



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 104127

(13) C2

(51) МПК

C07D 513/04 (2006.01)

A61K 31/429 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2010 00211	(72) Винахідник(и):	Біміс Джин (US), Діш Джеремі С. (US), Джірусек Майкл (US), Лунсменн Уолтер Джозеф (US), Нг Пуї Йі (US), Ву Чі Б. (US)
(22) Дата подання заявки:	20.06.2008	(73) Власник(и):	СІРТРІЗ ФАРМАСЬЮТІКАЛЗ, ІНК., 200 Technology Square, Suite 300, Cambridge, MA 02139, United States of America (US)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	10.01.2014	(74) Представник:	Міхашина Людмила Михайлівна, реєстр. №14
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	60/936,633	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	WO 2007/019344, A, 15.02.2007
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	20.06.2007		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	US		
(41) Публікація відомостей про заявку:	26.04.2010, Бюл.№ 8		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.01.2014, Бюл.№ 1		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/US2008/007771, 20.06.2008		

## (54) МОДУЛЮЮЧІ СИРТУЇН СПОЛУКИ ІМІДАЗОТІАЗОЛУ

## (57) Реферат:

Даний винахід стосується нових модулюючих сиртуїн сполук і способів їх застосування. Модулюючі сиртуїн сполуки можна використовувати для збільшення тривалості життя клітини, і лікування й/або запобігання широкої низки захворювань або порушень, наприклад захворювань і порушень, пов'язаних із старінням або стресом, діабету, ожиріння, нейродегенеративних захворювань, серцево-судинного захворювання, порушення згортання крові, запалення, злоякісного захворювання і/або приливів крові, а також захворювань або порушень, при яких підвищена мітохондріальна активність матиме позитивний ефект. Також описуються композиції, що містять модулюючу сиртуїн сполуку в комбінації з іншим лікарським засобом.

UA 104127 C2



## Релевантні заявки

Дана заявка заявляє перевагу над попередньою заявкою № 60/936633, поданою 20 червня 2007 року, вміст якої в повному обсязі включений у даний документ для інформації.

## Рівень техніки

5 Сімейство інформаційних регуляторів "мовчазних" генів (SIR) представляє висококонсервативну групу генів у геномах організмів від археобактерій до різних еукаріотів (Frye, 2000). Кодовані білки SIR беруть участь у різних процесах, починаючи від регуляції сайленсингу генів до репарації ДНК. Білки, кодовані членами сімейства генів SIR, виявляють високу консервативність послідовностей в основному домені з 250 амінокислот. Добре охарактеризованим геном у даному сімействі є Sir2 *S. cerevisiae*, який бере участь у локусі сайленсингу HМ, який містить інформацію, що визначає тип спаровування у дріжджів, ефекти положення теломери й старіння клітин (Guarente, 1999; Kaerberlein et al., 1999; Shore, 2000). Дріжджовий білок Sir2 відноситься до сімейства гістонових деацетилаз (є огляд Guarente, 2000; Shore, 2000). Гомолог Sir2, COBB, у *Salmonella typhimurium* функціонує як НАД- (нікотинаденіндинуклеотид)залежна Адф-рибозилтрансфераза (Tsang and Escalante-Semerena, 1998).

Білок Sir2 представляє деацетилазу класу III, яка використовує НАД як косубстрат (Imai et al., 2000; Moazed, 2001; Smith et al., 2000; Tanner et al., 2000; Tanny and Moazed, 2001). На відміну від інших деацетилаз, багато з яких беруть участь у сайленсингу генів, Sir2 є нечутливою до інгібіторів гістонових деацетилаз класу I і II, таких як трихостатин А (TSA) (Imai et al., 2000; Landry et al., 2000a; Smith et al., 2000).

Деацетилювання ацетиллізину під дією Sir2 тісно зв'язане з гідролізом НАД, продукцією нікотинамідом й новою сполукою ацетил-Адф-рибози (Tanner et al., 2000; Landry et al., 2000b; Tanny and Moazed, 2001). Над-залежна деацетилазна активність Sir2 важлива для прояву його функцій, які можуть пов'язати його біологічну роль з клітинним метаболізмом у дріжджів (Guarente, 2000; Imai et al., 2000; Lin et al., 2000; Smith et al., 2000). Гомологи Sir2 у ссавців мають над-залежну деацетилазну активність для гістонів (Imai et al., 2000; Smith et al., 2000). Велика частина інформації про опосередковані Sir2 функції ґрунтується на результатах досліджень, проведених на дріжджах (Gartenberg, 2000; Gottschling, 2000).

Біохімічні дослідження показали, що Sir2 може легко деацетилювати амінокінцеві хвости гістонів H3 і H4, приводячи до утворення 1-О-ацетил-Адф-рибози й нікотинамідом. Штами з додатковими копіями SIR2 проявляють підвищений сайленсинг рДНК, і вони мають на 30 % триваліший період існування. Недавно було показано, що додаткові копії гомолога SIR2 *C. elegans*, sir2-1, і гена dSir2 *D. melanogaster* істотно подовжують тривалість життя даних мікроорганізмів. На основі цього можна передбачити, що SIR2-залежний регуляторний шлях старіння починається в еволюції рано і є висококонсервативним. Зараз вважають, що гени Sir2 розвиваються для поліпшення статусу організму й підвищення резистентності до стресів у цілях виживання в несприятливих умовах.

SIRT3 є гомологом SIRT1, який консервативний у прокаріотів і еукаріотів (P.Onyango et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 99: 13653-13658 (2002)). Білок SIRT3 прямує до мітохондріальних гребінців під дією унікального домену, розташованого на N-кінці. SIRT3 має Над+-залежну деацетилазну активність і експресується повсюдно, зокрема, в метаболічно активних тканинах. Вважають, що при проходженні в мітохондрії SIRT3 перетворюється в результаті розщеплювання на невелику активну форму за рахунок дії мітохондріальної пептидази процесингу (MPP) (B.Schwer et al., J. Cell Biol., 158: 647-657 (2002)).

Протягом більше ніж 70 років відомо, що обмеження у вжитку калорій сприятливо впливає на здоров'я ссавців і подовжує тривалість їх життя (Masoro, 2000). Період існування дріжджів, аналогічно багатоклітинним організмам, також подовжується при діях, що нагадують обмеження в калоріях, наприклад низький вжиток глюкози. Відкриття того, що дріжджі й мухи, в яких відсутній ген SIR2, не виживають довше при обмеженні в калоріях, служить доказом участі генів SIR2 в опосередкуванні позитивних ефектів даного типу харчування (Anderson et al., 2003; Helfand and Rogina, 2004). Крім того, мутації, які призводять до зниження активності дріжджового реактивного на глюкозу сAMP (аденозин-3",5'-монофосфат)-залежного (РКА) шляху, подовжують тривалість життя клітин дикого типу, але не мутантних штамів sir2, вказуючи, що SIR2, ймовірно, є ключовим downstream компонентом шляху обмеження в калоріях (Lin et al., 2001).

## Суть винаходу

Даний винахід відноситься до модулюючих сиртуїн сполук і способів їх застосування.

В одному аспекті винахід стосується модулюючих сиртуїн сполук структурних формул (I)-(VI), детально описаних нижче.

В іншому аспекті винахід відноситься до способів застосування модулюючих сиртуїн сполук або композицій, що містять модулюючі сиртуїн сполуки. В деяких варіантах здійснення модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для різних терапевтичних застосувань, наприклад, включаючи збільшення

5 тривалості існування клітини, й лікування і/або запобігання широкої низки захворювань або порушень, пов'язаних із старінням або стресом, діабету, ожиріння, нейродегенеративних захворювань, нейропатії, викликані хіміотерапевтичними препаратами, нейропатії, асоційованої з ішемічною подією, очних захворювань і/або порушень, серцево-судинного захворювання, порушень згортання крові і/або приливів крові тощо. Модулюючі сиртуїн сполуки,

10 які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, також можна використовувати для лікування захворювання або порушення в суб'єкта, при якому підвищена мітохондріальна активність надаватиме позитивну дію, для підвищення м'язової продуктивності, для збільшення рівня АТФ, або для лікування або запобігання пошкодженню м'язової тканини, що асоціюється з гіпоксією або ішемією. В інших варіантах здійснення модулюючі сиртуїн сполуки, які знижують

15 рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для різних терапевтичних застосувань, наприклад включаючи підвищення чутливості клітин до стресу, посилення апоптозу, лікування злоякісного захворювання, стимуляцію апетиту й/або стимуляцію збільшення маси тіла тощо. Як детально описано нижче, способи включають введення суб'єктові, що потребує цього, фармацевтично ефективної кількості модулюючої сиртуїн

20 сполуки.

У деяких аспектах модулюючі сиртуїн сполуки можна вводити самостійно або в комбінації з іншими сполуками, включаючи інші модулюючі сиртуїн сполуки, або інші лікарські засоби.

Короткий опис фігур

На фігурі 1 представлена сіль гідрохлорид сполуки 1, охарактеризована

25 термогравіметричним аналізом (TGA) і диференціальною скануючою денситометрією (DSC).

На фігурі 2 представлена вільна основа сполуки 1, охарактеризована термогравіметричним аналізом (TGA) і диференціальною скануючою денситометрією (DSC).

На фігурі 3 наведена концентрація глюкози при проведенні аналізу не натщесерце в крові мишей, що представляють модель ожиріння DIO, яким вводили вільну основу сполуки 1, на 2

30 тижні досліді.

На фігурі 4 наведена концентрація глюкози при проведенні аналізу натщесерце в крові мишей, що представляють модель ожиріння DIO, яким вводили вільну основу сполуки 1, на 3 тижні досліді.

На фігурі 5 наведена концентрація глюкози при проведенні аналізу не натщесерце в крові мишей, що представляють модель ожиріння DIO, яким вводили вільну основу сполуки 1, на 4

35 тижні досліді.

На фігурі 6 наведена концентрація глюкози при проведенні аналізу не натщесерце в крові мишей Ob/ob, що представляють модель ожиріння, яким вводили вільну основу сполуки 1, на 1

40 тижні досліді.

На фігурі 7 наведена концентрація глюкози при проведенні аналізу натщесерце в крові мишей Ob/ob, що представляють модель ожиріння, яким вводили вільну основу сполуки 1, на 2 тижні досліді.

На фігурі 8 наведена концентрація глюкози при проведенні аналізу не натщесерце в крові мишей Ob/ob, що представляють модель ожиріння, яким вводили вільну основу сполуки 1, на 3

45 тижні досліді.

На фігурі 9 наведена концентрація глюкози при проведенні аналізу натщесерце в крові мишей Ob/ob, що представляють модель ожиріння, яким вводили вільну основу або гідрохлорид сполуки 1, на 1 тижні досліді.

На фігурі 10 наведена концентрація глюкози при проведенні аналізу натщесерце в крові мишей Ob/ob, що представляють модель ожиріння, яким вводили вільну основу або

50 гідрохлорид сполуки 1, на 2 тижні досліді.

Детальний опис винаходу

1. Визначення

У тому сенсі, в якому використовуються в даному документі наступні терміни й вирази, вони

55 мають значення, розкриті нижче. Якщо не вказано інакше, то всі технічні й наукові терміни мають таке саме значення, яке зазвичай розуміють фахівці в даній галузі.

У тому сенсі, в якому термін "засіб" використовується в даному документі, він означає хімічну сполуку, суміш хімічних сполук, біологічну макромолекулу (таку як нуклеїнова кислота, антитіло, білок або його фрагмент, наприклад, пептид) або екстракт, приготований з

60 біологічного матеріалу, такого як бактерії, рослини, гриби, клітини або тканини тварин (зокрема,

клітини й тканини ссавців). Активність таких засобів може зробити їх придатними для застосування як "лікарський засіб", який є біологічно, фізіологічно або фармакологічно активною сполукою (або сполуками), яка функціонує у суб'єкта місцево або системно.

5 Термін "біодоступна" по відношенню до сполуки, є загальновизнаним у даній галузі й стосується форми сполуки, яка сприяє всмоктуванню сполуки або частини кількості введеної сполуки, може включитися або інакше стати фізіологічно доступною для суб'єкта або пацієнта, якому її ввели.

"Біологічно активний фрагмент сиртуїну" стосується фрагмента білка сиртуїну, що має біологічну активність, як-от здатність до деацетилювання. Біологічно активні фрагменти сиртуїну можуть містити основний домен сиртуїну. Біологічно активні фрагменти SIRT1 з номером NP\_036370 в GenBank, які включають сполучний Над<sup>+</sup> домен і зв'язуючий субстрат домен, наприклад, можуть включати, без обмеження, амінокислоти 62-293 з номером NP\_036370 в GenBank, які кодуються нуклеотидами 237-932 з номером NM\_012238 в GenBank. Отже, дану ділянку інколи називають основним доменом. Інші біологічно активні фрагменти SIRT1, також інколи називані основними доменами, містять амінокислоти 216-447 з номером NP\_036370 в GenBank, які кодуються нуклеотидами 834-1394 з номером NM\_012238 в GenBank; амінокислоти приблизно 242-493 з номером NP\_036370 в GenBank, які кодуються нуклеотидами 777-1532 з номером NM\_012238 в GenBank; або амінокислоти приблизно 254-495 з номером NP\_036370 в GenBank, які кодуються нуклеотидами 813-1538 з номером NM\_012238 у GenBank.

Термін "домашні тварини" стосується кішок і собак. У тому сенсі, в якому термін "собака(и)" використовується в даному документі, він стосується будь-якого члена видів сімейства Псові, серед яких є велика кількість різних порід. Термін "кішка(и)" стосується котятих, включаючи домашніх котів та інших членів сімейства Котячі, роду Кішки.

25 Терміни "містить" і "що містить" означає, що можуть бути включені додаткові елементи.

"Діабет" стосується стану з високим рівнем цукру в крові або кетоацидозу, а також хронічних загальних обмінних порушень, що виникають у результаті високого рівня цукру в крові протягом тривалого періоду часу або зниження толерантності до глюкози. "Діабет" включає обидві форми захворювання діабет типу I і II (інсуліннезалежний цукровий діабет або NIDDM). Фактори ризику для розвитку діабету включають наступне: об'єм талії більш ніж 40 дюймів для чоловіків і 35 дюймів для жінок, кров'яний тиск 130/85 мм.рт.ст. або вище, концентрацію тригліцеридів вищу за 150 мг/дл, концентрацію глюкози при постановці аналізу натщесерце вищу за 100 мг/дл або рівень ліпопротеїну високої щільності менший за 40 мг/дл у чоловіків або 50 мг/дл у жінок.

35 "Прямий активатор" сиртуїну є молекулою, яка активує сиртуїн за допомогою зв'язування з ним. "Прямий інгібітор" сиртуїну представляє молекулу, яка інгібує сиртуїн за допомогою зв'язування з ним.

Термін "ED<sub>50</sub>" є загальновизнаним у даній галузі. В деяких варіантах здійснення ED<sub>50</sub> означає дозу лікарського препарату, яка забезпечує 50 % максимального ефекту, або альтернативно дозу, яка забезпечує заздалегідь визначений ефект у 50 % тестованих осіб або препаратів. 40 Термін "LD<sub>50</sub>" є загальновизнаним у даній галузі. В деяких варіантах здійснення LD<sub>50</sub> означає дозу лікарського препарату, яка викликає загибель 50 % тестованих осіб. Термін "терапевтичний індекс" є загальновизнаним у даній галузі, який стосується терапевтичного індексу препарату, визначуваного як LD<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub>.

Термін "гіперінсулінемія" відноситься до стану в індивідуума, при якому рівень інсуліну в крові перевищує норму.

Термін "включаючи" використовується для позначення "включаючи, не обмежуючись цим". Вирази "включаючи" і "включаючи, не обмежуючись цим" використовуються взаємозамінно.

Термін "резистентність до інсуліну" відноситься до стану, при якому нормальна кількість інсуліну викликає субнормальну біологічну реакцію в порівнянні з біологічною реакцією у суб'єкта, в якого відсутня резистентність до інсуліну.

50 "Порушення резистентності до інсуліну", як обговорюється в даному документі, відноситься до будь-якого захворювання або стану, який викликаний або в розвиток якого робить свій внесок резистентність до інсуліну. Приклади включають діабет, ожиріння, метаболічний синдром, синдроми, пов'язані з резистентністю до інсуліну, синдром X, резистентність до інсуліну, високий кров'яний тиск, гіпертензію, високий рівень холестерину в крові, дисліпідемію, гіперліпідемію, дисліпідемію, атеросклероз, включаючи інсульт, коронарне захворювання серця або інфаркт міокарду, гіперглікемію, гіперінсулінемію й/або гіперпроінсулінемію, порушену толерантність до глюкози, сповільнене вивільнення інсуліну, ускладнення при діабеті, включаючи коронарне захворювання серця, стенокардію, застійну серцеву недостатність, інсульт, когнітивні функції при деменції, ретинопатію, периферичну нейропатію, нефропатію,

гломерулонефрит, гломерулосклероз, нефротичний синдром, гіпертензивний нефросклероз при деяких видах злоякісних пухлин (таких як карцинома ендометрію, молочної залози, передміхурової залози й ободової кишки), ускладнення при вагітності, слабкий стан органів репродуктивної системи в жінок (як-от нерегулярність менструацій, безпліддя, нерегулярна овуляція, синдром полікістозу яєчників (PCOS)), ліподистрофію, порушення, пов'язані з холестерином, такі як камені в жовчному міхурі, холецистит і холелітіаз, подагру, обструктивний розлад дихання під час сну і проблеми з диханням, остеоартрит, і запобігання й лікування стоншування кісткової тканини, наприклад остеопороз.

Термін "сільськогосподарські тварини" стосується домашніх чотириногих тварин, які включають вирощувані для виробництва м'яса й різних субпродуктів, наприклад велику рогату худобу, включаючи корів та інших членів роду Бики, свиней, включаючи домашніх свиней і інших членів сімейства роду Кабани, овець та інших членів роду Барани, домашніх кіз та інших членів роду Козли; одомашнених чотириногих тварин, які вирощуються в специфічних цілях, таких як використання як в'ючних тварин, наприклад коні, включаючи домашніх коней та інших членів сімейства Кінські, роду Коня.

Термін "ссавець" відомий у даній галузі, і наведені як приклад ссавці включають людей, приматів, сільськогосподарських тварин (у тому числі, велику рогату худобу, свиней тощо), домашніх тварин (наприклад, собак, кішок тощо) і гризунів (наприклад, мишей і щурів).

Суб'єкти з "ожирінням" або суб'єкти, що страждають на ожиріння, переважно являють собою суб'єктів з індексом маси тіла (BMI), рівним, щонайменше, 25 або вище. Ожиріння може бути пов'язане з резистентністю до інсуліну чи ні.

Терміни "парентеральне введення" і "введені парентерально" є загальновизнаними в даній галузі й відносяться до способів введення іншим, ніж введення всередину і місцеве введення, як правило, за допомогою ін'єкції, і включаючи, не обмежуючись цим, внутрішньовенну, внутрішньом'язову, внутрішньоартеріальну, інтратекальну, інтракапсулярну, внутрішньоочну, внутрішньосерцеву, внутрішньошкірну, внутрішньоочеревинну, транстрахеальну, підшкірну, субкутикулярну, внутрішньоартикулярну, субкапсулярну, субарахноїдальну, інтраспінальну й інтрастернальну ін'єкцію та інфузію.

Терміни "пацієнт", "суб'єкт", "індивідуум" або "хазяїн" відносяться до людини або тварини, що не належить до людей.

Термін "фармацевтично прийнятний носій" є загальновизнаним у даній галузі й стосується фармацевтично прийнятної речовини, композиції або носія, як-от рідкий або твердий заповнювач, розчинник, наповнювач, розчинник або інкапсулююча речовина, що бере участь у перенесенні або транспорті будь-якої даної композиції або її компонентів. Кожен носій має бути "прийнятним", у сенсі сумісним з даною композицією або її компонентами, і має бути нетоксичним для пацієнта. Деякі приклади речовин, які можуть служити як фармацевтично прийнятні носії, включають (1) цукри, такі як лактоза, глюкоза й сахароза; (2) крохмалі, такі як кукурудзяний крохмаль і картопляний крохмаль; (3) целюлозу та її похідні, такі як натрієву сіль карбоксиметилцелюлози, етилцелюлозу й ацетат целюлози; (4) порошкову трагакантову камедь; (5) солод; (6) желатин; (7) тальк; (8) наповнювачі, такі як какао-масло і воски для супозиторіїв; (9) масла, такі як арахісове масло, масло насіння бавовнику, сафлорове масло, кунжутне масло, оливкове масло, кукурудзяне масло і соєве масло; (10) гліколі, такі як пропіленгліколь; (11) поліоли, такі як гліцерин, сорбіт, маніт і поліетиленгліколь; (12) складні ефіри, такі як етилолеат і етиллаурат; (13) агар; (14) забуферювальні речовини, такі як гідроксид магнію й гідроксид алюмінію; (15) альгінову кислоту; (16) непірогенну воду; (17) ізотонічний сольовий розчин; (18) розчин Рінгера; (19) етиловий спирт; (20) забуферені фосфатом розчини та (21) інші нетоксичні сумісні речовини, використовувані у фармацевтичних композиціях.

Термін "профілактичне" або "медикаментозне" лікування є загальновизнаним у даній галузі, й воно стосується введення лікарського препарату хазяїну. В тому випадку, коли препарат вводять до клінічного прояву небажаного стану (наприклад, захворювання або іншого небажаного стану у тварини-хазяїна), то тоді лікування є профілактичним, тобто воно захищає господаря від розвитку небажаного стану, в той час, коли препарат вводять після прояву небажаного стану, то лікування є медикаментозним (тобто воно призначене для придушення, ослаблення наявного небажаного стану або побічних ефектів, що виникають у результаті його, або для стабілізації стану).

Термін "непірогенна", по відношенню до композиції, відноситься до композиції, яка не містить пірогену в кількості, яка приводить до розвитку побічних ефектів (наприклад, подразнення, лихоманки, запалення, діареї, порушення дихальної функції, ендотоксичного шоку тощо) у суб'єкта, якому вводять композицію. Наприклад, термін призначений для включення

композицій, які не містять, по суті не містять, ендотоксинів, наприклад, таких як ліпополісахарид (LPS).

Вираз "реплікативна тривалість життя" клітини стосується кількості дочірніх клітин, продукованих окремою "материнською клітиною". З іншого боку, "хронологічне старіння" або "хронологічна тривалість життя" стосуються періоду часу, протягом якого популяція клітин, що не діляться, залишається життєздатною, за відсутності живильних речовин. Вирази "збільшення тривалості життя клітин" або "подовження тривалості життя клітин", по відношенню до клітин або організмів, відносяться до збільшення кількості дочірніх клітин, продукованих однією клітиною; до підвищення здатності клітин або організмів впоратися зі стресами і протистояти пошкодженню, наприклад, ДНК, білків; і/або до підвищення здатності клітин або організмів виживати й існувати в життєздатному стані протягом тривалішого періоду часу в конкретних умовах, наприклад, у стресових умовах (наприклад, в умовах теплового шоку, осмотичного стресу, радіації високої енергії, стресу, індукованого хімічними сполуками, пошкодження ДНК, неадекватної концентрації солі, неадекватного рівня азоту або неадекватного вмісту живильних речовин). Тривалість життя можна збільшити, щонайменше, приблизно на 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 % або в межах між 20 % і 70 %, 30 % і 60 %, 40 % і 60 % або більше при використанні способів, описаних у даному документі.

Вираз "активує сиртуїн сполука" відноситься до сполуки, яка підвищує рівень білка сиртуїну і збільшує щонайменше одну активність білка сиртуїну. В наведеному як приклад варіанті здійснення активуюча сиртуїн сполука може підвищити щонайменше одну біологічну активність білка сиртуїну, щонайменше, приблизно на 10 %, 25 %, 50 %, 75 %, 100 % або більше. Наведені як приклад біологічні активності білків сиртуїнів включають деацетилювання, наприклад, гістонів і p53; збільшення тривалості життя; підвищення стабільності геному; сайленсинг при транскрипції; й регуляцію розбіжності окислених білків між материнською й дочірніми клітинами.

Вираз "сполука, що інгібує сиртуїнсполука" відноситься до сполуки, яка знижує рівень білка сиртуїну й/або зменшує щонайменше одну активність білка сиртуїну. В наведеному як приклад варіанті здійснення сполука, що інгібує сиртуїн, може понизити щонайменше одну біологічну активність білка сиртуїну, щонайменше, приблизно на 10 %, 25 %, 50 %, 75 %, 100 % або більш. Наведені як приклад біологічні активності білків сиртуїнів включають деацетилювання, наприклад, гістонів і p53; збільшення тривалості життя; підвищення стабільності геному; сайленсинг при транскрипції; й регуляцію розходження окислених білків між материнською й дочірніми клітинами.

Вираз "модулює сиртуїн сполука" відноситься до сполуки структурних формул (I)-(VI), описаних у даному документі. В наведених як приклад варіантах здійснення модулює сиртуїн сполука або позитивно регулює (наприклад, активує або стимулює), або негативно регулює (наприклад, інгібує або пригнічує), або змінює інакше функціональну здатність або біологічну активність білка сиртуїну. Модулюючі сиртуїн сполуки можуть модулювати білок сиртуїн прямо або опосередковано. В деяких варіантах здійснення модулює сиртуїн сполука може бути активуючою сиртуїн сполукою або інгібуючою сиртуїн сполукою.

Термін "білок сиртуїн" відноситься до члена сімейства білків сиртуїнів, що мають деацетилазну активність, або переважно сімейству sir2, яке включає білки: дріжджовий Sir2 (номер P53685 у GenBank), Sir-2.1 *C. elegans* (номер NP\_501912 в GenBank) і людський SIRT1 (номери NM\_012238 і NP\_036370 (або AF083106) в GenBank) і SIRT2 (номери NM\_012237, NM\_030593, NP\_036369, NP\_085096 і AF083107 у GenBank). Інші члени сімейства включають гени чотирьох додаткових дріжджових Sir2-подібних, названих "генами HST" (гомологи Sir два) HST1, HST2, HST3 і HST4, і п'ять інших людських гомологів hSIRT3, hSIRT4, hSIRT5, hSIRT6 і hSIRT7 (Brachmann et al., (1995), Genes Dev., 9:2888 і Frye et al., (1999), BBRC, 260:273). Переважними сиртуїнами є такі, які більшою мірою мають гомологію з SIRT1, тобто hSIRT1, і/або Sir2, ніж з SIRT2, такі як члени, що містять, щонайменше, частину N-кінцевої послідовності, наявної в SIRT1 і відсутньої в SIRT2, яка присутня в SIRT3.

Термін "білок SIRT1" відноситься до члена сімейства sir2 сиртуїнів з деацетилазною активністю. В одному варіанті здійснення білок SIRT1 включає дріжджовий Sir2 (номер P53685 у GenBank), Sir-2.1 *C. elegans* (номер NP\_501912 в GenBank), людський SIRT1 (номери NM\_012238 і NP\_036370 (або AF083106) у GenBank) і людський SIRT2 (номери NM\_012237, NM\_030593, NP\_036369, NP\_085096 і AF083107 в GenBank) та їхні еквівалентні варіанти й фрагменти. В іншому варіанті здійснення білок SIRT1 включає поліпептид, що містить послідовність, що складається або переважно складається з амінокислотної послідовності з номерами NP\_036370, NP\_501912, NP\_085096, NP\_036369 або P53685 у GenBank. Білки SIRT1 включають поліпептиди, що містять всю або частину амінокислотної послідовності з номерами

NP\_036370, NP\_501912, NP\_085096, NP\_036369 або P53685 в GenBank; амінокислотної послідовності з номерами NP\_036370, NP\_501912, NP\_085096, NP\_036369 або P53685 в GenBank з 1 до 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 50, 75 або консервативнішими амінокислотними замінами; амінокислотної послідовності, яка, щонайменше, на 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична такій з номерами NP\_036370, NP\_501912, NP\_085096, NP\_036369 або P53685 в GenBank, та їхні функціональні фрагменти. Поліпептиди за винаходом також включають гомологи (наприклад, ортологи й паралоги), варіанти або фрагменти амінокислотної послідовності з номерами NP\_036370, NP\_501912, NP\_085096, NP\_036369 або P53685 в GenBank.

