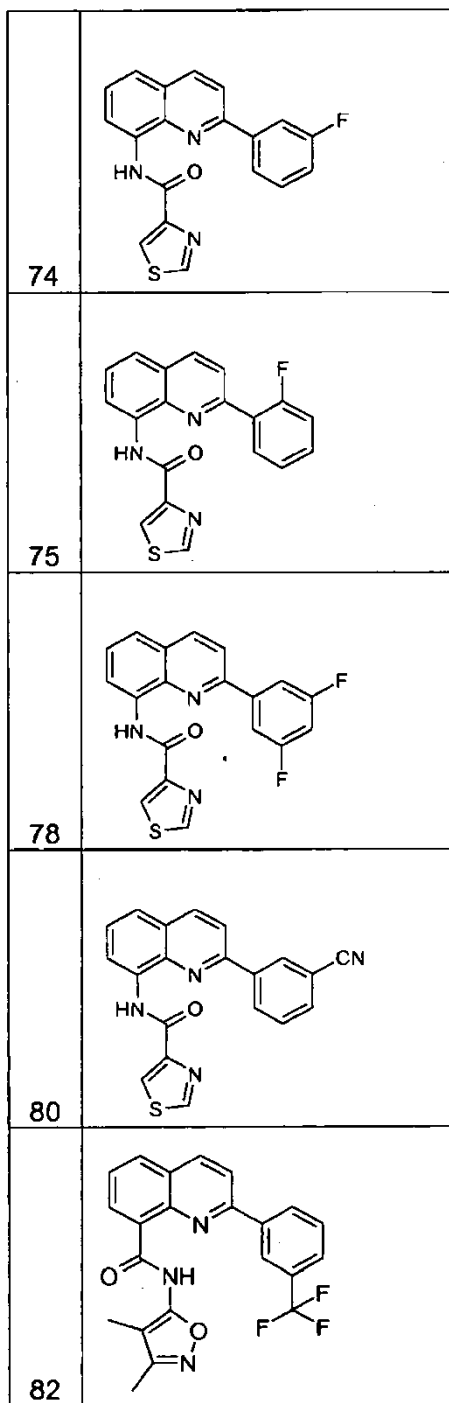
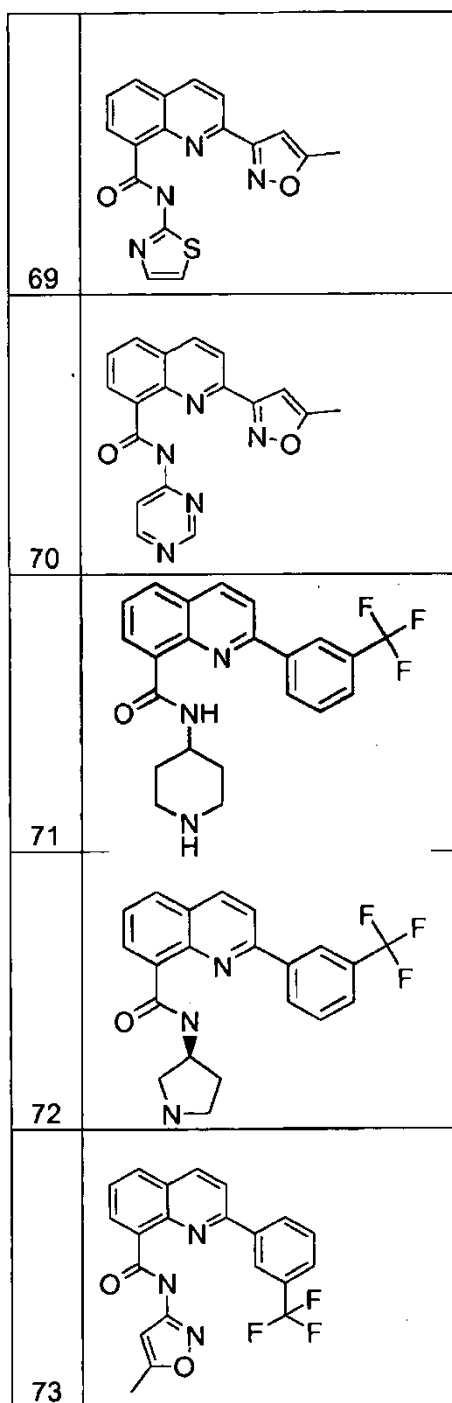
12. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto se selecciona de cualquiera de

