



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103055313 A

(43) 申请公布日 2013.04.24

(21) 申请号 201310011429.6

A61K 31/05(2006.01)

(22) 申请日 2006.07.07

A61K 31/706(2006.01)

## (30) 优先权数据

60/697,443 2005.07.07 US

A61K 45/06(2006.01)

60/736,528 2005.11.14 US

A61P 3/06(2006.01)

60/753,606 2005.12.23 US

A61P 3/04(2006.01)

60/783,802 2006.03.16 US

A61P 3/10(2006.01)

## (62) 分案原申请数据

200680033014.7 2006.07.07

(71) 申请人 西特里斯药业公司

地址 美国马萨诸塞州

(72) 发明人 M·米尔本 J·米尔恩

J·奥威尔斯 C·阿吉曼

M·拉戈奇 M·迪波

(74) 专利代理机构 北京泛华伟业知识产权代理

有限公司 11280

代理人 郭广迅

(51) Int. Cl.

A61K 45/00(2006.01)

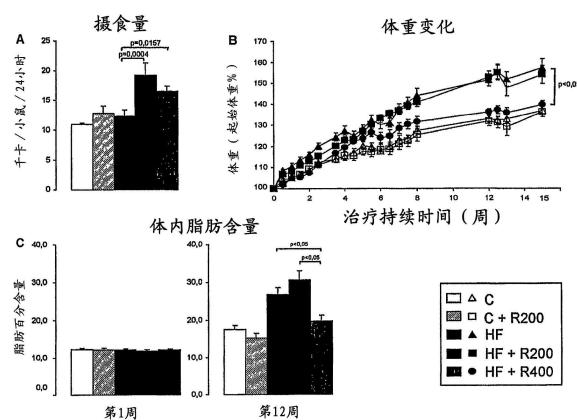
权利要求书1页 说明书168页 附图40页

## (54) 发明名称

用于治疗或预防肥胖、胰岛素抵抗障碍和线粒体相关障碍的方法和相关组合物

## (57) 摘要

本发明提供用于治疗或预防代谢性障碍,如肥胖和糖尿病的方法和组合物。该方法可以包括调节 sirtuin,如 SIRT1 或 Sir2 的活性或水平。示例性的方法包括用 sirtuin 活化化合物,如黄酮、二苯乙烯、黄烷酮、异黄酮、儿茶素、查尔酮、单宁或花色素,或抑制性化合物,如烟酰胺与细胞接触。



1. 一定量的具有等于或大于 18mg/kg 白藜芦醇的 SIRT1- 活化作用的 SIRT1- 活化化合物用于制备用来每天给药的治疗肥胖的药物的用途。
2. 一定量的具有等于或大于 18mg/kg 白藜芦醇的 SIRT1- 活化作用的 SIRT1- 活化化合物用于制备用来每天给药的治疗胰岛素抵抗障碍的药物的用途。
3. 根据权利要求 1 所述的用途, 用于对消耗高脂肪饮食的受试者的肥胖治疗。
4. 根据权利要求 3 所述的用途, 其中受试者每天平均消耗的卡路里的至少 30% 为脂质。
5. 根据权利要求 4 所述的用途, 其中受试者每天平均消耗的卡路里的至少 40% 为脂质。
6. 根据权利要求 5 所述的用途, 其中受试者每天平均消耗的卡路里的至少 50% 为脂质。
7. 一定量的具有等于或大于 18mg/kg 白藜芦醇的 SIRT1- 活化作用的 SIRT1- 活化化合物用于制备用来减轻受试者体重或者预防受试者体重增加的药物的用途。
8. 根据权利要求 7 所述的用途, 用于减轻受试者体重或者预防受试者体重增加, 其中所述受试者正因药物而体重增加。
9. 根据权利要求 1 所述的用途, 用于对在 SIRT1- 活化化合物不存在的情况下, 不能使卡路里消耗减少、活动增加或者其组合达到足以导致体重降低的程度的受试者的肥胖治疗。
10. 根据权利要求 1-9 中任一项所述的用途, 其中所述 SIRT1- 活化化合物是天然存在的。
11. 根据权利要求 10 所述的用途, 其中所述 SIRT1- 活化化合物为白藜芦醇或烟酰胺核苷。
12. 根据权利要求 1-9 中任一项所述的用途, 其中所述 SIRT1- 活化化合物是非天然存在的。
13. 根据权利要求 1-9 中任一项所述的用途, 用于与降脂、抗肥胖或抗糖尿病药物或其组合联合使用。
14. 根据权利要求 13 所述的用途, 其中所述抗肥胖或抗糖尿病药物选自铬、脂肪结合聚合物、糖类结合聚合物、脂酶抑制剂、生热剂、儿茶酚胺再摄取抑制剂、甲状腺激素、他汀类、烟酸、大麻素受体调节剂、抗惊厥药及其组合。
15. 根据权利要求 14 所述的用途, 其中所述抗肥胖或抗糖尿病药物提高血压、心率或其两者。
16. 根据权利要求 1-15 中任一项所述的用途, 其中所述受试者是人。
17. 根据权利要求 1-15 中任一项所述的用途, 其中所述受试者是农畜或伴侣动物。
18. 根据权利要求 1-15 中任一项所述的用途, 其中所述 SIRT1- 活化化合物被配制用来每天给药一次。
19. 根据权利要求 1-15 中任一项所述的用途, 其中所述 SIRT1- 活化化合物被配制用来每天给药两次或三次。
20. 根据权利要求 1-15 中任一项所述的用途, 其中所述 SIRT1- 活化化合物为缓释形式。

## 用于治疗或预防肥胖、胰岛素抵抗障碍和线粒体相关障碍 的方法和相关组合物

[0001] 本申请为申请日为 2006 年 7 月 7 日、申请号为 200680033014.7、名称为“用于治疗或预防肥胖、胰岛素抵抗障碍和线粒体相关障碍的方法和相关组合物”的发明专利申请的分案申请。

### 背景技术

[0002] 肥胖是一种以体重指数(BMI)超过 25 为特征的慢性病症。先天和环境因素,例如锻炼和饮食习惯均可引起该疾病。例如,激素瘦素(leptin)已显示出其与脂肪积聚和饮食行为的调节有关。几种肥胖动物模型都是由瘦素和 / 或瘦素受体基因突变获得的。除影响个体的生活方式外,肥胖能引起多种并发症和疾病,包括胰岛素抵抗、II 型糖尿病、胆囊疾病、高血压、心血管疾病、高血脂、睡眠呼吸暂停、冠状动脉疾病、膝关节骨性关节炎、痛风、不孕症、乳腺癌、子宫内膜癌、结肠癌和下背痛。

[0003] 糖尿病是一种表现为由显著的高血糖或酮酸中毒引起的急性症状,或由持续的高血糖状况或葡萄糖耐受的降低而引起的慢性、常规性代谢异常的疾病。先天和环境因素,例如锻炼和饮食习惯均可导致该疾病。糖尿病的病因为胰岛素产生障碍、分泌失调或分泌的胰岛素的活性和敏感性降低。糖尿病主要分为以下两类:胰岛素依赖性糖尿病(也称为 I 型糖尿病)和非胰岛素依赖性糖尿病(也称为 II 型糖尿病)。肥胖患者的 II 型糖尿病的发生率显著增加。

[0004] 肥胖的治疗通常注重抑制受试者的食欲。尽管有许多食欲抑制剂可用(安非拉酮(diethylpropion tenuate)、马吲哚、奥立司他、苯甲曲秦、芬特明、西布曲明),这些化合物不可能对所有受试者均有效或可能效果有限。因此,对于肥胖需要新的治疗方法。

[0005] 糖尿病的许多治疗方法是熟知的,包括口服降血糖药物,如增加胰岛素分泌的磺酰脲类(例如,甲苯磺丁脲、氯磺丙脲和格列本脲)、增加葡萄糖吸收和利用的双胍类(例如,二甲双胍和丁双胍)以及  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制剂(例如,阿卡波糖和伏格列波糖)。另外,噻唑烷二酮类,如曲格列酮、罗格列酮和吡格列酮被用于改善胰岛素抵抗。然而,噻唑烷二酮类的吸收通常与体重增加有关。因此,对于糖尿病仍需要更有效的治疗方法。

[0006] 目前,在美国分别有 8% 和 15% 的成人患有糖尿病或肥胖。随着遭受糖尿病、尤其是 II 型糖尿病和肥胖影响的个体数量增加,亟需用于预防和治疗这些病症的药物。

### [0007] 发明简述

[0008] 一方面,本发明提供通过给予受试者高剂量的 sirtuin 活化剂来治疗和 / 或预防代谢障碍,如糖尿病和肥胖的方法。sirtuin 活化剂可以单独给予或与另一种降脂、抗肥胖和 / 或抗糖尿病药物联合给予。当 sirtuin 活化剂与另一种治疗剂联合给予时,治疗剂的给予剂量可能比通常所需的剂量更低。通过使用较低剂量的治疗剂,有可能减少或消除与这些药物有关的不良副作用,例如高血压、心率提高等。在某些具体实施方案中,由于 sirtuin 活化剂的活性抵消或避免了与治疗剂有关副作用,所以 sirtuin 活化剂与抗糖尿病或抗肥胖药物共同给药可以减少或消除副作用。

[0009] 另一方面,本发明提供单一剂型的含有高剂量 sirtuin 活化剂的药物组合物。这种药物组合物可被配制成能持续释放至少约 6 至 48 小时或更长时间。本发明还提供添加了 sirtuin 活化剂的营养药剂(neutraceutical),如食物或饮料。

[0010] 另一方面,本发明提供通过给予受试者高剂量的 sirtuin 活化化合物来治疗或预防多种疾病或障碍的方法。可以用高剂量的 sirtuin 活化化合物来治疗的示例性疾病和障碍,包括例如与衰老或应激有关的疾病或障碍、糖尿病、肥胖、神经退行性疾病、与线粒体功能障碍有关的疾病或障碍、化疗引起的神经病、与缺血性事件有关的神经病、眼部疾病和 / 或障碍、心血管疾病、凝血障碍、炎症和 / 或潮红等。如以下的进一步描述,该方法包括给予有此需要的受试者高剂量的 sirtuin 活化化合物。

[0011] 在某些方面,高剂量的 sirtuin 活化化合物可以单独给予或与其它化合物,包括其它 sirtuin 调节化合物或其它治疗剂联合给予。

[0012] 附图的简要说明

[0013] 图 1 显示植物多酚 sirtuin1 (SIRT1) 活化剂的例子。

[0014] 图 2 显示二苯乙烯和查耳酮 SIRT1 活化剂的例子。

[0015] 图 3 显示黄酮 SIRT1 活化剂的例子。

[0016] 图 4 显示黄酮 SIRT1 调节剂的例子。

[0017] 图 5 显示异黄酮、黄烷酮和花色素 SIRT1 调节剂的例子。

[0018] 图 6 显示儿茶素(黄烷-3-醇) SIRT1 调节剂的例子。

[0019] 图 7 显示自由基保护性 SIRT1 调节剂的例子。

[0020] 图 8 显示 SIRT1 调节剂的例子。

[0021] 图 9 显示 SIRT1 调节剂的例子。

[0022] 图 10 显示白藜芦醇类似物 SIRT1 活化剂的例子。

[0023] 图 11 显示白藜芦醇类似物 SIRT1 活化剂的更多的例子。

[0024] 图 12 显示白藜芦醇类似物 SIRT1 活化剂的更多的例子。

[0025] 图 13 显示白藜芦醇类似物 SIRT1 调节剂的例子。

[0026] 图 14 显示白藜芦醇类似物 SIRT1 调节剂的更多的例子。

[0027] 图 15A-G 显示 sirtuin 活化剂的例子。

[0028] 图 16 显示 sirtuin 抑制剂的例子。

[0029] 图 17A — C 为显示 Sirt-1 活化剂白藜芦醇(400mg/kg/ 天) 与高脂肪饮食同时给予时,预防 C57BL/6J 雄性小鼠饮食诱导的肥胖的曲线图。(A) 以千卡 /24 小时表示的小鼠摄食量。(B) 体重随时间的变化。(C) 在治疗的第 1 周和第 12 周时,根据双能量 X 光吸收扫描(dexa scanning)分析,对体内脂肪含量的比较。数值以平均值 ± 平均标准误差(SEM) (n=10) 表示。结果显示出显著性差异(p 值)。

[0030] 图 18A — C 为显示 Sirt-1 活化剂白藜芦醇(400mg/kg/ 天) 与高脂肪饮食同时给予时,增加 C57BL/6J 雄性小鼠的能量消耗的曲线图。(A)8 只雄性小鼠经过 13 小时的平均氧消耗(V02),其中 0 时刻为下午 7:00。平均曲线下面积由临近的柱状图表示。(B)呼吸商(R. Q.)即 VC02/V02 (n=8)。(C) 室温下测定的体温(n=10)。数值以平均值 ± 平均标准误差表示。结果显示出显著性差异(p 值)。

[0031] 图 19A — C 为显示 Sirt-1 活化剂白藜芦醇(400mg/ 千克 / 天)显著减少 C57BL/6J

雄性小鼠的昼夜节律自发活动(circadian locomotor activity)的曲线图。(A)为对照组和白藜芦醇治疗的高脂肪饮食小鼠的静息心率,而(B)为对照组和白藜芦醇治疗的高脂肪饮食小鼠的血压。(C)昼夜节律活动包括全部能活动的的自发运动(曲线图上部)及后腿站立的数量(number of rears)(曲线图底部)。旁边的柱状图代表以曲线下面积表示的测定的昼夜节律活动。数值以平均值  $\pm$  平均标准误差(n=8)表示。结果显示出显著性差异(p值)。

[0032] 图 20A – B 为显示 Sirt-1 活化剂白藜芦醇(400mg/kg/ 天)提高高脂肪饮食饲养的 C57BL/6J 小鼠的葡萄糖耐量的曲线图。(A)腹膜内葡萄糖耐量试验期间(2g 葡萄糖 /kg)的血糖水平以及(B)口服葡萄糖耐量试验期间(2g 葡萄糖 /kg)的血糖水平。旁边的柱状图代表实验组的平均曲线下面积和体重。数值以平均值  $\pm$  平均标准误差(n=5)表示。结果显示出显著性差异(p 值)。

[0033] 图 21 显示小鼠腹膜内葡萄糖耐量试验的结果。

[0034] 图 22 显示 Sirt-1 活化剂白藜芦醇(400mg/kg/ 天, R400)与高脂肪饮食(HF)同时给予时,增强 C57BL/6J 雄性小鼠的适应性产热。曲线代表在 6 小时寒冷试验中每小时测量的小鼠体温并以平均值  $\pm$  平均标准误差,  $p < 0.05$  表示。

[0035] 图 23 显示以白藜芦醇治疗 42 天的 Zucker 糖尿病肥胖大鼠的口服葡萄糖耐量试验的结果。

[0036] 图 24 显示 Sirt-1 活化剂白藜芦醇(400mg/kg/ 天)与高脂肪饮食同时给予,预防 C57BL/6J 雄性小鼠中饮食诱导的肥胖。左上部分显示四个饮食组的小鼠在超过九周的时间内体重变化的曲线图。右上部分显示以千卡 /24 小时表示的四个饮食组的小鼠的摄食量的曲线图。底部显示根据双能量 X 光吸收扫描分析,对经 9 周治疗的四个饮食组的小鼠体内脂肪含量的比较。数值以平均值  $\pm$  平均标准误差(n=10)表示。BAT 为褐色脂肪组织(右下部分);腹股沟 WAT 为腹股沟白色脂肪组织(左下部分);而腹膜后 WAT 为腹膜后白色脂肪组织(中下部分)。结果显示出显著性差异(p 值)。在图示期间以对照饮食(C)、对照饮食加 400mg/kg/ 天的白藜芦醇(C + R400)、高脂肪饮食(HF)或高脂肪饮食加 400mg/kg/ 天的白藜芦醇(HF + R400)饲养动物。

[0037] 图 25 显示经对照饮食(C)、高脂肪饮食(HF)或高脂肪加 400mg/kg/ 天的白藜芦醇(HF + R400)饮食 16 周之后,动物的血清生化分析结果(数值为来自各组的 10 只动物的平均值)。

[0038] 图 26 显示经对照饮食(C)、高脂肪饮食(HF)或高脂肪加 400mg/kg/ 天的白藜芦醇(HF + R400)饮食 16 周之后,动物的肝脏和附睾脂肪组织切片的苏木精和伊红染色。

[0039] 图 27 显示经对照饮食(C)、高脂肪饮食(HF)或高脂肪加 400mg/kg/ 天的白藜芦醇(HF + R400)饮食 16 周之后,动物的褐色肪组织和腓肠肌切片的苏木精和伊红染色。

[0040] 图 28 显示经高脂肪饮食(HF)或高脂肪加 400mg/kg/ 天的白藜芦醇(HF + R400)饮食 16 周之后,动物的褐色肪组织、腓肠肌和比目鱼肌的琥珀酸脱氢酶染色。

[0041] 图 29 显示经对照饮食(C)、高脂肪饮食(HF)或高脂肪添加 400mg/kg/ 天的白藜芦醇(HF + R400)饮食 16 周之后,动物的腓肠肌(非氧化纤维 non-oxidative fiber)经 10,000 和 20,000 倍放大的透射电子显微镜图。嵌入图显示肌肉纤维解剖示意图。

[0042] 图 30 显示经对照饮食(C)、高脂肪饮食(HF)或高脂肪加 400mg/kg/ 天的白藜芦醇

(HF + R400)饮食 16 周之后, 动物的褐色脂肪组织经 4,000 和 20,000 倍放大的透射电子显微镜图。

[0043] 图 31 显示经对照饮食(C)、高脂肪饮食(HF)或高脂肪加 400mg/kg/ 天的白藜芦醇(HF + R400)饮食处理后的动物褐色脂肪组织、肝脏和肌肉中测定的 Sirt1 mRNA 水平(数值为来自各组的 6 只动物的平均值)。显示的数值是相对于管家基因 18s 的, 之后的数值是相对于普通饮食的(自定义为 1)。

[0044] 图 32 显示经对照饮食(无阴影)、高脂肪饮食(浅阴影)或高脂肪加 400mg/kg 的白藜芦醇(深阴影)饮食后的肝脏、褐色脂肪组织和肌肉中 PEPCK、葡萄糖 -6- 磷酸酯酶、Foxol, PGC 1 - α 和 Sirt1 的相对的基因表达。(n= 各个条件下 6 只动物的总和(pool))。

[0045] 图 33 显示表明白藜芦醇增加 PGC1 α 脱乙酰化作用的免疫印迹结果。IP 为免疫沉淀反应; IB 为免疫印迹; HF 为高脂肪饮食; 且 HF + R400 为高脂肪饮食加 400mg/kg 的白藜芦醇。

[0046] 图 34 显示喂饲普通饮食(C)、高脂肪饮食(HF)或高脂肪加 400mg/kg 的白藜芦醇(HF + R400)的小鼠的粪便脂质含量分析。左边显示每个小鼠的总粪便重量。右边显示不同饮食组的动物排泄的胆固醇和甘油三酯的量。

[0047] 图 35 为显示 Sirt-1 活化剂白藜芦醇(400mg/kg/ 天)与高脂肪饮食同时给予时, 预防 C57BL/6J 雄性小鼠饮食诱导的肥胖的曲线图。左边: 体重随时间的变化(图中从顶部到底部为: HF, HF+R400, C 和 C+R400)。右边: 左边所示的曲线图的曲线下面积。

[0048] 图 36 为说明喂饲普通饮食(顶线)和高脂肪饮食(底线)的小鼠的跑台耐力实验方案的示意图。

[0049] 图 37 为显示喂饲普通饮食或高脂肪饮食的小鼠的耐受力测试结果的曲线图。曲线图中的各条线表示利用图 33 所示的耐受力实验方案测试的各个动物。

[0050] 图 38 显示利用正常血糖(5.5mmol/1)高胰岛素(18mU/kg/ 分钟)钳夹(hyperinsulinemic euglycemic clamp)技术测定的白藜芦醇对胰岛素敏感性的作用。左边部分显示经对照饮食(C)、对照饮食加 400mg/kg 的白藜芦醇(C + R400)、高脂肪饮食(HF)或高脂肪饮食加 400mg/kg 的白藜芦醇(HF + R400)14 周之后, 各组动物的葡萄糖输入率(GIR)。右边部分显示稳态钳夹下的平均 GIR。

[0051] 发明的详细说明

[0052] 定义

[0053] 本发明所用的以下术语和短语应具有下列含义。除非另有定义, 本发明所使用的所有技术和科学术语与本领域普通技术人员通常理解的含义相同。

[0054] 除非上下文另有明确规定, 单数形式“a”、“an”和“the”包括复数的含义。

[0055] 本发明使用的术语“药物(agent)”表示化学化合物、化学化合物的混合物、生物大分子(如核酸、抗体、蛋白或其部分, 例如肽)、或由生物材料如细菌、植物、真菌或动物(尤其是哺乳动物)的细胞或组织制备的提取物。这些药物的活性可使其适宜于作为“治疗剂”, 该治疗剂为在受试者的局部或全身起效的生物、生理或药理活性物质(或多种物质)。

[0056] 当涉及化合物时, “天然存在的形式”是指以一种以例如组合物的形式存在的化合物, 在该形式中的化合物可以在自然界找到。例如, 由于白藜芦醇可在红葡萄酒中找到, 则它是以天然存在的形式存在于红葡萄酒中。如果, 例如化合物已经从至少一些其它在天然

界与该化合物共同存在的分子中纯化或分离，则该化合物不是以天然存在的方式存在。“天然存在的化合物”是指可以在自然界发现的化合物，即不经人为设计的化合物。天然存在的化合物可以由人或自然界来制备。

[0057] “Sirtuin 调节剂”是指向上调节(例如,活化或刺激)、向下调节(例如,抑制或压制)或其它改变 sirtuin 蛋白的功能特性或生物活性的化合物。Sirtuin 调节剂可以用于直接或间接调节 sirtuin 蛋白。在某些具体实施方案中,Sirtuin 调节剂可以是 sirtuin 活化剂或 sirtuin 抑制剂。

[0058] 术语“sirtuin 活化剂”或“sirtuin 活化化合物”是指提高 sirtuin 蛋白水平和 / 或提高 sirtuin 蛋白的至少一种活性的化合物。在一个示例性的具体实施方案中,sirtuin 活化剂可以将 sirtuin 蛋白的至少一种生物活性提高至少约 10%、25%、50%、75%、100% 或更多。sirtuin 蛋白的示例性生物活性包括去乙酰化,例如组蛋白和 p53 ;延长寿命 ;增加基因组稳定性 ;沉默转录以及控制母细胞和子细胞间的氧化蛋白的分离。示例性的 sirtuin 活化化合物包括,例如具有选自通式 1-25、30、32-65 和 69-88 的通式的化合物。

[0059] “sirtuin 活化化合物的高剂量”是指 sirtuin 活化作用等于或大于 18mg/kg 白藜芦醇(例如,在人中)的 sirtuin 活化作用的 sirtuin 活化剂的量。在某些具体实施方案中, sirtuin 活化化合物的高剂量是指 sirtuin 活化作用等于或大于 18mg/kg 白藜芦醇的 sirtuin 活化作用的 sirtuin 活化剂的量,所述白藜芦醇是以(i)口服,(ii)以缓慢释放形式释放 6 至 48 小时,和 / 或(iii)等量的时间的方式给予。在某些具体实施方案中, sirtuin 活化化合物的高剂量是指 sirtuin 活化作用等于或大于至少约 20、25、30、35、40、50、60、75、100、150mg/kg 或更多的白藜芦醇的 sirtuin 活化作用的 sirtuin 活化剂的量。

[0060] “sirtuin 活化作用”是指给予高剂量的 sirtuin 活化化合物所获得的一种或多种治疗效果的水平或程度。治疗效果包括,例如(i)通过消耗含有增加的脂肪和 / 或卡路里含量的饮食但不增加活动、心率和 / 或血压 ;和 / 或(ii)提高血糖水平来预防或抑制体重增加。这种治疗效果包括,例如在实施例中阐明的治疗效果。

[0061] “sirtuin 抑制剂”是指降低 sirtuin 蛋白水平和 / 或降低 sirtuin 蛋白的至少一种活性的化合物。在一个示例性的具体实施方案中, sirtuin 抑制剂可以将 sirtuin 蛋白的至少一种生物活性降低至少约 10%、25%、50%、75%、100% 或更多。sirtuin 蛋白的示例性生物活性包括去乙酰化,例如组蛋白和 p53 ;延长寿命 ;增加基因组稳定性 ;沉默转录以及控制母细胞和子细胞间的氧化蛋白的分离。

[0062] “Sirtuin 蛋白”是指 Sirtuin 脱乙酰化酶蛋白家族中的一员,或者优选是指 Sir2 家族,其包括酵母 Sir2 (GenBank 登记号 No. P53685)、线虫(*C. elegans*)Sir-2.1 (GenBank 登记号 No. NP\_501912) 和人 SIRT1 (GenBank 登记号 No. NM\_012238 和 NP\_036370(或 AF083106))以及 SIRT2 (GenBank 登记号 No. NM\_030593 和 AF083107)蛋白。其它家族成员包括术语称为“HST 基因”(与 Sir2 同源)的四种其它酵母 Sir2 样基因, HST1、HST2、HST3 和 HST4,以及五种其它与人类同源的 hSIRT3、hSIRT4、hSIRT5、hSIRT6 和 hSIRT7(Brachmann 等, (1995) *Genes Dev.* 9:2888 和 Frye 等, (1999) *BBRC* 260:273)。优选的 sirtuin 是具有与 SIRT1, 即 hSIRT1 和 / 或 Sir2 的相似性比与 SIRT2 的相似性更多的 sirtuin, 如那些具有在 SIRT1 中存在而在 SIRT2 中不存在,如 SIRT3 具有的至少部分 N- 末端序列的成员。

[0063] “SIRT1 蛋白”是指 sirtuin 脱乙酰化酶的 sir2 家族中的一员。在一个具体实施方

案中，SIRT1 蛋白包括酵母 Sir2 (GenBank 登记号 No. P53685)、线虫 (C. elegans) Sir-2.1 (GenBank 登记号 No. NP\_501912)、人类 SIRT1 (GenBank 登记号 No. NM\_012238 和 NP\_036370 (或 AF083106))、人类 SIRT2 (GenBank 登记号 No. NM\_012237, NM\_030593、NP\_036369、NP\_085096 和 AF083107) 蛋白、及其等同物和片段。在另一个具体实施方案中，SIRT1 蛋白包括含有在 GenBank 登记号 Nos. NP\_036370、NP\_501912、NP\_085096、NP\_036369 和 P53685 中列出的氨基酸序列所组成的或基本由它们所组成的序列的多肽。SIRT1 蛋白包括含有下列所有或部分氨基酸序列的多肽：在 GenBank 登记号 Nos. NP\_036370、NP\_501912、NP\_085096、NP\_036369 和 P53685 中列出的氨基酸序列；在 GenBank 登记号 Nos. NP\_036370、NP\_501912、NP\_085096、NP\_036369 和 P53685 中列出的具有 1 至大约 2、3、5、7、10、15、20、30、50、75 或更多个保守性氨基酸替换的氨基酸序列；至少 60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98% 或 99% 与 GenBank 登记号 Nos. NP\_036370、NP\_501912、NP\_085096、NP\_036369 和 P53685 相同的氨基酸序列及其功能性片段。本发明的多肽还包括 GenBank 登记号 Nos. NP\_036370、NP\_501912、NP\_085096、NP\_036369 和 P53685 的同源体 (homolog) (例如直系同源体 (orthologs) 和旁系同源体 (paralogs))、变体或片段。

[0064] “sirtuin 的生物活性部分”是指具有生物活性如脱乙酰化能力的 sirtuin 蛋白的一部分。sirtuin 的生物活性部分可以包括 sirtuin 的核心区。例如，由 SIRT1 核酸序列的 237 至 932 位核苷酸编码的 SIRT1 蛋白序列的 62 至 293 位氨基酸，其包含了 NAD<sup>+</sup> 结合域和底物结合域。因此，这个区域有时被称为核心区。SIRT1 的其它生物活性部分有时也被称为核心区，包括由 SIRT1 核酸序列的 834 至 1394 位核苷酸编码的 SIRT1 蛋白序列的大约 261 至 447 位氨基酸；由 SIRT1 核酸序列的 777 至 1532 位核苷酸编码的 SIRT1 蛋白序列的大约 242 至 493 位氨基酸；或者由 SIRT1 核酸序列的 813 至 1538 位核苷酸编码的 SIRT1 蛋白序列的大约 254 至 495 位氨基酸。

[0065] sirtuin 的“直接活化剂”是指通过与 sirtuin 结合活化 sirtuin 的分子。sirtuin 的“直接抑制剂”是指通过与 sirtuin 结合抑制 sirtuin 的分子。

[0066] 术语“包含 (comprise 和 comprising)”被用于表示包含的开放式含义，是指可以包括其它元素。

[0067] 术语“包括”被用于指“包括但不限于”。“包括”和“包括但不限于”可互换使用。

[0068] 术语“同一性百分比”是指两种氨基酸序列或两种核苷酸序列之间的序列同一性。同一性可以通过比较为比较而排列的各个序列的一个位置来分别确定。当被比较序列中的等同位置被相同的碱基或氨基酸占据时，则分子在该位置具有同一性；当等同位点被相同或类似的氨基酸残基 (例如，空间性质和 / 或电子性质相似) 占据时，则分子可以被称之为在该位置是同源的 (相似的)。作为同源性、相似性或同一性的百分比的表征是指由被比较序列共同的位置上相同或相似氨基酸的数量的函数。作为同源性、相似性或同一性的百分比的表征是指由被比较序列共同的位置上相同或相似氨基酸的数量的函数。可使用的各种比对算法和 / 或程序，包括 FASTA、BLAST 或 ENTREZ。FASTA 和 BLAST 可作为 GCG 序列分析包 (University of Wisconsin, Madison, Wis.) 的一部分获得，并且可以以例如默认设置来使用。ENTREZ 是通过国家生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information)、国家医学图书馆 (National Library of Medicine)、国立卫生研究院 (National Institutes of Health, Bethesda, MD) 获得的。在一个具体实施方案中，两个

序列的同一性百分比可以通过 GCG 程序来确定, 其中空隙的权重(gap weight)为 1, 例如对各个氨基酸空隙(gap)进行权衡时(weighted)要当作每个空隙是两个序列之间的单个氨基酸或核苷错配。

[0069] 其它比对技术记载于“酶学方法”, 第 266 卷: 用于大分子序列分析的计算机方法(1996), 编者 Doolittle, 学术出版社公司, Harcourt Brace & Co. 公司的一个部门, 圣地亚哥, 加利福尼亚州, 美国(Methods in Enzymology, vol. 266: Computer Methods for Macromolecular Sequence Analysis(1996), ed. Doolittle, Academic Press, Inc., a division of Harcourt Brace & Co., San Diego, California, USA)。优选地, 利用允许在序列中存在空隙的比对程序来比对序列。Smith-Waterman 是一类允许在序列比对中存在空隙的运算法则。参见 Meth. Mol. Biol. 70:173-187(1997)。同样, 使用 Needleman 和 Wunsch 比对方法的 GAP 程序也可用于比对序列。另一种搜索策略是使用在 MASPAR 计算机上运行的 MPSRCH 软件。MPSRCH 使用 Smith-Waterman 运算法则在大规模并行计算机上对序列评分。这种方法提高了获得不太相对匹配的能力, 并且尤其能耐受小空隙和核苷酸序列错误。核酸编码的氨基酸序列可被用于搜索蛋白质和 DNA 数据库。

[0070] 术语“多核苷酸”和“核酸”可互换使用。它们是指任何长度的核苷酸, 或者脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸, 或其类似物的聚合形式。多核苷酸可以具有任何三维结构, 并可发挥任何已知或未知的功能。以下是多核苷酸的非限定性的例子: 基因或基因片段的编码或非编码区、根据连接分析定义的位点、外显子、内含子、信使 RNA (mRNA)、转运 RNA、核糖体 RNA、核酶、cDNA、重组多核苷酸、支链多核苷酸、质粒、载体、任何序列的分离的 DNA、任何序列的分离的 RNA、核酸探针和引物。多核苷酸可以包含修饰的核苷酸, 如甲基化的核苷酸和核苷酸类似物。如果有修饰, 则对核苷酸结构的修饰可以在该聚合物组装之前或之后进行。核苷酸序列可以被非核苷酸成分中断。多核苷酸可以被进一步修饰, 如通过与标记成分结合。术语“重组”多核苷酸是指基因组、cDNA、半合成或合成来源的多核苷酸, 它们或者在自然界不存在或者连接到另一非天然排列的多核苷酸上。

[0071] “患者”、“受试者”或“宿主”是指人或非人动物。非人动物包括家畜(例如牛、马、猪、绵羊、山羊)及伴侣动物(例如狗、猫等)。

[0072] 当与氨基酸序列一起使用时, 术语“实质上同源”是指在序列上相互间实质上相同或相似, 形成构象的同源性并因此保持有效水平, 即一种或多种生物(包括免疫学的)活性。该术语并非有意暗指序列的共同演化(common evolution)。

[0073] 术语“调节”是本领域公知的并且是指对响应的上调(即活化或刺激)、下调(即抑制或压制), 或者两者结合或分开。

[0074] 术语“预防性”或“治疗性”治疗是本领域公知的, 并且是指向宿主给药。如果在有害状况(如宿主动物的疾病或其它有害状态)的临床表现之前给予, 那么治疗是预防性的, 即它保护宿主对抗有害状况的发展, 反之, 如果在有害状况表现之后给予, 那么治疗是治疗性的(即这是为了减少、改善或维持现有的有害状况或其副作用)。

[0075] 术语“哺乳动物”是本领域已知的, 示例性的哺乳动物包括: 人、灵长类、牛、猪、犬、猫科动物和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)。

[0076] 当涉及化合物时, 术语“生物可利用的”是本领域公知的并且是指能使化合物或一部分量的被给予的化合物通过引入而被吸收, 或者其它对被给予的受试者或患者来说是生

理上可利用的化合物的形式。

[0077] 术语“药物”是指任何具有药理作用的化合物。例如,该术语“药物”涵盖具有药理作用的天然化合物以及非天然化合物。

[0078] 术语“药学上可接受的盐”是本领域公知的并且是指化合物的相对无毒的、无机酸或有机酸加成盐,以及该盐的溶剂化物、共晶、多晶型物等,包括例如本发明记载的组合物中包含的盐。

[0079] 术语“药学上可接受的载体”是本领域公知的并且是指药学上可接受的材料、组合物或载体,如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂或包封材料。各种载体必须是“可接受”的,即与目标组合物及其成分相容并且对患者无害。可以用作药学上可接受的载体的材料的一些例子包括:(1)糖,如乳糖、葡萄糖和蔗糖;(2)淀粉,如玉米淀粉和马铃薯淀粉;(3)纤维素及其衍生物,如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素和醋酸纤维素;(4)粉末状黄芪胶;(5)麦芽;(6)明胶;(7)滑石;(8)赋形剂,如可可脂和栓剂蜡(suppository waxes);(9)油,如花生油、棉籽油、红花油、芝麻油、橄榄油、玉米油和大豆油;(10)二元醇,如丙二醇;(11)多元醇,如甘油、山梨醇、甘露醇和聚乙二醇;(12)酯,如油酸乙酯和月桂酸乙酯;(13)琼脂;(14)缓冲剂,如氢氧化镁和氢氧化铝;(15)褐藻酸;(16)无热原水;(17)生理盐水;(18)林格氏溶液(Ringer's solution);(19)乙醇;(20)磷酸缓冲液;以及(21)药物制剂中使用的其它无毒相容性物质。

[0080] 术语“全身给药”(systemic administration、administered systemically)、“外周给药”(peripheral administration、administered peripherally)是本领域公知的并且是指给予目标组合物,治疗性或其它材料时不直接进入中枢神经系统,而是进入患者全身并因此经过代谢和其它类似的过程。

[0081] 术语“胃 肠 道 外 给 药”(parenteral administration、administered parenterally)是本领域公知的并且是指不同于肠道和局部给药的给药方式,通常是通过注射,并包括而不限于静脉内、肌肉内、动脉内、鞘内、囊内、眶内、心脏内、皮内、腹膜内、经气管、皮下、表皮下、关节内(intra-articulare)、囊下、蛛网膜下、脊柱内、胸骨内注射和输注。

[0082] “转录调节序列”是贯穿本说明书来使用的专业术语,是指DNA序列,如启动信号、增强子和启动子(promoter),它们诱导或控制与它们是可操纵连接的(operable linked)蛋白质编码序列的转录。在优选的具体实施方案中,一种重组基因的转录是处于按预期表达的细胞类型中控制重组基因表达的启动子序列(或者其它转录调节序列)的控制下。还应理解重组基因可以处于转录调节序列的控制下,所述转录调控节列同于或不同于控制本发明所述基因的天然存在形式的转录的那些序列。

[0083] “载体”是将插入的核酸分子转移至宿主细胞和 / 或宿主细胞之间的自身复制性核酸分子。该术语包括主要负责将核酸分子插入细胞的载体,和主要负责核酸复制的载体的复制,以及负责DNA或RNA转录和 / 或翻译的表达载体。还包括提供一种以上的上述功能的载体。

[0084] 本发明使用的“表达载体”被定义为当被引入适当的宿主细胞时,可以被转录和翻译成多肽的多核苷酸。“表达系统”通常是指包含具有产生所需表达产物的功能的表达载体的适合的宿主细胞。

[0085] “线粒体功能指标”是由本领域技术人员能够测量的指示线粒体功能的任何参数。在某些具体实施方案中,线粒体功能指标是线粒体电子传递链酶,三羧酸循环酶,线粒体基质成分,线粒体膜成分或ATP生物合成因子。在其它具体实施方案中,线粒体功能指标是每个细胞的线粒体数量或每个细胞的线粒体质量。在其它具体实施方案中,线粒体功能指标是ATP生物合成因子。在其它具体实施方案中,线粒体功能指标是每个线粒体ATP的量、每单位质量线粒体ATP的量、每单位蛋白质ATP的量或每单位线粒体蛋白ATP的量。在其它具体实施方案中,线粒体功能指标包括自由基的产生。在其它具体实施方案中,线粒体功能指标包括对细胞内钙增加的细胞反应。在其它具体实施方案中,线粒体功能指标是线粒体酶,如作为非限定性的例子,柠檬酸合成酶、己糖激酶II、细胞色素C氧化酶、磷酸果糖激酶、磷酸甘油醛脱氢酶、糖原磷酸化酶、肌酸激酶、NADH脱氢酶、甘油-3-磷酸脱氢酶、磷酸丙糖脱氢酶或苹果酸脱氢酶的活性。在其它具体实施方案中,线粒体功能指标是患者的每个细胞中线粒体DNA的相对或绝对量。

[0086] “提高线粒体功能”或“改变线粒体功能”可以是指(a)实质上(例如以统计学上显著的方式,并优选以促进统计学上显著地改善临床参数如预后、临床评分或结果的方式)将葡萄糖响应降低,线粒体质量降低和/或线粒体功能损害的细胞的至少一种葡萄糖响应指标恢复至正常水平;或(b)分别地,实质上(如以统计学上显著的方式,并优选以促进统计学上显著地改善临床参数如预后、临床评分或结果的方式)将线粒体功能损害的细胞或具有正常线粒体功能的细胞的至少一种线粒体功能指标恢复至正常水平,或者提高至高于或超过正常水平的水平。线粒体功能的改善或改变可由线粒体外的结构或活动以及线粒体的结构或活动的变化引起,并导致线粒体与线粒体外基因和/或它们的基因产物之间的直接相互作用、或者导致由所述相互作用可能形成的中间体之间的相互作用,并由此产生的结构或功能改变,上述中间体包括代谢物、分解代谢产物、底物、前体、辅助因子等。

[0087] “线粒体功能损害”可以包括某些或所有生物来源的细胞中,任何呼吸、代谢或其它生物化学或生物物理活性的水平和/或速率完全或部分降低、抑制、减小、损失或其它损伤。作为非限定性的例子,显著损害电子转移链(ETC)活性可能与线粒体功能损害有关,也可能引起活性氧物质(ROS)增加或氧化磷酸化不足。作为进一步的例子,改变线粒体膜电位、诱导细胞凋亡途径以及在细胞内形成非典型化学和生物化学交联物(crosslinked species),无论是通过酶学或非酶学机制,都可以当作是线粒体功能的指标。线粒体功能损害的这些或其它非限定性的例子在下文有更详细的描述。

[0088] “治疗”病症或疾病是指治愈以及改善至少一种病症或疾病的症状。

[0089] 术语“顺式”是本领域公知的,并且是指双键周围的两个原子或基团排列为原子或基团处于双键的同一侧。顺式构型通常被标记为(Z)构型。

[0090] 术语“反式”是本领域公知的,并且是指双键周围的两个原子或基团排列为原子或基团处于双键的异侧。反式构型通常标记为(E)构型。

[0091] 术语“共价键”是本领域公知的并且是指两个原子间的键,其中电子通过静电被吸引向两个原子的核,以及增加的核间的电子云密度的净效应抵消了核间排斥。当该键带有金属离子时,术语共价键包括配位键。

[0092] 术语“治疗剂”是本领域公知的并且是指作为作用于受试者局部或全身的生物学上、生理学上或药理学上的活性物质的任何化合物。该术语还指用于动物或人类中诊断、治

愈、缓解、治疗或预防疾病或者增强所需的物理或精神进展和 / 或状态的任何物质。

[0093] 术语“治疗效果”是本领域公知的并且是指在动物,特别是哺乳动物,更特别是人类中由药理活性物质所引起的局部或全身效应。短语“治疗有效量”是指在适于任何治疗的合理的利益 / 风险比下,产生某些理想的局部或全身作用的所述物质的量。这种物质的治疗有效量将根据受试者和所治疗的疾病状态、受试者的体重和年龄、疾病状态的严重程度、给药方式等而改变,这是本领域普通技术人员很容易确定的。例如,本发明所述的某些组合物可在适于所述治疗的合理的利益 / 风险比下,以足够对代谢性障碍或糖尿病或其并发症产生所需作用的量来给药。

[0094] 术语“合成的”是本领域公知的并且是指通过体外化学或酶合成生产。

[0095] 术语“内消旋化合物”是本领域公知的并且是指具有至少两个手性中心但由于对称平面或对称点而呈非手性的化学化合物。

[0096] 术语“手性”是本领域公知的并且是指具有镜像伙伴(partner)的不重叠性的分子,而术语“非手性”是指镜像伙伴(partner)可重叠的分子。“前手性分子”是指具有经特殊方法转化为手性分子的潜力的分子。

[0097] 术语“立体异构体”是本领域公知的并且是指具有相同的化学组成但原子或基团的空间排列不同的化合物。具体而言,“对映异构体”是指彼此的镜像不重叠的化合物的两种立体异构体。相反,“非对映异构体”是指具有两个或更多个不对称中心并且其分子不互成镜像的立体异构体。

[0098] 而且,“立体选择性方法”是指优先于反应产物的其它可能的立体异构体而制备反应产物中的特定立体异构体的方法。“对映选择性方法”是指偏向于制备反应产物的两种可能的对映异构体之一的方法。

[0099] 术语“位置异构体”是本领域公知的并且是指具有相同的分子式但原子的连接方式不同的化合物。相应地,“位置选择性方法”是指相比其它位置异构体偏向于制备特定位置异构体的方法,例如,反应产生的某些位置异构体的产量在统计学上显著增加。

[0100] 术语“差向异构体”是本领域公知的并且是指具有相同的化学组成并包含一个以上立体中心,但只有这些立体中心之一的构型不同的分子。

[0101] 术语“ED<sub>50</sub>”是本领域公知的。在某些具体实施方案中,ED<sub>50</sub>是指产生 50% 最大响应或作用的药物剂量,或者在 50% 的受试者或制品(preparation)中产生预定响应的剂量。术语“LD<sub>50</sub>”是本领域公知的。在某些具体实施方案中,LD<sub>50</sub>是指 50% 受试者致死的药物剂量。术语“治疗指数”是本领域公知的术语,它是指被定义为 LD<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub> 的药物治疗指数。

[0102] 术语“构效关系”或“SAR”是本领域公知的并且是指改变药物或其它化合物的分子结构来改变其生物活性,例如其与受体、酶、核酸或其他靶点等的相互作用的方式。

[0103] 术语“脂肪族”是本领域公知的并且是指直链、支链、环状烷烃、烯烃或炔烃。在某些具体实施方案中,本发明化合物的脂肪族基团是直链或支链的并具有从 1 到约 20 个碳原子。

[0104] 术语“烷基”是本领域公知的,并且包括饱和脂肪族基团,包括直链烷基、支链烷基、环烷基(脂环基)、烷基取代的环烷基以及环烷基取代的烷基。在某些具体实施方案中,直链或支链烷基在其骨架上具有大约 30 个或更少的碳原子(例如直链为 C<sub>1</sub>–C<sub>30</sub>,支链为 C<sub>3</sub>–C<sub>30</sub>),或者大约 20 个或更少的碳原子。同样,环烷基在其环结构上具有从大约 3 到大约

10 个碳原子,或者在环结构上具有大约 5、6 或 7 个碳。

[0105] 术语“芳烷基”是本领域公知的并且是指由芳基(例如芳基或杂芳基)取代的烷基。

[0106] 术语“烯基”和“炔基”是本领域公知的并且是指长度和可能的取代类似于上述烷基,但分别含有至少一个双键或三键的不饱和脂肪族基团。

[0107] 除非对碳原子数另有说明,“低级烷基”是指如上定义的但在其骨架结构中具有 1 到大约 10 个碳原子,或者 1 到大约 6 个碳原子的烷基。同样,“低级烯基”和“低级炔基”具有相似的链长。

[0108] 术语“杂原子”是本领域公知的并且是指除了碳或氢的任何元素的原子。示范性的杂原子包括硼、氮、氧、磷、硫和硒。

[0109] 术语“芳基”是本领域公知的并且是指可以含有 0 到 4 个杂原子的 5-、6- 和 7- 元单环芳基,例如苯、萘、蒽、芘、吡咯、呋喃、噻吩、咪唑、噁唑、噻唑、三唑、吡唑、吡啶、吡嗪、哒嗪和嘧啶等。那些在环结构上含有杂原子的芳基也可以被称之为“芳杂环”或“杂芳基”。芳环可以在一个或更多个位置上被上述取代基取代,例如卤素、叠氮基(azide)、烷基、芳烷基、烯基、炔基、环烷基、羟基、烷氧基、氨基、硝基、巯基、亚氨基、酰胺基、膦酸根、次膦酸根、羰基、羧基、甲硅烷基、醚、烷硫基、磺酰基、磺酰胺基、酮、醛、酯、杂环基、芳基或杂芳基部分、-CF<sub>3</sub>、-CN 等。术语“芳基”还包括具有 2 个或更多个环的多环系统,其中 2 个或更多个碳为两个相邻的环所共有(该环为“稠环”),其中至少一个环具有芳香性,例如其它环可以是环烷基、环烯基、环炔基、芳基和 / 或杂环基。在化合物 77-88 中,“芳基”被用于指代碳环和杂环芳基。

[0110] 术语“邻”、“间”和“对”是本领域公知的并且分别是指 1,2-、1,3- 和 1,4- 二取代苯。例如,命名为 1,2- 二甲基苯和邻二甲基苯是同义的。

[0111] 术语“杂环基”或“杂环基团”是本领域公知的并且是指 3- 到大约 10 元环结构,或者 3- 到大约 7 元环,其环结构包括 1 到 4 个杂原子。杂环也可以是多环。杂环基团包括例如噻吩、噻蒽、呋喃、吡喃、异苯并呋喃、苯并吡喃、咕吨、苯并咕吨(phenoxyanthene)、吡咯、咪唑、吡唑、异噻唑、异噁唑、吡啶、吡嗪、嘧啶、哒嗪、中氮茚、异吲哚、吲哚、吲唑、嘌呤、喹嗪、异喹啉、喹啉、酞嗪、萘啶、喹喔啉、喹唑啉、噌啉、蝶啶、咔唑、咔啉、菲啶、吖啶、嘧啶、菲咯啉、吩嗪、吩吡嗪、吩噻嗪、呋咱、吩噁嗪、吡咯烷、四氢呋喃(oxolane)、四氢噻吩、噁唑、哌啶、哌嗪、吗啉、内酯、内酰胺如氮杂环丁酮和吡咯烷酮、磺内酰胺、磺内酯等。杂环可以在一个或更多个位置上被上述的取代基取代,例如卤素、烷基、芳烷基、烯基、炔基、环烷基、羟基、氨基、硝基、巯基、亚氨基、酰胺基、膦酸根、次膦酸根、羰基、羧基、甲硅烷基、醚、烷硫基、磺酰基、酮、醛、酯、杂环基、芳基或杂芳基部分、-CF<sub>3</sub>、-CN 等。

[0112] 术语“多环基”或“多环基团”是本领域公知的并且是指两个或更多个环(例如,环烷基、环烯基、环炔基、芳基和 / 或杂环基),其中 2 个或更多个碳为两个相邻的环所共有,例如该环是“稠环”。通过不相邻的原子相连的环称为“桥环”。多环的各个环可以被上述的取代基取代,例如卤素、烷基、芳烷基、烯基、炔基、环烷基、羟基、氨基、硝基、巯基、亚氨基、酰胺基、膦酸根、次膦酸根、羰基、羧基、甲硅烷基、醚、烷硫基、磺酰基、酮、醛、酯、杂环基、芳基或杂芳基部分、-CF<sub>3</sub>、-CN 等。

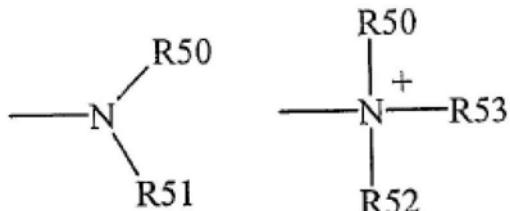
[0113] 术语“碳环”是本领域公知的并且是指环上各个原子为碳的芳香或非芳香环。

[0114] 术语“硝基”是本领域公知的并且是指 -NO<sub>2</sub>; 术语“卤素”是本领域公知的并且是

指  $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$  或  $-I$ ；术语“巯基”是本领域公知的并且是指  $-SH$ ；术语“羟基”是指  $-OH$ ；而术语“磺酰基”是本领域公知的并且是指  $-SO_2^-$ 。“卤化物”指代卤素相应的阴离子，而“拟卤化物”具有在 Cotton 和 Wilkinson 的“高等无机化学(Advanced Inorganic Chemistry) 第 560 页提出的定义。

[0115] 术语“胺”和“氨基”是本领域公知的并且是指未取代或取代的胺，例如可以由以下通式所代表的部分：

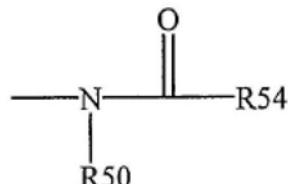
[0116]



[0117] 其中 R50、R51 和 R52 各自独立地代表氢、烷基、烯基、 $-(CH_2)_m-R61$ 、或 R50 和 R51 以及与其相连的 N 原子一起形成环结构中具有 4 到 8 个原子的杂环。R61 代表芳基、环烷基、环烯基、杂环或多环；且  $m$  为 0 或范围为 1 到 8 的整数。在某些具体实施方案中，R50 或 R51 中只有一个可以是羰基，例如 R50、R51 和氮不形成酰亚胺。在其它具体实施方案中，R50 和 R51 (并任选 R52) 各自独立地代表氢、烷基、烯基或  $-(CH_2)_m-R61$ 。因此，术语“烷基胺”包括如上定义的具有连接在胺上的取代或未取代的烷基的胺基，即 R50 和 R51 中至少一个为烷基。

[0118] 术语“酰基氨基”是本领域公知的并且是指可以由以下通式所代表的部分：

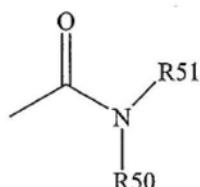
[0119]



[0120] 其中 R50 如上定义，而 R54 代表氢、烷基、烯基或  $-(CH_2)_m-R61$ ，其中  $m$  和 R61 如上定义。

[0121] 术语“酰胺基”在本领域公知为氨基取代的羰基并且包括可以由以下通式所代表的部分：

[0122]

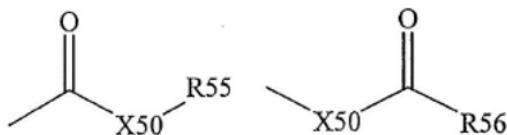


[0123] 其中 R50 和 R51 如上定义。酰胺的某些具体实施方案不包括可能不稳定的酰亚胺。

[0124] 术语“烷硫基”是指如上定义的具有连在烷基上的硫基的烷基。在某些具体实施方案中，“烷硫基”部分是由  $-S-$  烷基、 $-S-$  烯基、 $-S-$  炔基和  $-S-(CH_2)_m-R61$  之一代表，其中  $m$  和 R61 如上定义。代表性的烷硫基包括甲硫基、乙硫基等。

[0125] 术语“羰基”是本领域公知的并且包括可以由以下通式所代表的部分：

[0126]

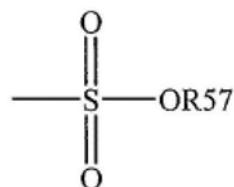


[0127] 其中 X50 为一个键或代表氧或硫，并且 R55 和 R56 代表氢、烷基、烯基、 $-(CH_2)_m-R61$  或药学上可接受的盐，R56 代表氢、烷基、烯基或  $-(CH_2)_m-R61$ ，其中 m 和 R61 如上定义。当 X50 为氧而 R55 或 R56 不是氢时，该通式代表“酯”。当 X50 为氧而 R55 如上定义时，这时的该部分是指羧基，特别是当 R55 为氢时，该通式代表“羧酸”。当 X50 为氧，而 R56 为氢时，该通式代表“甲酸酯”。通常，当上述通式的氧原子被硫代替时，该通式代表“硫代羰基”。当 X50 为硫且 R55 或 R56 不为氢时，该通式代表“硫酯”。当 X50 为硫且 R55 为氢时，该通式代表“硫代羧酸”。当 X50 为硫且 R56 为氢时，该通式代表“硫代甲酸酯(thiolformate)”。另一方面，当 X50 为键，且 R55 不为氢时，上述通式代表“酮”基。当 X50 为键，且 R55 为氢时，上述通式代表“醛”基。

[0128] 术语“烷氧基(alkoxy, alkoxy)”是本领域公知的并且是指具有连接在烷基上的氧基的如上定义的烷基。代表性的烷氧基包括甲氧基、乙氧基、丙氧基、叔丁氧基等。“醚”是由一个氧共价连接的两个烃基。因此，成醚的烷基的取代基是或者类似于烷氧基，例如可以由  $-O-$  烷基、 $-O-$  烯基、 $-O-$  炔基、 $-O-(CH_2)_m-R61$  之一代表，其中 m 和 R61 如上所述。

[0129] 术语“磺酸酯”是本领域公知的并且是指可以由下列通式代表的部分：

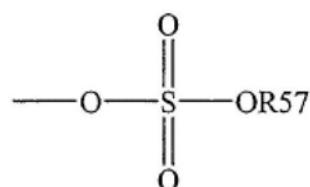
[0130]



[0131] 其中 R57 是电子对、氢、烷基、环烷基或芳基。

[0132] 术语“硫酸酯(sulfate)”是本领域公知的并且包括可以由下列通式代表的部分：

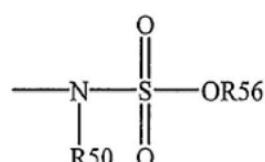
[0133]



[0134] 其中 R57 如上述定义。

[0135] 术语“磺酰胺基”是本领域公知的并且包括可以由下列通式代表的部分：

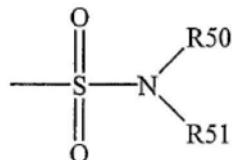
[0136]



[0137] 其中 R50 和 R56 如上述定义。

[0138] 术语“氨磺酰基(sulfamoyl)”是本领域公知的并且是指可由下列通式代表的部分：

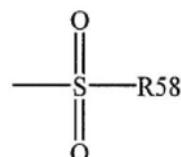
[0139]



[0140] 其中 R50 和 R51 如上述定义。

[0141] 术语“磺酰基”是本领域公知的并且是指可由下列通式代表的部分：

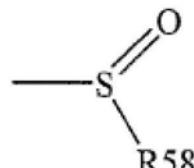
[0142]



[0143] 其中 R58 是以下基团之一：氢、烷基、烯基、炔基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基。

[0144] 术语“亚砜基(sulfoxido)”是本领域公知的并且是指可由下列通式代表的部分：

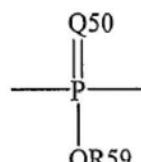
[0145]



[0146] 其中 R58 如上述定义。

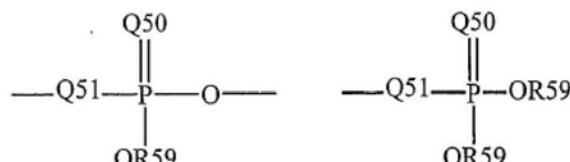
[0147] 术语“磷酰基”是本领域公知的并且通常可由下式所代表：

[0148]



[0149] 其中 Q50 代表 S 或 O，且 R59 代表氢、低级烷基或芳基。当用于取代时，例如烷基，磷酰基烷基的磷酰基可以由以下通式代表：

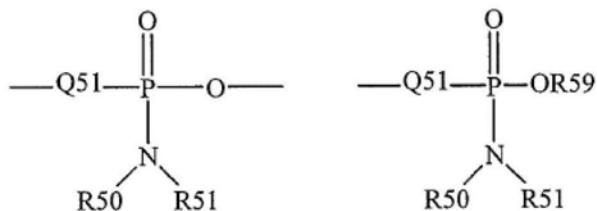
[0150]