Термін "білок SIRT3" відноситься до члена сімейства білків сиртуїнів деацетилаз і до гомолога білка SIRT1. В одному варіанті здійснення білок SIRT3 включає людський SIRT3 (номери AAN01042, NP\_036371 або NP\_001017524 в GenBank) і мишачий SIRT3 (номер NP\_071878 у GenBank) білки та їхні еквівалентні варіанти й фрагменти. В іншому варіанті здійснення білок SIRT3 включає поліпептид, що містить послідовність, що складається або переважно складається з амінокислотної послідовності з номерами AAN01042, NP\_036371, NP\_001017524 або NP\_071878 у GenBank. Білки SIRT3 включають поліпептиди, що містять всю або частину амінокислотної послідовності з номерами AAN01042, NP\_036371, NP\_001017524 або NP\_071878 в GenBank; амінокислотної послідовності з номерами AAN01042, NP\_036371, NP\_001017524 або NP\_071878 в GenBank з 1 до 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 50, 75 або консервативнішими амінокислотними замінами; амінокислотної послідовності, яка, щонайменше, на 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % ідентична такій з номерами AAN01042, NP\_036371, NP\_001017524 або NP\_071878 в GenBank та їхні функціональні фрагменти. Поліпептиди за винаходом також включають гомологи (наприклад, ортологи й паралоги), варіанти або фрагменти амінокислотної послідовності з номерами AAN01042, NP\_036371, NP\_001017524 або NP\_071878 в GenBank. У одному варіанті здійснення білок SIRT3 включає фрагмент білка SIRT3, який утворюється в результаті розщеплювання під дією мітохондріальної пептидази процесингу (MPP) і/або мітохондріальної проміжної пептидази (MIP).

Терміни "системне введення", "введений системно", "периферичне введення" і "введений периферично" є загальновизнаними в даній галузі і відносяться до введення даної композиції, лікарський або іншої речовини інакше, ніж безпосередньо в центральну нервову систему, таким чином, що вона надходить у систему пацієнта й піддається метаболізму й іншим подібним процесам.

Термін "лікарський засіб" є загальновизнаним у даній галузі й відноситься до будь-якої хімічної речовини, яка є біологічно, фізіологічно або фармакологічно активною сполукою, яка діє в суб'єкта локально або системно. Термін також означає будь-яку сполуку, призначену для застосування при діагностиці, виліковуванні, ослабленні, лікуванні або запобіганні захворюванню, або в посиленні бажаного фізичного або розумового розвитку і станів у тварини або людини.

Термін "терапевтична дія" є загальновизнаним терміном у даній галузі й відноситься до місцевої або системної дії у тварин, зокрема, ссавців, і конкретніше у людей, викликаной фармакологічно активною сполукою. Вираз "терапевтично ефективна кількість" означає таку кількість сполуки, яка забезпечує бажану місцеву або системну дію при розумному співвідношенні користь/ризик, застосовному для будь-якого лікування. Терапевтично ефективна кількість такої сполуки варіюватиметься залежно від суб'єкта й захворювання, яке піддається лікуванню, маси тіла й віку суб'єкта, важкості захворювання, способу введення тощо, яку може легко визначити фахівець у даній галузі. Наприклад, деякі композиції, описані в даному документі, можна вводити в достатній кількості для забезпечення бажаного ефекту при розумному співвідношенні користь/ризик, застосовному для будь-якого лікування.

Термін "лікування" стану або захворювання відноситься до лікування, а також послаблення щонайменше одного симптому стану або захворювання.

Термін "порушення зору" відноситься до ослабленого зору, який часто є частково оборотним або необоротним при лікуванні (наприклад, при хірургічному втручанні). Особливо важке порушення зору називається "сліпотою" або "втратою зору", яке стосується повної втрати зору, зору, гострота якого нижча за 20/200, яке неможливо поліпшити за допомогою коригуючих лінз або з кутовим полем зору меншим за 20 градусів у діаметрі (радіус 10 градусів).

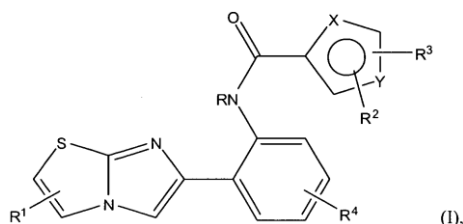
## 2. Модулятори сиртуїну

У одному аспекті винахід відноситься до нових модулюючих сиртуїн сполук для лікування і/або запобігання широкому ряду захворювань або порушень, наприклад захворювань або порушень, пов'язаних із старінням або стресом, діабету, ожиріння, нейродегенеративних



захворювань, захворювань і розладів зору, серцево-судинного захворювання, порушення згортання крові, запалення, злоякісного захворювання і/або приливів крові. Модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, також можна використовувати для лікування захворювання або порушення в суб'єкта, при якому підвищена мітохондріальна активність надаватиме позитивну дію, для підвищення м'язової продуктивності, для підвищення рівня АТФ, або для лікування або запобігання пошкодженню м'язової тканини, що асоціюється з гіпоксією або ішемією. Інші сполуки, розкриті в даному документі, можуть бути придатними для застосування у фармацевтичній композиції і/або в одному або більше способах, розкритих у даному документі.

У одному варіанті здійснення модулюючі сиртуїн сполуки за винаходом мають структурну формулу (I):



або їх сіль, у якій

X означає N або S;

Y означає S, коли X є N, або Y означає N, коли X є S;

R означає -H або заміщений або незаміщений алкіл;

R<sup>1</sup> є солюбілізуючою групою;

R<sup>2</sup> означає -H або заміщений або незаміщений алкіл;

R<sup>3</sup> означає заміщену або незаміщену моноциклічну арильну групу;

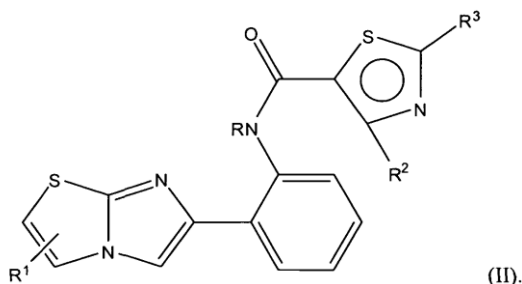
R<sup>4</sup> є -H, атомом галогену або заміщеним або незаміщеним алкілом.

У деяких варіантах здійснення R означає -H або -CH<sub>3</sub>.

У деяких варіантах здійснення R<sup>2</sup> означає -H або -CH<sub>3</sub>.

У деяких варіантах здійснення R<sup>4</sup> означає -H, атом галогену або -CH<sub>3</sub>.

У деяких варіантах здійснення сполука структурної формули (I) має структурну формулу (II):



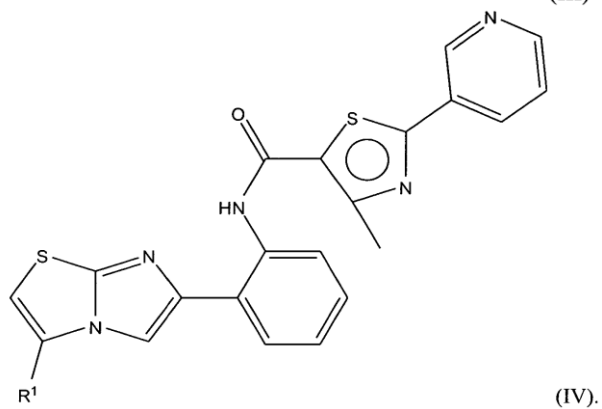
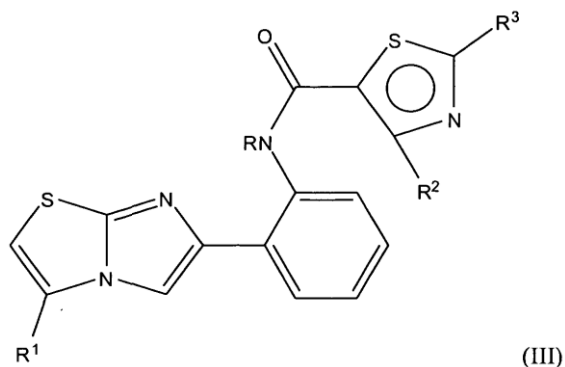
У деяких варіантах здійснення R і R<sup>2</sup>, кожен незалежно, представляє -H або -CH<sub>3</sub>.

У деяких варіантах здійснення R<sup>3</sup> є заміщеною або незаміщеною гетероарильною групою, як-от заміщена або незаміщена азотовмісна гетероарильна група, зокрема, заміщений або незаміщений піридил (наприклад, незаміщений піридил).

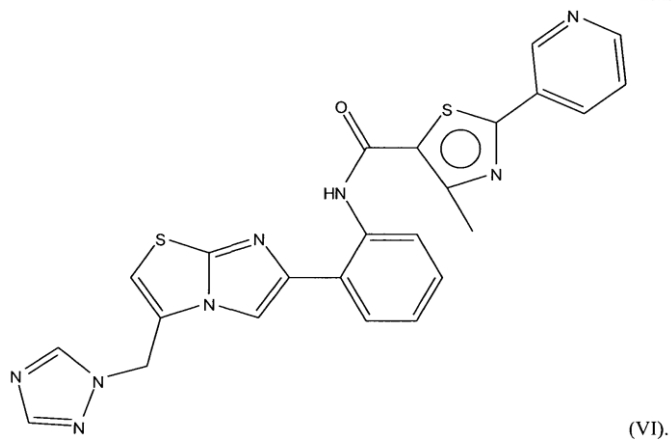
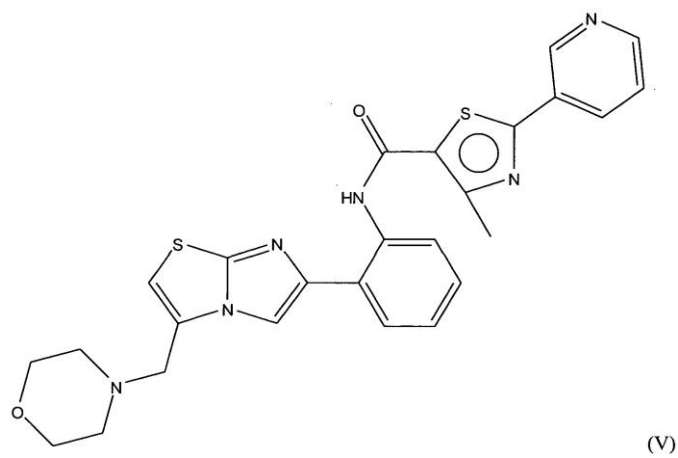
У деяких варіантах здійснення R<sup>3</sup> означає заміщений або незаміщений феніл, такий як метилфеніл, галогенфеніл або незаміщений феніл.

У деяких варіантах здійснення R<sup>1</sup> означає заміщений або незаміщений гетероцикліалкіл, де, як правило, гетероцикліл приєднаний до алкілу через гетероатом. У деяких варіантах здійснення R<sup>1</sup> є заміщеним або незаміщеним гетероциклілметилом, таким як заміщений або незаміщений азотовмісний гетероциклілметил, який, наприклад, включає гетероциклілметил, що містить атом азоту й необов'язково другий гетероатом, вибраний з атома азоту й кисню. Конкретні гетероцикліалкільні групи включають морфолінометил і 1,2,4-триазолілметил. Наведені як приклад замісники для гетероциклічних груп у R<sup>1</sup> включають один або більше гідроксилів, атомів галогену або метилів.

У деяких варіантах здійснення сполуки структурної формули (I) мають структурні формули (III) або (IV):



- Придатні групи R і R<sup>1</sup>-R<sup>3</sup> мають значення, визначені вище.  
 5 Приклади сполук структурної формули (I) включають такі структурних формул (V) і (VI):



- 10 Сполуки за винаходом, включаючи нові сполуки за винаходом, також можна

використовувати в способах, описаних у даному документі.

Модулюючі сиртуїн сполуки за винаходом переважно модулюють рівень і/або активність білка сиртуїну, зокрема деацетилазну активність білка сиртуїну.

Окремо або на додаток до вказаних вище властивостей деякі модулюючі сиртуїн сполуки за винаходом по суті не мають одну або більше з наступних активностей: інгібування PI3-кінази, інгібування альдоредуктази, інгібування тирозинкінази, трансактивування EGFR-тирозинкінази, розширення коронарних судин або спазмолітична активність, у концентраціях сполуки, які є ефективними для модуляції деацетилазної активності білка сиртуїну (наприклад, такого, як білок SIRT1 і SIRT3).

Алкільна група являє собою вуглеводневу групу з прямим, розгалуженим ланцюгом або циклічну неароматичну групу, яка є повністю насиченою. Як правило, алкільна група з прямим або розгалуженим ланцюгом містить від 1 до приблизно 20 атомів вуглецю, переважно від 1 до приблизно 10, і циклічна група містить від 3 до приблизно 10 атомів вуглецю, переважно від 3 до приблизно 8. Приклади алкільних груп з прямим і розгалуженим ланцюгом включають метил, етил, н-пропіл, ізопропіл, н-бутил, втор-бутил, трет-бутил, гексил, пентил або октил. C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкіл з прямим або розгалуженим ланцюгом також називається в даному документі "нижчим алкілом".

Ароматичні (арильні) групи включають карбоциклічні ароматичні групи, такі як феніл, нафтил і антрацил, і гетероарильні групи, такі як імідазоліл, тієніл, фурил, піридил, піримідил, піраніл, піразоліл, піроїл, піразиніл, тіазоліл, оксазоліл і тетразоліл.

Ароматичні групи також включають конденсовані поліциклічні ароматичні кільцеві системи, в яких карбоциклічне ароматичне кільце або гетероарильне кільце конденсоване з одним або більше іншими гетероарильними кільцями. Приклади включають бензотієніл, бензофурил, індоліл, хінолініл, бензотіазол, бензоксазол, бензімідазол, хінолініл, ізохінолініл та ізоіндоліл.

Неароматичними гетероциклічними кільцями є неароматичні карбоциклічні кільця, які містять у кільці один або більше гетероатомів, як-от атом азоту, кисню або сірки. Кільце може бути п'яти-, шести-, семи- або восьмичленним. Приклади включають тетрагідрофурил, тетрагідротіофеніл, морфоліно, тіоморфоліно, піролідиніл, піперазиніл, піперидиніл і тіазолідиніл, поряд з циклічною формою цукрів.

Кільце, конденсоване з другим кільцем, містить щонайменше один загальний зв'язок.

Відповідними замісниками в алкільній, неароматичній гетероциклічній або арильній групі (карбоциклічній і гетероарильній) є ті, які по суті не мають негативного впливу на здатність розкритих сполук мати одну або більше властивостей, описаних у даному документі. Замісник по суті не має негативного впливу на властивості сполуки, коли ступінь виявлення властивості знижується більше, ніж приблизно на 50 % для сполуки із замісником у порівнянні зі сполукою без замісника. Приклади придатних замісників включають -OH, атом галогену (-Br, -Cl, -I і -F), -OR<sup>a</sup>, -O-COR<sup>a</sup>, -COR<sup>a</sup>, -C(O)R<sup>a</sup>, -CN, -NO<sup>2</sup>, -COOH, -COOR<sup>a</sup>, -OCO<sub>2</sub>R<sup>a</sup>, -C(O)NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>, -OC(O)NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>, -SO<sub>3</sub>H, -NH<sub>2</sub>, -NHR<sup>a</sup>, -N(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>), -COOR<sup>a</sup>, -CHO, -CONH<sub>2</sub>, -CONHR<sup>a</sup>, -CON(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>), -NHCOR<sup>a</sup>, -NRCOR<sup>a</sup>, -NHCONH<sub>2</sub>, -NHCONR<sup>a</sup>H, -NHCON(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>), -NR<sup>c</sup>CONH<sub>2</sub>, -NR<sup>c</sup>CONR<sup>a</sup>H, -NR<sup>c</sup>CON(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>), -C(=NH)-NH<sub>2</sub>, -C(=NH)-NHR<sup>a</sup>, -C(=NH)-N(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>), -C(=NR<sup>c</sup>)-NH<sub>2</sub>, -C(=NR<sup>c</sup>)-NHR<sup>a</sup>, -C(=NR<sup>c</sup>)-N(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>), -NH-C(=NH)-NH<sub>2</sub>, -NH-C(=NH)-NHR<sup>a</sup>, -NH-C(=NH)-N(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>), -NH-C(=NR<sup>c</sup>)-NH<sub>2</sub>, -NH-C(=NR<sup>c</sup>)-NHR<sup>a</sup>, -NH-C(=NR<sup>c</sup>)-N(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>), -NR<sup>d</sup>H-C(=NH)-NH<sub>2</sub>, -NR<sup>d</sup>-C(=NH)-NHR<sup>a</sup>, -NR<sup>d</sup>-C(=NH)-N(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>), -NR<sup>d</sup>-C(=NR<sup>c</sup>)-NH<sub>2</sub>, -NR<sup>d</sup>-C(=NR<sup>c</sup>)-NHR<sup>a</sup>, -NR<sup>d</sup>-C(=NR<sup>c</sup>)-N(R<sup>a</sup>R<sup>b</sup>), -NHNH<sub>2</sub>, -NHNHR<sup>a</sup>, -NHR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>, -SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, -SO<sub>2</sub>NHR<sup>a</sup>, -SO<sub>2</sub>NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>, -CH=CHR<sup>a</sup>, -CH=CR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>, -CR<sup>c</sup>=CR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>, -CR<sup>c</sup>=CHR<sup>a</sup>, -CCR<sup>a</sup>, -SH, -SO<sub>k</sub>R<sup>a</sup> (k дорівнює 0, 1 або 2), -S(O)<sub>k</sub>OR<sup>a</sup> (k дорівнює 0, 1 або 2) і -NH-C(=NH)-NH<sub>2</sub>. R<sup>a</sup>-R<sup>d</sup>, кожен незалежно, і необов'язково заміщений групою, вибраною з аліфатичної, бензольної або ароматичної групи, переважно алкілу, бензилу або арилу. Необов'язкові замісники в R<sup>a</sup>-R<sup>d</sup> вибрані з NH<sub>2</sub>, NH(C<sub>1-4</sub>аліфатичної групи), N(C<sub>1-4</sub>аліфатичної групи)<sub>2</sub>, атома галогену, C<sub>1-4</sub>аліфатичної групи, OH, O(C<sub>1-4</sub>аліфатичної групи), NO<sub>2</sub>, CN, CO<sub>2</sub>H, CO<sub>2</sub>(C<sub>1-4</sub>аліфатичної групи), O(галогенC<sub>1-4</sub>аліфатичної групи) або галогенC<sub>1-4</sub>аліфатичної групи, де вказані вище C<sub>1-4</sub>аліфатичні групи є незаміщеними. Крім того, -NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup>, взяті разом, можуть також утворювати заміщену або незаміщену неароматичну гетероциклічну групу. Неароматична гетероциклічна група, бензильна група або арильна група також можуть містити як замісник аліфатичну або заміщену аліфатичну групу. Також заміщена аліфатична група може мати як замісник неароматичне гетероциклічне кільце, заміщене неароматичне гетероциклічне кільце, бензил, заміщений бензил, арил або заміщений арил. Заміщена аліфатична, неароматична гетероциклічна група, заміщений арил або заміщений бензил можуть містити більше за один замісник.

Типові замісники в арильному кільці вибрані з солюбілізувальної групи, атома галогену; -R<sup>o</sup>; -OR<sup>o</sup>; -SR<sup>o</sup>; 1,2-метилендіокси; 1,2-етилендіокси; фенілу (Ph), необов'язково заміщеного R<sup>o</sup>; -

O(Ph), необов'язково заміщеного R<sup>0</sup>; -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>(Ph), необов'язково заміщеного R<sup>0</sup>; -CH=CH(Ph), необов'язково заміщеного R<sup>0</sup>; -NO<sub>2</sub>; -CN; -N(R<sup>0</sup>)<sub>2</sub>; -C(O)C(O)R<sup>0</sup>; -C(O)CH<sub>2</sub>C(O)R<sup>0</sup>; -CO<sub>2</sub>R<sup>0</sup>; -C(O)R<sup>0</sup>; -S(O)<sub>2</sub>R<sup>0</sup>; -SO<sub>2</sub>N(R<sup>0</sup>)<sub>2</sub>; -S(O)R<sup>0</sup>; -NR<sup>0</sup>SO<sub>2</sub>N(R<sup>0</sup>)<sub>2</sub>; -NR<sup>0</sup>SO<sub>2</sub>R<sup>0</sup>; -C(=S)-N(R<sup>0</sup>)<sub>2</sub> або -C(=NH)-N(R<sup>0</sup>)<sub>2</sub>; або де незалежно кожен R<sup>0</sup> вибраний з атом водню, необов'язково заміщеної C<sub>1-6</sub>аліфатичної групи, незаміщеного 5-6-членного гетероарилу або гетероциклічного кільця, фенілу, -O(Ph) або -CH<sub>2</sub>(Ph) або, попри визначення, наведене вище, незалежно два R<sup>0</sup>, при тому самому заміснику або різних замісниках, взяті разом з атомом(ами), з яким зв'язана кожна група R<sup>0</sup>, утворюють 3-8-членний циклоалкіл, гетероцикліл, арил або гетероарил з 0-3 гетероатомами, незалежно вибраними з атома азоту, кисню або сірки. Необов'язкові замісники в аліфатичній групі R<sup>0</sup> вибрані з NH<sub>2</sub>, NH(C<sub>1-4</sub>аліфатичної групи), N(C<sub>1-4</sub>аліфатичної групи)<sub>2</sub>, атома галогену, C<sub>1-4</sub>аліфатичної групи, OH, O(C<sub>1-4</sub>аліфатичної групи), NO<sub>2</sub>, CN, CO<sub>2</sub>H, CO<sub>2</sub>(C<sub>1-4</sub>аліфатичної групи), O(галогенC<sub>1-4</sub>аліфатичної групи) або галогенC<sub>1-4</sub>аліфатичної групи, де кожна з указаних вище C<sub>1-4</sub>аліфатичних груп у R<sup>0</sup> є незаміщеною.

Комбінаціями замісників і змінних груп, що входять у обсяг даного винаходу, є тільки ті, що приводять до утворення стабільної сполуки. В тому сенсі, в якому термін "стабільна" використовується в даному документі, - він стосується сполук, що мають стабільність, достатню для виробництва, і яка забезпечує цілісність сполуки протягом достатнього періоду часу для застосування в цілях, детально описаних у даному документі.

В тому сенсі, в якому термін "солубілізуюча група" використовується в даному документі, він стосується групи, що має гідрофільні властивості, достатні для підвищення або збільшення розчинності сполуки у воді, в яку вона включена, порівняно до сполуки-аналогу, яка не містить групи. Гідрофільні властивості можна забезпечити будь-якими засобами, як-от введення функціональних груп (наприклад, карбонових кислот, сульфонових кислот, фосфорних кислот, амінів тощо); груп, які мають постійні заряди (наприклад, груп четвертинного амонію) та/або гетероатоми або гетероатомні групи (наприклад, O, S, N, NH, N-(CH<sub>2</sub>)<sub>y</sub>-R<sup>a</sup>, N-(CH<sub>2</sub>)<sub>y</sub>-C(O)R<sup>a</sup>, N-(CH<sub>2</sub>)<sub>y</sub>-C(O)OR<sup>a</sup>, N-(CH<sub>2</sub>)<sub>y</sub>-S(O)<sub>2</sub>R<sup>a</sup>, N-(CH<sub>2</sub>)<sub>y</sub>-S(O)<sub>2</sub>OR<sup>a</sup>, N-(CH<sub>2</sub>)<sub>y</sub>-C(O)NR<sup>a</sup>R<sup>b</sup> тощо, де R<sup>a</sup> вибрано з атома водню, нижчого алкілу, нижчого циклоалкілу, (C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>)арилу, фенілу, нафтилу, (C<sub>7</sub>-C<sub>20</sub>)арилалкілу й бензилу, де R<sup>a</sup> необов'язково заміщений; і у дорівнює цілому числу в межах від 0 до 6), необов'язково заміщених гетероциклічних груп (наприклад, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-R<sup>b</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-C(O)-R<sup>b</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-R<sup>b</sup>, де R<sup>b</sup> вибраний з необов'язково насиченого моноциклічного гетероциклу, необов'язково заміщеного насиченого біциклічного конденсованого гетероциклу, необов'язково заміщеного насиченого біциклічного спірогетероциклу, необов'язково заміщеного гетероарилу й необов'язково заміщеного, частково заміщеного неарильного гетероциклу; і n дорівнює цілому числу в межах від 0 до 2). Слід розуміти, що замісники в R<sup>a</sup> і R<sup>b</sup> не мають приводити до підвищення або збільшення розчинності у воді порівняно до їхніх незаміщених аналогів у обсязі даного визначення. Необхідно, щоб замісники суттєво не змінювали підвищення розчинності у воді, забезпеченого за рахунок незаміщених груп R<sup>a</sup> і R<sup>b</sup>.

У одному варіанті здійснення солубілізуюча група підвищує розчинність у воді відповідної сполуки без солубілізуючої групи, щонайменше, в 5 разів, переважно, щонайменше, в 10 разів, переважніше, щонайменше, в 20 разів, і найпреважніше, щонайменше, в 50 разів.

У одному переважному варіанті здійснення солубілізуюча група представляє групу формули:

-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-R<sup>100</sup>-N(R<sup>101</sup>)(R<sup>101</sup>), у якій:

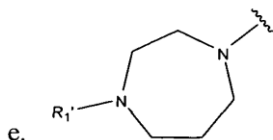
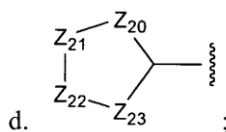
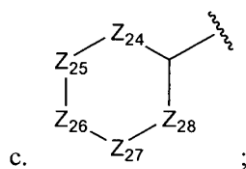
n вибрано з 0, 1 або 2;

R<sup>100</sup> вибраний із зв'язку, -C(O)- або -O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>; і

R<sup>101</sup>, кожен незалежно, вибраний з

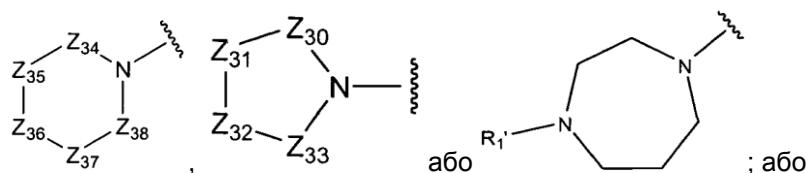
а. атома водню;

б. C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкілу з прямим або розгалуженим ланцюгом, де вказаний алкіл необов'язково заміщений атомом галогену, CN, OH, O-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкілом з прямим або розгалуженим ланцюгом), N(R<sub>1</sub>)<sub>2</sub>(R<sub>1</sub>) або =O;



або

f. обидва радикали  $R^{101}$ , узяті разом з атомом азоту, з яким вони зв'язані, утворюють кільце формули



5

g. обидва радикали  $R^{101}$ , узяті разом з атомом азоту, з яким вони зв'язані, утворюють 5-членне гетероарильне кільце, що містить 1-3 додаткових атоми N, де вказане гетероарильне кільце заміщене  $R_1$ ;

де

кожен Z незалежно вибраний з -O-, -S-, -NR<sub>1'</sub>- або -C(R<sup>50</sup>)(R<sup>50</sup>)-,

де

щонайменше три з Z<sub>20</sub>, Z<sub>21</sub>, Z<sub>22</sub> і Z<sub>23</sub> представляють -C(R<sup>50</sup>)(R<sup>50</sup>)-;

щонайменше три з Z<sub>24</sub>, Z<sub>25</sub>, Z<sub>26</sub>, Z<sub>27</sub> і Z<sub>28</sub> представляють -C(R<sup>50</sup>)(R<sup>50</sup>)-;

щонайменше чотири з Z<sub>30</sub>, Z<sub>31</sub>, Z<sub>32</sub> і Z<sub>33</sub> представляють -C(R<sup>50</sup>)(R<sup>50</sup>)-; і

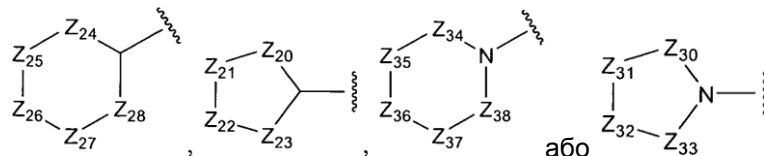
щонайменше чотири з Z<sub>34</sub>, Z<sub>35</sub>, Z<sub>36</sub>, Z<sub>37</sub> і Z<sub>38</sub> представляють -C(R<sup>50</sup>)(R<sup>50</sup>)-;

кожен R<sub>1'</sub> незалежно вибраний з атома водню або C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> алкілу з прямим або розгалуженим ланцюгом, необов'язково заміщеного одним або більш замісниками, незалежно вибраними з атома галогену, -CN, -OH-OCH<sub>3</sub>, -NH<sub>2</sub>, -NH(CH<sub>3</sub>), -N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> або =O;

кожен R<sup>50</sup> незалежно вибраний з R<sub>1'</sub>, атома галогену, CN, OH, O-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> алкілу з прямим або розгалуженим ланцюгом), N(R<sub>1'</sub>)(R<sub>1'</sub>)=CR<sub>1'</sub>, SR<sub>1'</sub>=NR<sub>1'</sub>, =NOR<sub>1'</sub> або =O;

будь-які два придатних нециклічних R<sup>50</sup> необов'язково зв'язані один з одним прямо або через C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> алкіленовий, алкеніленовий або алкандііліденовий місток з одержанням біциклічного конденсованого або спіро-кільця; й

будь-якого з



або

кільцева структура необов'язково є бензоконденсованою або конденсованою з моноциклічним гетероарилем з одержанням біциклічного кільця.

