



PCT



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

10-1887

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD DE PATENTE DE
INVENCION

TITULO: COMPUESTOS DE TIAZOLOPIRIDINA COMO MODULADORES DE
SIRTUINA

SOLICITANTE: SIRTRIS PHARMACEUTICALS, INC.

DIRECCIÓN: 200 Technology Square, Suite 300, Cambridge, MA 02139.

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ 08 de Enero de 2010

P2009/000217

Recd. Com. N. E. G. L. S.
20-01-2010

OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK MOURE & C

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



Nº. 10-001887- -00000-0000

Fecha: 2010-01-08 16:53:12 Dep: 2020 DIR.NUEVASCR
Tra: 11 PATENTEIYI Eve: 378 FASENACIONALI
Act: 411 PRESENTACION Folios: 278

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD PATENTE PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2009/000217

SOLICITUD DE:

1



Patente de Invención.



Patente de Modelo de Utilidad.



Capítulo I.



Capítulo II.

2

**SOLICITANTE
(71)**

Nombre: SIRTRIS PHARMACEUTICALS, INC.

Dirección: 200 technology Square, Suite 300,
Cambridge, MA 02139

Nacionalidad o Domicilio: Estadounidense

Lugar de Constitución: Estados Unidos de América

Teléfono: _____

Fax: _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Cual _____

Número _____

**REPRESENTANTE
O APODERADO**

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: World Trade Center Torre A,
Calle 100 No. 8A-37 Piso 10

Teléfono: 601-7700 **Fax:** 601-7799

E-mail: office@olarteraisbeck.com

IDENTIFICACIÓN

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Cual _____

Número 79782747Bta
TP 74.295

**INVENTOR (ES)
(72)**

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2008/007776

Fecha

Junio 20, 2008

Publicación Internacional No. WO 2003/156369

Fecha

Diciembre 24, 2003

6

Título (54) COMPUESTOS DE TIAZOLOPIRIDINA COMO MODULADORES DE SIRTUINA

Clasificación Internacional (51) C07D 513/04, A61K 31/437, A61P 3/10

Prioridad

SI



NO



(33) País de Origen

US

(32) Fecha

Junio 20, 2007

(31) Número de Solicitud

60/936,636

9

Comprobante de pago No. 10-

Fecha 07 Enero de 2010

10

ANEXOS☒

Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.

☐

Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.

☐

Poderes, si fuere el caso. Adjunto copia simple ver expediente No.

☐

Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.

☐

Declaraciones.

☒

Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☒

Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☐

Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).

☐

Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.

☐

De ser el caso, copia del contrato de acceso.

☐

De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.

☐

De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.

☐

Arte final 12 x 12.

☐

De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.

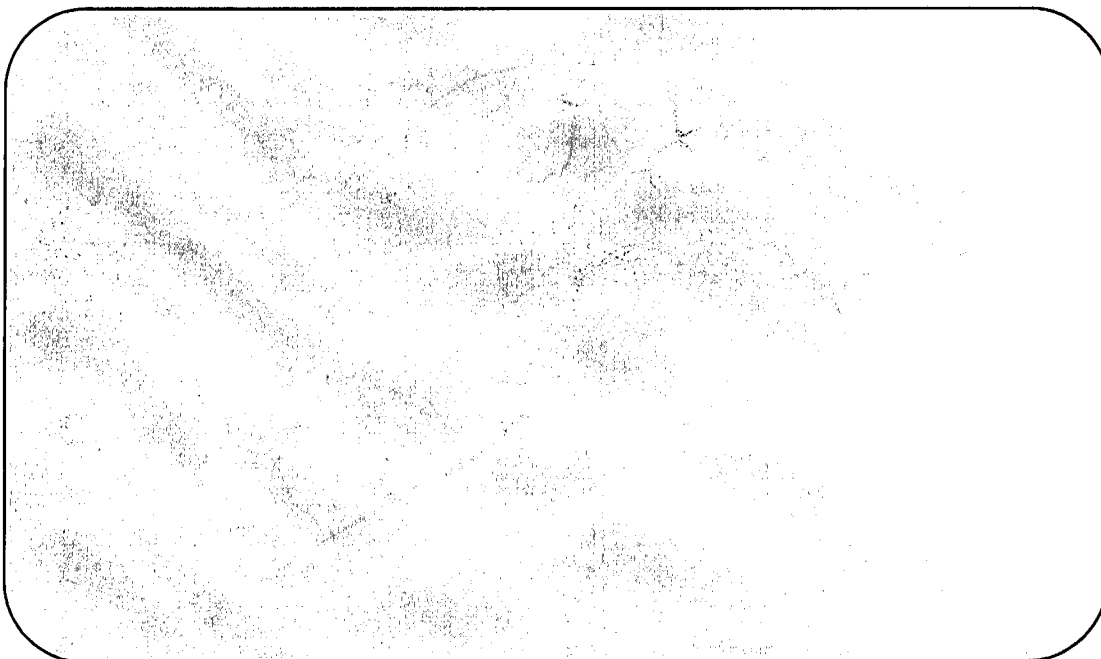
☐

De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.

☒

Otros. Búsqueda Internacional.

11

FIGURA CARACTERÍSTICA:

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS E. OLARTE

FIRMA:

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

LISTA DE INVENTORES**PCT/US2008/007776**

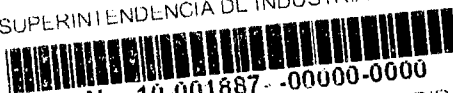
1. **Jean BEMIS,**
256 Appleton Street, Arlington,
MA 02476
Estados Unidos
Nacionalidad: Estadounidense
2. **Jeremy, S. DISCH,**
18 Waban Street, Natick,
MA 01760
Estados Unidos
Nacionalidad: Estadounidense
3. **Pui, Yee NG,**
41 Commonwealth Avenue, #3, Boston,
MA 02116
Estados Unidos
Nacionalidad: Estadounidense
4. **Christopher OALMANN,**
26 Amherst Road, Watertown,
MA 02472
Estados Unidos
Nacionalidad: Estadounidense
5. **Robert, B. PERNI,**
130 Robert Road, Marlborough,
MA 01752
Estados Unidos
Nacionalidad: Estadounidense
6. **Chi, B. Vu,**
79 Bay State Road, Arlington,
MA 02474
Estados Unidos
Nacionalidad: Estadounidense

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 1.935
FECHA : ENERO 7 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-001887 - 00000-0000

Fecha: 2010-01-08 16:53:12 Dep. 2020 DIR.NULVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve. 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 278

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
GLARTE RAISBEK	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	131167820	07/01/2010	5.130.000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
1		TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	554.000.00
		TOTAL :	\$ 554.000.00

SON: QUINIENTOS CINCUENTA Y CUATRO MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
24 December 2008 (24.12.2008)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2008/156869 A3

(51) International Patent Classification:

C07D 513/04 (2006.01) A61P 3/16 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2008/007776

(22) International Filing Date: 20 June 2007 (20.06.2007)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

60/936,636 20 June 2007 (20.06.2007) US

(71) Applicant (for all designated States except US): SIRTRIS
PHARMACEUTICALS, INC. [US/US]; 200 Technology
Square, Suite 300, Cambridge, MA 02139 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): BEMIS, Jean
[US/US]; 256 Appleton Street, Arlington, MA 02476
(US). DISCH, Jeremy, S. [US/US]; 18 Waban Street,
Natick, MA 01760 (US). NG, Pui, Yee [US/US]; 41
Commonwealth Avenue, #3, Boston, MA 02116 (US).
OALMANN, Christopher [US/US]; 26 Amherst Road,
Watertown, MA 02472 (US). PERNI, Robert, B.
[US/US]; 130 Robert Road, Marlborough, MA 01752
(US). VU, Chi, B. [US/US]; 79 Bay State Road, Arlington,
MA 02474 (US).(74) Agents: FECKER, Jesse et al.; Ropes & Gray LLP, One
International Place, Boston, MA 02110 (US).(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA,
CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE,
EG, ES, FI, GE, GH, GR, GT, HN, HR, HU, ID,
IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC,
LK, LE, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN,
MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH,
PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV,
SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN,
ZA, ZM, ZW.(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, EG, FZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL,
NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TP), OAPI (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MP, NE, SN, TD, TG).

Published:

- with international search report
- before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments

(88) Date of publication of the international search report:
14 May 2009

(54) Title: SIRTUIN MODULATING THIAZOLOPYRIDINE COMPOUNDS

(57) Abstract: Provided herein are novel sirtuin-modulating compounds and methods of use thereof. The sirtuin-modulating compounds may be used for increasing the lifespan of a cell, and treating and/or preventing a wide variety of diseases and disorders including, for example, diseases or disorders related to aging or stress, diabetes, obesity, neurodegenerative diseases, cardiovascular diseases, blood clotting disorders, inflammation, cancer, and/or flushing as well as diseases or disorders that would benefit from increased mitochondrial activity. Also provided are compositions comprising a sirtuin-modulating compound in combination with another therapeutic agent.

WO 2008/156869 A3

SIRTUIN MODULATING COMPOUNDS

RELATED APPLICATIONS

This application claims the benefit of U.S. Provisional Application No. 60/936,636, filed June 20, 2007, the contents of which are incorporated by reference in their entirety.

BACKGROUND

The Silent Information Regulator (SIR) family of genes represents a highly conserved group of genes present in the genomes of organisms ranging from archaeobacteria to a variety of eukaryotes (Frye, 2000). The encoded SIR proteins are involved in diverse processes from regulation of gene silencing to DNA repair. The proteins encoded by members of the SIR gene family show high sequence conservation in a 250 amino acid core domain. A well-characterized gene in this family is *S. cerevisiae* SIR2, which is involved in silencing HM loci that contain information specifying yeast mating type, telomere position effects and cell aging (Guarente, 1999; Kaeberlein et al., 1999; Shore, 2000). The yeast Sir2 protein belongs to a family of histone deacetylases (reviewed in Guarente, 2000; Shore, 2000). The Sir2 homolog, CobB, in *Salmonella typhimurium*, functions as an NAD (nicotinamide adenine dinucleotide)-dependent ADP-ribosyl transferase (Tsang and Escalante-Semerena, 1998).

The Sir2 protein is a class III deacetylase which uses NAD as a cosubstrate (Imai et al., 2000; Moazed, 2001; Smith et al., 2000; Tanner et al., 2000; Tanny and Moazed, 2001). Unlike other deacetylases, many of which are involved in gene silencing, Sir2 is insensitive to class I and II histone deacetylase inhibitors like trichostatin A (TSA) (Imai et al., 2000; Landry et al., 2000a; Smith et al., 2000).

Deacetylation of acetyl-lysine by Sir2 is tightly coupled to NAD hydrolysis, producing nicotinamide and a novel acetyl-ADP ribose compound (Tanner et al., 2000; Landry et al., 2000b; Tanny and Moazed, 2001). The NAD-dependent deacetylase activity of Sir2 is essential for its functions which can connect its biological role with cellular metabolism in yeast (Guarente, 2000; Imai et al., 2000; Lin et al., 2000; Smith et al., 2000). Mammalian Sir2 homologs have NAD-dependent histone deacetylase activity (Imai et al., 2000; Smith et al., 2000). Most

information about Sir2 mediated functions comes from the studies in yeast (Gartenberg, 2000; Gottschling, 2000).

Biochemical studies have shown that Sir2 can readily deacetylate the amino-terminal tails of histones H3 and H4, resulting in the formation of 1-O-acetyl-ADP-ribose and nicotinamide. Strains with additional copies of SIR2 display increased
5 rDNA silencing and a 30% longer life span. It has recently been shown that additional copies of the *C. elegans* SIR2 homolog, sir-2.1, and the *D. melanogaster* dSir2 gene greatly extend life span in those organisms. This implies that the SIR2-dependent regulatory pathway for aging arose early in evolution and has been well
10 conserved. Today, Sir2 genes are believed to have evolved to enhance an organism's health and stress resistance to increase its chance of surviving adversity.

SIRT3 is a homolog of SIRT1 that is conserved in prokaryotes and eukaryotes (P. Onyango et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99: 13653-13658 (2002)). The SIRT3 protein is targeted to the mitochondrial cristae by a unique domain
15 located at the N-terminus. SIRT3 has NAD⁺-dependent protein deacetylase activity and is ubiquitously expressed, particularly in metabolically active tissues. Upon transfer to the mitochondria, SIRT3 is believed to be cleaved into a smaller, active form by a mitochondrial matrix processing peptidase (MPP) (B. Schwer et al., J. Cell Biol. 158: 647-657 (2002)).

20 Caloric restriction has been known for over 70 years to improve the health and extend the lifespan of mammals (Masoro, 2000). Yeast life span, like that of metazoans, is also extended by interventions that resemble caloric restriction, such as low glucose. The discovery that both yeast and flies lacking the SIR2 gene do not live longer when calorically restricted provides evidence that SIR2 genes mediate
25 the beneficial health effects of this diet (Anderson et al., 2003; Helfand and Rogina, 2004). Moreover, mutations that reduce the activity of the yeast glucose-responsive cAMP (adenosine 3',5'-monophosphate)-dependent (PKA) pathway extend life span in wild type cells but not in mutant sir2 strains, demonstrating that SIR2 is likely to be a key downstream component of the caloric restriction pathway (Lin et al., 2001).

30

SUMMARY

Provided herein are novel sirtuin-modulating compounds and methods of use thereof.

In one aspect, the invention provides sirtuin-modulating compounds of
5 Structural Formulas (I)-(VI) as are described in detail below.

In another aspect, the invention provides methods for using sirtuin-modulating compounds, or compositions comprising sirtuin-modulating compounds. In certain embodiments, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be used for a variety of therapeutic applications
10 including, for example, increasing the lifespan of a cell, and treating and/or preventing a wide variety of diseases and disorders including, for example, diseases or disorders related to aging or stress, diabetes, obesity, neurodegenerative diseases, chemotherapeutic induced neuropathy, neuropathy associated with an ischemic event, ocular diseases and/or disorders, cardiovascular disease, blood clotting
15 disorders, inflammation, and/or flushing, etc. Sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may also be used for treating a disease or disorder in a subject that would benefit from increased mitochondrial activity, for enhancing muscle performance, for increasing muscle ATP levels, or for treating or preventing muscle tissue damage associated with hypoxia or ischemia. In
20 other embodiments, sirtuin-modulating compounds that decrease the level and/or activity of a sirtuin protein may be used for a variety of therapeutic applications including, for example, increasing cellular sensitivity to stress, increasing apoptosis, treatment of cancer, stimulation of appetite, and/or stimulation of weight gain, etc. As described further below, the methods comprise administering to a subject in need
25 thereof a pharmaceutically effective amount of a sirtuin-modulating compound.

In certain aspects, the sirtuin-modulating compounds may be administered alone or in combination with other compounds, including other sirtuin-modulating compounds, or other therapeutic agents.

DETAILED DESCRIPTION

1. Definitions

As used herein, the following terms and phrases shall have the meanings set forth below. Unless defined otherwise, all technical and scientific terms used herein
5 have the same meaning as commonly understood to one of ordinary skill in the art.

The singular forms “a,” “an,” and “the” include plural reference unless the context clearly dictates otherwise.

The term “agent” is used herein to denote a chemical compound, a mixture of chemical compounds, a biological macromolecule (such as a nucleic acid, an
10 antibody, a protein or portion thereof, e.g., a peptide), or an extract made from biological materials such as bacteria, plants, fungi, or animal (particularly mammalian) cells or tissues. The activity of such agents may render it suitable as a “therapeutic agent” which is a biologically, physiologically, or pharmacologically active substance (or substances) that acts locally or systemically in a subject.

15 The term “bioavailable” when referring to a compound is art-recognized and refers to a form of a compound that allows for it, or a portion of the amount of compound administered, to be absorbed by, incorporated to, or otherwise physiologically available to a subject or patient to whom it is administered.

“Biologically active portion of a sirtuin” refers to a portion of a sirtuin
20 protein having a biological activity, such as the ability to deacetylate. Biologically active portions of a sirtuin may comprise the core domain of sirtuins. Biologically active portions of SIRT1 having GenBank Accession No. NP_036370 that encompass the NAD⁺ binding domain and the substrate binding domain, for example, may include without limitation, amino acids 62-293 of GenBank
25 Accession No. NP_036370, which are encoded by nucleotides 237 to 932 of GenBank Accession No. NM_012238. Therefore, this region is sometimes referred to as the core domain. Other biologically active portions of SIRT1, also sometimes referred to as core domains, include about amino acids 261 to 447 of GenBank
30 Accession No. NP_036370, which are encoded by nucleotides 834 to 1394 of GenBank Accession No. NM_012238; about amino acids 242 to 493 of GenBank Accession No. NP_036370, which are encoded by nucleotides 777 to 1532 of GenBank Accession No. NM_012238; or about amino acids 254 to 495 of

GenBank Accession No. NP_036370, which are encoded by nucleotides S13 to 1538 of GenBank Accession No. NM_012238.

The term "companion animals" refers to cats and dogs. As used herein, the term "dog(s)" denotes any member of the species *Canis familiaris*, of which there
5 are a large number of different breeds. The term "cat(s)" refers to a feline animal including domestic cats and other members of the family *Felidae*, genus *Felis*.

The terms "comprise" and "comprising" are used in the inclusive, open sense, meaning that additional elements may be included.

"Diabetes" refers to high blood sugar or ketoacidosis, as well as chronic,
10 general metabolic abnormalities arising from a prolonged high blood sugar status or a decrease in glucose tolerance. "Diabetes" encompasses both the type I and type II (Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus or NIDDM) forms of the disease. The risk factors for diabetes include the following factors: waistline of more than 40 inches for men or 35 inches for women, blood pressure of 130/85 mmHg or higher,
15 triglycerides above 150 mg/dl, fasting blood glucose greater than 100 mg/dl or high-density lipoprotein of less than 40 mg/dl in men or 50 mg/dl in women.

A "direct activator" of a sirtuin is a molecule that activates a sirtuin by binding to it. A "direct inhibitor" of a sirtuin is a molecule inhibits a sirtuin by binding to it.

20 The term "ED₅₀" is art-recognized. In certain embodiments, ED₅₀ means the dose of a drug which produces 50% of its maximum response or effect, or alternatively, the dose which produces a pre-determined response in 50% of test subjects or preparations. The term "LD₅₀" is art-recognized. In certain embodiments, LD₅₀ means the dose of a drug which is lethal in 50% of test subjects. The term
25 "therapeutic index" is an art-recognized term which refers to the therapeutic index of a drug, defined as LD₅₀/ED₅₀.

The term "hyperinsulinemia" refers to a state in an individual in which the level of insulin in the blood is higher than normal.

The term "including" is used to mean "including but not limited to".
30 "Including" and "including but not limited to" are used interchangeably.

The term "insulin resistance" refers to a state in which a normal amount of insulin produces a subnormal biologic response relative to the biological response in a subject that does not have insulin resistance.

An "insulin resistance disorder," as discussed herein, refers to any disease or
5 condition that is caused by or contributed to by insulin resistance. Examples include: diabetes, obesity, metabolic syndrome, insulin-resistance syndromes, syndrome X, insulin resistance, high blood pressure, hypertension, high blood cholesterol, dyslipidemia, hyperlipidemia, dyslipidemia, atherosclerotic disease including stroke, coronary artery disease or myocardial infarction, hyperglycemia,
10 hyperinsulinemia and/or hyperproinsulinemia, impaired glucose tolerance, delayed insulin release, diabetic complications, including coronary heart disease, angina pectoris, congestive heart failure, stroke, cognitive functions in dementia, retinopathy, peripheral neuropathy, nephropathy, glomerulonephritis, glomerulosclerosis, nephrotic syndrome, hypertensive nephrosclerosis some types of
15 cancer (such as endometrial, breast, prostate, and colon), complications of pregnancy, poor female reproductive health (such as menstrual irregularities, infertility, irregular ovulation, polycystic ovarian syndrome (PCOS)), lipodystrophy, cholesterol related disorders, such as gallstones, cholecystitis and cholelithiasis, gout, obstructive sleep apnea and respiratory problems, osteoarthritis, and
20 prevention and treatment of bone loss, e.g. osteoporosis.

The term "livestock animals" refers to domesticated quadrupeds, which includes those being raised for meat and various byproducts, e.g., a bovine animal including cattle and other members of the genus *Bos*, a porcine animal including domestic swine and other members of the genus *Sus*, an ovine animal including
25 sheep and other members of the genus *Ovis*, domestic goats and other members of the genus *Capra*; domesticated quadrupeds being raised for specialized tasks such as use as a beast of burden, e.g., an equine animal including domestic horses and other members of the family *Equidae*, genus *Equus*.

The term "mammal" is known in the art, and exemplary mammals include
30 humans, primates, livestock animals (including bovines, porcines, etc.), companion animals (e.g., canines, felines, etc.) and rodents (e.g., mice and rats).

“Obese” individuals or individuals suffering from obesity are generally individuals having a body mass index (BMI) of at least 25 or greater. Obesity may or may not be associated with insulin resistance.

The terms “parenteral administration” and “administered parenterally” are art-recognized and refer to modes of administration other than enteral and topical administration, usually by injection, and includes, without limitation, intravenous, intramuscular, intraarterial, intrathecal, intracapsular, intraorbital, intracardiac, intradermal, intraperitoneal, transtracheal, subcutaneous, subcuticular, intra-articular, subcapsular, subarachnoid, intraspinal, and intrasternal injection and infusion.

A “patient”, “subject”, “individual” or “host” refers to either a human or a non-human animal.

The term “pharmaceutically acceptable carrier” is art-recognized and refers to a pharmaceutically-acceptable material, composition or vehicle, such as a liquid or solid filler, diluent, excipient, solvent or encapsulating material, involved in carrying or transporting any subject composition or component thereof. Each carrier must be “acceptable” in the sense of being compatible with the subject composition and its components and not injurious to the patient. Some examples of materials which may serve as pharmaceutically acceptable carriers include: (1) sugars, such as lactose, glucose and sucrose; (2) starches, such as corn starch and potato starch; (3) cellulose, and its derivatives, such as sodium carboxymethyl cellulose, ethyl cellulose and cellulose acetate; (4) powdered tragacanth; (5) malt; (6) gelatin; (7) talc; (8) excipients, such as cocoa butter and suppository waxes; (9) oils, such as peanut oil, cottonseed oil, safflower oil, sesame oil, olive oil, corn oil and soybean oil; (10) glycols, such as propylene glycol; (11) polyols, such as glycerin, sorbitol, mannitol and polyethylene glycol; (12) esters, such as ethyl oleate and ethyl laurate; (13) agar; (14) buffering agents, such as magnesium hydroxide and aluminum hydroxide; (15) alginic acid; (16) pyrogen-free water; (17) isotonic saline; (18) Ringer’s solution; (19) ethyl alcohol; (20) phosphate buffer solutions; and (21) other non-toxic compatible substances employed in pharmaceutical formulations.

The term “prophylactic” or “therapeutic” treatment is art-recognized and refers to administration of a drug to a host. If it is administered prior to clinical

manifestation of the unwanted condition (e.g., disease or other unwanted state of the host animal) then the treatment is prophylactic, i.e., it protects the host against developing the unwanted condition, whereas if administered after manifestation of the unwanted condition, the treatment is therapeutic (i.e., it is intended to diminish, ameliorate or maintain the existing unwanted condition or side effects therefrom).

The term "pyrogen-free", with reference to a composition, refers to a composition that does not contain a pyrogen in an amount that would lead to an adverse effect (e.g., irritation, fever, inflammation, diarrhea, respiratory distress, endotoxic shock, etc.) in a subject to which the composition has been administered.

For example, the term is meant to encompass compositions that are free of, or substantially free of, an endotoxin such as, for example, a lipopolysaccharide (LPS).

"Replicative lifespan" of a cell refers to the number of daughter cells produced by an individual "mother cell." "Chronological aging" or "chronological lifespan," on the other hand, refers to the length of time a population of non-dividing cells remains viable when deprived of nutrients. "Increasing the lifespan of a cell" or "extending the lifespan of a cell," as applied to cells or organisms, refers to increasing the number of daughter cells produced by one cell; increasing the ability of cells or organisms to cope with stresses and combat damage, e.g., to DNA, proteins; and/or increasing the ability of cells or organisms to survive and exist in a living state for longer under a particular condition, e.g., stress-(for example, heatshock, osmotic stress, high energy radiation, chemically-induced stress, DNA damage, inadequate salt level, inadequate nitrogen level, or inadequate nutrient level). Lifespan can be increased by at least about 20%, 30%, 40%, 50%, 60% or between 20% and 70%, 30% and 60%, 40% and 60% or more using methods described herein.

"Sirtuin-activating compound" refers to a compound that increases the level of a sirtuin protein and/or increases at least one activity of a sirtuin protein. In an exemplary embodiment, a sirtuin-activating compound may increase at least one biological activity of a sirtuin protein by at least about 10%, 25%, 50%, 75%, 100%, or more. Exemplary biological activities of sirtuin proteins include deacetylation, e.g., of histones and p53; extending lifespan; increasing genomic

stability; silencing transcription; and controlling the segregation of oxidized proteins between mother and daughter cells.

“Sirtuin-inhibiting compound” refers to a compound that decreases the level of a sirtuin protein and/or decreases at least one activity of a sirtuin protein. In an exemplary embodiment, a sirtuin-inhibiting compound may decrease at least one biological activity of a sirtuin protein by at least about 10%, 25%, 50%, 75%, 100%, or more. Exemplary biological activities of sirtuin proteins include deacetylation, e.g., of histones and p53; extending lifespan; increasing genomic stability; silencing transcription; and controlling the segregation of oxidized proteins between mother and daughter cells.

“Sirtuin-modulating compound” refers to a compound of Structural Formulas (I)-(VI) as described herein. In exemplary embodiments, a sirtuin-modulating compound may either up regulate (e.g., activate or stimulate), down regulate (e.g., inhibit or suppress) or otherwise change a functional property or biological activity of a sirtuin protein. Sirtuin-modulating compounds may act to modulate a sirtuin protein either directly or indirectly. In certain embodiments, a sirtuin-modulating compound may be a sirtuin-activating compound or a sirtuin-inhibiting compound.

“Sirtuin protein” refers to a member of the sirtuin deacetylase protein family, or preferably to the sir2 family, which include yeast Sir2 (GenBank Accession No. P53685), *C. elegans* Sir-2.1 (GenBank Accession No. NP_501912), and human SIRT1 (GenBank Accession No. NM_012238 and NP_036370 (or AF083106)) and SIRT2 (GenBank Accession No. NM_012237, NM_030593, NP_036369, NP_085096, and AF083107) proteins. Other family members include the four additional yeast Sir2-like genes termed “HST genes” (homologues of Sir two) HST1, HST2, HST3 and HST4, and the five other human homologues hSIRT3, hSIRT4, hSIRT5, hSIRT6 and hSIRT7 (Brachmann et al. (1995) *Genes Dev.* 9:2888 and Frye et al. (1999) *BBRC* 260:273). Preferred sirtuins are those that share more similarities with SIRT1, i.e., hSIRT1, and/or Sir2 than with SIRT2, such as those members having at least part of the N-terminal sequence present in SIRT1 and absent in SIRT2 such as SIRT3 has.

“SIRT1 protein” refers to a member of the sir2 family of sirtuin deacetylases. In one embodiment, a SIRT1 protein includes yeast Sir2 (GenBank Accession No. P53685), *C. elegans* Sir-2.1 (GenBank Accession No. NP_501912), human SIRT1 (GenBank Accession No. NM_012238 or NP_036370 (or AF083106)), and human

5 SIRT2 (GenBank Accession No. NM_012237, NM_030593, NP_036369, NP_085096, or AF083107) proteins, and equivalents and fragments thereof. In another embodiment, a SIRT1 protein includes a polypeptide comprising a sequence consisting of, or consisting essentially of, the amino acid sequence set forth in GenBank Accession Nos. NP_036370, NP_501912, NP_085096, NP_036369, or

10 P53685. SIRT1 proteins include polypeptides comprising all or a portion of the amino acid sequence set forth in GenBank Accession Nos. NP_036370, NP_501912, NP_085096, NP_036369, or P53685; the amino acid sequence set forth in GenBank Accession Nos. NP_036370, NP_501912, NP_085096, NP_036369, or P53685 with 1 to about 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 50, 75 or more conservative amino acid

15 substitutions; an amino acid sequence that is at least 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to GenBank Accession Nos. NP_036370, NP_501912, NP_085096, NP_036369, or P53685, and functional fragments thereof. Polypeptides of the invention also include homologs (e.g., orthologs and paralogs), variants, or fragments, of GenBank Accession Nos. NP_036370, NP_501912,

20 NP_085096, NP_036369, or P53685.

“SIRT3 protein” refers to a member of the sirtuin deacetylase protein family and/or to a homolog of a SIRT1 protein. In one embodiment, a SIRT3 protein includes human SIRT3 (GenBank Accession No. AAH01042, NP_036371, or NP_001017524) and mouse SIRT3 (GenBank Accession No. NP_071878) proteins,

25 and equivalents and fragments thereof. In another embodiment, a SIRT3 protein includes a polypeptide comprising a sequence consisting of, or consisting essentially of, the amino acid sequence set forth in GenBank Accession Nos. AAH01042, NP_036371, NP_001017524, or NP_071878. SIRT3 proteins include polypeptides comprising all or a portion of the amino acid sequence set forth in GenBank

30 Accession AAH01042, NP_036371, NP_001017524, or NP_071878; the amino acid sequence set forth in GenBank Accession Nos. AAH01042, NP_036371, NP_001017524, or NP_071878 with 1 to about 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 50, 75 or

more conservative amino acid substitutions; an amino acid sequence that is at least 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, or 99% identical to GenBank Accession Nos. AAH01042, NP_036371, NP_001017524, or NP_071878, and functional fragments thereof. Polypeptides of the invention also include homologs (e.g., orthologs and paralog), variants, or fragments, of GenBank Accession Nos. AAH01042, NP_036371, NP_001017524, or NP_071878. In one embodiment, a SIRT3 protein includes a fragment of SIRT3 protein that is produced by cleavage with a mitochondrial matrix processing peptidase (MPP) and/or a mitochondrial intermediate peptidase (MIP).

The terms "systemic administration," "administered systemically," "peripheral administration" and "administered peripherally" are art-recognized and refer to the administration of a subject composition, therapeutic or other material other than directly into the central nervous system, such that it enters the patient's system and, thus, is subject to metabolism and other like processes.

The term "therapeutic agent" is art-recognized and refers to any chemical moiety that is a biologically, physiologically, or pharmacologically active substance that acts locally or systemically in a subject. The term also means any substance intended for use in the diagnosis, cure, mitigation, treatment or prevention of disease or in the enhancement of desirable physical or mental development and/or conditions in an animal or human.

The term "therapeutic effect" is art-recognized and refers to a local or systemic effect in animals, particularly mammals, and more particularly humans caused by a pharmacologically active substance. The phrase "therapeutically-effective amount" means that amount of such a substance that produces some desired local or systemic effect at a reasonable benefit/risk ratio applicable to any treatment. The therapeutically effective amount of such substance will vary depending upon the subject and disease condition being treated, the weight and age of the subject, the severity of the disease condition, the manner of administration and the like, which can readily be determined by one of ordinary skill in the art. For example, certain compositions described herein may be administered in a sufficient amount to produce a desired effect at a reasonable benefit/risk ratio applicable to such treatment.

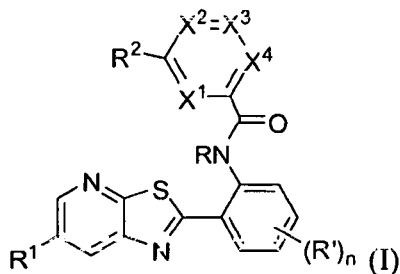
“Treating” a condition or disease refers to curing as well as ameliorating at least one symptom of the condition or disease.

The term “vision impairment” refers to diminished vision, which is often only partially reversible or irreversible upon treatment (e.g., surgery). Particularly severe vision impairment is termed “blindness” or “vision loss”, which refers to a complete loss of vision, vision worse than 20/200 that cannot be improved with corrective lenses, or a visual field of less than 20 degrees diameter (10 degrees radius).

2. Sirtuin Modulators

In one aspect, the invention provides novel sirtuin-modulating compounds for treating and/or preventing a wide variety of diseases and disorders including, for example, diseases or disorders related to aging or stress, diabetes, obesity, neurodegenerative diseases, ocular diseases and disorders, cardiovascular disease, blood clotting disorders, inflammation, cancer, and/or flushing, etc. Sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may also be used for treating a disease or disorder in a subject that would benefit from increased mitochondrial activity, for enhancing muscle performance, for increasing muscle ATP levels, or for treating or preventing muscle tissue damage associated with hypoxia or ischemia. Other compounds disclosed herein may be suitable for use in a pharmaceutical composition and/or one or more methods disclosed herein.

In one embodiment, sirtuin-modulating compounds of the invention are represented by Structural Formula (I):



or a salt thereof, wherein:

two of X^1 to X^4 are selected from $-CR^*$ - and $-N-$;

the other two of X^1 to X^4 are $-CR^*$ -;

R^1 is a solubilizing group;

R^2 is a phenyl group optionally substituted with a lower alkyl, lower alkoxy,
 5 halogen, nitrile or $-CF_3$, or R^2 is a 5- to 6-membered heterocycle containing an N
 heteroatom and, optionally, a second heteroatom selected from N, O or S, wherein
 said heterocycle is optionally substituted with methyl or a halogen;

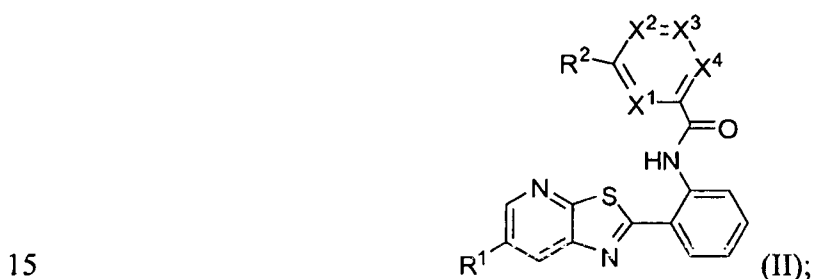
R^* is independently selected at each occurrence from $-H$, lower alkyl or
 halogen;

10 R is $-H$ or $-CH_3$;

R' is $-CH_3$ or a halogen; and

n is an integer from 0-4.

Typically, R is $-H$ and n is 0, such that compounds of Structural Formula (I)
 are represented by Structural Formula (II):



or a salt thereof.

Preferred values in compounds of Structural Formula (I) and (II) are as
 follows:

two of X^1 to X^4 are selected from $-CR^*$ - and $-N-$;

20 the other two of X^1 to X^4 are $-CR^*$ -;

R^* is independently selected at each occurrence from $-H$, lower alkyl or
 halogen;

R^1 is a solubilizing group; and

R^2 is selected from phenyl optionally substituted with one or more
 25 substituents independently selected from $-CN$, $-F$, $-Cl$ and $-CF_3$, and when each of
 of X^1 to X^4 is $-CR^*$ -, R^2 is additionally selected from a 5- to 6-membered
 heterocycle containing an N heteroatom and, optionally, a second heteroatom

selected from N, O or S, wherein said heterocycle is optionally substituted with methyl.

In certain embodiments, each of X^1 to X^4 is $-CR^*$. In other embodiments, one of X^1 to X^4 is $-N-$ and the remainder are $-CR^*$. In certain embodiments, two of X^1 to X^4 are $-N-$ and the remainder are $-CR^*$. In certain embodiments, wherein two of X^1 to X^4 are $-N-$, X^1 and X^2 are $-N-$. In certain embodiments, wherein two of X^1 to X^4 are $-N-$, X^1 and X^4 are $-N-$. In certain embodiments, when one of X^1 to X^4 is $-N-$, X^1 is $-N-$. In certain embodiments, R^* is H.

In certain embodiments, such as when each of X^1 to X^4 is $-CR^*$, R^2 is selected from phenyl, fluorophenyl, difluorophenyl, chlorophenyl, methylthiazolyl, pyrimidinyl, pyridyl and pyrazolyl. In certain such embodiments, R^2 is selected from phenyl, fluorophenyl, difluorophenyl, chlorophenyl, 2-methylthiazol-4-yl, pyridyl and pyrazol-1-yl. Preferably, R^2 is phenyl or pyridyl.

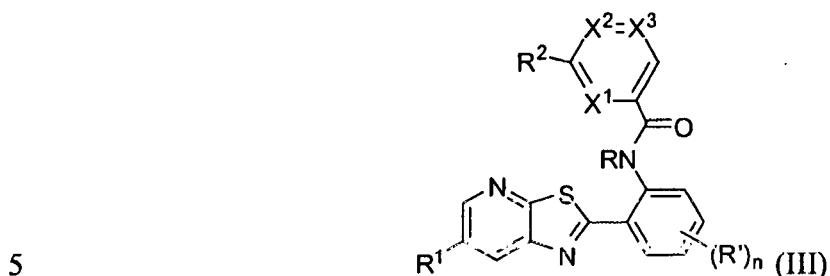
In certain embodiments, R^1 is $-CH_2-R^3$ and R^3 is a nitrogen-containing heterocycle optionally substituted with one or more substituents selected from C_1 - C_4 alkyl, amino, halogen, methoxy and methoxy- C_1 - C_4 -alkyl. In these embodiments, X^1 to X^4 and R^2 can have any of the values described above. In certain such embodiments, R^2 is phenyl, pyridyl or 3-fluorophenyl; X^2 and X^3 are $-CR^*$ and X^1 and X^4 are independently selected from $-CR^*$ or $-N-$; or both.

In certain embodiments, R^1 is $-CH_2-R^3$; and R^3 is selected from piperazin-1-yl, 4-(methoxyethyl-piperazin-1-yl, 3,5-dimethylpiperazin-1-yl, morpholin-4-yl, piperidin-1-yl, 4-aminopiperidin-1-yl, pyrrolidin-1-yl, 3-fluoropyrrolidin-1-yl, -NH-(pyrrolidin-3-yl), and 1,4-diaza-bicyclo[2.2.1]heptan-1-yl. In these embodiments, X^1 to X^4 and R^2 can have any of the values described above, but typically R^2 is phenyl, pyridyl or 3-fluorophenyl; X^2 and X^3 are $-CH-$ and X^1 and X^4 are independently selected from $-CH-$ or $-N-$; or both.

In certain such embodiments, R^3 is selected from 4-(methoxyethyl)-piperazin-1-yl, morpholin-4-yl, piperidin-1-yl and 4-aminopiperidin-1-yl. When R^3 has these values, R^2 is typically phenyl, 3-fluorophenyl or pyridyl. Also, typically X^2 and X^3 are $-CH-$ and X^1 and X^4 are independently selected from $-CH-$ or $-N-$. In particular embodiments, X^1 and X^4 are independently selected from $-CH-$ or $-N-$; X^2 and X^3 are $-CH-$; R^2 is phenyl, 3-fluorophenyl or pyridyl; and R^1 is $-CH_2-R^3$ where

R^3 is selected from 4-(methoxyethyl)-piperazin-1-yl, morpholin-4-yl, piperidin-1-yl and 4-aminopiperidin-1-yl.

In certain embodiment, sirtuin-modulating compounds encompassed by Structural Formula (I) are represented by Structural Formula (III):



or a salt thereof, wherein:

one of X^1 to X^3 is selected from -CH- and -N-;

the other two of X^1 to X^3 are -CH-;

10 R^1 is a solubilizing group;

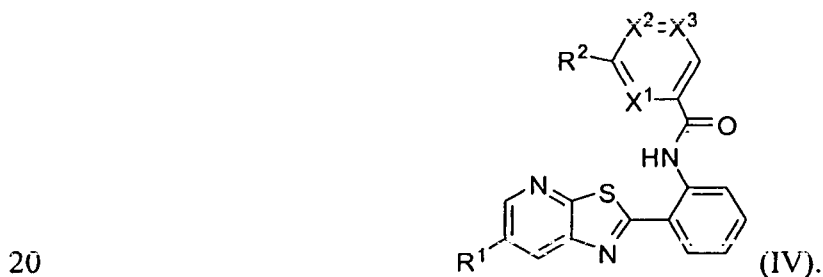
R^2 is a phenyl group optionally substituted with a methyl, halogen or $-CF_3$, or R^2 is a 5- to 6-membered heterocycle containing an N heteroatom and, optionally, a second heteroatom selected from N, O or S, wherein said heterocycle is optionally substituted with methyl or a halogen;

15 R is -H or $-CH_3$;

R' is $-CH_3$ or a halogen; and

n is an integer from 0-4.

Typically, R is -H and n is 0, such that compounds of Structural Formula (III) are represented by Structural Formula (IV):



Preferred values in compounds of Structural Formula (III) and (IV) are as follows:

one of X^1 to X^3 is selected from -CH- and -N-;

the other two of X^1 to X^3 are -CH-;

R^1 is a solubilizing group; and

R^2 is selected from phenyl and fluorophenyl, and, when each of X^1 to X^3 is
 5 -CH-, R^2 is additionally selected from a 5- to 6-membered heterocycle containing an
 N heteroatom and, optionally, a second heteroatom selected from N, O or S, wherein
 said heterocycle is optionally substituted with methyl.

In certain embodiments, each of X^1 to X^3 is -CH-. In other embodiments,
 one of X^1 to X^3 is -N- and the remainder are -CH-. Typically, when one of X^1 to X^3
 10 is -N-, X^1 is -N-.

In certain embodiments, such as when each of X^1 to X^3 is -CH-, R^2 is is
 selected from phenyl, fluorophenyl, methylthiazolyl, pyrimidinyl, pyridyl and
 pyrazolyl. In certain such embodiments, R^2 is selected from phenyl, fluorophenyl,
 2-methylthiazol-4-yl, pyridyl and pyrazol-1-yl. Preferably, R^2 is phenyl or pyridyl.

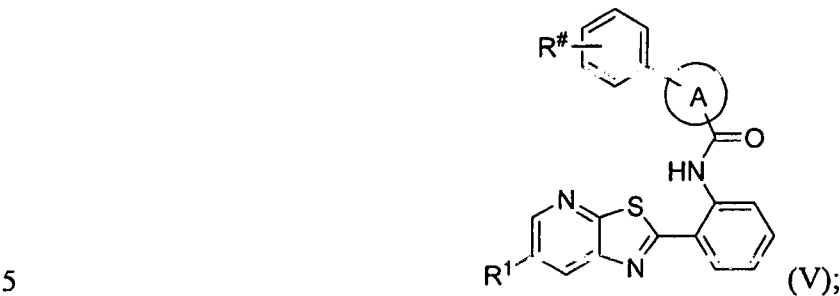
15 In certain embodiments, R^1 is -CH₂- R^3 and R^3 is a nitrogen-containing
 heterocycle optionally substituted with one or more substituents selected from C₁-C₄
 alkyl, amino, halogen, methoxy and methoxy-C₁-C₄-alkyl. In these embodiments,
 X^1 to X^3 and R^2 can have any of the values described above. In certain such
 embodiments, R^2 is phenyl, pyridyl or 3-fluorophenyl; X^2 and X^3 are -CH- and X^1 is
 20 -CH- or -N-; or both.

In certain embodiments, R^1 is -CH₂- R^3 ; and R^3 is selected from piperazin-1-
 yl, 4-(methoxyethyl)-piperazin-1-yl, 3,5-dimethylpiperazin-1-yl, morpholin-4-yl,
 piperidin-1-yl, 4-aminopiperidin-1-yl, pyrrolidin-1-yl, 3-fluoropyrrolidin-1-yl,
 -NH-(pyrrolidin-3-yl), and 1,4-diaza-bicyclo[2.2.1]heptan-1-yl. In these
 25 embodiments, X^1 to X^3 and R^2 can have any of the values described above, but
 typically R^2 is phenyl, pyridyl or 3-fluorophenyl; X^2 and X^3 are -CH- and X^1 is -
 CH- or -N-; or both.

In certain such embodiments, R^3 is selected from 4-(methoxyethyl)-
 piperazin-1-yl, morpholin-4-yl, piperidin-1-yl and 4-aminopiperidin-1-yl. When R^3
 30 has these values, R^2 is typically phenyl, 3-fluorophenyl or pyridyl. Also, typically
 X^2 and X^3 are -CH- and X^1 is -CH- or -N-. In particular embodiments, X^1 is -CH-
 or -N-; X^2 and X^3 are -CH-; R^2 is phenyl, 3-fluorophenyl or pyridyl; and R^1 is -

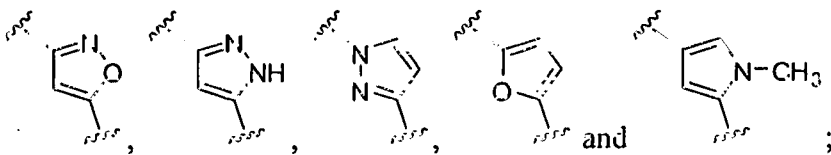
CH₂-R³ where R³ is selected from 4-(methoxyethyl)-piperazin-1-yl, morpholin-4-yl, piperidin-1-yl and 4-aminopiperidin-1-yl.

In another embodiment, sirtuin-modulating compounds of the invention are represented by Structural Formula (V):



or a salt thereof, wherein:

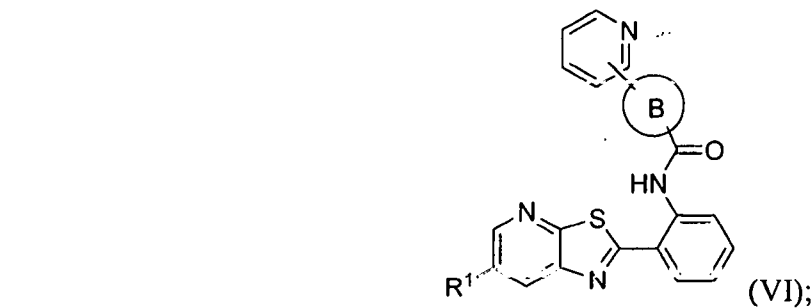
ring A is selected from:



R¹ is a solubilizing group; and

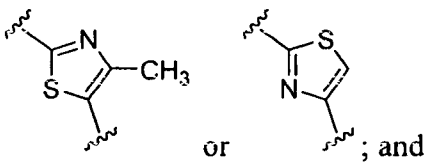
10 R[#] is a -H or -O-CH₃.

In yet another embodiment, sirtuin-modulating compounds of the invention are represented by Structural Formula (VI):



15 or a salt thereof, wherein:

ring B is selected from:



R¹ is a solubilizing group.

Preferred solubilizing groups for Structural Formula (V)-(VI) are the same as for Structural Formulas (I)-(IV) as described above.

Compounds of the invention, including novel compounds of the invention, can also be used in the methods described herein.

- 5 Sirtuin-modulating compounds of the invention advantageously modulate the level and/or activity of a sirtuin protein, particularly the deacetylase activity of the sirtuin protein.

Separately or in addition to the above properties, certain sirtuin-modulating compounds of the invention do not substantially have one or more of the following
10 activities: inhibition of PI3-kinase, inhibition of aldoreductase, inhibition of tyrosine kinase, transactivation of EGFR tyrosine kinase, coronary dilation, or spasmolytic activity, at concentrations of the compound that are effective for modulating the deacetylation activity of a sirtuin protein (e.g., such as a SIRT1 and/or a SIRT3 protein).

- 15 An alkyl group is a straight chained, branched or cyclic non-aromatic hydrocarbon which is completely saturated. Typically, a straight chained or branched alkyl group has from 1 to about 20 carbon atoms, preferably from 1 to about 10, and a cyclic alkyl group has from 3 to about 10 carbon atoms, preferably from 3 to about 8. Examples of straight chained and branched alkyl groups include
20 methyl, ethyl, n-propyl, iso-propyl, n-butyl, sec-butyl, tert-butyl, pentyl, hexyl, pentyl and octyl. A C1-C4 straight chained or branched alkyl group is also referred to as a "lower alkyl" group.

Aromatic (aryl) groups include carbocyclic aromatic groups such as phenyl, naphthyl, and anthracyl, and heteroaryl groups such as imidazolyl, thienyl, furyl,
25 pyridyl, pyrimidyl, pyranyl, pyrazolyl, pyrrolyl, pyrazinyl, thiazolyl, oxazolyl, and tetrazolyl.

Aromatic groups also include fused polycyclic aromatic ring systems in which a carbocyclic aromatic ring or heteroaryl ring is fused to one or more other heteroaryl rings. Examples include benzothienyl, benzofuryl, indolyl, quinolinyl,
30 benzothiazole, benzoxazole, benzimidazole, quinolinyl, isoquinolinyl and isoindolyl.

Suitable substituents on an alkyl or aryl group (carbocyclic and heteroaryl) are those which do not substantially interfere with the ability of the disclosed

compounds to have one or more of the properties disclosed herein. A substituent substantially interferes with the properties of a compound when the magnitude of the property is reduced by more than about 50% in a compound with the substituent compared with a compound without the substituent. Examples of suitable

- 5 substituents include -OH, halogen (-Br, -Cl, -I and -F), -OR^a, -O-COR^a, -COR^a, -C(O)R^a, -CN, -NO², -COOH, -COOR^a, -OCO₂R^a, -C(O)NR^aR^b, -OC(O)NR^aR^b, -SO₃H, -NH₂, -NHR^a, -N(R^aR^b), -COOR^a, -CHO, -CONH₂, -CONHR^a, -CON(R^aR^b), -NHCOR^a, -NRCOR^a, -NHCONH₂, -NHCONR^aH, -NHCON(R^aR^b), -NR^cCONH₂, -NR^cCONR^aH, -NR^cCON(R^aR^b), -C(=NH)-NH₂, -C(=NH)-NHR^a, -C(=NH)-N(R^aR^b), -C(=NR^c)-NH₂, -C(=NR^c)-NHR^a, -C(=NR^c)-N(R^aR^b), -NH-C(=NH)-NH₂, -NH-C(=NH)-NHR^a, -NH-C(=NH)-N(R^aR^b), -NH-C(=NR^c)-NH₂, -NH-C(=NR^c)-NHR^a, -NH-C(=NR^c)-N(R^aR^b), -NR^dH-C(=NH)-NH₂, -NR^d-C(=NH)-NHR^a, -NR^d-C(=NH)-N(R^aR^b), -NR^d-C(=NR^c)-NH₂, -NR^d-C(=NR^c)-NHR^a, -NR^d-C(=NR^c)-N(R^aR^b), -NHNH₂, -NHNHR^a, -NHR^aR^b, -SO₂NH₂, -SO₂NHR^a, -SO₂NR^aR^b, -CH=CHR^a, -CH=CR^aR^b, -CR^c=CR^aR^b, CR^c=CHR^a, -CR^c=CR^aR^b, -CCR^a, -SH, -SO_kR^a (k is 0, 1 or 2), -S(O)_kOR^a (k is 0, 1 or 2) and -NH-C(=NH)-NH₂. R^a-R^d are each independently an optionally substituted group selected from an aliphatic, benzyl, or aromatic group, preferably an alkyl, benzylic or aryl group. Optional substituents on R^a-R^d are selected from NH₂, NH(C₁₋₄aliphatic), N(C₁₋₄aliphatic)₂, halogen, C₁₋₄aliphatic, OH, O(C₁₋₄aliphatic), NO₂, CN, CO₂H, CO₂(C₁₋₄aliphatic), O(haloC₁₋₄aliphatic), or haloC₁₋₄aliphatic, wherein each of the foregoing C₁₋₄aliphatic groups of is unsubstituted. In addition, -NR^aR^b, taken together, can also form a substituted or unsubstituted non-aromatic heterocyclic group. A substituted aliphatic or substituted aryl group can have more than one substituent.

- 25 Typical substituents on an aryl ring are selected from a solubilizing group, halogen; -R^o; -OR^o; -SR^o; 1,2-methylenedioxy; 1,2-ethylenedioxy; phenyl (Ph) optionally substituted with R^o; -O(Ph) optionally substituted with R^o; -(CH₂)₁₋₃(Ph), optionally substituted with R^o; -CH=CH(Ph), optionally substituted with R^o; -NO₂; -CN; -N(R^o)₂; -C(O)C(O)R^o; -C(O)CH₂C(O)R^o; -CO₂R^o; -C(O)R^o; -S(O)₂R^o; -SO₂N(R^o)₂; -S(O)R^o; -NR^oSO₂N(R^o)₂; -NR^oSO₂R^o; -C(=S)N(R^o)₂; or -C(=NH)-N(R^o)₂; or wherein each independent occurrence of R^o is selected from hydrogen,

optionally substituted C₁₋₆ aliphatic, an unsubstituted 5-6 membered heteroaryl or heterocyclic ring, phenyl, -O(Ph), or -CH₂(Ph), or, notwithstanding the definition above, two independent occurrences of R^o, on the same substituent or different substituents, taken together with the atom(s) to which each R^o group is bound, form
 5 a 3-8-membered cycloalkyl, heterocyclyl, aryl, or heteroaryl ring having 0-3 heteroatoms independently selected from nitrogen, oxygen, or sulfur. Optional substituents on the aliphatic group of R^o are selected from NH₂, NH(C₁₋₄aliphatic), N(C₁₋₄aliphatic)₂, halogen, C₁₋₄aliphatic, OH, O(C₁₋₄aliphatic), NO₂, CN, CO₂H, CO₂(C₁₋₄aliphatic), O(haloC₁₋₄ aliphatic), or haloC₁₋₄aliphatic, wherein each of the
 10 foregoing C₁₋₄aliphatic groups of R^o is unsubstituted

Combinations of substituents and variables envisioned by this invention are only those that result in the formation of stable compounds. As used herein, the term "stable" refers to compounds that possess stability sufficient to allow manufacture and that maintain the integrity of the compound for a sufficient period
 15 of time to be useful for the purposes detailed herein.

As used herein, a "solubilizing group" is a moiety that has hydrophilic character sufficient to improve or increase the water-solubility of the compound in which it is included, as compared to an analog compound that does not include the group. The hydrophilic character can be achieved by any means, such as by the
 20 inclusion of functional groups that ionize under the conditions of use to form charged moieties (e.g., carboxylic acids, sulfonic acids, phosphoric acids, amines, etc.); groups that include permanent charges (e.g., quaternary ammonium groups); and/or heteroatoms or heteroatomic groups (e.g., O, S, N, NH, N-(CH₂)_y-R^a, N-(CH₂)_y-C(O)R^a, N-(CH₂)_y-C(O)OR^a, N-(CH₂)_y-S(O)₂R^a, N-(CH₂)_y-S(O)₂OR^a,
 25 N-(CH₂)_y-C(O)NR^aR^a, etc., wherein R^a is selected from hydrogen, lower alkyl, lower cycloalkyl, (C6-C14) aryl, phenyl, naphthyl, (C7-C20) arylalkyl and benzyl, wherein R^a is optionally substituted; and y is an integer ranging from 0 to 6), optionally substituted heterocyclic groups (e.g., -(CH₂)_n-R^b, -(CH₂)_n-C(O)-R^b, -(CH₂)_n-O-(CH₂)_n-R^b, wherein R^b is selected from an optionally substituted saturated
 30 monocyclic heterocycle, an optionally substituted saturated bicyclic fused heterocycle, an optionally substituted saturated bicyclic spiro heterocycle, an

- optionally substituted heteroaryl and an optionally substituted partially substituted non-aryl heterocycle; and n is an integer ranging from 0 to 2). It should be understood that substituents present on R^a or R^b need not improve or increase water solubility over their unsubstituted counterparts to be within the scope of this
- 5 definition. All that is required is that such substituents do not significantly reverse the improvement in water-solubility afforded by the unsubstituted R^a or R^b moiety.

In one embodiment, the solubilizing group increases the water-solubility of the corresponding compound lacking the solubilizing group at least 5-fold, preferably at least 10-fold, more preferably at least 20-fold and most preferably at

10 least 50-fold.

In one preferred embodiment, the solubilizing group is a moiety of the formula:

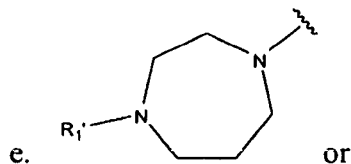
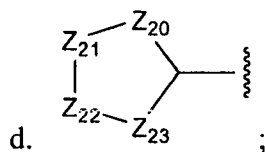
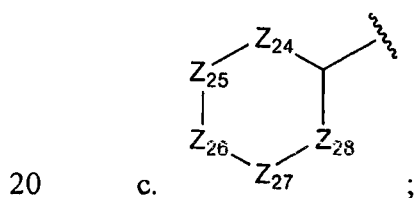
$-(CH_2)_n-R^{100}-N(R^{101})(R^{101})$, wherein:

n is selected from 0, 1 or 2;

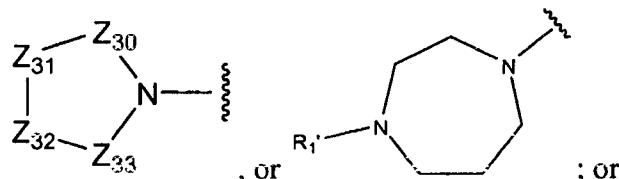
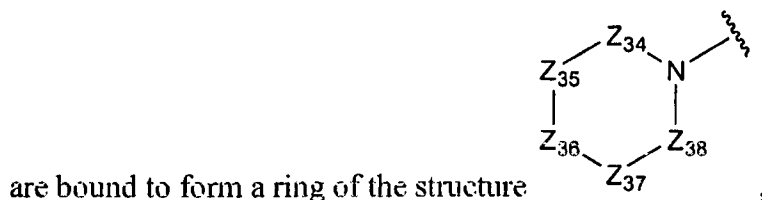
- 15 R¹⁰⁰ is selected from a bond, -C(O)-, or -O(CH₂)_n; and

each R¹⁰¹ is independently selected from:

- hydrogen;
- C₁-C₄ straight or branched alkyl, wherein said alkyl is optionally substituted with halo, CN, OH, O-(C₁-C₄ straight or branched alkyl), N(R₁')(R₁''), or =O;



f. both R^{101} moieties are taken together with the nitrogen atom to which they



g. both R^{101} moieties are taken together with the nitrogen atom to which they
 5 are bound to form a 5-membered heteroaryl ring containing 1 to 3 additional
 N atoms, wherein said heteroaryl ring is optionally substituted with R_1' ;

wherein:

each Z is independently selected from -O-, -S-, -NR_{1'}-, or -C(R⁵⁰)(R⁵⁰)-,

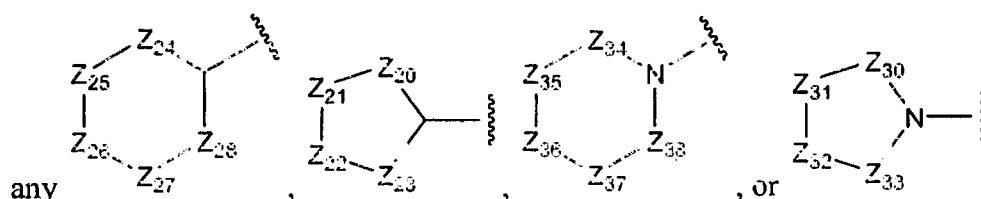
wherein:

- 10 at least three of Z₂₀, Z₂₁, Z₂₂, and Z₂₃ are -C(R⁵⁰)(R⁵⁰)-;
 at least three of Z₂₄, Z₂₅, Z₂₆, Z₂₇, and Z₂₈ are -C(R⁵⁰)(R⁵⁰)-;
 at least four of Z₃₀, Z₃₁, Z₃₂, and Z₃₃ are -C(R⁵⁰)(R⁵⁰)-; and
 at least four of Z₃₄, Z₃₅, Z₃₆, Z₃₇, and Z₃₈ are -C(R⁵⁰)(R⁵⁰)-;

- each R_{1'} is independently selected from hydrogen or a C₁-C₃ straight or
 15 branched alkyl optionally substituted with one or more substituent independently
 selected from halo, -CN, -OH, -OCH₃, -NH₂, -NH(CH₃), -N(CH₃)₂, or =O;

each R⁵⁰ is independently selected from R_{1'}, halo, CN, OH, O-(C₁-C₄ straight
 or branched alkyl), N(R_{1'})(R_{1'}), =CR_{1'}, SR_{1'}, =NR_{1'}, =NOR_{1'}, or =O;

- any two suitable non-cyclic R⁵⁰ are optionally bound to one another directly
 20 or via a C₁ to C₂ alkylene, alkenylene or alkanediylidene bridge to produce a
 bicyclic fused or spiro ring; and



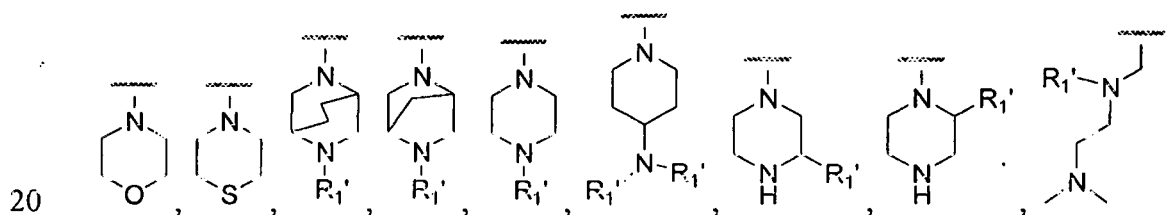
ring structure is optionally benzofused or fused to a monocyclic heteroaryl to produce a bicyclic ring.

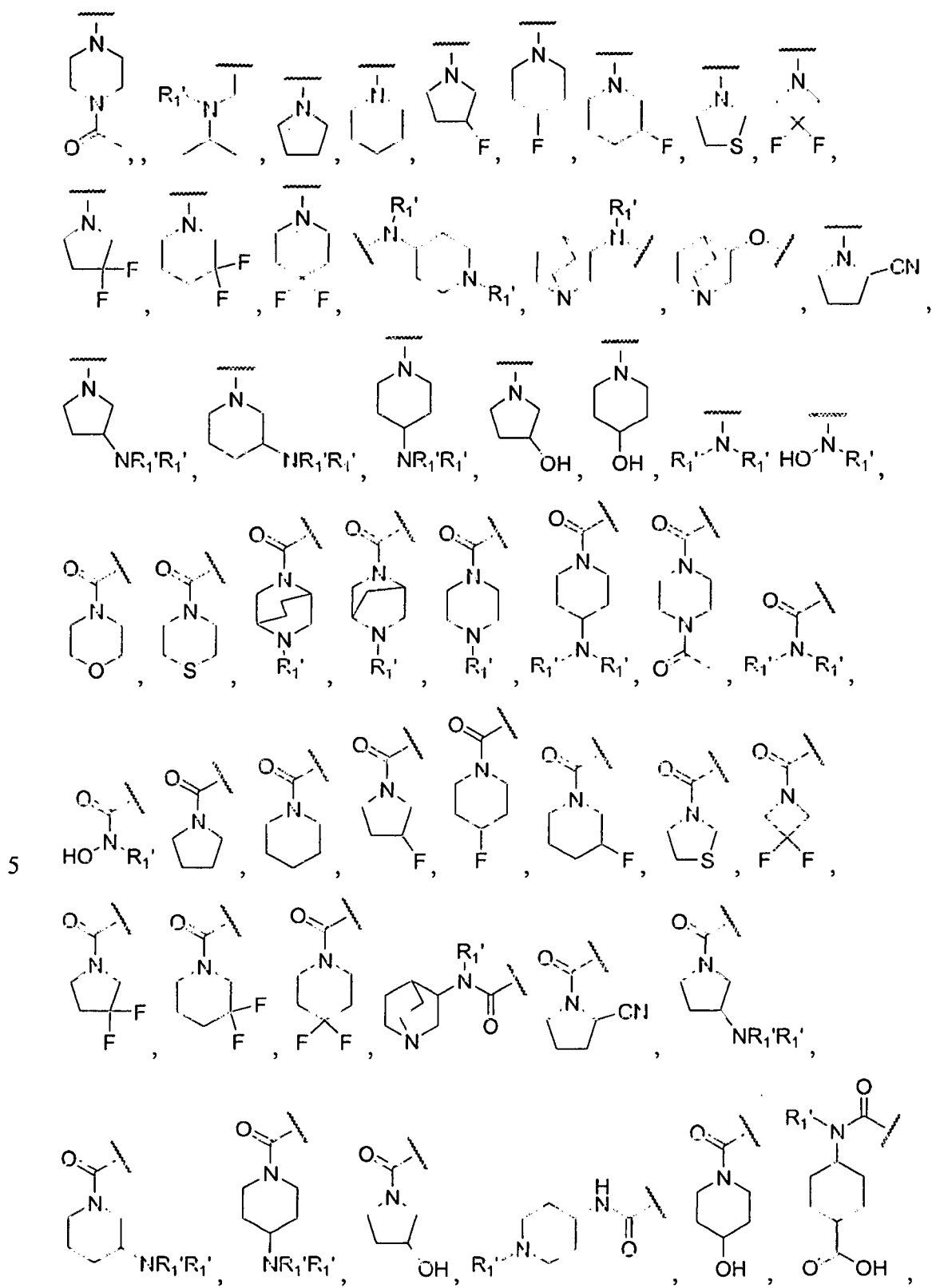
For clarity, the term “C₁ to C₂ alkylene, alkenylene or alkanediylidene bridge” means the multivalent structures -CH₂-, -CH₂-CH₂-, -CH=, =CH-, -CH=CH-, or =CH-CH=. The two R⁵⁰ moieties that are optionally bound to one another can be either on the same carbon atom or different carbon atoms. The former produces a spiro bicyclic ring, while the latter produces a fused bicyclic ring. It will be obvious to those of skill in the art that when two R⁵⁰ are bound to one another to form a ring (whether directly or through one of the recited bridges), one or more terminal hydrogen atoms on each R⁵⁰ will be lost. Accordingly, a “suitable non-cyclic R⁵⁰” moiety available for forming a ring is a non-cyclic R⁵⁰ that comprises at least one terminal hydrogen atom.

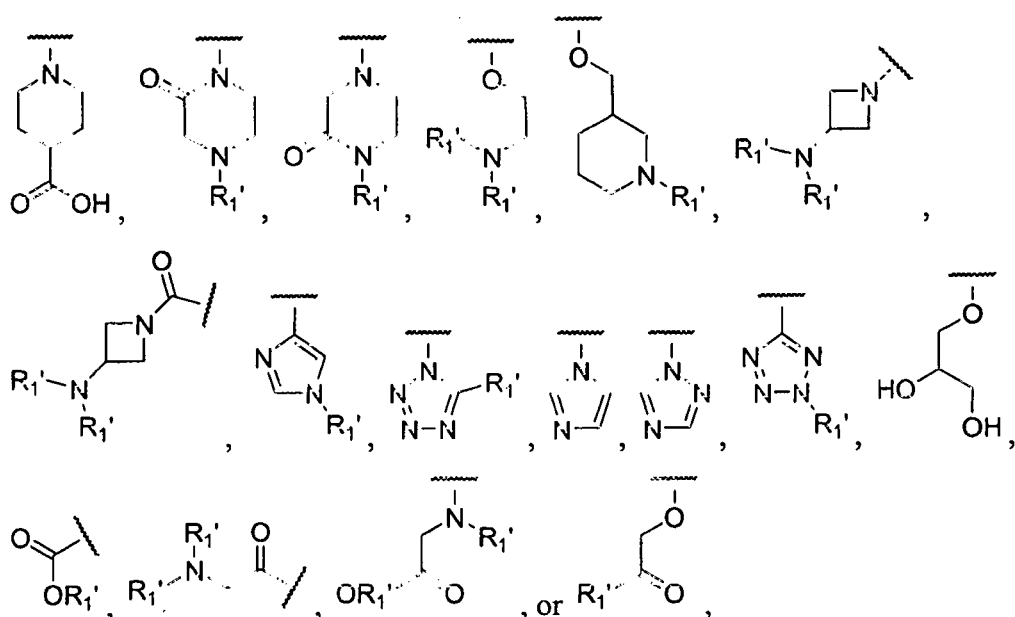
In another embodiment, the solubilizing group is a moiety of the formula: -(CH₂)_n-O-R¹⁰¹, wherein n and R¹⁰¹ are as defined above.

