



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **104447** (13) **C2**

(51) МПК (2014.01)

C07D 513/04 (2006.01)

A61P 3/00

A61P 25/00

A61K 31/437 (2006.01)

A61P 5/50 (2006.01)

A61P 31/00

A61K 31/496 (2006.01)

A61P 9/00

A61P 37/00

A61K 31/5377 (2006.01)

A61P 19/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2011 09066	(72) Винахідник(и):	Оулменн Крістофер (US), Діш Джеремі С. (US), Нг Пуї Йі (US), Перні Роберт Б. (US)
(22) Дата подання заявки:	18.12.2009	(73) Власник(и):	СІРТРІЗ ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ІНК., 200 Technology Square, Suite 300, Cambridge, MA 02139, United States of America (US)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	10.02.2014	(74) Представник:	Міхашина Людмила Михайлівна, реєстр. №14
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	61/203,156	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	WO 2008156869 A2, 24.12.2008 WO 2007019346 A1, 15.02.2007 WO 2009061453 A1, 14.05.2009 US 2007037810 A1, 15.02.2007
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	19.12.2008		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	US		
(41) Публікація відомостей про заявку:	25.11.2011, Бюл.№ 22		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.02.2014, Бюл.№ 3		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/US2009/068865, 18.12.2009		

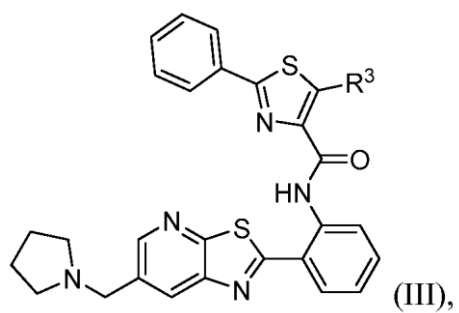
(54) ТІАЗОЛОПІРИДИНОВІ СПОЛУКИ, ЩО МОДУЛЮЮТЬ СИРТУЇН

(57) Реферат:

У даному винаході представлені нові сполуки, що регулюють сиртуїн, і способи їх використання. Сполуки, що регулюють сиртуїн, можуть використовуватися для збільшення тривалості життя клітини й лікування і/або профілактики безлічі різних захворювань і порушень, включаючи, наприклад, захворювання або порушення, пов'язані зі старінням або стресом, діабет, ожиріння, нейродегенеративні захворювання, серцево-судинні захворювання, порушення згортання крові, запалення, рак і/або почервоніння обличчя, а також захворювання або порушення, перебіг яких може покращитися при підвищенні мітохондріальної активності.

UA 104447 C2

Також представлені композиції, що містять сполуку, яка регулює сиртуїн, у комбінації з іншим терапевтичним агентом.



Посилання на родинні заявки

Дана заявка встановлює пріоритет попередньої заявки на патент США № 61/203156, поданої 19 грудня 2008 р., зміст якої цілком включено в даний документ як посилання.

Передумови винаходу

Сімейство генів SIR (Silent Information Regulator) являє собою групу висококонсервативних генів, що є присутніми в організмах від археобактерій до вищих еукаріот. Білки SIR, що кодуються цими генами, задіяні в різних процесах - від регуляції сайленсингу генів до репарації ДНК. Білки, що кодуються генами сімейства SIR, мають висококонсервативний кислий коровий домен, що містить 250 амінокислот. До цього сімейства належить добре охарактеризований ген *S. cerevisiae* SIR2, що бере участь у сайленсинзі локусів HM, що містять інформацію, яка визначає тип спарювання дріжджів, теломерний ефект положення і старіння клітин. Білок дріжджів Sir2 належить до сімейства гістон-деацетилаз. Гомолог Sir2 у *Salmonella tiphimurium*, CobB, являє собою НАД (нікотинамід аденін динуклеотид)-залежну АДФ-рибозилтрансферазу.

Білок Sir2 являє собою деацетилазу класу III, що використовує НАД у якості косубстрату. На відміну від інших деацетилаз, багато хто з яких залучені в сайленсинг генів, Sir2 нечутлива до інгібіторів деацетилаз I і II класів, таких як трихостатин А (TSA).

У результаті деацетилювання Sir2 ацетиллізину, тісно зв'язаного з гідролізом НАД, отримують нікотинамід і нову сполуку ацетил-АДФ-рибози. НАД-залежна деацетилазна активність Sir2 необхідна для його функцій, що зв'язують його біологічну роль із клітинним метаболізмом у дріжджів. Гомологи Sir2 у ссавців мають активність НАД-залежної гістон-деацетилази. Більшість інформації, що проливає світло на функції, опосередковані Sir2, була отримана в дослідженнях, проведених на дріжджах.

Біохімічні дослідження показали, що Sir2 здатний деацетилювати N-кінці гістонів H3 і H4, що приводить до утворення 1-O-ацетил-АДФ-рибози і нікотинаміді. Для штамів дріжджів, що містять додаткові копії SIR2, характерні підвищений сайленсинг рДНК і збільшена на 30 % тривалість життя. Нещодавно було показано, що додаткові копії гомолога SIR2 у *C. elegans*, sir-2.1, і в *D. melanogaster*, dSir2, набагато збільшують тривалість життя цих організмів. Це припускає, що SIR2-залежний шлях передачі регуляторних сигналів, пов'язаних зі старінням, з'явився на ранніх стадіях еволюції і є еволюційно консервативним. На сьогоднішній день вважається, що гени Sir2 еволюціонували для поліпшення здоров'я організму і відповіді на стрес з метою збільшення шансів на виживання в несприятливих обставинах.

У людини є сім Sir2-подібних генів (SIRT1-SIRT7), що включають консервативний каталітичний домен Sir2. SIRT1 являє собою ядерний білок, чия послідовність найбільш близька до послідовності Sir2. SIRT1 впливає шляхом деацетилювання на множинні мішені в клітині, включаючи пухлинний супресор p53, фактор клітинного сигналіну NF-κB і транскрипційний фактор FOXO.

SIRT3 являє собою гомолог SIRT1, консервативний серед прокаріот і еукаріот. Білок SIRT3 направляється в мітохондріальні кристи за допомогою унікального домена, розташованого на N-кінці. SIRT3 володіє НАД⁺-залежною протеїн-деацетилазною активністю і експресується повсюдно, особливо в метаболічно активних тканинах. Після переносу в мітохондрії, SIRT3, ймовірно, розщеплюється до меншої активної форми за допомогою пептидази, процесуючої мітохондріальний матрикс (MPP).

Вже протягом 70 років відомо, що обмеження калорій поліпшує стан здоров'я і подовжує життя ссавців. Тривалість життя дріжджів, так само, як і багатоклітинних організмів, збільшується від утрочань, подібних з обмеженням калорій, таких як низька глюкоза. Той факт, що тривалість життя дріжджів і мух, у яких відсутній ген SIR2, не збільшується в умовах обмеження калорій, доводить, що гени SIR2 опосередковують сприятливий вплив дієти з обмеженням калорій на стан здоров'я. Крім того, мутації, що послабляють активність глюкозо-респонсивного цАМФ (аденозин-3', 5'-монофосфату)-залежного шляху (РКА) збільшують тривалість життя клітин дикого типу, але не клітин мутантних за sir2 штамів, що вказує на ймовірну ключову роль SIR2 у передачі сигналів від обмеження калорій.

Суть винаходу

У даному винаході представлені нові сполуки, що регулюють сиртуїн, і способи їх використання.

В одному аспекті, у даному винаході представлені сполуки, що регулюють сиртуїн, зі структурними формулами (I)-(VI), які докладно описані нижче.

В іншому аспекті, у даному винаході представлені способи використання сполук, що регулюють сиртуїн, або композицій, що містять сполуки, що регулюють сиртуїн. У деяких утіленнях, сполуки, що регулюють сиртуїн, які підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися в різних терапевтичних цілях, включаючи, наприклад, збільшення

тривалості життя клітини і лікування і/або профілактику безлічі різних захворювань і порушень, включаючи, наприклад, захворювання або порушення, пов'язані зі старінням або стресом, діабет, ожиріння, нейродегенеративні захворювання, нейропатію, індуковану хіміотерапією, нейропатію, асоційовану з ішемічною подією, хвороби і/або порушення очей, серцево-судинне захворювання, порушення згортання крові, запалення і/або почервоніння обличчя і т.д. Сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть також використовуватися для лікування захворювання або порушення в суб'єкта, перебіг може покращитися при підвищенні мітохондріальної активності, для поліпшення роботи м'язів, для підвищення рівня м'язового АТФ або для лікування або профілактики ушкоджень м'язової тканини, асоційованих з гіпоксією або ішемією. В інших утіленнях, сполуки, що регулюють сиртуїн, що знижують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися в різних терапевтичних цілях, наприклад, підвищення чутливості клітин до стресу, стимуляції апоптозу, терапії раку, стимуляції апетиту і/або стимуляції набору ваги і т.д. Як докладно описано нижче, способи включають введення суб'єктові, що потребує подібного лікування, фармацевтично ефективною кількістю сполуки, що регулює сиртуїн.

У деяких аспектах, сполуки, що регулюють сиртуїн, можуть вводитися по-окремо або в комбінації з іншими сполуками, включаючи інші сполуки, що регулюють сиртуїн, або інші терапевтичні агенти.

Докладний опис винаходу

1. Визначення

При використанні в даному документі, наступні терміни і вираження мають значення, приведені нижче. Якщо не зазначено інше, усі технічні і наукові терміни, використані в даному документі, мають загальноприйняті значення, очевидні для фахівця в галузі техніки.

Термін "агент" використовується в даному документі для позначення хімічної сполуки, суміші хімічних сполук, біологічної макромолекули (такої як нуклеїнова кислота, антитіло, білок або його частина, наприклад, пептид) або екстракту, отриманого з біологічних матеріалів, таких як клітини або тканини бактерій, рослин, грибків або тварин (особливо ссавців). Активність таких агентів може робити їх придатними в якості "терапевтичного агента", що представляє собою біологічно, фізіологічно або фармакологічно активну речовину (речовини), що впливає на суб'єкта локально або системно.

Термін "біодоступний" у відношенні сполуки відомий з рівня техніки й означає форму сполуки, що дозволяє їй, або частині введеної кількості речовини, адсорбуватися, поглинатися або ставати фізіологічно доступною іншим способом для суб'єкта або пацієнта, що піддавався введенню.

"Біологічно активна частина сиртуїну" означає частину білка сиртуїну, що володіє біологічною активністю, такою як здатність до деацетилювання. Біологічно активні частини сиртуїну можуть включати корові домени сиртуїнів. Біологічні активні частини SIRT1 з номером доступу в GenBank NP_036370, що включають НАД⁺-зв'язувальний домен і субстрат-зв'язувальний домен, наприклад, можуть включати без обмежень амінокислоти 62-293 номеру доступу в GenBank NP_036370, що кодуються нуклеотидами 237-932 номеру доступу в GenBank NM_012238. Цей регіон іноді називається коровим доменом. Інші біологічні активні частини SIRT1, також іноді називані коровими доменами, включають амінокислоти приблизно 261-447 номеру доступу в GenBank NP_036370, що кодуються нуклеотидами 834-1394 номеру доступу в GenBank NM_012238; амінокислоти приблизно 242-493 номеру доступу в GenBank NP_036370, що кодуються нуклеотидами 777-1532 номеру доступу в GenBank NM_012238; або амінокислоти приблизно 254-495 номеру доступу в GenBank NP_036370, що кодуються нуклеотидами 813-1538 номеру доступу в GenBank NM_012238.

Термін "тварини-компаньйони" відноситься до котів і собак. Термін "собака" ("собаки") використовуваний у даному документі, означає будь-якого представника виду *Canis familiaris*, що включає безліч різних порід. Термін "кіт" ("коти") означає котів, включаючи домашніх котів та інших членів сімейства котячих, роду *Felis*.

"Діабет" означає високий вміст цукру в крові або кетоацидоз, а також хронічні, системні порушення обміну речовин, обумовлені тривалим високим вмістом цукру в крові або зниженням толерантності до глюкози. "Діабет" включає як I, так і II (неінсулінозалежний цукровий діабет, NIDDM) типи захворювання. Фактори ризику для діабету включають наступні фактори: обхват талії більше 40 дюймів для чоловіків або 35 дюймів для жінок, кров'яний тиск 130/85 мм рт. ст. або вище, тригліцериди більше 150 мг/дл, глюкоза в крові натще більше 100 мг/дл або ліпопротеїни високої щільності нижче 40 мг/дл у чоловіків або 50 мг/дл у жінок.

Термін "ED₅₀" означає міру ефективності дози, прийняту в рівні техніки. У деяких утіленнях, ED₅₀ означає дозу препарату, що дає 50 % максимального результату або ефекту, або

альтернативно, доза, що дає заданий результат у 50 % суб'єктів або препаратів. Термін "LD₅₀" означає міру смертельної дози, прийняту в рівні техніки. У деяких утіленнях, LD₅₀ означає дозу, що приводить до загибелі 50 % суб'єктів. Термін "терапевтичний індекс" прийнятий у рівні техніки й означає терапевтичний індекс лікарського препарату, обумовлений як LD₅₀/ED₅₀.

5 Термін "гіперінсулінемія" означає стан індивідуума, при якому рівень інсуліну в крові перевищує норму.

Термін "стійкість до інсуліну" означає стан, при якому нормальна кількість інсуліну викликає знижену біологічну відповідь у порівнянні з біологічною відповіддю в суб'єкта, що не має стійкості до інсуліну.

10 "Порушення стійкості до інсуліну", під час обговорення в даному документі, означає будь-яке захворювання або стан, що викликається або якому сприяє стійкість до інсуліну. Приклади включають: діабет, ожиріння, метаболічний синдром, синдроми стійкості до інсуліну, синдром Х, стійкість до інсуліну, високий кров'яний тиск, гіпертонію, високий рівень холестерину в крові, дисліпідемію, гіперліпідемію, атеросклеротичні захворювання, включаючи інсульт, захворювання коронарних артерій або інфаркт міокарда, гіпергліцемію, гіперінсулінемію і/або гіперпроінсулінемію, ослаблену толерантність до глюкози, уповільнене вивільнення інсуліну, діабетичні ускладнення, включаючи ішемічну хворобу серця, грудну жабу, застійну серцеву недостатність, інсульт, когнітивні функції при деменції, ретинопатію, периферійну нейропатію, нефропатію, гломерулонефрит, гломерулосклероз, нефротичний синдром, гіпертонічний нефросклероз, деякі типи раку (такі як рак матки, грудей, простати і кишечника), ускладнення вагітності, порушення жіночого репродуктивного здоров'я (такі як нерегулярні менструації, безплідність, нерегулярні овуляції, полікістоз яєчників (PCOS)), ліподистрофію, порушення, що відносяться до холестерину, такі як жовчні камені, холецистит і холелітіаз, подагру, апное і дихальні проблеми, остеоартрит і втрата кісткової маси, наприклад, особливо остеопороз.

25 Термін "сільськогосподарські тварини" означає одомашнених чотириногих тварин, що включають тварин, вирощуваних на м'ясо й інші побічні продукти, наприклад, велика рогата худоба, включаючи корів та інших представників роду Bos, свиней, включаючи домашню свиню й інших представників роду Sus, овець, включаючи овець та інших представників роду Ovis, домашніх кіз та інших представників роду Capra; одомашнених чотириногих тварин, яких розводять для особливих цілей, наприклад для використання в якості в'ючних тварин, наприклад, коней, включаючи домашніх коней та інших представників сімейства кінських, роду Equus.

30 Термін "ссавець" відомий з рівня техніки, і типові ссавці включають людину, приматів, сільськогосподарських тварин (включаючи корів, свиней і т.д.), тварин-компаньйонів (наприклад, собак, котів і т.д.) і гризунів (наприклад, мишей і щурів).

35 "Гладкі" індивідууми або індивідууми, що страждають ожирінням, звичайно мають індекс маси тіла (BMI) щонайменше 25 або вище. Ожиріння може бути або не бути асоційоване зі стійкістю до інсуліну.

40 Терміни "парентеральне введення" і "вводити парентерально" відомі з рівня техніки й означають способи введення, відмінні від ентерального введення і місцевого нанесення, звичайно шляхом ін'єкції і включають без обмеження внутрішньовенну, внутрішньом'язову, внутрішньоартеріальну, інтратекальну, інтракапсулярну, інтраорбітальну, внутрішньосерцеву, внутрішньошкірну, внутрішньоочеревинну, черевотрахеальну, підшкірну, підкутикулярну, внутрішньосуглобну, субкапсулярну, субарахноїдальну, інтраспінальну та інтрастернальну ін'єкцію та інфузію.

45 "Пацієнт", "суб'єкт", "індивідуум" або "реципієнт" означає людину або тварину, відмінну від людини.

Термін "фармацевтично прийнятний носій" відомий з рівня техніки й означає фармацевтично прийнятний матеріал, композицію або наповнювач, такий як рідкий або твердий наповнювач, розріджувач, ексципієнт, розчинник або інкапсулюючий матеріал, що бере участь у переносі або транспорті будь-якої обговорюваної композиції або її компонент. Кожен носій повинний бути "прийнятним" у тім змісті, що він повинний бути сумісним з обговорюваною композицією і її компонентами і не бути шкідливим для пацієнта. Приклади матеріалів, що можуть слугувати фармацевтично прийнятними носіями, включають: (1) цукри, такі як лактоза, глюкоза, і сахароза; (2) крохмалі, такі як кукурудзяний крохмаль і картопляний крохмаль; (3) целюлоза і її похідні, такі як натрійкарбоксиметилцелюлоза, етилцелюлоза й ацетат целюлози; (4) порошок трагаканту; (5) солод; (6) желатин; (7) тальк; (8) ексципієнти, такі як олія какао і воски для супозиторіїв; (9) олії, такі як арахісова олія, бавовняна олія, сафлорова олія, кунжутна олія, маслинова олія, кукурудзяна олія і соєва олія; (10) гліколі, такі як пропіленгліколь; (11) поліолі, такі як гліцерин, сорбіт, маніт і поліетиленгліколь; (12) складні ефіри, такі як етилолеат і

етиллаурат; (13) агар; (14) буферні агенти, такі як гідроксид магнію і гідроксид алюмінію; (15) альгінова кислота; (16) вода, що не містить пірогенів; (17) ізотонічний розчин солі; (18) розчин Рінгера; (19) етиловий спирт; (20) розчини фосфатного буфера; та (21) інші нетоксичні сумісні субстанції, використовувані у фармацевтичних препаратах.

5 Термін "профілактика" прийнятий у рівні техніки і при використанні стосовно стану, такого як локальний рецидив (наприклад, болю), захворювання, такого як раку, комплексу синдромів, такого як параліч серця або будь-якого іншого захворювання, вільно розуміється фахівцями в рівні техніки і включає введення композиції, що знижує частоту або віддаляючи виникнення симптомів захворювання у суб'єкта відносно суб'єкта, що не одержує композиції. Таким чином, профілактика раку включає, наприклад, зменшення числа ракових пухлин, що виявляються, у популяції пацієнтів, що одержують профілактичне лікування, у порівнянні з контрольною популяцією, що не одержує лікування, і/або відстрочку появи ракових пухлин, що виявляються, у популяції, що одержує лікування, у порівнянні з контрольною популяцією, наприклад, на статистично і/або клінічно значиму величину. Профілактика інфекції включає, наприклад, зменшення числа діагнозів інфекції в популяції, що одержує лікування, у порівнянні з контрольною популяцією і/або відстрочку появи симптомів інфекції в популяції, що одержує лікування в порівнянні з контрольною популяцією. Профілактика болю включає, наприклад, ослаблення, або альтернативно, відстрочку болючих відчуттів, що відчуються суб'єктами в популяції, що одержує лікування, у порівнянні з контрольною популяцією.

20 Термін "профілактичне" або "терапевтичне" лікування відоме з рівня техніки й означає введення лікарського препарату реципієнтові. Якщо препарат вводять до клінічного прояву небажаного стану (наприклад, захворювання або іншого небажаного стану тварини-реципієнта), лікування є профілактичним, тобто, захищає реципієнта від розвитку небажаного стану, у той час як, якщо препарат вводять після прояву небажаного стану, лікування є терапевтичним (тобто, спрямовано на зменшення, поліпшення або підтримку існуючого небажаного стану або його побічних ефектів).

Термін "такий, що не містить пірогенів", відноситься до композиції, означає композицію, що не містить пірогенів у кількості, достатній для прояву побічних ефектів (наприклад, роздратування, лихоманка, запалення, діарея, дихальна недостатність, ендотоксичний шок і т.д.) у суб'єкта, якому вводять композицію. Наприклад, у термін включаються композиції, що не містять або практично не містять ендотоксину, такого як, наприклад, ліпополісахарид (LPS).

35 "Реплікативна тривалість життя" клітини означає кількість дочірніх клітин, що походять від однієї і тієї ж "материнської клітини". "Хронологічне старіння" або "хронологічна тривалість життя", означають час, протягом якого залишається життєздатною популяція клітин, що не діляться, позбавлених живильних речовин. "Збільшення тривалості життя клітини" або "подовження тривалості життя клітини" при вживанні у відношенні клітин чи організмів означає збільшення кількості дочірніх клітин, що походять від однієї клітини; підвищення здатності клітин або організмів протистояти стресу і ліквідувати ушкодження, наприклад, ДНК або білків; і/або підвищення здатності клітин або організмів виживати й існувати в живому стані довше у визначених умовах, наприклад, при стресі (наприклад, тепловий шок, осмотичний стрес, високоенергетичне опромінення, хімічний стрес, ушкодження ДНК, недостатній рівень солі, недостатній рівень азоту, або недостатній рівень живильних речовин). Тривалість життя може бути збільшена на приблизно 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 % або 60 % або між 20 % і 70 %, 30 % і 60 %, 40 % і 60 % або більше, використовуючи способи, описані в даному документі.

45 "Сполука, що активує сиртуїн" означає сполуку, що підвищує рівень білка сиртуїну і/або підвищує щонайменше одну активність білка сиртуїну. У типовому втіленні, сполука, що активує сиртуїн, може підвищувати щонайменше одну біологічну активність білка сиртуїну на щонайменше приблизно 10 %, 25 %, 50 %, 75 %, 100 % або більше. Типові біологічні активності білка сиртуїну включають деацетилювання, наприклад, гістонів і p53; збільшення тривалості життя; підвищення стабільності геному; сайленсинг транскрипції; і регуляцію сегрегації окислених білків між материнською і дочірньою клітинами.

50 "Білок сиртуїн" означає члена білкового сімейства сиртуїнових деацетилаз, або переважно сімейства sir2, що включає білок дріжджів Sir2 (номер доступу в GenBank P53685), білок *C.elegans* Sir-2.1 (номер доступу в GenBank NP_501912) і білки людини SIRT1 (номер доступу в GenBank NM_012238 і NP_036370 (або AF083106)) і SIRT2 (номер доступу в GenBank NM_012237, NM_030593, NP_036369, NP_085096 і AF083107). Інші члени сімейства включають чотири додаткових Sir2-подібних гени дріжджів, названих "генами HST" (homologues of Sir two) 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). Кращі сиртуїни включають, ті, котрі більш близькі до SIRT1, тобто, hSIRT1 і/або Sir2, ніж до SIRT2,

наприклад, що включають щонайменше частину N-кінцевої послідовності, що присутня у SIRT1 і не присутня в SIRT2, як наприклад, SIRT3.

"Білок SIRT1" означає члена сімейства sir2 сиртуїнових деацетилаз. В одному втіленні, білок SIRT1 включає білок дріжджів sir2 (номер доступу в GenBank P53685), білок *C.elegans* Sir-2.1 (номер доступу в GenBank NP_501912), білок людини SIRT1 (номер доступу в GenBank NM_012238 або NP_036370 (або AF083106)) і їх еквіваленти і фрагменти. В іншому втіленні, білок SIRT1 включає поліпептид, що містить послідовність, яка складається з або складається практично з амінокислотної послідовності, приведеної в GenBank за номерами доступу NP_036370, NP_501912, NP_085096, NP_036369 або P53685. Білки SIRT1 включають поліпептиди, що містять цілком або частково амінокислотну послідовність, приведену в GenBank за номерами NP_036370, NP_501912, NP_085096, NP_036369 або P53685; амінокислотну послідовність, приведену в GenBank за номерами NP_036370, NP_501912, NP_085096, NP_036369 або P53685 з 1 до приблизно 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 50, 75 або більше замінів консервативних амінокислот; послідовність, ідентичну щонайменше на 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % номерам доступу в GenBank NP_036370, NP_501912, NP_085096, NP_036369 або P53685 і їх функціональні фрагменти. Поліпептиди згідно із даним винаходом також включають гомологи (наприклад, ортологи і паралоги), варіанти або фрагменти номерів доступу в GenBank NP_036370, NP_501912, NP_085096, NP_036369 або P53685.

При вживанні в даному документі, терміни "білок SIRT2", "білок SIRT3", "білок SIRT4", "білок SIRT5", "білок SIRT6" і "білок SIRT7", означають інші сиртуїнові деацетилази ссавців, наприклад, людини, гомологічні білкові SIRT1, особливо в області консервативного каталітичного домену довжиною приблизно 275 амінокислот. Наприклад, "білок SIRT3" означає члена сімейства сиртуїнових деацетилаз, гомологічного білкові SIRT1. В одному втіленні, білок SIRT3 включає людський білок SIRT3 (номер доступу в GenBank AAN01042, NP_036371 або NP_001017524) і мишачий білок SIRT3 (номер доступу в GenBank NP_071878), а також їх еквіваленти і фрагменти. В іншому втіленні, білок SIRT3 включає поліпептид, що містить послідовність, яка складається або практично складається з послідовності, приведеної в GenBank за номерами AAN01042, NP_036371, NP_001017524, NP_071878. Білки SIRT3 включають поліпептиди, що містять всю або частину амінокислотної послідовності, приведеної в GenBank за номерами AAN01042, NP_036371, NP_001017524, NP_071878; амінокислотну послідовність, приведену в GenBank за номерами AAN01042, NP_036371, NP_001017524, NP_071878, що містить від 1, до приблизно 2, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 30, 50, 75 або більш замінів консервативних амінокислот; амінокислотну послідовність, ідентичну щонайменше на 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % або 99 % номерам доступу в GenBank AAN01042, NP_036371, NP_001017524, або NP_071878; і її функціональні фрагменти. Поліпептиди згідно із даним винаходом також включають гомологи (наприклад, ортологи і паралоги), варіанти або фрагменти номерів доступу в GenBank AAN01042, NP_036371, NP_001017524, або NP_071878. В одному втіленні, білок SIRT3 включає фрагмент білка SIRT3, що отримується у результаті його розщеплення пептидазою, процесуючою мітохондріальний матрикс (MPP) і/або мітохондріальною проміжною пептидазою (MIP).

Терміни "системне введення", "такий, що вводиться системно", "периферичне введення" і "що вводиться периферично" відомі з рівня техніки й означають введення обговорюваної композиції, терапевтичного або іншого матеріалу не прямо в центральну нервову систему таким чином, що він попадає в систему пацієнта й у такий спосіб піддається обміну речовин та інших подібних процесів.

Використовуваний у даному документі термін "таутомер" добре відомий з рівня техніки й означає формальну міграцію атома водню, тобто, протону і переключення конфігурацій одинарного зв'язку і сусіднього подвійного зв'язку. При використанні в даному документі для опису сполуки або роду сполук, таутомер включає будь-яку частину сполуки або цілу сполуку, такі як єдина група сполуки, що заміщається, множинні групи сполуки, що заміщаються, або, наприклад, ціла сполука. Наприклад, таутомер сполуки, що включає гідроксил-заміщене піридинове кільце (A), являє собою сполуку, що включає кето-енольне заміщене кільце (B):



Термін "терапевтичний агент" відомий з рівня техніки й означає будь-яку хімічну речовину, що представляє собою біологічно, фізіологічно або фармакологічно активну субстанцію, що впливає на суб'єкт системно або локально. Термін також означає будь-яку субстанцію, використовувану для діагностування, лікування, полегшення, лікування або профілактики захворювання або для посилення бажаного фізичного або розумового розвитку і/або станів у тварини або людини.

Термін "терапевтичний ефект" відомий з рівня техніки й означає локальний або системний ефект у тварин, особливо у ссавців, і особливо у людини, обумовлений фармакологічно активною субстанцією. Вираження "терапевтично ефективна кількість" означає кількість такої субстанції, що робить якийсь бажаний місцевий або системний ефект при розумному співвідношенні ризику і вигоди, доречний при будь-якому лікуванні. Терапевтично ефективна кількість такої субстанції варіює в залежності від суб'єкта і захворювання, що піддається лікуванню, ваги і віку суб'єкта, ступеня виразності захворювання, способу введення і т.п., що очевидно для фахівця в галузі техніки. Наприклад, деякі композиції, описані в даному документі, можуть вводитися в достатній кількості для досягнення бажаного ефекту при розумному співвідношенні ризику і вигоди, доречному при такому лікуванні.

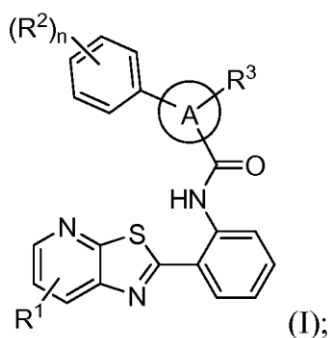
"Лікування" стану або захворювання означає як лікування, так і поліпшення щонайменше одного симптому стану або захворювання.

Термін "ослаблення зору" відноситься до погіршеного зору, що найчастіше в результаті лікування (наприклад, хірургічної операції) піддається тільки частковому поліпшенню або не піддається поліпшенню взагалі. Особливо сильно ослаблений зір називається "сліпотою" або "втратою зору", що означає повну втрату зору, зір гірше 20/200, такий, що не піддається корекції за допомогою лінз, або поле зору діаметром менше 20 градусів (радіусом менше 10 градусів).

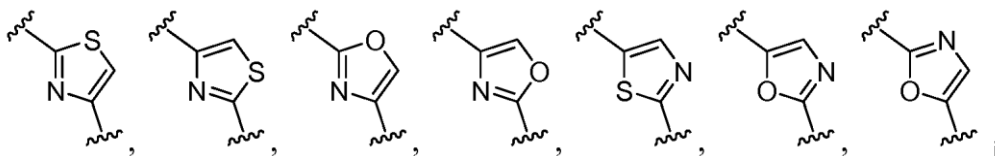
2. Регулятори сиртуїну

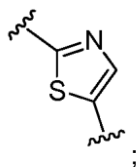
В одному аспекті, у даному винаході представлені нові сполуки, що регулюють сиртуїн, для лікування і/або профілактики безлічі різних захворювань і порушень, включаючи, наприклад, захворювання або порушення, пов'язані зі старінням або стресом, діабет, ожиріння, нейродегенеративні захворювання, хвороби і/або порушення очей, серцево-судинні захворювання, порушення згортання крові, запалення, рак і/або почервоніння обличчя і т.д. Сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть також використовуватися при лікуванні захворювання або порушення в суб'єкта, перебіг яких може покращитися при підвищенні мітохондріальної активності, для поліпшення роботи м'язів, для підвищення рівня м'язового АТФ або для лікування або профілактики ушкоджень м'язової тканини, асоційованих з гіпоксією або ішемією. Інші сполуки, описані в даному документі, можуть бути придатними для використання в складі фармацевтичної композиції і/або в одному або більш способів, описаних у даному документі.