Для ясного розуміння "C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> алкіленовий, алкеніленовий або алкандііліденовий місток" означає полівалентні структури -CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH=, =CH-, -CH=CH- або =CH-CH=. Дві групи R<sup>50</sup>, які необов'язково зв'язані одна з одною, можуть знаходитися в одному атомі вуглецю або в різних атомах вуглецю. В першому випадку утворюється спіробіциклічне кільце, тоді як в останньому випадку утворюється конденсоване біциклічне кільце. Фахівці в даній галузі, очевидно, розуміють, що коли два R<sup>50</sup> зв'язані один з одним з утворенням кільця (прямо або через один зі вказаних вище містків), то один або більше кінцевих атомів водню в кожному R<sup>50</sup>

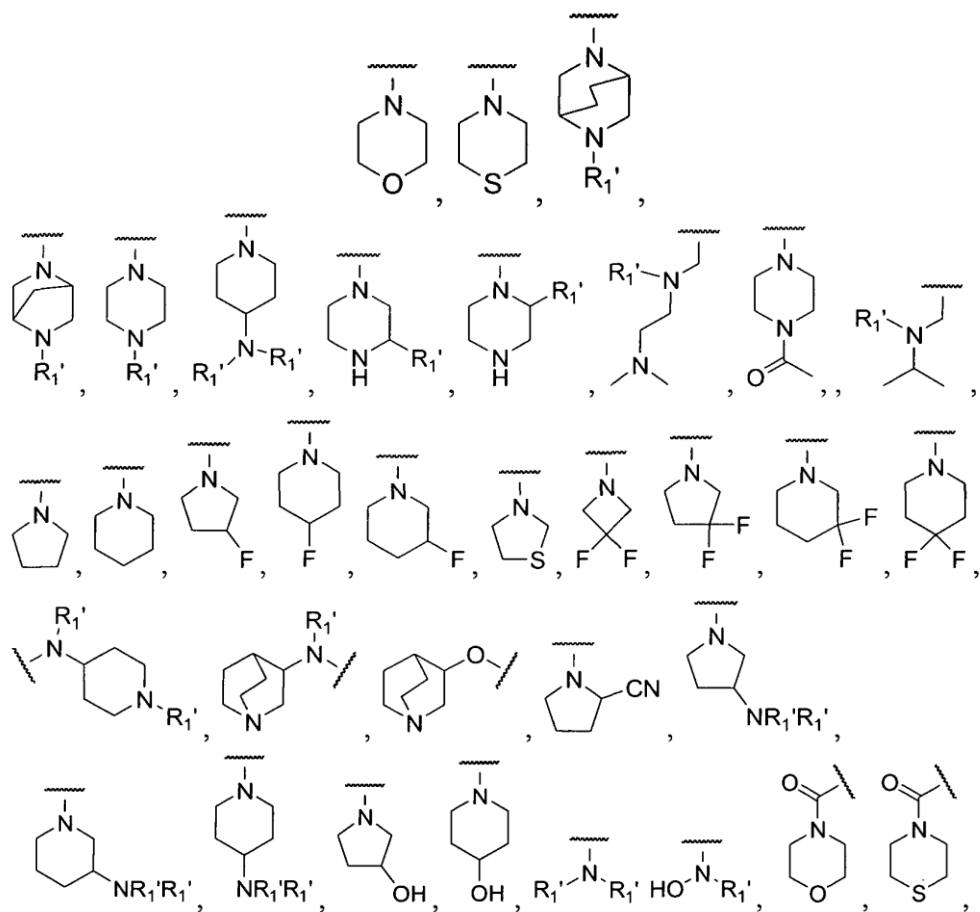
відсутні. Отже, "придатна нециклічна група  $R^{50}$ ", доступна для утворення кільця, є нециклічною  $R^{50}$ , яка містить щонайменше один кінцевий атом водню.

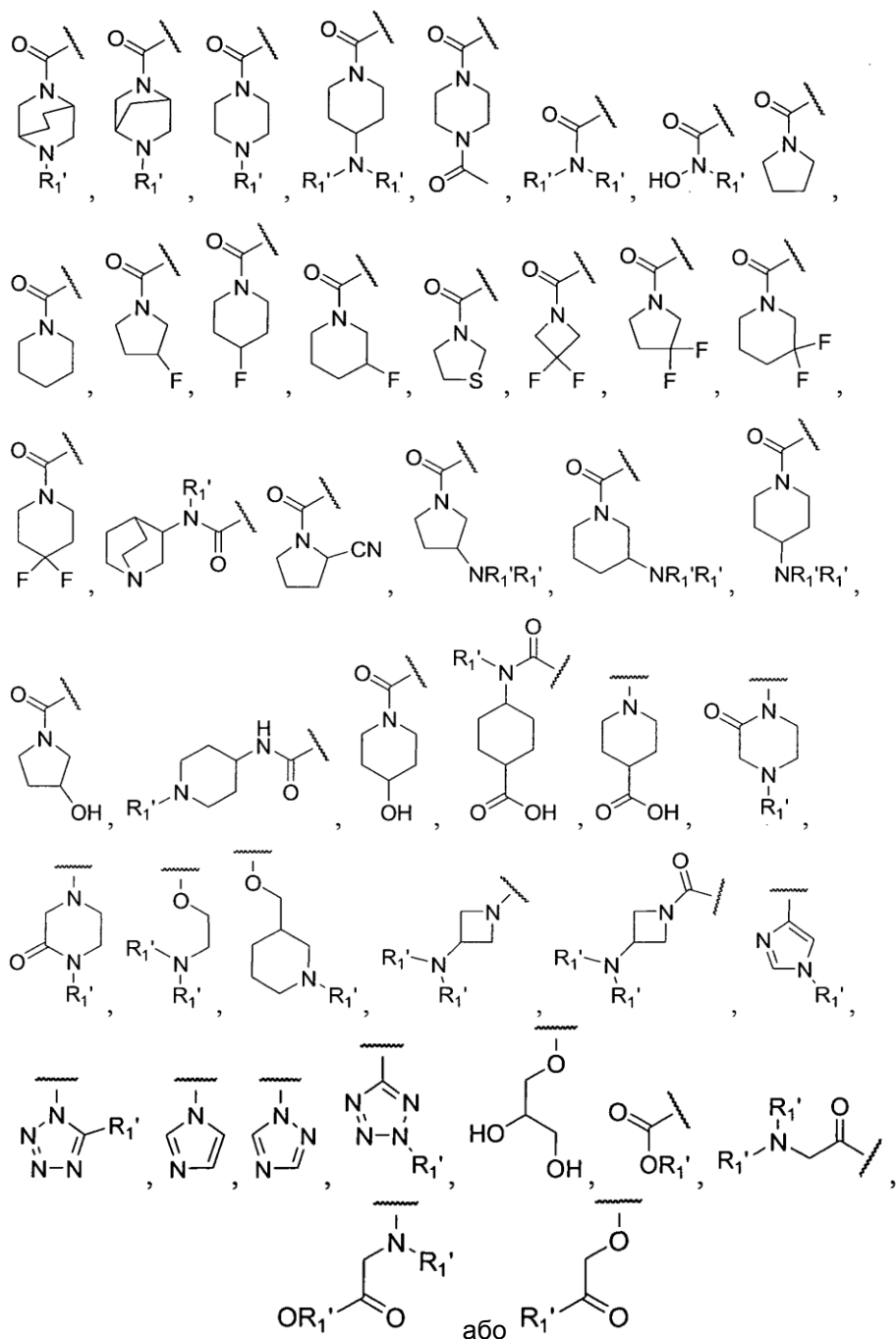
В іншому переважному варіанті здійснення солюбілізувача група представляє групу формули:  $-(CH_2)_n-O-R^{101}$ , в якій  $n$  і  $R^{101}$  мають значення, вказані вище.

5 У ще одному переважному варіанті здійснення солюбілізувача група представляє групу формули:  $-(CH_2)_n-C(O)-R^{101}$ , у якій  $n$  і  $R^{101}$  мають значення, вказані вище.

У переважнішому варіанті здійснення солюбілізувача група вибрана з  $-(CH_2)_n-R^{102}$ , де  $n$  дорівнює 0, 1 або 2; і  $R^{102}$  вибраний з

10





5 де групи  $\text{R}_1''$  мають значення, визначені вище.

У ще переважнішому варіанті здійснення солюбілізуєча група вибрана з 2-диметиламіноетилкарбамоїлу, піперазин-1-ілкарбонілу, піперазинілметилу, диметиламінометилу, 4-метилпіперазин-1-ілметилу, 4-амінопіперидин-1-ілметилу, 4-фторпіперидин-1-ілметилу, морфолінометилу, піролідін-1-ілметилу, 2-оксо-4-бензилпіперазин-1-ілметилу, 4-бензилпіперазин-1-ілметилу, 3-оксопіперазин-1-ілметилу, піперидин-1-ілметилу, 10 піперазин-1-ілетилу, 2,3-діоксопропіламінометилу, тiazолідин-3-ілметилу, 4-ацетилпіперазин-1-ілметилу, 4-ацетилпіперазин-1-ілу, морфоліно, 3,3-дифторазетидин-1-ілметилу, 2H-тетразол-5-ілметилу, тіоморфолін-4-ілметилу, 1-оксотіоморфолін-4-ілметилу, 1,1-діоксотіоморфолін-4-ілметилу, 1H-імідазол-1-ілметилу, 3,5-диметилпіперазин-1-ілметилу, 4-гідроксипіперидин-1-ілметилу, 15 N-метил(1-ацетилпіперидин-4-іл) амінометилу, N-метилхінуклідин-3-іламінометилу, 1H-1,2,4-триазол-1-ілметилу, 1-метилпіперидин-3-ілоксиметилу або 4-фторпіперидин-1-ілу.

До тієї міри, до якої включається в будь-яке з визначень, наведених вище, термін "солюбілізуєча група" також включає групи, розкриті в даному документі, як приєднані до положення 7 в 1-циклопропіл-6-фтор-1,4-дигідро-4-оксохінолін-3-карбонової кислоті

(ципрофлоксацин) та її похідних, описаних у публікаціях PCT WO 2005/026165, WO 2005/049602 і WO 2005/033108, і публікаціях Європейських патентів 0343524, 0688772, 0153163, 0159174; а також включає "солюбілізує у воді групи", описані в публікації патенту США № 2006/0035891. Розкриття кожної з даних патентних публікацій включено в даний документ для інформації.

5 Сполуки, розкриті в даному документі, включають частково або повністю дейтеровані варіанти. У деяких варіантах здійснення наявні один або більше атомів дейтерію, наприклад, для проведення кінетичних досліджень. Фахівець у даній галузі може вибрати місця, в яких мають знаходитися такі атоми дейтерію.

10 Також в обсяг даного винаходу входять солі, зокрема фармацевтично прийнятні солі модулюючих сиртуїн сполук, описаних у даному документі. Сполуки за даним винаходом, які мають у достатній мірі кислі, в достатній мірі основні групи або обидва види груп, можна піддати взаємодії з будь-яким рядом неорганічних основ і неорганічних і органічних кислот з утворенням солі. Альтернативно сполуки, які у своїй основі заряджені, такі як з четвертинним атомом азоту, можуть утворити сіль з відповідним протиіоном (наприклад, галогенідом, таким як бромід, 15 хлорид або фторид, особливо бромід).

Сполуки та їхні солі, описані в даному документі, також включають гідрати (наприклад, гемігідрат, моногідрат, дигідрат, тригідрат, тетрагідрат) і сольвати сполук та їхні солі. Як правило, відповідні розчинники для одержання сольватів і гідратів може вибрати фахівець у даній галузі.

20 Сполуки та їхні солі можуть знаходитися в аморфній або кристалічній (у тому числі, співкристалічній і поліморфній) формах.

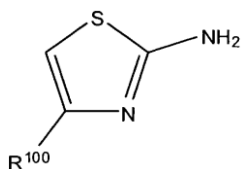
Кислоти, які зазвичай застосовують для одержання адитивних солей кислоти, являють собою неорганічні кислоти, такі як соляна кислота, бромистоводнева кислота, йодистоводнева кислота, сірчана кислота, фосфорна кислота й т.п., й органічні кислоти, такі як п-толуолсульфонова кислота, метансульфонова кислота, щавлева кислота, п-бромфенілсульфонова кислота, вугільна кислота, янтарна кислота, лимонна кислота, бензойна кислота, оцтова кислота й т.п. Приклади таких солей включають сульфат, піросульфат, бісульфат, сульфат, бісульфат, фосфат, вторинний кислий фосфат, первинний кислий фосфат, метафосфат, пірофосфат, хлорид, бромід, йодид, ацетат, пропіонат, деканоат, каприлат, 30 акрилат, форміат, ізобутират, капроат, гептаноат, пропіонат, оксалат, малонат, сукцинат, суберат, себакат, фумарат, малеат, бутин-1,4-діоат, гексин-1,6-діоат, бензоат, хлорбензоат, метилбензоат, динітробензоат, гідроксибензоат, метоксибензоат, фталат, сульфонат, ксилосульфонат, фенілацетат, фенілпропіонат, фенілбутират, цитрат, лактат, гамма-гідроксибутират, гліколят, тартрат, метансульфонат, пропансульфонат, нафталін-1-сульфонат, 35 нафталін-2-сульфонат, манделат і т.п.

Адитивні солі основи включають такі, одержані з неорганічних основ, таких як гідроксиди амонію або лужних або лужноземельних металів, карбонати, бікарбонати й т.п. Такі основи, придатні для одержання солей за даним винаходом, включають гідроксид натрію, гідроксид калію, гідроксид амонію, карбонат калію й т.п.

40 За іншим варіантом здійснення даний винахід відноситься до способу одержання вказаних вище модулюючих сиртуїн сполук. Сполуки можна синтезувати з використанням звичайних способів. Переважно дані сполуки зазвичай синтезують з широко доступних речовин.

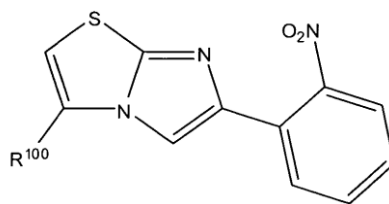
У одному варіанті здійснення деякі сполуки за винаходом одержують наступним способом. Спочатку сполуки наступної формули:

45

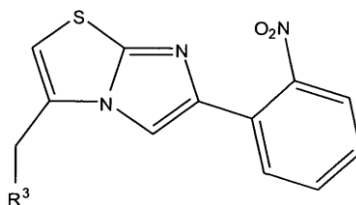


у якій  $R^{100}$  представляє групу, яку можна перетворити на алкіл (наприклад, метил), заміщений відхідною групою, як-от алкоксикарбоніл (наприклад, етоксикарбоніл), піддають 50 взаємодії з 2-відхідною групою, 2'-нітроацетофеноном (наприклад, 2'-галогеном, 2'-нітроацетофеноном, де галоген, як правило, є атомом бромію або хлору), з одержанням наступної сполуки:

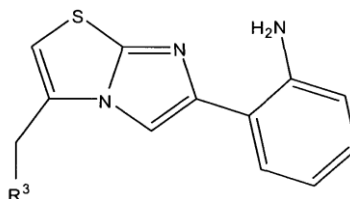




Потім дану сполуку піддають взаємодії з перетворенням  $-R^{100}$  у  $-R^1$ . У тих варіантах здійснення, коли  $-R^{100}$  представляє алкоксикарбоніл, потім зазвичай групу перетворюють на карбонову кислоту (наприклад, з використанням основи, як-от гідроксид лужного металу, такий як NaOH або KOH), і потім відновлюють у гідроксиметил з використанням відповідного відновника (наприклад,  $\text{NaBH}_4$ ). Потім групу перетворюють на  $-R^1$  взаємодією гідроксиметильної групи з  $R^3$  і, якщо необхідно, через проміжну стадію для підвищення реакційної здатності гідроксиметильної групи (наприклад, перетворенням гідроксиметилу на хлорметил з використанням  $\text{SOCl}_2$  або метансульфонілхлориду) перед взаємодією з  $R^3$ . Наведені як приклад значення  $R^3$  включають морфолін і 1H-1,2,4-тіазол. Після даних стадій сполука має наступну формулу:



Нітрогрупу відновлюють взаємодією з придатним відновником, як-от  $\text{Pd}/\text{H}_2$  або гідросульфід натрію, з одержанням наступної сполуки:



Дану сполуку піддають взаємодії з бажаною  $R^2, R^3$ -замещеною тіазолкарбоною кислотою (наприклад, 4-метил-2-піридил-3-ілтіазолкарбоною кислотою), як правило, за наявності каталізатора (наприклад,  $\text{SOCl}_2$ ) з одержанням продукту сполуки.

Синтетичні хімічні способи перетворень і методики, придатні для синтезу модулюючих сиртуїн сполук, описаних у даному документі, відомі в даній галузі і вони включають, наприклад, описані 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); і L. Paquette, ed., Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis (1995).

У наведеному як приклад варіанті здійснення модулююча сиртуїн сполука може проходити через цитоплазматичну мембрану клітини. Наприклад, сполука може мати проникність в клітини, що складає щонайменше приблизно 20 %, 50 %, 75 %, 80 %, 90 % або 95 %.

Модулюючі сиртуїн сполуки, описані в даному документі, також можуть мати одну або більше з наступних властивостей: сполука може бути по суті нетоксичною для клітини або суб'єкта; модулююча сиртуїн сполука може представляти органічну молекулу або невелику молекулу з молекулярною масою 2000 атомних одиниць маси або менше, 1000 атомних одиниць маси або менше; сполука може мати період напіврозпаду в умовах нормального атмосферного тиску, що становить щонайменше приблизно 30 діб, 60 діб, 120 діб, 6 місяців або 1 рік; сполука може мати період напіврозпаду в розчині, що дорівнює щонайменше приблизно 30 доби, 60 доби, 120 доби, 6 місяців або 1 рік; модулююча сиртуїн сполука може бути стабільнішою в розчині в порівнянні з ресвератролом, щонайменше, приблизно на 50 %, удвічі, в 5 разів, 10 разів, 30 разів, 50 разів або 100 разів; модулююча сиртуїн сполука може підсилювати деацетилювання фактора репарації ДНК Ku70; модулююча сиртуїн сполука може підсилювати деацетилювання RelA/p65; сполука може підвищувати швидкість загального обміну

й підвищувати чутливість клітин до індукованого TNF апоптозу.

У деяких варіантах здійснення модулююча сиртуїн сполука не має якої-небудь значної здатності інгібувати гістонову деацетилазу класу I (HDAC), HDAC класу II або HDAC класу III в концентраціях (наприклад, в умовах *in vivo*), ефективних для модуляції деацетилазної активності сиртуїну. Наприклад, у переважних варіантах здійснення модулююча сиртуїн сполука є активуючою сиртуїн сполукою й вибрана з таких з  $EC_{50}$  відносно активації деацетилазної активності сиртуїну, яка, щонайменше, у 5 разів нижча в порівнянні зі значенням  $EC_{50}$  для HDAC I і/або HDAC II, і ще переважніше, щонайменше, в 10 разів, 100 разів або навіть в 1000 разів нижча. Методи визначення активності HDAC I і/або HDAC II добре відомі в даній галузі, й набори для здійснення таких тестів є промислово доступними. Див., наприклад, BioVision, Inc. (Mountain View, CA; world wide web в [biovision.com](http://biovision.com)) і Thomas Scientific (Swedesboro, NJ; world wide web в [tomassci.com](http://tomassci.com)).

У деяких варіантах здійснення модулююча сиртуїн сполука не має якої-небудь істотної здатності модулювати гомологи сиртуїну. В одному варіанті здійснення активатор людського білка сиртуїну може не виявляти якої-небудь значної здатності активувати білок сиртуїн нижчих еукаріотів, зокрема, дріжджів або патогенів людини, в концентраціях (наприклад, в умовах *in vivo*), ефективних для активації деацетилазної активності людського сиртуїну. Наприклад, активуюча сиртуїн сполука може бути вибрана з таких з  $EC_{50}$  відносно деацетилазної активності людського сиртуїну, такого як SIRT1 і/або SIRT3, яка, щонайменше, в 5 разів нижча в порівнянні із значенням  $EC_{50}$  для активації дріжджового сиртуїну, такого як Sir2 (наприклад, *Candida, S. cerevisiae* і так далі) і ще переважніше, щонайменше, в 10 разів, 100 разів або навіть у 1000 разів нижча. У ще одному варіанті здійснення інгібітор білка сиртуїну нижчих еукаріотів, зокрема, дріжджів або патогенів людини, не має якої-небудь значної здатності інгібувати людський білок сиртуїн у концентраціях (наприклад, в умовах *in vivo*), ефективних для інгібування деацетилазної активності білка сиртуїну нижчих еукаріотів. Наприклад, інгібуюча сиртуїн сполука може бути вибрана з таких з  $IC_{50}$  відносно інгібування деацетилазної активності людського сиртуїну, такого як SIRT1 і/або SIRT3, яка, щонайменше, в 5 разів нижча в порівнянні зі значенням  $IC_{50}$  для інгібування дріжджового сиртуїну, такого як Sir2 (наприклад, *Candida, S. cerevisiae* і так далі) і ще переважніше, щонайменше, в 10 разів, 100 разів або навіть у 1000 разів нижча.

У деяких варіантах здійснення модулююча сиртуїн сполука може мати здатність модулювати один або більше гомологів білка сиртуїну, таких як, наприклад, один або більше людських SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6 або SIRT7. У одному варіанті здійснення модулююча сиртуїн сполука може виявляти здатність модулювати обидва білки SIRT1 і SIRT3.

У інших варіантах здійснення модулятор SIRT1 не має якої-небудь істотної здатності модулювати гомологи білка сиртуїну, наприклад, такі як один або більше людських SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6 або SIRT7, у концентраціях (наприклад, в умовах *in vivo*), ефективних для модуляції деацетилазної активності людського SIRT1. Наприклад, модулююча сиртуїн сполука може бути вибрана з таких з  $ED_{50}$  відносно модуляції деацетилазної активності людського SIRT1, яка, щонайменше, в 5 разів нижча в порівнянні із значенням  $ED_{50}$  для модуляції одного або більше людських SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6 або SIRT7, і ще переважніше, щонайменше, в 10 разів, 100 разів або навіть у 1000 разів нижча. В одному варіанті здійснення модулятор SIRT1 не має якої-небудь істотної здатності модулювати білок SIRT3.

У ще одних варіантах здійснення модулятор SIRT3 не має якої-небудь істотної здатності модулювати інші гомологи білка сиртуїну, наприклад, такі як один або більш з людських SIRT1, SIRT2, SIRT4, SIRT5, SIRT6 або SIRT7, у концентраціях (наприклад, в умовах *in vivo*), ефективних для модуляції деацетилазної активності людського SIRT3. Наприклад, модулююча сиртуїн сполука може бути вибрана з таких з  $ED_{50}$  відносно модуляції деацетилазної активності людського SIRT3, яка, щонайменше, в 5 разів нижча в порівнянні із значенням  $ED_{50}$  для модуляції одного або більше людських SIRT1, SIRT2, SIRT4, SIRT5, SIRT6 або SIRT7, і ще переважніше, щонайменше, в 10 разів, 100 разів або навіть у 1000 разів нижча. В одному варіанті здійснення модулятор SIRT3 не має якої-небудь істотної здатності модулювати білок SIRT1.

У деяких варіантах здійснення модулююча сиртуїн сполука може мати афінність зв'язування для білка сиртуїну, рівну приблизно  $10^{-9}$  M,  $10^{-10}$  M,  $10^{-11}$  M,  $10^{-12}$  M або нижчу. Модулююча сиртуїн сполука може знижувати (активатор) або підвищувати (інгібітор) значення припущеної  $K_m$  білка сиртуїну для його субстрата або Над<sup>+</sup> (або іншого кофактора), щонайменше, приблизно в 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 50 або 100 разів. У деяких варіантах здійснення значення  $K_m$  визначають з використанням методу мас-спектрометрії, описаного в даному документі.

Переважні активуючі сполуки знижують значення  $K_m$  сиртуїну для його субстрату або кофактора більшою мірою в порівнянні з ресвератролом, при використанні в тій самій концентрації, або знижують значення  $K_m$  сиртуїну для його субстрату або кофактора аналогічно ресвератролу, але в нижчій концентрації. Модулююча сиртуїн сполука може підвищувати значення  $V_{max}$  білка сиртуїну, щонайменше, приблизно в 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 50 або 100 разів. Модулююча сиртуїн сполука може мати значення  $ED_{50}$  відносно модуляції деацетилазної активності білка SIRT1 і/або SIRT3, яке нижче, ніж приблизно 1 нМ, нижче, ніж приблизно 10 нМ, нижче, ніж приблизно 100 нМ, нижче, ніж приблизно 1 мкМ, нижче, ніж приблизно 10 мкМ, нижче, ніж приблизно 100 мкМ, або в межах приблизно 1-10 нМ, приблизно 10-100 нМ, приблизно 0,1-1 мкМ, приблизно 1-10 мкМ або приблизно 10-100 мкМ. Модулююча сиртуїн сполука може модулювати деацетилазну активність білка SIRT1 і/або SIRT3, щонайменше, приблизно в 5, 10, 20, 30, 50 або 100 разів за даними клітинного тесту або тесту на основі клітин. Активуюча сиртуїн сполука може викликати щонайменше приблизно 10 %, 30 %, 50 %, 80 %, 2-, 5-, 10-, 50- або 100-кратне підвищення деацетилазної активності білка сиртуїну в порівнянні з аналогічною концентрацією ресвератролу. Модулююча сиртуїн сполука може мати значення  $ED_{50}$  відносно модуляції SIRT5, яке, щонайменше, приблизно в 10, 20, 30, 50 разів вище в порівнянні з такою для модуляції SIRT1 і SIRT3.

### 3. Приблизні застосування

У деяких аспектах винахід відноситься до способів модуляції рівня й/або активності білка сиртуїну й способам його застосування.

У деяких варіантах здійснення винахід відноситься до способів застосування модулюючих сиртуїн сполук, у яких модулюючі сиртуїн сполуки активують білок сиртуїн, наприклад, підвищують рівень або активність білка сиртуїну. Модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть бути придатними для різних терапевтичних застосувань, включаючи, наприклад, підвищення тривалості життя клітини, й лікування й/або запобігання широкому ряду захворювань і порушень, у тому числі, наприклад, захворювань і порушень, що асоціюються зі старінням або стресом, діабету, ожиріння, нейродегенеративних захворювань, серцево-судинного захворювання, порушення згортання крові, запалення, злоякісного захворювання й/або приливів крові тощо. Способи включають введення суб'єктові, що потребує цього, фармацевтично ефективної кількості модулюючої сиртуїн сполуки, наприклад активуючої сиртуїн сполуки.

Заявники даного винаходу вважають, що активатори за даним винаходом можуть взаємодіяти з сиртуїном у тому самому положенні всередині білка сиртуїну (наприклад, в активному сайті або сайті, що має вплив на значення  $K_m$  або  $V_{max}$  активного сайту). Вважають, що це і є причиною того, що деякі групи активаторів і інгібіторів сиртуїну можуть мати значну структурну аналогію.

У деяких варіантах здійснення модулюючі сиртуїн сполуки, описані в даному документі, можна використовувати самостійно або в комбінації з іншими сполуками. В одному варіанті здійснення суміш два або більше модулюючих сиртуїн сполук можна вводити суб'єктові, що потребує цього. В іншому варіанті здійснення модулюючу сиртуїн сполуку, яка приводить до підвищення рівня і/або активності білка сиртуїну, можна вводити з одним або більш з наступних сполук: ресвератролом, бутеїном, фісетином, піцеатанолом або кверцетином. У наведеному як приклад варіанті здійснення модулюючу сиртуїн сполуку, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, можна вводити в комбінації з нікотиною кислотою. В ще одному варіанті здійснення модулюючу сиртуїн сполуку, яка призводить до зниження рівня й/або активності білка сиртуїну, можна вводити з однією або більше з наступних сполук: нікотинамідом (NAM), суранімом; NF023 (антагоністом G-протеїну); NF279 (антагоністом пуринаргічного рецептора); тролоксом (6-гідрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоною кислотою); (-)-епігалокатехіном (гідроксильованим у положеннях 3,5,7,3",4",5"); (-)-епігалокатехіном галатом (гідроксильованим у положеннях 5,7,3",4",5" і галатовий ефір у положенні 3); ціанідинхлоридом (3,5,7,3",4'-пентагідроксифлавілієм хлоридом); делфінідинхлоридом (3,5,7,3",4",5'-гексагідроксифлавілієм хлоридом); мірицетином (канабісцетином; 3,5,7,3",4",5'-гексагідроксифлавоном); 3,7,3",4",5'-пентагідроксифлавоном; госипетином (3,5,7,8,3",4'-гексагідроксифлавоном), сиртинолом і сплітоміцином. У ще одному варіанті здійснення одну або більше модулюючих сиртуїн сполук можна вводити з одним або більш лікарським засобом для лікування або запобігання різним захворюванням, включаючи, наприклад, злоякісне захворювання, діабет, нейродегенеративні захворювання, серцево-судинне захворювання, порушення згортання крові, запалення, приливи крові, ожиріння, старіння, стрес тощо. В різних варіантах комбіновані лікарські засоби, що містять модулюючі сиртуїн сполуки, можуть належати до (1) фармацевтичних композицій, які містять одну або більше модулюючих сиртуїн сполук у комбінації з одним або більше лікарським

засобом (наприклад, одним або більше лікарським засобом, описаним у даному документі) і (2) спільного введення одного або більше модулюючих сиртуїн сполук з одним або більш лікарським засобом, де модулююча сиртуїн сполука й лікарський засіб не сформульовані в тих самих композиціях (але можуть знаходитися в тому самому наборі або упаковці, такий як

5 блістер або інша багатокамерна упаковка; сполучених, окремо закритих контейнерах (наприклад, у вакуумних упаковках з фольги), які може розділити користувач; або в наборі, в якому модулююча сиртуїн сполука(и) та інший лікарський засіб(и) знаходяться в окремих резервуарах. У разі вживання окремих композицій модулюючу сиртуїн сполуку можна вводити одночасно, з перервами, при чергуванні, до, після, або в комбінаціях указанного вище, по

10 відношенню до введення іншого лікарського засобу.