In yet another embodiment, the solubilizing group is a moiety of the formula: -(CH₂)_n-C(O)-R₁', wherein n and R₁' are as defined above.

In certain embodiments, a solubilizing group is selected from -(CH₂)_n-R¹⁰², wherein n is 0, 1 or 2, preferably 2; and R¹⁰² is selected from







wherein R_1' groups are as defined above.

- 5 In certain particular embodiments, a solubilizing group is selected from 2-dimethylaminoethylcarbamoyl, piperazin-1-ylcarbonyl, piperazinylmethyl, dimethylaminomethyl, 4-methylpiperazin-1-ylmethyl, 4-aminopiperidin-1-ylmethyl, 4-fluoropiperidin-1-ylmethyl, morpholinomethyl, pyrrolidin-1-ylmethyl, 2-oxo-4-benzylpiperazin-1-ylmethyl, 4-benzylpiperazin-1-ylmethyl, 3-oxopiperazin-1-ylmethyl, piperidin-1-ylmethyl, piperazin-1-ylethyl, 2,3-dioxopropylaminomethyl, thiazolidin-3-ylmethyl, 4-acetylpiperazin-1-ylmethyl, 4-acetylpiperazin-1-yl, morpholino, 3,3-difluoroazetidin-1-ylmethyl, 2H-tetrazol-5-ylmethyl, thiomorpholin-4-ylmethyl, 1-oxothiomorpholin-4-ylmethyl, 1,1-dioxothiomorpholin-4-ylmethyl, 1H-imidazol-1-ylmethyl, 3,5-dimethylpiperazin-1-ylmethyl, 4-hydroxypiperidin-1-ylmethyl, N-methyl(1-acetylpiperidin-4-yl)-aminomethyl, N-methylquinuclidin-3-ylaminomethyl, 1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl, 1-methylpiperidin-3-yl-oxymethyl, or 4-fluoropiperidin-1-yl.
- 10
- 15

To the extent not included within any of the definitions set forth above, the term "solubilizing group" also includes moieties disclosed as being attached to the 7-position of 1-cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxoquinoline-3-carboxylic acid (ciprofloxacin) and its derivatives, as disclosed in PCT publications WO 2005/026165, WO 2005/049602, and WO 2005/033108, and European Patent publications EP 0343524, EP 0688772, EP 0153163, EP 0159174; as well as "water-

20

solubilizing groups" described in United States patent publication 2006/0035891. The disclosure of each of these patent publications is incorporated herein by reference.

The compounds disclosed herein also include partially and fully deuterated
 5 variants. In certain embodiments, one or more deuterium atoms are present for kinetic studies. One of ordinary skill in the art can select the sites at which such deuterium atoms are present.

Also included in the present invention are salts, particularly pharmaceutically acceptable salts, of the sirtuin-modulating compounds described herein. The
 10 compounds of the present invention that possess a sufficiently acidic, a sufficiently basic, or both functional groups, can react with any of a number of inorganic bases, and inorganic and organic acids, to form a salt. Alternatively, compounds that are inherently charged, such as those with a quaternary nitrogen, can form a salt with an appropriate counterion (e.g., a halide such as bromide, chloride, or fluoride,
 15 particularly bromide).

The compounds and salts thereof described herein also include the hydrates (e.g., hemihydrate, monohydrate, dihydrate, trihydrate, tetrahydrate) and solvates of the compounds and salts thereof. Suitable solvents for preparation of solvates and hydrates can generally be selected by a skilled artisan.

20 The compounds and salts thereof can be present in amorphous or crystalline (including co-crystalline and polymorph) forms.

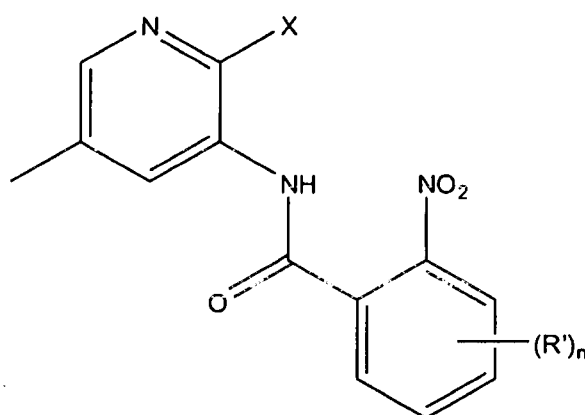
Acids commonly employed to form acid addition salts are inorganic acids such as hydrochloric acid, hydrobromic acid, hydroiodic acid, sulfuric acid, phosphoric acid, and the like, and organic acids such as p-toluenesulfonic acid, methanesulfonic acid, oxalic acid, p-bromophenyl-sulfonic acid, carbonic acid,
 25 succinic acid, citric acid, benzoic acid, acetic acid, and the like. Examples of such salts include the sulfate, pyrosulfate, bisulfate, sulfite, bisulfite, phosphate, monohydrogenphosphate, dihydrogenphosphate, metaphosphate, pyrophosphate, chloride, bromide, iodide, acetate, propionate, decanoate, caprylate, acrylate,
 30 formate, isobutyrate, caproate, heptanoate, propiolate, oxalate, malonate, succinate, suberate, sebacate, fumarate, maleate, butyne-1,4-dioate, hexyne-1,6-dioate, benzoate, chlorobenzoate, methylbenzoate, dinitrobenzoate, hydroxybenzoate,

methoxybenzoate, phthalate, sulfonate, xylenesulfonate, phenylacetate, phenylpropionate, phenylbutyrate, citrate, lactate, gamma-hydroxybutyrate, glycolate, tartrate, methanesulfonate, propanesulfonate, naphthalene-1-sulfonate, naphthalene-2-sulfonate, mandelate, and the like.

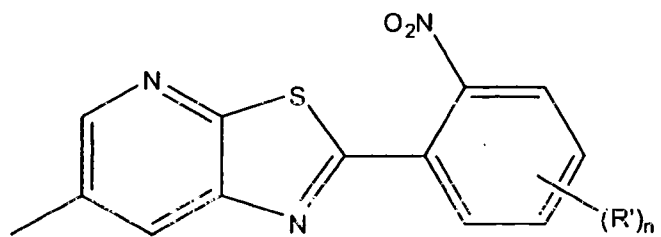
5 Base addition salts include those derived from inorganic bases, such as ammonium or alkali or alkaline earth metal hydroxides, carbonates, bicarbonates, and the like. Such bases useful in preparing the salts of this invention thus include sodium hydroxide, potassium hydroxide, ammonium hydroxide, potassium carbonate, and the like.

10 According to another embodiment, the present invention provides methods of producing the above-defined sirtuin-modulating compounds. The compounds may be synthesized using conventional techniques. Advantageously, these compounds are conveniently synthesized from readily available starting materials.

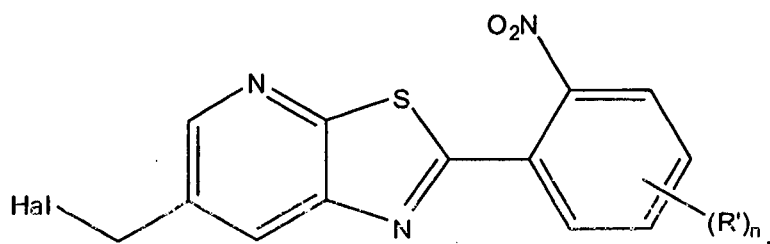
One method of preparing compounds of the invention involves reacting the
15 following compound:



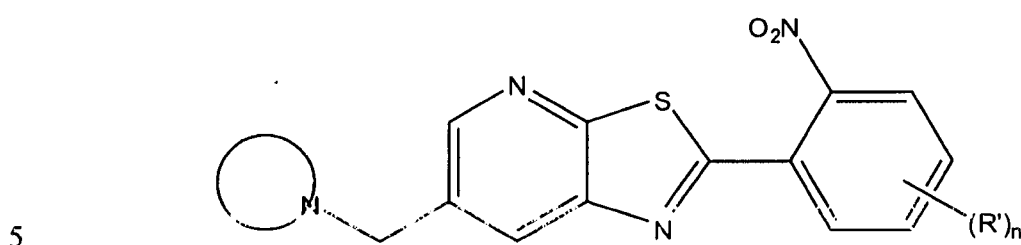
wherein X is a leaving group (e.g., a halogen such as Cl), with a ring-closing agent (e.g., agent) to form the following compound:



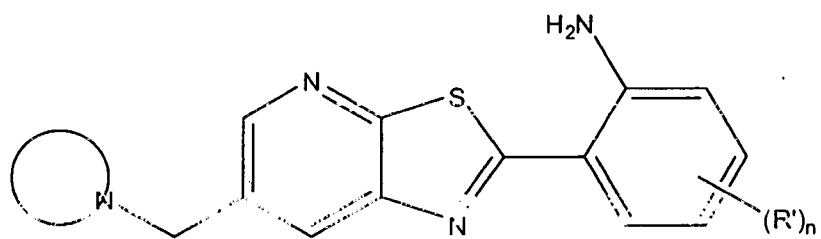
20 This compound is typically chlorinated or brominated (e.g., with N-bromosuccinimide) to form the following compound:



where Hal represents a halogen, although other leaving groups are acceptable. This compound is then reacted with an optionally protected nitrogen-containing heteroring (e.g., an optionally protected R^3 group) to form the following compound:



wherein the nitrogen-containing heteroring is optionally substituted and optionally includes one or more additional heteroatoms. The compound is reduced with an appropriate reducing agent (e.g., iron powder) to form the following compound:



- 10 This compound is subsequently reacted with a R^2 -substituted pyridine carboxylic acid or a R^2 -substituted benzoic acid and, if needed, deprotected, to form a compound of the invention.

Synthetic chemistry transformations and methodologies useful in synthesizing the sirtuin-modulating compounds described herein are known in the art and include, for example, those described in R. Larock, *Comprehensive Organic Transformations* (1989); T. W. Greene and P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2d. Ed. (1991); L. Fieser and M. Fieser, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis* (1994); and L. Paquette, ed., *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis* (1995).

15

In an exemplary embodiment, a sirtuin-modulating compound may traverse the cytoplasmic membrane of a cell. For example, a compound may have a cell-permeability of at least about 20%, 50%, 75%, 80%, 90% or 95%.

Sirtuin-modulating compounds described herein may also have one or more
5 of the following characteristics: the compound may be essentially non-toxic to a cell or subject; the sirtuin-modulating compound may be an organic molecule or a small molecule of 2000 amu or less, 1000 amu or less; a compound may have a half-life under normal atmospheric conditions of at least about 30 days, 60 days, 120 days, 6 months or 1 year; the compound may have a half-life in solution of at
10 least about 30 days, 60 days, 120 days, 6 months or 1 year; a sirtuin-modulating compound may be more stable in solution than resveratrol by at least a factor of about 50%, 2 fold, 5 fold, 10 fold, 30 fold, 50 fold or 100 fold; a sirtuin-modulating compound may promote deacetylation of the DNA repair factor Ku70; a sirtuin-modulating compound may promote deacetylation of RelA/p65; a compound may
15 increase general turnover rates and enhance the sensitivity of cells to TNF-induced apoptosis.

In certain embodiments, a sirtuin-modulating compound does not have any substantial ability to inhibit a histone deacetylase (HDACs) class I, a HDAC class II, or HDACs I and II, at concentrations (e.g., in vivo) effective for modulating the
20 deacetylase activity of the sirtuin. For instance, in preferred embodiments the sirtuin-modulating compound is a sirtuin-activating compound and is chosen to have an EC₅₀ for activating sirtuin deacetylase activity that is at least 5 fold less than the EC₅₀ for inhibition of an HDAC I and/or HDAC II, and even more preferably at least 10 fold, 100 fold or even 1000 fold less. Methods for assaying
25 HDAC I and/or HDAC II activity are well known in the art and kits to perform such assays may be purchased commercially. See e.g., BioVision, Inc. (Mountain View, CA; world wide web at biovision.com) and Thomas Scientific (Swedesboro, NJ; world wide web at tomassei.com).

In certain embodiments, a sirtuin-modulating compound does not have any
30 substantial ability to modulate sirtuin homologs. In one embodiment, an activator of a human sirtuin protein may not have any substantial ability to activate a sirtuin protein from lower eukaryotes, particularly yeast or human pathogens, at

concentrations (e.g., in vivo) effective for activating the deacetylase activity of human sirtuin. For example, a sirtuin-activating compound may be chosen to have an EC_{50} for activating a human sirtuin, such as SIRT1 and/or SIRT3, deacetylase activity that is at least 5 fold less than the EC_{50} for activating a yeast sirtuin, such as Sir2 (such as *Candida*, *S. cerevisiae*, etc.), and even more preferably at least 10 fold, 100 fold or even 1000 fold less. In another embodiment, an inhibitor of a sirtuin protein from lower eukaryotes, particularly yeast or human pathogens, does not have any substantial ability to inhibit a sirtuin protein from humans at concentrations (e.g., in vivo) effective for inhibiting the deacetylase activity of a sirtuin protein from a lower eukaryote. For example, a sirtuin-inhibiting compound may be chosen to have an IC_{50} for inhibiting a human sirtuin, such as SIRT1 and/or SIRT3, deacetylase activity that is at least 5 fold less than the IC_{50} for inhibiting a yeast sirtuin, such as Sir2 (such as *Candida*, *S. cerevisiae*, etc.), and even more preferably at least 10 fold, 100 fold or even 1000 fold less.

15 In certain embodiments, a sirtuin-modulating compound may have the ability to modulate one or more sirtuin protein homologs, such as, for example, one or more of human SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6, or SIRT7. In one embodiment, a sirtuin-modulating compound has the ability to modulate both a SIRT1 and a SIRT3 protein.

20 In other embodiments, a SIRT1 modulator does not have any substantial ability to modulate other sirtuin protein homologs, such as, for example, one or more of human SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6, or SIRT7, at concentrations (e.g., in vivo) effective for modulating the deacetylase activity of human SIRT1. For example, a sirtuin-modulating compound may be chosen to have an ED_{50} for modulating human SIRT1 deacetylase activity that is at least 5 fold less than the ED_{50} for modulating one or more of human SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6, or SIRT7, and even more preferably at least 10 fold, 100 fold or even 1000 fold less. In one embodiment, a SIRT1 modulator does not have any substantial ability to modulate a SIRT3 protein.

30 In other embodiments, a SIRT3 modulator does not have any substantial ability to modulate other sirtuin protein homologs, such as, for example, one or more of human SIRT1, SIRT2, SIRT4, SIRT5, SIRT6, or SIRT7, at concentrations

(e.g., in vivo) effective for modulating the deacetylase activity of human SIRT3. For example, a sirtuin-modulating compound may be chosen to have an ED₅₀ for modulating human SIRT3 deacetylase activity that is at least 5 fold less than the ED₅₀ for modulating one or more of human SIRT1, SIRT2, SIRT4, SIRT5, SIRT6, 5 or SIRT7, and even more preferably at least 10 fold, 100 fold or even 1000 fold less. In one embodiment, a SIRT3 modulator does not have any substantial ability to modulate a SIRT1 protein.

In certain embodiments, a sirtuin-modulating compound may have a binding affinity for a sirtuin protein of about 10⁻⁹M, 10⁻¹⁰M, 10⁻¹¹M, 10⁻¹²M or less. 10 A sirtuin-modulating compound may reduce (activator) or increase (inhibitor) the apparent K_m of a sirtuin protein for its substrate or NAD⁺ (or other cofactor) by a factor of at least about 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 50 or 100. In certain embodiments, K_m values are determined using the mass spectrometry assay described herein. Preferred activating compounds reduce the K_m of a sirtuin for its substrate or 15 cofactor to a greater extent than caused by resveratrol at a similar concentration or reduce the K_m of a sirtuin for its substrate or cofactor similar to that caused by resveratrol at a lower concentration. A sirtuin-modulating compound may increase the V_{max} of a sirtuin protein by a factor of at least about 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 50 or 100. A sirtuin-modulating compound may have an ED₅₀ for modulating the 20 deacetylase activity of a SIRT1 and/or SIRT3 protein of less than about 1 nM, less than about 10 nM, less than about 100 nM, less than about 1 μM, less than about 10 μM, less than about 100 μM, or from about 1-10 nM, from about 10-100 nM, from about 0.1-1 μM, from about 1-10 μM or from about 10-100 μM. A sirtuin-modulating compound may modulate the deacetylase activity of a SIRT1 and/or 25 SIRT3 protein by a factor of at least about 5, 10, 20, 30, 50, or 100, as measured in a cellular assay or in a cell based assay. A sirtuin-activating compound may cause at least about 10%, 30%, 50%, 80%, 2 fold, 5 fold, 10 fold, 50 fold or 100 fold greater induction of the deacetylase activity of a sirtuin protein relative to the same concentration of resveratrol. A sirtuin-modulating compound may have an ED₅₀ 30 for modulating SIRT5 that is at least about 10 fold, 20 fold, 30 fold, 50 fold greater than that for modulating SIRT1 and/or SIRT3.

3. Exemplary Uses

In certain aspects, the invention provides methods for modulating the level and/or activity of a sirtuin protein and methods of use thereof.

In certain embodiments, the invention provides methods for using sirtuin-modulating compounds wherein the sirtuin-modulating compounds activate a sirtuin protein, e.g., increase the level and/or activity of a sirtuin protein. Sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be useful for a variety of therapeutic applications including, for example, increasing the lifespan of a cell, and treating and/or preventing a wide variety of diseases and disorders including, for example, diseases or disorders related to aging or stress, diabetes, obesity, neurodegenerative diseases, cardiovascular disease, blood clotting disorders, inflammation, cancer, and/or flushing, etc. The methods comprise administering to a subject in need thereof a pharmaceutically effective amount of a sirtuin-modulating compound, e.g., a sirtuin-activating compound.

While Applicants do not wish to be bound by theory, it is believed that activators of the instant invention may interact with a sirtuin at the same location within the sirtuin protein (e.g., active site or site affecting the K_m or V_{max} of the active site). It is believed that this is the reason why certain classes of sirtuin activators and inhibitors can have substantial structural similarity.

In certain embodiments, the sirtuin-modulating compounds described herein may be taken alone or in combination with other compounds. In one embodiment, a mixture of two or more sirtuin-modulating compounds may be administered to a subject in need thereof. In another embodiment, a sirtuin-modulating compound that increases the level and/or activity of a sirtuin protein may be administered with one or more of the following compounds: resveratrol, butein, fisetin, piceatannol, or quercetin. In an exemplary embodiment, a sirtuin-modulating compound that increases the level and/or activity of a sirtuin protein may be administered in combination with nicotinic acid. In another embodiment, a sirtuin-modulating compound that decreases the level and/or activity of a sirtuin protein may be administered with one or more of the following compounds: nicotinamide (NAM), suranim; NF023 (a G-protein antagonist); NF279 (a purinergic receptor antagonist); Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid); (-)-

epigallocatechin (hydroxy on sites 3,5,7,3',4', 5'); (-)-epigallocatechin gallate (Hydroxy sites 5,7,3',4',5' and gallate ester on 3); cyanidin chloride (3,5,7,3',4'-pentahydroxyflavylium chloride); delphinidin chloride (3,5,7,3',4',5'-hexahydroxyflavylium chloride); myricetin (cannabiscetin; 3,5,7,3',4',5'-
5 hexahydroxyflavone); 3,7,3',4',5'-pentahydroxyflavone; gossypetin (3,5,7,8,3',4'-hexahydroxyflavone), sirtinol; and splitomicin. In yet another embodiment, one or more sirtuin-modulating compounds may be administered with one or more therapeutic agents for the treatment or prevention of various diseases, including, for example, cancer, diabetes, neurodegenerative diseases, cardiovascular disease, blood
10 clotting, inflammation, flushing, obesity, ageing, stress, etc. In various embodiments, combination therapies comprising a sirtuin-modulating compound may refer to (1) pharmaceutical compositions that comprise one or more sirtuin-modulating compounds in combination with one or more therapeutic agents (e.g., one or more therapeutic agents described herein); and (2) co-administration of one
15 or more sirtuin-modulating compounds with one or more therapeutic agents wherein the sirtuin-modulating compound and therapeutic agent have not been formulated in the same compositions (but may be present within the same kit or package, such as a blister pack or other multi-chamber package; connected, separately sealed containers (e.g., foil pouches) that can be separated by the user; or a kit where the sirtuin
20 modulating compound(s) and other therapeutic agent(s) are in separate vessels). When using separate formulations, the sirtuin-modulating compound may be administered at the same, intermittent, staggered, prior to, subsequent to, or combinations thereof, with the administration of another therapeutic agent.

In certain embodiments, methods for reducing, preventing or treating
25 diseases or disorders using a sirtuin-modulating compound may also comprise increasing the protein level of a sirtuin, such as human SIRT1, SIRT2 and/or SIRT3, or homologs thereof. Increasing protein levels can be achieved by introducing into a cell one or more copies of a nucleic acid that encodes a sirtuin. For example, the level of a sirtuin can be increased in a mammalian cell by introducing into the
30 mammalian cell a nucleic acid encoding the sirtuin, e.g., increasing the level of SIRT1 by introducing a nucleic acid encoding the amino acid sequence set forth in GenBank Accession No. NP_036370 and/or increasing the level of SIRT3 by

introducing a nucleic acid encoding the amino acid sequence set forth in GenBank Accession No. AAH01042.

A nucleic acid that is introduced into a cell to increase the protein level of a sirtuin may encode a protein that is at least about 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, or
5 99% identical to the sequence of a sirtuin, e.g., SIRT1 and/or SIRT3 protein. For example, the nucleic acid encoding the protein may be at least about 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, or 99% identical to a nucleic acid encoding a SIRT1 (e.g. GenBank Accession No. NM_012238) and/or SIRT3 (e.g., GenBank Accession No. BC001042) protein. The nucleic acid may also be a nucleic acid that hybridizes,
10 preferably under stringent hybridization conditions, to a nucleic acid encoding a wild-type sirtuin, e.g., SIRT1 and/or SIRT3 protein. Stringent hybridization conditions may include hybridization and a wash in 0.2 x SSC at 65 °C. When using a nucleic acid that encodes a protein that is different from a wild-type sirtuin protein, such as a protein that is a fragment of a wild-type sirtuin, the protein is preferably
15 biologically active, e.g., is capable of deacetylation. It is only necessary to express in a cell a portion of the sirtuin that is biologically active. For example, a protein that differs from wild-type SIRT1 having GenBank Accession No. NP_036370, preferably contains the core structure thereof. The core structure sometimes refers to amino acids 62-293 of GenBank Accession No. NP_036370, which are encoded by
20 nucleotides 237 to 932 of GenBank Accession No. NM_012238, which encompasses the NAD binding as well as the substrate binding domains. The core domain of SIRT1 may also refer to about amino acids 261 to 447 of GenBank Accession No. NP_036370, which are encoded by nucleotides 334 to 1394 of GenBank Accession No. NM_012238; to about amino acids 242 to 493 of GenBank
25 Accession No. NP_036370, which are encoded by nucleotides 777 to 1532 of GenBank Accession No. NM_012238; or to about amino acids 254 to 495 of GenBank Accession No. NP_036370, which are encoded by nucleotides 313 to 1538 of GenBank Accession No. NM_012238. Whether a protein retains a biological function, e.g., deacetylation capabilities, can be determined according to methods
30 known in the art.

In certain embodiments, methods for reducing, preventing or treating diseases or disorders using a sirtuin-modulating compound may also comprise

decreasing the protein level of a sirtuin, such as human SIRT1, SIRT2 and/or SIRT3, or homologs thereof. Decreasing a sirtuin protein level can be achieved according to methods known in the art. For example, an siRNA, an antisense nucleic acid, or a ribozyme targeted to the sirtuin can be expressed in the cell. A dominant
5 negative sirtuin mutant, e.g., a mutant that is not capable of deacetylating, may also be used. For example, mutant H363Y of SIRT1, described, e.g., in Luo et al. (2001) Cell 107:137 can be used. Alternatively, agents that inhibit transcription can be used.

Methods for modulating sirtuin protein levels also include methods for modulating the transcription of genes encoding sirtuins, methods for
10 stabilizing/destabilizing the corresponding mRNAs, and other methods known in the art.

Aging/Stress

In one embodiment, the invention provides a method extending the lifespan of a cell, extending the proliferative capacity of a cell, slowing aging of a cell,
15 promoting the survival of a cell, delaying cellular senescence in a cell, mimicking the effects of calorie restriction, increasing the resistance of a cell to stress, or preventing apoptosis of a cell, by contacting the cell with a sirtuin-modulating compound of the invention that increases the level and/or activity of a sirtuin protein. In an exemplary embodiment, the methods comprise contacting the cell
20 with a sirtuin-activating compound.

The methods described herein may be used to increase the amount of time that cells, particularly primary cells (i.e., cells obtained from an organism, e.g., a human), may be kept alive in a cell culture. Embryonic stem (ES) cells and pluripotent cells, and cells differentiated therefrom, may also be treated with a
25 sirtuin-modulating compound that increases the level and/or activity of a sirtuin protein to keep the cells, or progeny thereof, in culture for longer periods of time. Such cells can also be used for transplantation into a subject, e.g., after *ex vivo* modification.

In one embodiment, cells that are intended to be preserved for long periods
30 of time may be treated with a sirtuin-modulating compound that increases the level and/or activity of a sirtuin protein. The cells may be in suspension (e.g., blood cells, serum, biological growth media, etc.) or in tissues or organs. For example, blood

collected from an individual for purposes of transfusion may be treated with a sirtuin-modulating compound that increases the level and/or activity of a sirtuin protein to preserve the blood cells for longer periods of time. Additionally, blood to be used for forensic purposes may also be preserved using a sirtuin-modulating
5 compound that increases the level and/or activity of a sirtuin protein. Other cells that may be treated to extend their lifespan or protect against apoptosis include cells for consumption, e.g., cells from non-human mammals (such as meat) or plant cells (such as vegetables).

Sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a
10 sirtuin protein may also be applied during developmental and growth phases in mammals, plants, insects or microorganisms, in order to, e.g., alter, retard or accelerate the developmental and/or growth process.

In another embodiment, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be used to treat cells useful for
15 transplantation or cell therapy, including, for example, solid tissue grafts, organ transplants, cell suspensions, stem cells, bone marrow cells, etc. The cells or tissue may be an autograft, an allograft, a syngraft or a xenograft. The cells or tissue may be treated with the sirtuin-modulating compound prior to administration/implantation, concurrently with administration/implantation, and/or
20 post administration/implantation into a subject. The cells or tissue may be treated prior to removal of the cells from the donor individual, *ex vivo* after removal of the cells or tissue from the donor individual, or post implantation into the recipient. For example, the donor or recipient individual may be treated systemically with a sirtuin-modulating compound or may have a subset of cells/tissue treated locally
25 with a sirtuin-modulating compound that increases the level and/or activity of a sirtuin protein. In certain embodiments, the cells or tissue (or donor/recipient individuals) may additionally be treated with another therapeutic agent useful for prolonging graft survival, such as, for example, an immunosuppressive agent, a cytokine, an angiogenic factor, etc.

30 In yet other embodiments, cells may be treated with a sirtuin-modulating compound that increases the level and/or activity of a sirtuin protein *in vivo*, e.g., to increase their lifespan or prevent apoptosis. For example, skin can be protected

from aging (e.g., developing wrinkles, loss of elasticity, etc.) by treating skin or epithelial cells with a sirtuin-modulating compound that increases the level and/or activity of a sirtuin protein. In an exemplary embodiment, skin is contacted with a pharmaceutical or cosmetic composition comprising a sirtuin-modulating

5 compound that increases the level and/or activity of a sirtuin protein. Exemplary skin afflictions or skin conditions that may be treated in accordance with the methods described herein include disorders or diseases associated with or caused by inflammation, sun damage or natural aging. For example, the compositions find utility in the prevention or treatment of contact dermatitis (including irritant contact

10 dermatitis and allergic contact dermatitis), atopic dermatitis (also known as allergic eczema), actinic keratosis, keratinization disorders (including eczema), epidermolysis bullosa diseases (including penfigus), exfoliative dermatitis, seborrheic dermatitis, erythemas (including erythema multiforme and erythema nodosum), damage caused by the sun or other light sources, discoid lupus

15 erythematosus, dermatomyositis, psoriasis, skin cancer and the effects of natural aging. In another embodiment, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be used for the treatment of wounds and/or burns to promote healing, including, for example, first-, second- or third-degree burns and/or a thermal, chemical or electrical burns. The formulations may

20 be administered topically, to the skin or mucosal tissue.

Topical formulations comprising one or more sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may also be used as preventive, e.g., chemopreventive, compositions. When used in a chemopreventive method, susceptible skin is treated prior to any visible condition

25 in a particular individual.

Sirtuin-modulating compounds may be delivered locally or systemically to a subject. In one embodiment, a sirtuin-modulating compound is delivered locally to a tissue or organ of a subject by injection, topical formulation, etc.

In another embodiment, a sirtuin-modulating compound that increases the

30 level and/or activity of a sirtuin protein may be used for treating or preventing a disease or condition induced or exacerbated by cellular senescence in a subject; methods for decreasing the rate of senescence of a subject, e.g., after onset of

senescence; methods for extending the lifespan of a subject; methods for treating or preventing a disease or condition relating to lifespan; methods for treating or preventing a disease or condition relating to the proliferative capacity of cells; and methods for treating or preventing a disease or condition resulting from cell
5 damage or death. In certain embodiments, the method does not act by decreasing the rate of occurrence of diseases that shorten the lifespan of a subject. In certain embodiments, a method does not act by reducing the lethality caused by a disease, such as cancer.

In yet another embodiment, a sirtuin-modulating compound that increases
10 the level and/or activity of a sirtuin protein may be administered to a subject in order to generally increase the lifespan of its cells and to protect its cells against stress and/or against apoptosis. It is believed that treating a subject with a compound described herein is similar to subjecting the subject to hormesis, i.e., mild stress that is beneficial to organisms and may extend their lifespan.

15 Sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be administered to a subject to prevent aging and aging-related consequences or diseases, such as stroke, heart disease, heart failure, arthritis, high blood pressure, and Alzheimer's disease. Other conditions that can be treated include ocular disorders, e.g., associated with the aging of the eye, such as
20 cataracts, glaucoma, and macular degeneration. Sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein can also be administered to subjects for treatment of diseases, e.g., chronic diseases, associated with cell death, in order to protect the cells from cell death. Exemplary diseases include those associated with neural cell death, neuronal dysfunction, or muscular cell death or
25 dysfunction, such as Parkinson's disease, Alzheimer's disease, multiple sclerosis, amyotrophic lateral sclerosis, and muscular dystrophy; AIDS; fulminant hepatitis; diseases linked to degeneration of the brain, such as Creutzfeld-Jakob disease, retinitis pigmentosa and cerebellar degeneration; myelodysplasia such as aplastic anemia; ischemic diseases such as myocardial infarction and stroke; hepatic
30 diseases such as alcoholic hepatitis, hepatitis B and hepatitis C; joint-diseases such as osteoarthritis; atherosclerosis; alopecia; damage to the skin due to UV light;

lichen planus; atrophy of the skin; cataract; and graft rejections. Cell death can also be caused by surgery, drug therapy, chemical exposure or radiation exposure.

Sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein can also be administered to a subject suffering from an acute disease, e.g., damage to an organ or tissue, e.g., a subject suffering from stroke or myocardial infarction or a subject suffering from a spinal cord injury. Sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may also be used to repair an alcoholic's liver.

Cardiovascular Disease

10 In another embodiment, the invention provides a method for treating and/or preventing a cardiovascular disease by administering to a subject in need thereof a sirtuin-modulating compound that increases the level and/or activity of a sirtuin protein.

Cardiovascular diseases that can be treated or prevented using the sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein include cardiomyopathy or myocarditis; such as idiopathic cardiomyopathy, metabolic cardiomyopathy, alcoholic cardiomyopathy, drug-induced cardiomyopathy, ischemic cardiomyopathy, and hypertensive cardiomyopathy. Also treatable or preventable using compounds and methods described herein are atheromatous disorders of the major blood vessels (macrovascular disease) such as the aorta, the coronary arteries, the carotid arteries, the cerebrovascular arteries, the renal arteries, the iliac arteries, the femoral arteries, and the popliteal arteries. Other vascular diseases that can be treated or prevented include those related to platelet aggregation, the retinal arterioles, the glomerular arterioles, the vasa nervorum, cardiac arterioles, and associated capillary beds of the eye, the kidney, the heart, and the central and peripheral nervous systems. The sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may also be used for increasing HDL levels in plasma of an individual.

Yet other disorders that may be treated with sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein include restenosis, e.g., following coronary intervention, and disorders relating to an abnormal level of high density and low density cholesterol.

In one embodiment, a sirtuin-modulating compound that increases the level and/or activity of a sirtuin protein may be administered as part of a combination therapeutic with another cardiovascular agent. In one embodiment, a sirtuin-modulating compound that increases the level and/or activity of a sirtuin protein
5 may be administered as part of a combination therapeutic with an anti-arrhythmia agent. In another embodiment, a sirtuin-modulating compound that increases the level and/or activity of a sirtuin protein may be administered as part of a combination therapeutic with another cardiovascular agent.

Cell Death/Cancer

10 Sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be administered to subjects who have recently received or are likely to receive a dose of radiation or toxin. In one embodiment, the dose of radiation or toxin is received as part of a work-related or medical procedure, e.g., administered as a prophylactic measure. In another embodiment, the radiation or
15 toxin exposure is received unintentionally. In such a case, the compound is preferably administered as soon as possible after the exposure to inhibit apoptosis and the subsequent development of acute radiation syndrome.

Sirtuin-modulating compounds may also be used for treating and/or preventing cancer. In certain embodiments, sirtuin-modulating compounds that
20 increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be used for treating and/or preventing cancer. Calorie restriction has been linked to a reduction in the incidence of age-related disorders including cancer. Accordingly, an increase in the level and/or activity of a sirtuin protein may be useful for treating and/or preventing the incidence of age-related disorders, such as, for example, cancer. Exemplary
25 cancers that may be treated using a sirtuin-modulating compound are those of the brain and kidney; hormone-dependent cancers including breast, prostate, testicular, and ovarian cancers; lymphomas, and leukemias. In cancers associated with solid tumors, a modulating compound may be administered directly into the tumor. Cancer of blood cells, e.g., leukemia, can be treated by administering a modulating
30 compound into the blood stream or into the bone marrow. Benign cell growth, e.g., warts, can also be treated. Other diseases that can be treated include autoimmune diseases, e.g., systemic lupus erythematosus, scleroderma, and arthritis, in which

autoimmune cells should be removed. Viral infections such as herpes, HIV, adenovirus, and HTLV-1 associated malignant and benign disorders can also be treated by administration of sirtuin-modulating compound. Alternatively, cells can be obtained from a subject, treated ex vivo to remove certain undesirable cells, e.g.,
5 cancer cells, and administered back to the same or a different subject.

Chemotherapeutic agents may be co-administered with modulating compounds described herein as having anti-cancer activity, e.g., compounds that induce apoptosis, compounds that reduce lifespan or compounds that render cells sensitive to stress. Chemotherapeutic agents may be used by themselves with a
10 sirtuin-modulating compound described herein as inducing cell death or reducing lifespan or increasing sensitivity to stress and/or in combination with other chemotherapeutics agents. In addition to conventional chemotherapeutics, the sirtuin-modulating compounds described herein may also be used with antisense RNA, RNAi or other polynucleotides to inhibit the expression of the cellular
15 components that contribute to unwanted cellular proliferation.

Combination therapies comprising sirtuin-modulating compounds and a conventional chemotherapeutic agent may be advantageous over combination therapies known in the art because the combination allows the conventional chemotherapeutic agent to exert greater effect at lower dosage. In a preferred
20 embodiment, the effective dose (ED₅₀) for a chemotherapeutic agent, or combination of conventional chemotherapeutic agents, when used in combination with a sirtuin-modulating compound is at least 2 fold less than the ED₅₀ for the chemotherapeutic agent alone, and even more preferably at 5 fold, 10 fold or even 25 fold less. Conversely, the therapeutic index (TI) for such chemotherapeutic
25 agent or combination of such chemotherapeutic agent when used in combination with a sirtuin-modulating compound described herein can be at least 2 fold greater than the TI for conventional chemotherapeutic regimen alone, and even more preferably at 5 fold, 10 fold or even 25 fold greater.

Neuronal Diseases/Disorders

30 In certain aspects, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein can be used to treat patients suffering from neurodegenerative diseases, and traumatic or mechanical injury to the central

nervous system (CNS), spinal cord or peripheral nervous system (PNS).

Neurodegenerative disease typically involves reductions in the mass and volume of the human brain, which may be due to the atrophy and/or death of brain cells, which are far more profound than those in a healthy person that are attributable to aging.

5 Neurodegenerative diseases can evolve gradually, after a long period of normal brain function, due to progressive degeneration (e.g., nerve cell dysfunction and death) of specific brain regions. Alternatively, neurodegenerative diseases can have a quick onset, such as those associated with trauma or toxins. The actual onset of brain degeneration may precede clinical expression by many years. Examples of
10 neurodegenerative diseases include, but are not limited to, Alzheimer's disease (AD), Parkinson's disease (PD), Huntington's disease (HD), amyotrophic lateral sclerosis (ALS; Lou Gehrig's disease), diffuse Lewy body disease, chorea-acanthocytosis, primary lateral sclerosis, ocular diseases (ocular neuritis), chemotherapy-induced neuropathies (e.g., from vincristine, paclitaxel, bortezomib),
15 diabetes-induced neuropathies and Friedreich's ataxia. Sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein can be used to treat these disorders and others as described below.

AD is a CNS disorder that results in memory loss, unusual behavior, personality changes, and a decline in thinking abilities. These losses are related to
20 the death of specific types of brain cells and the breakdown of connections and their supporting network (e.g. glial cells) between them. The earliest symptoms include loss of recent memory, faulty judgment, and changes in personality. PD is a CNS disorder that results in uncontrolled body movements, rigidity, tremor, and dyskinesia, and is associated with the death of brain cells in an area of the brain that
25 produces dopamine. ALS (motor neuron disease) is a CNS disorder that attacks the motor neurons, components of the CNS that connect the brain to the skeletal muscles.

HD is another neurodegenerative disease that causes uncontrolled movements, loss of intellectual faculties, and emotional disturbance. Tay-Sachs
30 disease and Sandhoff disease are glycolipid storage diseases where GM2 ganglioside

and related glycolipidssubstrates for β -hexosaminidase accumulate in the nervous system and trigger acute neurodegeneration.

It is well-known that apoptosis plays a role in AIDS pathogenesis in the immune system. However, HIV-1 also induces neurological disease, which can be
5 treated with sirtuin-modulating compounds of the invention.

Neuronal loss is also a salient feature of prion diseases, such as Creutzfeldt-Jakob disease in human, BSE in cattle (mad cow disease), Scrapie Disease in sheep and goats, and feline spongiform encephalopathy (FSE) in cats. Sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be useful
10 for treating or preventing neuronal loss due to these prior diseases.

In another embodiment, a sirtuin-modulating compound that increases the level and/or activity of a sirtuin protein may be used to treat or prevent any disease or disorder involving axonopathy. Distal axonopathy is a type of peripheral neuropathy that results from some metabolic or toxic derangement of peripheral
15 nervous system (PNS) neurons. It is the most common response of nerves to metabolic or toxic disturbances, and as such may be caused by metabolic diseases such as diabetes, renal failure, deficiency syndromes such as malnutrition and alcoholism, or the effects of toxins or drugs. Those with distal axonopathies usually present with symmetrical glove-stocking sensori-motor disturbances. Deep tendon
20 reflexes and autonomic nervous system (ANS) functions are also lost or diminished in affected areas.

Diabetic neuropathies are neuropathic disorders that are associated with diabetes mellitus. Relatively common conditions which may be associated with diabetic neuropathy include third nerve palsy; mononeuropathy; mononeuritis
25 multiplex; diabetic amyotrophy; a painful polyneuropathy; autonomic neuropathy; and thoracoabdominal neuropathy.

Peripheral neuropathy is the medical term for damage to nerves of the peripheral nervous system, which may be caused either by diseases of the nerve or from the side-effects of systemic illness. Major causes of peripheral neuropathy
30 include seizures, nutritional deficiencies, and HIV, though diabetes is the most likely cause.

In an exemplary embodiment, a sirtuin-modulating compound that increases the level and/or activity of a sirtuin protein may be used to treat or prevent multiple sclerosis (MS), including relapsing MS and monosymptomatic MS, and other demyelinating conditions, such as, for example, chronic inflammatory
5 demyelinating polyneuropathy (CIDP), or symptoms associated therewith.

In yet another embodiment, a sirtuin-modulating compound that increases the level and/or activity of a sirtuin protein may be used to treat trauma to the nerves, including, trauma due to disease, injury (including surgical intervention), or environmental trauma (e.g., neurotoxins, alcoholism, etc.).

10 Sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may also be useful to prevent, treat, and alleviate symptoms of various PNS disorders. The term "peripheral neuropathy" encompasses a wide range of disorders in which the nerves outside of the brain and spinal cord—peripheral nerves—have been damaged. Peripheral neuropathy may also be referred to as
15 peripheral neuritis, or if many nerves are involved, the terms polyneuropathy or polyneuritis may be used.

PNS diseases treatable with sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein include: diabetes, leprosy, Charcot-Marie-Tooth disease, Guillain-Barré syndrome and Brachial Plexus Neuropathies (diseases
20 of the cervical and first thoracic roots, nerve trunks, cords, and peripheral nerve components of the brachial plexus.

In another embodiment, a sirtuin activating compound may be used to treat or prevent a polyglutamine disease. Exemplary polyglutamine diseases include Spinobulbar muscular atrophy (Kennedy disease), Huntington's Disease (HD),
25 Dentatorubral-pallidoluysian atrophy (Haw River syndrome), Spinocerebellar ataxia type 1, Spinocerebellar ataxia type 2, Spinocerebellar ataxia type 3 (Machado-Joseph disease), Spinocerebellar ataxia type 6, Spinocerebellar ataxia type 7, and Spinocerebellar ataxia type 17.

In certain embodiments, the invention provides a method to treat a central
30 nervous system cell to prevent damage in response to a decrease in blood flow to the cell. Typically the severity of damage that may be prevented will depend in large part on the degree of reduction in blood flow to the cell and the duration of the

reduction. In one embodiment, apoptotic or necrotic cell death may be prevented. In still a further embodiment, ischemic-mediated damage, such as cytotoxic edema or central nervous system tissue anoxemia, may be prevented. In each embodiment, the central nervous system cell may be a spinal cell or a brain cell.

5 Another aspect encompasses administering a sirtuin activating compound to a subject to treat a central nervous system ischemic condition. A number of central nervous system ischemic conditions may be treated by the sirtuin activating compounds described herein. In one embodiment, the ischemic condition is a stroke that results in any type of ischemic central nervous system damage, such as
10 apoptotic or necrotic cell death, cytotoxic edema or central nervous system tissue anoxia. The stroke may impact any area of the brain or be caused by any etiology commonly known to result in the occurrence of a stroke. In one alternative of this embodiment, the stroke is a brain stem stroke. In another alternative of this embodiment, the stroke is a cerebellar stroke. In still another embodiment, the stroke
15 is an embolic stroke. In yet another alternative, the stroke may be a hemorrhagic stroke. In a further embodiment, the stroke is a thrombotic stroke.

 In yet another aspect, a sirtuin activating compound may be administered to reduce infarct size of the ischemic core following a central nervous system ischemic condition. Moreover, a sirtuin activating compound may also be beneficially
20 administered to reduce the size of the ischemic penumbra or transitional zone following a central nervous system ischemic condition.

 In one embodiment, a combination drug regimen may include drugs or compounds for the treatment or prevention of neurodegenerative disorders or secondary conditions associated with these conditions. Thus, a combination drug
25 regimen may include one or more sirtuin activators and one or more anti-neurodegeneration agents.

Blood Coagulation Disorders

 In other aspects, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein can be used to treat or prevent blood coagulation
30 disorders (or hemostatic disorders). As used interchangeably herein, the terms “hemostasis”, “blood coagulation,” and “blood clotting” refer to the control of bleeding, including the physiological properties of vasoconstriction and coagulation.

Blood coagulation assists in maintaining the integrity of mammalian circulation after injury, inflammation, disease, congenital defect, dysfunction or other disruption. Further, the formation of blood clots does not only limit bleeding in case of an injury (hemostasis), but may lead to serious organ damage and death in the context of
5 atherosclerotic diseases by occlusion of an important artery or vein. Thrombosis is thus blood clot formation at the wrong time and place. \

Accordingly, the present invention provides anticoagulation and antithrombotic treatments aiming at inhibiting the formation of blood clots in order to prevent or treat blood coagulation disorders, such as myocardial infarction, stroke,
10 loss of a limb by peripheral artery disease or pulmonary embolism.

As used interchangeably herein, “modulating or modulation of hemostasis” and “regulating or regulation of hemostasis” includes the induction (e.g., stimulation or increase) of hemostasis, as well as the inhibition (e.g., reduction or decrease) of hemostasis.

15 In one aspect, the invention provides a method for reducing or inhibiting hemostasis in a subject by administering a sirtuin-modulating compound that increases the level and/or activity of a sirtuin protein. The compositions and methods disclosed herein are useful for the treatment or prevention of thrombotic disorders. As used herein, the term “thrombotic disorder” includes any disorder or condition
20 characterized by excessive or unwanted coagulation or hemostatic activity, or a hypercoagulable state. Thrombotic disorders include diseases or disorders involving platelet adhesion and thrombus formation, and may manifest as an increased propensity to form thromboses, e.g., an increased number of thromboses, thrombosis at an early age, a familial tendency towards thrombosis, and thrombosis at unusual
25 sites.

In another embodiment, a combination drug regimen may include drugs or compounds for the treatment or prevention of blood coagulation disorders or secondary conditions associated with these conditions. Thus, a combination drug regimen may include one or more sirtuin-modulating compounds that increase the
30 level and/or activity of a sirtuin protein and one or more anti-coagulation or anti-thrombosis agents.

Weight Control

In another aspect, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be used for treating or preventing weight gain or obesity in a subject. For example, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be used, for example, to treat or prevent hereditary obesity, dietary obesity, hormone related obesity, obesity related to the administration of medication, to reduce the weight of a subject, or to reduce or prevent weight gain in a subject. A subject in need of such a treatment may be a subject who is obese, likely to become obese, overweight, or likely to become overweight. Subjects who are likely to become obese or overweight can be identified, for example, based on family history, genetics, diet, activity level, medication intake, or various combinations thereof.

In yet other embodiments, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be administered to subjects suffering from a variety of other diseases and conditions that may be treated or prevented by promoting weight loss in the subject. Such diseases include, for example, high blood pressure, hypertension, high blood cholesterol, dyslipidemia, type 2 diabetes, insulin resistance, glucose intolerance, hyperinsulinemia, coronary heart disease, angina pectoris, congestive heart failure, stroke, gallstones, cholecystitis and cholelithiasis, gout, osteoarthritis, obstructive sleep apnea and respiratory problems, some types of cancer (such as endometrial, breast, prostate, and colon), complications of pregnancy, poor female reproductive health (such as menstrual irregularities, infertility, irregular ovulation), bladder control problems (such as stress incontinence); uric acid nephrolithiasis; psychological disorders (such as depression, eating disorders, distorted body image, and low self esteem). Finally, patients with AIDS can develop lipodystrophy or insulin resistance in response to combination therapies for AIDS.

In another embodiment, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be used for inhibiting adipogenesis or fat cell differentiation, whether in vitro or in vivo. Such methods may be used for treating or preventing obesity.

In other embodiments, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be used for reducing appetite and/or increasing satiety, thereby causing weight loss or avoidance of weight gain. A subject in need of such a treatment may be a subject who is overweight, obese or a subject likely to become overweight or obese. The method may comprise administering daily or, every other day, or once a week, a dose, e.g., in the form of a pill, to a subject. The dose may be an "appetite reducing dose."

In an exemplary embodiment, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be administered as a combination therapy for treating or preventing weight gain or obesity. For example, one or more sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be administered in combination with one or more anti-obesity agents.

In another embodiment, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be administered to reduce drug-induced weight gain. For example, a sirtuin-modulating compound that increases the level and/or activity of a sirtuin protein may be administered as a combination therapy with medications that may stimulate appetite or cause weight gain, in particular, weight gain due to factors other than water retention.

Metabolic Disorders/Diabetes

In another aspect, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be used for treating or preventing a metabolic disorder, such as insulin-resistance, a pre-diabetic state, type II diabetes, and/or complications thereof. Administration of a sirtuin-modulating compounds that increases the level and/or activity of a sirtuin protein may increase insulin sensitivity and/or decrease insulin levels in a subject. A subject in need of such a treatment may be a subject who has insulin resistance or other precursor symptom of type II diabetes, who has type II diabetes, or who is likely to develop any of these conditions. For example, the subject may be a subject having insulin resistance, e.g., having high circulating levels of insulin and/or associated conditions, such as hyperlipidemia, dyslipogenesis, hypercholesterolemia, impaired glucose tolerance, high blood glucose sugar level, other manifestations of syndrome X, hypertension, atherosclerosis and lipodystrophy.

In an exemplary embodiment, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be administered as a combination therapy for treating or preventing a metabolic disorder. For example, one or more sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be administered in combination with one or more anti-diabetic agents.

Inflammatory Diseases

In other aspects, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein can be used to treat or prevent a disease or disorder associated with inflammation. Sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be administered prior to the onset of, at, or after the initiation of inflammation. When used prophylactically, the compounds are preferably provided in advance of any inflammatory response or symptom. Administration of the compounds may prevent or attenuate inflammatory responses or symptoms.

In another embodiment, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be used to treat or prevent allergies and respiratory conditions, including asthma, bronchitis, pulmonary fibrosis, allergic rhinitis, oxygen toxicity, emphysema, chronic bronchitis, acute respiratory distress syndrome, and any chronic obstructive pulmonary disease (COPD). The compounds may be used to treat chronic hepatitis infection, including hepatitis B and hepatitis C.

Additionally, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be used to treat autoimmune diseases and/or inflammation associated with autoimmune diseases such as organ-tissue autoimmune diseases (e.g., Raynaud's syndrome), scleroderma, myasthenia gravis, transplant rejection, endotoxin shock, sepsis, psoriasis, eczema, dermatitis, multiple sclerosis, autoimmune thyroiditis, uveitis, systemic lupus erythematosus, Addison's disease, autoimmune polyglandular disease (also known as autoimmune polyglandular syndrome), and Grave's disease.

In certain embodiments, one or more sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be taken alone or in combination with other compounds useful for treating or preventing inflammation.

Flushing

In another aspect, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be used for reducing the incidence or severity of flushing and/or hot flashes which are symptoms of a disorder. For instance, the subject method includes the use of sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein, alone or in combination with other agents, for reducing incidence or severity of flushing and/or hot flashes in cancer patients. In other embodiments, the method provides for the use of sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein to reduce the incidence or severity of flushing and/or hot flashes in menopausal and post-menopausal woman.

In another aspect, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be used as a therapy for reducing the incidence or severity of flushing and/or hot flashes which are side-effects of another drug therapy, e.g., drug-induced flushing. In certain embodiments, a method for treating and/or preventing drug-induced flushing comprises administering to a patient in need thereof a formulation comprising at least one flushing inducing compound and at least one sirtuin-modulating compound that increases the level and/or activity of a sirtuin protein. In other embodiments, a method for treating drug induced flushing comprises separately administering one or more compounds that induce flushing and one or more sirtuin-modulating compounds, e.g., wherein the sirtuin-modulating compound and flushing inducing agent have not been formulated in the same compositions. When using separate formulations, the sirtuin-modulating compound may be administered (1) at the same as administration of the flushing inducing agent, (2) intermittently with the flushing inducing agent, (3) staggered relative to administration of the flushing inducing agent, (4) prior to administration of the flushing inducing agent, (5) subsequent to administration of the flushing inducing agent, and (6) various combination thereof. Exemplary flushing inducing agents include, for example, niacin, faloixifene, antidepressants, anti-psychotics, chemotherapeutics, calcium channel blockers, and antibiotics.

In one embodiment, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be used to reduce flushing side effects of a

vasodilator or an antilipemic agent (including anticholesteremic agents and lipotropic agents). In an exemplary embodiment, a sirtuin-modulating compound that increases the level and/or activity of a sirtuin protein may be used to reduce flushing associated with the administration of niacin.

5 In another embodiment, the invention provides a method for treating and/or preventing hyperlipidemia with reduced flushing side effects. In another representative embodiment, the method involves the use of sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein to reduce flushing side effects of raloxifene. In another representative embodiment, the
10 method involves the use of sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein to reduce flushing side effects of antidepressants or anti-psychotic agent. For instance, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein can be used in conjunction (administered separately or together) with a serotonin reuptake inhibitor, or a 5HT₂ receptor
15 antagonist.

In certain embodiments, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be used as part of a treatment with a serotonin reuptake inhibitor (SRI) to reduce flushing. In still another representative embodiment, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of
20 a sirtuin protein may be used to reduce flushing side effects of chemotherapeutic agents, such as cyclophosphamide and tamoxifen.

In another embodiment, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be used to reduce flushing side effects of calcium channel blockers, such as amlodipine.

25 In another embodiment, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be used to reduce flushing side effects of antibiotics. For example, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein can be used in combination with levofloxacin.

Ocular Disorders

30 One aspect of the present invention is a method for inhibiting, reducing or otherwise treating vision impairment by administering to a patient a therapeutic

dosage of sirtuin modulator selected from a compound disclosed herein, or a pharmaceutically acceptable salt, prodrug or a metabolic derivative thereof.

In certain aspects of the invention, the vision impairment is caused by damage to the optic nerve or central nervous system. In particular embodiments, 5 optic nerve damage is caused by high intraocular pressure, such as that created by glaucoma. In other particular embodiments, optic nerve damage is caused by swelling of the nerve, which is often associated with an infection or an immune (e.g., autoimmune) response such as in optic neuritis.

In certain aspects of the invention, the vision impairment is caused by retinal 10 damage. In particular embodiments, retinal damage is caused by disturbances in blood flow to the eye (e.g., arteriosclerosis, vasculitis). In particular embodiments, retinal damage is caused by disruption of the macula (e.g., exudative or non-exudative macular degeneration).

Exemplary retinal diseases include Exudative Age Related Macular 15 Degeneration, Nonexudative Age Related Macular Degeneration, Retinal Electronic Prosthesis and RPE Transplantation Age Related Macular Degeneration, Acute Multifocal Placoid Pigment Epitheliopathy, Acute Retinal Necrosis, Best Disease, Branch Retinal Artery Occlusion, Branch Retinal Vein Occlusion, Cancer Associated and Related Autoimmune Retinopathies, Central Retinal Artery 20 Occlusion, Central Retinal Vein Occlusion, Central Serous Chorioretinopathy, Eales Disease, Epimacular Membrane, Lattice Degeneration, Macroaneurysm, Diabetic Macular Edema, Irvine-Gass Macular Edema, Macular Hole, Subretinal Neovascular Membranes, Diffuse Unilateral Subacute Neuroretinitis, Nonpseudophakic Cystoid Macular Edema, Presumed Ocular Histoplasmosis Syndrome, Exudative Retinal 25 Detachment, Postoperative Retinal Detachment, Proliferative Retinal Detachment, Rhegmatogenous Retinal Detachment, Tractional Retinal Detachment, Retinitis Pigmentosa, CMV Retinitis, Retinoblastoma, Retinopathy of Prematurity, Birdshot Retinopathy, Background Diabetic Retinopathy, Proliferative Diabetic Retinopathy, Hemoglobinopathies Retinopathy, Purtscher Retinopathy, Valsalva Retinopathy, 30 Juvenile Retinoschisis, Senile Retinoschisis, Terson Syndrome and White Dot Syndromes.

Other exemplary diseases include ocular bacterial infections (e.g. conjunctivitis, keratitis, tuberculosis, syphilis, gonorrhea), viral infections (e.g. Ocular Herpes Simplex Virus, Varicella Zoster Virus, Cytomegalovirus retinitis, Human Immunodeficiency Virus (HIV)) as well as progressive outer retinal necrosis
5 secondary to HIV or other HIV-associated and other immunodeficiency-associated ocular diseases. In addition, ocular diseases include fungal infections (e.g. Candida choroiditis, histoplasmosis), protozoal infections (e.g. toxoplasmosis) and others such as ocular toxocariasis and sarcoidosis.

One aspect of the invention is a method for inhibiting, reducing or treating
10 vision impairment in a subject undergoing treatment with a chemotherapeutic drug (e.g., a neurotoxic drug, a drug that raises intraocular pressure such as a steroid), by administering to the subject in need of such treatment a therapeutic dosage of a sirtuin modulator disclosed herein.

Another aspect of the invention is a method for inhibiting, reducing or
15 treating vision impairment in a subject undergoing surgery, including ocular or other surgeries performed in the prone position such as spinal cord surgery, by administering to the subject in need of such treatment a therapeutic dosage of a sirtuin modulator disclosed herein. Ocular surgeries include cataract, iridotomy and lens replacements.

Another aspect of the invention is the treatment, including inhibition and
20 prophylactic treatment, of age related ocular diseases include cataracts, dry eye, age-related macular degeneration (AMD), retinal damage and the like, by administering to the subject in need of such treatment a therapeutic dosage of a sirtuin modulator disclosed herein.

Another aspect of the invention is the prevention or treatment of damage to
25 the eye caused by stress, chemical insult or radiation, by administering to the subject in need of such treatment a therapeutic dosage of a sirtuin modulator disclosed herein. Radiation or electromagnetic damage to the eye can include that caused by CRT's or exposure to sunlight or UV.

In one embodiment, a combination drug regimen may include drugs or
30 compounds for the treatment or prevention of ocular disorders or secondary conditions associated with these conditions. Thus, a combination drug regimen may

include one or more sirtuin activators and one or more therapeutic agents for the treatment of an ocular disorder.

In one embodiment, a sirtuin modulator can be administered in conjunction with a therapy for reducing intraocular pressure. In another embodiment, a sirtuin
5 modulator can be administered in conjunction with a therapy for treating and/or preventing glaucoma. In yet another embodiment, a sirtuin modulator can be administered in conjunction with a therapy for treating and/or preventing optic neuritis. In one embodiment, a sirtuin modulator can be administered in conjunction with a therapy for treating and/or preventing CMV Retinopathy. In another
10 embodiment, a sirtuin modulator can be administered in conjunction with a therapy for treating and/or preventing multiple sclerosis.

Mitochondrial-Associated Diseases and Disorders

In certain embodiments, the invention provides methods for treating diseases or disorders that would benefit from increased mitochondrial activity. The methods
15 involve administering to a subject in need thereof a therapeutically effective amount of a sirtuin activating compound. Increased mitochondrial activity refers to increasing activity of the mitochondria while maintaining the overall numbers of mitochondria (e.g., mitochondrial mass), increasing the numbers of mitochondria thereby increasing mitochondrial activity (e.g., by stimulating mitochondrial
20 biogenesis), or combinations thereof. In certain embodiments, diseases and disorders that would benefit from increased mitochondrial activity include diseases or disorders associated with mitochondrial dysfunction.

In certain embodiments, methods for treating diseases or disorders that would benefit from increased mitochondrial activity may comprise identifying a
25 subject suffering from a mitochondrial dysfunction. Methods for diagnosing a mitochondrial dysfunction may involve molecular genetic, pathologic and/or biochemical analyses. Diseases and disorders associated with mitochondrial dysfunction include diseases and disorders in which deficits in mitochondrial respiratory chain activity contribute to the development of pathophysiology of such
30 diseases or disorders in a mammal. Diseases or disorders that would benefit from increased mitochondrial activity generally include for example, diseases in which free radical mediated oxidative injury leads to tissue degeneration, diseases in which

cells inappropriately undergo apoptosis, and diseases in which cells fail to undergo apoptosis.

In certain embodiments, the invention provides methods for treating a disease or disorder that would benefit from increased mitochondrial activity that involves administering to a subject in need thereof one or more sirtuin activating compounds in combination with another therapeutic agent such as, for example, an agent useful for treating mitochondrial dysfunction or an agent useful for reducing a symptom associated with a disease or disorder involving mitochondrial dysfunction.

In exemplary embodiments, the invention provides methods for treating diseases or disorders that would benefit from increased mitochondrial activity by administering to a subject a therapeutically effective amount of a sirtuin activating compound. Exemplary diseases or disorders include, for example, neuromuscular disorders (e.g., Friedreich's Ataxia, muscular dystrophy, multiple sclerosis, etc.), disorders of neuronal instability (e.g., seizure disorders, migraine, etc.), developmental delay, neurodegenerative disorders (e.g., Alzheimer's Disease, Parkinson's Disease, amyotrophic lateral sclerosis, etc.), ischemia, renal tubular acidosis, age-related neurodegeneration and cognitive decline, chemotherapy fatigue, age-related or chemotherapy-induced menopause or irregularities of menstrual cycling or ovulation, mitochondrial myopathies, mitochondrial damage (e.g., calcium accumulation, excitotoxicity, nitric oxide exposure, hypoxia, etc.), and mitochondrial deregulation.

Muscular dystrophy refers to a family of diseases involving deterioration of neuromuscular structure and function, often resulting in atrophy of skeletal muscle and myocardial dysfunction, such as Duchenne muscular dystrophy. In certain embodiments, sirtuin activating compounds may be used for reducing the rate of decline in muscular functional capacities and for improving muscular functional status in patients with muscular dystrophy.

In certain embodiments, sirtuin modulating compounds may be useful for treatment mitochondrial myopathies. Mitochondrial myopathies range from mild, slowly progressive weakness of the extraocular muscles to severe, fatal infantile myopathies and multisystem encephalomyopathies. Some syndromes have been defined, with some overlap between them. Established syndromes affecting muscle

include progressive external ophthalmoplegia, the Kearns-Sayre syndrome (with ophthalmoplegia, pigmentary retinopathy, cardiac conduction defects, cerebellar ataxia, and sensorineural deafness), the MELAS syndrome (mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes), the MERFF syndrome (myoclonic epilepsy and ragged red fibers), limb-girdle distribution weakness, and infantile myopathy (benign or severe and fatal).

In certain embodiments, sirtuin activating compounds may be useful for treating patients suffering from toxic damage to mitochondria, such as, toxic damage due to calcium accumulation, excitotoxicity, nitric oxide exposure, drug induced toxic damage, or hypoxia.

In certain embodiments, sirtuin activating compounds may be useful for treating diseases or disorders associated with mitochondrial deregulation.

Muscle Performance

In other embodiments, the invention provides methods for enhancing muscle performance by administering a therapeutically effective amount of a sirtuin activating compound. For example, sirtuin activating compounds may be useful for improving physical endurance (e.g., ability to perform a physical task such as exercise, physical labor, sports activities, etc.), inhibiting or retarding physical fatigues, enhancing blood oxygen levels, enhancing energy in healthy individuals, enhance working capacity and endurance, reducing muscle fatigue, reducing stress, enhancing cardiac and cardiovascular function, improving sexual ability, increasing muscle ATP levels, and/or reducing lactic acid in blood. In certain embodiments, the methods involve administering an amount of a sirtuin activating compound that increase mitochondrial activity, increase mitochondrial biogenesis, and/or increase mitochondrial mass.

Sports performance refers to the ability of the athlete's muscles to perform when participating in sports activities. Enhanced sports performance, strength, speed and endurance are measured by an increase in muscular contraction strength, increase in amplitude of muscle contraction, shortening of muscle reaction time between stimulation and contraction. Athlete refers to an individual who participates in sports at any level and who seeks to achieve an improved level of strength, speed and endurance in their performance, such as, for example, body builders, bicyclists,

long distance runners, short distance runners, etc. Enhanced sports performance in manifested by the ability to overcome muscle fatigue, ability to maintain activity for longer periods of time, and have a more effective workout.

In the arena of athlete muscle performance, it is desirable to create conditions
5 that permit competition or training at higher levels of resistance for a prolonged period of time.

It is contemplated that the methods of the present invention will also be effective in the treatment of muscle related pathological conditions, including acute
sarcopenia, for example, muscle atrophy and/or cachexia associated with burns, bed
10 rest, limb immobilization, or major thoracic, abdominal, and/or orthopedic surgery.

In certain embodiments, the invention provides novel dietary compositions comprising sirtuin modulators, a method for their preparation, and a method of using the compositions for improvement of sports performance. Accordingly, provided are therapeutic compositions, foods and beverages that have actions of improving
15 physical endurance and/or inhibiting physical fatigues for those people involved in broadly-defined exercises including sports requiring endurance and labors requiring repeated muscle exertions. Such dietary compositions may additionally comprise electrolytes, caffeine, vitamins, carbohydrates, etc.

Other Uses

20 Sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be used for treating or preventing viral infections (such as infections by influenza, herpes or papilloma virus) or as antifungal agents. In certain embodiments, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be administered as part of a combination drug
25 therapy with another therapeutic agent for the treatment of viral diseases. In another embodiment, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be administered as part of a combination drug therapy with another anti-fungal agent.

Subjects that may be treated as described herein include eukaryotes, such as
30 mammals, e.g., humans, ovines, bovines, equines, porcines, canines, felines, non-human primate, mice, and rats. Cells that may be treated include eukaryotic cells, e.g., from a subject described above, or plant cells, yeast cells and prokaryotic cells,

e.g., bacterial cells. For example, modulating compounds may be administered to farm animals to improve their ability to withstand farming conditions longer.

Sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may also be used to increase lifespan, stress resistance, and
5 resistance to apoptosis in plants. In one embodiment, a compound is applied to plants, e.g., on a periodic basis, or to fungi. In another embodiment, plants are genetically modified to produce a compound. In another embodiment, plants and fruits are treated with a compound prior to picking and shipping to increase resistance to damage during shipping. Plant seeds may also be contacted with
10 compounds described herein, e.g., to preserve them.

In other embodiments, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may be used for modulating lifespan in yeast cells. Situations in which it may be desirable to extend the lifespan of yeast cells include any process in which yeast is used, e.g., the making of beer, yogurt, and
15 bakery items, e.g., bread. Use of yeast having an extended lifespan can result in using less yeast or in having the yeast be active for longer periods of time. Yeast or other mammalian cells used for recombinantly producing proteins may also be treated as described herein.

Sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a
20 sirtuin protein may also be used to increase lifespan, stress resistance and resistance to apoptosis in insects. In this embodiment, compounds would be applied to useful insects, e.g., bees and other insects that are involved in pollination of plants. In a specific embodiment, a compound would be applied to bees involved in the production of honey. Generally, the methods described herein may be applied to
25 any organism, e.g., eukaryote, that may have commercial importance. For example, they can be applied to fish (aquaculture) and birds (e.g., chicken and fowl).

Higher doses of sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein may also be used as a pesticide by interfering with the regulation of silenced genes and the regulation of apoptosis during development. In
30 this embodiment, a compound may be applied to plants using a method known in the art that ensures the compound is bio-available to insect larvae, and not to plants.

At least in view of the link between reproduction and longevity, sirtuin-modulating compounds that increase the level and/or activity of a sirtuin protein can be applied to affect the reproduction of organisms such as insects, animals and microorganisms.

5

4. Assays

Various types of assays to determine sirtuin activity have been described.

10 For example, sirtuin activity may be determined using a fluorescence based assay such as the assay commercially available from Biomol, e.g., the SIRT1 Fluorimetric Drug Discovery Kit (AK-555), SIRT2 Fluorimetric Drug Discovery Kit (AK-556), or SIRT3 Fluorimetric Drug Discovery Kit (AK-557) (Biomol International, Plymouth Meeting, PA). Other suitable sirtuin assays include a nicotinamide release
15 assay (Kaeberlein et al., J. Biol. Chem. 280(17): 17038 (2005)), a FRET assay (Marcotte et al., Anal. Biochem. 332: 90 (2004)), and a C¹⁴ NAD boron resin binding assay (McDonagh et al., Methods 36: 346 (2005)). Yet other suitable sirtuin assays include radioimmunoassays (RIA), scintillation proximity assays, HPLC based assays, and reporter gene assays (e.g., for transcription factor targets).