[0151] 其中 Q50 和 R59 各自独立地如上述定义，且 Q51 代表 O、S 或 N。当 Q50 为 S，该磷酰基部分为“硫代磷酸酯”。

[0152] 术语“亚磷酰胺(phosphoramidite)”是本领域公知的并且可以由以下通式代表：

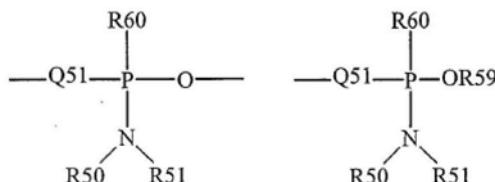
[0153]



[0154] 其中 Q51、R50、R51 和 R59 如上述定义。

[0155] 术语“phosphonamidite”是本领域公知的并且可以由以下通式代表：

[0156]



[0157] 其中 Q51、R50、R51 和 R59 如上述定义，并且 R60 代表低级烷基或芳基。

[0158] 对烯基和炔基可以进行类似的取代以生成，例如氨基烯基、氨基炔基、酰胺基烯基、酰胺基炔基、亚氨基烯基、亚氨基炔基、硫代烯基、硫代炔基、烷基-取代的烯基或炔基。

[0159] 各种表述的定义，例如烷基、m、n 等在任何结构中出现一次以上是为了区别于相同结构中在别处的定义。

[0160] 术语“硒代烷基”是本领域公知的并且是指具有连接在烷基上取代的硒基的烷基。可在烷基上取代的示例性的“硒醚”选自 -Se- 烷基、-Se- 烯基、-Se- 炔基和 -Se- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R61 中之一，m 和 R61 如上述定义。

[0161] 术语三氟甲磺酰基(triflyl)、对甲苯磺酰基(tosyl)、甲磺酰基(mesyl) 和 nonaflyl 是本领域公知的并且分别是指三氟甲磺酰基 (trifluoromethanesulfonyl)、对甲苯磺酰基(p-toluenesulfonyl)、甲磺酰基(methanesulfonyl) 和 全氟丁基磺酰基(nonafluorobutanesulfonyl)。术语三氟甲基磺酸酯(triflate)、对甲苯磺酸酯(tosylate)、甲磺酸酯(mesylate) 和 nonaflate 是本领域公知的并且分别是指包含上述基团的三氟甲磺酰酯(trifluoromethanesulfonate ester)、对甲苯磺酰酯(p-toluenesulfonate ester)、甲磺酰酯(methanesulfonate ester) 和 全氟丁基磺酰酯(nonafluorobutanesulfonate ester) 的功能基团和分子。

[0162] 缩写 Me、Et、Ph、Tf、Nf、Ts 和 Ms 分别代表甲基、乙基、苯基、三氟甲磺酰基、全氟丁基磺酰基、对甲苯磺酰基和甲磺酰基。具有本领域常规技术的有机化学家所使用的更全面的缩写列表刊登在有机化学杂志 (Journal of Organic Chemistry) 每卷的第一期上。该列表通常是以题为“缩写的标准列表” (Standard List of Abbreviations) 的表格形式出现。

[0163] 包含在本发明所述的组合物中的某些化合物可以以特定的几何或立体异构体形式存在。此外，化合物还可以具有光学活性。本发明关注所有这些化合物，包括顺式和反式异构体、R- 和 S- 对映异构体、非对映异构体、(D)- 异构体、(L)- 异构体、其外消旋混合物，及其它混合物。另外的不对称碳原子可以存在于取代基如烷基中。所有这种异构体及其混合物都包括在本发明中。

[0164] 如果，例如希望得到化合物的一种特定对映体，可以通过不对称合成或者通过利

用手性辅助物的衍生来制备,其中分离所得的非对映异构体混合物并除去辅助基团以得到所需的纯的对映体。或者当分子包含碱性功能基如氨基,或酸性功能基如羧基时,用适当的光学活性的酸或碱形成非对映异构体盐,然后通过本领域熟知的分级结晶或色谱方法拆分上述形成的非对映异构体,之后回收纯的对映体。

[0165] 应理解本发明公开的化合物是为了代表该化合物本身,以及该化合物的溶剂化物、共结晶、多晶型 (polymorph) 等。

[0166] 应理解“取代”或“用……取代”包括暗含的条件:该取代是符合被取代原子和取代基所允许的化合价的,并且该取代生成稳定的化合物,例如它不通过如重排、环化、消除或其它反应而自发地转变。

[0167] 术语“取代的”也考虑到包括有机化合物所有允许的取代基。在广泛的范围内,允许的取代基包括有机化合物的非环状和环状、支链和非支链、碳环和杂环、芳香性和非芳香性的取代基。典型的取代基包括,例如本发明上述的取代基。对于适当的有机化合物,可允许的取代基可以是一种或多种以及相同或不同的。杂原子如氮可以有氢取代基和/或任何满足杂原子化合价的本发明所述的有机化合物的允许的取代基。化合物并非有意通过任何有机化合物允许的取代基的方式来限制。

[0168] 化学元素是根据“化学和物理手册”, CAS 版本, 第 67 版, 1986 – 87” (CAS version, Handbook of Chemistry and Physics, 67th Ed., 1986-87) 中包含的元素周期表确定的。

[0169] 术语“保护基团”是本领域公知的并且是指保护潜在的反应性功能基团不发生不希望的化学转化的临时性取代基。这种保护基的例子分别包括羧酸的酯、醇的甲基硅醚以及醛和酮的缩醛和缩酮。保护基团化学的领域已经由 Greene 和 Wuts 在“有机合成的保护基团”第二版 (Protective Groups in Organic Synthesis (2<sup>nd</sup> ed., Wiley:New York, 1991)) 中进行了综述。

[0170] 术语“羟基保护基团”是本领域公知的并且是指那些用于保护羟基在合成过程中不发生不希望的反应的基团,并且包括例如本领域已知的苄基或其它适当的酯或醚基。

[0171] 术语“羧基保护基”是本领域公知的并且是指那些用于保护羧酸基团,如氨基酸或肽的 C- 末端或酸性或羟基氮杂 **䓬** 环 (azepine ring) 取代基在合成过程中不发生不希望的反应的基团。羧基保护基的例子包括,例如苄基酯、环己基酯、4- 硝基苄基酯、叔丁基酯、4- 吡啶甲基酯等。

[0172] 术语“氨基阻断基团”是本领域公知的并且是指能防止氨基参与在一些其它功能基上进行的反应,但当需要时可以从胺上除去的基团。这种基团在上文引用的 Greene 和 Wuts 的 Ch. 7 以及 Barton 的“有机化学中的保护基团” (Protective Groups in Organic Chemistry ch. 2) (McOmic 编, Plenum Press, New York, 1973) 中已被讨论。适当的基团的例子包括酰基保护基,举例说明,如甲酰基、丹磺酰基 (dansyl)、乙酰基、苯甲酰基、三氟乙酰基、琥珀酰基、甲氧基琥珀酰基、苄基和取代的苄基,如 3,4- 二甲氧基苄基、邻 - 硝基苄基以及三苯甲基;具有通式 -COOR 的基团,其中 R 包括如甲基、乙基、丙基、异丙基、2,2,2- 三氯乙基、1- 甲基-1- 苯乙基、异丁基、叔 - 丁基、叔 - 戊基、乙烯基、烯丙基、苯基、苄基、对 - 硝基苄基、邻 - 硝基苄基和 2,4- 二氯苄基的基团;酰基和取代的酰基,如甲酰基、乙酰基、氯乙酰基、二氯乙酰基、三氯乙酰基、三氟乙酰基、苯甲酰基和对 - 甲氧基苯甲酰基;以及其他基

团,如甲磺酰基、对-甲苯磺酰基、对-溴苯磺酰基、对-硝基苯乙基和对-甲苯磺酰基氨基簇基。优选的氨基阻断基团为苄基(-CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)、酰基[C(0)R1]或SiR1<sub>3</sub>,其中R1为C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>烷基、卤代甲基或2-卤代的-(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>烷氧基),芳香脲烷(urethane)保护基,例如簇基苄氧基(Cbz);以及脂肪族脲烷(urethane)保护基,如叔-丁氧簇基(Boc)或9-芴基(fluorenyl)甲氧基簇基(FMOC)。

[0173] 各种表述的定义,例如低级烷基、m、n、p等在任何结构中出现一次以上是为了区别于相同结构在别处的定义。

[0174] 术语“吸电子基团”是本领域公知的并且是指取代基从邻近原子吸引价电子的趋势,即该取代基对邻近原子来说是带负电的。吸电子能力水平的定量由Hammett sigma(σ)常数给出。这一熟知的常数在许多参考资料中有记载,例如March的“高等有机化学”第251至259页(Advanced Organic Chemistry251-59)(McGraw Hill Book Company:New York, 1977)。Hammett常数值对供电子基团来说通常为负值(NH<sub>2</sub>的σ(P)=-0.66),而对吸电子基团来说为正值(硝基的σ(P)=0.78)。σ(P)表明对位取代。示例性的吸电子基团包括硝基、酰基、甲酰基、磺酰基、三氟甲基、氰基、氯等。示例性的供电子基团包括氨基、甲氨基等。

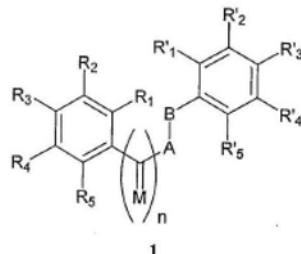
[0175] I. 用于提高 sirtuin 蛋白的活性或蛋白水平的示例性方法和组合物

[0176] 在一个具体实施方案中,示例性的 Sirtuin 活化化合物为 Howitz 等在(2003) Nature425:191 中所描述的化合物,包括例如,白藜芦醇(3,5,4'-三羟基-反式-二苯乙烯)、紫铆因(3,4,2',4'-四羟基查耳酮)、白皮杉醇(piceatannol,3,5,3',4'-四羟基-反式-二苯乙烯)、异甘草素(4,2',4'-三羟基查耳酮)、漆黄素(3,7,3',4'-四羟基黄酮)、槲皮素(3,5,7,3',4'-五羟基黄酮)、去氧土大黄昔(deoxyrhapontin,3,5-二羟基-4'-甲氧基二苯乙烯3-0-β-D-葡萄糖昔)、反式-二苯乙烯、土大黄昔(3,3',5-三羟基-4'-甲氧基二苯乙烯3-0-β-D-葡萄糖昔)、顺式-二苯乙烯、紫铆因(3,4,2',4'-四羟基查耳酮)、3,4,2'4'6'-五羟基查耳酮、查耳酮、7,8,3',4'-四羟基黄酮、3,6,2',3'-四羟基黄酮、4'-羟基黄酮、5,4'-二羟基黄酮、5,7-二羟基黄酮、桑色素(3,5,7,2',4'-五羟基黄酮)、黄酮、5-羟基黄酮、(-)-表儿茶素(羟基位置:3,5,7,3',4')、(-)-儿茶素(羟基位置:3,5,7,3',4')、(-)-没食子儿茶素(羟基位置:3,5,7,3',4',5')、(+)-儿茶素(羟基位置:3,5,7,3',4')、5,7,3',4',5'-五羟基黄酮、木犀草素(5,7,3',4'-四羟基黄酮)、3,6,3',4'-四羟基黄酮、7,3',4',5'-四羟基黄酮、山奈酚(Kaempferol,3,5,7,4'-四羟基黄酮)、6-羟基芹菜素(Hydroxyapigenin,5,6,7,4'-四羟基黄酮)、黄芩素(scutellarein)、芹菜素(5,7,4'-三羟基黄酮)、3,6,2',4'-四羟基黄酮、7,4'-二羟基黄酮、大豆黄酮(daidzein,7,4'-二羟基异黄酮)、染料木黄酮(genistein,5,7,4'-三羟基黄烷酮)、柚皮素(5,7,4'-三羟基黄烷酮)、3,5,7,3',4'-五羟基黄烷酮、黄烷酮、氯化天竺葵色素(3,5,7,4'-四羟基氯化黄连羊盐)、日柏醇(b-崖柏素、2-羟基-4-异丙基-2,4,6-环庚三烯-1-酮)、L-(+)-麦角硫因((S)-a-羧基-2,3-二氢-N,N,N-三甲基-2-硫代-1H-咪唑-4-乙铵(ethanaminium)内盐)、咖啡酸苯酯、MCI-186(3-甲基-1-苯基-2-吡唑啉-5-酮)、HBED(N,N'-二-(2-羟基苄基)乙二胺-N,N'-二乙酸·H2O)、氨溴索(反式-4-(2-氨基-3,5-二溴苄基氨基)环己胺·HCl 以及 U-83836E((-)-2-(4-(2,6-二-1-吡咯烷基-4-嘧啶基)-1-哌嗪(piperzainyl)甲基)-3,4-二

氢-2,5,7,8-四甲基-2H-1-苯并吡喃-6-醇·2HCl)。其类似物和衍生物也可使用。

[0177] 其它 Sirtuin 活化化合物可具有以下任何通式 1-25、30、32-65 和 69-88。在一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 1 所示的二苯乙烯或查耳酮化合物：

[0178]



[0179] 其中,各个变量(occurrence)彼此独立,

[0180]  $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R'_1, R'_2, R'_3, R'_4$  和  $R'_5$  代表 H、烷基、芳基、杂芳基、芳烷基、烷芳基、杂芳基烷基、卤化物、 $NO_2$ 、 $SR$ 、 $OR$ 、 $N(R)_2$  或羧基；

[0181]  $R$  代表 H、烷基、芳基、杂芳基或芳烷基；

[0182]  $M$  代表 O、 $NR$  或 S；

[0183]  $A-B$  代表二价烷基、烯基、炔基、酰胺基、磺酰胺基、重氮基、醚、烷基氨基、烷基硫(alkylsulfide)、羟胺或肼基；以及

[0184]  $n$  为 0 或 1。

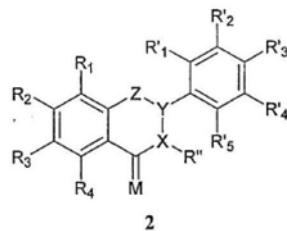
[0185] 在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 1 及其附带定义的化合物,其中  $n$  为 0。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 1 及其附带定义的化合物,其中  $n$  为 1。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 1 及其附带定义的化合物,其中  $A-B$  为乙烯基。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 1 及其附带定义的化合物,其中  $A-B$  为  $-CH_2CH(Me)CH(Me)CH_2-$ 。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 1 及其附带定义的化合物,其中  $M$  为 0。在一个更具体的实施方案中,方法包括具有通式 1 及其附带定义的化合物,其中  $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R'_1, R'_2, R'_3, R'_4$  和  $R'_5$  为 H。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 1 及其附带定义的化合物,其中  $R_2, R_4$  和  $R'_3$  为 OH。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 1 及其附带定义的化合物,其中  $R_2, R_4, R'_2$  和  $R'_3$  为 OH。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 1 及其附带定义的化合物,其中  $R_3, R_5, R'_2$  和  $R'_3$  为 OH。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 1 及其附带定义的化合物,其中  $R_1, R_3, R_5, R'_2$  和  $R'_3$  为 OH。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 1 及其附带定义的化合物,其中  $R_2$  和  $R'_2$  为 OH;  $R_4$  为  $O-\beta-D-$  葡萄糖苷;并且  $R'_3$  为  $OCH_3$ 。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 1 及其附带定义的化合物,其中  $R_2$  为 OH;  $R_4$  为  $O-\beta-D-$  葡萄糖苷;并且  $R'_3$  为  $OCH_3$ 。

[0186] 在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 1 及其附带定义的化合物,其中  $n$  为 0;  $A-B$  为乙烯基;并且  $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R'_1, R'_2, R'_3, R'_4$  和  $R'_5$  为 H(反式二苯乙烯)。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 1 及其附带定义的化合物,其中  $n$  为 1;  $A-B$  为乙烯基;  $M$  为 0;并且  $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R'_1, R'_2, R'_3, R'_4$  和  $R'_5$  为 H(查耳酮)。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 1 及其附带定

义的化合物,其中 n 为 0 ;A-B 为乙烯基 ;R<sub>2</sub>、R<sub>4</sub> 和 R'<sub>3</sub> 为 OH ;且 R<sub>1</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>5</sub>、R'<sub>1</sub>、R'<sub>2</sub>、R'<sub>4</sub> 和 R'<sub>5</sub> 为 H (白藜芦醇)。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 1 及其附带定义的化合物,其中 n 为 0 ;A-B 为乙烯基 ;R<sub>2</sub>、R<sub>4</sub>、R'<sub>2</sub> 和 R'<sub>3</sub> 为 OH ;并且 R<sub>1</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>5</sub>、R'<sub>1</sub>、R'<sub>4</sub> 和 R'<sub>5</sub> 为 H (白皮杉醇)。在一个更具体的实施方案中,Sirtuin 活化化合物为具有通式 1 及其附带定义的化合物,其中 n 为 1 ;A-B 为乙烯基 ;M 为 0 ;R<sub>3</sub>、R<sub>5</sub>、R'<sub>2</sub> 和 R'<sub>3</sub> 为 OH ;R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>4</sub>、R'<sub>1</sub>、R'<sub>4</sub> 和 R'<sub>5</sub> 为 H (紫铆因)。在一个更具体的实施方案中,Sirtuin 活化化合物为具有通式 1 及其附带定义的化合物,其中 n 为 1 ;A-B 为乙烯基 ;M 为 0 ;R<sub>1</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>5</sub>、R'<sub>2</sub> 和 R'<sub>3</sub> 为 OH ;R<sub>2</sub>、R<sub>4</sub>、R'<sub>1</sub>、R'<sub>4</sub> 和 R'<sub>5</sub> 为 H (3,4,2',4',6'-五羟基查耳酮)。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 1 及其附带定义的化合物,其中 n 为 0 ;A-B 为乙烯基 ;R<sub>2</sub> 和 R'<sub>2</sub> 为 OH, R<sub>4</sub> 为 0-β-D-葡萄糖昔, R'<sub>3</sub> 为 OCH<sub>3</sub>;R<sub>1</sub>、R<sub>3</sub>、R'<sub>1</sub>、R'<sub>4</sub> 和 R'<sub>5</sub> 为 H (土大黄昔)。在一个更具体的实施方案中,Sirtuin 活化化合物为具有通式 1 及其附带定义的化合物,其中 n 为 0 ;A-B 为乙烯基 ;R<sub>2</sub> 为 OH, R<sub>4</sub> 为 0-β-D-葡萄糖昔, R'<sub>3</sub> 为 OCH<sub>3</sub>;并且 R<sub>1</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>5</sub>、R'<sub>1</sub>、R'<sub>2</sub>、R'<sub>4</sub> 和 R'<sub>5</sub> 为 H (去氧土大黄昔)。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 1 及其附带定义的化合物,其中 n 为 0 ;A-B 为 -CH<sub>2</sub>CH(Me)CH(Me)CH<sub>2</sub>- ;R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R'<sub>2</sub> 和 R'<sub>3</sub> 为 OH ;R<sub>1</sub>、R<sub>4</sub>、R'<sub>1</sub>、R'<sub>4</sub> 和 R'<sub>5</sub> 为 H (NDGA)。

[0187] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 2 所示的黄烷酮化合物 :

[0188]



[0189] 其中,每个变量彼此独立,

[0190] R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R'<sub>1</sub>、R'<sub>2</sub>、R'<sub>3</sub>、R'<sub>4</sub>、R'<sub>5</sub> 和 R" 代表 H、烷基、芳基、杂芳基、芳烷基、烷芳基、杂芳基烷基、卤化物、NO<sub>2</sub>、SR、OR、N(R)<sub>2</sub> 或羧基 ;

[0191] R 代表 H、烷基、芳基、杂芳基或芳烷基 ;

[0192] M 代表 H<sub>2</sub>、O、NR 或 S

[0193] Z 代表 CR、O、NR 或 S

[0194] X 代表 CR 或 N ;以及

[0195] Y 代表 CR 或 N。

[0196] 在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 2 及其附带定义的化合物,其中 X 和 Y 均为 CH。在一个更具体的实施方案中,Sirtuin 活化化合物为具有通式 2 及其附带定义的化合物,其中 M 为 0。在一个更具体的实施方案中,Sirtuin 活化化合物为具有通式 2 及其附带定义的化合物,其中 M 为 H<sub>2</sub>。在一个更具体的实施方案中,Sirtuin 活化化合物为具有通式 2 及其附带定义的化合物,其中 Z 为 0。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 2 及其附带定义的化合物,其中 R" 为 H。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 2 及其附带定义的化合物,其中 R" 为 OH。在一个更具体的实施方案中,Sirtuin 活化化合物为具有通式 2 及其附带定义的化合物,其中 R" 为 烷氧羰基。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 2 及其附带

定义的化合物,其中  $R_1$  为 。在一个更具体的实施方案中,Sirtuin 活化化合物为

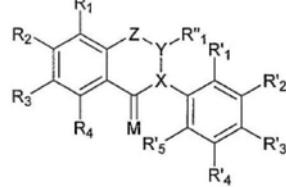
具有通式 2 及其附带定义的化合物, 其中  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R'_1$ 、 $R'_2$ 、 $R'_3$ 、 $R'_4$ 、 $R'_5$  和  $R''$  为 H。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 2 及其附带定义的化合物, 其中  $R_2$ 、 $R_4$  和  $R'_3$  为 OH。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 2 及其附带定义的化合物, 其中  $R_4$ 、 $R'_2$ 、 $R'_3$  和  $R''$  为 OH。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 2 及其附带定义的化合物, 其中  $R_2$ 、 $R_4$ 、 $R'_2$ 、 $R'_3$  和  $R''$  为 OH。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 2 及其附带定义的化合物, 其中  $R_2$ 、 $R_4$ 、 $R'_2$ 、 $R'_3$  和  $R''$  为 OH。

[0197] 在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 2 及其附带定义的化合物, 其中 X 和 Y 为 CH; M 为 0; Z 为 0; R'' 为 H; R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R'<sub>1</sub>、R'<sub>2</sub>、R'<sub>3</sub>、R'<sub>4</sub>、R'<sub>5</sub> 和 R'' 为 H (黄烷酮)。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 2 及其附带定义的化合物, 其中 X 和 Y 为 CH; M 为 0; Z 为 0; R'' 为 H; R<sub>2</sub>、R<sub>4</sub> 和 R'<sub>3</sub> 为 OH; R<sub>1</sub>、R<sub>3</sub>、R'<sub>1</sub>、R'<sub>2</sub>、R'<sub>4</sub> 和 R'<sub>5</sub> 为 H (柚皮素)。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 2 及其附带定义的化合物, 其中 X 和 Y 为 CH; M 为 0; Z 为 0; R'' 为 OH; R<sub>2</sub>、R<sub>4</sub>、R'<sub>2</sub> 和 R'<sub>3</sub> 为 OH; R<sub>1</sub>、R<sub>3</sub>、R'<sub>1</sub>、R'<sub>4</sub> 和 R'<sub>5</sub> 为 H (3,5,7,3',4'-五羟基黄烷酮)。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 2 及其附带定义的化合物, 其中 X 和 Y 为 CH; M 为 H<sub>2</sub>; Z 为 0; R'' 为 OH; R<sub>2</sub>、R<sub>4</sub>、R'<sub>2</sub> 和 R'<sub>3</sub> 为 OH; 并且 R<sub>1</sub>、R<sub>3</sub>、R'<sub>1</sub>、R'<sub>4</sub> 和 R'<sub>5</sub> 为 H (表儿茶素)。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 2 及其附带定义的化合物, 其中 X 和 Y 为 CH; M 为 H<sub>2</sub>; Z 为 0; R'' 为 OH; R<sub>2</sub>、R<sub>4</sub>、R'<sub>2</sub>、R'<sub>3</sub> 和 R'<sub>4</sub> 为 OH; R<sub>1</sub>、R<sub>3</sub>、R'<sub>1</sub> 和 R'<sub>5</sub> 为 H (没食子儿茶素)。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 2 及其附带定义的

500007 有且一个且仅当在室上 G1 之演化化

[0198] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 3 所示的异黄烷酮化合物:

[0199]



3

[0200] 其中,每个变量彼此独立,

[0201]  $R_1, R_2, R_3, R_4, R'_1, R'_2, R'_3, R'_4, R'_5$  和  $R''_1$  代表 H、烷基、芳基、杂芳基、芳烷基、烷芳基、杂芳基烷基、卤化物、 $NO_2$ 、 $SR$ 、 $OR$ 、 $N(R)_2$  或羧基；

[0202] R 代表 H、烷基、芳基、杂芳基或芳烷基；

[0203] M 代表 H<sub>2</sub>、O、NR 或 S；

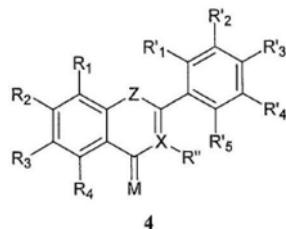
[0204] Z 代表 C(R)<sub>2</sub>、0、NR 或 S；

[0205] X 代表 CR 或 N; 以及

[0206] Y 代表 CR 或 N。

[0207] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 4 所示的黄酮化合物：

[0208]



[0209] 其中, 每个变量彼此独立,

[0210]  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R'_1$ 、 $R'_2$ 、 $R'_3$ 、 $R'_4$  和  $R'_5$  代表 H、烷基、芳基、杂芳基、芳烷基、烷芳基、杂芳基烷基、卤化物、 $NO_2$ 、SR、OR、 $N(R)_2$  或羧基；

[0211] R 代表 H、烷基、芳基、杂芳基或芳烷基；

[0212] M 代表  $H_2$ 、0、NR 或 S；

[0213] Z 代表 CR、0、NR 或 S；以及

[0214] X 代表 CR'' 或 N, 其中

[0215]  $R''$  为 H、烷基、芳基、杂芳基、烷芳基、杂芳基烷基、卤化物、 $NO_2$ 、SR、OR、 $N(R)_2$  或羧基。

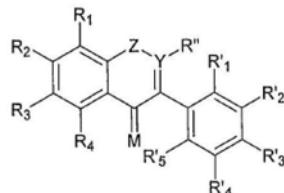
[0216] 在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物, 其中 X 为 C。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物, 其中 X 为 CR。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物, 其中 Z 为 0。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物, 其中 M 为 0。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物, 其中  $R''$  为 H。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物, 其中  $R''$  为 OH。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物, 其中  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R'_1$ 、 $R'_2$ 、 $R'_3$ 、 $R'_4$  和  $R'_5$  为 H。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物, 其中  $R_2$ 、 $R'_2$  和  $R'_3$  为 OH。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物, 其中  $R_2$ 、 $R_4$ 、 $R'_2$ 、 $R'_3$  和  $R'_4$  为 OH。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物, 其中  $R_2$ 、 $R_4$ 、 $R'_2$  和  $R'_3$  为 OH。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物, 其中  $R_2$ 、 $R_4$ 、 $R'_2$  和  $R'_3$  为 OH。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物, 其中  $R_2$ 、 $R'_2$ 、 $R'_3$  和  $R'_4$  为 OH。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物, 其中  $R_2$ 、 $R_4$  和  $R'_3$  为 OH。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物, 其中  $R_2$ 、 $R_3$ 、 $R_4$  和  $R'_3$  为 OH。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物, 其中  $R_2$ 、 $R_4$  和  $R'_3$  为 OH。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物, 其中  $R_3$ 、 $R'_1$  和  $R'_3$  为 OH。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物,

合物,其中  $R_2$  和  $R'_3$  为 OH。在一个更具体的实施方案中,Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物,其中  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R'_2$  和  $R'_3$  为 OH。在一个更具体的实施方案中,Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物,其中  $R_3$ 、 $R'_1$  和  $R'_2$  为 OH。在一个更具体的实施方案中,Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物,其中  $R'_3$  为 OH。在一个更具体的实施方案中,Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物,其中  $R_4$  和  $R'_3$  为 OH。在一个更具体的实施方案中,Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物,其中  $R_2$  和  $R_4$  为 OH。在一个更具体的实施方案中,Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物,其中  $R_2$ 、 $R_4$ 、 $R'_1$  和  $R'_3$  为 OH。在一个更具体的实施方案中,Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物,其中  $R_4$  为 OH。在一个更具体的实施方案中,Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物,其中  $R_2$ 、 $R_4$ 、 $R'_2$ 、 $R'_3$  和  $R'_4$  为 OH。在一个更具体的实施方案中,Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物,其中  $R_2$ 、 $R'_2$ 、 $R'_3$  和  $R'_4$  为 OH。在一个更具体的实施方案中,Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物,其中  $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_4$ 、 $R'_2$  和  $R'_3$  为 OH。

化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物,其中 X 为 COH ;Z 为 0 ;M 为 0 ;R<sub>3</sub>、R'<sub>1</sub> 和 R'<sub>2</sub> 为 OH ;并且 R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>4</sub>、R'<sub>3</sub>、R'<sub>4</sub> 和 R'<sub>5</sub> 为 H。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物,其中 X 为 CH ;Z 为 0 ;M 为 0 ;R'<sub>3</sub> 为 OH ;R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R'<sub>1</sub>、R'<sub>2</sub>、R'<sub>4</sub> 和 R'<sub>5</sub> 为 H。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物,其中 X 为 CH ;Z 为 0 ;M 为 0 ;R<sub>4</sub> 和 R'<sub>3</sub> 为 OH ;并且 R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R'<sub>1</sub>、R'<sub>2</sub>、R'<sub>4</sub> 和 R'<sub>5</sub> 为 H。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物,其中 X 为 CH ;Z 为 0 ;M 为 0 ;R<sub>2</sub> 和 R<sub>4</sub> 为 OH ;R<sub>1</sub>、R<sub>3</sub>、R'<sub>1</sub>、R'<sub>2</sub>、R'<sub>3</sub>、R'<sub>4</sub> 和 R'<sub>5</sub> 为 H。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物,其中 X 为 COH ;Z 为 0 ;M 为 0 ;R<sub>2</sub>、R<sub>4</sub>、R'<sub>1</sub> 和 R'<sub>3</sub> 为 OH ;R<sub>1</sub>、R<sub>3</sub>、R'<sub>2</sub>、R'<sub>4</sub> 和 R'<sub>5</sub> 为 H。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物,其中 X 为 CH ;Z 为 0 ;M 为 0 ;R<sub>4</sub> 为 OH ;R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R'<sub>1</sub>、R'<sub>2</sub>、R'<sub>3</sub>、R'<sub>4</sub> 和 R'<sub>5</sub> 为 H。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物,其中 X 为 COH ;Z 为 0 ;M 为 0 ;R<sub>2</sub>、R'<sub>2</sub>、R'<sub>3</sub> 和 R'<sub>4</sub> 为 OH ;并且 R<sub>1</sub>、R<sub>3</sub>、R'<sub>1</sub> 和 R'<sub>5</sub> 为 H。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物,其中 X 为 COH ;Z 为 0 ;M 为 0 ;R<sub>2</sub>、R'<sub>2</sub>、R'<sub>3</sub> 和 R'<sub>4</sub> 为 OH ;并且 R<sub>1</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R'<sub>1</sub> 和 R'<sub>5</sub> 为 H。在一个更具体的实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 4 及其附带定义的化合物,其中 X 为 COH ;Z 为 0 ;M 为 0 ;R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>4</sub>、R'<sub>2</sub> 和 R'<sub>3</sub> 为 OH ;并且 R<sub>3</sub>、R'<sub>1</sub>、R'<sub>4</sub> 和 R'<sub>5</sub> 为 H。

[0218] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 5 所示的异黄酮化合物:

[0219]



5

[0220] 其中, 每个变量彼此独立,

[0221]  $R_1, R_2, R_3, R_4, R'_1, R'_2, R'_3, R'_4$  和  $R'_5$  代表 H、烷基、芳基、杂芳基、芳烷基、烷芳基、杂芳基烷基、卤化物、 $NO_2$ 、 $SR$ 、 $OR$ 、 $N(R)_2$  或羧基；

[0222] R 代表 H、烷基、芳基、杂芳基或芳烷基；

[0223] M 代表 H<sub>2</sub>、O、NR 或 S；

[0224] Z 代表 C(R)<sub>2</sub>、0、NR 或 S；以及

[0225] Y 代表 CR" 或 N, 其中

[0226] R" 代表 H、烷基、芳基、杂芳基、烷芳基、杂芳基烷基、卤化物、NO<sub>2</sub>、SR、OR、N(R)<sub>2</sub> 或羧基。

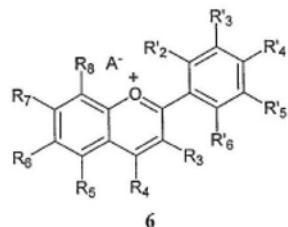
[0227] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 5 及其附带定义的化合物, 其中 Y 为  $CR''$ 。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 5 及其附带定义的化合物, 其中 Y 为  $CH$ 。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 5 及其附带定义的化合物, 其中 Z 为 0。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 5 及其附带定义的化合物, 其中 M 为 0。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 5 及其附带定义的化合物, 其中  $R_2$  和  $R'_3$  为  $OH$ 。在一个更具体实施方案

中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 5 及其附带定义的化合物, 其中  $R_2$ 、 $R_4$  和  $R'_3$  为 OH。

[0228] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 5 及其附带定义的化合物, 其中 Y 为 CH; Z 为 O; M 为 O;  $R_2$  和  $R'_3$  为 OH;  $R_1$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R'_1$ 、 $R'_2$ 、 $R'_4$  和  $R'_5$  为 H。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 5 及其附带定义的化合物, 其中 Y 为 CH; Z 为 O; M 为 O;  $R_2$ 、 $R_4$  和  $R'_3$  为 OH; 并且  $R_1$ 、 $R_3$ 、 $R'_1$ 、 $R'_2$ 、 $R'_4$  和  $R'_5$  为 H。

[0229] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 6 所示的花色素化合物:

[0230]



[0231] 其中, 每个变量彼此独立,

[0232]  $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、 $R_6$ 、 $R_7$ 、 $R_8$ 、 $R'_2$ 、 $R'_3$ 、 $R'_4$ 、 $R'_5$  和  $R'_6$  代表 H、烷基、芳基、杂芳基、芳烷基、烷芳基、杂芳基烷基、卤化物、 $NO_2$ 、 $SR$ 、 $OR$ 、 $N(R)_2$  或羧基;

[0233] R 代表 H、烷基、芳基、杂芳基或芳烷基; 以及

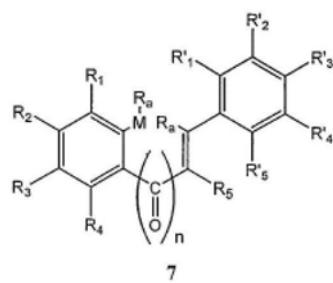
[0234]  $A^-$  代表选自以下的阴离子:  $Cl^-$ 、 $Br^-$  或  $I^-$ 。

[0235] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 6 及其附带定义的化合物, 其中  $A^-$  为  $Cl^-$ 。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 6 及其附带定义的化合物, 其中  $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_7$  和  $R'_4$  为 OH。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 6 及其附带定义的化合物, 其中  $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_7$ 、 $R'_3$  和  $R'_4$  为 OH。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 6 及其附带定义的化合物, 其中  $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_7$ 、 $R'_3$ 、 $R'_4$  和  $R'_5$  为 OH。

[0236] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 6 及其附带定义的化合物, 其中  $A^-$  为  $Cl^-$ ;  $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_7$  和  $R'_4$  为 OH; 并且  $R_4$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R'_2$ 、 $R'_3$ 、 $R'_5$  和  $R'_6$  为 H。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 6 及其附带定义的化合物, 其中  $A^-$  为  $Cl^-$ ;  $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_7$ 、 $R'_3$  和  $R'_4$  为 OH; 并且  $R_4$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R'_2$ 、 $R'_5$  和  $R'_6$  为 H。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为具有通式 6 及其附带定义的化合物, 其中  $A^-$  为  $Cl^-$ ;  $R_3$ 、 $R_5$ 、 $R_7$ 、 $R'_3$ 、 $R'_4$  和  $R'_5$  为 OH; 并且  $R_4$ 、 $R_6$ 、 $R_8$ 、 $R'_2$  和  $R'_6$  为 H。

[0237] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 所示的二苯乙烯、查耳酮或黄酮化合物:

[0238]



[0239] 其中, 每个变量彼此独立,

[0240] M 不存在或为 0；

[0241]  $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R'_1, R'_2, R'_3, R'_4$  和  $R'_5$  代表 H、烷基、芳基、杂芳基、芳烷基、烷芳基、杂芳基烷基、卤化物、 $NO_2$ 、 $SR$ 、 $OR$ 、 $N(R)_2$  或羧基；

[0242]  $R_a$  代表 H 或两个  $R_a$  形成一个键；

[0243] R 代表 H、烷基、芳基、杂芳基、芳烷基；以及

[0244] n 为 0 或 1。

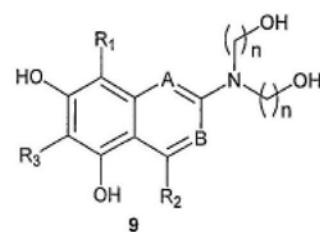
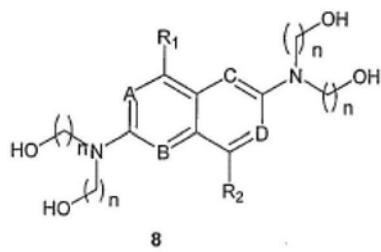
[0245] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的活化化合物, 其中 n 为 0。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的活化化合物, 其中 n 为 1。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的活化化合物, 其中 M 不存在。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的活化化合物, 其中 M 为 0。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的活化化合物, 其中  $R_a$  为 H。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的活化化合物, 其中 M 为 0 并且两个  $R_a$  形成一个键。

[0246] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的活化化合物, 其中  $R_5$  为 H。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的活化化合物, 其中  $R_5$  为 OH。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的活化化合物, 其中  $R_1, R_3$  和  $R'_3$  为 OH。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的活化化合物, 其中  $R_2, R_4, R'_2$  和  $R'_3$  为 OH。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的活化化合物, 其中  $R_2, R'_2$  和  $R'_3$  为 OH。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的活化化合物, 其中  $R_2$  和  $R_4$  为 OH。

[0247] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的化合物, 其中 n 为 0; M 不存在;  $R_a$  为 H;  $R_5$  为 H;  $R_1, R_3$  和  $R'_3$  为 OH; 并且  $R_2, R_4, R'_1, R'_2, R'_4$  和  $R'_5$  为 H。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的活化化合物, 其中 n 为 1; M 不存在;  $R_a$  为 H;  $R_5$  为 H;  $R_2, R_4, R'_2$  和  $R'_3$  为 OH; 并且  $R_1, R_3, R'_1, R'_4$  和  $R'_5$  为 H。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的活化化合物, 其中 n 为 1; M 为 0; 两个  $R_a$  形成一个键;  $R_5$  为 OH;  $R_2, R'_2$  和  $R'_3$  为 OH; 并且  $R_1, R_3, R_4, R'_1, R'_4$  和  $R'_5$  为 H。

[0248] 其它 Sirtuin 活化化合物包括具有选自下列通式 8-25 和 30 的通式的化合物。

[0249]



[0250]  $R_1, R_2=H$ 、芳基、杂环、小烷基  $R_1, R_2=H$ 、芳基、杂环、小烷基

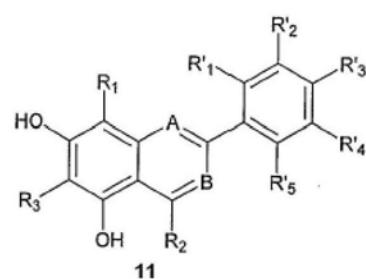
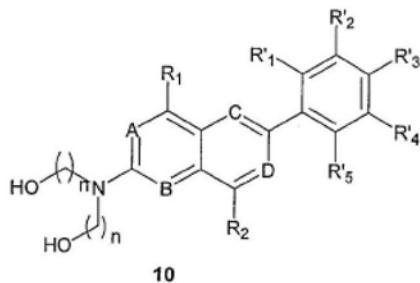
[0251] A、B、C、D=CR<sub>1</sub>、N R3=H、小烷基

[0252] n=0、1、2、3 A、B=CR<sub>1</sub>、N

[0253]

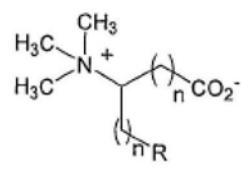
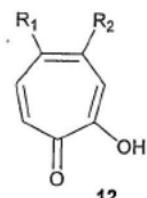
n=0、1、2、3

[0254]

[0255] R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>=H、芳基、杂环、小烷基 R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>=H、芳基、杂环、小烷基[0256] R'1-R'5=H、OH R<sub>3</sub>=H、小烷基[0257] A、B、C、D=CR<sub>1</sub>、N R'1-R'5=H、OH[0258] n=0、1、2、3 A、B=CR<sub>1</sub>、N

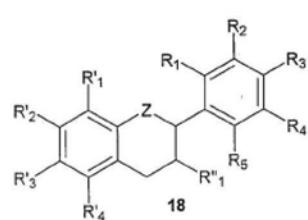
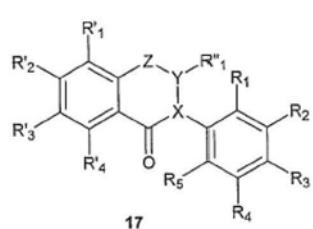
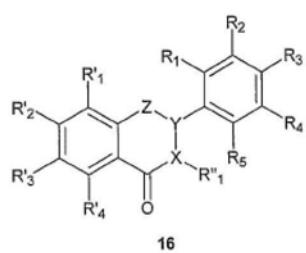
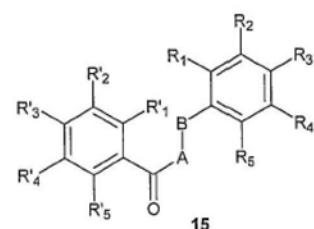
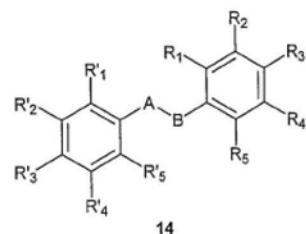
[0259] n=0、1、2、3

[0260]

[0261] R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>=H、烷基、烯基 R= 杂环、芳基

[0262] n=0-10

[0263]

[0264] R<sub>1</sub>=H、卤素、NO<sub>2</sub>、SR (R=H、烷基、芳基)、OR (R=H、烷基、芳基)、NRR' (R、R'=烷基、

芳基)、烷基、芳基、羧基

[0265]  $R_2=H$ 、卤素、 $NO_2$ 、 $SR$  ( $R=H$ 、烷基、芳基)、 $OR$  ( $R=H$ 、烷基、芳基)、 $NRR'$  ( $R, R'=$  烷基、芳基)、烷基、芳基、羧基

[0266]  $R_3=H$ 、卤素、 $NO_2$ 、 $SR$  ( $R=H$ 、烷基、芳基)、 $OR$  ( $R=H$ 、烷基、芳基)、 $NRR'$  ( $R, R'=$  烷基、芳基)、烷基、芳基、羧基

[0267]  $R_4=H$ 、卤素、 $NO_2$ 、 $SR$  ( $R=H$ 、烷基、芳基)、 $OR$  ( $R=H$ 、烷基、芳基)、 $NRR'$  ( $R, R'=$  烷基、芳基)、烷基、芳基、羧基

[0268]  $R_5=H$ 、卤素、 $NO_2$ 、 $SR$  ( $R=H$ 、烷基、芳基)、 $OR$  ( $R=H$ 、烷基、芳基)、 $NRR'$  ( $R, R'=$  烷基、芳基)、烷基、芳基、羧基

[0269]  $R'_1=H$ 、卤素、 $NO_2$ 、 $SR$  ( $R=H$ 、烷基、芳基)、 $OR$  ( $R=H$ 、烷基、芳基)、 $NRR'$  ( $R, R'=$  烷基、芳基)、烷基、芳基、羧基

[0270]  $R'_2=H$ 、卤素、 $NO_2$ 、 $SR$  ( $R=H$ 、烷基、芳基)、 $OR$  ( $R=H$ 、烷基、芳基)、 $NRR'$  ( $R, R'=$  烷基、芳基)、烷基、芳基、羧基

[0271]  $R'_3=H$ 、卤素、 $NO_2$ 、 $SR$  ( $R=H$ 、烷基、芳基)、 $OR$  ( $R=H$ 、烷基、芳基)、 $NRR'$  ( $R, R'=$  烷基、芳基)、烷基、芳基、羧基

[0272]  $R'_4=H$ 、卤素、 $NO_2$ 、 $SR$  ( $R=H$ 、烷基、芳基)、 $OR$  ( $R=H$ 、烷基、芳基)、 $NRR'$  ( $R, R'=$  烷基、芳基)、烷基、芳基、羧基

[0273]  $R'_5=H$ 、卤素、 $NO_2$ 、 $SR$  ( $R=H$ 、烷基、芳基)、 $OR$  ( $R=H$ 、烷基、芳基)、 $NRR'$  ( $R, R'=$  烷基、芳基)、烷基、芳基、羧基

[0274]  $R''_1=H$ 、卤素、 $NO_2$ 、 $SR$  ( $R=H$ 、烷基、芳基)、 $OR$  ( $R=H$ 、烷基、芳基)、 $NRR'$  ( $R, R'=$  烷基、芳基)、烷基、芳基、羧基

[0275]  $A-B=$  乙烯、乙炔、酰胺、磺酰胺、重氮基、烷基醚、烷基胺、烷基硫、羟胺、肼

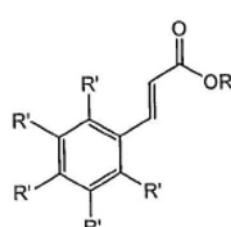
[0276]  $X=CR, N$

[0277]  $Y=CR, N$

[0278]  $Z=O, S, C(R)_2, NR$

[0279]  $R=H$ 、烷基、芳基、芳烷基

[0280]



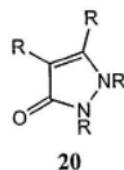
19

[0281] 其中, 每个变量彼此独立,

[0282]  $R=H$ 、烷基、芳基、杂环基、杂芳基或芳烷基; 以及

[0283]  $R'=H$ 、卤素、 $NO_2$ 、 $SR$ 、 $OR$ 、 $NR_2$ 、烷基、芳基或羧基。

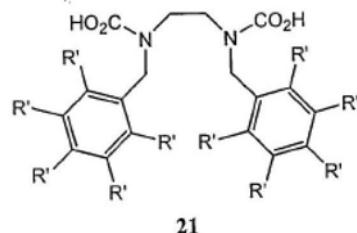
[0284]



[0285] 其中,每个变量彼此独立,

[0286] R=H、烷基、芳基、杂环基、杂芳基或芳烷基。

[0287]

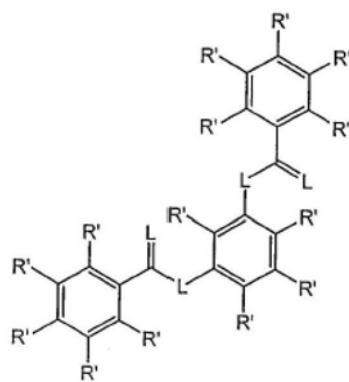


[0288] 其中,每个变量彼此独立,

[0289] R'=H、卤素、NO<sub>2</sub>、SR、OR、NR<sub>2</sub>、烷基、芳基、芳烷基或羧基;以及

[0290] R=H、烷基、芳基、杂环基、杂芳基或芳烷基。

[0291]



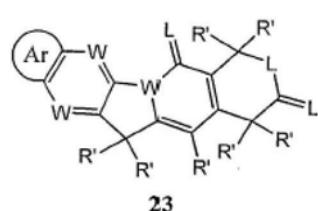
[0292] 其中,每个变量彼此独立,

[0293] L 代表 CR<sub>2</sub>、O、NR 或 S;

[0294] R 代表 H、烷基、芳基、芳烷基或杂芳基烷基;以及

[0295] R' 代表 H、卤素、NO<sub>2</sub>、SR、OR、NR<sub>2</sub>、烷基、芳基、芳烷基或羧基。

[0296]

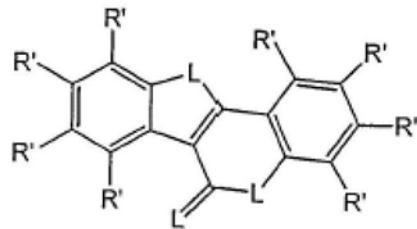


[0297] 其中,每个变量彼此独立,

[0298] L 代表 CR<sub>2</sub>、O、NR 或 S;

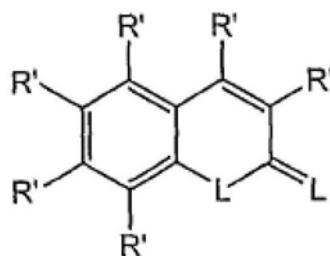
[0299] W 代表 CR 或 N;

- [0300] R 代表 H、烷基、芳基、芳烷基或杂芳基烷基；
- [0301] Ar 代表稠合芳环或芳杂环；以及
- [0302] R' 代表 H、卤素、NO<sub>2</sub>、SR、OR、NR<sub>2</sub>、烷基、芳基、芳烷基或羧基。
- [0303]



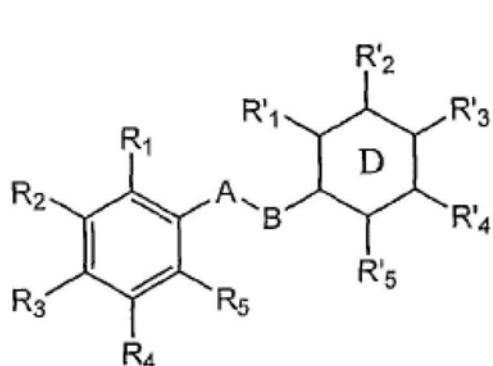
24

- [0304] 其中，每个变量彼此独立，
- [0305] L 代表 CR<sub>2</sub>、O、NR 或 S；
- [0306] R 代表 H、烷基、芳基、芳烷基或杂芳基烷基；且
- [0307] R' 代表 H、卤素、NO<sub>2</sub>、SR、OR、NR<sub>2</sub>、烷基、芳基、芳烷基或羧基。
- [0308]



25

- [0309] 其中，每个变量彼此独立，
- [0310] L 代表 CR<sub>2</sub>、O、NR 或 S；
- [0311] R 代表 H、烷基、芳基、芳烷基或杂芳基烷基；且
- [0312] R' 代表 H、卤素、NO<sub>2</sub>、SR、OR、NR<sub>2</sub>、烷基、芳基、芳烷基或羧基。
- [0313] 在一个更具体实施方案中，Sirtuin 活化化合物为通式 30 所示的二苯乙烯、查耳酮或黄酮化合物：
- [0314]



30

- [0315] 其中，每个变量彼此独立，

[0316] D 为苯基或环己基；

[0317]  $R_1, R_2, R_3, R_4, R_5, R'_1, R'_2, R'_3, R'_4$  和  $R'_5$  代表 H、烷基、芳基、杂芳基、烷芳基、杂芳基烷基、卤化物、 $NO_2$ 、 $SR$ 、 $OR$ 、 $N(R)_2$ 、羧基、叠氮基、醚；或任意两个相邻的 R 或 R' 一起组成稠合的苯环或环己基；

[0318] R 代表 H、烷基、芳基或芳烷基；以及

[0319] A-B 代表乙烯基、亚乙烯基或亚胺基；

[0320] 条件是 A-B 为亚乙烯基时，D 为苯基，并且  $R'_3$  为 H；当  $R_1, R_2, R_4$  和  $R_5$  为 H 时， $R_3$  不为 OH；并且当  $R_1, R_3$  和  $R_5$  为 H 时， $R_2$  和  $R_4$  不为 OMe；当  $R_1, R_2, R_4$  和  $R_5$  为 H 时， $R_3$  不为 OMe。

[0321] 在一个更具体实施方案中，Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物，其中 D 为苯基。

[0322] 在一个更具体实施方案中，Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物，其中 A-B 为亚乙烯基或亚胺基。

[0323] 在一个更具体实施方案中，Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物，其中 A-B 为亚乙烯基。

[0324] 在一个更具体实施方案中，Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物，其中  $R_2$  为 OH。

[0325] 在一个更具体实施方案中，Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物，其中  $R_4$  为 OH。

[0326] 在一个更具体实施方案中，Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物，其中  $R_2$  和  $R_4$  为 OH。

[0327] 在一个更具体实施方案中，Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物，其中 D 为苯基；并且 A-B 为亚乙烯基。

[0328] 在一个更具体实施方案中，Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物，其中 D 为苯基；A-B 为亚乙烯基； $R_2$  和  $R_4$  为 OH。

[0329] 在一个更具体实施方案中，Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物，其中 A-B 为亚乙烯；D 为苯环； $R_2$  和  $R_4$  为 OH；并且  $R'_3$  为 Cl。

[0330] 在一个更具体实施方案中，Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物，其中 A-B 为亚乙烯；D 为苯环； $R_2$  和  $R_4$  为 OH；并且  $R'_3$  为 OH。

[0331] 在一个更具体实施方案中，Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物，其中 A-B 为亚乙烯；D 为苯环； $R_2$  和  $R_4$  为 OH；并且  $R'_3$  为 H。

[0332] 在一个更具体实施方案中，Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物，其中 A-B 为亚乙烯；D 为苯环； $R_2$  和  $R_4$  为 OH；并且  $R'_3$  为  $CH_2CH_3$ 。

[0333] 在一个更具体实施方案中，Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物，其中 A-B 为亚乙烯；D 为苯环； $R_2$  和  $R_4$  为 OH；并且  $R'_3$  为 F。

[0334] 在一个更具体实施方案中，Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物，其中 A-B 为亚乙烯；D 为苯环； $R_2$  和  $R_4$  为 OH；并且  $R'_3$  为 Me。

[0335] 在一个更具体实施方案中，Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物，其中 A-B 为亚乙烯；D 为苯环； $R_2$  和  $R_4$  为 OH；并且  $R'_3$  为 叠氮基。

[0336] 在一个更具体实施方案中，Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的

化合物,其中 A-B 为亚乙烯;D 为苯环;R<sub>2</sub> 和 R<sub>4</sub> 为 OH;并且 R'<sub>3</sub> 为 SMe。

[0337] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物,其中 A-B 为亚乙烯;D 为苯环;R<sub>2</sub> 和 R<sub>4</sub> 为 OH;并且 R'<sub>3</sub> 为 NO<sub>2</sub>。

[0338] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物,其中 A-B 为亚乙烯;D 为苯环;R<sub>2</sub> 和 R<sub>4</sub> 为 OH;R'<sub>3</sub> 为 CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>。

[0339] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物,其中 A-B 为亚乙烯;D 为苯环;R<sub>2</sub> 和 R<sub>4</sub> 为 OH;并且 R'<sub>3</sub> 为 OMe。

[0340] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物,其中 A-B 为亚乙烯;D 为苯环;R<sub>2</sub> 和 R<sub>4</sub> 为 OH;R'<sub>2</sub> 为 OH;R'<sub>3</sub> 为 OMe。

[0341] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物,其中 A-B 为亚乙烯;D 为苯环;R<sub>2</sub> 为 OH;R<sub>4</sub> 为羧基;并且 R'<sub>3</sub> 为 OH。

[0342] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物,其中 A-B 为亚乙烯;D 为苯环;R<sub>2</sub> 和 R<sub>4</sub> 为 OH;并且 R'<sub>3</sub> 为 羧基。

[0343] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物,其中 A-B 为亚乙烯;D 为苯环;R<sub>2</sub> 和 R<sub>4</sub> 为 OH;并且 R'<sub>3</sub> 和 R'<sub>4</sub> 一起组成稠合苯环。

[0344] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物,其中 A-B 为亚乙烯;D 为苯环;并且 R<sub>4</sub> 为 OH。

[0345] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物,其中 A-B 为亚乙烯;D 为苯环;R<sub>2</sub> 和 R<sub>4</sub> 为 OCH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>;并且 R'<sub>3</sub> 为 SMe。

[0346] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物,其中 A-B 为亚乙烯;D 为苯环;R<sub>2</sub> 和 R<sub>4</sub> 为 OH;并且 R'<sub>3</sub> 为 羧基。

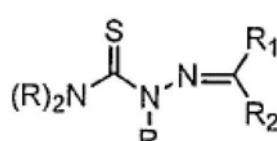
[0347] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物,其中 A-B 为亚乙烯;D 为环己基环;并且 R<sub>2</sub> 和 R<sub>4</sub> 为 OH。

[0348] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物,其中 A-B 为亚乙烯;D 为苯环;并且 R<sub>3</sub> 和 R<sub>4</sub> 为 OMe。

[0349] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 30 及其附带定义所代表的化合物,其中 A-B 为亚乙烯;D 为苯环;R<sub>2</sub> 和 R<sub>4</sub> 为 OH;并且 R'<sub>3</sub> 为 OH。

[0350] 在另一个具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 32 所示的化合物:

[0351]



32

[0352] 其中,每个变量彼此独立,

[0353] R 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;以及

[0354] R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 为取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0355] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 32 及其附带定义所示化合

物,其中 R 为 H。

[0356] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 32 及其附带定义所示化合物,其中 R<sub>1</sub> 为 3- 羟基苯基。

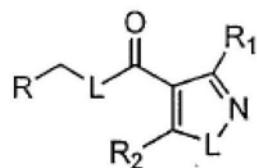
[0357] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 32 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>2</sub> 为甲基。

[0358] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 32 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 H 且 R<sub>1</sub> 为 3- 羟基苯基。

[0359] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 32 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 3- 羟基苯基,并且 R<sub>2</sub> 为甲基。

[0360] 在另一个具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 33 所示的化合物:

[0361]



33

[0362] 其中,每个变量彼此独立,

[0363] R 为 H 或取代的或未取代的烷基、烯基或炔基;

[0364] R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 为取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;以及

[0365] L 为 O、S 或 NR。

[0366] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 33 及其附带定义所示化合物,其中 R 为炔基。

[0367] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 33 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>1</sub> 为 2, 6- 二氯苯基。

[0368] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 33 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>2</sub> 为甲基。

[0369] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 33 及其附带定义所示的化合物,其中 L 为 0。