У деяких варіантах здійснення способи придушення, запобігання або лікування захворювань або порушень з використанням модулюючої сиртуїн сполуки також можуть включати підвищення рівня білка сиртуїну, такого як людський SIRT1, SIRT2 і/або SIRT3, або їхніх гомологів. Підвищення рівня білка можна досягти введенням у клітину однієї або більше копії

15 нуклеїнової кислоти, яка кодує сиртуїн. Наприклад, рівень сиртуїну можна підвищити в клітині ссавця введенням у клітину ссавця нуклеїнової кислоти, кодуючої сиртуїн; наприклад, підвищення рівня SIRT1 можна забезпечити введенням нуклеїнової кислоти, що кодує амінокислотну послідовність, наявну в GenBank під номером NP\_036370, і/або підвищення рівня SIRT3 можна забезпечити введенням нуклеїнової кислоти, що кодує амінокислотну

20 послідовність з номером Aa01042 в GenBank.

Нуклеїнова кислота, яку вводять у клітину для підвищення рівня білка сиртуїну, може кодувати білок, який, щонайменше, на 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % або 99 % ідентичний послідовності сиртуїну, наприклад, білка SIRT1 і/або SIRT3. Наприклад, нуклеїнова кислота, що кодує білок, можливо, щонайменше, приблизно на 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % або 99 %

25 ідентична нуклеїновій кислоті, що кодує білок SIRT1 (наприклад, у GenBank під номером NM\_012238) і/або білок SIRT3 (у GenBank під номером Bc001042). Нуклеїнова кислота також може представляти нуклеїнову кислоту, яка гібридизується переважно за важких умов з нуклеїною кислотою, кодуючою сиртуїн дикого типу, наприклад, білок SIRT1 і/або SIRT3. Жорсткі умови гібридизації можуть включати гібридизацію й відмивання в 0,2×SSC при 65°C. При використанні нуклеїнової кислоти, яка кодує білок, який відрізняється від білка сиртуїну дикого типу, такого як білок, який є фрагментом сиртуїну дикого типу, білок переважно є біологічно активним, наприклад, здатним до деацетилювання. Лише є необхідним експресувати в клітині фрагмент сиртуїну, який є біологічно активним. Наприклад, білок, який відрізняється від білка SIRT1 дикого типу з номером NP\_036370 у GenBank, переважно містить його основну

30 структуру. В деяких випадках основна структура належить до амінокислот 62-293 послідовності з номером NP\_036370 у GenBank, які кодовані нуклеотидами 237-932 з номером NM\_012238 у GenBank, яка включає домени зв'язування з НАД, а також домени зв'язування з субстратом. Основний домен SIRT1 також може належати до амінокислот приблизно 261-447 з номером NP\_036370 у GenBank, які кодовані нуклеотидами 834-1394 з номером NM\_012238 у GenBank; до амінокислот приблизно 242-493 з номером NP\_036370 у GenBank, які кодовані нуклеотидами 777-1532 з номером NM\_012238 у GenBank; або до амінокислот приблизно 254-495 з номером NP\_036370 у GenBank, які кодовані нуклеотидами 813-1538 з номером NM\_012238 у GenBank. Наскільки білок зберігає біологічну функцію, наприклад, здатність до деацетилювання, можна визначити з використанням способів, відомих у даній галузі.

У деяких варіантах здійснення способи придушення, запобігання або лікування захворювань або порушень з використанням модулюючої сиртуїн сполуки також можуть включати зниження рівня білка сиртуїну, такого як людський SIRT1, SIRT2 і/або SIRT3, або їхніх гомологів. Зниження рівня білка можна досягти з використанням способів, відомих у даній галузі. Наприклад, у клітині можна експресувати siPHK, антисмислову нуклеїнову кислоту, або рибозим, спрямований на сиртуїн. Також можна використовувати домінантно-негативний мутант сиртуїну, наприклад мутант, не здатний до деацетилювання. Наприклад, можна використовувати мутант SIRT1, H363Y, описаний, наприклад, Luo et al., (2001), Cell, 107:137. Альтернативно можна використовувати засоби, що інгібують транскрипцію.

Способи модуляції рівня білка сиртуїну також включають способи модуляції транскрипції генів, кодуючих сиртуїни, способи стабілізації/дестабілізації відповідних мРНК, та інші способи, відомі в даній галузі.

#### Старіння/стрес

У одному варіанті здійснення винахід відноситься до способу збільшення тривалості життя клітини, збільшення проліферативної здатності клітини, уповільнення старіння клітини, підвищення виживаності клітини, уповільнення клітинного старіння в клітині, мімікрії ефекту

обмеження калорій, підвищення резистентності клітини до стресу або запобігання апоптозу клітини, контактуванням клітини з модулюючою сиртуїн сполукою за винаходом, яке підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну. В наведеному як приклад варіанті здійснення способи включають контактування клітини з активуючою сиртуїн сполукою.

5       Способи, описані в даному документі, можна використовувати для підвищення періоду часу, протягом якого клітини, зокрема, первинні клітини (тобто клітини, одержані з організму, наприклад, людини) можуть зберігати життєздатність у клітинній культурі. Ембріональні стоволові клітини (ES) і плюрипотентні клітини, й клітини, що піддаються диференціюванню з них, також можна обробити модулюючою сиртуїн сполукою, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, для підтримки клітин або їх потомства, в культурі протягом триваліших періодів часу. 10       Такі клітини також можна використовувати для трансплантації суб'єктові, наприклад, після модифікації за умов *ex vivo*.

У одному варіанті здійснення клітини, які призначаються для зберігання протягом тривалих періодів часу, можна обробити модулюючою сиртуїн сполукою, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну. Клітини можуть знаходитися в суспензії (наприклад, клітини крові, сироватка, біологічні культуральні середовища тощо) або в тканинах або органах. Наприклад, клітини, відібрані в суб'єкта для трансплантації, можна обробити модулюючою сиртуїн сполукою, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, для збереження клітин крові протягом триваліших періодів часу. Додатково кров для застосування в судовій медицині також 20       можна консервувати з використанням модулюючої сиртуїн сполуки, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну. Інші клітини, які можна обробити для збільшення тривалості їх існування або захистити від апоптозу, включають клітини для вживання в їжу, наприклад, клітини від ссавців, відмінних від людини (наприклад, у м'ясі) або рослинні клітини (такі як у овочах).

25       Модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, також можна застосовувати під час фаз розвитку й росту у ссавців, рослин, комах або мікроорганізмів, наприклад, для зміни, затримки або прискорення процесу розвитку і/або росту.

У ще одному варіанті здійснення модулюючі сиртуїн сполуки, рівень, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для обробки клітин, придатних для 30       трансплантації або клітинної терапії, включаючи, наприклад, трансплантати твердих тканин, трансплантати органів, клітинні суспензії, стоволові клітини, клітини кісткового мозку тощо. Клітини або тканина можуть являти собою аутоотрансплантат, алотрансплантат, синотрансплантат або ксенотрансплантат. Клітини або тканину можна обробити модулюючою сиртуїн сполукою перед введенням/імплантацією, одночасно з введенням/імплантацією і після введення/імплантації. Клітини або тканину можна обробити до відбору клітин від донора, після витягання клітин і тканини від донора за умов *ex vivo* або після імплантації реципієнтові. 35       Наприклад, донора або реципієнта можна обробити модулюючою сиртуїн сполукою системно або групу клітин/тканини можна обробити модулюючою сиртуїн сполукою місцево, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну. В деяких варіантах здійснення клітини або тканину 40       (донора/реципієнта) можна додатково обробити іншим лікарським засобом, придатним для подовження виживаності трансплантата, наприклад, як-от імуносупресор, цитокін, ангіогенний фактор тощо.

У ще одних варіантах здійснення клітини можна обробити модулюючою сиртуїн сполукою, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну за умов *in vivo*, наприклад, для збільшення 45       тривалості їх існування або запобігання апоптозу. Наприклад, шкіру можна захистити від старіння (наприклад, від появи зморшок, втрати еластичності тощо) обробкою шкіри або епітеліальних клітин модулюючою сиртуїн сполукою, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну. В наведеному як приклад варіанті здійснення шкіру піддають контактуванню з фармацевтичною або косметичною композицією, що містить модулюючу сиртуїн сполуку, яка 50       підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну. Наведені як приклад ураження шкіри, які можна успішно лікувати з використанням способів, описаних у даному документі, включають порушення або захворювання, що асоціюються з або викликані запаленням, дією сонячних променів або природним старінням. Наприклад, композиції знайдуть застосування в запобіганні або лікуванні контактного дерматиту (включаючи контактний дерматит роздратування й алергічний контактний дерматит), атопічного дерматиту (також відомого як алергічна екзема), 55       актинічного кератозу, порушень кератинізації (включаючи екзему), бульозного епідермолілізу (включаючи пенфігус), екзофоліативного дерматиту, себорейного дерматиту, еритеми (включаючи мультиформну еритему й нодозну еритему), пошкоджень, викликаних сонячними променями або іншими джерелами світла, дискоїдного еритематозного вовчаку, 60       дерматоміозиту, псоріазу, раку шкіри й наслідків природного старіння. В ще одному варіанті

здійснення модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для лікування ран і/або опіків для прискорення загоєння, включаючи, наприклад, опіки першого, другого або третього ступеня й термічні, хімічні або електричні опіки. Композиції можна застосовувати місцево, на шкіру або слизові оболонки.

5 Композиції для місцевого застосування, що містять одну або більше модулюючих сиртуїн сполук, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, також можна використовувати як профілактичні, наприклад, композиції для хіміопередження. В разі застосування в способі хіміопередження чутливу шкіру обробляють перед появою видимого патологічного стану в конкретному суб'єкта.

10 Модулюючі сиртуїн сполуки можна вводити суб'єктові місцево або системно. В одному варіанті здійснення модулюючу сиртуїн сполуку вводять місцево на тканину або орган у суб'єкта ін'єкцією, за допомогою композиції для місцевого застосування тощо.

У ще одному варіанті здійснення модулюючу сиртуїн сполуку, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для лікування або запобігання захворюванню або стану, викликаному або загостреному під дією старіння клітин суб'єкта; у способах зниження швидкості старіння суб'єкта, наприклад, після початку старіння; у способах збільшення тривалості життя суб'єкта; у способах лікування або запобігання захворюванню або стану, пов'язаному з тривалістю життя; у способах лікування або запобігання захворюванню або стану, пов'язаному з проліферативною активністю клітин; і в способах лікування або запобігання захворюванню або стану, викликаному пошкодженням або загибеллю клітин. У деяких варіантах здійснення спосіб не функціонує за допомогою придушення швидкості розвитку захворювань, які приводять до скорочення тривалості життя суб'єкта. В деяких варіантах здійснення спосіб не функціонує через зниження летальності, викликані захворюванням, як-от злоякісне захворювання.

25 У ще одному варіанті здійснення модулюючу сиртуїн сполуку, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, можна вводити суб'єктові зазвичай для підвищення тривалості існування його клітин і для захисту його клітин від стресу й/або апоптозу. Вважається, що лікування суб'єкта за допомогою сполуки, описаної в даному документі, аналогічно дії на суб'єкт гормезису, тобто м'якого стресу, який має позитивний вплив на організми й може приводити до збільшення тривалості життя.

Модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна вводити суб'єктові для запобігання старінню й пов'язаним із старінням наслідкам або захворюванням, як-от інсульт, серцеве захворювання, серцева недостатність, артрит, високий кров'яний тиск і хвороба Альцгеймера. Інші патологічні стани, які можна лікувати, включають захворювання очей, наприклад, пов'язані із старінням очей, такі як катаракти, глаукома й макулярна дегенерація. Модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, також можна вводити суб'єктам для лікування захворювань, наприклад хронічних захворювань, що асоціюються із загибеллю клітин, для захисту клітин від загибелі. Наведені як приклад захворювання включають пов'язані із загибеллю нейронів, дисфункцією нейронів або загибеллю або дисфункцією м'язових клітин, такі як хвороба Паркінсона, хвороба Альцгеймера, розсіяний склероз, аміотрофічний бічний склероз і м'язова дистрофія; СНІД; швидкоплинний гепатит; захворювання, пов'язані з дегенерацією мозку, такі як хвороба Крейцфельда-Якоба; пігментний ретиніт і дегенерація кори мозочка; мієлодисплазія, така як апластична анемія; ішемічне захворювання, таке як інфаркт міокарду й інсульт; захворювання печінки, такі як гепатит у результаті зловживання алкоголем, гепатит В і гепатит С; захворювання суглобів, такі як остеоартрит; атеросклероз; алопеція; пошкодження шкіри, викликане дією УФ-променів; червоний плоский лишай; атрофія шкіри; катаракта й відторгнення трансплантата. Загибель клітин також може бути викликана хірургічною операцією, терапією лікарськими препаратами, дією хімічних речовин або радіації.

50 Модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, також можна вводити суб'єктові, що страждає на гостре захворювання, що виникло, наприклад, у результаті пошкодження органу або тканини, наприклад, суб'єктові, що страждає на інсульт або інфаркт міокарду, або суб'єктові, що страждає на пошкодження спинного мозку. Модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, також можна використовувати для відновлення печінки в осіб, що страждають на алкоголізм.

Серцево-судинне захворювання

У ще одному варіанті здійснення винахід відноситься до способу лікування і/або запобігання серцево-судинному захворюванню введенням суб'єктові, що потребує цього, модулюючої сиртуїн сполуки, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну.

60 Серцево-судинні захворювання, що їх можна лікувати або запобігати з використанням

модулюючих сиртуїн сполук, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, включають кардіоміопатію або міокардит; як-от ідіопатична кардіоміопатія, метаболічна кардіоміопатія, кардіоміопатія в результаті зловживання алкоголем, викликана лікарськими препаратами кардіоміопатія, ішемічна кардіоміопатія й кардіоміопатія в результаті гіпертензії. Також

5 піддаються лікуванню й запобіганню з використанням сполук і способів, описаних у даному документі, атероматозні порушення крупних кровоносних судин (макроваскулярне захворювання), таких як аорта, коронарні артерії, сонні артерії, цереброваскулярні артерії, ниркові артерії, клубові артерії, стегнові артерії й підколінні артерії. Інші судинні захворювання, яким можна лікувати або запобігати, включають такі, пов'язані з агрегацією тромбоцитів,

10 нирковими артеріолами, гломерулярними артеріолами, судинами нервів, серцевими артеріолами і зв'язаними капілярними руслами ока, нирок, серця й центральною й периферичною нервовою системою. Модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, також можна використовувати для підвищення вмісту ЛНЩ у плазмі крові в суб'єкта.

15 Ще одні порушення, які можна лікувати модулюючими сиртуїн сполуками, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, включають рестеноз, наприклад, після втручання на коронарних артеріях, і порушення, що відносяться до аномального рівня холестерину високої щільності й низької щільності.

У одному варіанті здійснення модулюючу сиртуїн сполуку, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, можна вводити як компонент комбінованої терапії з іншим серцево-судинним препаратом. У одному варіанті здійснення модулюючу сиртуїн сполуку, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, можна вводити як компонент комбінованої терапії з лікарським засобом проти аритмії. В ще одному варіанті здійснення модулюючу сиртуїн сполуку, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, можна вводити як компонент комбінованої

20 терапії з іншим серцево-судинним препаратом.

Загибель клітин/злоякісне захворювання

Модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна вводити суб'єктам, що недавно отримали або які отримуватимуть дію радіації або токсину. В одному варіанті здійснення одержання дози радіації або токсину пов'язане з характером роботи

30 або лікувальним втручанням, наприклад, при введенні як профілактична міра. В іншому варіанті дія радіації або токсину є невмисною. В такому разі сполуку краще вводити якомога раніше після дії для придушення апоптозу й подальшого розвитку гострого радіаційного синдрому.

Модулюючі сиртуїн сполуки також можна використовувати для лікування і/або запобігання злоякісному захворюванню. В деяких варіантах здійснення модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна застосовувати для лікування й запобігання злоякісному захворюванню. Обмеження в калоріях асоціюється із зниженням частоти розвитку зв'язаних з віком порушень, у тому числі злоякісного захворювання. Отже, підвищення рівня і/або активності білка сиртуїну може бути корисним для лікування і/або запобігання частоті вияву вікових порушень, наприклад, таких як рак. Наведені як приклад

40 злоякісні захворювання, які можна лікувати з використанням модулюючої сиртуїн сполуки, представляють злоякісні пухлини мозку й нирок; гормонзалежні злоякісні пухлини, включаючи карциноми молочної залози, передміхурової залози, яєчок і яєчника; лімфоми й лейкомії. При злоякісних захворюваннях, що асоціюються з солідними пухлинами, модулюючу сполуку можна вводити безпосередньо в пухлину. Злоякісні захворювання крові, наприклад лейкомію, можна

45 лікувати введенням модулюючої сполуки в кров'яне русло або в кістковий мозок. Також можна впливати на доброякісний ріст клітин, наприклад, лікувати бородавки. Інші захворювання, які можна лікувати, включають аутоімунні захворювання, наприклад системний червоний вовчак, склеродерму й артрит, при яких слід елімінувати аутоімунні клітини. Також можна лікувати вірусні інфекції, такі як герпес, ВІЛ, аденовірусна інфекція і HTLV-1, пов'язані із злоякісними й

50 доброякісними порушеннями, введенням модулюючої сиртуїн сполуки. Альтернативно клітини, отримані від суб'єкта, можна обробити в умовах ex vivo для видалення небажаних клітин, наприклад злоякісних клітин, і ввести назад тому самому або іншому суб'єктові.

Хіміотерапевтичні препарати можна вводити спільно з модулюючими сполуками, описаними в даному документі, як такі, що мають протипухлинну активність, наприклад сполуками, які

55 індують апоптоз, сполуками, які зменшують тривалість існування клітин, або сполуками, які роблять клітини чутливими до стресу. Хіміотерапевтичні препарати можна застосовувати самі по собі з модулюючою сиртуїн сполукою, описаною в даному документі, як такі, що індують загибель або знижують тривалість існування клітин, що підвищують чутливість клітин до стресу і/або в комбінації з іншими хіміотерапевтичними препаратами. На додаток до звичайних

60 хіміотерапевтичних препаратів модулюючі сиртуїн сполуки, описані в даному документі, також

можна використовувати разом з антисмисловою РНК, іРНК або іншими полінуклеотидами для інгібування експресії клітинних компонентів, що беруть участь у небажаній клітинній проліферації.

Комбіновані схеми лікування, що включають модулюючі сиртуїн сполуки і звичайний хіміотерапевтичний препарат, можуть мати переваги в порівнянні з комбінованими схемами лікування, відомими в даній галузі, оскільки поєднане введення дозволяє хіміотерапевтичному препарату виявляти більший ефект у нижчих дозах. У переважному варіанті здійснення ефективна доза ( $ED_{50}$ ) для хіміотерапевтичного препарату або комбінації хіміотерапевтичних препаратів, при використанні в поєднанні з модулюючою сиртуїн сполукою, буде, щонайменше, вдвічі нижчою порівняно до  $ED_{50}$  для одного хіміотерапевтичного препарату й ще переважніше в 5, 10 і навіть 25 разів нижча. На противагу терапевтичний індекс (TI) для хіміотерапевтичного препарату або комбінації таких хіміотерапевтичних препаратів, при використанні в поєднанні з модулюючою сиртуїн сполукою, буде, щонайменше, вдвічі вищий у порівнянні з TI для одного хіміотерапевтичного препарату і ще переважніше в 5, 10 і навіть 25 разів вищий.

#### 15 Нервові захворювання/порушення

У деяких аспектах модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для лікування пацієнтів, що страждають на нейродегенеративні захворювання, й травматичні та механічні пошкодження органів центральної нервової системи (ЦНС), спинного мозку або периферичної нервової системи (ПНС). Як правило, нейродегенеративні захворювання включають зниження маси й об'єму мозку людини в результаті атрофії і/або загибелі клітин мозку, які істотно більш виражені в порівнянні з цими явищами у здорової людини, коли причиною є старіння. Нейродегенеративні захворювання можуть розвиватися поступово, після тривалого періоду нормального функціонування мозку, в результаті прогресуючої дегенерації (наприклад, дисфункції й загибелі нервових клітин) у специфічних ділянках мозку. Альтернативно нейродегенеративні захворювання можуть мати раптовий початок, наприклад, як це відбувається при травмі або дії токсинів. Фактичний початок розвитку дегенерації мозку може передувати клінічному прояву протягом багатьох років. Приклади нейродегенеративних захворювань включають, не обмежуючись цим, хворобу Альцгеймера (AD), хворобу Паркінсона (PD), хворобу Гантінгтона (HD), аміотрофічний бічний склероз (ALS; хвороба Луї Гехріга), хворобу дифузних тілець Леві, хорею-акантоцитоз, первинний бічний склероз, очні хвороби (неврит зорового нерва), викликані хіміотерапією нейропатії (наприклад, у результаті вживання вінкристину, паклітакселу, бортезомібу), викликані діабетом нейропатії й атаксію Фрідріха. Модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для лікування даних та інших порушень, описаних нижче.

AD є порушенням ЦНС, яке приводить до втрати пам'яті, аномальної поведінки, змін особистості й зниження розумових здібностей. Дані зміни є результатом загибелі клітин мозку певних типів і руйнування зв'язків і підтримуючої мережі (наприклад, гліальних клітин) між ними. Найраніші симптоми включають утрату пам'яті на недавні події, неправильну думку й зміни особистості. PD є порушенням ЦНС, наслідки якого виявляються в неконтрольованих рухах тіла, ригідності, треморі й дискінезії, й воно асоційоване із загибеллю клітин мозку в ділянках мозку, які продукують дофамін. ALS (моторно-нейронний розлад) являє собою порушення ЦНС, при якому атаці піддаються моторні нейрони, компоненти ЦНС, що пов'язують мозок із скелетними м'язами.

HD є ще одним нейродегенеративним захворюванням, яке викликає появу неконтрольованих рухів, утрату інтелектуальних здібностей і емоційне порушення. Хвороба Тай-Сакса й хвороба Сандхоффа являють собою хвороби накопичення гліколіпідів, при яких GM2-гангліозид і зв'язані гліколіпідні субстрати  $\beta$ -гексозамінідази акумулюються в нервовій системі і "запускають" гостру нейродегенерацію.

Добре відомо, що апоптоз грає роль у патогенезі СНІД в імунній системі. Проте ВІЛ-1 також викликає неврологічне захворювання, яке можна лікувати модулюючою сиртуїн сполукою за винаходом.

Втрата нейронів також є характерною ознакою пріонових захворювань, таких як хвороба Крейцфельда-Якоба в людини, BSE у великої рогатої худоби ("коров'ячий сказ"), губчастий енцефаліт у овець і спонгіформна енцефалопатія (FSE) у кішок. Модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть бути придатними для лікування або запобігання втраті нейронів у результаті вказаних вище захворювань.

У іншому варіанті здійснення модулюючу сиртуїн сполуку, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для лікування й запобігання будь-якому захворюванню або порушенню, яке включає аксонопатію. Дистальна аксонопатія представляє



тип периферичної нейропатії, яка виникає в результаті деяких метаболічних або токсичних пошкоджень нейронів периферичної нервової системи (ПНС). Це найбільш загальна відповідна реакція нервів на метаболічні або токсичні порушення, й вони можуть бути викликані обмінними захворюваннями, такими як діабет, ниркова недостатність, синдроми дефіциту, такі як порушення харчування й алкоголізм, або дією токсинів або лікарських препаратів. Такі при дистальних аксонопатіях зазвичай мають місце з симетричними сенсорно-моторними порушеннями. Рефлекси глибоких сухожиль і функції вегетативної нервової системи (АНС) також зникають або знижуються в уражених зонах.

Діабетичні нейропатії представляють нейропатичні розлади, які пов'язані з цукровим діабетом. Відносно поширені стани, які можуть бути асоційовані з діабетичною нейропатією, включають параліч трьох нервів; мононейропатію; мононеврит; діабетичну аміотрофію; хворобливу полінейропатію; вегетативну нейропатію й торакоабдомінальну нейропатію.

Периферична нейропатія є медичним терміном, який позначає пошкодження нервів периферичної нервової системи, викликане хворобами нервів або що є побічним ефектом системного захворювання. Основні причини периферичної нейропатії включають судоми, нестачу харчування і ВІЛ, хоча найчастішою причиною є діабет.

У наведеному як приклад варіанті здійснення модулюючу сиртуїн сполуку, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для лікування або запобігання розсіяному склерозу (MS), у тому числі рецидивуючого MS і моносимптоматичного MS та інших демієлізуючих станів, наприклад таких, як хронічна запальна демієлізуюча полінейропатія (CIPD), або симптомів, що асоціюються з ними.

У ще одному варіанті здійснення модулюючу сиртуїн сполуку, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, можна застосовувати для лікування травми нервів, включаючи травми, захворювання, що виникають у результаті захворювання, пошкодження (в тому числі хірургічного втручання), або травми за рахунок навколишнього середовища (наприклад, у результаті дії нейротоксинів, алкоголізму тощо).

Модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, також можуть бути придатними для запобігання, лікування й послаблення симптомів різних порушень ПЦС. Термін "периферична нейропатія" включає широку низку розладів, при яких пошкодженню піддаються нерви поза головним і спинним мозком, – периферичні нерви. Периферичну нейропатію також можна розглядати як периферичний неврит, або, якщо уражено багато нервів, то можна використовувати терміни "полінейропатія" і "поліневрит".

Захворювання ПЦС, що піддаються лікуванню модулюючими сиртуїн сполуками, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, включають діабет, проказу, хворобу Шарко-Мари-Туса, синдром Гійома-Барре й нейропатії плечового сплетення (захворювання шийного й першого грудного корінців, нервових стволів, тяжей і компонентів периферичних нервів плечового сплетення).

У ще одному варіанті здійснення активуючу сиртуїн сполуку можна використовувати для лікування або запобігання поліглутаміновій хворобі. Наведені як приклад поліглутамінові хвороби включають спинобульбарну м'язову атрофію (хвороба Кенеді), хворобу Гантінгтона (HD), дентаторубро-паллідольоїсову атрофію (синдром річки Хо), спиноцеребелярну атаксію типу 1, спиноцеребелярну атаксію типу 2, спиноцеребелярну атаксію типу 3 (хвороба Мачадо-Жозефа), спиноцеребелярну атаксію типу 6, спиноцеребелярну атаксію типу 7 і спиноцеребелярну атаксію типу 17.

У деяких варіантах здійснення винахід відноситься до способу лікування клітин центральної нервової системи для запобігання пошкодженню у відповідь на зниження потоку крові до клітин. Як правило, важкість пошкодження, яку можна попередити, залежатиме від міри зниження потоку крові до клітин і тривалості зниження. В одному варіанті здійснення загибелі апоптичних або некротичних клітин можна запобігти. В ще одному варіанті здійснення можна попередити опосередковане ішемією пошкодження, таке як цитотоксичний набряк або аноксемія тканин центральної нервової системи. В кожному варіанті здійснення клітини центральної нервової системи можуть бути клітинами спинного мозку або клітинами головного мозку.

Інший аспект включає введення суб'єктові активуючої сиртуїн сполуки для лікування ішемічного стану центральної нервової системи. Низку ішемічних станів центральної нервової системи можна піддати лікуванню активуючими сиртуїн сполуками, описаними в даному документі. В одному варіанті здійснення ішемічний стан являє собою інсульт, який виникає при будь-якому ішемічному пошкодженні центральної нервової системи, такому як загибель апоптичних або некротичних клітин, цитотоксичний набряк або аноксія тканин центральної нервової системи. Інсульт може вражати будь-яку ділянку мозку або мати будь-яку етіологію, про яку відомо, що вона приводить до розвитку інсульту. В одній альтернативі даного варіанту

здійснення інсульт представляє інсульт стовбура мозку. В іншій альтернативі даного варіанту здійснення інсульт є церебелярним інсультом. У ще одній альтернативі даного варіанту здійснення інсульт представляє емболічний інсульт. У ще одній альтернативі інсульт є геморагічним інсультом. У додатковому варіанті здійснення інсульт представляє тромботичний інсульт.