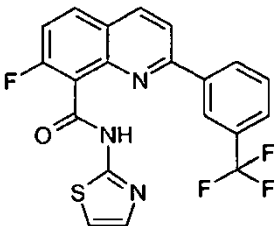
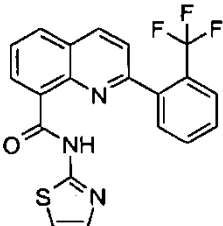
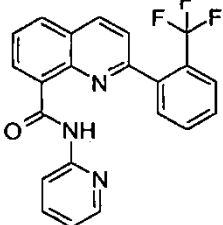
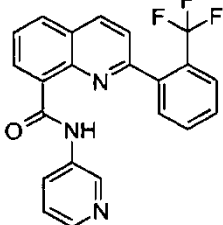
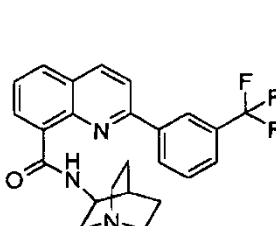
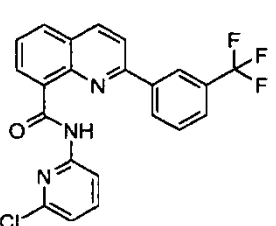
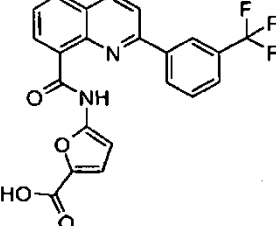
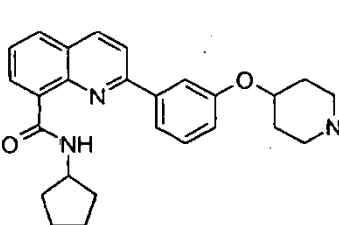
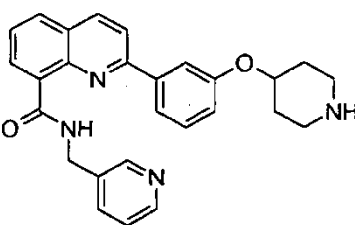
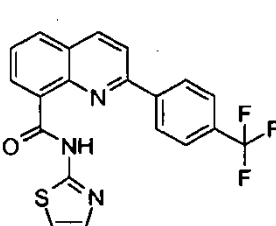
1	
2	
6	
7	
9	

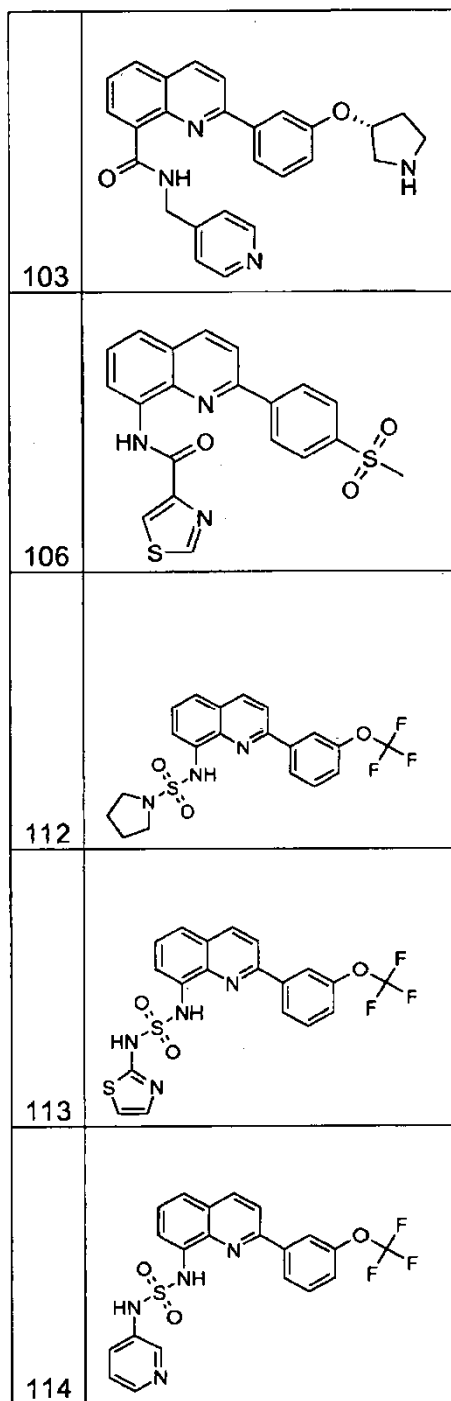
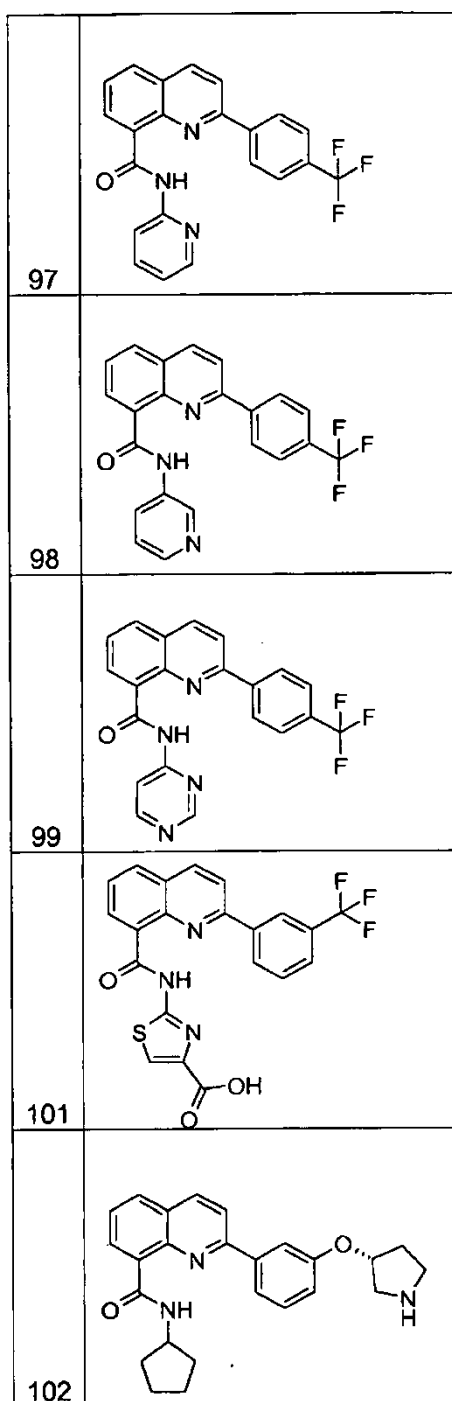
10	
11	
19	
20	
21	