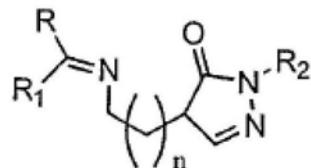
[0370] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 33 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为炔基且 R<sub>1</sub> 为 2, 6- 二氯苯基。

[0371] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 33 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为炔基, R<sub>1</sub> 为 2, 6- 二氯苯基, 并且 R<sub>2</sub> 为甲基。

[0372] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 33 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为炔基, R<sub>1</sub> 为 2, 6- 二氯苯基, R<sub>2</sub> 为甲基, 并且 L 为 0。

[0373] 在另一个具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 34 所示的化合物:

[0374]



34

[0375] 其中,每个变量彼此独立,

[0376] R、R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;以及

[0377] n 为包含 0 至 5 的整数。

[0378] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 34 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 3,5-二氯-2-羟基苯基。

[0379] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 34 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>1</sub> 为 H。

[0380] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 34 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>2</sub> 为 H。

[0381] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 34 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 1。

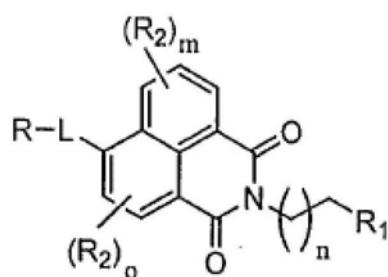
[0382] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 34 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 3,5-二氯-2-羟基苯基且 R<sub>1</sub> 为 H。

[0383] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 34 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 3,5-二氯-2-羟基苯基, R<sub>1</sub> 为 H 且 R<sub>2</sub> 为 H。

[0384] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 34 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 3,5-二氯-2-羟基苯基, R<sub>1</sub> 为 H, R<sub>2</sub> 为 H 且 n 为 1。

[0385] 在另一个具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 35 所示的化合物:

[0386]



35

[0387] 其中,每个变量相互独立,

[0388] R 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0389] R<sub>1</sub> 为取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0390] R<sub>2</sub> 为羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基,或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基、杂芳基烷基;

[0391] L 为 O、NR 或 S；

[0392] m 为包含 0 至 3 的整数；

[0393] n 为包含 0 至 5 的整数；以及

[0394] o 为包含 0 至 2 的整数。

[0395] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 35 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为苯基。

[0396] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 35 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>1</sub> 为吡啶基。

[0397] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 35 及其附带定义所示的化合物, 其中 L 为 S。

[0398] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 35 及其附带定义所示的化合物, 其中 m 为 0。

[0399] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 35 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1。

[0400] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 35 及其附带定义所示的化合物, 其中 o 为 0。

[0401] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 35 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为苯基且 R<sub>1</sub> 为吡啶基。

[0402] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 35 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为苯基, R<sub>1</sub> 为吡啶基, 且 L 为 S。

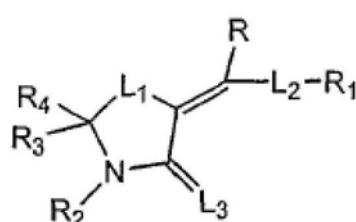
[0403] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 35 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为苯基, R<sub>1</sub> 为吡啶基, L 为 S, 且 m 为 0。

[0404] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 35 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为苯基, R<sub>1</sub> 为吡啶基, L 为 S, m 为 0, 且 n 为 1。

[0405] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 35 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为苯基, R<sub>1</sub> 为吡啶基, L 为 S, m 为 0, n 为 1, 且 o 为 0。

[0406] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 36 所示的化合物：

[0407]



36

[0408] 其中, 每个变量彼此独立,

[0409] R、R<sub>3</sub> 和 R<sub>4</sub> 为 H、羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基, 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基、杂芳基烷基；

[0410] R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基、杂芳基烷基；

[0411]  $L_1$  为 0、 $NR_1$ 、S、 $C(R)_2$  或  $SO_2$ ；以及

[0412]  $L_2$  和  $L_3$  为 0、 $NR_1$ 、S 或  $C(R)_2$ 。

[0413] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 36 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H。

[0414] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 36 及其附带定义所示的化合物, 其中  $R_1$  为 4- 氯苯基。

[0415] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 36 及其附带定义所示的化合物, 其中  $R_2$  为 4- 氯苯基。

[0416] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 36 及其附带定义所示的化合物, 其中  $R_3$  为 H。

[0417] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 36 及其附带定义所示的化合物, 其中  $R_4$  为 H。

[0418] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 36 及其附带定义所示的化合物, 其中  $L_1$  为  $SO_2$ 。

[0419] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 36 及其附带定义所示的化合物, 其中  $L_2$  为 NH。

[0420] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 36 及其附带定义所示的化合物, 其中  $L_3$  为 0。

[0421] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 36 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H 且  $R_1$  为 4- 氯苯基。

[0422] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 36 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H,  $R_1$  为 4- 氯苯基, 且  $R_2$  为 4- 氯苯基。

[0423] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 36 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H,  $R_1$  为 4- 氯苯基,  $R_2$  为 4- 氯苯基, 且  $R_3$  为 H。

[0424] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 36 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H,  $R_1$  为 4- 氯苯基,  $R_2$  为 4- 氯苯基,  $R_3$  为 H, 且  $R_4$  为 H。

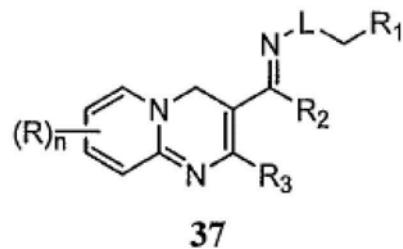
[0425] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 36 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H,  $R_1$  为 4- 氯苯基,  $R_2$  为 4- 氯苯基,  $R_3$  为 H,  $R_4$  为 H, 且  $L_1$  为  $SO_2$ 。

[0426] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 36 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H,  $R_1$  为 4- 氯苯基,  $R_2$  为 4- 氯苯基,  $R_3$  为 H,  $R_4$  为 H,  $L_1$  为  $SO_2$ , 且  $L_2$  为 NH。

[0427] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 36 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H,  $R_1$  为 4- 氯苯基,  $R_2$  为 4- 氯苯基,  $R_3$  为 H,  $R_4$  为 H,  $L_1$  为  $SO_2$ ,  $L_2$  为 NH, 且  $L_3$  为 0。

[0428] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 37 所示的化合物：

[0429]



[0430] 其中,每个变量彼此独立,

[0431] R 为羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基,或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基、杂芳基烷基;

[0432] R<sub>1</sub> 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基、杂芳基烷基;

[0433] R<sub>2</sub> 和 R<sub>3</sub> 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基、杂芳基烷基;

[0434] L 为 0、NR<sub>1</sub> 或 S; 以及

[0435] n 为包含 0 至 4 的整数;

[0436] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 37 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为甲基。

[0437] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 37 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 1。

[0438] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 37 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>1</sub> 为 3- 氟苯基。

[0439] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 37 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>2</sub> 为 H。

[0440] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 37 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>3</sub> 为 4- 氯苯基。

[0441] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 37 及其附带定义所示的化合物,其中 L 为 0。

[0442] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 37 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为甲基且 n 为 1。

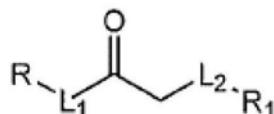
[0443] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 37 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为甲基, n 为 1, 且 R<sub>1</sub> 为 3- 氟苯基。

[0444] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 37 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为甲基, n 为 1, R<sub>1</sub> 为 3- 氟苯基, 且 R<sub>2</sub> 为 H。

[0445] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 37 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为甲基, n 为 1, R<sub>1</sub> 为 3- 氟苯基, R<sub>2</sub> 为 H, 且 R<sub>3</sub> 为 4- 氯苯基。

[0446] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 38 所示的化合物:

[0447]



38

[0448] 其中,每个变量彼此独立,

[0449] R 和 R<sub>1</sub> 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;以及

[0450] L<sub>1</sub> 和 L<sub>2</sub> 为 0、NR 或 S。

[0451] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 38 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 3- 甲氧基苯基。

[0452] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 38 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>1</sub> 为 4- 叔丁基苯基。

[0453] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 38 及其附带定义所示的化合物,其中 L<sub>1</sub> 为 NH。

[0454] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 38 及其附带定义所示的化合物,其中 L<sub>2</sub> 为 0。

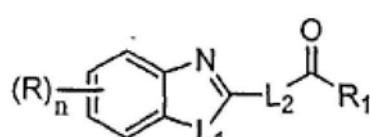
[0455] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 38 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 3- 甲氧基苯基且 R<sub>1</sub> 为 4- 叔丁基苯基。

[0456] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 38 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 3- 甲氧基苯基, R<sub>1</sub> 为 4- 叔丁基苯基,且 L<sub>1</sub> 为 NH。

[0457] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 38 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 3- 甲氧基苯基;R<sub>1</sub> 为 4- 叔丁基苯基, L<sub>1</sub> 为 NH,且 L<sub>2</sub> 为 0。

[0458] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 39 所示的化合物:

[0459]



39

[0460] 其中,每个变量彼此独立,

[0461] R 为 H、羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0462] R<sub>1</sub> 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、烷芳基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0463] L<sub>1</sub> 和 L<sub>2</sub> 为 0、NR 或 S;且

[0464] n 为包含 0 至 4 的整数。

[0465] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 39 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为甲基。

[0466] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 39 及其附带定义所示的化

合物,其中 n 为 1。

[0467] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 39 及其附带定义所示的化合物,其中  $R_1$  为 3,4,5- 三甲氧基苯基。

[0468] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 39 及其附带定义所示的化合物,其中  $L_1$  为 S。

[0469] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 39 及其附带定义所示的化合物,其中  $L_2$  为 NH。

[0470] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 39 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为甲基且 n 为 1。

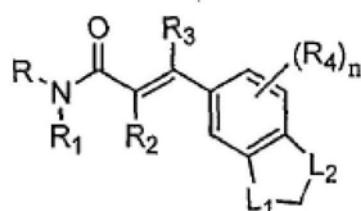
[0471] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 39 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为甲基, n 为 1, 且  $R_1$  为 3,4,5- 三甲氧基苯基。

[0472] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 39 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为甲基, n 为 1,  $R_1$  为 3,4,5- 三甲氧基苯基, 且  $L_1$  为 S。

[0473] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 39 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为甲基, n 为 1,  $R_1$  为 3,4,5- 三甲氧基苯基,  $L_1$  为 S, 且  $L_2$  为 NH。

[0474] 在另一个具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 40 所示的化合物:

[0475]



40

[0476] 其中,每个变量彼此独立,

[0477]  $R$ 、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$  为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、烷芳基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0478]  $R_4$  为羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基,或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0479]  $L_1$  和  $L_2$  为 0、 $NR$  或 S;且

[0480] n 为包含 0 至 3 的整数。

[0481] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 40 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 H。

[0482] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 40 及其附带定义所示的化合物,其中  $R_1$  为全氟苯基。

[0483] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 40 及其附带定义所示的化合物,其中  $R_2$  为 H。

[0484] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 40 及其附带定义所示的化合物,其中  $R_3$  为 H。

[0485] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 40 及其附带定义所示的化

合物,其中  $L_1$  为 0。

[0486] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 40 及其附带定义所示的化合物,其中  $L_2$  为 0。

[0487] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 40 及其附带定义所示的化合物,其中  $n$  为 0。

[0488] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 40 及其附带定义所示的化合物,其中  $R$  为 H 且  $R_1$  为全氟苯基。

[0489] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 40 及其附带定义所示的化合物,其中  $R$  为 H,  $R_1$  为全氟苯基,且  $R_2$  为 H。

[0490] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 40 及其附带定义所示的化合物,其中  $R$  为 H,  $R_1$  为全氟苯基,  $R_2$  为 H,且  $R_3$  为 H。

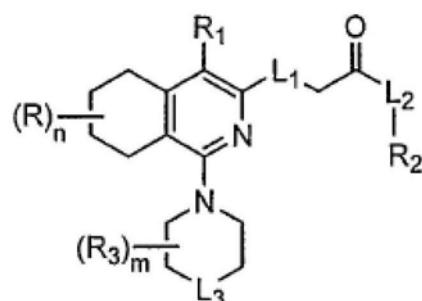
[0491] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 40 及其附带定义所示的化合物,其中  $R$  为 H,  $R_1$  为全氟苯基,  $R_2$  为 H,  $R_3$  为 H,且  $L_1$  为 0。

[0492] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 40 及其附带定义所示的化合物,其中  $R$  为 H,  $R_1$  为全氟苯基,  $R_2$  为 H,  $R_3$  为 H,  $L_1$  为 0,且  $L_2$  为 0。

[0493] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 40 及其附带定义所示的化合物,其中  $R$  为 H,  $R_1$  为全氟苯基,  $R_2$  为 H,  $R_3$  为 H,  $L_1$  为 0,  $L_2$  为 0,且  $n$  为 0。

[0494] 在另外一个具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 41 所示的化合物:

[0495]



41

[0496] 其中,每个变量彼此独立,

[0497]  $R$ 、 $R_1$  和  $R_3$  为羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0498]  $R_2$  为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0499]  $L_1$ 、 $L_2$  和  $L_3$  为 0、 $NR_2$  或 S;且

[0500]  $m$  和  $n$  为包含 0 至 8 的整数。

[0501] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 41 及其附带定义所示的化合物,其中  $n$  为 0。

[0502] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 41 及其附带定义所示的化合物,其中  $R_1$  为氰基。

[0503] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 41 及其附带定义所示的化

合物,其中  $R_2$  为乙基。

[0504] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 41 及其附带定义所示的化合物,其中  $m$  为 0。

[0505] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 41 及其附带定义所示的化合物,其中  $L_1$  为 S。

[0506] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 41 及其附带定义所示的化合物,其中  $L_2$  为 0。

[0507] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 41 及其附带定义所示的化合物,其中  $L_3$  为 0。

[0508] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 41 及其附带定义所示的化合物,其中  $n$  为 0 且  $R_1$  为氰基。

[0509] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 41 及其附带定义所示的化合物,其中  $n$  为 0,  $R_1$  为氰基,且  $R_2$  为乙基。

[0510] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 41 及其附带定义所示的化合物,其中  $n$  为 0,  $R_1$  为氰基,  $R_2$  为乙基,且  $m$  为 0。

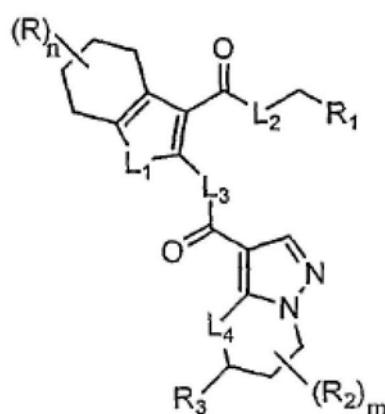
[0511] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 41 及其附带定义所示的化合物,其中  $n$  为 0,  $R_1$  为氰基,  $R_2$  为乙基,  $m$  为 0,且  $L_1$  为 S。

[0512] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 41 及其附带定义所示的化合物,其中  $n$  为 0,  $R_1$  为氰基,  $R_2$  为乙基,  $m$  为 0,  $L_1$  为 S,且  $L_2$  为 0。

[0513] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 41 及其附带定义所示的化合物,其中  $n$  为 0,  $R_1$  为氰基,  $R_2$  为乙基,  $m$  为 0,  $L_1$  为 S,  $L_2$  为 0,且  $L_3$  为 0。

[0514] 在另一个具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 42 所示的化合物:

[0515]



42

[0516] 其中,每个变量彼此独立,

[0517]  $R$  和  $R_2$  为 H、羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基,或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0518]  $R_1$  和  $R_3$  为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0519]  $L_1$ 、 $L_2$ 、 $L_3$  和  $L_4$  为 0、 $NR_1$  或 S;

[0520]  $m$  为包含 0 至 6 的整数；且

[0521]  $n$  为包含 0 至 8 的整数。

[0522] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 42 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 0。

[0523] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 42 及其附带定义所示的化合物, 其中  $R_1$  为甲基。

[0524] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 42 及其附带定义所示的化合物, 其中  $R_2$  为  $CF_3$  且  $m$  为 1。

[0525] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 42 及其附带定义所示的化合物, 其中  $R_3$  为 4- 甲基苯基。

[0526] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 42 及其附带定义所示的化合物, 其中  $L_1$  为 S。

[0527] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 42 及其附带定义所示的化合物, 其中  $L_2$  为 0。

[0528] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 42 及其附带定义所示的化合物, 其中  $L_3$  为  $NR_1$ 。

[0529] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 42 及其附带定义所示的化合物, 其中  $L_4$  为  $NR_1$ 。

[0530] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 42 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 0 且  $R_1$  为甲基。

[0531] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 42 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 0,  $R_1$  为甲基,  $R_2$  为  $CF_3$ , 且  $m$  为 1。

[0532] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 42 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 0,  $R_1$  为甲基,  $R_2$  为  $CF_3$ ,  $m$  为 1 ;且  $R_3$  为 4- 甲基苯基。

[0533] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 42 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 0,  $R_1$  为甲基,  $R_2$  为  $CF_3$ ,  $m$  为 1 ; $R_3$  为 4- 甲基苯基 ;且  $L_1$  为 S。

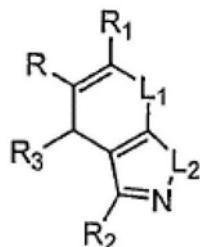
[0534] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 42 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 0,  $R_1$  为甲基,  $R_2$  为  $CF_3$ ,  $m$  为 1 ; $R_3$  为 4- 甲基苯基 ; $L_1$  为 S, 且  $L_2$  为 0。

[0535] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 42 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 0,  $R_1$  为甲基,  $R_2$  为  $CF_3$ ,  $m$  为 1 ; $R_3$  为 4- 甲基苯基 ; $L_1$  为 S,  $L_2$  为 0 ;且  $L_3$  为  $NR_1$ 。

[0536] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 42 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 0,  $R_1$  为甲基,  $R_2$  为  $CF_3$ ,  $m$  为 1 ; $R_3$  为 4- 甲基苯基 ; $L_1$  为 S,  $L_2$  为 0 ; $L_3$  为  $NR_1$ , 且  $L_4$  为  $NR_1$ 。

[0537] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 43 所示的化合物 :

[0538]



43

[0539] 其中,每个变量彼此独立,

[0540] R 和 R<sub>1</sub> 为羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基,或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0541] R<sub>2</sub> 和 R<sub>3</sub> 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;且

[0542] L<sub>1</sub> 和 L<sub>2</sub> 为 0、NR<sub>2</sub> 或 S。

[0543] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 43 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为氰基。

[0544] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 43 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>1</sub> 为 NH<sub>2</sub>。

[0545] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 43 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>2</sub> 为 4- 溴苯基。

[0546] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 43 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>3</sub> 为 3- 羟基 -4- 甲氧基苯基。

[0547] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 43 及其附带定义所示的化合物,其中 L<sub>1</sub> 为 0。

[0548] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 43 及其附带定义所示的化合物,其中 L<sub>2</sub> 为 NR<sub>2</sub>。

[0549] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 43 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为氰基且 R<sub>1</sub> 为 NH<sub>2</sub>。

[0550] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 43 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为氰基, R<sub>1</sub> 为 NH<sub>2</sub>, 且 R<sub>2</sub> 为 4- 溴苯基。

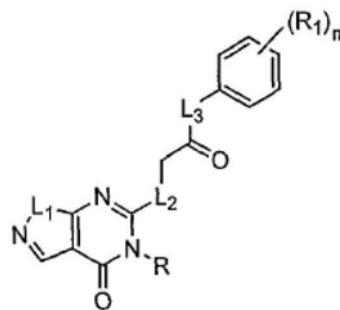
[0551] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 43 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为氰基, R<sub>1</sub> 为 NH<sub>2</sub>, R<sub>2</sub> 为 4- 溴苯基, 且 R<sub>3</sub> 为 3- 羟基 -4- 甲氧基苯基。

[0552] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 43 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为氰基, R<sub>1</sub> 为 NH<sub>2</sub>, R<sub>2</sub> 为 4- 溴苯基, R<sub>3</sub> 为 3- 羟基 -4- 甲氧基苯基, 且 L<sub>1</sub> 为 0。

[0553] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 43 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为氰基, R<sub>1</sub> 为 NH<sub>2</sub>, R<sub>2</sub> 为 4- 溴苯基, R<sub>3</sub> 为 3- 羟基 -4- 甲氧基苯基, L<sub>1</sub> 为 0, 且 L<sub>2</sub> 为 NR<sub>2</sub>。

[0554] 在另一个具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 44 所示的化合物:

[0555]



44

[0556] 其中,每个变量彼此独立,

[0557] R 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0558]  $R_1$  为羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基,或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0559]  $L_1$ 、 $L_2$  和  $L_3$  为 O、NR 或 S;且

[0560] n 为包含 0 至 5 的整数。

[0561] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 44 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 3- 三氟甲基苯基。

[0562] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 44 及其附带定义所示的化合物,其中  $R_1$  为  $C(O)OCH_3$ 。

[0563] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 44 及其附带定义所示的化合物,其中  $L_1$  为 NR。

[0564] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 44 及其附带定义所示的化合物,其中  $L_2$  为 S。

[0565] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 44 及其附带定义所示的化合物,其中  $L_3$  为 NR。

[0566] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 44 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 2。

[0567] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 44 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 3- 三氟甲基苯基且  $R_1$  为  $C(O)OCH_3$ 。

[0568] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 44 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 3- 三氟甲基苯基,  $R_1$  为  $C(O)OCH_3$ , 且  $L_1$  为 NR。

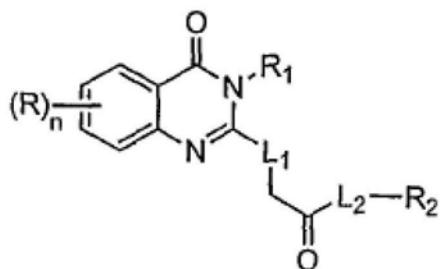
[0569] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 44 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 3- 三氟甲基苯基,  $R_1$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $L_1$  为 NR, 且  $L_2$  为 S。

[0570] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 44 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 3- 三氟甲基苯基,  $R_1$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $L_1$  为 NR,  $L_2$  为 S, 且  $L_3$  为 NR。

[0571] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 44 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 3- 三氟甲基苯基,  $R_1$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $L_1$  为 NR,  $L_2$  为 S,  $L_3$  为 NR, 且 n 为 2。

[0572] 在另一个具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 45 所示的化合物:

[0573]



45

[0574] 其中,每个变量彼此独立,

[0575] R 为羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0576] R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0577] L<sub>1</sub> 和 L<sub>2</sub> 为 O、NR<sub>1</sub> 或 S;且

[0578] n 为包含 0 至 4 的整数。

[0579] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 45 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 0。

[0580] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 45 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>1</sub> 为 2- 四氢呋喃基甲基。

[0581] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 45 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>2</sub> 为 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>。

[0582] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 45 及其附带定义所示的化合物,其中 L<sub>1</sub> 为 S。

[0583] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 45 及其附带定义所示的化合物,其中 L<sub>2</sub> 为 NR<sub>1</sub>。

[0584] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 45 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 0 且 R<sub>1</sub> 为 2- 四氢呋喃基甲基。

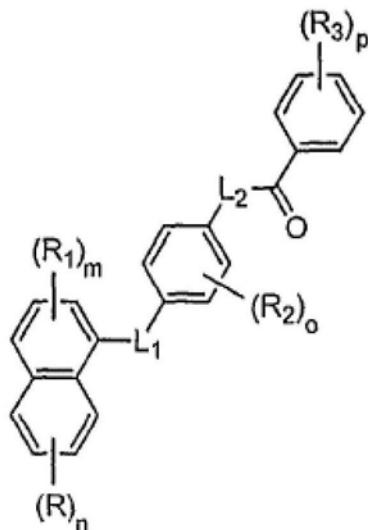
[0585] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 45 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 0, R<sub>1</sub> 为 2- 四氢呋喃基甲基,且 R<sub>2</sub> 为 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>。

[0586] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 45 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 0, R<sub>1</sub> 为 2- 四氢呋喃基甲基, R<sub>2</sub> 为 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>,且 L<sub>1</sub> 为 S。

[0587] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 45 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 0, R<sub>1</sub> 为 2- 四氢呋喃基甲基, R<sub>2</sub> 为 -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, L<sub>1</sub> 为 S,且 L<sub>2</sub> 为 NR<sub>1</sub>。

[0588] 在另一个具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 46 所示的化合物:

[0589]



## 46

[0590] 其中,每个变量彼此独立,

[0591] R、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub> 和 R<sub>3</sub> 为羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基,或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0592] L<sub>1</sub> 和 L<sub>2</sub> 为 O、NR<sub>4</sub> 或 S;

[0593] R<sub>4</sub> 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0594] n 为包含 0 至 4 的整数;

[0595] m 为包含 0 至 3 的整数;

[0596] o 为包含 0 至 4 的整数;且

[0597] p 为包含 0 至 5 的整数。

[0598] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 46 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 0。

[0599] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 46 及其附带定义所示的化合物,其中 m 为 1。

[0600] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 46 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>1</sub> 为 Cl。

[0601] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 46 及其附带定义所示的化合物,其中 o 为 1。

[0602] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 46 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>2</sub> 为 Cl。

[0603] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 46 及其附带定义所示的化合物,其中 p 为 3。

[0604] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 46 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>3</sub> 为 OH 或 I。

[0605] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 46 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 0 且 m 为 1。

[0606] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 46 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 0,  $m$  为 1, 且  $o$  为 1。

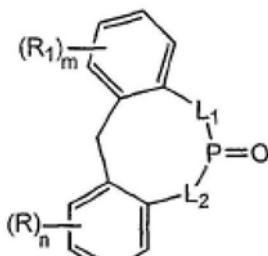
[0607] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 46 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 0,  $m$  为 1,  $o$  为 1, 且  $R_1$  为 Cl。

[0608] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 46 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 0,  $m$  为 1,  $o$  为 1,  $R_1$  为 Cl, 且  $p$  为 3。

[0609] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 46 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 0,  $m$  为 1,  $o$  为 1,  $R_1$  为 Cl,  $p$  为 3, 且  $R_2$  为 OH 或 I。

[0610] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 47 所示的化合物:

[0611]



47

[0612] 其中, 每个变量彼此独立,

[0613]  $R$  和  $R_1$  为羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0614]  $L_1$  和  $L_2$  为 0、 $NR_4$  或 S;

[0615]  $R_4$  为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基; 且

[0616]  $m$  和  $n$  为包含 0 至 4 的整数。

[0617] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 47 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 2。

[0618] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 47 及其附带定义所示的化合物, 其中  $R$  为甲基或叔丁基。

[0619] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 47 及其附带定义所示的化合物, 其中  $m$  为 2。

[0620] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 47 及其附带定义所示的化合物, 其中  $R_1$  为甲基或叔丁基。

[0621] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 47 及其附带定义所示的化合物, 其中  $L_1$  为 0。

[0622] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 47 及其附带定义所示的化合物, 其中  $L_2$  为 0。

[0623] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 47 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 2 且  $R$  为甲基或叔丁基。

[0624] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 47 及其附带定义所示的化

合物,其中 n 为 2, R 为甲基或叔丁基,且 m 为 2。

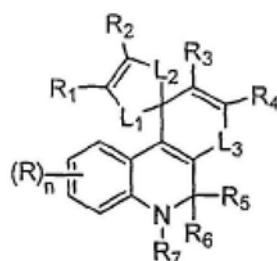
[0625] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 47 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 2, R 为甲基或叔丁基, m 为 2, 且 R<sub>1</sub> 为甲基或叔丁基。

[0626] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 47 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 2, R 为甲基或叔丁基, m 为 2, R<sub>1</sub> 为甲基或叔丁基,且 L<sub>1</sub> 为 0。

[0627] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 47 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 2, R 为甲基或叔丁基, m 为 2, R<sub>1</sub> 为甲基或叔丁基, L<sub>1</sub> 为 0, 且 L<sub>2</sub> 为 0。

[0628] 在另一个具体实施方案中,Sirtuin 活性化合物为通式 48 所示的化合物:

[0629]



48

[0630] 其中,每个变量彼此独立,

[0631] R、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub> 和 R<sub>6</sub> 为羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0632] R<sub>7</sub> 为 H 或取代的或未取代的烷基、酰基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0633] L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub> 和 L<sub>3</sub> 为 0、NR<sub>7</sub> 或 S;且

[0634] n 为包含 0 至 4 的整数。

[0635] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 1。

[0636] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为甲基。

[0637] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>1</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>。

[0638] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>2</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>。

[0639] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>3</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>。

[0640] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>4</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>。

[0641] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>5</sub> 为甲基。

[0642] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化

合物,其中  $R_6$  为甲基。

[0643] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化合物,其中  $R_7$  为  $C(O)CF_3$ 。

[0644] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化合物,其中  $L_1$  为 S。

[0645] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化合物,其中  $L_2$  为 S。

[0646] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化合物,其中  $L_3$  为 S。

[0647] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 1 且 R 为甲基。

[0648] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 1, R 为甲基,且  $R_1$  为  $C(O)OCH_3$ 。

[0649] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 1, R 为甲基,  $R_1$  为  $C(O)OCH_3$ ,且  $R_2$  为  $C(O)OCH_3$ 。

[0650] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 1, R 为甲基,  $R_1$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_2$  为  $C(O)OCH_3$ ,且  $R_3$  为  $C(O)OCH_3$ 。

[0651] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 1, R 为甲基,  $R_1$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_2$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_3$  为  $C(O)OCH_3$ ,且  $R_4$  为  $C(O)OCH_3$ 。

[0652] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 1, R 为甲基,  $R_1$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_2$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_3$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_4$  为  $C(O)OCH_3$ ,且  $R_5$  为甲基。

[0653] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 1, R 为甲基,  $R_1$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_2$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_3$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_4$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_5$  为甲基,且  $R_6$  为甲基。

[0654] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 1, R 为甲基,  $R_1$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_2$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_3$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_4$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_5$  为甲基,  $R_6$  为甲基,且  $R_7$  为  $C(O)CF_3$ 。

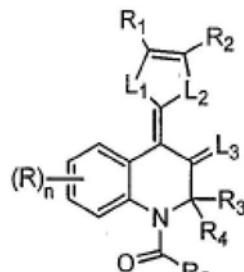
[0655] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 1, R 为甲基,  $R_1$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_2$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_3$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_4$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_5$  为甲基,  $R_6$  为甲基,  $R_7$  为  $C(O)CF_3$ ,且  $L_1$  为 S。

[0656] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 1, R 为甲基,  $R_1$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_2$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_3$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_4$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_5$  为甲基,  $R_6$  为甲基,  $R_7$  为  $C(O)CF_3$ ,  $L_1$  为 S,且  $L_2$  为 S。

[0657] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 48 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 1, R 为甲基,  $R_1$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_2$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_3$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_4$  为  $C(O)OCH_3$ ,  $R_5$  为甲基,  $R_6$  为甲基,  $R_7$  为  $C(O)CF_3$ ,  $L_1$  为 S,  $L_2$  为 S,且  $L_3$  为 S。

[0658] 在另一个具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 49 所示的化合物:

[0659]



49

[0660] 其中,每个变量彼此独立,

[0661] R、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub> 和 R<sub>5</sub> 为羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0662] L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub> 和 L<sub>3</sub> 为 0、NR<sub>6</sub> 或 S;

[0663] R<sub>6</sub> 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;且

[0664] n 为包含 0 至 4 的整数。

[0665] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 49 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 1。

[0666] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 49 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为甲基。

[0667] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 49 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>1</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>。

[0668] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 49 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>2</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>。

[0669] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 49 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>3</sub> 为甲基。

[0670] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 49 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>4</sub> 为甲基。

[0671] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 49 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>5</sub> 为 CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>。

[0672] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 49 及其附带定义所示的化合物,其中 L<sub>1</sub> 为 S。

[0673] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 49 及其附带定义所示的化合物,其中 L<sub>2</sub> 为 S。

[0674] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 49 及其附带定义所示的化合物,其中 L<sub>3</sub> 为 S。

[0675] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 49 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 1 且 R 为甲基。

[0676] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 49 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 1, R 为甲基,且 R<sub>1</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>。

[0677] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 49 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1, R 为甲基, R<sub>1</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>, 且 R<sub>2</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>。

[0678] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 49 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1, R 为甲基, R<sub>1</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>, 且 R<sub>3</sub> 为甲基。

[0679] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 49 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1, R 为甲基, R<sub>1</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> 为甲基, 且 R<sub>4</sub> 为甲基。

[0680] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 49 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1, R 为甲基, R<sub>1</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> 为甲基, R<sub>4</sub> 为甲基, 且 R<sub>5</sub> 为 CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>。

[0681] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 49 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1, R 为甲基, R<sub>1</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> 为甲基, R<sub>4</sub> 为甲基, R<sub>5</sub> 为 CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 且 L<sub>1</sub> 为 S。

[0682] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 49 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1, R 为甲基, R<sub>1</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> 为甲基, R<sub>4</sub> 为甲基, R<sub>5</sub> 为 CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 且 L<sub>1</sub> 为 S。

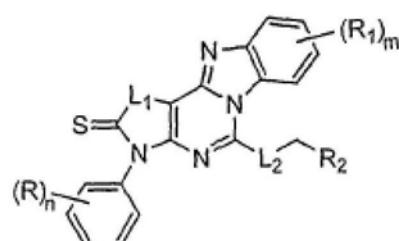
[0683] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 49 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1, R 为甲基, R<sub>1</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> 为甲基, R<sub>4</sub> 为甲基, R<sub>5</sub> 为 CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, L<sub>1</sub> 为 S, 且 L<sub>2</sub> 为 S。

[0684] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 49 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1, R 为甲基, R<sub>1</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> 为甲基, R<sub>4</sub> 为甲基, R<sub>5</sub> 为 CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, L<sub>1</sub> 为 S, 且 L<sub>2</sub> 为 S。

[0685] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 49 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1, R 为甲基, R<sub>1</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> 为 C(0)OCH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> 为甲基, R<sub>4</sub> 为甲基, R<sub>5</sub> 为 CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, L<sub>1</sub> 为 S, L<sub>2</sub> 为 S, 且 L<sub>3</sub> 为 S。

[0686] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 50 所示的化合物:

[0687]



50

[0688] 其中, 每个变量彼此独立,

[0689] R 和 R<sub>1</sub> 为羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0690] R<sub>2</sub> 为 H、羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0691] L<sub>1</sub> 和 L<sub>2</sub> 为 O、NR<sub>3</sub> 或 S;

[0692] R<sub>3</sub> 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳

基烷基；

[0693] n 为包含 0 至 5 的整数；且

[0694] m 为包含 0 至 4 的整数。

[0695] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 50 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1。

[0696] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 50 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为  $\text{CO}_2\text{Et}$ 。

[0697] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 50 及其附带定义所示的化合物, 其中 m 为 0。

[0698] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 50 及其附带定义所示的化合物, 其中  $\text{R}_2$  为氰基。

[0699] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 50 及其附带定义所示的化合物, 其中  $\text{L}_1$  为 S。

[0700] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 50 及其附带定义所示的化合物, 其中  $\text{L}_2$  为 S。

[0701] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 50 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1 且 R 为  $\text{CO}_2\text{Et}$ 。

[0702] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 50 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1, R 为  $\text{CO}_2\text{Et}$ , 且 m 为 0。

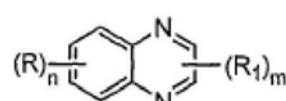
[0703] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 50 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1, R 为  $\text{CO}_2\text{Et}$ , m 为 0, 且  $\text{R}_2$  为氰基。

[0704] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 50 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1, R 为  $\text{CO}_2\text{Et}$ , m 为 0,  $\text{R}_2$  为氰基, 且  $\text{L}_1$  为 S。

[0705] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 50 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1, R 为  $\text{CO}_2\text{Et}$ , m 为 0,  $\text{R}_2$  为氰基,  $\text{L}_1$  为 S, 且  $\text{L}_2$  为 S。

[0706] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 51 所示的化合物：

[0707]



51

[0708] 其中, 每个变量彼此独立,

[0709] R 和  $\text{R}_1$  为羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基；

[0710] n 为包含 0 至 4 的整数；且

[0711] m 为包含 0 至 2 的整数。

[0712] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 51 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 2。

[0713] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 51 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 Cl 或三氟甲基。

[0714] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 51 及其附带定义所示的化合物, 其中  $m$  为 2。

[0715] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 51 及其附带定义所示的化合物, 其中  $R_1$  为苯基。

[0716] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 51 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 2 且  $R$  为 Cl 或三氟甲基。

[0717] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 51 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 2,  $R$  为 Cl 或三氟甲基, 且  $m$  为 2。

[0718] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 51 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 2,  $R$  为 Cl 或三氟甲基,  $m$  为 2, 且  $R_1$  为苯基。

[0719] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 51 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 1。

[0720] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 51 及其附带定义所示的化合物, 其中  $R$  为 F。

[0721] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 51 及其附带定义所示的化合物, 其中  $R_1$  为 4- 甲基苯基。

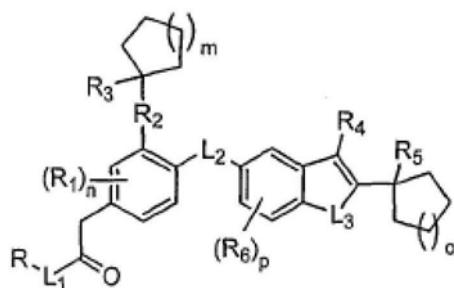
[0722] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 51 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 1 且  $R$  为 F。

[0723] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 51 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 1,  $R$  为 F, 且  $m$  为 2。

[0724] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 51 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 1,  $R$  为 F,  $m$  为 2, 且  $R_1$  为 4- 甲基苯基。

[0725] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 所示的化合物：

[0726]



52

[0727] 其中, 每个变量彼此独立,

[0728]  $R$  为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基；

[0729]  $R_1$  和  $R_6$  为羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基；

[0730]  $R_2$  为亚烷基、亚烯基或亚炔基；

[0731]  $R_3$ 、 $R_4$  和  $R_5$  为 H、羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基；

- [0732]  $L_1$ 、 $L_2$  和  $L_3$  为 0、NR 或 S；
- [0733] n 和 p 为包含 0 至 3 的整数；
- [0734] m 和 o 为包含 0 至 2 的整数。
- [0735] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 。
- [0736] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1。
- [0737] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中  $R_1$  为 I。
- [0738] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中  $R_2$  为 亚炔基。
- [0739] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中 m 为 1。
- [0740] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中  $R_3$  为 OH。
- [0741] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中  $R_4$  为  $\text{C}(0)\text{OEt}$ 。
- [0742] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中 o 为 1。
- [0743] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中  $R_5$  为 OH。
- [0744] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中 p 为 0。
- [0745] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中  $L_1$  为 NH。
- [0746] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中  $L_2$  为 0。
- [0747] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中  $L_3$  为 0。
- [0748] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$  且 n 为 1。
- [0749] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ , n 为 1, 且  $R_1$  为 I。
- [0750] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ , n 为 1,  $R_1$  为 I, 且  $R_2$  为 亚炔基。
- [0751] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ , n 为 1,  $R_1$  为 I,  $R_2$  为 亚炔基, 且 m 为 1。
- [0752] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ , n 为 1,  $R_1$  为 I,  $R_2$  为 亚炔基, m 为 1, 且  $R_3$  为 OH。

[0753] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ , n 为 1,  $\text{R}_1$  为 I,  $\text{R}_2$  为亚炔基, m 为 1,  $\text{R}_3$  为 OH, 且  $\text{R}_4$  为  $\text{C}(0)\text{OEt}$ 。

[0754] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ , n 为 1,  $\text{R}_1$  为 I,  $\text{R}_2$  为亚炔基, m 为 1,  $\text{R}_3$  为 OH,  $\text{R}_4$  为  $\text{C}(0)\text{OEt}$ , 且 o 为 1。

[0755] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ , n 为 1,  $\text{R}_1$  为 I,  $\text{R}_2$  为亚炔基, m 为 1,  $\text{R}_3$  为 OH,  $\text{R}_4$  为  $\text{C}(0)\text{OEt}$ , o 为 1, 且  $\text{R}_5$  为 OH。

[0756] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ , n 为 1,  $\text{R}_1$  为 I,  $\text{R}_2$  为亚炔基, m 为 1,  $\text{R}_3$  为 OH,  $\text{R}_4$  为  $\text{C}(0)\text{OEt}$ , o 为 1,  $\text{R}_5$  为 OH, 且 p 为 0。

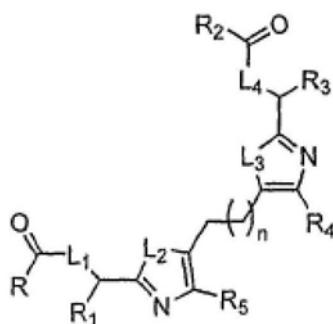
[0757] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ , n 为 1,  $\text{R}_1$  为 I,  $\text{R}_2$  为亚炔基, m 为 1,  $\text{R}_3$  为 OH,  $\text{R}_4$  为  $\text{C}(0)\text{OEt}$ , o 为 1,  $\text{R}_5$  为 OH, p 为 0, 且  $\text{L}_1$  为 NH。

[0758] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ , n 为 1,  $\text{R}_1$  为 I,  $\text{R}_2$  为亚炔基, m 为 1,  $\text{R}_3$  为 OH,  $\text{R}_4$  为  $\text{C}(0)\text{OEt}$ , o 为 1,  $\text{R}_5$  为 OH, p 为 0,  $\text{L}_1$  为 NH, 且  $\text{L}_2$  为 0。

[0759] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 52 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ , n 为 1,  $\text{R}_1$  为 I,  $\text{R}_2$  为亚炔基, m 为 1,  $\text{R}_3$  为 OH,  $\text{R}_4$  为  $\text{C}(0)\text{OEt}$ , o 为 1,  $\text{R}_5$  为 OH, p 为 0,  $\text{L}_1$  为 NH,  $\text{L}_2$  为 0, 且  $\text{L}_3$  为 0。

[0760] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 53 所示的化合物 :

[0761]



53

[0762] 其中, 每个变量彼此独立,

[0763] R、 $\text{R}_1$ 、 $\text{R}_2$ 、 $\text{R}_3$ 、 $\text{R}_4$  和  $\text{R}_5$  为 H、羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0764]  $\text{L}_1$ 、 $\text{L}_2$ 、 $\text{L}_3$  和  $\text{L}_4$  为 0、 $\text{NR}_6$  或 S;

[0765]  $\text{R}_6$  为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基; 且

[0766] n 为包含 0 至 5 的整数。

[0767] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 53 及其附带定义所示的化

合物,其中 R 为 0- 叔丁基。

[0768] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 53 及其附带定义所示的化合物,其中  $R_1$  为叔丁基。

[0769] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 53 及其附带定义所示的化合物,其中  $R_2$  为 0- 叔丁基。

[0770] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 53 及其附带定义所示的化合物,其中  $R_3$  为叔丁基。

[0771] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 53 及其附带定义所示的化合物,其中  $R_4$  为  $C(0)OMe$ 。

[0772] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 53 及其附带定义所示的化合物,其中  $R_5$  为  $C(0)OMe$ 。

[0773] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 53 及其附带定义所示的化合物,其中  $L_1$  为  $NH$ 。

[0774] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 53 及其附带定义所示的化合物,其中  $L_2$  为 0。

[0775] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 53 及其附带定义所示的化合物,其中  $L_3$  为 0。

[0776] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 53 及其附带定义所示的化合物,其中  $L_4$  为  $NH$ 。

[0777] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 53 及其附带定义所示的化合物,其中  $n$  为 1。

[0778] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 53 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 0- 叔丁基且  $R_1$  为叔丁基。

[0779] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 53 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 0- 叔丁基,  $R_1$  为叔丁基,且  $R_2$  为 0- 叔丁基。

[0780] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 53 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 0- 叔丁基,  $R_1$  为叔丁基,  $R_2$  为 0- 叔丁基,且  $R_3$  为叔丁基。

[0781] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 53 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 0- 叔丁基,  $R_1$  为叔丁基,  $R_2$  为 0- 叔丁基,  $R_3$  为叔丁基,且  $R_4$  为  $C(0)OMe$ 。

[0782] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 53 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 0- 叔丁基,  $R_1$  为叔丁基,  $R_2$  为 0- 叔丁基,  $R_3$  为叔丁基,  $R_4$  为  $C(0)OMe$ ,且  $R_5$  为  $C(0)OMe$ 。

[0783] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 53 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 0- 叔丁基,  $R_1$  为叔丁基,  $R_2$  为 0- 叔丁基,  $R_3$  为叔丁基,  $R_4$  为  $C(0)OMe$ ,  $R_5$  为  $C(0)OMe$ ,且  $L_1$  为  $NH$ 。

[0784] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 53 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 0- 叔丁基,  $R_1$  为叔丁基,  $R_2$  为 0- 叔丁基,  $R_3$  为叔丁基,  $R_4$  为  $C(0)OMe$ ,  $R_5$  为  $C(0)OMe$ ,  $L_1$  为  $NH$ ,且  $L_2$  为 0。

[0785] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 53 及其附带定义所示的化

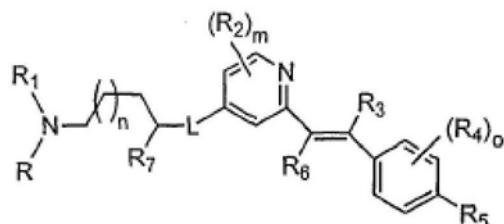
合物,其中 R 为 0-叔丁基, R<sub>1</sub> 为叔丁基, R<sub>2</sub> 为 0-叔丁基, R<sub>3</sub> 为叔丁基, R<sub>4</sub> 为 C(0)OMe, R<sub>5</sub> 为 C(0)OMe, L<sub>1</sub> 为 NH, L<sub>2</sub> 为 0, 且 L<sub>3</sub> 为 0。

[0786] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 53 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 0-叔丁基, R<sub>1</sub> 为叔丁基, R<sub>2</sub> 为 0-叔丁基, R<sub>3</sub> 为叔丁基, R<sub>4</sub> 为 C(0)OMe, R<sub>5</sub> 为 C(0)OMe, L<sub>1</sub> 为 NH, L<sub>2</sub> 为 0, L<sub>3</sub> 为 0, 且 L<sub>4</sub> 为 NH。

[0787] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 53 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 0-叔丁基, R<sub>1</sub> 为叔丁基, R<sub>2</sub> 为 0-叔丁基, R<sub>3</sub> 为叔丁基, R<sub>4</sub> 为 C(0)OMe, R<sub>5</sub> 为 C(0)OMe, L<sub>1</sub> 为 NH, L<sub>2</sub> 为 0, L<sub>3</sub> 为 0, L<sub>4</sub> 为 NH, 且 n 为 1。

[0788] 在另一个具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 54 所示的化合物:

[0789]



54

[0790] 其中,每个变量彼此独立,

[0791] R 和 R<sub>1</sub> 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0792] R<sub>2</sub>、R<sub>4</sub> 和 R<sub>5</sub> 为羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0793] R<sub>3</sub>、R<sub>6</sub> 和 R<sub>7</sub> 为 H、羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0794] L 为 0、NR 或 S;

[0795] n 和 o 为包含 0 至 4 的整数;且

[0796] m 为包含 0 至 3 的整数。

[0797] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 54 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为乙基。

[0798] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 54 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>1</sub> 为乙基。

[0799] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 54 及其附带定义所示的化合物,其中 m 为 0。

[0800] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 54 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>3</sub> 为 H。

[0801] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 54 及其附带定义所示的化合物,其中 o 为 0。

[0802] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 54 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>5</sub> 为 Cl。

[0803] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 54 及其附带定义所示的化

合物,其中  $R_6$  为 H。

[0804] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 54 及其附带定义所示的化合物,其中  $R_7$  为甲基。

[0805] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 54 及其附带定义所示的化合物,其中 L 为 NH。

[0806] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 54 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 1。

[0807] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 54 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为乙基且  $R_1$  为乙基。

[0808] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 54 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为乙基,  $R_1$  为乙基,且 m 为 0。

[0809] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 54 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为乙基,  $R_1$  为乙基, m 为 0,且  $R_3$  为 H。

[0810] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 54 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为乙基,  $R_1$  为乙基, m 为 0,  $R_3$  为 H,且 o 为 0。

[0811] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 54 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为乙基,  $R_1$  为乙基, m 为 0,  $R_3$  为 H, o 为 0,且  $R_5$  为 Cl。

[0812] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 54 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为乙基,  $R_1$  为乙基, m 为 0,  $R_3$  为 H, o 为 0,  $R_5$  为 Cl,且  $R_6$  为 H。

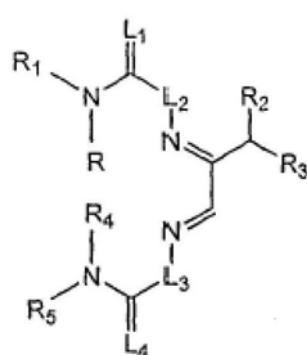
[0813] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 54 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为乙基,  $R_1$  为乙基, m 为 0,  $R_3$  为 H, o 为 0,  $R_5$  为 Cl,  $R_6$  为 H,且  $R_7$  为甲基。

[0814] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 54 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为乙基,  $R_1$  为乙基, m 为 0,  $R_3$  为 H, o 为 0,  $R_5$  为 Cl,  $R_6$  为 H,  $R_7$  为甲基,且 L 为 NH。

[0815] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 54 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为乙基,  $R_1$  为乙基, m 为 0,  $R_3$  为 H, o 为 0,  $R_5$  为 Cl,  $R_6$  为 H,  $R_7$  为甲基, L 为 NH,且 n 为 1。

[0816] 在另一个具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 55 所示的化合物:

[0817]



55

[0818] 其中,每个变量彼此独立,

[0819] R、R<sub>1</sub>、R<sub>4</sub> 和 R<sub>5</sub> 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基；

[0820] R<sub>2</sub> 和 R<sub>3</sub> 为 H、羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基；且

[0821] L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub>、L<sub>3</sub> 和 L<sub>4</sub> 为 O、NR 或 S。

[0822] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 55 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H。

[0823] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 55 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>1</sub> 为 H。

[0824] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 55 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>2</sub> 为 OEt。

[0825] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 55 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>3</sub> 为甲基。

[0826] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 55 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>4</sub> 为 H。

[0827] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 55 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>5</sub> 为 H。

[0828] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 55 及其附带定义所示的化合物, 其中 L<sub>1</sub> 为 S。

[0829] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 55 及其附带定义所示的化合物, 其中 L<sub>2</sub> 为 NH。

[0830] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 55 及其附带定义所示的化合物, 其中 L<sub>3</sub> 为 NH。

[0831] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 55 及其附带定义所示的化合物, 其中 L<sub>4</sub> 为 S。

[0832] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 55 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H 且 R<sub>1</sub> 为 H。

[0833] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 55 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 H, 且 R<sub>2</sub> 为 OEt。

[0834] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 55 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 H, R<sub>2</sub> 为 OEt, 且 R<sub>3</sub> 为甲基。

[0835] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 55 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 H, R<sub>2</sub> 为 OEt, R<sub>3</sub> 为甲基, 且 R<sub>4</sub> 为 H。

[0836] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 55 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 H, R<sub>2</sub> 为 OEt, R<sub>3</sub> 为甲基, R<sub>4</sub> 为 H, 且 R<sub>5</sub> 为 H。

[0837] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 55 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 H, R<sub>2</sub> 为 OEt, R<sub>3</sub> 为甲基, R<sub>4</sub> 为 H, R<sub>5</sub> 为 H, 且 L<sub>1</sub> 为 S。

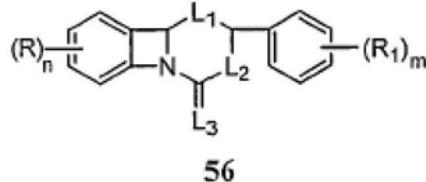
[0838] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 55 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 H, R<sub>2</sub> 为 OEt, R<sub>3</sub> 为甲基, R<sub>4</sub> 为 H, R<sub>5</sub> 为 H, L<sub>1</sub> 为 S, 且 L<sub>2</sub> 为 NH。

[0839] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 55 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 H, R<sub>2</sub> 为 OEt, R<sub>3</sub> 为甲基, R<sub>4</sub> 为 H, R<sub>5</sub> 为 H, L<sub>1</sub> 为 S, L<sub>2</sub> 为 NH, 且 L<sub>3</sub> 为 NH。

[0840] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 55 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 H, R<sub>2</sub> 为 OEt, R<sub>3</sub> 为甲基, R<sub>4</sub> 为 H, R<sub>5</sub> 为 H, L<sub>1</sub> 为 S, L<sub>2</sub> 为 NH, L<sub>3</sub> 为 NH, 且 L<sub>4</sub> 为 S。

[0841] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 56 所示的化合物：

[0842]



[0843] 其中, 每个变量彼此独立,

[0844] R 和 R<sub>1</sub> 为羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基；

[0845] L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub> 和 L<sub>3</sub> 为 O、NR<sub>2</sub> 或 S；

[0846] R<sub>2</sub> 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基；

[0847] n 为包含 0 至 4 的整数；且

[0848] m 为包含 0 至 5 的整数。

[0849] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 56 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 0。

[0850] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 56 及其附带定义所示的化合物, 其中 m 为 0。

[0851] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 56 及其附带定义所示的化合物, 其中 L<sub>1</sub> 为 NH。

[0852] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 56 及其附带定义所示的化合物, 其中 L<sub>2</sub> 为 S。

[0853] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 56 及其附带定义所示的化合物, 其中 L<sub>3</sub> 为 S。

[0854] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 56 及其附带定义所示的化合物, 其中 m 为 0 且 n 为 0。

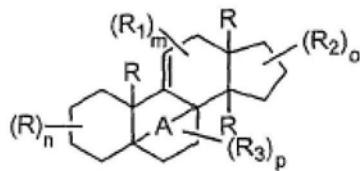
[0855] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 56 及其附带定义所示的化合物, 其中 m 为 0, n 为 0, 且 L<sub>1</sub> 为 NH。

[0856] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 56 及其附带定义所示的化合物, 其中 m 为 0, n 为 0, L<sub>1</sub> 为 NH, 且 L<sub>2</sub> 为 S。

[0857] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 56 及其附带定义所示的化合物, 其中 m 为 0, n 为 0, L<sub>1</sub> 为 NH, L<sub>2</sub> 为 S, 且 L<sub>3</sub> 为 S。

[0858] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 57 所示的化合物：

[0859]



57

[0860] 其中,每个变量彼此独立,

[0861] R、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub> 和 R<sub>3</sub> 为羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基；

[0862] A 为亚烷基、亚烯基或亚炔基；

[0863] n 为包含 0 至 8 的整数；

[0864]  $m$  为包含 0 至 3 的整数；

[0865]  $\circ$  为包含 0 至 6 的整数; 且

[0866] p 为包含 0 至 4 的整数。

[0867] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 57 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 2。

[0868] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 57 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 OH 或甲基。

[0869] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 57 及其附带定义所示的化合物, 其中  $m$  为 1。

[0870] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 57 及其附带定义所示的化合物, 其中  $R_1$  为甲基。

[0871] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化合物为通式 57 及其附带定义所示的化合物, 其中  $\alpha$  为 1。

[0872] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 57 及其附带定义所示的化合物, 其中  $R_2$  为  $C(O)CH_3$ 。

[0873] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 57 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 2。

[0874] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 57 及其附带定义所示的化合物, 其中  $R_5$  为  $CO_2H$ 。

[0875] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 57 及其附带定义所示的化合物, 其中 A 为亚氨基。

[0876] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 57 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 2 且 R 为 OH 或甲基。

[0877] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 57 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 2,  $R$  为  $\text{OH}$  或甲基, 且  $m$  为 1。

[0878] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 57 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 2,  $R$  为  $\text{OH}$  或甲基,  $m$  为 1, 且  $R'$  为甲基。

[0879] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 57 及其附带定义所示的化合物, 其中  $n$  为 2,  $R$  为 OH 或甲基,  $m$  为 1, 且  $R_1$  为甲基。

[0880] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 57 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 2, R 为 OH 或甲基, m 为 1, R<sub>1</sub> 为甲基, o 为 1, 且 R<sub>2</sub> 为 C(0)CH<sub>3</sub>。

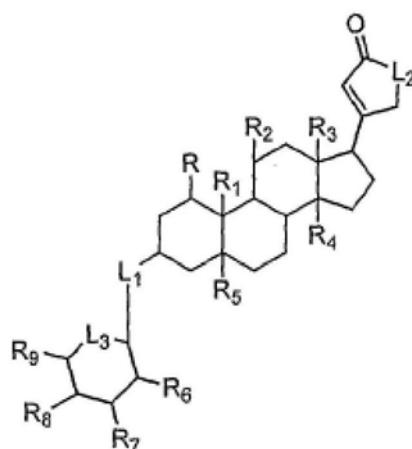
[0881] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 57 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 2, R 为 OH 或甲基, m 为 1, R<sub>1</sub> 为甲基, o 为 1, R<sub>2</sub> 为 C(0)CH<sub>3</sub>, 且 p 为 2。

[0882] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 57 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 2, R 为 OH 或甲基, m 为 1, R<sub>1</sub> 为甲基, o 为 1, R<sub>2</sub> 为 C(0)CH<sub>3</sub>, p 为 2, 且 R<sub>3</sub> 为 CO<sub>2</sub>H。

[0883] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 57 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 2, R 为 OH 或甲基, m 为 1, R<sub>1</sub> 为甲基, o 为 1, R<sub>2</sub> 为 C(0)CH<sub>3</sub>, p 为 2, R<sub>3</sub> 为 CO<sub>2</sub>H, 且 A 为亚烯基。

[0884] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活性化合物为通式 58 所示的化合物：

[0885]



58

[0886] 其中, 每个变量彼此独立,

[0887] R、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub>、R<sub>7</sub>、R<sub>8</sub> 和 R<sub>9</sub> 为羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基；