В одному втіленні, сполуки, що регулюють сиртуїн, згідно із даним винаходом описуються структурною формулою (I):



або їх фармацевтично прийнятними солями; де:
кільце A вибирається з:





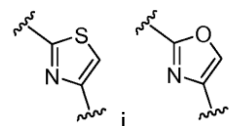
де кільце А далі необов'язково заміщається;

R^1 вибирається з -Н або необов'язково заміщеної азот-вмісної гетероциклілметилової групи;

R^2 вибирається в кожному випадку з гало-, -CN, C_1 - C_4 алкілу і фторзаміщеного C_1 - C_2 алкілу;

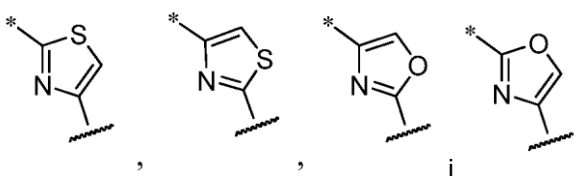
5 n вибирається з 0-5;

R^3 вибирається з Н, C_1 - C_6 алкілу, C_2 - C_6 алкенілу, C_2 - C_6 алкінілу, C_3 - C_8 циклоалкілу, гетероциклілу, фторзаміщеного C_1 - C_2 алкілу, C_1 - C_6 алкокси і гетероцикліл- C_1 - C_6 -алкілу, де коли R^3 являє собою алкіл, алкеніл або алкініл, R^3 необов'язково заміняється на C_1 - C_6 алкокси, або коли R^3 представляє собою гетероцикліл- C_1 - C_6 -алкіл, R^3 необов'язково заміняється на C_1 - C_6 алкіл або C_1 - C_6 алкокси- C_1 - C_6 -алкіл.



У деяких утіленнях, кільце А вибирається з необов'язково заміщених

У деяких утіленнях, кільце А вибирається з необов'язково заміщених



де зірочка (*) означає частину кільця А, зв'язану з фенілом, а хвиляста лінія (~~~~) означає частину кільця А, зв'язану з $C=O$ в сполуці, а $n=0$.

У деяких утіленнях, R^1 вибирається з необов'язково заміщеного азот-вмісного гетероциклілметилу. У деяких таких утіленнях, азот-вмісна гетероциклілметильна група необов'язково містить другий гетероатом, обраний з азоту і кисню. Наприклад, гетероциклілметильна група може являти собою (необов'язково заміщену неароматичну гетероцикліл)метильну групу, таку як необов'язково заміщений морфолінометил, піролідінометил і піперидиноілметил. Типові групи, що заміщають, включають C_1 - C_6 алкіл і C_1 - C_6 алкокси- C_1 - C_6 алкіл.

В інших утіленнях, R^1 являє собою -Н.

У деяких утіленнях, R^3 вибирається з C_1 - C_6 алкілу, C_2 - C_6 алкенілу, C_2 - C_6 алкінілу, фторзаміщеного C_1 - C_2 алкілу і гетероцикліл- C_1 - C_6 -алкілу, і коли R^3 являє собою алкіл, алкеніл або алкініл, R^3 необов'язково заміняється на C_1 - C_6 алкокси, або коли R^3 являє собою гетероцикліл- C_1 - C_6 -алкіл, R^3 необов'язково заміняється на C_1 - C_6 алкіл і C_1 - C_6 алкокси- C_1 - C_6 алкіл. У визначених утіленнях, R^3 вибирається з C_1 - C_6 алкокси- C_1 - C_6 алкілу, C_1 - C_6 алкокси- C_1 - C_6 алкенілу, C_1 - C_6 алкокси- C_2 - C_6 алкінілу, C_1 - C_6 алкокси- C_1 - C_6 алкіл-гетероцикліл- C_1 - C_6 алкілу, гетероцикліл- C_1 - C_6 алкілу, C_1 - C_6 алкіл-гетероцикліл- C_1 - C_6 алкілу, гетероцикліл- C_1 - C_6 алкілу, фторзаміщеного C_1 - C_2 алкілу і C_1 - C_6 алкілу.

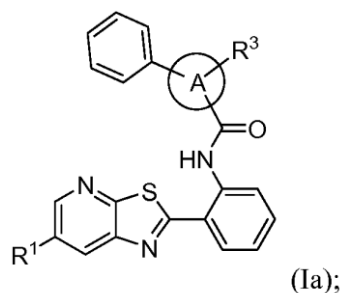
В інших утіленнях, R^3 являє собою -Н.

У деяких утіленнях, $n=0$.

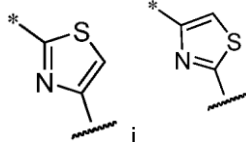
У деяких утіленнях, $n=1, 2$ або 3 , а R^2 вибирається незалежно в кожному випадку з гало- і фторзаміщеного C_1 - C_2 алкілу.

У деяких утіленнях, R^1 структурної формули (I) являє собою водень, R^2 являє собою водень, а R^3 вибирається з будь-якого значення R^3 , приведенного для структурної формули (I). В інших утіленнях, R^1 структурної формули (I) являє собою азот-вмісну гетероциклілметильну групу, що необов'язково містить другий гетероатом, обраний з азоту і кисню, R^2 являє собою водень, а R^3 вибирається з будь-якого значення R^3 , приведенного для структурної формули (I).

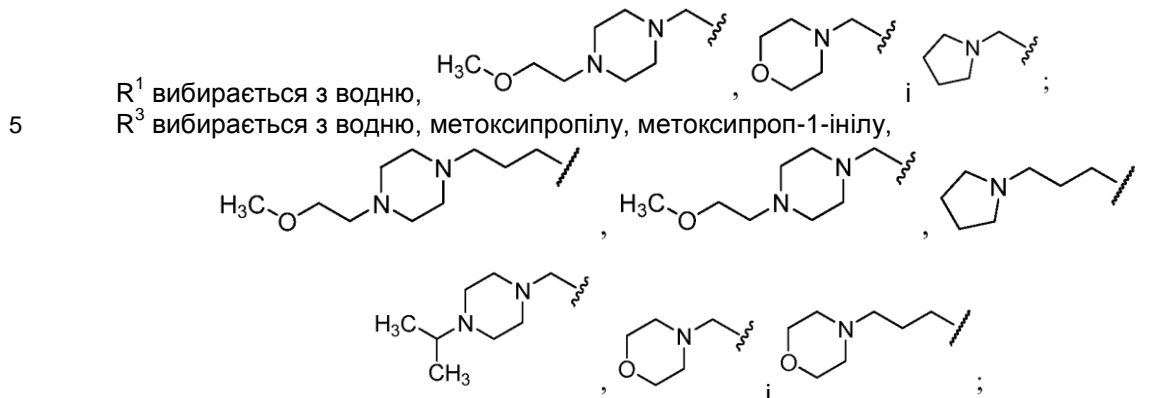
У деяких утіленнях структурної формули (I), $n=0$, сполука описується структурною формулою (Ia):



або її фармацевтично прийнятною сіллю, де:

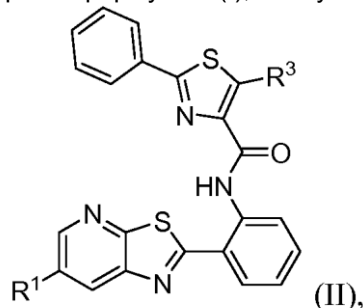


кільце А вибирається з



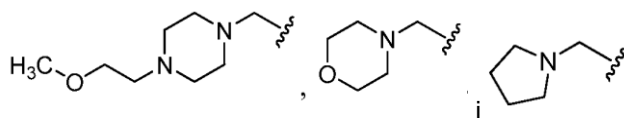
і щонайменше один з R^1 або R^3 включає азот-вмісну гетероциклічну частину.

Деякі сполуки, описувані структурною формулою (I), описуються структурною формулою (II):



10 або її фармацевтично прийнятною сіллю, де R^1 і R^3 описані вище для структурної формули (I).

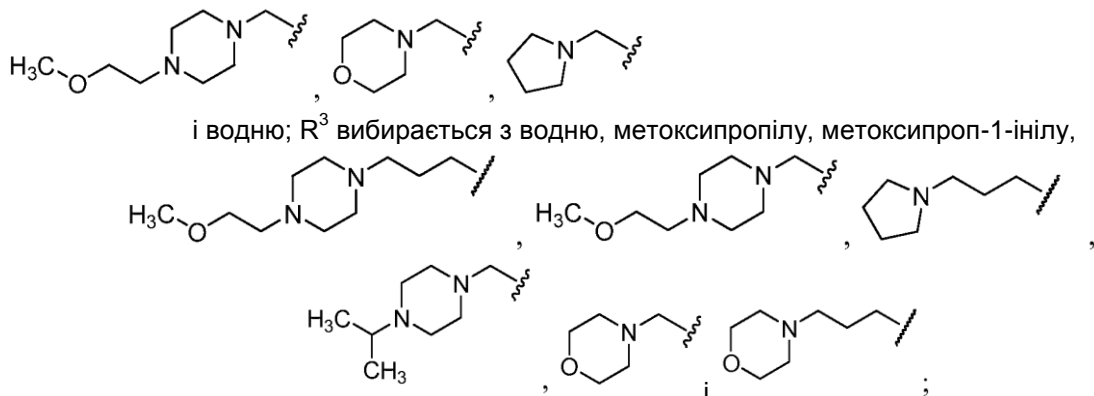
15 У деяких утіленнях, R^1 являє собою водень. В інших утіленнях, R^1 являє собою азот-вмісну гетероциклілметильну групу, що необов'язково містить другий гетероатом, обраний з азоту і кисню, таку як (необов'язково заміщену неароматичну гетероцикліл)метильну групу. Приклади таких груп включають:



20 У деяких утіленнях, R^3 вибирається з C_1 - C_6 алкілу, C_2 - C_6 алкенілу, C_2 - C_6 алкінілу, фторзаміщеного C_1 - C_2 алкілу і гетероцикліл- C_1 - C_6 -алкілу, і коли R^3 являє собою алкіл, алкеніл або алкініл, R^3 необов'язково заміняється на C_1 - C_6 алкокси, або коли R^3 являє собою гетероцикліл- C_1 - C_6 -алкіл, R^3 необов'язково заміняється на C_1 - C_6 алкіл або C_1 - C_6 алкокси- C_1 - C_6 алкіл. У визначених утіленнях, R^3 вибирається з C_1 - C_6 алкокси- C_1 - C_6 алкілу, C_1 - C_6 алкокси- C_1 - C_6 алкенілу, C_1 - C_6 алкокси- C_2 - C_6 алкінілу, C_1 - C_6 алкокси- C_1 - C_6 алкіл-гетероцикліл- C_1 - C_6 алкілу, гетероцикліл- C_1 - C_6 алкілу, C_1 - C_6 алкіл-гетероцикліл- C_1 - C_6 алкілу, гетероцикліл- C_1 - C_6 алкілу, фторзаміщеного C_1 - C_2 алкілу і C_1 - C_6 алкілу.

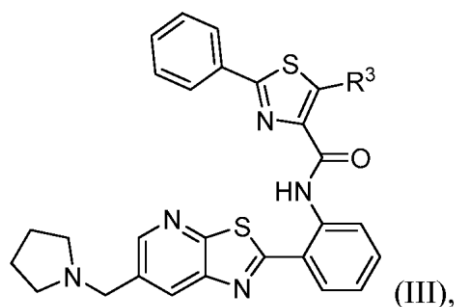
У деяких утіленнях, R^1 структурної формули (II) являє собою водень, а R^3 вибирається з будь-якого значення R^3 , приведеного для структурної формули (II). В інших утіленнях, R^1 структурної формули (II) являє собою азот-вмісну гетероциклілметильну групу, що необов'язково містить другий гетероатом, обраний з азоту і кисню, а R^3 вибирається з будь-якого значення R^3 , приведеного для структурної формули (II).

У деяких утіленнях, R^1 структурної формули (II) вибирається з

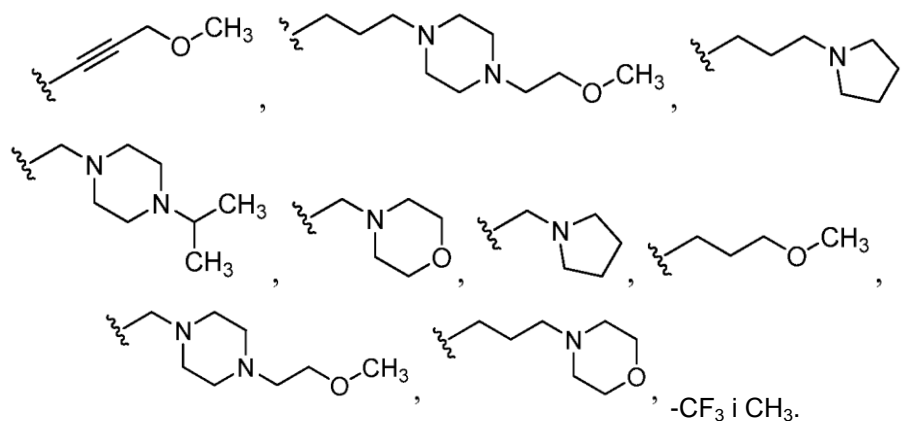



і щонайменше один з R^1 або R^3 включає азот-вмісну гетероциклічну частину.

Деякі сполуки, описувані структурною формулою (II), описуються структурною формулою (III):



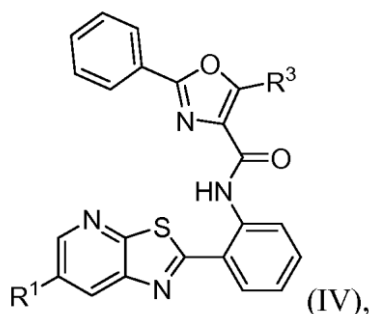
(I). У деяких утіленнях, R³ вибирається з:



У деяких утіленнях структурної формули (III) R^3 вибирається з водню,  і

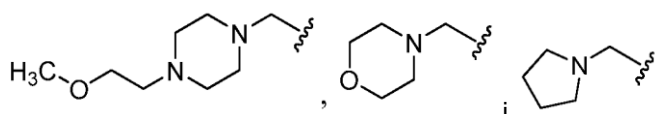
У більш конкретному втіленні структурної формули (III), R^3 являє собою 

Деякі сполуки, описувані структурною формулою (I), описуються структурною формулою (IV):



або їх фармацевтично прийнятними солями, де R^1 і R^3 описані вище для структурної формули (I).

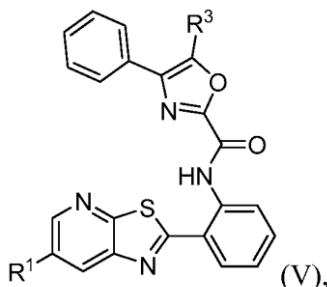
У деяких утіленнях, R^1 являє собою водень. В інших утіленнях, R^1 являє собою азот-вмісну гетероциклілметильну групу, що необов'язково містить другий гетероатом, обраний з азоту і кисню, таку як (необов'язково заміщена неароматична гетероцикліл)метильна група. Приклади таких груп R^1 включають:



У деяких утіленнях, R^3 вибирається з C_1 - C_6 алкілу, C_2 - C_6 алкенілу, C_2 - C_6 алкінілу, фторзаміщеного C_1 - C_2 алкілу і гетероцикліл- C_1 - C_6 -алкілу, і коли R^3 являє собою алкіл, алкеніл або алкініл, R^3 необов'язково замінюється на C_1 - C_6 алкокси, або коли R^3 являє собою гетероцикліл- C_1 - C_6 -алкіл, R^3 необов'язково замінюється на C_1 - C_6 алкіл і C_1 - C_6 алкокси- C_1 - C_6 алкіл. У визначених утіленнях, R^3 вибирається з C_1 - C_6 алкілу, фторзаміщеного C_1 - C_2 алкілу, гетероцикліл- C_1 - C_6 алкілу і C_1 - C_6 алкокси- C_1 - C_6 алкіл-гетероцикліл- C_1 - C_6 алкілу.

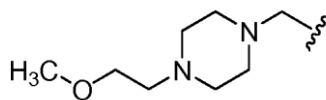
У деяких утіленнях, R^1 структурної формули (IV) являє собою водень, а R^3 вибирається з будь-якого значення R^3 , приведенного для структурної формули (IV). В інших утіленнях, R^1 структурної формули (IV) являє собою азот-вмісну гетероциклілметильну групу, що необов'язково містить другий гетероатом, обраний з азоту і кисню, а R^3 вибирається з будь-якого значення R^3 , приведенного для структурної формули (IV).

Деякі сполуки, описувані структурною формулою (I), описуються структурною формулою (V):



або їх фармацевтично прийнятними солями, де R^1 і R^3 описані вище для структурної формули (I).

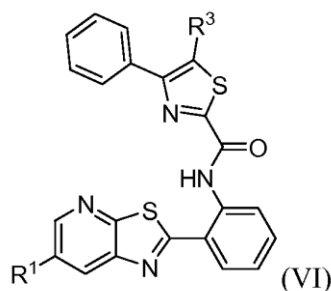
У деяких аспектах, R^1 структурної формули (V) являє собою



25

У деяких аспектах, R^3 структурної формули (V) вибирається з $-CH_3$ і $-CF_3$.

Деякі сполуки, описувані структурною формулою (I), описуються формулою (VI):



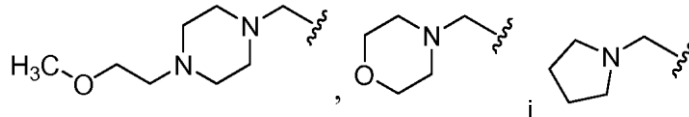
або їх фармацевтично прийнятними солями, де R^1 і R^3 описані вище для структурної формули (I).

У деяких утіленнях для сполук, описуваних структурною формулою (VI), R^1 вибирається з



і щонайменше один з R^1 і R^3 включає азот-вмісну насичену гетероциклічну частину.

У деяких утіленнях, R¹ структурної формули (VI) включає азот-вмісний насичений гетероциклічний компонент. У більш конкретних аспектах, R¹ структурної формули (VI)



вибирається 3

У деяких утіленнях, R^3 структурні формули (VI) вибирається з водню, $-CF_3$ і $-CH_3$. У більш конкретному аспекті, R^3 структурної формули (VI) являє собою водень.

У деяких аспектах, сполука, що має будь-яку зі структур (I)-(VI), являє собою вільну основу.

Сполуки згідно із даним винаходом, включаючи нові сполуки згідно із даним винаходом, можуть також використовуватися в способах, описаних у даному документі.

Сполуки, що регулюють сиртуїн, згідно із даним винаходом, переважно впливають на рівень і/або активність білка сиртуїну, особливо на деацетилазну активність білка сиртуїну.

Окрім або на додаток до вищеописаних властивостей, деякі сполуки, що регулюють сиртуїну, згідно із даним винаходом практично не мають однієї або більше наступних активностей: інгібування PI3-кінази, інгібування альдоредуктази, інгібування тирозинкінази, трансактивація тирозинкінази EGFR, розширення коронарних судин або спазмолітичної активності при концентрації сполуки, достатньої для зміни деацетилазної активності білка сиртуїну (наприклад, такого як білок SIRT1 і/або SIRT3).

Алкільна група являє собою цілком заміщений неароматичний вуглеводень із прямим або розгалуженим ланцюгом. Звичайно алкільна група з прямим або розгалуженим ланцюгом містить від 1 до 20 атомів вуглецю, переважно від 1 до 10. Приклади алкільних груп із прямим і розгалуженим ланцюгом включають: метил, етил, н-пропіл, ізопропіл, н-бутил, сек-бутил, терт-бутил, пентил, гексил, пентил і октил. C₁-C₄ алкільна група з прямим або розгалуженим ланцюгом також називається "нижчою алкільною" групою.

Терміни алкеніл і алкініл означають ненасичені аліфатичні групи аналогічні за довжиною і можливими замінами до алкільних груп, описаних вище, але містять щонайменше один подвійний або потрійний зв'язок відповідно.

Термін алкоксил або алкокси, уживаний у даному документі, означає алکیلну групу, до якої приєднаний кисневий радикал. Типові алкоксил-групи включають метокси, етокси, терт-бутокси і т.п.

Циклоалкільна група являє собою цілком насичений циклічний вуглеводень. Звичайно циклоалкільна група містить від 3 до 10 атомів вуглецю, більш звичайно від 3 до 8 атомів вуглецю.

Гетероцикли включають 4-8-членні моноциклічні і 8-12-членні біциклічні кільця, що містять один або більше гетероатомів, обраних з, наприклад, атомів N, O і S. У деяких утіленнях, гетероциклічна група вибирається з насичених, ненасичених або ароматичних. У насиченому гетероциклі, атоми гетероциклу зв'язані один з одним одинарними зв'язками.

Фторзаміщені включають від одного замісника-фтору до перфторзаміщення. Типові фторзаміщені C₁-C₂ алкіли включають -CFH₂, -CF₂H, -CF₃, -CH₂CH₂F, -CH₂CHF₂, -CHFCH₃, -CF₂CHF₂. Перфторзаміщені C₁-C₂ алкіл, наприклад, включають -CF₃ і -CF₂CF₃.

Підходящі замісники для гетероциклічної або гетероциклілметильної групи включають -OH, галоген (-Br, -Cl, -I і -F), -OR^a, -O-COR^a, -COR^a, -C(O)R^a, -CN, -NO₂, -COOH, -COOR^a, -OCO₂R^a, -C(O)NR^aR^b, -OC(O)NR^aR^b, -SO₃H, -NH₂, -NHR^a, -N(R^aR^b), -COOR^a, -CHO, -CONH₂, -CONHR^a, -CON(R^aR^b), -NHCOR^a, -NRCOR^a, -NHCONH₂, -NHCONHR^a, -NHCON(R^aR^b), -NROCONH₂, -NR^cCONR^aH, -NR^cCON(R^aR^b), -C(=NH)-NH₂, -C(=NH)-NHR^a, -C(=NH)-N(R^aR^b), -C(=NRC)-NH₂, -C(=NR^c)-NHR^a, -C(=NR^c)-N(R^aR^b), -NH-C(=NH)-NH₂, -NH-C(=NH)-NHR^a, -NH-C(=NH)-N(R^aR^b), -NH-C(=NRC)-NH₂, -NH-C(=NR^c)-NHR^a, -NH-C(=NR^c)-N(R^aR^b), -NR^dH-C(=NH)-NH₂, -NR^d-C(=NH)-NHR^a, -NR^d-C(=NH)-N(R^aR^b), -NR^d-C(=NR^c)-NH₂, -NR^d-C(=NR^c)-NHR^a, -NR^d-C(=NR^c)-N(R^aR^b), -NHNH₂, -NHNHR^a, -NHR^aR^b, -SO₂NH₂, -SO₂NHR^a, -SO₂NR^aR^b, -CH=CHR^a, -CH=CR^aR^b, -CR^c=CR^aR^b, CR^c=CHR^a, -CR^c=CR^aR^b, -CCR^a, -SH, -SO_kR^a (k=0, 1 або 2), -S(O)_kOR^a (k=0, 1 або 2) і -NH-C(=NH)-NH₂. Кожний з R^a-R^d являє собою необов'язково заміщену групу, незалежно обрану з аліфатичної, бензилової або ароматичної групи, переважно алкільна, бензилова або арильна група. Необов'язкові замісники для R^a-R^d вибираються з NH₂, NH(C₁₋₄ аліфатичної), N(C₁₋₄ аліфатичної)₂, галогену, C₁₋₄ аліфатичної, OH, O(C₁₋₄ аліфатичної), NO₂, CN, CO₂H, CO₂(C₁₋₄ аліфатичної), O(галоC₁₋₄ аліфатичної), або галоC₁₋₄ аліфатичної, де кожна з перерахованих вище C₁₋₄ аліфатичних груп є незаміщеною. Крім того, -NR^aR^b у сукупності також можуть утворювати заміщену або незаміщену неароматичну гетероциклічну групу. Заміщена аліфатична або заміщена арильна групи можуть включати більше одного замісника.

У даному винаході розглядаються тільки комбінації замісників і перемінних, що приводять до утворення стабільних сполук. Використовуваний у даному документі термін "стабільний" означає сполуки, що володіють стабільністю, достатньою для їх виробництва, і зберігають свою цілісність протягом періоду часу, достатнього для їхнього використання з метою, описаною нижче.

Сполуки, що розкриваються в даному документі, також включають частково або цілком дейтеровані варіанти. У деяких утіленнях, дейтеровані варіанти можуть використовуватися для вивчення кінетики. Фахівець в галузі техніки може вибирати положення атомів дейтерію.

Даний винахід також включає солі, особливо фармацевтично прийнятні солі, сполук, що регулюють сиртуїн, описані у даному документі. Сполуки згідно із даним винаходом, що мають досить кислу, досить лужну, або обидві функціональні групи, можуть реагувати з визначеними неорганічними основами і неорганічними й органічними кислотами з утворенням солей. Альтернативно, сполуки, що несуть заряд, такі як такі, що містять четвертинний азот, можуть утворювати сіль з підходящим іоном протилежного заряду (наприклад, галід, такий як бромід, хлорид або фторид, особливо бромід).

Кислоти, звичайно використовувані для утворення солей з кислотами, являють собою неорганічні кислоти, такі як соляна кислота, бромистоводнева кислота, йодистоводнева кислота, сірчана кислота, фосфорна кислота і т.д., і органічні кислоти, такі як п-толуенсульфонова кислота, метансульфонова кислота, щавелева кислота, п-бромфенілсульфонова кислота, вугільна кислота, бурштинова кислота, лимонна кислота, бензоєва кислота, оцтова кислота і т.д. Приклади таких солей включають сульфат, піросульфат, бісульфат, сульфід, бісульфід, фосфат, однозаміщений фосфат, двозаміщений фосфат, метафосфат, пірофосфат, хлорид, бромід, йодид, ацетат, пропіонат, деканоат, каприлат, 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, ксиленсульфоат, фенолацетат, фенолпропіонат, фенолбутират, цитрат, лактат, гамма-гідроксибутират, гліколат, тартрат, метансульфонат, пропансульфонат, нафтален-1-сульфонат, нафтален-2-сульфонат, манделат і т.д.

Солі, що утворюються при додаванні основ, включають солі, що утворюються при додаванні неорганічних основ, таких як амоній або луги або гідроксиди, карбонати, бікарбонати лужноземельних металів і т.д. Таким чином, основи, придатні для одержання солей згідно із

даним винаходом, включають гідроксид натрію, гідроксид калію, гідроксид амонію, гідроксид кальцію і т.д.

Відповідно до іншого втілення, у даному винаході представлені способи одержання вищезгаданих сполук, що регулюють сиртуїн. Ці сполуки можуть бути синтезовані за допомогою загальноприйнятих технік. Крім того, такі сполуки можна легко синтезувати з доступних вихідних матеріалів.

Трансформації і методології хімії синтезу, використовувані для синтезу сполук, що регулюють сиртуїн, описані в даному документі, відомі з рівня техніки і включають, наприклад, описані в R. Larock, *Comprehensive Organic Transformations* (1989); T. W. Greene і P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2-і изд. (1991); L. Fieser і M. Fieser, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis* (1994); і *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis* під ред. L. Paquette (1995).

У типовому втіленні, сполука, що регулює сиртуїн, може проходити через цитоплазматичну мембрану клітини. Наприклад, сполука може мати проникність для клітини щонайменше 20 %, 50 %, 75 %, 80 %, 90 % або 95 %.

Сполуки, що регулюють сиртуїн, описані в даному документі, можуть також мати одну або більше наступних властивостей: сполука може бути практично не токсична для клітини або суб'єкта; сполука, що впливає на сиртуїн, може являти собою органічну молекулу або малу молекулу масою не більш 2000 а.м.е., не більш 1000 а.м.е.; сполука може мати час напівжиття в нормальних атмосферних умовах щонайменше приблизно 30 днів, 60 днів, 120 днів, 6 місяців або 1 рік; сполука, що впливає на сиртуїн, може бути стабільніша в розчині, ніж ресвератрол, щонайменше на 50 %, у 2 рази, 5 разів, 10 разів, 30 разів, 50 разів або 100 разів; сполука, що впливає на сиртуїн, може викликати деацетилювання фактора репарації ДНК Ku70; сполука, що впливає на сиртуїн, може викликати деацетилювання Rel/p65; сполука може підвищувати швидкість обміну речовин у клітині і підвищувати чутливість клітин до апоптозу, індукованого TNF.

У деяких утіленнях, сполука, що регулює сиртуїн, практично не має активності, що інгібує гістон деацетилазу (HDACs) класу I, HDAC класу II, або HDAC I і II у концентраціях (наприклад, *in vivo*), ефективно регулюючи деацетилазну активність сиртуїну. Наприклад, у кращих утіленнях сполука, що впливає на сиртуїн, являє собою сполуку, що активує сиртуїн, і вибирається так, щоб EC_{50} для активації деацетилазної активності сиртуїну була щонайменше в 5 разів менше, ніж EC_{50} для інгібування HDAC I і/або HDAC II, більш переважно, щонайменше в 10 разів, 100 разів або навіть у 1000 разів менше. Способи оцінки активності HDAC I і/або HDAC II добре відомі з рівня техніки, а набори для проведення таких тестів мають у продажу. Див., наприклад, BioVision, Inc (адреса в Інтернеті biovision.com) і Thomas Scientific (Swedesboro, NJ; адреса в Інтернеті tomassci.com).

У деяких утіленнях, сполука, що впливає на сиртуїн, практично не здатна регулювати гомологи сиртуїну. В одному втіленні, активатор людського білка сиртуїну практично не здатний активувати білок сиртуїн нижчих еукаріот, особливо дріжджів або людських патогенів, у концентраціях (наприклад, *in vivo*) ефективних для активування деацетилазної активності людського сиртуїну. Наприклад, сполука, що впливає на сиртуїн, може вибиратися так, щоб EC_{50} для активації деацетилазної активності людського сиртуїну, такого як SIRT1 і/або SIRT3, була щонайменше в 5 разів менше, ніж EC_{50} для активації сиртуїну дріжджів, такого як Sir2 (таких як *Candida*, *S. Cerevisiae* і т.д.) більш переважно, щонайменше в 10 разів, 100 разів або навіть у 1000 разів менше. В іншому втіленні, інгібітор білка сиртуїну нижчих еукаріот, особливо дріжджів або людських патогенів, практично не здатний інгібувати людський білок сиртуїн у концентраціях (наприклад, *in vivo*) ефективних для інгібування деацетилазної активності сиртуїну нижчих еукаріот. Наприклад, сполука, що інгібує сиртуїн, може вибиратися так, щоб IC_{50} для інгібування деацетилазної активності людського сиртуїну, такого як SIRT1 і/або SIRT3, була щонайменше в 5 разів менше, ніж IC_{50} для інгібування сиртуїну дріжджів, такого як Sir2 (таких як *Candida*, *S. Cerevisiae* і т.д.), більш переважно, щонайменше в 10 разів, 100 разів або навіть у 1000 разів менше.