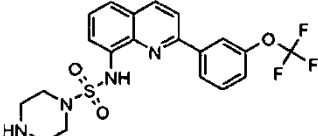
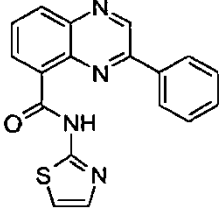
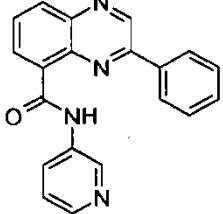
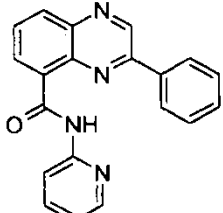
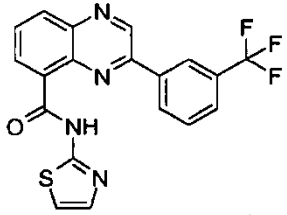


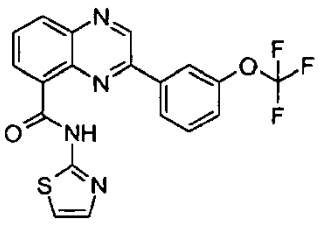
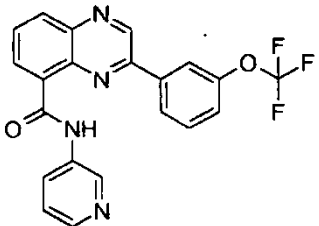
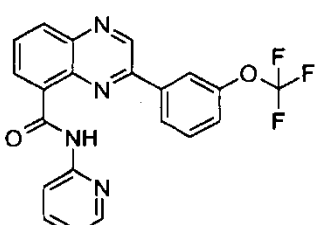
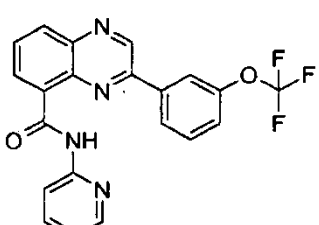
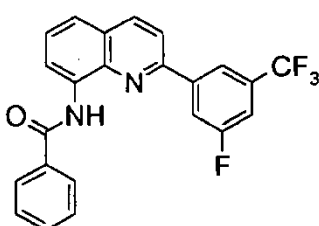
43		62	
50		63	
51		64	
54		66	
57		68	