[0888] L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub> 和 L<sub>3</sub> 为 O、NR<sub>10</sub> 或 S；且

[0889] R<sub>10</sub> 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0890] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 OH。

[0891] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>1</sub> 为 CH<sub>2</sub>OH。

[0892] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>2</sub> 为 OH。

[0893] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>3</sub> 为甲基。

[0894] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化

合物,其中  $R_4$  为 OH。

[0895] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物,其中  $R_5$  为 OH。

[0896] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物,其中  $R_6$  为 OH。

[0897] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物,其中  $R_7$  为 OH。

[0898] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物,其中  $R_8$  为 OH。

[0899] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物,其中  $R_9$  为甲基。

[0900] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物,其中  $L_1$  为 0。

[0901] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物,其中  $L_2$  为 0。

[0902] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物,其中  $L_3$  为 0。

[0903] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物,其中  $R$  为 OH 且  $R_1$  为  $\text{CH}_2\text{OH}$ 。

[0904] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物,其中  $R$  为 OH,  $R_1$  为  $\text{CH}_2\text{OH}$ ,且  $R_2$  为 OH。

[0905] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物,其中  $R$  为 OH,  $R_1$  为  $\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $R_2$  为 OH,且  $R_3$  为甲基。

[0906] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物,其中  $R$  为 OH,  $R_1$  为  $\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $R_2$  为 OH,  $R_3$  为甲基,且  $R_4$  为 OH。

[0907] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物,其中  $R$  为 OH,  $R_1$  为  $\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $R_2$  为 OH,  $R_3$  为甲基,  $R_4$  为 OH,且  $R_5$  为 OH。

[0908] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物,其中  $R$  为 OH,  $R_1$  为  $\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $R_2$  为 OH,  $R_3$  为甲基,  $R_4$  为 OH,  $R_5$  为 OH,且  $R_6$  为 OH。

[0909] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物,其中  $R$  为 OH,  $R_1$  为  $\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $R_2$  为 OH,  $R_3$  为甲基,  $R_4$  为 OH,  $R_5$  为 OH,  $R_6$  为 OH,且  $R_7$  为 OH。

[0910] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物,其中  $R$  为 OH,  $R_1$  为  $\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $R_2$  为 OH,  $R_3$  为甲基,  $R_4$  为 OH,  $R_5$  为 OH,  $R_6$  为 OH,  $R_7$  为 OH,且  $R_8$  为 OH。

[0911] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物,其中  $R$  为 OH,  $R_1$  为  $\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $R_2$  为 OH,  $R_3$  为甲基,  $R_4$  为 OH,  $R_5$  为 OH,  $R_6$  为 OH,  $R_7$  为 OH,  $R_8$  为 OH,且  $R_9$  为甲基。

[0912] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物,其中  $R$  为 OH,  $R_1$  为  $\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $R_2$  为 OH,  $R_3$  为甲基,  $R_4$  为 OH,  $R_5$  为 OH,  $R_6$  为 OH,  $R_7$  为 OH,  $R_8$

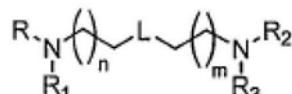
为 OH, R<sub>9</sub> 为甲基, 且 L<sub>1</sub> 为 0。

[0913] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 OH, R<sub>1</sub> 为 CH<sub>2</sub>OH, R<sub>2</sub> 为 OH, R<sub>3</sub> 为甲基, R<sub>4</sub> 为 OH, R<sub>5</sub> 为 OH, R<sub>6</sub> 为 OH, R<sub>7</sub> 为 OH, R<sub>8</sub> 为 OH, R<sub>9</sub> 为甲基, L<sub>1</sub> 为 0, 且 L<sub>2</sub> 为 0。

[0914] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 58 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 OH, R<sub>1</sub> 为 CH<sub>2</sub>OH, R<sub>2</sub> 为 OH, R<sub>3</sub> 为甲基, R<sub>4</sub> 为 OH, R<sub>5</sub> 为 OH, R<sub>6</sub> 为 OH, R<sub>7</sub> 为 OH, R<sub>8</sub> 为 OH, R<sub>9</sub> 为甲基, L<sub>1</sub> 为 0, L<sub>2</sub> 为 0, 且 L<sub>3</sub> 为 0。

[0915] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 59 所示的化合物:

[0916]



59

[0917] 其中, 每个变量彼此独立,

[0918] R、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub> 和 R<sub>3</sub> 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0919] L 为 0、NR、S 或 Se; 以及

[0920] n 和 m 为包含 0 至 5 的整数。

[0921] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 59 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H。

[0922] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 59 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>1</sub> 为 H。

[0923] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 59 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>2</sub> 为 H。

[0924] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 59 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>3</sub> 为 H。

[0925] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 59 及其附带定义所示的化合物, 其中 L 为 Se。

[0926] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 59 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1。

[0927] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 59 及其附带定义所示的化合物, 其中 m 为 1。

[0928] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 59 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H 且 R<sub>1</sub> 为 H。

[0929] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 59 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 H, 且 R<sub>2</sub> 为 H。

[0930] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 59 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 H, R<sub>2</sub> 为 H, 且 R<sub>3</sub> 为 H。

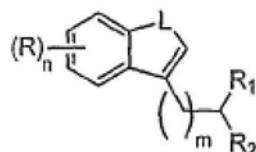
[0931] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 59 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 H, R<sub>2</sub> 为 H, R<sub>3</sub> 为 H, 且 L 为 Se。

[0932] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 59 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 H, R<sub>2</sub> 为 H, R<sub>3</sub> 为 H, L 为 Se, 且 n 为 1。

[0933] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 59 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 H, R<sub>2</sub> 为 H, R<sub>3</sub> 为 H, L 为 Se, n 为 1, 且 m 为 1。

[0934] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活性化合物为通式 60 所示的化合物:

[0935]



60

[0936] 其中, 每个变量彼此独立,

[0937] R 为羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0938] R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 为 H、羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0939] L 为 0、NR<sub>3</sub>、S 或 SO<sub>2</sub>;

[0940] R3 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0941] n 为包含 0 至 4 的整数; 且

[0942] m 为包含 1 至 5 的整数。

[0943] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 60 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1。

[0944] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 60 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 Cl。

[0945] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 60 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>1</sub> 为 NH<sub>2</sub>。

[0946] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 60 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>2</sub> 为 CO<sub>2</sub>H。

[0947] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 60 及其附带定义所示的化合物, 其中 L 为 SO<sub>2</sub>。

[0948] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 60 及其附带定义所示的化合物, 其中 m 为 1。

[0949] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 60 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1 且 R 为 Cl。

[0950] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 60 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1, R 为 Cl, 且 R<sub>1</sub> 为 NH<sub>2</sub>。

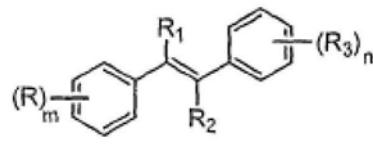
[0951] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 60 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1, R 为 Cl, R<sub>1</sub> 为 NH<sub>2</sub>, 且 R<sub>2</sub> 为 CO<sub>2</sub>H。

[0952] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 60 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1, R 为 Cl, R<sub>1</sub> 为 NH<sub>2</sub>, R<sub>2</sub> 为 CO<sub>2</sub>H, 且 L 为 SO<sub>2</sub>。

[0953] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 60 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 1, R 为 Cl, R<sub>1</sub> 为 NH<sub>2</sub>, R<sub>2</sub> 为 CO<sub>2</sub>H, L 为 SO<sub>2</sub>, 且 m 为 1。

[0954] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活性化合物为通式 61 所示的化合物:

[0955]



61

[0956] 其中, 每个变量彼此独立,

[0957] R、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub> 和 R<sub>3</sub> 为 H、羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0958] n 和 m 为包含 0 至 5 的整数。

[0959] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 61 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 2。

[0960] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 61 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 3- 羟基和 5- 羟基。

[0961] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 61 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>1</sub> 为 H。

[0962] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 61 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>2</sub> 为 H。

[0963] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 61 及其附带定义所示的化合物, 其中 m 为 0。

[0964] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 61 及其附带定义所示的化合物, 其中 m 为 1。

[0965] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 61 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>3</sub> 为 4- 羟基。

[0966] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 61 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>3</sub> 为 4- 甲氧基。

[0967] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 61 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 2 且 R 为 3- 羟基和 5- 羟基。

[0968] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 61 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 2, R 为 3- 羟基和 5- 羟基, 且 R<sub>1</sub> 为 H。

[0969] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 61 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 2, R 为 3- 羟基和 5- 羟基, R<sub>1</sub> 为 H, 且 R<sub>2</sub> 为 H。

[0970] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 61 及其附带定义所示的化合物, 其中 n 为 2, R 为 3- 羟基和 5- 羟基, R<sub>1</sub> 为 H, R<sub>2</sub> 为 H, 且 m 为 0。

[0971] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 61 及其附带定义所示的化

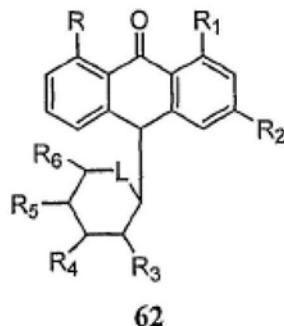
合物,其中 n 为 2, R 为 3- 羟基和 5- 羟基, R<sub>1</sub> 为 H, R<sub>2</sub> 为 H, 且 m 为 1。

[0972] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 61 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 2, R 为 3- 羟基和 5- 羟基, R<sub>1</sub> 为 H, R<sub>2</sub> 为 H, m 为 1, 且 R<sub>3</sub> 为 4- 羟基。

[0973] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 61 及其附带定义所示的化合物,其中 n 为 2, R 为 3- 羟基和 5- 羟基, R<sub>1</sub> 为 H, R<sub>2</sub> 为 H, m 为 1, 且 R<sub>3</sub> 为 4- 甲氧基。

[0974] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 62 所示的化合物 :

[0975]



[0976] 其中,每个变量彼此独立,

[0977] R、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub> 和 R<sub>6</sub> 为 H、羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[0978] L 为 0、NR<sub>7</sub> 或 S ;且

[0979] R<sub>7</sub> 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0980] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 62 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 OH。

[0981] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 62 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>1</sub> 为 OH。

[0982] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 62 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>2</sub> 为 CH<sub>2</sub>OH。

[0983] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 62 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>3</sub> 为 OH。

[0984] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 62 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>4</sub> 为 OH。

[0985] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 62 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>5</sub> 为 OH。

[0986] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 62 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>6</sub> 为 CH<sub>2</sub>OH。

[0987] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 62 及其附带定义所示的化合物,其中 L 为 0。

[0988] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 62 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 OH 和 R<sub>1</sub> 为 OH。

[0989] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 62 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 OH, R<sub>1</sub> 为 OH, 且 R<sub>2</sub> 为 CH<sub>2</sub>OH。

[0990] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 62 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 OH, R<sub>1</sub> 为 OH, R<sub>2</sub> 为 CH<sub>2</sub>OH, 且 R<sub>3</sub> 为 OH。

[0991] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 62 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 OH, R<sub>1</sub> 为 OH, R<sub>2</sub> 为 CH<sub>2</sub>OH, R<sub>3</sub> 为 OH, 且 R<sub>4</sub> 为 OH。

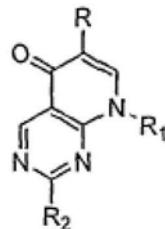
[0992] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 62 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 OH, R<sub>1</sub> 为 OH, R<sub>2</sub> 为 CH<sub>2</sub>OH, R<sub>3</sub> 为 OH, R<sub>4</sub> 为 OH, 且 R<sub>5</sub> 为 OH。

[0993] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 62 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 OH, R<sub>1</sub> 为 OH, R<sub>2</sub> 为 CH<sub>2</sub>OH, R<sub>3</sub> 为 OH, R<sub>4</sub> 为 OH, R<sub>5</sub> 为 OH, 且 R<sub>6</sub> 为 CH<sub>2</sub>OH。

[0994] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 62 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 OH, R<sub>1</sub> 为 OH, R<sub>2</sub> 为 CH<sub>2</sub>OH, R<sub>3</sub> 为 OH, R<sub>4</sub> 为 OH, R<sub>5</sub> 为 OH, R<sub>6</sub> 为 CH<sub>2</sub>OH, 且 L 为 0。

[0995] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 63 所示的化合物 :

[0996]



63

[0997] 其中, 每个变量彼此独立,

[0998] R、R<sub>1</sub> 和 R<sub>2</sub> 为 H、羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[0999] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 63 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 CO<sub>2</sub>H。

[1000] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 63 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>1</sub> 为乙基。

[1001] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 63 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>2</sub> 为 N-1- 吡咯烷。

[1002] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 63 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 CO<sub>2</sub>H 且 R<sub>1</sub> 为乙基。

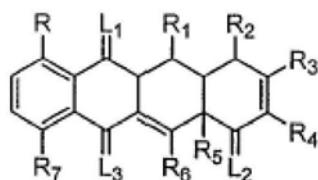
[1003] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 63 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 CO<sub>2</sub>H 且 R<sub>2</sub> 为 N-1- 吡咯烷。

[1004] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 63 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>1</sub> 为乙基且 R<sub>2</sub> 为 N-1- 吡咯烷。

[1005] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 63 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 CO<sub>2</sub>H, R<sub>1</sub> 为乙基, 且 R<sub>2</sub> 为 N-1- 吡咯烷。

[1006] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 64 所示的化合物 :

[1007]



64

[1008] 其中,每个变量彼此独立,

[1009] R、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub> 和 R<sub>7</sub> 为 H、羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基;

[1010] L<sub>1</sub>、L<sub>2</sub> 和 L<sub>3</sub> 为 CH<sub>2</sub>、O、NR<sub>8</sub> 或 S;且

[1011] R<sub>8</sub> 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基。

[1012] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 Cl。

[1013] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 H。

[1014] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>1</sub> 为 OH。

[1015] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>2</sub> 为 N(Me)<sub>2</sub>。

[1016] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>3</sub> 为 OH。

[1017] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>4</sub> 为 C(O)NH<sub>2</sub>。

[1018] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>5</sub> 为 OH。

[1019] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>6</sub> 为 OH。

[1020] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R<sub>7</sub> 为 OH。

[1021] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 L<sub>1</sub> 为 CH<sub>2</sub>。

[1022] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 L<sub>2</sub> 为 O。

[1023] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 L<sub>3</sub> 为 O。

[1024] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 Cl 且 R<sub>1</sub> 为 OH。

[1025] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化

合物,其中 R 为 Cl, R<sub>1</sub> 为 OH, 且 R<sub>2</sub> 为 N(Me)<sub>2</sub>。

[1026] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 Cl, R<sub>1</sub> 为 OH, R<sub>2</sub> 为 N(Me)<sub>2</sub>, 且 R<sub>3</sub> 为 OH。

[1027] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 Cl, R<sub>1</sub> 为 OH, R<sub>2</sub> 为 N(Me)<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> 为 OH, 且 R<sub>4</sub> 为 C(O)NH<sub>2</sub>。

[1028] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 Cl, R<sub>1</sub> 为 OH, R<sub>2</sub> 为 N(Me)<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> 为 OH, R<sub>4</sub> 为 C(O)NH<sub>2</sub>, 且 R<sub>5</sub> 为 OH。

[1029] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 Cl, R<sub>1</sub> 为 OH, R<sub>2</sub> 为 N(Me)<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> 为 OH, R<sub>4</sub> 为 C(O)NH<sub>2</sub>, R<sub>5</sub> 为 OH, 且 R<sub>6</sub> 为 OH。

[1030] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 Cl, R<sub>1</sub> 为 OH, R<sub>2</sub> 为 N(Me)<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> 为 OH, R<sub>4</sub> 为 C(O)NH<sub>2</sub>, R<sub>5</sub> 为 OH, R<sub>6</sub> 为 OH, 且 R<sub>7</sub> 为 OH。

[1031] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 Cl, R<sub>1</sub> 为 OH, R<sub>2</sub> 为 N(Me)<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> 为 OH, R<sub>4</sub> 为 C(O)NH<sub>2</sub>, R<sub>5</sub> 为 OH, R<sub>6</sub> 为 OH, R<sub>7</sub> 为 OH, 且 L<sub>1</sub> 为 CH<sub>2</sub>。

[1032] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 Cl, R<sub>1</sub> 为 OH, R<sub>2</sub> 为 N(Me)<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> 为 OH, R<sub>4</sub> 为 C(O)NH<sub>2</sub>, R<sub>5</sub> 为 OH, R<sub>6</sub> 为 OH, R<sub>7</sub> 为 OH, L<sub>1</sub> 为 CH<sub>2</sub>, 且 L<sub>2</sub> 为 0。

[1033] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 Cl, R<sub>1</sub> 为 OH, R<sub>2</sub> 为 N(Me)<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> 为 OH, R<sub>4</sub> 为 C(O)NH<sub>2</sub>, R<sub>5</sub> 为 OH, R<sub>6</sub> 为 OH, R<sub>7</sub> 为 OH, L<sub>1</sub> 为 CH<sub>2</sub>, L<sub>2</sub> 为 0, 且 L<sub>3</sub> 为 0。

[1034] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 H 且 R<sub>1</sub> 为 OH。

[1035] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 OH, 且 R<sub>2</sub> 为 N(Me)<sub>2</sub>。

[1036] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 OH, R<sub>2</sub> 为 N(Me)<sub>2</sub>, 且 R<sub>3</sub> 为 OH。

[1037] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 OH, R<sub>2</sub> 为 N(Me)<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> 为 OH, 且 R<sub>4</sub> 为 C(O)NH<sub>2</sub>。

[1038] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 OH, R<sub>2</sub> 为 N(Me)<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> 为 OH, R<sub>4</sub> 为 C(O)NH<sub>2</sub>, 且 R<sub>5</sub> 为 OH。

[1039] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 OH, R<sub>2</sub> 为 N(Me)<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> 为 OH, R<sub>4</sub> 为 C(O)NH<sub>2</sub>, R<sub>5</sub> 为 OH, 且 R<sub>6</sub> 为 OH。

[1040] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 OH, R<sub>2</sub> 为 N(Me)<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> 为 OH, R<sub>4</sub> 为 C(O)NH<sub>2</sub>, R<sub>5</sub> 为 OH, R<sub>6</sub> 为 OH, 且 R<sub>7</sub> 为 OH。

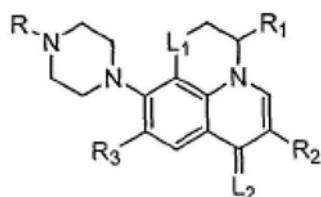
[1041] 在一个更具体实施方案中,Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物,其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 OH, R<sub>2</sub> 为 N(Me)<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> 为 OH, R<sub>4</sub> 为 C(O)NH<sub>2</sub>, R<sub>5</sub> 为 OH, R<sub>6</sub> 为 OH, R<sub>7</sub> 为 OH, 且 L<sub>1</sub> 为 CH<sub>2</sub>。

[1042] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 OH, R<sub>2</sub> 为 N(Me)<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> 为 OH, R<sub>4</sub> 为 C(0)NH<sub>2</sub>, R<sub>5</sub> 为 OH, R<sub>6</sub> 为 OH, R<sub>7</sub> 为 OH, L<sub>1</sub> 为 CH<sub>2</sub>, 且 L<sub>2</sub> 为 O。

[1043] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 64 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为 H, R<sub>1</sub> 为 OH, R<sub>2</sub> 为 N(Me)<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> 为 OH, R<sub>4</sub> 为 C(0)NH<sub>2</sub>, R<sub>5</sub> 为 OH, R<sub>6</sub> 为 OH, R<sub>7</sub> 为 OH, L<sub>1</sub> 为 CH<sub>2</sub>, L<sub>2</sub> 为 O, 且 L<sub>3</sub> 为 O。

[1044] 在另一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 65 所示的化合物：

[1045]



65

[1046] 其中, 每个变量之间独立,

[1047] R 为 H 或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基；

[1048] R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub> 和 R<sub>3</sub> 为羟基、氨基、氰基、卤化物、烷氧基、醚、酯、酰胺基、酮、羧酸、硝基、或取代的或未取代的烷基、芳基、芳烷基、杂环基、杂环烷基、杂芳基或杂芳基烷基；且

[1049] L<sub>1</sub> 和 L<sub>2</sub> 为 O、NR 或 S。

[1050] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 65 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为甲基。

[1051] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 65 及其附带定义所示的化合物和附属定义, 其中 R<sub>1</sub> 为甲基。

[1052] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 65 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>2</sub> 为 CO<sub>2</sub>H。

[1053] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 65 及其附带定义所示的化合物, 其中 R<sub>3</sub> 为 F。

[1054] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 65 及其附带定义所示的化合物, 其中 L<sub>1</sub> 为 O。

[1055] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 65 及其附带定义所示的化合物, 其中 L<sub>2</sub> 为 O。

[1056] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 65 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为甲基且 R<sub>1</sub> 为甲基。

[1057] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 65 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为甲基, R<sub>1</sub> 为甲基, 且 R<sub>2</sub> 为 CO<sub>2</sub>H。

[1058] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 65 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为甲基, R<sub>1</sub> 为甲基, R<sub>2</sub> 为 CO<sub>2</sub>H, 且 R<sub>3</sub> 为 F。

[1059] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 65 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为甲基, R<sub>1</sub> 为甲基, R<sub>2</sub> 为 CO<sub>2</sub>H, R<sub>3</sub> 为 F, 且 L<sub>1</sub> 为 O。

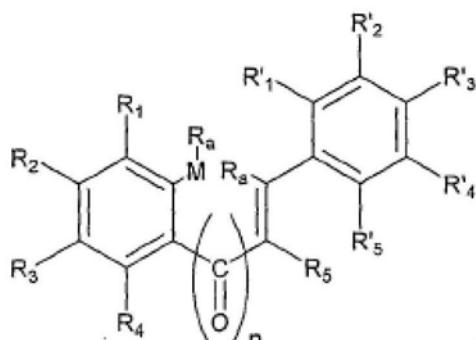
[1060] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 65 及其附带定义所示的化合物, 其中 R 为甲基, R<sub>1</sub> 为甲基, R<sub>2</sub> 为 CO<sub>2</sub>H, R<sub>3</sub> 为 F, L<sub>1</sub> 为 0, 且 L<sub>2</sub> 为 0。

[1061] 示例性的活化化合物为附表中列出的相对控制率的比率大于 1 的化合物。通式 8 所示的优选化合物为双嘧达莫; 通式 12 所示的优选化合物为日柏醇; 通式 13 所示的优选化合物为 L-(+)-麦角硫因; 通式 19 所示的优选化合物为咖啡酸酚酯; 通式 20 所示的优选化合物为 MCI-186 并且通式 21 所示的优选化合物为 HBED (附表 6)。活化化合物也可以是表 21 的化合物的氧化形式。

[1062] 本发明还包括通式 1-25、30、32-65 和 69-88 所示的化合物的药学上可接受的盐和配合物。如果其中的化合物可以具有一个或多个手性中心, 除非说明, 本发明考虑的化合物可以是单一立体异构体或立体异构体的外消旋混合物。

[1063] 在一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 代表的二苯乙烯、查耳酮或黄酮化合物:

[1064]



7

[1065] 其中, 每个变量之间独立,

[1066] M 不存在或为 0;

[1067] R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>、R'<sub>1</sub>、R'<sub>2</sub>、R'<sub>3</sub>、R'<sub>4</sub> 和 R'<sub>5</sub> 代表 H、烷基、芳基、杂芳基、芳烷基、烷芳基、杂芳基烷基、卤化物、NO<sub>2</sub>、SR、OR、N(R)<sub>2</sub> 或羧基;

[1068] R<sub>a</sub> 代表 H 或两个 R<sub>a</sub> 形成键;

[1069] R 代表 H、烷基或芳基; 以及

[1070] n 为 0 或 1。

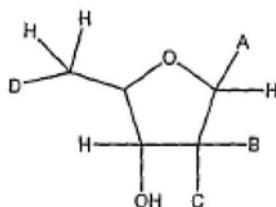
[1071] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的化合物, 其中 n 为 0。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的化合物, 其中 n 为 1。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的化合物, 其中 M 不存在。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的化合物, 其中 M 为 0。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的化合物, 其中 R<sub>a</sub> 为 H。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的化合物, 其中 M 为 0 且两个 R<sub>a</sub> 形成键。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的化合物, 其中 R<sub>5</sub> 为 H。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的化合物, 其中 R<sub>5</sub> 为 OH。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及

其附带定义所代表的化合物,其中  $R_1$ 、 $R_3$  和  $R'_3$  为 OH。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的化合物,其中  $R_2$ 、 $R_4$ 、 $R'_2$  和  $R'_3$  为 OH。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的化合物,其中  $R_2$ 、 $R'_2$  和  $R'_3$  为 OH。

[1072] 在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的化合物,其中  $n$  为 0;  $M$  不存在;  $R_a$  为 H;  $R_5$  为 H;  $R_1$ 、 $R_3$  和  $R'_3$  为 OH; 且  $R_2$ 、 $R_4$ 、 $R'_1$ 、 $R'_2$ 、 $R'_4$  和  $R'_5$  为 H。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的化合物,其中  $n$  为 1;  $M$  不存在;  $R_a$  为 H;  $R_5$  为 H;  $R_2$ 、 $R_4$ 、 $R'_2$  和  $R'_3$  为 OH; 且  $R_1$ 、 $R_3$ 、 $R'_1$ 、 $R'_4$  和  $R'_5$  为 H。在一个更具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 7 及其附带定义所代表的化合物,其中  $n$  为 1;  $M$  为 0; 两个  $R_a$  形成键;  $R_5$  为 OH;  $R_2$ 、 $R'_2$  和  $R'_3$  为 OH; 且  $R_1$ 、 $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R'_1$ 、 $R'_4$  和  $R'_5$  为 H。

[1073] 在另一个具体实施方案中,示例性的 Sirtuin 活化化合物为异烟酰胺类似物,例如,美国专利 Nos. 5,985,848; 6,066,722; 6,228,847; 6,492,347; 6,803,455; 和美国专利公开 Nos. 2001/0019823; 2002/0061898; 2002/0132783; 2003/0149261; 2003/0229033; 2003/0096830; 2004/0053944; 2004/0110772 和 2004/0181063 中记载的异烟酰胺类似物,因此上述公开内容全部引入本发明作为参考。在一个示例性的具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物可以为具有任意以下通式 69-72 的异烟酰胺类似物。在一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 69 所示的异烟酰胺类似化合物:

[1074]



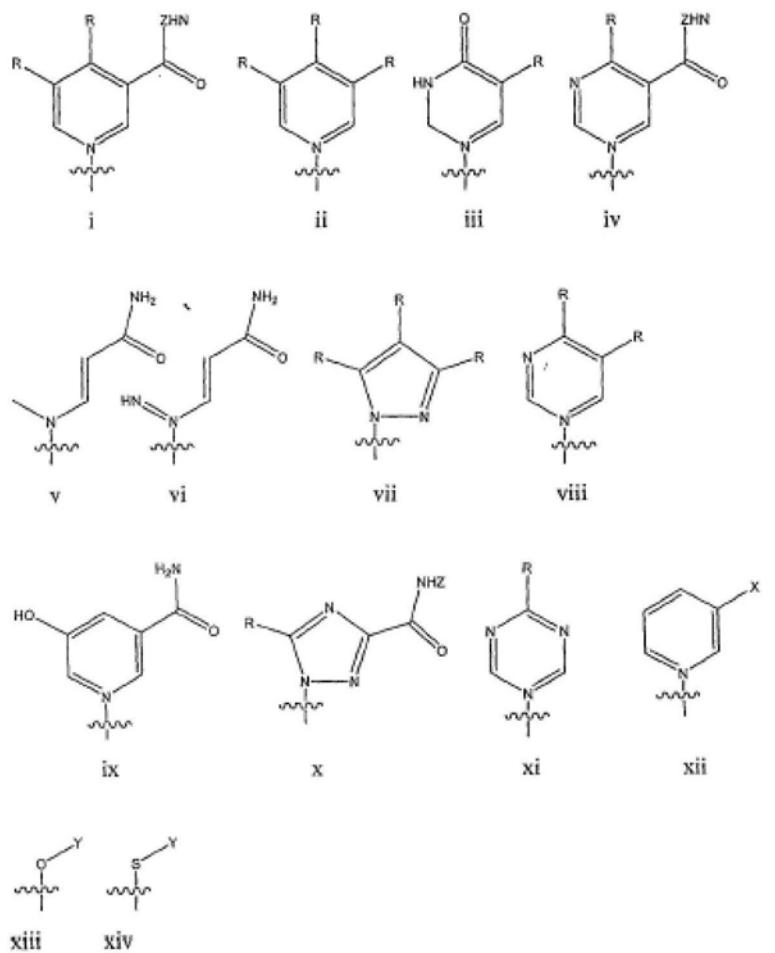
69

[1075] 其中 A 为氮 -、氧 - 或硫 - 连接的芳基、烷基、环或杂环基团。这里所述的 A 部分任选具有离去基团的特性。在本发明包括的具体实施方案中, A 还被供电子部分取代。B 和 C 均为氢, 或 B 或 C 之一为卤素、氨基或硫醇基, 并且 B 或 C 中的另一个为氢; 且 D 为伯醇、氢或氧、氮、碳或硫, 并且其连接到磷酸酯、磷酰基、焦磷酸酰基上, 或通过磷酸二酯或碳 -、氮 - 或硫 - 取代的磷酸二酯桥连接到单磷酸腺苷上, 或通过磷酸二酯或碳 -、氮 - 或硫 - 取代的磷酸二酯桥的二磷酸腺苷上。

[1076] 在一个实施例中, A 为取代的 N- 连接的芳基或杂环基团, 具有通式 -O-Y 的 O- 连接的芳基或杂环基团, 或具有通式 -O-Y 的 S- 连接的芳基或杂环基团; B 和 C 均为氢, 或 B 或 C 其中之一为卤素、氨基或硫醇, 并且另一个 B 或 C 为氢; 且 D 为伯醇或氢。以下列出 A 的非限制性的优选例子, 其中每个 R 为 H 或供电子部分, 并且 Z 为烷基, 芳基, 羟基,  $Z'$  为烷基或芳基、氨基的  $OZ'$ ,  $Z'$  为烷基或芳基的  $NHZ'$ , 或  $Z'$  和  $Z''$  分别为烷基或芳基的  $NHZ'Z''$ 。

[1077] A 的例子包括以下的 i 至 xiv:

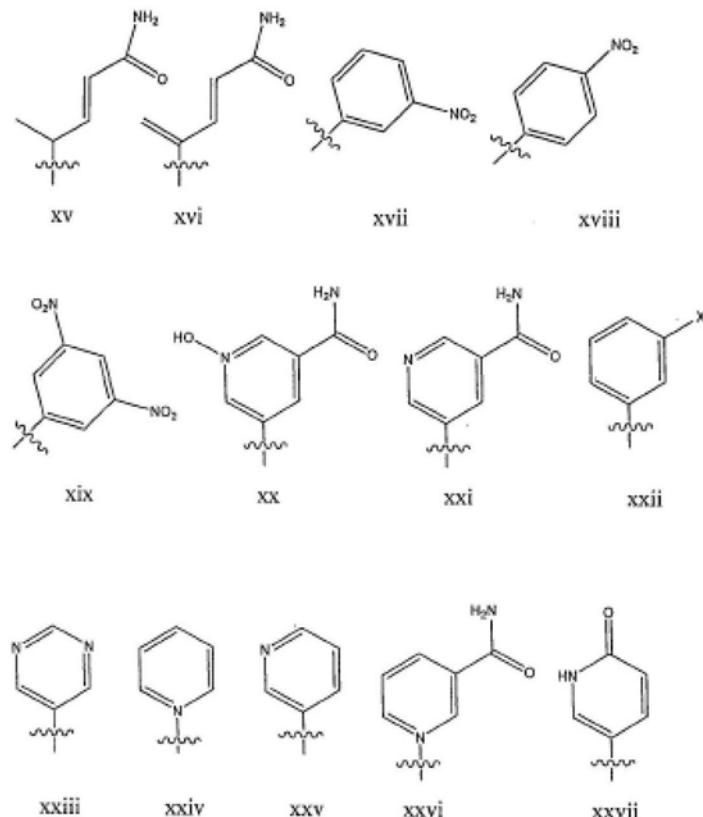
[1078]



[1079] 其中 Y= 具有离去基团功能的基团。

[1080] Y 的例子包括,但不局限于下列的 xv 至 xxvii :

[1081]



[1082] 对于 i 至 xxvii, 其中 X 为卤素、硫醇或取代的硫醇、氨基或取代的氨基、氧或取代的氧, 或芳基或烷基或杂环。

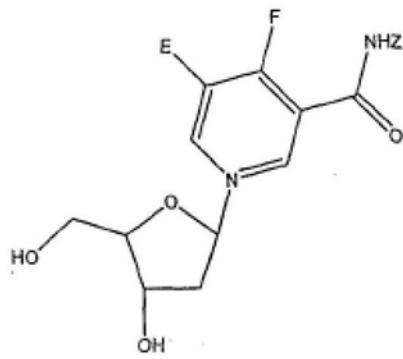
[1083] 在某些具体实施方案中, A 为取代的烟酰胺基(上述 i, 其中 Z 为 H)、取代的吡唑基(上述 vii)或取代的 3-羧酰胺咪唑基(上述 x, 其中 Z 为 H)。另外, B 和 C 可均为氢, 或 B 或 C 之一为卤素、氨基或硫醇基, 并且另一个 B 或 C 为氢; D 为伯醇或氢。

[1084] 在其它具体实施方案中, 当另一个 B 或 C 为氢时, B 或 C 之一可为卤素、氨基或硫醇基。而且, D 可以为氢或氧、氮、碳或硫, 其连接到磷酸酯、磷酸基、焦磷酸基, 或通过磷酸二酯或碳-、氮-或硫-取代的磷酸二酯桥连接到单磷酸腺苷, 或通过磷酸二酯或碳-、氮-或硫-取代的磷酸二酯桥连接到二磷酸腺苷。单磷酸腺苷或二磷酸腺苷的类似物也可以代替单磷酸腺苷或二磷酸腺苷基团。

[1085] 在某些具体实施方案中, A 具有两个或更多个供电子部分。

[1086] 在其它具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为以下通式 70、71 或 72 所示的异烟酰胺类似化合物。

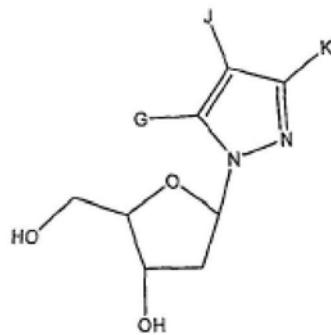
[1087]



70

[1088] 其中 Z 为烷基, 芳基, 羟基, 其中 Z' 为烷基或芳基、氨基的 OZ', 其中 Z' 为烷基或芳基的 NHZ', 或其中 Z' 和 Z'' 独立地为烷基或芳基的 NHZ' Z'' ;E 和 F 独立地为 H、CH<sub>3</sub>、OCH<sub>3</sub>、CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、NH<sub>2</sub>、OH、NHCOH、NHCOCH<sub>3</sub>、N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、芳基或 C<sub>3</sub>—C<sub>10</sub> 烷基, 优选地, 倘若 E 或 F 其中之一为 H 时, 另一个 E 或 F 不为 H ;

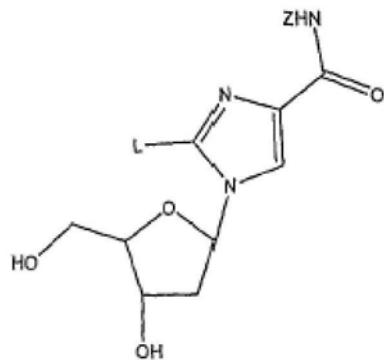
[1089]



71

[1090] 其中 G、J 或 K 为 CONHZ, 其中 Z 为烷基、芳基、羟基, 其中 Z' 为烷基或芳基、氨基的 OZ', 其中 Z' 为烷基或芳基的 NHZ', 或其中 Z' 和 Z'' 独立地为烷基或芳基的 NHZ' Z'' ;并且 G、J 和 K 的其它两个独立地为 CH<sub>3</sub>、OCH<sub>3</sub>、CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、NH<sub>2</sub>、OH、NHCOH、NHCOCH<sub>3</sub> ;

[1091]



72

[1092] 其中 Z 为烷基, 芳基, 羟基, 其中 Z' 为烷基或芳基、氨基的 OZ', 其中 Z' 为烷基或芳基的 NHZ', 或其中 Z' 和 Z'' 独立地为烷基或芳基的 NHZ' Z'' ;且 L 为 CH<sub>3</sub>、OCH<sub>3</sub>、CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、NH<sub>2</sub>、OH、NHCOH、NHCOCH<sub>3</sub> 。

[1093] 在一个示例性的具体实施方案中, 化合物为上述通式 70 所示的化合物, 其中 E 和

F 独立地为 H、CH<sub>3</sub>、OCH<sub>3</sub> 或 OH, 优选地, 倘若 E 或 F 之一为 H 时, 另一个 E 或 F 不为 H。

[1094] 在另一个示例性具体实施方案中, 化合物为  $\beta$ -1'-5- 甲基 - 烟酰胺 -2' - 脱氧核糖、 $\beta$ -D-1'-5- 甲基 - 烟酰胺 -2' - 脱氧呋喃核糖苷、 $\beta$ -1'-4, 5- 二甲基 - 烟酰胺 -2' - 脱氧核糖或  $\beta$ -D-1'-4, 5- 二甲基 - 烟酰胺 -2' - 脱氧呋喃核糖苷。

[1095] 在另一个具体实施方案中, 化合物为  $\beta$ -1'-5- 甲基 - 烟酰胺 -2' - 脱氧核糖。

[1096] 在不受任何特殊机理的限制下, 应相信在 A 上的供电子部分会稳定本发明的化合物, 从而使化合物的余下部分较少受到水解的影响。由于对抗水解而使化合物在生物系统内较长时间保持活性, 这种改良的化学稳定性提升了化合物的价值。熟练的技术人员可以设想多种预期发挥这种稳定功能的供电子部分。适宜的供电子部分的非限制性例子为甲基、乙基、0- 甲基、氨基、NMe<sub>2</sub>、羟基、CMe<sub>3</sub>、芳基和烷基。优选地, 供电子部分为甲基、乙基、0- 甲基、氨基。在最优先的具体实施方案中, 供电子部分为甲基。

[1097] 通式 69-72 所示的化合物以游离形式和盐的形式使用。术语“药学上可接受的盐”是指应用源自无机或有机酸的无毒盐, 如源自下列酸的盐: 盐酸、硫酸、磷酸、乙酸、乳酸、富马酸、琥珀酸、酒石酸、葡萄糖酸、柠檬酸, 甲基磺酸和对甲苯磺酸。

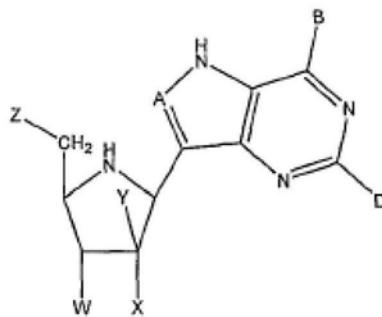
[1098] 本发明还提供的通式 69-72 所示化合物为本发明公开的抑制剂化合物的互变异构体、药学上可接受的盐、酯以及前药。

[1099] 通式 69-72 所示化合物的生物利用度可以通过转化为前药的形式来提高。这些前药相对于未转化化合物来说, 其亲脂性被提高, 这可以提高膜渗透性。前药的一个尤其有用的形式为酯衍生物。它的作用依赖于一种或多种普遍存在的细胞内脂酶催化酯基团的水解, 并在其活性位点或附近释放活性化合物的活性。在一种前药形式中, 化合物中一个或多个羟基可以被 0- 酰基化, 从而制备酰化的衍生物。

[1100] 也可以制备通式 69-72 所示化合物的 5- 磷酸酯衍生物的前药形式。由于 5- 磷酸酯的阴离子性质可以限制其穿过细胞膜的能力, 所以这会尤其有用。这种 5- 磷酸酯衍生物便于被转化为不带电的双(酰氧甲基)酯衍生物。这种前药的作用依赖于一种或多种普遍存在的细胞内脂酶催化酯基团的水解, 并在活性位点或附近释放甲醛分子和本发明的化合物的活性。这些磷酸化碳水化合物衍生物的酰氧甲基酯前药形式的作用和一般制备方法的具体例子已经被记载(Kang 等, 1998; Jiang 等, 1998; Li 等, 1997; Kruppa 等, 1997)。

[1101] 在另一个具体实施方案中, 示例性的 Sirtuin 活化化合物为 0- 乙酰基 -ADP- 核糖类似物, 包括 2'-0- 乙酰基 -ADP- 核糖和 3'-0- 乙酰基 -ADP- 核糖及其类似物。示例性的 0- 乙酰基 -ADP- 核糖类似物已有记载, 例如美国专利公开 2004/0053944; 2002/0061898 和 2003/0149261, 因此其公开内容全部被引入本发明作为参考。在一个示例性的具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物可以为具有下列任意通式 73-76 所示的 0- 乙酰基 -ADP- 核糖类似物。在一个具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 73 所示的 0- 乙酰基 -ADP- 核糖类似化合物

[1102]



73

[1103] 其中：

[1104] A 选自 N、CH 和 CR, 其中 R 选自卤素、任选取代的烷基、芳烷基和芳基、OH、NH<sub>2</sub>、NHR<sup>1</sup>、NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> 和 SR<sup>3</sup>, 其中 R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup> 和 R<sup>3</sup> 各自为任选取代的烷基、芳烷基或芳基；

[1105] B 选自 OH、NH<sub>2</sub>、NHR<sup>4</sup>、H 和卤素, 其中 R<sup>4</sup> 为任选取代的烷基、芳烷基或芳基；

[1106] D 选自 OH、NH<sub>2</sub>、NHR<sup>5</sup>、H、卤素和 SCH<sub>3</sub>, 其中 R<sup>5</sup> 为任选取代的烷基、芳烷基或芳基；

[1107] X 和 Y 独立地选自 H、OH 和卤素, 条件是当 X 和 Y 之一为羟基或卤素时, 另一个为氢；

[1108] Z 为 OH, 或者当 X 为羟基时, Z 选自氢、卤素、羟基、SQ 和 OQ, 其中 Q 为任选取代的烷基、芳烷基或芳基；以及

[1109] W 为 OH 或 H, 条件是当 W 为 OH 时, A 为 CR, 其中 R 如上述定义；

[1110] 或其互变异构体；或其药学上可接受的盐；或其酯；或其前药。

[1111] 在某些具体实施方案中, 当 B 为 NHR<sup>4</sup> 和 / 或 D 为 NHR<sup>5</sup>, 那么 R<sup>4</sup> 和 / 或 R<sup>5</sup> 为 C1-C4 烷基。

[1112] 在其它具体实施方案中, 当存在一个或多个卤素时, 它们选自氯和氟。

[1113] 在另一个具体实施方案中, 当 Z 为 SQ 或 OQ 时, Q 为 C1-C5 烷基或苯基。

[1114] 在一个示例性的具体实施方案中, D 为 H, 或当 D 不为 H 时, B 为 OH。

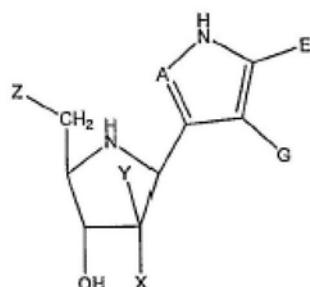
[1115] 在另一个具体实施方案中, B 为 OH, D 为 H、OH 或 NH<sub>2</sub>, X 为 OH 或 H, Y 为 H, 最优选 Z 为 OH、H 或甲硫基, 特别为 OH。

[1116] 在某些具体实施方案中, W 为 OH, Y 为 H, X 为 OH, 且 A 为 CR, 其中 R 为甲基或卤素, 优选为氟。

[1117] 在其它具体实施方案中, W 为 H, Y 为 H, X 为 OH 且 A 为 CH。

[1118] 在其它具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 74 所示的 O-乙酰基-ADP-核糖类似化合物：

[1119]



74

[1120] 其中 A、X、Y、Z 和 R 如以上通式(73)所示化合物中首次出现的定义;E 选自  $\text{CO}_2\text{H}$  或相应的盐、 $\text{CO}_2\text{R}$ 、 $\text{CN}$ 、 $\text{CONH}_2$ 、 $\text{CONHR}$  或  $\text{CONR}_2$ ;且 G 选自  $\text{NH}_2$ 、 $\text{NHCOR}$ 、 $\text{NHCONHR}$  或  $\text{NHCSNHR}$ ;或其互变异构体,或其药学上可接受的盐,或其酯,或其前药。

[1121] 在某些具体实施方案中, E 为  $\text{CONH}_2$  且 G 为  $\text{NH}_2$ 。

[1122] 在其它具体实施方案中, E 为  $\text{CONH}_2$ , G 为  $\text{NH}_2$ , X 为 OH 或 H, 为 H, 最优选 Z 为 OH、H 或甲硫基, 特别为 OH。

[1123] 示例性的 Sirtuin 活化化合物包括下列化合物:

[1124] (1S)-1, 4- 双脱氧 -1-C-(4- 羟基吡咯 [3, 2-d] 嘧啶 -7- 基 )-1, 4- 亚氨基 -D- 核糖醇

[1125] (1S)-1-C-(2- 氨基 -4- 羟基吡咯 [3, 2-d] 嘧啶 -7- 基 )-1, 4- 双脱氧 -1, 4- 亚氨基 -D- 核糖醇

[1126] (1R)-1-C-(4- 羟基吡咯 [3, 2-d] 嘧啶 -7- 基 )-1, 4- 亚氨基 -1, 2, 4- 三脱氧 -D- 赤式 - 戊糖醇

[1127] (1S)-1-C-(4- 羟基吡咯 [3, 2-d] 嘧啶 -7- 基 )-1, 4- 亚氨基 -1, 4, 5- 三脱氧 -D- 核糖醇

[1128] (1S)-1, 4- 双脱氧 -1-C-(4- 羟基吡咯 [3, 2-d] 嘧啶 -7- 基 )-1, 4- 亚氨基 -5- 甲硫基 -D- 核糖醇

[1129] (1S)-1, 4- 双脱氧 -1-C-(2, 4- 二羟基吡咯 [3, 2-d] 嘧啶 -7- 基 )-1, 4- 亚氨基 -D- 核糖醇

[1130] (1R)-1-C-(2, 4- 二羟基吡咯 [3, 2-d] 嘧啶 -7- 基 )-1, 4- 亚氨基 -1, 2, 4- 三脱氧 -D- 赤式 - 戊糖醇

[1131] (1S)-1-C-(2, 4- 二羟基吡咯 [3, 2-d] 嘧啶 -7- 基 )-1, 4- 亚氨基 -1, 4, 5- 三脱氧 -D- 核糖醇

[1132] (1S)-1, 4- 双脱氧 -1-C-(2, 4- 二羟基吡咯 [3, 2-d] 嘧啶 -7- 基 )-1, 4- 亚氨基 -5- 乙硫基 -D- 核糖醇

[1133] (1R)-1-C-(2- 氨基 -4- 羟基吡咯 [3, 2-d] 嘧啶 -7- 基 )-1, 4- 亚氨基 -1, 2, 4- 三脱氧 -D- 赤式 - 戊糖醇

[1134] (1S)-1-C-(2- 氨基 -4- 羟基吡咯 [3, 2-d] 嘧啶 -7- 基 )-1, 4- 亚氨基 -1, 4, 5- 三脱氧 -D- 核糖醇

[1135] (1S)-1-C-(2- 氨基 -4- 羟基吡咯 [3, 2-d] 嘧啶 -7- 基 )-1, 4- 双脱氧 -1, 4- 亚氨基 -5- 甲硫基 -D- 核糖醇

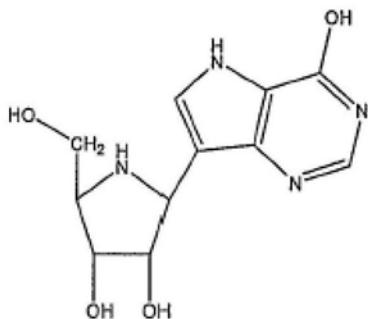
[1136] (1S)-1, 4- 双脱氧 -1-C-(7- 羟基吡唑 [4, 3-d] 嘧啶 -3- 基 )-1, 4- 亚氨基 -D- 核糖醇

[1137] (1R)-1-C-(7- 羟基吡唑 [4, 3-d] 嘧啶 -3- 基 )-1, 4- 亚氨基 -1, 2, 4- 三脱氧 -D- 赤式 - 戊糖醇

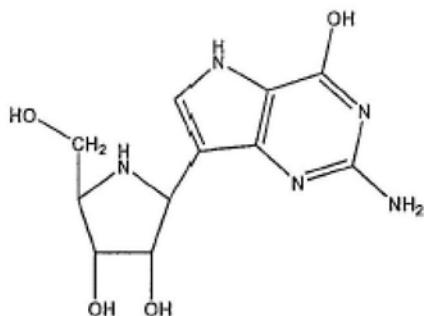
[1138] (1S)-1-C-(7- 羟基吡唑 [4, 3-d] 嘧啶 -3- 基 )-1, 4- 亚氨基 -1, 4, 5- 三脱氧 -D- 核糖醇

[1139] (1S)-1, 4- 双脱氧 -1-C-(7- 羟基吡唑 [4, 3-d] 嘧啶 -3- 基 )-1, 4- 亚氨基 -5- 乙硫基 -D- 核糖醇

- [1140] (1S)-1, 4- 双脱氧 -1-C-(5, 7- 二羟基吡唑 [4, 3-d] 嘧啶 -3- 基 )-1, 4- 亚氨基 -D- 核糖醇
- [1141] (1R)-1-C-(5, 7- 二羟基吡唑 [4, 3-d] 嘧啶 -3- 基 )-1, 4- 亚氨基 -1, 2, 4- 三脱氧 -D- 赤式 - 戊糖醇
- [1142] (1S)-1-C-(5, 7- 二羟基吡唑 [4, 3-d] 嘧啶 -3- 基 )-1, 4- 亚氨基 -1, 4, 5- 三脱氧 -D- 核糖醇
- [1143] (1S)-1, 4- 双脱氧 -1-C-(5, 7- 二羟基吡唑 [4, 3-d] 嘧啶 -3- 基 )-1, 4- 亚氨基 -5- 甲硫基 -D- 核糖醇
- [1144] (1S)-1-C-(5- 氨基 -7- 羟基吡唑 [4, 3-d] 嘧啶 -3- 基 )-1, 4- 双脱氧 -1, 4- 亚氨基 -D- 核糖醇
- [1145] (1R)-1-C-(S- 氨基 -7- 羟基吡唑 [4, 3-d] 嘧啶 -3- 基 )-1, 4- 亚氨基 -1, 2, 4- 三脱氧 -D- 赤式 - 戊糖醇
- [1146] (1S)-1-C-(5- 氨基 -7- 羟基吡唑 [4, 3-d] 嘧啶 -3- 基 )-1, 4- 亚氨基 -1, 4, 5- 三脱氧 -D- 核糖醇
- [1147] (1S)-1-C-(5- 氨基 -7- 羟基吡唑 [4, 3-d] 嘧啶 -3- 基 )-1, 4- 双脱氧 -1, 4- 亚氨基 -5- 甲硫基 -D- 核糖醇
- [1148] (1S)-1-C-(3- 氨基 -2- 甲酰胺基 -4- 吡咯 )-1, 4- 双脱氧 -1, 4- 亚氨基 -D- 核糖醇
- [1149] (1S)-1, 4- 双脱氧 -1-C-(4- 羟基吡咯 [3, 2-d] 嘧啶 -7- 基 )-1, 4- 亚氨基 -D- 核糖醇 5- 磷酸酯
- [1150] (1S)-1-C-(2- 氨基 -4- 羟基吡咯 [3, 2-d] 嘧啶 -7- 基 )-1, 4- 亚氨基 -D- 核糖醇 5- 磷酸酯
- [1151] (1S)-1-C-(3- 氨基 -2- 甲酰胺基 -4- 吡咯 )-1, 4- 双脱氧 -1, 4- 亚氨基 -D- 核糖醇
- [1152] 在其它具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物为通式 75 和 76 所示的 0- 乙酰基 -ADP- 核糖类似化合物、它们的互变异构体和药学上可接受的盐。
- [1153]



75



76

[1154] 通式(73)或通式(74)所示的化合物的生物利用度可以通过转化为前药形式而提高。这些前药相对于通式(73)或通式(74)所示的化合物来说,其亲脂性提高,这样可以获得提高的膜渗透性。前药的一个尤其有用的形式为酯衍生物。它的作用依赖于一种或多种普遍存在的细胞内脂酶催化这些酯基团的水解,并在活性位点或附近释放通式(73)和通式(74)所示的化合物的活性。

[1155] 在一种前药形式中,通式(73)或通式(74)所示的化合物中的一个或多个羟基可以被0-酰基化,从而制备例如5-0-丁酸酯或2,3-0-丁酸酯衍生物。

[1156] 也可以制备通式(73)或通式(74)所示的化合物的5-磷酸酯衍生物的前药形式,由于5-磷酸酯的阴离子性质可以限制其穿过细胞膜的能力,所以这尤其有用。这种5-磷酸酯衍生物便于转化为不带电的双(酰氧甲基)酯衍生物。这种前药的作用依赖于一种或多种普遍存在的细胞内脂酶催化这些酯基团的水解,并在活性位点或附近释放甲醛分子和通式(73)或通式(74)的化合物的活性。

[1157] 在一个示例性的具体实施方案中,2'-AADPR或3'-AADPR的类似物被设计为通过对受酯酶攻击的酯氧原子进行熟知的取代,从而增加其对酯酶的稳定性。2'-AADPR和3'-AADPR中的酯酶不稳定氧原子可以理解为连接乙酸基团和核糖的酯氧,以及位于两个磷原子之间的酯氧。本领域已知,这些酯氧原子之一或两者被CF<sub>2</sub>、NH或S取代将会产生由于抗酯酶作用增加而实质上更稳定的2'-AADPR或3'-AADPR类似物。

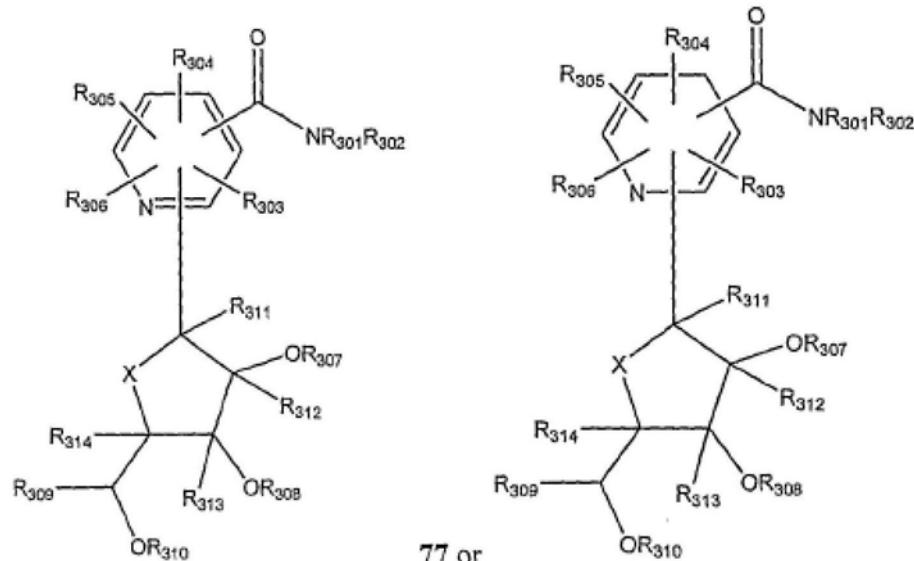
[1158] 因此,在某些具体实施方案中,本发明涉及表现出增加的细胞内稳定性的2'-0-乙酰基-ADP-核糖或3'-0-乙酰基-ADP-核糖类似物。优选的类似物包括由CF<sub>2</sub>、NH或S代替乙酰酯氧或两个磷原子之间的氧。最优选的取代基为CF<sub>2</sub>。乙酰酯氧的取代是尤其优选的。在其它的优选的具体实施方案中,酯氧和两个磷原子之间的氧独立地被CF<sub>2</sub>、NH或S取代。

[1159] 本发明还包括此处记载的Sirtuin活性化合物的药学上可接受的加成盐和配合

物。如果其中的化合物可以具有一个或多个手性中心,除非特殊说明,本发明考虑的化合物可以为单一的立体异构体或立体异构体的外消旋混合物。

[1160] 在一个具体实施方案中,用于本发明的 sirtuin 调节剂由通式 77 或 78 或其药学上可接受的盐所代表:

[1161]



78

[1162] 其中:

[1163]  $R_{301}$  和  $R_{302}$  独立地为  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的烯基、取代的或未取代的炔基、取代的或未取代的非芳香杂环基团或取代的或未取代的芳基,或  $R_{301}$  和  $R_{302}$  一起形成取代的或未取代的非芳香杂环基团;

[1164]  $R_{303}$ 、 $R_{304}$ 、 $R_{305}$  和  $R_{306}$  独立地选自  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、取代的或未取代的非芳香杂环基团、卤素、 $-OR$ 、 $-CN$ 、 $-CO_2R$ 、 $-OCOR$ 、 $-OC_2R$ 、 $-C(O)NRR'$ 、 $-OC(O)NRR'$ 、 $-C(O)R$ 、 $-COR$ 、 $-SR$ 、 $-OSO_3H$ 、 $-S(O)nR$ 、 $-S(O)_nOR$ 、 $-S(O)_nNRR'$ 、 $-NRR'$ 、 $-NRC(O)OR'$ 、 $-NO_2$  和  $-NRC(O)R'$ ;

[1165]  $R_{307}$ 、 $R_{308}$  和  $R_{310}$  独立地选自  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、 $-C(O)R$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-C(O)NHR$ 、 $-C(S)R$ 、 $-C(S)OR$  和  $-C(O)SR$ ;