20 An exemplary assay for determining sirtuin activity is a fluorescence polarization assay. Fluorescence polarization assays are described herein and are also described in PCT Publication No. WO 2006/094239. In other embodiments, sirtuin activity may be determined using a mass spectrometry based assays. Examples of mass spectrometry based assays are described herein and are also
25 described in PCT Publication No. WO 2007/064902. Cell based assays may also be used to determine sirtuin activity. Examples of cell based assays for determining sirtuin activity are described in PCT Publication Nos. WO 2007/064902 and WO 2008/060400.

Yet other methods contemplated herein include screening methods for
30 identifying compounds or agents that modulate sirtuins. An agent may be a nucleic acid, such as an aptamer. Assays may be conducted in a cell based or cell free format. For example, an assay may comprise incubating (or contacting) a sirtuin

with a test agent under conditions in which a sirtuin can be modulated by an agent known to modulate the sirtuin, and monitoring or determining the level of modulation of the sirtuin in the presence of the test agent relative to the absence of the test agent. The level of modulation of a sirtuin can be determined by determining its ability to deacetylate a substrate. Exemplary substrates are acetylated peptides which can be obtained from BIOMOL (Plymouth Meeting, PA). Preferred substrates include peptides of p53, such as those comprising an acetylated K382. A particularly preferred substrate is the Fluor de Lys-SIRT1 (BIOMOL), i.e., the acetylated peptide Arg-His-Lys-Lys. Other substrates are peptides from human histones H3 and H4 or an acetylated amino acid. Substrates may be fluorogenic. The sirtuin may be SIRT1, Sir2, SIRT3, or a portion thereof. For example, recombinant SIRT1 can be obtained from BIOMOL. The reaction may be conducted for about 30 minutes and stopped, e.g., with nicotinamide. The HDAC fluorescent activity assay/drug discovery kit (AK-500, BIOMOL Research Laboratories) may be used to determine the level of acetylation. Similar assays are described in Bitterman et al. (2002) J. Biol. Chem. 277:45099. The level of modulation of the sirtuin in an assay may be compared to the level of modulation of the sirtuin in the presence of one or more (separately or simultaneously) compounds described herein, which may serve as positive or negative controls. Sirtuins for use in the assays may be full length sirtuin proteins or portions thereof. Since it has been shown herein that activating compounds appear to interact with the N-terminus of SIRT1, proteins for use in the assays include N-terminal portions of sirtuins, e.g., about amino acids 1-176 or 1-255 of SIRT1; about amino acids 1-174 or 1-252 of Sir2.

In one embodiment, a screening assay comprises (i) contacting a sirtuin with a test agent and an acetylated substrate under conditions appropriate for the sirtuin to deacetylate the substrate in the absence of the test agent ; and (ii) determining the level of acetylation of the substrate, wherein a lower level of acetylation of the substrate in the presence of the test agent relative to the absence of the test agent indicates that the test agent stimulates deacetylation by the sirtuin, whereas a higher level of acetylation of the substrate in the presence of the test agent relative to the absence of the test agent indicates that the test agent inhibits deacetylation by the sirtuin.

Methods for identifying an agent that modulates, e.g., stimulates, sirtuins *in vivo* may comprise (i) contacting a cell with a test agent and a substrate that is capable of entering a cell in the presence of an inhibitor of class I and class II HDACs under conditions appropriate for the sirtuin to deacetylate the substrate in the absence of the test agent ; and (ii) determining the level of acetylation of the substrate, wherein a lower level of acetylation of the substrate in the presence of the test agent relative to the absence of the test agent indicates that the test agent stimulates deacetylation by the sirtuin, whereas a higher level of acetylation of the substrate in the presence of the test agent relative to the absence of the test agent indicates that the test agent inhibits deacetylation by the sirtuin. A preferred substrate is an acetylated peptide, which is also preferably fluorogenic, as further described herein. The method may further comprise lysing the cells to determine the level of acetylation of the substrate. Substrates may be added to cells at a concentration ranging from about 1 μ M to about 10mM, preferably from about 10 μ M to 1mM, even more preferably from about 100 μ M to 1mM, such as about 200 μ M. A preferred substrate is an acetylated lysine, e.g., ϵ -acetyl lysine (Fluor de Lys, FdL) or Fluor de Lys-SIRT1. A preferred inhibitor of class I and class II HDACs is trichostatin A (TSA), which may be used at concentrations ranging from about 0.01 to 100 μ M, preferably from about 0.1 to 10 μ M, such as 1 μ M. Incubation of cells with the test compound and the substrate may be conducted for about 10 minutes to 5 hours, preferably for about 1-3 hours. Since TSA inhibits all class I and class II HDACs, and that certain substrates, e.g., Fluor de Lys, is a poor substrate for SIRT2 and even less a substrate for SIRT3-7, such an assay may be used to identify modulators of SIRT1 *in vivo*.

25

5. Pharmaceutical Compositions

The sirtuin-modulating compounds described herein may be formulated in a conventional manner using one or more physiologically acceptable carriers or excipients. For example, sirtuin-modulating compounds and their physiologically acceptable salts and solvates may be formulated for administration by, for example, injection (e.g. SubQ, IM, IP), inhalation or insufflation (either through the mouth or the nose) or oral, buccal, sublingual, transdermal, nasal, parenteral or rectal

administration. In one embodiment, a sirtuin-modulating compound may be administered locally, at the site where the target cells are present, i.e., in a specific tissue, organ, or fluid (e.g., blood, cerebrospinal fluid, etc.).

Sirtuin-modulating compounds can be formulated for a variety of modes of administration, including systemic and topical or localized administration. Techniques and formulations generally may be found in Remington's Pharmaceutical Sciences, Meade Publishing Co., Easton, PA. For parenteral administration, injection is preferred, including intramuscular, intravenous, intraperitoneal, and subcutaneous. For injection, the compounds can be formulated in liquid solutions, preferably in physiologically compatible buffers such as Hank's solution or Ringer's solution. In addition, the compounds may be formulated in solid form and redissolved or suspended immediately prior to use. Lyophilized forms are also included.

For oral administration, the pharmaceutical compositions may take the form of, for example, tablets, lozenges, or capsules prepared by conventional means with pharmaceutically acceptable excipients such as binding agents (e.g., pregelatinised maize starch, polyvinylpyrrolidone or hydroxypropyl methylcellulose); fillers (e.g., lactose, microcrystalline cellulose or calcium hydrogen phosphate); lubricants (e.g., magnesium stearate, talc or silica); disintegrants (e.g., potato starch or sodium starch glycolate); or wetting agents (e.g., sodium lauryl sulphate). The tablets may be coated by methods well known in the art. Liquid preparations for oral administration may take the form of, for example, solutions, syrups or suspensions, or they may be presented as a dry product for constitution with water or other suitable vehicle before use. Such liquid preparations may be prepared by conventional means with pharmaceutically acceptable additives such as suspending agents (e.g., sorbitol syrup, cellulose derivatives or hydrogenated edible fats); emulsifying agents (e.g., lecithin or acacia); non-aqueous vehicles (e.g., ationd oil, oily esters, ethyl alcohol or fractionated vegetable oils); and preservatives (e.g., methyl or propyl-p-hydroxybenzoates or sorbic acid). The preparations may also contain buffer salts, flavoring, coloring and sweetening agents as appropriate. Preparations for oral administration may be suitably formulated to give controlled release of the active compound.

For administration by inhalation (e.g., pulmonary delivery), sirtuin-modulating compounds may be conveniently delivered in the form of an aerosol spray presentation from pressurized packs or a nebuliser, with the use of a suitable propellant, e.g., dichlorodifluoromethane, trichlorofluoromethane, 5 dichlorotetrafluoroethane, carbon dioxide or other suitable gas. In the case of a pressurized aerosol the dosage unit may be determined by providing a valve to deliver a metered amount. Capsules and cartridges of e.g., gelatin, for use in an inhaler or insufflator may be formulated containing a powder mix of the compound and a suitable powder base such as lactose or starch.

- 10 Sirtuin-modulating compounds may be formulated for parenteral administration by injection, e.g., by bolus injection or continuous infusion. Formulations for injection may be presented in unit dosage form, e.g., in ampoules or in multi-dose containers, with an added preservative. The compositions may take such forms as suspensions, solutions or emulsions in oily or aqueous vehicles, and 15 may contain formulatory agents such as suspending, stabilizing and/or dispersing agents. Alternatively, the active ingredient may be in powder form for constitution with a suitable vehicle, e.g., sterile pyrogen-free water, before use.

- Sirtuin-modulating compounds may also be formulated in rectal compositions such as suppositories or retention enemas, e.g., containing 20 conventional suppository bases such as cocoa butter or other glycerides.

- In addition to the formulations described previously, sirtuin-modulating compounds may also be formulated as a depot preparation. Such long acting formulations may be administered by implantation (for example subcutaneously or intramuscularly) or by intramuscular injection. Thus, for example, sirtuin- 25 modulating compounds may be formulated with suitable polymeric or hydrophobic materials (for example as an emulsion in an acceptable oil) or ion exchange resins, or as sparingly soluble derivatives, for example, as a sparingly soluble salt. Controlled release formula also includes patches.

- In certain embodiments, the compounds described herein can be formulated 30 for delivery to the central nervous system (CNS) (reviewed in Begley, Pharmacology & Therapeutics 104: 29-45 (2004)). Conventional approaches for drug delivery to the CNS include: neurosurgical strategies (e.g., intracerebral

injection or intracerebroventricular infusion); molecular manipulation of the agent (e.g., production of a chimeric fusion protein that comprises a transport peptide that has an affinity for an endothelial cell surface molecule in combination with an agent that is itself incapable of crossing the BBB) in an attempt to exploit one of the
5 endogenous transport pathways of the BBB; pharmacological strategies designed to increase the lipid solubility of an agent (e.g., conjugation of water-soluble agents to lipid or cholesterol carriers); and the transitory disruption of the integrity of the BBB by hyperosmotic disruption (resulting from the infusion of a mannitol solution into the carotid artery or the use of a biologically active agent such as an angiotensin
10 peptide).

Liposomes are a further drug delivery system which is easily injectable. Accordingly, in the method of invention the active compounds can also be administered in the form of a liposome delivery system. Liposomes are well-known by a person skilled in the art. Liposomes can be formed from a variety of
15 phospholipids, such as cholesterol, stearylamine or phosphatidylcholines. Liposomes being usable for the method of invention encompass all types of liposomes including, but not limited to, small unilamellar vesicles, large unilamellar vesicles and multilamellar vesicles.

Another way to produce a formulation, particularly a solution, of a sirtuin
20 modulator such as resveratrol or a derivative thereof, is through the use of cyclodextrin. By cyclodextrin is meant α -, β -, or γ -cyclodextrin. Cyclodextrins are described in detail in Pitha et al., U.S. Pat. No. 4,727,064, which is incorporated herein by reference. Cyclodextrins are cyclic oligomers of glucose; these compounds form inclusion complexes with any drug whose molecule can fit into the lipophile-
25 seeking cavities of the cyclodextrin molecule.

Rapidly disintegrating or dissolving dosage forms are useful for the rapid absorption, particularly buccal and sublingual absorption, of pharmaceutically active agents. Fast melt dosage forms are beneficial to patients, such as aged and pediatric patients, who have difficulty in swallowing typical solid dosage forms, such as
30 caplets and tablets. Additionally, fast melt dosage forms circumvent drawbacks associated with, for example, chewable dosage forms, wherein the length of time an

active agent remains in a patient's mouth plays an important role in determining the amount of taste masking and the extent to which a patient may object to throat grittiness of the active agent.

Pharmaceutical compositions (including cosmetic preparations) may
5 comprise from about 0.00001 to 100% such as from 0.001 to 10% or from 0.1% to 5% by weight of one or more sirtuin-modulating compounds described herein.

In one embodiment, a sirtuin-modulating compound described herein, is incorporated into a topical formulation containing a topical carrier that is generally suited to topical drug administration and comprising any such material known in
10 the art. The topical carrier may be selected so as to provide the composition in the desired form, e.g., as an ointment, lotion, cream, microemulsion, gel, oil, solution, or the like, and may be comprised of a material of either naturally occurring or synthetic origin. It is preferable that the selected carrier not adversely affect the active agent or other components of the topical formulation. Examples of suitable
15 topical carriers for use herein include water, alcohols and other nontoxic organic solvents, glycerin, mineral oil, silicone, petroleum jelly, lanolin, fatty acids, vegetable oils, parabens, waxes, and the like.

Formulations may be colorless, odorless ointments, lotions, creams, microemulsions and gels.

20 Sirtuin-modulating compounds may be incorporated into ointments, which generally are semisolid preparations which are typically based on petrolatum or other petroleum derivatives. The specific ointment base to be used, as will be appreciated by those skilled in the art, is one that will provide for optimum drug delivery, and, preferably, will provide for other desired characteristics as well, e.g.,
25 emolliency or the like. As with other carriers or vehicles, an ointment base should be inert, stable, nonirritating and nonsensitizing.

Sirtuin-modulating compounds may be incorporated into lotions, which generally are preparations to be applied to the skin surface without friction, and are typically liquid or semiliquid preparations in which solid particles, including the
30 active agent, are present in a water or alcohol base. Lotions are usually suspensions of solids, and may comprise a liquid oily emulsion of the oil-in-water type.

Sirtuin-modulating compounds may be incorporated into creams, which generally are viscous liquid or semisolid emulsions, either oil-in-water or water-in-oil. Cream bases are water-washable, and contain an oil phase, an emulsifier and an aqueous phase. The oil phase is generally comprised of petrolatum and a fatty alcohol such as cetyl or stearyl alcohol; the aqueous phase usually, although not necessarily, exceeds the oil phase in volume, and generally contains a humectant. The emulsifier in a cream formulation, as explained in Remington 's, *supra*, is generally a nonionic, anionic, cationic or amphoteric surfactant.

Sirtuin-modulating compounds may be incorporated into microemulsions, which generally are thermodynamically stable, isotropically clear dispersions of two immiscible liquids, such as oil and water, stabilized by an interfacial film of surfactant molecules (Encyclopedia of Pharmaceutical Technology (New York: Marcel Dekker, 1992), volume 9).

Sirtuin-modulating compounds may be incorporated into gel formulations, which generally are semisolid systems consisting of either suspensions made up of small inorganic particles (two-phase systems) or large organic molecules distributed substantially uniformly throughout a carrier liquid (single phase gels). Although gels commonly employ aqueous carrier liquid, alcohols and oils can be used as the carrier liquid as well.

Other active agents may also be included in formulations, e.g., other anti-inflammatory agents, analgesics, antimicrobial agents, antifungal agents, antibiotics, vitamins, antioxidants, and sunblock agents commonly found in sunscreen formulations including, but not limited to, anthranilates, benzophenones (particularly benzophenone-3), camphor derivatives, cinnamates (e.g., octyl methoxycinnamate), dibenzoyl methanes (e.g., butyl methoxydibenzoyl methane), p-aminobenzoic acid (PABA) and derivatives thereof, and salicylates (e.g., octyl salicylate).

In certain topical formulations, the active agent is present in an amount in the range of approximately 0.25 wt. % to 75 wt. % of the formulation, preferably in the range of approximately 0.25 wt. % to 30 wt. % of the formulation, more preferably in the range of approximately 0.5 wt. % to 15 wt. % of the formulation,

and most preferably in the range of approximately 1.0 wt. % to 10 wt. % of the formulation.

Conditions of the eye can be treated or prevented by, e.g., systemic, topical, intraocular injection of a sirtuin-modulating compound, or by insertion of a sustained release device that releases a sirtuin-modulating compound. A sirtuin-modulating compound that increases the level and/or activity of a sirtuin protein may be delivered in a pharmaceutically acceptable ophthalmic vehicle, such that the compound is maintained in contact with the ocular surface for a sufficient time period to allow the compound to penetrate the corneal and internal regions of the eye, as for example the anterior chamber, posterior chamber, vitreous body, aqueous humor, vitreous humor, cornea, iris/ciliary, lens, choroid/retina and sclera. The pharmaceutically-acceptable ophthalmic vehicle may, for example, be an ointment, vegetable oil or an encapsulating material. Alternatively, the compounds of the invention may be injected directly into the vitreous and aqueous humour. In a further alternative, the compounds may be administered systemically, such as by intravenous infusion or injection, for treatment of the eye.

Sirtuin-modulating compounds described herein may be stored in oxygen free environment. For example, resveratrol or analog thereof can be prepared in an airtight capsule for oral administration, such as Capsugel from Pfizer, Inc.

Cells, e.g., treated *ex vivo* with a sirtuin-modulating compound, can be administered according to methods for administering a graft to a subject, which may be accompanied, e.g., by administration of an immunosuppressant drug, e.g., cyclosporin A. For general principles in medicinal formulation, the reader is referred to Cell Therapy: Stem Cell Transplantation, Gene Therapy, and Cellular Immunotherapy, by G. Morstyn & W. Sheridan eds, Cambridge University Press, 1996; and Hematopoietic Stem Cell Therapy, E. D. Ball, J. Lister & P. Law, Churchill Livingstone, 2000.

Toxicity and therapeutic efficacy of sirtuin-modulating compounds can be determined by standard pharmaceutical procedures in cell cultures or experimental animals. The LD₅₀ is the dose lethal to 50% of the population. The ED₅₀ is the dose therapeutically effective in 50% of the population. The dose ratio between toxic and therapeutic effects (LD₅₀/ED₅₀) is the therapeutic index. Sirtuin-modulating

compounds that exhibit large therapeutic indexes are preferred. While sirtuin-modulating compounds that exhibit toxic side effects may be used, care should be taken to design a delivery system that targets such compounds to the site of affected tissue in order to minimize potential damage to uninfected cells and, thereby,
5 reduce side effects.

The data obtained from the cell culture assays and animal studies can be used in formulating a range of dosage for use in humans. The dosage of such compounds may lie within a range of circulating concentrations that include the ED₅₀ with little or no toxicity. The dosage may vary within this range depending upon the dosage
10 form employed and the route of administration utilized. For any compound, the therapeutically effective dose can be estimated initially from cell culture assays. A dose may be formulated in animal models to achieve a circulating plasma concentration range that includes the IC₅₀ (i.e., the concentration of the test compound that achieves a half-maximal inhibition of symptoms) as determined in
15 cell culture. Such information can be used to more accurately determine useful doses in humans. Levels in plasma may be measured, for example, by high performance liquid chromatography.

6. Kits

Also provided herein are kits, e.g., kits for therapeutic purposes or kits for
20 modulating the lifespan of cells or modulating apoptosis. A kit may comprise one or more sirtuin-modulating compounds, e.g., in premeasured doses. A kit may optionally comprise devices for contacting cells with the compounds and instructions for use. Devices include syringes, stents and other devices for
25 introducing a sirtuin-modulating compound into a subject (e.g., the blood vessel of a subject) or applying it to the skin of a subject.

In yet another embodiment, the invention provides a composition of matter comprising a sirtuin modulator of this invention and another therapeutic agent (the same ones used in combination therapies and combination compositions) in
30 separate dosage forms, but associated with one another. The term "associated with one another" as used herein means that the separate dosage forms are packaged together or otherwise attached to one another such that it is readily apparent that the

separate dosage forms are intended to be sold and administered as part of the same regimen. The agent and the sirtruin modulator are preferably packaged together in a blister pack or other multi-chamber package, or as connected, separately sealed containers (such as foil pouches or the like) that can be separated by the user (e.g.,
5 by tearing on score lines between the two containers).

In still another embodiment, the invention provides a kit comprising in separate vessels, a) a sirtruin modulator of this invention; and b) another another therapeutic agent such as those described elsewhere in the specification.

The practice of the present methods will employ, unless otherwise indicated,
10 conventional techniques of cell biology, cell culture, molecular biology, transgenic biology, microbiology, recombinant DNA, and immunology, which are within the skill of the art. Such techniques are explained fully in the literature. See, for example, Molecular Cloning A Laboratory Manual, 2nd Ed., ed. by Sambrook, Fritsch and Maniatis (Cold Spring Harbor Laboratory Press: 1989); DNA Cloning,
15 Volumes I and II (D. N. Glover ed., 1985); Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait ed., 1984); Mullis et al. U.S. Patent 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
20 Practical Guide To Molecular Cloning (1984); the treatise, Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.); Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells (J. H. Miller and M. P. Calos eds., 1987, Cold Spring Harbor Laboratory); Methods In Enzymology, Vols. 154 and 155 (Wu et al. eds.), Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Mayer and Walker, eds., Academic Press, London, 1987);
25 Handbook Of Experimental Immunology, Volumes I-IV (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds., 1986); Manipulating the Mouse Embryo, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1986).

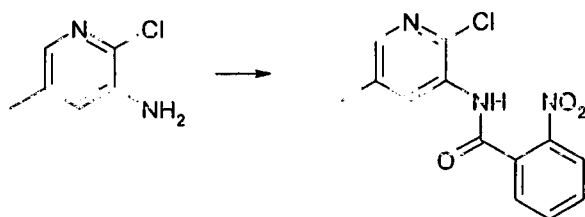
EXEMPLIFICATION

30 The invention now being generally described, it will be more readily understood by reference to the following examples which are included merely for

purposes of illustration of certain aspects and embodiments of the present invention, and are not intended to limit the invention in any way.

Example 1

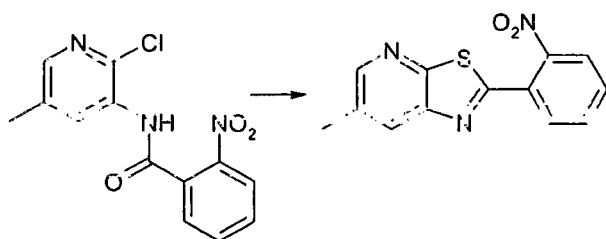
5 Preparation of N-(2-chloro-5-methylpyridin-3-yl)-2-nitrobenzamide:



To a solution of 5-amino-6-chloro-3-methylpyridine (9.54 g, 66.9 mmol) in pyridine (200 mL) was added 2-nitrobenzoyl chloride (13.65 g, 73.6 mmol) dropwise at 0 °C. The resulting mixture was stirred at room temperature (18 h). The dark mixture was then diluted with water (1500 mL) and sat. sodium bicarbonate solution was added until the pH reached 8. The precipitate was collected by filtration, rinsed with water (30 mL $\times$ 3) and dried to afford N-(2-chloro-5-methylpyridin-3-yl)-2-nitrobenzamide as a pale solid (17.70 g, yield: 91%).

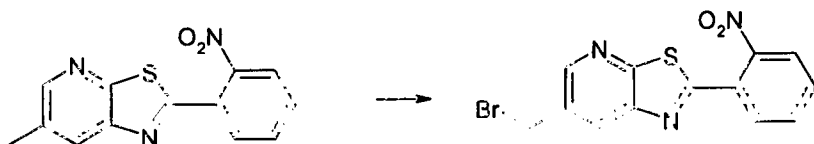
15

Preparation of 6-methyl-2-(2-nitrophenyl)thiazolo[5,4-b]pyridine:



A mixture of N-(2-chloro-5-methylpyridin-3-yl)-2-nitrobenzamide (5.0 g, 17.1 mmol) and P_2S_5 (7.6 g, 34.2 mmol) in pyridine (50 mL) and *p*-xylene (200 mL) was stirred at 140 °C (20 h). The solvent was removed in *vacuo*. The residue was purified by recrystallization from EtOH to afford 6-methyl-2-(2-nitrophenyl)thiazolo[5,4-b]pyridine as a yellow solid (3.5 g, yield: 75%).

Preparation of 6-(bromomethyl)-2-(2-nitrophenyl)thiazolo[5,4-b]pyridine:

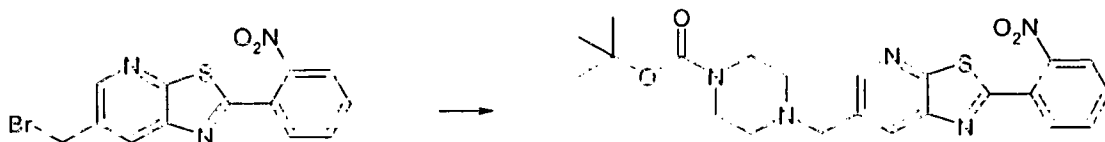


5 6-Methyl-2-(2-nitrophenyl)thiazolo[5,4-b]pyridine (2.9 g, 10.7 mmol), N-bromosuccinimide (NBS, 1.91 g, 10.7 mmol), CCl_4 (200 mL) and benzoyl peroxide (0.021 g) were combined in a three-neck flask (500 mL) under argon. The resulting yellow mixture was stirred at reflux (2 h). Additional NBS (1.91 g) and benzoyl peroxide (0.021 g) were added. After an additional 2 h at reflux, NBS (0.95 g) and benzoyl peroxide (0.021 g) were again added and the mixture was refluxed for 3 h.

10 The mixture was allowed to cool to room temperature and concentrated in *vacuo* to afford crude 6-(bromomethyl)-2-(2-nitrophenyl)thiazolo[5,4-b]pyridine (4.0 g), which was taken directly to the next step.

Preparation of *tert*-butyl 4-((2-(2-nitrophenyl)thiazolo[5,4-b]pyridin-6-yl)methyl)piperazine-1-carboxylate:

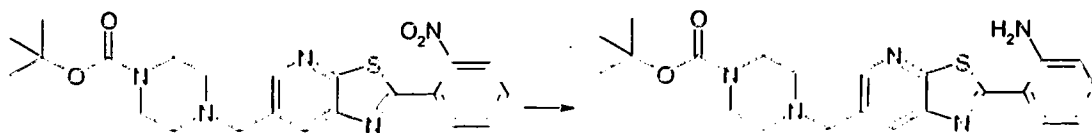
15 **yl)methyl)piperazine-1-carboxylate:**



20 A solution of crude 6-(bromomethyl)-2-(2-nitrophenyl)thiazolo[5,4-b]pyridine (4.0 g), Boc-piperazine (1.99 g, 10.7 mmol), triethylamine (Et_3N) (1.5 mL, 10.7 mmol) and acetonitrile (100 mL) was stirred at 50 °C (4 h) and then at room temperature (60 h). TLC demonstrated that the reaction was complete. The mixture was concentrated in *vacuo* and purified by silica gel chromatography

25 (petroleum ether : ethyl acetate : Et_3N = 100 : 10 : 1) to afford *tert*-butyl 4-((2-(2-nitrophenyl)thiazolo[5,4-b]pyridin-6-yl)methyl)piperazine-1-carboxylate as a yellow solid (3.6 g, yield: 74% over 2 steps).

Preparation of *tert*-butyl 4-((2-(2-aminophenyl)thiazolo[5,4-*b*]pyridin-6-yl)methyl)piperazine-1-carboxylate:



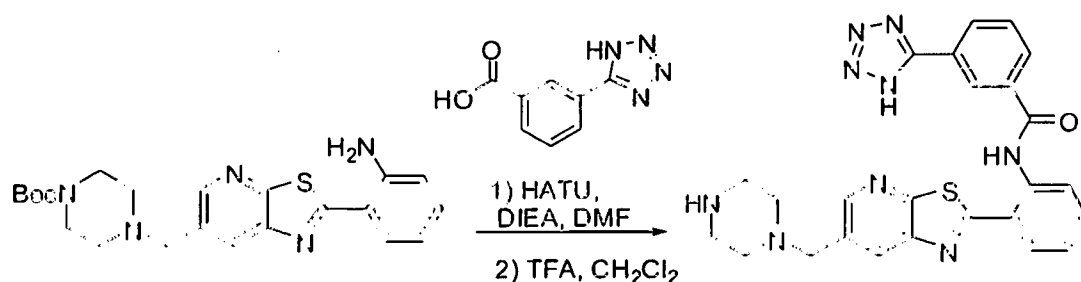
5

A mixture of *tert*-butyl 4-((2-(2-nitrophenyl)thiazolo[5,4-*b*]pyridin-6-yl)methyl)piperazine-1-carboxylate (2.13 g, 4.7 mmol), NH_4Cl (2.00 g, 37 mmol), iron powder (1.31 g, 23.5 mmol), H_2O (40 mL) and methanol (160 mL) was refluxed for 3 h under N_2 . The reaction mixture was filtered, and the filtrate was concentrated in *vacuo* and purified by silica gel chromatography (petroleum ether : ethyl acetate : Et_3N = 800 : 200 : 1) to afford *tert*-butyl 4-((2-(2-aminophenyl)thiazolo[5,4-*b*]pyridin-6-yl)methyl)piperazine-1-carboxylate as a yellow solid (1.63 g, yield: 81%).

15 The aniline intermediates for compounds 1-6, 11-43, 45, 47-61, 65, 67-68, 72, 74-75, 77-88, 90, 92-122, 127-130 were prepared in an analogous manner as that outlined above, using appropriate amine reagents.

Preparation of *N*-(2-(6-(piperazin-1-ylmethyl)thiazolo[5,4-*b*]pyridin-2-yl)phenyl)-3-(1*H*-tetrazol-5-yl)benzamide:

20



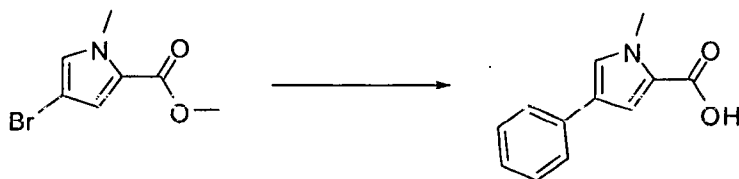
tert-Butyl 4-((2-(2-aminophenyl)thiazolo[5,4-b]pyridin-6-yl)methyl)piperazine-1-carboxylate (85 mg, 0.2 mmol) was taken up in 3 mL of DMF along with 3-(1H-tetrazol-5-yl)benzoic acid (38 mg, 0.2 mmol), HATU (114 mg, 0.3 mmol) and DIEA (35 mL, 0.4 mmol). The reaction mixture was stirred at 50 °C (18 h). It was then diluted with EtOAc (15 mL) and washed with water (3 mL x 3). The organic layer was dried (Na₂SO₄) and concentrated in *vacuo* to afford crude *tert*-butyl 4-((2-(2-(3-(1H-tetrazol-5-yl)benzamido)phenyl)thiazolo[5,4-b]pyridin-6-yl)methyl)piperazine-1-carboxylate. This material was taken up in 5 mL of 25% TFA in CH₂Cl₂ and was allowed to stand at room temperature (18 h).

The reaction mixture was concentrated in *vacuo* and the resulting residue was purified by reverse-phase HPLC to afford 12 mg of N-(2-(6-(piperazin-1-ylmethyl)thiazolo[5,4-b]pyridin-2-yl)phenyl)-3-(1H-tetrazol-5-yl)benzamide as a light yellow solid. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-d₆) δ 9.5 (br s, 2 H), 7.5-9.1 (m, 10 H), 4.5 (br s, 1 H), 3.5-4.0 (m, 10 H). MS (ESI) calcd for C₂₅H₂₃N₉OS (m/z): 497.17, found: 498.2 (M+1)⁺.

All of the compounds discussed in this patent were prepared in an analogous manner as that outlined above, using the appropriate acids. Those products which did not contain a BOC-protecting group did not proceed through the TFA deprotection step.

Example 2

Preparation of 1-methyl-4-phenyl-1H-pyrrole-2-carboxylic acid:



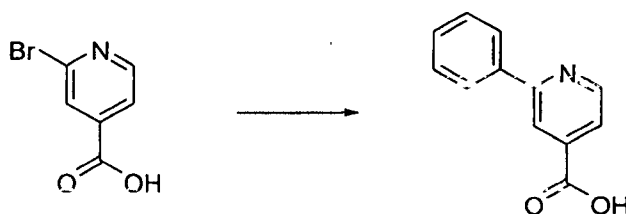
To a stirred solution of methyl-4-bromo-1-methyl-1H-pyrrole-2-carboxylate (2.5 g, 11.5 mmol) in DMF (35 mL) under argon were added sequentially Pd(PPh₃)₄ (0.66 g, 0.58 mmol) and phenyl boronic acid (3.46 g, 23.4 mmol). The reaction mixture was heated to 70°C, and Na₂CO₃ (11 g, 104 mmol) dissolved in water (30

mL) was added. The reaction mixture was heated to 110°C (14 h), cooled to room temperature, diluted with water (250 mL), and extracted with diethyl ether (250 mL x 3). The combined organic layers were dried and concentrated in *vacuo*. The residue was purified by silica chromatography (eluted with petroleum ether : ethyl acetate = 40:1) to afford methyl-1-methyl-4-phenyl-1H-pyrrole-2-carboxylate as a white crystalline solid (0.257 g).

The ester (0.26 g, 1.2 mmol) was then combined with LiOH/H₂O (0.15 g, 3.6 mmol) in THF (5 mL), CH₃OH (5 mL) and H₂O (2.5 mL) and was stirred at 40°C (4 h). Water (25 mL) was added and the mixture was washed with DCM (15 mL). The pH of the aqueous phase was adjusted to 5-7 using HCl (1N). The water was removed and the residue was dissolved in MeOH (100 mL) and then filtered. The filtrate was concentrated in *vacuo* to give 1-methyl-4-phenyl-1H-pyrrole-2-carboxylic acid as white solid. (0.419 g) ¹H-NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 4.01 (s, 3H), 7.16 (d, J=1.6 Hz, 1H), 7.23 (t, J=7.2 Hz, 1H), 7.38 (m, 3H), 7.53 (dd, J=7.2, 8.4 Hz, 2H)

Example 3

20 Preparation of 2-phenylisonicotinic acid:



2-Bromoisonicotinic acid (2.02 g, 10 mmol) was dissolved in DMF (80 mL) under argon. Pd(PPh₃)₄ (0.6 g, 0.52 mmol) was added, and the reaction mixture was stirred at room temperature for 15 min. Na₂CO₃ (aq. 2N, 40 mL) was then added, followed by the addition of phenylboronic acid (1.67 g, 13.7 mmol). The reaction mixture was heated at 95°C (18 h), cooled to room temperature and filtered through

a celite pad. Water (50 mL) was added, and the mixture was acidified with HCl (2 N) to pH = 4. The precipitate was collected via filtration and rinsed with water (2 x 7 mL). The crude product was recrystallized from 2-methoxyethanol to give 2-phenylisonicotinic acid as a grey solid (1.2 g). ¹HNMR (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 7.51 (m, 3H), 7.78 (d, J=4.8 Hz, 1H), 8.13 (t, J=1.6 Hz, 2H), 8.29 (s, 1H), 8.85 (d, J=4.8 Hz, 1H), 13.73 (bs, 1H).

Example 4

Biological activity

10 A mass spectrometry based assay was used to identify modulators of SIRT1 activity. The mass spectrometry based assay utilizes a peptide having 20 amino acid residues as follows: Ac-EE-K(biotin)-GQSTSSHSK(Ac)NleSTEG-K(5TMR)-EE-NH₂ (SEQ ID NO: 1) wherein K(Ac) is an acetylated lysine residue and Nle is a norleucine. The peptide is labeled with the fluorophore 5TMR (excitation 540
15 nm/emission 580 nm) at the C-terminus. The sequence of the peptide substrate is based on p53 with several modifications. In addition, the methionine residue naturally present in the sequence was replaced with the norleucine because the methionine may be susceptible to oxidation during synthesis and purification.

The mass spectrometry assay is conducted as follows: 0.5 μM peptide
20 substrate and 120 μM βNAD⁺ is incubated with 10 nM SIRT1 for 25 minutes at 25°C in a reaction buffer (50 mM Tris-acetate pH 8, 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 5 mM DTT, 0.05% BSA). Test compounds may be added to the reaction as described above. The SirT1 gene is cloned into a T7-promoter containing vector and transformed into BL21(DE3). After the 25 minute incubation
25 with SIRT1, 10 μL of 10% formic acid is added to stop the reaction. Reactions are sealed and frozen for later mass spec analysis. Determination of the mass of the substrate peptide allows for precise determination of the degree of acetylation (i.e. starting material) as compared to deacetylated peptide (product).

A control for inhibition of sirtuin activity is conducted by adding 1 μL of 500
30 mM nicotinamide as a negative control at the start of the reaction (e.g., permits determination of maximum sirtuin inhibition). A control for activation of sirtuin

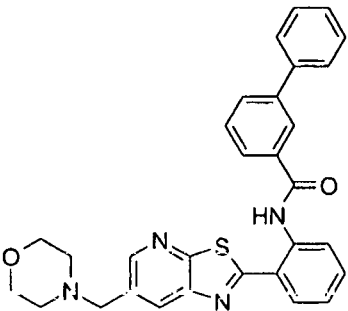
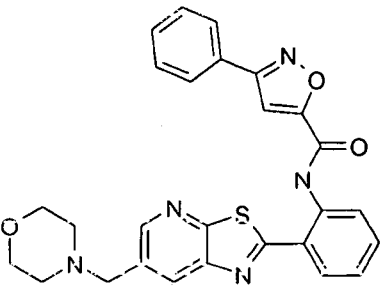
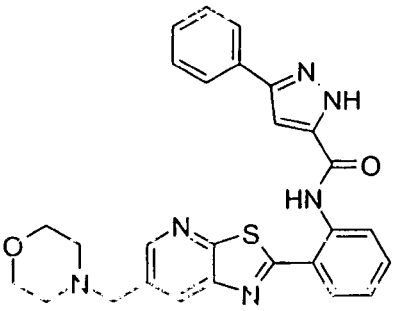
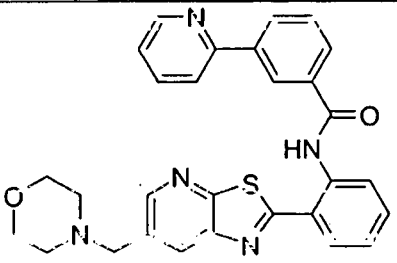
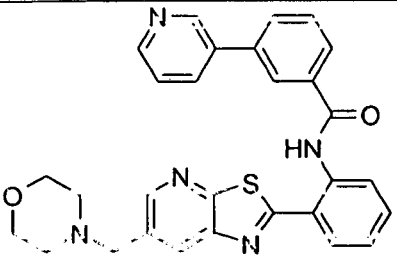
activity is conducted using 10 nM of sirtuin protein, with 1 μ L of DMSO in place of compound, to determine the amount of deacetylation of the substrate at a given timepoint within the linear range of the assay. This timepoint is the same as that used for test compounds and, within the linear range, the endpoint represents a change in velocity.

For the above assay, SIRT1 protein was expressed and purified as follows. The SirT1 gene was cloned into a T7-promoter containing vector and transformed into BL21(DE3). The protein was expressed by induction with 1 mM IPTG as an N-terminal His-tag fusion protein at 18°C overnight and harvested at 30,000 x g. Cells were lysed with lysozyme in lysis buffer (50 mM Tris-HCl, 2 mM Tris[2-carboxyethyl] phosphine (TCEP), 10 μ M ZnCl₂, 200 mM NaCl) and further treated with sonication for 10 min for complete lysis. The protein was purified over a Ni-NTA column (Amersham) and fractions containing pure protein were pooled, concentrated and run over a sizing column (Sephadex S200 26/60 global). The peak containing soluble protein was collected and run on an Ion-exchange column (MonoQ). Gradient elution (200 mM - 500 mM NaCl) yielded pure protein. This protein was concentrated and dialyzed against dialysis buffer (20 mM Tris-HCl, 2 mM TCEP) overnight. The protein was aliquoted and frozen at -80°C until further use.

Sirtuin modulating compounds that activated SIRT1 were identified using the assay described above and are shown below in Table 3. The EC_{1.5} values represent the concentration of test compounds that result in 150% activation of SIRT1. NT means that the compound was not tested using the indicated assay. NA means that the compound was not active in the indicated assay. The percent maximum fold activation of SIRT1 is also indicated in Table 3.

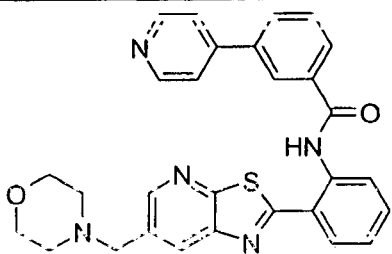
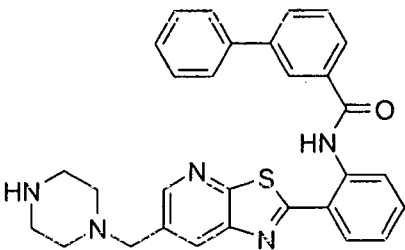
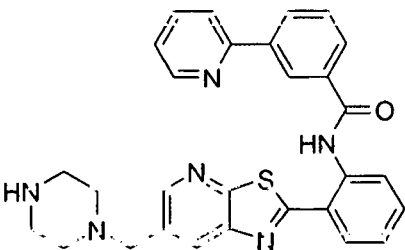
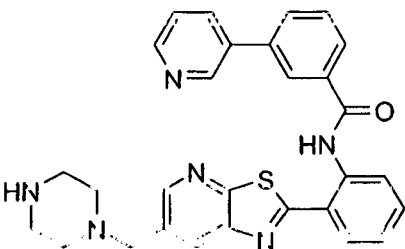
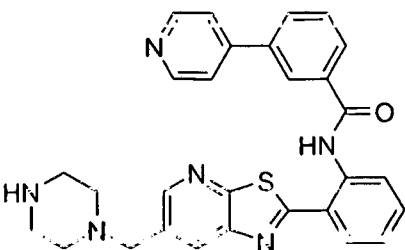
Table 3.

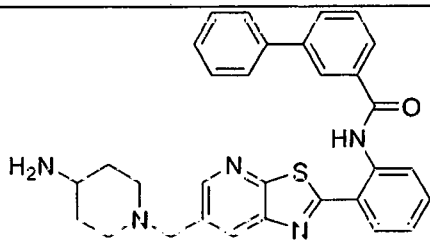
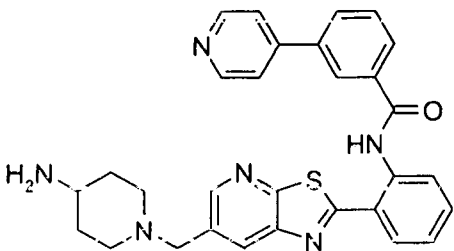
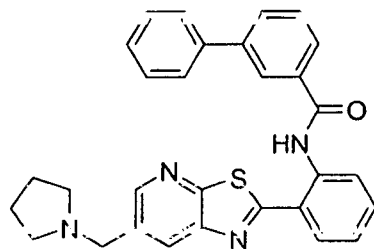
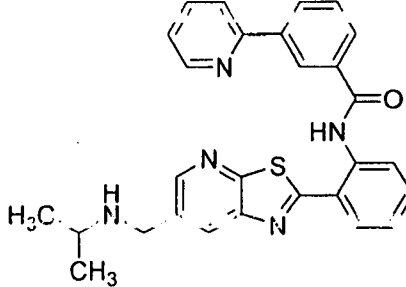
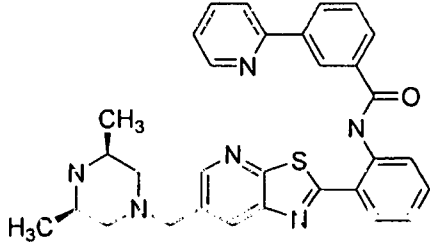
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} nM	% FOLD ACT.
----------------	--------------------	-----------	-------------------------	----------------

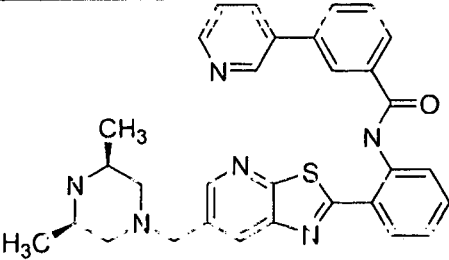
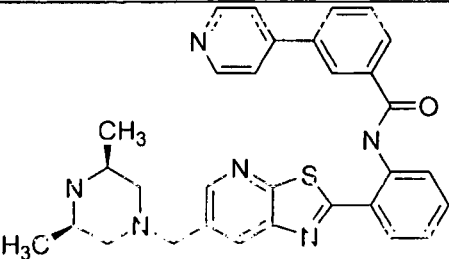
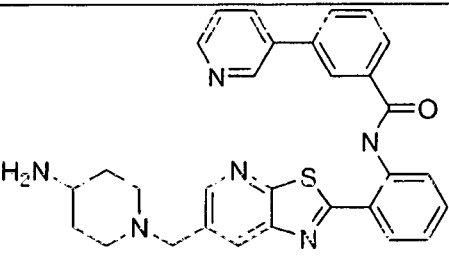
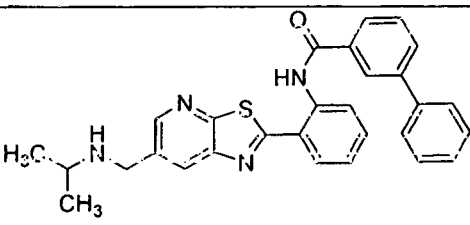
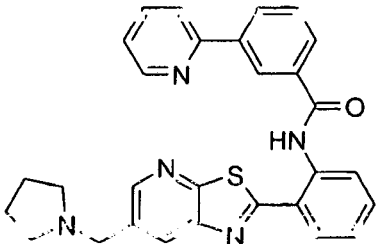
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} nM	% FOLD ACT.
1	507		233	241
2	498		NA	132
3	497		1620	246
4	508.1		504	321
5	508		665	281

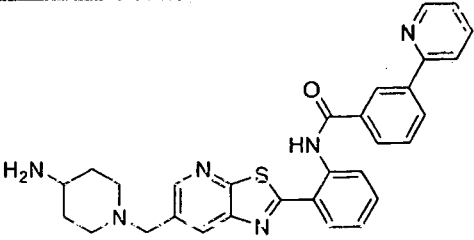
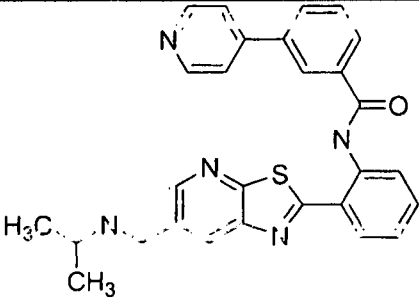
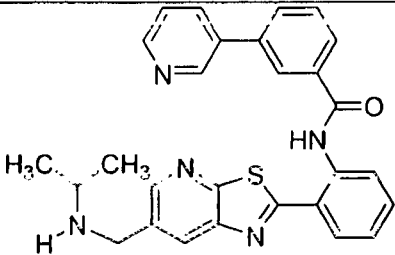
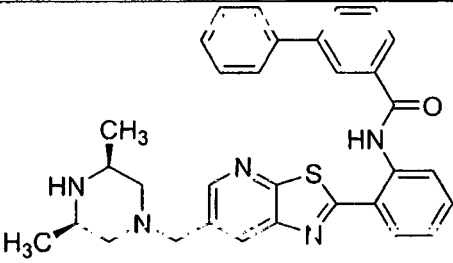
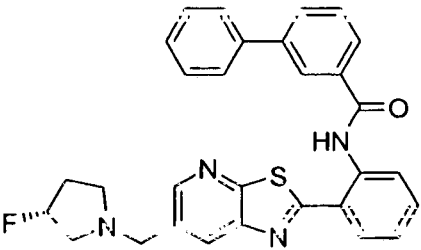
WO 2008/156869

PCT/US2008/007776

COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} nM	% FOLD ACT.
6	508		746	274
7	579		65	581
8	507		340	471
9	507		416	392
10	507		492	316

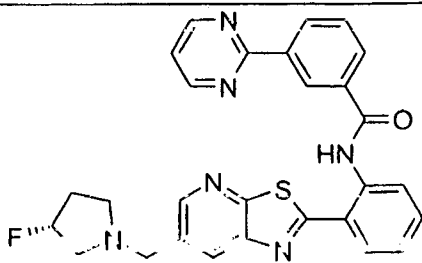
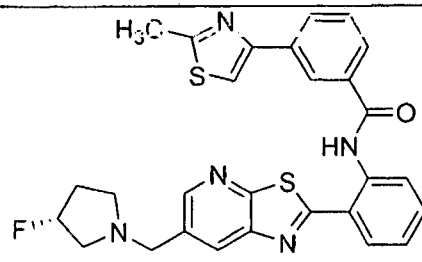
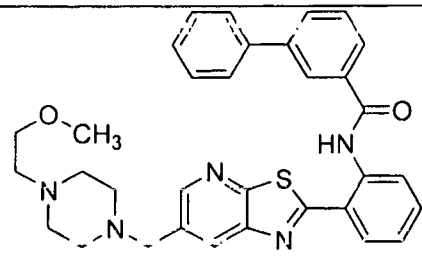
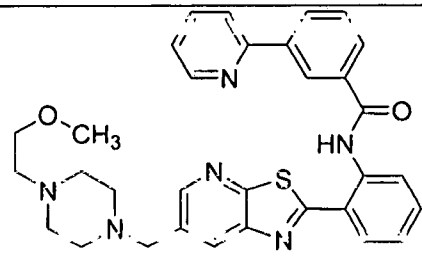
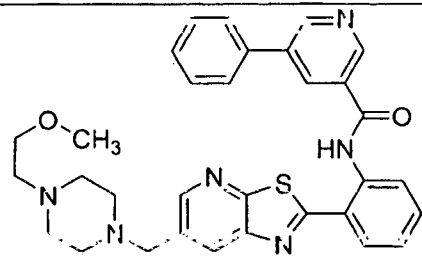
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} nM	% FOLD ACT.
11	520		78	578
12	521		249	550
13	491		584	252
14	480		937	381
15	535.1		627	531

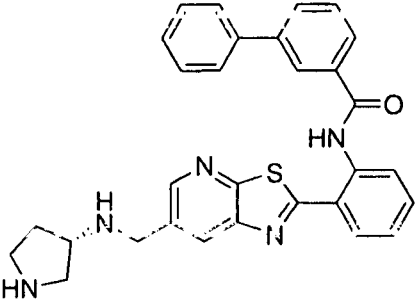
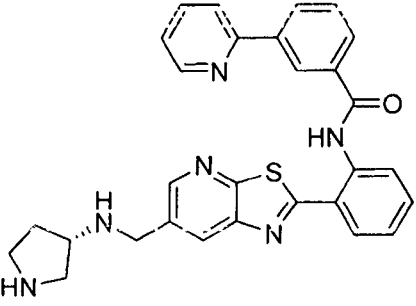
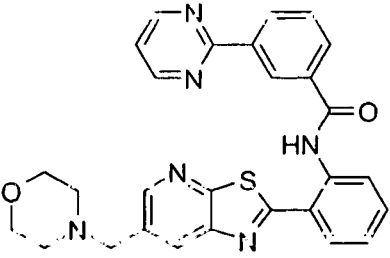
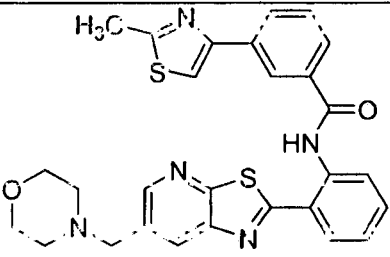
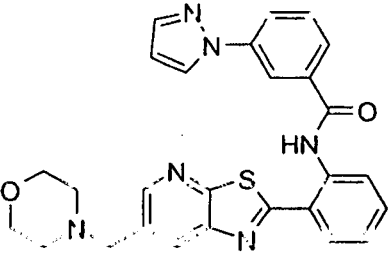
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} NM	% FOLD ACT.
16	535.2		674	405
17	535.3		683	360
18	521.2		620	457
19	479.2		722	198
20	492.2		687	224

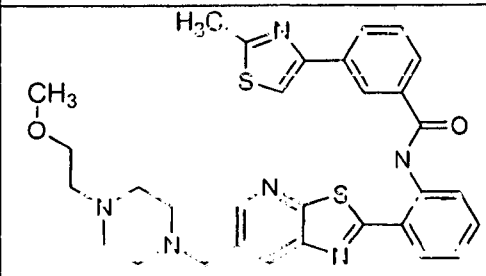
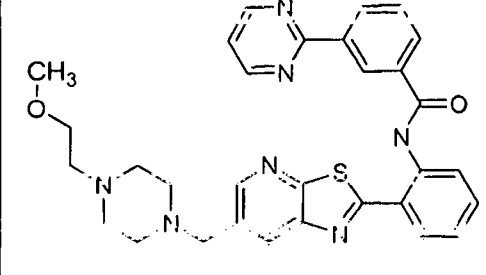
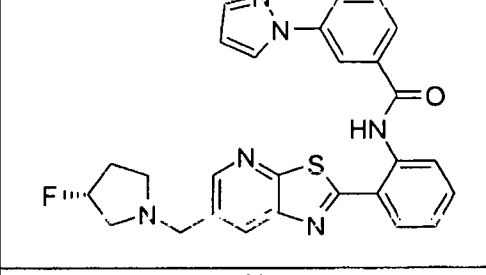
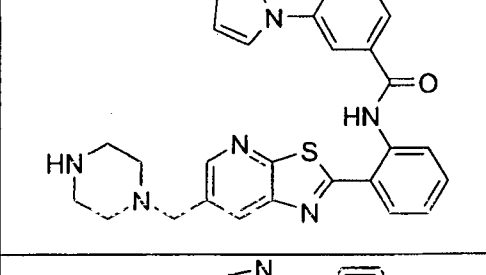
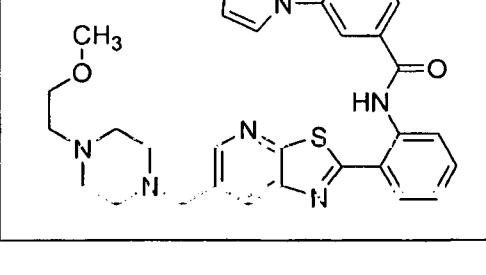
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} NM	% FOLD ACT.
21	521.2		162	906
22	480.2		2620	417
23	480.1		1950	241
24	534.2		94	299
25	509		469	203

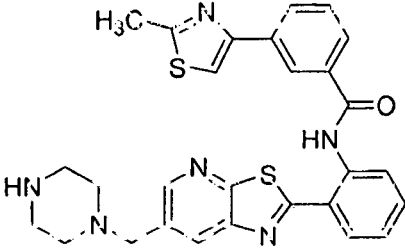
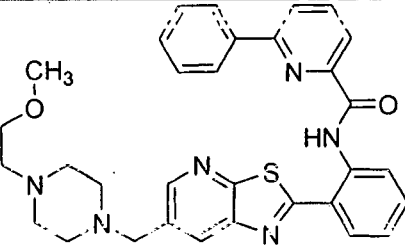
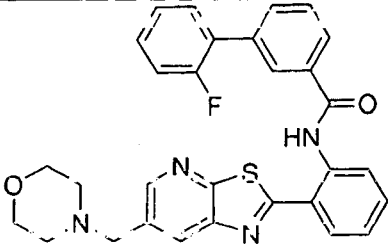
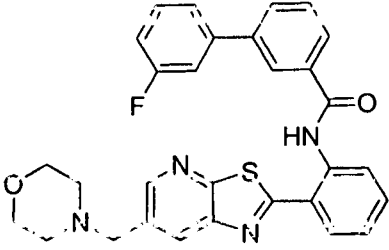
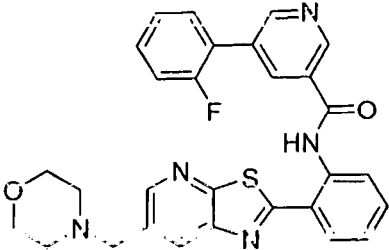
WO 2008/156869

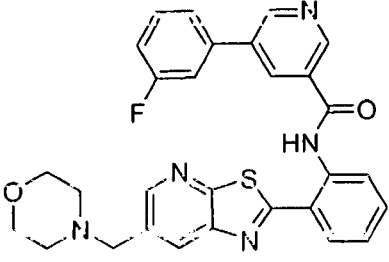
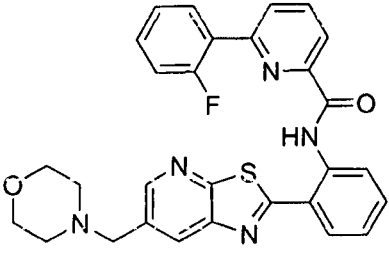
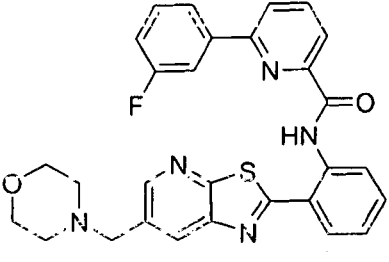
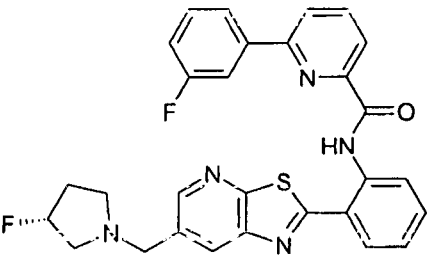
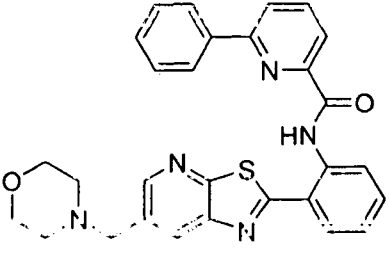
PCT/US2008/007776

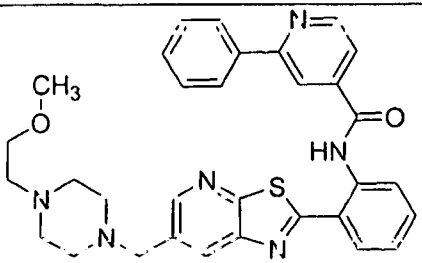
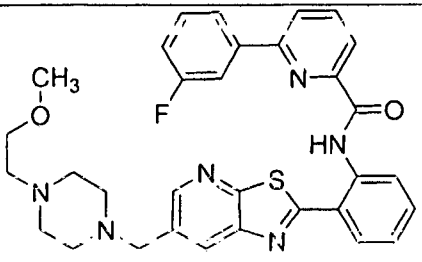
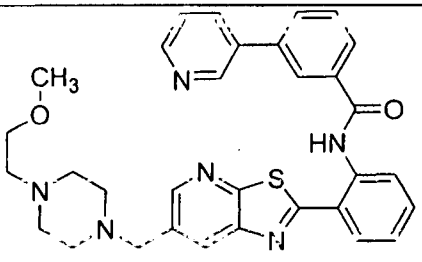
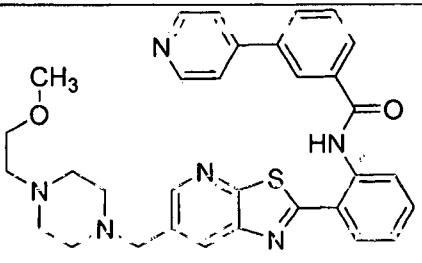
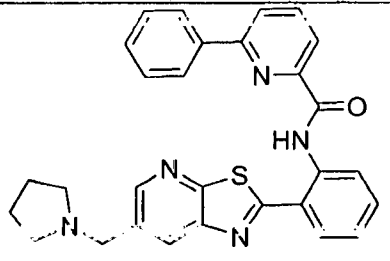
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} NM	% FOLD ACT.
31	511		1000	168
32	530		815	162
33	564.2		91	533
34	565.2		281	492
35	565.2		554	234

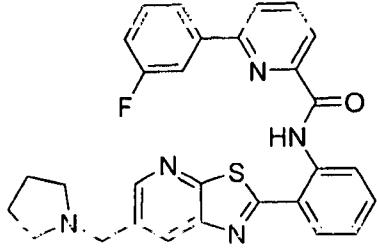
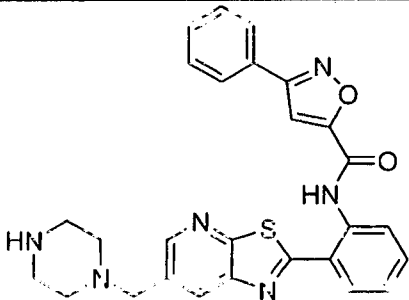
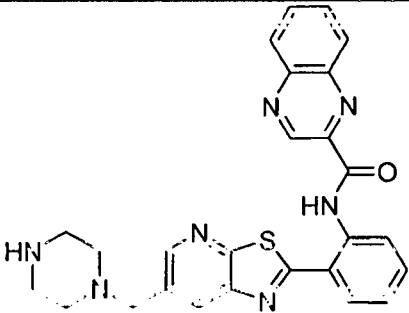
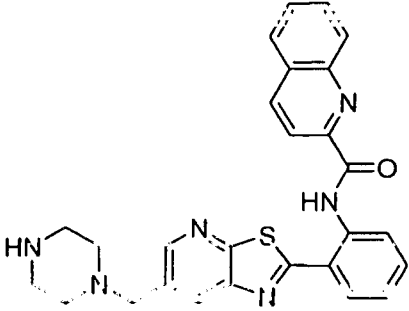
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} nM	% FOLD ACT.
36	506.1		NT	NT
37	507.1		507	422
38	509		548	292
39	528		400	241
40	497		182	397

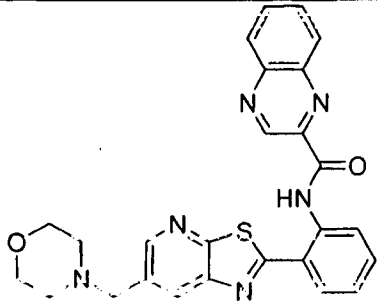
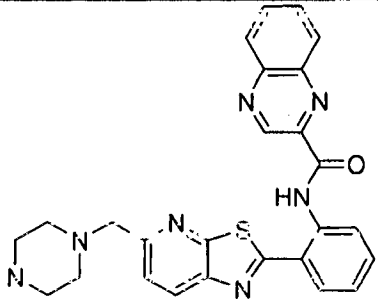
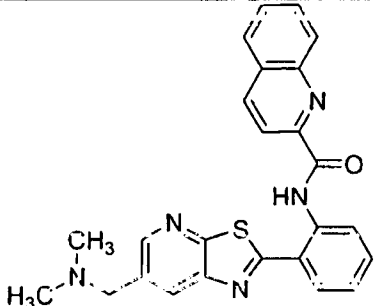
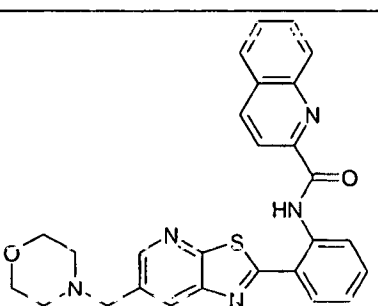
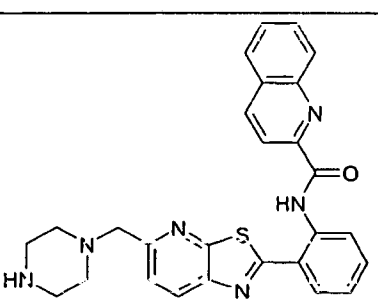
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} NM	% FOLD ACT.
41	585.2		652	275
42	566.2		656	212
43	499		215	236
44	496		397	603
45	554.2		144	569

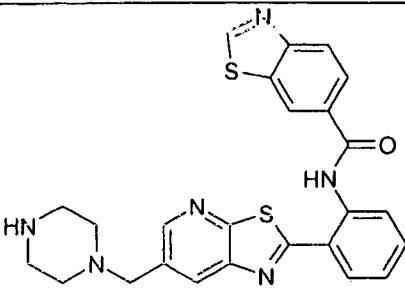
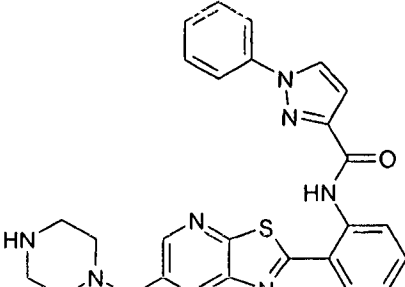
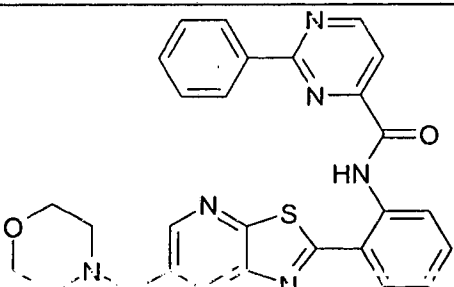
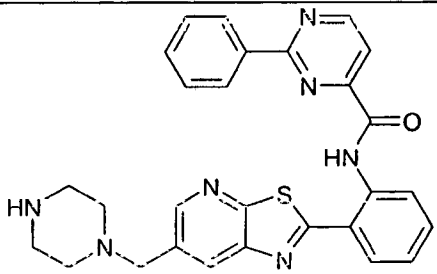
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} NM	% FOLD ACT.
46	527		503	446
47	565.2		82	1032
48	525.1		395	222
49	525.1		319	192
50	526.1		533	207

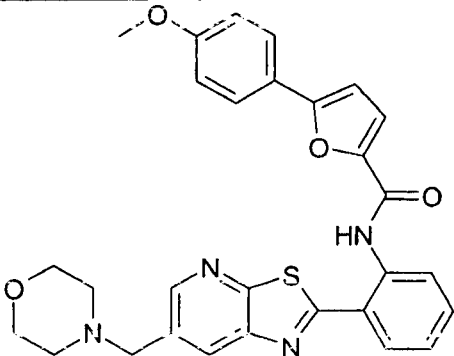
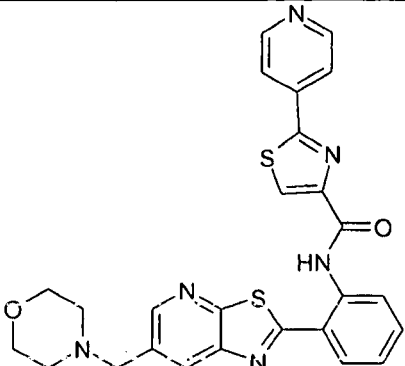
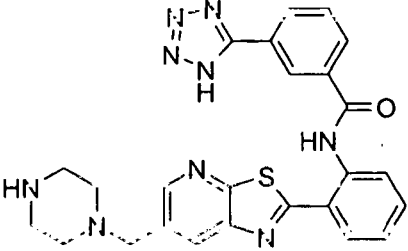
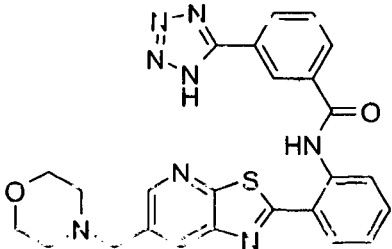
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} nM	% FOLD ACT.
51	526.1		1640	172
52	526.1		357	411
53	526.1		66	837
54	528.1		110	538
55	508.1		74	>500

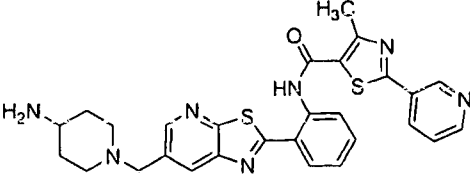
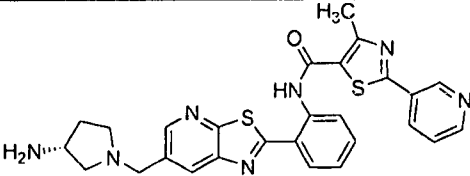
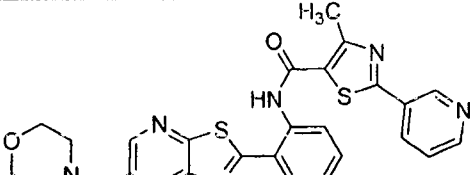
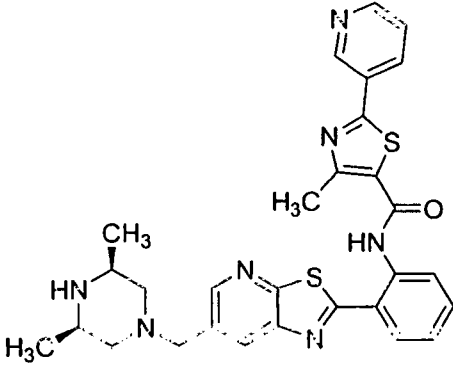
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} NM	% FOLD ACT.
56	565.2		458	389
57	583.2		41	>500
58	565.2		884	370
59	565.2		492	279
60	492.2		144	477