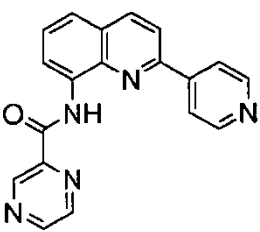
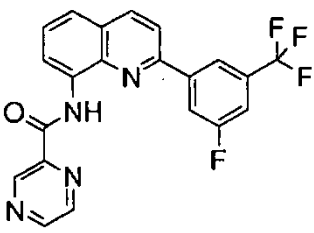
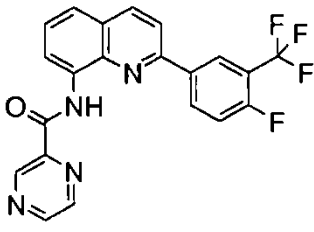
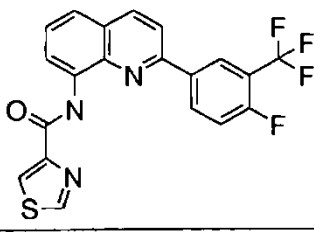
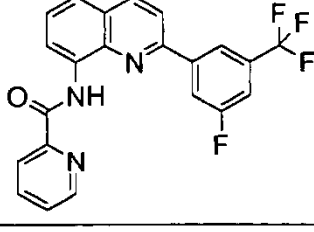
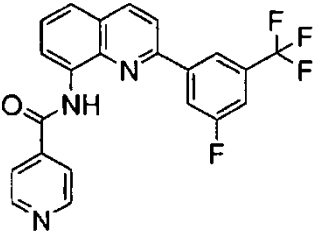
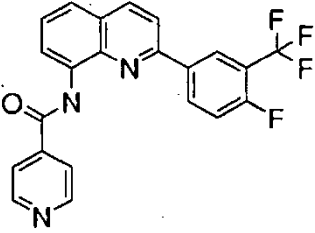
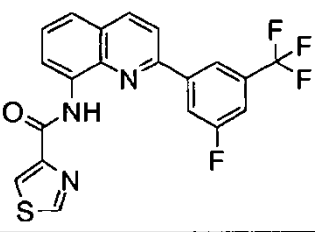
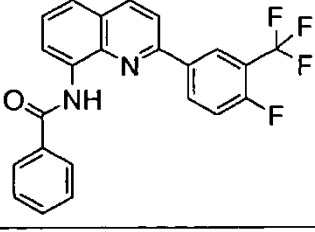
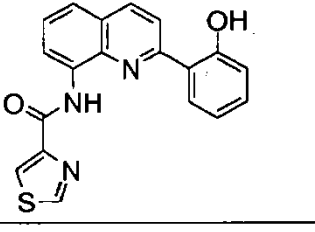


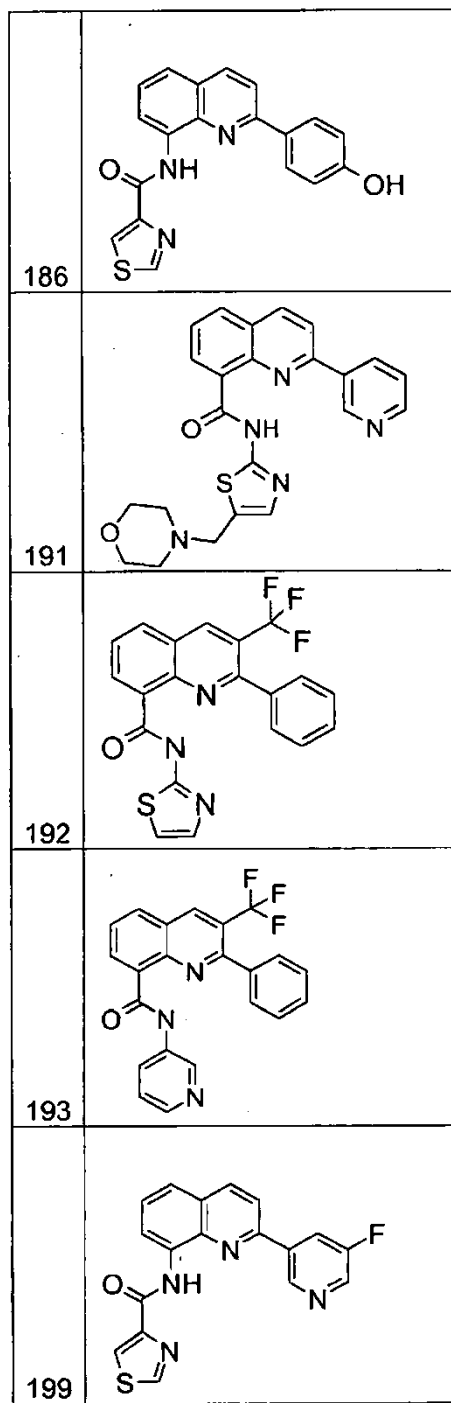
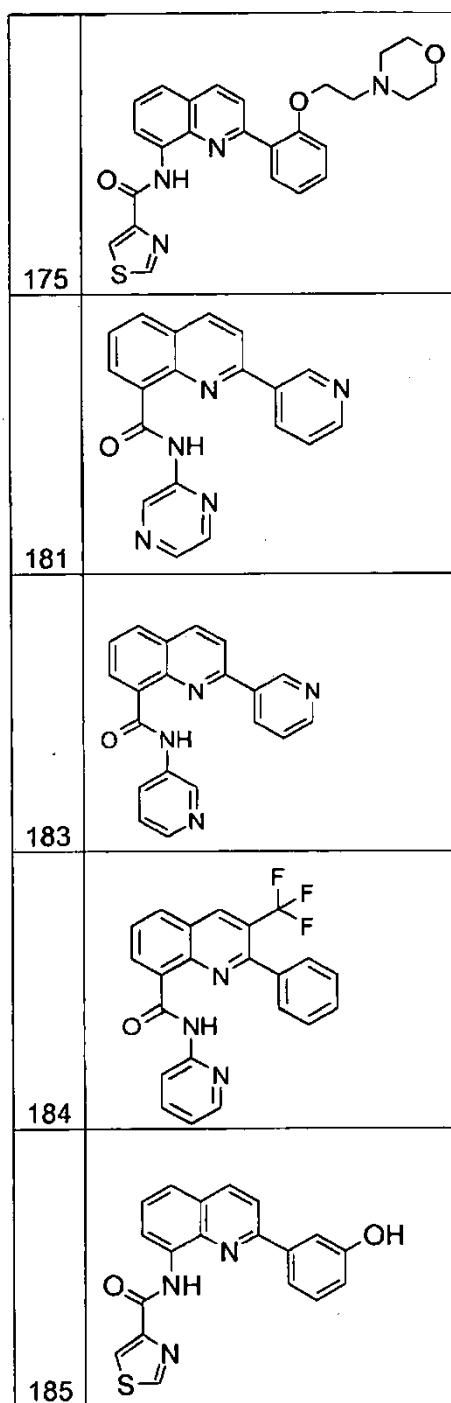
83	
84	
85	
86	
88	
89	
90	
94	
95	
96	