У деяких утіленнях, сполука, що впливає на сиртуїн, може бути здатною регулювати один або більше гомологів білка сиртуїну, таких як, наприклад, один або більш людських SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6 або SIRT7. В одному втіленні, сполука, що регулює сиртуїн, здатна регулювати як білок SIRT1, так і білок SIRT3.

В інших утіленнях, регулятор SIRT1 практично не здатний регулювати інші гомологи білка сиртуїну, такі як, наприклад, один або більш людських SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6 або SIRT7, у концентраціях (наприклад, *in vivo*) ефективних для регулювання деацетилазної активності людського SIRT1. Наприклад, сполука, що регулює сиртуїн, може вибиратися так,

щоб ED_{50} для регулювання деацетилазної активності людського SIRT1, була щонайменше в 5 разів менше, ніж ED_{50} для регулювання одного або більше людських SIRT2, SIRT3, SIRT4, SIRT5, SIRT6 або SIRT7, більш переважно, щонайменше в 10 разів, 100 разів або навіть у 1000 разів менше. В одному втіленні, регулятор SIRT1 практично не здатний регулювати білок SIRT3.

В інших утіленнях, регулятор SIRT3 практично не здатний регулювати інші гомологи білка сиртуїну, такі як, наприклад, один або більше людських SIRT1, SIRT2, SIRT4, SIRT5, SIRT6 або SIRT7, у концентраціях (наприклад, *in vivo*) ефективних для регулювання деацетилазної активності людського SIRT3. Наприклад, сполука, що регулює сиртуїн, може вибиратися так, щоб ED_{50} для регулювання деацетилазної активності людського SIRT3, була щонайменше в 5 разів менше, ніж ED_{50} для регулювання одного або більше людських SIRT1, SIRT2, SIRT4, SIRT5, SIRT6 або SIRT7, більш переважно, щонайменше в 10 разів, 100 разів або навіть у 1000 разів менше. В одному втіленні, регулятор SIRT3 практично не здатний регулювати білок SIRT1.

У деяких утіленнях, сполука, що регулює сиртуїн, може мати спорідненість зв'язування з білком сиртуїном, рівну приблизно $10^{-9}M$, $10^{-10}M$, $10^{-11}M$, $10^{-12}M$ або нижче. Сполука, що регулює сиртуїн, може знижувати (активатор) або підвищувати (інгібітор) вихідну K_m білка сиртуїну до його субстрату або НАД⁺ (або іншого кофактору) щонайменше в 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 50 або 100 разів. У деяких утіленнях, значення K_m визначають за допомогою мас-спектрометричного аналізу, описаного в даному документі. Кращі активуючі сполуки зменшують K_m сиртуїну до його субстрату або кофактору в більшому ступені, ніж ресвератрол у близькій концентрації або зменшують K_m сиртуїну до його субстрату або кофактору порівнянню з ресвератролом у більш низькій концентрації. Сполука, що регулює сиртуїн, може підвищувати V_{max} білка сиртуїну щонайменше в 2, 3, 4, 5, 10, 20, 30, 50 або 100 разів. Сполука, що регулює сиртуїн, може мати ED_{50} регуляції деацетилазної активності білка SIRT1 і/або SIRT3 менш приблизно 1 нМ, менш приблизно 10 нМ, менш приблизно 100 нМ, менш приблизно 1 мкМ, менш приблизно 10 мкМ, менш приблизно 100 мкМ, або приблизно 1-10 нм, приблизно 10-100 нм, приблизно 0,1-1 мкМ, приблизно 1-10 мкМ, або приблизно 10-100 мкМ. Сполука, що регулює сиртуїн, може змінювати деацетилазну активність білка SIRT1 і/або SIRT3 щонайменше в 5, 10, 20, 30, 50 або 100 разів, за даними клітинного тесту або тесту, заснованого на клітинах. Сполука, що активує сиртуїн, може індукувати деацетилазну активність білка сиртуїну щонайменше на приблизно 10 %, 30 %, 50 %, 80 %, у 2 рази, у 5 разів, у 10 разів, у 50 разів або в 100 разів у порівнянні з такою ж концентрацією ресвератролу. Сполука, що регулює сиртуїн, може мати ED_{50} регуляції SIRT5 щонайменше в 10 разів, 20 разів, 30 разів або 50 разів вище, ніж ED_{50} регуляції SIRT1 і/або SIRT3.

3. Приклади використання

У деяких аспектах, у даному винаході представлені способи регуляції рівня і/або активності білка сиртуїну і способи їх використання.

У деяких утіленнях, у даному винаході представлені способи використання сполук, що регулюють сиртуїн, де сполуки, що регулюють сиртуїн, активують білок сиртуїн, тобто підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну. Сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися в різних терапевтичних цілях, включаючи, наприклад, збільшення тривалості життя клітини і лікування і/або профілактику безлічі різних захворювань і порушень, включаючи, наприклад, захворювання або порушення, пов'язані зі старінням або стресом, діабет, ожиріння, нейродегенеративні захворювання, серцево-судинні захворювання, порушення згортання крові, запалення, рак і/або почервоніння обличчя і т.д. Способи включають введення суб'єктові, що потребує введення фармацевтично ефективної кількості речовини, що регулює сиртуїн, наприклад, речовини, що активує сиртуїн.

Не бажаючи обмежуватися якою-небудь однією теорією, вважається, що активатори згідно із даним винаходом можуть взаємодіяти із сиртуїном в одному і тому місці білка сиртуїну (наприклад, активний центр або положення, що впливає на K_m або V_{max} активного центра). Вважається, що тому деякі класи активаторів та інгібіторів сиртуїну можуть володіти значною структурною подібністю.

У деяких утіленнях, сполуки, що регулюють сиртуїн, описані в даному документі, можуть прийматися по-окремо або в комбінації з іншими сполуками. В одному втіленні, суб'єктові, що потребує введення, може вводитися суміш двох або більше сполук, що регулюють сиртуїн. В іншому втіленні, сполука, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, може вводитися з одною або більше наступними сполуками: ресвератрол, бутеїн, фісетин, піцеатаннол або кверцетин. У типовому втіленні, сполука, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, може вводитися в комбінації з ніотиновою кислотою. В іншому втіленні, сполука, що регулює сиртуїн, що знижує рівень і/або активність

білка сиртуїну, може вводитися з одною або більше наступними сполуками: нікотинамід (NAM); сурамін; NF023 (антагоніст G-білків); NF279 (антагоніст пуринаргічних рецепторів); тролокс (6-гідрокси-2,5,7,8-третраметилхроман-2-карбоксикислота); (-)-епігаллокатехін (гідроксильні групи в положеннях 3,5,7,3',4',5'); (-)-епігаллокатехін галлат (гідроксильні групи в положеннях 5,7,3',4',5' і складний ефір галлової кислоти в положенні 3); ціанідин хлорид (3,5,7,3',4',-пентагідроксифлавіліум хлорид); дельфінідин хлорид (3,5,7,3',4',5'-гексагідроксифлавіліум хлорид); міріцетин (каннабісцетин; 3,5,7,3',4',5'-гексагідроксифлавіліум); 3,7,3',4',5'-пентагідроксифлавіліум; госсипетин (3,5,7,8,3',4'-гексагідроксифлавіліум), сиртінол; і сплітоміцин. Ще в одному втіленні, одна або більше сполук, що регулює сиртуїн, можуть вводитися з одним або більше терапевтичними агентами для лікування або профілактики різних захворювань, включаючи, наприклад, рак, діабет, нейродегенеративні захворювання, серцево-судинне захворювання, згортання крові, лихоманка, ожиріння, старіння, стрес і т.д. У різних втіленнях, комбінована терапія, що включає сполуку, що регулює сиртуїн, може означати (1) фармацевтичні композиції, що містять одну або більше сполук, що регулюють сиртуїн, у сполученні з одним або більше терапевтичних агентів (наприклад, одним або більше терапевтичних агентів, описаних у даному документі); і (2) спільне введення однієї або більше сполук, що регулює сиртуїн і одного або більше терапевтичного агента, де сполука, що регулює сиртуїн, і терапевтичний агент не знаходяться в складі тих самих композицій (але можуть бути в складі того самого набору або упакування, таке як blisterне упакування або інше упакування з декількома відділеннями; з'єднані, запаяні по-окремо контейнери (наприклад, кишеньки з фольги), що можуть розділятися користувачем; або набір, де сполука (сполуки), що регулює сиртуїн, та інший терапевтичний агент (агенти) знаходяться в різних посудинах. При використанні роздільних рецептур, сполука, що регулює сиртуїн, може вводитися одночасно, поперемінно, зміщено, перед, після або в комбінаціях варіантів введення з іншим терапевтичним агентом.

У деяких втіленнях, способи ослаблення, запобігання або лікування захворювань з використанням сполуки, що регулює сиртуїн, можуть також включати підвищення рівня сиртуїну, такого як людський SIRT1, SIRT2 і/або SIRT3, або їх гомологів. Підвищення рівня білка може досягатися шляхом введення в клітини однієї або більше копій нуклеїнової кислоти, що кодує сиртуїн. Наприклад, можна підвищити рівень білка сиртуїну в клітині ссавця шляхом введення в клітину ссавця нуклеїнової кислоти, що кодує сиртуїн, наприклад, підвищити рівень SIRT1 шляхом введення нуклеїнової кислоти, що кодує амінокислотну послідовність, приведену в GenBank за номером NP_036370 і/або підвищити рівень SIRT3 шляхом введення нуклеїнової кислоти, що кодує амінокислотну послідовність, приведену в GenBank за номером AAN01042.

Нуклеїнова кислота, що вводиться в клітину для підвищення рівня білка сиртуїну, може кодувати білок, щонайменше на приблизно 80 %, 85 %, 90 %, 95 % або 99 % ідентичний послідовності сиртуїну, наприклад, білка SIRT1 і/або SIRT3. Наприклад, нуклеїнова кислота, що кодує білок, може бути щонайменше на приблизно 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 98 % або 99 % ідентичною нуклеїновій кислоті, що кодує білок SIRT1 (наприклад, номер доступу в GenBank NM_012238) і/або SIRT3 (наприклад, номер доступу в GenBank BC001042). Нуклеїнова кислота може також являти собою нуклеїнову кислоту, що гібридується, переважно в суворих умовах гібридизації, з нуклеїноюватою кислотою, що кодує сиртуїн дикого типу, наприклад, білок SIRT1 і/або SIRT3. Суворі умови гібридизації можуть включати гібридизацію і відмивання в 0,2 SSC при 65 °C. При використанні нуклеїнової кислоти, що кодує білок, що відрізняється від білка сиртуїну дикого типу, такий як білок, що представляє собою фрагмент сиртуїну дикого типу, переважно, щоб білок мав біологічну активність, тобто був здатний до деацетилювання. Необхідно експресувати у клітині тільки біологічно активну частину сиртуїну. Наприклад, білок, що відрізняється від SIRT1 дикого типу, що має номер доступу в GenBank NP_036370, переважно включає його корову структуру. Коровою структурою називають амінокислоти 62-293 номера доступу в GenBank NP_036370, що кодуються нуклеотидами 237-932 номера доступу в GenBank NM_012238; у цю структуру входять НАД-зв'язувальний і субстрат-зв'язувальний домени. Коровим доменом SIRT1 можуть також називатися амінокислоти приблизно 261-447 номера доступу в GenBank NP_036370, що кодуються нуклеотидами 834-1394 номера доступу в GenBank NM_012238; амінокислоти приблизно 242-493 номера доступу в GenBank NP_036370, що кодуються нуклеотидами 777-1532 номера доступу в GenBank NM_012238; амінокислоти приблизно 254-495 номера доступу в GenBank NP_036370, що кодуються нуклеотидами 813-1538 номера доступу в GenBank NM_012238. Способи, відомі з рівня техніки, дозволяють визначити, чи зберігає білок біологічні функції, наприклад, здатність до деацетилювання.

У деяких втіленнях, способи ослаблення, запобігання або лікування захворювань або порушень з використанням сполук, що регулюють сиртуїн, може також включати зниження рівня

білка сиртуїну, такого як людський SIRT1, SIRT2 і/або SIRT3, або їхніх гомологів. Зниження рівня білка сиртуїну може досягатися відповідно до способів, відомих з рівня техніки. Наприклад, у клітині можна експресувати міРНК, антисмисловою нуклеїновою кислотою, або рибозим, спрямовані на сиртуїн. Також може використовуватися домінантно-негативний мутант сиртуїну, наприклад, мутант, не здатний до деацетилювання. Наприклад, може використовуватися мутант H363Y SIRT1, описаний, наприклад, у Luo et al. (2001) Cell 107:137. Альтернативно, можуть використовуватися агенти, що інгібують транскрипцію.

Способи регуляції рівня білка сиртуїну також включають способи регуляції транскрипції генів, що кодують сиртуїни, способи стабілізації/дестабілізації відповідних мРНК і інші способи, відомі з рівня техніки.

Старіння/стрес

В одному втіленні, у винаході представлений спосіб збільшення тривалості життя клітини, підвищення здатності клітини до проліферації, уповільнення старіння клітини, підвищення виживаності клітини, затримки клітинного старіння клітини, що імітує ефект обмеження калорій, підвищення стійкості клітини до стресу, або запобігання апоптозу клітини, шляхом приведення клітини в контакт зі сполукою, що регулює сиртуїн, згідно із даним винаходом, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну. У типовому втіленні, способи включають приведення клітини в контакт зі сполукою, що активує сиртуїн.

Способи, описані в даному документі, можуть використовуватися для збільшення кількості часу, протягом якого клітини, особливо первинні клітини (тобто отримані з організму, наприклад, людини), можуть жити в клітинній культурі. Також можна впливати сполукою, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, на ембріональні стовбурні (ES) клітини, плюрипотентні клітини і клітини, що диференціювалися з них, для того щоб вести в культурі ці клітини або їх потомство протягом більш тривалих періодів часу. Такі клітини також можна використовувати для трансплантації суб'єктові, наприклад, після модифікації *ex vivo*.

В одному втіленні, можна впливати сполукою, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, на клітини, призначені для збереження протягом тривалих періодів часу. Такі клітини можуть бути в суспензії (наприклад, клітини крові, сироватка, біологічне середовище для росту і т.д.) або в органах або тканинах. Наприклад, можна впливати сполукою, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, на кров, забрану в індивідуумів з метою переливання, для збереження клітин крові протягом більш тривалого періоду часу. Крім того, кров, призначена для використання в судово-медичних цілях, також може зберігатися з використанням сполуки, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну. Інші клітини, що можуть піддаватися впливові з метою збільшення їхньої тривалості життя або захисту від апоптозу, включають клітини, призначені для споживання, наприклад, клітини ссавців, відмінних від людей (такі як м'ясо) або клітини рослин (такі як овочі).

Сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, також можуть застосовуватися у фазах росту і розвитку ссавців, рослин, комах або мікроорганізмів, з метою, наприклад, змінити, сповільнити або прискорити процеси розвитку і/або росту.

В іншому втіленні, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися для впливу на клітини, придатні для трансплантації або клітинної терапії, включаючи, наприклад, солідні тканеві трансплантати, трансплантати органів, суспензії клітин, стовбурні клітини, клітини кісткового мозку і т.д. Клітини або тканина може бути ауто трансплантатом, аlogenним трансплантатом, сингенним трансплантатом або чужорідним трансплантатом. На клітини або тканину можна впливати сполукою, що регулює сиртуїн, до введення/імплантації, одночасно з введенням/імплантацією і/або після введення/імплантації суб'єктові. На клітини або тканину можна впливати до забору клітин від донора, *ex vivo* після забору клітин від донора, *ex vivo* після забору клітин або тканини від донора, або після імплантації реципієнтові. Наприклад, донорові або реципієнтові може системно вводитися сполука, що регулює сиртуїн, або на окрему його групу клітин/тканин можна місцево впливати сполукою, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну. У деяких утіленнях, на клітини або тканину (або на донора/реципієнта) можна додатково впливати іншим терапевтичним агентом, придатним для збільшення життя трансплантату, таким як, наприклад, імуносупресор, цитокін, ангіогенний фактор і т.д.

В інших утіленнях, на клітини можна впливати сполукою, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну *in vivo*, наприклад, для збільшення тривалості життя клітин або запобігання апоптозу. Наприклад, вплив на шкіру або епітеліальні клітини сполукою, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, може захищати шкіру від старіння (наприклад, появи зморшок, втрати еластичності і т.д.). У типовому втіленні, шкіра

приводиться в контакт із фармацевтичною або косметичною композицією, що містить сполуку, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну. Типові шкірні захворювання і патології, що можуть піддаватися терапії у відповідності зі способами, описаними в даному документі, включають порушення або захворювання, асоційовані або викликані запаленням, ушкодженнями, викликаними сонячними променями, або природним старінням. Наприклад, композиції можуть бути придатними для профілактики або лікування контактного дерматиту (включаючи контактний дерматит, викликаний подразником і алергійний контактний дерматит), атопічного дерматиту (також відомого як алергічна екзема), актинічного кератозу, порушень кератинізації (включаючи екзему), захворювань бульозного епідермолізу (включаючи пемфігус), ексфоліативного дерматиту, себорейного дерматиту, еритем (включаючи багатоформну еритему і вузлувату еритему), ушкоджень викликаних сонцем або іншими джерелами світла, дискоїдного червоного вовчаку, дерматоміозиту, псоріазу, раку шкіри і наслідків природного старіння. В іншому втіленні, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися для обробки ран і/або опіків для прискорення загоєння, включаючи, наприклад, опіки першого, другого або третього ступеня і/або термальні, хімічні або електричні опіки. Композиції можуть наноситися місцево на шкіру або слизову.

Композиції для місцевого нанесення, що містять одну або більш сполук, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть також використовуватися як профілактичні, наприклад, хіміопротективні композиції. При використанні в хіміопротективному способі, на сприйнятливую шкіру впливають до появи видимої патології в конкретного індивіда.

Сполуки, що регулюють сиртуїн, можуть вводитися суб'єктові місцево або системно. В одному втіленні, сполука, що регулює сиртуїн, вводиться місцево до тканини або органа шляхом ін'єкції, композиції для місцевого нанесення і т.д.

В іншому втіленні, сполука, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, може використовуватися для лікування або профілактики захворювання або стану, викликаного або ускладненого клітинним старінням у суб'єкта; у способах уповільнення старіння суб'єкта, наприклад, після початку старіння; у способах збільшення тривалості життя суб'єкта; у способах лікування або профілактики хвороби, що відноситься до тривалості життя; у способах лікування або профілактики захворювання або стану, що відноситься до здатності клітин до проліферації; і в способах лікування або профілактики захворювання або стану, обумовленого ушкодженням або загибеллю клітин. У деяких утіленнях, спосіб не зменшує поширеність захворювань, що укорочують тривалість життя суб'єкта. У деяких утіленнях, спосіб не знижує смертність, зв'язану з захворюванням, наприклад, раком.

Ще в одному втіленні, сполука, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, може вводитися суб'єктові для загального збільшення тривалості життя його клітин і для захисту його клітин від стресу і/або апоптозу. Вважається, що вплив на суб'єкта сполукою, описаною в даному документі, схожий на гормезис, тобто м'який стрес, що благотворно діє на організми і може збільшувати їхню тривалість життя.

Сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть вводитися суб'єктові для запобігання старіння, наслідків старіння і захворювань, пов'язаних зі старінням, таких як інсульт, серцеве захворювання, серцева недостатність, артрит, високий кров'яний тиск і хвороба Альцгеймера. Інші стани, що можуть піддаватися лікуванню, включають захворювання очей, наприклад, асоційовані зі старінням очей, такі як катаракта, глаукома і дегенерація сітківки. Сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, також можуть вводитися суб'єктам з метою лікування захворювань, наприклад, хронічних захворювань, асоційованих із загибеллю клітин, для захисту клітин від загибелі. Типові захворювання включають захворювання, асоційовані з загибеллю нервових клітин, нейрональною дисфункцією, або загибеллю або дисфункцією м'язових клітин, такі як хвороба Паркінсона, хвороба Альцгеймера, розсіяний склероз, бічний аміотрофічний склероз і м'язова дистрофія; СНІД; фульмінантний гепатит; хвороби, пов'язані з дегенерацією мозку, такі як хвороба Крейтцфельда-Якоба, пігментний ретиніт і дегенерація мозку; мієлодисплазія, така як апластична анемія; ішемічні захворювання, такі як інфаркт міокарда й інсульт; захворювання печінки, такі як алкогільний гепатит, гепатит В і гепатит С; захворювання суглобів, такі як остеоартрит; атеросклероз; алопеція; ушкодження шкіри, викликані УФ-світлом; червоний плоский лишай; атрофія шкіри; катаракта; і відторгнення трансплантата. Загибель клітин також може бути викликана хірургічною операцією, лікарською терапією, хімічним впливом або радіаційним впливом.

Сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, також можуть вводитися суб'єктам, що страждають гострими захворюваннями, наприклад, ушкодженнями органів або тканин, наприклад, суб'єктам, що страждають на інсульт або інфаркт міокарда або суб'єкт, що страждає ушкодженням спинного мозку. Сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть також використовуватися при лікуванні алкогольного цирозу печінки.

Серцево-судинне захворювання

В іншому втіленні, у даному винаході представлений спосіб лікування і/або профілактики серцево-судинного захворювання шляхом введення суб'єктові, що цього потребує, сполуки, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну.

Серцево-судинні захворювання, що піддаються лікуванню або профілактиці сполукою, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, включають кардіоміопатію або міокардит; таку як ідіопатичну кардіоміопатію, метаболічну кардіоміопатію, алкогольну кардіоміопатію, лікарську кардіоміопатію, ішемічну кардіоміопатію і гіпертонічну кардіоміопатію. Також можуть піддаватися лікуванню і/або профілактиці з використанням сполук і способів, описаних у даному документі, атероматозні захворювання великих кровоносних судин (макровазкулярне захворювання), таких як аорта, коронарні артерії, сонні артерії, мозкові артерії, ниркові артерії, клубові артерії, стегові артерії і підколінні артерії. Інші судинні захворювання, що піддаються лікуванню або профілактиці, включають захворювання, що відносяться до агрегації тромбоцитів, артеріол сітківки, артеріол клубочків, vasa nervorum, артеріол серця і капілярних русел очей, нирок, серця і центральної і периферичної нервової системи. Сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, також можуть використовуватися для підвищення ЛВШ у плазмі індивіда.

Інші порушення, що піддаються лікуванню сполуками, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, включають рестеноз, наприклад, після операції на коронарних судинах, і порушення, що відносяться до ненормальних рівнів холестерину високої і низької щільності.

В одному втіленні, сполука, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, може вводитися в складі комбінованої терапії з іншим серцево-судинним агентом. В одному втіленні, сполука, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, може вводитися в складі комбінованої терапії з препаратом, спрямованим проти аритмії. В іншому втіленні, сполука, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, може вводитися в складі комбінованої терапії з іншим серцево-судинним агентом.

Загибель клітин/рак

Сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть вводитися суб'єктам, що недавно одержали або можуть одержати дозу радіації або токсину. В одному втіленні, отримана доза радіації або токсину є частиною робочої або медичної процедури, наприклад, вводиться як профілактика. В іншому втіленні, доза радіації або токсину може бути отримана неавмисно. У такому випадку, сполуку краща вводити якнайшвидше після одержання дози для інгібування апоптозу і наступного розвитку гострого променевого синдрому.

Сполуки, що регулюють сиртуїн, можуть також використовуватися для лікування і/або профілактики раку. У деяких втіленнях, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися для лікування і/або профілактики раку. Обмеження калорій зв'язується зі зниженням частоти захворювань, пов'язаних з віком, включаючи рак. Відповідно, підвищення рівня і/або активності білка сиртуїну може бути придатне для лікування і/або профілактики захворювань, пов'язаних з віком, таких як, наприклад, рак. Типові раки, для лікування яких можна використовувати сполуку, що регулює сиртуїн, являють собою рак голови і нирки; гормон-залежні раки, включаючи рак молочної залози, простати, яєчок і яєчників; лімфоми і лейкомії. При раках, асоційованих із солідними пухлинами, регулююча сполука може вводитися прямо в пухлину. Лікування раку клітин крові, наприклад, лейкомії, може проводитися шляхом введення регулюючої сполуки в кровоток або кістковий мозок. Також можуть піддаватися лікуванню доброякісні новоутворення шкіри, наприклад, бородавки. Інші захворювання, що можуть піддаватися лікуванню, включають аутоімунні захворювання, наприклад, системний червоний вовчак, склеродерма й артрит, при яких показане видалення аутоімунних клітин. Також введенням сполуки, що регулює сиртуїн, можна лікувати злоякісні і доброякісні порушення, асоційовані з вірусними інфекціями, такими як герпес, ВІЛ, аденовірус і HTLV-1. Альтернативно, клітини, отримані від суб'єкта, можуть бути

оброблені *ex vivo* для видалення небажаних клітин, наприклад, пухлинних клітин, і введені назад тому ж або іншому суб'єктові.

Хіміотерапевтичні агенти можуть вводитися разом з регулюючими сполуками, для яких у даному документі описана протипухлинна активність, наприклад, сполуками, що викликають апоптоз, сполуками, що зменшують тривалість життя, або сполуками, що підвищують сприйнятливості клітин до стресу. Хіміотерапевтичні агенти можуть використовуватися по-окремо зі сполукою, що регулює сиртуїн, для якої в даному документі показана індукція апоптозу або зменшення тривалості життя або підвищення чутливості до стресу і/або в комбінації з іншими хіміотерапевтичними агентами. Крім загальноприйнятих хіміотерапевтичних агентів, сполуки, що регулюють сиртуїн, описані в даному документі, можуть використовуватися з антисмисловими РНК, іРНК, або іншими полінуклеотидами для інгібування клітинних компонентів, що сприяють небажаній проліферації клітин.

Комбіновані терапії, що включають сполуки, що регулюють сиртуїн, і стандартний хіміотерапевтичний агент, можуть мати переваги перед комбінованими терапіями, відомими з рівня техніки, оскільки така комбінація дозволяє стандартному хіміотерапевтичному агенту виявити більш сильний ефект при більш низькій дозі. У кращому втіленні, ефективна доза (ED_{50}) для хіміотерапевтичного агента або комбінації стандартних хіміотерапевтичних агентів при використанні в комбінації зі сполукою, що регулює сиртуїн, щонайменше в 2 рази нижче, ніж ED_{50} для хіміотерапевтичного агента по окремо, і більш переважно, у 5 разів, 10 разів, або навіть у 25 разів нижче. Навпроти, терапевтичний індекс (TI) для такого хіміотерапевтичного агента або комбінації такого хіміотерапевтичного агента в комбінації зі сполукою, що регулює сиртуїн, описаною у даному документі, може бути в 2 рази вище, ніж TI стандартної терапевтичної схеми, і більш переважно, у 5 разів, 10 разів або навіть у 25 разів вище.

Нейрональні захворювання/порушення

У деяких втіленнях, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися для лікування пацієнтів, що страждають нейродегенеративними захворюваннями, і травматичними або механічними ушкодженнями центральної нервової системи (ЦНС), спинного мозку або периферичної нервової системи (ПНС). Нейродегенеративне захворювання звичайно включає зменшення маси й обсягу мозку людини через атрофію і/або загибель клітин мозку, значно перевищуючих такі в здоровій людини через вік. Нейродегенеративні захворювання можуть розвиватися поступово, після довгого часу, протягом якого функція мозку залишається нормальною, через прогресуючу дегенерацію (наприклад, дисфункції і загибелі нервових клітин) визначених ділянок мозку. Альтернативно, нейродегенеративні захворювання можуть починатися раптово, наприклад, захворювання, асоційовані з травмою або токсинами. Від фактичного початку дегенерації мозку до її клінічних проявів може пройти багато років. Приклади нейродегенеративних захворювань включають, але не обмежуються хворобою Альцгеймера (AD), хворобою Паркінсона (PD), хворобою Хантингтона (HD), бічним аміотрофічним склерозом (ALS); хвороба Лу Геріга; хворобою дифузійних тілець Леві, хореєю-акантоцитозом, первинним латеральним склерозом, захворюваннями очей (зоровим невритом), нейропатіями, викликаними хіміотерапією (наприклад, вінкристином, паклітакселем, бортезомібом), нейропатіями, викликаними діабетом, і атаксією Фрідріха. Сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися для лікування цих та інших захворювань, як описано нижче.

AD являє собою захворювання ЦНС, що приводить до втрати пам'яті, нетипової поведінки, змін особистості і пригнічення розумових здібностей. Ці зміни обумовлені загибеллю визначеного типу клітин мозку і розривом зв'язків між ними і підтримуючої їх сітки (наприклад, з гліальних клітин). Найранніші симптоми включають втрату короточасної пам'яті, помилкові судження і зміни особистості. PD являє собою захворювання ЦНС, що приводить до неконтрольованих рухів тіла, ригідності, тремору і дискінезії, що обумовлено загибеллю клітин в області мозку, що продукує дофамін. ALS (хвороба моторних нейронів) являє собою порушення ЦНС, що уражає моторні нейрони, компоненти ЦНС, що зв'язують мозок з скелетними м'язами.

HD являє собою інше нейродегенеративне захворювання, що приводить до неконтрольованих рухів, втрати інтелектуальних здібностей і емоційних порушень. Хвороби Тея-Закса і Сандхоффа обумовлені порушенням збереження гліколіпідів, при якому гангліозид GM2 і подібні гліколіпідні субстрати β -гексозамінідази накопичуються в нервовій системі і викликають гостру нейродегенерацію.

Добре відомо, що апоптоз відіграє роль у патогенезі СНІД в імунній системі. Однак ВІЛ-1 також викликає неврологічне захворювання, що може піддаватися лікуванню сполуками, що регулюють сиртуїн, відповідно до винаходу.

Нейрональні втрати також є характерною рисою пріонних захворювань, таких як хвороба Крейцфельда-Якоба в людини, губчата енцефалопатія великої рогатої худоби (mad cow disease), скрейпи в овець і кіз і губчата енцефалопатія котів. Сполуки, що регулюють сиртуїн, що можуть підвищувати рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть бути придатними для

лікування або профілактики нейрональних втрат унаслідок таких пріонних захворювань.

В іншому втіленні, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися для лікування або профілактики будь-якого захворювання або порушення, що включає аксонопатію. Дистальна аксонопатія являє собою тип периферичної нейропатії, обумовлений метаболічним або токсичним ураженням нейронів периферичної нервової системи (ПНС). Ця відповідь нервів, що часто зустрічається на метаболічні або токсичні розлади, може бути викликана метаболічними захворюваннями, такими як діабет, ниркова недостатність, синдроми дефіциту, такі як виснаження й алкоголізм, або токсинами або лікарськими препаратами. Пацієнти з дистальною аксонопатією звичайно відчують сенсорні порушення за типом "шкарпетки-рукавички". В уражених областях також ослаблені або відсутні глибокі рефлекси і функції автономної нервової системи.