[1166]  $R_{309}$  选自  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、取代的或未取代的非芳香杂环基团、卤素、 $-OR$ 、 $-CN$ 、 $-CO_2R$ 、 $-OCOR$ 、 $-OCO_2R$ 、 $-C(O)NRR'$ 、 $-OC(O)NRR'$ 、 $-C(O)R$ 、 $-COR$ 、 $-SR$ 、 $-OSO_3H$ 、 $-S(O)_nR$ 、 $-S(O)_nOR$ 、 $-S(O)_nNRR'$ 、 $-NRR'$ 、 $-NRC(O)OR'$  和  $-NRC(O)R'$ ;

[1167]  $R_{311}$ 、 $R_{312}$ 、 $R_{313}$  和  $R_{314}$  独立地选自  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、取代的或未取代的非芳香杂环基团、卤素、 $-CN$ 、 $-CO_2R$ 、 $-OCOR$ 、 $-OCO_2R$ 、 $-C(O)NRR'$ 、 $-OC(O)NRR'$ 、 $-C(O)R$ 、 $-COR$ 、 $-OSO_3H$ 、 $-S(O)_nR$ 、 $-S(O)_nOR$ 、 $-S(O)_nNRR'$ 、 $-NRR'$ 、 $-NRC(O)OR'$ 、 $-NO_2$  和  $-NRC(O)R'$ ;

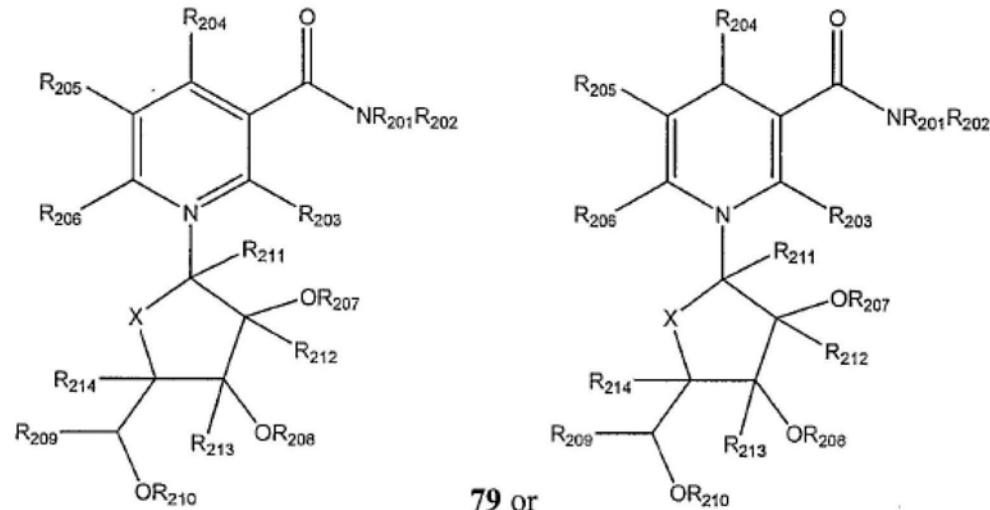
[1168]  $R$  和  $R'$  独立地为  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基或取代的或未取代的非芳香杂环基团;

[1169]  $X$  为  $O$  或  $S$ ;以及

[1170]  $n$  为 1 或 2。

[1171] 通式 77 和 78 涵盖的一组适宜的化合物由结构通式 79 和 80 或其药学上可接受的盐代表：

[1172]



**80**

[1173] 其中：

[1174]  $R_{201}$  和  $R_{202}$  独立地为  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的烯基、取代的或未取代的炔基、取代的或未取代的非芳香杂环基团或取代的或未取代的芳基，或  $R_{201}$  和  $R_{202}$  一起形成取代的或未取代的非芳香杂环基团；

[1175]  $R_{203}$ 、 $R_{204}$ 、 $R_{205}$  和  $R_{206}$  独立地选自  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、取代的或未取代的非芳香杂环基团、卤素、 $-OR$ 、 $-CN$ 、 $-CO_2R$ 、 $-OCOR$ 、 $-OCO_2R$ 、 $-C(O)NRR'$ 、 $-OC(O)NRR'$ 、 $-C(O)R$ 、 $-COR$ 、 $-SR$ 、 $-OSO_3H$ 、 $-S(O)_nR$ 、 $-S(O)_nOR$ 、 $-S(O)_nNRR'$ 、 $-NRR'$ 、 $-NRC(O)OR'$ 、 $-NO_2$  和  $-NRC(O)R'$ ；

[1176]  $R_{207}$ 、 $R_{208}$  和  $R_{210}$  独立地选自  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、 $-C(O)R$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-C(O)NHR$ 、 $-C(S)R$ 、 $-C(S)OR$  和  $-C(O)SR$ ；

[1177]  $R_{209}$  选自  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、取代的或未取代的非芳香杂环基团、卤素、 $-OR$ 、 $-CN$ 、 $-CO_2R$ 、 $-OCOR$ 、 $-OCO_2R$ 、 $-C(O)NRR'$ 、 $-OC(O)NRR'$ 、 $-C(O)R$ 、 $-COR$ 、 $-SR$ 、 $-OSO_3H$ 、 $-S(O)_nR$ 、 $-S(O)_nOR$ 、 $-S(O)_nNRR'$ 、 $-NRR'$ 、 $-NRC(O)OR'$  和  $-NRC(O)R'$ ；

[1178]  $R_{211}$ 、 $R_{212}$ 、 $R_{213}$  和  $R_{214}$  独立地选自  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、取代的或未取代的非芳香杂环基团、卤素、 $-CN$ 、 $-CO_2R$ 、 $-OCOR$ 、 $-OCO_2R$ 、 $-C(O)NRR'$ 、 $-OC(O)NRR'$ 、 $-C(O)R$ 、 $-COR$ 、 $-OSO_3H$ 、 $-S(O)_nR$ 、 $-S(O)_nOR$ 、 $-S(O)_nNRR'$ 、 $-NRR'$ 、 $-NRC(O)OR'$ 、 $-NO_2$  和  $-NRC(O)R'$ ；

[1179]  $R$  和  $R'$  独立地为  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基或取代的或未取代的非芳香杂环基团；

[1180]  $X$  为  $O$  或  $S$ ，优选为  $O$ ；以及

[1181]  $n$  为 1 或 2。

[1182] 在一组由通式 79 或 80 代表的特殊化合物中， $R_{207}$ 、 $R_{208}$  和  $R_{210}$  中至少一个为取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、 $-C(O)R$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-C(O)NHR$ 、 $-C(S)R$ 、 $-C(S)OR$  或  $-C(O)SR$ 。有代表性地， $R_{207}$ 、 $R_{208}$  和  $R_{210}$  中至少一个为  $-C(O)R$  或  $-C(O)OR$ 。更有代表性

地,  $R_{207}$ 、 $R_{208}$  和  $R_{210}$  中至少一个为  $-C(O)R$ 。在这些化合物中,  $R$  优选为取代的或未取代的烷基, 尤其为未取代的烷基, 如甲基或乙基。

[1183] 在另一组由通式 79 或 80 代表的特殊化合物中,  $R_{204}$  为卤素(例如, 氟、溴、氯)或氢(包括氘和 / 或氘同位素)。适宜的化合物包括其中  $R_{207}$ 、 $R_{208}$  和  $R_{210}$  中至少一个为取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、 $-C(O)R$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-C(O)NHR$ 、 $-C(S)R$ 、 $-C(S)OR$  或  $-C(O)SR$  且  $R_{204}$  为卤素或氢。

[1184] 对于通式 79 或 80 代表的化合物,  $R_{203}$ – $R_{206}$  有代表性地为  $-H$ 。另外,  $R_{209}$  和  $R_{211}$ – $R_{214}$  有代表性地为  $-H$ 。通式 79 或 80 代表的特殊化合物选自  $R_{203}$ – $R_{206}$ 、 $R_{209}$  和  $R_{211}$ – $R_{214}$  全为  $-H$  的化合物。对于这些化合物,  $R_{204}$ 、 $R_{207}$ 、 $R_{208}$  和  $R_{210}$  具有如上所述的含义。

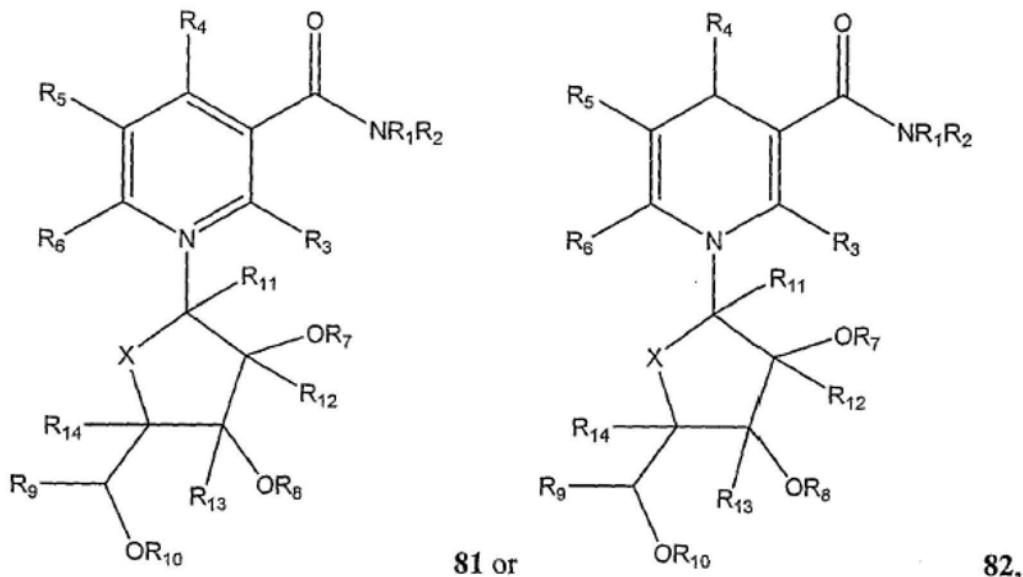
[1185] 有代表性地,  $R_{201}$  和  $R_{202}$  为  $-H$  或取代的或未取代的烷基, 更有代表性地, 为  $-H$ 。在具有这样  $R_{201}$  和  $R_{202}$  含义的化合物中,  $R_{203}$ – $R_{206}$ 、 $R_{209}$  和  $R_{211}$ – $R_{214}$  有代表性地具有如上所述的含义。

[1186] 在本发明的某些方法中, 当  $X$  为 0 时,  $R_{201}$ – $R_{214}$  中至少一个不为  $-H$ 。

[1187] 在本发明的某些方法中, 当  $R_{201}$ – $R_{205}$  和  $R_{207}$ – $R_{214}$  均为  $-H$  时,  $R_{206}$  不为  $-H$  或  $-NH_2$ 。

[1188] 在一个具体实施方案中, sirtuin 调节剂由通式 81 或 82 或其药学上可接受的盐代表:

[1189]



[1190] 其中:

[1191]  $R_1$  和  $R_2$  独立地为  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的烯基、取代的或未取代的炔基、取代的或未取代的非芳香杂环基团或取代的或未取代的芳基, 或  $R_1$  和  $R_2$  一起形成取代的或未取代的非芳香杂环基团, 倘若  $R_1$  和  $R_2$  之一为  $-H$ , 另一个不为被  $-C(O)OCH_2CH_3$  取代的烷基;

[1192]  $R_3$ 、 $R_4$  和  $R_5$  独立地选自  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、取代的或未取代的非芳香杂环基团、卤素、 $-OR$ 、 $-CN$ 、 $-CO_2R$ 、 $-OCOR$ 、 $-OCO_2R$ 、 $-C(O)NRR'$ 、 $-OC(O)NRR'$ 、 $-C(O)R$ 、 $-COR$ 、 $-SR$ 、 $-OSO_3H$ 、 $-S(O)_nR$ 、 $-S(O)_nOR$ 、 $-S(O)_nNRR'$ 、 $-NRR'$ 、 $-NRC(O)OR'$ 、 $-NO_2$  和  $-NRC(O)R'$ ;

[1193]  $R_6$  选自  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、取代的或未取代的

非芳香杂环基团、卤素、-OR、-CN、-CO<sub>2</sub>R、-OCOR、-OCO<sub>2</sub>R、-C(O)NRR'、-OC(O)NRR'、-C(O)R、-COR、-SR、-OSO<sub>3</sub>H、-S(O)<sub>n</sub>R、-S(O)<sub>n</sub>OR、-S(O)<sub>n</sub>NRR'、-NRC(O)OR'、-NO<sub>2</sub> 和 -NRC(O)R'；

[1194] R<sub>7</sub>、R<sub>8</sub> 和 R<sub>10</sub> 独立地选自 -H、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、-C(O)R、-C(O)OR、-C(O)NHR、-C(S)R、-C(S)OR 和 -C(O)SR；

[1195] R<sub>9</sub> 选自 -H、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、取代的或未取代的非芳香杂环基团、卤素、-OR、-CN、-CO<sub>2</sub>R、-OCOR、-OCO<sub>2</sub>R、-C(O)NRR'、-OC(O)NRR'、-C(O)R、-COR、-SR、-OSO<sub>3</sub>H、-S(O)<sub>n</sub>R、-S(O)<sub>n</sub>OR、-S(O)<sub>n</sub>NRR'、-NRR'、-NRC(O)OR' 和 -NRC(O)R'；

[1196] R<sub>11</sub>、R<sub>12</sub>、R<sub>13</sub> 和 R<sub>14</sub> 独立地选自 -H、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、取代的或未取代的非芳香杂环基团、卤素、-CN、-CO<sub>2</sub>R、-OCOR、-OCO<sub>2</sub>R、-C(O)NRR'、-OC(O)NRR'、-C(O)R、-COR、-OSO<sub>3</sub>H、-S(O)<sub>n</sub>R、-S(O)<sub>n</sub>OR、-S(O)<sub>n</sub>NRR'、-NRR'、-NRC(O)OR'、-NO<sub>2</sub> 和 -NRC(O)R'；

[1197] R 和 R' 独立地为 -H、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、或取代的或未取代的非芳香杂环基团；

[1198] X 为 O 或 S，优选为 O；以及

[1199] n 为 1 或 2，

[1200] 如果 R<sub>1</sub>–R<sub>14</sub> 不全为 -H，当 R<sub>10</sub> 为 -C(O)C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> 时，R<sub>1</sub>–R<sub>9</sub> 和 R<sub>11</sub>–R<sub>14</sub> 不全为 -H。

[1201] 在某些具体实施方案中，R<sub>1</sub> 为 -H。

[1202] 在某些具体实施方案中，R<sub>7</sub>、R<sub>8</sub> 和 R<sub>10</sub> 独立地为 -H、-C(O)R 或 -C(O)OR，有代表性地为 -H 或 -C(O)R，如 -H 或 -C(O)CH<sub>3</sub>。在特定的具体实施方案中，R<sub>1</sub> 为 -H 且 R<sub>7</sub>、R<sub>8</sub> 和 R<sub>10</sub> 独立地为 -H、-C(O)R 或 -C(O)OR。

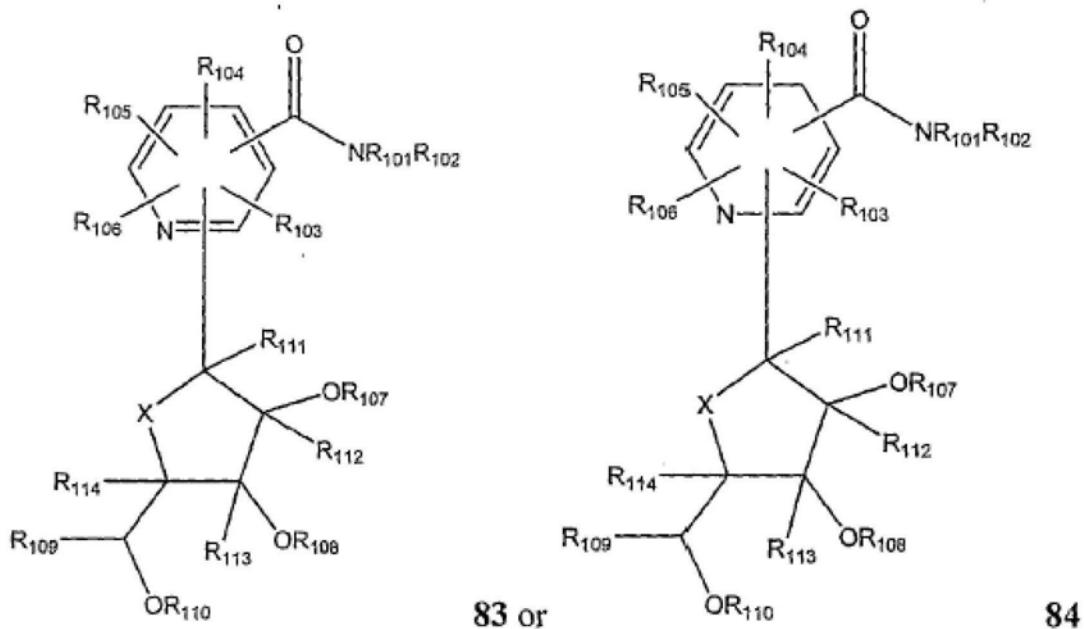
[1203] 在某些具体实施方案中，R<sub>9</sub> 为 -H。在特定的具体实施方案中，当 R<sub>1</sub> 为 -H 和 / 或 R<sub>7</sub>、R<sub>8</sub> 和 R<sub>10</sub> 独立地为 -H、-C(O)R 或 -C(O)OR 时，R<sub>9</sub> 为 -H。

[1204] 在某些具体实施方案中，R<sub>2</sub> 为 -H。在特定的具体实施方案中，当 R<sub>9</sub> 为 -H，R<sub>1</sub> 为 -H 和 / 或 R<sub>7</sub>、R<sub>8</sub> 和 R<sub>10</sub> 独立地为 -H、-C(O)R 或 -C(O)OR 时，R<sub>2</sub> 为 -H。有代表性地，当 R<sub>9</sub> 为 -H，R<sub>1</sub> 为 -H 和 R<sub>7</sub>、R<sub>8</sub> 和 R<sub>10</sub> 独立地为 -H、-C(O)R 或 -C(O)OR 时，R<sub>2</sub> 为 -H。

[1205] 在某些具体实施方案中，R<sub>4</sub> 为 -H 或卤素，如氯或氟。

[1206] 在一个具体实施方案中，sirtuin 调节剂由通式 83 或 84 或其药学上可接受的盐所代表：

[1207]



[1208] 其中：

[1209]  $R_{101}$  和  $R_{102}$  独立地为  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的烯基、取代的或未取代的炔基、取代的或未取代的非芳香杂环基团或取代的或未取代的芳基，或  $R_{101}$  和  $R_{102}$  一起形成取代的或未取代的非芳香杂环基团；

[1210]  $R_{103}$ 、 $R_{104}$ 、 $R_{105}$  和  $R_{106}$  独立地选自  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、取代的或未取代的非芳香杂环基团、卤素、 $-OR$ 、 $-CN$ 、 $-CO_2R$ 、 $-OCOR$ 、 $-OC_2R$ 、 $-C(O)NRR'$ 、 $-OC(O)NRR'$ 、 $-C(O)R$ 、 $-COR$ 、 $-SR$ 、 $-OSO_3H$ 、 $-S(O)_nR$ 、 $-S(O)_nOR$ 、 $-S(O)_nNRR'$ 、 $-NRR'$ 、 $-NRC(O)OR'$ 、 $-NO_2$  和  $-NRC(O)R'$ ；

[1211]  $R_{107}$  和  $R_{108}$  选自  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、 $-C(O)R$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-C(O)NHR$ 、 $-C(S)R$ 、 $-C(S)OR$  或  $-C(O)SR$ ；

[1212]  $R_{109}$  选自  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、取代的或未取代的非芳香杂环基团、卤素、 $-OR$ 、 $-CN$ 、 $-CO_2R$ 、 $-OCOR$ 、 $-OCO_2R$ 、 $-C(O)NRR'$ 、 $-OC(O)NRR'$ 、 $-C(O)R$ 、 $-COR$ 、 $-SR$ 、 $-OSO_3H$ 、 $-S(O)_nR$ 、 $-S(O)_nOR$ 、 $-S(O)_nNRR'$ 、 $-NRR'$ 、 $-NRC(O)OR'$  和  $-NRC(O)R'$ ；

[1213] 如果  $R_{110}$  不为  $-C(O)C_6H_5$ ，则  $R_{110}$  选自  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、 $-C(O)R$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-C(O)NHR$ 、 $-C(S)R$ 、 $-C(S)OR$  和  $-C(O)SR$ ；

[1214]  $R_{111}$ 、 $R_{112}$ 、 $R_{113}$  和  $R_{114}$  独立地选自  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、取代的或未取代的非芳香杂环基团、卤素、 $-CN$ 、 $-CO_2R$ 、 $-OCOR$ 、 $-OCO_2R$ 、 $-C(O)NRR'$ 、 $-OC(O)NRR'$ 、 $-C(O)R$ 、 $-COR$ 、 $-SR$ 、 $-OSO_3H$ 、 $-S(O)_nR$ 、 $-S(O)_nOR$ 、 $-S(O)_nNRR'$ 、 $-NRR'$ 、 $-NRC(O)OR'$ 、 $-NO_2$  和  $-NRC(O)R'$ ；

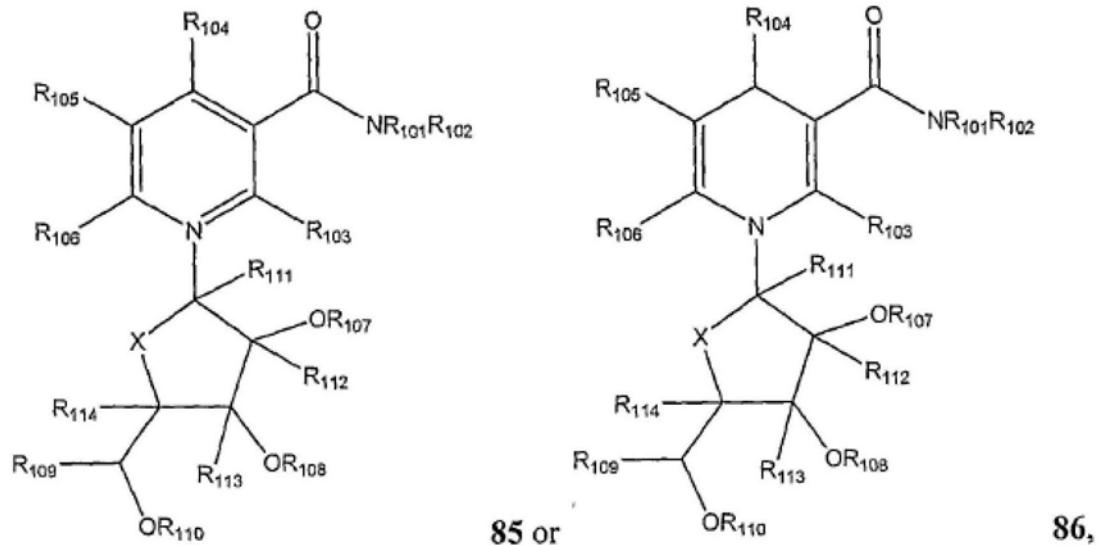
[1215]  $R$  和  $R'$  独立地为  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基或取代的或未取代的非芳香杂环基团；

[1216]  $X$  为  $O$  或  $S$ ；以及

[1217]  $n$  为 1 或 2。

[1218] 在另一个具体实施方案中, sirtuin 调节剂由通式 85 或 86 或其药学上可接受的盐代表：

[1219]



[1220] 其中：

[1221]  $R_{101}$  和  $R_{102}$  独立地为  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的烯基、取代的或未取代的炔基、取代的或未取代的非芳香杂环基团或取代的或未取代的芳基, 或  $R_{101}$  和  $R_{102}$  一起形成取代的或未取代的非芳香杂环基团；

[1222]  $R_{103}$ 、 $R_{104}$ 、 $R_{105}$  和  $R_{106}$  独立地选自  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、取代的或未取代的非芳香杂环基团、卤素、 $-OR$ 、 $-CN$ 、 $-CO_2R$ 、 $-OCOR$ 、 $-OCO_2R$ 、 $-C(O)NRR'$ 、 $-OC(O)NRR'$ 、 $-C(O)R$ 、 $-COR$ 、 $-SR$ 、 $-OSO_3H$ 、 $-S(O)_nR$ 、 $-S(O)_nOR$ 、 $-S(O)_nNRR'$ 、 $-NRR'$ 、 $-NRC(O)OR'$ 、 $-NO_2$  和  $-NRC(O)R'$ ；

[1223]  $R_{107}$  和  $R_{108}$  选自  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、 $-C(O)R$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-C(O)NHR$ 、 $-C(S)R$  和  $-C(O)SR$ , 其中  $R_{107}$  和  $R_{108}$  中至少一个为取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、 $-C(O)R$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-C(O)NHR$ 、 $-C(S)R$ 、 $-C(S)OR$  或  $-C(O)SR$ ；

[1224]  $R_{109}$  选自  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、取代的或未取代的非芳香杂环基团、卤素、 $-OR$ 、 $-CN$ 、 $-CO_2R$ 、 $-OCOR$ 、 $-OCO_2R$ 、 $-C(O)NRR'$ 、 $-OC(O)NRR'$ 、 $-C(O)R$ 、 $-COR$ 、 $-SR$ 、 $-OSO_3H$ 、 $-S(O)_nR$ 、 $-S(O)_nOR$ 、 $-S(O)_nNRR'$ 、 $-NRR'$ 、 $-NRC(O)OR'$  和  $-NRC(O)R'$ ；

[1225] 如果  $R_{110}$  不为  $-C(O)C_6H_5$ , 则  $R_{110}$  选自  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、 $-C(O)R$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-C(O)NHR$ 、 $-C(S)R$ 、 $-C(S)OR$  和  $-C(O)SR$ ；

[1226]  $R_{111}$ 、 $R_{112}$ 、 $R_{113}$  和  $R_{114}$  独立地选自  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基、取代的或未取代的非芳香杂环基团、卤素、 $-CN$ 、 $-CO_2R$ 、 $-OCOR$ 、 $-OCO_2R$ 、 $-C(O)NRR'$ 、 $-OC(O)NRR'$ 、 $-C(O)R$ 、 $-COR$ 、 $-OSO_3H$ 、 $-S(O)_nR$ 、 $-S(O)_nOR$ 、 $-S(O)_nNRR'$ 、 $-NRR'$ 、 $-NRC(O)OR'$ 、 $-NO_2$  和  $-NRC(O)R'$ ；

[1227]  $R$  和  $R'$  独立地为  $-H$ 、取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的芳基或取代的或未取代的非芳香杂环基团；

[1228]  $X$  为  $O$  或  $S$ ; 以及

[1229] n 为 1 或 2。

[1230] 对于通式 83-86 代表的化合物, 有代表性地,  $R_{107}$  和  $R_{108}$  中至少一个为  $-C(O)R$ , 如  $-C(O)CH_3$ 。在特定的具体实施方案中,  $R_{107}$ 、 $R_{108}$  和  $R_{110}$  独立地为  $-H$  或  $-C(O)R$ (例如  $-C(O)CH_3$ )。

[1231] 在某些具体实施方案中,如当  $R_{107}$ 、 $R_{108}$  和  $R_{110}$  具有上述含义时,  $R_{101}$  和  $R_{102}$  均为  $-H$ 。

[1232] 在某些具体实施方案中,  $R_{109}$  为  $-H$ 。

[1233] 在某些具体实施方案中,  $R_{103}\text{--}R_{106}$  均为  $-H$ 。

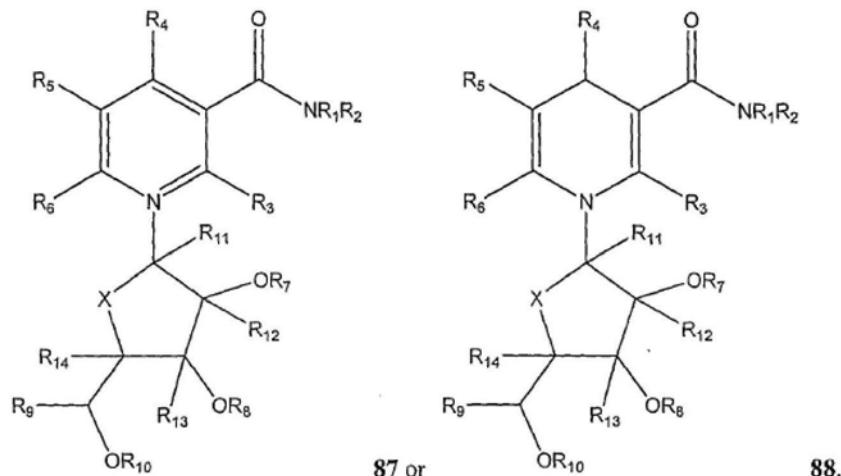
[1234] 在某些具体实施方案中,  $R_{111}-R_{114}$  均为  $-H$ 。

[1235] 在特定的具体实施方案中,  $R_{107}$ 、 $R_{108}$  和  $R_{110}$  具有上述含义且  $R_{101}-R_{106}$ 、 $R_{109}$  和  $R_{111}-R_{114}$  均为  $-H$ 。

[1236] 在某些具体实施方案中,  $R_{104}$  为  $-H$  或卤素, 有代表性地为氘或氟。其余的含义如以上所述。

[1237] 对于通式 87 或 88 所代表的 sirtuin 调节剂：

[1238]



[1239] 在某些具体实施方案中,  $R_4$  为  $-H$  (例如, 氢、氟) 或卤素(例如, 氟、溴、氯)。

[1240] 在本发明的具体实施方案中,  $R_1$ ~ $R_6$  可以均为  $-H$  时, 有代表性地, 它们均为  $-H$ 。在本发明的具体实施方案中,  $R_1$ ~ $R_6$  中之一不为  $-H$  时, 有代表性地, 其余的含义均为  $-H$  且非  $-H$  的含义为取代的或未取代的烷基或卤素(有代表性地,  $R_1$  和  $R_2$  为取代的或未取代的烷基)。

[1241] 在某些具体实施方案中,  $R_{11}-R_{14}$  均为  $-H$ 。当  $R_{11}-R_{14}$  均为  $-H$  时, 有代表性地,  $R_1-R_6$  具有如上所述的含义。

[1242] 在某些具体实施方案中,  $R_9$  为  $-H$ 。当  $R_9$  为  $-H$  时, 有代表性地,  $R_{11}-R_{14}$  均为  $-H$  且  $R_1-R_6$  具有如上所述的含义。

[1243] Sirtuin 调节剂(如, sirtuin 活化剂和 sirtuin 抑制剂)的特殊例子在美国专利公开 Nos. 2005/0136537 和 2005/0096256 中记载,例如图 1-16 中所示的化合物。

[1244] 本发明还包括此处所述的 Sirtuin 调节剂的药学上可接受的加成盐和配合物。如果化合物可以具有一个或多个手性中心,除非特殊说明,本发明考虑的化合物为单一的立体异构体或立体异构体的外消旋混合物。

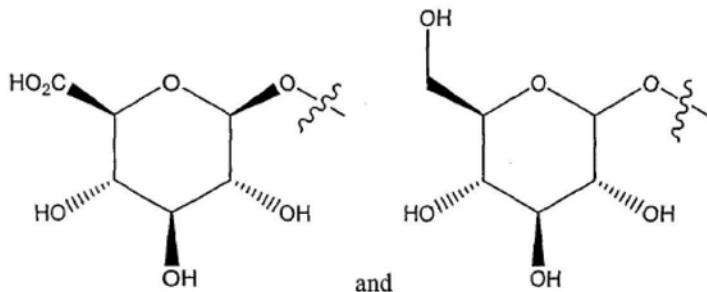
[1245] 本发明描述的化合物及其盐也包括其相应的水合物(如,半水合物、一水合物、二水合物、三水合物、四水合物)和溶剂化物。适用于制备溶剂化物和水合物的溶剂通常由技

术人员来选择。

[1246] 化合物及其盐可以以无定形或结晶(包括混晶和多晶型)形式存在。

[1247] Sirtuin 调节化合物还包括相关的次级代谢物,如磷酸酯、硫酸酯、酰基(例如,乙酰基、脂肪酸酰基)和糖(例如,glucurondate、葡萄糖)衍生物(例如羟基),尤其是硫酸酯、酰基和糖衍生物。换句话说,取代的 -OH 也包括  $-\text{OSO}_3^- \text{M}^+$ ,其中  $\text{M}^+$  为适宜的阳离子(优选为  $\text{H}^+$ 、 $\text{NH}_4^+$  或碱金属离子如  $\text{Na}^+$  或  $\text{K}^+$ )和糖,如

[1248]



[1249] 这些基团通常通过水解或代谢(例如酶)裂解形成 -OH。

[1250] 当 Sirtuin 活化化合物含有不饱和的碳碳双键的情况下,顺(Z)和反(E)异构体均为本发明所考虑。当化合物可能以互变异构形式存在的情况下,如酮-烯醇互变异构体,如

和 ,每个互变异构形式均被考虑,它们被包含于本发明记载的方法中,通过用

$\text{R}'$  进行适当的取代来确定是否以平衡状态存在或者固定于一种形式。任何一种情况下的任意取代基的含义独立于任何其它情况下该取代基或任意其它取代的含义。

[1251] 本发明记载的方法还包括本发明描述的 Sirtuin 活化化合物的前药。前药被认为是可以在体内释放活性母体药物的任何共价结合的载体。

[1252] 本发明描述的 Sirtuin 活化化合物的类似物和衍生物也可以用于活化 Sirtuin 蛋白家族的成员。例如,衍生物或类似物可以使化合物更稳定或提高它们透过细胞膜或被吞噬或胞饮的能力。示例性的衍生物包括糖基化衍生物,例如美国专利 6,361,815 描述的白藜芦醇。其它的白藜芦醇衍生物包括顺-和反-白藜芦醇及其与糖的结合物,如形成葡萄糖苷(参见,例如美国专利 6,414,037)。虎杖葡萄糖苷(也称之为白藜芦醇苷或白藜芦醇 3-0- $\beta$ -D-葡萄糖苷)也可以使用。可以与化合物结合的糖类包括葡萄糖、半乳糖、麦芽糖、乳糖和蔗糖。糖基化二苯乙烯被进一步记载于 Regev-Shoshani 等, Biochemical J. (以 BJ20030141 于 4/16/03 出版)中。本发明描述化合物的其它衍生物为酯、酰胺和前药。白藜芦醇的酯被记载于例如美国专利 6,572,882 中。白藜芦醇及其衍生物可以根据本领域中,例如美国专利 6,414,037;6,361,815;6,270,780;6,572,882;和 Brandolini 等, (2002) J. Agric. Food. Chem. 50:7407 中的记载来制备。羟基黄酮的衍生物记载于例如美国专利 4,591,600 中。白藜芦醇和其它活化化合物还可以从例如 Sigma 购得。

[1253] 在某些具体实施方案中,如果 Sirtuin 活化化合物是天然存在的,它可以在使用之前至少部分地从天然环境中分离出来。例如,植物多酚可以在用于本发明所述方法前从植物中分离,并部分或基本被纯化。在没有与天然相关的其它化合物的情况下,活性化合物也可以经合成制备。在一个例证性的具体实施方案中,活化组合物包括少于约 50%、10%、

1%、0.1%、 $10^{-2}\%$  或  $10^{-3}\%$  的与天然相关的化合物, 或活化化合物与少于约 50%、10%、1%、0.1%、 $10^{-2}\%$  或  $10^{-3}\%$  的与天然相关的化合物有关。

[1254] 在某些具体实施方案中, 特定的生物功能(例如调节代谢活性)是由 Sirtuin 活化化合物来调节的, 条件是术语 Sirtuin 活化化合物不包括一种或多种特定化合物。例如, 在某些具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物可以是能提高 sirtuin 蛋白表达和 / 或活性水平的任何化合物, 条件是该化合物不为白藜芦醇、黄酮、本发明特别引用的任何其它化合物。在一个示例性的具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物可以为通式 1-25、30、32-65 和 69-88 中任何一个所示的化合物, 条件是该化合物不为白藜芦醇、黄酮、或本发明特别引用的任何其它化合物。在一个示例性的具体实施方案中, Sirtuin 活化化合物不包括美国专利 Nos. 6, 410, 596 或 6, 552, 085 引用的任何化合物, 因此其公开内容全部引入作为参考。

[1255] 在某些具体实施方案中, 在有效活化 sirtuin, 例如 SIRT1 的脱乙酰酶活性的浓度下(例如在体内), 该目标(subject) sirtuin 活化剂, 如 SIRT1 活化剂, 不具有任何实质的抑制 PI3- 激酶、抑制醛糖还原酶(aldoreductase)和 / 或抑制酪氨酸蛋白激酶的能力。例如, 在优选的具体实施方案中, 选择的 sirtuin 活化剂具有的活化 sirtuin 脱乙酰酶活性的 EC<sub>50</sub> 比抑制一种或几种醛糖还原酶和 / 或酪氨酸蛋白激酶的 EC<sub>50</sub> 至少低 5 倍, 甚至更优选至少低 10 倍、100 倍或甚至 1000 倍。分析 PI3- 激酶活性、醛糖还原酶活性和酪氨酸激酶活性的方法为本领域所熟知的, 并且实施这些分析的试剂盒可以在市场购买。例如, 对于 PI3- 激酶分析, 参见例如美国专利公开 No. 2003/0158212 ;对于醛糖还原酶分析, 参见例如美国专利公开 No. 2002/20143017 ;酪氨酸激酶分析试剂盒可从例如 Promega (Madison, WI ; 环球信息网的 promega. com)、Invitrogen (Carlsbad, CA ; 环球信息网的 invitrogen. com) 或 Molecular Devices (Sunnyvale, CA ; 环球信息网的 moleculardevices. com) 上购买。

[1256] 在某些具体实施方案中, 在有效活化 sirtuin 的脱乙酰酶活性的浓度下(例如在体内), 目标(subject) sirtuin 活化剂不具有任何实质的反式激活 EGFR 酪氨酸激酶活性的能力。例如, 在优选的具体实施方案中, 选择的 sirtuin 活化剂具有的活化 sirtuin 脱乙酰酶活性的 EC<sub>50</sub> 比反式激活酪氨酸激酶活性的 EC<sub>50</sub> 至少低 5 倍, 甚至更优选至少低 10 倍、100 倍或甚至 1000 倍。分析酪氨酸激酶活性的反式激活的方法为本领域所熟知的, 参见例如 Pai 等. Nat. Med. 8:289-93 (2002) 和 Vacca 等. Cancer Research 60:5310-5317 (2000)。

[1257] 在某些具体实施方案中, 在有效活化 sirtuin 的脱乙酰酶活性的浓度下(例如在体内), 目标(subject) sirtuin 活化剂不具有任何实质上引起冠脉扩张的能力。例如, 在优选的具体实施方案中, 选择的 sirtuin 活化剂具有的活化 sirtuin 脱乙酰酶活性的 EC<sub>50</sub> 比冠脉扩张的 EC<sub>50</sub> 至少低 5 倍, 甚至更优选至少低 10 倍、100 倍或甚至 1000 倍。分析血管舒张的方法为本领域所熟知的, 参见例如美国专利公开 No. 2004/0236153。

[1258] 在某些具体实施方案中, 在有效活化 sirtuin 的脱乙酰酶活性的浓度下(例如在体内), 目标(subject) sirtuin 活化剂不具有任何实质的解痉活性。例如, 在优选的具体实施方案中, 选择的 sirtuin 活化剂具有的活化 sirtuin 脱乙酰酶活性的 EC<sub>50</sub> 比解痉作用的 EC<sub>50</sub> (如对于胃肠道肌肉)至少低 5 倍, 甚至更优选至少低 10 倍、100 倍或甚至 1000 倍。分析解痉活性的方法为本领域熟知的, 参见例如美国专利公开 No. 2004/0248987。

[1259] 在某些具体实施方案中, 在有效活化 sirtuin 的脱乙酰酶活性的浓度下(例如在体内), 目标(subject) sirtuin 活化剂不具有任何实质上抑制肝细胞色素 P450IB1 (CYP)

的能力。例如,在优选的具体实施方案中,选择的 sirtuin 活化剂具有的活化 sirtuin 脱乙酰酶活性的 EC<sub>50</sub> 比抑制 P450IB1 的 EC<sub>50</sub> 至少低 5 倍,甚至更优选至少低 10 倍、100 倍或甚至 1000 倍。分析细胞色素 P450 活性的方法为本领域所熟知的,实施这些分析的试剂盒可以商购。参见,例如美国专利公开 Nos. 6, 420, 131 和 6, 335, 428 和 Promega (Madison, WI ; 环球信息网的 promega. com)。

[1260] 在某些具体实施方案中,在有效活化 sirtuin 的脱乙酰酶活性的浓度下(例如在体内),目标(subject) sirtuin 活化剂不具有任何实质上抑制核因子 κ B (NF- κ B) 的能力。例如,在优选的具体实施方案中,选择的 sirtuin 活化剂具有的活化 sirtuin 脱乙酰酶活性的 EC<sub>50</sub> 比抑制 NF- κ B 的 EC<sub>50</sub> 至少低 5 倍,甚至更优选至少低 10 倍、100 倍或甚至 1000 倍。分析 NF- κ B 活性的方法为本领域所熟知并且实施这些分析的试剂盒可以商购(例如,从 Oxford Biomedical Research (Ann Arbor, MI ; 环球信息网的 oxfordbiomed. com))。

[1261] 在某些具体实施方案中,在有效活化 sirtuin 的脱乙酰酶活性的浓度下(例如在体内),目标(subject) sirtuin 活化剂不具有任何实质上抑制 I 型组蛋白脱乙酰酶 (HDACs)、II 型 HDAC 或 HDACs I 和 II 的能力。例如,在优选的具体实施方案中,选择的 sirtuin 活化剂具有的活化 sirtuin 脱乙酰酶活性的 EC<sub>50</sub> 比抑制 HDAC I 和 / 或 HDAC II 的 EC<sub>50</sub> 至少低 5 倍,甚至更优选至少低 10 倍、100 倍或甚至 1000 倍。分析 HDAC I 和 / 或 HDAC II 活性的方法为本领域所熟知并且实施这些分析的试剂盒可以商购。参见,例如 BioVision, Inc. (Mountain View, CA ; 环球信息网的 biovision. com) 和 Thomas Scientific (Swedesboro, NJ ; 环球信息网的 tomassci. com)。

[1262] 在某些具体实施方案中,在有效活化人类 SIRT1 的脱乙酰酶活性的浓度下(例如在体内),目标(subject) SIRT1 活化剂不具有任何实质上活化较低级真核细胞,特别是酵母或人类病原体中的 SIRT1 直系同源体的能力。例如,在优选的具体实施方案中,选择的 SIRT1 活化剂具有的活化人类 SIRT1 的脱乙酰酶活性的 EC<sub>50</sub> 比活化酵母 Sir2(如 Candida、S. cerevisiae, 等) 的 EC<sub>50</sub> 至少低 5 倍,甚至更优选至少低 10 倍、100 倍或甚至 1000 倍。

[1263] 在某些具体实施方案中, sirtuin 活化化合物可以具有活化一种或多种 sirtuin 蛋白同源体,例如一种或多种人类 SIRT1、SIRT2、SIRT3、SIRT4、SIRT5、SIRT6 或 SIRT7 的能力。在其它具体实施方案中,在有效活化人类 SIRT1 的脱乙酰酶活性的浓度下(例如在体内), SIRT1 活化剂不具有任何实质上活化其它 sirtuin 蛋白同源体,例如一种或多种人类 SIRT2、SIRT3、SIRT4、SIRT5、SIRT6 或 SIRT7 的能力。例如,可以选择的 SIRT1 活化剂具有的活化人类 SIRT1 的脱乙酰酶活性的 EC<sub>50</sub> 比活化一种或多种人类 SIRT2、SIRT3、SIRT4、SIRT5、SIRT6 或 SIRT7 的 EC<sub>50</sub> 至少低 5 倍,甚至更优选至少低 10 倍、100 倍或甚至 1000 倍。

[1264] 在某些具体实施方案中, SIRT3 和 SIRT4 调节剂可以被用于调节脂肪动员。例如, SIRT3 和 / 或 SIRT4 活化剂可被用于诱导脂肪动员并可用于治疗例如肥胖和胰岛素抵抗障碍。

[1265] 在某些具体实施方案中,在有效活化 sirtuin 的脱乙酰酶活性的浓度下(例如在体内),目标(subject) sirtuin 活化剂不具有任何实质上抑制蛋白激酶、抑制磷酸化丝裂原活化蛋白 (MAP) 激酶、抑制环氧化酶如 COX-2 的催化或转录活性;抑制一氧化氮合成酶 (iNOS);或抑制对 I 型胶原的血小板粘附的能力。例如,在优选的具体实施方案中,选择的 sirtuin 活化剂具有的活化 sirtuin 脱乙酰酶活性的 EC<sub>50</sub> 比实施这些任意功能的 EC<sub>50</sub>

至少低 5 倍,甚至更优选至少低 10 倍、100 倍或甚至 1000 倍。分析蛋白激酶活性、环氧酶活性、一氧化氮合成酶以及血小板粘附活性的方法为本领域所熟知并且实施这些分析的试剂盒可以商购。例如,对于蛋白激酶分析试剂盒,参见 Promega (Madison, WI ; 环球信息网的 promega. com)、Invitrogen (Carlsbad, CA ; 环球信息网的 invitrogen. com) ; Molecular Devices (Sunnyvale, CA ; 环球信息网的 moleculardevices. com) 或 Assay Designs (Ann Arbor, MI ; 环球信息网的 assaydesigns. com) ; 对于环氧酶分析试剂盒,参见 Amersham Biosciences (Piscataway, NJ ; 环球信息网的 amershambiosciences. com) ; 对于一氧化氮合成酶分析试剂盒,参见 Amersham Biosciences (Piscataway, NJ ; 环球信息网的 amershambiosciences. com) 和 R&D Systems (Minneapolis, MN ; 环球信息网的 rndsystems. com) ; 对于血小板粘附分析试剂盒,参见美国专利 Nos. 5,321,010 ; 6,849,290 和 6,774,107。

[1266] 在某些具体实施方案中,本发明描述的化合物,例如 sirtuin 活化剂或抑制剂经本领域已知的任何标准的分析方法测定时不具有明显的或可测定的抗氧化活性。例如,化合物不能显著地清除自由基,如  $O_2$  自由基。化合物可能具有比另一化合物例如白藜芦醇大约低 2、3、5、10、30 或 100 倍的抗氧化活性。

[1267] 在某些具体实施方案中, sirtuin 活化化合物对 sirtuin 的结合亲和力可以为约  $10^{-9}M$ 、 $10^{-10}M$ 、 $10^{-11}M$ 、 $10^{-12}M$  或更少。 sirtuin 活化化合物可以通过因子将 sirtuin 对其底物或  $NAD^+$  的  $K_m$  至少减少约 2、3、4、5、10、20、30、50 或 100。 sirtuin 活化化合物可以通过因子将 sirtuin 的  $V_{max}$  至少增加约 2、3、4、5、10、20、30、50 或 100。可以增加 sirtuin 的  $V_{max}$  的示例性化合物包括,例如异烟酰胺类似物,例如通式 69-72 所示的化合物,和 / 或 0-乙酰基-ADP-核糖的类似物,例如通式 73-76 所示的化合物。化合物活化 sirtuin 的脱乙酰酶活性的  $EC_{50}$  可以低于约 1nM, 低于约 10nM, 低于约 100nM, 低于约 1  $\mu M$ , 低于约 10  $\mu M$ , 低于约 100  $\mu M$ , 或从约 1-10nM, 从约 10-100nM, 从约 0.1-1  $\mu M$ , 从约 1-10  $\mu M$  或从约 10-100  $\mu M$ 。根据在实施例中描述的非细胞分析或基于细胞的分析中的测定,化合物可以通过因子活化 sirtuin 的脱乙酰酶活性至少为约 5、10、20、30、50 或 100。相对于相同浓度的白藜芦醇或本发明所述的其它化合物,化合物可以产生的对 SIRT1 的脱乙酰酶活性的诱导增加至少 10%、30%、50%、80%、2 倍、5 倍、10 倍、50 倍或 100 倍。化合物活化 SIRT5 的  $EC_{50}$  可以比活化 SIRT1 的  $EC_{50}$  至少高大约 10 倍、20 倍、30 倍、50 倍。

[1268] 在一个示例性的具体实施方案中,本发明所述的方法和组合物可以包括下列的组合治疗 (i) 至少一种通过因子将 sirtuin 对其底物或  $NAD^+$  的  $K_m$  降低至少约 2、3、4、5、10、20、30、50 或 100 的 sirtuin 活化化合物,以及 (ii) 至少一种通过因子将 sirtuin 的  $V_{max}$  提高至少约 2、3、4、5、10、20、30、50 或 100 的 sirtuin 活化化合物。在一个具体实施方案中,组合治疗含有至少下列两种: (i) 至少一种通式 1-25、30 和 32-65 所示的 sirtuin 活化化合物, (ii) 至少一种通式 69-76 所示的 sirtuin 活化化合物,以及 (iii) 至少一种通式 77-88 所示的 sirtuin 活化化合物。

[1269] 化合物可以穿过细胞质膜。例如,化合物可以具有至少约 20%、50%、75%、80%、90% 或 95% 的细胞通透性。

[1270] 本发明所述的化合物也可以具有以下一种或多种特性: 该化合物本质上对细胞或受试者无毒; 该化合物可以是有机分子或 2000amu 或更小, 1000amu 或更小的小分子; 化合

物在正常的大气条件下的半衰期至少为约 30 天、60 天、120 天、6 个月或 1 年；化合物在溶液中的半衰期至少为约 30 天、60 天、120 天、6 月或 1 年；在溶液中，化合物通过至少一种因子比白藜芦醇更稳定的程度达到约 50%、2 倍、5 倍、10 倍、30 倍、50 倍或 100 倍；化合物可以促进 DNA 修复因子 Ku70 的去乙酰化作用；化合物可以促进 RelA/p65 的去乙酰化；化合物可以促进总体转换率并提高细胞对 TNF 诱导的凋亡的敏感性。

[1271] II. sirtuin 活化化合物的示例性治疗应用

[1272] 在某些具体实施方案中，本发明提供通过向受试者给予高剂量的 sirtuin 活化剂来治疗和 / 或预防多种疾病或障碍的方法。在一个示例性的具体实施方案中，可以给予受试者一定量的 sirtuin 活化作用等于或大于 18mg/kg 白藜芦醇的 sirtuin 活化作用的 sirtuin 活化剂。可以以高剂量给予受试者一次或多次（例如每天），直到获得预期的治疗效果。例如，根据治疗的疾病或障碍，每天给予高剂量长达 1 天、1 周、2 周、1 个月、2 个月、3 个月、6 个月、1 年或更多。高剂量的 sirtuin 活化剂每天可以以单剂量给予或者分成多剂量给予，例如每天服用两次或三次。在一个示例性的具体实施方案中，高剂量的 sirtuin 活化剂可以以缓释制剂给予。使用高剂量 sirtuin 活化剂治疗的示例性疾病或障碍包括，例如与衰老或应激相关的疾病或障碍、糖尿病、肥胖、神经退行性疾病、线粒体功能障碍相关的疾病或障碍、心血管疾病、凝血障碍、炎症、癌症和 / 或潮红等。该方法包括向有此需要的受试者给予高剂量的 sirtuin 活化化合物。

[1273] 在某些具体实施方案中，高剂量的 sirtuin 活化化合物可以单独服用或与其它化合物组合服用。在一个具体实施方案中，两种或更多种高剂量的 sirtuin 活化化合物的混合物可以给予有此需要的受试者。在另一个具体实施方案中，高剂量的 sirtuin 活化化合物可以与一种或多种下列化合物一起给予：白藜芦醇、紫铆因、漆黄素、白皮杉醇（piceatannol）或槲皮素。在一个示例性的具体实施方案中，高剂量的 sirtuin 活化化合物可以与烟酸组合给予。在另一个具体实施方案中，高剂量的一种或多种 sirtuin 活化化合物可以与一种或多种用于治疗或预防多种疾病的治疗剂一起给予，所述疾病包括，例如，癌症、糖尿病、神经退行性疾病、线粒体功能障碍相关的疾病或障碍、心血管疾病、血液凝固、炎症、潮红、肥胖、衰老、应激等。在多个具体实施方案中，含有高剂量 sirtuin 活化化合物的组合治疗是指（1）含有一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物与一种或多种治疗剂的组合的药物组合物；以及（2）一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物与一种或多种治疗剂的联合给予，其中 sirtuin 活化化合物和治疗剂没有被调配到相同的组合物中。使用分离的制剂时，高剂量的 sirtuin 活化化合物可以与另外的治疗剂同时、间歇、交叉、事先、事后或组合给予。

[1274] 代谢障碍 / 糖尿病 / 体重控制

[1275] 本发明描述了用于治疗或预防受试者的肥胖或通常的体重增加的方法，该方法减少受试者的体重或减轻体重增加。方法可以包括向受试者，如有此需要的受试者，给予高剂量的增加 sirtuin 活性或蛋白水平的药物，所述 sirtuin 例如 SIRT1 或 Sir2，所述药物例如 sirtuin 活化剂。需要这种治疗的受试者可以是肥胖的或可能变得肥胖的，或者已经体重增加过量或按照预期例如由家族史预测可能体重增加过量的受试者。示例性的药物为本发明所述的那些。也可以给予药物组合（例如，高剂量 sirtuin 活化剂和抗肥胖药物的组合）。该方法还包括监测受试者的体重和 / 或 sirtuin 的活化水平，如脂肪组织中的。

[1276] 本发明还记载了用于治疗或预防代谢障碍的方法,如胰岛素抵抗或 II 型糖尿病的其它先兆症状或其并发症。该方法可以提高胰岛素的敏感性或降低受试者的胰岛素水平。该方法可以包括给予受试者(如有此需要的受试者)高剂量的提高 sirtuin 活性或 sirtuin 蛋白水平的药物,所述 sirtuin 如 SIRT1 或 Sir2。需要这种治疗的受试者可以是患有胰岛素抵抗或 II 型糖尿病的其它先兆症状,或患有 II 型糖尿病,或可能发展成任何这些病症的受试者。例如,该受试者可以为患有胰岛素抵抗的受试者,例如具有胰岛素高循环水平和 / 或相关病症,如高血脂、脂肪生成障碍(dyslipogenesis)、高胆固醇血症(hypercholesterolemia)、糖耐量低減、高血糖、X 综合征的其它表现、高血压,动脉粥样硬化和脂肪代谢障碍。本发明描述了示例性的药物。

[1277] 在某些具体实施方案中,高剂量的 sirtuin 活化化合物可以用于减少个体胃肠道的脂肪吸收量从而促进体重减轻和 / 或预防增加。在某些具体实施方案中, sirtuin 调节化合物可以与另一种抑制脂肪吸收的药物组合给予,如奥利司他(Orlistat)(也称为四氢利普司他(tetrahydrolipstatin),以商标名 XENICAL™ 出售)。奥利司他(Orlistat)是胃肠道脂酶的有效抑制剂,即脂酶负责分解摄取的脂肪(胃脂肪酶、羧酸酯酶、胰脂肪酶)。作为脂酶抑制的结果,未经消化的脂肪不能被吸收并经粪便排泄。在某些具体实施方案中, sirtuin 调节化合物可以允许给予较低剂量的脂肪吸收抑制剂,仍能达到预期治疗效果。这种组合治疗可以避免与脂肪吸收抑制剂相关的不希望的副作用。

[1278] 也可以给予药物组合(例如,高剂量 sirtuin 活化化合物和抗糖尿病药物的组合)。方法还包括监测受试者的任何这些病症的状态和 / 或 sirtuin 的活化水平,例如在脂肪组织中的。

[1279] 本发明所述的 sirtuin 活化化合物可以单独服用或与其它化合物联合服用。其它化合物可以是其它 sirtuin 和 / 或 AMPK 活化剂。例如 Longevinex™,一种红酒提取物,并且除白藜芦醇外还含有其它 sirtuin 活化剂,如槲皮素,其为一种特别有效的动员脂肪的药物。Longevinex™ 可以从环球信息网 longevinex.com 上获得。

[1280] 在一个示例性的具体实施方案中,高剂量的 sirtuin 活化化合物可以作为与降血脂、抗肥胖和 / 或抗糖尿病药物的组合治疗来给予。适于与高剂量的 Sirtuin 活化剂组合给予的降血脂、抗肥胖或抗糖尿病药物的例子包括铬、脂肪结合聚合物、糖类结合聚合物、脂酶抑制剂、生热剂、儿茶酚胺再摄取抑制剂和甲状腺激素。例如,为减轻体重、预防体重增加或治疗或预防肥胖,一种或多种高剂量 sirtuin 活化剂可以与如下列的一种或多种抗肥胖药物组合使用:苯丙醇胺、麻黄碱、伪麻黄碱、苯丁胺、胆囊收缩素 A 激动剂、单胺重摄取抑制剂(如西布曲明)、拟交感神经药物(sympathomimetic agent)、血清素能药物(serotonergic agent)(如右芬氟拉明或芬氟拉明)、多巴胺激动剂(如溴隐亭)、黑色素细胞刺激素受体激动剂或类似物、黑色素细胞刺激素类似物、大麻素受体拮抗剂、黑色素聚集激素拮抗剂、OB 蛋白(瘦素)、瘦素类似物、瘦素受体激动剂、大麻素受体调节剂(如 ramonabant)、甘丙肽拮抗剂或 GI 脂酶抑制剂或减少剂(如奥利司他(orlistat))。其它的食欲抑制剂包括蛙皮素激动剂、脱氢表雄酮或其类似物、糖皮质激素受体激动剂和拮抗剂、食欲肽受体拮抗剂、urocortin 结合蛋白拮抗剂、胰高血糖素样肽-1 受体激动剂如 Exendin、抗惊厥药以及睫状神经营养因子如 Axokine。