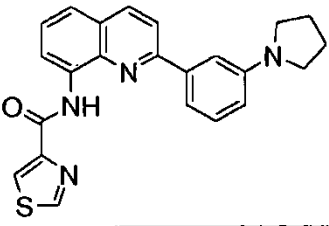
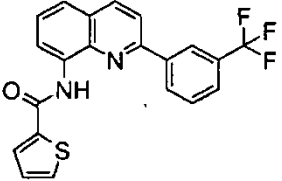
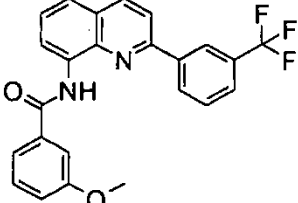
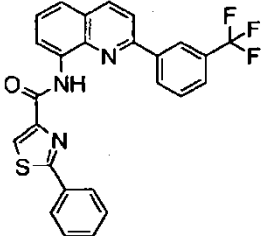
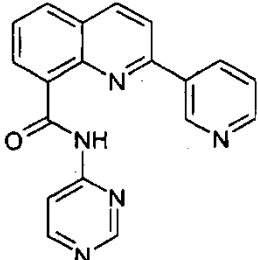
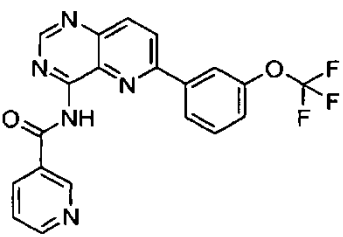
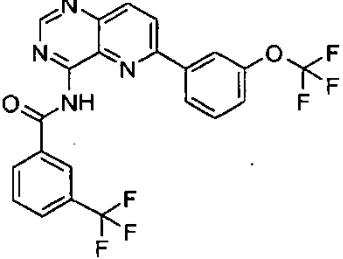
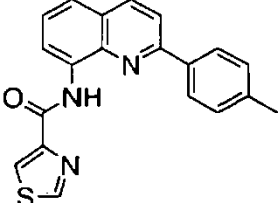
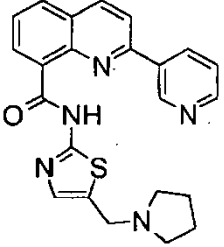
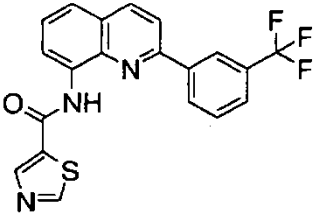


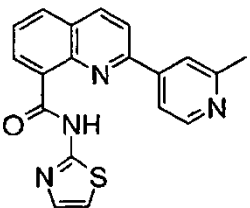
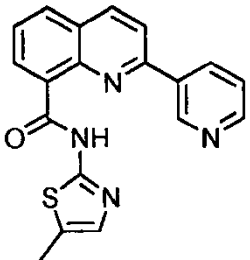
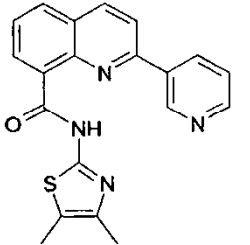
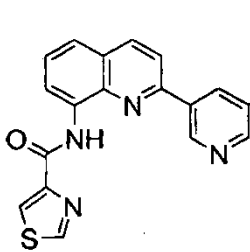
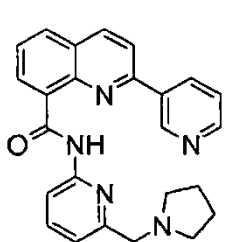
115	
116	
117	
118	
123	