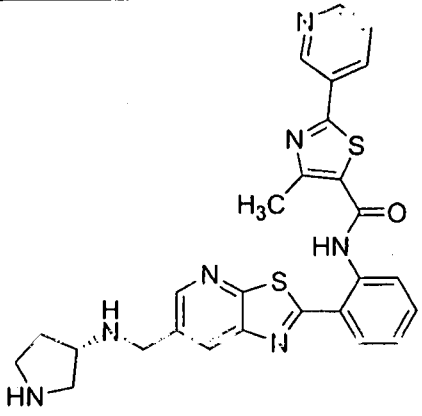
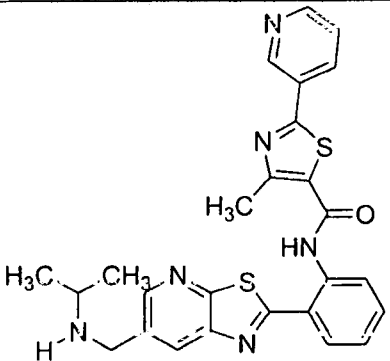
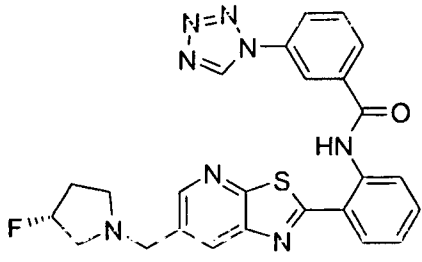
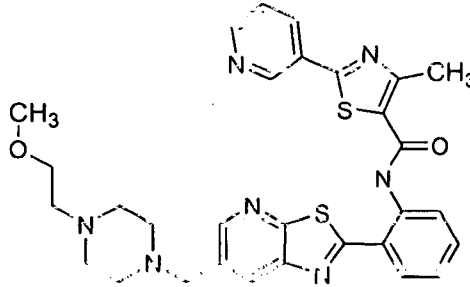
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} nM	% FOLD ACT.
61	510.2		78	>500
62	497		592	231
63	482		859	303
64	481		260	>500

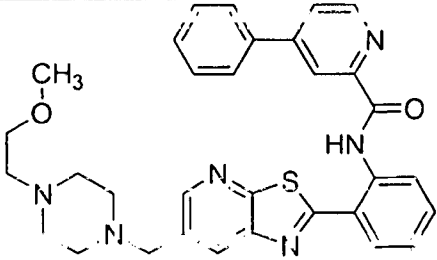
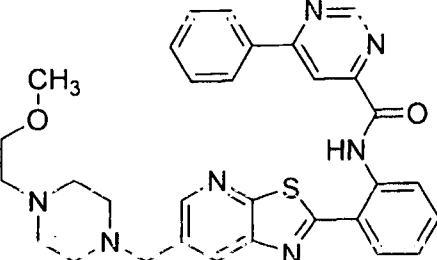
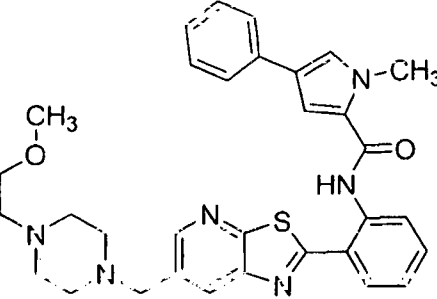
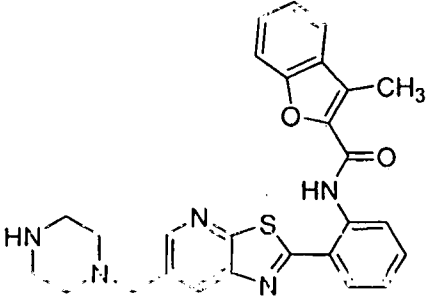
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} nM	% FOLD ACT.
65	483		NA	100
66	483		819	336
67	477		495	322
68	482		593	295
69	481		687	>500

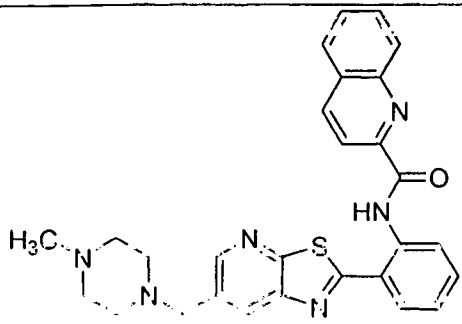
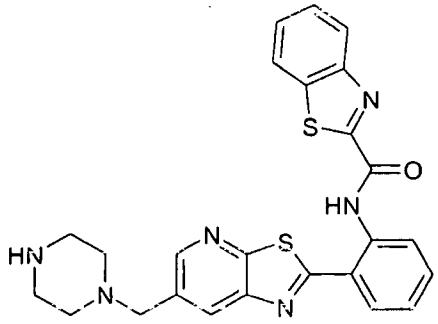
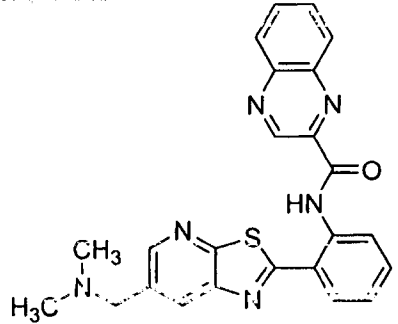
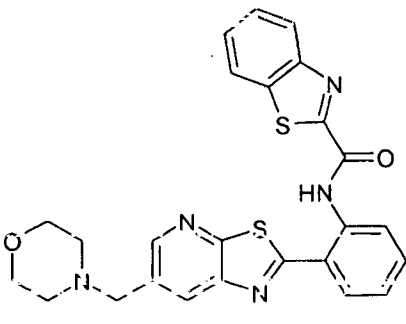
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} NM	% FOLD ACT.
70	438		2590	298
71	496		1460	304
72	509		NA	100
73	508		2970	183

COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} nM	% FOLD ACT.
74	527		421	236
75	515		NT	NT
76	498		2790	285
77	499		3920	204

COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} NM	% FOLD ACT.
78	542.1		565	297
79	528.1		1220	240
80	529.1		NA	100
81	556.2		NA	131

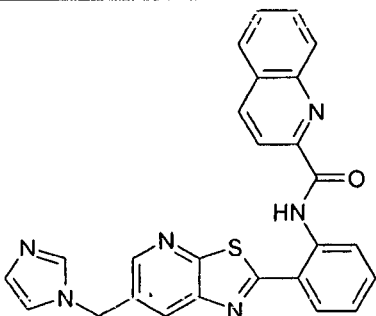
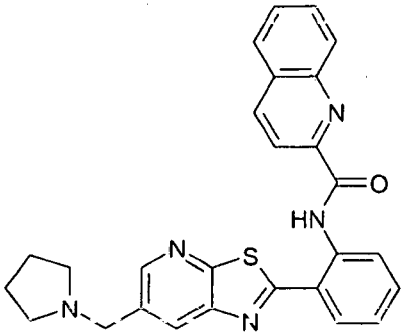
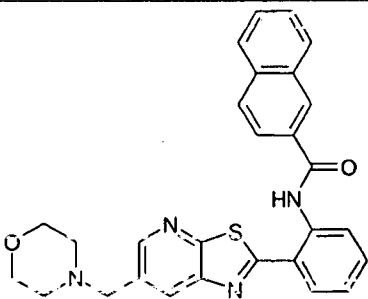
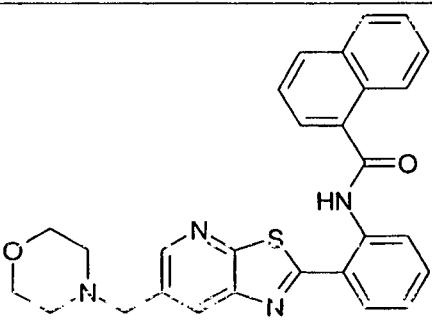
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} nM	% FOLD ACT.
82	528.1		878	224
83	501.1		NA	100
84	501		4270	166
85	586.2		16700	182

COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} NM	% FOLD ACT.
86	565.2		NA	137
87	566.2		955	166
88	567.2		14	272
89	484		235	239

COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} NM	% FOLD ACT.
90	495.2		190	221
91	487.3		4410	333
92	441		2810	163
93	488.1		510	236

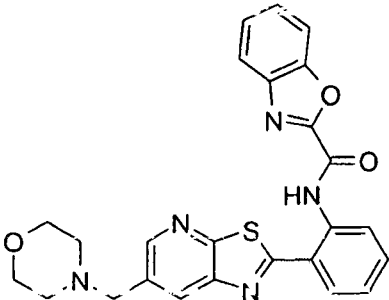
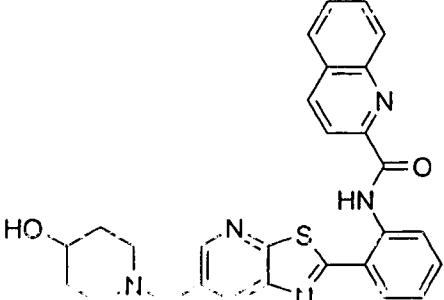
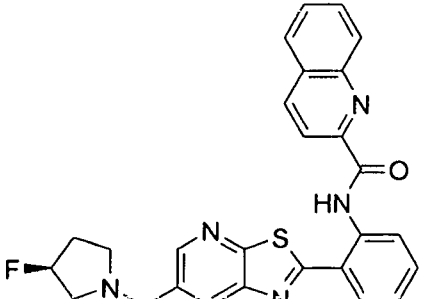
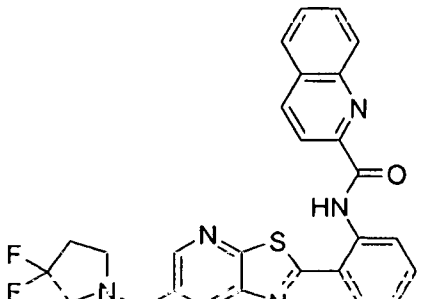
WO 2008/156869

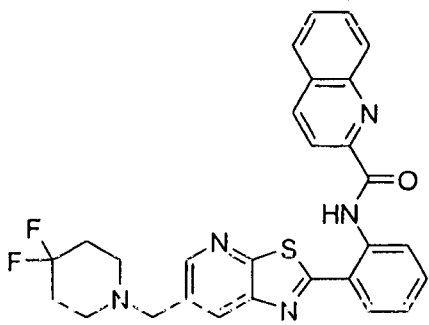
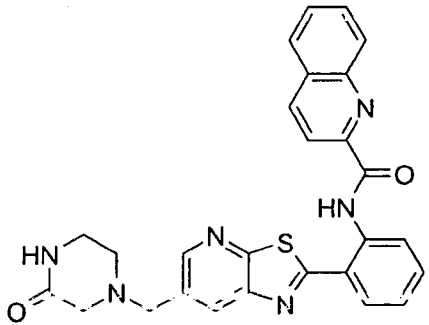
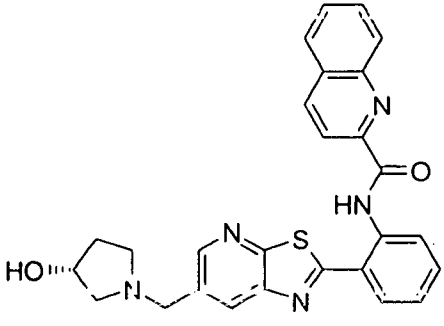
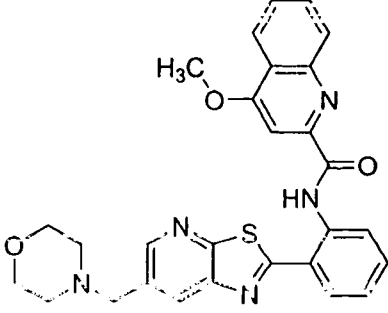
PCT/US2008/007776

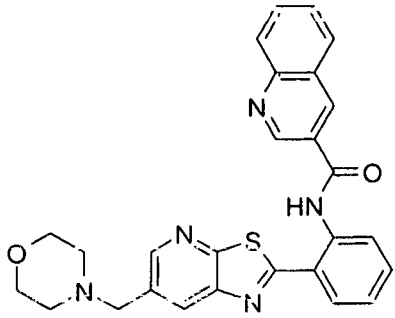
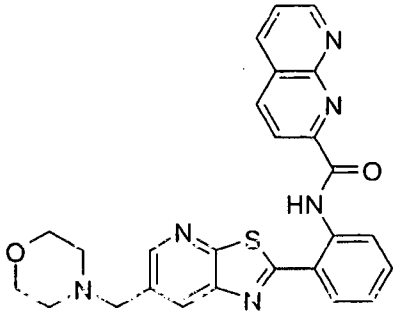
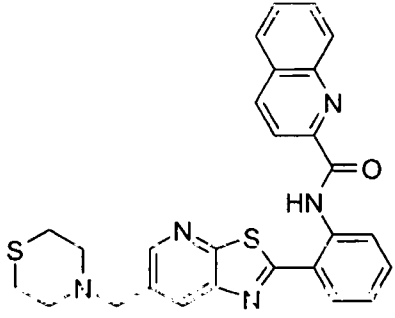
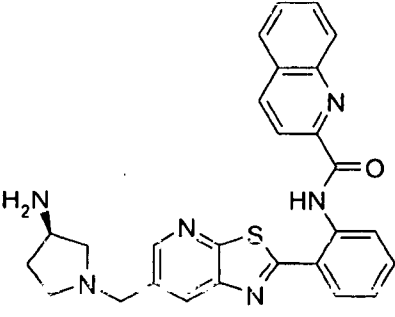
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} nM	% FOLD ACT.
94	463		150	182
95	466.1		160	252
96	481		1060	162
97	481		3020	186

WO 2008/156869

PCT/US2008/007776

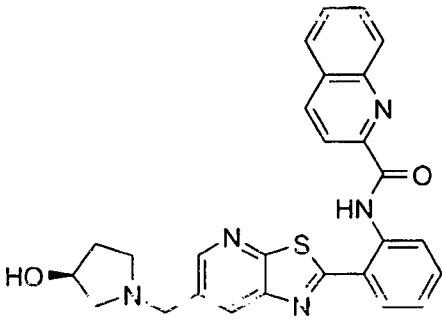
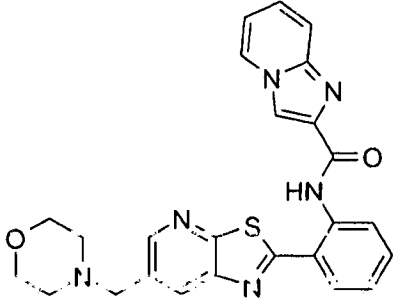
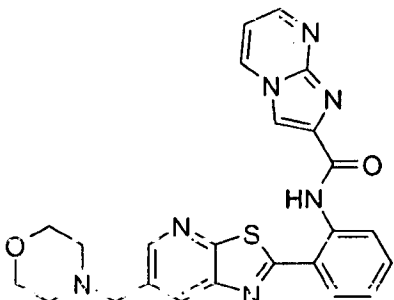
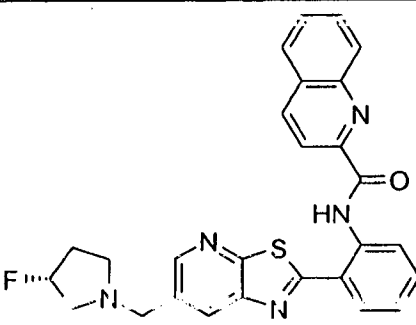
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} NM	% FOLD ACT.
98	472		NA	139
99	496.1		110	244
100	484		1440	201
101	502		NA	133

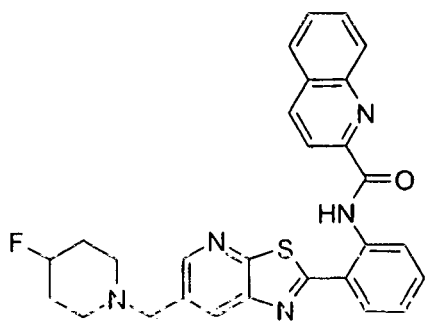
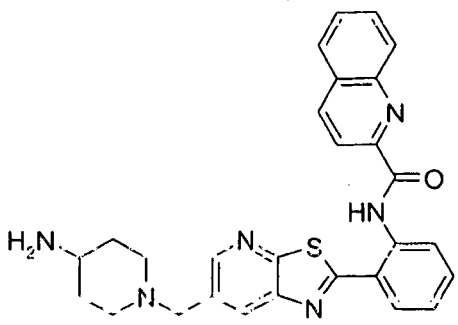
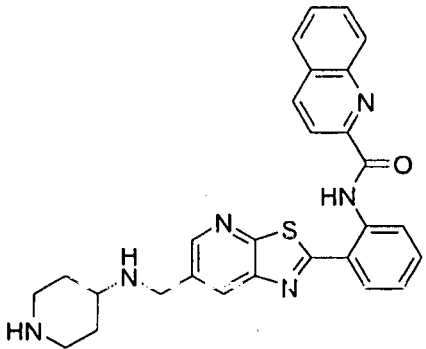
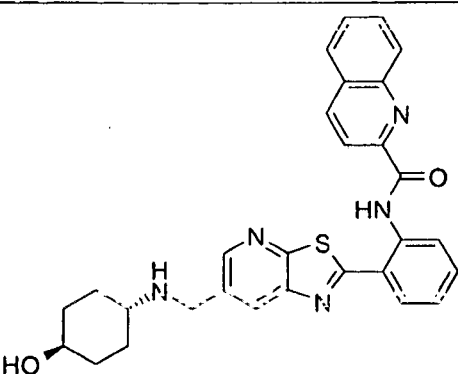
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} NM	% FOLD ACT.
102	516		NA	131
103	495		230	273
104	482		200	221
105	512		1590	292

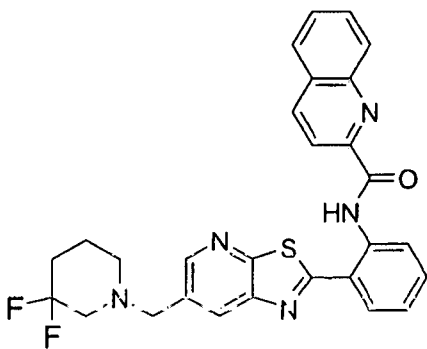
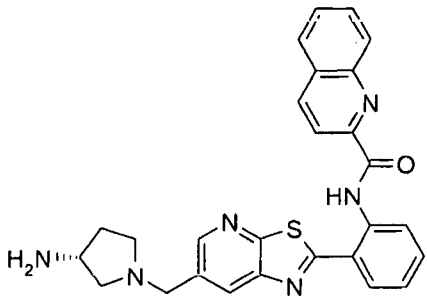
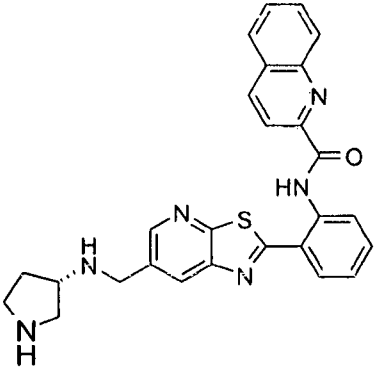
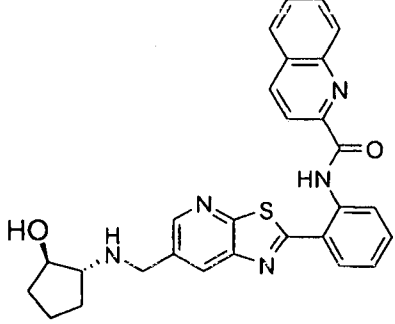
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} NM	% FOLD ACT.
106	482		69840	139
107	483		500	219
108	498		1060	178
109	481		270	>500

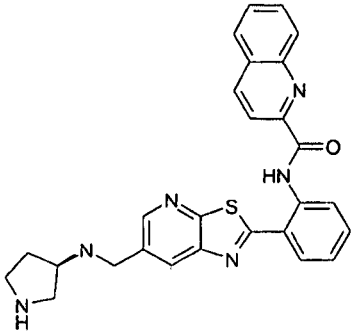
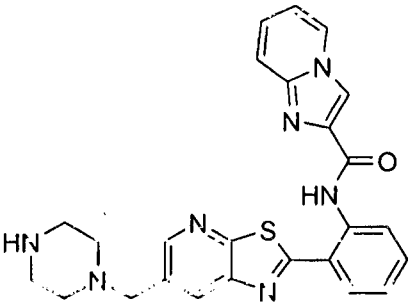
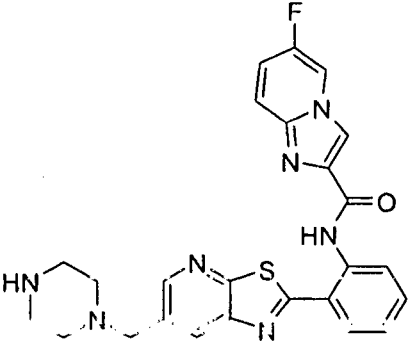
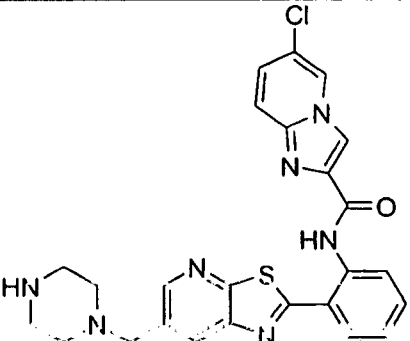
WO 2008/156869

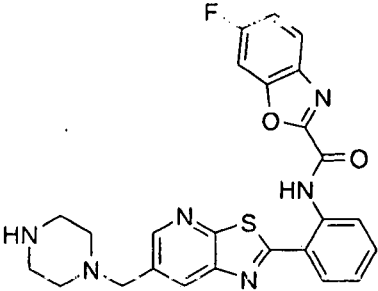
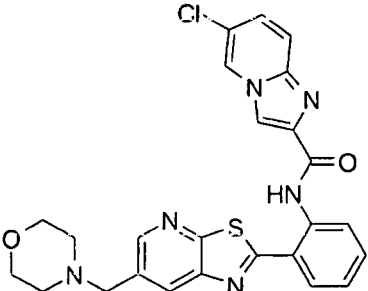
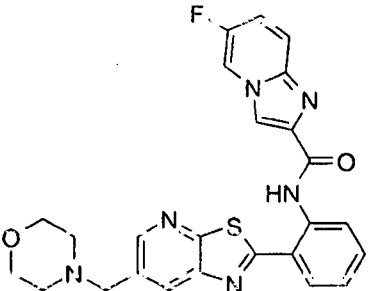
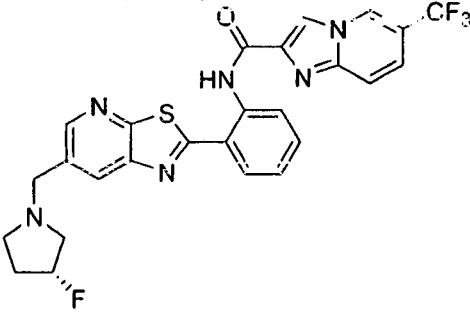
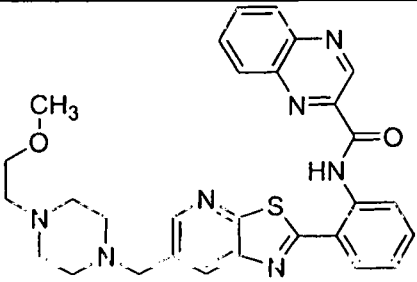
PCT/US2008/007776

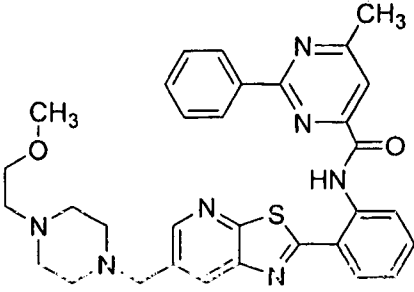
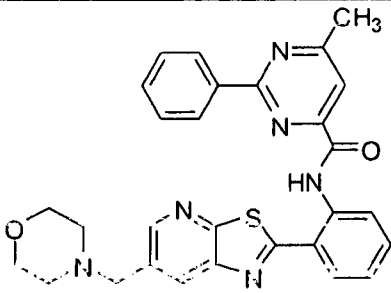
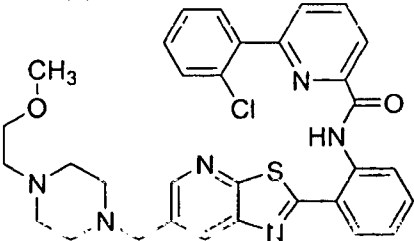
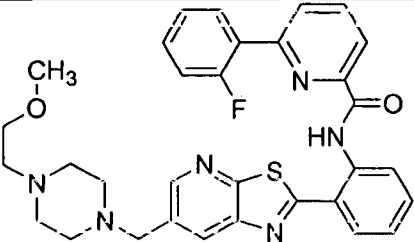
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} NM	% FOLD ACT.
110	482		230	307
111	471		1610	427
112	472		2330	375
113	484		370	232

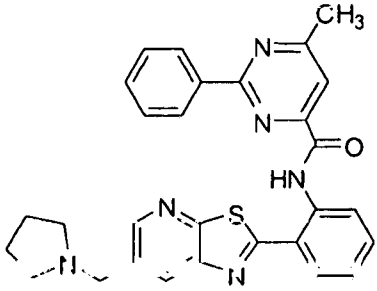
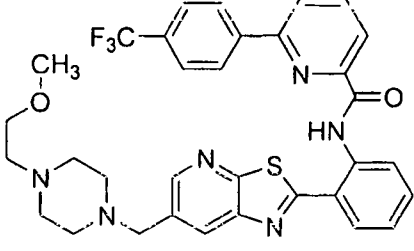
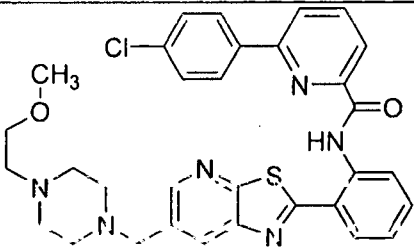
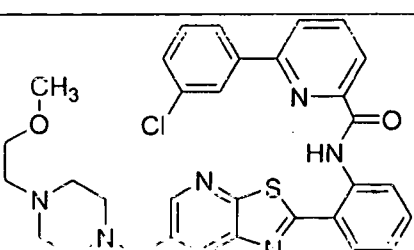
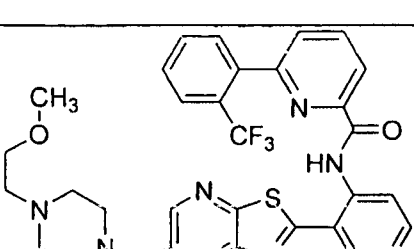
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} NM	% FOLD ACT.
114	498		NA	146
115	495		620	>500
116	495		270	>500
117	510		480	324

COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} NM	% FOLD ACT.
118	516		NA	100
119	481		390	>500
120	481		820	>500
121	496		750	291

COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} NM	% FOLD ACT.
122	481		NT	NT
123	470		1940	400
124	488		1060	314
125	505		760	437

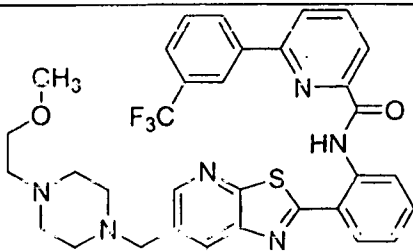
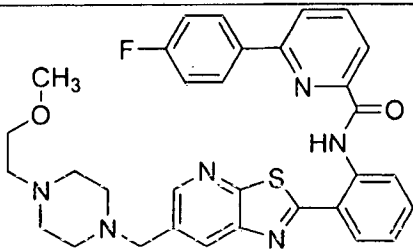
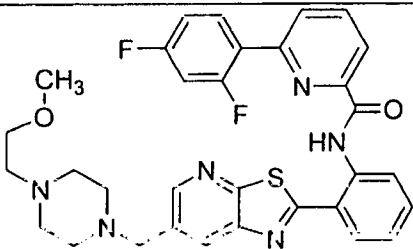
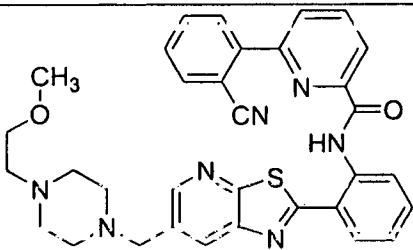
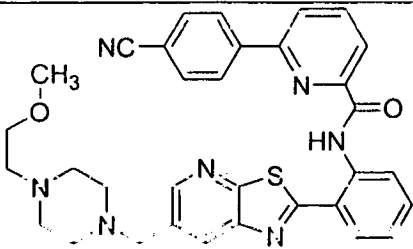
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} NM	% FOLD ACT.
126	489		NA	100
127	505		NA	143
128	489		1310	227
129	541		NA	100
130	540		990	161

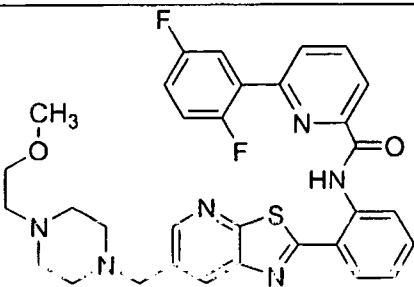
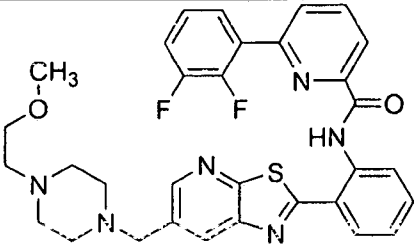
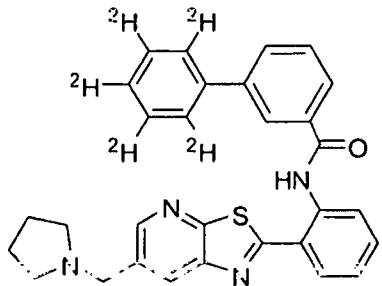
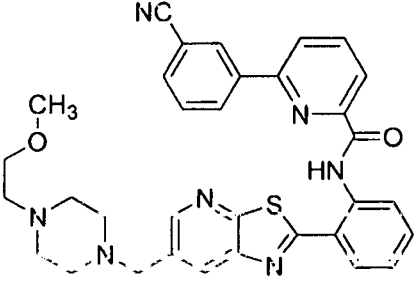
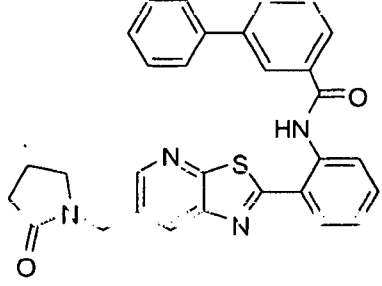
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} nM	% FOLD ACT.
131			106	500
132			215	500
133			90	500
134			69	500

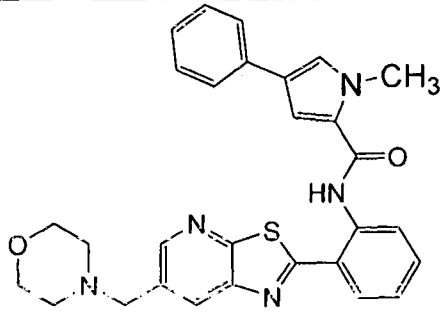
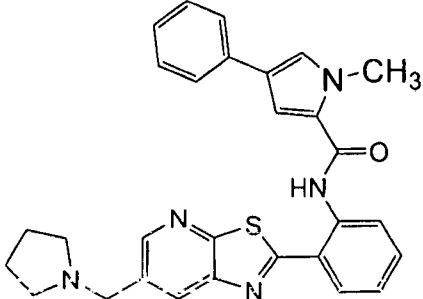
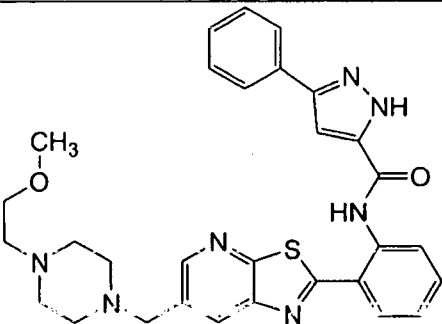
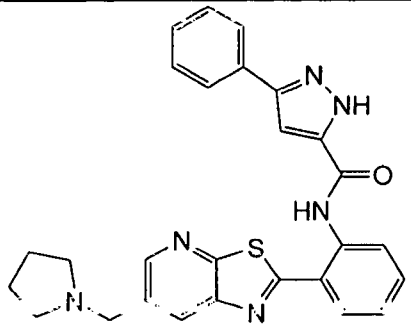
COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} NM	% FOLD ACT.
135			759	274
136			448	461
137			214	448
138			88	497
139			230	457

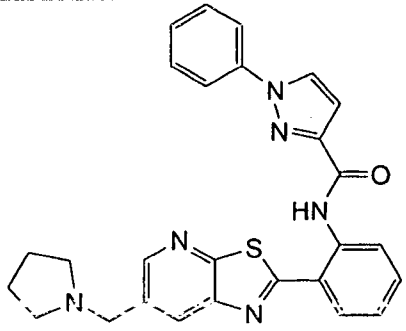
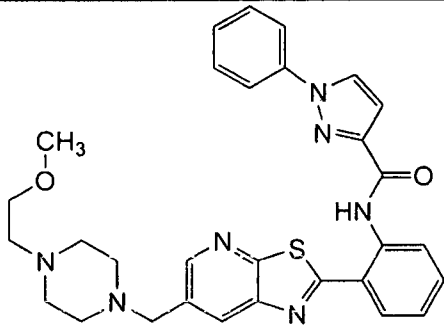
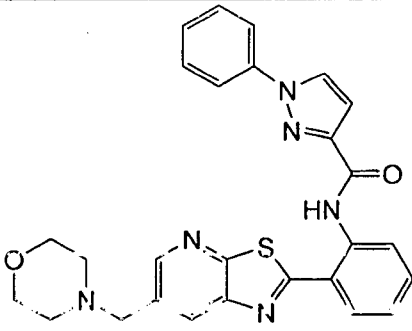
WO 2008/156869

PCT/US2008/007776

COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} NM	% FOLD ACT.
140			41	500
141			127	487
142			394	378
143			2121	372
144			559	402

COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} NM	% FOLD ACT.
145			86	500
146			127	500
147			845	224
148			40	500
149			557	216

COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} nM	% FOLD ACT.
150			67	267
151			591	170
152			321	>500
153			829	226

COMPOUND No	[M+H] ⁺	STRUCTURE	EC _{1.5} nM	% FOLD ACT.
154			428	277
155			141	364
156			674	443

EQUIVALENTS

The present invention provides among other things sirtuin-activating compounds and methods of use thereof. While specific embodiments of the subject invention have been discussed, the above specification is illustrative and not restrictive. Many variations of the invention will become apparent to those skilled in the art upon review of this specification. The full scope of the invention should be determined by reference to the claims, along with their full scope of equivalents, and the specification, along with such variations.

INCORPORATION BY REFERENCE

All publications and patents mentioned herein, including those items listed below, are hereby incorporated by reference in their entirety as if each individual
5 publication or patent was specifically and individually indicated to be incorporated by reference. In case of conflict, the present application, including any definitions herein, will control.

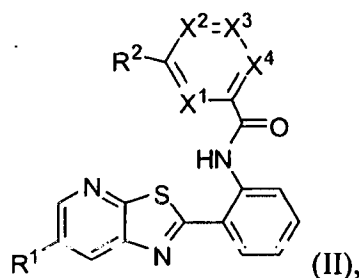
Also incorporated by reference in their entirety are any polynucleotide and polypeptide sequences which reference an accession number correlating to an entry
10 in a public database, such as those maintained by The Institute for Genomic Research (TIGR) (www.tigr.org) and/or the National Center for Biotechnology Information (NCBI) (www.ncbi.nlm.nih.gov).

Also incorporated by reference are the following: PCT Publications WO 2005/002672; 2005/002555; and 2004/016726.

CLAIMS:

1. A compound represented by Structural Formula (II):

5



or a salt thereof, wherein:

two of X^1 to X^4 are selected from $-CR^*-$ and $-N-$;

the other two of X^1 to X^4 are $-CR^*-$;

- 10 R^* is independently selected at each occurrence from $-H$, lower alkyl or halogen;

R^1 is a solubilizing group; and

- R^2 is selected from phenyl optionally substituted with one or more substituents independently selected from $-CN$, $-F$, $-Cl$ and $-CF_3$, and when each of
- 15 X^1 to X^4 is $-CR^*-$, R^2 is additionally selected from a 5- to 6-membered heterocycle containing an N heteroatom and, optionally, a second heteroatom selected from N, O or S, wherein said heterocycle is optionally substituted with methyl.

2. The compound of claim 1, wherein:

- 20 X^1 to X^4 is $-CR^*-$; and

R^2 is selected from phenyl, fluorophenyl, difluorophenyl, chlorophenyl, difluorophenylmethylthiazolyl, pyrimidinyl, pyridyl and pyrazolyl.

3. The compound of claim 2, wherein R^2 is selected from phenyl, fluorophenyl, difluorophenyl, chlorophenyl, 2-methylthiazol-4-yl, pyridyl and pyrazol-1-yl.
- 25

4. The compound of claim 3, wherein R^2 is phenyl or pyridyl.

5. The compound of claim 1, wherein one of X^1 to X^4 are $-N-$.

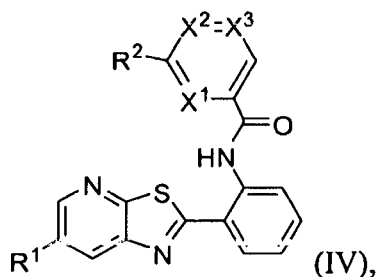
6. The compound of claim 1, wherein two of X^1 to X^4 are -N-.
7. The compound of claim 5, wherein X^1 is N.
- 5 8. The compound of claim 6, wherein X^1 and X^2 are -N-.
9. The compound of claim 6, wherein X^1 and X^4 are -N-.
- 10 10. The compound of any one of claims 1 to 9, wherein:
 R^1 is $-\text{CH}_2-\text{R}^3$; and
 R^3 is a nitrogen-containing heterocycle optionally substituted with one or more substituents selected from $\text{C}_1\text{-C}_4$ alkyl, amino, halogen, methoxy and methoxy- $\text{C}_1\text{-C}_4$ alkyl.
- 15 11. The compound of claim 10, wherein R^2 is phenyl, pyridyl or 3-fluorophenyl.
12. The compound of claim 11, wherein X^2 and X^3 are -CH- and X^1 and X^4 are independently selected from $-\text{CR}^*$ or -N-.
- 20 13. The compound of claim 10, wherein:
 R^1 is $-\text{CH}_2-\text{R}^3$; and
 R^3 is selected from piperazin-1-yl, 4-(methoxyethyl)-piperazin-1-yl, 3,5-dimethylpiperazin-1-yl, morpholin-4-yl, piperidin-1-yl, 4-aminopiperidin-1-yl, 25 pyrrolidin-1-yl, 3-fluoropyrrolidin-1-yl, -NH-(pyrrolidin-3-yl), and 1,4-diazabicyclo[2.2.1]heptan-1-yl.
14. The compound of claim 13, wherein R^3 is selected from 4-(methoxyethyl)-piperazin-1-yl, morpholin-4-yl, piperidin-1-yl and 4-aminopiperidin-1-yl.
- 30 15. The compound of claim 14, wherein R^2 is phenyl, 3-fluorophenyl or pyridyl.

16. The compound of claim 15, wherein X^2 and X^3 are $-\text{CH}-$ and X^1 and X^4 are independently selected from $-\text{CR}^*-$ or $-\text{N}-$.

17. The compound of claim 1, wherein R^* is H.

5

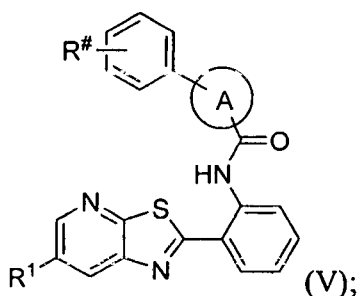
18. The compound of claim 1, represented by formula (IV):



or a salt thereof, wherein:

- 10 one X variable is selected from $-\text{CH}-$ and $-\text{N}-$;
 the other two X variables are $-\text{CH}-$;
 R^1 is a solubilizing group; and
 R^2 is selected from phenyl and fluorophenyl, and, when each X variable is $-\text{CH}-$, R^2 is additionally selected from a 5- to 6-membered heterocycle containing an
- 15 N heteroatom and, optionally, a second heteroatom selected from N, O or S, wherein said heterocycle is optionally substituted with methyl.

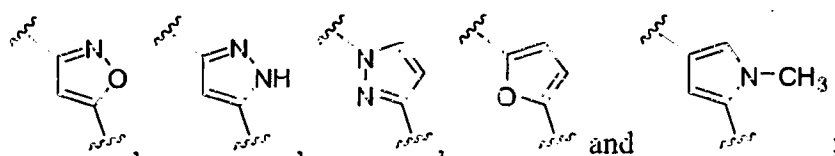
19. A compound represented by Structural Formula (V):



- 20 or a salt thereof, wherein:
 ring A is selected from:

WO 2008/156869

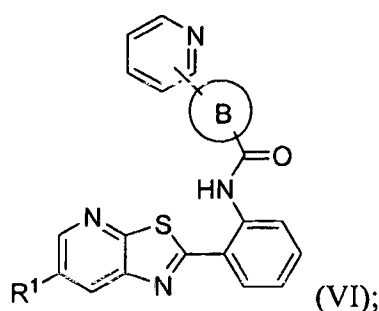
PCT/US2008/007776



R^1 is a solubilizing group; and

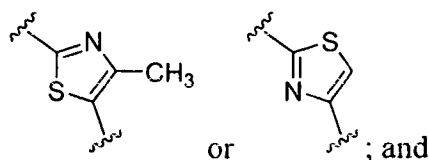
$R^{\#}$ is a -H or -O-CH₃.

- 5 20. A compound represented by Structural Formula (VI):



or a salt thereof, wherein:

ring B is selected from:



R^1 is a solubilizing group.

21. A pyrogen-free composition comprising a compound of any one of claims 1 to 20, or a pharmaceutically acceptable salt thereof and a carrier.

22. A pharmaceutical composition comprising a compound of any of one claims 1 to 20 and a pharmaceutically acceptable carrier.

23. The pharmaceutical composition of claim 22, further comprising an additional active agent.

24. A method for treating a subject suffering from or susceptible to insulin resistance, a metabolic syndrome, diabetes, or complications thereof, or for

increasing insulin sensitivity in a subject, comprising administering to the subject in need thereof a composition of claim 22.

25. The method of claim 24, wherein said compound increases at least one of the
5 level or activity of a sirtuin protein.

26. The method of claim 25, wherein the compound increases deacetylase activity of the sirtuin protein.

10 27. The method of claim 25, wherein the sirtuin protein is a mammalian protein.

28. The method of claim 25, wherein the sirtuin protein is human SIRT1.

29. The method of claim 25, wherein the compound does not substantially have
15 one or more of the following activities: inhibition of PI3-kinase, inhibition of aldoreductase, inhibition of tyrosine kinase, transactivation of EGFR tyrosine kinase, coronary dilation, or spasmolytic activity, at concentrations of the compound that are effective for increasing the deacetylation activity of a SIRT1 and/or SIRT3 protein.

20

COMPUESTOS MODULADORES DE SIRTUINAS

ANTECEDENTES

La familia de genes reguladores de información sinónima (SIP, por sus siglas en inglés) representa un grupo conservador de genes presentes en los genomas de organismos que van desde arqueobacterias hasta una variedad de eucariotas (Frye, 2000). Las proteínas SIP codificadas están involucradas en diversos procesos de regulación de la modificación génica sin alteración perceptible de la secuencia durante la reparación del ADN. Las proteínas codificadas por miembros de la familia génica SIP presentan alta conservación de la secuencia en un dominio de núcleo de 250 aminoácidos. Un gen bien caracterizado en esta familia es el *S. cerevisiae* SIP2, que está implicado en la modificación sin alteración perceptible de la secuencia (modificación sinónima) en locus HM que contiene información que especifica el tipo sexual de la levadura, efectos de posición del telómero y envejecimiento celular (Guarente, 1999; Kaeberlein y otros, 1999; Shore, 2000). La proteína Sir2 de la levadura pertenece a la familia de histona desacetilasas (reseñado por Guarente, 2000; Shore, 2000). El homólogo Sir2, CobB, en la salmonela typhimurium, funciona como una ADP-ribosil transferasa que depende de NAD (dinucleótido de nicotinamida y adenina) (Tsang y Escalante-Semerena, 1998).

La proteína de Sir2 es una desacetilasa de clase III que utiliza el NAD como un coestrato (Imai y otros, 2000; Moazed, 2001; Smith y otros, 2000; Tanner y otros, 2000; Tanny y Moazed, 2001). A diferencia de otras desacetilasas, muchas de las cuales están implicadas en la modificación sinónima génica, el Sir2 no es sensible a los inhibidores de histona desacetilasa clase I y II tales como la tricostatina A (TSA) (Imai y otros, 2000; Landry y otros, 2000a; Smith y otros, 2000).

La desacetilación de la acetil-lisina por el Sir2 está estrechamente ligada a la hidrólisis del NAD, produciendo nicotinamida y un novedoso compuesto de acetil-ADP ribosa (Tanner y otros, 2000; Landry y otros, 2000b; Tanny y Moazed, 2001). La actividad de la desacetilasa que depende del NAD del Sir2 es esencial para sus funciones que pueden relacionar su papel biológico con el metabolismo celular en las

levaduras (Guarente, 2000; Imai y otros, 2000; Lin y otros, 2000; Smith y otros, 2000). Los homólogos Sir2 en mamíferos tienen actividad de histona desacetilasa que depende del NAD (Imai y otros, 2000; Smith y otros, 2000). La mayor parte de la información de las funciones en que intervienen los Sir2 provienen de estudios en levaduras (Gartenberg, 2000; Gottschling, 2000).

Los estudios bioquímicos han demostrado que los Sir2 pueden desacetilar fácilmente las cintas de extremo amino de las histonas H3 y H4, que resulta en la formación de la 1-O-acetil-ADP-ribosa y nicotinamida. Las cepas con otras copias de SIR2 presentan aumento de la modificación sinónima del ADNr y un rango de vida 30% más prolongado. Recientemente se ha demostrado que otras copias del homólogo de SIR2 *C. elegans*, sir-2.1, y el gen dSir2 de *D. melanogaster* extiende ampliamente el intervalo de vida en esos organismos. Esta característica implica que la ruta reguladora que depende del SIR2 para el envejecimiento aumenta tempranamente en la evolución y se ha conservado bien. Actualmente, se estima que los genes Sir2 han evolucionado para ampliar la salud del organismo y la resistencia al estrés para aumentar su oportunidad de supervivencia a la adversidad.

El SIRT3 es un homólogo de SIRT1 que es conservado en los procariotas y eucariotas (P. Onyango y otros, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99: 13653-13658 (2002)). La proteína de SIRT3 está destinada a las crestas mitocondriales por un dominio único ubicado en el extremo N. El SIRT3 tiene una actividad de desacetilasa de proteína que depende del NAD⁺ y se expresa en forma omnipresente, particularmente en tejidos metabólicamente activos. En la transferencia a la mitocondria, se estima que el SIRT3 se descompone en una forma activa más pequeña por una peptidasa procesadora de la matriz mitocondrial (MPP) (B. Schwer y otros, J. Cell Biol. 158: 647-657 (2002)).

Durante más de 70 años se ha conocido que la restricción calórica para mejorar la salud y extender el tiempo de vida de los mamíferos (Masoro, 2000). El tiempo de vida de las levaduras, como los metazoos, también es prolongado por las intervenciones que asemejan la restricción calórica, tal como el contenido bajo de glucosa. El

descubrimiento de que tanto las levaduras como las moscas que carecen del gen SIP2 no viven más cuando se restringen desde el punto de vista del contenido calórico proporciona evidencia de que los genes SIP2 intervienen en los efectos beneficiosos para la salud de esta dieta (Anderson y otros, 2003; Helfy y Fogina, 2004). Además, las mutaciones que reducen la actividad de la ruta que depende del 3',5'-monofosfato de adenosina, cAMP, (PKA) que responde a la glucosa, de la levadura extienden el tiempo de vida en células naturales pero no en mutantes de las cepas sir2, lo que demuestra que es probable que el SIP2 sea el componente clave en las fases posteriores de la ruta de la restricción calórica (Lin y otros, 2001).

SUMARIO

La presente invención proporciona novedosos compuestos moduladores de la sirtuina y los métodos de uso de estos.

En un aspecto, la invención proporciona compuestos moduladores de la sirtuina de fórmulas estructurales (I)-(VI) como se describe en mayor detalle más adelante.

En otro aspecto, la invención proporciona métodos para el uso de los compuestos moduladores de la sirtuina, o composiciones que comprenden los compuestos moduladores de la sirtuina. En determinadas configuraciones, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para una variedad de aplicaciones terapéuticas que incluyen, por ejemplo, el aumento del tiempo de vida de una célula, y el tratamiento y/o prevención de una amplia variedad de enfermedades y trastornos que incluyen, 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 crisis vasomotora, etc. Los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina también puede utilizarse para el tratamiento de una enfermedad o trastorno en un sujeto que se beneficiara del

aumento de la actividad mitocondrial, para aumentar el funcionamiento muscular, para aumentar los niveles de trifosfato de adenosina (ATP, por sus siglas en inglés) en el músculo, o para el tratamiento o prevención de daño tisular muscular asociado con hipoxia o isquemia. En otras configuraciones, los compuestos moduladores de la sirtuina que disminuyen el nivel y/o actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para una variedad de aplicaciones terapéuticas que incluyen, por ejemplo, el aumento de la sensibilidad celular al estrés, aumento de la apoptosis, tratamiento del cáncer, estimulación del apetito y/o estimulación del aumento de peso, etc. Como se describe adicionalmente más adelante, los métodos comprenden la administración a un sujeto en necesidad de estos de una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto modulador de sirtuina.

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

DESCRIPCIÓN DETALLADA

1. Definiciones

Como se usan aquí, los siguientes términos y frases tendrán los significados que se presentan a continuación. A menos que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos que se usan aquí tienen el mismo significado que entiende comúnmente un conocedor de la técnica.

El significado de «un», «una», «el» y «la» incluye la referencia al plural a menos que el contexto lo indique claramente de otra manera.

El término «agente» se utiliza aquí para denotar un compuesto químico, una mezcla de compuestos químicos, una macromolécula biológica (tal como un ácido nucleico, un anticuerpo, una proteína o parte de ésta, por ejemplo, un péptido) o un extracto elaborado a partir de materiales biológicos tales como bacterias, plantas, hongos o células o tejidos animales (particularmente de mamíferos). La actividad de tales agentes puede hacerlos adecuados como «agente terapéutico» que es una sustancia

(o sustancias) activa desde el punto de vista farmacológico, fisiológico o biológico, que actúa local o sistémicamente en un sujeto.

El término «biodisponible» cuando se refiere a un compuesto se refiere, y es reconocido en la técnica, a una forma de un compuesto que permite que la cantidad administrada del compuesto, o parte de éste, sea absorbida por, incorporada a, o de otra manera fisiológicamente disponible para, un sujeto o paciente a quien se le administre.

El término «porción biológicamente activa de una sirtuina» se refiere a una parte de una proteína sirtuina que tiene actividad biológica, tal como la capacidad de desacetilar. Las porciones biológicamente activas de una sirtuina pueden comprender el dominio del núcleo de las sirtuinas. Las porciones biológicamente activas del SIRT1 que tienen acceso de la genoteca GenBank n.º NP_036370 que abarca el dominio de unión al NAD⁺ y el dominio de unión al sustrato, por ejemplo, puede incluir, sin limitación, a los aminoácidos 62-293 de la acceso de la genoteca GenBank n.º NP_036370, que son codificados por los nucleótidos 237 a 932 de la acceso de la genoteca GenBank n.º NM_012238. En consecuencia, esta región algunas veces es referida como el dominio del núcleo. Otras porciones biológicamente activas del SIRT1, algunas veces también son referidas como dominios del núcleo, incluyen aproximadamente los aminoácidos 261 a 447 de acceso de la genoteca GenBank n.º NP_036370, que son codificados por los nucleótidos 834 a 1394 de acceso de la genoteca GenBank n.º NM_012238; alrededor de los aminoácidos 242 a 493 de acceso de la genoteca GenBank n.º NP_036370 que son codificados por los nucleótidos 777 a 1532 de acceso de la genoteca GenBank n.º NM_012238; o alrededor de los aminoácidos 254 a 495 de acceso de la genoteca GenBank n.º NP_036370 que son codificados por los nucleótidos 813 a 1538 de acceso de la genoteca GenBank n.º NM_012238.

El término «animales de compañía» se refiere a gatos y perros. Como se usa aquí, el término «perro(s)» denota cualquier miembro de la especie *Canis familiaris*, de la cual existe 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.

Los términos «comprende» y «que comprende» se utilizan en sentido abierto, inclusivo, que significa que pueden incluirse otros elementos.

La «diabetes» se refiere a alto contenido de azúcar en la sangre o cetoacidosis, así como a las anormalidades metabólicas generales y crónicas que surgen de un estado de alto contenido de azúcar en la sangre o la disminución de la tolerancia de glucosa. La diabetes abarca las formas tipo I y tipo II (diabetes mellitus que no depende de insulina o NIDDM) de la enfermedad. Los factores de riesgo para la diabetes incluyen los siguientes: cintura de más de 100 cm (40 pulgadas) para los hombres y 88 cm (35 pulgadas) para las mujeres, tensión arterial de 130/85 mmHg o mayor, concentración de triglicéridos mayor de 150 mg/dl, contenido de glucosa en sangre en ayunas mayor de 100 mg/dl o contenido de lipoproteína de alta densidad menor de 40 mg/dl en hombres o 50 mg/dl en mujeres.

Un «activador directo» de una sirtuina es una molécula que activa la sirtuina al unirse a ésta. Un «inhibidor directo» de una sirtuina es una molécula que inhibe la sirtuina al unirse a ésta.

El término «ED₅₀» es conocido en la técnica. En determinadas configuraciones, ED₅₀ significa la dosis de un fármaco que produce 50% de su respuesta o efecto máximo, o alternativamente, la dosis que produce una respuesta predeterminada en 50% de las preparaciones o sujetos de prueba. El término «LD₅₀» es conocido en la técnica. En determinadas configuraciones, LD₅₀ significa la dosis de un fármaco que es mortal en 50% de los sujetos de prueba. El término «índice terapéutico» es un término reconocido en la técnica que se refiere al índice terapéutico de un fármaco, definido como LD₅₀/ED₅₀.

El término «hiperinsulinemia» se refiere a una condición en una persona en la cual el nivel de insulina en la sangre es mayor que el nivel normal.

El término «que incluye» se utiliza para indicar «que incluye, pero no se limita

a». Las expresiones «que incluye» y «que incluye, pero no se limita a» se utilizan en forma intercambiable.

El término «resistencia a la insulina» se refiere a la condición en la cual una cantidad normal de insulina produce una respuesta biológica por debajo de la normal con respecto a la respuesta biológica en un sujeto que no tiene resistencia a la insulina.

Un «trastorno de resistencia a la insulina» como se analiza aquí, se refiere a cualquier enfermedad o condición que es provocada o reforzada por la resistencia a la insulina. Ejemplos incluyen a: diabetes, obesidad, síndrome metabólico, síndromes de resistencia a la insulina, síndrome X, resistencia a la insulina, tensión arterial alta, hipertensión, alto contenido de colesterol en sangre, dislipidemia, hiperlipidemia, dislipidemia, enfermedad aterosclerótica que incluye accidente cerebrovascular, arteriopatía coronaria o infarto al miocardio, hiperglucemia, hiperinsulinemia y/o hiperproinsulinemia, deterioro de la tolerancia a la glucosa, liberación retardada de insulina, complicaciones diabéticas, que incluyen cardiopatía coronaria, angina de pecho, insuficiencia cardíaca congestiva, accidente cerebrovascular, funciones cognitivas en demencia, retinopatía, neuropatía periférica, nefropatía, glomerulonefritis, glomerulosclerosis, síndrome nefrótico, nefrosclerosis hipertensiva, algunos tipos de cáncer (tales como endometrial, de las mamas, de próstata y de colon), complicaciones del embarazo, condición reproductiva femenina deficiente (por ejemplo irregularidades en la menstruación, infertilidad, ovulación irregular, síndrome de ovario poliquístico (PCOS)), lipodistrofia, trastornos relacionados con el colesterol, tales como cálculos biliares, coleccistitis y colelitiasis, gota, apnea obstructiva durante el sueño y problemas respiratorios, osteoartritis, y prevención y tratamiento de la pérdida ósea, por ejemplo, osteoporosis.

El término «animales de cría» se refiere a cuadrúpedos domesticados, que incluyen los que se crían con el fin de obtener carne y diferentes subproductos, por ejemplo, un animal bovino que incluye al ganado y otros miembros del género Bos, un animal porcino que incluye al cerdo y otros miembros del género Sus, un animal ovino

que incluye a la oveja y otros miembros del género *Ovis*, cabras domésticas y otros miembros del género *Capra*; cuadrúpedos domesticados que se crían para tareas específicas tales como bestias de carga, por ejemplo, un animal equino que incluye caballos domésticos y otros miembros de la familia *Equidae*, género *Equus*.

El término «mamífero» es bien conocido en la técnica, ejemplos de mamíferos incluyen a los seres humanos, primates, animales de cría (que incluyen bovinos, porcinos, etc.), animales domésticos (por ejemplo, caninos, felinos, etc.) y roedores (por ejemplo, ratones y ratas).

Las personas «obesas» que sufren de obesidad son por lo general personas que tienen un índice de masa corporal (IMC) de al menos 25 o mayor. La obesidad puede, o no, estar asociada con la resistencia a la insulina.

Los términos «administración parenteral» y «administrado de forma parenteral» son reconocidos en la técnica y se refieren a modos de administración diferentes de la administración intestinal y tópica, normalmente por inyección, e incluye, sin limitación, inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intrarterial, intratecal, intracapsular, intraorbital, intracardiaca, intradérmica, intraperitoneal, transtraqueal, subcutánea, subcuticular, intrarticular, subcapsular, subaracnoide, intraespinal y intraesternal.

Un «paciente», «sujeto», «persona» o «huésped» se refiere a un ser humano o animal no humano.

El término «vehículo farmacéuticamente aceptable» es bien conocido en la técnica y se refiere a un vehículo, composición o material farmacéuticamente aceptable, tal como un material de encapsulación, solvente, excipiente, diluyente o relleno, líquido o sólido, involucrado en contener o transportar cualquier composición o componente contenido en ésta. Cada vehículo debe ser «aceptable» en el sentido de ser compatible con la composición contenida y sus componentes y no perjudicar al paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de papa; (3) celulosa y sus derivados, tales como

carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; (9) aceites, tales como aceite de maní, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de ajonjolí, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soya; (10) glicoles tales como el propilenglicol; (11) polioles, tales como la glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como el oleato de etilo y el laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes amortiguadores, tales como el hidróxido de magnesio y el hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua libre de pirógenos; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones amortiguadoras de fosfato; y (21) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas.

El término tratamiento «profiláctico» o «terapéutico» es bien conocido en la técnica y se refiere a la administración de un fármaco a un sujeto. Si se administra antes de evidencia clínica de la condición no deseada (por ejemplo, enfermedad u otra condición no deseada del animal anfitrión) entonces el tratamiento es profiláctica, es decir, protege al sujeto contra el desarrollo de la condición no deseada, mientras que si se administra después del acontecimiento de la condición no deseada, el tratamiento es terapéutico (es decir, está destinado a disminuir, aliviar o contener la condición no deseada existente o sus efectos colaterales).

El término «libre de pirógenos», con referencia a una composición, se refiere a una composición que no contiene pirógeno en una cantidad que podría producir un efecto negativo (por ejemplo, irritación, fiebre, inflamación, diarrea, dificultad respiratoria, choque endotóxico, etc.) Por ejemplo, se entiende que el término abarca composiciones que no contienen, o no contienen en forma apreciable, una endotoxina tal como, por ejemplo, un lipopolisacárido (LPS).

«Multiplicación del ciclo de vida» de una célula se refiere al número de células descendientes producidas por una «célula madre». «Envejecimiento cronológico» o «período de vida cronológico», por otra parte, se refiere a la duración que una

población de células no divididas permanece viable cuando se le priva de nutrientes. «Aumento del período de vida de una célula» o «extensión del período de vida de una célula» aplicado a células u organismos, se refiere al aumento en el número de células descendientes producido por una célula; al aumento de la capacidad de células u organismos para sobrevivir a las tensiones y daños por la competitividad, por ejemplo, el ADN, proteínas; y/o el aumento de la capacidad de las células u organismos para sobrevivir y existir en condición de vida durante más tiempo bajo una condición particular, por ejemplo, tensión (por ejemplo, choque térmico, tensión osmótica, alta radiación de energía, tensión inducida por acción química, daño del ADN, nivel salino inadecuado, nivel de nitrógeno inadecuado o nivel de nutrientes inadecuado). El período de vida puede aumentarse en al menos alrededor de 20%, 30%, 40%, 50%, 60% o entre 20% y 70%, 30% y 60%, 40% y 60% o más por medio de los métodos descritos en la presente invención.

El «compuesto activador de la sirtuina» se refiere a un compuesto que aumenta el nivel de la proteína sirtuina y/o aumenta al menos una actividad de una proteína sirtuina. En un ejemplo de configuración, un compuesto activador de la sirtuina puede aumentar al menos la actividad biológica de una proteína sirtuina en al menos alrededor de 10%, 25%, 50%, 75%, 100%, o más. Ejemplos de la actividad biológica de las proteínas sirtuina incluyen la deacetilación, por ejemplo, de histonas y p53; que extienden el período de vida, aumento de la estabilidad genómica; modificación sinónima de la transcripción; y control de la segregación de proteínas oxidadas entre las células madre y descendientes.

El «compuesto inhibidor de la sirtuina» se refiere a un compuesto que disminuye el nivel de la proteína sirtuina y/o disminuye al menos una actividad de una proteína sirtuina. En un ejemplo de configuración, un compuesto inhibidor de la sirtuina puede disminuir al menos la actividad biológica de una proteína sirtuina en al menos alrededor de 10%, 25%, 50%, 75%, 100%, o más. Ejemplos de la actividad biológica de las proteínas sirtuina incluyen la deacetilación, por ejemplo, de histonas y

p53; que extienden el período de vida, aumento de la estabilidad genómica; modificación sinónima de la transcripción; y control de la segregación de proteínas oxidadas entre las células madre y descendientes.

El «compuesto modulador de sirtuina» se refiere a un compuesto de fórmulas estructurales (I)-(VI) como las descritas aquí. En ejemplos de configuración, un compuesto modulador de sirtuina puede regular en ascenso (por ejemplo, activar o estimular), regular en descenso (por ejemplo, inhibir o suprimir) o de otra manera cambiar una propiedad funcional o actividad biológica de una proteína sirtuina. Los compuestos moduladores de la sirtuina pueden actuar para modular una proteína sirtuina directa o indirectamente. En determinadas configuraciones, un compuesto modulador de sirtuina puede ser un compuesto activador de la sirtuina o un compuesto inhibidor de la sirtuina.

La «proteína sirtuina» se refiere a un miembro de la familia de proteínas sirtuina desacetilasa, o preferiblemente de la familia sir2, que incluye a las proteínas de Sir2 (accesión de la genoteca GenBank n.º P53685) de levadura, Sir-2.1 (accesión de la genoteca GenBank n.º NP_501912) de *C. elegans*, y SIRT1 (accesiones de la genoteca GenBank n.º NM_012238 and NP_036370 (o AF083106)) y SIRT2 (accesiones de la genoteca GenBank n.º NM_012237, NM_030593, NP_036369, NP_085096 y AF083107) humanas. Otros miembros de la familia incluyen los otros cuatro genes tipo Sir2 de la levadura denominados «genes HST» (homólogos del Sir dos) HST1, HST2, HST3 y HST4, y otros cinco homólogos humanos hSIRT3, hSIRT4, hSIRT5, hSIRT6 y hSIRT7 (Brachmann y otros (1995) Genes Dev. 9:2888 y Frye y otros (1999) BBRC 260:273). Las sirtuinas preferidas son las que comparten más similitudes con la SIRT1, es decir, hSIRT1 y/o Sir2 que con la SIRT2, tal como los miembros que tienen al menos parte de la secuencia de extremo N presente en la SIRT1 y ausente en la SIRT2 tal como el caso de la SIRT3.

La «proteína SIRT1» se refiere a un miembro de la familia sir2 de sirtuina desacetilasas. En una configuración, la proteína SIRT1 incluye a las proteínas de Sir2

(accesión de la genoteca GenBank n.º P53685) de levadura, Sir-2.1 (accesión de la genoteca GenBank n.º NP_501912) de *C. elegans*, SIRT1 (accesiones de la genoteca GenBank n.º NM_012238 and NP_036370 (o AF083106)) y SIRT2 (accesiones de la genoteca GenBank n.º NM_012237, NM_030593, NP_036369, NP_085096 o AF083107) humanas, y sus equivalentes y fragmentos. En otra configuración, una proteína SIRT1 incluye un polipéptido que comprende una secuencia que consiste en, o consiste esencialmente en, la secuencia de aminoácidos presentada en las accesiones de la genoteca GenBank n.º NP_036370, NP_501912, NP_085096, NP_036369, o P53685. Las proteínas SIRT1 incluyen polipéptidos que comprenden toda o parte de la secuencia de aminoácidos presentada en las accesiones de la genoteca GenBank n.º NP_036370, NP_501912, NP_085096, NP_036369, o P53685; la secuencia de aminoácidos presentada en las accesiones de la genoteca GenBank n.º NP_036370, NP_501912, NP_085096, NP_036369, o P53685 con 1 hasta alrededor de 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 50, 75 o más sustituciones de aminoácidos moderadas; una secuencia de aminoácidos que es al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% idéntica a las accesiones de la genoteca GenBank n.º NP_036370, NP_501912, NP_085096, NP_036369 o P53685, y fragmentos funcionales de éstas. Los polipéptidos de la invención también incluyen homólogos (por ejemplo, ortólogos y parálogos), variantes o fragmentos de las accesiones de la genoteca GenBank n.º NP_036370, NP_501912, NP_085096, NP_036369, o P53685.

La «proteína SIRT3» se refiere a un miembro de la familia de proteína sirtuina desacetilasa y/o a un homólogo de una proteína SIRT1. En una configuración, una proteína SIRT3 incluye a las proteínas SIRT3 (accesiones de la genoteca GenBank n.º AAH01042, NP_036371 o NP_001017524) humana y SIRT3 (accesión de la genoteca GenBank n.º NP_071878) de ratón, y sus equivalentes y fragmentos. En otra configuración, una proteína SIRT3 incluye un polipéptido que comprende una secuencia que consiste en, o consiste esencialmente en, la secuencia de aminoácidos presentada en las accesiones de la genoteca GenBank n.º AAH01042, NP_036371, NP_001017524, o

NP_071878. Las proteínas SIRT3 incluyen polipéptidos que comprenden toda o parte de la secuencia de aminoácidos presentada en las accesiones de la genoteca GenBank n.º AAH01042, NP_036371, NP_001017524, o NP_071878; la secuencia de aminoácidos presentada en las accesiones de la genoteca GenBank n.º AAH01042, NP_036371, NP_001017524, o NP_071878 con 1 hasta alrededor de 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 50, 75 o más sustituciones de aminoácidos moderadas; una secuencia de aminoácidos que es al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, o 99% idéntica a las accesiones de la genoteca GenBank n.º AAH01042, NP_036371, NP_001017524, o NP_071878, y fragmentos funcionales de éstas. Los polipéptidos de la invención también incluyen homólogos (por ejemplo, ortólogos y parálogos), variantes o fragmentos de las accesiones de la genoteca GenBank n.º AAH01042, NP_036371, NP_001017524, o NP_071878. En una configuración, la proteína SIRT3 incluye un fragmento de la proteína SIRT3 que se produce por división con una peptidasa que procesa matriz mitocondrial (MPP) y/o con una peptidasa intermediaria mitocondrial (MIP).