У ще одному аспекті активуючу сиртуїн сполуку можна вводити для зменшення об'єму інфаркту в корі з ішемією після ішемічного стану центральної нервової системи. Крім того, активуючу сиртуїн сполуку також переважно вводити для зниження розміру "ішемічної півтіні" або проміжної зони після ішемічного стану центральної нервової системи.

У одному варіанті здійснення комбінована схема лікування може включати лікарські препарати або сполуки для терапії або запобігання нейродегенеративним порушенням або вторинним порушенням, пов'язаним з даними станами. Таким чином, комбінована схема лікування може включати застосування одного або більше активаторів сиртуїну й одного або більше лікарських засобів проти нейродегенерації.

Порушення згортання крові

У інших аспектах модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для лікування або запобігання порушенням згортання крові (або гемостатичних порушень). У тому сенсі, в якому взаємозамінно використовуються терміни "гемостаз", "згортання крові" і "згортання крові" в даному документі, то вони відносяться до контролю кровотечі, включаючи фізіологічні властивості звуження судин і коагуляцію. Згортання крові допомагає зберігати цілісність системи кровообігу у ссавців після пошкодження, запалення, захворювання, вроджених дефектів, дисфункції та інших порушень. Проте утворення кров'яних згустків не лише зупиняє кровотечу в разі травми (гемостаз), але також може привести до серйозного пошкодження й загибелі органів при атеросклерозних захворюваннях за допомогою оклюзії важливої артерії або вени. Таким чином, тромбоз представляє утворення кров'яного згустку в неправильний час і в неправильному місці.

Отже, даний винахід відноситься до антикоагуляційної й противотромбічної терапії, направленої на придушення утворення кров'яних згустків у цілях запобігання або лікування порушень згортання крові, таких як інфаркт міокарду, інсульт, утрата кінцівки при захворюванні периферичних артерій або емболії легенів.

У тому сенсі, в якому взаємозамінно використовуються терміни "модуляція або модуляція гемостазу" й "регулювання або регуляція гемостазу" в даному документі, то вони включають індукцію (наприклад, стимуляцію або підвищення) гемостазу, а також інгібування (наприклад, зниження або зменшення) гемостазу.

У одному аспекті винахід відноситься до способу зниження або придушення гемостазу в суб'єкта введенням модулюючої сиртуїн сполуки, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну. Композиції й способи, розкриті в даному документі, є придатними для лікування або запобігання тромботичним ускладненням. У тому сенсі, в якому використовується термін "тромботичне ускладнення" в даному документі, то він включає будь-яке порушення або стан, для якого характерне надлишкове або небажане згортання або гемостатична активність, або стан гіперкоагуляції. Тромботичні ускладнення включають захворювання або порушення, в розвитку яких беруть участь адгезія тромбоцитів і утворення тромбу, і вони можуть виражатися в підвищеній схильності до утворення тромбів, наприклад підвищеній кількості тромбів, тромбозу в дитячому віці, наявності фамільної тенденції до тромбозу й утворення тромбів у незвичайних місцях.

У іншому варіанті здійснення комбінована схема лікування може включати лікарські препарати й сполуки для терапії й запобігання порушенням згортання крові або вторинним порушенням, що асоціюються з даними станами. Таким чином, комбінована схема лікування може включати застосування однієї або більше модулюючих сиртуїн сполук, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, й одного або більш лікарських антикоагуляційних або противотромботичних засобів.

Контроль маси тіла

У ще одному аспекті модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для лікування або запобігання підвищенню маси тіла або ожирінню в суб'єкта. Наприклад, модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для лікування або запобігання спадковій формі ожиріння, харчового ожиріння, пов'язаного з гормонами ожиріння, ожиріння, розвинутого в результаті введення лікарських препаратів, для зниження маси тіла в суб'єкта, або зниження або запобігання збільшенню маси тіла в суб'єкта. Суб'єкт, що потребує такого лікування, може бути суб'єктом, що страждає на ожиріння, в якого є вірогідність розвитку ожиріння, суб'єктом з

надлишковою масою тіла або вірогідністю появи надлишкової маси тіла. Суб'єктів, у яких є вірогідність появи ожиріння або надлишкової маси тіла, можна встановити, наприклад, ґрунтуючись на фамільному анамнезі, генетичних даних, раціоні, рівні активності, прийомі лікарських препаратів або їх різних комбінацій.

У ще одних варіантах здійснення модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна вводити суб'єктам, що страждають на різні інші захворювання й стани, які можна лікувати або запобігати за допомогою посилення втрати маси тіла. Такі захворювання включають, наприклад, високий кров'яний тиск, гіпертензію, високий рівень холестерину, дисліпідемію, діабет типу 2, резистентність до інсуліну, інтолерантність до глюкози, гіперінсулінемію, коронарне захворювання серця, стенокардію, застійну серцеву недостатність, інсульт, камені в жовчному міхурі, холецистит і холелітіаз, подагру, остеоартрит, обструктивну зупинку дихання під час сну і проблеми з диханням, деякі типи злоякісних пухлин (такі як карциноми ендометрію, молочної залози, передміхурової залози й ободової кишки), ускладнення під час вагітності, проблеми з репродуктивною системою в жінок (такі як нерегулярність менструацій, безпліддя, нерегулярна овуляція), проблеми з сечовим міхуром (такі як нетримання сечі при стресах), уратний нефролітіаз, психічні розлади (такі як депресія, розлади з прийомом їжі, спотворене зображення тіла й низька самооцінка). Нарешті, в пацієнтів зі СНІДом може розвинути лїподистрофія або резистентність до інсуліну у відповідь на комбіновану терапію СНІДу.

В інших варіантах здійснення модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для придушення адипогенезу або жирового клітинного переродження в умовах *in vitro* або *in vivo*. Такі способи можна використовувати для лікування або запобігання ожирінню.

У ще одних варіантах здійснення модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для зниження апетиту й/або появи відчуття ситості із забезпеченням тим самим зниження маси тіла й уникнення збільшення маси тіла. Суб'єкт, що потребує такого лікування, може бути суб'єктом з надлишковою масою тіла, ожирінням і суб'єктом, в якого є вірогідність мати надлишкову масу тіла або ожиріння. Спосіб може включати введення суб'єктові дози сполуки, наприклад, у вигляді пілюлі щодня, через день або раз на тиждень. Доза може представляти "дозу, що знижує апетит" сполуки.

В наведеному як приклад варіанті здійснення модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна застосовувати у вигляді комбінованої терапії для лікування й запобігання збільшенню маси тіла або ожиріння. Наприклад, одна або більше модулюючих сиртуїн сполук, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна вводити в комбінації з одним або більше засобів проти ожиріння.

У ще одному варіанті здійснення модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна вводити для придушення викликаного лікарськими препаратами підвищення маси тіла. Наприклад, модулюючу сиртуїн сполуку, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, можна застосовувати у вигляді комбінованої терапії з лікарськими препаратами, які можуть стимулювати апетит або викликати збільшення маси тіла, зокрема, збільшення маси тіла за рахунок факторів, інших, ніж затримка води.

#### Метаболічні порушення/діабет

У іншому аспекті модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для лікування або запобігання метаболічному порушенню, такому як резистентність до інсуліну, переддіабетичний стан, діабет типа II і його ускладнення. Введення модулюючих сиртуїн сполук, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть приводити до підвищення чутливості до інсуліну й знижувати рівень інсуліну в суб'єкта. Суб'єкт, що потребує такого лікування, може бути суб'єктом, у якого є резистентність до інсуліну або інший симптом, передуючий діабету типа II, або якому поставлений діагноз діабету типу II, або в якого є вірогідність розвитку даних патологічних станів. Наприклад, суб'єкт може представляти суб'єкта з резистентністю до інсуліну, наприклад, у якого є високі концентрації інсуліну в крові й/або асоційовані стани, такі як гіперліпідемія, порушення ліпогенезу, гіперхолестеролемія, аномальна толерантність до глюкози, високий рівень цукру глюкози в крові, інші прояви синдрому X, гіпертензія, атеросклероз і лїподистрофія.

У наведеному як приклад варіанті здійснення модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна застосовувати у вигляді комбінованої терапії для лікування або запобігання метаболічному порушенню. Наприклад, одна або більше модулюючих сиртуїн сполук, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна вводити в комбінації з одним або більш антидіабетичним засобом.

#### Запальні захворювання

У інших аспектах модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для лікування або запобігання захворюванню або порушенню, яке асоційоване із запаленням. Модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна вводити до, під час або після початку розвитку запалення. При використанні в профілактичних цілях сполуки переважно слід застосовувати заздалегідь, до вияву якої-небудь запальної відповідної реакції або симптому. Введення сполук може попередити або послабити запальні реакції або симптоми.

У ще одному варіанті здійснення модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для лікування або запобігання алергічним і респіраторним захворюванням, що включають астму, бронхіт, фіброз легенів, алергічний риніт, кисневе отруєння, емфізему, хронічний бронхіт, гострий респіраторний дистрес-синдром і будь-яке хронічне обструктивне захворювання легенів (COPD). Сполуки можна використовувати для лікування хронічного гепатиту, в тому числі, гепатиту В і гепатиту С.

Крім того, модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для лікування аутоімунних захворювань, і/або запалення, що асоціюється з аутоімунними захворюваннями, такими як органотканинні аутоімунні захворювання (наприклад, синдром Рейно), склеродерма, важка псевдопаралітична міастенія, відторгнення трансплантата, ендотоксичний шок, сепсис, псоріаз, екзема, дерматит, розсіяний склероз, аутоімунний тиреоїдит, увеїт, системний червоний вовчак, хвороба Аддісона, аутоімунне поліграндулярне захворювання (також відоме як поліграндулярний синдром) і хвороба Граве.

У деяких варіантах здійснення одну або більше модулюючих сиртуїн сполук, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна застосовувати самостійно або в комбінації з іншими сполуками, придатними для лікування або запобігання запаленню.

#### Приливи крові

У ще одному аспекті модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для зменшення частоти або важкості приливів крові й/або гарячих приливів, які є симптомами порушення. Наприклад, спосіб включає застосування модулюючих сиртуїн сполук, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, самостійно або в комбінації з іншими засобами, в цілях зниження частоти або важкості приливів і гарячих приливів у пацієнтів із злоякісним захворюванням. У ще одних варіантах здійснення спосіб відноситься до застосування модулюючих сиртуїн сполук, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну в цілях зниження частоти або важкості приливів крові й/або гарячих приливів у жінок у періоді менопаузи й після менопаузи.

У ще одному аспекті модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для терапії в цілях зниження частоти або важкості приливів крові й/або гарячих приливів, які є побічними ефектами терапії іншим лікарським засобом, наприклад, викликаються лікарськими препаратами. В деяких варіантах здійснення спосіб лікування і запобігання приливам, що викликаються лікарськими препаратами, включає введення пацієнтові, що потребує цього, композиції, що містить щонайменше одну сполуку, що викликає приливи, і щонайменше одну модулюючу сиртуїн сполуку, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну. В інших варіантах здійснення спосіб лікування й/або запобігання приливам, викликаним лікарським препаратом, включає роздільне введення однієї або більше сполук, що викликають приливи, і однієї або більше модулюючих сиртуїн сполук, наприклад, коли модулююча сиртуїн сполука й лікарський препарат, що викликає приливи, не формульовані в тих самих композиціях. У разі застосування окремих композицій модулюючу сиртуїн сполуку можна вводити (1) одночасно з лікарським засобом, що викликає приливи; (2) з інтервалами з лікарським засобом, що викликає приливи; (3) в чергуванні з лікарським засобом, що викликає приливи; (4) перед введенням лікарського засобу, що викликає приливи; (5) після введення лікарського засобу, що викликає приливи, і (6) в різних комбінаціях указанного. Наведені як приклад лікарські засоби, що викликають приливи, наприклад, включають ніацин, фалоксифен, антидепресанти, антипсихотичні препарати, хіміотерапевтичні препарати, блокатори кальцієвих каналів і антибіотики.

У одному варіанті здійснення модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для придушення побічних ефектів у вигляді приливів у судинорозширювальних препаратів і антиліпемічних засобів (включаючи засоби проти підвищеного вмісту холестерину й ліпотропні препарати). В наведеному як приклад варіанті здійснення модулюючу сиртуїн сполуку, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для зменшення приливів крові, що асоціюються з уведенням ніацину.

У ще одному варіанті здійснення винахід відноситься до способу лікування й запобігання гіперліпідемії з послабленням побічних ефектів у вигляді приливів. У ще одному показовому варіанті здійснення спосіб включає застосування модулюючої сиртуїн сполуки, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, для придушення побічних ефектів у вигляді приливів у ралоксифену. У ще одному показовому варіанті здійснення спосіб включає застосування модулюючої сиртуїн сполуки, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, для послаблення побічних ефектів у вигляді приливів у антидепресантів або антипсихотичних препаратів. Наприклад, модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати у поєднанні з інгібітором повторного захвату серотоніну або антагоніста рецептора 5HT<sub>2</sub>.

У деяких варіантах здійснення модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати як компонент терапії з інгібітором повторного захвату серотоніну (SRI) для послаблення приливів. У ще одному показовому варіанті здійснення модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для придушення побічних ефектів у вигляді приливів у хіміотерапевтичних препаратів, таких як циклофосфамід і тамоксифен.

У ще одному варіанті здійснення модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна застосовувати для зменшення побічних ефектів у вигляді приливів у блокаторів кальцієвих каналів, таких як амлодипін.

У ще одному варіанті здійснення модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для послаблення побічних ефектів у вигляді приливів у антибіотиків. Наприклад, модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна використовувати в комбінації з левофлоксацином.

#### Очні хвороби

Одним аспектом даного винаходу є спосіб придушення, зниження або лікування іншим чином порушення зору введенням пацієнтові терапевтичної дози модулятора сиртуїну, вибраного зі сполук, розкритих у даному документі, або його фармацевтично прийнятної солі, проліків або метаболіту.

В деяких аспектах винаходу порушення зору викликане пошкодженням зорового нерва або патологій центральної нервової системи. В конкретних варіантах здійснення пошкодження зорового нерва викликане високим внутрішньоочним тиском, як це відбувається при розвитку глаукоми. В інших конкретних варіантах здійснення пошкодження зорового нерва пов'язане з набуханням нерва, яке часто пов'язане з інфекцією або імунною (наприклад, аутоімунною) відповіддю, як це має місце при невриті зорового нерва.

У деяких аспектах винаходу порушення зору викликане пошкодженням сітківки. В конкретних варіантах здійснення пошкодження сітківки викликане порушенням припливу крові до ока (наприклад, як це має місце при атеросклерозі, васкуліті). В конкретних варіантах здійснення пошкодження сітківки викликане пошкодженням жовтої плями (наприклад, при ексудативній або неексудативній макулярній дегенерації).

Наведені як приклад захворювання сітківки включають ексудативну вікову макулярну дегенерацію, неексудативну вікову макулярну дегенерацію, електронний протезис сітківки й трансплантаційну вікову макулярну дегенерацію RPE, гостру мультифокальну плакоїдну пігментну епітеліопатію, гострий некроз сітківки, хворобу Беста, оклюзію гілки центральної артерії сітківки, оклюзію гілки центральної вени сітківки, ретинопатії, асоційовані із злоякісною пухлиною й аутоімунним захворюванням, оклюзію центральної артерії сітківки, оклюзію центральної вени сітківки, центральну важку хоріоретинопатію, хворобу Ілса, епімакулярну фіброзну мембрану, сітчасту дегенерацію сітківки, макроаневризму, діабетичний набряк жовтої плями, макулярний набряк Ірвіна-Гасса, макулярний отвір, неоваскулярні мембрани під сітківкою, дифузний унілатеральний підгострий нейроретиніт, непсевдофакічний цистоїдний макулярний набряк, синдром передбачуваного окулярного гістоплазмозу, ексудативне відшаровування сітківки, постопераційне відшаровування сітківки, проліферативне відшаровування сітківки, регматогенне відшаровування сітківки, тракційне відшаровування сітківки, пігментний ретиніт, ретиніт, викликаний CMV, ретинобластома, ретинопатію в недоношених дітей, ретинопатію Бердшота, фонову діабетичну ретинопатію, проліферативну діабетичну ретинопатію, ретинопатію при гемоглобінопатії, ретинопатію Пурчера, ретинопатію Вальсальви, юнацький ретиношиз, старечий ретиношиз, синдром Терсона й синдром білої плями.

Інші наведені як приклад захворювання включають очні бактерійні інфекції (наприклад, кон'юнктивіт, кератит, туберкульоз, сифіліс, гонорею), вірусні інфекції (наприклад, інфекції очей, викликані вірусом герпесу простого, вірусом вітряної віспи, ретиніт, викликаний

цитомегаловірусом, вірусом імунodefіциту людини (ВІЛ), а також прогресуючий некроз зовнішніх шарів сітківки, вторинний ВІЛ або інші ВІЛ-асоційовані інфекції), та інші асоційовані з імунodefіцитом очні захворювання. Крім того, очні хвороби включають грибові інфекції (наприклад, хороїдит, викликаний *Candida*, гістоплазмоз), протозойні інфекції (наприклад, токсоплазмоз) та інші, такі як очний токсокароз і саркоїдоз.

Одним аспектом винаходу є спосіб придушення, зниження або лікування порушення зору в суб'єкта, що піддався лікуванню хіміотерапевтичним препаратом (наприклад, нейротоксичним препаратом, препаратом, що приводить до підвищення внутрішньоочного тиску, таким як стероїд) хіміотерапії, введенням суб'єктові, що потребує такого лікування, терапевтичної дози модулятора сиртуїну, розкритого в даному документі.

Іншим аспектом винаходу є спосіб придушення, зниження або лікування порушення зору в суб'єкта, підданого хірургічній операції, включаючи хірургічну операцію на очах та інші, проведені на зв'язаних внутрішніх органах, такі як хірургічна операція на спинному мозку, введенням суб'єктові, що потребує такого лікування, терапевтичної дози модулятора сиртуїну, розкритого в даному документі. Очні хірургічні операції включають операції з приводу катаракти, іридотомії та заміни кришталика.

Ще одним аспектом винаходу є лікування, включаючи придушення й профілактичне лікування, пов'язаних з віком очних хвороб, у тому числі катаракти, сухого ока, вікової макулярної дегенерації (AMD), пошкодження сітківки й т.п., введенням суб'єктові, що потребує такого лікування, терапевтичної дози модулятора сиртуїну, розкритого в даному документі.

Ще одним аспектом винаходу є запобігання або лікування пошкодження ока, викликаного стресом, інсульту в результаті дії хімічних речовин або радіації, введенням суб'єктові, що потребує такого лікування, терапевтичної дози модулятора сиртуїну, розкритого в даному документі. Радіаційне або електромагнітне пошкодження ока може включати такі, викликані CRT або дією сонячного світла або УФ.

У одному варіанті здійснення комбінована схема лікування може включати лікарські препарати й сполуки для лікування або запобігання очним порушенням або вторинним захворюванням, що асоціюються з даними патологічними станами. Таким чином, комбінована схема лікування може включати один або більше активаторів сиртуїну й один або більше лікарських засобів для лікування захворювання очей.

У одному варіанті здійснення модулятор сиртуїну можна вводити у поєднанні з терапією для зниження внутрішньоочного тиску. В іншому варіанті здійснення модулятор сиртуїну можна вводити у поєднанні з терапією, використовуюваною для лікування і/або запобігання глаукомі. У ще одному варіанті здійснення модулятор сиртуїну можна вводити у поєднанні з терапією, використовуюваною для лікування і/або запобігання невриту зорового нерва. В ще одному варіанті здійснення модулятор сиртуїну можна вводити у поєднанні з терапією, використовуюваною для лікування і/або запобігання ретинопатії, викликаній цитомегаловірусом. У ще одному варіанті здійснення модулятор сиртуїну можна вводити у поєднанні з терапією, використовуюваною для лікування і/або запобігання розсіяному склерозу.

Асоційовані з мітохондріями захворювання й порушення

У деяких варіантах здійснення винахід відноситься до способів лікування захворювань або порушень, при яких підвищена мітохондріальна активність надаватиме позитивну дію. Способи включають введення суб'єктові, що потребує цього, терапевтично ефективної кількості активуючої сиртуїн сполуки. Підвищена мітохондріальна активність відноситься до підвищеної активності мітохондрій, при збереженні загальної кількості мітохондрій (наприклад, мітохондріальної маси), підвищеної кількості мітохондрій, тим самим, підвищеної мітохондріальної активності (наприклад, за допомогою стимуляції біогенезу мітохондрій) або комбінацій вказаного. В деяких варіантах здійснення захворювання й порушення, при яких підвищена мітохондріальна активність надаватиме позитивну дію, включають захворювання й порушення, що асоціюються з дисфункцією мітохондрій.

У деяких варіантах здійснення способи лікування захворювань або порушень, при яких підвищена мітохондріальна активність надаватиме позитивну дію, можуть включати ідентифікацію суб'єкта, в якого є дисфункція мітохондрій. Способи діагностики дисфункції мітохондрій включають методи молекулярної генетики, патологічні й/або біохімічні аналізи. Захворювання й порушення, що асоціюються з дисфункцією мітохондрій, включають захворювання й порушення, при яких недолік активності мітохондріального дихального ланцюга робить свій внесок у розвиток патофізіології таких захворювань і порушень у ссавця. Захворювання й порушення, при яких підвищена мітохондріальна активність надаватиме позитивну дію, включають, наприклад, захворювання, при яких порушення окислення, опосередкованого вільними радикалами, приводить до дегенерації тканин, розвитку

захворювань, при яких клітини піддаються неадекватному апоптозу, й захворювань, при яких клітини не можуть піддатися апоптозу.

У деяких варіантах здійснення способи лікування захворювань або порушень, при яких підвищена мітохондріальна активність надаватиме позитивну дію, які включають введення суб'єктові, що потребує цього, однієї або більше активуючих сиртуїн сполук у комбінації з іншим лікарським засобом, наприклад, таким як засіб, придатний для лікування дисфункції мітохондрій, або засіб, придатний для послаблення симптому, що асоціюється із захворюванням або порушенням, що включає дисфункцію мітохондрій.

У наведених як приклад варіантах здійснення винахід відноситься до способів лікування захворювань або порушень, при яких підвищена мітохондріальна активність надаватиме позитивну дію, введенням суб'єктові терапевтично ефективної кількості активуючої сиртуїн сполуки. Наведені як приклад захворювання й порушення включають, наприклад, нейром'язові порушення (наприклад, атаксію Фрідріха, м'язову дистрофію, розсіяний склероз тощо), порушення, що виражаються в нестабільності нейронів (наприклад, судоми, мігрень тощо), сповільнений розвиток, нейродегенеративні порушення (наприклад, хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона, аміотрофічний бічний склероз тощо), ішемію, ниркоканальцевий ацидоз, вікову нейродегенерацію й зниження когнітивної функції, стомлюваність у результаті дії хіміотерапевтичних препаратів, вікову й індуковану хіміотерапевтичними препаратами менопаузу або нерегулярність менструального циклу або овуляції, мітохондріальні міопатії, пошкодження мітохондрій (наприклад, у результаті накопичення кальцію, екзитотоксичності, дії оксиду азоту, гіпоксії тощо) й порушення регуляції мітохондрій.

М'язова дистрофія належить до групи захворювань, що включають порушення нейром'язової структури й функції, що часто приводить до атрофії скелетних м'язів і дисфункції міокарду, як це має місце при м'язовій дистрофії Дюшенна. В деяких варіантах здійснення активуючі сиртуїн сполуки можна використовувати для зменшення швидкості зниження функціональної активності м'язів і поліпшення функціонального статусу м'язів у пацієнтів з м'язовою дистрофією.

У деяких варіантах здійснення модулюючі сиртуїн сполуки можуть бути придатними для лікування мітохондріальних міопатій. Ступінь ураження при мітохондріальних міопатіях коливається від незначної, повільно прогресуючої слабкості позаочних м'язів до важких, фатальних, міопатій у немовлят і полісистемних енцефаломіопатій. Деякі синдроми точно виділяються з певними перекриттями між ними. Відомі синдроми, що вражають м'язи, включають прогресуючу зовнішню офтальмоплегію, синдром Кернса-Сейра (з офтальмоплегією, пігментною ретинопатією, порушеннями провідності серця, церебелярною атаксією й сенсоневральною глухотою), синдром MELAS (мітохондріальну енцефаломіопатію, лактоцидоз та інсультподібні епізоди), синдром MERFF (міоклонічну епілепсію й "рвані червоні волокна"), слабкість м'язів кінцівок і міопатію у дітей (доброякісну або важку й фатальну).

В деяких варіантах здійснення активуючі сиртуїн сполуки можуть бути придатними для лікування пацієнтів, що страждають на токсичні пошкодження мітохондрій, як-от токсичне пошкодження в результаті накопичення кальцію, екзитотоксичності, дії оксиду азоту або гіпоксії.

У деяких варіантах здійснення активуючі сиртуїн сполуки можуть бути придатними для лікування захворювань або порушень, пов'язаних з відсутністю регуляції мітохондрій.

**М'язова продуктивність**

У інших варіантах здійснення винахід відноситься до способів підвищення м'язової продуктивності введенням терапевтично ефективної кількості активуючої сиртуїн сполуки. Наприклад, активуючі сиртуїн сполуки можуть бути придатними для підвищення фізичної витривалості (наприклад, здатності виконати фізичне завдання, як-от фізичні вправи, фізична праця, спортивна активність тощо), придушення або уповільнення фізичної втоми, підвищення рівня кисню в крові, збільшення енергії у здорових суб'єктів, підвищення працездатності й витривалості, зниження м'язової втоми, послаблення стресу, підвищення серцевої й серцево-судинної функції, підвищення сексуальної активності, підвищення рівня АТФ у м'язах і/або зниження рівня молочної кислоти в крові. В деяких варіантах здійснення способи включають введення кількості активуючої сиртуїн сполуки, що підвищує мітохондріальну активність, підсилює біогенез мітохондрій і/або збільшує маси мітохондрій.

Атлетична продуктивність у спортсменів відноситься до здатності м'язів спортсменів функціонувати при їхній участі в спортивних заходах. Підвищену атлетичну продуктивність, силу, швидкість і витривалість визначають за підвищенням сили м'язового скорочення, збільшенням амплітуди м'язового скорочення, скороченням часу реактивності м'язів між стимуляцією і скороченням. Спортсмен представляє суб'єкта, який бере участь у спортивних заходах на будь-якому рівні і який бажає досягти підвищеного рівня сили, швидкості й

витривалості в їхній продуктивності, наприклад, це стосується важкоатлетів, велосипедистів, бігунів на далекі дистанції, бігунів на короткі дистанції тощо. Підвищена атлетична продуктивність у спорті виражається в здатності долати м'язову втоми, здатності підтримувати активність протягом тривалих періодів часу й мати ефективніші тренування.

5 У місці вияву м'язової продуктивності у спортсменів бажано створити умови, які дозволили б змагатися або тренуватися з вищим рівнем стійкості протягом тривалого періоду часу.

Вважається, що способи за даним винаходом також будуть ефективними для лікування зв'язаних з м'язами патологічних станів, які включають гостру саркопенію, наприклад м'язову атрофію й/або кахексію, пов'язаних з опіками, перебуванням у ліжку, іммобілізацією кінцівок або 10 крупними хірургічними операціями на органах грудної порожнини, черевної порожнини й ортопедичними операціями.

В деяких варіантах здійснення винахід стосується нових харчових композицій, способу їх приготування і способу застосування композицій для поліпшення атлетичної продуктивності у спортсменів. Отже, забезпечуються лікувальні композиції, продукти харчування й напої, які 15 функціонують для підвищення фізичної витривалості й/або послаблення фізичної втоми в людей, що займаються різними фізичними вправами, включаючи спорт, що вимагають витривалості й праці, вимагають м'язових зусиль. Такі харчові композиції можуть додатково містити електроліти, кофеїн, вітаміни, вуглеводи тощо.

Інші застосування

20 Модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень й/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для лікування або запобігання вірусним інфекціям (як-от грип, герпес або інфекція, викликана вірусом папіломи) або як протигрибкові засоби. В деяких варіантах здійснення модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень й/або активність білка сиртуїну, можна вводити як компонент комбінованої терапії з іншим лікарським засобом для лікування 25 вірусних захворювань. У ще одному варіанті здійснення модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень й/або активність білка сиртуїну, можна вводити як компонент комбінованої терапії з іншим протигрибковим засобом.

Суб'єкти, яких можна лікувати, як описано в даному документі, включають еукаріоти, такі як ссавці, наприклад люди, вівці, велика рогата худоба, коні, свині, собаки, кішки, примати, відмінні 30 від людей, миші й щури. Клітини, які можна обробляти, включають еукаріотичні клітини, наприклад, від суб'єкта, описаного нижче, або рослинні клітини, дріжджові клітини й прокаріотичні клітини, наприклад бактерійні клітини. Наприклад, модулюючі сполуки можна вводити сільськогосподарським тваринам для поліпшення їхньої здатності протистояти довше несприятливим умовам у господарстві.