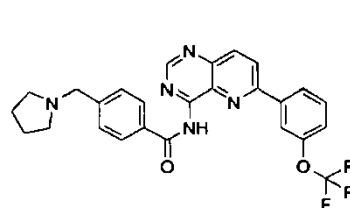
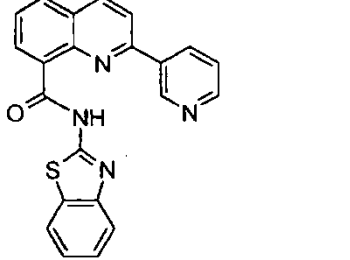
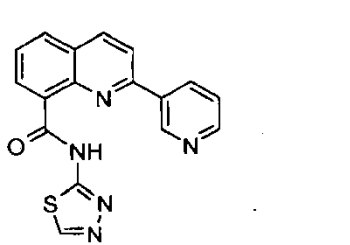
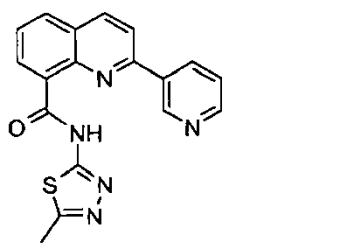
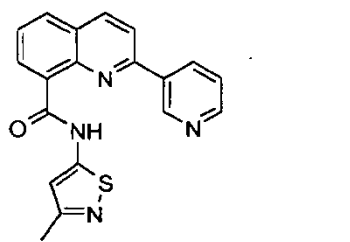
125	
126	
127	
128	
153	

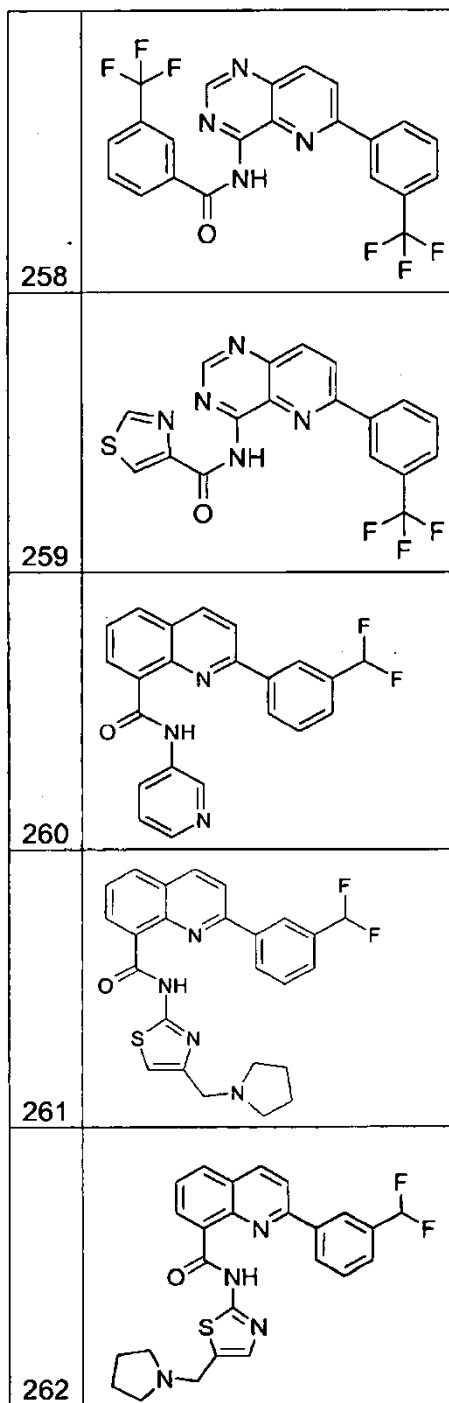
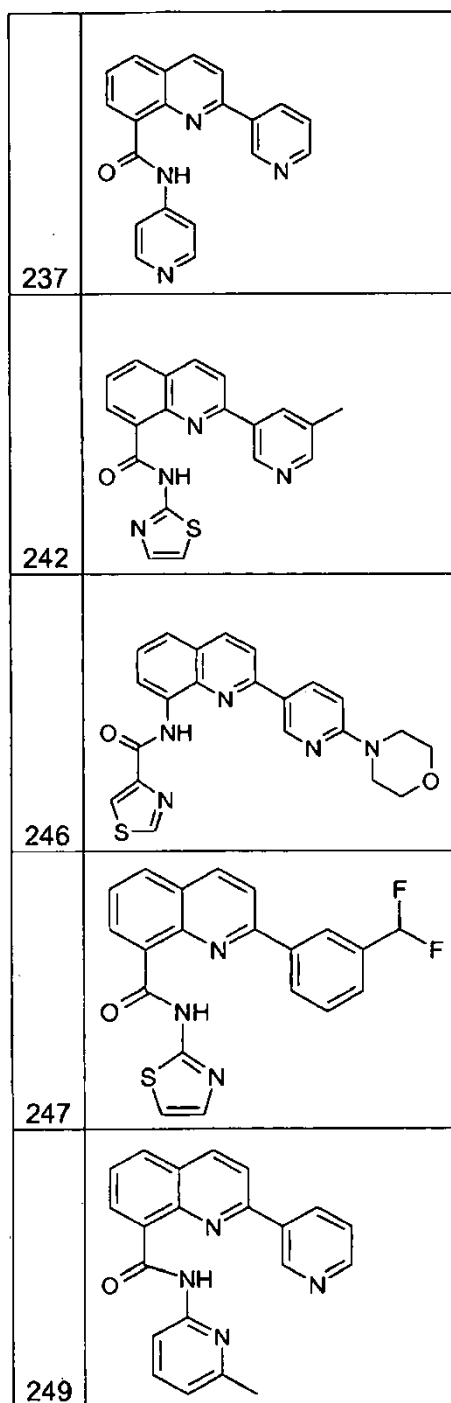
155	
156	
157	
158	
159	
160	
161	
169	
170	
174	