[1281] 在其它具体实施方案中,一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可以与如以下

的一种或多种抗糖尿病药物组合应用:醛糖还原酶抑制剂、糖原磷酸化酶抑制剂、山梨醇脱氢酶抑制剂、蛋白酪氨酸磷酸酶 IB 抑制剂、二肽蛋白酶抑制剂、胰岛素(包括口服生物可利用的胰岛素制剂)、胰岛素类似物、二甲双胍、阿卡波糖、过氧化物酶体增殖物激活受体-γ (PPAR-γ) 配体,如曲格列酮、罗格列酮(rosaglitazone)、吡格列酮或 GW-1929、磺酰脲、格列吡嗪(glipazide)、格列本脲或氯磺丙脲,其中第一种和第二种化合物的量能产生治疗效果。其它抗糖尿病药物包括葡萄糖苷酶抑制剂、胰高血糖素样肽-1(GLP-1)、胰岛素、PPAR α / γ 双重激动剂、美格替奈(meglitimide)和 α P2 抑制剂。在一个示例性的具体实施方案中,抗糖尿病药物可以为二肽基肽酶 IV(DP-IV 或 DPP-IV)抑制剂,例如来自诺华(Novartis)的 LAF237 (NVP DPP728; 1-[[2-[(5- 氯基吡啶-2- 基) 氨基] 乙基] 氨基] 乙酰基]-2- 氯基-(S)- 吡咯烷) 或来自默克(Merck)的 MK-04301 (参见,例如 Hughes 等, Biochemistry 38: 11597-603 (1999))。

[1282] 在其它具体实施方案中,一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可以与一种或多种如以下的降血脂药物组合应用:他汀类(statins)如辛伐他汀(Zocor)、普伐他汀(Pravachol)、洛伐他汀(Mevacor)、氟伐他汀(Lescol)、西立伐他汀(Baycol)、瑞舒伐他汀(Crestcor)和阿托伐他汀(Lipitor)和烟酸(niacin)。

[1283] 在某些具体实施方案中,高剂量 sirtuin 活化剂与降血脂、抗肥胖和 / 或抗糖尿病药物组合给予可以减少、减轻或消除与抗肥胖和 / 或抗糖尿病药物相关的不良副作用。例如,降血脂、抗肥胖和 / 或抗糖尿病药物与高剂量 sirtuin 活化剂组合给予可以获得有益的治疗效果,这是由于相对于不应用与 sirtuin 活化剂的组合时所必需的剂量,给予的降血脂、抗肥胖和 / 或抗糖尿病药物剂量较低。例如,高剂量 sirtuin 活化剂可以与低剂量(例如,减少或预防不希望的副作用如提高心率和 / 或血压的量)的降血脂、抗肥胖和 / 或抗糖尿病药物组合给予。在某些具体实施方案中,高剂量 sirtuin 活化剂可以与甲状腺激素组合给予。在其它具体实施方案中,高剂量 sirtuin 活化剂可以与吸收阻断剂,如 α - 葡萄糖苷酶抑制剂组合给予。在其它的具体实施方案中,高剂量的 sirtuin 活化剂可以与二甲双胍组合给药。在某些具体实施方案中,高剂量 sirtuin 活化剂可以与儿茶酚胺再摄取抑制剂如西布曲明组合给予。本发明中记载了降血脂、抗肥胖和 / 或抗糖尿病药物的其它例子。在其它具体实施方案中,降血脂、抗肥胖和 / 或抗糖尿病药物的剂量相比正常剂量可能不减少,给予 sirtuin 活化剂减少、减缓或消除了降血脂、抗肥胖和 / 或抗糖尿病药物的副作用。

[1284] 在某些具体实施方案中,使用 sirtuin 活化化合物可以减少降血脂、抗肥胖和 / 或抗糖尿病药物的服用量。当降血脂、抗肥胖和 / 或抗糖尿病药物的剂量方案在有此需要的患者中产生不需要的副作用情况下,这是所希望的。例如,有代表性地,向受试者给予甲状腺激素引起心率和 / 或血压的升高。在某些具体实施方案中,本发明提供的方法通过给予甲状腺激素与高剂量 sirtuin 活化剂的组合,将给予患者的甲状腺激素的量调整(例如,减少)至不会产生心率和 / 或血压方面的不良作用的量。在其它具体实施方案中,本发明提供的方法通过给予二甲双胍与高剂量 sirtuin 活化剂的组合,调整(例如,减少)有此需要的受试者的二甲双胍服用量。在其它具体实施方案中,高剂量 sirtuin 活化剂用于减少有此需要的受试者的西布曲明的服用量。

[1285] 本发明所述的方法可以包括每天,或者隔天,或每周给予受试者例如药丸的形式

的高剂量 sirtuin 活化化合物。在每天给予受试者高剂量 sirtuin 活化化合物的具体实施方案中, sirtuin 活化化合物可以每天给予一次。在其它具体实施方案中, 每天给予两次或三次。

[1286] 在一些具体实施方案中, 高剂量的 sirtuin 活化化合物通过缓释制剂给予受试者, 例如将 sirtuin 活化剂包埋或包封于纳米颗粒中以实现至少 12 小时的释放。在通过缓释剂型向受试者给予 sirtuin 活化化合物的具体实施方案中, 被给予的高剂量 sirtuin 活化剂可以持续释放, 例如至少约 12、15、18、24 或 36 小时或更长的时间。在其它具体实施方案中, 给予的高剂量 sirtuin 活化剂持续释放一天或几天的时间。在其它的具体实施方案中, 给予的高剂量 sirtuin 活化剂持续释放一周或几周的时间。

[1287] 在某些具体实施方案中, sirtuin 活化化合物通过营养保健产品 (nutraceutical formulation) 给予。“营养保健品”为提供除其营养功能之外的额外作用的任何功能性食品 (包括饮料)。在一个优选的具体实施方案中, 按重量计, 提供的营养保健品含有约 0.1% 至 99%, 或 0.1% 至 10% 的 sirtuin 活化剂。在优选的具体实施方案中, 本发明描述的高剂量 sirtuin 活化剂通过单份的食物或饮料给予。在一种优选的产品 (formulation) 中, 提供的单剂量形式 (例如 8 液量盎司一份的饮料, 如水、加味水或果汁) 含有的 sirtuin 活化剂总量所达到的 sirtuin 活化作用等于或大于 25mg 白藜芦醇的 sirtuin 活化作用。在其它具体实施方案中, 提供的单剂量形式含有的 sirtuin 活化剂总量所达到的 sirtuin 活化作用等于或大于每 8 液量盎司含有约 10、15、20、25、50、60、75、80、100、150、200mg 或更多的白藜芦醇时的 sirtuin 活化作用。在其它优选的具体实施方案中, 提供的单剂量形式 (例如一份食物, 如营养棒 (nutrition bar)) 含有的 sirtuin 活化剂总量所达到 sirtuin 活化作用等于或大于 100mg 白藜芦醇的 sirtuin 活化作用。在一些具体实施方案中, 每份食物提供 100 至 500kcal 热量。在其它具体实施方案中, 提供的单剂量形式含有的 sirtuin 活化剂总量所达到 sirtuin 活化作用等于或大于每 100 至 500kcal 热量下 25、50、60、75、80、100、150、200、250mg 或更多白藜芦醇的 sirtuin 活化作用。短语“sirtuin 活化剂总量”是指存在于单剂量形式中 sirtuin 活化剂的总量。

[1288] 在多个具体实施方案中, 含有 sirtuin 活化剂的营养保健品可以是任何种类的食物或饮品。例如, 营养保健品可以包括饮品, 如营养饮品、食物饮品 (diet drinks) (例如 Slimfast<sup>TM</sup>、Boost<sup>TM</sup> 等) 和运动饮料、草药饮料和其它强化饮料。另外, 营养保健品可以包括用于人类或动物消耗的食物, 如烘焙制品, 例如面包、薄饼 (wafers)、小甜饼、脆饼 (crackers)、椒盐卷饼 (pretzel)、比萨和面包卷, 即食谷类早餐 (ready-to-eat breakfast cereals), 热谷类 (hot cereals), 面食制品 (pasta products), 点心 (snacks) 如水果点心 (snacks)、咸味点心 (snacks)、谷物点心 (grain snacks), 营养棒和微波爆米花, 乳制品如酸奶酪 (yogurt)、干酪和冰激淋, 甜食如硬糖 (hard candy)、软糖 (soft candy) 和巧克力, 饮料, 动物饲料, 宠物食品如狗食和猫食, 水产养殖饲料如鱼饲料和虾饲料, 和特殊用途的食品, 如幼儿食品、婴儿配方奶、医院食品、药疗食品、运动食品、performance food 或营养棒或强化食品, 用于家庭或餐饮服务的预混合食物或混合物, 如汤或肉汁的预混合物、甜点混合物、晚餐混合物、烘焙混合物如面包混合物, 和蛋糕混合物, 和烘焙用面粉。在某些具体实施方案中, 该食物或饮料不包括一种或多种葡萄、桑椹、蓝莓、树莓、花生、牛奶、酵母或其提取物。本发明提供可以用于促进有此需要的受试者减轻体重的营养保健组合物。例如, 在

某些方面,本发明提供用于治疗或预防肥胖和 / 或糖尿病的营养保健组合物。

[1289] 除 sirtuin 活化剂外,营养保健品还可以含有多种其它有益成分,包括但不限于必需脂肪酸、维生素和矿物质。在例如美国专利 No. 5, 902, 797 ;美国专利 No. 5, 834, 048 ;美国专利 No. 5, 817, 350 ;美国专利 No. 5, 792, 461 ;美国专利 No. 5, 707, 657 和美国专利 No. 5, 656, 312 中可以找到另外的描述营养添加剂的组成和生产的公开内容(各自引入本发明作为参考)。

[1290] 当以固体形式摄入时,本发明的营养保健组合物还可以包含固体载体如明胶或辅剂。当以液体形式给予时,可以加入液体载体如水、石油、动物或植物来源的油,如花生油、矿物油、大豆油或芝麻油,或合成油。本发明的营养保健组合物也可以含有稳定剂、防腐剂、缓冲液、抗氧化剂或其它本领域技术人员已知的添加剂。

[1291] 在其它具体实施方案中,食物或饮料含有一种或多种 sirtuin 活化化合物的添加剂。在某些具体实施方案中,添加剂含有的 sirtuin 活化化合物的量所达到的 sirtuin 活化作用等于或大于 11mg/g 白藜芦醇的 sirtuin 活化作用。在其它具体实施方案中,添加剂含有的 sirtuin 活性化合物的量达到的 sirtuin 活化作用等于或大于 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25、50mg/g 或更多白藜芦醇的 sirtuin 活化作用。

[1292] 其它方法包括给予受试者高剂量 sirtuin 活化剂和提高 AMPK 活性或蛋白水平的药物,例如不同于活化 sirtuin 的药物的组合。AMPK 活化剂包括 AICAR 或二甲双胍。或者,可以通过将编码 AMPK 的核酸引入细胞中来增加 AMPK 的蛋白水平。人类 AMPK 的催化区(  $\alpha$  1)的核苷酸序列具有在 GenBank 登记号 No. NM\_206907 中列出的核苷酸序列,并且编码具有在 GenBank 登记号 No. NP\_996790 中列出的氨基酸序列的蛋白质。人类 AMPK 的非催化区(  $\beta$  1)的核苷酸序列具有在 GenBank 登记号 No. NM\_006253 中列出的核苷酸序列,并且编码具有在 GenBank 登记号 No. NP\_006244 中列出的氨基酸序列的蛋白质。人类 AMPK 的非催化区(  $\gamma$  1)的核苷酸序列具有在 GenBank 登记号 No. NM\_212461 中列出的核苷酸序列,并且编码具有在 GenBank 登记号 No. NP\_997626 中列出的氨基酸序列的蛋白质。为增加细胞中人类 AMPK 的蛋白水平,必需引入编码每个蛋白亚单位的核酸。编码不同亚单位的核酸可以包含于相同或分开的核酸分子中。

[1293] 可以通过给予高剂量 sirtuin 活化剂治疗的其它疾病包括某些肾病,包括肾小球肾炎、肾小球硬化、肾病综合征、高血压肾硬化。

[1294] 在其它具体实施方案中,高剂量的 sirtuin 活化剂可以用于治疗受益于体重减轻的疾病或病症,例如高血压(hight blood pressure)、高血压(hypertension)、高胆固醇血症(hight blood cholesterol)、血脂异常、2 型糖尿病、胰岛素抵抗、葡萄糖耐受不良、高胰岛素血症、冠心病、心绞痛、充血性心力衰竭、中风、胆结石、胆囊炎和胆石病、痛风、骨关节炎、阻塞性睡眠呼吸暂停和呼吸问题、一些类型的癌症(如,子宫内膜癌、乳腺癌、前列腺癌和结肠癌)、妊娠并发症、妇女生殖健康不佳(如,月经失调,不孕,不规则排卵)、膀胱控制问题(如压力性失禁);尿酸肾石病;心理障碍(如抑郁、饮食障碍、体象障碍和低自尊)。Stunkard AJ, Wadden TA. (编者)“肥胖:理论与治疗”,第二版(Obesity:theory and therapy, Second Edition.) New York:Raven Press, 1993。最后, AIDS 患者可能发展成脂肪营养不良(lipodystrophy)或胰岛素抵抗,这是与 AIDS 的组合治疗相对应的。因此,任何这些病症可以通过本发明所述的减少或预防体重增加的方法来治疗或预防。

[1295] 其它可以由本发明所述的方法治疗的疾病和病症包括乳糜微粒血症综合征(chlomicronemia syndrome)、多囊卵巢综合征、体温降低、膝脂肪垫综合征、酒精性脂肪肝和非酒精性脂肪肝。

[1296] 在另一个具体实施方案中,可以给予高剂量 sirtuin 活化化合物以减少药物诱导的体重增加。例如,可以给予高剂量 sirtuin 活化化合物与可以刺激食欲或引起体重增加,尤其是由不同于保持水的因素引起的体重增加的药物进行联合治疗。可以引起体重增加的药物的例子包括,例如糖尿病治疗包括例如磺酰脲类(如格列吡嗪和格列本脲)、噻唑烷二酮类(如吡格列酮和罗格列酮)、美格替耐类(meglitinides)、那格列奈(nateglinide)、瑞格列奈(repaglinide)、磺酰脲类药物和胰岛素;抗抑郁药,包括例如三环类抗抑郁药(如阿米替林和丙咪嗪)、不可逆单胺氧化酶抑制剂(MAOIs)、选择性五羟色胺再摄取抑制剂(SSRIs)、安非他酮(bupropion)、帕罗西汀(paroxetine)和米氮平(mirtazapine);甾体,例如,强的松;激素治疗;碳酸锂;丙戊酸;卡马西平;氯丙嗪;硫噻葱;β 阻断剂(如普萘洛尔);α 阻断剂(如可乐定、哌唑嗪和特拉唑嗪);和避孕药,包括口服避孕药(计划生育药丸)或其它含有雌激素和 / 或孕酮的避孕药(Depo provera、Norplant、Ortho)、睾酮或甲地孕酮。在另一个示例性具体实施方案中,给予高剂量 Sirtuin 活化剂可以作为戒烟计划的一部分来预防体重增加或减少已增加的体重。

[1297] 本发明所述方法还能被用于兽医,如治疗宠物(例如狗、猫等的肥胖或糖尿病)或家畜(例如奶牛的奶牛肥胖综合症)的代谢障碍。

[1298] 在某些具体实施方案中,针对消耗高脂肪饮食的受试者,高剂量 sirtuin 活化剂可以用于减轻体重、预防体重增加或降低体重增加的速率。例如,本发明提供促进消耗高脂肪饮食的受试者体重减少的方法和组合物,所述高脂肪饮食中受试者平均每天卡路里消耗的至少 30% 为脂质。在其它具体实施方案中,受试者平均每天卡路里消耗的至少 35%、至少 40%、至少 45%、至少 50%、至少 55%、至少 60% 为脂质。在某些具体实施方案中,高脂肪饮食包括至少 10%、20%、30%、40%、50%、60% 或更多的来自碳水化合物的每天卡路里消耗。

[1299] 本发明的方法和组合物还可以用于减轻对于饮食和锻炼难以控制的受试者的体重增加。在示例性的具体实施方案中,高剂量 sirtuin 活化化合物可以促进不减少卡路里消耗,不增加运动,或其组合的受试者的体重减少,并达到足够导致在 sirtuin 活化化合物不存在时体重减少的程度。

[1300] 在某些具体实施方案中,高剂量 sirtuin 活化化合物可以针对特定的某些组织(例如,肝),而不是全身。组织特异性治疗可以用于治疗例如肥胖和胰岛素抵抗障碍。

[1301] 在某些具体实施方案中,该方法用于预防脂肪在具有脂肪生成能力(lipogenic capacity)的细胞,例如肝、胰和肌肉细胞中聚集。

[1302] 在某些具体实施方案中,本发明提供延长胰腺  $\beta$  - 细胞寿命或预防该细胞死亡的方法。该方法包括将胰腺  $\beta$  - 细胞与 sirtuin 活化化合物接触。在其它具体实施方案中,该方法包括向有此需要的受试者(例如,患有 1 型糖尿病、2 型糖尿病、葡萄糖耐量低减等)给予治疗有效量的 sirtuin 活化化合物。对 2 型糖尿病的易感性(susceptibility)需要遗传因素和后天性因素。它的持续发病机制包括进行性细胞胰岛素抵抗和胰腺  $\beta$  - 细胞衰亡(failure)的相互作用。自由基产生和继发于 2 型糖尿病的高血糖症的被诱导的一氧化氮合成酶(iNOS)的产生可以导致胰腺  $\beta$  - 细胞破坏,以及 1 型糖尿病的特征性诊断酶指示

剂的产生。在这种情况下,  $\beta$  - 细胞不仅被 2 型糖尿病的胰岛素抵抗的病理学进展而耗尽, 而且可能经受慢性高血糖症诱导的损坏。胰腺  $\beta$  - 细胞凋亡是造成 2 型糖尿病中不可逆的发展为胰岛素依赖的原因。本发明记载的化合物可以被用于抑制或预防有此需要的受试者的 2 型糖尿病的发展。例如, 在某些具体实施方案中, 本发明的目标化合物抑制或预防胰腺  $\beta$  - 细胞死亡。如下所述, 胰腺  $\beta$  - 细胞死亡或功能障碍的预防可以通过提高线粒体活性和数量来实现。

[1303] 在某些具体实施方案中, 本发明提供的治疗代谢障碍的方法包括 sirtuin 活化化合物与 sirtuin 抑制剂联合给药。在一个示例性的具体实施方案中, 该方法包括将向患者的脂肪细胞给予 sirtuin 活化化合物和向有此需要的受试者的肝脏给予 sirtuin 抑制剂组合起来。

[1304] 线粒体相关的疾病和障碍

[1305] 在某些具体实施方案中, 本发明提供的治疗疾病或障碍的方法将受益于线粒体活性的提高。该方法包括向有此需要的受试者给予治疗有效量的 sirtuin 活化化合物。提高的线粒体活性是指保持线粒体的总数(例如, 线粒体质量)而提高的线粒体活性, 增加线粒体数目从而提高线粒体活性(例如, 通过刺激线粒体生物发生), 或者其组合。在一个示例性的具体实施方案中, 该方法包括给予高剂量 sirtuin 活化化合物。在某些具体实施方案中, 受益于线粒体活性提高的疾病和障碍包括与线粒体功能障碍相关的疾病或障碍。

[1306] 在某些具体实施方案中, 治疗受益于线粒体活性增加的疾病和障碍的方法可以包括确认受试者患有线粒体功能障碍。诊断线粒体功能障碍的方法可以包括在 Cohen 和 Gold, Cleveland Clinic Journal of Medicine, 68:625-642 (2001) 中总结的分子遗传、病理和 / 或生化分析方法。用于诊断线粒体功能障碍的方法为 Thor-Byrne-ier 测试(参见, 例如 Cohen 和 Gold, *supra*; Collin S. 等, Eur Neurol. 36:260-267 (1996) )。

[1307] 线粒体对于几乎所有类型的真核细胞的存活和正常功能至关重要。实际上任何细胞类型中的线粒体都具有影响它们功能的先天或后天的缺陷。因此, 影响呼吸链功能的线粒体缺陷的临床重要征兆和症状是不同种类的, 并且根据细胞中有缺陷的线粒体的分布和它们缺陷的严重程度, 以及所影响细胞的生理需要而变化。具有高能量需要的不发生细胞分裂的组织例如, 神经组织、骨骼肌和心肌对线粒体呼吸链功能障碍尤其敏感, 但是任何器官系统都可以受影响。

[1308] 与线粒体功能障碍相关的疾病和障碍包括其中线粒体呼吸链活性的缺陷有助于哺乳动物的所述疾病或障碍的病理生理学进展的疾病或障碍。这包括 1) 一种或多种线粒体呼吸链成分的活性的先天性遗传缺陷; 以及 2) 一种或多种线粒体呼吸链成分的活性的后天缺陷, 其中这些缺陷是由下列原因引起: a) 衰老过程中的氧化损伤 b) 增加的细胞内钙; c) 受影响的细胞暴露于一氧化氮; d) 缺氧或缺血; e) 线粒体轴突运输中与微管相关的缺陷, 或 f) 线粒体解偶联蛋白的表达。

[1309] 受益于提高的线粒体活性的疾病或障碍通常包括, 例如其中自由基介导的氧化损伤导致组织退化的疾病、其中细胞不适宜的进行凋亡的疾病和其中细胞不能凋亡的疾病。示例性的受益于线粒体活性提高的疾病或障碍包括例如, AD (阿尔茨海默病)、ADPD (阿尔茨海默病和帕金森病)、AMDF (共济失调、肌阵挛和耳聋)、自身免疫性疾病、癌症、CIP0 (伴有机病和眼肌麻痹的慢性假性肠梗阻)、先天性肌营养不良、CPEO (慢性进行性眼外肌麻

痹)、DEAF (母系遗传性耳聋或氨基糖苷诱发的耳聋)、DEMCHO (痴呆和舞蹈病)、糖尿病(I型或II型)、DIDMOAD (尿崩症、糖尿病、视神经萎缩、耳聋)、DMDF (糖尿病和耳聋)、肌张力障碍、运动不耐受、ESOC (癫痫症、中风、视神经萎缩和认知功能衰退)、FBSN (家族性双侧纹状体坏死)、FICP (致死性婴儿心肌病(Fatal Infantile Cardiomyopathy Plus)、线粒体脑肌病伴高乳酸血症和中风样发作(MELAS)相关的心肌病)、GER (胃食管反流)、HD (亨廷顿病)、KSS (Kearns Sayre 综合征)、迟发性肌病、LDYT (Leber's 遗传性视神经病变和肌张力障碍)、Leigh 综合征、LHON (Leber 遗传性视神经病变)、LIMM (致死性婴儿线粒体肌病(Lethal Infantile Mitochondrial Myopathy))、MDM (肌病和糖尿病)、MELAS (线粒体脑肌病伴高乳酸血症和中风样发作)、MEPR (肌肉阵挛性癫痫和精神运动性退行(Psychomotor Regression))、MERME (MERRF (肌阵挛性癫痫伴破碎红纤维) / MELAS (线粒体脑肌病伴高乳酸血症和中风样发作) 的重叠疾病)、MERRF (肌阵挛性癫痫伴破碎红纤维)、MHCM (母系遗传性肥厚型心肌病)、MICM (母系遗传性心肌病)、MILS (母系遗传性 Leigh 综合征)、线粒体心肌病(Encephalocardiomyopathy)、线粒体脑肌病、MM (线粒体肌病)、MMC (母系肌病(Maternal Myopathy) 和心肌病)、MNGIE (线粒体神经消化道脑肌病) (肌病, 眼外肌麻痹, 神经病, 胃肠, 脑病)、多系统线粒体障碍(肌病、脑病、失明、听力损伤、周围神经病)、NARP(神经性肌无力、共济失调及色素性视网膜炎; 关于这一点, 另一种表现型被报道为 Leigh 病)、PD (帕金森病)、Pearson's 综合征、PEM (进行性脑病)、PEO (进行性眼外肌麻痹)、PME (进行性肌阵挛性癫痫)、PMPS (Pearson Marrow- 胰脏综合征)、牛皮癣、RTT (Rett 综合征)、精神分裂症、SIDS (婴儿猝死综合征)、SNHL (感音神经性耳聋)、多种家族性表现(Varied Familial Presentation, 临床表现为从痉挛性截瘫到多系统进行性障碍和致死性心肌病, 至躯干共济失调、构音障碍、重度听力损伤、精神衰退、眼睑下垂(ptosis)、眼肌麻痹、末梢气旋(distal cyclones) 和糖尿病), 或 Wolfram 综合征。

[1310] 受益于提高的线粒体活性的其它疾病或障碍包括, 例如, Friedreich's 共济失调和其它共济失调、肌萎缩侧索硬化症(ALS) 和其它运动神经元疾病、黄斑变性、癫痫症、Alpers 综合征、多发性线粒体 DNA 缺失综合症、线粒体 DNA 消耗综合征、复合物(Complex)I 缺乏、复合物(Complex)II (SDH) 缺乏、复合物(Complex)III 缺乏、细胞色素 c 氧化酶(COX, 复合物(Complex) IV) 缺乏、复合物(Complex) V 缺乏、腺苷酸转运体(ANT) 缺乏、丙酮酸脱氢酶(PDH) 缺乏、伴有乳酸血症的乙基丙二酸尿症、伴有乳酸血症的 3- 甲基戊二酸尿症、感染期间伴有衰退的难治性癫痫症、感染期间伴有衰退的 Asperger 综合征、感染期间伴有衰退的孤独症、注意力缺陷多动障碍(ADHD)、感染期间伴有衰退的脑性瘫痪、感染期间伴有衰退的阅读障碍、母系遗传性血小板减少症和白血病综合征、MARIAHS 综合征(线粒体共济失调、反复感染、失语症、低尿酸血症 / 髓鞘形成减少、癫痫发作和双羧酸尿症)、ND6 肌张力障碍、感染期间伴有衰退的周期性呕吐综合征、伴有乳酸血症的 3- 羟基异丁酸尿症、伴有乳酸血症的糖尿病、尿苷反应性神经综合征(URNS, Uridine responsive neurologic syndrome)、扩张型心肌病、脾脏淋巴瘤和肾小管酸中毒 / 糖尿病 / 共济失调综合征。

[1311] 在其它具体实施方案中, 本发明提供了用于治疗患有线粒体障碍的受试者的方法, 所述线粒体障碍是由不局限于以下原因的原因引起的: 创伤后脑损伤(Posttraumatic head injury) 和脑水肿、中风(本发明的方法有效用于预防或预防再灌注损伤)、路易(Lewy) 体痴呆、肝肾综合征、急性肝衰竭、NASH (非酒精性脂肪性肝炎)、癌症的抗转

移 / 促分化 (prodifferentiation) 治疗、原发性充血性心力衰竭、房颤 (非瓣膜性)、Wolff-Parkinson-White 综合征、原发性心传导阻滞、急性心肌梗塞中再灌注损伤的预防、家族性偏头疼、肠易激综合征、非 Q 波心肌梗塞的二级预防、经前期综合征、肝肾综合征中肾衰竭的预防、抗磷脂抗体综合征、子痫 / 先兆子痫、Oopause 不孕症、缺血性心脏病 / 心绞痛, 和 Shy-Drager 和未分类的自主神经功能异常综合征。

[1312] 在另一个具体实施方案中, 提供了用于治疗与药理学上药物相关的副作用有关的线粒体障碍的方法。与线粒体障碍相关的药物类型包括逆转录酶抑制剂、蛋白酶抑制剂、DHOD 抑制剂等。逆转录酶抑制剂的例子包括例如, 叠氮胸昔 (AZT)、司他夫定 (D4T)、扎西他滨 (ddC)、去羟肌昔 (DDI)、氟碘阿糖尿嘧啶 (FIAU)、拉米夫定 (3TC)、阿巴卡韦等。蛋白酶抑制剂的例子包括例如, 利托那韦、茚地那韦、沙奎那韦、奈非那韦 (Nelfmavir) 等。二氢乳清酸脱氢酶 (DHOD) 抑制剂的例子包括例如, 来氟米特、布喹那等。

[1313] 逆转录酶抑制剂不仅抑制逆转录酶, 还抑制线粒体功能所需的聚合酶 γ。因此, 抑制聚合酶 γ 的活性 (例如, 使用逆转录酶抑制剂) 导致线粒体功能障碍和 / 或线粒体质量减少, 这表明患者患有高乳酸症。这种病症可能受益于线粒体数目的增加和 / 或线粒体功能的增强, 例如通过给予 sirtuin 活化化合物。

[1314] 线粒体疾病的常见症状包括心肌病、肌无力和萎缩、发育迟缓 (包括运动、语言、认知或执行能力)、共济失调、癫痫症、肾小管酸中毒、周围神经病、视神经病、自主神经病、神经源性肠道功能障碍、感觉神经性耳聋、神经源性膀胱功能障碍、扩张型心肌病、偏头疼、肝衰竭、乳酸血症和糖尿病。

[1315] 在某些具体实施方案中, 本发明提供用于治疗受益于线粒体活性提高的疾病或障碍的方法, 其包括向有此需要的受试者给予一种或多种 sirtuin 活化化合物与另一种治疗剂的组合, 所述治疗剂例如有效用于治疗线粒体功能障碍的药物 (如抗氧化剂、维生素或呼吸链辅助因子)、有效用于减少与涉及线粒体功能障碍的疾病或障碍相关的症状的药物 (如抗癫痫药、有效用于减缓神经病理性疼痛的药物、用于治疗心脏功能障碍的药物)、心血管药 (如以下的进一步说明)、化学治疗剂 (如以下的进一步说明) 或抗神经退行性变性药物 (如以下的进一步说明)。在一个示例性的具体实施方案中, 本发明提供用于治疗受益于线粒体活性提高的疾病或障碍的方法, 其包括向有此需要的受试者给予一种或多种 sirtuin 活化化合物与一种或多种下列物质的组合: 辅酶 Q<sub>10</sub>、L- 肉毒碱、硫胺、核黄素、烟酰胺、叶酸、维生素 E、硒、硫辛酸或强的松。本发明还提供包含这些组合的组合物。

[1316] 在示例性的具体实施方案中, 本发明提供通过向受试者给予治疗有效量的 sirtuin 活化化合物来治疗受益于线粒体活性提高的疾病或障碍的方法。示例性的疾病或障碍包括例如, 神经肌肉障碍 (例如 Friedreich's 共济失调、肌营养不良、多发性硬化病等)、神经元不稳定障碍 (例如癫痫、偏头疼等)、发育迟缓、神经退行性障碍 (例如, 阿尔茨海默病、帕金森病、肌萎缩侧索硬化症等)、缺血、肾小管酸中毒、与年龄相关神经退行性变性和认知功能衰退、化疗后体虚 (chemotherapy fatigue)、年龄相关或化疗诱导的绝经或月经周期或排卵不规律、线粒体肌病、线粒体损伤 (例如, 钙积聚、兴奋毒性、一氧化氮暴露、缺氧等) 和线粒体失调。

[1317] 最常见的遗传性共济失调—Friedreich's 共济失调 (FA) 的基因缺陷最近得到确认并被称为“frataxin”。在 FA 中, 经过一段时间的正常发育, 缺陷与发育同样得到发展, 导

致瘫痪和死亡,典型地在 30 和 40 岁之间。影响最严重的组织为脊髓、外周神经、心肌和胰脏。典型地,患者失去行动控制并局限于轮椅中,通常患有心力衰竭和糖尿病。FA 的遗传基础包括在编码 frataxin 基因内含子中的重复的 GAA 三核苷酸。这些重复的存在导致基因的转录和表达减少。Frataxin 与线粒体铁含量的调节有关。当细胞的 frataxin 含量低于正常值时,过量的铁聚集在线粒体中,促进氧化损伤并导致线粒体退化和功能障碍。当 frataxin 基因内含子中存在中等数量的 GAA 重复时,可能不会发展为严重的共济失调的临床表现型。然而,在 25%—30% 患有非胰岛素依赖型糖尿病的患者中发现这样的中等长度的三核苷酸延伸,相比之下,未患糖尿病的人群仅为约 5%。在某些具体实施方案中, sirtuin 活化化合物可用于治疗患有与 frataxin 缺乏或缺陷有关的障碍的患者,包括 Friedreich's 共济失调、心肌功能障碍、糖尿病以及如周围神经病的糖尿病并发症。

[1318] 肌营养不良是指包括神经肌结构和功能的退化,通常导致骨骼肌萎缩和线粒体功能障碍的一类疾病。就 Duchenne 肌营养不良而言,一种特殊蛋白质,肌营养不良蛋白 (dystrophin) 的突变或缺陷与其病因有关。肌营养不良蛋白基因失活的小鼠表现出一些肌营养不良的特征,并且大约 50% 有线粒体呼吸链活性缺陷。在大多数情况下,神经肌退化的最终普通途径是钙介导的线粒体功能损伤。在某些具体实施方案中, sirtuin 活化化合物可用于降低患有肌营养不良的患者,以减少肌肉功能容量 (functional capacities) 的下降速率并提高肌肉的功能状态。

[1319] 多发性硬化症 (MS) 是一种以局部炎症和脑白质自身免疫退化为特征的神经肌肉疾病。周期性的恶化或发作与上呼吸道及其它感染密切相关,包括细菌感染和病毒感染两者,这表明线粒体功能障碍在 MS 中发挥了作用。由一氧化氮 (由与炎症相关的星形胶质细胞和其它细胞产生) 引起的神经元线粒体呼吸链活性的降低,被认为是促进 MS 的分子机制。在某些具体实施方案中, sirtuin 活化化合物可用于预防性地和疾病恶化过程中的多发性硬化症患者的治疗。

[1320] 癫痫经常出现在患有线粒体细胞病的患者中,其涉及一定范围的发作强度和频率,例如,失神、紧张、张力缺乏、肌肉阵挛以及癫痫持续状态,偶然发作或一天发作多次。在某些具体实施方案中, sirtuin 活化化合物可用于治疗患有继发于线粒体功能障碍的癫痫的患者,包括降低癫痫发作的频率和强度。

[1321] 对复发性偏头疼患者的代谢研究显示,线粒体活性的缺陷通常与该障碍有关,表现为氧化磷酸化受损和产生过剩乳酸。这种缺陷并非一定由线粒体 DNA 遗传缺陷造成。偏头疼患者对一氧化氮高度敏感,它是一种细胞色素 C 氧化酶的内源性抑制剂。此外,患有线粒体细胞病的患者,例如, MELAS, 通常患有复发性偏头疼。在某些具体实施方案中, sirtuin 活化化合物可用于治疗复发性偏头疼患者,包括对麦角类化合物和 5- 羟色胺受体拮抗剂耐受的头疼的治疗。

[1322] 在患有线粒体疾病的儿童中经常发现神经或神经心理发育的迟滞。神经联接的发育和重塑要求大量的生物合成活动,尤其涉及神经元膜和髓磷脂的合成,这两者都需要嘧啶核苷酸作为辅助因子。尿嘧啶核苷酸参与了灭活及将糖转运到糖脂和糖蛋白上。胞嘧啶核苷酸是由尿嘧啶核苷转化而来的,其对象磷脂酰胆碱的膜磷脂主要成分的合成至关重要,这些成分从胞苷二磷酸胆碱中接受胆碱部分。在线粒体功能障碍 (由线粒体 DNA 缺陷,或任何象兴奋性中毒 (excitotoxic) 或一氧化氮介导的线粒体功能障碍这样的后天性

或条件性的缺陷所引起)或其它能导致嘧啶合成受损的情形中,细胞增殖和轴突延伸在神经元相互联接和回路发育的决定性阶段被破坏,导致如语言、运动、社交、执行能力、认知技能的神经心理功能的发育延缓或停滞。以自闭症为例,对大脑磷酸化合物的磁共振波谱学测量显示膜或膜前体整体上合成不足,这是通过膜合成中涉及的尿苷二磷酸糖(uridine diphospho-sugars)和胞嘧啶核苷酸衍生物的水平下降表现出来的。以发育迟缓为特征的障碍包括雷特氏综合征(Rett's Syndrome)、广泛性发育迟缓(或 PDD-NOS “非另外指明的广泛性发育迟缓”,区别于如自闭症的特定子分类)、自闭症、亚斯伯格综合症(Asperger's Syndrome)、注意力缺失 / 多动障碍(ADHD),其被认为是执行功能的神经元通路发育的延缓或滞后造成的。在某些具体实施方案中, sirtuin 活化化合物可用于治疗患有神经发育迟缓(例如,涉及运动、语言、执行能力和认知技能),或者其它神经系统的神经和神经心理发育以及在象肌肉和内分泌腺的非神经组织的躯体发育延迟或停滞的患者。

[1323] 阿尔茨海默症(AD)和帕金森病(PD)是两种最严重的与年龄有关的神经退行性疾病,其发病机理均与线粒体功能障碍有关。特别地,不仅在帕金森病中退化的黑质纹状体神经元中,而且在帕金森病患者的象肌肉和血小板这样的周围组织和细胞中也经常发现复合物 I 缺失。在阿尔茨海默症中,线粒体呼吸链的活动经常被抑制,尤其是复合物 IV(细胞色素 C 氧化酶)。而且,作为年龄增加的后果,影响呼吸链功能的其它分子损害的有害后遗症进一步放大,线粒体呼吸功能完全被抑制。在 AD、PD 和相关障碍中,除了原发性线粒体功能障碍外,其它因素也导致神经退化。兴奋性中毒(excitotoxic)刺激和一氧化氮与这两种疾病都有关,这些因素加剧线粒体呼吸链的缺陷,其损害作用在线粒体功能障碍的基础上被扩大。亨廷顿氏病(Huntington's Disease)中的大脑受损部位也存在着线粒体功能障碍,且兴奋性中毒刺激和线粒体功能障碍的协同作用导致了神经元退化。在某些具体实施方案中, sirtuin 活化化合物可有效用于治疗和缓解包括 AD 和 PD 的与年龄相关神经退化性疾病。

[1324] 肌萎缩侧索硬化症(ALS 或 Lou Gehrig 病)患者主要的遗传缺陷之一是铜一锌超氧化物歧化酶(SOD1),一种抗氧化酶的基因突变或缺失。线粒体能产生活性氧物质,同时又是活性氧物质的主要靶点。在哺乳动物系统中,线粒体内电子不能有效传递给氧是自由基最重要的生理来源。抗氧化剂或抗氧化酶的不足能导致或加剧线粒体退化。SOD1 突变的转基因小鼠出现的症状和病理学与人类 ALS 的相似。这些动物的这些疾病的发展表明其与线粒体的氧化破坏,随后的运动神经元的功能减退和临床症状的发作有关。ALS 患者的骨骼肌的线粒体复合物 I 活性很低。在某些具体实施方案中, sirtuin 活化化合物可有效用于治疗 ALS,用于逆转或延缓临床症状的进展。

[1325] 缺氧通过夺取细胞用于复合物 IV 中细胞色素 C 再氧化的末端电子受体而直接抑制线粒体呼吸链活动,并且通过继发于缺氧后兴奋性中毒和一氧化氮生成,尤其是在神经系统中的,间接抑制线粒体呼吸链活动。在象脑缺氧、心绞痛或镰状细胞性贫血危重的病症中,组织相对缺氧。在这些病例中,提高线粒体活性的化合物能保护受影响的组织免于低氧有害作用的影响,并减轻续发的延迟的细胞死亡,加速从低氧组织应激和损伤中复原。在某些具体实施方案中, sirtuin 活化化合物可有效用于在脑缺血或缺氧损伤后预防延迟的细胞死亡(在脑缺血后约 2 – 5 天,象海马或皮层的区域中发生凋亡)。

[1326] 无论呼吸链功能障碍是先天性的,或是由缺血或象顺铂这样细胞毒剂引起的,在

患有线粒体疾病的患者中经常观察到由肾功能不全导致的酸中毒。肾小管酸中毒通常需要给予外源性碳酸氢钠以维持血液和组织 pH 值。在某些具体实施方案中, sirtuin 活化化合物可有效用于治疗肾小管酸中毒和其它由线粒体呼吸链不足引起的肾功能障碍。

[1327] 在正常衰老过程中,线粒体呼吸链功能逐步衰退。大约从 40 岁开始,人类的线粒体 DNA 缺陷的累积呈现指数样上升,线粒体呼吸活动的核调节因子同时下降。在线粒体更替过程中,特别是在有丝分裂后的细胞中,许多线粒体 DNA 损伤具有选择优势。其推测的机制是,与具有完整的功能性呼吸链的线粒体相比,具有受损呼吸链的线粒体对自身的氧化损伤较小(机体内线粒体呼吸作用是自由基的主要来源)。因而,功能正常的线粒体对膜脂质氧化损伤的积累比有缺陷的线粒体快得多,由此被“标记”用于被溶酶体降解。因为细胞内线粒体的半衰期是大约 10 天,选择优势可导致功能性线粒体被呼吸作用减弱的线粒体迅速替换,特别是在缓慢分化的细胞中。最终结果就是一旦减小对线粒体的氧化损伤的线粒体蛋白的基因发生突变,这种有缺陷的线粒体将会很快占据细胞,减弱或消除它的呼吸能力。这种细胞的积累导致衰老或组织水平上的退行性疾病。这与肌肉中缺乏电子传递活性的细胞中渐进的马赛克现象(mosaic appearance),几乎没有细胞色素 C 氧化酶(COX)活性的细胞随机分散在具有正常活性的细胞中,以及老年受试者的活组织检查更容易发现缺乏 COX 阴性细胞相一致。在衰老或是患有各种线粒体疾病时,面对线粒体呼吸链功能必然的逐步下降,因此机体面临着必须保留不可替代的有丝分裂后细胞(例如,神经元、骨骼肌和心肌),并将它们的功能保持在显著的水平上的局面。线粒体功能障碍的神经元会对象兴奋性中毒损害这样的刺激逐渐变得更敏感。线粒体衰竭与大多数的伴随着衰老出现的退行性疾病(特别是神经退行性病变)都有关。先天性线粒体疾病往往涉及早发性神经退行性病变,其基本机制与生来具有正常线粒体的人在衰老中出现的障碍相似。在其它具体实施方案中, sirtuin 活化化合物可有效用于治疗或减轻认知能力下降或是其它衰老的退行性后果。

[1328] 在遭遇氧化应激或象顺铂这样癌症化疗剂的细胞中,由于线粒体 DNA 更容易受损并且修复效率低,线粒体 DNA 损伤比核 DNA 损伤的范围更广,持续时间更长。尽管线粒体 DNA 比核 DNA 对伤害敏感,但在有些情况下,线粒体 DNA 对化学致癌物引起的突变具有相对的抗性。这是因为线粒体通过破坏它们有缺陷的基因组而不是试图修复它们来应对某些类型的线粒体 DNA 损伤。这导致在细胞毒化疗后的时间里出现整体线粒体功能障碍。如顺铂、丝裂霉素、环磷酰胺的化疗剂的临床使用往往伴随着使人衰弱的“化疗虚弱”,长时间的虚弱,运动不耐受,这可以甚至持续到患者从这些药物的血液学和胃肠道毒性中恢复以后。在某些具体实施方案中, sirtuin 活化化合物可有效用于治疗和预防与线粒体功能障碍有关的癌症化疗的副作用。

[1329] 由于传递给胎儿的线粒体都来源于受孕时存在于卵母细胞中的线粒体,所以卵巢的一项重要功能就是保持卵母细胞中线粒体基因组的完整性。在大约绝经的年龄可检测到线粒体 DNA 缺失,并且这也与月经周期异常有关。尽管细胞不能直接检测并对线粒体 DNA 缺失进行响应,但能够只检测到影响细胞质的次级效应,如呼吸受损,氧化还原状况,嘧啶合成不足,这些线粒体功能产物作为一个信号参与卵母细胞选择和卵泡封闭,最终在不再保证维持线粒体基因组的准确性和功能活性时引发绝经。这与 DNA 受损的细胞中的凋亡相似,其中当基因准确性无法通过修复过程实现时,细胞进行细胞自杀的活动进程。患有影响

性腺的线粒体细胞病的妇女往往遭受过早绝经或表现出主要循环异常。细胞毒性抗癌化疗往往诱发过早绝经,其结果是增加患骨质疏松的风险。化疗引起的闭经一般是由原发性卵巢功能衰竭引起的。作为接受化疗的绝经前妇女的年龄的函数,化疗诱发的闭经的发生率提高,这说明线粒体与此有关。线粒体呼吸或蛋白质合成的抑制剂抑制激素诱导的排卵,此外对垂体促性腺激素作出反应从而抑制卵巢甾体激素的产生。有代表性地,患有 Downs 综合征(Downs syndrome)的妇女会遭受过早绝经,还会患上早发性阿尔茨海默症样痴呆。在 Downs 综合症和晚发性阿尔茨海默症患者的组织一直都能发现低活性的细胞色素氧化酶。因此,适当支持线粒体功能或弥补线粒体功能障碍可有效用于预防与年龄相关的或化疗诱导的绝经和月经周期或排卵不规律。在某些具体实施方案中, sirtuin 活化化合物可有效用于治疗和预防闭经,不规则排卵,绝经,或绝经的继发效应。

[1330] 在某些具体实施方案中, sirtuin 调节化合物可有效用于治疗线粒体肌病。线粒体肌病的范围从轻微的、慢慢发展的眼外肌障碍到严重的、致命的婴儿肌病和多系统脑肌病。某些综合征已被定义,其彼此之间有些重叠。已明确的影响肌肉的综合征包括进行性眼外肌麻痹、Kearns-Sayre 综合征(伴有眼肌麻痹、色素性视网膜病、心脏传导缺陷、小脑性共济失调和感音神经性耳聋)、MELAS 综合征(线粒体脑肌病、乳酸中毒、卒中样发作)、MERFF 综合征(肌阵挛型癫痫和蓬毛样红纤维),肢带型肌无力(limb-girdle distribution weakness) 和婴儿肌病(良性的或严重且致命的)。用改良的 Gomori's 三色染色剂染色的肌肉活检标本显示了由于线粒体过量聚集造成的蓬毛样红色纤维。可以检测到底物转运和利用、三羧酸循环、氧化磷酸化或呼吸链中的生物化学缺陷。大量的线粒体 DNA 点突变和缺失已有记载,并被引入母系非孟德尔式的遗传模型。在核编码线粒体酶中发生突变。

[1331] 在某些具体实施方案中, sirtuin 活化化合物可有效用于治疗线粒体受到毒性损伤的患者,所述毒性损伤如钙蓄积造成的毒性、兴奋性中毒、一氧化氮暴露、药物诱发的毒性损伤和缺氧。

[1332] 细胞损伤的主要机制,特别是在可兴奋组织中,是过量的钙进入细胞,这是通过细胞膜的泄漏或是细胞内钙处理机制缺陷的结果。线粒体是蓄存钙的主要部位,优先利用呼吸链产生的能量来吸收钙,而不是用于 ATP 合成,由于钙被吸收进入线粒体会导致能量转换的能力下降,导致线粒体衰竭中的螺旋式下降(downward spiral)。

[1333] 在中枢神经系统,兴奋性氨基酸对神经元的过度刺激是细胞死亡或损伤的普遍机制。在兴奋性毒性刺激时,谷氨酸受体,特别是被称为 NMDA 受体的亚型的活化,会部分通过细胞内钙的增加而导致线粒体功能障碍。相反的,当细胞暴露于对正常细胞无害的兴奋性毒性神经递质或毒素的水平下,线粒体呼吸作用和氧化磷酸化不足会使细胞对兴奋性毒性刺激敏感,造成细胞死亡或损伤。

[1334] 一氧化氮(约 1 摩尔)抑制细胞色素氧化酶(复合物 IV)并因此抑制线粒体的呼吸;此外,长时间暴露于一氧化氮(NO)会使复合物 I 活性不可逆地下降。因此,生理学上的或病理生理学浓度的 NO 会抑制嘧啶的生合成。一氧化氮与多种神经退行性障碍有关,包括炎症和中枢神经系统的自身免疫性疾病,并且与兴奋性毒性的介导和缺氧后对神经元的损伤有关。

[1335] 氧是呼吸链的末端电子受体。氧不足会损害电子传递链的活性,导致嘧啶合成以及经氧化磷酸的 ATP 合成减少。在实际缺氧条件下,如果提供尿嘧啶和丙酮酸盐(或者类似

的有效用于氧化 NADH 以优化糖酵解 ATP 生成的物质), 人类细胞能增殖和保持活力。

[1336] 在某些具体实施方案中, sirtuin 活化化合物可有效用于治疗与线粒体异常有关的疾病或障碍。

[1337] 编码呼吸链成分的线粒体 DNA 的转录需要核因子。在神经元轴突中, 线粒体必须来回往返于细胞核, 以维持呼吸链活性。如果低氧或像紫杉醇这样影响微管稳定性的药物损害了轴突转运, 线粒体会远离细胞核, 并丧失细胞色素氧化酶活性。因而, 用 sirtuin 活化化合物治疗可有效用于促进细胞核一线粒体的相互作用。

[1338] 线粒体是自由基和活性氧物质的主要来源, 这是因为自由基和活性氧物质从线粒体呼吸链溢出, 特别是当一种或多种呼吸链成分的缺陷损害了电子从代谢中间物向分子氧的有序转移的时候。为了降低氧化损害, 细胞能通过表达几种已被鉴定的线粒体解偶联蛋白(UCP)进行补偿。UCP - 2 的转录是对氧化损伤、炎性细胞因子或过量脂质负荷, 例如脂肪肝和脂肪性肝炎作出的反应。UCP 通过释放跨线粒体内膜的质子梯度来减少活性氧物质从线粒体溢出, 有效地浪费了代谢作用产生的能量, 并且为平衡降低的氧化损伤的而使细胞易受能量应激的影响。

### [1339] 肌肉功能

[1340] 在其它具体实施方案中, 本发明提供通过给予治疗有效量的 sirtuin 活化化合物来增强肌肉功能的方法。例如, sirtuin 活化化合物可以有效用于改善身体耐力(例如进行体力活动, 如锻炼, 体力劳动, 体育运动等的能力)、抑制或延缓身体疲劳、提高血氧水平、增加健康个体的能量、增强工作能力和耐受力、减轻肌肉疲劳、减小应激、增强心脏和心血管功能、提高性能力、提高肌肉 ATP 水平和 / 或降低血液中的乳酸。在某些具体实施方案中, 该方法包括给予一定量提高线粒体活性、增加线粒体生物发生、提高线粒体质量的 sirtuin 活化化合物或高剂量的 sirtuin 活化化合物。

[1341] 运动能力是指在参加体育活动时, 运动员的肌肉表现出的能力。运动能力、力量、速度和耐力的提高是通过肌肉收缩强度提高、收缩幅度的提高, 刺激与收缩之间肌肉反应时间的缩短来测定。运动员是指参加任何水平的体育运动, 且在其运动中追求力量、速度和耐受力水平提高的个体, 例如, 健身者, 骑脚踏车者, 长跑者和短跑者等。运动员可能要经过严格训练, 也就是说, 每周超过三天进行激烈的体育活动或比赛。运动员也可以是追求改善一般健康和幸福感、提高能量水平的健身爱好者, 他们计划每周约运动三次, 每次约 1 – 2 小时。运动能力的提高是通过克服肌肉疲劳的能力、保持长时间运动的能力和更有效的练习来表明的。

[1342] 在运动员肌肉能力的竞技场上, 人们期望创造出能够长时间保持高水平比赛或训练的条件。然而, 骨骼肌急剧并强烈的无氧运动往往会造成运动能力, 造成力量减弱、运动成绩下降, 以及肌肉疲劳、酸痛和功能障碍的发作增加。人们现在认识到, 即使单次的力竭运动, 或者就此而言, 任何对机体的急性创伤, 如肌肉损伤、抗性或力竭肌肉运动、或是非急需外科手术, 都是以短期和长期均影响肌肉功能的代谢紊乱为特征。肌肉代谢 / 酶活性和基因表达都受到影响。例如, 在广泛的肌肉运动中都出现骨骼肌氮代谢遭破坏和代谢能量的来源耗尽。包括支链氨基酸的氨基酸从肌肉中释放出来后进行脱氨作用, 增加了血氨和作为肌肉的能量来源的局部氧化, 这加剧了代谢性酸中毒。而且, 肌肉收缩运动的催化效率降低, 且氮和能量代谢的酶活性变化。此外, 当蛋白质合成速率降低且非收缩蛋白降解增加

时,蛋白质的分解代谢就开始了。这些代谢过程还伴随着自由基的产生,进而损伤肌肉细胞。

[1343] 在剧烈和大量锻炼过程中从疲劳中恢复过来需要代谢和非代谢疲劳因素的逆转。参与人类肌肉疲劳的已知因素,如乳酸、氨、氢离子等,只能对疲劳 / 恢复过程提供不完整和无法令人满意的解释,很可能还有其它未知因素的参与(Baker 等, J. Appl. Physiol. 74:2294-2300, 1993; Bazzarre 等, J. Am. Coll. Nutr. 11:505-511, 1992; Dohm 等, Fed. Proc. 44:348-352, 1985; Edwards In: Biochemistry of Exercise, Proceedings of the Fifth International Symposium on the Biochemistry of Exercise (Kutrgen, Vogel, P. oormans, eds.), 1983; Mac Dougall 等, Acta Physiol. Scand. 146:403-404, 1992; Walser 等, Kidney Int. 32:123-128, 1987)。几项研究还分析了营养添加剂和中药添加剂对增强肌肉功能的作用。

[1344] 在耐力锻炼中,除肌肉功能外,在病理生理学状态中,自由基和氧化应激参数也受到影响。现在,一份真实的数据显示在病理生理状态下,氧化应激促进了肌肉消耗和萎缩(在 Clarkson, P. M. Antioxidants and physical performance. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 35:31-41; 1995; Powers, S. K. ; Lennon, S. L. Analysis of cellular responses to free radicals: Focus on exercise and skeletal muscle. Proc. Nutr. Soc. 58:1025-1033; 1999 中有综述)。例如,就肌肉耐受力和功能都得到补偿的肌肉障碍而言,一氧化氮(NO)与之有关。在肌营养不良,尤其是在由于组成肌营养不良蛋白 - 糖蛋白复合物(DGC)的蛋白缺陷造成的肌营养不良中,合成 NO 的酶和一氧化氮合酶(NOS)已经被联系起来。最近关于与 DGC 缺陷有关的营养不良的研究显示,细胞损伤的一种机制是与细胞 NOS 变化和正常的 NO 保护功能的破坏有关的功能性缺血。在收缩诱发的交感神经性血管收缩增加时,这种保护性的作用是对局部缺血的预防。Rando (Microsc. Res. Tech. 55(4):223-35, 2001) 指出,氧化损伤发生在病理学变化之前,而且 DGC 缺陷的肌肉细胞对氧化刺激的敏感性提高。已经表明自由基造成的过度脂质过氧化也是患如麦卡德尔病(McArdle's disease)的肌病的一种因素(Russo 等, Med Hypotheses. 39(2):147-51, 1992)。而且,尽管很少研究,但是已经表明并且熟知的,线粒体功能障碍将与年龄相关肌肉消耗(muscle wasting) (骨骼肌减少症) 和自由基损伤相互联系起来( Navarro, A. ; Lopez-Cepero, J. M. ; Sanchezdel Pino, M. L. Front. Biosci. 6:D26-44; 2001 的综述)。其它适应症包括急性骨骼肌减少症,例如肌肉萎缩和 / 或与烧伤相关恶病质,卧床修养,肢体制动(limb immobilization),或重大的胸部,腹部和 / 或整形外科手术。预期本发明方法还可有效用于治疗病理状态的肌肉。

[1345] 在某些具体实施方案中,本发明提供了新的包含 sirtuin 调节剂的饮食组合物,其制备方法,以及使用该组合物用于增强肌肉功能的方法。因此,本发明提供了具有提高身体耐受力和 / 或抑制身体疲劳作用的治疗性组合物、食物和饮料,它们是针对参与包括需要耐力的运动和需要重复肌肉动作的劳动的泛指的锻炼的人们。这种饮食组合物可以另外包含电解质、咖啡因、维生素、碳水化合物等。

[1346] 衰老 / 应激

[1347] 在某些具体实施方案中,本发明提供用于延长细胞寿命或阻止凋亡的方法,其包括向受试者给予高剂量 sirtuin 活化化合物,受试者将受益于细胞寿命的延长或凋亡的减

少。例如,用高剂量的 sirtuin 活化化合物处理皮肤或上皮细胞能够对抗皮肤衰老(例如,出现皱纹,丧失弹性等)。在一个示例性的具体实施方案中,将含有高剂量的 sirtuin 活化化合物的药物或化妆组合物与皮肤接触。可根据本发明所述的方法处理的示例性皮肤问题和皮肤病症包括与炎症、晒伤或自然衰老有关的或由炎症、晒伤或自然衰老引起的障碍或疾病。例如,该组合物能用于预防或治疗接触性皮炎(包括刺激性接触性皮炎和过敏性皮炎)、特应性皮炎(又称过敏性湿疹)、日光角化病、角化障碍(包括湿疹)、大泡性表皮松懈症(包括 penfigus)、剥脱性皮炎、脂溢性皮炎、红斑(包括多形性红斑和结节性红斑)、阳光或其它光源造成的损伤、盘状红斑狼疮、皮肌炎、牛皮癣、皮肤癌和自然衰老的影响。在另一个具体实施方案中,高剂量的 sirtuin 活化化合物可用于治疗创伤和 / 或烧伤,促进其愈合,其包括例如一、二、或三级烧伤和 / 或热灼伤、化学烧伤和电烧伤。如本发明的进一步描述,制剂可以以软膏、洗液、乳膏、微乳液、凝胶、溶液等形式向皮肤或粘膜组织局部地给予,并且其剂量方案能有效地实现所需的结果。

[1348] 包含一种或多种高剂量 sirtuin 活化化合物的局部制剂也可用作预防,例如化学预防的组合物。当用于化学预防方法时,在特定个体出现任何病症前对敏感皮肤进行处理。