35 Модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень й/або активність білка сиртуїну, також можна використовувати в цілях підвищення тривалості існування, резистентності до стресів і стійкості до апоптозу в рослин. У одному варіанті здійснення сполуки застосовують на рослинах, наприклад, на періодичній основі, або на грибах. У іншому варіанті здійснення рослини генетично модифікують для продукції сполуки. У ще одному варіанті здійснення 40 рослини й плоди обробляють сполукою до збору і перевезення в цілях підвищення стійкості до пошкодження під час перевезення. Насіння рослин також можна піддати контакту із сполукою, описаною в даному документі, наприклад, для їх консервації.

У ще одних варіантах здійснення модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень й/або активність білка сиртуїну, можна використовувати для модуляції тривалості існування 45 дріжджових клітин. Ситуації, в яких може бути бажаним збільшити період існування дріжджових клітин, включають будь-який процес, у якому застосовують дріжджові клітини, наприклад, у виробництві пива, йогурту, випечених виробів, наприклад хліба. Застосування дріжджів з тривалим періодом існування може привести до використання меншої кількості дріжджів або дріжджів, які зберігають активність протягом триваліших періодів часу. Дріжджі або інші клітини 50 ссавців, використовувани для рекомбінантного одержання білків, також можна обробити, як описано в даному документі.

Модулюючі сиртуїн сполуки, які підвищують рівень й/або активність білка сиртуїну, також можна використовувати для збільшення тривалості існування, резистентності до стресів і 55 стійкості до апоптозу в комах. У даному варіанті здійснення сполуки слід застосовувати на комах, наприклад бджолах та інших комах, що беруть участь у запиленні рослин. У конкретному варіанті здійснення сполуки слід застосовувати на бджолах, що виробляють мед. Як правило, способи, описані в даному документі, можна застосовувати для будь-якого організму, наприклад еукаріоту, який має промислове значення. Наприклад, їх можна застосовувати для риб (аквакультур) і птахів (наприклад, курей і диких птахів).

60 Вищі дози модулюючих сиртуїн сполук, які підвищують рівень й/або активність білка сиртуїну,



також можна використовувати як пестицид за допомогою дії на регуляцію "мовчазних генів" і регуляцію апоптозу під час розвитку. В даному варіанті здійснення сполуки можна застосовувати на рослинах з використанням методу, добре відомого в даній галузі, який гарантує біодоступність сполуки для личинок комах, але не для рослин.

5 Щонайменше, у світлі наявності взаємозв'язку між репродукцією й тривалістю життя, модулюючи сиртуїн сполуки, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можна застосовувати для дії на репродукцію організмів, таких як комахи, тварини й мікроорганізми.

#### 4. Тести

10 Описані різні типи тестів для визначення активності сиртуїну. Наприклад, активність сиртуїну можна визначити з використанням флуоресцентного аналізу, наприклад, з використанням наборів промислово доступних від Biomol, таких як SIRT1 Fluorimetric Drug Discovery Kit (AK-555), SIRT2 Fluorimetric Drug Discovery Kit (AK-556) або SIRT3 Fluorimetric Drug Discovery Kit (AK-557) (Biomol International, Plymouth Meeting, PA). Інші відповідні методи аналізу сиртуїну включають тест з виділенням нікотинаміду (Kaeberlein et al., J. Biol. Chem., 280) 17, 2005), тест FRET (Marcotte et al., Anal. Biochem., 332:90, 2004) і тест зв'язування C<sup>14</sup>-над на борвмісній смолі (McDonagh et al., Methods, 36:346, 2005). Ще одні відповідні методи аналізу сиртуїну включають радіоімунаналіз (RIA), сцинтиляційні тести близькості, тести на основі ВЕРХ і тестів з використанням репортерних генів (наприклад, для факторів-мішеней транскрипцій).

20 Наведеним як приклад тестом для визначення активності сиртуїну є тест на основі флуоресцентної поляризації. Тести на основі флуоресцентної поляризації описані в даному документі і також описані в публікації PCT WO 2006/094239. У інших варіантах здійснення активність сиртуїну можна визначити з використанням методів аналізу на основі мас-спектрометрії. Приклади тестів на основі мас-спектрометрії описані в даному документі й також описані в публікації PCT WO 2007/064902. Також можна використовувати клітинні тести для визначення активності сиртуїну. Приклади клітинних тестів описані в даному документі й також описані в публікації PCT WO 2007/064902 і WO 2008/060400.

30 Ще одні методи, передбачені в даному документі, включають скринінгові методи для ідентифікації сполук або засобів, модулюючих сиртуїн. Засіб може представляти нуклеїнову кислоту, таку як аптамер. Тести можна проводити в клітинному або безклітинному форматі. Наприклад, тест може включати інкубацію (або контактування) сиртуїну з тестованою сполукою за умов, коли сиртуїн може піддаватися модуляції під дією сполуки, про яку відомо, що вона модулює сиртуїн, і моніторинг або визначення ступеня модуляції сиртуїну в присутності тестованої сполуки в порівнянні з ситуацією, коли тестована сполука відсутня. Ступінь модуляції сиртуїну можна визначити оцінкою його здатності деацетилувати субстрат. Наведеними як приклад субстратами є ацетильовані пептиди, які можна отримати від Biomol (Plymouth Meeting, PA). Переважні субстрати включають пептиди р53, як-от що містять ацетильований K382. Особливо переважним субстратом є Fluor de Lys-SIRT1 (BIOMOL), тобто ацетильований пептид Arg-His-Lys-Lys. Інші субстрати представляють пептиди людських гістонів H3 і H4, або ацетильовану амінокислоту. Субстрати можуть бути флуорогенними. Сиртуїн може бути SIRT1, Sir2, SIRT3 або їхнім фрагментом. Наприклад, рекомбінантний SIRT1 можна отримати від BIOMOL. Реакцію можна проводити приблизно протягом 30 хвил. і зупинити, наприклад, нікотинамідом. Можна використовувати флуоресцентний тест визначення активності HDAC/набір drug discovery (AK-500, BIOMOL Research Laboratories) для визначення ступеня ацетилування. Аналогічні тести описані Bitterman et al., 2002, J. Biol. Chem., 277:45099. Ступінь модуляції сиртуїну в тесті можна порівняти зі ступенем модуляції сиртуїну за наявності однією або більше (внесених окремо або одночасно) сполук, описаних у даному документі, які можуть служити як позитивні або негативні контролі. Сиртуїни для застосування в тестах можуть бути повнорозмірними білками сиртуїнами або їхніми фрагментами. Оскільки, як було показано в даному документі, активуючі сполуки взаємодіють з N-кінцем SIRT1, то білки для застосування в тестах включають N-кінцеві фрагменти сиртуїнів, наприклад амінокислоти приблизно 1-176 або 1-255 SIRT1, амінокислоти приблизно 1-174 або 1-252 Sir2.

50 У одному варіанті здійснення скринінговий тест включає (i) контактування сиртуїну з тестованою сполукою й ацетильованим субстратом за умов, відповідних для того, щоб сиртуїн деацетилував субстрат за відсутності тестованої сполуки і (ii) визначення ступеня ацетилування субстрату, де низький ступінь ацетилування субстрату в присутності тестованої сполуки в порівнянні з відсутністю тестованої сполуки вказує на те, що тестована сполука стимулює деацетилування під дією сиртуїну, тоді як високий ступінь ацетилування субстрату в присутності тестованої сполуки в порівнянні з відсутністю тестованої сполуки вказує на те, що тестована сполука інгібує деацетилування під дією сиртуїну.

60 Способи ідентифікації засобу, що модулює, наприклад стимулює, сиртуїни за умов *in vivo*,

можуть включати (i) контактування клітини з тестованою сполукою і субстратом, який здатний надходити в клітину, в присутності інгібітору HDAC класу I і класу II за умов, придатних для того, щоб сиртуїн деацетилював субстрат у відсутність тестованої сполуки і (ii) визначення ступеня ацетилювання субстрату, де низький ступінь ацетилювання субстрату в присутності тестованої сполуки в порівнянні з відсутністю тестованої сполуки вказує на те, що тестована сполука стимулює деацетилювання під дією сиртуїну, тоді як вищий ступінь ацетилювання субстрату в присутності тестованої сполуки в порівнянні з відсутністю тестованої сполуки вказує на те, що тестована сполука інгібує деацетилювання під дією сиртуїну. Переважним субстратом є ацетилюваний пептид, який також переважно є флуорогеним, як додатково описано нижче.

Спосіб може додатково включати лізування клітин для визначення ступеня ацетилювання субстрату. Субстрати можна додатково додати до клітин у концентрації в межах приблизно від 1 мкМ до приблизно 10 мМ, переважно приблизно від 10 мкМ до приблизно 1 мМ, ще переважніше приблизно від 100 мкМ до приблизно 1 мМ, наприклад, приблизно 200 мкМ. Переважним субстратом є ацетилюваний лізин, наприклад  $\epsilon$ -ацетиллізин (Fluor de Lys, FDL) або Fluor de Lys-SIRT1. Переважним інгібітором HDAC класу I і класу II є трихостатин A, який можна використовувати в концентраціях у межах приблизно від 0,01 до 100 мкМ, переважно приблизно від 0,1 до приблизно 10 мкМ, наприклад 1 мкМ. Інкубацію клітин з тестованою сполукою і субстратом можна проводити протягом приблизно від 10 хвил. до 5 год., переважно в межах приблизно 1-3 год. Оскільки TSA інгібує все HDAC класу I і класу II і з урахуванням того, що деякі субстрати, наприклад Fluor de Lys, є неактивним субстратом для SIRT2 і ще більш неактивним субстратом для SIRT3-7, то такий тест можна використовувати для ідентифікації модуляторів SIRT1 за умов *in vivo*.

#### 5. Фармацевтичні композиції

Модулюючі сиртуїн сполуки, описані в даному документі, можна формувати звичайним способом з використанням одного або більше фізіологічно прийнятних носіїв або наповнювачів. Наприклад, модулюючі сиртуїн сполуки та їхні фізіологічно прийнятні солі й сольвати можна формувати для введення, наприклад, за допомогою ін'єкції (наприклад, підшкірною, внутрішньом'язовою, внутрішньоочеревинною), інгаляцією або інсуфляцією (через рот або ніс) або перорально, букально, сублінгвально, трансдермально, назально, парентерально або ректально. В одному варіанті здійснення модулюючу сиртуїн сполуку можна застосовувати місцево, в ділянку, де знаходяться клітини-мішені, тобто в конкретній тканині, органі або рідині (наприклад, крові, спинномозковій рідині тощо).

Модулюючі сиртуїн сполуки можна формувати для різних способів введення, включаючи системне й місцеве або локальне введення. В цілому способи й композиції можна знайти в Remington's Pharmaceutical Sciences, Meade Publishing Co., PA. Для парентерального введення переважно є ін'єкція, включаючи внутрішньом'язову, внутрішньовенну, внутрішньоочеревинну або підшкірну ін'єкцію. Для ін'єкційного введення сполуки можна формувати в рідких розчинах, переважно у фізіологічно прийнятних буферах, таких як розчин Хенкса або розчин Рінгера. Крім того, сполуку можна формувати у твердій формі й розчиняти або суспендувати безпосередньо перед вживанням. Також включаються ліофілізовані форми.

Для перорального введення фармацевтичні композиції можуть знаходитися у формі, наприклад, пігулок, коржиків або капсул, приготованих звичайними методами з фармацевтично прийнятними наповнювачами, такими як сполучні речовини (наприклад, прежелатизований кукурудзяний крохмаль, полівінілпіролідон або гідроксипропілметилцелюлоза); наповнювачі (наприклад, лактоза, мікрокристалічна целюлоза або вторинний кислий фосфат кальцію); ковзкі речовини (наприклад, стеарат магнію, тальк або діоксид кремнію); розпушувачі (наприклад, картопляний крохмаль або натрій-крахмалгліколят) або змочувальні речовини (наприклад, лаурилсульфат натрію). Пігулки можна покрити оболонками з використанням способів, відомих у даній галузі. Рідкі препарати для застосування можуть знаходитися, наприклад, у формі розчинів, сиропів або суспензій, або вони можуть знаходитися у вигляді сухого продукту, який відновлюють у воді або інших відповідних носіях перед застосуванням. Такі рідкі препарати можна приготувати звичайними методами з використанням фармацевтично прийнятних добавок, таких як суспендуючі речовини (наприклад, сироп сорбіту, похідна целюлоза або гідрогенізовані харчові масла); емульгатори (наприклад, лецитин і аравійська камедь); неводні розчинники (наприклад, атіондове масло, ефіри жирних кислот, етиловий спирт або фракціоновані рослинні олії) й консерванти (наприклад, метил або пропіл-п-гідроксибензоати або сорбінова кислота). Також препарати можуть містити буферні солі, смакові речовини, фарбники й підсолоджувачі, там де це прийнятно. Препарати для перорального введення також можна відповідно формувати із забезпеченням контрольованого вивільнення активної сполуки.

Для інгаляційного введення (наприклад, доставки в дихальні шляхи) модулюючі сиртуїн сполуки можна легко вводити у вигляді аерозольного спрею з упаковок, що знаходяться під тиском, або розпилювачів з використанням відповідного пропелента, наприклад дихлордифторметану, трихлорфторметану, дихлортетрафторметану, діоксиду вуглецю або інших відповідних газів. У разі аерозолі, що знаходиться під тиском, разову лікарську форму можна дозувати, забезпечивши клапан для доставки відміряної кількості. Капсули й картриджі, наприклад, з желатину, для застосування в інгаляторі або інсуфляторі можна формулювати у вигляді порошкової суміші сполуки й відповідної порошкової основи, як-от лактоза або крохмаль.

Модулюючі сиртуїн сполуки можна формулювати для парентерального введення за допомогою ін'єкції, наприклад, болюсом-ін'єкцією або тривалою інфузією. Композиції для ін'єкційного введення можуть знаходитися у вигляді разової лікарської форми, наприклад ампул, або багатодозових контейнерах з додаванням консерванту. Композиції можуть знаходитися в таких формах, як суспензії, розчини або емульсії в масляних або водних розчинниках, і можуть містити допоміжні формулюючі засоби, як-от суспендуючі, стабілізуючі й диспергуючі речовини. Альтернативно активний інгредієнт може знаходитися у вигляді порошку для подальшого відновлення відповідним розчинником, наприклад стерильною непірогенною водою, перед застосуванням.

Також модулюючі сиртуїн сполуки можна формулювати у вигляді композицій для ректального введення, як-от супозиторії або утримуючі клізми, наприклад, що містять звичайні основи для супозиторіїв, такі як какао-олія або інші гліцериди.

На додаток до композицій, описаних вище, модулюючі сиртуїн сполуки також можна формулювати у вигляді препаратів-депо. Такі тривало діючі композиції можна вводити імплантацією (наприклад, підшкірно або внутрішньом'язово) або внутрішньом'язовою ін'єкцією. Так, наприклад, модулюючі сиртуїн сполуки можна формулювати з відповідними полімерними або гідрофобними речовинами (наприклад, у вигляді емульсії у придатному маслі) або іонообмінними смолами, або у вигляді похідних з низькою розчинністю, наприклад, у вигляді слабо розчинної солі. Препарати з контрольованим вивільненням також включають пластири.

У деяких варіантах здійснення сполуки, описані в даному документі, можна формулювати для доставки в центральну нервову систему (ЦНС) (є огляд Begley, Pharmacology & Therapeutics, 104:29-45, 2004). Звичайні підходи для доставки лікарських препаратів у ЦНС включають нейрохірургічні стратегії (наприклад, за допомогою внутрішньоцеребральної ін'єкції або інтрацеребровентрикулярної інфузії); молекулярні маніпуляції із засобом (наприклад, за допомогою одержання химерного гібридного білка, який містить транспортний пептид з афінністю до молекул ендотеліальної клітинної поверхні в комбінації із засобом, який сам по собі не здатний проходити через BBB) для забезпечення одного з ендогенних транспортних шляхів BBB; фармакологічні стратегії, спрямовані на підвищення розчинності засобу в ліпідах (наприклад, за допомогою кон'югації водорозчинних агентів з носіями з ліпідів або холестерину) й короткочасне порушення цілісності BBB за допомогою гіперосмотичного порушення (в результаті інфузії розчину маніту в сонну артерію або застосування біологічно активної речовини, як-от пептид ангіотензин).

Ліпосоми є ще однією системою для доставки лікарських препаратів, які легко вводити ін'єкційно. Отже, у способі за винаходом активні сполуки також можна вводити у вигляді ліпосомальної системи для доставки. Ліпосоми добре відомі в даній галузі. Ліпосоми можна одержати з різних фосфоліпідів, як-от холестерин, стеариламін фосфатидилхолінів. Ліпосоми, придатні для способу за винаходом, включають всі типи ліпосом, у тому числі, не обмежуючись цим, невеликі уніламелярні везикули, крупні уніламелярні везикули й мультиламелярні везикули.

Іншим шляхом одержання композиції, зокрема розчину модулятора сиртуїну, такого як ресвератрол або його похідна, є застосування циклодекстрину. Під циклодекстрином розуміють  $\alpha$ -,  $\beta$ - або  $\gamma$ -циклодекстрин. Циклодекстрини детально описані Pitha et al., у патенті США № 4727064, який включений у даний документ для інформації. Циклодекстрини є циклічними олігомерами глюкози; дані сполуки утворюють комплекси включення з будь-яким лікарським препаратом, молекула якого може підійти для порожнин молекули циклодекстрину для ліпофільних сполук.

Лікарські форми, що швидко розпадаються або розчиняються, є придатними для швидкого всмоктування, зокрема, при букальному й сублінгвальному введенні фармацевтично активних сполук. Швидко плавкі лікарські форми є корисними для пацієнтів, таких як літні люди й діти, яким важко ковтати звичайні тверді лікарські форми, такі як капсули й пігулки. Крім того, швидко плавкі лікарські форми мають провокуючі недоліки, зв'язані, наприклад, із жувальними лікарськими формами, коли період часу, протягом якого активна речовина залишається в

ротовій порожнині пацієнта, грає важливу роль у визначенні ступеня маскуванню смаку й ступеня, до якого пацієнт може заперечувати проти проковтування твердих часток активної речовини.

5 Фармацевтичні композиції (включаючи косметичні препарати) можуть містити приблизно від 0,00001 до 100 %, наприклад, від 0,001 до 10 % або від 0,1 % до 5 % по масі одного або більше модулюючих сиртуїн сполук, описаних у даному документі.

В одному варіанті здійснення модулюючу сиртуїн сполуку, описану в даному документі, включають у композицію для місцевого застосування, що містить носій для місцевого застосування, яка зазвичай придатна для місцевого застосування лікарських препаратів і що містить будь-яку речовину, відому в даній галузі. Місцевий носій можна вибрати так, щоб забезпечити композицію в бажаній формі, наприклад, у вигляді мазі, лосьйону, крему, мікроемульсії, гелю, масла, розчину й тому подібного, й він може складатися з речовин природного або синтетичного походження. Переважно, щоб вибраний носій не мав негативного впливу на активну речовину або інші компоненти лікарської форми для місцевого застосування. Приклади відповідних носіїв для композицій, призначених для місцевого застосування, включають воду, спирти та інші нетоксичні розчинники, гліцерин, мінеральне масло, силікон, вазелін, ланолін, жирні кислоти, рослинні олії, парабени, віск і т.п.

Композиції можуть бути мазями, лосьйонами, кремами, мікроемульсіями й гелями без кольору й запаху.

20 Модулюючі сиртуїн сполуки можна включити в мазі, які зазвичай є напівтвердими препаратами, які, як правило, готують на основі з вазеліну або інших похідних вазеліну. Конкретною основою для мазі, яку слід використовувати, відому фахівцям у даній галузі, є така, яка забезпечуватиме оптимальну доставку лікарського препарату й переважно також забезпечуватиме інші бажані характеристики, наприклад пом'якшення й т.п. Відносно інших носіїв або розчинників основа для мазі має бути інертною, стабільною, не подразливою або такою, що не викликає алергічних реакцій.

Модулюючі сиртуїн сполуки можна включити в лосьйони, які зазвичай є препаратами для нанесення на поверхню шкіри без розтирання і, як правило, є рідкими або напіврідкими препаратами, в яких тверді частки, що включають активну речовину, знаходяться у водній або спиртній основі. Зазвичай лосьйони представляють суспензії твердих часток і можуть містити рідку масляну емульсію типу масло-у-воді.

Модулюючі сиртуїн сполуки можна формулювати у вигляді кремів, які зазвичай представляють в'язкі рідкі або напівтверді емульсії типу масло-у-воді або вода-в-маслі. Основи для кремів змиваються водою й містять масляну фазу, емульгатор і водну фазу. Зазвичай масляна фаза складається з вазеліну й жирного спирту, такого як цетиловий або стеариловий спирт; як правило, водна фаза, але це необов'язково, перевершує за об'ємом масляну фазу й зазвичай складається із зволожуючої речовини. Емульгатор у кремових композиціях, як пояснюється в Remington's, див. вище, зазвичай представляє неіоногенну, аніоногенну, катіоногенну або амфотерну поверхнево-активну речовину.

40 Модулюючі сиртуїн сполуки можна включити до складу мікроемульсій, які зазвичай є термодинамічно стабільними, ізотропно чистими дисперсіями двох рідин, що не змішуються, таких як масло і вода, стабілізованих міжфазною плівкою з молекул поверхнево-активної речовини (Encyclopedia of Pharmaceutical Technology (New York: Marcel Dekker, 1992, volume 9).

Модулюючі сиртуїн сполуки можна включити в композиції гелів, що зазвичай є напівтвердими системами, на основі суспензій з невеликих неорганічних часток (двофазні системи) або крупних органічних молекул, рівномірно розподілених у рідкому носіїві (однофазні гелі). Попри те, що зазвичай у гелях використовується водний рідкий носій, також можна застосовувати спирти й масла як рідкий носій.

У композиції також можна включати інші активні речовини, наприклад інші протизапальні препарати, анальгетики, протимікробні засоби, протигрибкові препарати, антибіотики, вітаміни, антиоксиданти й сонцезахисні речовини, зазвичай присутні в сонцезахисних композиціях, включаючи, не обмежуючись цим, антранілати, бензофенони (особливо бензофенон-3), похідні камфора, цинамати (наприклад, октилметоксицинамат), дибензоїлметани (наприклад, бутілметоксидибензоїлметан), п-амінобензойну кислоту (РАВА) та її похідні, й саліцилати (наприклад, октилсаліцилат).

60 У деяких композиціях для місцевого застосування активна речовина знаходиться в кількості в межах приблизно від 0,25 % мас. до 75 % мас. до маси композиції, переважно в межах приблизно від 0,25 % мас. до 30 % мас. до маси композиції, переважніше в межах приблизно 0,5 % мас. до 15 % мас. до маси композиції, і найпреважніше в межах приблизно 1,0 % мас. до 10 % мас. до маси композиції.

Захворювання очей можна лікувати або їм запобігати, наприклад, за допомогою системної, місцевої або внутрішньоочної ін'єкції моделюючої сиртуїн сполуки, або введенням пристрою для сповільненого вивільнення, яке вивільняє моделюючу сиртуїн сполуку. Моделюючу сиртуїн сполуку, яка підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, можна вводити у фармацевтично прийнятному носії для внутрішньоочного введення так, щоб сполука знаходилася в контакті з поверхнею ока протягом достатнього періоду часу для проникнення сполуки в рогівку і внутрішні ділянки ока, наприклад, у передню камеру, задню камеру, склоподібне тіло, слізну рідину, рогівку, веселкову оболонку/циліарне тіло, кришталік, власне судинну оболонку/сітківку й склеру. Фармацевтично прийнятний носій для внутрішньоочного введення може представляти, наприклад, мазь, рослинну олію або інкапсулюючу речовину. Альтернативно сполуку за винаходом можна ін'єкувати безпосередньо в склоподібне тіло або слізну рідину. В додатковій альтернативі сполуку можна вводити системно, наприклад, внутрішньовенною інфузією або ін'єкцією, для лікування очей.

Модулюючі сиртуїн сполуки, описані в даному документі, можна зберігати в безкисневому середовищі. Наприклад, ресвератрол або його аналог можна приготувати в повітронепроникній капсулі для перорального введення, наприклад, як-от Capsugel виробництва Pfizer, Inc.

Клітини, наприклад, оброблені модулюючою сиртуїн сполукою за умов *ex vivo*, можна вводити способами для введення трансплантата суб'єктові, які можна супроводжувати, наприклад, уведенням імунодепресанту, наприклад, циклоспорину А. Загальні принципи складання лікарських препаратів можна знайти в "Cell Therapy: Stem Cell Transplantation, Gene Therapy and Cellular Immunotherapy", G.Morstyn & W.Sheridan eds, Cambridge University Press, 1996 і "Hematopoietic Stem Cell Therapy", E.D.Ball, J.Lister & P.Law, Churchill Livingstone, 2000.

Токсичність і терапевтичну ефективність модулюючих сиртуїн сполук можна визначити з використанням стандартних фармацевтичних методів у клітинних культурах або в дослідях на експериментальних тваринах.  $LD_{50}$  є дозою, що викликає загибель 50 % особин у популяції.  $ED_{50}$  представляє дозу, що викликає терапевтичний ефект у 50 % особин у популяції. Співвідношення токсичної й терапевтичної доз ( $LD_{50}/ED_{50}$ ) є терапевтичним індексом. Переважними є модулюючі сиртуїн сполуки з високим терапевтичним індексом. Попри те, що можна використовувати модулюючі сиртуїн сполуки, які виявляють токсичні побічні ефекти, необхідно ретельно спланувати систему для їх доставки, щоб спрямувати сполуку до місця враженої тканини в цілях мінімізації потенційних ушкоджувальних ефектів для незаражених клітин і тим самим зниження можливості вияву побічних ефектів.

Дані, отримані в тестах на клітинних культурах і в дослідях на тваринах, можна використовувати для складання меж дозувань для застосування в людей. Дози таких сполук можуть знаходитися в межах концентрацій у крові, які включають значення  $ED_{50}$  з виявом низької токсичності або без неї. Дози можуть варіюватися в даних межах залежно від використовуваної лікарської форми і вживаного шляху введення. Для будь-якої сполуки терапевтично ефективну дозу спочатку можна встановити в тестах на клітинних культурах. Значення дози можна заздалегідь визначити з використанням моделей на тваринах з досягненням меж концентрацій у плазмі крові, які включають  $IC_{50}$  (тобто концентрації тестованої сполуки, яка забезпечує половинне від максимального придушення симптомів) за даними тестів на клітинних культурах. Таку інформацію можна використовувати для точнішого визначення відповідних доз у людей. Концентрацію в плазмі крові можна визначити, наприклад, високоефективною рідинною хроматографією.

#### 6. Набори

Також у цьому документі забезпечуються набори, наприклад набори для терапевтичних застосувань або набори для модуляції тривалості життя клітин або модуляції апоптозу. Набір може містити одну або більше модулюючих сиртуїн сполук, наприклад, у заздалегідь визначених дозах. Набір може необов'язково містити пристрої для контакту клітин із сполуками та інструкції із застосування. Пристрої включають шприци, стенти та інші пристрої для введення модулюючої сиртуїн сполуки суб'єктові (наприклад, у кровоносні судини суб'єкта) або нанесення на шкіру суб'єктові.

У ще одному варіанті здійснення винахід відноситься до композиції речовини, що містить модулятор сиртуїну за даним винаходом та інший лікарський засіб (ті ж, які використовуються в комбінованій терапії і в комбінованих композиціях) в окремих лікарських формах, але зв'язані один з одним. У тому сенсі, в якому термін "зв'язані одне з одним" використовується в даному документі, він означає, що окремі лікарські форми упаковані разом або сполучені один з одним інакше, таким чином, що легко зрозуміти, що окремі лікарські форми призначаються для продажу і введення як компоненти однієї схеми. Засіб і модулятор сиртуїну переважно упаковані разом в упаковці блістера або іншій багатокамерній упаковці, або у вигляді

сполучених, індивідуально герметично закритих контейнерів (таких як вакуумна упаковка з фольги), які може розділити користувач (наприклад, натисненням на розділові смуги між двома контейнерами).

У ще одному варіанті здійснення винахід відноситься до набору, що містить в окремих резервуарах а) модулятор сиртуїну за даним винаходом і b) інший лікарський засіб, описаний у даному описі.