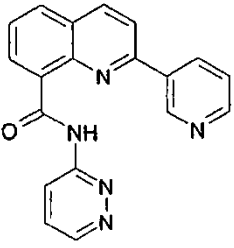
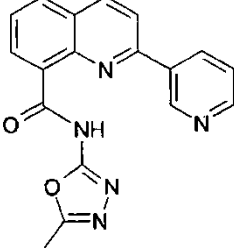
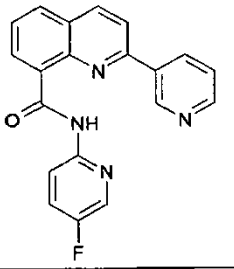
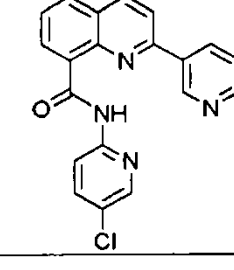
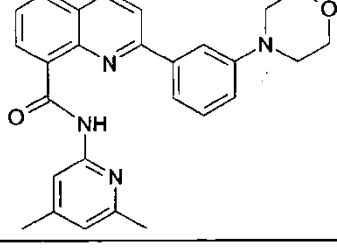
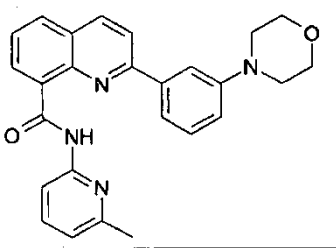
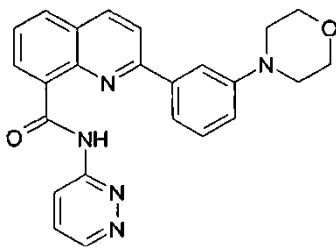
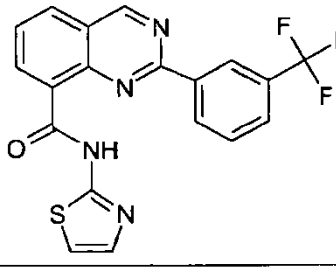
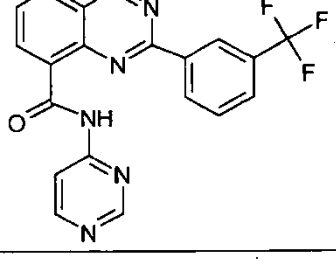
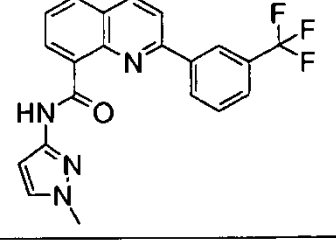