Los términos «administración sistémica», «administrado en forma sistémica», «administración periférica» y «administración por ruta periférica» son reconocidos en la técnica y se refieren a la administración de una composición, fármaco de terapia y otros material diferente de una ruta directa al sistema nervioso central, de modo que ingrese al sistema del paciente y, por tanto, pase por el metabolismo y otros procesos semejantes.

El término «agente terapéutico» es bien conocido en la técnica y se refiere a cualquier componente químico que es una sustancia activa desde el punto de vista farmacológico, fisiológico o biológico que actúa local o sistémicamente en un sujeto. El término también se refiere a cualquier sustancia destinada al uso en diagnóstico, cura, mitigación, tratamiento o prevención de una enfermedad o el aumento del desarrollo y/o condiciones físicas o mentales deseables en un animal o ser humano.

El término «efecto terapéutico» es bien conocido en la técnica y se refiere al efecto local o sistémico en animales, particularmente mamíferos, y más particularmente

humanos, provocado por una sustancia activa desde el punto de vista farmacológico. La frase «cantidad terapéuticamente efectiva» significa que la cantidad de tal sustancia produce algún efecto local o sistémico deseado a una relación beneficio/riesgo razonable aplicable a cualquier tratamiento. La cantidad terapéuticamente efectiva de tal sustancia variará según el sujeto y la condición de enfermedad que se trate, el peso y edad del sujeto, la gravedad de la condición de enfermedad, la forma de administración y aspectos similares, que pueden fácilmente ser determinados por un conocedor de la técnica. Por ejemplo, determinadas composiciones descritas aquí pueden administrarse en una cantidad suficiente para producir un efecto deseado a una relación beneficio/riesgo razonable aplicable a tal tratamiento.

El «tratamiento» a una condición o enfermedad se refiere a curar así como al menos disminuir un síntoma de la condición o enfermedad.

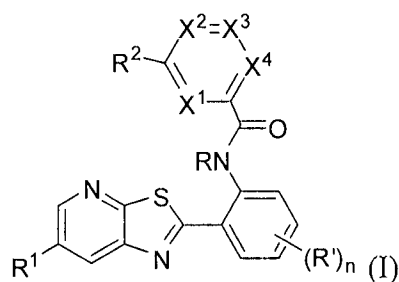
El término «deterioro visual» se refiere a disminución del sentido de la visión, que frecuentemente es solo parcial y reversible o irreversible durante el tratamiento (por ejemplo, cirugía). El deterioro particularmente grave de la visión se denomina «ceguera» o «pérdida de la visión», que se refiere a la pérdida completa de la visión, empeoramiento de la visión en una relación 20/200 que no puede mejorar con lentes correctivos, o del campo visual en menos de un diámetro de 20 grados (radio en 10 grados).

2. Moduladores de sirtuina

En un aspecto, la invención proporciona novedosos compuestos moduladores de la sirtuina para el tratamiento y/o prevención de una amplia variedad de enfermedades y trastornos que incluyen, por ejemplo, enfermedades o trastornos relacionados con el envejecimiento o estrés, diabetes, obesidad, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades y trastornos oculares, enfermedad cardiovascular, trastornos por coagulación sanguínea, inflamación, cáncer y/o crisis vasomotora, etc. Los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina también puede utilizarse para el tratamiento de una enfermedad o trastorno en

un sujeto que se beneficiara del aumento de la actividad mitocondrial, para aumentar el funcionamiento muscular, para aumentar los niveles de trifosfato de adenosina (ATP, por sus siglas en inglés) en el músculo, o para el tratamiento o prevención de daño tisular muscular asociado con hipoxia o isquemia. Otros compuestos revelados aquí pueden ser adecuados para su uso en una composición farmacéutica y/o uno o más métodos revelados en la presente invención.

En una configuración, los compuestos moduladores de la sirtuina de la invención se representan por fórmula estructural (I):



o una sal de éste, en donde:

dos de X^1 a X^4 se seleccionan de $-C(R^*)-$ y $-N-$;

los otros dos de X^1 a X^4 son $-C(R^*)-$;

R^1 es un grupo de solubilización;

R^2 es un grupo fenilo opcionalmente sustituido con un alquilo inferior, alcoxi inferior, halógeno, nitrilo o $-CF_3$, o R^2 es un heterociclo de 5 a 6 miembros que contiene un heteroátomo N y, opcionalmente, un segundo heteroátomo seleccionado de N, O o S, en donde dicho heterociclo está opcionalmente sustituido con metilo o un halógeno;

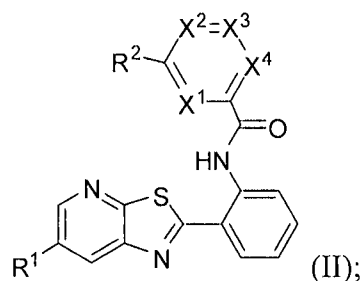
R^* es independientemente seleccionado en cada presencia de $-H$, alquilo inferior o halógeno;

R es $-H$ o $-CH_3$;

R' es $-CH_3$ o un halógeno; y

n es un entero de 0 a 4.

Por lo general, P es -H y n es 0, de modo que los compuestos de la fórmula estructural (I) se representan con la fórmula estructural (II):



o una sal de estos.

A continuación se presentan los valores preferidos en los compuestos de las fórmulas estructurales (I) y (II):

dos de X^1 a X^4 se seleccionan de $-CR^*$ - y $-N-$;

los otros dos de X^1 a X^4 son $-CR^*$ -;

R^* es independientemente seleccionado en cada presencia de $-H$, alquilo inferior o halógeno;

R^1 es un grupo de solubilización; y

R^2 se selecciona de fenilo opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de $-CN$, $-F$, $-Cl$ y $-CF_3$, y cuando cada uno de X^1 a X^4 es $-CR^*$ -, R^2 se selecciona adicionalmente de un heterociclo de 5- a 6 miembros que contiene un heteroátomo N y, opcionalmente, un segundo heteroátomo seleccionado de N, O o S, en donde dicho heterociclo está opcionalmente sustituido con metilo.

En ciertas configuraciones, cada uno de X^1 a X^4 es $-CR^*$ -. En otra configuración, uno de X^1 a X^4 es $-H$ - y el resto son $-CR^*$ -. En ciertas configuraciones, dos de X^1 a X^4 son $-H$ - y el resto son $-CR^*$ -. En ciertas configuraciones, en donde dos de X^1 a X^4 son $-H$ -, X^1 y X^2 son $-H$ -. En ciertas configuraciones, en donde dos de X^1 a X^4 son $-H$ -, X^1 y X^4 son $-H$ -. En ciertas configuraciones, cuando uno de X^1 a X^4 es $-N$ -, X^1 es $-N$ -. En determinadas configuraciones, R^* es H.

En ciertas configuraciones, tal como cuando cada uno de X^1 a X^4 es $-CR^*$ -, R^2 se selecciona de fenilo, fluorofenilo, difluorofenilo, clorofenilo, metiltiazolilo,

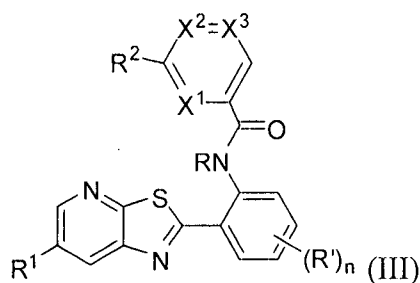
pirimidinilo, piridilo y pirazolilo. En ciertas de tales configuraciones, P^2 se selecciona de fenilo, fluorofenilo, difluorofenilo, clorofenilo, 2-metiltiazol-4-ilo, piridilo y pirazol-1-ilo. Preferiblemente, P^2 es fenilo o piridilo.

En determinadas configuraciones, P^1 es $-\text{CH}_2\text{-P}^3$ y P^3 es un heterociclo que contiene nitrógeno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$, amino, halógeno, metoxi y metoxi-alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$. En estas configuraciones, X^1 a X^4 y P^2 puede tener cualquiera de los valores descritos antes. En ciertas de tales configuraciones, P^2 es fenilo, piridilo o 3-fluorofenilo; X^2 y X^3 son $-\text{CP}^*$ - y X^1 y X^4 son independientemente seleccionados de $-\text{CP}^*$ - o $-\text{N-}$; o ambos.

En determinadas configuraciones, P^1 es $-\text{CH}_2\text{-P}^3$; y P^3 se selecciona de piperacín-1-ilo, 4-(metoxietil-piperacín-1-ilo, 3,5-dimetilpiperacín-1-ilo, morfolin-4-ilo, piperidín-1-ilo, 4-aminopiperidín-1-ilo, pirrolidín-1-ilo, 3-fluoropirrolidín-1-ilo, $-\text{NH-}$ (pirrolidín-3-ilo) y 1,4-diaza-biciclo[2.2.1]heptan-1-ilo. En estas configuraciones, X^1 a X^4 y P^2 puede tener cualquiera de los valores descritos antes, pero por lo general P^2 es fenilo, piridilo o 3-fluorofenilo; X^2 y X^3 son $-\text{CH-}$ y X^1 y X^4 son independientemente seleccionados de $-\text{CH-}$ o $-\text{N-}$; o ambos.

En ciertas de tales configuraciones, P^3 se selecciona de 4-(metoxietilo)-piperacín-1-ilo, morfolin-4-ilo, piperidín-1-ilo y 4-aminopiperidín-1-ilo. Cuando P^3 tiene estos valores, P^2 por lo general es fenilo, 3-fluorofenilo o piridilo. También, por lo general X^2 y X^3 son $-\text{CH-}$ y X^1 y X^4 son independientemente seleccionados de $-\text{CH-}$ o $-\text{N-}$. En configuraciones particulares, X^1 y X^4 son independientemente seleccionados de $-\text{CH-}$ o $-\text{N-}$; X^2 y X^3 son $-\text{CH-}$; P^2 es fenilo, 3-fluorofenilo o piridilo; y P^1 es $-\text{CH}_2\text{-P}^3$ donde P^3 se selecciona de 4-(metoxietilo)-piperacín-1-ilo, morfolin-4-ilo, piperidín-1-ilo y 4-aminopiperidín-1-ilo.

En cierta configuración, los compuestos moduladores de la sirtuina abarcados por la fórmula estructural (I) son representados por la fórmula estructural (III):



o una sal de éste, en donde:

uno de X^1 a X^3 es seleccionado de $-\text{CH}-$ y $-\text{N}-$;

los otros dos de X^1 a X^3 son $-\text{CH}-$;

R^1 es un grupo de solubilización;

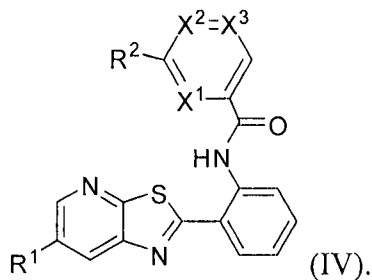
R^2 es un grupo fenilo opcionalmente sustituido con un metilo, halógeno o $-\text{CF}_3$,
o R^2 es un heterociclo de 5 a 6 miembros que contiene un heteroátomo N y,
opcionalmente, un segundo heteroátomo seleccionado de N, O o S, en donde dicho
heterociclo está opcionalmente sustituido con metilo o un halógeno;

R es $-\text{H}$ o $-\text{CH}_3$;

R' es $-\text{CH}_3$ o un halógeno; y

n es un entero de 0 a 4.

Por lo general, R es $-\text{H}$ y n es 0, de modo que los compuestos de la fórmula
estructural (III) se representan con la fórmula estructural (IV):



A continuación se presentan los valores preferidos de los compuestos de las
fórmulas estructurales (III) y (IV):

uno de X^1 a X^3 es seleccionado de $-\text{CH}-$ y $-\text{N}-$;

los otros dos de X^1 a X^3 son $-\text{CH}-$;

R^1 es un grupo de solubilización; y

R^2 se selecciona de fenilo y fluorofenilo, y, cuando cada uno de X^1 a X^3 es $-\text{CH}-$,

R^2 se selecciona adicionalmente de un heterociclo de 5- a 6 miembros que contiene un heteroátomo N y, opcionalmente, un segundo heteroátomo seleccionado de N, O o S, en donde dicho heterociclo está opcionalmente sustituido con metilo.

En ciertas configuraciones, cada uno de X^1 a X^3 es $-CH-$. En otra configuración, uno de X^1 a X^3 es $-N-$ y el resto son $-CH-$. Por lo general, cuando uno de X^1 a X^3 es $-N-$, X^1 es $-N-$.

En ciertas configuraciones, tal como cuando cada uno de X^1 a X^3 es $-CH-$, P^2 se selecciona de fenilo, fluorofenilo, metiltiazolilo, pirimidinilo, piridilo y pirazolilo. En determinadas de tales configuraciones, P^2 se selecciona de fenilo, fluorofenilo, 2-metiltiazol-4-ilo, piridilo y pirazol-1-ilo. Preferiblemente, P^2 es fenilo o piridilo.

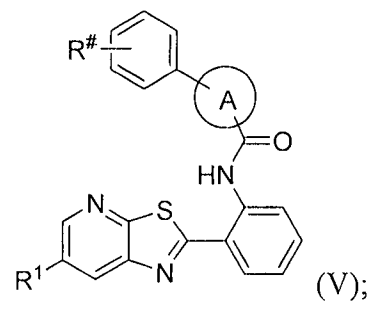
En determinadas configuraciones, P^1 es $-CH_2-P^3$ y P^3 es un heterociclo que contiene nitrógeno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de alquilo C_1-C_4 , amino, halógeno, metoxi y metoxi-alquilo- C_1-C_4 . En estas configuraciones, X^1 a X^3 y P^2 puede tener cualquiera de los valores descritos antes. En determinadas de tales configuraciones, P^2 se selecciona de fenilo, piridilo o 3-fluorofenilo; X^2 y X^3 son $-CH-$ y X^1 es $-CH-$ o $-N-$; o ambos.

En determinadas configuraciones, P^1 es $-CH_2-P^3$; y P^3 se selecciona de piperacín-1-ilo, 4-(metoxietil-piperacín-1-ilo, 3,5-dimetilpiperacín-1-ilo, morfolin-4-ilo, piperidin-1-ilo, 4-aminopiperidin-1-ilo, pirrolidin-1-ilo, 3-fluoropirrolidin-1-ilo, $-NH$ -(pirrolidin-3-ilo) y 1,4-diaza-biciclo[2.2.1]heptan-1-ilo. En estas configuraciones, X^1 a X^3 y P^2 puede tener cualquiera de los valores descritos antes, aunque por lo general P^2 es fenilo, piridilo o 3-fluorofenilo; X^2 y X^3 son $-CH-$ y X^1 es $-CH-$ o $-N-$; o ambos.

En ciertas de tales configuraciones, P^3 se selecciona de 4-(metoxietilo)-piperacín-1-ilo, morfolin-4-ilo, piperidin-1-ilo y 4-aminopiperidin-1-ilo. Cuando R^3 tiene estos valores, P^2 por lo general es fenilo, 3-fluorofenilo o piridilo. También, por lo general X^2 y X^3 son $-CH-$ y X^1 es $-CH-$ o $-N-$. En configuraciones particulares, X^1 es $-CH-$ o $-N-$; X^2 y X^3 son $-CH-$; P^2 es fenilo, 3-fluorofenilo o piridilo; y P^1 es $-CH_2-R^3$ donde P^3 se selecciona de 4-(metoxietilo)-piperacín-1-ilo, morfolin-4-ilo, piperidin-1-

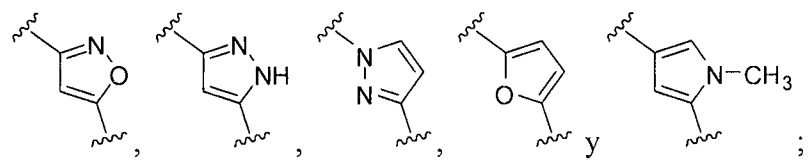
ilo y 4-aminopiperidin-1-ilo.

En otra configuración, los compuestos moduladores de la sirtuina de la invención se representan por fórmula estructural (V):



o una sal de éste, en donde:

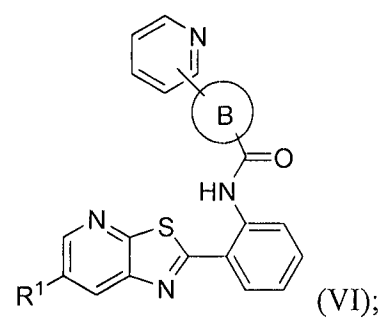
el anillo A se selecciona de:



R^1 es un grupo de solubilización; y

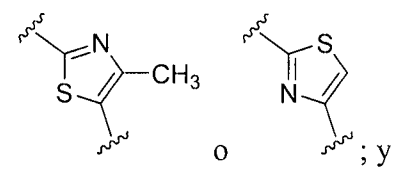
$R^\#$ es un $-H$ o $-O-CH_3$.

Aún en otra configuración, los compuestos moduladores de la sirtuina de la invención se representan por fórmula estructural (VI):



o una sal de éste, en donde:

el anillo B se selecciona de:



R^1 es un grupo de solubilización.

Los grupos de solubilización preferidos para las fórmulas estructurales (V)-(VI) son los mismos de las fórmulas estructurales (I)-(IV) definidos antes.

Los compuestos de la invención, que incluyen compuestos novedosos de la invención, también pueden utilizarse en los métodos descritos aquí.

Los compuestos moduladores de la sirtuina de la invención modulan en forma ventajosa el nivel y/o actividad de una proteína sirtuina, en particular la actividad de desacetilasa de la proteína sirtuina.

Por separado o además de las propiedades anteriores, determinados compuestos moduladores de la sirtuina de la invención no tienen considerablemente una o más de las siguientes actividades: inhibición de la PI3-cinasa, inhibición de la aldorreductasa, inhibición de la tirosina cinasa, transactivación de la EGFP, tirosina cinasa, dilatación coronaria o actividad espasmolítica, a concentraciones del compuesto que son efectivas para la modulación de la actividad de desacetilación de una proteína sirtuina (por ejemplo, tal como una proteína SIRT1 y/o SIRT3).

Un grupo alquilo es un hidrocarburo de cadena recta, cadena ramificada o cíclica, no aromático, que está completamente saturado. Por lo general, un grupo alquilo de cadena recta o ramificada contiene de 1 hasta alrededor de 20 átomos de carbono, preferiblemente de 1 hasta alrededor de 10 átomos de carbono, y un grupo alquilo cíclico tiene de 3 hasta alrededor de 10 átomos de carbono, preferiblemente de 3 hasta alrededor de 8 átomos de carbono. Ejemplos de grupos alquilo de cadena recta y cadena ramificada incluyen a metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, ter-butilo, pentilo, hexilo, heptilo y octilo. Un grupo alquilo de cadena recta o cadena ramificada C1-C4 también es referido como «alquilo inferior».

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

Los grupos aromáticos también incluyen a los sistemas de anillo aromático

policíclicos fusionados en los cuales un anillo aromático carbocíclico o anillo heteroarilo se fusiona con un o más de otros anillos heteroarilo. Ejemplos incluyen al benzotienilo, benzofurilo, indolilo, quinolinilo, benzotiazol, benzoxazol, bencimidazol, quinolinilo, isoquinolinilo e isoindolilo.

Sustituyentes adecuados en un grupo alquilo o arilo (carbocíclico y heteroarilo) son los que no interfieren apreciablemente con la capacidad de los compuestos revelados de utilizar una o más de las propiedades reveladas aquí. Un sustituyente interfiere apreciablemente con las propiedades de un compuesto cuando la magnitud de la propiedad se reduce en más de alrededor de 50% en un compuesto con el sustituyente en comparación con el compuesto sin el sustituyente. Ejemplos de sustituyentes adecuados incluyen $-\text{OH}$, halógeno ($-\text{Br}$, $-\text{Cl}$, $-\text{I}$ y $-\text{F}$), $-\text{OP}^a$, $-\text{O}-\text{COP}^a$, $-\text{COP}^a$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^a$, $-\text{CH}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{COOH}$, $-\text{COOP}^a$, $-\text{OCO}_2\text{P}^a$, $-\text{C}(\text{O})\text{IP}^a\text{P}^b$, $-\text{OC}(\text{O})\text{IP}^a\text{P}^b$, $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{IHP}^a$, $-\text{I}(\text{P}^a\text{P}^b)$, $-\text{COOR}^a$, $-\text{CHO}$, $-\text{COIH}_2$, $-\text{COIHP}^a$, $-\text{COI}(\text{P}^a\text{P}^b)$, $-\text{IHCOR}^a$, $-\text{IHCOP}^a$, $-\text{IHCOIH}_2$, $-\text{IHCOIHP}^a$, $-\text{IHCOI}(\text{P}^a\text{P}^b)$, $-\text{IIP}^c\text{COIH}_2$, $-\text{IIP}^c\text{COIHP}^a$, $-\text{IIP}^c\text{COI}(\text{P}^a\text{P}^b)$, $-\text{C}(=\text{IH})-\text{IH}_2$, $-\text{C}(=\text{IH})-\text{IHP}^a$, $-\text{C}(=\text{IH})-\text{I}(\text{P}^a\text{P}^b)$, $-\text{C}(=\text{IP}^c)-\text{NH}_2$, $-\text{C}(=\text{IP}^c)-\text{IHP}^a$, $-\text{C}(=\text{IP}^c)-\text{I}(\text{P}^a\text{P}^b)$, $-\text{IH}-\text{C}(=\text{IH})-\text{IH}_2$, $-\text{IH}-\text{C}(=\text{IH})-\text{IHP}^a$, $-\text{IH}-\text{C}(=\text{IH})-\text{I}(\text{P}^a\text{P}^b)$, $-\text{IH}-\text{C}(=\text{IP}^c)-\text{IH}_2$, $-\text{IH}-\text{C}(=\text{IP}^c)-\text{IHP}^a$, $-\text{IH}-\text{C}(=\text{IP}^c)-\text{I}(\text{P}^a\text{P}^b)$, $-\text{IP}^d\text{H}-\text{C}(=\text{IH})-\text{IH}_2$, $-\text{IP}^d\text{H}-\text{C}(=\text{IH})-\text{IHP}^a$, $-\text{IP}^d\text{H}-\text{C}(=\text{IH})-\text{I}(\text{P}^a\text{P}^b)$, $-\text{IP}^d\text{H}-\text{C}(=\text{IP}^c)-\text{IH}_2$, $-\text{IP}^d\text{H}-\text{C}(=\text{IP}^c)-\text{IHP}^a$, $-\text{IP}^d\text{H}-\text{C}(=\text{IP}^c)-\text{I}(\text{P}^a\text{P}^b)$, $-\text{IHIH}_2$, $-\text{IHIHP}^a$, $-\text{IHP}^a\text{P}^b$, $-\text{SO}_2\text{IH}_2$, $-\text{SO}_2\text{IHP}^a$, $-\text{SO}_2\text{IP}^a\text{P}^b$, $-\text{CH}=\text{CHR}^a$, $-\text{CH}=\text{CP}^a\text{P}^b$, $-\text{CP}^c=\text{CP}^a\text{P}^b$, $\text{CP}^c=\text{CHR}^a$, $-\text{CP}^c=\text{CP}^a\text{P}^b$, $-\text{CCR}^a$, $-\text{SH}$, $-\text{SO}_k\text{P}^a$ (k es 0, 1 o 2), $-\text{S}(\text{O})_k\text{OP}^a$ (k es 0, 1 o 2) y $-\text{IH}-\text{C}(=\text{IH})-\text{IH}_2$. P^a - P^d son cada uno independientemente un grupo opcionalmente sustituido seleccionado de un grupo alifático, bencilo o aromático, preferiblemente un grupo alquílico, bencílico o arílico. Sustituyentes opcionales en P^a - P^d se seleccionan de NH_2 , $\text{NH}(\text{alifático } \text{C}_{1-4})$, $\text{N}(\text{alifático } \text{C}_{1-4})_2$, halógeno, alifático C_{1-4} , OH , $\text{O}(\text{alifático } \text{C}_{1-4})$, NO_2 , CN , CO_2H , $\text{CO}_2(\text{alifático } \text{C}_{1-4})$, $\text{O}(\text{haloalifático } \text{C}_{1-4})$, o haloalifático C_{1-4} , en donde cada uno de los grupos alifáticos C_{1-4} mencionados antes no están sustituidos. Además, $-\text{IP}^a\text{P}^b$,

tomados juntos, también pueden formar un grupo heterocíclico no aromático sustituido o no sustituido. Un grupo alifático sustituido o arilo sustituido puede tener más de un sustituyente.

Los sustituyentes característicos en un anillo arilo se seleccionan de un grupo de solubilización, halógeno; $-P^o$; $-OR^o$; $-SR^o$; 1,2-metilendioxi; 1,2-etilendioxi; fenilo (Ph) opcionalmente sustituido con P^o ; $-O(Ph)$ opcionalmente sustituido con P^o ; $-(CH_2)_{1-2}(Ph)$, opcionalmente sustituido con P^o ; $-CH=CH(Ph)$, opcionalmente sustituido con P^o ; $-HO_2$; $-Cl$; $-I(P^o)_2$; $-C(O)C(O)P^o$; $-C(O)CH_2C(O)P^o$; $-CO_2P^o$; $-C(O)P^o$; $-S(O)_2P^o$; $-SO_2I(P^o)_2$; $-S(O)P^o$; $-IP^oSO_2I(P^o)_2$; $-IP^oSO_2P^o$; $-C(=S)I(P^o)_2$; o $-C(=NH)-N(P^o)_2$; o en donde cada presencia independiente de P^o se selecciona de hidrógeno, alifático C_{1-6} opcionalmente sustituido, un anillo heterocíclico o heteroarilo de 5 a 6 miembros no sustituido, fenilo, $-O(Ph)$, o $-CH_2(Ph)$, o, a pesar de la definición anterior, dos presencias independientes de P^o , en el mismo sustituyente o sustituyentes diferentes, tomados juntos con los átomos a los cuales cada grupo P^o está enlazado, forman un cicloalquilo, arilo o heterociclilo de 3 a 8 miembros, que tendrá 0 a 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, oxígeno o azufre. Los sustituyentes opcionales en el grupo alifático de P^o se seleccionan de NH_2 , NH (alifático C_{1-4}), N (alifático C_{1-4})₂, halógeno, alifático C_{1-4} , OH , O (alifático C_{1-4}), NO_2 , CN , CO_2H , CO_2 (alifático C_{1-4}), O (haloalifático C_{1-4}), o haloalifático C_{1-4} , en donde cada uno de los grupos alifáticos C_{1-4} mencionados antes de P^o no está sustituido.

Las combinaciones de sustituyentes y variables consideradas por esta invención son solamente las que se obtienen en la formación de compuestos estables. Como se usa aquí, el término «estable» se refiere a los compuestos que poseen suficiente estabilidad para permitir su fabricación y que mantienen la integridad del compuesto durante un período suficiente de tiempo para ser útil con los fines detallados aquí.

Como se usa aquí, un «grupo de solubilización» es una parte que tiene carácter hidrófilo lo suficiente para mejorar o aumentar la solubilidad en agua del compuesto en

el cual se incluye, en comparación con un compuesto análogo que no incluye este grupo. El carácter hidrófilo puede obtenerse por cualquier medio, tal como por la inclusión de grupos funcionales que se ionicen bajo las condiciones de uso para formar porciones con carga (por ejemplo, ácidos carboxílicos, ácido sulfónico, ácido fosfórico, aminas, etc.); grupos que incluyen cargas permanentes (por ejemplo, grupos de amonio cuaternario); y/o grupos heteroátomos o heteroatómicos (por ejemplo, O, S, N, NH, $\text{H}-(\text{CH}_2)_y-\text{F}^a$, $\text{H}-(\text{CH}_2)_y-\text{C}(\text{O})\text{P}^a$, $\text{H}-(\text{CH}_2)_y-\text{C}(\text{O})\text{OP}^a$, $\text{H}-(\text{CH}_2)_y-\text{S}(\text{O})_2\text{P}^a$, $\text{H}-(\text{CH}_2)_y-\text{S}(\text{O})_2\text{OP}^a$, $\text{H}-(\text{CH}_2)_y-\text{C}(\text{O})\text{IP}^a\text{P}^a$, etc., en donde P^a se selecciona de hidrógeno, alquilo inferior, cicloalquilo inferior, arilo (C6-C14), fenilo, naftilo, arilaquilo (C7-C20) y bencilo, en donde P^a está opcionalmente sustituido; y y es un entero que está en el intervalo de 0 a 6), grupos heterocíclicos opcionalmente sustituidos (por ejemplo, $-(\text{CH}_2)_n-\text{R}^b$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{C}(\text{O})-\text{R}^b$, $-(\text{CH}_2)_n-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{R}^b$, en donde R^b se selecciona de un heterociclo monocíclico saturado y opcionalmente sustituido, un heterociclo fusionado bicíclico saturado y opcionalmente sustituido, un heterociclo espiro bicíclico saturado, opcionalmente sustituido, un heteroarilo opcionalmente sustituido y un heterociclo diferente de arilo parcialmente sustituido, opcionalmente sustituido; y n es un entero en el intervalo de 0 a 2). Se debe entender que los sustituyentes presentes en P^a o P^b no necesitan mejorar o aumentar la solubilidad en agua sobre sus contrapartes no sustituidas para estar dentro del alcance de esta definición. Todo lo que se requiere es que tales sustituyentes no degraden significativamente la mejora de la solubilidad en agua proporcionada por la parte R^a o R^b no sustituida.

En una configuración, el grupo de solubilización aumenta la solubilidad en agua del compuesto correspondiente que carece del grupo de solubilización al menos 5 veces, preferiblemente al menos 10 veces, de más preferencia al menos 20 veces y de mayor preferencia al menos 50 veces.

En una configuración preferida, el grupo de solubilización es parte de la fórmula:

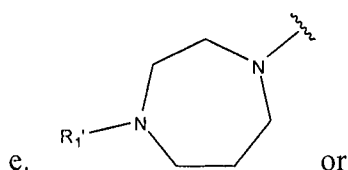
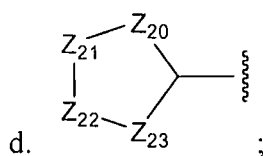
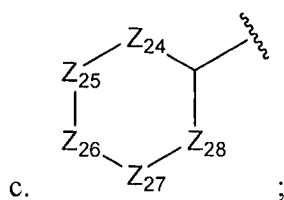
$-(CH_2)_n-R^{100}-N(R^{101})(R^{101})$, en donde:

n se selecciona de 0, 1 o 2;

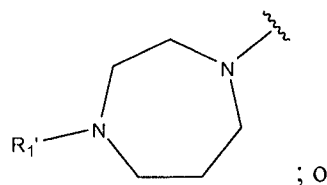
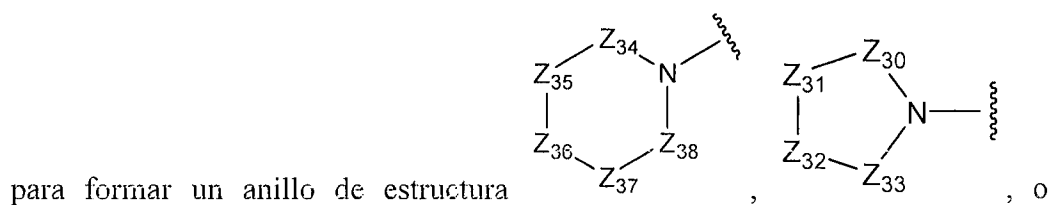
R^{100} se selecciona de un enlace, $-C(O)-$, o $-O(CH_2)_n$; y

Cada R^{101} es independientemente seleccionado de:

- hidrógeno;
- alquilo C_1-C_4 de cadena recta o ramificada, en donde dicho alquilo está opcionalmente sustituido con halo, CN, OH, O-(alquilo C_1-C_4 de cadena recta o ramificada), $N(R_1')(R_1')$, o $=O$;



- ambas partes R^{101} se toman juntas con el átomo de nitrógeno al cual están unidos



- ambas partes R^{101} se toman juntas con el átomo de nitrógeno al cual están unidos para formar un anillo de heteroarilo de 5 miembros que contiene 1 a 3 átomos de N adicionales, en donde dicho anillo heteroarilo está opcionalmente sustituido

con R_1' ;

en donde:

cada Z es independientemente seleccionado de: $-O-$, $-S-$, $-N(R_1')$, o $-C(P^{50})(P^{50})-$,

en donde:

al menos tres de Z_{20} , Z_{21} , Z_{22} , y Z_{23} son $-C(P^{50})(P^{50})-$;

al menos tres de Z_{24} , Z_{25} , Z_{26} , Z_{27} , y Z_{28} son $-C(P^{50})(P^{50})-$;

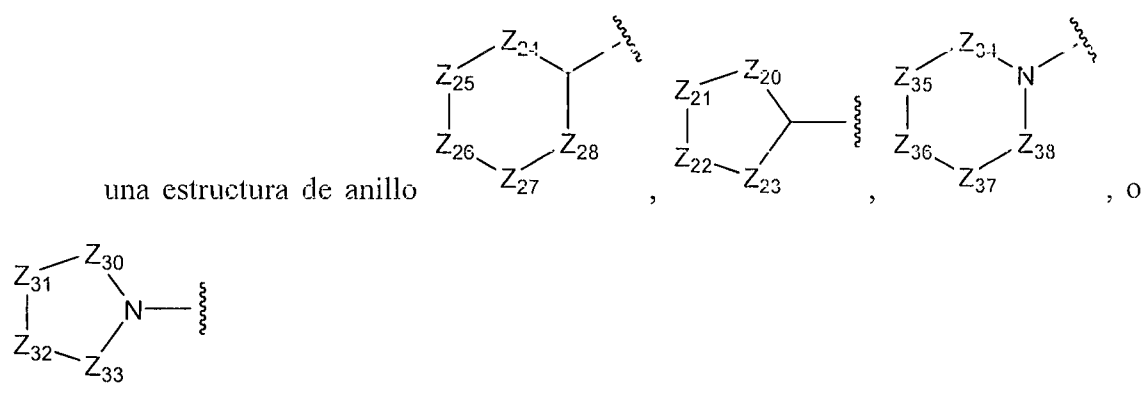
al menos cuatro de Z_{30} , Z_{31} , Z_{32} , y Z_{33} son $-C(P^{50})(P^{50})-$; y

al menos cuatro de Z_{34} , Z_{35} , Z_{36} , Z_{37} , y Z_{38} son $-C(P^{50})(P^{50})-$;

Cada R_1' se selecciona independientemente de hidrógeno o un alquilo de cadena recta o ramificada C_1 - C_3 opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de halo, $-CN$, $-OH$, $-OCH_3$, $-NH_2$, $-NH(CH_3)$, $-N(CH_3)_2$, o $=O$;

Cada P^{50} se selecciona independientemente de R_1' , halo, CN , OH , O -(alquilo de cadena recta o ramificada C_1 - C_4), $N(P_1')(P_1')$, $=CP_1'$, SP_1' , $=HP_1'$, $=HOP_1'$, o $=O$;

cualesquiera dos P^{50} no cíclicos adecuados se unen opcionalmente entre sí directamente o por medio de un puente alcanodiilideno, alquenileno o alquileno C_1 a C_2 , para producir un anillo bicíclico fusionado o anillo espiro; y



está opcionalmente benzofusionada o fusionada a un heteroarilo monocíclico para producir un anillo bicíclico.

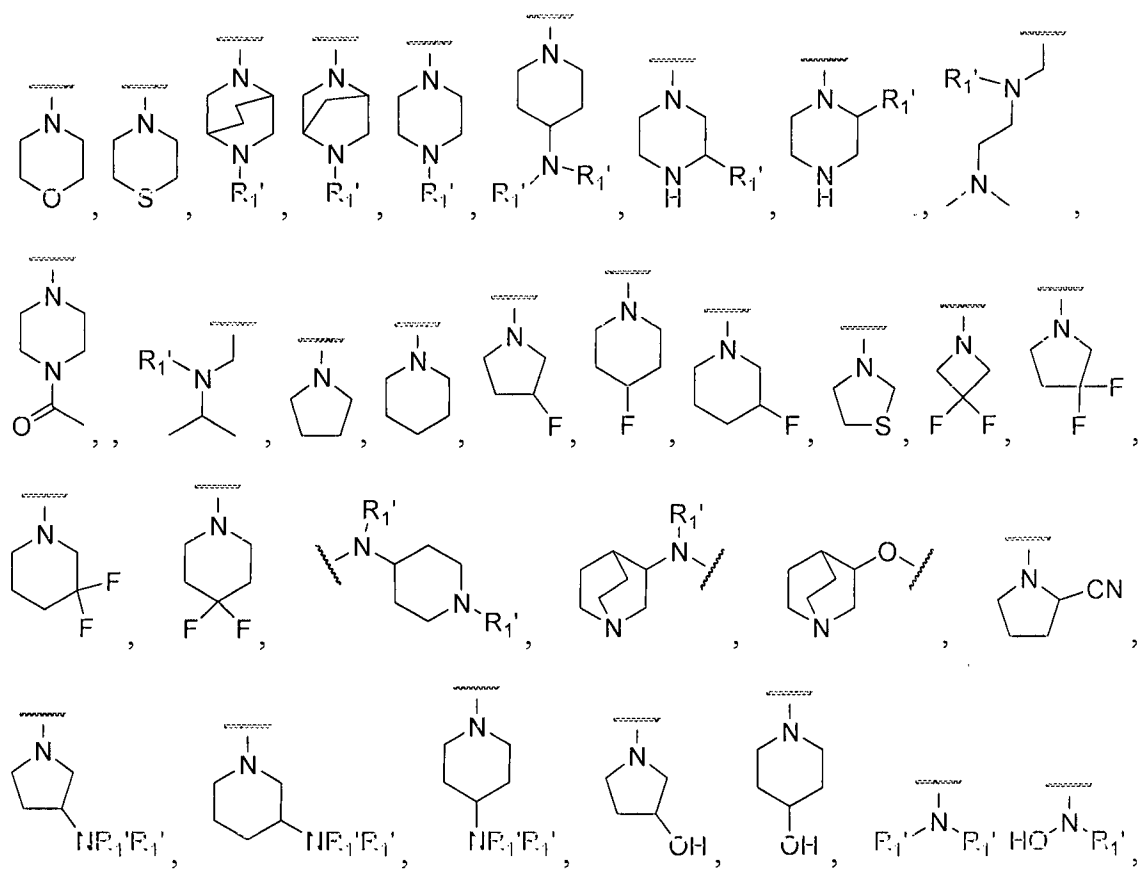
Por claridad, el término «puente alcanodiilideno, alquenileno o alquileno C_1 a C_2 » abarca estructuras multivalentes $-CH_2-$, $-CH_2-CH_2-$, $-CH=$, $=CH-$, $-CH=CH-$, o $=CH-CH=$. Las dos partes P^{50} que están opcionalmente unidas entre sí pueden estar en

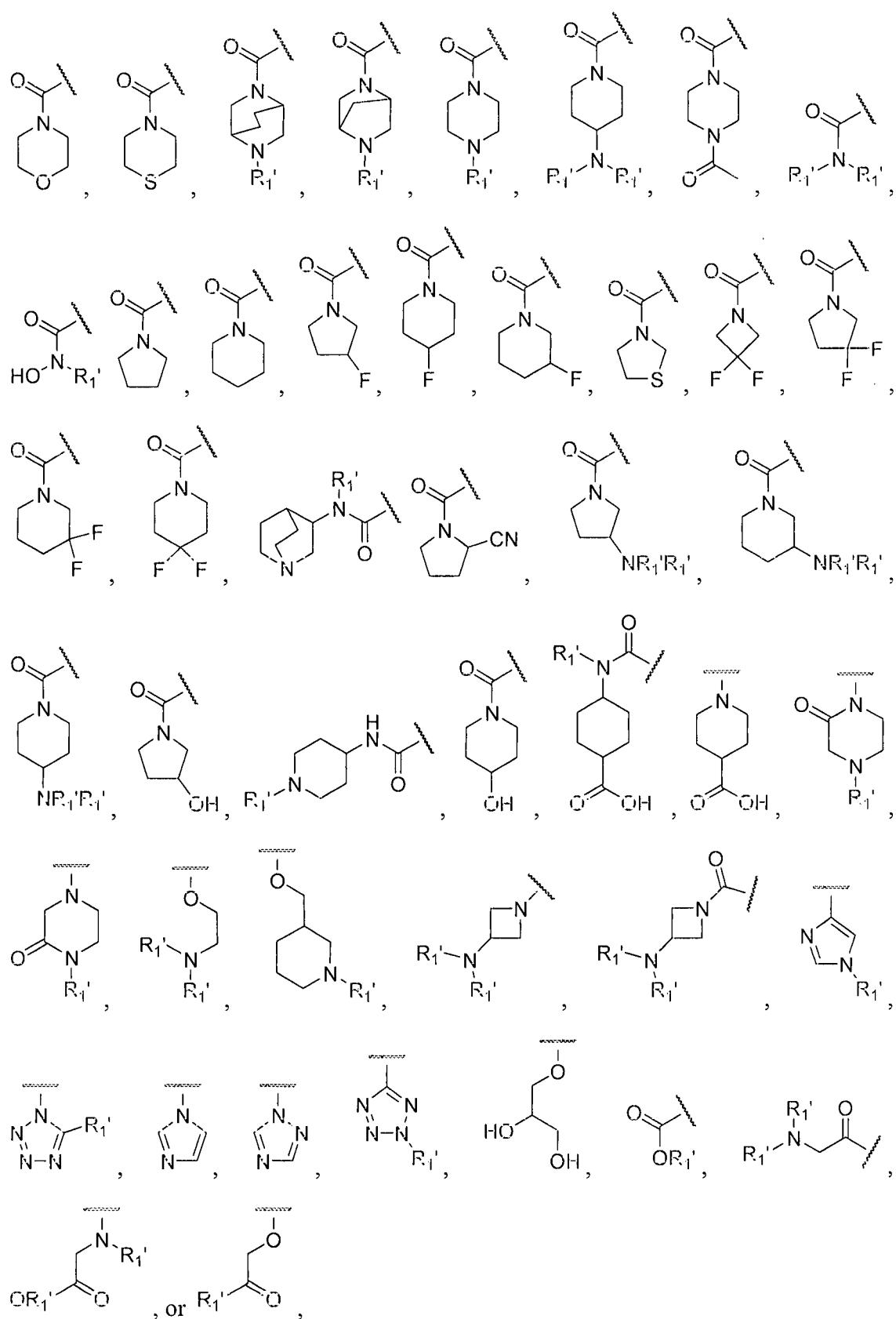
el mismo átomo de carbono o en diferentes átomos de carbono. El primer caso produce un anillo bicíclico espiro, mientras que el último caso produce un anillo bicíclico fusionado. Será obvio para los conocedores de la técnica que cuando dos P^{50} se enlazan entre sí para formar un anillo (ya sea directamente o a través de uno de los puentes citados), se perderá uno o más de los átomos de hidrógeno terminales en cada P^{50} . Por consiguiente, una parte « P^{50} no cíclica adecuada» disponible para la formación de un anillo es un P^{50} no cíclico que comprende al menos un átomo de hidrógeno terminal.

En otra configuración, el grupo de solubilización es una parte de la fórmula: $-(CH_2)_n-O-P^{101}$, en donde n y P^{101} son tales como los definidos con anterioridad.

Aún en otra configuración, el grupo de solubilización es una parte de la fórmula:: $-(CH_2)_n-C(O)-P_1'$, en donde n y P_1' son tales como los definidos con anterioridad.

En ciertas configuraciones, un grupo de solubilización se selecciona de $-(CH_2)_n-R^{102}$, en donde n es 0, 1 o 2, preferiblemente 2; y R^{102} se selecciona de





en donde los grupos P_1' son tales como los definidos con anterioridad.

En determinadas configuraciones particulares, el grupo de solubilización se selecciona de 2-dimetilaminoetilcarbamoilo, piperacín-1-ilocarbonilo, piperacínilometilo, dimetilaminometilo, 4-metilpiperacín-1-ilometilo, 4-aminopiperidín-1-ilo-metilo, 4-fluoropiperidín-1-ilo-metilo, morfolinometilo, pirrolidín-1-ilometilo, 2-oxo-4-benzilopiperacín-1-ilometilo, 4-benzilopiperacín-1-ilometilo, 3-oxopiperacín-1-ilometilo, piperidín-1-ilometilo, piperacín-1-iloetilo, 2,3-dioxopropilaminometilo, tiazolidín-3-ilometilo, 4-acetilopiperacín-1-ilometilo, 4-acetilopiperacín-1-ilo, morfolino, 3,3-difluoroacetidín-1-ilometilo, 2*H*-tetrazol-5-ilometilo, tiomorfolín-4-ilometilo, 1-oxotiomorfolín-4-ilometilo, 1,1-dioxotiomorfolín-4-ilometilo, 1*H*-imidazol-1-ilometilo, 3,5-dimetilopiperacín-1-ilometilo, 4-hidroxipiperidín-1-ilometilo, *N*-metilo(1-acetilopiperidín-4-ilo)-aminometilo, *N*-metiloquinuclidín-3-iloaminometilo, 1*H*-1,2,4-triazol-1-ilometilo, 1-metilopiperidín-3-ilo-oximetilo o 4-fluoropiperidín-1-ilo.

Cuando no aparezca incluido dentro de ninguna de las definiciones presentadas antes, el término del «grupo de solubilización» también incluye partes reveladas que se presentan unidas en la posición 7 del ácido 1-ciclopropil-6-fluoro-1,4-dihidro-4-oxoquinolín-3-carboxílico (ciprofloxacina) y sus derivados como se revela en las publicaciones PCT WO 2005/026165, WO 2005/049602, y WO 2005/033108, y las publicaciones de patente europea EP 0343524, EP 0688772, EP 0153163, EP 0159174; así como los «grupos de solubilización en agua» descritos en la publicación de Patente de los Estados Unidos n.º 2006/0035891. La revelación de cada una de estas publicaciones de patente se incorpora aquí como referencia.

Los compuestos revelados aquí también incluyen variantes parcial y completamente deuterados. En ciertas configuraciones, uno o más átomos de deuterio están presentes para estudios cinéticos. Un conocedor de la técnica puede seleccionar los sitios en los cuales están presentes tales átomos de deuterio.

También se incluyen sales en la presente invención, particularmente sales farmacéuticamente aceptables, de los compuestos moduladores de la sirtuina descritos

aquí. Los compuestos de la presente invención que poseen suficientemente ácidos, un grupo suficientemente básico, o ambos grupos funcionales, pueden reaccionar con cualquiera número de bases inorgánicas, y ácidos orgánicos e inorgánicos, para formar una sal. Alternativamente, los compuestos que están inherentemente cargados, tales como en el caso de nitrógeno cuaternario, pueden formar una sal con un contraión apropiado (por ejemplo, un haluro tal como bromuro, cloruro o fluoruro, particularmente bromuro).

Los compuestos y sales de estos descritos aquí también incluyen los hidratos (por ejemplo, semihidrato, monohidrato, dihidrato, trihidrato, tetrahidrato) y solvatos de los compuestos y sales de estos. Los solventes adecuados para la elaboración de solvatos e hidratos pueden en general ser seleccionados por un conocedor de la técnica.

Los compuestos y sales de estos pueden estar presentes en formas amorfas o cristalinas (que incluyen forma cocrystalina y polimorfa).

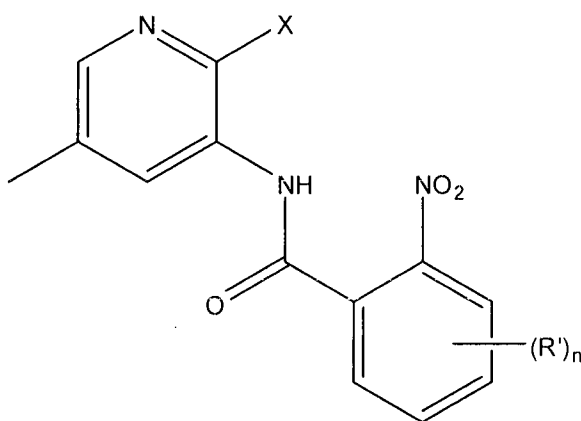
Los ácidos comúnmente empleados para formar sales de adición ácida son ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico y ácidos similares, y ácidos orgánicos tales como ácido p-toluenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido oxálico, ácido p-bromofenilsulfónico, ácido carbónico, ácido succínico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido acético y ácidos similares. Ejemplos de tales sales incluyen a sales de sulfato, piro-sulfato, bisulfato, sulfito, bisulfito, fosfato, fosfato monoácido, fosfato diácido, metafosfato, pirofosfato, cloruro, bromuro, yoduro, acetato, propionato, decanoato, caprilato, acrilato, formato, isobutirato, caproato, heptanoato, propiolato, oxalato, malonato, succinato, suberato, sebacato, fumarato, maleato, butin-1,4-dioato, hexin-1,6-dioato, benzoato, clorobenzoato, metilbenzoato, dinitrobenzoato, hidroxibenzoato, metoxibenzoato, ftalato, sulfonato, xilenosulfonato, fenilacetato, fenilpropionato, fenilbutirato, citrato, lactato, gamma-hidroxibutirato, glicolato, tartrato, metanosulfonato, propanosulfonato, naftalen-1-sulfonato, naftalen-2-sulfonato, mandelato y sales similares.

Sales de adición básica incluyen a las derivadas de bases inorgánicas, tales como

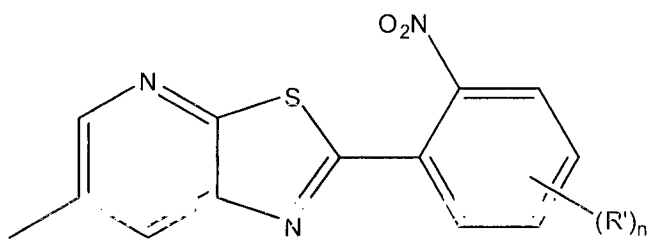
los hidróxidos, carbonatos, bicarbonatos de metal alcalino, alcalinotérreo o amonio y bases similares. Tales bases útiles en la elaboración de las sales de esta invención incluyen al hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de amonio, carbonato de potasio bases similares.

Según otra configuración, la presente invención proporciona métodos de producción de los compuestos moduladores de la sirtuina definidos antes. Los compuestos pueden sintetizarse utilizando técnicas convencionales. En forma ventajosa, estos compuestos son sintetizados en forma conveniente a partir de materiales de partida fácilmente disponibles.

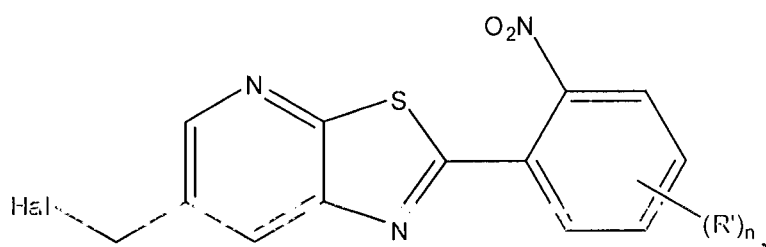
Un método de elaboración de los compuestos de la invención involucra la reacción del siguiente compuesto:



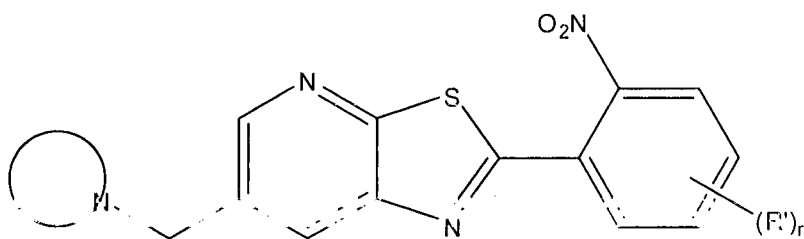
en donde X es un grupo saliente (por ejemplo, un halógeno tal como Cl), con un agente de cierre del anillo (por ejemplo, un agente) para formar el siguiente compuesto:



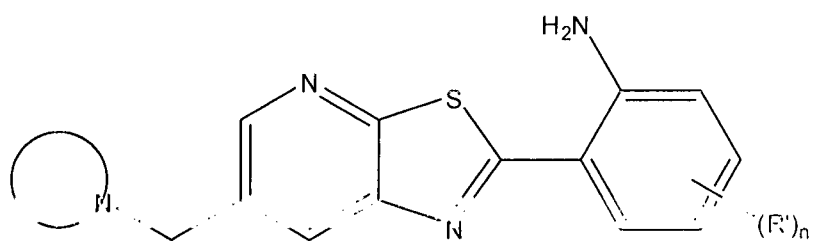
Este compuesto por lo general es clorado o bromado, por ejemplo, con N-bromosuccinimida para formar el siguiente compuesto:



donde Hal representa un halógeno, aunque pueden aceptarse otros grupos salientes. Este compuesto luego se hace reaccionar con un heteroanillo que contiene nitrógeno opcionalmente protegido (por ejemplo, un grupo R^3 opcionalmente protegido) para formar el siguiente compuesto:



en donde el heteroanillo que contiene nitrógeno está opcionalmente sustituido y como opción incluye uno o más heteroátomos adicionales. El compuesto se reduce con un agente reductor apropiado, por ejemplo, polvo de hierro, para formar el siguiente compuesto:



Este compuesto después reacciona con un ácido piridincarboxílico sustituido con P^2 o un ácido benzoico sustituido con P^2 y, si es necesario, desprotegido, para formar un compuesto de la invención.

En la técnica se conocen metodologías y transformaciones químicas de síntesis útiles en la elaboración de los compuestos moduladores de la citruina descritos aquí e incluyen, por ejemplo, los descritos en P. Larock, *Comprehensive Organic Transformations* (1989); T. W. Greene y P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2da edición (1991); L. Fieser y M. Fieser, *Fieser y Fieser's Reagents for*

Organic Synthesis (1994); y L. Paquette, ed., *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis* (1995).

En ejemplos de configuración, un compuesto modulador de sirtuina puede atravesar la membrana citoplásmica de una célula. Por ejemplo, un compuesto tendría una permeabilidad celular de al menos alrededor de 20%, 50%, 75%, 80%, 90% o 95%.

Los compuestos moduladores de la sirtuina descritos aquí también tendrían una o más de las siguientes características: el compuesto puede ser en esencia no tóxico para una célula o sujeto; el compuesto modulador 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 vida media bajo condiciones atmosféricas normales de al menos alrededor de 30 días, 60 días, 120 días, 6 meses o 1 año; el compuesto puede tener una vida media en solución de al menos al menos alrededor de 30 días, 60 días, 120 días, 6 meses o 1 año; un compuesto modulador de sirtuina puede ser más estable en solución que el resveratrol en al menos un factor de alrededor de 50%, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 30 veces, 50 veces o 100 veces; un compuesto modulador de sirtuina puede promover la desacetilación del factor de reparación de ADN Ku70; un compuesto modulador de sirtuina puede promover la desacetilación de RelA/p65; un compuesto puede aumentar las velocidades de recambio generales y ampliar la sensibilidad de células a la apoptosis inducida por el TNF.

En ciertas configuraciones, un compuesto modulador de sirtuina no tiene capacidad apreciable alguna de inhibir una histona desacetilasa (HDACs) clase I, una HDAC clase II, o HDACs I y II, a concentraciones (por ejemplo, *in vivo*) efectivas para la modulación de la actividad de desacetilasa de la sirtuina. Por ejemplo, En las configuraciones preferidas el compuesto modulador de sirtuina es un compuesto activador de la sirtuina y se escoge para que tenga una EC_{50} para la activación de la actividad de sirtuina desacetilasa que es al menos 5 veces menor que la EC_{50} para la inhibición de una HDAC I y/o una HDAC II, e incluso de más preferencia al menos 10

veces, 100 veces o incluso 1000 veces menos. Los métodos para la evaluación de la actividad HDAC I y/o HDAC II son bien conocidos en la técnica y los kits para realizar tales ensayos pueden comprarse comercialmente. Véase por ejemplo, BioVision, Inc. (Mountain View, CA; www.biovision.com) y Thomas Scientific (Swedesboro, NJ; www.tomassci.com).

En ciertas configuraciones, un compuesto modulador de sirtuina no tiene capacidad apreciable alguna de modular homólogos de sirtuina. En una configuración, un activador de una proteína sirtuina humana no tendrá capacidad alguna para activar una proteína sirtuina de eucariotas inferiores, particularmente levadura o patógenos para los humanos, a concentraciones (por ejemplo, *in vivo*) efectivas para la activación de la actividad de la desacetilasa de la sirtuina humana. Por ejemplo, un compuesto activador de la sirtuina puede escogerse para que tenga una EC_{50} para la activación de una sirtuina humana, tal como la SIRT1 y/o la SIRT3, en donde la actividad de la desacetilasa es al menos 5 veces menor que la EC_{50} para la activación de una sirtuina de levadura, tal como la Sir2 (como la Candida, *S. cerevisiae*, etc.), e incluso de más preferencia al menos 10 veces, 100 veces o incluso 1000 veces menor. En otra configuración, un inhibidor de una proteína sirtuina de eucariotas inferiores, particularmente levadura o patógenos para los humanos, no tendrá capacidad apreciable alguna para inhibir una proteína sirtuina de humanos a concentraciones (por ejemplo, *in vivo*) efectivas para la inhibición de la actividad de la desacetilasa de una proteína sirtuina de un eucariota inferior. Por ejemplo, un compuesto activador de la sirtuina puede escogerse para que tenga una IC_{50} para la inhibición de una sirtuina humana, tal como la SIRT1 y/o la SIRT3, en donde la actividad de la desacetilasa es al menos 5 veces menor que la IC_{50} para la inhibición de una sirtuina de levadura, tal como la Sir2 (como la Candida, *S. cerevisiae*, etc.), e incluso de más preferencia al menos 10 veces, 100 veces o incluso 1000 veces menor.

En ciertas configuraciones, un compuesto modulador de sirtuina puede tener la capacidad de modular uno o más homólogos de proteína sirtuina, tales como, por

ejemplo, una de las SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6 o SIRT7 humanas. En una configuración, un compuesto modulador de sirtuina tiene la capacidad de modular tanto la proteína SIRT1 como la proteína SIRT3.

En otras configuraciones, un modulador de SIRT1 no tendrá capacidad apreciable alguna para modular otros homólogos de proteína sirtuina, tales como, por ejemplo, una de las SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6 o SIRT7 humanas, a concentraciones (por ejemplo, *in vivo*) efectivas para la modulación de la actividad de la desacetilasa de la SIRT1 humana. Por ejemplo, un compuesto modulador de sirtuina puede escogerse para que tenga una ED_{50} para la modulación de la actividad de la desacetilasa de SIRT1 humana que es al menos 5 veces menor que la ED_{50} para la modulación de una o más de las SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6, o SIRT7 humanas, e incluso de más preferencia al menos 10 veces, 100 veces o incluso 1000 veces menor. En una configuración, un modulador de SIRT1 no tiene capacidad apreciable alguna de modular una proteína SIRT3.

En otras configuraciones, un modulador de SIRT3 no tendrá capacidad apreciable alguna para modular otros homólogos de proteína sirtuina, tales como, por ejemplo, una de las SIRT1, SIRT2, SIRT4, SIRT5, SIRT6 o SIRT7 humanas, a concentraciones (por ejemplo, *in vivo*) efectivas para la modulación de la actividad de la desacetilasa de la SIRT3 humana. Por ejemplo, un compuesto modulador de sirtuina puede escogerse para que tenga una ED_{50} para la modulación de la actividad de la desacetilasa de SIRT3 humana que es al menos 5 veces menor que la ED_{50} para la modulación de una o más de las SIRT1, SIRT2, SIRT4, SIRT5, SIRT6, o SIRT7 humanas, e incluso de más preferencia al menos 10 veces, 100 veces o incluso 1000 veces menor. En una configuración, un modulador de SIRT3 no tiene capacidad apreciable alguna de modular una proteína SIRT1.

En ciertas configuraciones, un compuesto modulador de sirtuina tendría una afinidad de unión para una proteína sirtuina de alrededor de $10^{-9}M$, $10^{-10}M$, $10^{-11}M$, $10^{-12}M$ o menor. 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 alrededor de 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 50 o 100. En ciertas configuraciones, los valores de K_m se determinan por el ensayo de espectrometría de masas descrito aquí. Los compuestos activadores preferidos reducen la K_m de una sirtuina con respecto a su sustrato o cofactor en un grado mayor que el provocado por el resveratrol a una concentración similar o reducir la K_m de una sirtuina con respecto a su sustrato o cofactor similar al provocado por el resveratrol a una concentración inferior. Un compuesto modulador de sirtuina puede aumentar la V_{max} de una proteína sirtuina en un factor de al menos alrededor de 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 50 o 100. Un compuesto modulador de sirtuina puede tener una ED_{50} para la modulación de la actividad de desacetilasa de una proteína SIRT1 y/o SIRT3 menor de alrededor de 1 nM, menor de alrededor de 10 nM, menor de alrededor de 100 nM, menor de alrededor de 1 μ M, menor de alrededor de 10 μ M, menor de alrededor de 100 μ M, o de aproximadamente 1-10 nM, de alrededor de 10-100 nM, de alrededor de 0,1-1 μ M, de alrededor de 1-10 μ M o de alrededor de 10-100 μ M. Un compuesto modulador de sirtuina puede modular la actividad de la desacetilasa de una proteína de SIRT1 y/o SIRT3 en un factor de al menos alrededor de 5, 10, 20, 30, 50, o 100, medida en un ensayo celular o en un ensayo basado sobre células. Un compuesto activador de la sirtuina puede provocar al menos alrededor de 10%, 30%, 50%, 80%, 2 veces, 5 veces, 10 veces, 50 veces o 100 veces mayor inducción de la actividad de la desacetilasa de una proteína sirtuina con respecto a la misma concentración de resveratrol. Un compuesto modulador de sirtuina puede tener una ED_{50} para la modulación de la SIRT5 que es al menos alrededor de 10 veces, 20 veces, 30 veces o 50 veces mayor que la de la modulación de la SIRT1 y/o SIRT3.

3. Ejemplos de uso

En ciertos aspectos, la invención proporciona métodos para la modulación del nivel y/o actividad de una proteína sirtuina y métodos de uso de éste.

En ciertas configuraciones, la invención proporciona métodos para el uso de los

compuestos moduladores de la sirtuina, en donde los compuestos moduladores de la sirtuina activan una proteína sirtuina, por ejemplo, aumentar el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina. Los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para una variedad de aplicaciones terapéuticas que incluyen, por ejemplo, el aumento del ciclo de vida de una célula, y el tratamiento y/o prevención de una amplia variedad de enfermedades y trastornos que incluyen, 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 crisis vasomotora, etc. Los métodos comprenden la administración a un sujeto en necesidad de estos de una cantidad farmacéuticamente efectiva de un compuesto modulador de sirtuina, por ejemplo, un compuesto activador de la sirtuina.

Aunque los solicitantes no desean vincularse con una teoría en particular, se estima que los activadores de la presente invención pueden interactuar con una sirtuina en la misma ubicación dentro de la proteína sirtuina (por ejemplo, el sitio activo o sitio que afecta la K_m o V_{max} del sitio activo). Se estima que esta es la razón del porqué determinadas clases de activadores de sirtuina e inhibidores pueden tener similitud estructural considerable.

En ciertas configuraciones, los compuestos moduladores de la sirtuina descritos aquí pueden administrarse solos o en combinación con otros compuestos. En una configuración, una mezcla de dos o más compuestos moduladores de la sirtuina puede administrarse a un sujeto que la necesita. En otra configuración, 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, buteína, fisetina, piceatanol o quercetina. En un ejemplo de configuración, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede administrarse en combinación con un ácido nicotínico. En otra configuración, 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 (NAD), suranim; NF023 (antagonista de proteína G); NF279 (antagonista del receptor purinérgico); Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8,tetrametilcroman-2-carboxílico); (-)-epigallocatequina (sitios de hidroxi 3,5,7,3',4',5'); galato de (-)-epigallocatequina (sitios de hidroxi 5,7,3',4',5' y éster 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 (canabiscetina; 3,5,7,3',4',5'-hexahidroxiflavona); 3,7,3',4',5'-pentahidroxiflavona; gosipetina (3,5,7,8,3',4'-hexahidroxiflavona), sirtinol; y esplitomicina. Aún en otra configuración, uno o más compuestos moduladores de la sirtuina puede administrarse con uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento o prevención de varias enfermedades, incluyen, por ejemplo, cáncer, diabetes, enfermedades neurodegenerativas, enfermedad cardiovascular, coagulación sanguínea, inflamación, crisis vasomotora, obesidad, envejecimiento, estrés, etc. En diversas configuraciones, las politerapias que comprenden un compuesto modulador de sirtuina pueden referirse a(1) composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más compuestos moduladores de la sirtuina en combinación con uno o más agentes terapéuticos (por ejemplo, uno o más agentes terapéuticos descritos aquí); y (2) la coadministración de uno o más compuestos moduladores de la sirtuina con uno o más agentes terapéuticos en donde el compuesto modulador de sirtuina y el agente terapéutico no han sido formulado en las mismas composiciones (pero puede estar presente dentro del mismo kit o paquete, tal como un envase alveolado u otro envase con varias cámaras; recipientes sellados por separado, conectados (por ejemplo, bolsitas de aluminio) que pueden ser separados por el usuario; o un lit donde el compuesto(s) modulador(es) de sirtuina y el otro agente(s) terapéutico(s) están en recipientes separados). Cuando se utilizan formulaciones separadas, el compuesto modulador de sirtuina puede administrarse en el mismo momento, intermitente, escalonado, antes, después o en combinaciones de estos, con la administración de otro agente terapéutico.

En ciertas configuraciones, los métodos para la reducción, prevención o tratamiento de las enfermedades o trastornos que utilizan el compuesto modulador de sirtuina también pueden comprender el aumento del nivel de proteína de una sirtuina, tal como la SIRT1, SIRT2 y/o SIRT3 humanas u homólogos de éstas. El aumento de los niveles proteicos puede obtenerse por la introducción en la célula de 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, el aumento del nivel de SIRT1 por la introducción de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos presentada en la accesión de la genoteca GenBank n.º NP_036370 y/o el aumento del nivel de la SIRT3 por la introducción de ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos presentada en la accesión de la genoteca GenBank n.º AAH01042.