Діабетичні нейропатії являють собою нейропатичні захворювання, асоційовані з цукровим діабетом. Стани, що відносно часто зустрічаються, можуть асоціюватися з діабетичною нейропатією, включають параліч окорухального нерва; мононейропатію; множинний мононеврит; діабетичну аміотрофію; хворобливу полінейропатію; автономну нейропатію; і торакоабдомінальну нейропатію.

Периферична нейропатія - медичний термін, що позначає ушкодження нервів периферичної нервової системи, що може бути обумовлене захворюваннями нервів або побічних ефектів системних захворювань. Основні причини периферичної нейропатії включають судоми, недостатність живильних речовин і СНІД, хоча найбільш ймовірною причиною є діабет.

У типовому втіленні, сполука, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, може використовуватися для лікування або профілактики розсіяного склерозу (MS), включаючи рецидивуючий MS і моносимптоматичний MS, та інші стани, обумовлені демієлінізацією, такі як, наприклад, хронічна запальна демієлінізуюча полінейропатія (CIPD) або симптоми, асоційовані з нею.

Ще в одному втіленні, сполука, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, може використовуватися для лікування травми нервів, включаючи травму, обумовлену хворобою, ушкодженням (включаючи хірургічне втручання), або впливом навколишнього середовища (наприклад, нейротоксини, алкоголізм і т.д.).

Сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, також можна використовувати для профілактики, лікування й ослаблення симптомів різних порушень ПНС. Термін "периферична нейропатія" охоплює широке коло захворювань, при яких ушкоджуються нерви за межами головного і спинного мозку - периферичні нерви. Периферичну нейропатію також називають периферичним невритом, або, якщо залучено багато нервів, може використовуватися термін "полінейропатія" або "поліневрит".

Захворювання ПНС, що можуть піддаватися лікуванню сполуками, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, включають: діабет, проказу, хворобу Шарко-Мари-Тута, синдром Гійома-Барре і нейропатії брахіального сплетення (захворювання цервікальних і перших торакальних корінців, нервових стовбурів, нервових тяжів і периферичних компонентів нервів брахіального сплетення).

В іншому втіленні, сполука, що активує сиртуїн, може використовуватися для лікування поліглутамінового захворювання. Типові поліглутамінові захворювання включають спінобульбарну м'язову атрофію (хвороба Кеннеді), хвороба Хантингтона (HD), дентаторубро-паллідолоюсову атрофію (Haw River syndrome), спіноцеребелярну атаксію типу 1, спіноцеребелярну атаксію типу 2, спіноцеребелярну атаксію типу 3 (хвороба Мачадо-Джозефа), спіноцеребелярну атаксію типу 6, спіноцеребелярну атаксію типу 7 і спіноцеребелярну атаксію типу 17.

У деяких утіленнях, у винаході представлений спосіб впливу на центральну нервову систему з метою запобігання ушкодження у відповідь на ослаблення струму крові до клітини. Серйозність ушкодження, якому запобігають, звичайно сильно залежить від ступеня ослаблення потоку крові до клітини і тривалості ослаблення. В одному втіленні можна запобігти загибелі шляхом апоптозу або некрозу. Ще в одному втіленні можна запобігти ушкодженню, викликаному ішемією, такому як цитотоксичний набряк або аноксемія тканини центральної нервової системи. У кожному утіленні, центральна нервова система може являти собою клітину спинного мозку або головного мозку.

Ще в одному аспекті розглядається введення сполуки, що активує сиртуїн, суб'єктові з метою лікування ішемічного стану центральної нервової системи. За допомогою сполук, що активують сиртуїн, описаних у даному документі, можна лікувати деякі ішемічні стани центральної нервової системи. В одному втіленні, ішемічний стан являє собою інсульт, що
 5 приводить до будь-якого типу ішемічного ушкодження центральної нервової системи, такого як апоптотична або некротична загибель клітин, цитотоксичний набряк або аноксія тканин центральної нервової системи. Інсульт може торкатися будь-якої області мозку або може бути викликаний відомою будь-якою етіологією. В одній альтернативі цього втілення, інсульт уражає стовбур мозку. В іншій альтернативі цього втілення, інсульт уражає область мозочка. Ще в
 10 одному втіленні, причиною інсульту є емболія. Ще в одній альтернативі, причиною інсульту є кровотеча. В подальшому втіленні, причиною інсульту є тромб.

Ще в одному аспекті, сполука, що активує сиртуїн, може вводитися з метою зменшення вогнища інфаркту в ішемічній зоні після ішемічного стану центральної нервової системи. Крім того, сполука, що активує сиртуїн, може вводитися для зменшення ішемічної півтини або
 15 перехідної зони після ішемічного стану центральної нервової системи.

В одному втіленні, схема комбінованої терапії може включати препарати або сполуки для лікування або профілактики нейродегенеративних захворювань або вторинних станів, асоційованих з цими станами. Таким чином, схема комбінованої терапії може включати один або більше активаторів сиртуїну або один або більше агентів, спрямованих проти
 20 нейродегенерації.

Порушення згортання крові

В інших аспектах, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися для лікування або профілактики порушень згортання крові (або порушень гемостазу). Терміни "гемостаз", "коагуляція крові" і "згортання крові" у
 25 даному документі уживаються взаємозамінно й означають контроль кровотечі, включаючи фізіологічні властивості вазоконстрикції та коагуляції. Згортання крові допомагає відновити цілісність кровотоку ссавців після ушкодження, запалення, захворювання, уродженого дефекту, дисфункції або іншого розладу. Далі, утворення згустків крові не тільки обмежує кровотечу у випадку ушкодження (гемостаз), але може приводити до серйозних ушкоджень органів і смерті в
 30 контексті атеросклеротичних захворювань шляхом закупорки важливої артерії або вени. Формування згустків крові в непотрібний час у непотрібному місці називається тромбозом.

Відповідно, у даному винаході представлені антикоагулянтні або антитромботичні впливи, націлені на інгібування утворення згустків крові для профілактики або лікування порушень згортання крові, таких як інфаркт міокарда, інсульт, утрата кінцівки, викликана захворюванням
 35 периферичної артерії або закупорка легеневої артерії.

Терміни "модулювання або модуляція гемостазу" і "регулювання або регуляція гемостазу" у даному документі уживаються взаємозамінно і індукцію (наприклад, стимуляцію або посилення) і інгібування (наприклад, зменшення або ослаблення) гемостазу.

В одному аспекті, у винаході представлений спосіб ослаблення або інгібування гемостазу в суб'єкта шляхом введення сполуки, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну. Композиції і способи, що розкриваються в даному документі, придатні для лікування або профілактики тромботичних захворювань. Термін "тромботичне захворювання" використовуваний у даному документі, включає будь-яке захворювання або стан, для якого характерне підвищене або небажане згортання або гемостатична активність, або стан
 45 гіперкоагуляції. Тромботичні захворювання включають захворювання або порушення, що торкаються адгезії тромбоцитів і утворення тромбу, що можуть виявлятися як підвищене тромбоутворення, наприклад, підвищення числа тромбозів, тромбози в більш ранньому віці, сімейна схильність до тромбозу, і тромбоз у незвичайних місцях.

В іншому втіленні, схема комбінованої терапії може включати препарати або сполуки для лікування або профілактики порушень згортання крові або вторинних станів, асоційованих з цими станами. Таким чином, схема комбінованої терапії може включати одну або більше сполук, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, і один або більше антикоагуляційних або антитромботичних агентів.

Контроль ваги

В іншому аспекті, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися для профілактики набору ваги або ожиріння в суб'єкта. Наприклад, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися для лікування або профілактики спадкового ожиріння, дієтичного ожиріння, гормонального ожиріння, ожиріння, пов'язаного з введенням лікарських препаратів, для зменшення ваги суб'єкта, або для зменшення або запобігання набору ваги
 60

суб'єктом. Суб'єктом, що потребує подібного лікування, може бути гладкий суб'єкт, суб'єкт, що може стати гладким, суб'єкт, що має зайву вагу або суб'єкт, що може набрати зайву вагу. Суб'єктів, що можуть стати гладкими або набрати зайву вагу, можна ідентифікувати, наприклад, на підставі сімейної історії, генетики, дієти, рівня активності, прийнятих ліків, або різних комбінацій перерахованого вище.

В інших втіленнях, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть вводитися суб'єктам, що страждають різними іншими захворюваннями, що піддаються лікуванню або профілактиці шляхом втрати ваги суб'єктом. Також захворювання включають, наприклад, високий кров'яний тиск, гіпертонію, високий рівень холестерину в крові, дисліпідемію, діабет 2 типу, стійкість до інсуліну, непереносимість глюкози, гіперінсулінемія, ішемічна хвороба серця, грудна жаба, застійний параліч серця, інсульт, жовчні камені, холецистит і холелітіаз, подагру, остеоартрит, апное і проблеми органів дихання, деякі типи раків (такі як рак матки, молочної залози, простати і кишечника), ускладнення вагітності, порушення жіночого репродуктивного здоров'я (такі як нерегулярні менструації, безпліддя, нерегулярні овуляції), порушення контролю сечового міхура (такі як нетримання сечі при стресі), сечокислий нефролітіаз, психологічні порушення (такі як депресія, розлади харчування, перекручена уява тіла і низька самооцінка). Нарешті, у пацієнтів, що страждають на СНІД, може розвиватися ліподистрофія або стійкість до інсуліну у відповідь на комбіновані терапії, спрямовані проти СНІД.

В іншому втіленні, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися для придушення адипогенезу або диференціювання жирових клітин *in vivo* або *in vitro*. Такі способи можуть використовуватися для лікування або профілактики ожиріння.

В інших втіленнях, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися для зниження апетиту і/або посилення почуття насичення, що веде до втрати ваги або дозволяє уникнути набору ваги. Суб'єктом, що потребує подібного лікування, може бути суб'єкт, що має зайву вагу або є гладким, або суб'єкт, що може набрати зайву вагу або стати гладким. Спосіб може включати введення дози суб'єктові, наприклад, таблетки, щодня, через день, або раз на тиждень. Доза може являти собою "дозу, що знижує апетит".

У типовому втіленні, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть вводитися в складі комбінованої терапії для лікування або профілактики набору ваги й ожиріння. Наприклад, одна або більше сполук, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть вводитися в комбінації з одним чи більше агентами, спрямованими проти ожиріння.

В іншому втіленні, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть вводитися для зниження набору ваги, обумовленого лікарськими препаратами. Наприклад, сполука, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, може вводитися в складі комбінованої терапії з препаратами, що можуть стимулювати апетит або приводити до набору ваги, особливо не обумовленої затримкою рідини.

Метаболічні захворювання/діабет

В іншому аспекті, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися для лікування або профілактики метаболічного захворювання, такого як стійкість до інсуліну, преддіабетичний стан, діабет II типу і/або їх ускладнень. Уведення сполуки, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, може підвищувати чутливість до інсуліну і/або знижувати рівень інсуліну в суб'єкта. Суб'єктом, що потребує подібного лікування, може бути суб'єкт зі стійкістю до інсуліну або іншим симптомом-попередником діабету II типу, суб'єкт, що страждає діабетом II типу, або суб'єкт, у якого може розвинути будь-який з цих станів. Наприклад, суб'єкт може бути суб'єктом зі стійкістю до інсуліну, наприклад, мати високий рівень інсуліну в крові і/або асоційовані стани, такі як гіперліпідемія, порушення ліпогенезу, гіперхолестеринемія, знижена толерантність до глюкози, високий вміст глюкози в крові, інші прояви синдрому X, гіпертонія, атеросклероз і ліподистрофія.

У типовому втіленні, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть вводитися в складі комбінованої терапії для лікування або профілактики метаболічного захворювання. Наприклад, одна або більше сполук, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, може вводитися з одним або більше протидіабетичних агентів.

Запальні захворювання

В інших аспектах, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися для лікування або профілактики захворювання або порушення, асоційованого із запаленням. Сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть вводитися до початку, під час або після початку

5

запалення. При профілактичному використанні, переважно, якщо сполуки вводяться до будь-якої запальної відповіді або симптому. Введення сполук може запобігти або послабити запальні відповіді або симптоми.

В іншому втіленні, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну можуть використовуватися для лікування або профілактики алергії і

10

респіраторних станів, включаючи астму, бронхіт, легеневий фіброз, алергійний риніт, кисневу токсичність, емфізему, хронічний бронхіт, гострий респіраторний дистрес-синдром і будь-які хронічні обструктивні захворювання легень (COPD). Сполуки можуть використовуватися для лікування хронічних інфекційних гепатитів, включаючи гепатит В і гепатит С.

Крім того, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися для лікування аутоімунних захворювань і/або запалення,

15

20

асоційованого з аутоімунними захворюваннями, такими як артрит, включаючи ревматоїдний артрит, псоріатичний артрит і анкілозуючий спондилоїдит, а також органотканевих аутоімунних захворювань (наприклад, синдром Рейно), виразкового коліту, хвороби Крона, орального мукозиту, склеродерми, міастенії, відторгнення трансплантату, ендотоксину шоку, сепсису, псоріазу, екземи, дерматиту, розсіяного склерозу, аутоімунного тироїдиту, увеїту, системного червоного вовчаку, хвороби Аддісона, аутоімунного полігландулярного захворювання (також відомого як аутоімунний полігландулярний синдром) і хвороби Грейвса.

25

У деяких утіленнях, одна або більше сполук, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, може прийматися по-окремо або в комбінації з іншими сполуками, придатними для лікування або профілактики запалення.

Почервоніння обличчя

В іншому аспекті, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися для зменшення частоти або ступеня виразності почервоніння обличчя і/або припливів крові, що є симптомами порушення. Наприклад, обговорюваний спосіб включає використання сполук, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, по-окремо або в комбінації з іншими агентами, для зменшення частоти або ступеня виразності почервоніння обличчя і/або припливів крові в онкологічних пацієнтів. В інших утіленнях, у способі використовуються сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, для зменшення частоти або ступеня виразності почервоніння обличчя і/або припливів крові в жінок під час і після менопаузи.

35

В іншому аспекті, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися як терапія, що зменшує частоту або ступінь виразності почервоніння обличчя і/або припливів крові, що є побічними ефектами терапії іншим лікарським засобом, наприклад, почервоніння, викликане лікарськими препаратами. У деяких утіленнях, спосіб лікування і/або профілактики почервоніння, викликаного лікарськими препаратами, включає введення пацієнтові, що цього потребує, композиції, що включає щонайменше одну сполуку, що викликає почервоніння обличчя, і щонайменше одну сполуку, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну. В інших утіленнях, спосіб лікування почервоніння обличчя, викликаного лікарськими препаратами, включає роздільне введення одної або більше сполук, що викликають почервоніння особи, і одної або більше сполук, що регулюють сиртуїн, наприклад, де сполука, що регулює сиртуїн, і сполука, що викликає почервоніння обличчя, не входять до складу тих самих композицій.

40

45

При використанні окремих композицій, сполука, що регулює сиртуїн, може вводитися: (1) одночасно з агентом, що викликає почервоніння обличчя; (2) поперемінно з агентом, що викликає почервоніння обличчя; (3) зміщено стосовно агента, що викликає почервоніння обличчя; (4) перед агентом, що викликає почервоніння обличчя; (5) після агента, що викликає почервоніння обличчя; і (6) у різних комбінаціях перерахованого вище. Типові агенти, що викликають почервоніння обличчя, включають, наприклад, ніацин, ралоксифен, антидепресанти, антипсихотики, хіміотерапевтичні препарати, блокатори кальцієвих каналів і антибіотики.

55

В одному втіленні, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність сиртуїну, можуть використовуватися для зменшення почервоніння обличчя, що виявляється як побічний ефект судинорозширювального або антиліпідемічного агента (включаючи агенти, що знижують рівень холестерину і ліпотропні агенти). У типовому втіленні, сполука, що регулює

сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, може використовуватися для зменшення почервоніння обличчя, асоційованого із введенням ніацину.

В іншому втіленні, у винаході представлений спосіб лікування і/або профілактики гіперліпідемії з ослабленим побічним ефектом почервоніння обличчя. В іншому типовому втіленні, спосіб включає використання сполук, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, для ослаблення почервоніння обличчя - побічного ефекту ралоксифену. В іншому типовому втіленні, спосіб включає використання сполук, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, для ослаблення почервоніння обличчя - побічного ефекту антидепресанту або антипсихотичного агента. Наприклад, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися разом (вводиться по-окремо або разом) з інгібітором зворотного захоплення серотоніну або антагоністом рецептора 5HT₂.

У деяких утіленнях, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися в складі терапії інгібітором зворотного захоплення серотоніну (SRI) для зменшення почервоніння обличчя. Ще в одному типовому втіленні, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися для ослаблення побічного ефекту почервоніння обличчя хіміотерапевтичних агентів, таких як циклофосфамід і тамоксифен.

В іншому втіленні, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися для ослаблення почервоніння обличчя - побічного ефекту блокаторів кальцієвих каналів, такого як амлодипін.

В іншому втіленні, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися для ослаблення почервоніння обличчя - побічного ефекту антибіотиків. Наприклад, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність сиртуїну, можуть використовуватися в комбінації з левофлоксацином.

Захворювання очей

Один аспект даного винаходу являє собою спосіб стримування, зменшення або іншого лікування ослаблення зору шляхом введення пацієнтові терапевтичної дози регулятора сиртуїну, обраного зі сполуки, описаної в даному документі, або її фармацевтично прийнятної солі, проліків, або метаболічної похідної.

У деяких аспектах винаходу, ослаблення зору викликане ушкодженням зорового нерва або центральної нервової системи. У визначених утіленнях, ушкодження зорового нерва викликане високим внутрішньоочним тиском, наприклад, викликаним глаукомою. В інших визначених утіленнях, ушкодження зорового нерва викликане набряком нерва, що часто асоційований з інфекційною або імунною (наприклад, аутоімунною) відповіддю, такою як неврит зорового нерва.

У деяких аспектах винаходу, ослаблення зору викликане ушкодженням сітківки. У визначених утіленнях, ушкодження сітківки викликане порушенням потоку крові до ока (наприклад, артеріосклероз, васкуліт). У визначених утіленнях, ушкодження сітківки викликане руйнуванням макули (наприклад, вологою або сухою макулярною дегенерацією).

Типові захворювання сітківки включають вологу вікову макулярну дегенерацію, суху вікову макулярну дегенерацію, макулярну дегенерацію, пов'язану з електронним протезом сітківки і трансплантацією електронного протезу сітківки, гостру мультифокальну плакоїдну пігментну епітеліопатію, гострий некроз сітківки, хворобу Беста, закупорку гілки артерії сітківки, закупорку гілки вени сітківки, аутоімунні ретинопатії, асоційовані і пов'язані з раком, закупорку центральної артерії сітківки, закупорку центральної вени сітківки, центральну серозну хоріоретинопатію, хворобу Ілза, епімакулярну мембрану, ґратчасту дегенерацію, макроаневризму, діабетичний набряк сітківки, набряк сітківки Ірвіна-Гасса, центральний розрив сітківки, субретинальні неоваскулярні мембрани, дифузійний однобічний підгострий нейроретиніт, кістозний набряк макули без штучного кришталіка, передбачуваний синдром гістоплазмозу очей, ексудативне відшарування сітківки, післяопераційне відшарування сітківки, проліферативне відшарування сітківки, регматогенне відшарування сітківки, тракційне відшарування сітківки, пігментний ретиніт, цитомегаловірусний ретиніт, ретинопатію недоношених, ретинопатію "постріл дробом", фонову діабетичну ретинопатію, проліферативну діабетичну ретинопатію, гемоглобінопатичну ретинопатію, ретинопатію Пуртшера, ретинопатію Вальсальва, юнацький ретиношизіс, старечий ретиношизіс, синдром Терсона і синдроми білих крапок.

Інші типові захворювання включають бактеріальні інфекції очей (наприклад, кон'юнктивіт, кератит, туберкульоз, сифіліс, гонорея), вірусні інфекції (наприклад, вірус очного герпеса, вірус вітряної віспи, цитомегаловірусний ретиніт, вірус імунodefіциту людини (ВІЛ)), а також прогресуючий зовнішній некроз сітківки, що розвивається при СНІД, або інші захворювання

очей, асоційовані зі СНІД та іншими імунodefіцитами. Крім того, захворювання очей включають грибові інфекції (наприклад, кандидозний хоріоїдит, гістоплазмоз), інфекції найпростішими (наприклад, токсоплазмоз) та інші, такі як токсокароз очей і саркоїдоз.

Один аспект даного винаходу являє собою спосіб стримування, зменшення або іншого лікування ослаблення зору суб'єкта, що піддається терапії хіміотерапевтичним препаратом (наприклад, нейротоксином, препаратом, що підвищує внутрішньоочний тиск, таким як стероїд), шляхом введення суб'єктові, що цього потребує, терапевтичної дози регулятора сиртуїну, описаного в даному документі.

Інший аспект даного винаходу являє собою спосіб стримування, зменшення або іншого лікування ослаблення зору в суб'єкта, що піддається хірургічній операції, включаючи операції на очах або інші операції, проведені в положенні на животі, такі як операції на спинному мозку, шляхом введення суб'єктові, що цього потребує, терапевтичної дози регулятора сиртуїну, описаного в даному документі. Операції на очах включають катаракту, іридотомію і заміну кришталика.

Інший аспект винаходу являє собою лікування, включаючи стримування, і профілактику вікових захворювань очей, включаючи катаракту, синдром сухого ока, вікову макулярну дегенерацію (AMD), ушкодження сітківки і т.д., шляхом введення суб'єктові, що потребує такого лікування, терапевтичної дози регулятора сиртуїну, описаного в даному документі.

Інший аспект винаходу являє собою профілактику або лікування ушкодження очей, викликаного стресом, хімічним ушкодженням або опроміненням, шляхом введення суб'єктові, що потребує такого лікування, терапевтичної дози регулятора сиртуїну, описаного в даному документі. Опромінення або електромагнітне ушкодження очей може включати ушкодження, викликані кінескопними моніторами, сонячним світлом або ультрафіолетом.

В одному втіленні, схема комбінованої терапії може включати препарати або сполуки для лікування або профілактики захворювань очей або вторинних станів, асоційованих з цими станами. Таким чином, схема комбінованої терапії може включати один або більш активаторів сиртуїну й один або більше терапевтичних агентів для лікування захворювання очей.

В одному втіленні, регулятор сиртуїну може вводитися разом з терапією, спрямованою на зниження внутрішньоочного тиску. В іншому втіленні, регулятор сиртуїну може вводитися разом з терапією, спрямованою на лікування і/або профілактику глаукоми. Ще в одному втіленні, регулятор сиртуїну може вводитися разом з терапією, спрямованою на лікування і/або профілактику неврити зорового нерву. В одному втіленні, регулятор сиртуїну може вводитися разом з терапією, спрямованою на лікування і/або профілактику цитомегаловірусної ретинопатії. В іншому втіленні, регулятор сиртуїну може вводитися разом з терапією, спрямованою на лікування і/або профілактику розсіяного склерозу.

Захворювання і порушення, асоційовані з мітохондріями

У деяких утіленнях, у винаході представлені способи лікування захворювань або порушень, перебіг яких може покращитися при підвищенні мітохондріальної активності. Способи включають введення суб'єктові, що цього потребує, терапевтично ефективної кількості сполуки, що активує сиртуїн. Підвищена мітохондріальна активність означає підвищення активності мітохондрій, у той час як загальна кількість мітохондрій (наприклад, мітохондріальна маса) не змінюється, збільшення кількості мітохондрій, у такий спосіб підвищуючи мітохондріальну активність (наприклад, стимулюючи біогенез мітохондрій), або їх комбінації. У деяких утіленнях, захворювання і порушення, перебіг яких може покращитися при підвищенні мітохондріальної активності, включають захворювання або порушення, асоційовані з мітохондріальною дисфункцією.

У деяких утіленнях, способи лікування захворювань або порушень, перебіг яких може покращитися при підвищенні мітохондріальної активності, можуть включати ідентифікацію суб'єкта, що страждає мітохондріальною дисфункцією. Способи діагностики мітохондріальної дисфункції можуть включати молекулярно-генетичні, патологічні і/або біохімічні аналізи. Захворювання і порушення, асоційовані з мітохондріальною дисфункцією, включають захворювання і порушення, при яких недостатня активність дихального ланцюга мітохондрій вносить вклад у розвиток патофізіології таких захворювань або порушень у ссавця. Захворювання або порушення, перебіг яких може покращитися при підвищенні мітохондріальної активності, у загальному включають, наприклад, захворювання, при яких окисне ушкодження, опосередковане вільними радикалами, веде до дегенерації тканин, захворювання, при яких клітини ідуть у несвоєчасний апоптоз, і захворювання, при яких клітини не ідуть в апоптоз.

У деяких втіленнях у винаході представлені способи лікування захворювання або порушення, перебіг якого може покращитися при підвищенні мітохондріальної активності, що включають введення суб'єктові, що потребує цього, одної або більше сполук, що активують

сиртуїн, у комбінації з іншим терапевтичним агентом, таким як, наприклад, агент, придатний для лікування мітохондріальної дисфункції або агент, придатний для ослаблення симптому, асоційованого із захворюванням або порушенням, що включає мітохондріальну дисфункцію.

У типових утіленнях, у винаході представлені способи лікування захворювань або порушень, перебіг яких може покращитися при підвищенні мітохондріальної активності, шляхом введення суб'єктові терапевтично ефективної кількості сполуки, що активує сиртуїн. Типові захворювання або порушення включають, наприклад, нервово-м'язові захворювання (наприклад, атаксія Фрейдріха, м'язова дистрофія, розсіяний склероз і т.д.), порушення нейронної нестабільності (наприклад, судоми, мігрень і т.д.), затримка розвитку, нейродегенеративні захворювання (наприклад, хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона, бічний аміотрофічний склероз і т.д.), ішемія, нирковий тубулярний ацидоз, вікова нейродегенерація і вгасання когнітивних функцій, стомлюваність, викликана хіміотерапією, вікова або обумовлена хіміотерапією менопауза або нерегулярний менструальний цикл або овуляція, мітохондріальні міопатії, ушкодження мітохондрій (наприклад, накопичення кальцію, ексайтотоксичність, вплив оксиду азоту, гіпоксія і т.д.), і порушення регуляції мітохондрій.

М'язова дистрофія означає сімейство захворювань, що включають погіршення структури і функції нервово-м'язового апарата, що часто призводять до атрофії скелетних м'язів і дисфункцій серцевого м'яза, такі як м'язова дистрофія Дюшена. У деяких утіленнях, сполуки, що активують сиртуїн, можуть використовуватися для уповільнення зниження функціональних можливостей м'язів і для поліпшення функціонального статусу м'язів у пацієнтів з м'язовою дистрофією.

У деяких утіленнях, сполуки, що регулюють сиртуїн, можуть використовуватися для лікування мітохондріальних міопатій. Мітохондріальні міопатії варіюють від слабо вираженої повільно прогресуючої слабості зовнішніх м'язів ока до важких фатальних інфантильних міопатій і мультисистемних енцефаломіопатій. Було описано кілька синдромів, з частковим перекриттям. Добре відомі синдроми, що зачіпають м'язи, включають прогресуючу зовнішню офтальмоплегію, синдром Кірнса-Сейра (з офтальмоплегією, пігментною ретинопатією, порушеннями серцевої провідності, мозочковою атаксією і сенсоневральною глухотою), синдром MELAS (мітохондріальна енцефаломіопатія, лактацидоз та інсультподібні епізоди), синдром MERFF (міоклонічна епілепсія і рвані м'язові волокна), слабкість м'язів поясів кінцівок та інфантильну міопатію (доброякісна або важка і смертельна).

У деяких утіленнях, сполуки, що активують сиртуїн, можуть використовуватися для лікування пацієнтів, що страждають від токсичного ушкодження мітохондрій, такого як токсичне ушкодження, обумовлене накопиченням кальцію, ексайтотоксичністю, впливом оксиду азоту, лікарською токсичністю або гіпоксією.

У деяких утіленнях, сполуки, що активують сиртуїн, можуть використовуватися для лікування захворювань або порушень, асоційованих з порушенням регуляції мітохондрій.

М'язова діяльність

В інших утіленнях, у винаході представлені способи посилення м'язової діяльності шляхом введення терапевтично ефективної кількості сполуки, що активує сиртуїн. Наприклад, сполуки, що активують сиртуїн, можуть застосовуватися для підвищення фізичної витривалості (наприклад, здатності виконувати фізичну роботу, таку як вправи, фізична праця, спорт і т.д.), придушення або затримки настання фізичної втоми, підвищення рівня кисню в крові, підвищення життєвої енергії здорових індивідів, підвищення сили і витривалості, зниження м'язової втоми, зниження стресу, поліпшення серцевої і серцево-судинної функції, підвищення сексуальної здатності, підвищення рівня м'язового АТФ і/або зниження рівня лактату в крові. У деяких утіленнях, способи включають введення сполуки, що активує сиртуїн, що підвищує мітохондріальну активність, прискорює біогенез мітохондрій і/або підвищує мітохондріальну масу.

Спортивні показники означають здатність м'язів спортсмена досягати результатів при занятті спортом. Підвищені спортивні показники, сила, швидкість і витривалість, оцінюються за збільшенням сили скорочення м'язів, збільшенням амплітуди скорочення м'язів, укороченням часу реакції між стимуляцією і скороченням. Спортсмен означає індивіда, що займається спортом на будь-якому рівні, і який бажає досягти підвищеного рівня сили, швидкості і витривалості в ході занять, такого як, наприклад, культуристи, велосипедисти, бігуни на довгі дистанції, бігуни на короткі дистанції і т.д. Поліпшення спортивних показників виявляється в здатності перебороти м'язову втому, здібності зберігати активність протягом більш тривалого часу, і більш ефективних заняттях.

В області м'язової діяльності спортсмена бажано створити умови, що дозволяють змагатися або тренуватися з більшим навантаженням протягом тривалого часу.

Передбачається, що способи згідно із даним винаходом також виявляться ефективними при лікуванні патологічних м'язових станів, включаючи гостру саркопенію, наприклад, м'язову атрофію і/або кахексію, асоційовану з опіками, постільним режимом, іммобілізацією кінцівки, або великих торакальних, абдомінальних і/або ортопедичних операцій.

У деяких утіленнях, у винаході представлені нові дієтичні композиції, що містять регулятори сиртуїну, спосіб їх виготовлення і спосіб застосування композицій для поліпшення спортивних показників. Відповідно, представлені терапевтичні композиції, продукти харчування і напої, дія яких спрямована на підвищення фізичної витривалості і/або придушення фізичної втоми людей, що виконують фізичні вправи в широкому змісті, включаючи спорт, що вимагає витривалості і працю, що вимагає повторюваних фізичних зусиль. Такі дієтичні композиції можуть додатково включати електроліти, кофеїн, вітаміни, вуглеводи і т.д.

Інше використання

Сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися для лікування або профілактики вірусних інфекцій (таких як інфекції вірусами грипу, герпеса або папіломи) або в якості протигрибкових агентів. У деяких утіленнях, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть вводитися в складі комбінованої терапії з іншим терапевтичним агентом для лікування вірусних захворювань. В іншому втіленні, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть вводитися в складі комбінованої терапії з іншим протигрибковим агентом.