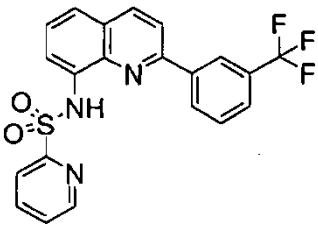
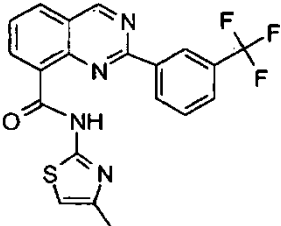
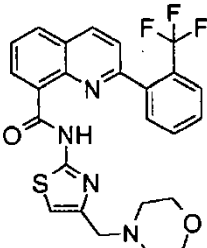
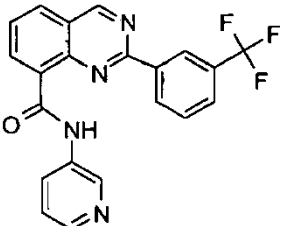
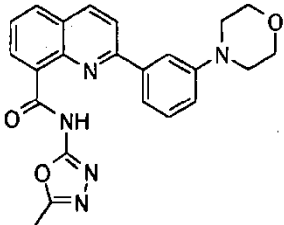
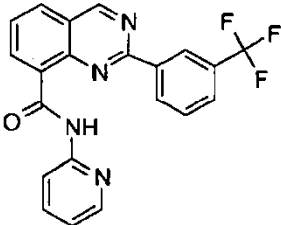
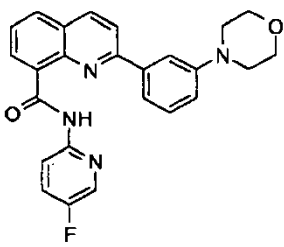
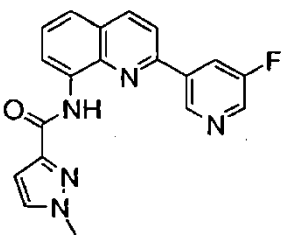
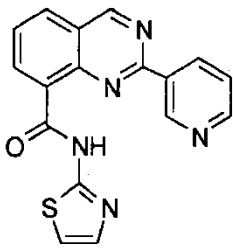
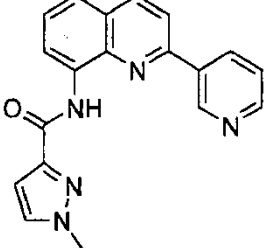
201	
204	
205	
206	
208	
210	
211	
212	
218	
220	

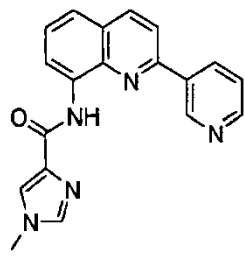
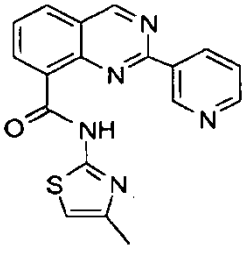
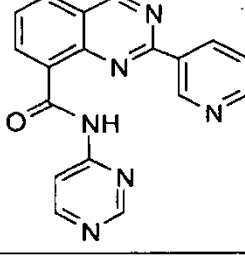
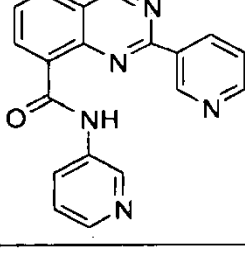
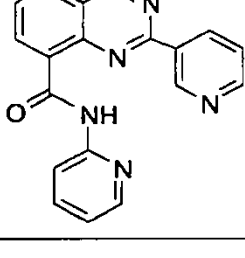
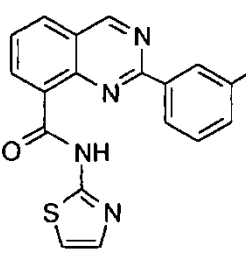
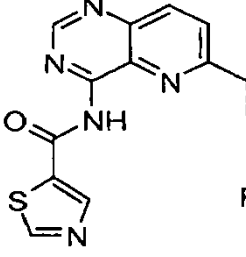
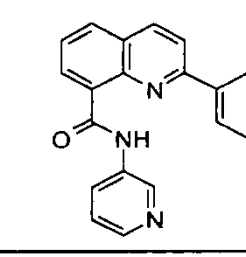
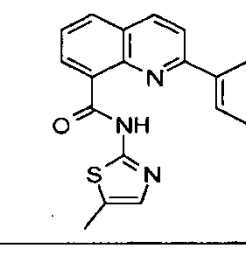
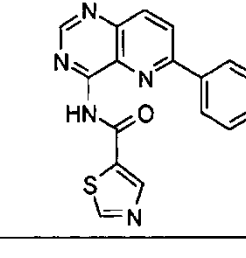
223	
225	
226	
229	
230	

232	
233	
234	
235	
236	



263	
264	
265	
266	
267	
268	
269	
270	
271	
272	

273		281	
274		282	
276		283	
277		284	
280		293	

294	
295	
296	
297	
298	
299	
300	
305	
307	
309	

311	
312	
313	
314	
315	

319	
320	
321	
322	

13. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, en donde la sal es una sal farmacéuticamente aceptable.

5 14. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la reivindicación 13 y un portador farmacéuticamente aceptable.

15. La composición farmacéutica de la reivindicación 14 que adicionalmente comprende un agente activo adicional.

16. Un compuesto tal como se define en la reivindicación 13 para su uso en terapia.

10 17. Un compuesto tal como se define en la reivindicación 13 para su uso para tratar 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.

18. El uso del compuesto tal como se define en la reivindicación 13 en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de resistencia a la insulina, un síndrome metabólico, diabetes o complicaciones de los mismos o para aumentar la sensibilidad a la insulina en un sujeto.