[1349] sirtuin 活化化合物可以向受试者局部或全身输送。在一个具体实施方案中,高剂量的 sirtuin 活化化合物是通过注射或局部制剂等形式向受试者的组织或器官局部输送的。

[1350] 在另一种具体实施方案中,高剂量的 sirtuin 活化化合物可以被用于治疗或预防由受试者细胞衰老诱发或加重的疾病或病症;降低受试者衰老速度方法,例如衰老出现后;延长受试者寿命的方法;治疗或预防与寿命相关的疾病或病症的方法;治疗或预防与细胞增殖能力相关的疾病或病症的方法;治疗或预防由细胞损伤或死亡导致的疾病或病症的方法。在某些具体实施方案中,该方法不通过降低缩短受试者寿命的疾病的发病率而发挥作用。在某些具体实施方案中,该方法不通过降低如癌症的疾病引起的致死性而发挥作用。

[1351] 在另一个具体实施方案中,通常可以向受试者给予高剂量的 sirtuin 活化化合物用于延长其细胞的寿命和保护其细胞抵御应激和 / 或凋亡。据信以本发明所述的化合物治疗受试者类似于使受试者接受刺激作用,即对机体有利并可能延长其寿命的温和应激。

[1352] 可以向受试者给予高剂量的 sirtuin 活化化合物以预防衰老和与衰老相关的后果或疾病,如中风、心脏病、心力衰竭、关节炎、高血压和阿尔茨海默症。可以被治疗的其它病症包括眼部障碍,例如与眼睛衰老相关的,如白内障、青光眼和黄斑变性。还可以向受试者给予高剂量的 sirtuin 活化化合物用来治疗疾病,例如与细胞死亡相关的慢性疾病,以保护细胞免于死亡。示例性的疾病包括与神经细胞死亡、神经元功能障碍或肌肉细胞死亡或功能障碍有关的疾病,如帕金森病、阿尔茨海默症、多发性硬化症、肌萎缩性侧索硬化症和肌营养不良;AIDS;重型肝炎(fulminant hepatitis);与脑退化有关的疾病,如 Creutzfeld-Jakob 病、色素性视网膜炎和小脑变性;脊髓发育不良(myelodysplasia),如再生障碍性贫血(aplastic anemia);缺血疾病,如心肌梗塞和中风;肝病,如酒精性肝炎、乙型肝炎和丙型肝炎;关节疾病,如骨关节炎;动脉粥样硬化;脱发(alopecia);紫外线对皮肤的损害;扁平苔藓;皮肤萎缩;白内障和移植排斥。外科手术、药物治疗、化学暴露和辐射照射也可以造成细胞死亡。

[1353] 还可以向患有急性疾病的受试者,例如患有中风或心肌

梗塞的受试者或患有脊髓损伤的受试者给予高剂量的 sirtuin 活化化合物。高剂量的 sirtuin 活化化合物还可以用于修复酒精中毒性肝脏。

[1354] 心血管疾病

[1355] 在另一个具体实施方案中,本发明提供一种通过向有此需要的受试者给予高剂量的 sirtuin 活化化合物来治疗和 / 或预防心血管疾病的方法。

[1356] 可以使用高剂量的 sirtuin 活化化合物来治疗或预防的心血管疾病包括心肌病或心肌炎,如原发性心肌病、代谢性心肌病、酒精性心肌病、药物诱导的心肌病、缺血性心肌病和高血压性心肌病。使用本发明所述的化合物和方法可以治疗或预防的疾病还有主要血管,例如大动脉、冠状动脉、颈动脉、脑血管的动脉、肾动脉、髓动脉、股动脉和腘动脉的动脉粥样硬化障碍(大血管病变)。其它可治疗或预防的血管疾病包括与血小板聚集、视网膜微动脉、肾小球微动脉、神经滋养血管、心脏微动脉有关的疾病,以及与眼睛、肾、心脏、中枢和外周神经系统的毛细血管床相关的疾病。高剂量的 sirtuin 活性化合物还可以用于提高个体血浆的 HDL 水平。

[1357] 可以使用高剂量的 sirtuin 活化化合物治疗的其它障碍包括再狭窄,例如在冠状动脉介入疗法之后的,以及与高密度和低密度胆固醇水平异常相关的障碍。

[1358] 在一个具体实施方案中,高剂量的 sirtuin 活化化合物可以作为与另一种心血管药物的联合治疗的一部分被给予,所述心血管药物包括,例如抗心律失常药、抗高血压药、钙通道阻滞剂、心脏停博液、强心剂、纤维蛋白溶解剂、硬化性溶液(sclerosing solution)、血管收缩剂、血管扩张剂、一氧化氮供体、钾通道阻滞剂、钠通道阻滞剂、他汀类、利尿钠剂(natriuretic agent)。

[1359] 在一个具体实施方案中,高剂量的 sirtuin 活化化合物可以作为与抗心律失常药的联合治疗的一部分来给予。根据作用机制通常将抗心律失常药分为四个主要类别:I 型,钠通道阻滞;II 型,β-肾上腺素阻滞;III 型,延长复极化;IV 型,钙通道阻滞。I 型抗心律失常药包括利多卡因、莫雷西嗪、美西律、妥卡尼、普鲁卡因胺、恩卡胺、氟卡尼(flecainide)、妥卡尼、苯妥英、普罗帕酮、奎宁丁、双异丙吡胺和氟卡尼(flecainide)。II 型抗心律失常药包括普萘洛尔和艾司洛尔。III 型包括通过延长动作电位持续时间起作用的药物,如胺碘酮、阿替利特(artilide)、溴苄胺、氯非铵(clofilium)、isobutilide、索他洛尔、阿齐利特、多非利特、决奈达隆(dronedarone)、艾生利特、伊布利特、替地沙米和曲西利特(trecetilide)。IV 抗心律失常药包括维拉帕米、地尔硫 **卓** (diltiazem)、洋地黄、腺苷、氯化镁和镁离子。

[1360] 在另一个具体实施方案中,高剂量的 sirtuin 活化化合物可以作为与另一种心血管药的联合治疗的一部分来给予。心血管药的例子包括血管扩张剂,例如肼苯哒嗪;血管紧张素转化酶抑制剂,例如卡托普利(captopril);抗心绞痛药,例如硝酸异山梨酯、硝酸甘油和季戊四醇四硝酸酯;抗心律失常药,如奎尼丁、procainaltide 和利多卡因;强心苷,例如地高辛和洋地黄毒苷;钙拮抗剂,例如维拉帕米和硝苯地平;利尿剂,如噻嗪类和相关化合物,例如苄氟噻嗪、氯噻嗪、氯噻酮、氢氯噻嗪和其它利尿剂,例如呋塞米和氨苯蝶啶,以及镇静剂,例如硝西泮、氟西泮和地西泮。

[1361] 其它示例性的心血管药物包括,例如环氧合酶抑制剂,如阿司匹林或吲哚美辛,血小板聚集抑制剂,如氯吡格雷,噻氯匹定(ticlopidene)或阿司匹林,纤维蛋白

原拮抗剂或利尿剂,如氯噻嗪、氢氯噻嗪、氟甲噻嗪、氢氟甲噻嗪、苄氟噻嗪、甲氯噻嗪(methylchlorthiazide)、三氯噻嗪、泊利噻嗪或苄噻嗪以及利尿酸(ethacrynic acid)、帖克纳芬(tricrynahfen)、氯噻酮、呋塞米、musolimine、布美他尼、氨苯蝶啶、阿米洛利和螺内酯以及这些化合物的盐;血管紧张素转换酶抑制剂、如卡托普利、佐芬普利(zofenopril)、福辛普利、依那普利、ceranopril、西拉普利(cilazopril)、地拉普利、喷托普利、喹那普利、雷米普利、赖诺普利以及这些化合物的盐,血管紧张素 II 拮抗剂、如氯沙坦、依贝沙坦或缬沙坦;溶栓剂,如组织型纤溶酶原激活剂(tPA)、重组 tPA、链激酶、尿激酶、尿激酶原和组织型纤溶酶原链激酶激活剂复合物(APSAC, Eminase, Beecham 实验室);或动物唾液腺纤溶酶原激活剂、钙离子通道阻断剂、如维拉帕米、硝苯地平或地尔硫 **草**;血栓素受体拮抗剂、如伊非曲班、依前列醇类似物(prostacyclin mimetics);或磷酸二酯酶抑制剂。如果以固定剂量调剂,所述组合产品中使用的本发明的化合物的剂量范围同上所述,而其它药物活性药物在批准的剂量范围内。

[1362] 其它的示例性的心血管药物包括,例如血管扩张剂,例如苯环烷、桂利嗪、胞二磷胆碱、环扁桃酯、环烟碱(cyclonicate)、ebumamone、phenoxyethyl、氟桂利嗪、异丁司特、艾芬地尔、洛美利嗪、naphazole, nikamate、nosergoline、尼莫地平、罂粟碱、己酮可可碱(pentifylline)、nofedoline、长春胺、长春西汀、vichizyl、己酮可可碱;前列环素衍生物(如前列腺素 E1 及前列腺素 I2)、内皮素受体阻断药物(如波生坦)、地尔硫 **草**、尼可地尔和硝酸甘油。脑保护药物的例子包括自由基清除剂(如依达拉奉、维生素 E 和维生素 C),谷氨酸拮抗剂,AMPA 拮抗剂,红藻氨酸(kainate)拮抗剂,NMDA 拮抗剂,GABA 激动剂、生长因子、阿片拮抗剂、磷脂酰胆碱前体、血清素激动剂、 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  通道抑制剂、 $\text{K}^+$  通道开放剂。大脑代谢兴奋剂的例子包括金刚烷胺、泰必利和  $\gamma$ -氨基丁酸。抗凝血剂的例子包括肝素(如肝素钠、肝素钾、达肝素钠(dalteparin sodium)、达肝素钙(dalteparin calcium)、肝素钙、帕肝素钠、瑞肝素钠和达那肝素钠)、华法林、依诺肝素、阿加曲班、巴曲酶和柠檬酸钠。抗血小板药物的例子包括盐酸噻氯匹定、潘生丁、西洛他唑、廿六烷五烯酸乙酯、盐酸沙格雷酯、盐酸地拉齐普、曲匹地尔,非甾体抗炎药(如阿斯匹林)、贝前列素钠(beraprost sodium)、伊洛前列素和 indobufene。溶栓药物的例子包括尿激酶、组织型纤溶酶原激活剂(如阿替普酶、tisokinase、那替普酶、帕米普酶、孟替普酶、瑞替普酶(rateplase)和那沙普酶)。抗高血压药物的例子包括血管紧张素转化酶抑制剂(如卡托普利、阿拉普利、赖诺普利、咪达普利、喹那普利、替莫普利、地拉普利、苯那普利、西拉普利、群多普利、依那普利、西罗普利、福辛普利、imadapril、mobertpril、培哚普利、雷米普利、螺普利和 randolapril),血管紧张素 II 拮抗剂(如氯沙坦、坎地沙坦、缬沙坦、依普罗沙坦、伊贝沙坦),钙通道阻滞剂(如阿雷地平、依福地平、尼卡地平、bamidipine、贝尼地平、马尼地平、西尼地平、尼索地平、尼群地平、硝苯地平、尼伐地平、非洛地平、氨氯地平、地尔硫 **草**、苄普地尔、克仑硫 **草**、phendilin、戈洛帕米(galopamil)、米贝拉地尔、普尼拉明、司莫地尔、特罗地林、维拉帕米、西尼地平、依高地平、伊拉地平、拉西地平、乐卡地平、尼莫地平、桂利嗪、氟桂利嗪、利多氟嗪、洛美利嗪、苄环烷、依他苯酮和哌克昔林),  $\beta$ -肾上腺素受体阻断药物(普萘洛尔、吲哚洛尔、茚诺洛尔、卡替洛尔、布尼洛尔、阿替洛尔、醋丁洛尔、美托洛尔、噻吗洛尔、尼普地洛、喷布洛尔、纳多洛尔、替利洛尔、卡维地洛、比索洛尔、倍他洛尔、塞利洛尔、波吲洛尔、贝凡洛尔、拉贝洛

尔、烯丙洛尔、氨磺洛尔、阿罗洛尔、苯呋洛尔、布库洛尔、布非洛尔、丁呋洛尔(buferalol)、布拉洛尔(buprandolol)、butylidine、丁非洛尔、卡拉洛尔、塞他洛尔、氯拉洛尔、地来洛尔、依泮洛尔、左布诺洛尔、甲吲洛尔、美替洛尔、莫普洛尔、萘肟洛尔、nevibolol、氧烯洛尔、practol、丙萘洛尔、索他洛尔、sufinalol、他林洛尔(talindolol)、特他洛尔(tertalol)、托利洛尔、希苯洛尔(xybenolol)和艾司洛尔),  $\alpha$  - 受体阻断药物(如氨磺洛尔、哌唑嗪、特拉唑嗪、多沙唑嗪、布那唑嗪、乌拉地尔、酚妥拉明、阿罗洛尔、达哌唑、芬司匹利、吲哚拉明、拉贝洛尔、萘哌地尔、尼麦角林、坦索罗辛、妥拉唑林、曲马唑嗪和育亨宾), 交感神经抑制剂(如可乐定、胍法辛、胍那苄、甲基多巴和利血平)、肼苯哒嗪、托屈嗪、布酞嗪和卡屈嗪。抗心绞痛药物的例子包括硝酸酯类药物(如亚硝酸戊酯、硝酸甘油和异山梨醇(isosorbide))、 $\beta$  - 肾上腺素受体阻断药物(如普萘洛尔、吲哚洛尔、茚诺洛尔、卡替洛尔、布尼洛尔、阿替洛尔、醋丁洛尔、美托洛尔、噻吗洛尔、尼普洛尔、喷布洛尔、纳多洛尔、替利洛尔、卡维地洛、比索洛尔、倍他洛尔、塞利洛尔、波吲洛尔、贝凡洛尔、拉贝洛尔、烯丙洛尔、氨磺洛尔、阿罗洛尔、苯呋洛尔、布库洛尔、布非洛尔、丁呋洛尔(buferalol)、布拉洛尔(buprandolol)、butylidine、丁非洛尔、卡拉洛尔、塞他洛尔、氯拉洛尔、地来洛尔、依泮洛尔、左布诺洛尔、甲吲洛尔、美替洛尔、莫普洛尔、萘肟洛尔、nevibolol、氧烯洛尔、practol、丙萘洛尔、索他洛尔、sufinalol、他林洛尔(talindolol)、特他洛尔(tertalol)、托利洛尔(andxybenolol), 钙通道阻断药物(如阿雷地平、依福地平、尼卡地平、bamidipine、贝尼地平、马尼地平、西尼地平、尼索地平、尼群地平、硝苯地平、尼伐地平、非洛地平、氨氯地平、地尔硫 **䓬**、苯普地尔、克仑硫 **䓬**、芬地林(phendiline)、加洛帕米(galopamil)、米贝拉地尔(mibepradiil)、普尼拉明、司莫地尔、特罗地林、维拉帕米、西尼地平、依高地平、伊拉地平、拉西地平、乐卡地平、尼莫地平、桂利嗪(cinnarizine)、氟桂利嗪、利多氟嗪、洛美利嗪、苯环烷、依他苯酮和哌克昔林), 曲美他嗪、潘生丁、依他苯酮、地拉齐普、曲匹地尔、尼可地尔、依诺肝素和阿司匹林。利尿剂的例子包括噻嗪类利尿剂(如氢氯噻嗪、甲氯噻嗪、三氯噻嗪、苯氢氯噻嗪和戊氟噻嗪)、髓袢利尿剂(如呋塞米、依他尼酸、布美他尼、吡咯他尼、阿佐塞米和托拉塞米)、保钾利尿剂(螺内酯、氨苯蝶啶和坎利酸钾(potassium canrenoate))、渗透性利尿剂(如异山梨醇(isosorbide)、D-甘露醇和甘油)、非噻嗪类(nonthiazide)利尿剂(如美替克仑、曲帕胺、氯噻酮和美夫西特)及乙酰唑胺。强心剂的例子包括洋地黄制剂(如洋地黄毒苷、地高辛、甲基地高辛、去乙酰毛花苷、维司力农、毛花苷 C(lanatoside C)和海葱次苷)、黄嘌呤制剂(如氨茶碱、胆茶碱、二羟丙茶碱和丙羟茶碱(proxyphylline))、儿茶酚胺制剂(如多巴胺、多巴酚丁胺和多卡巴胺)、PDE III 抑制剂(如氨力农、奥普力农和米力农)、地诺帕明、泛癸利酮、匹莫苯、左西孟旦、氨基乙磺酸、维司力农、卡培立肽和考福新达普酸盐(colforsin daropate)。抗心律失常药物的例子包括阿义马林、吡美诺、普鲁卡因胺、西苯唑啉、丙吡胺、奎尼丁、安博律定、美西律、利多卡因、苯妥英(phenyloin)、匹西卡尼、普罗帕酮、氟卡胺(flecainide)、阿替洛尔、醋丁洛尔、索他洛尔、普萘洛尔、美托洛尔、吲哚洛尔、胺碘酮、尼非卡兰、地尔硫 **䓬**、苯普地尔和维拉帕米。抗高血脂药物的例子包括阿伐他汀、辛伐他汀、普伐他汀钠、氟伐他汀钠、克利贝特、氯贝丁酯、双贝特、非诺贝特、苯扎贝特、colestimide 和考来烯胺。免疫抑制剂的例子包括硫唑嘌呤、咪唑立宾、环孢菌素、他克莫司、胍立莫司和甲氨蝶呤。

[1363] 细胞死亡 / 癌症

[1364] 可以向最近接触或是可能接触一定剂量的辐射或毒素的受试者给予高剂量的 sirtuin 活化化合物。在一个具体实施方案中,接触一定剂量辐射或毒素与工作或医疗过程有关,例如,在核电厂工作,在飞机上飞行, X 射线,计算机轴向体层摄影术(CAT scan),或者医学成像中给予放射性染料;在这样的具体实施方案中,给予高剂量的 sirtuin 活化化合物作为预防性措施。在另一个具体实施方案中,辐射或毒素是无意中接触到的,例如,作为工业事故、居住于有自然辐射地区、恐怖活动或涉及到放射性或毒性物质的战争行为的后果。在这种情况下,优选在接触之后应尽快给予高剂量的 sirtuin 活化化合物以抑制细胞凋亡和随后出现的急性放射综合征。

[1365] 神经元疾病 / 障碍

[1366] 在某些方面,高剂量的 sirtuin 活化化合物可用于治疗患有神经退行性疾病、以及中枢神经系统(CNS)、脊髓或周围神经系统(PNS)外伤或机械性损伤的患者。有代表性地,神经退行性疾病涉及人脑质量和容量的减小,这可能是由脑细胞萎缩和 / 或死亡造成的,并且比健康人因衰老造成的脑质量和容量的减小更严重。由于脑特定区域的逐步退化(例如神经细胞功能障碍及死亡),神经退行性疾病在脑长期正常工作后逐渐发展。或者,神经退行性疾病可能是急性发作,如与创伤或毒素相关的发作。脑退化的实际发作可能先于临床表现多年。神经退行性疾病的例子包括但不限于阿尔茨海默病(AD)、帕金森病(PD)、亨廷顿病(HD)、肌萎缩性侧索硬化症(ALS;Lou Gehrig's 病)、弥漫性路易体病、舞蹈病 - 棘状红细胞增多症、原发性侧索硬化、眼睛疾病(眼部神经炎)、化疗诱发的神经病(例如由长春新碱、紫杉醇、硼替佐米诱发的)、糖尿病诱发的神经病和 Friedreich's 共济失调。提高 sirtuin 蛋白的水平和 / 或活性的 sirtuin 调节化合物可以用来治疗这些障碍和下面提到的其它疾病。

[1367] AD 是一种逐渐发生的慢性、不能治愈的且无法阻止的中枢神经系统障碍,其导致记忆丧失、行为异常、性格改变和思维能力下降。这些损失涉及到特殊类型脑细胞的死亡,以及它们之间的联接和支持网络(例如神经胶质细胞)的破坏。AD 被描述为逆转的儿童发育。大多数患有 AD 的人的症状是在 60 岁后出现的。最早的症状包括近期记忆丧失、判断错误和性格改变。在疾病的后期,患有 AD 的患者可能忘记如何做简单动作,如洗手。最后,患有 AD 的人会完全失去推理能力,依赖其他人照顾日常生活。最后,该疾病使患者很虚弱而卧床不起,而且通常伴随并发症。

[1368] PD 是一种逐渐发生的慢性、不能治愈的,且无法阻止的中枢神经系统障碍,其导致身体动作不受控制、僵硬、颤抖和运动障碍。这些运动系统问题与脑产生多巴胺的区域的脑细胞的死亡有关,而多巴胺是一种帮助控制肌肉活动的化学物质。大多数患有 PD 的人的症状在 50 岁后出现。PD 的最初症状是影响四肢的明显震颤,尤其是在手或嘴唇。随后的 PD 的特征症状是僵硬或运动缓慢、走路拖着脚(shuffling walk)、驼背姿势(stooped posture)和平衡能力受损。还有大量的次级症状,如记忆丧失、痴呆、抑郁、情绪变化、吞咽困难、言语异常、性功能障碍、膀胱和肠道问题。这些症状会开始干扰日常生活,如持餐叉或阅读报纸。最后,患有 PD 的人严重丧失能力而卧床不起。

[1369] ALS (运动神经元疾病) 是一种慢性的、不能治愈的且无法阻止的中枢神经系统障碍,其攻击运动神经元,及中枢神经系统中连接大脑和骨骼肌的成分。在 ALS 中,运动神经

元恶化并最终死亡,尽管患者的大脑保持正常的全部功能和灵敏性,但运动指令不能到达肌肉。大多数患ALS的人是在40至70岁之间。最先衰退的运动神经元是控制胳膊和腿的运动神经元。患有ALS的患者步行困难,他们可能掉东西、跌倒、言语模糊、不能控制地哭或笑。最终,肢体的肌肉因不用而开始萎缩。这种肌肉无力会使得患者虚弱并需要轮椅,或无法离开床活动。

[1370] 这些神经疾病的病因大多数还是未知的。尽管这些疾病在基本发病过程方面清楚地显示出高度的相似性,并且普遍地证明它们在症状上的重叠程度远远超过了仅根据偶然因素所预期的程度,但人们仍然习惯地认为它们是不同的疾病。目前的疾病定义不能恰当地解决重叠的问题,需要一种新的神经退行性疾病的分类方法。

[1371] HD是另一种由大脑特定区域的神经元的遗传性程序性退化造成的神经退行性疾病。这种退化导致运动不受控制,智力丧失和情感障碍。HD是一种家族性疾病,是通过野生型基因的一个显性突变由父母传给孩子的。一些HD的早期症状是情绪波动、抑郁、易怒,或驾驭、学习新事物、记忆事实和做决定有困难。随着病情的发展,专注于智力活动变得越来越困难,而且患者可能在自己吃饭和吞咽方面都有困难。

[1372] 泰—萨克斯病(Tay-Sachs disease)和桑德霍夫病(Sandhoff disease)是由于缺乏溶酶体 $\beta$ —己糖胺酶导致的糖脂储存疾病(Gravel等, in The Metabolic Basis of Inherited Disease, eds. Scriver等, Mc Graw-Hill, New York, pp. 2839-2879, 1995)。在这两种障碍中,GM2神经节苷脂和相关的 $\beta$ —己糖胺酶的糖脂底物聚集在神经系统并引发急性神经退化。在最严重的情况下,其症状的发作是从婴儿早期开始。然后,急速的神经退行性过程随之发生,患病婴儿表现出运动功能障碍、癫痫、视力丧失和耳聋。通常在2—5岁时发生死亡。已证明神经元损失是通过凋亡机制导致的(Huang等, Hum. Mol. Genet. 6:1879-1885, 1997)。

[1373] 众所周知,凋亡在免疫系统的AIDS发病机理中发挥作用。然而,HIV-1也诱发神经疾病。Shi等(J. Clin. Invest. 98:1979-1990, 1996)研究了体外模型和AIDS患者脑组织中由中枢神经系统中HIV-1感染导致的细胞凋亡,发现HIV-1感染脑原代培养物诱导了体外神经元和星形胶质细胞凋亡。11名AIDS患者中有10名的脑组织中还检测到神经元和星形胶质细胞凋亡,其中包括5名患有HIV-1痴呆的患者中的全部,5名未患痴呆的患者中的4名。

[1374] 主要的与HIV相关的周围神经病有四种,即感觉神经病、急性/慢性炎性脱髓鞘性多神经根神经病(AIDP/CIPD)、药物诱导的神经病和与巨细胞病毒(CMV)有关的神经病。

[1375] 与AIDS相关的最常见的神经病类型是末梢对称多发性神经(DSPN)。这种综合征是神经退化的结果,其特征是麻木和刺痛感。DSPN很少导致严重的异常,绝大部分导致足部的麻木或麻刺感以及踝反射迟钝。这些经常伴随着更严重的免疫抑制发生并且是稳定发展的。用三环类抗抑郁药治疗只能缓解症状但并不能影响根本的神经损伤。

[1376] 一种较少见,但更严重类型的神经病是急性/慢性炎性脱髓鞘性多神经根神经病(AIDP/CIPD)。在AIDP/CIPD中,覆盖神经冲动的脂肪膜出现损害。这种神经病与炎症有关,类似于因长期使用叠氮胸苷而经常出现的肌肉恶化。这是HIV感染的最初症状,此时患者可能不会抱怨疼痛,但不能通过标准反射测试。这类神经病可能与血清转换有关,这种情况下它有时能自动地减退。这种疾病可以作为HIV感染的标志并且表明是时候进行抗病毒治

疗了。AIDP/CIDP 的根源可能是自身免疫。

[1377] 药物诱导的或中毒性神经病可能是非常疼痛的。与其它药物,例如长春新碱、苯妥英钠(一种抗癫痫药物)、高剂量维生素、异烟肼和叶酸拮抗剂一样,抗病毒药物普遍导致周围神经病。在抗病毒药物的临床实验中,周围神经病经常用作限制剂量的副反应,其意味着不应给予更多的药物。此外,这种药物的使用会加重其它小神经病。通常,这些药物诱导的神经病在停药后是可以逆转的。

[1378] CMV 能导致 AIDS 中的几种神经综合征,包括脑炎,脊髓炎和多发性神经病。

[1379] 神经元损失也是朊病毒疾病的一个显著特点,所述朊病毒疾病如人类克-雅氏病(Creutzfeldt-Jakob disease)、牛的牛海绵样脑病(疯牛病)、绵羊和山羊的羊瘙痒病(Scrapie Disease)以及猫的猫海绵状脑病(feline spongiform encephalopathy (FSE))。高剂量的 sirtuin 活化化合物可用于有效治疗或预防因上述这些疾病引起的神经元损失。

[1380] 在另一个具体实施方案中,高剂量的 sirtuin 活化化合物可以用于治疗或预防任何与轴索病相关的疾病或障碍。末梢轴索病是一种由周围神经系统(PNS)神经元的某些代谢或中毒性紊乱引起的周围神经病。这是神经对代谢或中毒性干扰最常见的反应,因而可能由代谢疾病引起,如糖尿病、肾衰竭、缺失综合征(deficiency syndromes)如营养不良和酒精中毒或毒素或药物的影响。引起末梢轴索病最常见的原因是糖尿病,并且最常见的末梢轴索病是糖尿病性神经病。通常轴突的最末梢部分首先退化,轴突萎缩向神经细胞体缓慢发展。虽然预后降低取决于刺激的时间长短和严重程度,但如果除去有害刺激,再生是有可能的。末梢轴索病患者通常表现出对称的手套和长袜样感觉运动障碍(symmetrical glove-stockings sensori-motor disturbances)。在受影响区域,深部腱反射和自主神经系统(ANS)的功能也丧失或削弱。

[1381] 糖尿病性神经病是与糖尿病有关的神经障碍。这些病症通常是由涉及到滋养神经的小血管(神经滋养血管)的糖尿病性微血管损伤造成的。与糖尿病性神经病相关的比较普遍的病症包括动眼神经麻痹、单神经病、多发性单神经炎、糖尿病性肌萎缩、疼痛的多发性神经病、自主神经病变和胸腹神经病。糖尿病性神经病的临床表现包括,例如,感觉运动多发性神经病,如麻木、感觉丧失、感觉迟钝和夜间疼痛(nighttime pain);自主神经病如胃排空延迟或胃轻瘫;以及颅神经病,如动眼(第 3)神经病(oculomotor neuropathies)或胸部或腰椎脊髓神经的单神经病。

[1382] 周围神经病是表示外周神经系统的神经损伤的医学术语,其既可能由神经疾病引起,也可能由全身疾病的副作用引起。外周神经病在表象和病因方面各不相同,并且可能影响神经或神经肌肉接头。周围神经病的主要病因包括癫痫、营养不足以及艾滋病毒,而糖尿病是最可能的病因。长时间保持同一姿势造成的机械压迫、肿瘤、神经内出血、身体暴露于极端条件如辐射、低温或有毒物质也可能造成外周神经病。

[1383] 在一个示例性的具体实施方案中,高剂量的 sirtuin 活化化合物可用于治疗或预防多发性硬化症(MS),包括复发的 MS 和单症状的 MS、以及其它脱髓鞘病症,例如铬炎性脱髓鞘性多神经病(CIDP),或与其相关症状。

[1384] MS 是一种慢性的、常见的致残的中枢神经疾病。尽管这种障碍的病因尚未确定,但不同的证据集中表明这种疾病可能是由免疫功能障碍引起的。这种障碍使得免疫系统的细胞“攻击”髓鞘,而髓鞘是位于中枢神经系统(CNS)中围绕神经轴突的含有脂肪的绝缘护

套。当髓鞘被破坏,脑和脊髓中的电脉冲不能沿着神经纤维通路快速地或正常地传递。这导致了轴突正常的电传导中断、疲劳和视力、力量、协调、平衡、感觉和膀胱和肠道功能的障碍。

[1385] 同样地, MS 现在是一种常见和熟知的神经障碍,其特征是炎症造成的不连续斑块和可能发生在中枢神经系统任何部位的脱髓鞘作用。然而,几乎一直没有任何与之相关的外周神经参与。脱髓鞘造成了类似于包围电线的绝缘体破裂或撕裂所产生的情形。即,当绝缘护套被破坏,电路会“短路”,与之相关的电气设备将间歇性工作或完全不工作。这种包围神经纤维的髓鞘缺失导致脑和脊髓神经传导出现短路,从而产生 MS 症状。人们进一步发现,这种脱髓鞘作用是以斑块的形式出现,而不是沿着整个 CNS 发生。此外,这种脱髓鞘作用可能是间歇性的。因此这种斑块的扩散既有时间性又有空间性。

[1386] 人们相信其致病机理与血脑屏障的局部破损有关,这导致局部的免疫和炎症反应,其结果是损害髓鞘并因此损害神经元。

[1387] 临幊上,男性和女性都可能患 MS,并且可发生在任何年龄。然而,最常发生在相对年轻的成年人身上,且往往伴随单一病灶,如视神经损伤、局部感觉缺失(感觉丧失)、或感觉异常(局部失去感觉)、或肌肉无力。此外,颈部弯曲时可能发生眩晕、复视、局部疼痛、失禁、胳膊和腿疼痛,还有多种不太常见的症状。

[1388] MS 的首次发作常常是暂时的,下次发作可能是在数周、数月或数年后。一些个体的相对情况可能是稳定的,许多年无病症,而其他较不幸的个体可能经历持续的恶化过程,最终完全瘫痪。最常见的是出现一连串的缓解及复发,其中每次复发都使患者比之前严重一些。复发可能是由应激事件、病毒感染或毒素诱发的。其中,体温升高即发烧可以使病情恶化,而体温降低,例如冷水浴可使病情好转。

[1389] 在另一个具体实施方案中,高剂量的 sirtuin 活化化合物可用于治疗神经损伤,包括由疾病造成的损伤、外伤(包括外科手术)、或环境损伤(例如,神经毒素、酒精中毒等)。

[1390] 高剂量的 sirtuin 活化化合物还可以用于预防、治疗和缓解各种外周神经系统障碍的症状。PNS 是由脊髓和 CNS 的传入和传出神经组成的。外周神经处理一系列的机体功能,包括感觉、运动和自律功能。当个体患有外周神经病时,外周神经系统的神经受到损伤。神经损伤由多种原因造成,如疾病、运动损伤、中毒或营养不良。这些因素可以影响传入神经,也可以影响传出神经。根据损伤的原因,神经细胞轴突、其保护性的髓鞘或两者都被损坏或毁掉。

[1391] 术语“外周神经病”涵盖许多种障碍,其中脑和脊髓外部的神经—外周神经遭到破坏。外周神经病也可被称为周围神经炎,如果涉及到很多神经,也可使用术语“多发性神经病或多发性神经炎”。

[1392] 外周神经病普遍存在的障碍,并且存在许多病因。这些病因中某些是常见的,如糖尿病,而其它则是非常少见的,如丙烯酰胺中毒和某些遗传性障碍。在世界范围内,外周神经病最常见的病因是麻风病。麻风病是由攻击被感染人群的外周神经的麻风分枝杆菌引起的。

[1393] 在美国,麻风病非常少见,而糖尿病是最普遍知道的外周神经病的病因。据估计,在美国和欧洲有超过 1700 万人患有与糖尿病有关的多发性神经病。许多神经病是原发性的,尚未发现病因。在美国最常见的遗传性外周神经病是夏科—马里—图思病

(Charcot-Marie-Tooth disease), 大约 125,000 人患有这种疾病。

[1394] 另一种较熟知的外周神经病是格林 - 巴利综合征 (Guillain-Barré syndrome), 它是由与病毒性疾病, 如巨细胞病毒、Epstein-Barr 病毒和人免疫缺陷病毒 (HIV), 或细菌感染, 包括空肠弯曲杆菌 (Campylobacter jejuni) 和莱姆病 (Lyme disease) 相关的并发症引起的。世界范围内的发病率大约是每年每 100,000 人中 1.7 例。其它熟知的外周神经病的病因包括慢性酒精中毒、水痘 - 带状疱疹病毒感染、肉毒杆菌中毒和脊髓灰质炎。外周神经病可能作为原发性症状发展, 也可能由另一种疾病引起的。例如, 外周神经病只是某些疾病的一种症状, 如淀粉样神经病、某些癌症或遗传性神经障碍。这些疾病可能影响外周神经系统和中枢神经系统, 以及其它机体组织。

[1395] Sirtuin 调节化合物能提高 sirtuin 蛋白的水平和 / 或活性, 其它可用 sirtuin 调节化合物治疗的外周神经系统疾病包括: 臂丛神经病 (颈椎和第一胸椎神经后根 (first thoracic roots)、神经干、神经束 (cords) 和臂神经丛的外周神经部分的疾病)。临床表现包括区域性疼痛、感觉异常、肌无力和上肢感觉减退。这些障碍可能与外伤有关, 包括产伤 (birth injuries)、胸廓出口综合征、肿瘤、神经炎、放射疗法和其它情况。参见 Adams 等, *Principles of Neurology*, 6th ed, pp 1351-2)。糖尿病性神经病 (与糖尿病有关的周围神经、自主神经、颅神经障碍)。这些病症通常是由涉及滋养神经的小血管 (神经滋养血管) 的糖尿病性微血管损伤引起的。可能与糖尿病性神经病有关的比较普遍的病症包括动眼神经麻痹; 单神经病; 多发性单神经炎; 糖尿病性肌萎缩; 疼痛性多发性神经病; 自发性神经病; 和胸腹神经病 (参见 Adams 等, *Principles of Neurology*, 6th ed, p 1325); 单神经病 (与独立的单一外周神经相关的, 或不符合弥漫性周围神经功能障碍的特征的疾病或外伤)。多发性单神经炎是指其特征为多个独立的神经损伤的病症。单神经病可能由多种原因造成, 包括缺血、创伤、压迫、连接组织疾病、累积损伤、以及其它病症。神经痛 (按照外周神经或颅神经的分布情况发生的剧痛或酸痛)。外周神经系统肿瘤 (起源于外周神经组织的肿瘤)。其包括神经纤维瘤、神经鞘瘤、颗粒细胞瘤和恶性外周神经鞘膜瘤。参见 DeVita Jr 等, *Cancer: Principles and Practice of Oncology*, 5th ed, pp 1750-1); 神经压迫综合症 (内因或外因造成的对神经或神经根的机械压迫)。这些可能导致神经冲动的传导阻滞, 其原因在于例如髓鞘功能障碍或轴突缺失。神经和神经鞘损伤可能由缺血、炎症或直接的机械作用、神经炎 (表示外周或颅神经炎症的通用术语) 造成。临床表现可能包括疼痛、感觉异常、轻瘫或感觉过敏、多发性神经病 (多个周围神经的疾病)。根据受影响的神经的种类 (例如感觉神经、运动神经或自主神经), 根据神经损伤的分布 (例如末梢的相对于近侧的), 根据受影响的主要神经成分 (例如脱髓鞘相对于轴突的), 根据病因学, 或根据遗传方式对各种形式进行分类。

[1396] 在另一个具体实施方案中, 高剂量的 sirtuin 活化化合物可用于治疗或预防化疗诱发的神经病。高剂量的 sirtuin 活化化合物可在给予化疗药物之前, 给予化疗药物的同时, 和 / 或开始给予化疗药物后给予。如果在开始给予化疗药物后给予高剂量的 sirtuin 活化化合物, 理想的是在化疗诱导的神经病发生前, 或出现最初症状时给予高剂量的 sirtuin 活化化合物。

[1397] 化疗药物可以损伤神经系统的任何部分。幸运的是, 脑病和脊髓病很少见。对外周神经的损伤更为普遍并且可以是患有癌症如淋巴瘤的患者治疗时的副作用。大多数神经

病影响感觉神经而不是运动神经。因此,常见的症状为刺痛感、麻木或丧失平衡。体内最长的神经似乎最敏感,因此据报道大多数患者的情况是他们的手和脚麻木或刺痛。

[1398] 与神经病相关的最普遍化疗药为长春花生物碱(源自一种长春花属植物长春花的抗癌药)和称为顺铂的含铂药物。长春花生物碱类包括药物长春碱、长春新碱和长春地辛。许多用于治疗淋巴瘤的组合化疗,例如 CHOP 和 CVP 含有长春新碱,已知该药物最频繁引起这个问题。事实上,正是神经病的风险限制了长春新碱的可能的给予剂量。

[1399] 已进行的研究显示,使用长春新碱治疗将导致大多数患者的腿部失去一些反射并且许多患者的手指和脚趾会经历某种程度的刺痛(感觉异常)。通常,神经病在治疗刚开始时不会表现出来,而通常是经过数星期时间才出现。在症状第一次发作时不必停药,但是如果神经病发展则可能必须停药。患者向他们的医生报告这些症状是很重要的,因为如果停药,神经损伤很大程度上是可逆的。如果症状轻微,大多数医生通常会减少长春新碱的剂量或换为另外的长春碱类药物如长春碱或长春地辛。偶尔地,支配肠的神经受影响而引起腹痛和便秘。

[1400] 在另一个具体实施方案中,高剂量 sirtuin 活化化合物可以用于治疗或预防聚谷氨酰胺病。亨廷顿病(HD)和 I 型脊椎小脑共济失调(SCA1)仅是由涉及三连体重复序列扩张的动态突变引起的一类遗传性疾病的两个例子。就其通常的机制而言,这些障碍被称为三核苷酸重复疾病。已知至少 14 种这类疾病会影响人类。其中九个包括 SCA1 和亨廷顿病,具有重复序列 CAG (参见以下表 A)。由于 CAG 编码的氨基酸称为谷氨酰胺,这九种三核苷酸重复疾病通称为聚谷氨酰胺病。

[1401] 尽管不同的聚谷氨酰胺病涉及的基因并不相同,但它们引起的障碍经历十分相似的过程。每种疾病是以一组不同神经细胞的渐进性退化为特征的。尽管不一致,这些疾病的主要症状是相似的,并且通常影响中年人。基于症状上的相似性,聚谷氨酰胺病被假设为经过相同的细胞机理而发展。近年来,科学家已在揭示其机理方面取得重大进展。

[1402] 高于一定的阈值,蛋白质中谷氨酰胺重复的数目越多,疾病发作越早并且症状越严重。这表明异常的长谷氨酰胺区导致了它们的宿主蛋白对神经细胞的毒性。

[1403] 为了验证这种假设,科学家已设计出表达具有长聚谷氨酰胺区的蛋白的基因工程小鼠。不管小鼠是否表达全长的蛋白或者仅是含有聚谷氨酰胺区的蛋白的那些部分,它们均产生聚谷氨酰胺病的症状。这表明长聚谷氨酰胺区本身损坏细胞,并非一定是造成损坏的功能蛋白的一部分。

[1404] 例如,据认为 SCA1 的症状不是由正常 ataxin-1 功能的缺失直接引起而是通过 ataxin-1 和另一种称为 LANP 的蛋白之间的相互作用所引起。LANP 对神经细胞相互间信息交换及它们的存活是必需的。当突变的 ataxin-1 蛋白聚积于神经细胞中时,它“捕获”LANP 蛋白,干扰其正常功能。不久,出现 LANP 功能缺失从而引起神经功能失常。

[1405] 表 A. 聚谷氨酰胺病的总结

[1406]

疾病	基因名 称	染色体 定位	遗传模式	蛋白质	正常重 复长度	疾病重 复长度
脊髓延髓 肌萎缩 ( Kennedy 病 )	<i>AR</i>	Xq13-21	与 X 染色 体相连 隐性的	雄性激素 受体	9-36	38-62
亨廷顿病	<i>HD</i>	4p16.3	常染色体 显性	亨廷顿蛋 白	6-35	36-121
齿状核红 核苍白球 路易体萎 缩症 ( HRS 综合征 )	<i>DRPLA</i>	12p13.31	常染色体 显性	atrophin-1	6-35	49-88
脊髓小脑 型共济失 调 1 型	<i>SCA1</i>	6p23	常染色体 显性	ataxin-1	6-44	39-82

[1407]

脊髓小脑 型共济失 调 2 型	SCA2	12q24.1	常染色体 显性	ataxin-2	15-31	36-63
脊髓小脑 型共济失 调 3 型 (马 查多-约瑟 夫病)	SCA3	14q32.1	常染色体 显性	ataxin-3	12-40	55-84
脊髓小脑 型共济失 调 6 型	SCA6	19p13	常染色体 显性	$\alpha$ 1A-电压 依赖性钙 通道亚单 位	4-18	21-33
脊髓小脑 型共济失 调 7 型	SCA7	3p12-13	常染色体 显性	ataxin-7	4-35	37-306
脊髓小脑 型共济失 调 17 型	SCA17	6q27	常染色体 显性	TATA 结 合蛋白	25-42	45-63

[1408] 不同疾病的神经元包涵体(neuronal inclusion)中还发现许多转录因子。可能这些转录因子与含聚谷氨酰胺的蛋白相互作用,然后被捕获至神经元包涵体中。这样反过来可以根据细胞的需要阻止转录因子开启和关闭基因。另一个观察结果是受影响细胞中的组蛋白的低乙酰化。这样就形成假想,已知能增加组蛋白乙酰化的 I/II 型组蛋白去乙酰化酶抑制剂(HDACI/II)可能成为聚谷氨酰胺病的新疗法(美国专利申请 10/476,627;“用脱乙酰酶抑制剂治疗神经退行性、精神和其它障碍的方法”)。

[1409] 在另一个具体实施方案中,本发明提供一种治疗或预防与缺血损伤或疾病相关的神经病的方法,例如,冠心病(包括充血性心力衰竭和心肌梗死)、中风、肺气肿、出血性休克、外周血管疾病(上肢和下肢)以及与移植相关的损伤。

[1410] 在某些具体实施方案中,本发明提供一种治疗中枢神经系统细胞来预防为适应进入细胞的血流减少引起的损伤。可以预防的损伤的严重性通常在很大程度上取决于进入细胞血流的减少程度和减少的持续时间。例如,人类脑灰质的正常灌注量约为 60 至 70mL/100g 脑组织 / 分钟。当血流降至约 8-10mL/100g 脑组织 / 分钟时,通常出现中枢神经系统细胞死亡,当处于略微较高的水平时(即 20-35mL/100g 脑组织 / 分钟),该组织保持存活但是不起作用。在一个具体实施方案中,可以预防凋亡或坏死细胞的死亡。在更具体的实施方案中,缺血介导的损伤如细胞毒性水肿(cytotoxic edema)或中枢神经系统组织低氧血症可以预防。在每个具体实施方案中,中枢神经系统细胞可以为脊髓细胞或脑细胞。

[1411] 另一方面包括向受试者给予高剂量的 sirtuin 活化化合物以治疗中枢神经系统缺血病症。许多中枢神经系统缺血病症可以由本发明所述的 sirtuin 活化化合物来治疗。在一个具体实施方案中, 缺血病症为中风, 其导致任何类型的缺血性中风神经系统损伤, 如凋亡或坏死细胞死亡、细胞毒性水肿或中枢神经系统组织缺氧。中风可以影响大脑的任意区域或由任意通常已知的导致中风发生的病因引起。在该具体实施方案的一个备选方案中, 中风为脑干中风。一般而言, 脑干中风损伤控制无意识的维持生命的功能, 如呼吸、血压和心跳的脑干。在该具体实施方案的另一个备选方案中, 中风为小脑中风。有代表性地, 小脑中风影响控制平衡和协调的小脑区域。在另一个具体实施方案中, 中风为栓塞性中风。概括地, 栓塞性中风可以影响脑的任意区域并且通常因血管闭塞造成的动脉堵塞而引起。在另一个具体实施方案中, 中风可以为出血性中风。和缺血性中风相似, 出血性中风可以影响脑的任意区域并且通常是由以脑内或周围出血(流血)为特征的血管破裂引起。在一个更具体的实施方案中, 中风为血栓性中风。通常, 血栓性中风是由积聚沉积物导致的血管阻塞引起。

[1412] 在另一个具体实施方案中, 缺血性病症可能由发生在患者体内中枢神经系统以外的部分, 但是也引起流入中枢神经系统的血流减少的障碍引起。这些障碍可以包括, 但不局限于外周血管障碍、静脉血栓、肺栓塞、心律失常(例如, 心房颤动)、心肌梗塞、短暂性缺血发作、不稳定性心绞痛或镰状细胞贫血症。并且, 中枢神经系统缺血性病症可能因受试者进行外科手术而引起。例如, 该受试者可能进行心脏手术、肺部手术、脊髓手术、脑部手术、血管手术、腹部手术或器官移植手术。器官移植手术可包括心脏、肺、胰脏、肾或肝脏移植手术。并且, 中枢神经系统缺血性病症可能因患者体内中枢神经系统之外的部分的外伤或损伤而引起。例如, 外伤或损伤可能引起一定程度的出血, 其可显著减少受试者体内血液总量。因为这样的血液总量减少, 流向中枢神经系统的血流量随之减少。例如, 该外伤或损伤也可以导致形成限制血流流入中枢神经系统的血管闭塞。

[1413] 当然, 预期高剂量的 sirtuin 活化化合物可以用于治疗中枢神经系统缺血性病症, 而不考虑病症的起因。在一个具体实施方案中, 缺血性病症是由血管闭塞引起的。血管闭塞可以是任意类型的闭塞, 但是通常为脑血栓或栓塞。在一个更具体的实施方案中, 缺血性病症可能由出血引起。出血可以是任意类型的出血, 但是通常为脑出血或蛛网膜下腔(subarachnoid hemorrhage)出血。在另一个具体实施方案中, 缺血性病症可以由血管狭窄引起。一般而言, 血管因血管收缩而狭窄, 如在血管痉挛期间或由于动脉硬化而发生。在另一个具体实施方案中, 缺血性病症由脑或脊髓损伤引起。

[1414] 另一方面, 可以给予高剂量 sirtuin 活化化合物以减小患中枢神经系统缺血性病症后的缺血中心的梗塞尺寸。此外, 也可以给予高剂量的 sirtuin 活化化合物以有效地减小患中枢神经系统缺血性病症后的缺血半暗带或过渡带的尺寸。

[1415] 在一个具体实施方案中, 组合给药方案可以包括用于治疗或预防神经退行性障碍或与这些病症相关的继发病症的药物或化合物。因此, 组合给药方案包括一种或多种高剂量的 sirtuin 活化剂以及一种或多种抗神经退行性药物。例如, 一种或多种 sirtuin 活化化合物可以一种或多种有效量的药物组合, 所述药物为 L-DOPA; 多巴胺激动剂; 腺苷 A<sub>2A</sub> 受体拮抗剂; COMT 抑制剂; MAO 抑制剂; N-NOS 抑制剂; 钠通道拮抗剂; 选择性 N- 甲基-D- 天冬氨酸(NMDA) 受体拮抗剂; AMPA / 红藻氨酸受体拮抗剂; 钙通道拮抗剂; GABA-A 受体激

动剂；乙酰胆碱酯酶抑制剂；基质金属蛋白酶抑制剂；PARP 抑制剂；p38MAP 激酶抑制剂或 c-jun-N- 氨基末端激酶；TPA；NDA 拮抗剂； $\beta$ -干扰素；生长因子；谷氨酸抑制剂和 / 或作为细胞治疗的部分。



基-吡咯烷-3-基-氧代)-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[2-甲氧基-4-(2-甲基-2-氮杂双环[2.2.1]庚烷-5-基-氧代)-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[2-甲氧基-4-(1-甲基-哌啶-4-基-氧代)-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[4-(1-乙基-哌啶-4-基-氧代)-2-甲氧基-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[5-烯丙基-2-甲氧基-4-(1-甲基-吡咯烷-3-基-氧代)-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[4-(2-二甲氨基-乙氧基)-2,6-二甲基-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[2,6-二甲基-4-(3-哌啶-1-基-丙氧基)-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[2,6-二甲基-4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[2,6-二甲基-4-(2-吗啉基-4-基-乙氧基)-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[4-[2-(苄基-甲基-氨基)-乙氧基]-2,6-二甲基-苯基]-吡啶-2-基-胺,2-[4-(6-氨基-吡啶-2-基)-3,5-二甲基-苯氧基]-乙酰胺6-[4-(2-氨基-乙氧基)-2,6-二甲基-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[2-异丙基-4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯基]-吡啶-2-基-胺,2-(2,5-二甲基-吡咯烷-1-基)-6-[2-异丙基-4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯基]-吡啶-6-[4-[2-(3,5-二甲基-哌啶-1-基)-乙氧基]-2-异丙基-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[4-(2-二甲氨基-乙氧基)-2-异丙基-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[2-叔丁基-4-(2-二甲氨基-乙氧基)-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[2-叔丁基-4-(2-吡咯烷-1-基-乙氧基)-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[4-(2-吡咯烷-乙氧基)-2,5-二甲基-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[4-(2-(4-苯乙基哌嗪-1-基)-乙氧基)-2,5-二甲基-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[2-环丙基-4-(2-二甲氨基-1-甲基-乙氧基)-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[4-(烯丙氧基)-2-环丁基-苯基]-吡啶-2-基-胺,2-烯丙基-4-(6-氨基-吡啶-2-基)-3-环丁基-苯酚和2-烯丙基-4-(6-氨基-吡啶-2-基)-5-环丁基-苯酚4-(6-氨基-吡啶-2-基)-5-环丁基-2-丙基-苯酚4-(6-氨基-吡啶-2-基)-3-环丁基-2-丙基-苯酚6-[2-环丁基-4-(2-二甲氨基-1-甲基-乙氧基)-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[2-环丁基-4-(2-二甲氨基-1-甲基-乙氧基)-3-丙基-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[2-环丁基-4-(2-二甲氨基-乙氧基)-5-丙基-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[2-环丁基-4-(2-二甲氨基-乙氧基)-3-丙基-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[2-环丁基-4-(1-甲基-吡咯烷-3-基-氧代)-5-丙基-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[环丁基-4-(1-甲基-吡咯烷-3-基-氧代)-3-丙基-苯基]-吡啶-2-基-胺,2-(4-苄基氧代-5-羟基-2-甲氧基-苯基)-6-(2,5-二甲基-吡咯-1-基)-吡啶6-[4-(2-二甲氨基-乙氧基)-5-乙氧基-2-甲氧基-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[5-乙基-2-甲氧基-4-(1-甲基-哌啶-4-基-氧代)-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[5-乙基-2-甲氧基-4-(哌啶-4-基-氧代)-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[2,5-二甲氧基-4-(1-甲基-吡咯烷-3-基-氧代)-苯基]-吡啶-2-基-胺,6-[4-(2-二甲氨基-乙氧基)-5-乙基-2-甲氧基-苯基]-吡啶-2-基-胺。

[1417] 示例性的 NMDA 受体拮抗剂包括:(+)-(1S, 2S)-1-(4-羟基-苯基)-2-(4-羟基-4-苯基哌啶)-1-丙醇,(1S, 2S)-1-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-2-(4-羟基-4-苯基哌啶基)-1-丙醇,(3R, 4S)-3-(4-(4-氟苯基)-4-羟基哌啶-1-基)-苯并二氢吡喃-4, 7-二醇,(1R\*, 2R\*)-1-(4-羟基-3-甲基苯基)-2-(4-(4-氟-苯基)-4-羟基哌啶-1-基)-丙

烷-1-醇-甲磺酸酯或其药学上可接受的酸加成盐。

[1418] 示例性的多巴胺激动剂包括罗匹尼罗(ropinirole);L-多巴脱羧酶抑制剂,如卡比多巴或苄丝肼、溴隐亭、二氢麦角隐亭、乙舒麦角、AF-14、alaptide、培高利特、吡贝地尔;多巴胺D1受体激动剂,如A-68939、A-77636、dihydrexine和SKF-38393;多巴胺D2受体激动剂,如卡麦角林、利舒脲、N-0434、那高利特、PD-118440、普拉克索、喹吡罗和罗匹尼罗;多巴胺/ $\beta$ -肾上腺素受体激动剂,如DPDMS和多培沙明;多巴胺/5-HT摄取抑制剂/5-HT-1A激动剂,如罗克吲哚;多巴胺/阿片受体激动剂,如NIH-10494; $\alpha$ 2-肾上腺素拮抗剂/多巴胺激动剂,如特麦角脲; $\alpha$ 2-肾上腺素拮抗剂/多巴胺D2激动剂,如麦角碱类(ergolines)和他利克索;多巴胺摄取抑制剂,如GBR-12909、GBR-13069、GYKI-52895和NS-2141;单胺氧化酶-B抑制剂,如司来吉兰、N-(2-丁基)-N-甲基炔丙基胺、N-甲基-N-(2-戊基)炔丙基胺、AGN-1133、麦角碱衍生物、拉扎贝胺、LU-53439、MD-280040和莫非吉兰;和COMT抑制剂,如CGP-28014。

[1419] 示例性的乙酰胆碱酯酶抑制剂包括多奈哌齐、1-(2-甲基-1H-苯并咪唑-5-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(2-甲基-1H-苯并咪唑-5-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(1-乙基-2-甲基-1H-苯并咪唑-5-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(2-甲基-6-苯并噻唑基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(2-甲基-6-苯并噻唑基)-3-[1-(2-甲基-4-噻唑基)甲基]-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(5-甲基-苯并[b]噻吩-2-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(6-甲基-苯并[b]噻吩-2-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(3,5-二甲基-苯并[b]噻吩-2-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(苯并[b]噻吩-2-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(苯并呋喃-2-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(1-苯磺酰基-6-甲基-吲哚-2-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(1-苯磺酰基-5-氨基-吲哚-2-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(5-氨基-吲哚-2-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;以及1-(5-乙酰氨基-吲哚-2-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮。1-(6-喹啉基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(5-吲哚基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(5-苯并噻吩)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(6-喹唑啉基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(5-苯并呋喃基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(5-甲基-苯并咪唑-2-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(5-甲基-苯并咪唑-2-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(6-甲基-苯并咪唑-2-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(5-氯-苯并[b]噻吩-2-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(6-氮杂苯并[b]噻吩-2-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(1H-2-氧代-吡咯[2',3',5,6]苯并[b]噻吩-2-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(6-甲基-苯并噻唑-2-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(6-甲氧基-吲哚-2-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(6-乙酰氨基-苯并[b]噻吩-2-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(5-乙酰氨基-苯并[b]噻吩-2-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;1-(5-乙酰氨基-苯并[b]噻吩-2-基)-3-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]-1-丙酮;

基]-1-丙酮；6-羟基-3-[2-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]乙基]-1,2-苯并异噁唑；5-甲基-3-[2-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]乙基]-1,2-苯并异噁唑；6-甲氧基-3-[2-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]乙基]-1,2-苯并异噁唑；6-乙酰胺基-3-[2-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]乙基]-1,2-苯并异噁唑；6-(4-吗啉基)-3-[2-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]乙基]-1,2-苯并异噁唑；5,7-二氢-3-[2-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]乙基]-6H-吡咯[4,5-f]-1,2-苯并异噁唑-6-酮；3-[2-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]乙基]-1,2-苯并异噁唑；3-[2-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]乙基]-1,2-苯并异噁唑；6-苯基氨基-3-[2-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]乙基]-1,2-苯并异噁唑；6-(2-噻唑基)-3-[2-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]乙基]-1,2-苯并异噁唑；6-(2-噁唑基)-3-[2-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]乙基]-1,2-苯并异噁唑；6-吡咯烷基-3-[2-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]乙基]-1,2-苯并异噁唑；5,7-二氢-5,5-二甲基-3-[2-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]乙基]-6H-吡咯[4,5-f]-1,2-苯并异噁唑-6-酮；6,8-二氢-3-[2-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]乙基]-7H-吡咯[5,4-g]-1,2-苯并异噁唑-7-酮；3-[2-[1-(苯甲基)-4-哌啶基]乙基]-5,6,8-三氢-7H-异噁唑[4,5-g]-喹啉-7-酮；1-苄基-4-((5,6-二甲氧基-1-吲满酮)-2-基)甲基哌啶；1-苄基-4-((5,6-二甲氧基-1-吲满酮)-2-ylidenyl)甲基哌啶，1-苄基-4-((5-甲氧基-1-吲满酮)-2-基)甲基哌啶，1-苄基-4-((5,6-二乙氧基-1-吲满酮)-2-基)甲基哌啶，1-苄基-4-((5,6-亚甲二氧基-1-吲满酮)-2-基)甲基哌啶，1-(间硝基苄基)-4-((5,6-二甲氧基-1-吲满酮)-2-基)甲基哌啶，1-环己基甲基-4-((5,6-二甲氧基-1-吲满酮)-2-基)甲基哌啶，1-(间氟苄基)-4-((5,6-二甲氧基-1-吲满酮)-2-基)甲基哌啶，1-苄基-4-((5,6-二甲氧基-1-吲满酮)-2-基)丙基哌啶和1-苄基-4-((5-异丙氧基-6-甲氧基-1-吲满酮)-2-基)甲基哌啶。