El ácido nucleico que se introduce a una célula para aumentar el nivel de proteína de una sirtuina puede codificar una proteína que es al menos alrededor de 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 alrededor de 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, o 99% idéntica a un ácido nucleico que codifica una proteína SIRT1 (por ejemplo, accesión de la genoteca GenBank n.º NM_012238) y/o SIRT3 (por ejemplo, accesión de la genoteca GenBank n.º BC001042). El ácido nucleico también puede ser un ácido nucleico que hibrida, preferiblemente bajo condiciones de hibridación rigurosas, a un ácido nucleico que codifica una sirtuina natural, por ejemplo, proteína SIRT1 y/o SIRT3. Las condiciones rigurosas de hibridación pueden incluir la hibridación y lavado en 0,2 veces de SSC a 65 °C. Cuando se utiliza un ácido nucleico que codifica una proteína que es diferente de la proteína sirtuina natural, tal como una proteína que es un fragmento de una sirtuina natural, la proteína preferiblemente es biológicamente activa, por ejemplo, es capaz de desacetilación. Solamente es necesario expresar en la célula una parte de la sirtuina que es biológicamente activa. Por ejemplo, una proteína que difiere de la SIRT1 natural que

tiene una accesión de la genoteca GenBank n.º NP_036370, preferiblemente contiene la estructura de núcleo de ésta. La estructura de núcleo en algunas ocasiones se refiere a aminoácidos 62-293 de accesión de la genoteca GenBank n.º NP_036370, que son codificados por nucleótidos 237 a 932 de accesión de la genoteca GenBank n.º NM_012238, que abarca la unión de NAD así como los dominios de unión al sustrato. El dominio del núcleo de SIRT1 también puede referirse a alrededor de los aminoácidos 261 a 447 de la accesión de la genoteca GenBank n.º NP_036370, que son codificados por los nucleótidos 834 a 1394 de accesión de la genoteca GenBank n.º NM_012238; alrededor de los aminoácidos 242 a 493 de la accesión de la genoteca GenBank n.º NP_036370, que son codificados por los nucleótidos 777 a 1532 de accesión de la genoteca GenBank n.º NM_012238; o alrededor de los aminoácidos 254 a 495 de la accesión de la genoteca GenBank n.º NP_036370, que son codificados por los nucleótidos 813 a 1538 de la accesión de la genoteca GenBank n.º NM_012238. Si una proteína retiene una función biológica, por ejemplo, capacidades de desacetilación, puede determinarse de acuerdo con métodos conocidos en la técnica.

En ciertas configuraciones, los métodos para la reducción, prevención o tratamiento de las enfermedades o trastornos que utilizan el compuesto modulador de sirtuina también pueden comprender la disminución del nivel de proteína de una sirtuina, tal como la SIRT1, SIRT2 y/o SIRT3 humanas u homólogos de éstas. La disminución del nivel de proteína sirtuina puede obtenerse de acuerdo con métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, puede expresarse un APNpi, un ácido nucleico no codificante, o una ribozima destinada a la sirtuina en la célula. También se puede utilizar un mutante de sirtuina negativo dominante, por ejemplo, un mutante que no es capaz de desacetilación. Por ejemplo, puede utilizarse el mutante H363Y de la SIRT1, descrita, por ejemplo por Luo y colaboradores, (2001) Cell 107:137. Alternativamente, pueden utilizarse agentes que inhiben la transcripción.

Los métodos para la modulación de niveles de proteína sirtuina también incluyen métodos para la modulación de la transcripción de genes que codifican

sirtuinas, métodos para la estabilización o desestabilización de los APNm correspondientes, y otros métodos conocidos en la técnica.

Envejecimiento/estrés

En una configuración, la invención proporciona un método de extensión del ciclo de vida de una célula, que extiende la capacidad proliferativa de la célula, retarda el envejecimiento de la célula, promueve la supervivencia de la célula, retarda la senectud de la célula, imita los efectos de la restricción de calorías, aumenta la resistencia de una célula a la tensión, o previene la apoptosis de la célula, por contacto de la célula con un compuesto modulador de sirtuina de la invención que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina. En un ejemplo de configuración, los métodos comprenden el contacto de la célula con un compuesto activador de la sirtuina.

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

En una configuración, las células que están destinadas a ser conservadas durante períodos prolongados de tiempo pueden tratarse con un compuesto modulador de sirtuina que aumente el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina. Las células pueden estar en suspensión (por ejemplo, leucocitos, suero, medio de crecimiento biológico, etc.) o en tejidos u órganos. Por ejemplo, la sangre recolectada de una persona con fines de transfusión puede tratarse con un compuesto modulador de sirtuina que aumente el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina para conservar

los leucocitos durante períodos más prolongados de tiempo. Adicionalmente, la sangre a utilizarse con fines forenses también puede conservarse utilizando un compuesto modulador de sirtuina que aumente el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina. Otras células que pueden tratarse para extender su ciclo de vida o protegerlo contra la apoptosis incluyen células para consumo, por ejemplo, células de mamíferos no humanos (tal como carne) o células vegetales (tales como de verduras).

Los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o actividad de una proteína sirtuina también pueden aplicarse durante las fases de desarrollo y crecimiento en mamíferos, plantas, insectos o microorganismos, para, por ejemplo, modificar, retardar o acelerar el proceso de desarrollo y/o crecimiento.

En otra configuración, los compuestos moduladores de la 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, que incluyen, por ejemplo, injertos sólidos tisulares, trasplantes de órganos, suspensiones celulares, células madre, células de médula ósea, etc. Las células o tejido pueden ser autoinjertos, un aloinjerto un isotrasplante o un xenoinjerto. Las células o tejido pueden tratarse con el compuesto modulador de sirtuina antes de la administración o implante, concurrentemente con la administración o implante, y/o después de la administración o implante en un sujeto. Las células o tejido pueden tratarse antes de retirar las células de la persona donadora, *ex vivo* después del retiro de las células o tejido de la persona donadora, o después del implante en el receptor. Por ejemplo, la persona donadora o receptora pueden tratarse en forma sistémica con el compuesto modulador de sirtuina o pueden tener un subconjunto de células o tejido tratado localmente con el compuesto modulador de sirtuina que aumente el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina. En ciertas configuraciones, las células o tejido (o las personas donadoras o receptoras) pueden además ser tratadas con otro agente terapéutico útil para prolongar la supervivencia del injerto, tal como, por ejemplo, un agente inmunosupresor, una citocina, un factor angiogénico, etc.

Aún en otras configuraciones, las células pueden ser tratadas con el compuesto modulador de sirtuina que aumente el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina *in vivo*, por ejemplo, para aumentar su ciclo de vida o prevenir la apoptosis. Por ejemplo, la piel puede ser protegida del envejecimiento (por ejemplo, el desarrollo de arrugas, pérdida de elasticidad, etc.) por el tratamiento de la piel o células epiteliales con el compuesto modulador de sirtuina que aumente el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina. En un ejemplo de configuración, la piel es puesta 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. Ejemplos de afecciones cutáneas o condiciones cutáneas que pueden ser tratadas de acuerdo con los métodos descritos aquí incluyen trastornos o enfermedades asociados con o que provocan inflamación, deterioro por el sol o envejecimiento natural. Por ejemplo, las composiciones encuentran utilidad en la conservación o tratamiento de la dermatitis de contacto (que incluye la dermatitis de contacto irritante y la dermatitis de contacto alérgica), dermatitis atópica (también conocida como eccema alérgico), carcinoma queratinocítico intraepidérmico, trastornos de queratinización (que incluyen eccema), enfermedades de epidermolisis ampollosa (que incluyen pénfigo), dermatitis exfoliativa, dermatitis seborreica, eritemas (que incluyen eritema multiforme y eritema nudoso), daño provocado por el sol u otras fuentes de luz, lupus eritematoso discóide, dermatomiositis, psoriasis, cáncer de piel y los efectos del envejecimiento natural. En otra configuración, los compuestos moduladores de la 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, que incluyen, por ejemplo, quemadas de primer, segundo o tercer grado y/o una quemadura de origen térmico, químico o eléctrico. Las formulaciones pueden administrarse en forma tópica, a la piel o tejido mucoso.

Las formulaciones tópicas que comprenden uno o más compuestos moduladores de la sirtuina que aumenten el nivel y/o la actividad de una proteína

sirtuina, también pueden utilizarse como conservadores, por ejemplo, composiciones quimioconservadoras. Cuando se utilice un método quimioconservador, la piel susceptible se trata antes a cualquier condición visible en una persona particular.

Los compuestos moduladores de la sirtuina pueden administrarse por vía local o sistémica a un sujeto. En una configuración, un compuesto modulador de sirtuina se suministra localmente a un tejido u órgano de un sujeto por inyección, formulación tópica, etc.

En otra configuración, un compuesto modulador de sirtuina que aumente el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede utilizarse para el tratamiento o prevención de una enfermedad o condición inducida o exacerbada por senectud celular en un sujeto; los métodos para la disminución de la velocidad de senectud de un sujeto, por ejemplo, después del inicio de la senectud; métodos para la extensión del ciclo de vida de un sujeto; métodos para el tratamiento o prevención de una enfermedad o condición relacionada con el ciclo de vida; métodos para el tratamiento o prevención de una enfermedad o condición relacionada con la capacidad proliferativa de las células; y métodos para el tratamiento o prevención de una enfermedad o condición resultante de muerte o daño celular. En ciertas configuraciones, el método no actúa por disminución de la velocidad de aparición de enfermedades que acorten el ciclo de vida de un sujeto. En ciertas configuraciones, el método no actúa por reducción de la mortalidad provocada por una enfermedad, tal como el cáncer.

Aún en otra configuración, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede administrarse a un sujeto para aumentar en general el ciclo de vida de sus células y proteger sus células contra el estrés y/o contra la apoptosis. Se estima que el tratamiento a un sujeto con un compuesto descrito aquí es similar a someter al sujeto a hormesis, es decir, tensión leve que es beneficiosa para organismos y puede extender su ciclo de vida.

Los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden administrarse a un sujeto para prevenir el

envejecimiento y las enfermedades o consecuencias relacionadas con el envejecimiento, tales como el accidente cerebrovascular, enfermedad cardíaca, insuficiencia cardíaca, artritis, alta tensión arterial y mal de Alzheimer. Otras condiciones que pueden ser tratadas incluyen a los trastornos oculares, por ejemplo, asociados con el envejecimiento del ojo, tal como cataratas, glaucoma y degeneración macular. Los compuestos moduladores de la 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 la muerte celular, para proteger a las células de la muerte celular. Ejemplos de enfermedades incluyen las asociadas con muerte neuronal, disfunción neuronal, o muerte o disfunción celular muscular, tal como el mal de Parkinson, mal de Alzheimer, esclerosis múltiple esclerosis lateral amiotrófica y distrofia muscular; SIDA; hepatitis fulminante; enfermedades vinculadas a la degeneración del cerebro, tales como la enfermedad de Creutzfeld-Jakob, retinitis pigmentosa y degeneración cerebelosa; mielodisplasia tal como anemia aplásica; enfermedades isquémicas tales como infarto al miocardio y accidente cerebrovascular; enfermedades hepáticas tales como hepatitis alcohólica, hepatitis B y hepatitis C; enfermedades de las articulaciones tales como la osteoartritis; aterosclerosis; alopecia; daño de la piel debido a la luz UV; liquen plano; atrofia cutánea, cataratas; y rechazo de injerto. La muerte celular también puede provocarse por cirugía, tratamiento farmacológico, quimioterapia o radioterapia.

Los compuestos moduladores de la 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 de un órgano o un tejido, por ejemplo, un sujeto que sufre de accidente cerebrovascular o infarto al miocardio o un sujeto que sufre de lesión de la médula espinal. Los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina también pueden utilizarse para reparar el hígado de personas alcohólicas.

Enfermedad cardiovascular

En otra configuración, la invención proporciona un método para el tratamiento y/o prevención de una enfermedad cardiovascular por administración a un sujeto en necesidad de éste de un compuesto modulador de sirtuina que aumente el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina.

Las enfermedades cardiovasculares que pueden ser tratadas o prevenidas por medio del uso de los compuestos moduladores de la sirtuina que aumenten el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina incluyen cardiomiopatía o miocarditis; tales como cardiomiopatía idiopática, cardiomiopatía metabólica, cardiomiopatía alcohólica, cardiomiopatía inducida por fármaco, cardiomiopatía isquémica y cardiomiopatía hipertensiva. También pueden tratarse y prevenirse con el uso de los compuestos y métodos descritos aquí los trastornos ateromatosos de los vasos sanguíneos mayores (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 las relacionadas con la agregación plaquetaria, las arteriolas retinianas, las arteriolas glomerulares, los vasos vasculares, arteriolas cardíacas y lechos capilares asociados del ojo, el riñón, el corazón y los sistemas nervioso central y periférico. Los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina también pueden utilizarse para aumentar los niveles de HDL plasmáticos de una persona.

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

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

puede administrarse como parte de una politerapia con otro agente antiarrítmico. En otra configuración, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede administrarse como parte de una politerapia con otro agente cardiovascular.

Muerte celular y cáncer

Los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede administrarse a sujetos que hayan recibido recientemente o probablemente reciban una dosis de radiación o toxina. En una configuración, la dosis de radiación o toxina es recibida como parte de un procedimiento relacionado con el trabajo o procedimiento médico, por ejemplo, administración como medida profiláctica. En otra configuración, la exposición a radiación o toxina se recibe en forma no intencional. En tal caso, el compuesto preferiblemente se administra tan pronto como sea posible después de la exposición para inhibir la apoptosis y el desarrollo posterior del síndrome de radiación aguda.

Los compuestos moduladores de la sirtuina también pueden utilizarse para el tratamiento y/o prevención del cáncer. En ciertas configuraciones, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para el tratamiento y/o prevención del cáncer. La restricción de calorías ha sido vinculada con la reducción en la incidencia de trastornos relacionados con la edad que incluyen el cáncer. Por consiguiente, el aumento en el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede utilizarse para el tratamiento y/o prevención de la incidencia de trastornos relacionados con la edad, tales como, por ejemplo, el cáncer. Ejemplos de cáncer que pueden tratarse por medio del uso de un compuesto modulador de sirtuina son los del cerebro y riñón; cánceres que dependen de hormonas que incluyen al cáncer de mamas, de próstata, testicular y de ovarios; linfomas y leucemias. En cánceres asociados con tumores sólidos el compuesto modulador puede administrarse directamente al tumor. El cáncer de leucocitos, por ejemplo, la leucemia, puede tratarse por administración de un compuesto modular al

torrente sanguíneo o en la médula ósea. El crecimiento celular benigno, por ejemplo, las verrugas, también puede tratarse. Otras enfermedades que pueden tratarse incluyen las enfermedades autoinmunitarias, por ejemplo, el lupus eritematoso sistémico, esclerodermia y artritis, en las cuales las células autoinmunitarias deben ser retiradas. Las infecciones víricas tales como el herpes, VIH, adenovirus y HTLV-1 asociado con trastornos malignos y benignos también pueden tratarse por administración de un compuesto modulador de sirtuina. Alternativamente, las células pueden obtenerse de un sujeto, tratado *ex vivo* para retirar determinadas células no deseadas, por ejemplo, células cancerígenas, y administrarlas de regreso al mismo sujeto o un sujeto diferente.

Los agentes quimioterapéuticos pueden ser coadministrados con los compuestos moduladores descritos aquí debido a que tienen actividad anticancerígena, por ejemplo, los compuestos que inducen la apoptosis, compuestos que reducen el ciclo de vida o compuestos que producen células sensibles al estrés. Los agentes quimioterapéuticos pueden utilizarse por sí mismos con un compuesto modulador de sirtuina descrito aquí debido a que inducen la muerte celular o reducen el ciclo de vida o aumentan la sensibilidad al estrés y/o en combinación con otros agentes quimioterapéuticos. Además de los agentes quimioterapéuticos convencionales, los compuestos moduladores de la sirtuina descritos aquí también pueden utilizarse con APII no codificante, APIIi u otros polinucleótidos para inhibir la expresión de los componentes celulares que contribuyen a la proliferación celular no deseada.

Las politerapias que comprenden los compuestos moduladores de la sirtuina y un agente de quimioterapia pueden ser ventajosas sobre las politerapias conocidas en la técnica debido a que la combinación permite que el agente de quimioterapia ejerza un mayor efecto a dosificación inferior. En una configuración 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 de más preferencia 5 veces, 10 veces o incluso 25

veces menor. Al contrario, el índice terapéutico (IT) para un agente quimioterapéutico o una combinación de tal agente quimioterapéutico cuando se utiliza en combinación con un compuesto modulador de sirtuina descrito aquí puede ser al menos 2 veces mayor que el IT para el régimen quimioterapéutico convencional solo, e incluso de más preferencia 5 veces, 10 veces o incluso 25 veces mayor.

Enfermedades o trastornos neuronales

En ciertos aspectos, los compuestos moduladores de la 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). Una enfermedad neurodegenerativa por lo general implica reducciones en la masa y volumen del cerebro humano, que pueden deberse a la atrofia y/o muerte de las células cerebrales, que están bastante más profundas que las de una persona sana que se atribuyen al envejecimiento. Las enfermedades neurodegenerativas pueden desarrollarse gradualmente, después de un período prolongado de función normal del cerebro, debidas a la degeneración progresiva (por ejemplo, disfunción y muerte neuronal) de regiones específicas del cerebro. Alternativamente, las enfermedades neurodegenerativas pueden tener un rápido inicio, tal como las asociadas con trauma o toxinas. El acceso real de la degeneración cerebral puede preceder a la expresión clínica por muchos años. Ejemplos de enfermedades neurodegenerativas incluyen, pero no se limitan a, mal de Alzheimer, mal de Parkinson, enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica (ALS, por sus siglas en inglés, o enfermedad de Lou Gehrig), enfermedad difusa de cuerpo 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 la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina también pueden utilizarse para tratar estos trastornos y otros descritos más adelante.

El mal de Alzheimer es un trastorno del SNC que resulta en pérdida de la memoria, comportamiento irregular, cambios de personalidad y reducción de las capacidades mentales. Estas pérdidas están relacionadas con la muerte de tipos específicos de neuronas y la ruptura de las conexiones y su red de apoyo (por ejemplo, los neurogliocitos) entre estos. Los síntomas más tempranos incluyen la pérdida de la memoria reciente, juicio anómalo y cambios en la personalidad. El mal de Parkinson es un trastorno del SNC que resulta en movimientos descontrolados del cuerpo, rigidez, temblor y discinesia, y está asociados con la muerte de células cerebrales en un área del cerebro que produce dopamina. La esclerosis lateral amiotrófica (enfermedad neuromotora) es un trastorno del SNC que ataca las neuronas motoras, componentes del SNC que conectan el cerebro con los músculos esqueléticos.

La enfermedad de Huntington es otra enfermedad neurodegenerativa que provoca movimientos descontrolados, la pérdida de las facultades intelectuales y la alteración emocional. La enfermedad de Tay-Sachs y la enfermedad de Sandhoff son enfermedades de almacenamiento de glucolípido donde el GM2 gangliósido y los sustratos de glucolípidos relacionados para la β -hexosaminidasa acumulada en el sistema nervioso y activa la neurodegeneración aguda.

Es bien conocido que la apoptosis tiene una función en la patogénesis del SIDA en el sistema inmunitario. Sin embargo, el VIH 1 también induce una enfermedad neural, que puede ser tratada con los compuestos moduladores de la sirtuina de la invención.

La pérdida neuronal también es una característica sobresaliente de las enfermedades del prión, tales como la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob en seres humanos, el BSE en el ganado (enfermedad de las vacas locas), enfermedad de Scrapie en ovejas y cabras, y encefalopatía espongiforme felina (TSE, por sus siglas en inglés) en gatos. Los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para el tratamiento y/o prevención de la pérdida neuronal debida a las enfermedades mencionadas antes.

En otra configuración, 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 que involucre la axonopatía. La axonopatía distal es un tipo de neuropatía periférica que resulta de algún desorden metabólico o tóxico de las neuronas del sistema nervioso periférico (SNIP). Es la respuesta más común de los nervios a las perturbaciones metabólicas o tóxicas, y como tales pueden ser provocadas por enfermedades metabólicas tales como la diabetes, insuficiencia renal, síndromes de deficiencia tal como malnutrición y alcoholismo, o los efectos de las toxinas o fármacos. Los que padecen axonopatías distales normalmente presentan perturbaciones sensitivomotoras simétricas en las extremidades. También se pierden o disminuyen las funciones de reflejos de los tendones y el sistema nervioso autónomo en las áreas afectadas.

Las neuropatías diabéticas son trastornos neuropáticos que están asociados con la diabetes mellitus. Condiciones relativamente comunes que pueden ser asociadas con la neuropatía diabética incluyen la parálisis del tercer nervio, mononeuropatía, mononeuritis múltiple; amiotrofia diabética; polineuropatía dolorosa, neuropatía autónoma; y neuropatía toracoabdominal.

La neuropatía periférica es el término médico para el daño de los nervios del sistema nervioso periférico, que puede ser provocado por enfermedades del nervio o a partir de efectos colaterales de enfermedad sistémica. Las principales causas de la neuropatía periférica incluyen convulsiones, deficiencias nutricionales, VIH, se estima que la diabetes es la causa más probable.

En un ejemplo de configuración, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede utilizarse para tratar o prevenir la esclerosis múltiple, que incluye la esclerosis múltiple recidivante y esclerosis múltiple monosintomática y otras condiciones de desmielinación, tales como por ejemplo, la polineuropatía de desmielinación inflamatoria crónica (CIDP), o síntomas asociados con ésta.

Aún en otra configuración, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede utilizarse para tratar traumas a los nervios, que incluyen traumas debido a enfermedad, lesión (que incluyen intervención quirúrgica) o trauma medioambiental (por ejemplo, neurotoxinas, alcoholismo, etc.).

Los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina también pueden ser útiles para prevenir, tratar y aliviar síntomas de varios trastornos del sistema nervioso periférico. El término «neuropatía periférica» abarca un amplio rango de trastornos en los cuales se han dañado los nervios fuera del cerebro y la médula espinal, nervios periféricos. La neuropatía periférica también puede referirse a neuritis periférica, o si están involucrados muchos nervios, pueden utilizarse los términos polineuropatía o polineuritis.

Las enfermedades del sistema nervioso periférico que pueden ser tratadas con los compuestos moduladores de la 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 de braquiplejo (enfermedades de la cervical y las primeras raíces torácicas, troncos nerviosos, médulas y componentes neurales periféricos del braquiplejo).

En otra configuración, un compuesto modulador de sirtuina puede utilizarse para tratar o prevenir una enfermedad de poliglutamina. Ejemplos de enfermedades de poliglutamina incluyen a la atrofia muscular espinobulbar (enfermedad de Kennedy), enfermedad de Huntington, atrofia palidoluisiana dentatorúbrica (síndrome de Haw River), ataxia espinocerebelosa tipo 1, ataxia espinocerebelosa tipo 2, ataxia espinocerebelosa tipo 3 (enfermedad de Machado-Joseph), ataxia espinocerebelosa tipo 6, ataxia espinocerebelosa tipo 7 y ataxia espinocerebelosa tipo 17.

En ciertas configuraciones, la invención proporciona un método para tratar una célula del sistema nervioso central para prevenir el daño en respuesta a la disminución del flujo sanguíneo a la célula. Por lo general la gravedad del daño que puede prevenirse

dependerá en gran parte del grado de reducción del flujo sanguíneo a la célula y la duración de la reducción. En una configuración, puede prevenir la muerte celular apoptótica o necrótica. Aún en otra configuración, puede prevenirse el daño con intervención isquémica, tal como el edema citotóxico o anoxemia de tejido del sistema nervioso central. En cada configuración, la célula del sistema nervioso central puede ser una célula de la médula o célula del cerebro.

Otro aspecto abarca la administración de un compuesto activador de la sirtuina a un sujeto para tratar una condición isquémica del sistema nervioso central. Pueden tratarse varias condiciones isquémicas del sistema nervioso central con los compuestos activadores de sirtuina descritos aquí. En una configuración, la condición isquémica es un accidente cerebrovascular que resulta en cualquier tipo de daño isquémico del sistema nervioso central, tal como muerte cerebral apoptótica o necrótica, edema citotóxico o anoxia tisular del sistema nervioso central. El accidente cerebrovascular puede impactar en cualquier área del cerebro o ser provocado por cualquier etiología comúnmente conocida que resulta en la aparición del accidente cerebrovascular. En una alternativa de esta configuración, el accidente cerebrovascular es un accidente cerebrovascular en el tallo cerebral. En otra alternativa de esta configuración, el accidente cerebrovascular es un accidente cerebrovascular cerebeloso. Aún en otra configuración, el accidente cerebrovascular es del tipo embólico. Aún en otra alternativa, el accidente cerebrovascular puede ser un accidente cerebrovascular hemorrágico. En otra configuración, el accidente cerebrovascular es del tipo trombótico.

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

En una configuración, un régimen de politerapia puede incluir fármacos o

componentes para el tratamiento o prevención de trastornos neurodegenerativos o condiciones secundarias asociadas con estas condiciones. Por tanto, un régimen de politerapia puede incluir uno o más activadores de citruina y uno o más agentes de antineurodegeneración.

Trastornos de coagulación de la sangre

En otros aspectos, los compuestos moduladores de la citruina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína citruina puede utilizarse para tratar o prevenir los trastornos de coagulación sanguínea (o trastornos hemostáticos). Como se utiliza aquí en forma intercambiable, los términos «hemostasis», «coagulación sanguínea» y «coagulación de la sangre» se refieren a la sangría, que incluye las propiedades fisiológicas de la vasoconstricción y coagulación. La coagulación de la sangre ayuda a mantener la integridad de la circulación de mamíferos después de una lesión, inflamación, enfermedad, defectos congénitos, disfunción y otra perturbación. Además, la formación de coágulos de sangre no solamente limita la hemorragia en caso de una lesión (hemostasis), pero puede llevara a serio daño del órgano y la muerte en el contexto de las enfermedades ateroscleróticas por oclusión de una importante arteria o vena. La trombosis por tanto es la formación de coágulos de sangre en el momento y lugar equivocados.

Por consiguiente, la presente invención proporciona tratamientos anticoagulantes, antitrombóticos que permiten inhibir la formación de coágulos de sangre para prevenir o tratar los trastornos de coagulación de la sangre, tal como el infarto al miocardio, accidente cerebrovascular, pérdida de un miembro por enfermedad arterial periférica o émbolo pulmonar.

Como se utiliza aquí en forma intercambiable, «modular o modulación de la hemostasis» y la «regulación de la hemóstasis» incluyen la inducción (por ejemplo, estimulación o aumento) de la hemóstasis, así como la inhibición (por ejemplo, la reducción o disminución) de la hemostasis.

En un aspecto, la invención proporciona un método para la reducción o inhibidor

de la hemostasis en un sujeto por la administración de un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina. Las composiciones y métodos revelados aquí son útiles para el tratamiento o prevención de trastornos trombóticos. Como se usa aquí, el término «trastornos trombótico» incluye cualquier trastorno o condición caracterizada por la actividad de coagulación o hemostasis no deseado o excesiva, o un estado de hipercoagulable. Los trastornos trombóticos incluyen enfermedades o trastornos que involucren la adhesión plaquetaria y la formación del trombo, y muchos manifestaron como un aumento a la propensión de formar trombosis, por ejemplo, un aumento de las trombosis, la trombosis en edad temprana, una familia con tendencia a la trombosis y la trombosis en sitios inusuales.

En otra configuración, un régimen de politerapia puede incluir fármacos o componentes para el tratamiento o prevención de trastornos de coagulación de la sangre o condiciones secundarias asociadas con estas condiciones. Por tanto, un régimen de politerapia puede incluir uno o más compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina y uno o más agentes anticoagulación o agentes anti-trombosis.

Control del peso

En otro aspecto, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para el tratamiento y/o prevención de la ganancia de peso u obesidad en un sujeto. Por ejemplo, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse, por ejemplo, para tratar o prevenir la obesidad hereditaria, obesidad por ingesta alimentaria, obesidad relacionada con hormonas, obesidad relacionada con la administración de medicación, para reducir el peso de un sujeto, o reducir o prevenir la ganancia de peso en un sujeto. Un sujeto en necesidad de tal tratamiento puede ser un sujeto que es obeso, probablemente llega a ser obeso, tener exceso de peso, o probablemente llega a tener sobrepeso. Los sujetos que probablemente llegan a ser obesos o tienen sobrepeso pueden identificarse, por ejemplo,

en función del historial familiar, genética, dieta, nivel de actividad, ingesta de medicamentos o diversas combinaciones de estos.

Aún en otras configuraciones, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden administrarse a sujetos que sufren de una variedad de diversas enfermedades y condiciones que pueden ser tratadas por promoción de la pérdida de peso en el sujeto. Tales enfermedades incluyen, por ejemplo, tensión arterial alta, hipertensión, alto contenido de colesterol en sangre, dislipidemia, diabetes tipo 2, resistencia a la insulina, tolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia, cardiopatía coronaria, angina de pecho, insuficiencia cardíaca congestiva, accidente cerebrovascular, cálculos biliares, colestasis y colelitiasis, gota, osteoartritis, apnea obstructiva durante el sueño y problemas respiratorios, algunos tipos de cáncer (tales como endometrial, de las mamas, de próstata y de colon), complicaciones del embarazo, condición reproductiva femenina deficiente (por ejemplo irregularidades en la menstruación, infertilidad, ovulación irregular), problemas de control de la vejiga (tal como incontinencia ante el estrés); nefrolitiasis ácido úrico; trastornos psicológicos (tales como depresión, trastornos alimentarios, imagen corporal distorsionada y baja autoestima). Finalmente, los pacientes con SIDA pueden desarrollar lipodistrofia o resistencia a la insulina en respuesta a las politerapias para el SIDA.

En otra configuración, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para la inhibición de adipogénesis o diferenciación de adipocitos, ya sea *in vitro* o *in vivo*. Tales métodos pueden utilizarse para el tratamiento o prevención de la obesidad.

En otras configuraciones, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para reducir el apetito y/o aumentar la saciedad, con lo cual se provoca la pérdida de peso o se evita la ganancia de peso. Un sujeto en necesidad de tal tratamiento puede ser un sujeto que tiene sobrepeso, es obeso, o probablemente llegará a tener sobrepeso o será obeso. El

método puede comprender la administración diaria o, día por medio, o una vez a la semana, de una dosis, por ejemplo, en la forma de una píldora, a un sujeto. La dosis puede ser una «dosis reductora de apetito».

En un ejemplo de configuración, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden administrarse como una politerapia para el tratamiento o prevención de la ganancia de peso u obesidad. Por ejemplo, uno o más compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden administrarse en combinación con uno o más agentes antiobesidad.

En otra configuración, compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden administrarse para reducir la ganancia de peso inducida por un fármaco. Por ejemplo, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede administrarse como una politerapia con medicamentos que pueden estimular el apetito o provocar la ganancia de peso, en particular, la ganancia de peso debida a factores diferentes de la retención de agua.

Trastornos metabólicos y diabetes

En otro aspecto, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para el tratamiento o prevención de un trastorno metabólico, tal como resistencia a la insulina, un estado prediabético, diabetes tipo II y/o complicaciones de estos. La administración de los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan 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 en necesidad de tal tratamiento puede ser un sujeto que 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 tenga resistencia a la insulina, por ejemplo, que tenga niveles de circulación de insulina y/o condiciones asociadas, tales como

hiperlipidemia, dislipogénesis, hipercolesterolemia, deterioro de tolerancia a la glucosa, alto nivel de glucosa en sangre, otras manifestaciones del síndrome X, hipertensión aterosclerosis y lipodistrofia.

En un ejemplo de configuración, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden administrarse como una politerapia para el tratamiento o prevención de un trastorno metabólico. Por ejemplo, uno o más compuestos moduladores de la 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 la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede utilizarse para tratar o prevenir una enfermedad o trastorno asociado con la inflamación. Los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden administrarse antes del inicio de la inflamación, durante ésta o después de su inicio. Cuando se utilizan profilácticamente, los compuestos preferiblemente se proporciona por adelantado de cualquier respuesta o síntoma inflamatorio. La administración de los compuestos puede prevenir o atenuar las respuestas o síntomas inflamatorios.

En otra configuración, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede utilizarse para tratar o prevenir alergias y condiciones respiratorias, que incluyen asma, bronquitis, fibrosis pulmonar, rinitis alérgica, toxicidad por oxígeno, enfisema, bronquitis crónica, síndrome agudo de dificultad respiratoria, y cualquier enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD). Los compuestos pueden utilizarse para tratar una infección de hepatitis crónica, que incluye hepatitis B y hepatitis C.

Adicionalmente, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede utilizarse para tratar enfermedades autoinmunitarias y/o inflamación asociada con enfermedades autoinmunitarias tales

como enfermedades autoinmunitarias de tejido u órgano (por ejemplo, síndrome de Raynaud), esclerodermia, miastenia grave, rechazo a trasplante, choque por endotoxina, sepsis, psoriasis, eccema, dermatitis, esclerosis múltiple, tiroiditis autoinmunitaria, uveitis, lupus eritematoso sistémico, enfermedad de Addison, enfermedad poliglandular autoinmunitaria (también conocida como síndrome poliglandular autoinmunitario), y enfermedad de Grave.

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

Crisis vasomotora

En otro aspecto, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede utilizarse para reducir la incidencia o gravedad de una crisis vasomotora y/o sofocos que son síntomas de un trastorno. Por ejemplo, el método incluye el uso de compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina, solos o en combinación con otros agentes, para reducir la incidencia o gravedad de una crisis vasomotora y/o sofocos en pacientes con cáncer. En otras configuraciones, el método establece el uso de compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina para reducir la incidencia o gravedad de una crisis vasomotora y/o sofocos en mujeres menopáusicas o posmenopáusicas.

En otro aspecto, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse como terapia para reducir la incidencia o gravedad de una crisis vasomotora y/o sofocos que son efectos colaterales de otro tratamiento farmacológico por ejemplo, crisis vasomotora inducida por un fármaco. En ciertas configuraciones, un método para el tratamiento y/o prevención de una crisis vasomotora inducida por un fármaco comprende la administración a un paciente en necesidad de éste de una formulación que comprende

al menos un compuesto que induce la crisis vasomotora y al menos un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina. En otras configuraciones, un método para el tratamiento de crisis vasomotora inducida por fármaco comprende la administración por separado de uno o más compuestos que inducen la crisis vasomotora y uno o más compuestos moduladores de la sirtuina, por ejemplo, en donde el compuesto modulador de sirtuina y el agente inductor de la crisis vasomotora no han sido formulados en la misma composición. Cuando se utilizan formulaciones separadas, el compuesto modulador de sirtuina puede administrarse (1) en la misma administración del agente inductor de la crisis vasomotora, (2) intermitentemente con el agente inductor de la crisis vasomotora, (3) escalonadamente con respecto a la administración del agente inductor de la crisis vasomotora, (4) antes de la administración del agente inductor de la crisis vasomotora, (5) después de la administración del agente inductor de la crisis vasomotora, y (6) varias combinaciones de estos. Ejemplos de agentes inductores de la crisis vasomotora incluyen, por ejemplo, niacina, faloxifeno, antidepresivos, antipsicóticos, quimioterapéuticos, bloqueadores del canal de calcio y antibióticos.

En una configuración, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para reducir los efectos colaterales de la crisis vasomotora de un vasodilatador o un agente antilipémico (que incluyen agentes antiolesterémicos y agentes lipotrópicos). En un ejemplo de configuración, un compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede utilizarse para reducir la crisis vasomotora asociada con la administración de niacina.

En otra configuración, la invención proporciona un método para el tratamiento y/o prevención de la hiperlipidemia con efectos colaterales reducidos de la crisis vasomotora. En otra configuración representativa, el método involucra el uso de compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina para reducir los efectos colaterales de la crisis vasomotora de

ralozifeno. En otra configuración representativa, el método involucra el uso de compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina para reducir los efectos colaterales de la crisis vasomotora de antidepresivos y agentes antipsicóticos. Por ejemplo, los compuestos moduladores de la 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 la recaptación de serotonina, o un antagonista del receptor 5HT₂.

En ciertas configuraciones, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede utilizarse como parte de un tratamiento con un inhibidor de recaptación de serotonina (SRI) para reducir la crisis vasomotora. Aún en otra configuración representativa, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para reducir los efectos colaterales de la crisis vasomotora de los agentes quimioterapéuticos, tales como la ciclofosfamida y tamoxifen.

En otra configuración, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para reducir los efectos colaterales de la crisis vasomotora de los bloqueadores del canal de calcio, tales como la amlodipina.

En otra configuración, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para reducir los efectos colaterales de la crisis vasomotora de los antibióticos. Por ejemplo, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse en combinación con levofloxacino.

Trastornos oculares

Un aspecto de la presente invención es un método para la inhibición, reducción o de otra manera tratamiento del deterioro de la visión por administración a un paciente de una dosificación terapéutica de un modulador de sirtuina seleccionado de un compuesto revelado aquí, o una sal, prodroga o un metabolito derivado de éste,

farmacéuticamente aceptable.

En ciertos aspectos de la invención, el deterioro de la visión es provocado por el daño del nervio óptico o el sistema nervioso central. En configuraciones particulares, el daño del nervio óptico es provocado por alta presión intraocular, tal como la creada por un glaucoma. En otras configuraciones particulares, el daño del nervio óptico es provocado por inflamación del nervio, que frecuentemente está asociada con una infección o una respuesta inmunitaria (por ejemplo, autoinmunitaria) tal como en la neuritis óptica.

En ciertos aspectos de la invención, el deterioro de la visión es provocado por daño retiniano. En configuraciones particulares, el daño retiniano es provocado por perturbaciones en el flujo sanguíneo del ojo, por ejemplo, arterioesclerosis, vasculitis. En configuraciones particulares, el daño retiniano es provocado por interrupción de la mácula, por ejemplo, degeneración macular exudativa o no exudativa.

Ejemplos de enfermedades retinianas incluyen degeneración macular exudativa relacionada con la edad, degeneración macular no exudativa relacionada con la edad, prótesis electrónica retiniana y degeneración macular no exudativa relacionada con la edad de trasplante RPE, epitelopatía de pigmento placóide multifocal aguda, necrosis retiniana aguda, enfermedad de Best, oclusión arterial retiniana ramificada, oclusión de vena retiniana ramificada, retinopatías autoinmunitarias relacionadas y asociadas al cáncer, oclusión arterial retiniana central, oclusión de vena retiniana central, coriorretinopatía serosa central, enfermedad de Eales, membrana epimacular, degeneración de Lattice, macroaneurisma, edema macular diabético, edema macular de Irvine-Gass, orificio macular, membranas neovasculares subretinianas, neurorretinitis subaguda unilateral difusa, edema macular cistoide no pseudofacico, síndrome de histoplasmosis ocular supuesta, desprendimiento retiniano exudativo, desprendimiento retiniano posoperatorio, desprendimiento retiniano proliferativo, desprendimiento retiniano regmatogénico, desprendimiento retiniano por tracción, retinitis pigmentosa, retinitis CMV, retinoblastoma, retinopatía de prematuro, retinopatía de Birdshot,

retinopatía diabética de fondo, retinopatía diabética proliferativa, retinopatía hemoglobinopáticas, retinopatía de Purtscher, retinopatía de Valsalva, retinoesquiosis juvenil, retinoesquiosis senil, síndrome de Terson y síndromes de de punto blanco.

Otras enfermedades ejemplo incluyen infecciones bacterianas oculares (por ejemplo, conjuntivitis, queratitis, tuberculosis, sífilis, gonorrea), infecciones víricas, por ejemplo, virus de herpes simple ocular, virus zoster varicela, retinitis citomegalovirus, virus de inmunodeficiencia humana (VIH) así como la necrosis retiniana externa progresiva secundaria para el VIH u otras enfermedades oculares asociadas con inmunodeficiencia u otras asociadas con VIH. Además, enfermedades oculares incluyen a las infecciones fungosas, por ejemplo, de coroiditis de Candida, histoplasmosis, infecciones por protozoos, por ejemplo, toxoplasmosis y otras tales como toxocariasis ocular y sarcoidosis.

Un aspecto de la invención es un método para la inhibición, reducción o tratamiento del deterioro de la visión en un sujeto que se somete a un tratamiento con un fármaco quimioterapéutico, por ejemplo, un fármaco neurotóxico, un fármaco que aumenta la presión intraocular tal como un esteroide, por administración al sujeto en necesidad de tal tratamiento de una dosificación terapéutica de un modulador de sirtuina revelado aquí.

Otro aspecto de la invención es un método para la inhibición, reducción o tratamiento del deterioro de la visión en un sujeto que se somete a una cirugía, que incluye cirugías oculares u otras realizadas en posición decúbito prono tal como una cirugía de médula espinal, por administración al sujeto en necesidad de tal tratamiento de una dosificación terapéutica de un modulador de sirtuina revelado aquí. Las cirugías oculares incluyen cataratas, iridotomía y reemplazo de lentes.

Otro aspecto de la invención es el tratamiento, que incluyen la inhibición y tratamiento profiláctico, de enfermedades oculares relacionadas con la edad que incluyen cataratas, resequedad ocular, degeneración macular relacionada con la edad, daño retiniano y enfermedades similares, por administración a un sujeto en necesidad de

tal tratamiento de una dosificación terapéutica de un modulador de sirtuina revelado aquí.

Otro aspecto de la invención es la prevención o tratamiento del daño al ojo provocado por estrés, exposición química o radiación, por administración a un sujeto en necesidad de tal tratamiento de una dosificación terapéutica de un modulador de sirtuina revelado aquí. El daño por radiación o electromagnético al ojo puede incluir el provocado por CPT o exposición a la luz solar o UV.

En una configuración, un régimen de politerapia puede incluir fármacos o componentes para el tratamiento o prevención de trastornos oculares o condiciones secundarias asociadas con estas condiciones. Por tanto, un régimen de politerapia puede incluir uno o más activadores de sirtuina y uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento de un trastorno ocular.

En una configuración, un modulador de sirtuina puede administrarse en conjunto con una terapia para la reducción de la presión intraocular. En otra configuración, un modulador de sirtuina puede administrarse en conjunto con una terapia para el tratamiento y/o prevención del glaucoma. Aún en otra configuración, un modulador de sirtuina puede administrarse en conjunto con una terapia para el tratamiento y/o prevención de neuritis óptica. En una configuración, un modulador de sirtuina puede administrarse en conjunto con una terapia para el tratamiento y/o prevención de la CMV retinopatía. En otra configuración, un modulador de sirtuina puede administrarse en conjunto con una terapia para el tratamiento y/o prevención de esclerosis múltiple.

Enfermedades y trastornos asociados a la actividad mitocondrial

En ciertas configuraciones, la invención proporciona métodos para el tratamiento de enfermedades o trastornos que se beneficiarían por el aumento de la actividad mitocondrial. Los métodos comprenden la administración a un sujeto en necesidad de estos de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto activador de sirtuina. El aumento de la actividad mitocondrial se refiere al aumento de la actividad de las mitocondrias mientras se mantiene el número general de mitocondrias,

por ejemplo, masa mitocondrial, aumento del número de mitocondrias con lo cual se aumenta la actividad mitocondrial, por ejemplo, por estimulación de la biogénesis mitocondrial, o combinaciones de estos. En ciertas configuraciones, las enfermedades y trastornos que se beneficiarían por el aumento de la actividad mitocondrial incluyen enfermedades o trastornos asociados con la disfunción mitocondrial.

En ciertas configuraciones, los métodos para el tratamiento de enfermedades o trastornos que se beneficiarían por el aumento de la actividad mitocondrial pueden comprender la identificación de un sujeto que sufre de una disfunción mitocondrial. Los métodos para el diagnóstico de una disfunción mitocondrial pueden involucrar análisis de genética molecular, patológico y/o bioquímico. Las enfermedades y trastornos asociados con la disfunción mitocondrial incluyen enfermedades y trastornos en los cuales el déficit de la actividad de la cadena respiratoria mitocondrial contribuye al desarrollo de fisiopatología de tales enfermedades o trastornos en un mamífero. Las enfermedades o trastornos que se beneficiarían por el aumento de la actividad mitocondrial por lo general incluyen, por ejemplo, enfermedades en las cuales la lesión oxidativa en que intervienen radicales libres conduce a la degeneración del tejido, enfermedades en las cuales las células sufren apoptosis en forma inapropiada, y enfermedades en las cuales las células no pueden sufrir apoptosis.

En ciertas configuraciones, la invención proporciona métodos para el tratamiento de una enfermedad o trastorno que se beneficiaría por el aumento de la actividad mitocondrial que involucra la administración a un sujeto en necesidad de éste de uno o más compuestos activadores de sirtuina en combinación con otro agente terapéutico tal como, por ejemplo, un agente útil para el tratamiento de la disfunción mitocondrial o un agente útil para la reducción de un síntoma asociado con una enfermedad o trastorno que involucre la disfunción mitocondrial.

En ejemplos de configuración, la invención proporciona métodos para el tratamiento de enfermedades o trastornos que se beneficiarían por el aumento de la

actividad mitocondria por administraci3n a un sujeto de una cantidad terap6uticamente efectiva de un compuesto activador de sirtuina. Ejemplos de enfermedades o trastornos incluyen, por ejemplo, trastornos neuromusculares, por ejemplo, ataxia de Friedreich, distrofia muscular, esclerosis m6ltiple, etc., trastornos de inestabilidad neuronal, por ejemplo, trastornos con convulsiones, migraña, etc., retardo en el desarrollo, trastornos neurodegenerativos, por ejemplo, mal de Alzheimer, mal de Parkinson, esclerosis lateral amiotr3fica, etc., isquemia, acidosis tubular renal, neurodegeneraci3n relacionada con la edad y declinaci3n cognoscitiva, fatiga por quimioterapia, menopausia o irregularidades en la menstruaci3n u ovulaci3n inducidas por quimioterapia o asociadas con la edad, miopatías mitocondrias, daño mitocondrico, por ejemplo, acumulaci3n de calcio, excitotoxicidad, exposici3n al 3xido n6trico, hipoxia, etc., y desregulaci3n mitocondrica.

La distrofia muscular se refiere a una familia de enfermedades que involucra el deterioro de la estructura y funci3n neuromusculares, frecuentemente con el resultado de atrofia del m6sculo esquel6tico y disfunci3n miocárdica, tal como la distrofia muscular de Duchenne. En ciertas configuraciones, los compuestos activadores de sirtuina pueden utilizarse para la reducci3n de la velocidad de declinaci3n en las capacidades funcionales musculares y para la mejora del estado funcional muscular en pacientes con distrofia muscular.

En ciertas configuraciones, los compuestos moduladores de sirtuina pueden ser 6tiles para el tratamiento de miopatías mitocondrias. Las miopatías mitocondrias van desde leves, debilidad lentamente progresiva de los m6sculos extraoculares hasta graves, miopatías infantiles mortales y encefalomiopatías de varios sistemas. Algunos s6ndromes han sido definidos, con alg6n solapamiento entre ellos. Los s6ndromes establecidos que afectan los m6sculos incluyen la oftalmoplegia externa progresiva, el s6ndrome de Kearns-Sayre (con oftalmoplegia, retinopatía pigmentosa, defectos de conducci3n cardiaca, ataxia cerebelosa y sordera sensitivaneural), el s6ndrome de MELAS (encefalomiopatía mitocondrica, acidosis láctica y episodios de accidente cerebrovascular), el s6ndrome de MEPFF (epilepsia micocl3nica y fibras rojas rasgadas),

debilidad de distribución de cinturas, y miopatía infantil (benigna o grave y mortal).

En ciertas configuraciones, los compuestos activadores de sirtuina pueden ser útiles para el tratamiento de pacientes que sufren de daño tóxico a las mitocondrias, tales como daño tóxico debido a acumulación de calcio, excitotoxicidad, exposición al óxido nítrico, daño tóxico inducido por fármaco o hipoxia.

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

Función muscular

En otras configuraciones, la invención proporciona métodos para mejorar la función muscular por administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto activador de sirtuina. Por ejemplo, los compuestos activadores de sirtuina pueden ser útiles para mejorar resistencia física, por ejemplo, la capacidad para realizar una tarea física tal como un ejercicio, trabajo físico, actividades deportivas, etc., la inhibición o retardo de la fatiga física, mejorar los niveles de oxígeno en la sangre, mejorar la energía en las personas saludables, reducir la fatiga muscular, reducir el estrés, aumentar la función cardíaca y cardiovascular, mejorar la capacidad sexual, aumentar los niveles de ATP en el músculo y/o reducir el ácido láctico en la sangre. En ciertas configuraciones, los métodos involucran la administración de una cantidad de un compuesto activador de sirtuina que aumenta la actividad mitocondrial, aumenta la biogénesis mitocondrial y/o aumenta la masa mitocondrial.

El desempeño deportivo se refiere a la capacidad de los músculos de los atletas de actuar cuando participan en actividades deportivas. El rendimiento deportivo, la resistencia y velocidad mejorados se miden por el aumento en la resistencia a la contracción muscular, el aumento de la amplitud de la contracción muscular, la disminución del tiempo de reacción del músculo entre la estimulación y la contracción. El término atleta se refiere a una persona que participa en deportes en cualquier nivel y que busca obtener un nivel mejorado de resistencia y velocidad en su rendimiento, tal

como, por ejemplo, los fisicoculturistas, ciclistas, corredores de distancias largas, corredores de distancias cortas, etc. El rendimiento deportivo mejorado se manifiesta por la capacidad de superar la fatiga muscular, capacidad para mantener la actividad durante períodos de tiempo más prolongados, y tener un desempeño más efectivo.

En la pista la función muscular del atleta se desea que cree condiciones que le permitan competir o entrenar a niveles más altos de resistencia durante un período de tiempo prolongado.

Se contempla que los métodos de la presente invención también serán efectivos en el tratamiento de las condiciones patológicas relacionadas con los músculos, que incluyen sacopenia aguda, por ejemplo, atrofia muscular y/o caquexia asociada con quemaduras, descanso del lecho, inmovilización de extremidades o cirugía ortopédica, abdominal o torácica mayor.

En ciertas configuraciones, la invención proporciona composiciones dietéticas novedosas que comprenden moduladores de sirtuina, un método para su preparación, y un método de uso de las composiciones para mejorar el rendimiento deportivo. Por consiguiente, se proporcionan composiciones terapéuticas, alimentos y bebidas que tienen acciones para mejorar la resistencia física y/o inhibir la fatiga física en las personas involucradas en ejercicios detalladamente definidos que incluyen deportes que requieren de trabajo y resistencia con ejercicio muscular repetido. Tales composiciones dietéticas pueden además comprender electrolitos, cafeína, vitaminas, carbohidratos, etc.

Otros usos

Los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para el tratamiento o prevención de infecciones víricas, tales como infecciones por influenza, herpes o virus de papiloma, o como agentes antifúngicos. En ciertas configuraciones, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden administrarse como parte del tratamiento farmacológico con otro agente terapéutico

para el tratamiento de enfermedades víricas. En otra configuración, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina puede administrarse como parte de una combinación de tratamiento farmacológico con otro agente antifungoso.

Los sujetos que pueden ser tratados como se describe aquí 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 antes, o células vegetales, células de levaduras y células procariotas, por ejemplo, células bacterianas. Por ejemplo, los compuestos moduladores pueden ser administrados para animales de granja para mejorar su capacidad de soportar condiciones de crianza más prolongadas.

Los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina también pueden utilizarse para aumentar el ciclo de vida, resistencia al estrés y resistencia a la apoptosis en plantas. En una configuración, se aplica un compuesto a las plantas, por ejemplo, periódicamente o a hongos. En otra configuración, las plantas se modifican genéticamente para producir un compuesto. En otra configuración, las plantas y frutas se tratan con un compuesto antes de recolectarlas y trasportarlas para aumentar la resistencia al daño durante el viaje. Las semillas de las plantas también pueden ponerse en contacto con compuestos descritos aquí, por ejemplo, para conservarlas.

En otras configuraciones, los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina pueden utilizarse para modular el ciclo de vida en células de levadura. Las situaciones en las cuales puede ser deseable extender el ciclo de vida de las células de levadura incluyen cualquier proceso en el cual se utilice la levadura, por ejemplo, la elaboración de cerveza, yogurt, en artículos de panadería. El uso de levadura que tiene un ciclo de vida prolongado puede resultar en el uso de menos levadura o que la levadura sea activa durante períodos de tiempo más prolongados. La levadura u otras células de mamífero utilizadas para la

producción por recombinación de proteínas también pueden ser tratadas como se describe aquí.

Los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina también pueden utilizarse para aumentar el ciclo de vida, resistencia al estrés y resistencia a la apoptosis de insectos. En esta configuración, los compuestos pudiesen aplicarse a insectos útiles, por ejemplo, abejas y otros insectos que están involucrados en la polinización de las plantas. En una configuración específica, un compuesto pudiese aplicarse a las abejas involucradas en la producción de miel. En general, los métodos descritos aquí pueden ser aplicados a cualquier organismo, por ejemplo, eucariota, que pueda tener importancia comercial. Por ejemplo, pueden aplicarse a los peces (piscicultura) y pájaros (por ejemplo, pollos y aves domésticas).

Dosis mayores de los compuestos moduladores de la sirtuina que aumentan el nivel y/o la actividad de una proteína sirtuina también pueden utilizarse como un pesticida por interferencia con la regulación de los genes modificados sin alteración apreciable de la secuencia y la regulación de la apoptosis durante el desarrollo. En este documento, un compuesto puede aplicarse a plantas por medio del uso de un método conocido en la técnica que asegura que el compuesto está biodisponible para larvas de insecto y no para plantas.

Al menos en vista del vínculo entre la reproducción y la longevidad, los compuestos moduladores de la 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

Se han descrito varios tipos de ensayos para determinar la actividad de la sirtuina. Por ejemplo, la actividad de la sirtuina puede ser determinada por medio del uso de ensayos basados sobre fluorescencia tal como el ensayo disponible comercialmente en Biomol, por ejemplo, el kit fluorimétrico de descubrimiento de

fármaco SIPT1 (AK-555), el kit fluorimétrico de descubrimiento de fármaco SIPT2 (AK-556), o el kit fluorimétrico de descubrimiento de fármaco SIPT3 (AK-557) (Biomol International, Plymouth Meeting, PA). Otros ensayos adecuados para la sirtuina incluyen un ensayo de liberación de nicotinamida (Kaeberlein y otros, J. Biol. Chem. 280(17): 17038 (2005)), un ensayo TPET (Marcotte y otros, Anal. Biochem. 332: 90 (2004)), y un ensayo de unión a la resina de boro de C^{14} NAD (McDonagh y otros, Methods 36: 346 (2005)). Aún otros ensayos adecuados para la sirtuina incluyen a los radioinmunoensayos (RIA), ensayos de proximidad con centelleo, ensayos fundamentados en HPLC y ensayos con gen marcador, por ejemplo, para objetivos de factor de transcripción.

Un ejemplo de ensayo para la determinación de la actividad de la sirtuina es un ensayo de polarización de fluorescencia. Los ensayos de polarización de fluorescencia se describen aquí y también se describen en la publicación PCT n.º WO 2006/094239. En otras configuraciones, puede determinarse la actividad de la sirtuina por ensayos fundamentados en espectrometría de masas. Ejemplos de los ensayos basados en la espectrometría de masas se describen aquí y también se describen en la publicación PCT n.º WO 2007/064902. Los ensayos en función de células también pueden utilizarse para determinar la actividad de la sirtuina. Ejemplos de ensayos en función de células para la determinación de la actividad de la sirtuina se describen en la publicación PCT n.º WO 2007/064902 y WO 2008/060400.

Aún otros métodos contemplados aquí incluyen los métodos de clasificación para la identificación de los componentes o agentes que modulan las sirtuinas. Un agente puede ser un ácido nucleico, tal como el aptamer. Los ensayos pueden ser llevados a cabo en un formato basado en células o sin células. Por ejemplo, un ensayo puede comprender la incubación (o contacto) de una sirtuina con un agente de prueba bajo condiciones en las cuales la sirtuina puede modularse por un agente conocido para modular la sirtuina, y la supervisión o determinación del 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 por determinación de su capacidad para desacetilar un sustrato. Ejemplos de sustratos son los péptidos acetilados que pueden obtenerse en BIOMOL (Plymouth Meeting, PA). Los sustratos preferidos incluyen péptidos de p53, tales como los que comprenden un K382 acetilado. Un sustrato particularmente preferido es el Fluor de Lys-SIRT1 (BIOMOL), es decir el péptido acetilado Arg-His-Lys-Lys. Otros sustratos son péptidos de histonas H3 y H4 humanas o un aminoácido acetilado. Los sustratos pueden ser fluorogénicos. La sirtuina puede ser SIRT1, Sir2, SIRT3, o una porción de éstas. Por ejemplo, la SIRT1 de recombinación puede obtenerse en BIOMOL. La reacción puede ser llevada a cabo durante alrededor de 30 minutos y detenerse, por ejemplo, con nicotinamida. El ensayo de actividad fluorescente HDAC/kit de descubrimiento de fármaco (AK-500, BIOMOL Research Laboratories) puede utilizarse para determinar el nivel de acetilación. Ensayos similares son descritos por Bitterman y otros (2002) J. Biol. Chem. 277:45099. El nivel de modulación de la sirtuina en un ensayo puede ser comparado con el nivel de modulación de la sirtuina en presencia de uno o más compuestos (por separado o simultáneamente) descritos aquí, que pueden servir como controles positivos o negativos. Las sirtuinas de uso en los ensayos pueden ser proteínas sirtuina de longitud completa o partes de éstas. Debido a que ha sido demostrado aquí que los compuestos activadores parecen interactuar con el extremo N de la SIRT1, las proteínas de uso en los ensayos incluyen las partes de extremo N de las sirtuinas, por ejemplo, alrededor de los aminoácidos 1-176 o 1-255 de la SIRT1; alrededor de los aminoácidos 1-174 o 1-252 de la Sir2.

En una configuración, el ensayo de clasificación comprende: (i) la puesta en contacto de la sirtuina con un agente de prueba y un sustrato acetilado bajo condiciones apropiadas para que la sirtuina desacetile el sustrato en ausencia del agente de prueba; y (ii) la determinación del nivel de acetilación del sustrato, en donde el nivel inferior 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 la

sirtuina, mientras que el 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 la sirtuina.

Los métodos para la identificación de un agente que modula, por ejemplo, estimula, las sirtuinas *in vivo* pueden comprender (i) la puesta en contacto de una célula con un agente de prueba y un sustrato que es capaz de entrar a la célula en presencia de un inhibidor de clase I y clase II HDACs bajo condiciones apropiadas para que la sirtuina desacetile el sustrato en ausencia del agente de prueba.; y (ii) la determinación del nivel de acetilación del sustrato, en donde el nivel inferior 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 la sirtuina, mientras que el 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 la sirtuina. Un sustrato preferido es un péptido acetilado, que también es preferiblemente fluorogénico, como se describe aquí adicionalmente. El método puede además comprender la lisis de las células para determinar el nivel de acetilación del sustrato. Los sustratos pueden añadirse a las células a una concentración de alrededor de 1 μM a cerca de 10mM, preferiblemente cerca de 10 μM hasta 1mM e incluso más preferiblemente cerca de 100 μM a 1 mM, tal como alrededor de 200 μM . Un sustrato preferido es una lisina acetilada, por ejemplo, s-acetil lisina (Flúor de Lys, FdL) o Flúor de Lys-SIPT1. Un inhibidor preferido de HDACs de clase I y clase II es la tricoestina A (TSA), que puede ser utilizada a concentraciones en el intervalo de alrededor de 0,01 a 100 μM , preferiblemente de alrededor de 0,1 a 10 μM , tal como 1 μM . La incubación de las células con el compuesto de prueba y el sustrato puede ser llevada a cabo durante alrededor de 10 minutos hasta 5 horas, preferiblemente durante alrededor de 1-3 horas. Debido a que la TSA inhibe todas las HDACs de clase I y clase II, y que determinados sustratos, por ejemplo, el Flúor de Lys, es un sustrato deficiente para la SIPT2 e incluso menor que el sustrato para la SIPT3-7, tal ensayo puede utilizarse para identificar los

moduladores de la SIRT1 *in vivo*.

5. Composiciones farmacéuticas

Los compuestos moduladores de la sirtuina descritos aquí pueden ser formulados en manera convencional utilizando uno o más excipientes o vehículos aceptables desde el punto de vista fisiológico. Por ejemplo, los compuestos moduladores de la sirtuina y sus sales y solvatos fisiológicamente aceptables pueden formularse para la administración por, por ejemplo, inyección (por ejemplo, SubQ, IM, IP), inhalación o insuflación (a través de la boca o la nariz) u administración oral, bucal, sublingual, transdérmica, nasal, parenteral o rectal. En una configuración, un compuesto modulador de sirtuina puede ser administrado en forma local, el sitio donde las células blanco se presentan, es decir, en un tejido, órgano o fluido específico (por ejemplo, sangre, fluido cerebroespinal, etc.).

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

Para administración oral, las composiciones farmacéuticas pueden tomar la forma de, por ejemplo, tabletas, grageas o cápsulas elaboradas por medios convencionales con excipientes farmacéuticamente aceptables tales como agentes aglutinantes (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropilmetilcelulosa); rellenos (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina o fosfato monoácido calcico); lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco o

silíce); desintegradores (por ejemplo, almidón de papa, o glicolato de almidón sódico); o agentes humectantes (por ejemplo, laurilsulfato sódico). Las tabletas pueden recubrirse por métodos bien conocidos de la técnica. Las preparaciones líquidas para administración oral pueden tener la forma de, por ejemplo, soluciones, jarabes o suspensiones, o pueden presentarse como un producto seco para reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes de uso. Tales preparaciones líquidas pueden prepararse por medios convencionales con aditivos farmacéuticamente aceptables tales como agentes de suspensión (por ejemplo, sorbitol, jarabe, derivados de celulosa o grasas comestibles hidrogenadas); agentes emulsionantes (por ejemplo, lecitina o acacia); vehículos no acuosos (por ejemplo, aceite ationd, ésteres de aceite, alcohol etílico o aceites vegetales fraccionados); y conservadores (por ejemplo, metil o propil-p-hidroxibenzoatos o ácido sórbico). Las preparaciones pueden también contener sales de solución amortiguadora, agentes de sabor, agentes del color y agentes edulcorantes según lo apropiado. Las preparaciones para administración oral puede ser formuladas en forma adecuada para proporcionar la liberación controlada del compuesto activo.

Para administración por inhalación (por ejemplo, administración pulmonar), los compuestos moduladores de la sirtuina pueden ser suministrados convenientemente en la forma de una presentación de aerosol de paquetes presurizados o un nebulizador, con el uso de un propelente adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, anhídrido carbónico u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse por la disposición de una válvula para suministrar una cantidad medida. Las cápsulas y cartuchos por ejemplo, de gelatina, de uso en un inhalador o insuflador pueden formularse con el contenido de una mezcla en polvo de un compuesto o compuestos de la revelación y una base de polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

Los compuestos moduladores de la sirtuina pueden formularse para administración parenteral para administración por inyección, por ejemplo, por inyección de bolo, o infusión continua. Las formulaciones inyectables pueden prepararse en una

forma de dosificación unitaria, tal como en ampollas o recipientes de varias dosis que contiene un conservador. Las composiciones pueden tener formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en un vehículo aceite o acuoso, y pueden contener agentes formuladores tales como, agentes de suspensión, estabilización y/o dispersión. Alternativamente, el principio activo puede estar en forma de polvo para la combinación con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua libre de pirógenos estéril, antes de uso.

Los compuestos moduladores de la sirtuina también pueden ser formulados en composiciones para administración rectal tales como supositorios o enemas de retención, por ejemplo, que contienen bases de supositorio convencionales tales como manteca de cacao u otros gliceridos.

Además de las formulaciones descritas antes, los compuestos moduladores de la sirtuina también pueden ser formulados como una preparación de depósito. Tales formulaciones de acción prolongada pueden ser administradas por implantación (por ejemplo, en forma subcutánea o intramuscular) o por inyección intramuscular. Por tanto, por ejemplo, los compuestos moduladores de la sirtuina pueden ser formulados con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados escasamente solubles, por ejemplo, como una sal escasamente soluble. La fórmula de liberación controlada también puede incluir parches.

En ciertas configuraciones, los compuestos descritos aquí pueden formularse para administración al sistema nervioso central (reseñado por Begley, *Pharmacology & Therapeutics* 104: 29-45 (2004)). Los enfoques convencionales para el administración del fármaco al SNC incluyen: estrategias neurológicas (por ejemplo, inyección intracerebral o infusión intracerebroventricular); manipulación molecular del agente (por ejemplo, la producción de una proteína de fusión imitadora que comprende un péptido de transporte que tiene una afinidad para una molécula de superficie celular endotelial en combinación con un agente que por sí mismo es incapaz de cruzar la BBB)

en un intento por explotar una de las rutas de transporte endógeno de la barrera BBB; estrategias farmacológicas diseñadas para aumentar la solubilidad del líquido de un agente (por ejemplo, la conjugación de agentes solubles en agua a vehículos lípidos o de colesterol); y la interrupción transitoria de la integridad de la barrera BBB por interrupción hiperosmótica (que resulta de la infusión de una solución de manitol en la arteria carótida o el uso de un agente biológicamente activo como un péptido de angiotensina).

Los liposomas son un sistema administración del fármaco más que es fácilmente inyectable. Por consiguiente, en el método de la invención los compuestos activos también pueden ser administrados en la forma de un sistema de administración de liposoma. Los liposomas son bien conocidas por los expertos en la técnica. Los liposomas pueden formarse a partir de una variedad de fosfolípidos tales como el colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas. Los liposomas que pueden utilizarse para el método de la invención abarcan todos los tipos de liposomas que incluyen, pero no se limitan a, vesículas unilaminares pequeñas, vesículas unilaminares grandes y vesículas de múltiples láminas.

Otra forma de producir una formulación, particularmente una solución, de un modulador de sirtuina tal como el resveratrol o un derivado de éste, es a través del uso de una ciclodextrina. Por ciclodextrina se entiende una α , β o γ -ciclodextrina. Las ciclodextrinas son descritas en detalle por Pitha y otros, en la Patente de los Estados Unidos n.º 4.727.064 que se incorpora aquí como referencia. Las ciclodextrinas son oligómeros cíclicos de glucosa; estos compuestos forman complejos de inclusión con cualquier sustancia cuya molécula pueda fijarse en las cavidades captadoras de lípidos de la molécula de ciclodextrina.

Son útiles las formas de dosificación que se disuelven o desintegran rápidamente para rápida absorción, particularmente la absorción bucal y sublingual, de los agentes farmacéuticamente activos. Las formas de dosificación de rápida fusión son beneficiosos para los pacientes, por ejemplo, los pacientes de edad avanzada y

pediátricos, que tienen dificultad en pasar las formas sólidas de dosificación típicas, tales como caplets y tabletas. Adicionalmente, las formas de dosificación de rápida fusión evitan las desventajas asociadas con, por ejemplo, las formas de dosificación masticables, en donde la extensión de tiempo que el agente activo permanece en la boca del paciente tiene un papel importante en la determinación de la cantidad del enmascaramiento del sabor y el grado en que el paciente puede poner objeciones por amargura en la garganta del agente activo.

Las composiciones farmacéuticas (que incluyen preparaciones cosméticas) pueden comprender de alrededor de 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 la sirtuina descritos aquí.

En una configuración, un compuesto modulador de sirtuina descrito aquí, se incorpora en una formulación tópica que contiene un vehículo tópico que generalmente es adecuado para la administración tópica del fármaco y comprende cualquier material conocido en la técnica. El vehículo tópico pueden ser seleccionado de modo que proporcione la composición en la forma deseada, por ejemplo, como ungüento, loción, crema, microemulsión, gel, aceite, solución o similares, o puede comprender un material de origen natural o artificial. Es preferible que el vehículo seleccionado no afecte negativamente el agente activo u otro componente de la formulación tópica. Ejemplos de vehículos tópicos adecuados de uso aquí incluyen al agua, alcoholes y otros solventes orgánicos no tóxicos, glicerina, aceite mineral, silicona, vaselina, lanolina, ácidos grasos, aceites vegetales, parabenos, ceras y similares.

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

Los compuestos moduladores de la sirtuina pueden incorporarse en los ungüentos, que por lo general son preparaciones semisólidas que se basan por lo general en vaselina u otro derivado de petróleo. La base de ungüento específica a utilizarse, como será apreciado por los conocedores de la técnica, es la que proporcionará la administración del fármaco óptima, y preferiblemente proporcionará

otras características deseadas, así como, por ejemplo, capacidad emoliente, y otras similares. En cuanto a otros vehículos o portadores, un base de ungüento debe ser inerte, estable, no irritante y no sensible.