Суб'єкти, що можуть піддаватися вищезгаданому лікуванню, включають еукаріот, таких як ссавці, наприклад, людей, овець, велику рогату худобу, коней, свиней, собак, котів, приматів, крім людини, мишей і щурів. Клітини, що можуть піддаватися впливу, включають еукаріотичні клітини, наприклад, клітини вищеописаного суб'єкта, або клітини рослин, дріжджів і прокаріот, наприклад, клітини бактерій. Наприклад, регулюючи сполуки можна вводити сільськогосподарським тваринам для підвищення їх здатності довше переносити умови утримування.

Сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть також використовуватися для збільшення тривалості життя, підвищення стійкості до стресу і стійкості до апоптозу в рослин. В одному втіленні, сполука застосовується до рослин, наприклад, періодично, або до грибків. В іншому втіленні, рослини генетично модифікують для виробництва сполуки. В іншому втіленні, рослини і фрукти обробляють сполукою до збору і транспортування для підвищення стійкості до ушкодження в ході транспортування. Також можна приводити в контакт зі сполуками, описаними в даному документі, насіння рослин, наприклад, для їх кращої схоронності.

В інших утіленнях, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть використовуватися для регуляції тривалості життя клітин дріжджів. Ситуації, у яких може бути бажано збільшити тривалість життя клітин дріжджів, включають будь-який процес, у якому використовуються дріжджі, наприклад, виробництво пива, йогурту, і хлібобулочних виробів, наприклад, хліба. Використання довгоживучих дріжджів може привести до використання меншої кількості дріжджів або активності дріжджів протягом більш тривалих періодів часу. На дріжджі або інші клітини ссавців, що використовуються для виробництва рекомбінантних білків, також можна впливати, як описано в даному документі.

Сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, також можуть використовуватися для збільшення тривалості життя, підвищення стійкості до стресу і стійкості до апоптозу в комах. У цьому втіленні, сполуки застосовують до корисних комах, наприклад, бджіл та інших комах, що беруть участь у запиленні рослин. У конкретному втіленні, сполука застосовується до бджіл, що беруть участь у виробництві меду. У загальному випадку, способи, описані в даному документі, можуть застосовуватися до будь-якого організму, наприклад, еукаріотичного організму, що має комерційне значення. Наприклад, вони можуть застосовуватися до риби (аквакультура) і птахів (наприклад, кури і дичина).

Підвищені дози сполук, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть також використовуватися як пестицид шляхом порушення регуляції сайленсингу генів і регуляції апоптозу під час розвитку. У цьому втіленні, сполука може застосовуватися до рослин, використовуючи спосіб, відомий з рівня техніки, при якому сполука біодоступна для личинок комах, але не для рослин.

Принаймні, у світлі зв'язку відтворення і тривалості життя, сполуки, що регулюють сиртуїн, що підвищують рівень і/або активність білка сиртуїну, можуть застосовуватися для впливу на відтворення організмів, таких як комахи, тварини і мікроорганізми.

4. Тести

Описано різні типи тестів для визначення активності сиртуїну. Наприклад, активність сиртуїну можна вимірити за допомогою флуоресцентного аналізу, наприклад, за допомогою комерційного тесту виробництва Biomol, наприклад, 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 придатні тести на сиртуїн включають аналіз вивільнення нікотинамід (Kaeberlein et al., J. Biol. Chem. 280(17): 17038 (2005)), FRET-аналіз (Marcotte et al, Anal. Biochem. 332:90 (2004)) і аналіз зв'язування C¹⁴ НАД з бороною смолою (McDonagh et al., Methods 36: 346 (2005)). Інші придатні тести на сиртуїн включають радіоімунний аналіз (RIA), аналіз сцинтиляційної близькості, аналіз, заснований на HPLC, і репортерний аналіз (наприклад, для мішеней транскрипційних факторів).

Типовий тест на визначення активності сиртуїну являє собою аналіз поляризації флуоресценції. Аналіз поляризації флуоресценції описаний у даному документі і також описаний у публікації PCT № WO 2006/094239. В інших утіленнях, активність сиртуїну може визначатися способом мас-спектрометрії. Приклади тестів, заснованих на мас-спектрометрії, описані в даному документі і також описані в публікації PCT WO 2007/064902. Також для визначення активності сиртуїну можуть використовуватися клітинні тести. Приклади клітинних тестів для визначення активності сиртуїну описані в публікаціях PCT №№ WO 2007/064902 і WO 2008/060400.

Інші способи, що передбачаються даним документом, являють собою способи скринінгу для виявлення сполук або агентів, що регулюють сиртуїни. Агент може являти собою нуклеїнову кислоту, таку як аптамер. Тести можна проводити в клітинній або безклітинній системі. Наприклад, тест може включати інкубацію (або приведення в контакт) сиртуїну з тестованим агентом в умовах, при яких сиртуїн може регулюватися відомим агентом, що регулює сиртуїн, і спостереження або визначення рівня регуляції сиртуїну в присутності тестованого агента щодо відсутності тестованого агента. Рівень регуляції сиртуїну можна визначати шляхом визначення його здатності деацетилувати субстрат. Типові субстрати являють собою ацетильовані білки, наприклад, придбані в BIOMOL (Plymouth Meeting, PA). Кращі субстрати включають пептиди р53, такі як пептиди, що включають ацетильований K382. Особливо кращий субстрат Fluor de Lys-SIRT1 (BIOMOL), тобто ацетильований пептид Arg-His-Lys-Lys. Інші субстрати являють собою пептиди з людських гістонів H3 і H4 або ацетильовану амінокислоту. Субстрати можуть бути флуорогенні. Сиртуїн може являти собою SIRT1, Sir2, SIRT2, SIRT3 або їх частину. Наприклад, рекомбінантний SIRT1 можна придбати в BIOMOL. Реакцію можна проводити протягом приблизно 30 хвилин, а потім зупинити її, наприклад, за допомогою нікотинамід. Для визначення рівня ацетилування може використовуватися набір реагентів HDAC fluorescent activity assay/drug discovery kit (AK-500, BIOMOL Research Laboratories). Схожі тести описані в Bitterman et al. (2002) J. Biol. Chem. 277:45099. Рівень регуляції сиртуїну в тесті можна порівняти з рівнем регуляції сиртуїну в присутності однієї або більше (по-окремо або одночасно) сполук, описаних у даному документі, що можуть служити позитивним або негативним контролем. Сиртуїни для використання в тестах можуть являти собою повнорозмірні білки сиртуїни або їх частини. Оскільки в даному документі було показано, що активуючі сполуки взаємодіють з N-кінцем SIRT1, білки для використання в тестах включають N-кінцеву ділянку сиртуїнів, наприклад, амінокислоти приблизно 1-176 або 1-255 SIRT1; амінокислоти приблизно 1-174 або 1-252 Sir2.

В одному втіленні, скринінговий тест включає (i) приведення в контакт сиртуїну з тестованим агентом і ацетильованим субстратом в умовах, сприятливих для деацетилування сиртуїном субстрату під час відсутності тестованого агента; (ii) і визначення рівня ацетилування субстрату, де знижений рівень ацетилування субстрату в присутності тестованого агента щодо відсутності тестованого агента вказує на те, що тестований агент стимулює деацетилування сиртуїном, у той час як підвищений рівень ацетилування субстрату в присутності тестованого агента щодо відсутності тестованого агента вказує на те, що тестований агент інгібує деацетилування сиртуїном.

Способи виявлення агента, що регулює, наприклад, стимулює, сиртуїни in vivo, може включати: (i) приведення клітини в контакт із тестованим агентом і субстратом, що може проникнути в клітину в присутності інгібітору HDAC I і II класів, в умовах, сприятливих для деацетилування сиртуїном субстрату під час відсутності тестованого агента; (ii) і визначення рівня ацетилування субстрату, де знижений рівень ацетилування субстрату в присутності тестованого агента щодо відсутності тестованого агента вказує на те, що тестований агент стимулює деацетилування сиртуїном, у той час як підвищений рівень ацетилування субстрату в присутності тестованого агента щодо відсутності тестованого агента вказує на те, що тестований агент інгібує деацетилування сиртуїном. Кращий субстрат являє собою

ацетилований пептид, що також переважно є флуорогенним, як докладно описано нижче. Метод може далі включати лізис клітин для визначення рівня ацетилювання субстрату. Субстрати можна додавати до клітин у концентраціях приблизно 1 мкМ -10 мМ, переважно приблизно 10 мкМ -1 мМ, ще більш переважно, приблизно 100 мкМ -1 мМ, такий як 200 мкМ. Кращий субстрат являє собою ацетилований лізин, наприклад, ϵ -ацетиллізин (Fluor de Lys, Fd) або FLuor de Lys-SIRT1. Кращий інгібітор HDAC I і II класів являє собою трихостатин A (TSA), що може використовуватися в концентраціях приблизно 0,01-100 мкМ, переважно приблизно 0,1-10 мкМ, такий як 1 мкМ. Інкубацію клітин з тестованою сполукою і субстратом можна проводити протягом приблизно від 10 хв до 5 год., переважно приблизно 1-3 год. Оскільки TSA інгібує усі HDAC I і II класів, і деякі субстрати, наприклад, Fluor de Lys, погано підходять для SIRT2 і ще гірше для SIRT3-7, такий тест може використовуватися для виявлення регуляторів SIRT1 in vivo.

5. Фармацевтичні композиції

Сполуки, що регулюють сиртуїн, описані в даному документі, можуть бути складені в композицію загальноприйнятим способом з використанням одного або більше фармацевтично прийнятних носіїв або наповнювачів. Наприклад, сполуки, що регулюють сиртуїн, і їх фармацевтично прийнятні солі і сольвати можуть бути складені в композицію для введення, наприклад, шляхом ін'єкції (наприклад, підшкірної, внутрішньом'язової, внутрішньоочеревинної), інгаляції або інсуфляції (через рот або через ніс), або шляхом перорального, букального, під'язичного, кризьшкірного, назального, парентерального або ректального введення. В одному втіленні, сполука, що регулює сиртуїн, може вводитися місцево, у місце присутності клітин-мішеней, тобто, у визначену тканину, орган або рідину (наприклад, кров, спинномозкову рідину і т.д.).

Сполуки, що регулюють сиртуїн, можуть бути складені в композицію для різних способів введення, включаючи системне або топічне або місцеве введення. Техніки і композиції в загальному описані в Remington's Pharmaceutical Sciences, Meade Publishing Co., Easton, PA. Для парентерального введення переважна ін'єкція, включаючи внутрішньом'язову, внутрішньовенну, внутрішньоочеревинну і підшкірну. Сполуки для ін'єкції можуть складатися в рідкі розчини, переважно у фізіологічно сумісних буферних розчинах, таких як розчин Хенка або розчин Рінгера. Крім того, сполуки можуть складатися у тверді форми для розчинення або суспендування безпосередньо перед уживанням. Також включаються ліофілізовані форми.

Для перорального введення, фармацевтичні композиції можуть бути у формі таблеток, пастилок або капсул, виготовлених загальноприйнятими способами з фармацевтично прийнятними наповнювачами, такими як сполучні агенти (наприклад, прежелатинізований кукурудзяний крохмаль, полівінілпіролідон або гідроксипропілметилцелюлоза), наповнювачі (наприклад, лактоза, мікрокристалічна целюлоза або вторинний фосфат кальцію); змащувачі (наприклад, стеарат магнію, тальк або окис кремнію); дезінтегруючі засоби (наприклад, картопляний крохмаль або натрію крохмаль гліколат) або змочувальні агенти (наприклад, натрію лаурилсульфат). Таблетки можуть покриватися способом, відомим з рівня техніки. Рідкі препарати для перорального введення можуть бути у формі, наприклад, розчинів, сиропів або суспензій, або можуть бути представлені у вигляді сухого продукту для відновлення водою або іншим підходящим носієм перед уживанням. Такі рідкі препарати можуть бути виготовлені загальноприйнятими способами з фармацевтично прийнятними добавками, такими як суспендувальні агенти (наприклад, сорбітовий сироп, похідні целюлози або гідрогенізовані харчові жири); емульгатори (наприклад, лецитин або акація); неводні носії (наприклад, мигдальна олія, ефіри олій, етиловий спирт або фракціоновані рослинні олії); і консерванти (наприклад, метил- або пропіл-п-гідроксибензоати або сорбінова кислота). Препарати також можуть при необхідності містити буферні солі, смакові добавки, барвники і підсолоджувачі. Препарати для перорального введення можуть бути складені для контрольованого вивільнення активної речовини.

Для введення шляхом інгаляції (наприклад, доставки в легені) сполуки, що регулюють сиртуїн, можуть бути легко доставлені у формі аерозоля з балонів під тиском або небулайзера, з використанням придатного пропелента, наприклад, дихлордифторметану, трихлорфторметану, дихлортетрафторетану, діоксиду вуглецю або іншого підходящого газу. У випадку аерозоля під тиском, доза може визначатися наданим клапаном для вивільнення відміряної кількості. У складі капсул і ампул, наприклад, желатинових, для використання в інгаляторі або інсуфляторі може бути порошкова суміш сполуки і підходящої порошкової бази, такої як лактоза або крохмаль.

Сполуки, що регулюють сиртуїн, можуть бути складені в композиції для парентерального введення шляхом ін'єкції, наприклад, шляхом болюсної ін'єкції або постійної інфузії. Композиції

для ін'єкцій можуть бути представлені у вигляді стандартної дози, наприклад, в ампулах або багатодозових контейнерах, з додаванням консерванту. Композиції можуть бути у формі суспензій, розчинів або емульсій у масляних або водних розчинниках, і можуть містити композиційні агенти, такі як суспендувальні, стабілізуючі і/або диспергувальні агенти.

5 Альтернативно, активний інгредієнт може бути у формі порошку для відновлення підходящим розчинником, наприклад, стерильною водою, що не містить пірогенів, перед уживанням.

Сполуки, що регулюють сиртуїн, можуть також бути складені в ректальні композиції, такі як супозиторії або утримуючі клізми, наприклад, що містять загальноприйняті основи для супозиторіїв, такі як какао-олія або інші гліцериди.

10 На додаток до вищеописаних композицій, сполуки, що регулюють сиртуїн, можуть бути складені у формі препарату депо. Такі композиції тривалої дії можуть вводитися шляхом імплантації (наприклад, підшкірно або внутрішньом'язово) або шляхом внутрішньом'язової ін'єкції. Так, наприклад, сполуки, що регулюють сиртуїн, можуть бути складені в композицію з підходящими полімерними або гідрофобними матеріалами (наприклад, у вигляді емульсії в прийнятній олії) або іонообмінними смолами, або у вигляді слабкорозчинних похідних, наприклад, слабкорозчинної солі. Формула контрольованого вивільнення також включає пластири.

У деяких утіленнях, сполуки, описані в даному документі, можуть бути складені в композиції для доставки в центральну нервову систему (ЦНС) (див. огляд Begley, Pharmacology & Therapeutics 104: 29-45 (2004)). Стандартні підходи доставки ліків у ЦНС включають: нейрохірургічні підходи (наприклад, внутрішньомозкову ін'єкцію або внутрішньомозкову інфузію в ділянку шлуночків); зміна молекулярної сполуки агента (наприклад, одержання злитого химерного білка, що включає транспортний пептид, що володіє спорідненістю до молекули на поверхні ендотеліальних клітин, у комбінації з агентом, здатним проникати через гематоенцефалічний бар'єр) для використання одного з ендогенних шляхів транспорту через гематоенцефалічний бар'єр; фармакологічні стратегії, спрямовані на підвищення розчинності агента в ліпідах (наприклад, кон'югація водорозчинних агентів з ліпідними або холестериновими носіями); і тимчасове порушення цілісності гематоенцефалічного бар'єра шляхом гіперосмотичного розриву (у результаті інфузії розчину маніту в сонну артерію або використання біологічно активного агента, такого як пептид ангіотензину).

Ліпосоми являють собою легко ін'єкційну форму доставки ліків. Відповідно, у способі відповідно до винаходу активні компоненти можуть також вводитися у формі ліпосомної доставки. Ліпосоми добре відомі фахівцям в галузі техніки. Ліпосоми можуть утворюватися різними фосфоліпідами, такими як холестерин, стеариламін або фосфатидилхоліни. Ліпосоми, що підходять для способу відповідно до винаходу, включають усі типи ліпосом, включаючи, але не обмежуючись малими одношаровими ліпосомами, великими одношаровими ліпосомами і багатшаровими ліпосомами.

Ще одним способом одержання композиції, особливо регулятора сиртуїну, такого як ресвератрол або його похідного, є використання циклодекстрину. Під циклодекстрином розуміється α -, β -, або γ -циклодекстрин. Циклодекстрини докладно описані в Pitha et al., патент США № 4 727 064, цілком включений у даний документ як посилання. Циклодекстрини являють собою циклічні олігомери глюкози; ці сполуки утворюють комплекси включення з будь-яким препаратом, чия молекула поміщається в ліпофільній кишені молекули циклодекстрину.

Лікарські форми, що швидко розкладаються або розчиняються, придатні для швидкої абсорбції, особливо букальної і сублінгвальної абсорбції, фармацевтично активних агентів. Швидкорозчинні лікарські форми пасують до пацієнтів, таких як літні і педіатричні пацієнти, що відчувають труднощі при проковтуванні типових твердих лікарських форм, таких як каплетти і таблетки. Крім того, швидкорозчинні лікарські форми дозволяють позбутися від недоліків, наприклад, жувальних лікарських форм, для яких час, протягом якого активний агент знаходиться в роті пацієнта, відіграє велику роль у визначенні кількості маскування смаку або невдоволенні пацієнтом почуттям сухості в гортані, викликуваним активним агентом.

Фармацевтичні композиції (включаючи косметичні препарати) можуть містити приблизно від 0,00001 до 10 %, наприклад, від 0,001 до 10 % або від 0,1 до 5 % по масі одної або більше сполук, що регулюють сиртуїн, описаних у даному документі. В інших утіленнях, фармацевтична композиція містить: (i) 0,05-1000 мг сполук відповідно до винаходу або їх фармацевтично прийнятних солей, і (ii) 0,1-2 г одного або більше фармацевтично прийнятних наповнювачів.

В одному утіленні, сполука, що регулює сиртуїн, описана в даному документі, включена в композицію для місцевого нанесення, що містить носій для місцевого нанесення, що, загалом, придатний для місцевого нанесення і включає будь-які подібні матеріали, відомі з рівня техніки. Носій для місцевого нанесення може вибиратися для того, щоб композиція мала бажану форму,

наприклад, мазі, лосьйону, крему, мікроемульсії, гелю, олії, розчину і т.д., і може складатися з натуральних або синтетичних матеріалів. Переважно, якщо обраний носій не чинить несприятливого впливу на активний агент або інші компоненти композиції для місцевого нанесення. Приклади підходящих носіїв для місцевого нанесення для використання в даному

5 винаході включають воду, спирти й інші нетоксичні органічні розчинники, гліцерин, мінеральну олію, силікон, вазелін, ланолін, жирні кислоти, рослинні олії, парабени, воски і т.п.

Композиція може являти собою мазі, лосьйони, креми, мікроемульсії і гелі без кольору і запаху.

10 Сполуки, що регулюють сиртуїн, можуть бути включені в мазі, що у загальному випадку являють собою напівтверді препарати, в основі яких звичайно лежить вазелін або інші похідні нафти. Для фахівця в галузі техніки очевидно, що конкретна основа мазі повинна забезпечувати оптимальну доставку ліків і переважно, також інші бажані характеристики, наприклад, що пом'якшувальні і т.п. Як і інші носії або розріджувачі, основа мазі повинна бути інертною, стабільною, не повинна подразнювати і сенсibilізувати.

15 Сполуки, що регулюють сиртуїн, можуть бути включені в лосьйони, що у загальному випадку являють собою препарати, які наносять на поверхню шкіри без тертя, і звичайно являють собою рідкі або напіврідкі препарати, у яких тверді частинки, включаючи активний агент, знаходяться у водній або спиртовій основі. Лосьйони звичайно являють собою суспензії твердих речовин, і можуть включати рідку масляну емульсію типу "олія у воді".

20 Сполуки, що регулюють сиртуїн, можуть бути включені в креми, що у загальному випадку являють собою в'язкі рідини або напівтверді емульсії типів "масло у воді" або "вода в маслі". Основи кремів змиваються водою і містять масляну фазу, емульгатор і водну фазу. Масляна фаза звичайно містить вазелін і жирний спирт, такий як цетиловий або стеариловий спирт; водна фаза звичайно, хоча не обов'язково, перевершує в обсязі масляну фазу і звичайно містить зволожувач. Як описано в Remington (див. вище), емульгатор звичайно являє собою

25 неіонну аніонну, катіонну або амфотерну поверхнево-активну речовину. Сполуки, що регулюють сиртуїн, можуть бути включені в мікроемульсії, що у загальному випадку являють собою термодинамічні стабільні прозорі у всіх напрямках дисперсії двох рідин, що не змішуються, таких як масло і вода, стабілізовані міжфазною плівкою з молекул

30 поверхнево-активної речовини (Encyclopedia of Pharmaceutical Technology (New York: Marcel Dekker, 1992), том 9). Сполуки, що регулюють сиртуїн, можуть бути включені в гелеві композиції, що у загальному випадку являють собою напівтверді системи, що складаються із суспензій дрібних неорганічних частинок (двофазна система) або великих органічних молекул, розподілених практично

35 рівномірно по рідині-носії (однофазні гелі). Звичайно в ролі рідини-носія в гелі використовується вода, але також можуть використовуватися спирти й олії. У композиції можуть включатися інші активні агенти, наприклад, інші протизапальні агенти, знеболювальні, протимікробні агенти, протигрибкові агенти, антибіотики, вітаміни, антиоксиданти і сонцезахисні агенти, які звичайно містяться в сонцезахисних композиціях,

40 включаючи, але не обмежуючись антранілатами, бензофенонами (особливо бензофеноном-5), похідними камфори, цинаматами (наприклад, октилметоксицинамат), дибензоїлметанами (наприклад, бутілметоксидибензоїлметан), п-амінобензоєвою кислотою (РАВА) і її похідними і саліцилатами (наприклад, октилсаліцилат).

У деяких композиціях для місцевого нанесення, масова частка активного агента може

45 складати приблизно 0,25-75 % композиції, переважно приблизно 0,25-30 % композиції, більш переважно, приблизно 0,5-15 % композиції, і найбільш переважно, приблизно 1,0-10 % композиції.

Для лікування або профілактики станів очей можна використовувати, наприклад, системну, місцеву, внутрішньоочну ін'єкцію сполуки, що регулює сиртуїн, або введення пристрою для уповільненого вивільнення сполуки, що регулює сиртуїн. Сполука, що регулює сиртуїн, що підвищує рівень і/або активність білка сиртуїну, може доставлятися у фармацевтично прийнятному офтальмологічному розріджувачі, так щоб сполука знаходилася в контакті з

50 поверхнею ока протягом часу, достатнього для проникнення сполуки в роговицю і внутрішні ділянки ока, наприклад, у передню камеру, задню камеру, склоподібне тіло, внутрішньоочну рідину, роговицю, райдужну оболонку/ділянку вій, кристалик, судинну оболонку ока/сітківку і склеру. Фармацевтично прийнятний офтальмологічний розріджувач може являти собою,

55 наприклад, мазь, рослинну олію або інкапсулюючу речовину. Альтернативно, сполуки відповідно до винаходу можуть ін'єкуватися прямо в склоподібне тіло і внутрішньоочну рідину. Ще в одному аспекті, для лікування очей сполуки можна вводити системно, наприклад, шляхом

60 внутрішньовенної інфузії або ін'єкції.

Сполуки, що регулюють сиртуїн, описані в даному документі, можуть зберігатися в бескисневому середовищі. Наприклад, ресвератрол або його аналог можуть вкладатися в герметичну капсулу для перорального прийому, таку як Capsugel виробництва Pfizer, Inc.

Клітини, наприклад, оброблені *ex vivo* сполукою, що регулює сиртуїн, можуть вводитися відповідно до способів введення трансплантата суб'єктові, які можуть супроводжуватися, наприклад, введенням імуносупресуючого препарату, наприклад, циклоспорину А. Загальні принципи медичних композицій описані в (Cell Therapy: Stem Cell Transplantation, Gene Therapy, and Cellular Immunotherapy, під ред. G. Morstyn і W. Sheridan, Cambridge University Press, 1996; і Hematopoietic Stem Cell Therapy, E. D. Ball, J. Lister і P. Law, Churchill Livingstone, 2000).

Токсичність і терапевтичну ефективність сполук, що регулюють сиртуїн, можна визначити за допомогою стандартних фармацевтичних процедур на клітинних культурах або експериментальних тваринах. Доза, смертельна для 50 % популяції, називається LD₅₀. Доза, терапевтично ефективна для 50 % популяції, називається ED₅₀. Співвідношення токсичного і терапевтичного ефекту (LD₅₀/ED₅₀) називається терапевтичним індексом. Кращі сполуки, що регулюють сиртуїн, які володіють високими терапевтичними індексами. При використанні сполук, що регулюють сиртуїн, що володіють токсичними побічними ефектами, необхідна ретельна розробка системи доставки, що направляє такі сполуки до ушкодженої тканини для зменшення можливих ушкоджень неінфікованих клітин, і відповідно, ослаблення побічних ефектів.

Дані, отримані в ході досліджень на клітинних культурах і тваринах, можуть використовуватися для визначення меж дозувань для людей. Дозування таких сполук може знаходитися в межах нетоксичних або слабкотоксичних концентрацій у кровотоці, що включають ED₅₀. Дозування може варіювати в цих межах у залежності від використовуваної лікарської форми і використовуваного шляху введення. Для будь-якої сполуки, терапевтично ефективна доза спочатку може бути обчислена на підставі даних досліджень на клітинних культурах. Для експериментальних моделей на тварин може розраховуватися доза, необхідна для досягнення меж концентрації в плазмі крові, що включають величину IC₅₀ (тобто концентрацію тестованої речовини, що наполовину інгібує симптоми), розраховану на клітинній культурі. Ця інформація може використовуватися для більш точного розрахунку дози для людини. Рівні в плазмі можуть вимірюватися, наприклад, за допомогою високошвидкісної рідинної хроматографії (HPLC).

6. Набори реагентів

Також у даному винаході представлені набори реагентів, наприклад, набори реагентів для терапевтичних цілей або набори реагентів для регуляції тривалості життя клітин або регуляції апоптозу. Набір реагентів може містити одну або більше сполук, що регулюють сиртуїн, наприклад, у заздалегідь відмірених дозах. Набір реагентів може необов'язково включати пристрої для приведення клітин у контакт зі сполуками й інструкції з уживання. Пристрої включають шприци, стенти й інші пристрої для введення суб'єктові (наприклад, у кровоносну судину суб'єкта) або нанесення на шкіру суб'єкта сполуки, що регулює сиртуїн.

Ще в одному втіленні, у винаході представлена суміш речовин, що включає регулятор сиртуїну згідно із даним винаходом й інший терапевтичний агенто (ті ж, що використовуються для комбінованої терапії і комбінованих композицій), у складі роздільних лікарських форм, асоційованих одна з одною. Уживаний у даному документі термін "асоційовані одна з одною" означає, що роздільні лікарські форми упаковані разом або зв'язані одна з одною яким-небудь іншим способом, з якого очевидно, що роздільні лікарські форми продаються і вводяться як частини однієї і тієї ж терапії. Агент і регулятор сиртуїну переважно упаковані разом у блистерне упакування або інше упакування з декількома відділеннями або у з'єднанні, запаяні по-окремо контейнери (наприклад, кишеньки з фольги і т.п.), що можуть розділятися користувачем (наприклад, розділятися по лінії розриву між двома контейнерами).

Ще в одному втіленні, у винаході представлений набір реагентів, що включає в окремих ємностях: а) регулятор сиртуїну згідно із даним винаходом; і b) інший терапевтичний агент, такий, як описаний у даній заявці.

При застосуванні даних способів використовуються, якщо не зазначено інше, стандартні техніки клітинної біології, культивування клітин, молекулярної біології, трансгенної біології, мікробіології, роботи з рекомбінантної ДНК та імунології, що знаходяться в компетенції фахівця в галузі техніки. Такі техніки цілком описані в літературі. Див. наприклад, Molecular Cloning A Laboratory Manual, 2-і изд., під ред. Sambrook, Fritsch і Maniatis (Cold Spring Harbor Laboratory Press: 1989); DNA Cloning, тому I і II (під ред. D. N. Glover, 1985); Oligonucleotide Synthesis (під ред. M. J. Gait, 1984); Mullis і ін., патент США № 4 683 195; Nucleic Acid Hybridization (під ред. B. D. Hames і S. J. Higgins, 1984); Transcription And Translation (під ред. B. D. Hames і S. J. Higgins,

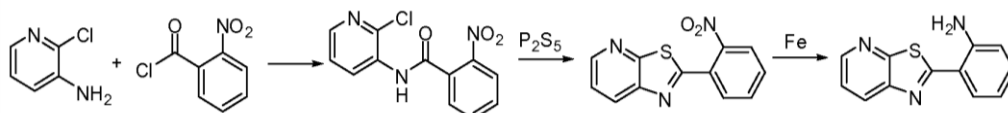
1984); Culture Of Animal Cells (R. I. Freshney, Alan R. Liss, Inc., 1987); Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press, 1986); B. Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning (1984); довідковий посібник Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.); Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells (під ред. J. H. Miller і M. P. Calos, 1987, Cold Spring Harbor Laboratory); Methods In Enzymology, тому 154 і 155 (під ред. Wu і ін.), Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (під ред. Mayer і Walker, Academic Press, London, 1987); Handbook Of Experimental Immunology, тому I-IV (під ред. D. M. Weir і C. C. Blackwell, 1986); Manipulating the Mouse Embryo, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y., 1986).

Приклади

Крім загального опису винаходу, для більш ясного розуміння приводяться наступні приклади, включені в даний документ із метою ілюстрації окремих утілень даного винаходу, але не є обмежувачими.

Приклад 1. Одержання сполук, що регулюють сиртуїн, і їх попередників.