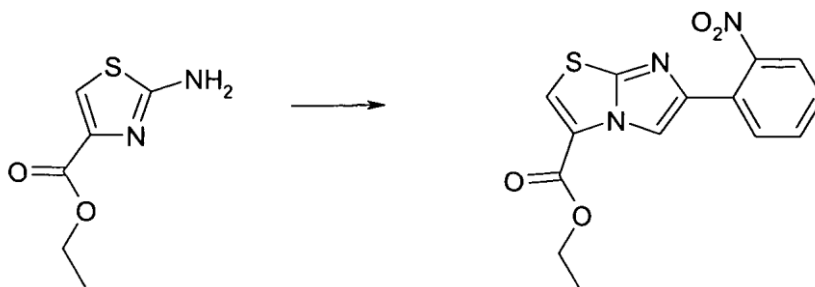
Для практики даних способів застосовуватимуться, якщо не вказано інакше, звичайні способи клітинної біології, культивування клітин, молекулярної біології, біології трансгенних організмів, мікробіології, рекомбінантної ДНК та імунології, які відомі фахівцям у даній галузі. Такі методи детально описані в літературі. Див., наприклад, Molecular Cloning A Laboratory Manual, 2nd Ed., ed. by Sambrook, Fritsch and Maniatis (Cold Spring Harbor Laboratory Press: 1989); DNA Cloning, Volumes I and II (D.N. Glover ed., 1985); Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait ed., 1984); Mullis et al., патент США № 4683195; Nucleic Acid Hybridization (B.D. Hames & S.J. Higgins eds., 1984); Transcription and Translation (B.D. Hames & S.J. Higgins eds., 1984); Culture Of Animal Cells (R.I. Freshney, Alan R. Liss, Inc., 1987); Immobilized Cells and Enzymes (IRL Press, 1986); B.Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning (1984); монографії 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); 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).

Пояснення прикладами

В цілому винахід описаний, проте, для повнішого розуміння наводяться наступні приклади, які наведені лише в цілях ілюстрації деяких аспектів і варіантів здійснення даного винаходу й жодним чином не призначені для обмеження винаходу.

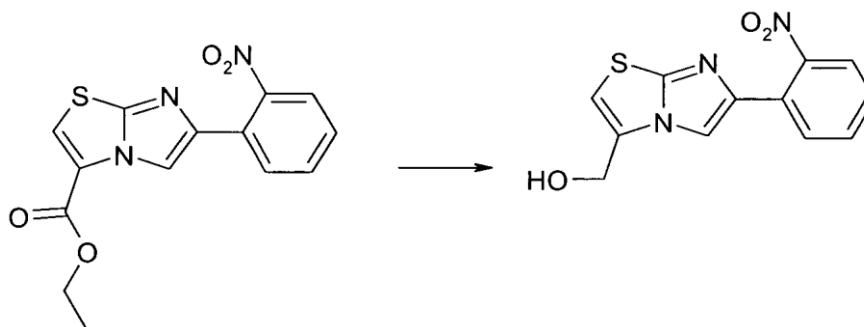
ПРИКЛАД 1: Одержання 4-метил-N-(2-(3-(морфолінометил)імідазо[2,1-b]тіазол-6-іл) феніл-2-(піридин-3-іл)тіазол-5-карбоксаміду (сполука 1)

Одержання етилового ефіру 6-(2-нітрофеніл)імідазо[2,1-b]тіазол-3-карбонової кислоти



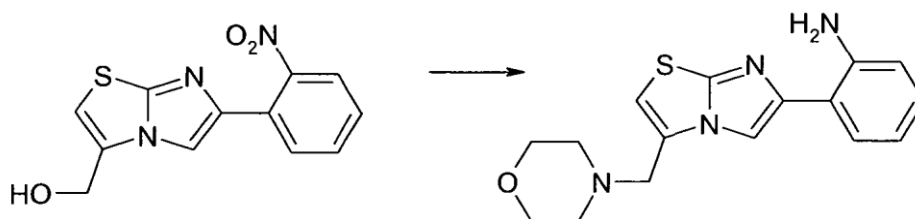
При звичайній постановці синтезу 2,1 г етил 2-амінотіазол-4-карбоксилату (CombiBlocks, 0,0123 моль) змішували з 25 мл метилетилкетону разом з 2-бром-2'-нітроацетофеноном (3,0 г, 0,0123 моль). Реакційну суміш перемішували при кип'ятінні зі зворотним холодильником протягом 18 год. Потім суміш охолоджували до кімнатної температури й фільтрували для видалення твердих часток. Фільтрат концентрували з одержанням 3,10 г етилового ефіру 6-(2-нітрофеніл)імідазо[2,1-b]тіазол-3-карбонової кислоти (МС,  $M^+ + n = 318$ ).

Одержання [6-(2-нітрофеніл)імідазо[2,1-b]тіазол-3-іл]метанолу



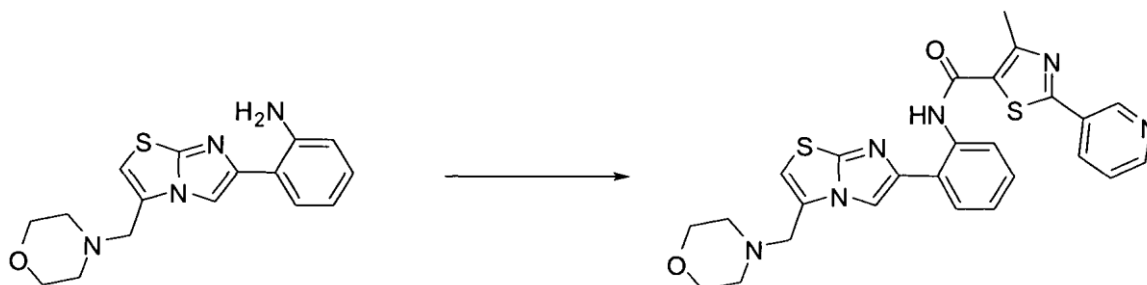
Етиловий ефір 6-(2-нітрофеніл)імідазо[2,1-*b*]тіазол-3-карбонової кислоти (14,50 г, 0,0458 моль) змішували з сумішшю 100 мл ТГФ і 100 мл води, що містить 7,3 г NaOH (4 екв). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 18 год. Потім суміш концентрували. Водний шар промивали один раз  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  і потім підкисляли 6*N* розчином HCl. Тверді частки збирали фільтруванням і висушували з одержанням 7,4 г проміжного продукту кислоти. Дану речовину (7,4 г, 0,0256 моль) змішували з 200 мл безводного ТГФ разом з *N*-метилморфоліном (NMM) (2,8 мл, 0,0256 моль) і охолоджували до 0°C. Додавали ізобутилхлорформіат (3,35 мл, 0,0256 моль) і реакційну суміш перемішували на крижаній бані протягом 3 год. Додавали  $\text{NaBH}_4$  (0,97 г, 0,0256 моль) у вигляді розчину в 30 мл води. Реакційну суміш перемішували при 0°C протягом 45 хвил. Потім її підігрівали до кімнатної температури й концентрували. Водний шар екстрагували  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Об'єднані органічні шари висушували над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  й концентрували з одержанням сирого продукту. Очищення хроматографією (Isco, з використанням суміші пентан/етилацетат) давало 5,20 г [6-(2-нітрофеніл)імідазо[2,1-*b*]тіазол-3-іл]метанолу (вихід 74 %).

Одержання 2-(3-морфолін-4-ілметилімідазо[2,1-*b*]тіазол-6-іл)феніл аміну



[6-(2-нітрофеніл)імідазо[2,1-*b*]тіазол-3-іл]метанол (435 мг, 1,58 ммоль) розчиняли в 25 мл  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  разом з 1 екв. триетиламіну (0,330 мл). Додавали метансульфонілхлорид (1 екв., 0,12 мл) і реакційну суміш підігрівали до кімнатної температури й перемішували протягом 15 хвил. Потім реакцію гасили насиченим розчином солі й реакційну суміш екстрагували  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Об'єднані органічні шари висушували над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  й концентрували з одержанням проміжного продукту мезилату. Дану речовину змішували з 6 мл  $\text{CH}_3\text{CN}$  разом з 0,33 мл триетиламіну і 0,14 мл морфоліну. Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 18 год. На наступну добу суміш концентрували й одержаний залишок розподіляли між  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  і водою. Органічний шар висушували ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) і концентрували з одержанням продукту по суті з кількісним виходом. Дану речовину змішували з сумішшю 6 мл метанолу і 1 мл води разом з 200 мг гідросульфиду натрію гідрату. Одержану реакційну суміш перемішували при нагріванні із зворотним холодильником протягом 6 год. Потім суміш охолоджували до кімнатної температури, розбавляли 100 мл абсолютного метанолу й концентрували. Одержаний залишок змішували з 20 мл суміші  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /метанол 9:1 і фільтрували. Фільтрат концентрували з одержанням 2-(3-морфолін-4-ілметилімідазо[2,1-*b*]тіазол-6-іл)феніламіну.

Одержання сполуки 1

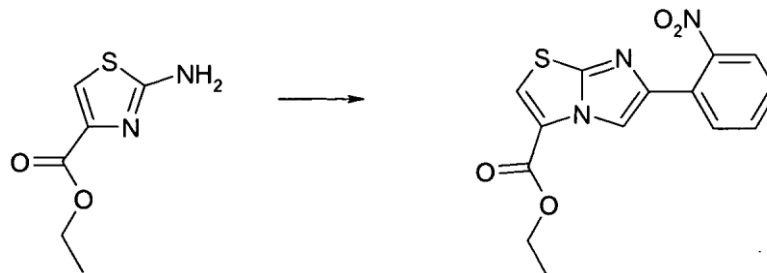


2-(3-Піридил)-4-метилтіазол-5-карбонову кислоту (0,61 г, 2,8 ммоль) розчиняли в тіонілхлориді (2 мл) і суміш перемішували при нагріванні (82°C, 3 год.). Після охолодження розчинник видаляли й залишок висушували в глибокому вакуумі. Потім хлорангідрид суспендували в 5 мл піридину і вносили до судини для мікрохвильового реактора, що містить 2-(3-морфолінометил)імідазо[2,1-*b*]тіазол-6-іл)анілін (0,87 г, 2,8 ммоль). Реакційну суміш нагрівали мікрохвилями (160°C, 15 хвил.). Розчин розтирали з метанолом і одержану тверду речовину фільтрували й промивали метанолом. Тверду речовину висушували з одержанням 0,97 г (68 %) 4-метил-*N*-(2-(3-морфолінометил)імідазо[2,1-*b*]тіазол-6-іл)феніл-2-(піридин-3-іл)тіазол-5-карбоксаміду.

Гідрохлорид 4-метил-N-(2-(3-морфолінометил)імідазо[2,1-b]тіазол-6-іл)феніл-2-(піридин-3-іл)-тіазол-5-карбоксаміду одержували розчиненням продукту (0,16 г) в суміші 10 % HCl/CH<sub>3</sub>CN (4 мл). Потім розчин висушували виморожуванням з одержанням солі (0,17 г) у вигляді жовто-помаранчевої твердої речовини. Аналогічно одержували інші солі (сірчаної кислоти, метаносульфонової кислоти, малеїнової кислоти, фосфорної кислоти, L-винної кислоти, лимонної кислоти та яблучної кислоти).

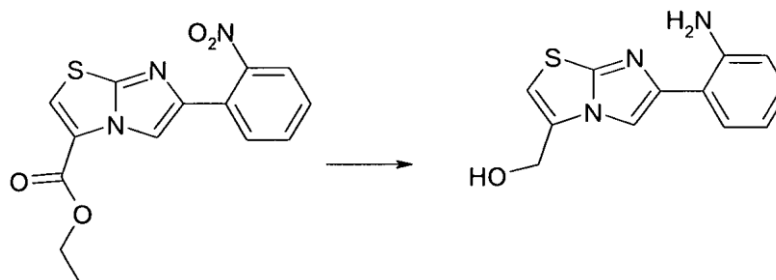
ПРИКЛАД 2: Синтез N-(2-(3-(піперазин-1-ілметил)імідазо[2,1-b]тіазол-6-іл)феніл)-хіноксалін-2-карбоксаміду (сполука 2)

Одержання етилового ефіру 6-(2-нітрофеніл)імідазо[2,1-b]тіазол-3-карбонової кислоти



При звичайній постановці синтезу 2-амінотіазол-4-карбоксилат (2,1 г, 0,0123 ммоль) розчиняли в метилетилкетоні (25 мл) разом з 2-бром-2'-нітроацетофеноном (3,0 г, 0,0123 моль). Реакційну суміш перемішували при кип'ятінні із зворотним холодильником протягом 18 год. Потім суміш охолоджували до кімнатної температури й фільтрували для видалення твердих часток. Фільтрат концентрували з одержанням 3,10 г етилового ефіру 6-(2-нітрофеніл)імідазо[2,1-b]тіазол-3-карбонової кислоти (розраховано для C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S: 318,3 [M+n]<sup>+</sup>; знайдено: 319).

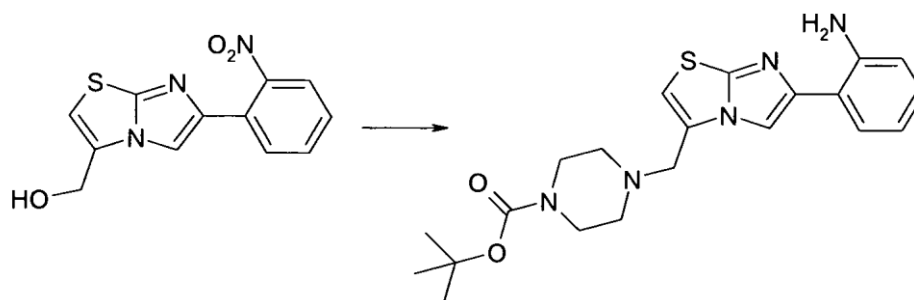
Одержання [6-(2-нітрофеніл)імідазо[2,1-b]тіазол-3-іл]метанолу



Етиловий ефір 6-(2-нітрофеніл)імідазо[2,1-b]тіазол-3-карбонової кислоти (14,50 г, 0,0458 моль) розчиняли в суміші ТГФ (100 мл) і води (100 мл), NaOH, що містить (7,3 г, 4 екв.). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 18 год. Потім суміш концентрували. Водний шар промивали один раз CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> і потім підкисляли 6N розчином HCl. Тверді частки збирали фільтруванням і висушували з одержанням 7,4 г проміжного продукту кислоти. Дану речовину (7,4 г, 0,0256 моль) розчиняли в безводному ТГФ (200 мл) разом з N-метилморфоліном (2,8 мл, 0,0256 моль) і охолоджували до 0°C. Додавали ізобутилхлорформіат (3,35 мл, 0,0256 моль) і реакційну суміш перемішували на крижаній бані протягом 3 год. Додавали NaBH<sub>4</sub> (0,97 г, 0,0256 моль) у вигляді розчину у воді (30 мл). Реакційну суміш перемішували при 0°C протягом 45 хвил. Потім її підігрівали до кімнатної температури й концентрували. Водний шар екстрагували CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Об'єднані органічні шари висушували над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> і концентрували з одержанням сирого продукту. Очищення хроматографією (Isco, з використанням суміші пентан/етилацетат) давало 5,20 г [6-(2-нітрофеніл)імідазо[2,1-b]тіазол-3-іл]метанолу (вихід 74 %) (розраховано для C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>OS: 245,3 [M+n]<sup>+</sup>; знайдено: 246).

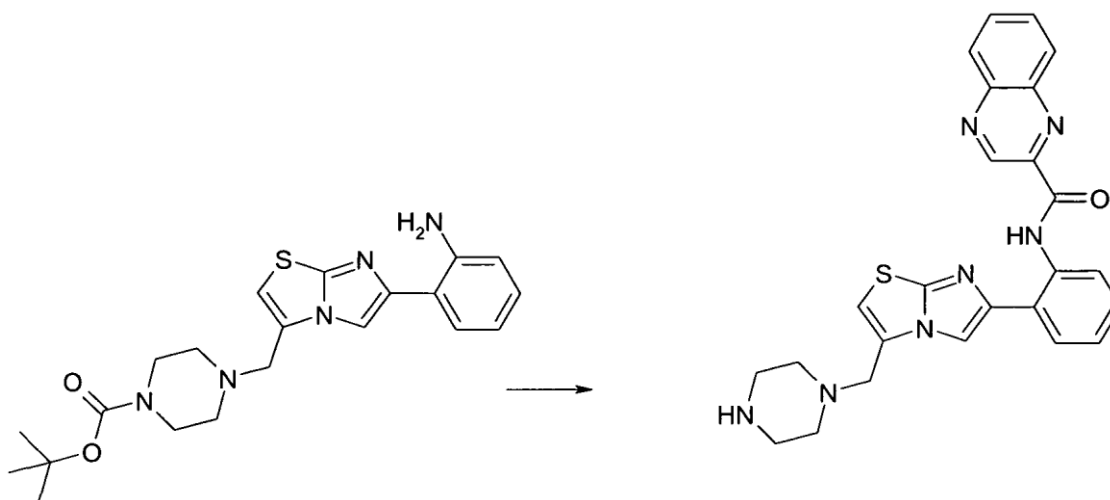
Одержання трет-бутилового ефіру 4-[6-(2-амінофеніл)імідазо[2,1-b]тіазол-3-ілметил]піперазину-1-карбонової кислоти





[6-(2-нітрофеніл)імідазо[2,1-б]тіазол-3-іл]метанол (1,0 г, 3,64 ммоль) розчиняли в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100 мл) разом з триетиламіном (0,51 мл, 3,64 ммоль). Додавали метансульфонілхлорид (1 екв., 0,28 мл) і реакційну суміш підігрівали до кімнатної температури й перемішували протягом 15 хвил. Потім реакцію гасили насиченим розчином солі й реакційну суміш екстрагували  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Об'єднані органічні шари висушували над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  й концентрували з одержанням проміжного продукту мезилату. Дану речовину змішували з  $\text{CH}_3\text{CN}$  (4 мл) разом з триетиламіном (0,51 мл, 3,64 ммоль) і Вос-піперазином (680 мг, 3,64 ммоль) і перемішували при кімнатній температурі протягом 1 доби. Реакційну суміш концентрували й одержаний залишок розподіляли між  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  і водою. Органічний шар висушували над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і концентрували з одержанням продукту по суті з кількісним виходом. Дану речовину розчиняли в суміші метанолу (6 мл) і води (1 мл) разом з гідратом гідросульфиду натрію (200 мл). Одержану реакційну суміш перемішували при нагріванні із зворотним холодильником протягом 24 год. Потім суміш охолоджували до кімнатної температури й концентрували. Одержаний залишок розбавляли водою (2 мл) і екстрагували  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Об'єднані органічні шари висушували над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  і концентрували з одержанням 0,90 г трет-бутилового ефіру 4-[6-(2-амінофеніл)імідазо[2,1-б]тіазол-3-ілметил]піперазину-1-карбонової кислоти (розраховано для  $\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ : 413,5  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; знайдено: 414).

Одержання сполуки 2



трет-Бутиловий ефір 4-[6-(2-амінофеніл)імідазо[2,1-б]тіазол-3-ілметил]піперазину-1-карбонової кислоти (0,25 ммоль) розчиняли в 1 мл піридину разом з 1 екв. (50 мг) 2-хіноксалоїлхлориду. Реакційну суміш нагрівали в мікровхвильовому реакторі Biotage (160°C протягом 10 хвил.). Потім суміш охолоджували до кімнатної температури й концентрували. Одержаний сирий продукт очищали хроматографією (Isco, градієнтне елювання,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  до 95 %  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , 4 % метанолу і 1 % триетиламіну). Потім очищений продукт обробляли розчином, що містить 25 % трифтороцтової кислоти (TFA) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (2 мл) протягом 2 год. Потім суміш концентрували й одержаний залишок розтирали з етиловим ефіром з одержанням бажаного продукту у вигляді солі трифтороцтової кислоти (розраховано для  $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{N}_7\text{O}_5\text{S}$ : 469,5  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ; знайдено: 470).  $^1\text{H}$  ЯМР (300 МГц,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$ : 13,9 (ушир. с, 1H), 9,8 (ушир. с, 1H), 9,6 (ушир. с, 1H), 8,9-7,2 (м, 11H), 4,8 (ушир. с, 2H). Аналітичні ВЕРХ проводили на хроматографі Agilent 1100 Series HPLC, забезпеченим колонкою 3,5 мкм Eclipse XDB-C18 (4,6 мм  $\times$  100 мм) у наступних умовах: рухлива фаза суміш  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$  з додаванням 0,1 % мурашиної кислоти. Градієнтне

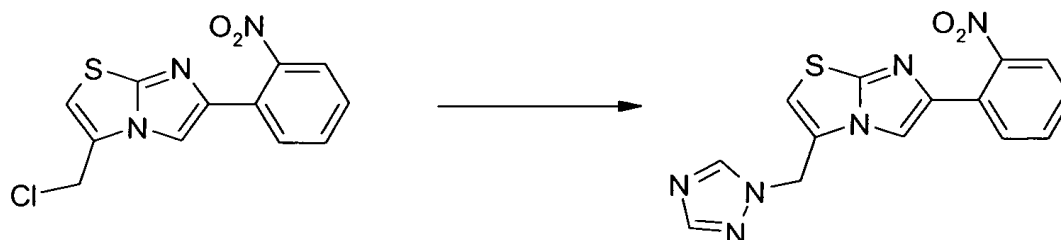
елювання: 5 % витримка (2 хвил.), градієнт від 5 % до 95 % (11 хвил.), градієнт від 95 % до 5 % (0,3хвил.), 5 % утримування (2,7 хвил.), загальний час аналізу 15 хвил. Швидкість потоку: 0,8 мл/хвил. Час утримування = 3,04 хвил.

- ПРИКЛАД 3: Одержання [2-(3-[1,2,4]триазолу-1-ілметилімідазо[2,1-б]тіазол-6-іл)фенілу]аміду 4-метил-2-пиридин-3-ілтіазол-5-карбонової кислоти  
 5 Одержання 3-хлорметил-6-(2-нітрофеніл)імідазо[2,1-б]тіазолу



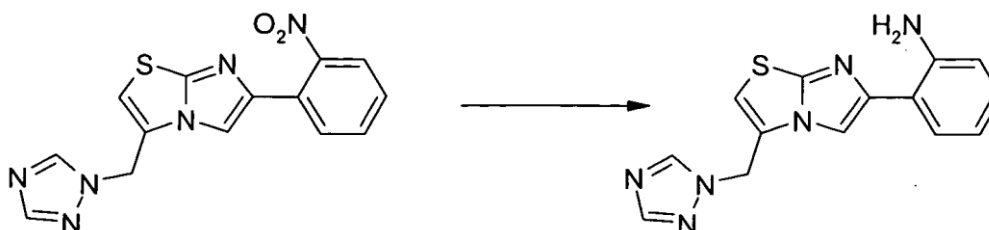
- 10 До розчину [6-(2-нітрофеніл)імідазо[2,1-б]тіазол-3-іл]метанолу (165 г, 0,6 моль) у дихлорметані (1,65 л) додавали  $\text{SOCl}_2$  (400 мл, 5,5 моль) при кімнатній температурі. Додавали ДМФА (0,3 мл) і реакційну суміш перемішували при 30°C (2 год.). Реакційну суміш охолоджували до 0°C і осад збирали фільтруванням і висушували у вакуумі з одержанням 3-хлорметил-6-(2-нітрофеніл)імідазо[2,1-б]тіазолу у вигляді білої твердої речовини (174 г, вихід 99 %).

- 15 Одержання 6-(2-нітрофеніл)-3-[1,2,4]триазол-1-ілметилімідазо[2,1-б]тіазолу



- 20 3-Хлорметил-6-(2-нітрофеніл)імідазо[2,1-б]тіазол (64,0 г, 0,22 моль) розчиняли в ДМФА (600 мл) з подальшим додаванням 1Н-[1,2,4]триазолу (30,4 г, 0,44 моль),  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (91,0 г, 0,66 моль) і  $\text{NaI}$  (20 мг). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом ночі й потім при 35°C (8 год.). Суміш пропускали через шар силікагелю й фільтрат концентрували у вакуумі з одержанням твердої жовтої речовини. Тверду речовину промивали етилацетатом з одержанням 6-(2-нітрофеніл)-3-[1,2,4]триазол-1-ілметилімідазо[2,1-б]тіазолу у вигляді жовтої твердої речовини (54 г, вихід 75 %).  $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{DMSO-d}_6$ , 400 МГц):  $\delta$  5,75 (с, 2H), 7,40 (с, 1H), 7,52 (м, 1H), 7,68 (м, 1H), 7,79 (м, 2H), 8,05 (с, 1H), 8,19 (с, 1H), 8,83 (с, 1H).

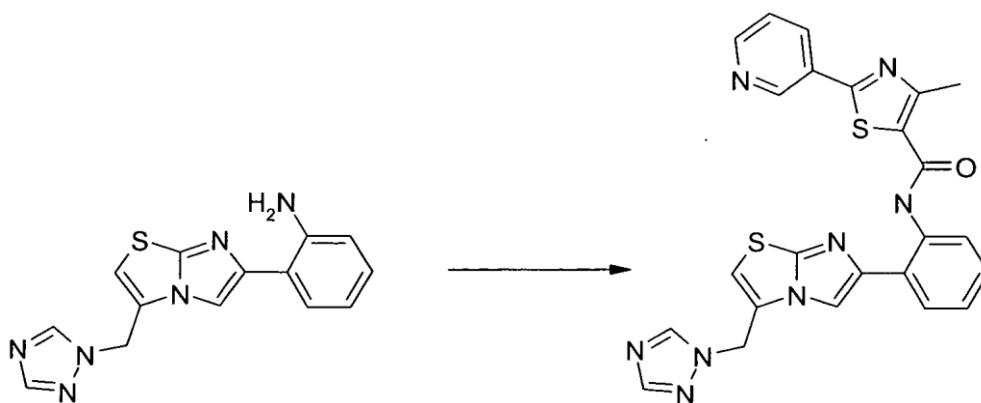
Одержання 2-(3-[1,2,4]триазолу-1-ілметилімідазо[2,1-б]тіазол-6-іл)феніл аміну



- 30 6-(2-Нітрофеніл)-3-[1,2,4]триазол-1-ілметилімідазо[2,1-б]тіазол (54 г, 165 ммоль) розчиняли в етанолі (2,0 л). Додавали  $\text{Pd/C}$  (10 %, 20 г) і з колби видаляли повітря й заповнювали  $\text{H}_2$ . Реакційну суміш перемішували в атмосфері  $\text{H}_2$  при кімнатній температурі (2 діб). Потім реакційну суміш пропускали через шар силікагелю й фільтрат концентрували у вакуумі з одержанням жовтої твердої речовини. Тверду речовину промивали етанолом з одержанням 2-(3-[1,2,4]триазолу-1-ілметилімідазо[2,1-б]тіазол-6-іл)феніламіну у вигляді жовтої твердої речовини (46 г, вихід 94 %).

Одержання [2-(3-[1,2,4]триазолу-1-ілметилімідазо[2,1-б]тіазол-6-іл)фенілу]аміду 4-метил-2-пиридин-3-ілтіазол-5-карбонової кислоти

- 40



Суміш 2-(3-[1,2,4]триазолу-1-ілметилімідазо[2,1-*b*]тіазол-6-іл)феніламіну (60 г, 202 ммоль), 4-метил-2-піридин-3-ілтіазол-5-карбонової кислоти (54 г, 245 ммоль), HATU (154 мг, 405 ммоль) і DIEA (132 мл, 800 ммоль) у ДМФА (850 мл) перемішували при кімнатній температурі протягом ночі. Дані ТШХ вказували, що реакція закінчувалася. Осад збирали фільтруванням. Промивали великою кількістю води, ацетону, метанолу і DCM з одержанням білої твердої речовини (79 г, вихід 79 %). Тверду речовину перекристалізували з оцтової кислоти, промивали насиченим розчином  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (2×1,0 л), водою (2 л) і етанолом (1,0 л) і висушували у вакуумній сушильній шафі при 45°C з одержанням [2-(3-[1,2,4]триазол-1-метилімідазо[2,1-*b*]тіазол-6-іл)феніл]аміду 4-метил-2-піридин-3-ілтіазол-5-карбонової кислоти у вигляді білої твердої речовини (62 г, вихід 62 %).  $^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{DMSO}-d_6$ , 400 МГц):  $\delta$  2,79 (с, 3H), 5,78 (с, 2H), 7,22 (м, 1H), 7,36 (м, 1H), 7,51 (с, 1H), 7,60 (м, 1H), 7,79 (д,  $J=6,4$  Гц, 1H), 8,04 (с, 1H), 8,38 (м, 1H), 8,41 (с, 1H), 8,54 (д,  $J=8,0$  Гц, 1H), 8,75 (м, 1H), 8,86 (с, 1H), 9,19 (с, 1H), 12,78 (с, 1H). ESI-МС: 499,3 ( $M+1$ ), 521,4 ( $M+23(\text{Na})$ ).

Гідрохлорид [2-(3-[1,2,4]триазолу-1-метилімідазо[2,1-*b*]тіазол-6-іл)феніл]аміду 4-метил-2-піридин-3-ілтіазол-5-карбонової кислоти одержували суспендуванням 5,20 г вільної основи в метанолі (350 мл). До цього додавали 4Н розчин HCl (35 мл) і суміш нагрівали до розчинення. Розчин охолоджували до -78°C і висушували ліофілізацією з одержанням гідрохлориду [2-(3-[1,2,4]триазолу-1-метилімідазо[2,1-*b*]тіазол-6-іл)феніл]аміду 4-метил-2-піридин-3-ілтіазол-5-карбонової кислоти (7,49 г) у вигляді жовтої твердої речовини.