Los compuestos moduladores de la sirtuina pueden incorporarse en lociones, que por lo general son preparaciones que se aplican a la superficie cutánea sin fricción, y por lo general son preparaciones líquidas o semilíquidas en las cuales las partículas sólidas, que incluyen el principio activo, están presentes en agua o base alcohólica. Las lociones normalmente son suspensiones de sólidos, y pueden comprender una emulsión aceitosa líquida de un tipo aceite en agua.

Los compuestos moduladores de la sirtuina pueden incorporarse en cremas, que generalmente son emulsiones líquidas o semisólidas viscosas, de aceite en agua o agua en aceite. Las bases crema se pueden lavar con agua, y contienen una fase aceitosa, un emulsificante y una fase acuosa. La fase aceitosa por lo general comprende vaselina y un alcohol graso tal como el alcohol estearílico o cetílico; la fase acuosa normalmente, aunque no necesariamente, excede la fase aceite en volumen, y en general contiene un humectante. El emulsificante en una formulación de crema, como se explica en la referencia de Remington antes citada, en general es un agente tensoactivo no iónico, aniónico, catiónico o anfotérico.

Los compuestos moduladores de la sirtuina pueden incorporarse en microemulsiones que por lo general son estables desde el punto de vista termodinámico, dispersiones isotrópicamente claras de dos líquidos inmiscibles, tales como aceite y agua, estabilizadas por una película entre fases de moléculas de agente tensoactivo (Enciclopedia de Tecnología Farmacéutica (New York: Marcel Dekker, 1992), volumen 9).

Los compuestos moduladores de la sirtuina pueden ser incorporados en formulaciones de gel, que en general son sistemas semisólidos que consisten en suspensiones elaboradas de pequeñas partículas inorgánicas (sistemas de dos fases) o moléculas orgánicas grandes distribuidas apreciablemente en forma uniforme a través

de todo el líquido vehículo (geles de una fase). Aunque los geles comúnmente emplean vehículo líquido acuoso, pueden utilizarse alcoholes y aceite como el vehículo.

Otros agentes activos también pueden incluirse en las formulaciones, por ejemplo, otros agentes antiinflamatorio, analgésicos, agentes antimicrobianos, agentes antifúngicos, antibióticos, vitaminas, antioxidantes y agentes bloqueadores del sol comúnmente encontrados en las formulaciones de protección contra el sol que incluyen, pero no se limitan a, antranilatos, benzofenonas (particularmente benzofenona-3), derivados camfor, cinamatos (por ejemplo metoxycinamato de octilo), dibenzoil metanos (por ejemplo, metoxidibenzoilmetano de butilo), ácido p-aminobenzoico (PABA) y sus derivados, y salicilatos (por ejemplo, salicilato de octilo).

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

Las condiciones del ojo pueden tratarse o prevenirse por, por ejemplo, inyección sistémica, tópica, intraocular de un compuesto modulador de sirtuina, o por inserción de un dispositivo de liberación sostenida que libere el compuesto modulador de sirtuina. El compuesto modulador de sirtuina que aumenta el nivel y/o actividad de una proteína sirtuina puede suministrarse en un vehículo oftálmico farmacéuticamente aceptable, tal como el compuesto es mantenido en contacto con la superficie ocular durante tiempo suficiente para permitir que el compuesto penetre en las regiones de la córnea e internas del ojo, como por ejemplo la cámara anterior, cámara posterior, cuerpo vítreo, humor acuoso, humor vítreo, cornea, iris/cilio, lente, coroides/retina y esclerótica. El vehículo oftálmico farmacéuticamente aceptable puede, por ejemplo, ser un ungüento, aceite vegetal o un material de encapsulación. Alternativamente, los

compuestos de la invención pueden ser inyectados directamente al humor vítreo y humor acuoso. En otra alternativa, los compuestos pueden ser administrados en forma sistémica, tal como por infusión o inyección intravenosa, para tratamiento del ojo.

Los compuestos moduladores de la sirtuina descritos aquí pueden ser guardados en ambiente libre de oxígeno. Por ejemplo, el resveratrol o un análogo de éste puede prepararse en una cápsula hermética al aire para administración oral, tal como la Capsugel de Pfizer, Inc.

Las células, por ejemplo, tratadas *ex vivo* con un compuesto modulador de sirtuina, pueden ser administradas de acuerdo con métodos para la administración de un injerto a un sujeto, que puede acompañarse, por ejemplo, por administración de un fármaco inmunosupresor, por ejemplo, ciclosporina A. Para los principios generales en la formulación médica, el lector puede consultar *Cell Therapy: Stem Cell Transplantation, Gene Therapy, y Cellular Immunotherapy*, by 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 la sirtuina pueden determinarse por procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales experimentales. La LD₅₀ es la dosis mortal para el 50% de la población. La ED₅₀ es la dosis terapéuticamente efectiva para el 50% de la población. La relación de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos (LD₅₀/ED₅₀) es el índice terapéutico. Se prefieren los compuestos moduladores de la sirtuina que exhiben índices terapéuticos grandes. Aunque los compuestos moduladores de la sirtuina que exhiben efectos colaterales tóxicos pueden utilizarse, debe tenerse cuidado al diseñar el sistema de suministro que orienta tales compuestos al sitio de tejido afectado para minimizar el daño potencial a las células no infectadas y, por tanto, reducir los efectos colaterales.

Los datos obtenidos de los ensayos de cultivos celulares y los estudios animales pueden utilizarse en la formulación del intervalo de dosificación para usar en humanos.

La dosificación de tales compuestos puede caer dentro del intervalo de concentraciones de circulación que incluye la ED₅₀ con poca o ninguna toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este intervalo según la forma de dosificación empleada y la ruta de administración utilizada. Para cualquier compuesto, la dosis terapéuticamente efectiva puede ser estimada inicialmente de los ensayos de cultivos celulares. Una dosis puede ser formulada en modelos animales para obtener un intervalo de concentración plasmática de circulación que incluya la IC₅₀, es decir, la concentración del compuesto de prueba a la cual se obtiene una inhibición semimáxima de los síntomas, determinada en el cultivo celular. Tal información puede utilizarse para determinar en forma más exacta las dosis útiles en seres humanos. Los niveles en plasma pueden medirse, por ejemplo, por cromatografía para líquidos de alta resolución.

6. Kits

También se proporcionan kits, por ejemplo del tipo para fines terapéuticos o kits para la modulación del ciclo de vida de las células o modulación de la apoptosis. Un kit puede contener uno o más compuestos moduladores de la sirtuina, por ejemplo, en dosis medidas previamente. Un kit puede opcionalmente comprender dispositivos para el contacto de células con los compuestos e instrucciones de uso. Los dispositivos incluyen inyecciones, stents y otros dispositivos para la introducción de un compuesto modulador de sirtuina en un sujeto (por ejemplo, por los vasos sanguíneos del sujeto) o por aplicación a la piel.

Aún en otra configuración, la invención proporciona una composición que comprende un modulador de sirtuina de esta invención y otro agente terapéutico (los mismos utilizados en las politerapias y composiciones de combinación) en formas de dosificación separadas, pero asociadas entre sí. El término «asociados entre sí» se utiliza para indicar que las formas de dosificación separadas se envasan juntas o de otra manera unidas entre sí de modo que se aprecia fácilmente que las formas de dosificación separadas están destinadas a venderse y administrarse como parte del mismo régimen. El agente y el modulador de sirtuina preferiblemente se envasan

juntos en un envase alveolado u otros envases de varias cámaras, o en recipientes sellados por separado, conectados (por ejemplo, bolsitas de aluminio) que pueden ser separados por el usuario (por ejemplo, rasgando las líneas de puntos débiles entre los dos recipientes).

Aún en otra configuración, la invención proporciona un kit que comprende en recipientes separados, a) un modulador de circutina de esta invención y b) otro agente terapéutico tal como los descritos en la especificación.

La práctica de los presentes métodos empleará, A menos que se indique de otra manera, técnicas convencionales de biología celular, cultivo celular, biología molecular, biología transgénica, microbiología, ADN recombinante e inmunología, que están dentro del alcance de la técnica. Tales técnicas se explican completamente en la literatura. Véase, por ejemplo, *Molecular Cloning A Laboratory Manual*, 2^{da} Ed., ed. por Sambrook, Fritsch y Maniatic (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 y otros U.S. Patent 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* (F. I. Freshney, Alan P. Liss, Inc., 1987); *Immobilized Cells Y Enzymes* (IPL Press, 1986); B. Perbal, *A Practical Guide To Molecular Cloning* (1984); the treatise, *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 y otros eds.), *Immunochemical Methods In Cell Y Molecular Biology* (Mayer y Walker, eds., Academic Press, London, 1987); *Handbook Of Experimental Immunology*, Volumes I-IV (D. M. Weir y C. C. Blackwell, eds., 1986); *Manipulating the Mouse Embryo*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1986).

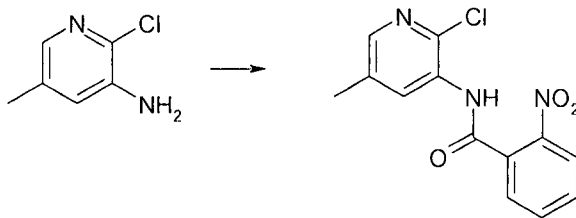
EJEMPLOS

La presente invención se entenderá mejor al hacer referencia a los siguientes

ejemplos, los cuales se presentan con propósitos de ilustración y no están destinados a limitar el alcance de la presente invención.

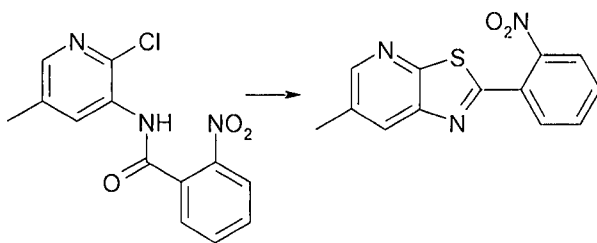
EJEMPLO 1

Preparación de la N-(2-cloro-5-metilpiridin-3-il)-2-nitrobenzamida:



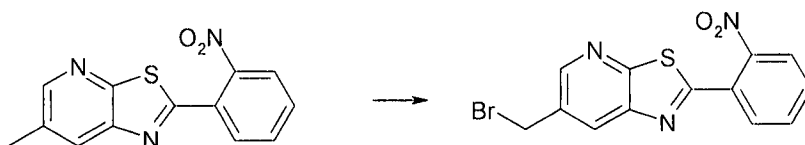
A una solución de 5-amino-6-cloro-3-picolina (9,54 g, 66,9 mmol) y piridina (200 ml) se le añadió en gotas cloruro de 2-nitrobenzoilo (13,65 g, 73,6 mmol) a °C. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla oscura luego se diluyó con agua (1500 mL) y se añadió una solución saturada de bicarbonato de sodio hasta que se alcanzó un pH de 8. El precipitado se recolectó por filtración, se enjuagó con agua (30 mL $\times$ 3) y se secó para producir N-(2-cloro-5-metilpiridin-3-il)-2-nitrobenzamida como un sólido pálido (17,70 g, yield: 91%).

Preparación de la 6-metil-2-(2-nitrofenil)thiazol[5,4-b]piridina:



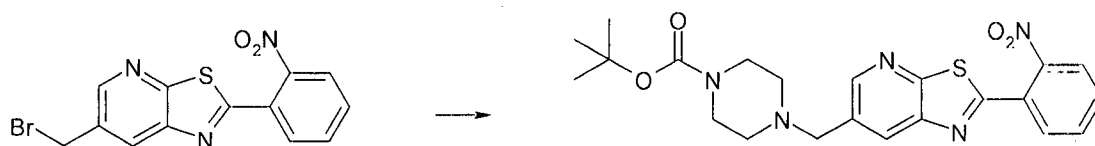
Una mezcla de N-(2-cloro-5-metilpiridin-3-il)-2-nitrobenzamida (5.0 g, 17.1 mmol) y P_2S_5 (7.6 g, 34.2 mmol) en piridina (50 mL) y *p*-xilene (200 mL) se agitó a 140 °C (20 h). Se retiró el solvente bajo vacío. El residuo se purificó por recristalización en EtOH para obtener 6-metil-2-(2-nitrofenil)thiazol[5,4-b]piridina como un sólido amarillo (3.5 g, rendimiento: 75%).

Preparación de la 6-(bromometil)-2-(2-nitrofenil)thiazol[5,4-b]piridina:



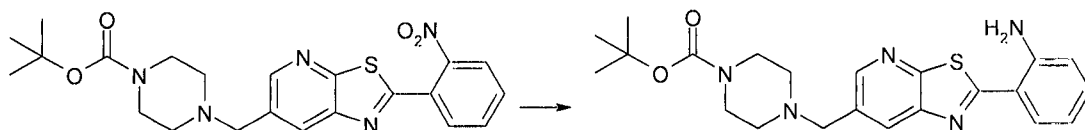
Se combinaron 6-Metil-2-(2-nitrofenil)thiazol[5,4-b]piridina (2.9 g, 10.7 mmol), N-bromosuccinimida (NBS, 1.91 g, 10.7 mmol), CCl_4 (200 mL) y peróxido de benzoilo (0.021 g) en un matraz de tres cuellos (500 mL) bajo argón. La mezcla amarilla resultante se agitó a reflujo (2 h). Se añadieron NBS (1.91 g) y peróxido de benzoilo (0.021 g) adicionales. Después de 2 h a reflujo, se añadieron de nuevo NBS (0.95 g) y peróxido de benzoilo (0.021 g) y la mezcla se mantuvo en reflujo durante 3 h. La mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente y se concentró bajo vacío para producir la 6-(bromometil)-2-(2-nitrofenil)thiazol[5,4-b]piridina (4.0 g) sin purificar, luego se llevó directamente al siguiente paso.

Preparación del 4-((2-(2-nitrofenil)thiazol[5,4-b]piridin-6-il)metil)piperacina-1-carboxilato de *terbutilo*:



Una solución de 6-(bromometil)-2-(2-nitrofenil)thiazol[5,4-b]piridina (4.0 g), Boc-piperacina (1.99 g, 10.7 mmol), trietilamina (Et_3N) (1.5 mL, 10.7 mmol) y acetonitrilo (100 mL) se agitaron a 50°C (4 h) y luego a temperatura ambiente (60 h). La TLC demostró que la reacción era completa. La mezcla se concentró bajo vacío y se purificó por cromatografía de gel de sílice (éter de petróleo : acetato de etilo : Et_3N = 100 : 10 : 1) para producir el 4-((2-(2-nitrofenil)thiazol[5,4-b]piridin-6-il)metil)piperacina-1-carboxilato de *terbutilo* como un sólido amarillo (3.6 g, rendimiento: 74% en dos pasos).

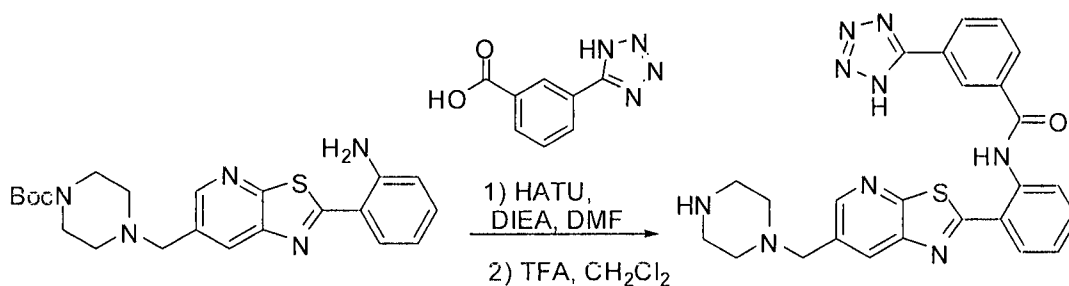
Preparación del 4-((2-(2-aminofenil)thiazol[5,4-b]piridin-6-il)metil)piperacina-1-carboxilato de *terbutilo*:



Una mezcla de *tert*-butyl 4-((2-(2-nitrofenil)thiazol[5,4-*b*]piridin-6-il)metil)piperacin-1-carboxilato de *ter*butilo (2.13 g, 4.7 mmol), NH_4Cl (2.00 g, 37 mmol), polvo de hierro (1.31 g, 23.5 mmol), H_2O (40 mL) y metanol (160 mL) se llevó a reflujo durante 3 h bajo N_2 . La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró bajo vacío y se purificó por cromatografía de gel de sílice (éter de petróleo : acetato de etilo : Et_3N = 800 : 200 : 1) para producir el 4-((2-(2-aminofenil)thiazol[5,4-*b*]piridin-6-il)metil)piperacin-1-carboxilato de *ter*butilo como un sólido amarillo (1.63 g, rendimiento: 81%).

Los compuestos intermedios de anilina para los compuestos 1-6, 11-43, 45, 47-61, 65, 67-68, 72, 74-75, 77-88, 90, 92-122, 127-130 se elaboraron de forma análoga a la esquematizada antes, utilizando los reactivos de amina apropiados.

Preparación del *N*-(2-(6-(piperacin-1-ilmetil)thiazol[5,4-*b*]piridin-2-il)fenil)-3-(1H-tetrazol-5-il)benzamida:



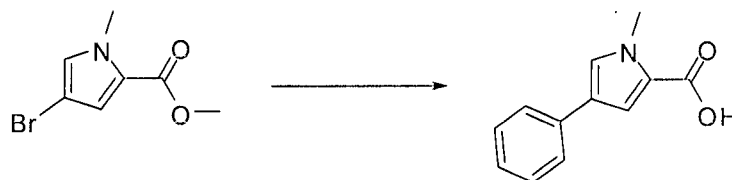
4-((2-(2-aminofenil)thiazol[5,4-*b*]piridin-6-il)metil)piperacin-1-carboxilato de *ter*butilo (85 mg, 0.2 mmol) se completó hasta 3 mL de DMF junto con ácido 3-(1H-tetrazol-5-il)benzoico (38 mg, 0.2 mmol), HATU (114 mg, 0.3 mmol) y DIEA (35 mL, 0.4 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 18 horas. Luego se diluyó con EtOAc (15 mL) y se lavó con agua (3 mL x 3). Se secó la capa orgánica (Na_2SO_4) y se concentró bajo vacío para producir el 4-((2-(2-(3-(1H-tetrazol-5-

il)benzamido)fenil)tiazol[5,4-b]piridin-6-il)metil)piperacin-1-carboxilato de *terbutilo* crudo. Este material se llevó hasta 5 mL de 25% TFA en CH_2Cl_2 y se dejó en reposo a temperatura ambiente (18 h). La mezcla de reacción se concentró bajo vacío y el residuo resultante se purificó por HPLC de fase inversa para producir 12 mg de N-(2-(6-(piperacin-1-ilmetil)tiazol[5,4-b]piridin-2-il)fenil)-3-(1H-tetrazol-5-il)benzamida como un sólido amarillo. PMN ^1H (300 MHz, DMSO-d_6) δ 9.5 (br s, 2 H), 7.5-9.1 (m, 10 H), 4.5 (br s, 1 H), 3.5-4.0 (m, 10 H). MS (ESI) calculado $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{N}_9\text{OS}$ (m/z): 497.17, encontrado: 498.2 ($M+1$) $^+$.

Todos los compuestos analizados en esta patente se elaboraron de forma análoga a la esquematizada antes, utilizando los ácidos apropiados. Estos productos no contenían un grupo de protección BOC ni siguieron a través del paso de desprotección de TFA.

EJEMPLO 2

Preparación del ácido 1-metil-4-fenil-1H-pirrol-2-carboxílico:

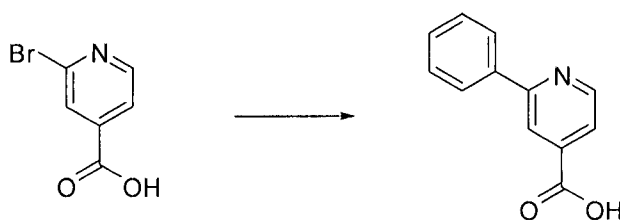


A una solución de metil-4-bromo-1-metil-1H-pirrol-2-carboxilato (2.5 g, 11.5 mmol) en DMF (35 mL) bajo argón se añadieron en secuencia $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (0.66 g, 0.58 mmol) y ácido fenilborónico (3.46 g, 28.4 mmol). La mezcla de reacción se calentó hasta 70 °C y se añadió Na_2CO_3 (11 g, 104 mmol) disuelto en agua (30 mL). La mezcla de reacción se calentó hasta 110°C (14 h), se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con agua (250 mL), y se extrajo con éter dietílico (250 mL x 3). Se secaron las capas orgánicas combinadas y se concentraron bajo vacío. Se purificó el residuo por cromatografía de sílice (se eluyó con éter de petróleo : acetato de etilo = 40:1) para producir el metil-1-metil-4-fenil-1H-pirrol-2-carboxilato como un sólido cristalino blanco (0.257 g).

El éster (0.26 g, 1.2 mmol) luego se combinó con LiOH/H₂O (0.15 g, 3.6 mmol) en THF (5 mL), CH₃OH (5 mL) y H₂O (2.5 mL) y se agitó a 40°C (4 h). Se añadió agua (25 mL) y la mezcla se lavó con DCM (15 mL). El pH de la fase acuosa se ajustó a 5-7 con HCl (1M). El agua se retiró y se disolvió el residuo en MeOH (100 mL) y luego se filtró. El filtrado se concentró bajo vacío para obtener el compuesto ácido 1-metil-4-fenil-1H-pirrol-2-carboxílico como un sólido blanco. (0.419 g) PMM ¹H(CDCl₃, 400 MHz): δ 4.01 (s, 3H), 7.16 (d, J=1.6 Hz, 1H), 7.23 (t, J=7.2 Hz, 1H), 7.38 (m, 3H), 7.53 (dd, J=7.2, 8.4 Hz, 2H)

EJEMPLO 3

Preparación del ácido 2-fenilisonicotínico:



Se disolvió ácido 2-Bromoisonicotínico (2.02 g, 10 mmol) en DMF (80 mL) bajo argón. Se añadió Pd(PPh₃)₄ (0.6 g, 0.52 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 min. Luego se añadió Na₂CO₃ (ac. 2N, 40 mL) seguido por la adición de ácido fenilborónico (1.67 g, 13.7 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 95 °C (18 h), se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró a través de un lecho de Celite. Se añadió agua (80 mL) y la mezcla se acidificó con HCl (2 N) a pH = 4. El precipitado se recolectó por filtración, se enjuagó con agua (2 mL × 7). El producto sin tratar se recrystalizó a partir de 2-metoxietanol para obtener el ácido 2-fenilisonicotínico como un sólido gris (1.2 g). PMM ¹H (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 7.51 (m, 3H), 7.78 (d, J=4.8 Hz, 1H), 8.13 (t, J=1.6 Hz, 2H), 8.29 (s, 1H), 8.35 (d, J=4.8 Hz, 1H), 13.73 (bs, 1H).

EJEMPLO 4

Actividad biológica

Se utilizó un ensayo basado sobre espectrometría de masas para identificar los

moduladores de la actividad de la SIRT1. El ensayo basado sobre espectrometría de masas utilizó un péptido que tiene 20 residuos de aminoácidos como sigue: Ac-EE-K(biotin)-GQSTSSHSK(Ac)IleSTEG-K(5TMP)-EE-IH₂ (ID de SEC 11.º 1) en donde K(Ac) es un residuo de lisina acetilado y Ile es una norleucina. El péptido está etiquetado con el fluoróforo 5TMP (excitación 540 nm/emisión 580 nm) en el extremo C. La secuencia del sustrato de péptido se basó sobre el p53 con varias modificaciones. Además, el residuo de metionina presente en forma natural en la secuencia se reemplazó con la norleucina debido a que la metionina puede ser susceptible a oxidación durante la síntesis y purificación.

El ensayo de espectrometría de masas se llevó a cabo como sigue: 0.5 μ M de su péptido y 120 μ M β NAD⁺ se incubaron con 10 nM SIRT1 durante 25 minutos a 25°C en una solución amortiguadora de reacción (50 mM Tris-acetato pH 8, 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 1 mM MgCl₂, 5 mM DTT, 0.05% BSA). Los compuestos de prueba pueden añadirse a la reacción como se describió antes. El gen SIRT1 se clonó en un vector que contenía el promotor T7 y se transformó en BL21(DE3). Después de la incubación de 25 minutos con SIRT1, se añadieron 10 μ L de 10% de ácido fórmico para detener la reacción. Se sellaron y congelaron las reacciones para análisis posterior de espectrometría de masas. La determinación de la masa del péptido sustrato permite precisar la determinación del grado de acetilación (es decir, el material de partida) en comparación con el péptido desacetilado (producto).

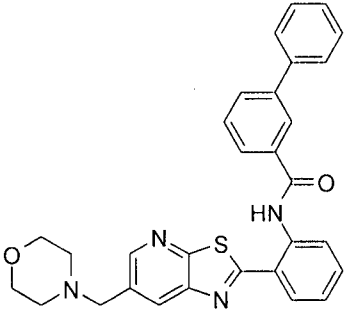
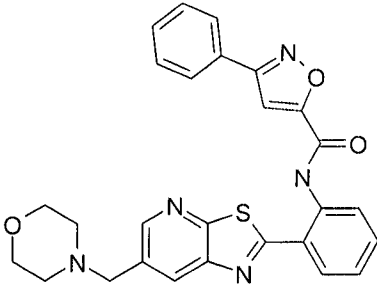
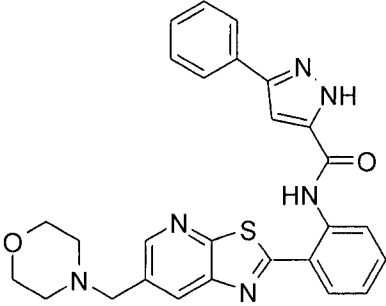
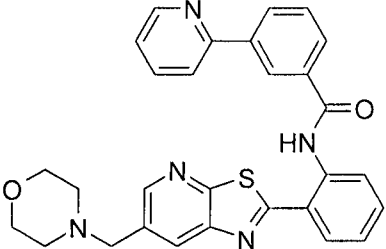
Un control para la inhibición de la actividad de sirtuina se llevó a cabo por adición de 1 μ L de 500 mM nicotinamida como un control negativo al inicio de la reacción (por ejemplo, para permitir la determinación de la inhibición máxima de sirtuina). Se llevó a cabo un control para la activación de la actividad de sirtuina con 10 nM de proteína de sirtuina, con 1 μ L de DMSO en lugar del compuesto, para determinar la cantidad de desacetilación del sustrato en un instante dado dentro del intervalo lineal del ensayo. Este instante es el mismo que se utilizó para los compuestos de prueba y, dentro del intervalo lineal, el punto final representa un cambio en la velocidad.

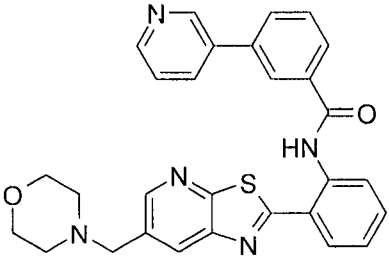
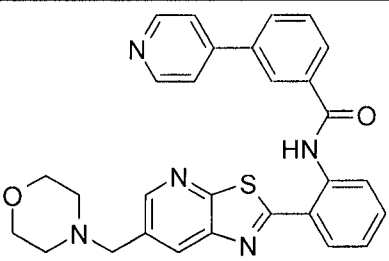
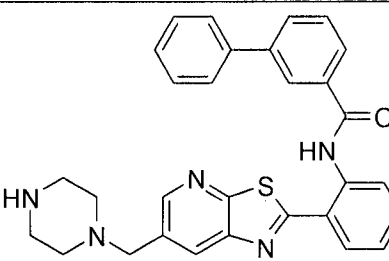
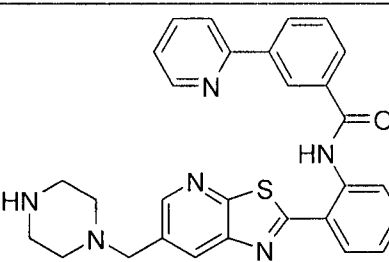
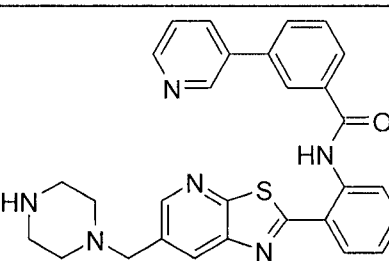
Para el ensayo anterior, la proteína SIRT1 se expresó y purificó como sigue. El gen Sirt1 se clonó en un vector que contenía el promotor T7 y se transformó en BL21(DE3). La proteína se expresó por inducción con 1 mM IPTG como una proteína de fusión de extremo N His-tag a 18°C durante la noche y se recogió a 30,000 x g. Se practicó lisis en las células con la lisozima en la solución amortiguadora de lisis (50 mM Tris-HCl, 2 mM Tris[2-carboxietil]fosfina (TCEP), 10 µM ZnCl₂, 200 mM NaCl) y se trató adicionalmente por sonicación durante 10 minutos para lisis completa. La proteína se purificó sobre una columna de Ni-NTA (Amersham) y se acumularon las fracciones que contenían proteína pura, se concentraron y se pasaron por una columna de dimensionamiento (Sephadex S200 26/60 global). Se recolectó la proteína soluble que contenía el pico y se pasó por una columna de intercambio iónico (MonoQ). El gradiente de elución (200 mM - 500 mM NaCl) obtuvo la proteína pura. Esta proteína se concentró y dializó contra una solución amortiguadora de diálisis (20 mM Tris-HCl, 2 mM TCEP) durante la noche. Se tomó una alícuota de la proteína y se congeló a -80 °C hasta uso posterior.

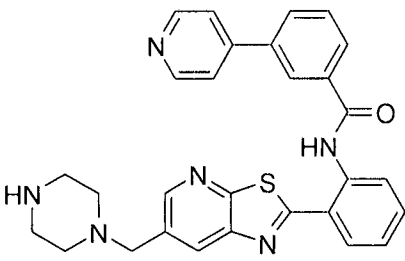
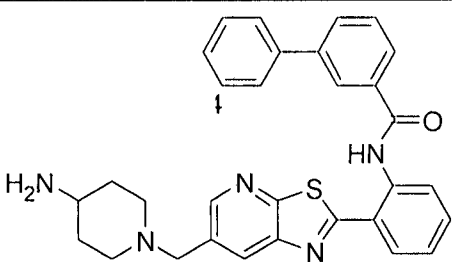
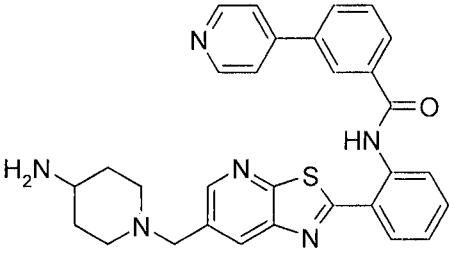
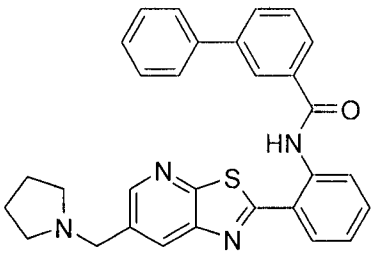
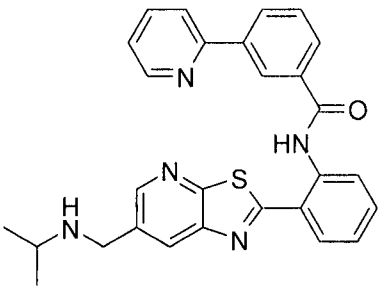
Los compuestos moduladores de la circunina que activaron la SIRT1 se identificaron por medio del ensayo descrito antes y se presentan en la tabla 3. Los valores de EC_{1.5} representa la concentración de los compuestos de prueba que resultaron con 150% de activación de SIRT1. NT indica que el compuesto no fue evaluado utilizando el ensayo señalado. NA significa que el compuesto no lo activo el ensayo señalado. En la tabla 3 también se indica el % máximo de activación de la SIRT1.

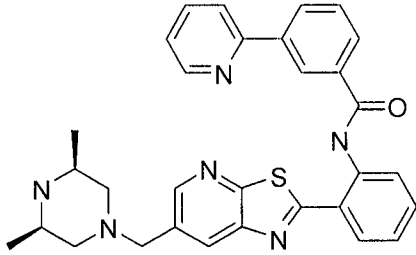
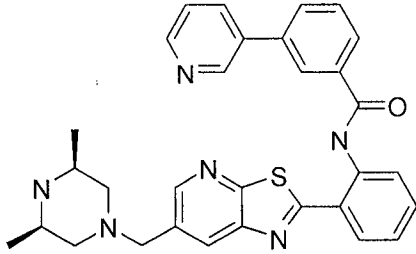
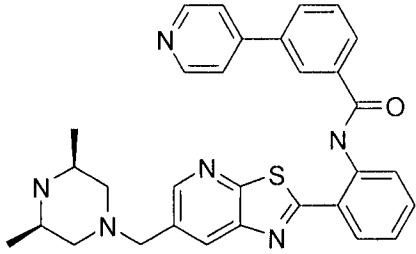
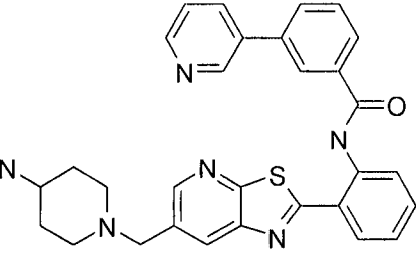
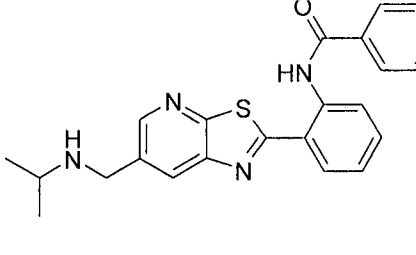
Tabla 3.

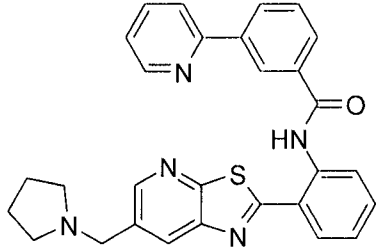
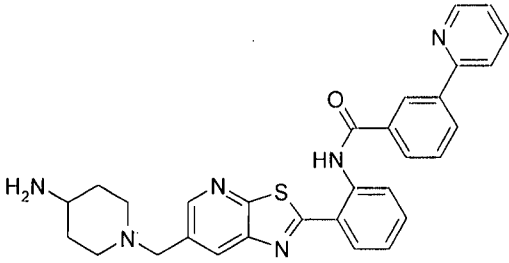
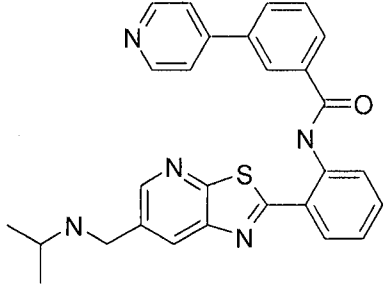
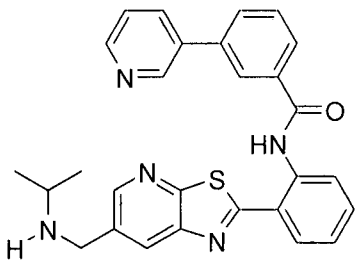
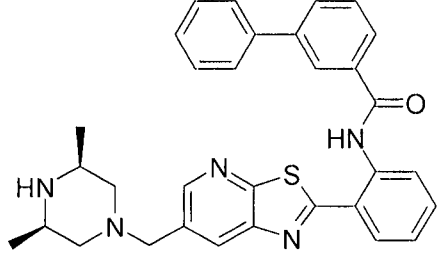
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} NM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.

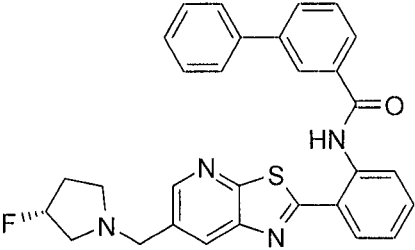
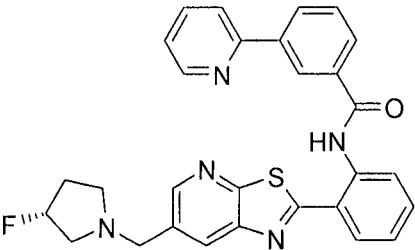
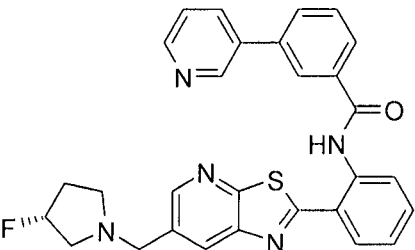
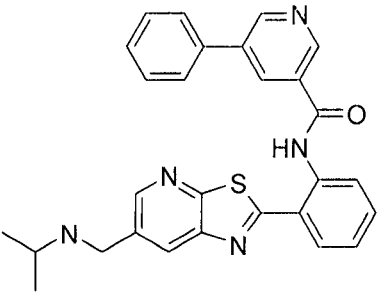
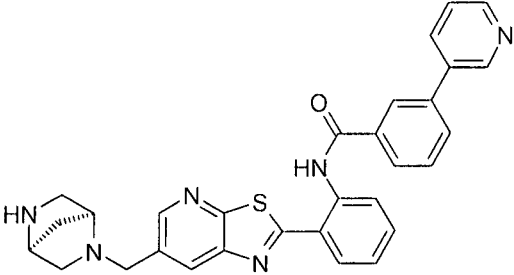
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} NM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
1	507		233	241
2	498		NA	132
3	497		1620	246
4	508,1		504	321

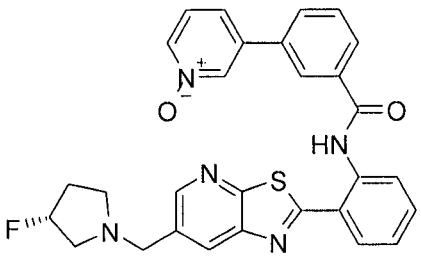
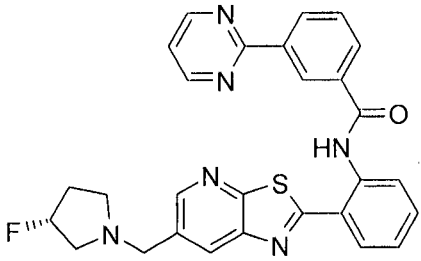
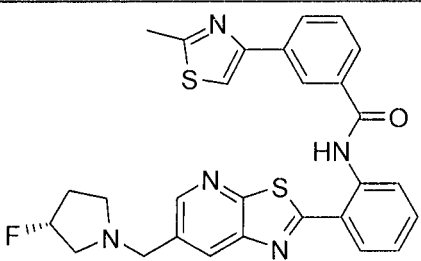
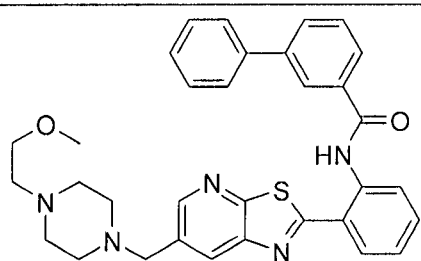
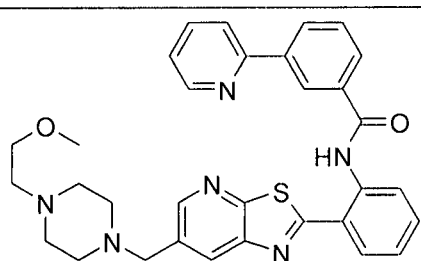
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} NM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
5	508		665	281
6	508		746	274
7	579		65	581
8	507		340	471
9	507		416	392

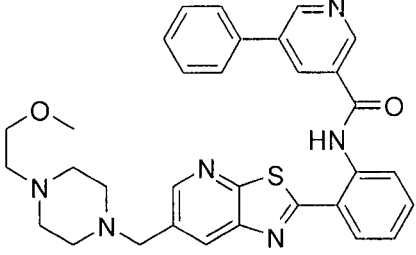
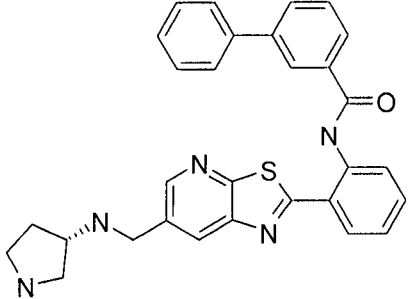
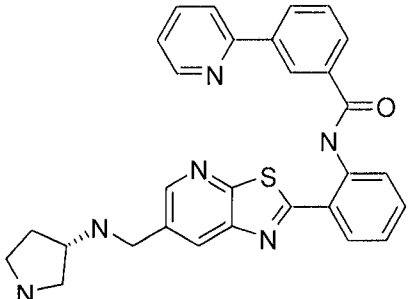
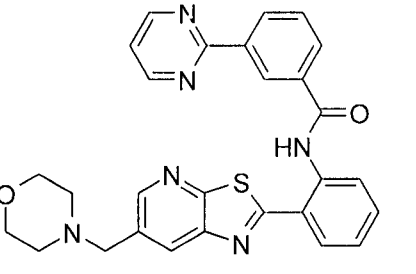
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} NM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
10	507		492	316
11	520		78	578
12	521		249	550
13	491		584	252
14	480		937	381

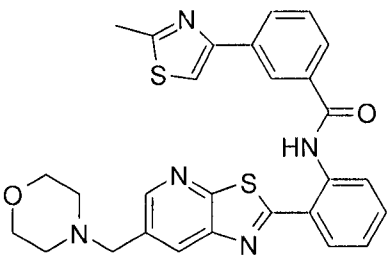
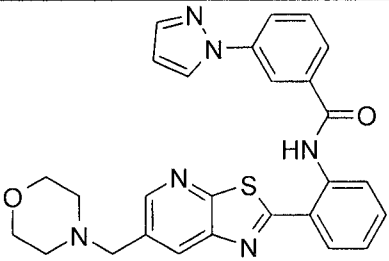
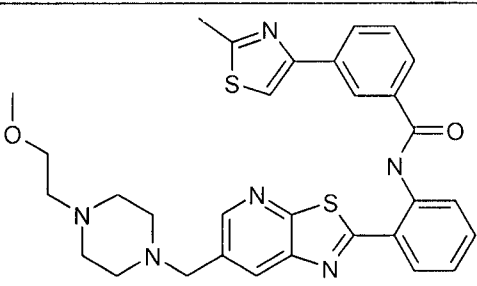
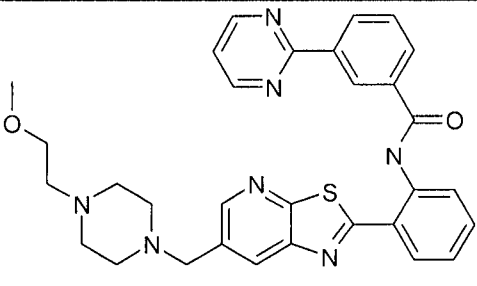
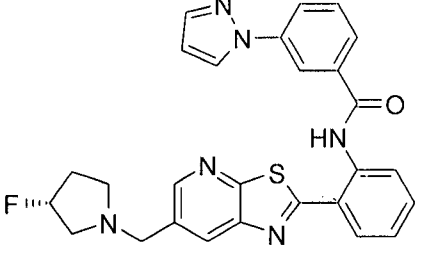
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} nM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
15	535,1		627	531
16	535,2		674	405
17	535,3		683	360
18	521,2		620	457
19	479,2		722	198

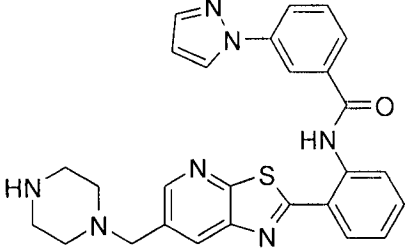
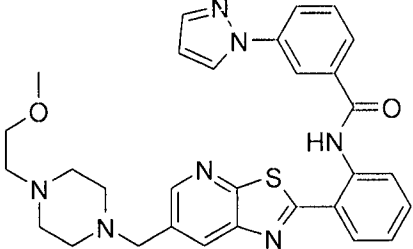
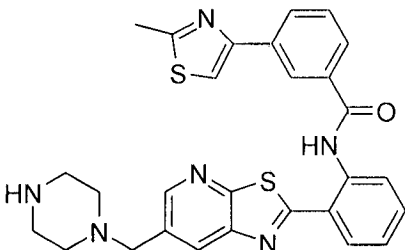
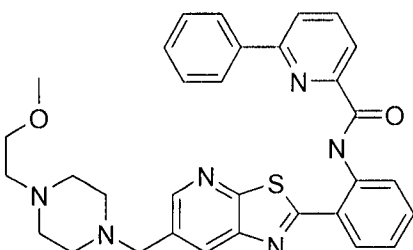
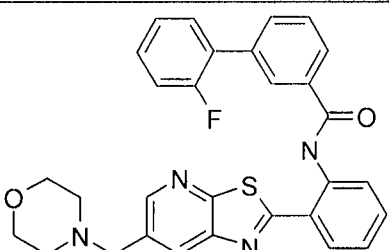
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1,5} NM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
20	492,2		687	224
21	521,2		162	906
22	480,2		2620	417
23	480,1		1950	241
24	534,2		94	299

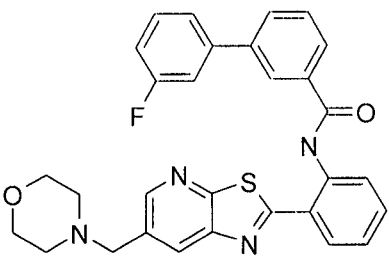
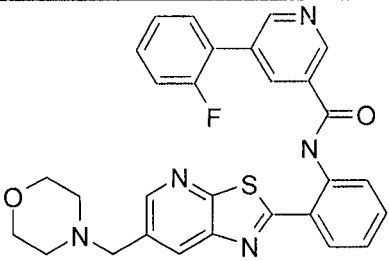
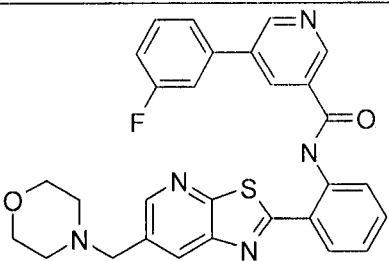
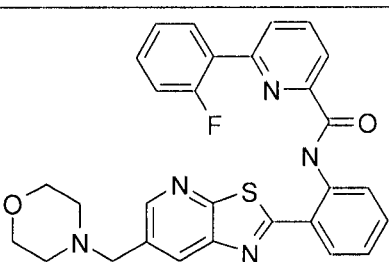
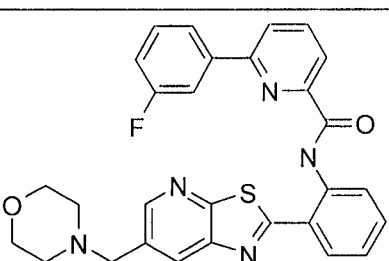
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} NM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
25	509		469	203
26	510		455	192
27	510		913	185
28	480,2		3590	162
29	519,2		462	378

COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} NM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
30	526		986	142
31	511		1000	168
32	530		815	162
33	564,2		91	533
34	565,2		281	492

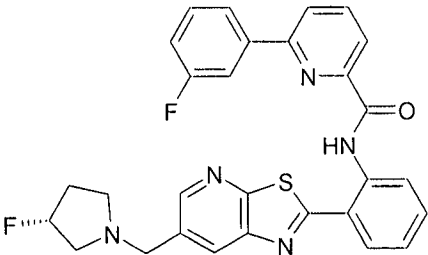
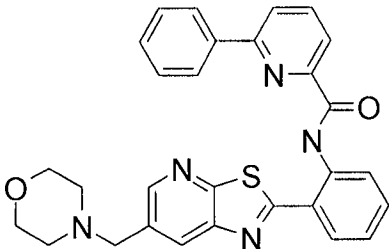
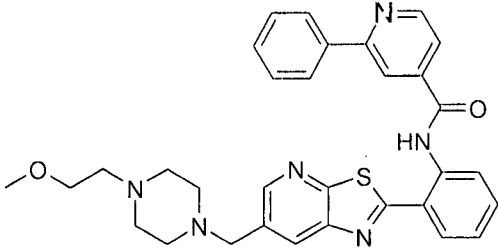
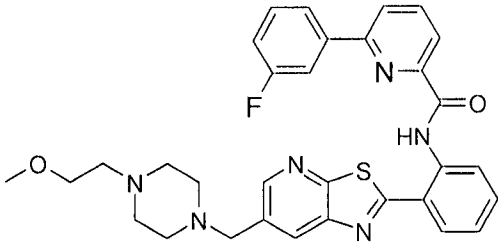
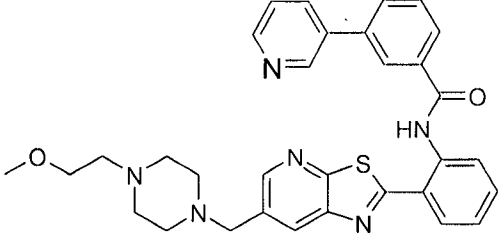
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} NM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
35	565,2		554	234
36	506,1		NT	NT
37	507,1		507	422
38	509		548	292

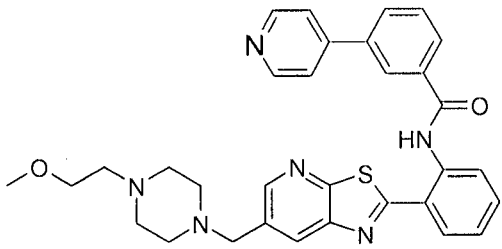
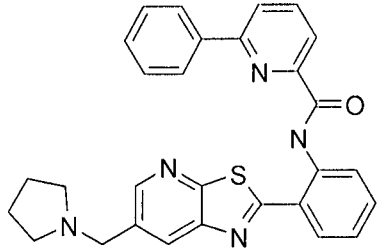
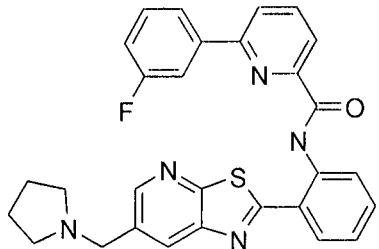
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1,5} nM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
39	528		400	241
40	497		182	397
41	585,2		652	275
42	566,2		656	212
43	499		215	236

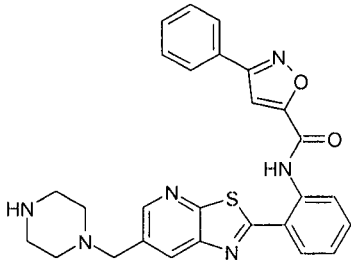
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} nM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
44	496		397	603
45	554,2		144	569
46	527		503	446
47	565,2		82	1032
48	525,1		395	222

COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} nM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
49	525,1		319	192
50	526,1		533	207
51	526,1		1640	172
52	526,1		357	411
53	526,1		66	837

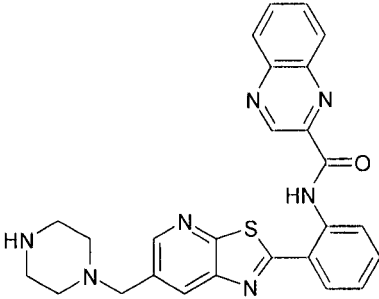
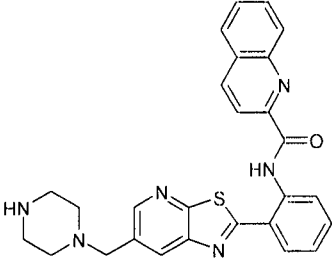
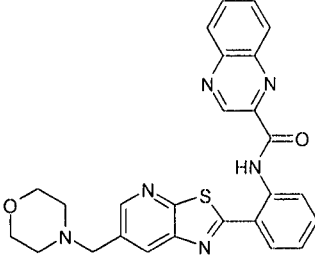
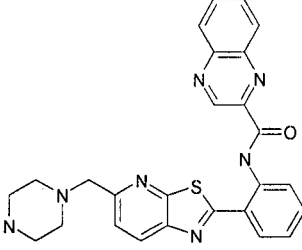
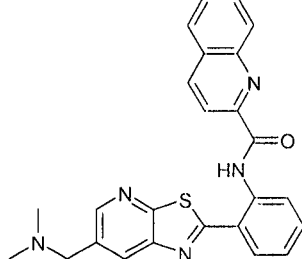
225

COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} NM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
54	528,1		110	538
55	508,1		74	>500
56	565,2		458	389
57	583,2		41	>500
58	565,2		884	370

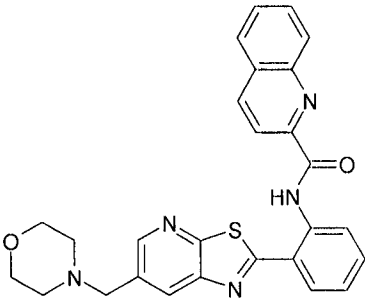
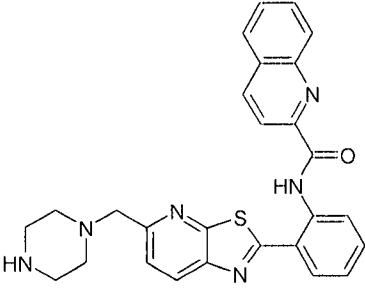
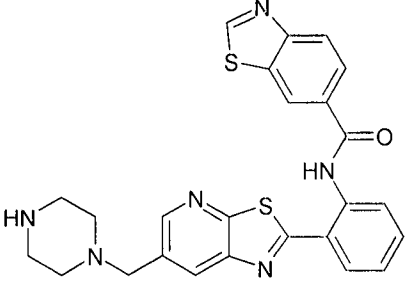
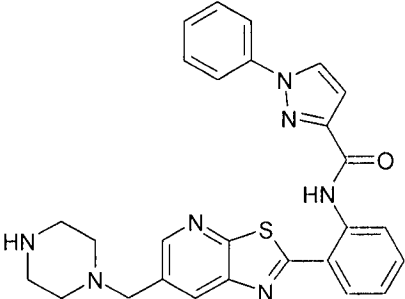
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} NM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
59	565,2		492	279
60	492,2		144	477
61	510,2		78	>500

COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} NM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
62	497		592	231

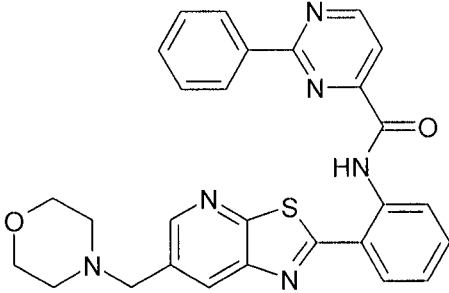
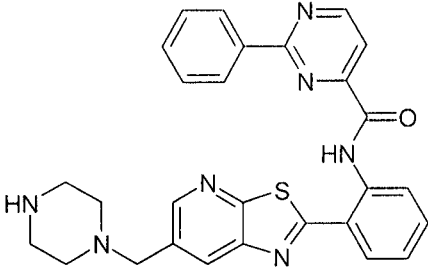
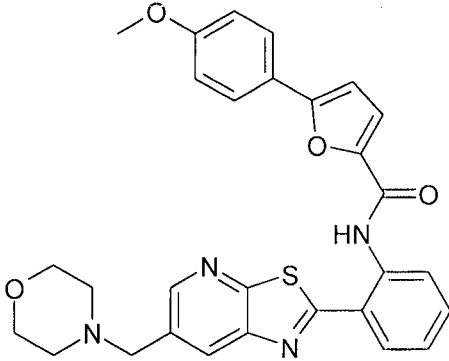
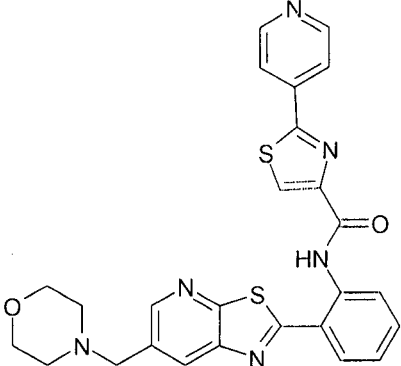
227

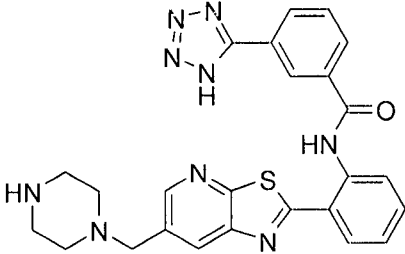
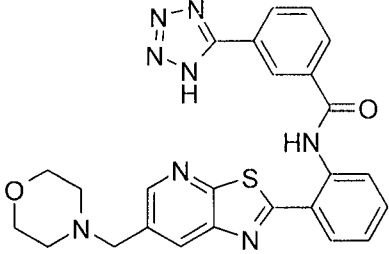
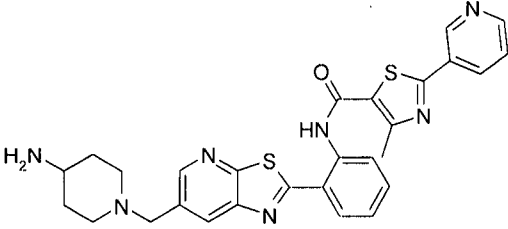
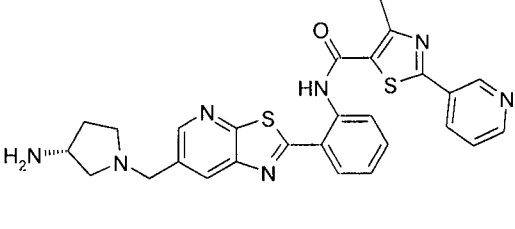
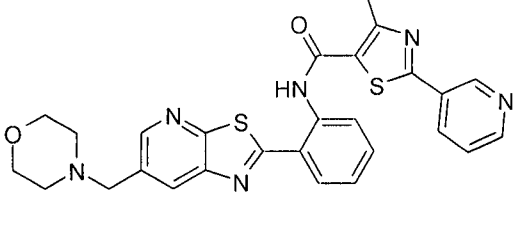
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} NM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
63	482		859	303
64	481		260	>500
65	483		NA	100
66	483		819	336
67	477		495	322

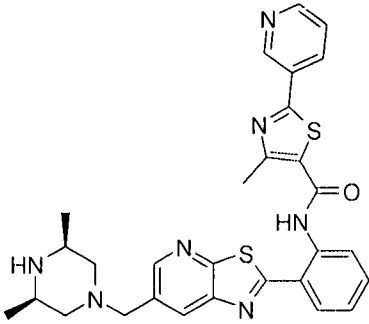
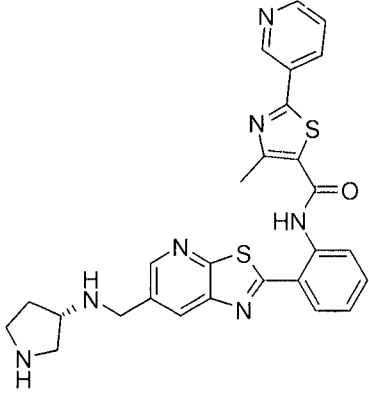
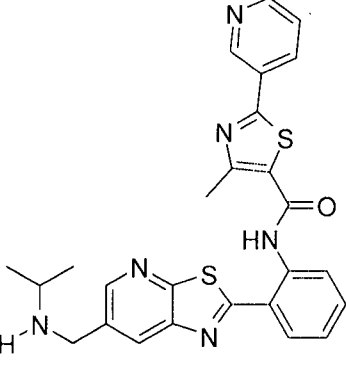
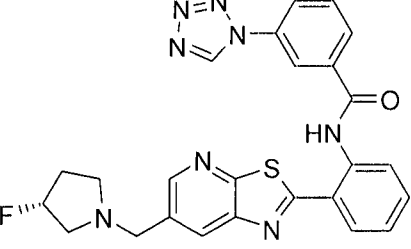
228

COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} NM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
68	482		593	295
69	481		687	>500
70	488		2590	298
71	496		1460	304

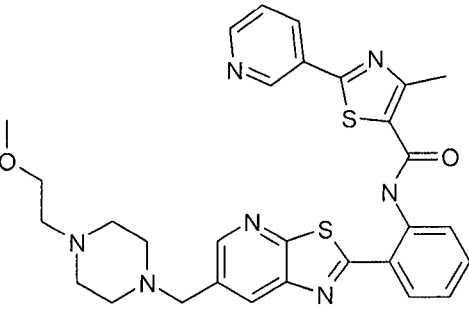
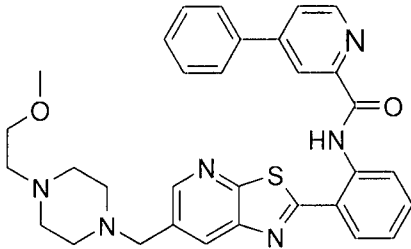
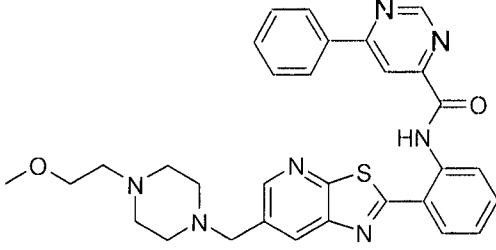
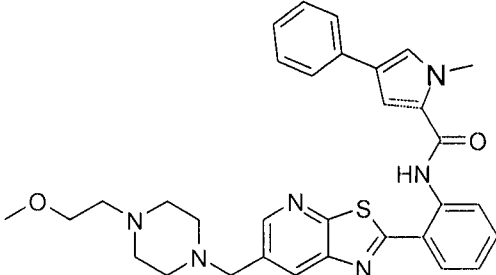
229

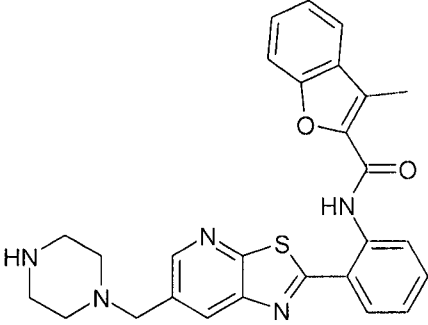
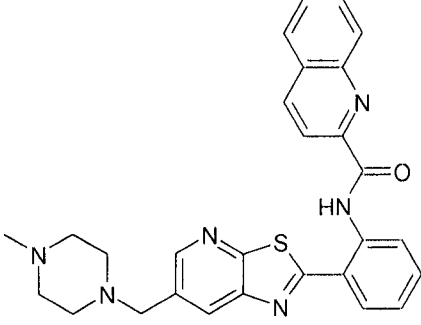
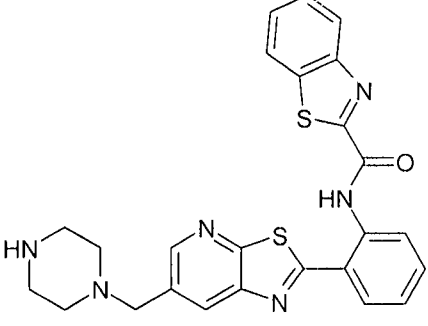
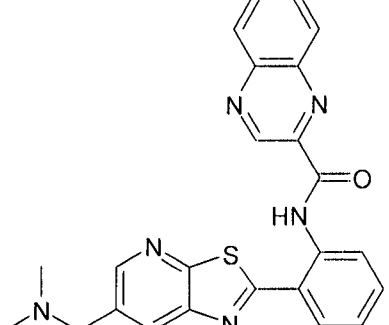
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} nM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
72	509		NA	100
73	508		2970	183
74	527		421	236
75	515		NT	NT

COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1,5} nM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
76	498		2790	285
77	499		3920	204
78	542,1		565	297
79	528,1		1220	240
80	529,1		NA	100

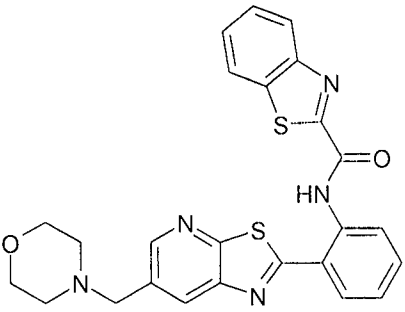
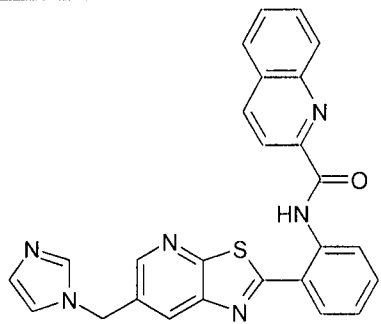
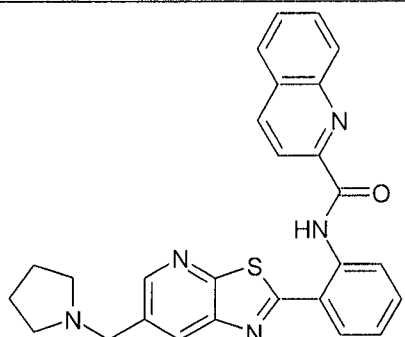
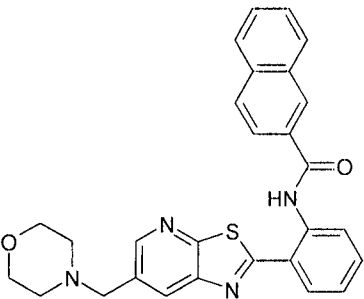
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} NM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
81	556,2		NA	131
82	528,1		378	224
83	501,1		NA	100
84	501		4270	166

232

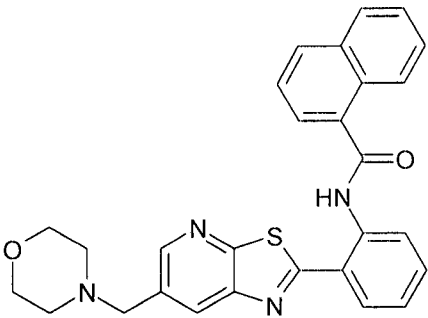
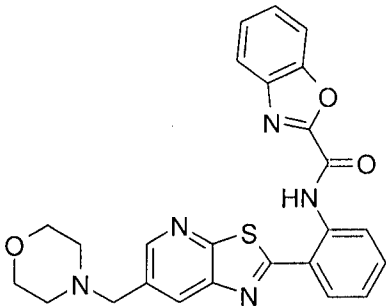
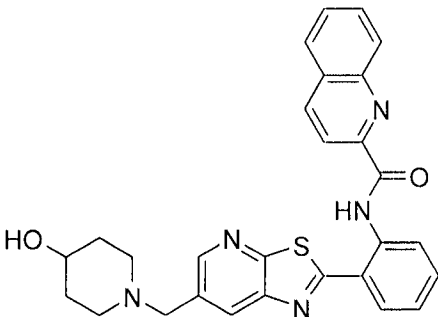
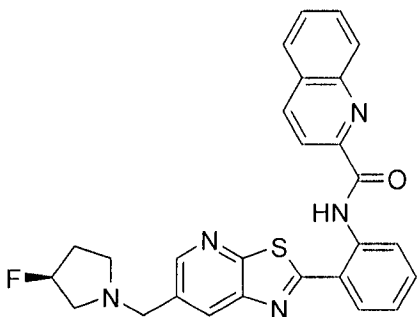
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1,5} NM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
85	586,2		16700	182
86	565,2		NA	137
87	566,2		955	166
88	567,2		14	272