Одержання 2-(тіазоло[5,4-b]піридин-2-іл)аніліну:

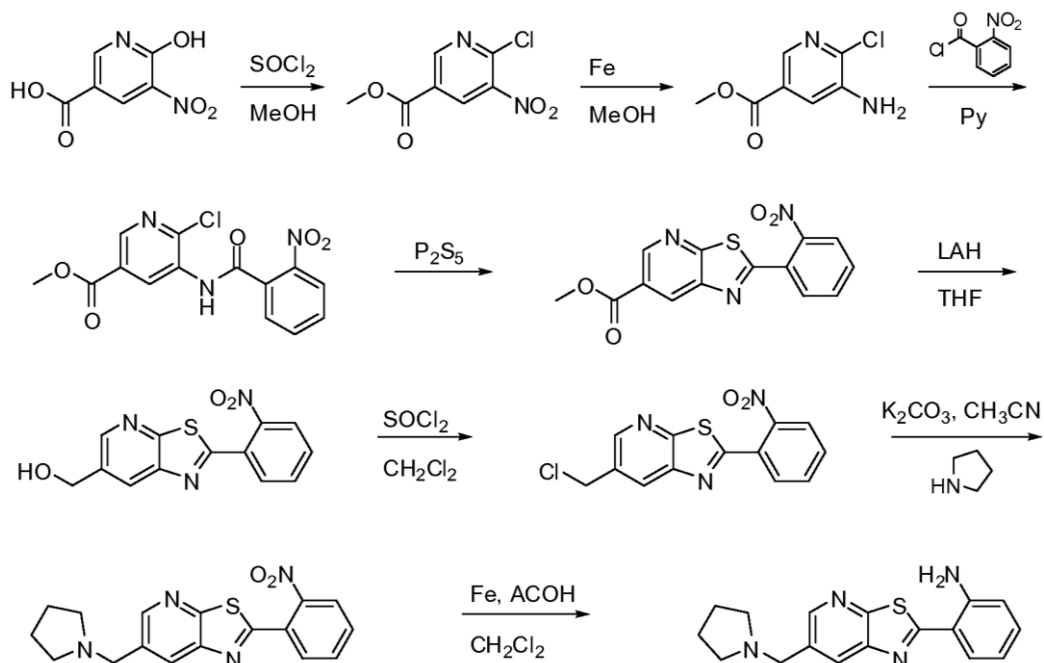


Суміш 3-аміно-2-хлорпіридину (3,85 г, 29,95 ммоль) і 2-нітробензоїлхлориду (5,56 г, 29,95 ммоль) у піридині (50 мл) перемішували протягом 1 год. при 0 °С і далі протягом ночі при кімнатній температурі. Після додавання води осад, що утворився, збирали шляхом фільтрації і висушування для одержання N-(2-хлорпіридин-3-іл)-2-нітробензаміду у вигляді твердої речовини білого кольору (8,52 г, вихід неочищеного продукту: >100 %).

Суміш N-(2-хлорпіридин-3-іл)-2-нітробензаміду (12,98 г, 46,75 ммоль), P₂S₅ (31,17 г, 140,24 ммоль) і піридину (80 мл) у п-ксилені (310 мл) нагрівали до 120 °С протягом 18 годин. Перемішування припиняли на 30 хвилин, і охолоджували суміш до 100 °С. Верхній прозорий розчин переносили і концентрували у вакуумі, після чого додавали етанол (50 мл). Суспензію нагрівали до 75 °С протягом 30 хв для розчинення продукту, фільтрували гарячим, охолоджували до кімнатної температури і залишали на 18 годин. Твердий продукт збирали фільтрацією, промивали холодним етанолом і висушували у вакуумі для одержання неочищеної суміші N-(2-хлорпіридин-3-іл)-2-нітробензамілу і 2-(2-нітрофеніл)тіазоло[5,4-b]піридину у вигляді твердої речовини жовтого кольору (10,60 г).

Вищеописану неочищену суміш (10,60 г), залізо (11,50 г, 206,01 ммоль) і NH₄Cl (17,63 г, 329,61 ммоль) у MeOH/H₂O (80/20 мл) нагрівали в колбі зі зворотним холодильником протягом 2 годин. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури й екстрагували етилацетатом. Органічний шар концентрували у вакуумі й очищали хроматографією на силікагелі для одержання 2-(тіазоло[5,4-b]піридин-2-іл)аніліну у вигляді твердої речовини жовтого кольору (3 г, вихід по двох стадіях 28 %). (MS, M⁺+H=228).

Одержання 2-(6-(піролідин-1-ілметил)тіазоло[5,4-b]піридин-2-іл)аніліну:



До розчину 6-гідрокси-5-нітронікотинової кислоти (1 екв) у SOCl_2 (4,7 екв) додавали DMF (0,15 екв). Суміш нагрівали в колбі зі зворотним холодильником протягом 8 год., потім концентрували у вакуумі. Осад розмішували в CH_2Cl_2 , охолоджували до -40°C і додавали MeOH (1,4 екв), підтримуючи внутрішню температуру нижче -30°C . До суміші додавали водний NaHCO_3 (1 екв), і залишали нагріватися до кімнатної температури. Органічну фазу відокремлювали і концентрували у вакуумі. Неочищену суміш кристалізували з EtOH для одержання метил 6-хлор-5-нітронікотинату (вихід 90 %).

Суспензію метил 6-хлор-5-нітронікотинату (1 екв), порошку заліза (5,2 екв) і NH_4Cl_3 (5,3 екв) у MeOH нагрівали до 75°C протягом 2 год. Суміш пропускали через розпечений добіла цілит і концентрували у вакуумі для одержання метил 5-аміно-6-хлорнікотинату (вихід 56 %).

До розчину метил 5-аміно-6-хлорнікотинату (1 екв) і 2-нітробензоїлхлориду (1,2 екв) у CH_2Cl_2 додавали піридин (1,1 екв). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 10 годин і концентрували у вакуумі. Додавали H_2O , і осад, що утворився, збирали шляхом фільтрації, промивали CH_2Cl_2 і висушували для одержання метил 6-хлор-5-(2-нітробензамідо)нікотинату (вихід 73 %).

Суміш метил 6-хлор-5-(2-нітробензамідо)нікотинату (1 екв), P_2S_5 (2,1 екв) і піридину (7,6 екв) у п-хілені нагрівали до 130°C протягом 2 год. Прозору рідину зливали і залишали остигати до кімнатної температури. Отриманий осад збирали фільтрацією і висушували для одержання метил 2-(2-нітрофеніл)тіазоло[5,4-*b*]піридин-6-карбоксилату (вихід 57 %).

Розчин метил 2-(2-нітрофеніл)тіазоло[5,4-*b*]піридин-6-карбоксилату (1 екв) у THF додавали протягом 8 год. до суміші алюмогідриду літію (LAH) (4,4 екв) у THF, підтримуючи внутрішню температуру -55°C . Реакційну суміш перемішували ще 4 год. при -60°C . Додавали ацетон (18 екв) і далі насичений водний розчин Na_2CO_3 . Осад, що утворився, видаляли фільтрацією і промивали THF. Об'єднані органічні речовини концентрували у вакуумі і кристалізували неочищений осад з CH_2Cl_2 для одержання (2-(2-нітрофеніл)тіазоло[5,4-*b*]піридин-6-іл)метанолу (вихід 50 %).

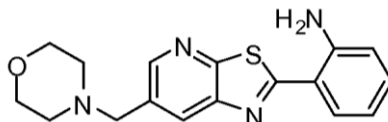
До суспензії (2-(2-нітрофеніл)тіазоло[5,4-*b*]піридин-6-іл)метанолу (0,62 моль, 180 г) у CH_2Cl_2 (1,8 л) повільно додавали тіоніл хлорид (3,1 моль, 227 мл) при кімнатній температурі. Після того, як додавали DMF (5 мл), реакція ставала гомогенною. Реакцію перемішували протягом 1 год., далі концентрували при зниженому тиску. Неочищений продукт розчиняли в CH_2Cl_2 (150 мл) і концентрували при зниженому тиску. Неочищений продукт промивали гексаном (200 мл \times 3) і висушували під вакуумом протягом 16 год. для одержання 6-(хлорметил)-2-(2-нітрофеніл)тіазоло[5,4-*b*]піридину у вигляді твердої речовини жовто-коричневого кольору (180 г, вихід 94 %).

До суспензії 6-(хлорметил)-2-(2-нітрофеніл)тіазоло[5,4-*b*]піридину (0,52 моль, 175 г) у CH_3CN (1,7 л) додавали піролідін (2,8 моль, 203 г) і K_2CO_3 (2,8 моль, 395 г). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 16 год. Додавали H_2O (1 л) і перемішували суміш протягом 30 хв. CH_3CN видаляли під вакуумом і суміш, що вийшла, екстрагували CH_2Cl_2 .

(3×1,5 л). Об'єднані органічні речовини промивали сольовим розчином, висушували (Na_2SO_4) і концентрували під вакуумом для одержання 2-(2-нітрофеніл)-6-(піролідин-1-ілметил)тіазоло[5,4-b]піридину у вигляді темної олії (150 г, вихід 76 %).

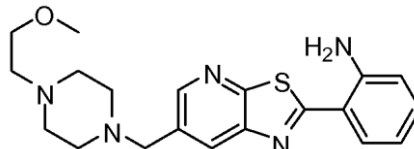
До розчину 2-(2-нітрофеніл)-6-(піролідин-1-ілметил)тіазоло[5,4-b]піридину (11,1 моль, 3,8 г) у CH_2Cl_2 (100 мл) додавали залізний порошок (55 ммоль, 3,1 г) і далі оцтову кислоту (10 мл). Реакційну суміш нагрівали в колбі зі зворотним холодильником протягом 3 годин, потім охолоджували до кімнатної температури. Na_2CO_3 (14 г) додавали по частинах. Суміш пропускали через цілит і промивали CH_2Cl_2 . Об'єднані фільтрати промивали Na_2CO_3 (3×20 мл), висушували (MgSO_4) і концентрували при зниженому тиску для одержання 2-(6-(піролідин-1-ілметил)тіазоло[5,4-b]піридин-2-іл)аніліну (3,4 г, вихід 98 %) у вигляді твердої речовини жовтого кольору.

Одержання 2-(6-морфолінометил)тіазоло[5,4-b]піридин-2-іл)аніліну:



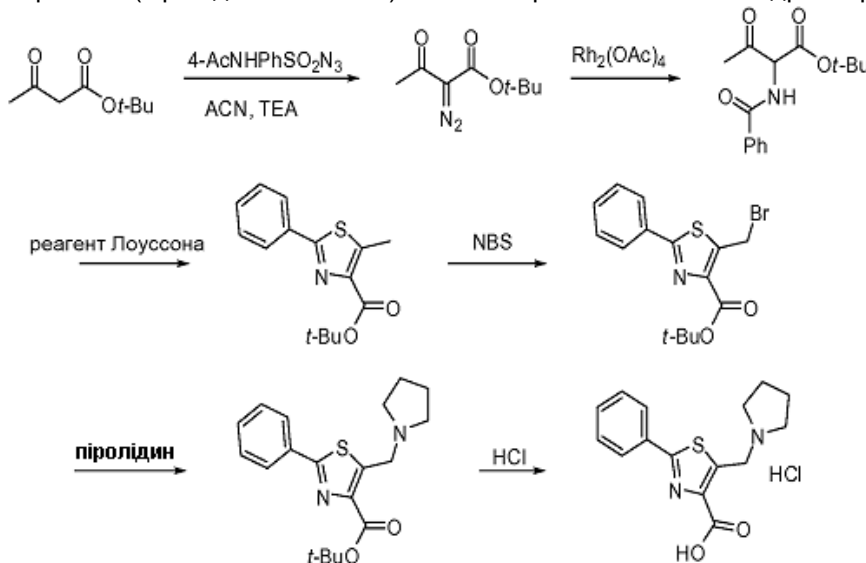
Зазначену сполуку одержували в результаті процедури, описаної для 2-(6-(піролідин-1-ілметил)тіазоло[5,4-b]піридин-2-іл)аніліну, із заміною піролідину на морфолін.

Одержання 2-(6-((4-(2-метоксіетил)піперазин-1-іл)метил)тіазоло[5,4-b]піридин-2-іл)аніліну:



Зазначену сполуку одержували в результаті процедури, описаної для 2-(6-(піролідин-1-ілметил)тіазоло[5,4-b]піридин-2-іл)аніліну, із заміною піролідину на 4-(2-метоксіетил)піперазин.

Одержання 2-феніл-5-(піролідин-1-ілметил)тіазол-4-карбонової кислоти гідрохлориду:



4-ацетамідобензолсульфоніл азид (1,5 мл) додавали до розчину терт-бутил 3-оксобутаноату (1,86 г, 10,12 ммоль) і TEA (3,85 мл) у CH_3CN (60 мл). Суміш перемішували протягом ночі при кімнатній температурі, концентрували й очищали флеш-хроматографією для одержання терт-бутил 2-діазо-3-оксобутаноату у вигляді рідини жовтого кольору (1,3 г, вихід 77 %).

Розчин терт-бутил 2-діазо-3-оксобутаноату (13,1 г, 71,7 ммоль) у 1,2-дихлоретані додавали протягом 12 год. до киплячого в колбі зі зворотним холодильником розчину бензаміду (6,16 г, 50,8 ммоль) і дигідродіфосфату тетраацетату (786 мг, 1,78 ммоль) у 1,2-дихлоретані (75 мл). Суміш випарювали у вакуумі й очищали флеш-хроматографією для одержання терт-бутил 2-бензамідо-3-оксобутаноату у вигляді твердої речовини білого кольору (6,97 г, вихід 51 %).

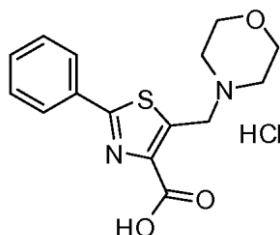
Розчин терт-бутил 2-бензамідо-3-оксобутаноату (842 мг, 3,04 ммоль) і 2,4-біс(4-метоксифеніл)-1,2,3,4-дитіадифосфетану 2,4-дисульфід (реагенту Лоуссона) (1,88 г, 6,07 ммоль) у THF (20 мл) нагрівали в колбі зі зворотним холодильником протягом 6 год. Суміш випарювали у вакуумі й очищали флеш-хроматографією для одержання терт-бутил 5-метил-2-фенілтіазол-4-карбоксилату у вигляді твердої речовини жовтого кольору (520 мг, вихід 62 %).

Розчин терт-бутил 5-метил-2-фенілтіазол-4-карбоксилату (1,0 г, 3,64 ммоль), N-бромсукциніміду (NBS) (0,65 г, 3,64 ммоль) і бензоїлпероксиду (BPO) (5,5 мг, 0,023 ммоль) у CCl_4 (30 мл) нагрівали в колбі зі зворотним холодильником протягом 16 год. Реакційну суміш концентрували у вакуумі й очищали флеш-хроматографією для одержання терт-бутил 5-(бромметил)-2-фенілтіазол-4-карбоксилату у вигляді твердої речовини ясно-жовтого кольору (0,96 г, вихід 75 %).

Піролідин (0,5 мл) додавали до розчину терт-бутил 5-(бромметил)-2-фенілтіазол-4-карбоксилату (1,029 г, 2,90 ммоль) і діізопропілетиламіну (DIPEA) (1,5 мл) у CH_2Cl_2 (10 мл). Суміш перемішували протягом 30 хвилин при кімнатній температурі, концентрували у вакуумі й очищали флеш-хроматографією для одержання терт-бутил 2-феніл-5-(піролідин-1-ілметил)тіазол-4-карбоксилату у вигляді твердої речовини жовтого кольору (920 мг, вихід 98 %).

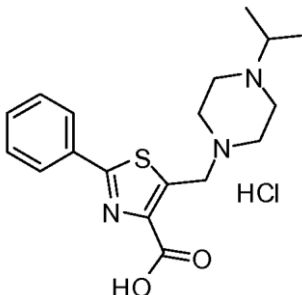
Концентровану HCl (2,8 мл, 33,9 ммоль) додавали до розчину терт-бутил 2-феніл-5-(піролідин-1-ілметил)тіазол-4-карбоксилату (2,1 г, 6,1 ммоль) у THF (30 мл). Суміш перемішували протягом ночі і концентрували у вакуумі для одержання 2-феніл-5-(піролідин-1-ілметил)тіазол-4-карбоксилату гідрохлориду (1,5 г, вихід 82 %).

Одержання 5-(морфолінометил)-2-фенілтіазол-4-карбонової кислоти гідрохлориду:



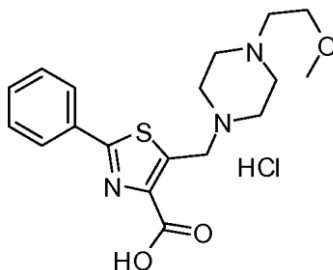
Зазначену сполуку одержували в результаті процедури, описаної для 2-феніл-5-(піролідин-1-ілметил)тіазол-4-карбонової кислоти, із заміною піролідину на морфолін з виходом 52 %.

Одержання 5-((4-ізопропілпіперазин-1-іл)метил)-2-фенілтіазол-4-карбонової кислоти гідрохлориду:



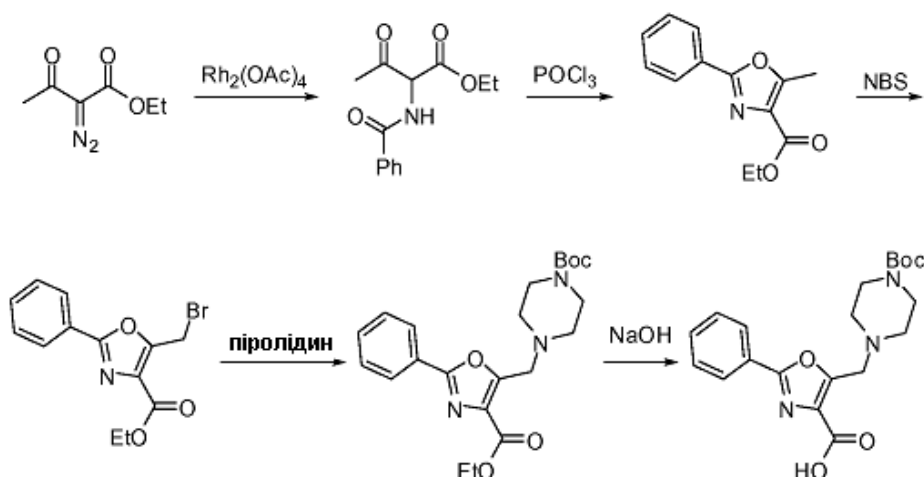
Зазначену сполуку одержували в результаті процедури, описаної для 2-феніл-5-(піролідин-1-ілметил)тіазол-4-карбонової кислоти, із заміною піролідину на 4-(і-пропіл)піперазин з виходом 80 %.

Одержання 5-((4-(2-метоксіетил)піперазин-1-іл)метил)-2-фенілтіазол-4-карбонової кислоти гідрохлориду:



Зазначену сполуку одержували в результаті процедури, описаної для 2-феніл-5-(піролідин-1-ілметил)тіазол-4-карбонової кислоти, із заміною піролідину на морфолін з виходом 49 %.

Одержання 5-((4-(терт-бутоксикарбоніл)піперазин-1-іл)метил)-2-фенілтіазол-4-карбонової кислоти:



Розчин етил 2-діазо-3-оксобутаноату (20 г, 128 ммоль) у 1,2-дихлоретані (100 мл) додавали протягом 16 год. до розчину бензаміду (13 г, 107 ммоль) і дигідротетраацетату (1,4 г, 3, ммоль) у 1,2-дихлоретані (200 мл), що кипить у колбі зі зворотним холодильником. Суміш випарювали у вакуумі й очищали флеш-хроматографією для одержання етил 2-бензамідо-3-оксобутаноату у вигляді олії жовтого кольору (20 г, вихід 50 %).

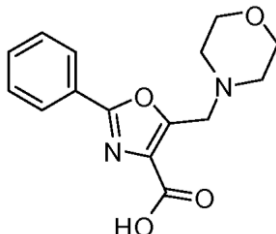
Розчин етил 2-бензамідо-3-оксобутаноату (13,0 г, 0,052 моль) в оксихлориді фосфору (100 мл) нагрівали в колбі зі зворотним холодильником протягом 1,5 год., потім охолоджували і концентрували при зниженому тиску до одержання коричневого сиропу, який розчиняли в дихлорметані (250 мл). Розчин послідовно промивали водою, насиченим розчином Na_2CO_3 і сольовим розчином, потім висушували над безводним Na_2SO_4 і концентрували для одержання етил 5-метил-2-фенілоксазол-4-карбоксилату у вигляді олії коричневого кольору (11,0 г, вихід 91 %).

Розчин етил 5-метил-2-фенілоксазол-4-карбоксилату (11,0 г, 48 ммоль), NBS (8,5 г, 48 ммоль) і ВРО (100 мг) у CCl_4 (200 мл) нагрівали в колбі зі зворотним холодильником протягом 16 год. Реакційну суміш концентрували у вакуумі й очищали флеш-хроматографією для одержання етил 5-(бромметил)-2-фенілоксазол-4-карбоксилату у вигляді твердої речовини жовто-коричневого кольору (5,2 г, вихід 35 %).

Т-бутил піперазин-1-карбоксилат (3,2 г, 17,3 ммоль) додавали до розчину етил 5-(бромметил)-2-фенілоксазол-4-карбоксилату (2,7 г, 8,7 ммоль) і DIPEA (2,9 мл) у CH_2Cl_2 (20 мл). Суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 16 год., промивали водою і сольовим розчином, висушували над безводним Na_2SO_4 , концентрували й очищали флеш-хроматографією для одержання етил 5-((4-(tert-бутоксикарбоніл)піперазин-1-іл)метил)-2-фенілітіазол-4-карбоксилату у вигляді твердої речовини жовтого кольору (3,0 г, вихід 83 %).

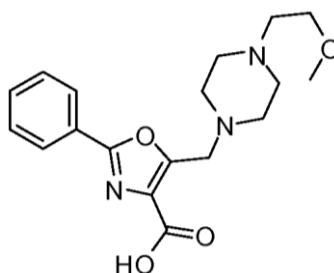
1N NaOH (5,4 мл) додавали до розчину етил 5-((4-(tert-бутоксикарбоніл)піперазин-1-іл)метил)-2-фенілітіазол-4-карбоксилату (1,50 г, 3,6 ммоль) у метанолі (10 мл) і тетрагідрофурані (10 мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 16 год., потім концентрували у вакуумі. Додавали H_2O і промивали суміш EtOAc. pH водного шару доводили до 5 додаючи 1N HCl і осад, що утворився, збирали шляхом фільтрації, промивали H_2O і висушували для одержання 5-((4-(tert-бутоксикарбоніл)піперазин-1-іл)метил)-2-фенілітіазол-4-карбонової кислоти у вигляді твердої речовини білого кольору (0,9 г, вихід 64 %).

Одержання 5-(морфолінометил)-2-фенілоксазол-4-карбонової кислоти:



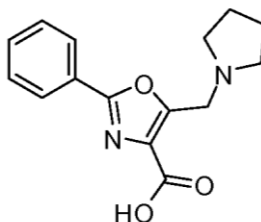
Зазначену сполуку одержували в результаті процедури, описаної для 5-((4-(tert-бутоксикарбоніл)піперазин-1-іл)метил)-2-фенілітіазол-4-карбонової кислоти, із заміною т-бутил піперазин-1-карбоксилату на морфолін з виходом 28 %.

Одержання 5-((4-(2-метоксіетил)піперазин-1-іл)метил)-2-фенілоксазол-4-карбонової кислоти:



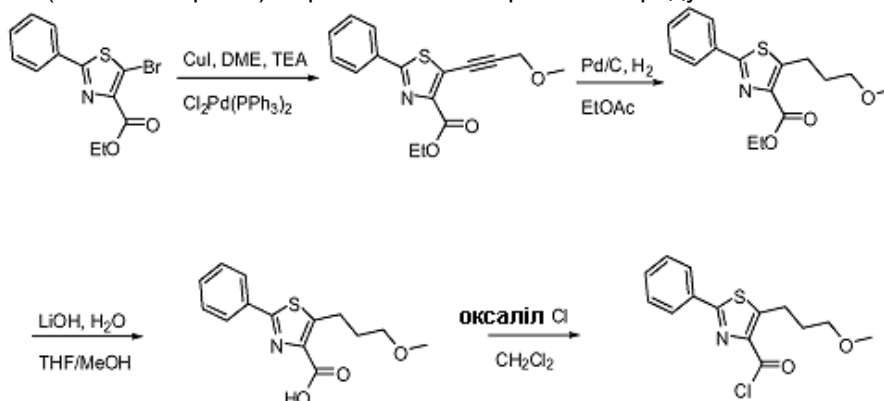
Зазначену сполуку одержували в результаті процедури, описаної для 5-((4-(tert-бутоксикарбоніл)піперазин-1-іл)метил)-2-фенілтіазол-4-карбонової кислоти, із заміною т-бутил піперазин-1-карбоксилату на 4-(2-метоксіетил)піперазин з виходом 51 %.

5 Одержання 2-феніл-5-(піролідин-1-ілметил)оксазол-4-карбонової кислоти:



Зазначену сполуку одержували в результаті процедури, описаної для 5-((4-(tert-бутоксикарбоніл)піперазин-1-іл)метил)-2-фенілтіазол-4-карбонової кислоти, із заміною т-бутил піперазин-1-карбоксилату на піролідин з виходом 38 %.

10 Одержання 5-(3-метоксипропіл)-2-фенілтіазол-4-карбоніл хлориду:



Азот пропускали через розчин етил 5-бром-2-фенілтіазол-4-карбоксилат (13,1 г, 41,9 ммоль) і метил пропаргіловий ефір (7,1 мл, 83,9 ммоль) у диметоксіетані (DME) (200 мл). Далі додавали дихлорбіс(трифенілфосфін)паладій (II) (1,47 г, 2,2 ммоль), йодид міді (I) (0,2 г, 1,1 ммоль) і TEA (29 мл, 210 ммоль) і нагрівали реакційну суміш до кипіння в колбі зі зворотним холодильником протягом 16 год. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури, вливали в H₂O (200 мл) і екстрагували EtOAc (2×200 мл). Об'єднані органічні речовини промивали сольовим розчином, висушували (MgSO₄) і концентрували. Неочищений продукт очищали MPLC-елюванням пентаном/EtOAc (0-50 % градієнт) для одержання етил 5-(3-метоксипроп-1-ініл)-2-фенілтіазол-4-карбоксилату у вигляді твердої речовини жовто-коричневого кольору (11 г, вихід 88 %).

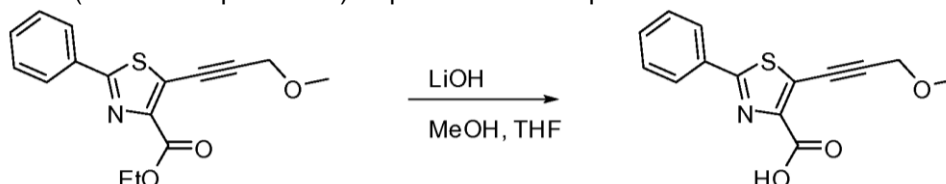
Етил 5-(3-метоксипроп-1-ініл)-2-фенілтіазол-4-карбоксилат (26,1 г, 86,6 ммоль) розчиняли в EtOAc (350 мл) і гідрогенізували під балоном газоподібного водню протягом 4 днів, поки LCMS не показувала повне насичення. На 3 день каталізатор видаляли шляхом фільтрації, додавали свіжий каталізатор, і суміш знову піддавали гідрогенізації під балоном газоподібного водню. Каталізатор видаляли фільтрацією через цілит. Фільтр промивали EtOAc і фільтрат концентрували до висушування. Неочищений продукт очищали MPLC-елюванням пентаном/EtOAc для одержання етил 5-(3-метоксипропіл)-2-фенілтіазол-4-карбоксилату (23,2 г, вихід 88 %).

Етил 5-(3-метоксипропіл)-2-фенілтіазол-4-карбоксилат (26,3 г, 76,1 ммоль) розчиняли в THF/MeOH (1:1, 300 мл) і додавали розчин LiOH (3,6 г, 152 ммоль) у H₂O (75 мл). Реакцію перемішували протягом ~5 год., і pH доводили до ~3, додаючи 3N HCl. Суміш вливали в сольовий розчин і екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні речовини промивали сольовим

розчином, висушували (MgSO_4) і концентрували для одержання 5-(3-метоксипропіл)-2-фенілтіазол-4-карбонової кислоти (21 г, вихід 99 %) у вигляді твердої речовини жовто-коричневого кольору.

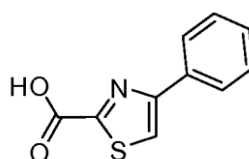
Оксаліл хлорид (67,2 ммоль, 5,9 мл) повільно додавали до розчину 5-(3-метоксипропіл)-2-фенілтіазол-4-карбоксилату (22,4 ммоль, 6,2 г) у CH_2Cl_2 (100 мл) при кімнатній температурі. Після додавання 3 крапель DMF через ~20 хв реакція стала гомогенною. Реакцію перемішували протягом 3 год., потім концентрували при зниженому тиску. Неочищений продукт розчиняли в CH_2Cl_2 (150 мл) і концентрували при зниженому тиску. Неочищений продукт розчиняли в EtOAc (150 мл), промивали сольовим розчином (2×100 мл), висушували (MgSO_4) і концентрували при зниженому тиску для одержання 5-(3-метоксипропіл)-2-фенілтіазол-4-карбоніл хлориду у вигляді твердої речовини жовто-коричневого кольору (6,6 г, вихід 99 %).

Одержання 5-(3-метоксипропіл)-2-фенілтіазол-4-карбонової кислоти:



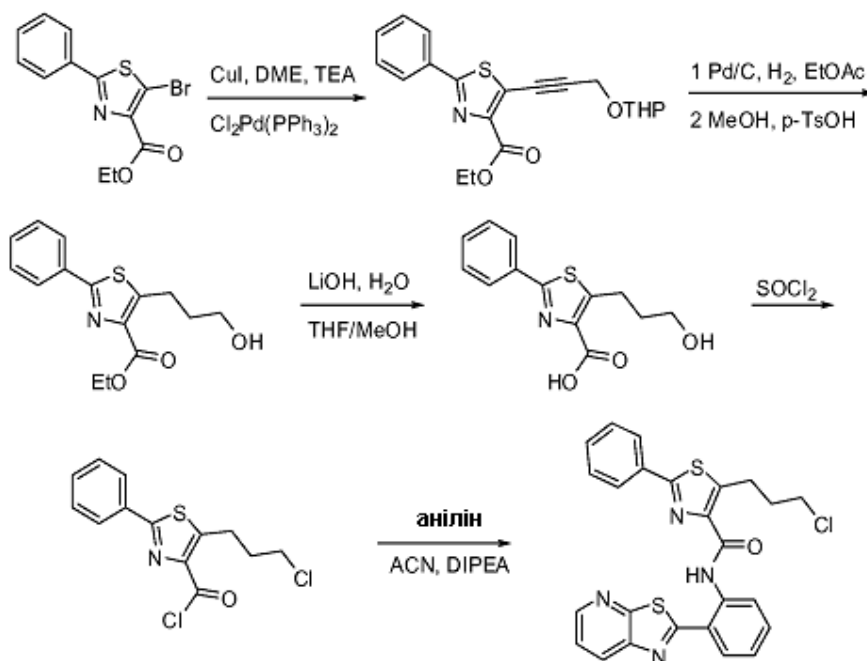
Етил 5-(3-метоксипропіл)-2-фенілтіазол-4-карбоксилат (701 мг, 2,3 ммоль) розчиняли в THF/MeOH (1:1, 40 мл) і додавали розчин LiOH (167 мг, 7,0 ммоль) у H_2O (10 мл). Реакцію перемішували протягом ~16 год. і доводили pH до ~3 шляхом, додаючи 3N HCl. Суміш вливали в сольовий розчин і екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні речовини промивали сольовим розчином, висушували (MgSO_4) і концентрували для одержання 5-(3-метоксипропіл)-2-фенілтіазол-4-карбонової кислоти (636 мг, вихід 99 %) у вигляді твердої речовини жовто-коричневого кольору.