#### ПРИКЛАД 4: Одержання солей, скринінг і характеристика

Одержували вісім прийнятних солей (стабільні й рКа) сполуки 1, а саме гідрохлорид, сіль сірчаної кислоти, метансульфонової кислоти, малеїнової кислоти, фосфорної кислоти, L-винної кислоти, лимонної кислоти та яблучної кислоти. Одержані солі або вільну основу піддавали скринінгу на:

- 1) процесинг, морфологію, поліморфи;
- 2) форму кристалів, один стабільний поліморф;
- 3) фізичну стабільність;
- 4) стабільність за умов прискореного старіння на повітрі (40°C/75 % відносна вологість) і
- 5) біорелевантний тест на розчинення.

На фігурі 1 наведені результати диференціальної скануючої калориметрії (DSC) з гідрохлоридом сполуки 1, які свідчать, що мали місце невеликі ендотермічні переходи при температурі близько 111°C і 192°C. Дані термогравіметричного аналізу (TGA) вказують на загальну втрату маси при нагріванні, потенційно асоційовану з утратою розчинників (найбільш, ймовірно, за рахунок втрати води, ґрунтуючись на гігроскопічній природі даного гідрохлориду), але були відсутні втрати маси, відповідні встановленим температурам переходів при постановці DSC при 111° і 192°C. Отже, виявилось, що дані дві термічні події при DSC пов'язані з молекулярними фазовими змінами, й на основі цього можна припустити наявність переходів між поліморфними формами соли сполуки 1 при нагріванні. Результати DSC вказують, що при температурі вищій за 200°C має місце розкладання сполуки 1.

На фігурі 2 показано, що вільна основа сполуки 1 має одну ендотермічну подію при 236°C, яка пов'язана з однією точкою плавлення кристалів. Оскільки не спостерігали інших термічних переходів за даними DSC або TGA, то виявилось, що сполука 1 існує лише в одній фазі (тобто без поліморфів) у тестованих температурних межах.

Потенційні фазові зміни поліморфних форм у температурних межах 0-125°C, як показано на фігурі 1 для гідрохлориду, можуть привести до змін лікарського препарату при звичайному зберіганні й обробці. Оскільки переходи між поліморфами можуть значно впливати на розчинення й біодоступність лікарського препарату, то практично вибрати форми препарату,

для яких зведена до мінімуму або елімінована потенційна можливість фазових переходів. Отже, в сукупності результати на фігурах 1 і 2 вказують, що вільна основа є досконалішою як лікарський препарат, ґрунтуючись на явній одній кристалічній формі сполуки 1.

#### ПРИКЛАД 5: Тестування за умов *in vivo*

Метою даного прикладу було порівняння ефективності сполуки 1 у вигляді солі й вільної основи на двох моделях діабету: на мишах, моделі індукованого раціоном ожиріння (DIO) і на мишах Ob/ob. Рівень глюкози в крові був основним показником у дослідях за оцінкою ефективності.

Для моделі індукованого раціоном ожиріння мишам-самцям C57BL/6 у віці шести тижнів (Charles River Labs) згодовували раціон з високим умістом жиру (60 % калорій жиру; Research Diets) приблизно протягом 6 тижнів до тих пір, поки маса тіла не досягала приблизно 40 г. Тестовані сполуки вводили щодня в шлунок у вказаних дозах. Використаним розчинником була 2 % НРМС і 0,2 % DOSS. Двічі на тиждень визначали масу тіла в кожній миші. Кожні 2 тижні протягом дослідного періоду в мишей з кожної групи відбирали проби крові з хвостової вени для визначення концентрації глюкози. Статистичну обробку даних проводили з використанням програми JMP (Version 6). Дані обробляли за допомогою однобічного аналізу ANOVA для порівняння з контролем з використанням тесту Даннетта. Значення  $p < 0,05$  вказувало на наявність статистично достовірної відмінності між групами.

Миші Ob/ob є генетично модифікованими нокаутними мишами, в яких відсутній лептин, важливий білок, що додає відчуття ситості, який неврологічно "сигналізує" про припинення голоду. Мутація лептину є гомозиготною і як контроль був включений гетерозиготний штаб (Ob/+); у тварин даної групи не повинно мати місце підвищення маси тіла й рівня глюкози в крові, крім нормальних ефектів від раціону з високим умістом жиру.

Потім сполуку 1 у вигляді вільної основи тестували на моделі DIO. Результати аналізу рівня глюкози в мишей, що отримували сполуку 1 у дозі 100 мг/кг/доба, були аналогічними результатам з ресвератролом, який вводили в дозі 1000 мг/кг/доба, метформіном – у дозі 400 мг/кг/доба і сполукою 2 – в дозі 100 мг/кг/доба, в усіх випадках мало місце достовірне зниження вмісту глюкози, починаючи з 2 тижня досвіду (фігури 3-5). Дані за визначенням концентрації глюкози в крові для сполуки 1 були аналогічні таким для ресвератролу, метформіну й сполуки 2, в усіх випадках спостерігали достовірне зниження рівня глюкози, починаючи з 2 тижня досвіду (фігури 3-5). Для мишей у групі, що отримувала сполуку 1, на 2 і 3 тижню значення  $p$  було нижче 0,01, це означає достовірне зниження в порівнянні з контрольною групою. Попри те, що вміст глюкози в крові при аналізі не натщесерце залишався нижчим в порівнянні з контролем на 4 тижні досвіду, достовірність була відсутня для сполуки 2 і ресвератролу.

Сполука 1 у вигляді вільної основи в дозі 100 мг/кг показувала високу ефективність на моделі ob/ob, як впливає з даних на фігурах 6-8. Протягом 1 тижня вже мало місце зниження рівня глюкози майже на 60 мг/дл порівняно до контрольної групи. Дана тенденція зберігалася на 2 тижні за даними аналізу вмісту глюкози натщесерце (фігура 7), так у мишей, що отримували сполуку 1, рівень глюкози складав 158,3 мг/дл проти 285,3 мг/дл у контрольній групі. Згідно з даними тесту ANOVA значення  $p$  було нижчим за 0,0001, що свідчить про зниження рівня глюкози з високим ступенем достовірності в порівнянні з контрольними мишами. Попри те, що на 3 тижні мало місце підвищення концентрації глюкози, все одно відзначали достовірне зниження даного показника ( $p < 0,01$ ) у порівнянні з контрольною групою.

Провели другий досвід на мишах ob/ob з метою безпосереднього порівняння сполуки 1 у вигляді вільної основи проти гідрохлориду й сполуки 2, всі препарати вводили в дозі 100 мг/кг. Результати визначення вмісту глюкози натщесерце на 1 і 2 тижні наведені відповідно на фігурах 9 і 10.

#### Еквівалентні варіанти

Даний винахід серед іншого відноситься до активуючих сиртуїн сполук і способів їх застосування. Попри те, що обговорювалися конкретні варіанти здійснення даного винаходу, наведений вище опис є ілюстративним і не обмежувачим. Фахівцям у даній галузі очевидні багато варіацій винаходу у світлі даного опису. Повний обсяг винаходу слід визначити при зверненні до формули винаходу поряд з повним обсягом еквівалентних варіантів і описом, разом з варіаціями.

#### Включення джерел

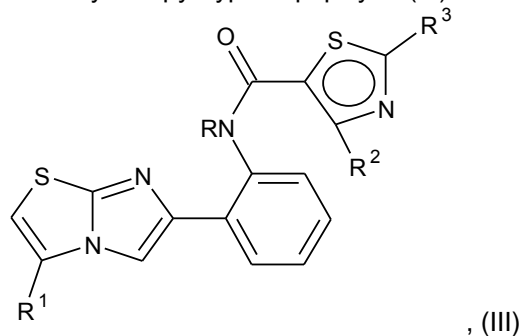
Всі публікації й патенти, згадані в даному документі, включаючи пункти, перераховані нижче, в повному обсязі включені в даний документ для інформації, неначебто кожна окрема публікація або патент специфічно й індивідуально були включені для інформації. В разі конфлікту дана заявка, включаючи будь-які визначення в даному документі, забезпечуватиме контроль.

Також включені для інформації в повному обсязі полінуклеотидні й поліпептидні послідовності, які мають номер, що збігається з номером у базі даних, яка є в Інституті досліджень геному (TIRG) ([www.tigr.org](http://www.tigr.org)) і Національному центрі інформації з біотехнології (NCBI) ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)).

- 5 Також включені для інформації наступні публікації: РСТ WO2005/002672; 2005/002555 і 2004/016726.

# ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 10 1. Сполука структурної формули (III):



або її сіль,  
де

R означає -H або -CH<sub>3</sub>;

- 15 R<sup>1</sup> означає заміщений або незаміщений азотовмісний гетероцикліметил;

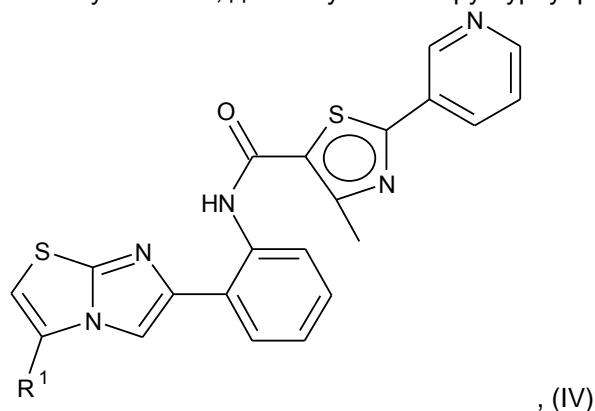
R<sup>2</sup> означає -H або -CH<sub>3</sub>; і

R<sup>3</sup> означає незаміщену піридинильну групу.

2. Сполука за п. 1, в якій R<sup>1</sup> означає заміщену або незаміщену морфолінометильну групу.

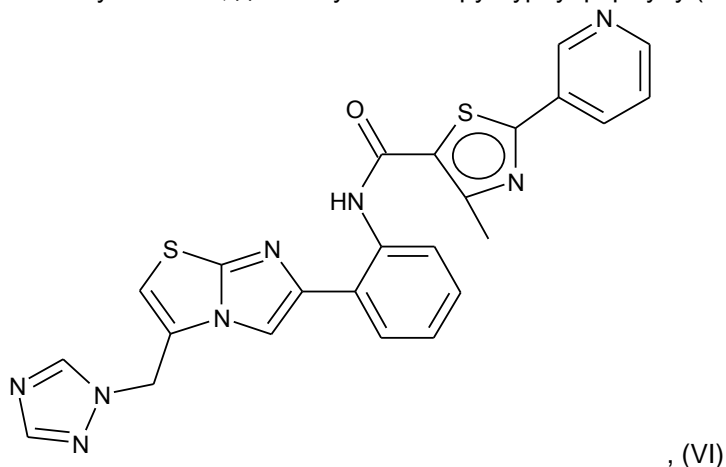
3. Сполука за п. 1, в якій R<sup>1</sup> означає 1,2,4-триазолілметильну групу.

- 20 4. Сполука за п. 1, де сполука має структурну формулу (IV):



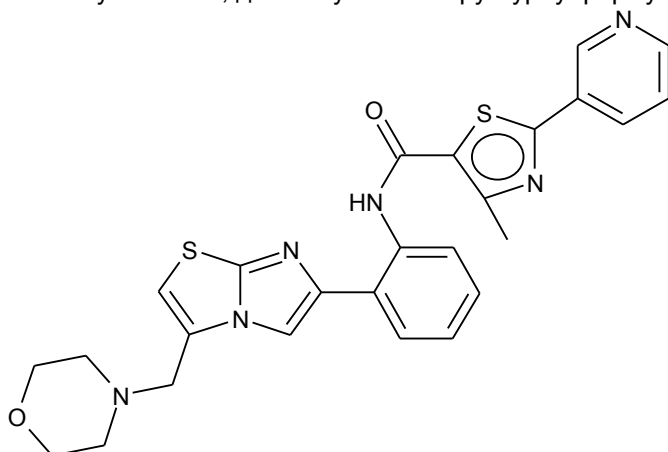
або її сіль.

5. Сполука за п. 1, де сполука має структурну формулу (VI):



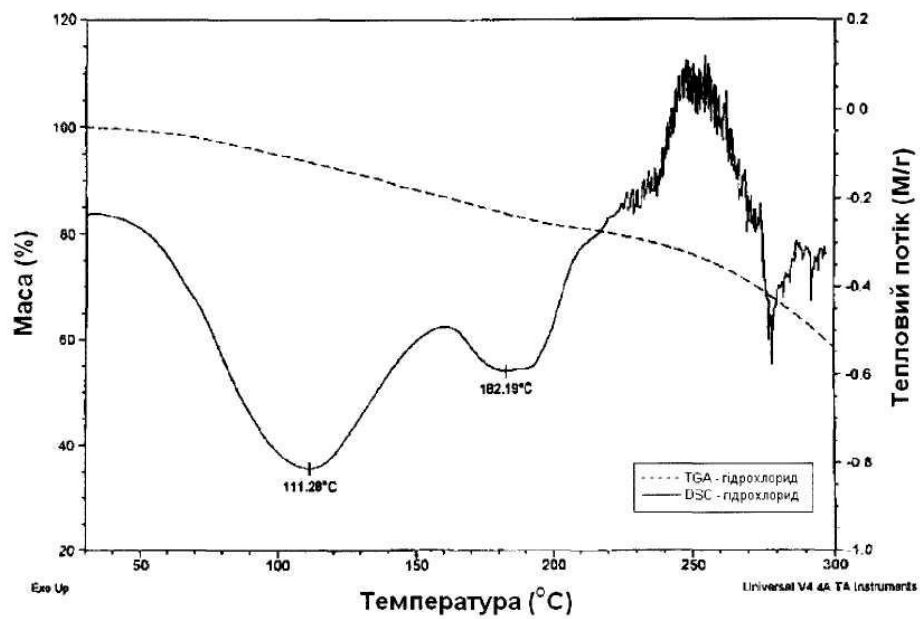
або її сіль.

6. Сполука за п. 1, де сполука має структурну формулу (V):

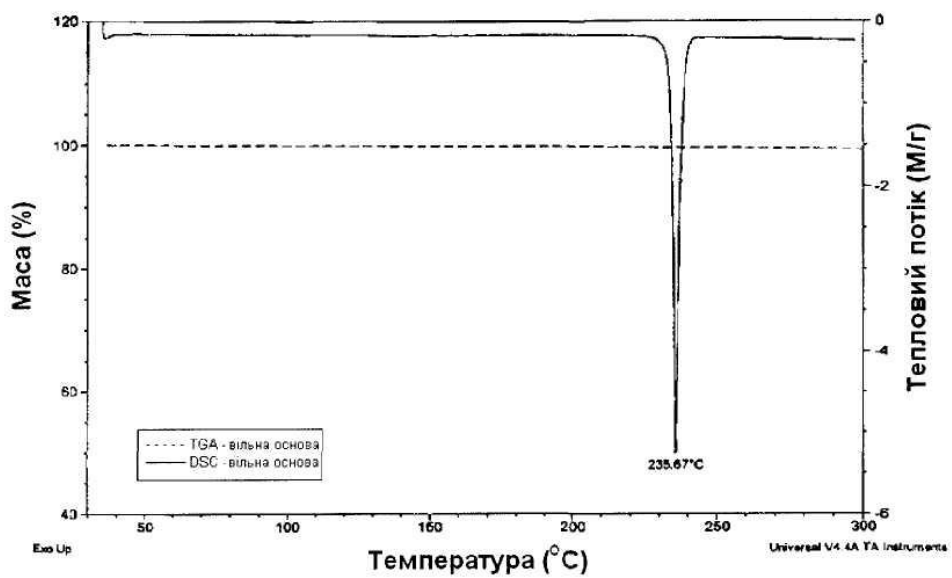
 $\gamma(V)$ 

або її сіль.

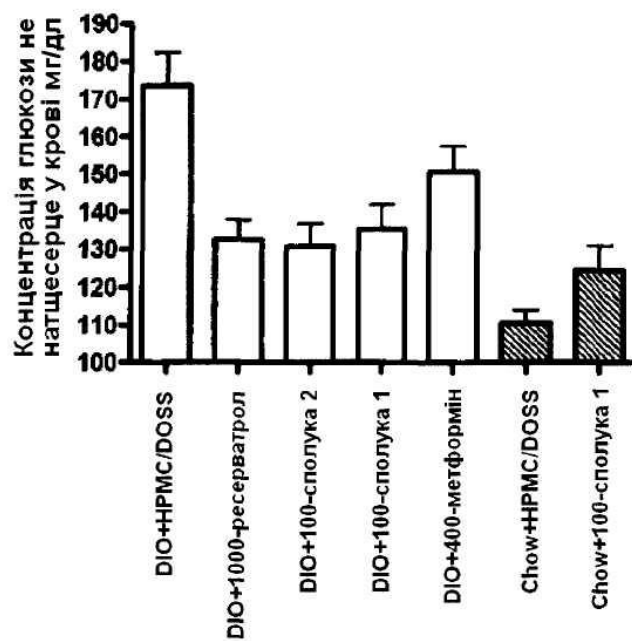
- 5 7. Сполука за п. 6, де сполука є вільною основою.
8. Сполука за п. 6, де сполука є сіллю.
9. Фармацевтична композиція, що містить сполуку або фармацевтично прийнятну сіль за будь-яким з попередніх пунктів і фармацевтично прийнятний носій.
10. Композиція за п. 9, де фармацевтична композиція є непірогенною.
11. Композиція за п. 9, що також містить додатковий активний засіб, вибраний групи, що включає: інші протизапальні препарати, анальгетики, протимікробні засоби, протигрибкові препарати, антибіотики, вітаміни, антиоксиданти й сонцезахисні речовини, зазвичай присутні в сонцезахисних композиціях, включаючи, але не обмежуючись цим, антранілати, бензофенони (зокрема бензофенон-3), похідні камфора, цинамати (наприклад октилметоксицинамат), дибензоїлметани (наприклад бутилметоксидибензоїлметан), п-амінобензойну кислоту (PABA) та її похідні, й саліцилати (наприклад октилсаліцилат).
12. Сполука за будь-яким з пп. 1-7 для застосування у способі лікування або запобігання резистентності до інсуліну, метаболічного синдрому, діабету або його ускладнень, або підвищенню чутливості до інсуліну в суб'єкта.
- 20 13. Сполука за п. 12, де зазначена сполука підвищує принаймні одне з рівня або активності білка сиртуїну, та тим, що
  - (i) сполука підвищує деацетилазну активність білка сиртуїну,
  - (ii) білок сиртуїн є білком ссавців,
  - (iii) білок сиртуїн є людським SIRT1, та
- 25 (iv) сполука по суті не має однієї або більше з наступних активностей: інгібування PI3-кінази, інгібування альдоредуктази, інгібування тирозинкінази, трансактивування EGFR-тирозинкінази, розширення коронарних судин або спазмолітичну активність, у концентраціях сполуки, які є ефективними для підвищення деацетилазної активності білка SIRT1 і/або SIRT3.
14. Сполука за будь-яким з пп. 1-7, для застосування як лікарського засобу.



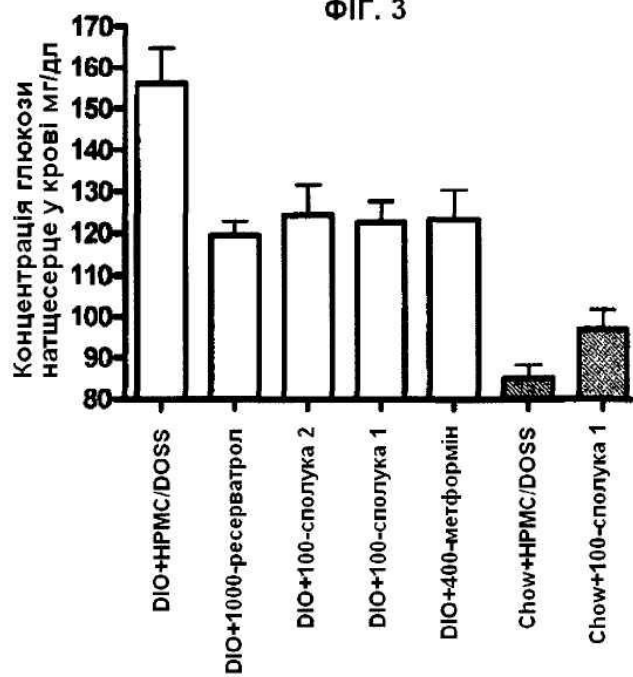
ФІГ. 1



ФІГ. 2

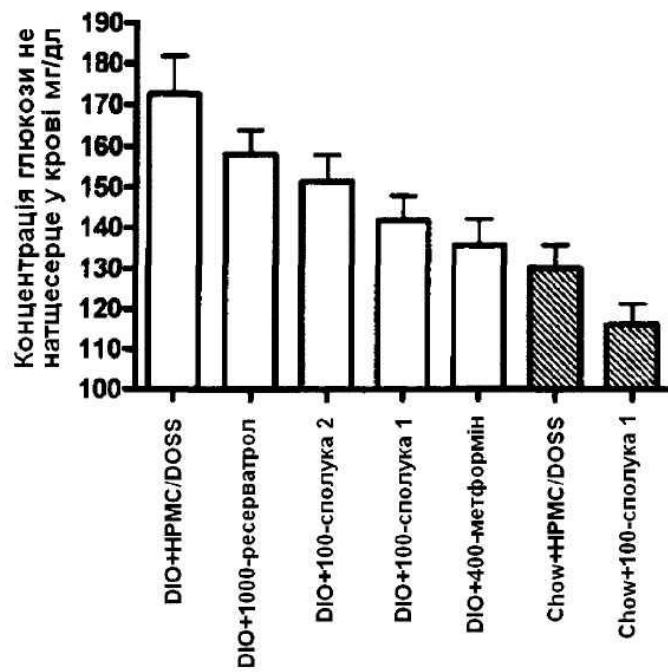


ФІГ. 3

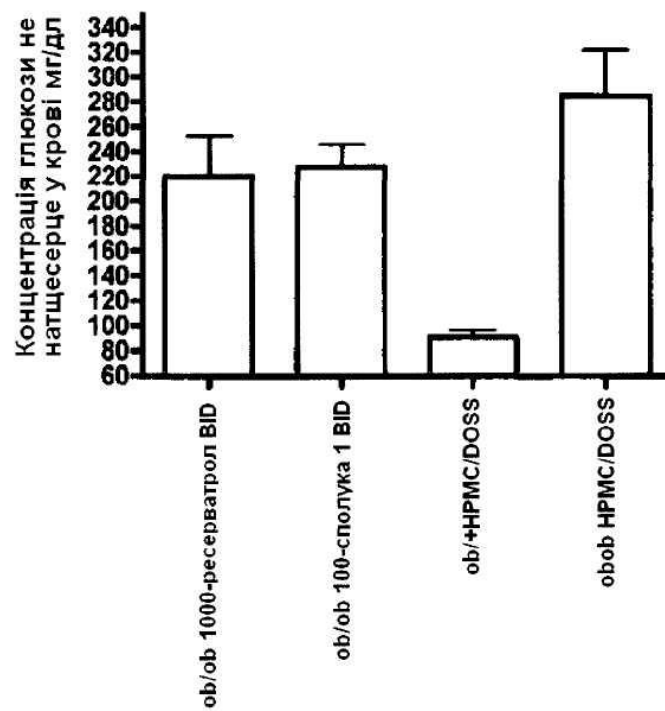


ФІГ. 4

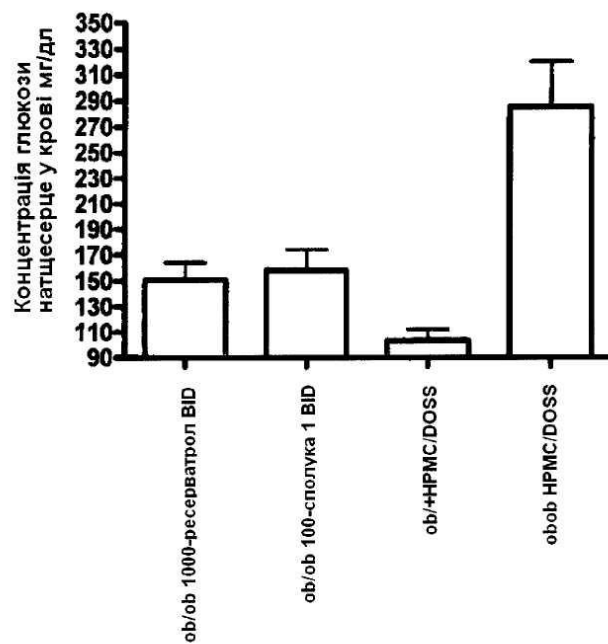




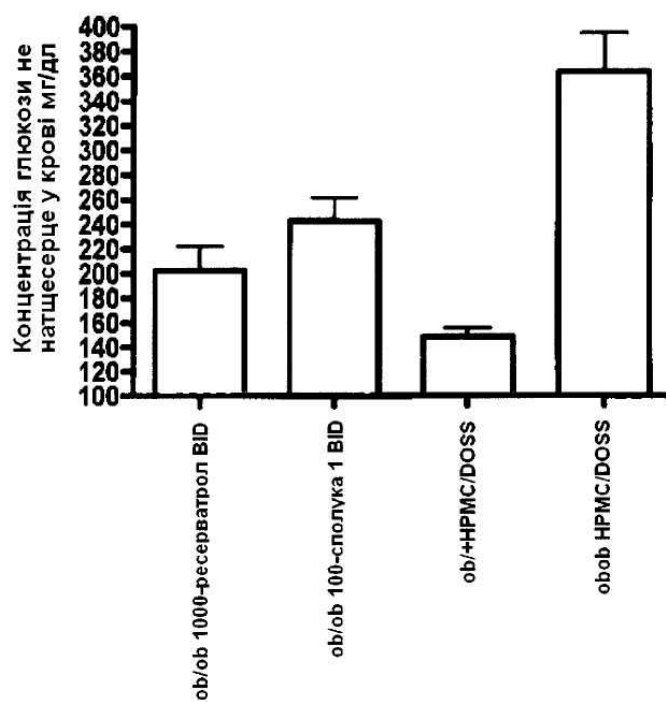
ФІГ. 5



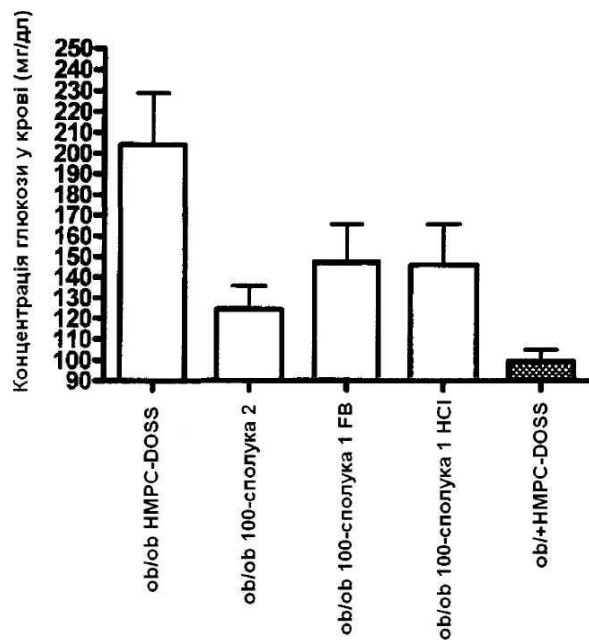
ФІГ. 6



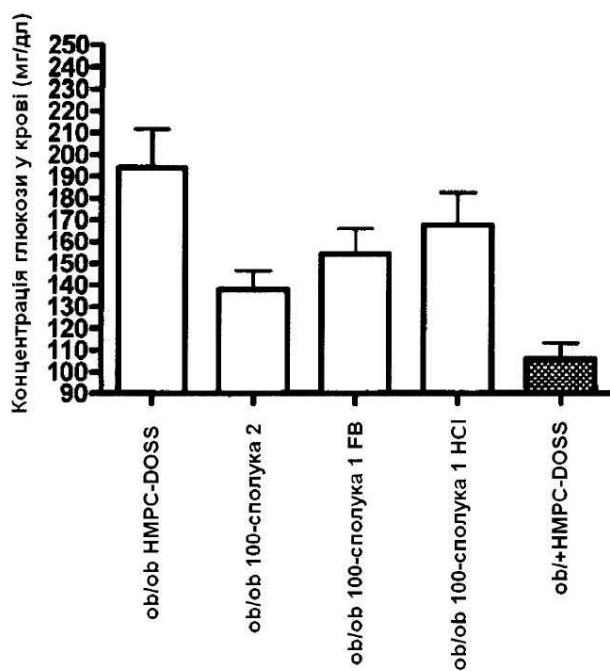
ФІГ. 7



ФІГ. 8



ФІГ. 9



ФІГ. 10

Комп'ютерна верстка М. Мацело

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601