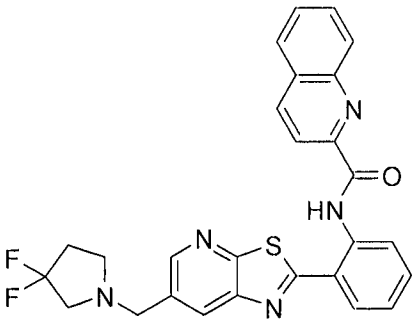
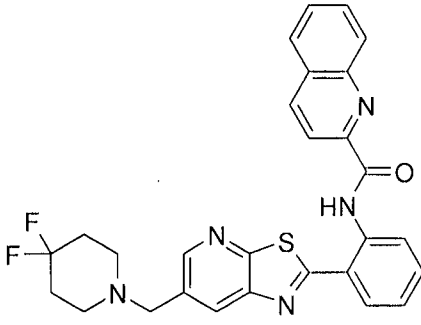
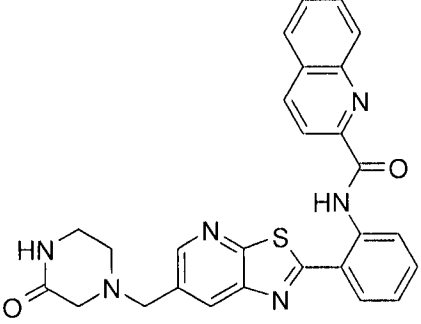
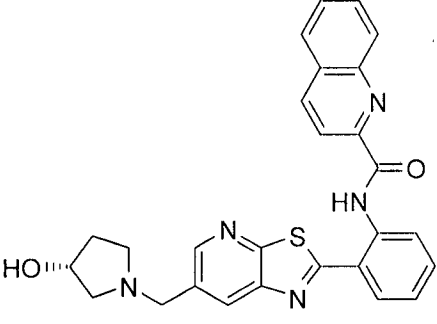
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1,5} NM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
89	484		235	239
90	495,2		190	221
91	487,3		4410	333
92	441		2810	163

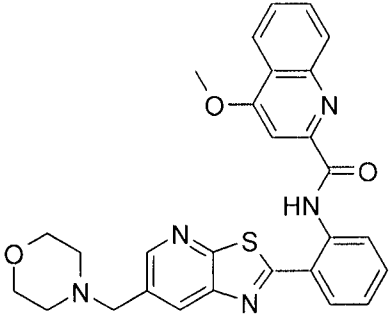
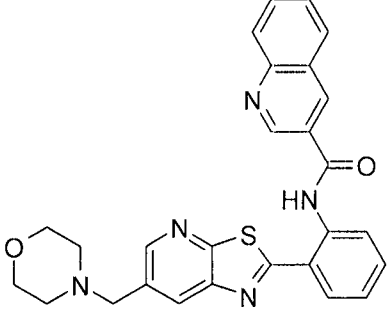
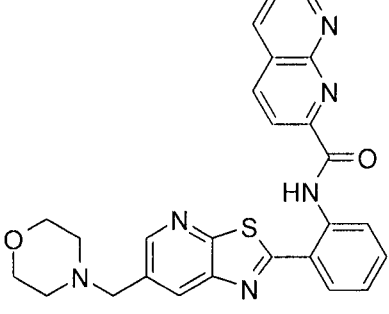
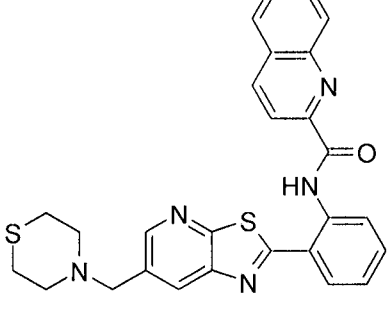
234

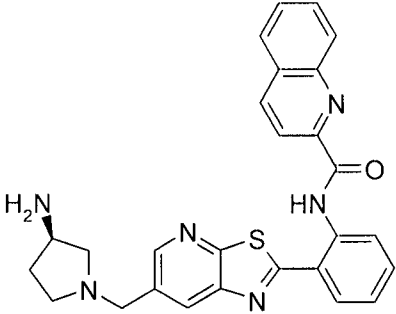
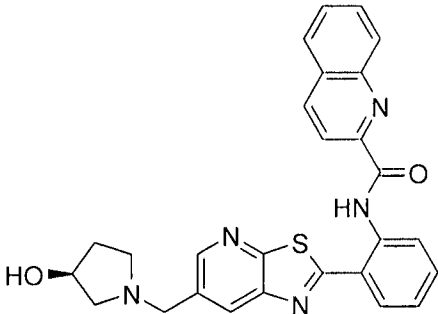
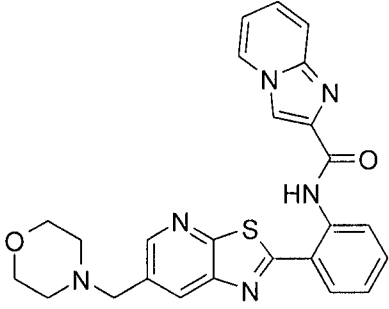
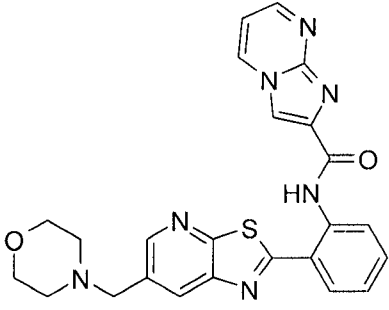
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1,5} nM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
93	488,1		510	236
94	463		150	182
95	466,1		160	252
96	481		1060	162

235

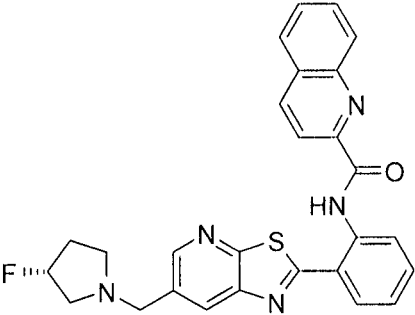
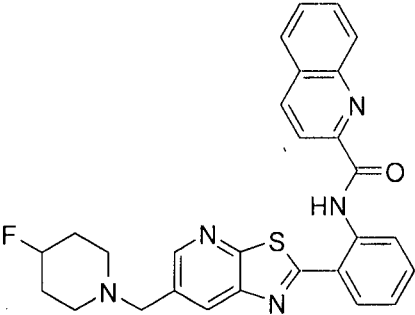
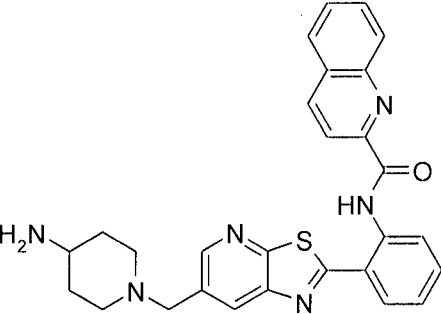
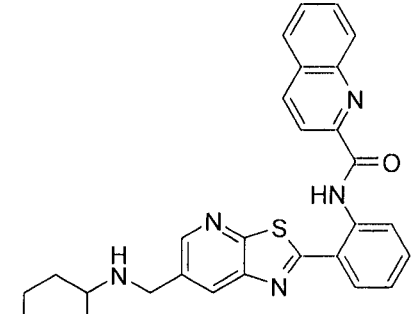
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} NM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
97	481		3020	186
98	472		NA	139
99	496,1		110	244
100	484		1440	201

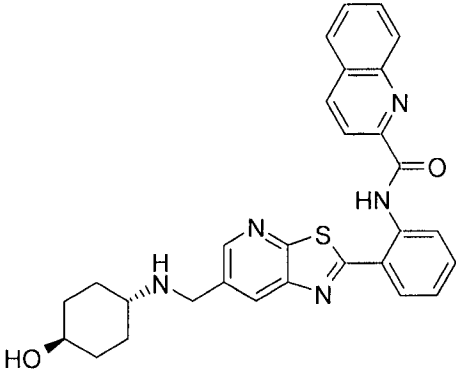
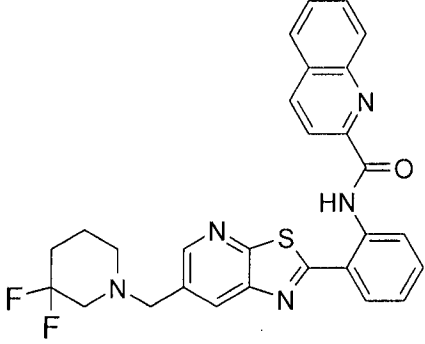
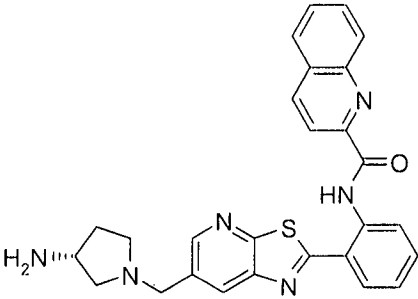
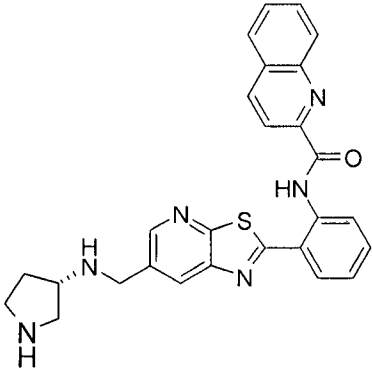
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} NM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
101	502		NA	133
102	516		NA	131
103	495		230	273
104	482		200	221

COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} nM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
105	512		1590	292
106	482		69840	189
107	483		500	219
108	498		1060	178

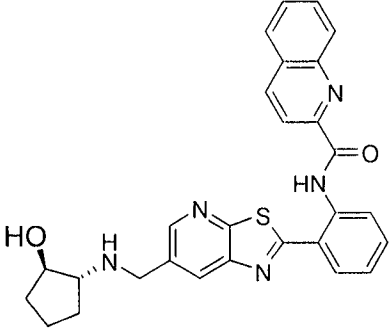
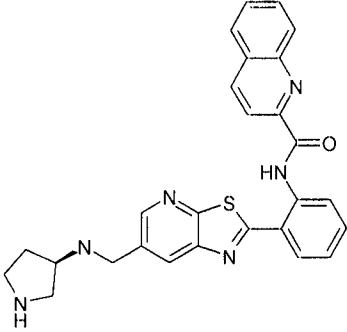
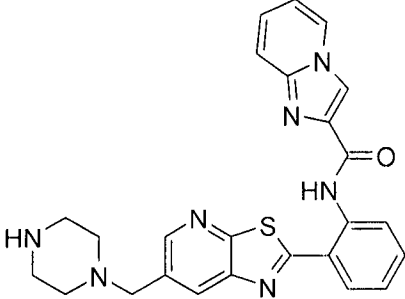
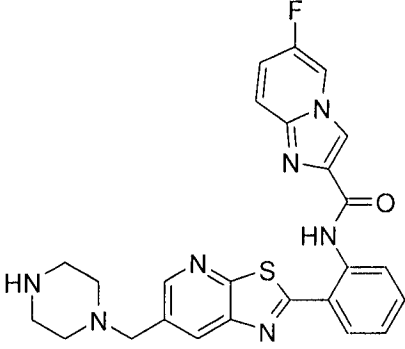
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} nM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
109	481		270	>500
110	482		230	307
111	471		1610	427
112	472		2330	375

239

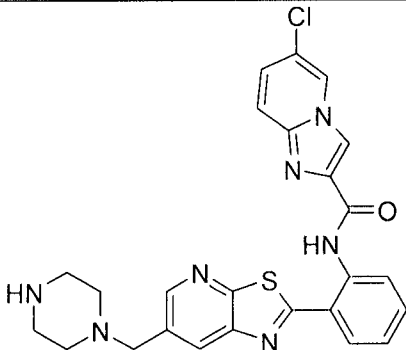
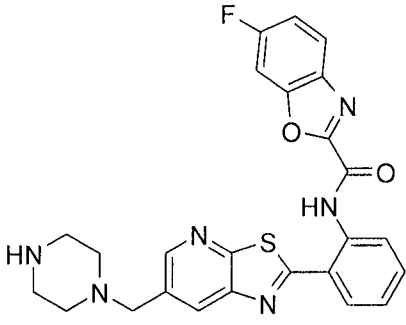
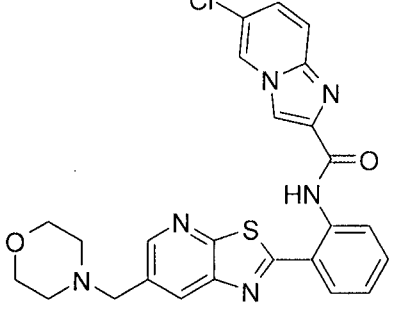
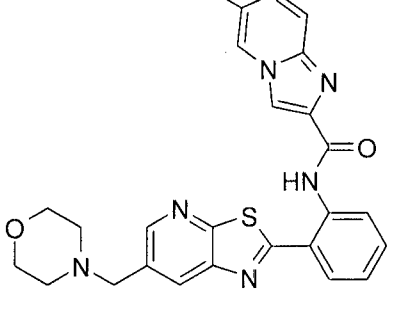
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1,5} nM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
113	484		370	232
114	498		NA	146
115	495		620	>500
116	495		270	>500

COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} nM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
117	510		480	324
118	516		NA	100
119	481		390	>500
120	481		820	>500

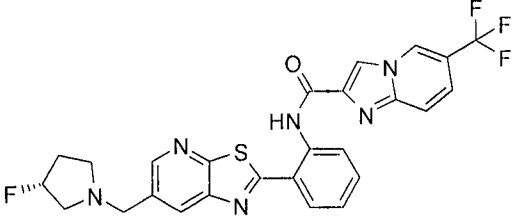
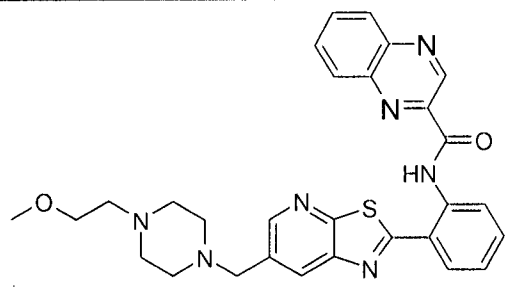
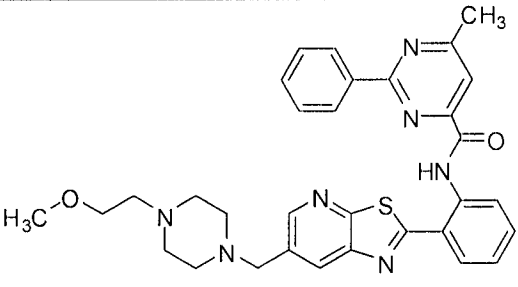
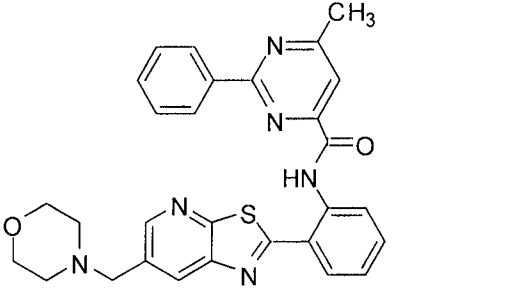
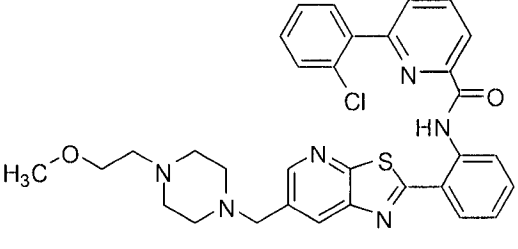
241

COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1,5} NM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
121	496		750	291
122	481		NT	NT
123	470		1940	400
124	488		1060	314

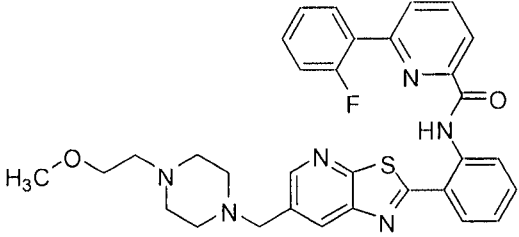
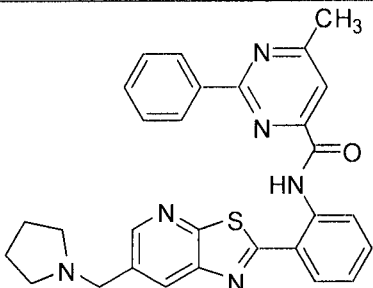
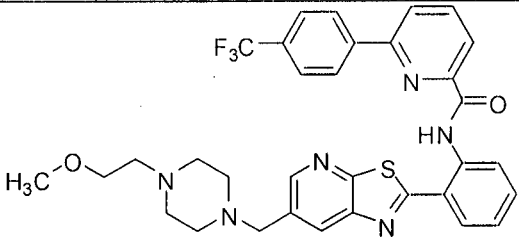
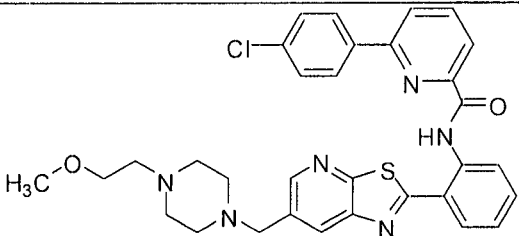
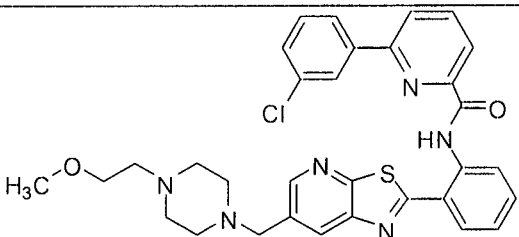
242

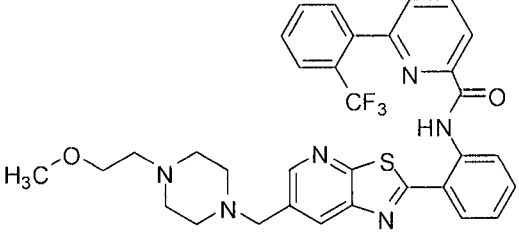
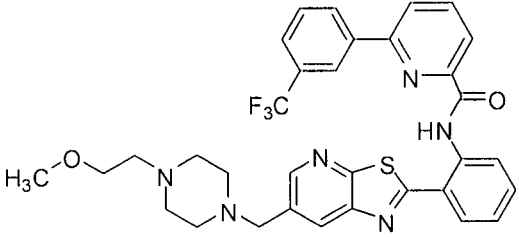
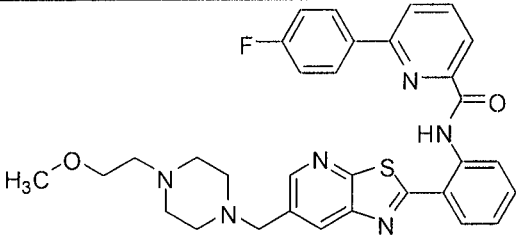
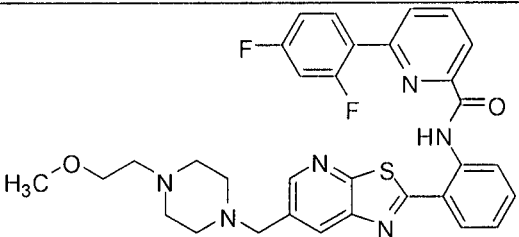
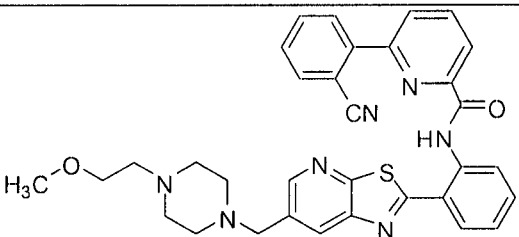
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} nM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
125	505		760	437
126	489		NA	100
127	505		NA	143
128	489		1310	227

243

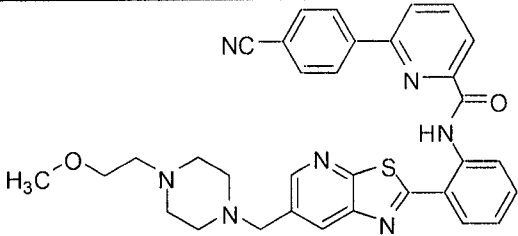
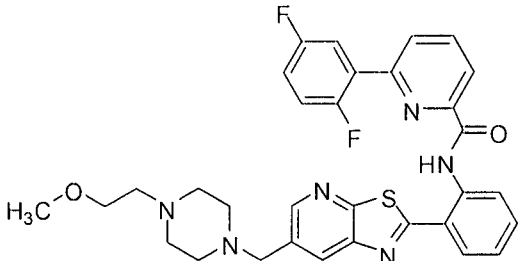
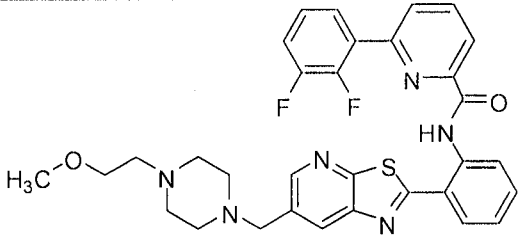
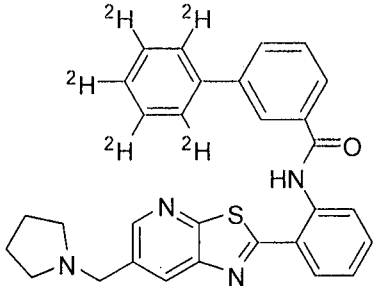
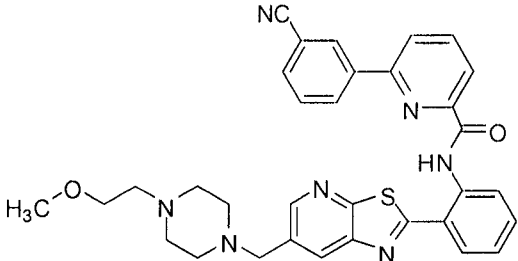
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} NM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
129	541		NA	100
130	540		990	161
131			106	500
132			215	500
133			90	500

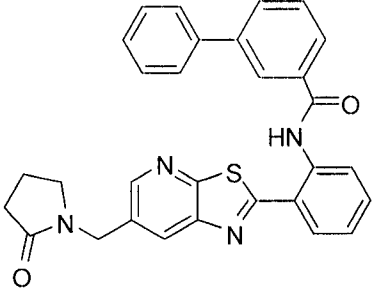
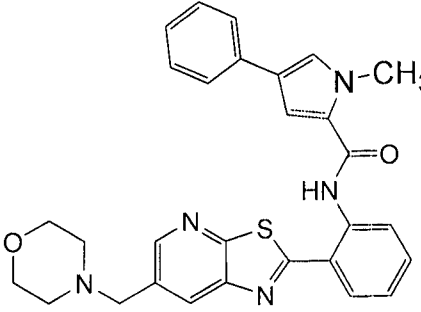
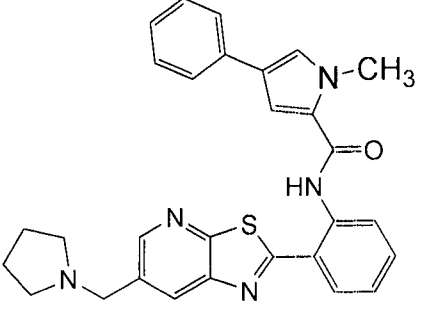
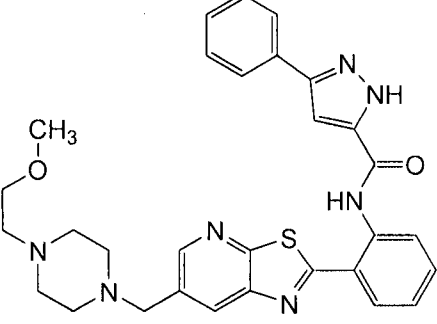
244

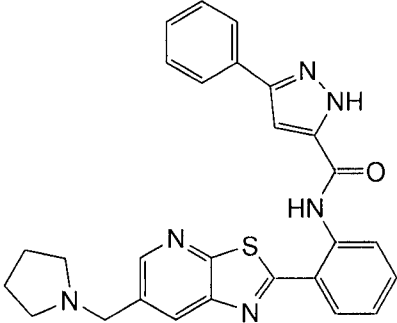
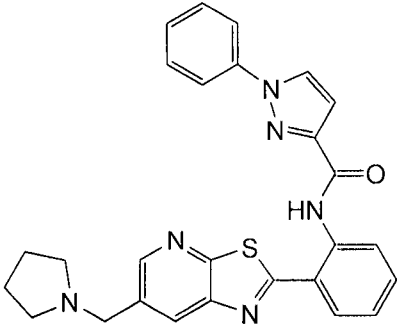
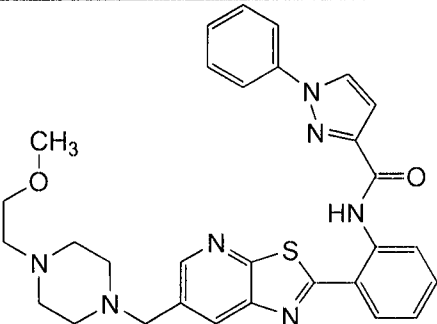
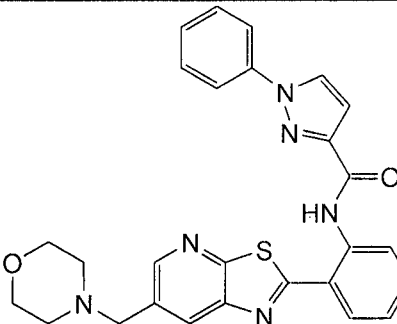
COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1,5} nM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
134			69	500
135			759	274
136			448	461
137			214	448
138			88	497

COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1,5} nM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
139			230	457
140			41	500
141			127	487
142			394	378
143			2121	372

246

COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1,5} nM	% DUPLICACIÓN DE ACT.
144			559	402
145			86	500
146			127	500
147			845	224
148			40	500

COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1.5} nM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
149			557	216
150			67	267
151			591	170
152			321	>500

COMPUEST O N.º	[M+H] ⁺	ESTRUCTURA	EC _{1,5} NM	% DUPLIC ACIÓN DE ACT.
153			829	226
154			428	277
155			141	364
156			674	443

EQUIVALENCIAS

La presente invención proporciona entre otras cosas compuestos activadores de

la sirtuina y métodos para su uso. Aunque se han analizado las configuraciones de la presente invención, la especificación anterior apenas es ilustrativa y no restrictiva. Los conocedores de la técnica apreciarán que son posibles muchas variaciones a la luz de esta especificación. El alcance completo de la invención debe determinarse en referencia a las Reivindicaciones, junto con su alcance completo de las equivalencias y la memoria, junto con tales variaciones.

INCORPORACIÓN COMO REFERENCIA

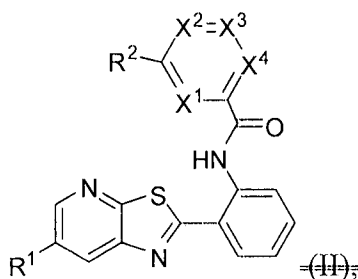
Todas las publicaciones y patentes mencionadas aquí que incluyen los puntos presentados más adelante, se incorporan como referencia en su totalidad como si cada publicación o patente se indicara en forma específica e individual para incorporarse como referencia. En caso de conflicto, la presente solicitud, que incluye las definiciones presentadas aquí, se establece como base la presente especificación.

También se incorporan como referencia en su totalidad cualquier secuencia de polinucleótido y polipéptido que se refiera a un número de acceso correlativo con una entrada en la base de datos pública, tal como las mantenidas por el Instituto para La Investigación Genómica (The Institute for Genomic Research, TIGR) (www.tigr.org) y/o el Centro Nacional para la Información de Biotecnología (National Center for Biotechnology Information, NCBI) (www.ncbi.nlm.nih.gov).

También se incorporan como referencias las siguientes: Publicaciones PCT n.º WO 2005/002672; 2005/002555; y 2004/016726.

REIVINDICACIONES:

1. Se reivindica compuesto representado por la fórmula estructura (II):



o una sal de éste, en donde:

dos de X^1 a X^4 se seleccionan de $-CR^*$ - y $-N-$;

los otros dos de X^1 a X^4 son $-CR^*$ -;

R^* es independientemente seleccionado en cada presencia de $-H$, alquilo inferior o halógeno;

R^1 es un grupo de solubilización; y

R^2 se selecciona de fenilo opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes independientemente seleccionados de $-CN$, $-F$, $-Cl$ y $-CF_3$, y cuando cada uno de X^1 a X^4 es $-CR^*$ -, R^2 se selecciona adicionalmente de un heterociclo de 5 a 6 miembros que contiene un heteroátomo N y, opcionalmente, un segundo heteroátomo seleccionado de N, O o S, en donde dicho heterociclo está opcionalmente sustituido con metilo.

2. El compuesto de la Reivindicación 1 en donde:

X^1 a X^4 es $-CR^*$ -; y

R^2 se selecciona de fenilo, fluorofenilo, difluorofenilo, clorofenilo, metiltiazolilo, pirimidinilo, piridilo y pirazolilo.

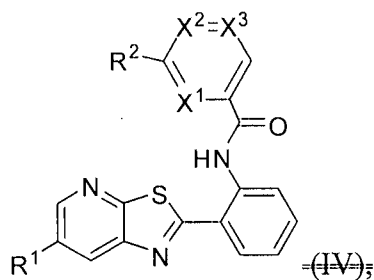
3. El compuesto de la Reivindicación 2, en donde R^2 se selecciona de fenilo, fluorofenilo, difluorofenilo, clorofenilo, 2-metiltiazol-4-ilo, piridilo y pirazol-1-ilo

4. El compuesto de la Reivindicación 3 ó R^2 , es fenilo o piridilo.

5. El compuesto de la Reivindicación 1, en donde uno de X^1 a X^4 son $-N-$.

6. El compuesto de la Reivindicación 1, en donde uno de X^1 a X^4 son $-N-$.

7. El compuesto de la Reivindicación 5, en donde X^1 es N.
8. El compuesto de la Reivindicación 6, en donde X^1 a X^2 son -N-.
9. El compuesto de la Reivindicación 6, en donde X^1 y X^4 son -N-.
10. El compuesto de cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 9, en donde:
- R^1 es $-\text{CH}_2-\text{R}^3$; y
- P^3 es un heterociclo que contiene nitrógeno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de alquilo C_1-C_4 , amino, halógeno, metoxi y metoxi-alquilo C_1-C_4 .
11. El compuesto de la Reivindicación 10, en donde R^2 es fenilo, piridilo o 3-fluorofenilo.
12. El compuesto de la Reivindicación 11, en donde X^2 y X^3 son -CH- y X^1 y X^4 se seleccionan independientemente de $-\text{CR}^*$ o -N-.
13. El compuesto de la Reivindicación 10, en donde:
- R^1 es $-\text{CH}_2-\text{R}^3$; y
- P^3 se selecciona de piperacín-1-ilo, 4-(metoxietil-piperacín-1-ilo, 3,5-dimetilpiperacín-1-ilo, morfolin-4-ilo, piperidín-1-ilo, 4-aminopiperidín-1-ilo, pirrolidín-1-ilo, 3-fluoropirrolidín-1-ilo, -NH-(pirrolidín-3-ilo) y 1,4-diazabicyclo[2.2.1]heptan-1-ilo.
14. El compuesto de la Reivindicación 13, en donde P^3 se selecciona de 4-(metoxietilo)-piperacín-1-ilo, morfolin-4-ilo, piperidín-1-ilo y 4-aminopiperidín-1-ilo.
15. El compuesto de la Reivindicación 14, en donde P^2 es fenilo, 3-fluorofenilo o piridilo.
16. El compuesto de la Reivindicación 15, en donde X^2 y X^3 son -CH- y X^1 y X^4 se seleccionan independientemente de $-\text{CR}^*$ o -N-.
17. El compuesto de la Reivindicación 1, en donde R^* es H.
18. El compuesto de la Reivindicación 1, representado por la fórmula (IV):



o una sal de éste, en donde:

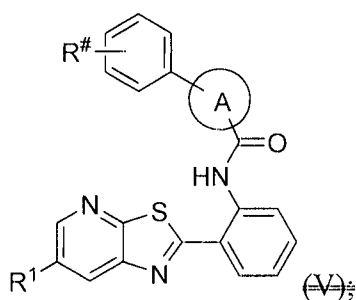
una variable X es seleccionada de -CH- y -N-;

las otras dos variables X son -CH-;

R¹ es un grupo de solubilización; y

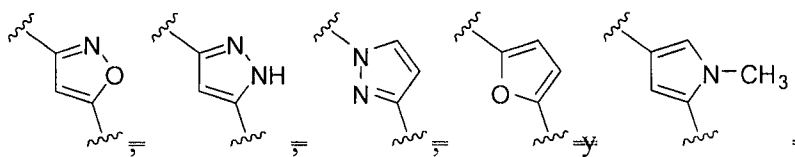
R² se selecciona del fenilo y fluoro-fenilo, y, cuando cada variable X es -CH-, R² se selecciona adicionalmente de un heterociclo de 5- a 6 miembros que contiene un heteroátomo H y, opcionalmente, un segundo heteroátomo seleccionado de N, O o S, en donde dicho heterociclo está opcionalmente sustituido con metilo.

19. Un compuesto representado por la fórmula estructural (V):



o una sal de éste, en donde:

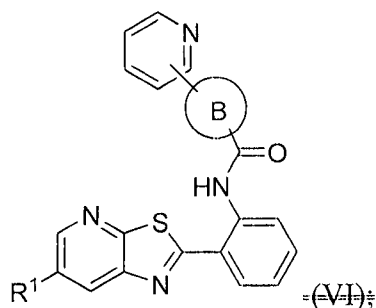
el anillo A se selecciona de



R¹ es un grupo de solubilización; y

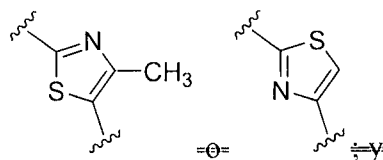
R# es a -H o -O-CH₃.

20. Un compuesto representado por la fórmula estructural (VI):



o una sal de éste, en donde:

el anillo B se selecciona de:



R^1 es un grupo de solubilización.

21. Una composición libre de pirógenos que comprende un compuesto de una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 20, o un sal farmacéuticamente aceptable de éste y un vehículo.
22. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 20 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
23. La composición farmacéutica de la Reivindicación 22, que además comprende un agente activo adicional.
24. Un método para el tratamiento de un sujeto que sufre de, o es susceptible a, resistencia a la insulina, síndrome metabólico, diabetes, o complicaciones de éstas, o aumentar la sensibilidad a la insulina en un sujeto, que comprende la administración al sujeto en necesidad de éste de una composición de la Reivindicación 22.
25. El método de la Reivindicación 24, en donde dicho compuesto aumenta al menos una de: el nivel o la actividad de una proteína sirtuina.
26. El método de la Reivindicación 25, en donde el compuesto aumenta la actividad de la desacetilasa de la proteína sirtuina.
27. El método de la Reivindicación 25, en donde la proteína sirtuina es una proteína de mamífero.

28. El método de la Reivindicación 25, en donde la proteína sirtuina es una SIRT1 humana.

29. El método de la Reivindicación 25, en donde el compuesto no tiene apreciablemente una o más de las siguientes actividades: inhibición de la PI3-cinasa, inhibición de la aldorreductasa, inhibición de la tirosina cinasa, transactivación de la EGFP, tirosina cinasa, dilatación coronaria o actividad espasmolítica, a concentraciones del compuesto que son efectivas para la modulación de la actividad de desacetilación de una proteína SIRT1 y/o proteína SIRT3.

Resumen

Se revelan novedosos compuestos moduladores de sirtuinas, además de métodos para su uso. Los compuestos moduladores de sirtuinas pueden utilizarse para el aumento del ciclo de vida de una célula, y el tratamiento y/o prevención de una amplia variedad de enfermedades y trastornos que incluyen, por ejemplo, enfermedades o trastornos relacionados con el envejecimiento o el estrés, diabetes, obesidad, enfermedades neurodegenerativas, enfermedad cardiovascular, trastornos relacionados con la coagulación de la sangre, inflamación, cáncer y/o crisis vasomotora, así como enfermedades o trastornos que se aliviarían con el aumento de la actividad mitocondrial. También se revelan composiciones que comprenden un compuesto modulador de las sirtuinas en combinación con otro agente terapéutico.

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:

ROBES & GRAY LLP
Attn: Vincent, Matthew P.
One International Place
Boston, MA 02110
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT AND
THE WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL
SEARCHING AUTHORITY, OR THE DECLARATION

(PCT Rule 44.1)

Applicant's or agent's file reference SIRT-035-W01	Date of mailing (day/month/year) 02/04/2009
International application No. PCT/US2008/007776	FOR FURTHER ACTION See paragraphs 1 and 4 below
Applicant SIRTRIS PHARMACEUTICALS, INC.	International filing date (day/month/year) 20/06/2008

- ☒ The applicant is hereby notified that the international search report and the written opinion of the International Searching Authority have been established and are transmitted herewith.
Filing of amendments and statement under Article 19:
The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the International Application (see Rule 46):
When? The time limit for filing such amendments is normally two months from the date of transmittal of the International Search Report.
Where? Directly to the International Bureau of WIPO, 84 chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland, Facsimile No.: (41-22) 336.62.70
For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.
- ☐ The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect and the written opinion of the International Searching Authority are transmitted herewith.
- ☐ With regard to the protest against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:
 - ☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.
 - ☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.
- Reminders**
Shortly after the expiration of 18 months from the priority date, the international application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the international application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in Rules 90bis.1 and 90bis.2, respectively, before the completion of the technical preparations for international publication.
The applicant may submit comments on an informal basis on the written opinion of the International Searching Authority to the International Bureau. The International Bureau will send a copy of such comments to all designated Offices unless an international preliminary examination report has been or is to be established. These comments would also be made available to the public but not before the expiration of 30 months from the priority date.
Within 19 months from the priority date, but only in respect of some designated Offices, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase until 30 months from the priority date (in some Offices even later); otherwise, the applicant must, within 20 months from the priority date, perform the prescribed acts for entry into the national phase before those designated Offices.
In respect of other designated Offices, the time limit of 30 months (or later) will apply even if no demand is filed within 19 months.
See the Annex to Form PCT/IB/301 and, for details about the applicable time limits, Office by Office, see the PCT Applicant's Guide, Volume II, National Chapters and the WIPO Internet site.

Name and mailing address of the International Searching Authority  European Patent Office, P.O. 5518 Patentlaan 2 NL-2230 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Chantal Gottar
--	--------------------------------------

NOTES TO FORM PCT/ISA/220

These Notes are intended to give the basic instructions concerning the filing of amendments under Article 19. The Notes are based on the requirements of the Patent Cooperation Treaty, the Regulations and the Administrative Instructions under that Treaty. In case of discrepancy between these Notes and those requirements, the latter are applicable. For more detailed information, see also the *PCT Applicant's Guide*, a publication of WIPO.

In these Notes, "Article", "Rule", and "Section" refer to the provisions of the PCT, the PCT Regulations and the PCT Administrative Instructions, respectively.

INSTRUCTIONS CONCERNING AMENDMENTS UNDER ARTICLE 19

The applicant has, after having received the international search report and the written opinion of the International Searching Authority, one opportunity to amend the claims of the international application. It should however be emphasized that, since all parts of the international application (claims, description and drawings) may be amended during the international preliminary examination procedure, there is usually no need to file amendments of the claims under Article 19 except where, e.g. the applicant wants the latter to be published for the purposes of provisional protection or has another reason for amending the claims before international publication. Furthermore, it should be emphasized that provisional protection is available in some States only (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, Annexes B1 and B2).

The attention of the applicant is drawn to the fact that amendments to the claims under Article 19 are not allowed where the International Searching Authority has declared, under Article 17(2), that no international search report would be established (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, paragraph 296).

What parts of the international application may be amended?

Under Article 19, only the claims may be amended.

During the international phase, the claims may also be amended (or further amended) under Article 34 before the International Preliminary Examining Authority. The description and drawings may only be amended under Article 34 before the International Examining Authority.

Upon entry into the national phase, all parts of the international application may be amended under Article 23 or, where applicable, Article 41.

When?

Within 2 months from the date of transmittal of the international search report or 16 months from the priority date, whichever time limit expires later. It should be noted, however, that the amendments will be considered as having been received on time if they are received by the International Bureau after the expiration of the applicable time limit but before the completion of the technical preparations for international publication (Rule 46.1).

Where not to file the amendments?

The amendments may only be filed with the International Bureau and not with the receiving Office or the International Searching Authority (Rule 46.2).

Where a demand for international preliminary examination has been/is filed, see below.

How?

Either by cancelling one or more entire claims, by adding one or more new claims or by amending the text of one or more of the claims as filed.

A replacement sheet must be submitted for each sheet of the claims which, on account of an amendment or amendments, differs from the sheet originally filed.

All the claims appearing on a replacement sheet must be numbered in Arabic numerals. Where a claim is cancelled, no renumbering of the other claims is required. In all cases where claims are renumbered, they must be renumbered consecutively (Section 205(b)).

The amendments must be made in the language in which the international application is to be published.

What documents must/may accompany the amendments?

Letter (Section 205(b)):

The amendments must be submitted with a letter.

The letter will not be published with the international application and the amended claims. It should not be confused with the "Statement under Article 19(1)" (see below, under "Statement under Article 19(1)").

The letter must be in English or French, at the choice of the applicant. However, if the language of the international application is English, the letter must be in English; if the language of the international application is French, the letter must be in French.

NOTES TO FORM PCT/ISA/220 (continued)

The letter must indicate the differences between the claims as filed and the claims as amended. It must, in particular, indicate, in connection with each claim appearing in the international application (it being understood that identical indications concerning several claims may be grouped), whether

- (i) the claim is unchanged;
- (ii) the claim is cancelled;
- (iii) the claim is new;
- (iv) the claim replaces one or more claims as filed;
- (v) the claim is the result of the division of a claim as filed.

The following examples illustrate the manner in which amendments must be explained in the accompanying letter:

1. [Where originally there were 48 claims and after amendment of some claims there are 51]:
"Claims 1 to 29, 31, 32, 34, 35, 37 to 48 replaced by amended claims bearing the same numbers; claims 30, 33 and 36 unchanged; new claims 49 to 51 added."
2. [Where originally there were 15 claims and after amendment of all claims there are 11]:
"Claims 1 to 15 replaced by amended claims 1 to 11."
3. [Where originally there were 14 claims and the amendments consist in cancelling some claims and in adding new claims]:
"Claims 1 to 6 and 14 unchanged; claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added." or
"Claims 7 to 13 cancelled; new claims 15, 16 and 17 added; all other claims unchanged."
4. [Where various kinds of amendments are made]:
"Claims 1-10 unchanged; claims 11 to 13, 18 and 19 cancelled; claims 14, 15 and 16 replaced by amended claim 14; claim 17 subdivided into amended claims 15, 16 and 17; new claims 20 and 21 added."

"Statement under article 19(1)" (Rule 46.4)

The amendments may be accompanied by a statement explaining the amendments and indicating any impact that such amendments might have on the description and the drawings (which cannot be amended under Article 19(1)).

The statement will be published with the international application and the amended claims.

It must be in the language in which the international application is to be published.

It must be brief, not exceeding 500 words if in English or if translated into English.

It should not be confused with and does not replace the letter indicating the differences between the claims as filed and as amended. It must be filed on a separate sheet and must be identified as such by a heading, preferably by using the words "Statement under Article 19(1)."

It may not contain any disparaging comments on the international search report or the relevance of citations contained in that report. Reference to citations, relevant to a given claim, contained in the international search report may be made only in connection with an amendment of that claim.

Consequence if a demand for international preliminary examination has already been filed

If, at the time of filing any amendments and any accompanying statement, under Article 19, a demand for international preliminary examination has already been submitted, the applicant must preferably, at the time of filing the amendments (and any statement) with the International Bureau, also file with the International Preliminary Examining Authority a copy of such amendments (and of any statement) and, where required, a translation of such amendments for the procedure before that Authority (see Rules 55.3(a) and 62.2, first sentence). For further information, see the Notes to the demand form (PCT/IPEA/401).

If a demand for international preliminary examination is made, the written opinion of the International Searching Authority will, except in certain cases where the International Preliminary Examining Authority did not act as International Searching Authority and where it has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b), be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority. If a demand is made, the applicant may submit to the International Preliminary Examining Authority a reply to the written opinion together, where appropriate, with amendments before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later (Rule 43bis.1(c)).

Consequence with regard to translation of the international application for entry into the national phase

The applicant's attention is drawn to the fact that, upon entry into the national phase, a translation of the claims as amended under Article 19 may have to be furnished to the designated/elected Offices, instead of, or in addition to, the translation of the claims as filed.

For further details on the requirements of each designated/elected Office, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume II.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 12 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference SIRT-035-W01	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/US2003/007776	International filing date (day/month/year) 20/06/2008	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 20/06/2007
Applicant SIRTIS PHARMACEUTICALS, INC.		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 12. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 5 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. **Basis of the report**

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

☒ the international application in the language in which it was filed

☐ a translation of the international application into _____, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.2(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the rectification of an obvious mistake authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6bis(a)).

c. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☒ **Unity of invention is lacking** (see Box No. III)

4. With regard to the **title**,

☐ the text is approved as submitted by the applicant

☒ the text has been established by this Authority to read as follows:
SIRTUIN MODULATING THIAZOLOPYRIDINE COMPOUNDS

5. With regard to the **abstract**,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established, according to Rule 36.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. _____

☐ as suggested by the applicant

☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure

☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention

b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2008/007776

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07D513/04 A61K31/437 A61P3/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data bases consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BEILSTEIN Data, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2007/019346 A (SIRTRIS PHARMACEUTICALS INC [US]; NUNES JOSEPH J [US]; MILNE JILL [US]) 15 February 2007 (2007-02-15) claims 1-120; table 4; compound 732	1-18, 21-29
A	WO 2006/018280 A (SANOFI AVENTIS DEUTSCHLAND [DE]; SCHWINK LOTHAR [DE]; STENGELIN SIEGFR) 23 February 2006 (2006-02-23) claims; compounds 44, 62, 66	19-29
A	WO 2005/100342 A (VERTEX PHARMA [US]; HALE MICHAEL R [US]; MARTINEZ-BOTELLA GABRIEL [US]) 27 October 2005 (2005-10-27) claims; table 1; compounds 1-7	19,21-29



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

11 March 2009

Date of mailing of the international search report

02/04/2009

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.O. 5618 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Stroeter, Thomas

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2003/007776

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-18 (each complete); 21-29 (each in part)

compounds (and related subject-matter) of formula (II) or (IV)

2. claims: 19, 21-29 (each in part)

compounds (and related subject-matter) of formula (V) wherein A is 1,2-oxazol

3. claims: 19, 21-29 (each in part)

compounds (and related subject-matter) of formula (V) wherein A is pyrrole or pyrazole

4. claims: 19, 21-29 (each in part)

compounds (and related subject-matter) of formula (V) wherein A is furane

5. claims: 20 (complete); 21-29 (each in part)

compounds (and related subject-matter) of formula (VI)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2008/007776

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007019346 A	15-02-2007	AU 2006278396 A1	15-02-2007
		AU 2006278397 A1	15-02-2007
		AU 2006278503 A1	15-02-2007
		AU 2006278504 A1	15-02-2007
		AU 2006278505 A1	15-02-2007
		CA 2617532 A1	15-02-2007
		CA 2617557 A1	15-02-2007
		CA 2618360 A1	15-02-2007
		CA 2618369 A1	15-02-2007
		CA 2618370 A1	15-02-2007
		EP 1910384 A1	16-04-2008
		EP 1910362 A1	16-04-2008
		EP 1910385 A1	16-04-2008
		EP 1909910 A1	16-04-2008
		EP 1910380 A1	16-04-2008
		JP 2009503112 T	29-01-2009
		JP 2009503113 T	29-01-2009
		JP 2009503114 T	29-01-2009
		JP 2009503117 T	29-01-2009
		US 2007043050 A1	22-02-2007
		US 2007037265 A1	15-02-2007
		WO 2007019344 A1	15-02-2007
		WO 2007019345 A1	15-02-2007
		WO 2007019416 A1	15-02-2007
		WO 2007019417 A1	15-02-2007
WO 2006018280 A	23-02-2006	AR 050603 A1	08-11-2006
		AR 050604 A1	08-11-2006
		AT 381564 T	15-01-2008
		AU 2005274314 A1	23-02-2006
		AU 2005274315 A1	23-02-2006
		BR PI0514365 A	10-06-2008
		BR PI0514404 A	10-06-2008
		CA 2577255 A1	23-02-2006
		CA 2577261 A1	23-02-2006
		CN 101006089 A	25-07-2007
		CN 101006091 A	25-07-2007
		DE 102004039789 A1	02-03-2006
		DK 1781656 T3	05-05-2008
		EP 1781663 A2	09-05-2007
		EP 1781656 A2	09-05-2007
		WO 2006018279 A2	23-02-2006
		ES 2297758 T3	01-05-2008
		JP 2008509957 T	03-04-2008
		JP 2008509958 T	03-04-2008
		KR 20070046268 A	03-05-2007
		KR 20070053225 A	23-05-2007
		US 2007299077 A1	27-12-2007
		US 2007197584 A1	23-09-2007
		UY 29071 A1	31-03-2006
		UY 29072 A1	31-03-2006
WO 2005100342 A	27-10-2005	EP 1730134 A1	13-12-2006
		JP 2007530595 T	01-11-2007
		US 2006019953 A1	26-01-2006

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:

see form PCT/ISA/220

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY (PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/IS2008/007776

International filing date (day/month/year)
20.06.2008

Priority date (day/month/year)
20.06.2007

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C07D513/04 A61P31/437 A61P3/10

Applicant
SIFTRIS PHARMACEUTICALS, INC.

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☒ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☒ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☒ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office
D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399-0
Fax: +49 89 2399-4465

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Stroeter, Thomas

Telephone No. +49 89 2399-8088



WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

265
International application No.
PCT/US2008/007776

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1(a))
3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:
 - a. type of material:
 - ☐ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material:
 - ☐ on paper
 - ☐ in electronic form
 - c. time of filing/furnishing:
 - ☐ contained in the international application as filed.
 - ☐ filed together with the international application in electronic form.
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments:

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/US2008/007776

Box No. IV Lack of unity of invention

1. ☐ In response to the invitation (Form PCT/ISA/206) to pay additional fees, the applicant has, within the applicable time limit:
- ☒ paid additional fees
 - ☐ paid additional fees under protest and, where applicable, the protest fee
 - ☐ paid additional fees under protest but the applicable protest fee was not paid
 - ☐ not paid additional fees
2. ☐ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose not to invite the applicant to pay additional fees.
3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rule 13.1, 13.2 and 13.3 is
- ☐ complied with
 - ☒ not complied with for the following reasons:
see separate sheet
4. Consequently, this report has been established in respect of the following parts of the international application:
- ☒ all parts.
 - ☐ the parts relating to claims Nos.

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (II)	Yes: Claims	<u>1-18, 20, 24-29</u>
	No: Claims	<u>19, 21-23</u>
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	<u>1-29</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-29</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

267
International application No.
PCT/US2008/007776

Box No. VII Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

see separate sheet

Box No. VIII Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

see separate sheet

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/US2008/007776

Re Item IV

Lack of unity of invention

The application as filed is considered to lack unity of invention since its subject-matter relates not to one but rather to 6 separate inventions as follows:

1. Claims: 1-18 (each complete); 21-29 (each in part)

compounds (and related subject-matter) of formula (II) or (IV)

2. Claims: 19, 21-29 (each in part)

compounds (and related subject-matter) of formula (V) wherein A is 1,2-oxazol

3. Claims: 19, 21-29 (each in part)

compounds (and related subject-matter) of formula (V) wherein A is pyrrole or pyrazole

4. Claims: 19, 21-29 (each in part)

compounds (and related subject-matter) of formula (V) wherein A is furane

5. Claims: 20 (complete); 21-29 (each in part)

compounds (and related subject-matter) of formula (VI)

These groups presented in the order chosen by the Applicant are not so linked as to form a single general inventive concept as required by Rules 13.1 and 13.2 PCT for the following reasons:

The identified 5 inventions involve sirtuin modulating compounds having a thiazolo[5,4-b]pyridin-2-ylphenyl-NH-CO-biaryl moiety as the sole common structural link. However, this structural feature cannot be accepted to constitute a special technical feature because it does not define a contribution over the prior art as can be

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/US2008/007776

taken from prior art document WO2007/019346 (D1), wherein sirtuin modulating compounds are described which show the same structural concept. In particular the structurally closest compound 732 is of the type thiazolo[5,4-b]pyridin-2-ylphenyl-NH-CO-isoxazolyl-phenyl.

Thus the technical problem underlying the present application is seen in the provision of further sirtuin modulating compounds and the contributions claimed in the present applications which are possibly made over the prior art are:

- (1) the provision of further sirtuin modulating compounds by substituting the isoxazole ring in compound 732 of D1 with a six-membered (het)aryl ring
- (2) the provision of further sirtuin modulating compounds by retaining the isoxazole ring but introducing other substituents on the parental structure of compound 732 of D1
- (3) the provision of further sirtuin modulating compounds by substituting the isoxazole ring in compound 732 of D1 with a five-membered hetaryl ring wherein all heteroatoms are N
- (4) the provision of further sirtuin modulating compounds by substituting the isoxazole ring in compound 732 of D1 with a five-membered hetaryl ring wherein all heteroatoms are O
- (5) the provision of further sirtuin modulating compounds by substituting the isoxazole ring in compound 732 of D1 with a five-membered hetaryl ring wherein all heteroatoms are N and S

These contributions, however, have nothing more in common than each single of these contributions has in common with the mentioned prior art. In other words, starting from D1 these contributions diverge in 5 different directions and are, thus, not so linked as to form one single inventive concept which would support unity of the invention.

In the following an opinion is given only on the subject-matter of invention group 1, i.e. compounds of formula (I) and (IV).

Re Item V

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/US2008/007776

**Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial
applicability; citations and explanations supporting such statement**

- 1 The present application is directed to thiazolo[5,4-b]pyridin derivatives as sirtuin modulating compounds for the treatment of a variety of disorders including diabetes, insulin resistance or metabolic syndrome.
- 2 Claims 24-29 relate to subject-matter considered by this Authority to be covered by the provisions of Rule 39.1(iv)/87.1(iv) PCT. The patentability can be dependent upon the formulation of the claims. The EPC, for example, does not recognize as patentable claims to the use of a compound in medical treatment, but may allow claims to a product, in particular substances or compositions for use in a first or further medical treatment.
- 3 Reference is made to the following documents:
D1: WO 2007/019346 A (SIRTRIS PHARMACEUTICALS LLC) 15 February 2007
D2: WO 2006/018220 A (SANOFI AVENTIS DEUTSCHLAND) 23 February 2006
D3: WO 2005/100342 A (VERTEX PHARMA) 27 October 2005
- 4 Art. 33(2) PCT: The formulae (II) and (VI) of independent claims 1 and 20 appear to be a novel selection of the compounds disclosed in the compound claims of D1 since D1 does not disclose specific thiazolo[5,4-b]pyridin compounds featuring the specific combination of substituents given in present claims 1 and 20, i.e. the bi(het)aryl group which is attached to the amide carbonyl group. The compound claims 1-18 and 20 appear to be novel by consequence (remark: some of the compounds of D2 and D3 show such an bi(het)aryl moiety but lack the thiazolopyridine system).

However, compound 732 of D1 in combination with the corresponding compound claims of D1 takes away the novelty of claim 19, formula (V) wherein A = oxazole and R₁ = H. Consequently, the composition claims 15-19 of D1 also take away the novelty of present claims 21-23.
- 5 Art. 33(3) PCT: The closest prior art is represented by D1, wherein sirtuin modulating compounds are described which show the same structural concept. In

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/US2008/007776

particular the structurally closest compound 732 is of the type thiazolo[5,4-b]-pyridin-2-yl-phenyl-NH-CO-isoxazolyl-phenyl. In view of closest prior art document D1, the problem to be solved appears to reside in the provision of further sirtuin-modulating thiazolo[5,4-b]-pyridin compounds for the treatment of e.g. diabetes, insulin resistance or metabolic syndrome.

In accordance with the groups (1) - (5) given under item IV, the following contributions claimed in the present applications were made by the presently claimed subject-matter to solve the abovementioned problem:

Starting from the thiazolo[5,4-b]-pyridin compound 732 of D1 further sirtuin modulating compounds were provided by substituting the isoxazole ring with

- (1) a six-membered (het)aryl ring,
- (2) a differently substituted isoxazole ring,
- (3) a five-membered hetaryl ring wherein all heteroatoms are N,
- (4) a five-membered hetaryl ring wherein all heteroatoms are O or
- (5) a five-membered hetaryl ring wherein all heteroatoms are N and S.

However, since the presently claimed compounds of groups (1) to (5) all are completely encompassed by the scope of the compounds of D1, they represent a selection of the compounds disclosed in the compound claims of D1.

Thus, the different solutions proposed by the Applicant being the bi(het)aryl groups attached to the amide carbonyl group given in present formulas (II), (IV), (V) and (VI) is already disclosed in D1 (see definition of R³¹). The mere choice of specific compounds within a group of compounds known for the same pharmacological activity cannot be considered inventive per se since if it is an arbitrary choice. If the Applicant considers the present selections to be a purposive one, he should have included further information and argumentation in order to demonstrate an unexpected effect, e.g. a better inhibition activity for embodiments of each group (1) to (5) over the closest prior art. No comparative tests which would support the involvement of an inventive step have yet been provided in the present description. Thus, the present claims are not inventive.

Furthermore it is noted that, the Applicant may be entitled to claim all obvious modifications of what was described (Guidelines C-III, 6.2). But an open-ended

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/US2008/007776

term like "solubilizing group" as used throughout the claims of the present application is, however, speculative in the sense of Article 33(3) PCT: It includes a great variety of structural possibilities not yet explored by the applicant, the effect of which cannot be foreseen having regard to the problem underlying the present invention. Such a non-limiting term as cited above includes

- chemical groups which are structurally so remote from those of the examples that the activity of molecules comprising them cannot be predicted within the limits of qualitative structure-activity-relationship considerations
- mutagenic and/or toxic groups
- known pharmacophoric groups with the same or a completely different activity which leads to hybrid molecules or bio-conjugates the actual biological activities of which are unpredictable,

i.e. it cannot be foreseen, whether those molecules have to be considered obvious modifications of prepared and tested examples or provide a solution to the problem at all.

- 6 The subject-matter of the present claims 1-29 is industrially applicable and thus fulfils the requirements of Article 33(4) PCT.

Re Item VII

Certain defects in the international application

The requirements of Rule 5.1(a)(ii) PCT are not met since the most relevant background art D1 has not been identified in the description.

Re Item VIII

Certain observations on the international application

293

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/US2008/007776

- 1 The term "substantially" used in claim 29 is vague and unclear and leaves the reader in doubt as to the meaning of the technical features to which it refers, thereby rendering the definition of the subject-matter of said claim unclear (Art. 6 PCT).
- 2 The term "solubilizing group" employed in the product claims should have been precisely defined therein to fulfil the requirements of Art. 6 PCT.
- 3 Claims and description are not in accordance with each other, as requested by Art. 6 PCT, since the scope of the groups "alkyl" as defined in the description is broader than the skilled reader would expect it to be when reading the same term in the claims (this reader would understand this term to designate straight or branched, but not cyclic hydrocarbon groups).
- 4 The term "lower" used in claim 1 renders the scope of this claim unclear, particularly in the upper limit of the carbon number (Art. 6 PCT).

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
24 December 2008 (24.12.2008)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2008/156869 A2

(51) International Patent Classification:
C07D 513/04 (2006.01) A61P 3/10 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)

(US). VU, Chi, B. [US/US]; 79 Bay State Road, Arlington, MA 02474 (US).

(21) International Application Number:
PCT/US2008/007776

(74) Agents: FECKER, Jesse et al.; Popes & Gray LLP, One International Place, Boston, MA 02110 (US).

(22) International Filing Date: 20 June 2008 (20.06.2008)

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BE, BG, BH, BF, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/936,636 20 June 2007 (20.06.2007) US

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): AFIPO (BW, GH, GM, HE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, EG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GE, GR, HP, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Applicant (for all designated States except US): SIRTRIS PHARMACEUTICALS, INC. [US/US]; 200 Technology Square, Suite 300, Cambridge, MA 02139 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): BEMIS, Jean [US/US]; 256 Appleton Street, Arlington, MA 02476 (US). DISCH, Jeremy, S. [US/US]; 18 Waban Street, Natick, MA 01760 (US). NG, Pui, Yee [US/US]; 41 Commonwealth Avenue, #3, Boston, MA 02116 (US). OALMANN, Christopher [US/US]; 26 Amherst Road, Watertown, MA 02472 (US). PERNI, Robert, B. [US/US]; 130 Robert Road, Marlborough, MA 01752

Published:
— without international search report and to be republished upon receipt of that report

(54) Title: SIRTUIN MODULATING COMPOUNDS

(57) Abstract: Provided herein are novel sirtuin-modulating compounds and methods of use thereof. The sirtuin-modulating compounds may be used for increasing the lifespan of a cell, and treating and/or preventing a wide variety of diseases and disorders including, for example, diseases or disorders related to aging or stress, diabetes, obesity, neurodegenerative diseases, cardiovascular disease, blood clotting disorders, inflammation, cancer, and/or flushing as well as diseases or disorders that would benefit from increased mitochondrial activity. Also provided are compositions comprising a sirtuin-modulating compound in combination with another therapeutic agent.

WO 2008/156869 A2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2008/007776

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07D513/04 A61K31/437 A61P3/10		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07D A61K A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BEILSTEIN Data, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2007/019346 A (SIRTRIS PHARMACEUTICALS INC [US]; NUNES JOSEPH J [US]; MILNE JILL [US]) 15 February 2007 (2007-02-15) claims 1-120; table 4; compound 732	1-18, 21-29
A	WO 2006/018280 A (SANOFI AVENTIS DEUTSCHLAND [DE]; SCHWINK LOTHAR [DE]; STENGELIN SIEGFR) 23 February 2006 (2006-02-23) claims; compounds 44, 62, 66	19-29
A	WO 2005/100342 A (VERTEX PHARMA [US]; HALE MICHAEL R [US]; MARTINEZ-BOTELLA GABRIEL [US]) 27 October 2005 (2005-10-27) claims; table 1; compounds I-7	19, 21-29
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principles or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 11 March 2009		Date of mailing of the international search report 02/04/2009
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.O. 5010 Patentplan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Stroeter, Thomas

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2008/007776

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)	
This International search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons: 1. ☐ Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely: 2. ☐ Claims Nos.: because they relate to parts of the International application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International search can be carried out, specifically: 3. ☐ Claims Nos.: because they are dependant claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).	
Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)	
This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows: see additional sheet 1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International search report covers allsearchable claims. 2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees. 3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search reportcovers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.: 4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee. ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation. ☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.	

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-13 (each complete); 21-29 (each in part)
compounds (and related subject-matter) of formula (II) or (IV)

2. claims: 19, 21-29 (each in part)
compounds (and related subject-matter) of formula (V)
wherein A is 1,2-oxazol

3. claims: 19, 21-29 (each in part)
compounds (and related subject-matter) of formula (V)
wherein A is pyrrole or pyrazole

4. claims: 19, 21-29 (each in part)
compounds (and related subject-matter) of formula (V)
wherein A is furane

5. claims: 20 (complete); 21-29 (each in part)
compounds (and related subject-matter) of formula (VI)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2008/007776

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007019346 A	15-02-2007	AU 2006278396 A1	15-02-2007
		AU 2006278397 A1	15-02-2007
		AU 2006278503 A1	15-02-2007
		AU 2006279504 A1	15-02-2007
		AU 2006278505 A1	15-02-2007
		CA 2617532 A1	15-02-2007
		CA 2617557 A1	15-02-2007
		CA 2618360 A1	15-02-2007
		CA 2618368 A1	15-02-2007
		CA 2618370 A1	15-02-2007
		EP 1910384 A1	16-04-2008
		EP 1910362 A1	16-04-2008
		EP 1910385 A1	16-04-2008
		EP 1909910 A1	16-04-2008
		EP 1910380 A1	16-04-2008
		JP 2009503112 T	29-01-2009
		JP 2009503113 T	29-01-2009
		JP 2009503114 T	29-01-2009
		JP 2009503117 T	29-01-2009
		US 2007043050 A1	22-02-2007
		US 2007037865 A1	15-02-2007
		WO 2007019344 A1	15-02-2007
		WO 2007019345 A1	15-02-2007
		WO 2007019416 A1	15-02-2007
		WO 2007019417 A1	15-02-2007
WO 2006018280 A	23-02-2006	AR 050603 A1	08-11-2006
		AR 050604 A1	08-11-2006
		AT 381564 T	15-01-2008
		AU 2005274314 A1	23-02-2006
		AU 2005274315 A1	23-02-2006
		BR PI0514365 A	10-06-2008
		BR PI0514404 A	10-06-2008
		CA 2577255 A1	23-02-2006
		CA 2577261 A1	23-02-2006
		CN 101006089 A	25-07-2007
		CN 101006091 A	25-07-2007
		DE 102004039789 A1	02-03-2006
		DK 1781656 T3	05-05-2008
		EP 1781663 A2	09-05-2007
		EP 1781656 A2	09-05-2007
		WO 2006018279 A2	23-02-2006
		ES 2297758 T3	01-05-2008
		JP 2008509957 T	03-04-2008
		JP 2008509958 T	03-04-2008
		KR 20070046868 A	03-05-2007
		KR 20070053225 A	23-05-2007
		US 2007299077 A1	27-12-2007
		US 2007197584 A1	23-03-2007
		UY 29071 A1	31-03-2006
		UY 29072 A1	31-03-2006
WO 2005100342 A	27-10-2005	EP 1730134 A1	13-12-2006
		JP 2007530595 T	01-11-2007
		US 2006019953 A1	26-01-2006



PATENTE DE INVENCION ☐

MODELO DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒

MODELO DE UTILIDAD PCT ☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒	Indicación que se solicita una PCT
☒	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☒	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño Industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐



Bogotá,
2020

Doctor(a)
OLARTE GARCIA CARLOS PEYNALDO

REFERENCIA	Radicación No.	10 1897
	Solicitud internacional	PCT/US2008/007776
	Fecha inicio fase nacional	20/01/2010
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	2611

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.

2. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal E) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trata de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.

Continúa en la página siguiente...



BICENTENARIO
1819-2019

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Radicación No.: 10 1887

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Directora de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha _____
adpall

26 FEB. 2010

Al contestar favor indique el número
de radicación consignado en el rótulo

Sede Centro: Carrera 13 No. 27-00 pisos 2, 5, 7 y 10 PBX: 5870000
Sede CMN: Av. Carrera 50 No. 26 - 55 int. 2. Tel 5880070
Call Center 6513240. Línea 01800-910165
Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co
Bogotá D.C. Colombia



Bogotá,
2020

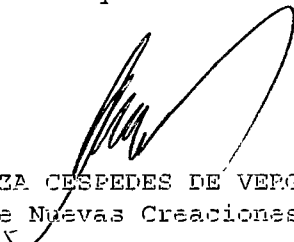
Doctor(a)
OLAETE GARCIA CARLOS REYNALDO
Apoderado(a) y/o Representante de
SIRTRIS PHARMACEUTICALS

REFERENCIA	Radicación No.	10 1987
	Solicitud internacional	PCT/US2008/007776
	Fecha inicio fase nacional	20/01/2010
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	2612

Teniendo en cuenta que el capítulo reivindicatorio presentado excede de diez reivindicaciones, es necesario que cancele la tasa establecida por cada reivindicación adicional presentada, de conformidad con lo dispuesto en la resolución de tasas vigente para la fecha de presentación de la solicitud, so pena de que no sean tenidas en cuenta dentro del presente trámite administrativo.

En consecuencia, con fundamento en lo previsto por el artículo 12 del Código Contencioso Administrativo, se le requiere para que dentro del término de dos (2) meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio atienda el requerimiento aquí señalado. Lo anterior, con el alcance que para tal efecto establece el artículo 13 de la misma codificación, respecto de las reivindicaciones adicionales.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Directora de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha 26 FEB. 2010
adpa11