Одержання 4-фенілтіазол-2-карбонової кислоти:



Етил-4-фенілтіазол-2-карбоксилат (300 мг) домішували до суміші THF (4 мл) і 1N водного NaOH (1 мл) протягом 18 годин. THF видаляли при зниженому тиску, і водний розчин закисляли 4N HCl, екстрагували CH_2Cl_2 , висушували над Na_2SO_4 і концентрували для одержання 4-фенілтіазол-2-карбонової кислоти, використовуваної, як є, у наступній стадії.

Одержання 5-(3-хлорпропіл)-2-феніл-N-(2-(тіазоло[5,4-b]піридин-2-іл)феніл)тіазол-4-карбоксаміду:



Азот пропускали через розчин етил 5-бром-2-фенілтіазол-4-карбоксилату (3,6 г, 11,5 ммоль) і 2-(проп-2-інілокси)тетрагідро-2Н-пірану (3,3 мл, 23,1 ммоль) у THF (30 мл). Далі додавали дихлорбіс(трифенілфосфін)паладій (II) (405 мг, 0,6 ммоль), йодид міді (I) (55 мг, 0,3 ммоль) і триетиламін (TEA) (8 мл, 57,7 ммоль) і нагрівали реакційну суміш при 100°C протягом 30 хв у мікрохвильовому реакторі. Реакційну суміш вливали в H₂O і екстрагували EtOAc (2×200 мл). Об'єднані органічні речовини промивали сольовим розчином, висушували (MgSO₄) і концентрували. Неочищений продукт очищали MPLC-елююванням пентаном/EtOAc (0-50 % градієнт) для одержання етил 2-феніл-5-(3-(тетрагідро-2Н-піран-2-ілокси)проп-1-ініл)тіазол-4-карбоксилату (3,8 г, вихід 88 %).

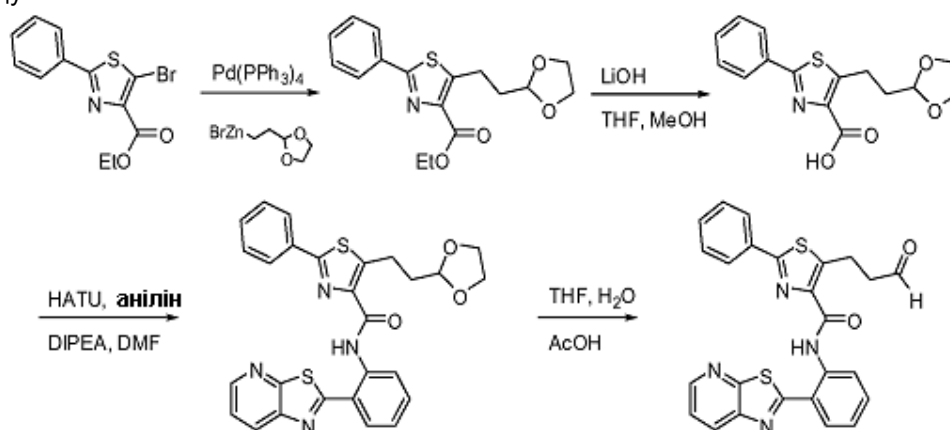
Етил 2-феніл-5-(3-(тетрагідро-2Н-піран-2-ілокси)проп-1-ініл)тіазол-4-карбоксилат (3,8 г, 10,1 ммоль) розчиняли в MeOH/THF (1:1, 60 мл) та гідрогенізували під балоном газоподібного водню протягом 4 днів, поки LCMS не показувала повне насичення. На 3 день каталізатор видаляли шляхом фільтрації, додавали свіжий каталізатор, і суміш знову піддавали гідрогенізації під балоном газоподібного водню. Каталізатор видаляли фільтрацією через цілит. Фільтр промивали EtOAc і фільтрат концентрували до висушування. Неочищений продукт розчиняли в MeOH. Додавали п-толуенсульфонову кислоту (p-TsOH) (0,15 екв) і перемішували реакційну суміш протягом 16 годин, потім концентрували до висушування. Неочищений осад розмішували в EtOAc, промивали насиченим водним розчином NaHCO₃, сольовим розчином, висушували і концентрували. Неочищений продукт очищали MPLC-елююванням пентаном/EtOAc (0-100 % градієнт) для одержання суміші метилового і етилового складних ефірів очікуваного продукту (1,9 г).

Зазначену суміш продуктів (1,9 г) розчиняли в THF/MeOH (1:1, 30 мл) і додавали розчин LiOH (313 мг, 13 ммоль) у H₂O (15 мл). Реакцію перемішували протягом ~5 годин і доводили pH до ~3, додаючи 3N HCl. Суміш вливали в сольовий розчин і екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні речовини промивали сольовим розчином, висушували (MgSO₄) і концентрували для одержання 5-(3-гідроксипропіл)-2-фенілтіазол-4-карбонової кислоти (1,7 г).

Суміш 5-(3-гідроксипропіл)-2-фенілтіазол-4-карбонової кислоти (850 мг, 3,2 ммоль) і LiCl (3,2 ммоль) у тіоніл хлориді (10 мл) нагрівали в колбі зі зворотним холодильником протягом 16 год. і далі концентрували до висушування. Неочищений продукт розчиняли в EtOAc, промивали сольовим розчином, висушували (MgSO₄) і концентрували при зниженому тиску для одержання 5-(3-хлорпропіл)-2-фенілтіазол-4-карбонілхлориду (906 мг, вихід 99 %).

Суспензію 5-(3-хлорпропіл)-2-фенілтіазол-4-карбонілхлориду (906 мг, 3,2 ммоль), DIPEA (1,1 мл, 6,4 ммоль) і 2-(тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)аніліну (585 мг, 2,6 ммоль) у CH₃CN (12 мл) перемішували протягом 16 годин. Осад, що утворився, збирали шляхом фільтрації, промивали CH₃CN і висушували. Неочищений продукт очищали MPLC-елююванням DCM/MeOH (0-5 % градієнт) для одержання 5-(3-хлорпропіл)-2-феніл-N-(2-(тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)тіазол-4-карбоксаміду (316 мг, вихід 26 %).

Одержання 5-(3-оксопропіл)-2-феніл-N-(2-(тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)тіазол-4-карбоксаміду:



Розчин (2-(1,3-діоксолан-2-іл)етил)цинк(II) броміду (35 мл, 17,3 ммоль) у THF додавали в дегазований розчин етил 5-бром-2-фенілтіазол-4-карбоксилату (3,6 г, 11,5 ммоль) і тетракіс(трифенілфосфін)паладію (666 мг, 0,58 ммоль) у THF (20 мл). Реакційну суміш нагрівали в колбі зі зворотним холодильником протягом 16 год., далі вливали в насичений водний розчин NaHCO₃. Суміш екстрагували EtOAc, промивали сольовим розчином, висушували (MgSO₄) і концентрували. Неочищений продукт очищали MPLC-елююванням

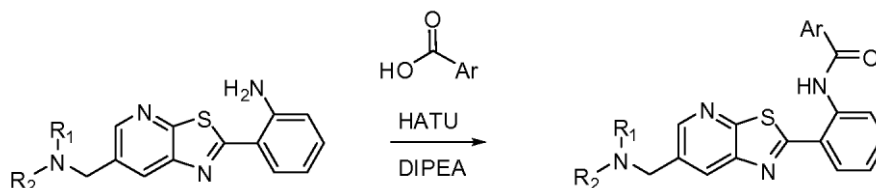
пентаном/EtOAc (0-100 % градієнт) для одержання етил 5-(2-(1,3-діоксолан-2-іл)етил)-2-фенілтіазол-4-карбоксилату (2,0 г, вихід 52 %).

Етил 5-(2-(1,3-діоксолан-2-іл)етил)-2-фенілтіазол-4-карбоксилат (2,6 г, 7,9 ммоль) розчиняли в MeOH/THF (1:1, 60 мл) і додавали розчин LiOH (378 мг, 15,7 ммоль) у H₂O (15 мл). Реакцію перемішували протягом ~5 год. і доводили pH до ~3, додаючи 3N HCl. Суміш вливали в сольовий розчин і екстрагували EtOAc. Об'єднані органічні речовини промивали сольовим розчином, висушували (MgSO₄) і концентрували. Неочищений продукт кристалізували з EtOAc для одержання 5-(2-(1,3-діоксолан-2-іл)етил)-2-фенілтіазол-4-карбонової кислоти (1,8 г, вихід 75 %).

2-(1H-7-азабензотриазол-1-іл)-1,1,3,3-тетраметил уроній гексафторфосфат метанаміній (HATU) (669 мг, 1,8 ммоль) додавали до розчину 5-(2-(1,3-діоксолан-2-іл)етил)-2-фенілтіазол-4-карбонової кислоти (504 мг, 1,7 ммоль), DIPEA (613 мкл, 3,5 ммоль) і 2-(тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)аніліну **b** (250 мг, 1,1 ммоль) у DMF (7 мл). Реакційну суміш перемішували протягом 16 год., вливали в насичений водний розчин NaHCO₃ і екстрагували EtOAc. Органічні фракції промивали сольовим розчином, висушували і концентрували. Неочищений продукт кристалізували з EtOH для одержання 5-(2-(1,3-діоксолан-2-іл)етил)-2-феніл-N-(2-(тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)тіазол-4-карбоксаміду (372 мг, вихід 66 %).

5-(2-(1,3-діоксолан-2-іл)етил)-2-феніл-N-(2-(тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)тіазол-4-карбоксамід (250 мг, 0,5 ммоль) розчиняли в суміші THF (4 мл), AcOH (8 мл) і H₂O (0,5 мл), нагрівали в колбі зі зворотним холодильником протягом 16 год., далі концентрували до сухості. Осад розчиняли в EtOAc, промивали насиченим водним розчином NaHCO₃, висушували (MgSO₄) і концентрували при зниженому тиску. Неочищений продукт очищали шляхом MPLC-елювання CH₂Cl₂/MeOH (0-5 % градієнт) для одержання 5-(3-оксопропіл)-2-феніл-N-(2-(тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)тіазол-4-карбоксаміду (200 мг, вихід 87 %).

Загальний спосіб синтезу амідів A:

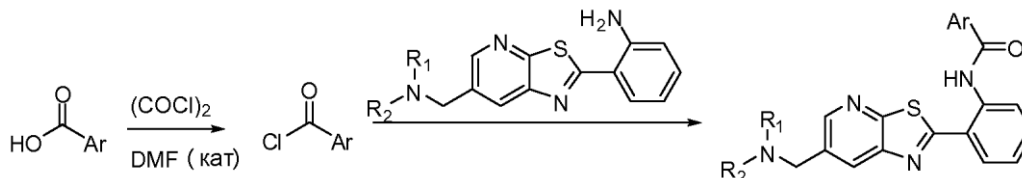


Суміш аніліну (1 екв), карбонової кислоти (1-1,5 екв) HATU (1,5 екв) і DIPEA (2,0 екв) перемішували при кімнатній температурі в підходящому розчиннику (наприклад, DMF), протягом 18 год. До реакційної суміші додавали воду для осадження продукту.

Протокол 1: Якщо продукт випадав в осад, його збирали шляхом фільтрації, промивали водою, розтирали в порошок з гарячим метанолом або етанолом і висушували під вакуумом для одержання бажаного амідів. Продукти далі очищали хроматографією для підвищення чистоти до необхідної.

Протокол 2: Якщо отриманий розчин не був гомогенним, продукт екстрагували органічним розчинником (CH₂Cl₂ або EtOAc), промивали насиченим розчином NaHCO₃, сольовим розчином, висушували з Na₂SO₄ і концентрували. Неочищений продукт потім очищали хроматографією за необхідності.

Загальний спосіб синтезу амідів B:

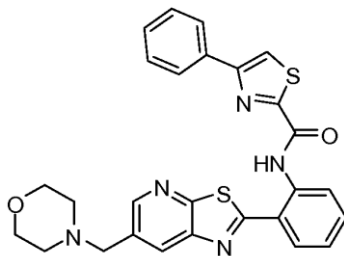


Бажану карбонову кислоту (1,2-1,5 екв) суспендували в CH₂Cl₂ і обробляли оксаліл хлоридом (6 екв) і DMF (каталізатор) протягом 1,5-18 годин до одержання прозорого розчину. Розчин далі концентрували до висушування і до реакційної суміші додавали піридинову суспензію бажаного аніліну (1,0 екв) і перемішували при кімнатній температурі протягом до 18 годин або нагрівали в мікрохвильовій печі (160°C, 10 хв). Якщо продукт випадав в осад з розчину, його збирали фільтрацією, випарювали разом з метанолом і очищали хроматографією. Якщо він не випадав в осад, розчин концентрували до висушування, розтирали в порошок і очищали хроматографією.

Кислі хлориди також одержували суспендуванням відповідної кислоти в SOCl₂ і нагріванням у колбі зі зворотним холодильником протягом декількох годин. Надлишковий SOCl₂ видаляли

при зниженому тиску, і осад промивали толуєном. Отриманий кислий хлорид висушували під вакуумом і використовували без подальшого очищення.

Одержання N-(2-(6-(морфолінометил)тіазоло[5,4-b]піридин-2-іл)феніл)-4-фенілтiazол-2-карбоксаміду:

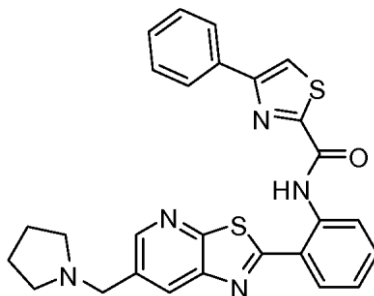


5

Зазначену сполуку одержували відповідно до загального способу синтезу амідів А, з використанням 2-(6-(морфолінометил)тіазоло[5,4-b]піридин-2-іл)аніліну і 4-фенілтiazол-2-карбонової кислоти. Продукт виділяли осадженням під час додавання води, розтирали в порошок з гарячим метанолом і очищали хроматографією на силікагелі (0-10 % градієнт метанолу в CH_2Cl_2). MS, розрахована для $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}_2$: 513,13. Виявлена $(\text{M}+\text{H})^+$ $m/z=514$.

10

Одержання 4-феніл-N-(2-(6-(піролідин-1-ілметил)тіазоло[5,4-b]піридин-2-іл)феніл)тіазол-2-карбоксаміду:

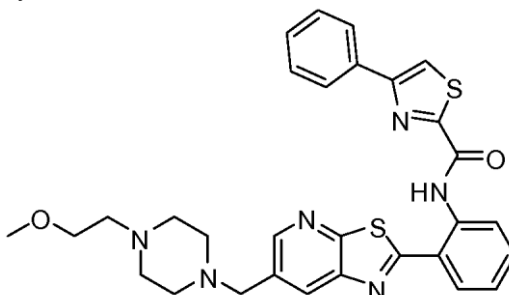


15

Зазначену сполуку одержували відповідно до загального способу синтезу амідів А, з використанням 2-(6-(піролідин-1-ілметил)тіазоло[5,4-b]піридин-2-іл)аніліну і 4-фенілтiazол-2-карбонової кислоти. Продукт виділяли осадженням шляхом додавання води, розтирали в порошок з гарячим метанолом і очищали хроматографією на силікагелі (0-10 % градієнт метанолу в CH_2Cl_2). MS, розрахована для $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{OS}_2$: 497,13. Виявлена $(\text{M}+\text{H})^+$ $m/z=498$.

20

Одержання N-(2-(6-((4-(2-метоксіетил)піперазин-1-іл)метил)тіазоло[5,4-b]піридин-2-іл)феніл)-4-фенілоксазол-2-карбоксаміду:

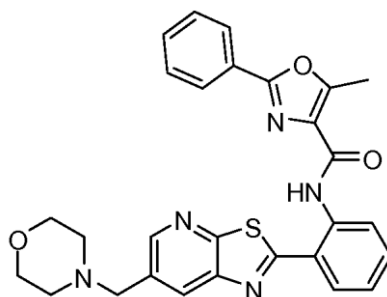


25

Зазначену сполуку одержували відповідно до загального способу синтезу амідів В, з використанням 2-(6-((4-(2-метоксіетил)піперазин-1-іл)метил)тіазоло[5,4-b]піридин-2-іл)аніліну і 4-фенілоксазол-2-карбонової кислоти (1,5 екв). При додаванні води до неочищеної реакції продукт не випадав в осад, відповідно, його концентрували, розтирали в порошок послідовно з гарячим MeCN, сумішшю MeCN/EtOAc/MeOH і EtOAc/MeOH. Отриману тверду речовину блідо-жовтого кольору ліофілізували із сумішшю MeCN/вода/HCl і далі очищали препаративною HPLC. MS, розрахована для $\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2$: 570,19. Виявлена $(\text{M}+\text{H})^+$ $m/z=571$.

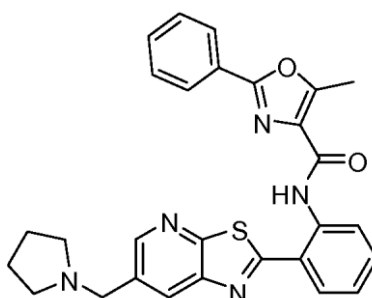
30

Одержання 5-метил-N-(2-(6-(морфолінометил)тіазоло[5,4-b]піридин-2-іл)феніл)-4-фенілоксазол-2-карбоксаміду:



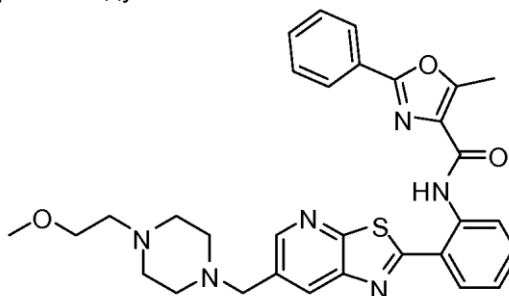
Зазначену сполуку одержували відповідно до загального способу синтезу амідів А, з використанням 2-(6-(морфолінометил)тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)аніліну і 5-метил-2-фенілоксазол-4-карбонової кислоти. Продукт осаджували шляхом додавання води, розтирали в порошок з гарячим метанолом і очищали шляхом хроматографії на силікагелі (градієнт 0-10 % метанолу в CH₂Cl₂). MS, розрахована для C₂₈H₂₅N₅O₃S: 511,17. Виявлена (M+H)⁺ m/z=512.

Одержання 5-метил-2-феніл-N-(2-(6-(піролідін-1-ілметил)тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)оксазол-4-карбоксаміду:



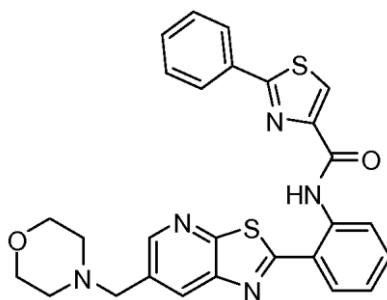
Зазначену сполуку одержували відповідно до загального способу синтезу амідів А, з використанням 2-(6-(піролідін-1-ілметил)тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)аніліну і 5-метил-2-фенілоксазол-4-карбонової кислоти. Продукт виділяли осадженням шляхом додавання води, розтирали в порошок з гарячим метанолом і очищали шляхом хроматографії на силікагелі (градієнт 0-10 % метанол у CH₂Cl₂). MS, розрахована для C₂₈H₂₅N₅O₂S: 495,17. Виявлена (M+H)⁺ m/z=496.

Одержання N-(2-(6-((4-(2-метоксіетил)піперазин-1-іл)метил)тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)-5-метил-2-фенілоксазол-4-карбоксаміду:



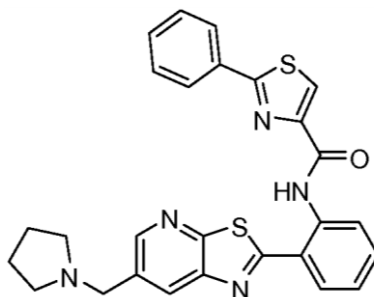
Зазначену сполуку одержували відповідно до загального способу синтезу амідів В, з використанням 2-(6-((4-(2-метоксіетил)піперазин-1-іл)метил)тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)аніліну і 5-метил-2-фенілоксазол-4-карбонової кислоти (1,5 екв). Продукт випадав в осад з реакційної суміші, його фільтрували і промивали метанолом. Продукт очищали препаративною HPLC. MS, розрахована для C₃₁H₃₂N₆O₃S: 568,23. Виявлена (M+H)⁺ m/z=569.

Одержання N-(2-(6-(морфолінометил)тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)-2-фенілітіазол-4-карбоксаміду:



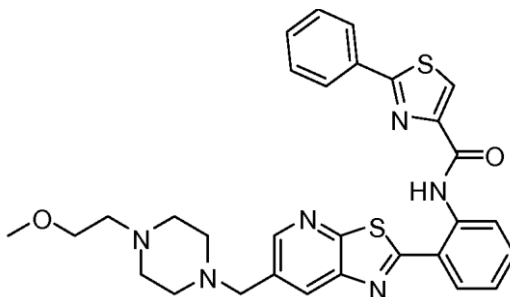
Зазначену сполуку одержували відповідно до загального способу синтезу амідів А, з використанням 2-(6-(морфолінометил)тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)аніліну і 2-фенілтіазол-4-карбонової кислоти. Продукт виділяли осадженням шляхом додавання води, розтирали в порошок з гарячим метанолом, розчиняли в CH_2Cl_2 , промивали розведеним NaHCO_3 , концентрували й очищали хроматографією на силікагелі (градієнт 0-10 % метанолу в CH_2Cl_2). MS, розрахована для $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$: 513,13. Виявлена $(\text{M}+\text{H})^+$ $m/z=514$.

Одержання 2-феніл-N-(2-(6-(піролідін-1-ілметил)тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)тіазол-4-карбоксаміду:



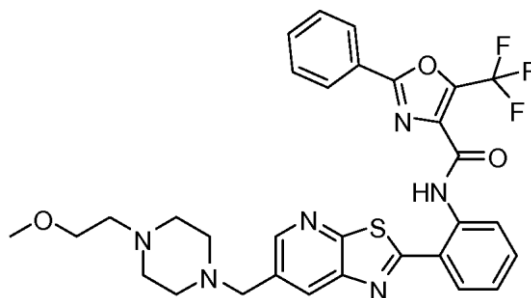
Зазначену сполуку одержували відповідно до загального способу синтезу амідів А, з використанням 2-(6-(піролідін-1-ілметил)тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)аніліну і 2-фенілтіазол-4-карбонової кислоти. Продукт виділяли осадженням шляхом додавання води, розтирали в порошок з гарячим метанолом, розчиняли в CH_2Cl_2 , промивали розведеним NaHCO_3 , концентрували й очищали хроматографією на силікагелі (градієнт 0-10 % метанолу в CH_2Cl_2). MS, розрахована для $\text{C}_{27}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{OS}_2$: 497,13. Виявлена $(\text{M}+\text{H})^+$ $m/z=498$.

Одержання N-(2-(6-((4-(2-метоксіетил)піперазин-1-іл)метил)тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)-2-фенілтіазол-4-карбоксаміду:



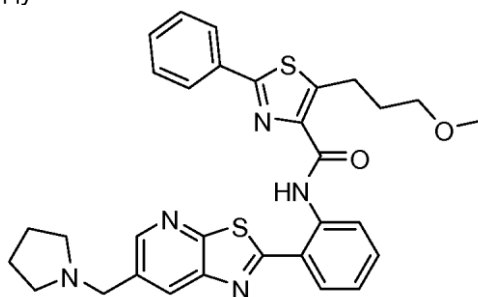
Зазначену сполуку одержували відповідно до загального способу синтезу амідів А, з використанням 2-(6-((4-(2-метоксіетил)піперазин-1-іл)метил)тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)аніліну і 2-фенілтіазол-4-карбонової кислоти (3 екв), HATU (3 екв) і DIPEA (5 екв). Продукт виділяли осадженням шляхом додавання води, розтирали в порошок з гарячим метанолом і очищали хроматографією на силікагелі (градієнт 0-10 % метанолу в CH_2Cl_2). MS, розрахована для $\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{N}_6\text{O}_2\text{S}_2$: 570,19. Виявлена $(\text{M}+\text{H})^+$ $m/z=571$.

Одержання N-(2-(6-((4-(2-метоксіетил)піперазин-1-іл)метил)тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)-2-феніл-5-(трифторметил)оксазол-4-карбоксаміду:



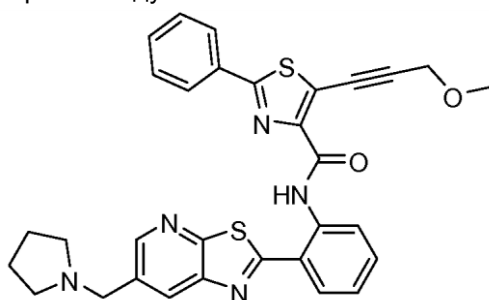
Зазначену сполуку одержували відповідно до загального способу синтезу амідів В, з використанням 2-(6-((4-(2-метоксіетил)піперазин-1-іл)метил)тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)аніліну і 2-феніл-5-(трифторметил)оксазол-4-карбонової кислоти (1,5 екв). Продукт фільтрували з неочищеної реакційної суміші, випарювали з метанолом і очищали хроматографією на силікагелі (градієнт 0-10 % метанолу в CH₂Cl₂) і препаративною HPLC. MS, розрахована для C₃₁H₂₉F₃N₆O₃S: 622,20. Виявлена (M+H)⁺ m/z=623.

Одержання 5-(3-метоксипропіл)-2-феніл-N-(2-(6-(піролідін-1-ілметил)тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)тіазол-4-карбоксаміду:



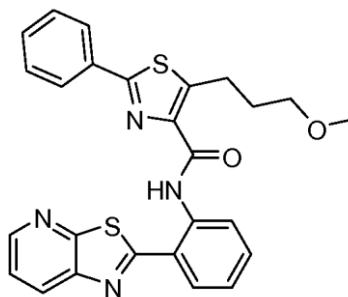
5-(3-метоксипропіл)-2-фенілтіазол-4-карбонілхлорид (19,7 г, 66,6 ммоль) додавали до суспензії 2-(6-(піролідін-1-ілметил)тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)аніліну (18,8 г, 60,5 ммоль) в ацетонітрилі (300 мл). До реакційної суміші додавали DIPEA (24 мл, 136,3 ммоль) і перемішували при кімнатній температурі протягом 16 год. Осад, що утворився, збирали фільтрацією і промивали ацетонітрилом. Неочищений продукт розчиняли в CH₂Cl₂ (200 мл), пропускали через порцеляновий фільтр і висушували під вакуумом для одержання продукту у вигляді твердої речовини жовто-коричневого кольору (27 г). У результаті перекристалізації з EtOAc (300 мл) одержували зазначену сполуку у вигляді твердої речовини білого кольору (25 г, вихід 72 %). MS, розрахована для C₃₁H₃₁N₅O₂S₂: 569,19. Виявлена (M+H)⁺ m/z=570.

Одержання 5-(3-метоксипроп-1-ініл)-2-феніл-N-(2-(6-(піролідін-1-ілметил)тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)тіазол-4-карбоксаміду:



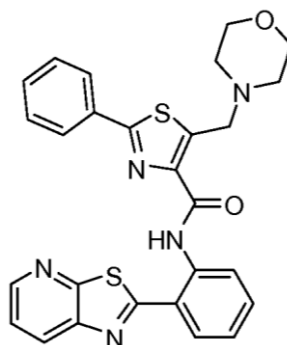
Зазначену сполуку одержували відповідно до загального способу синтезу амідів А, з використанням 2-(6-(піролідін-1-ілметил)тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)аніліну і 5-(3-метоксипроп-1-ініл)-2-фенілтіазол-4-карбонової кислоти. Продукт виділяли відповідно до протоколу 2 і очищали хроматографією на силікагелі (градієнт 0-10 % метанолу в CH₂Cl₂) і наступною перекристалізацією з MeOH для одержання зазначеної сполуки (111 мг, вихід 30 %). MS, розрахована для C₃₁H₂₇N₅O₂S₂: 565,16. Виявлена (M+H)⁺ m/z=566.

Одержання 5-(3-метоксипропіл)-2-феніл-N-(2-(тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)тіазол-4-карбоксаміду:



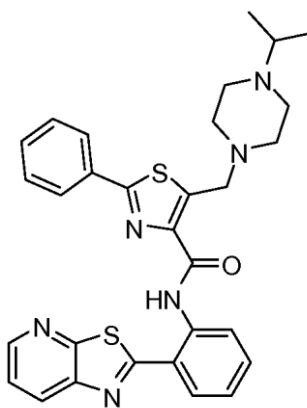
5 5-(3-метоксипропіл)-2-фенілтіазол-4-карбонілхлорид (229 мг, 0,774 ммоль) додавали до суспензії 2-(тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)аніліну (141 мг, 0,619 ммоль) в ацетонітрилі (15 мл). До реакційної суміші додавали DIPEA (162 мкл, 0,929 ммоль) і перемішували при кімнатній температурі протягом 16 год. Осад, що утворився, збирали фільтрацією і промивали ацетонітрилом для одержання зазначеної сполуки у вигляді твердої речовини білого кольору (260 мг, вихід 86 %). MS, розрахована для $C_{26}H_{22}N_4O_2S_2$: 486,12. Виявлена $(M+H)^+$ $m/z=487$.

Одержання 5-(морфолінометил)-2-феніл-N-(2-(тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)тіазол-4-карбоксаміду:



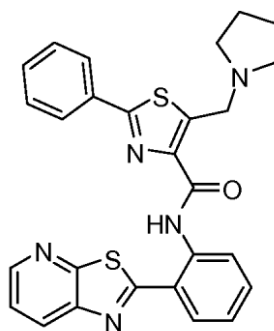
10 Зазначену сполуку одержували відповідно до загального способу синтезу амідів В, з використанням 2-(тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)аніліну і 5-(морфолінометил)-2-фенілтіазол-4-карбоної кислоти гідрохлориду (390 мг, вихід 92 %). MS, розрахована для $C_{27}H_{23}N_5O_2S_2$: 513,13. Виявлена $(M+H)^+$ $m/z=514$.

15 Одержання 5-((4-ізопропілпіперазин-1-іл)-2-феніл-N-(2-(тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)тіазол-4-карбоксаміду:



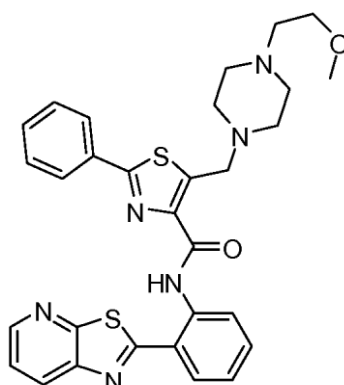
20 Зазначену сполуку одержували відповідно до загального способу синтезу амідів В, з використанням 2-(тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)аніліну і 5-((4-ізопропілпіперазин-1-іл)метил)-2-фенілтіазол-4-карбоної кислоти гідрохлориду (140 мг, вихід 56 %). MS, розрахована для $C_{30}H_{30}N_6OS_2$: 554,19. Виявлена $(M+H)^+$ $m/z=555$.

Одержання 2-феніл-5-(піролідин-1-ілметил)-N-(2-(тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)тіазол-4-карбоксаміду:



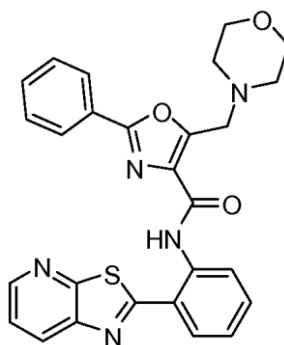
Зазначену сполуку одержували відповідно до загального способу синтезу амідів В, з використанням 2-тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)аніліну і 2-феніл-5-(піролідин-1-ілметил)тіазол-4-карбоксилату гідрохлориду (270 мг, вихід 76 %). MS, розрахована для $C_{27}H_{23}N_5OS_2$: 497,13. Виявлена $(M+H)^+$ $m/z=498$.

Одержання 5-((4-(2-метоксіетил)піперазин-1-іл)метил)-2-феніл-N-(2-тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)тіазол-4-карбоксаміду:



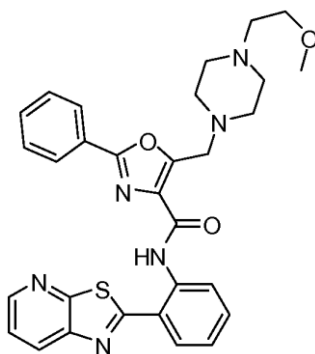
Зазначену сполуку одержували відповідно до загального способу синтезу амідів В, з використанням 2-тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)аніліну і 5-((4-(2-метоксіетил)піперазин-1-іл)метил)-2-фенілтіазол-4-карбонової кислоти гідрохлориду (140 мг, вихід 35 %). MS, розрахована для $C_{30}H_{30}N_6O_2S_2$: 570,19. Виявлена $(M+H)^+$ $m/z=571$.

Одержання 5-(морфолінометил)-2-феніл-N-(2-(тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)оксазол-4-карбоксаміду:



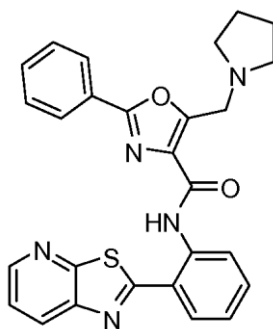
Зазначену сполуку одержували відповідно до загального способу синтезу амідів А, з використанням 2-тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)аніліну і 5-(морфолінометил)-2-фенілоксазол-4-карбонової кислоти (115 мг, вихід 55 %). MS, розрахована для $C_{27}H_{23}N_5O_3S$: 497,15. Виявлена $(M+H)^+$ $m/z=498$.

Одержання 5-((4-(2-метоксіетил)піперазин-1-іл)метил)-2-феніл-N-(2-тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)оксазол-4-карбоксаміду:



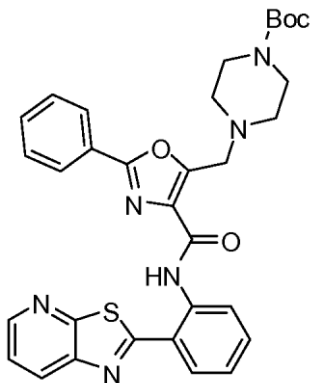
Зазначену сполуку одержували відповідно до загального способу синтезу амідів А, з використанням 2-тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)аніліну і 5-((4-(2-метоксіетил)піперазин-1-іл)метил)-2-фенілоксазол-4-карбонової кислоти (140 мг, вихід 25 %). MS, розрахована для $C_{30}H_{30}N_6O_3S$: 554,21. Виявлена $(M+H)^+$ $m/z=555$.

Одержання 2-феніл-5-(піролідин-1-ілметил)-N-(2-(тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)оксазол-4-карбоксаміду:



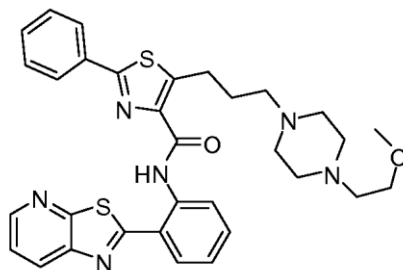
Зазначену сполуку одержували відповідно до загального способу синтезу амідів А, з використанням 2-тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)аніліну і 2-феніл-5-(піролідин-1-ілметил)тіазол-4-карбоксилату (400 мг, вихід 83 %). MS, розрахована для $C_{27}H_{23}N_5O_2S$: 481,16. Виявлена $(M+H)^+$ $m/z=482$.

Одержання терт-бутил 4-((2-феніл-4-(2-(тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)фенілкарбамоїл)оксазол-5-іл)метил)піперазин-1-карбоксилату:



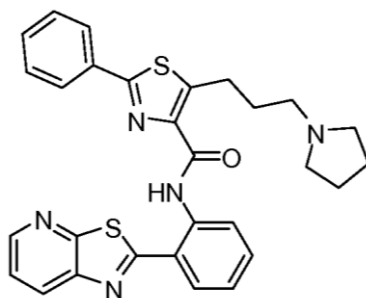
Зазначену сполуку одержували відповідно до загального способу синтезу амідів А, з використанням 2-тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)аніліну і 5-((4-(терт-бутоксикарбоніл)піперазин-1-іл)метил)-2-фенілтіазол-4-карбонової кислоти (270 мг, вихід 45 %). MS, розрахована для $C_{32}H_{32}N_6O_4S$: 596,22. Виявлена $(M+H)^+$ $m/z=597$.

Одержання 5-(3-(4-(2-метоксіетил)піперазин-1-іл)пропіл)-2-феніл-N-(2-(тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)тіазол-4-карбоксаміду:



Розчин 5-(3-хлорпропіл)-2-феніл-N-(2-тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)фенілтіазол-4-карбоксаміду (316 мг, 0,67 ммоль) і 1-(2-метоксіетил)піперазину (964 мг, 6,7 ммоль) у DMSO (12 мл) нагрівали до 70 °C протягом 16 год. Реакційну суміш охолоджували до кімнатної температури і вливали в H₂O. Осад, що утворився, збирали фільтрацією і промивали H₂O. Неочищений продукт очищали MPLC-елюванням DCM/MeOH+1 % TEA (0-10 % градієнт) для одержання зазначеної сполуки (374 мг, вихід 96 %). MS, розрахована для C₃₂H₃₄N₆O₂S₂: 598,22. Виявлена (M+H)⁺ m/z=599.

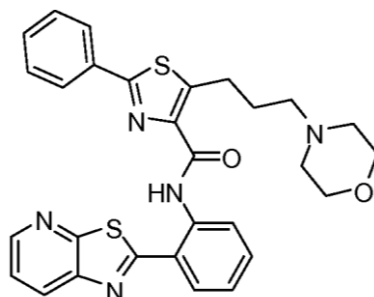
Одержання 2-феніл-5-(3-(піролідин-1-іл)пропіл)-N-(2-(тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)тіазол-4-карбоксаміду:



10

Піролідин (88 мкл, 1,06 ммоль) додавали до розчину 5-(3-оксипропіл)-2-феніл-N-(2-(тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)тіазол-4-карбоксаміду (250 мг, 0,53 ммоль) і AcOH (127 мг, 2,1 ммоль) у дихлоретані (DCE) (10 мл). Реакційну суміш перемішували протягом 1 год. Додавали триацетоксиборгідрид натрію (449 мг, 2,1 ммоль) і продовжували перемішувати протягом 16 год. Реакційну суміш вливали в насичений водний розчин NaHCO₃ і екстрагували DCM. Об'єднані органічні речовини промивали сольовим розчином, висушували (MgSO₄) і концентрували. Неочищений продукт очищали MPLC-елюванням CH₂Cl₂/MeOH+1 % TEA (0-10 % градієнт) для одержання зазначеної сполуки (87 мг, вихід 31 %). MS, розрахована для C₂₉H₂₇N₅O₂S₂: 525,17. Виявлена (M+H)⁺ m/z=526.

Одержання 5-(3-морфолінопропіл)-2-феніл-N-(2-(тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)тіазол-4-карбоксаміду:



Зазначену сполуку одержували відповідно до процедури, описаної для 2-феніл-5-(3-(піролідин-1-іл)пропіл)-N-(2-(тіазоло[5,4-*b*]піридин-2-іл)феніл)тіазол-4-карбоксаміду, із заміною піролідину на морфолін (128 мг, вихід 45 %). MS, розрахована для C₂₉H₂₇N₅O₂S₂: 541,16. Виявлена (M+H)⁺ m/z=542.

Приклад 2. Біологічна активність

Для ідентифікації регуляторів активності SIRT1 використовувався тест, заснований на мас-спектрометрії. Для тесту, заснованого на мас-спектрометрії, використовувався наступний пептид довжиною 20 амінокислотних залишків: Ac-EE-K(біотин)-GQSTSSHSK(Ac)NleSTEG-K(5TMR)-EE-NH₂ (SEQ ID NO: 1) де K(Ac) означає ацетильований залишок лізину, а Nle означає норлейцин. Пептид позначений флуорохромом 5TMR (збудження 540 нм/випускання 580 нм) на C-кінці. Послідовність пептиду заснована на p53 з декількома модифікаціями. Крім

30

того, залишок метіоніну, що є присутнім у натуральній послідовності, заміняли на норлейцин, оскільки метіонін може окислятися під час синтезу й очищення.

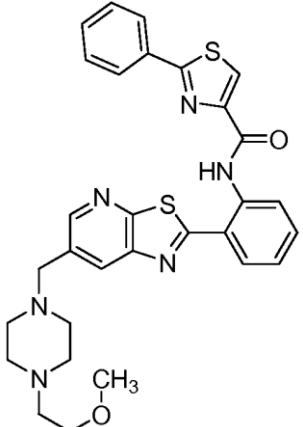
Мас-спектрометричний тест проводили в такий спосіб: 0,5 мкМ пептидного субстрату і 120 мкМ β НАД⁺ інкубували з 10 нМ SIRT1 протягом 25 хвилин при 25 °С в реакційному буфері (50 мМ трис-ацетат рН 8, 137 мМ NaCl, 2,7 мМ KCl, 1 мМ MgCl₂, 5 мМ DTT, 0,05 % BSA). Тестовані сполуки можуть додаватися до реакції, як описано вище. Ген SirT1 клонували у вектор, що містить промотор T7, і трансформували в BL2(DE3). Після інкубації з SIRT1 протягом 25 хвилин, додавали 10 мкл 10 % мурашиної кислоти для зупинки реакції. Реакції запечатували і заморожували для подальшого мас-спектрометричного аналізу. Визначення маси пептидного субстрату дозволяє точно визначити ступінь ацетилювання (тобто, вихідного матеріалу) у порівнянні з деацетилюваним пептидом (продукт).

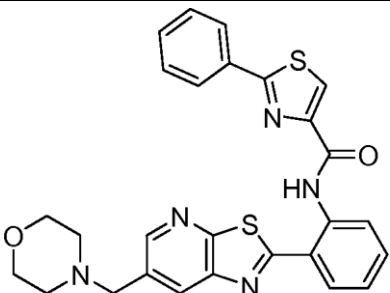
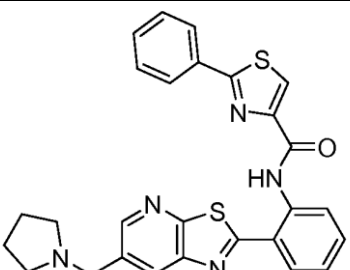
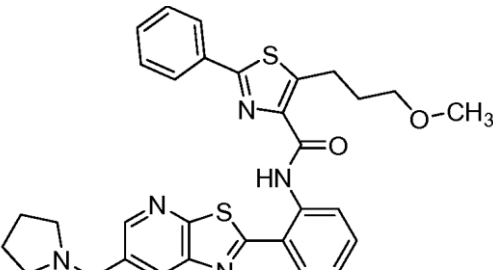
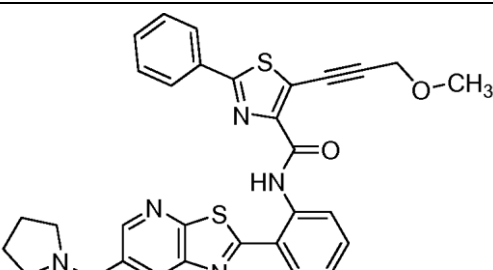
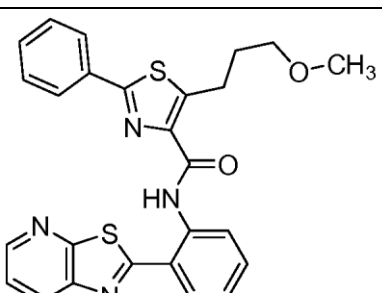
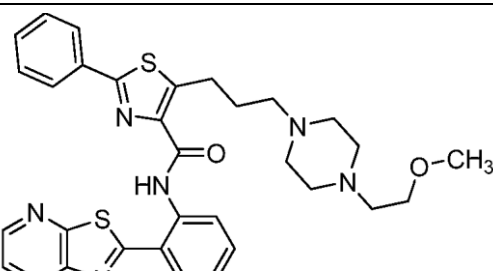
Контрольне інгібування активності сиртуїну ставили шляхом додавання 1 мкл 500 мМ нікотинамід у якості негативного контролю на початку реакції (тобто максимальне інгібування сиртуїну). Контроль підвищення активності сиртуїну ставили з використанням 10 нМ білка сиртуїну з 1 мкл DMSO замість сполуки, для визначення ступеня деацетилювання субстрату в даний момент часу на лінійній ділянці тесту. Той же момент часу використовували для тестованих сполук, і на лінійній ділянці кінцева крапка вказує на зміну швидкості.

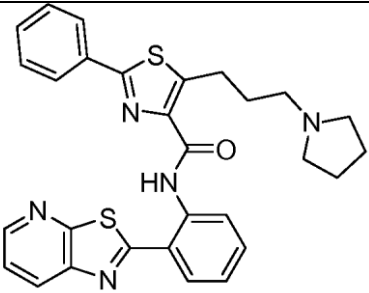
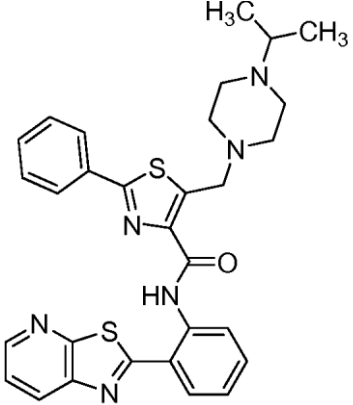
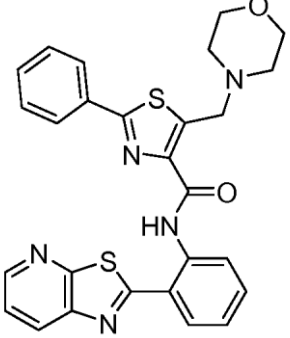
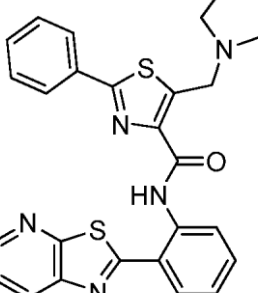
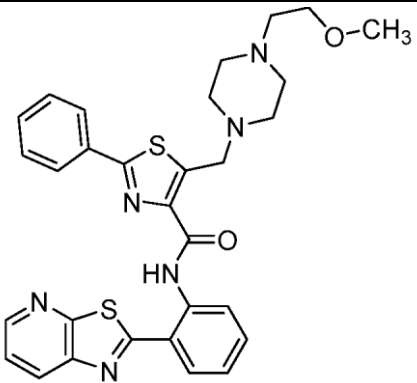
Білок SIRT1 для вищеописаного тесту експресували й очищали в такий спосіб. Ген SirT1 клонували у вектор, що містить промотор T7, і трансформували в BL2(DE3). Білок експресували шляхом індукції 1 мМ IPTG у вигляді білка, злитого з гістидиновою міткою на N-кінці, протягом ночі при 18°C і збирали при 30 000 g. Клітини лізували лізозимом у лізисному буфері (50 мМ трис-HCl, 2 мМ трис[2-карбоксietил]фосфін (TCEP), 10 мкМ ZnCl₂, 200 мМ NaCl) і далі піддавали сонікації протягом 10 хв для повного лізису. Білок очищали на колонці Ni-NTA (Amerhsam), і фракції, що містять очищений білок, поєднували, концентрували і пропускали через гель-фільтраційну колонку (Sephadex S200 26/60 global). Збирали пік, що містить розчинний білок, і проганяли через іонообмінну колонку (Mono). У результаті градієнтного елювання (200 мМ-500 мМ NaCl) одержували очищений білок. Цей білок концентрували і діалізували проти діалізного буферу (20 мМ трис-HCl, 2 мМ TCEP) протягом ночі. Білок поділяли на аліквоти і заморожували при -80 °С до подальшого використання.

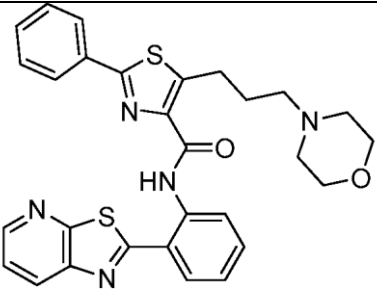
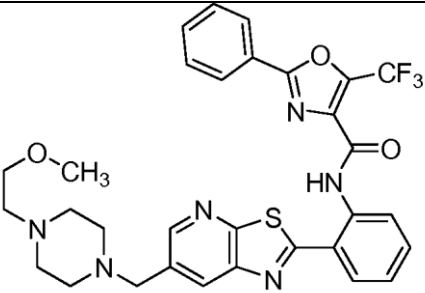
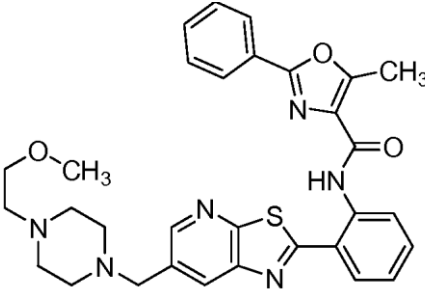
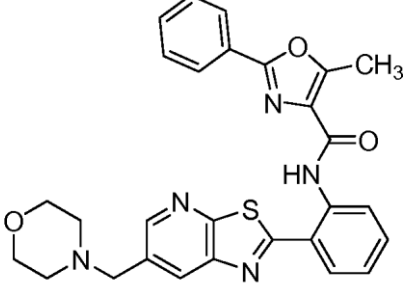
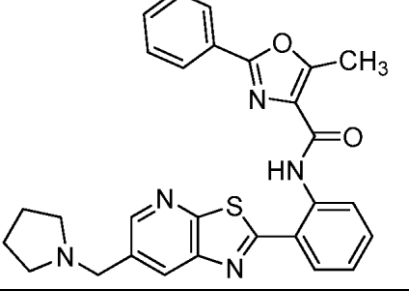
Сполуки, що регулюють сиртуїн, що активували SIRT1, ідентифікували за допомогою вищеописаного тесту, результати якого приведені в таблиці 1. Величини EC_{1,5} для активуючих сполук позначені А (EC_{1,5} ≤ 1 мкМ), В (EC_{1,5} > 1 і ≤ 10 мкМ), або С (EC_{1,5} ≥ 10 мкМ). Максимальний відсоток активації позначений А (активація ≥ 300 %), В (активація ≥ 150 % і < 300 %), або С (активація ≤ 150 %).

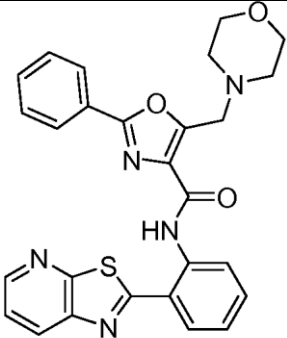
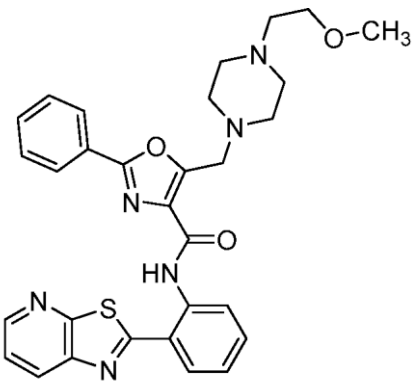
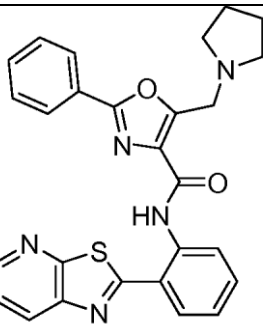
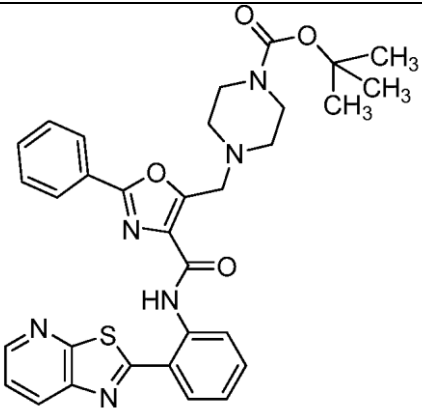
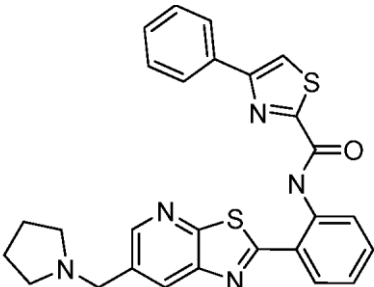
Таблиця 1

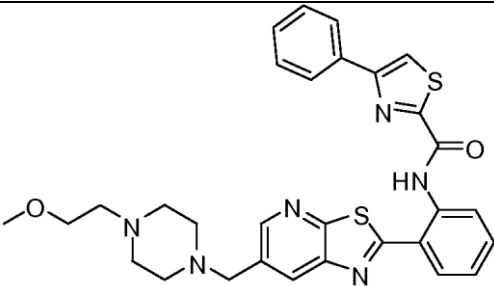
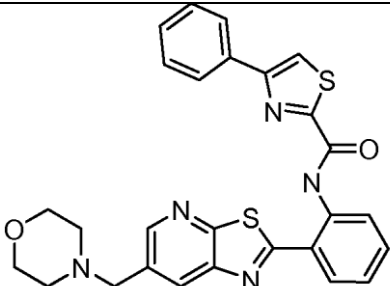
Номер сполуки	[M+H] ⁺	Структура	EC _{1,5} (нМ)	Відсоток активації
1	571		A	A

2	514		A	A
3	498		A	B
4	570		A	B
5	566		A	B
6	487		B	B
7	599		A	B

8	526		A	A
9	555		A	A
10	514		A	B
11	498		B	C
12	571		A	A

13	542		A	B
14	623		A	B
15	569		A	B
16	512		A	B
17	496		B	A

18	498		C	C
19	555		C	C
20	482		B	B
21	597		C	C
22	498		A	B

23	571		A	A
24	514		A	B

В іншому втіленні, сполука вибирається з будь-якої зі сполук 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 і 24 з таблиці 1.

Еквіваленти

- 5 У даному винаході представлені, крім іншого, сполуки, що активують сиртуїн, і способи їх вживання. Незважаючи на обговорення конкретних утілень даного винаходу, даний докладний опис приводиться для ілюстрації, а не для обмеження. Після ознайомлення з даним докладним описом, для фахівця в галузі техніки будуть очевидні багато варіацій даного винаходу. Повне охоплення винаходу визначається згідно формули винаходу, поряд з повним охопленням її еквівалентів, і докладним описом, поряд з такими варіаціями.

Включення як посилання

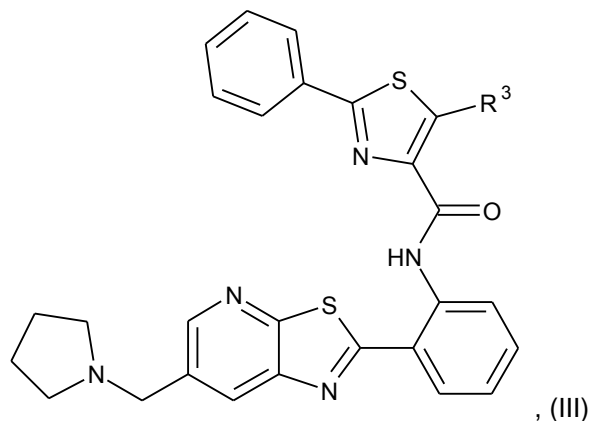
Усі публікації і патенти, згадані в даному документі, включаючи перераховані нижче, включені цілком як посилання як ніби кожна окрема публікація або патент була б явно по-окремо включена як посилання. У випадку конфлікту, дана заявка, включаючи усі визначення, 15 приведені в даному документі, буде превалювати.

Також у даний документ цілком включені як посилання всі полінуклеотидні і поліпептидні послідовності з номером доступу, що відповідає запису в публічній базі даних, такий як база даних інституту геномних досліджень (The Institute for Genomic Research) (TIGR) (www.tigr.org) i/або Національного центру біотехнологічної інформації (National Center for Biotechnology Information) (NCBI) (www.ncbi.nlm.nih.gov). 20

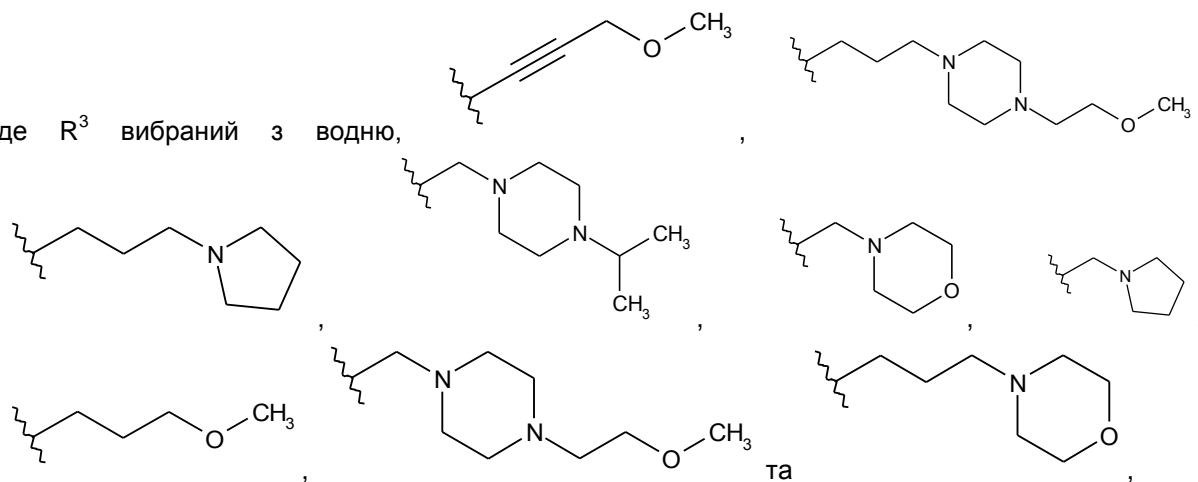
Також включені як посилання наступні документи: публікації PCT WO 2005/002672; 2005/002555; і 2004/016726.

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 25 1. Сполука, представлена структурною формулою (III):



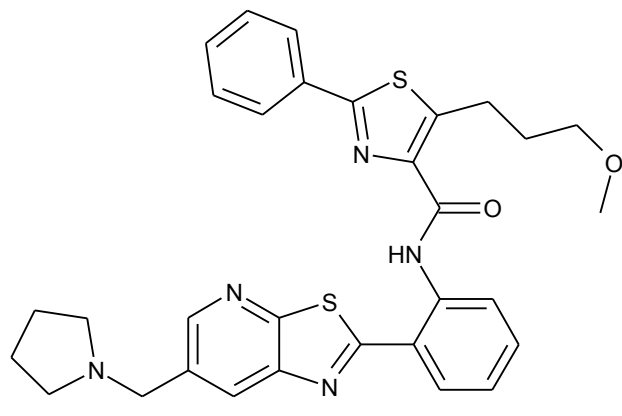
де R^3 – вибраний з водню,



або її фармацевтично прийнятна сіль.

5 2. Сполука за п. 1, де R^3 вибраний з водню, або її фармацевтично прийнятна сіль.
3. Сполука за п. 1, яка являє собою:

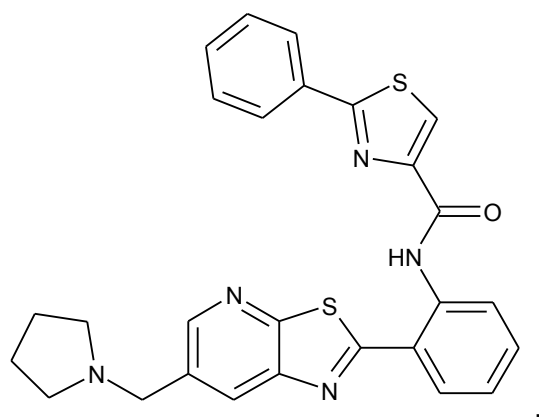
3. Сполука за п. 1, яка являє собою:



або її фармацевтично прийнятна сіль.

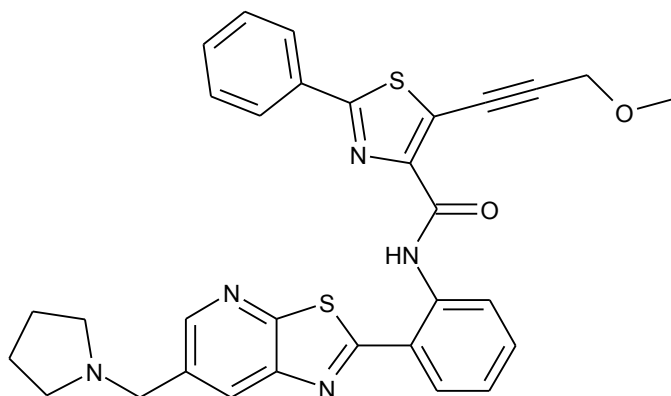
10 4. Сполука за п. 1, яка являє собою:

4. Сполука за п. 1, яка являє собою:



або її фармацевтично прийнятна сіль.

5. Сполука за п. 1, яка являє собою:



або її фармацевтично прийнятна сіль.

6. Фармацевтична композиція, що містить сполуку за будь-яким з пп. 1-5 або її фармацевтично прийнятну сіль та фармацевтично прийнятний носій.
- 5 7. Композиція за п. 6, де фармацевтична композиція вільна від пірогенів.
8. Композиція за п. 6, що додатково містить додатковий активний агент.
9. Спосіб лікування суб'єкта, що страждає від або сприйнятливий до стійкості до інсуліну, метаболічного синдрому, діабету або їх ускладнень, або для підвищення чутливості до інсуліну в суб'єкта, в якому здійснюють введення суб'єктові, який цього потребує, композиції за п. 6.
- 10 10. Спосіб за п. 9, що додатково включає введення додаткового активного агента.

Комп'ютерна верстка С. Чулій

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