[1420] 示例性的钙通道拮抗剂包括地尔硫<sup>葲</sup>、 $\omega$ -芋螺毒素 GVIA、甲氧基维拉帕米、氨氯地平、非洛地平、拉西地平和米贝地尔。

[1421] 示例性的GABA-A受体调节剂包括：氯美噻唑；IDDB；加波沙朵(4,5,6,7-四氢异噁唑[5,4-c]吡啶-3-醇)；加奈索酮(3 $\alpha$ -羟基-3 $\beta$ -甲基-5 $\alpha$ -孕(甾)烷-20-酮)；酚加宾(2-[(丁基亚氨)-(2-氯苯基)甲基]-4-氯苯酚)；2-(4-甲氧基苯基)-2,5,6,7,8,9-六氢-吡唑[4,3-c]噌啉-3-酮；7-环丁基-6-(2-甲基-2H-1,2,4-三唑-3-基甲氧基)-3-苯基-1,2,4-三唑[4,3-b]哒嗪；(3-氟-4-甲基苯基)-N-({1-[(2-甲基苯基)甲基]-苯并咪唑-2-基}甲基)-N-戊基甲酰胺；和3-(氨基甲基)-5-甲基己酸。

[1422] 示例性的钾通道开放剂包括：二氮嗪、氟吡啶、吡那地尔、左旋克罗卡林、利马卡林、克洛卡林(chromakalim)、PCO-400和SKP-450(2-[2"(1",3"-二氧杂环戊二烯酮)-2-甲基]-4-(2'-氧代-1'-吡咯烷基)-6-硝基-2H-1-苯并吡喃)。

[1423] 示例性的AMPA/红藻氨酸受体拮抗剂包括6-氰基-7-硝基喹喔啉-2,3-二-酮(CNQX)；6-硝基-7-氨磺酰基苯并[f]喹喔啉-2,3-二酮(NBQX)；6,7-二硝基喹喔啉-2,3-二酮(DNQX)；1-(4-氨基苯基)-4-甲基-7,8-亚甲基二氧-5H-2,3-苯并二氮<sup>葲</sup>盐酸盐；和2,3-二羟基-6-硝基-7-氨磺酰基苯并-[f]喹喔啉。

[1424] 示例性的钠通道拮抗剂包括阿义马林、普鲁卡因胺、氟卡尼(flecainide)和利鲁唑。

[1425] 示例性的基质金属蛋白酶抑制剂包括 4-[4-(4-氟苯氧基)苯磺酰基氨基]四氢吡喃-4-羧酸羟胺;5-甲基-5-(4-(4'-氟苯氧基)-苯氧基)-嘧啶-2,4,6-三酮;5-正丁基-5-(4-(4'-氟苯氧基)-苯氧基)-嘧啶-2,4,6-三酮和普利司他。

[1426] 聚 ADP 核糖聚合酶(PARP)是一种含量丰富的核酶,其通过单链 DNA 断裂来激活,并由 NAD 合成的聚 ADP 核糖。在正常情况下,通过核内 DNA 修复酶的活化和募集,PARP 参与由氧化应激引起的碱基切除修复。因此,PARP 在细胞坏死和 DNA 修复中起着重要作用。PARP 还参与介导炎症的细胞因子表达的调节。在 DNA 过度损伤的情况下(如急性的且过多暴露于病理损伤之下),PARP 被过度激活,引起以 NAD 损耗为特征的基于细胞的能量衰竭并导致 ATP 消耗、细胞坏死、组织损伤和器官损伤 / 衰竭。PARP 被认为能促进神经退行,这是通过消耗烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD<sup>+</sup>),进而减少三磷酸腺苷(ATP;Cosi 和 Marien, Ann. N. Y. Acad. Sci, 890:227, 1999)引起细胞死亡,这一过程可以通过 PARP 抑制剂而预防。示例性的 PARP 抑制剂可在 Southan 和 Szabo, Current Medicinal Chemistry, 10:321, 2003 中找到。

[1427] 示例性的 p38 MAP 激酶和 c-jun- 氮末端激酶抑制剂包括吡啶基咪唑,如 PD 169316、PD 169316 的同分异构体、SB 203580、SB 202190、SB 220026 和 RWJ 67657。其它的在美国专利 6,288,089 中记载且引入本发明作为参考。

[1428] 在一个示例性的具体实施方案中,用于治疗或预防 MS 的组合治疗包括一种或多种高剂量 sirtuin 活化化合物和一种或多种 **Avonex<sup>®</sup>**(干扰素  $\beta$ -1a)、**Tysabri<sup>®</sup>**(那他珠单抗)或**Fumaderm<sup>®</sup>**(BG-12 / 口服富马酸盐)。

[1429] 在另一个具体实施方案中,用于治疗或预防糖尿病性神经病或与之相关的病症的组合治疗包括一种或多种高剂量 sirtuin 活化化合物和一种或多种三环类抗抑郁药(TCAs)(包括,例如,丙咪嗪、阿米替林、地昔帕明和去甲替林)、5-羟色胺再摄取抑制剂(SSRIs)(包括,例如氟西汀、帕罗西汀、舍曲林(sertralene)和西酞普兰)和抗癫痫药(AEDs)(包括例如,加巴喷丁、卡马西平和托吡酯)。

[1430] 在另一个具体实施方案中,本发明提供一种使用一种或多种高剂量 sirtuin 活化化合物和至少一种 HDAC I/II 抑制剂的组合用来治疗或预防多聚谷氨酰胺病的方法。HDAC I/II 抑制剂的例子包括异羟肟酸、环肽、苯甲酰胺、短链脂肪酸和 depudecin。

[1431] 异羟肟酸和异羟肟酸衍生物的例子包括但不限于,曲古霉素 A (TSA)、辛二酰苯胺异羟肟酸(suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA)、oxamflatin、辛二基二异羟肟酸(suberic bishydroxamic acid, SBHA)、间-羧基-肉桂酸二异羟肟酸(CBHA)、丙戊酸和 pyroxamide。TSA 被作为一种抗真菌抗生素分离得到(Tsuji 等 (1976) J. Antibiot (Tokyo) 29:1-6) 并被发现是一种有效的哺乳动物 HDAC 抑制剂(Yoshida 等. (1990) J. Biol. Chem. 265:17174-17179)。抗 TSA 细胞系的发现改变了对 HDAC 的认识,即该酶是 TSA 的重要靶点。其它的基于异羟肟酸的 HDAC 抑制剂, SAHA、SBHA 和 CBHA 是能够在体外或体内以微摩尔或更低浓度抑制 HDAC 的合成化合物。Glick 等 (1999) Cancer Res. 59:4392-4399。这些基于异羟肟酸的 HDAC 抑制剂都具有基本的结构特征:极性羟肟末

端通过疏水性亚甲基间隔(例如,长度为6个碳)连接到另一个极性位点,该极性位点与末端疏水部分(例如,苯环)相连。已开发的具有这些基本特征的化合物也属于可用作HDAC抑制剂的异羟肟酸的范围。

[1432] 用作HDAC抑制剂的环肽主要为环状四肽。环肽的例子包括,但不局限于,trapoxin A、apicidin 和酯肽。Trapoxin A 是含有2-氨基-8-氧代-9,10-环氧-癸酰基(AOE)片段的环状四肽。Kijima 等. (1993) J. Biol. Chem. 268:22429-22435。Apicidin 为显示出强效、宽谱抗原生动物活性并在纳摩尔浓度下抑制HDAC活性的真菌代谢物。Darkin-Rattray 等. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 93:13143-13147。酯肽是从青紫色素杆菌中分离的并已在微摩尔浓度下显示出抑制HDAC的活性。

[1433] 苯甲酰胺的例子包括但不局限于MS-27-275。Saito 等, (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 96:4592-4597。短链脂肪酸的例子包括,但不局限于丁酸盐类(例如丁酸、精氨酸丁酸盐和苯基丁酸盐(PB))。Newmark 等, (1994) Cancer Lett. 78:1-5; 和 Carducci 等. (1997) Anticancer Res. 17:3972-3973。另外,已显示出在微摩尔浓度下抑制HDAC的depudecin (Kwon 等. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 95:3356-3361) 也属于本发明所述的组蛋白去乙酰化酶抑制剂的范围。

#### [1434] 凝血功能障碍

[1435] 在其它方面,高剂量 sirtuin 活化化合物可以用于治疗或预防凝血障碍(或止血障碍)。本发明可互换使用的术语“止血”、“凝血”和“血液凝固”是指控制流血,包括血管收缩和凝固的生理学特征。凝血帮助哺乳动物在外伤、炎症、疾病、先天性缺陷、机能障碍或其它破坏后保持血液循环的完整性。开始凝血后,凝血是通过某些血浆酶原被连续活化成它们的酶的形式来进行的(参见例如, Coleman, R. W. 等 (eds.) Hemostasis and Thrombosis, Second Edition, (1987))。这些包括因子 XII、因子 XI、因子 IX、因子 X、因子 VII 的血浆糖蛋白和凝血酶原是丝氨酸蛋白酶的酶原。绝大多数这些凝血酶仅在以生理学上的比例与蛋白辅助因子如因子 VIII 和因子 V 在膜表面组装成复合物时才是有效的。其它血液因子调节和定位血液凝块的形成或溶解血液凝块。活化的 C 蛋白是一种灭活促凝血成分的特殊的酶。钙离子参与与许多成分的反应。血液凝固遵循内源性途径,其中所有的蛋白成分存在于血液中,或者外源性途径,其中细胞膜蛋白组织因子具有重要作用。当纤维蛋白原被凝血酶裂解形成纤维蛋白时出现血液凝块。

[1436] 更进一步地,血液凝块的形成不仅限制外伤情况下的出血(止血),而且可能导致在患有由重要的动脉或静脉闭塞导致动脉粥样硬化病时严重的器官损伤和死亡。因此血栓症是在错误的时间和地点形成了血液凝块。它包括一连串循环血蛋白(凝血因子)、血细胞(尤其是血小板)和受损的血管壁之间的复杂并且被调节的生化反应。

[1437] 因此,本发明提供旨在抑制血液凝块形成的抗凝血和抗血栓性治疗以预防或治疗凝血障碍,如心肌梗塞、中风、由外周动脉疾病或肺栓塞引起的肢体损伤。

[1438] 在本发明可以互换应用的“止血调整(modulating 或 modulation)”和“止血的调节(regulating 或 regulation)”包括止血的诱导(例如刺激或增加),以及止血的抑制(例如,减少或降低)。

[1439] 一方面,本发明提供一种通过向受试者给予高剂量 sirtuin 活化化合物减少或抑制止血的方法。本发明描述的组合物和方法有效用于治疗或预防血栓性障碍。本发明应

用的术语“血栓性障碍”包括任何以过多或不需要的凝固或止血活性,或高凝状态为特征的障碍或病症。血栓性障碍包括涉及血小板粘附和血栓形成的疾病或障碍,并且可以表现为形成血栓的倾向升高,例如血栓数量增加、早期血栓症、形成血栓的家族倾向和异常位点的血栓症。血栓性障碍的例子包括,但不局限于血栓栓塞、深静脉血栓、肺栓塞、中风、心肌梗塞、流产、与抗凝血酶 III 缺乏相关的血栓形成倾向、C 蛋白缺乏、S 蛋白缺乏、抵抗活化的 C 蛋白、血纤维蛋白原异常、纤维蛋白溶解障碍、高胱氨酸尿症、妊娠、炎症障碍、骨髓增生性障碍、动脉硬化、心绞痛,例如不稳定性心绞痛、弥散性血管内凝血、血栓性血小板减少性紫癜、癌症转移、镰状细胞病、肾小球肾炎和药物诱导的血小板减少症(包括,例如肝素诱导的血小板减少症)。另外,可以给予高剂量 sirtuin 活化化合物以防止血栓问题或防止治疗性血块溶解或如血管成型术或外科手术过程中或之后再闭合。

[1440] 在另一个具体实施方案中,组合给药方案可以包括用于治疗或预防凝血障碍或与这些病症相关的次级病症的药物或化合物。因此,组合给药方案可以包括一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物和一种或多种抗凝血或抗血栓药物。例如,一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可以与一种或多种有效量的下列药物组合:阿司匹林、肝素和抑制维生素 K 依赖因子的口服华法林、抑制因子 X 和 II 的低分子量肝素、凝血酶抑制剂、血小板 GP IIbIIIa 受体抑制剂、组织因子(TF)抑制剂、人血管性血友病因子抑制剂、有关止血的一个或多个因子的抑制剂(特别在凝血级联中)。另外,一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可以与溶解血栓药组合,如 t-PA、链激酶、立止血、TNK-t-PA 和葡激酶。

#### [1441] 炎性疾病

[1442] 在其它方面,一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可用于治疗或预防与炎症有关的疾病和障碍。一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可在炎症发作之前、之时或者开始之后给予。当预防性使用时,优选在任何炎性反应或症状之前提供化合物。给予高剂量的 sirtuin 活化化合物可以预防或消弱炎性反应或症状。

[1443] 示例性的炎性病症包括例如多发性硬化病、风湿性关节炎、银屑病关节炎、退化性关节病、脊柱关节病(spondyloarthropathies)、痛风性关节炎、系统性红斑狼疮、幼年型关节炎、风湿性关节炎、骨关节炎、骨质疏松症、糖尿病(例如,胰岛素依赖性或幼发型糖尿病)、痛经、囊肿性纤维化、炎症性肠病、肠易激综合征、克罗恩病(Crohn's disease)、粘液性结肠炎、溃疡性结肠炎、胃炎、食道炎、胰腺炎、腹膜炎、阿尔茨海默氏病、休克、僵直性脊椎炎、胃炎、结膜炎、胰腺炎(pancreatitis)(急性或慢性)、多器官损伤综合征(例如,续发于败血症或外伤)、心肌梗塞、动脉硬化症、中风、再灌注损伤(例如由于体外循环或肾脏透析)、急性肾小球肾炎、脉管炎、热损伤(即晒伤)、坏死性小肠结肠炎、粒细胞输血相关综合征(granulocyte transfusion associated syndrome)和/或干燥综合征(Sjogren's syndrome)。示例性的皮肤炎性病症包括例如湿疹、特应性皮炎、接触性皮炎、荨麻疹、硬皮病、银屑病以及与急性炎性成分有关的皮肤病。

[1444] 在另一个具体实施方案中,一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可用于治疗或预防过敏和呼吸病症,包括哮喘、支气管炎、肺纤维化、过敏性鼻炎、氧中毒、肺气肿、慢性支气管炎、急性呼吸窘迫综合征以及任何慢性阻塞性肺疾病(COPD)。一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可用于治疗慢性肝炎感染,包括乙肝和丙肝。

[1445] 此外,一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可用于治疗自身免疫性疾病和/

或与自身免疫相关的炎症,如器官一组织自身免疫疾病(例如,雷诺氏综合征(Raynaud's syndrome))、硬皮病、重症肌无力、移植排斥、内毒素休克、败血症、银屑病、湿疹、皮炎、多发性硬化病、自身免疫性甲状腺炎、葡萄膜炎、系统性红斑狼疮、阿狄森氏病、自身免疫性多腺体病(还已知为自身免疫性多腺体综合征)以及Grave氏病。

[1446] 在某些具体实施方案中,一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可以单独服用或者与其它有效用于治疗或预防炎症的化合物组合服用。示例性的抗炎药物包括,例如甾体(例如,氢化可的松、可的松、氟氢可的松、强的松、6 $\alpha$ -甲基强的松、去炎松、倍他米松或地塞米松)和非甾体抗炎药(NSAIDS)(例如阿斯匹林、对乙酰氨基酚、痛灭定、布洛芬、甲芬那酸、呲罗昔康、萘丁美酮、罗非昔布、塞来昔布、依托度酸或尼美舒利)。在另一个具体实施方案中,其它治疗剂为抗生素(例如万古霉素、青霉素、阿莫西林、氨苄青霉素、头孢噻肟、头孢三嗪、头孢克肟、rifampinmetronidazole、强力霉素或链霉素)。在另一个具体实施方案中,其它治疗剂为PDE4抑制剂(例如罗氟司特或洛利普南(rolipram))。在另一个具体实施方案中,其它治疗剂为抗组胺剂(例如,苯甲嗪、羟嗪、异丙嗪或苯海拉明)。在另一个具体实施方案中,其它治疗剂为抗疟药(例如青蒿素、蒿甲醚、青蒿琥酯(artsunate)、磷酸氯喹、盐酸甲氟喹、盐酸多西环素、盐酸氯胍、阿托伐醌(atovaquone)或卤泛群)。在一个具体实施方案中,其它治疗剂为 drotrecogin alfa。

[1447] 抗炎剂的其它例子包括例如醋氯芬酸、阿西美辛、e-乙酰胺基己酸(e-acetamidocaproic acid)、对乙酰氨基酚、醋胺沙罗、乙酰苯胺、乙酰水杨酸、S-腺甘甲硫氨酸、阿氯芬酸、阿氯米松、阿芬太尼、阿尔孕酮、烯丙罗定、阿明洛芬、阿洛普令、阿法罗定、双(乙酰水杨酸)铝、安西奈德、氨芬酸、aminochlorthenoxazin、3-氨基-4-羟基丁酸、2-氨基-4-皮考啉、aminopropylon、氨基比林、阿米曲林、水杨酸铵、安吡昔康、呱氨托美丁、氨苄哌替啶、安替比林、安拉非宁、阿扎丙宗、倍氯米松、苄达酸、扑炎痛、苯噁洛芬、benzpiperylon、苄达明、苄吗啡、柏莫洛芬、倍他米松、倍他米松-17-戊酸酯、苯睛米特、 $\alpha$ -没药醇、溴芬酸、对-溴乙酰苯胺、5-溴水杨酸乙酯、溴水杨醇、布西丁、布氯酸、布可隆、布地奈德、丁苯羟酸、丁丙二苯肼、丁丙诺啡、布他西丁、布替布芬、布托啡诺、卡马西平、卡比芬、卡洛芬、卡沙兰、氯丁醇、氯泼尼松、chlorthenoxazin、水杨酸胆碱、辛可芬、桂美辛、西拉马朵、环氯茚酸、氯倍他索、氯可托龙、氯美辛、氯尼他秦、氯尼辛、氯吡酸、氯泼尼醇、丁香(clove)、可待因、甲基溴可待因、磷酸可待因、硫酸可待因、可的松、可的伐唑、克罗丙胺、克罗乙胺、环唑辛、地夫可特、去氢睾酮、地索吗啡、地索奈德、去羟米松、地塞米松、地塞米松-21-异烟酸酯、右奥沙屈(dexoxadrol)、右吗拉胺、右丙氧芬、脱氧皮质酮、地佐辛、地恩丙胺、diamorphine、双氯芬酸、二苯咪唑、联苯吡胺、双氟拉松、双氟可龙、二氟尼柳、二氟孕甾丁酯、双氢可待因、二氢可待因酮烯醇乙酯(dihydrocodeinone enol acetate)、双氢吗啡、二羟基乙酰水杨酸铝、地美沙朵、地美庚醇、二甲噻丁、吗苯丁酯、地匹哌酮、地匹乙酯(diprocetyl)、安乃近(dipyrone)、地他唑(ditazol)、屈噁昔康、依莫法宗、恩芬那酸(enfenamic acid)、甘草次酸、依匹唑、依他佐辛、依特柳酯、乙水杨胺、依索庚嗪、依托沙秦、乙甲噻丁(ethylmethylthiambutene)、乙基吗啉、依托度酸、依托芬那酯、依托尼秦、丁香酚、联苯乙酸、芬布芬、芬克洛酸、芬度柳、非诺洛芬、芬太尼、芬替酸、非普地醇、非普拉宗(feprazone)、夫洛非宁、氟扎可特、氟氯奈德、氟芬那酸(flufenamic acid)、氟美松、氟尼缩松、氟尼辛、氟诺洛芬、醋酸氟轻松(fluocinolone acetonide)、醋酸氟轻松

(fluocinonide)、醋酸氟轻松(fluocinolone acetonide)、氟可丁(fluocortin butyl)、氟可龙、氟苯乙砜、氟米龙、氟培龙、氟吡啶、氟泼尼定、氟泼尼龙、氟丙喹宗、氟氢缩松、氟比洛芬、氟替卡松、福莫可他、膦柳酸、龙胆酸、格拉非宁、葡美辛、水杨酸乙二醇酯、愈创蓝油烃、哈西奈德、卤倍他索、卤米松、卤泼尼松、海洛因、氢可酮、氢可他酯、氢化可的松、醋酸氢化可的松、氢化可的松琥珀酸酯、氢化可的松半琥珀酸酯、氢化可的松 21- 赖氨酸酯、氢化可的松环戊丙酸酯(hydrocortisone cypionate)、氢化吗啡酮、羟基哌替啶、异丁芬酸、布洛芬、异丁普生、水杨酸咪唑、吲哚美辛、吲哚洛芬、三苯唑酸、异氟泼尼松、醋酸异氟泼尼松、isoladol、异美沙酮、异尼辛、伊索克酸、伊索昔康、凯托米酮、酮洛芬、酮咯酸、乳酰氨基苯 (-P-) 乙醚(p-lactophenetide)、利非他明、左洛啡烷、左啡诺、左旋吗啡、左旋吗泛(levophenacyl-morphan)、洛芬太尼、氯那唑酸、氯诺昔康、洛索洛芬、赖氨匹林(lysine acetylsalicylate)、马泼尼酮、甲氯芬那酸、甲羟松、甲灭酸、美洛昔康、哌替啶、甲泼尼松、美普他酚、美沙拉嗪、美他佐辛、美沙酮、左美丙嗪、甲基泼尼松龙、醋酸甲基泼尼松龙、甲泼尼龙琥珀酸钠、磺庚甲泼尼龙、甲嗪酸、甲氧夫啉、美托酮、莫非布宗、莫苯唑酸、莫米松、吗拉宗、吗啡、盐酸吗啡、吗啡硫酸酯、吗啡水杨酸酯、麦罗啡、萘丁美酮、纳布啡、丙烯吗啡、1- 萘基水杨酸酯、奈普生、那碎因、奈福泮、尼可吗啡、尼芬那宗、尼氟灭酸(niflumic acid)、尼美舒利、5' - 硝基 -2' - 丙氧基乙酰苯胺、去甲左啡诺、去甲美沙酮、去甲吗啡、诺匹哌酮、奥沙拉嗪、阿片、奥沙西罗、奥沙美辛、奥沙普秦、羟考酮、羟吗啡酮(oxymorphone)、羟布宗、阿片全碱、帕拉米松、瑞尼托林、帕沙米特、喷他佐辛、哌立索唑、非那西丁、苯吗庚酮、非那佐辛、盐酸非那吡啶、非诺可、苯哌利定、非诺哌酮、非诺啡烷、乙酰水杨酸苯酯、保泰松、水杨酸苯酯、非尼拉朵、吡酮洛芬、匹米诺定、哌布宗、哌立酮、吡拉唑酸、哌腈米特、吡罗昔康、吡洛芬、普拉洛芬、泼尼卡酯、强的松龙、强的松、prednival、泼尼立定、丙谷美辛、普罗庚嗪、三甲利定、丙帕他莫、丙哌利定、丙吡兰、右丙氧芬、异丙安替比林、普罗喹宗、丙替嗪酸、普罗沙唑、雷米那酮、瑞芬太尼、甲硫利马唑、醋水杨胺、水杨苷(salicin)、水杨酰胺、水杨酰胺 0- 乙酸、水杨酸、水杨酸硫酸酯(salicylsulfuric acid)、双水杨酯、沙维林、西美曲特、舒芬太尼、柳氮磺嘧啶、舒林酸、超氧化物歧化酶、舒洛芬、琥布宗、他尼氟酯、替尼达普、替诺昔康、特罗芬那酯、粉防己碱、thiazolinobutazone、噻洛芬酸、噻拉米特、替利定、替诺立定、替可的松、托芬那酸、痛灭定、曲马多、曲安西龙(triamcinolone)、曲安奈德(triamcinolone acetonide)、tropesin、维米醇、联苯丁酸、希莫洛芬、扎托洛芬和佐美酸。

[1448] 在一个示例性的具体实施方案中, 一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可以与选择性的 COX-2 抑制剂一起给予用于治疗或预防炎症。示例性的选择性 COX-2 抑制剂包括, 例如德拉昔布、帕瑞昔布、塞来昔布、戊地昔布、罗非昔布、依他昔布、氯美昔布、2-(3, 5- 二氟苯基)-3-[4-( 甲基磺酰基) 苯基]-2- 环戊烯-1- 酮、(S)-6, 8- 二氯-2-( 三氟甲基)-2H-1- 苯并吡喃-3- 甲酸、2-(3, 4- 二氟苯基)-4-(3- 羟基-3- 甲基-1- 丁氧基)-5-[4-( 甲基磺酰基) 苯基]-3-(2H)- 吡嗪酮、4-[5-(4- 氟苯基)-3-( 三氟甲基)-1H- 吡唑-1- 基] 苯磺酰胺、1- 苯甲基-4-[ (4- 氧代哌啶-1- 基) 磺酰基] 哌啶-4- 甲酸叔丁酯、4-[5-( 苯基)-3-( 三氟甲基)-1H- 吡唑-1- 基] 苯磺酰胺、其盐和前药。

[1449] 潮红

[1450] 在另一方面, 一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可以用于降低作为障碍的症状的潮红和 / 或潮热的发病率或严重程度。例如, 该方法包括单独或与其它药物组合使

用一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物,用于降低癌症患者的潮红和 / 或潮热的发病率或严重程度。在其它具体实施方案中,该方法提供了一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物用于降低绝经期和绝经后妇女的潮红和 / 或潮热的发病率或严重程度的用途。

[1451] 在另一方面,一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可以用于降低潮红和 / 或潮热的发病率或严重程度的治疗,所述潮红和 / 或潮热是另一种药物治疗的副作用,例如药物诱导的潮红。在某些具体实施方案中,用于治疗和 / 或预防药物诱导的潮红的方法包括向有此需要的患者给予包含至少一种诱发潮红的化合物和至少一种高剂量的 sirtuin 活化化合物的制剂。在其它具体实施方案中,用于治疗药物诱导的潮红的方法包括分别给予一种或多种诱导潮红的化合物以及一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物,例如其中 sirtuin 调节化合物和诱导潮红的药物未被配制在同一组合物中。当使用分开的制剂时, sirtuin 调节化合物可以 (1) 在给予诱导潮红的药物的同时给予, (2) 与诱导潮红的药物间歇地给予, (3) 相对于给予诱导潮红的药物交叉给予, (4) 在给予诱导潮红的药物之前给予, (5) 在给予诱导潮红的药物之后给予,以及 (6) 其各种组合。示例性的诱导潮红的药物包括例如,烟碱酸、floxifene, 抗抑郁药、抗精神病药、化疗药、钙通道阻滞剂和抗生素。

[1452] 在一个具体实施方案中,一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可以用于减少扩张血管或降血脂药物(包括抗胆固醇药和抗脂肪肝药)的潮红副作用。在一个示例性的具体实施方案中,一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可用于减少与给予烟碱酸有关的潮红。

[1453] 烟酸、3-吡啶甲酸或烟碱酸(niacin)是一种以例如商品名 Nicolar®、SloNiacin®、Nicobid®和 Time Release Niacin®销售的降血脂药物。烟酸在治疗血脂障碍如高脂血症、高胆固醇血症以及动脉硬化症中已使用了很多年。长期以来就知道,该化合物具有降低人体中的总胆固醇、低密度脂蛋白或“LDL 胆固醇”、甘油三酯和载脂蛋白 a (Lp(a)),而增加所需的高密度脂蛋白或“HDL 胆固醇”的有益作用。

[1454] 典型的剂量范围为每天大约 1 克到大约 3 克。根据选择的剂型,烟酸通常每天饭后给予 2 至 4 次。目前,烟酸有两种市售的剂型。一种剂型是应该每天给予 3 或 4 次的立即释放或快速释放的片剂。立即释放(“IR”)烟酸制剂通常在摄入之后约 30 至 60 分钟内释放几乎所有的烟酸。另一种剂型是适于每天给药 2 至 4 次的缓释形式。与 IR 制剂相比,缓释(“SR”)烟酸制剂被设计为在特定的时间间隔内释放大量的药物以吸收进入血流,使之在长期如摄入后 12 或 24 小时内维持烟酸的治疗水平。

[1455] 本发明所用的术语“烟酸”是指包括烟酸或体内代谢成烟酸从而产生本质上与烟酸相同的效果的不同于烟酸本身的化合物。产生与烟酸相似作用的示例性化合物包括,例如酒石酸烟醇酯、d-山梨醇六烟酸酯(d-glucitol hexanicotinate)、烟酸铝、戊四烟酯(niceritrol)和 d,1-α-生育酚烟酸酯。各个这类化合物在本发明中统称为“烟酸”。

[1456] 在另一个具体实施方案中,本发明提供一种用于治疗和 / 或预防高血脂且减少潮红副作用的方法。该方法包括向有此需要的受试者给予治疗有效量的烟酸和一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物的步骤。在一个示例性的具体实施方案中,烟酸和 / 或 sirtuin 调节化合物可以在夜间给予。

[1457] 在另一个代表性的具体实施方案中,该方法包括使用一种或多种高剂量的

sirtuin 活化化合物以减少雷洛昔芬的潮红副作用。雷洛昔芬在身体某些部位的作用类似于雌激素,但不是激素。它有助于已经进入绝经期的妇女预防骨质疏松症。骨质疏松症导致骨骼逐渐变细、变脆并更加容易骨折。雷洛昔芬(Evista)减缓绝经期出现的骨量丢失,降低因骨质疏松症引起的脊椎骨折的危险性。雷洛昔芬的一种常见副作用是潮热(发汗和潮红)。这会使因绝经期而已经产生潮热的妇女不舒服。

[1458] 在另一个代表性的具体实施方案中,该方法包括使用一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物以减少抗抑郁药或抗精神病药的潮红副作用。例如,一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物与 5-羟色胺再摄取抑制剂、5HT2 受体拮抗剂、抗惊厥药、去甲肾上腺素再摄取抑制剂、 $\alpha$ -肾上腺受体拮抗剂、NK-3 拮抗剂、NK-1 受体拮抗剂、PDE4 抑制剂、神经肽 Y5 受体拮抗剂、D4 受体拮抗剂、5HT1A 受体拮抗剂、5HT1D 受体拮抗剂、CRP 拮抗剂、单胺氧化酶抑制剂或镇静催眠药联合使用(分开给予或一起给予)。

[1459] 在某些具体实施方案中,一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可与 5-羟色胺再摄取抑制剂(SRI)用作治疗的部分以减少潮红。在某些优选的具体实施方案中,该 SRI 是选择性 5-羟色胺再摄取抑制剂(SSRI),如 fluoxetinoid (氟西汀、去甲氟西汀)或 nefazodonoid (奈法唑酮、羟基奈法唑酮(hydroxynefazodone)、oxonefazodone)。其它示例性的 SSRI 包括度洛西汀、文拉法辛、米那普仑、西酞普兰、氟伏沙明、帕罗西汀和舍曲林。一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物还可以与镇静催眠药用作治疗的部分,所述镇静催眠药如选自苯并二氮卓类(如阿普唑仑、氯氮卓、氯硝西洋、二钾氯氮卓、氯巴占、地西洋、哈拉西洋、劳拉西洋、奥沙西洋和普拉西洋)、唑吡坦和巴比妥类。在其它具体实施方案中,一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可以与 5-HT1A 受体部分激动剂作为治疗的部分,所述 5-HT1A 受体部分激动剂如选自丁螺环酮、氟辛克生、吉哌隆(gepirone)和伊沙匹隆。一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物还可以与如选自三环叔胺和三环仲胺的去甲肾上腺素再摄取抑制剂用作治疗的部分。示例性的三环叔胺包括阿米替林、氯米帕明、多塞平、丙咪嗪和曲米帕明。示例性的三环仲胺包括阿莫沙平、地昔帕明、马普替林、去甲替林和普罗替林。在某些具体实施方案中,一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可以与如选自异卡波肼、苯乙肼、苯环丙胺、司立吉林和吗氯贝胺的单胺氧化酶抑制剂一起用作治疗的部分。

[1460] 在另一个代表性的具体实施方案中,一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可用于减少化疗药物如环磷酰胺、他莫昔芬的潮红副作用。

[1461] 在另一个具体实施方案中,一种或多种高剂量的 sirtuin 活性化合物可用于减少钙通道阻滞剂如氨氯地平(amlodipine)的潮红副作用。

[1462] 在另一个具体实施方案中,一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可用于减少抗生素的潮红副作用。例如,一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可与左氧氟沙星组合使用。左氧氟沙星用于治疗由易感菌引起的鼻窦(sinuses)、皮肤、肺、耳朵、气道、骨骼和关节感染。左氧氟沙星还经常用于治疗泌尿系感染,包括对其他抗生素有抗性的感染以及前列腺炎。左氧氟沙星可有效治疗由大肠杆菌、空肠弯曲杆菌和痢疾杆菌引起的感染性腹泻。左氧氟沙星还可以用于治疗各种产褥期感染,包括乳腺炎。

[1463] 眼部障碍

[1464] 本发明一方面是通过给予患者一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物用于抑

制、减少或治疗视觉损伤(vision impairment)的方法。

[1465] 在本发明的某些方面,视觉损伤是由视神经或中枢神经系统损伤引起的。在特定的具体实施方案中,视神经损伤是由如青光眼导致的高眼压引起的。在其它特定的具体实施方案中,视神经损伤是由通常与感染或如视神经炎中的免疫(例如自身免疫)反应有关的神经肿胀引起的。

[1466] 青光眼描述的是与视野缺损、杯状(cupping)视盘和视神经损伤有关的一组障碍。这些通常被称为青光眼视神经病变。大多数青光眼通常但不总是与眼内压风险有关。示例性的青光眼形式包括青光眼和穿透性角膜移植、急性闭角型、慢性闭角型、慢性开角型、房角后退、无晶状体(Aphakic)和人工晶体、药物诱导的、前房积血、眼内肿瘤(Extraocular Tumors)、青少年型、晶状体皮质残留(Lens-Particle)、低压(Low Tension)、恶性、新生血管、晶状体溶解性、Phacomorphic、色素性、高褶型虹膜(Plateau Iris)、原发性先天性(Primary Congenital)、原发性开角型、假性剥脱性、继发性先天性(Secondary Congenital)、Adult Suspect、单侧的、葡萄膜炎(Uveitic)、高眼压、低眼压、青光眼睫状体炎综合征(Posner-Schlossman Syndrome)以及高眼压和原发性开角型青光眼中的巩膜扩张术(Scleral Expansion Procedure)。

[1467] 眼内压还可以因各种外科手术,如超声乳化白内障吸除术(即白内障手术)以及如人工晶状体结构的植入而增加。此外,特殊的脊椎手术或患者长时间俯卧的任何手术都会导致眼内压升高。

[1468] 视神经炎(ON)是视神经的炎症并导致急性视力丧失。它与多发性硬化病(MS)很相关,因为15-25%的MS患者起初患有ON,且50-75%的ON患者被诊断患有MS。ON还与感染(例如病毒感染、脑膜炎、梅毒)、炎症(例如来自疫苗)、浸润和缺血有关。

[1469] 引起失神经损伤的另一病症是前部缺血性视神经病变(AION)。有两这种类型的AION。动脉炎性AION是由于巨细胞性动脉炎(血管炎)引起并导致急性视力丧失。非动脉炎性AION包括除了由于巨细胞性动脉炎引起的病例外所有的缺血性视神经病变的病例。尽管似乎包含炎症和缺血机制两者,AION的病理生理学仍不清楚。

[1470] 对视神经的其它损伤通常与脱髓鞘、炎症、缺血、毒素或对视神经外伤有关。视神经损伤的示例性病症包括脱髓鞘视神经病变(视神经炎、球后视神经炎)、视神经鞘脑膜瘤、成人视神经炎、儿童视神经炎、前部缺血性视神经病变、后部缺血性视神经病变、压迫性视神经病变、视乳头水肿、假性视乳头水肿和中毒性/营养性视神经病变。

[1471] 其它虽然不直接与视神经损伤有关,但与视力丧失有关的神经性病症包括弱视、贝尔氏麻痹、慢性进行性眼外肌麻痹、多发性硬化病、假性脑瘤和三叉神经痛。

[1472] 在本发明的某些方面,视力损伤是由视网膜损伤引起的。在特定的具体实施方案中,视网膜损伤是由血流流向眼睛的被干扰(例如动脉硬化、血管炎)引起的。在特定的具体实施方案中,视网膜损伤是由黄斑破坏(例如,渗出性或非渗出性黄斑变性)引起的。

[1473] 示例性的视网膜疾病包括渗出性与年龄相关的黄斑变性、非渗出性与年龄相关的黄斑变性、人工电子视网膜(Retinal Electronic Prostheses)和RPE移植年龄相关的黄斑变性、急性多灶性鳞状色素上皮病变、急性视网膜坏死、Best病、视网膜分支动脉阻塞、视网膜分支静脉阻塞、癌症相关的自身免疫性视网膜病变、视网膜中央动脉阻塞、视网膜中央静脉栓塞、中心性浆液性脉络膜视网膜病变、Eales病、黄斑表面膜、格子样变性、大动

脉瘤、糖尿病黄斑水肿、Irvine-Gass 黄斑水肿(Irvine-Gass Macular Edema)、黄斑裂孔、视网膜下新生血管膜、弥散性单侧亚急性视神经视网膜炎、非人工晶状体性黄斑囊样水肿(Nonpseudophakic Cystoid Macular Edema)、拟眼组织胞浆菌病综合征(Presumed Ocular Histoplasmosis Syndrome)、渗出性视网膜脱离、术后视网膜脱离、增生性视网膜脱离(Proliferative Retinal Detachment)、孔源性视网膜脱离、牵引性视网膜脱离、视网膜色素变性、CMV 视网膜炎、视网膜母细胞瘤、早产儿视网膜病变、散弹状视网膜病变(Birdshot Retinopathy)、背景型糖尿病性视网膜病变、增殖性糖尿病视网膜病变、血红蛋白病视网膜病变(Hemoglobinopathies Retinopathy)、Purtscher 视网膜病变、Valsalva 视网膜病变、青少年型视网膜劈裂症、老年型视网膜劈裂症、Terson 综合征和白点综合征。

[1474] 其它示例性疾病包括眼部细菌感染(例如,结膜炎、角膜炎、肺结核、梅毒、淋病)、病毒感染(例如眼部单纯疱疹病毒、水痘 - 带状疱疹病毒、巨细胞病毒性视网膜炎、人类免疫缺陷病毒(HIV))以及继发于 HIV 或其它 HIV- 相关和其它免疫缺陷相关的眼部疾病的进行性外视网膜坏死(progressive outer retinal necrosis)。此外,眼部疾病包括真菌感染(例如,念珠菌脉络膜炎(Candida choroiditis)、组织胞浆菌病)、原生动物感染(例如弓形体病)以及其它如眼弓蛔虫病和结节病。

[1475] 本发明一方面是用于在经历化疗药物(例如,神经毒药物,提高眼内压的药物如甾体)治疗的受试者中,通过向有此治疗需要的受试者给予一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物来抑制、减少或治疗视力损伤的方法。

[1476] 本发明另一方面是用于在进行外科手术包括眼部手术或其它以卧姿进行的手术如脊髓手术的受试者中,通过向有此治疗需要的受试者给予一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物来抑制、减少或治疗视力损伤的方法。眼部手术包括白内障、红膜切开术和晶状体置换术。

[1477] 本发明另一方面是通过向有此治疗需要的受试者给予一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物来治疗,包括抑制性和预防性治疗,与年龄相关的眼部疾病,包括白内障、干眼病、视网膜损伤等。

[1478] 白内障的形成与眼睛晶状体的若干生化变化,如抗氧化剂抗坏血酸和谷胱甘肽的水平降低,脂质、氨基酸和蛋白质氧化增加,钠和钙增加,氨基酸流失以及晶状体代谢降低有关。缺少血管的晶状体悬浮在眼睛前面部分的细胞外液中。需要营养物如抗坏血酸、谷胱甘肽、维生素E、硒、生物类黄酮以及类胡萝卜素来维持晶状体的透明。低水平的硒导致诱发自由基的过氧化氢增加,它是被硒依赖性抗氧化酶谷胱甘肽过氧化物酶所中和的。晶状体保护性谷胱甘肽过氧化物酶还依赖于氨基酸蛋氨酸、半胱氨酸、甘氨酸和谷氨酸。

[1479] 白内障还可能因没能力适当地代谢含有乳糖,一种由单糖半乳糖和葡萄糖组成的二糖的乳制品中存在的半乳糖而引起。如果及早发现并经代谢矫正,白内障可以被预防、延迟、减缓并甚至可能逆转。

[1480] 视网膜损伤的其它因素归因于在青光眼、糖尿病性视网膜病变以及年龄相关性黄斑变性(AMD)中的自由基引发的反应。眼睛是中枢神经系统的一部分并且具有有限的再生能力。视网膜是由众多包含高浓度的多不饱和脂肪酸(PFA)并经历氧化的神经细胞所组成。自由基是通过紫外线进入眼睛以及视杆和视锥的线粒体中而产生的,它们产生将光转换为视觉刺激所必需的能量。自由基通过羟基或过氧化物基引起 PFA 的过氧化反应,所述羟基

或过氧化物基依次向其它的自由基传递。自由基导致视网膜组织暂时性或永久性损伤。

[1481] 青光眼通常被认为是一种引起眼内压(IOP)增高,导致视网膜神经纤维永久性损伤的障碍,然而所有青光眼病例中六分之一并不发展成增高的IOP。如今已认识到该障碍是一种血管灌注减少以及神经毒性因子增加的病症。最近研究已表明眼中的谷氨酸盐、一氧化氮和过氧亚硝酸盐的水平提高是视网膜神经节细胞死亡的原因。神经保护剂可能成为青光眼护理的希望。例如,一氧化氮合酶抑制剂阻碍由一氧化氮和过氧化物生成过氧亚硝酸盐。在最近的研究中,用氨基胍、一氧化氮合酶抑制剂处理的动物中视网膜神经节细胞损失减少。推断眼中的一氧化氮在许多组织中引起细胞毒性并在中枢神经系统中引起神经毒性。

[1482] 当血管发展为微血管异常时出现糖尿病性视网膜病变,所述微血管异常主要包括微动脉瘤和视网膜内出血。氧化代谢直接涉及到糖尿病性视网膜病变的发病机理,而自由基增加了导致增殖活性增强的生长因子的产生。血管内皮细胞产生的一氧化氮也可能引起平滑肌细胞松弛并导致血管区段扩张。在动脉基底膜增厚、内皮增殖以及周细胞(pericytes)损失后,视网膜出现缺血和缺氧。这种充氧不充分导致毛细管闭塞(capillary obliteration)或无灌注、小动脉-小静脉分流(arteriolar-venular shunts)、血流缓慢以及红细胞释放氧的能力受损。自由基损伤还会导致出现视网膜组织的脂质过氧化。

[1483] 黄斑的作用是形成我们的敏锐的中枢视觉,其由光敏感细胞(圆锥细胞)组成,而基本的视网膜色素上皮细胞(RPE)和脉络膜滋养并帮助除去废料。RPE以维生素A作为光敏性色素的底物滋养圆锥细胞并消化包围圆锥细胞的外部尖端(cones shed outer tips)。RPE暴露在高水平的UV辐射下,分泌抑制血管生成的因子。脉络膜包含提供营养并除去废料的密集血管网。

[1484] 在AMD中,包围圆锥细胞的尖端(shed cone tip)不能被RPE吸收,其中该细胞在聚集太多未消化的原料后膨胀并死亡。未消化的废料在RPE下形成聚集,称之为玻璃疣(drusen)。光毒性(Photoxic)损伤也导致RPE细胞中脂褐质的聚集。细胞内的脂褐质和Bruch膜的玻璃疣聚集干扰了氧和营养物转运至视网膜组织,并最终导致RPE和光感受器功能障碍。在渗出性AMD中,血管通过Bruch膜的缺陷从脉络膜毛细血管中生长,并可以在RPE下生长,从脉络膜中分离并渗漏液体或出血。

[1485] 黄斑色素是防止阳光损伤视网膜的保护因子之一,它通过聚集来源于营养物的类胡萝卜素,如叶黄素而形成,类胡萝卜素是作为其它重要营养物和玉米黄素的转运载体的脂肪性黄色素)。抗氧化剂如维生素C和E、β-胡萝卜素和叶黄素以及锌、硒和铜都在健康黄斑中发现。除了提供营养以外,这些抗氧化剂对引发黄斑变性的自由基损伤有保护作用。

[1486] 本发明的另一方面是通过向有此治疗需要的受试者给予一种或多种高剂量的sirtuin活化化合物来预防或治疗因应激、化学损伤或辐射引起的对眼睛的伤害。辐射或电磁对眼睛的伤害可包括由CRT's或暴露于日光和紫外线引起的损伤。

[1487] 在一个具体实施方案中,一种组合药物方案可以包括用于治疗或预防眼部障碍或者与这些病症有关的继发性病症的药物或化合物。因此,组合药物方案可包括一种或多种高剂量的sirtuin活化化合物以及一种或多种用于治疗眼部障碍的治疗剂。例如,一种或多种高剂量的sirtuin活化化合物可以与一种或多种有效剂量的降低眼内压的药物、治疗青光眼的药物、治疗视神经炎的药物、治疗CMV视网膜病变的药物、治疗多发性硬化病的药

物和 / 或抗生素等组合。

[1488] 在一个具体实施方案中, 一种或多种高剂量的 sirtuin 活性化合物可以与降低眼内压的疗法联合给予。一组疗法包括阻断水生成。例如, 局部  $\beta$  - 肾上腺素拮抗剂(噻吗洛尔和倍他洛尔)减少水的生成。局部噻吗洛尔导致 IOP 在 30 分钟内下降, 1 – 2 小时达峰值。一种合理的方案为噻吗洛尔(Timoptic) 0.5%, 2 个剂量为每 30 分钟 1 滴。碳酸酐酶抑制剂乙酰唑胺也减少水的生成并且应该与局部  $\beta$  - 拮抗剂联合给药。初始的给予剂量为 500mg, 之后每 6 小时 250mg。这种药物可以口服、肌肉内或静脉内给予。此外,  $\alpha$  2- 激动剂(例如安普乐定)通过减少水的生成而起作用。这些作用是局部给予  $\beta$  - 阻滞剂的附加作用。它们已被批准用于控制前房激光手术(anterior chamber laser procedures)后急性压力升高, 但已被报道可以有效用于治疗急性闭角型青光眼。合理的方案是 2 个剂量为每 30 分钟 1 滴。

[1489] 减少眼内压的第二组疗法包括降低玻璃体(vitreous) 体积。高渗剂可用于治疗急性发作。这些药物通过使血液保持高渗透压而将水抽出眼球。经常使用的是剂量为 1mL/kg 的冷的 50% 口服甘油溶液(与柠檬汁混合使之更可口)。甘油在肝脏中被转化为葡萄糖; 患有糖尿病的人如果在服用甘油之后血糖过高可能需要另外的胰岛素。口服的异山梨醇是代谢惰性的醇, 它也可以作为渗透剂用于患有急性闭角型青光眼的患者。通常的剂量为口服 100g(220cc 的 45% 溶液)。这种惰性醇不应该与硝酸异山梨酯, 一种用于心绞痛和充血性心力衰竭的基于硝酸酯的心脏用药相混淆。以 1.0–1.5mg/kg 的剂量静脉内给予甘露醇也是有效的, 并且患有恶心和呕吐的患者很容易耐受。这些高渗剂在任何具有充血性心力衰竭病史的患者中应小心使用。

[1490] 第三组疗法包括促进水从眼中流出。缩瞳剂从虹膜角牵拉虹膜, 并可以通过外周虹膜帮助减轻小梁网的阻塞。2% (蓝眼睛) – 4% (棕色眼睛) 毛果芸香碱可以在第一个 1 – 2 小时内每隔 15 分钟给予。更频繁的给予或者更高剂量可能导致全身性胆碱能危象。NSAIDS 有时被用于减少炎症。

[1491] 用于降低眼内压的示例性治疗药物包括 **ALPHAGAN® P** (Allergan) (酒石酸溴莫尼定滴眼液)、**AZOPT®** (Alcon) (布林佐胺(brinzolamide) 眼用混悬剂)、**BETAGAN®** (Allergan) (盐酸左布诺洛尔滴眼液, USP)、**BETIMOL®** (Vistakon) (噻吗洛尔滴眼液)、**BETOPTIC S®** (Alcon) (盐酸倍他索洛尔)、**BRIMONIDINE TARTRATE** (Bausch & Lomb)、**CARTEOLOLHYDROCHLORIDE** (Bausch & Lomb)、**COSOPT®** (Merck) (盐酸杜塞酰胺-马来酸噻吗洛尔滴眼液)、**LUMIGAN®** (Allergan) (比马前列素滴眼液)、**OPTIPRANOLOL®** (Bausch&Lomb) (美替洛尔滴眼液)、**TIMOLOL GFS** (Falcon) (马来酸噻吗洛尔眼用凝胶形成溶液)、**TIMOPTIC®** (Merck) (马来酸噻吗洛尔滴眼液)、**TRAVATAN®** (Alcon) (曲伏前列素滴眼液)、**TRUSOPT®** (Merck) (盐酸杜塞酰胺滴眼液) 以及 **XALATAN®** (Pharmacia& Upjohn) (拉坦前列素滴眼液)。

[1492] 在一个具体实施方案中, 一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可以与用于治疗和 / 或预防青光眼的疗法联合给予。青光眼药物的例子为 **DARANIDE® Tablets** (Merck) (二氯碘胺)。

[1493] 在一个具体实施方案中,一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可以与用于治疗和 / 或预防视神经炎的疗法联合给予。用于视神经炎的药物的例子包括 **DECADRON® Phosphate Injection** (Merck) (地塞米松磷酸钠)、**DEPO-MEDROL®** (Pharmacia & Upjohn) (醋酸甲基强的松龙)、**HYDROCORTONE® Tablets** (Merck) (氢化可的松)、**ORAPRED®** (Biomarin) (强的松龙磷酸钠口服液) 以及 **PEDIAPRED®** (Celltech) (强的松龙磷酸钠, USP)。

[1494] 在一个具体实施方案中,一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可以与用于治疗和 / 或预防 CMV 视网膜病变的疗法联合给予。CMV 视网膜病变的治疗包括 **CYTOVENE®** (更昔洛韦胶囊) 和 **VALCYTE®** (Roche Laboratories) (盐酸缬更昔洛韦片剂)。

[1495] 在一个具体实施方案中,一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物可以与用于治疗和 / 或预防多发性硬化病的疗法联合给予。这种药物的例子包括 **DANTRIUM®** (Procter & Gamble Pharmaceuticals) (丹曲林钠)、**NOVANTRONE®** (Serono) (米托蒽醌)、**AVONEX®** (Biogen Idec) (干扰素  $\beta$  -Ia)、**BETASERON®** (Berlex) (干扰素  $\beta$  -1b)、**COPAXONE®** (Teva Neuroscience) (醋酸格拉替雷 (glatiramer acetate) 注射剂) 和 **REBIF®** (Pfizer) (干扰素  $\beta$  -Ia)。

[1496] 此外,具有多种活性的大环内酯和 / 或麦考酚酸可以与一种或多种高剂量的 sirtuin 活化化合物共同给予。大环内酯抗生素包括他克莫司、环孢霉素、西罗莫司、依维莫司、子囊霉素、红霉素、阿奇霉素、克拉霉素、克林霉素、林可霉素、地红霉素、交沙霉素、螺旋霉素、二乙酰麦迪霉素、泰乐菌素、罗红霉素、ABT-773、替利霉素、柱晶白霉素和林可酰胺。

### [1497] III. 示例性试验

[1498] 在某些方面,本发明提供用于鉴定用于治疗或预防代谢障碍的化合物(药物)的筛选方法。由该筛选方法鉴定的候选化合物可以给予受试者,如有此需要的受试者。有此治疗需要的受试者可以是患有、曾经患有肥胖或糖尿病,或者根据预期,例如根据家族史很可能患有这些障碍的受试者。示例性的药物为本发明所述的药物。

[1499] 化合物对 sirtuin 活性,如 SIRT1 的作用可以根据例如 Howitz 等在上文或下文的描述来确定。例如, sirtuin 蛋白可以在体外,例如溶液中或细胞中与化合物相接触。在一个具体实施方案中, sirtuin 蛋白与溶液中的化合物接触并测定 sirtuin 的活性,例如使蛋白质,如组蛋白、p53 或其一部分脱乙酰化的能力。通常,当其至少一种生物活性,例如脱乙酰化活性在化合物存在时比不存在时分别更高或更低时, sirtuin 被化合物活化或抑制。活化或抑制可以由至少大约 10%、30%、50%、100% (即二因素之一)、3、10、30 或 100 中的一个因素表示。

[1500] sirtuin 是被活化还是被抑制可以通过例如用脱乙酰化靶点,如组蛋白、p53 蛋白或其一部分接触 sirtuin 或包含 sirtuin 的细胞或细胞提取物,并确定脱乙酰化靶点的乙酰化水平来确定。与待测 sirtuin 一起孵育的靶点的乙酰化水平相对于对照 sirtuin 的乙酰化水平更高表明待测的 sirtuin 被活化。相反,与待测 sirtuin 一起孵育的靶点的乙酰化水平相对于对照 sirtuin 的乙酰化水平更低表明待测的 sirtuin 被抑制。对照 sirtuin

可以是从未接触 sirtuin 活化或抑制化合物的经重组制备的 sirtuin。

[1501] 本发明还提供了确定受试者已经或将要发展为体重增加、肥胖、胰岛素抵抗、糖尿病或因其引起的先兆症状或病症的可能性的试验方法。这种试验可包括确定受试者的 sirtuin, 如 SIRT1 或 AMPK 的活性或表达(例如 mRNA、mRNA 前体或蛋白)水平。受试者中低水平的 sirtuin 活性或表达很可能预示着受试者已经或者很可能发展为体重增加、肥胖、胰岛素抵抗、糖尿或其先兆症状或其继发病症。或者, 受试者中较高水平的 sirtuin 活性或表达很可能预示着受试者已经或者很可能发展为体重减轻以及受到保护而不发展为与过高体重相关的疾病, 如胰岛素抵抗和糖尿病。其它试验包括确定 sirtuin 和 AMPK 的活性或表达水平。

[1502] 本发明还提供了鉴定调节体重增加和 / 或治疗或预防胰岛素抵抗(或敏感性)或糖尿病的化合物的方法。一种方法可包括鉴定调节 sirtuin 的活性或蛋白水平的药物, 并测试待测药物是否调节体重增加和 / 或能被用于治疗或预防胰岛素抵抗或糖尿病。该方法的第一步可以包括用待测药物接触 sirtuin, 并根据例如上述 Howitz 等的描述确定待测药物对 sirtuin, 例如 SIRT1 的活性的作用。该方法的第一步还可以包括用待测药物接触包含 sirtuin 的细胞, 并确定待测药物对 sirtuin 活性或表达水平的作用。sirtuin 的表达水平可以通过测定 sirtuin 的 mRNA、mRNA 前体或蛋白水平来确定。其它步骤可以包括在用于肥胖, 胰岛素抵抗和 / 或糖尿病的动物模型中测试药物。这些动物模型是本领域所熟知的。筛选方法还可以包括确定药物的毒性或不良反应的步骤。

[1503] 其它筛选方法包括鉴定调节 AMPK 活性或蛋白水平的药物。对活化 AMPK 但不具有已知的 AMPK 活化剂如甲福明二甲双胍 / 苯乙双胍的毒性或不良反应的化合物是有需求的。

[1504] 在其它具体实施方案中, 本发明提供用于确定和 / 或监测受试者对 sirtuin 调节化合物的摄取的方法。该方法可有效用于在给予 sirtuin 调节剂治疗过程中监测病程。这种试验还用于鉴定已给予 sirtuin 调节剂的个体。例如, 这种试验可用于鉴定已服用 sirtuin 调节剂以增强其运动能力和 / 或耐力的个体, 如学生运动员、专业运动员、奥林匹克运动员等。该方法可包括检测个体的血和 / 或尿中 sirtuin 调节剂或其代谢物的量。示例性的白藜芦醇代谢物包括, 例如白藜芦醇葡萄糖醛酸苷和白藜芦醇硫酸酯, 如白藜芦醇单葡萄糖醛酸苷、二氢白藜芦醇单硫酸酯、白藜芦醇单硫酸酯、二氢白藜芦醇、反式 - 白藜芦醇 -3-O- 葡萄糖醛酸苷、顺式 - 白藜芦醇 -3-O- 葡萄糖醛酸苷、顺式 - 白藜芦醇 -3-O- 葡萄糖苷、反式 - 白藜芦醇 -4'- 硫酸酯、反式 - 白藜芦醇 -3, 5- 二硫酸酯、反式 - 白藜芦醇 -3, 4'- 二硫酸酯、反式 - 白藜芦醇 -3, 4', 5- 三硫酸酯和反式 - 白藜芦醇 -3-O-  $\beta$ -D- 葡萄糖醛酸苷以及白藜芦醇苷元和游离的反式 - 白藜芦醇。该方法可以包括从个体中获取生物样品, 如尿、血、唾液、组织、粪便、头发、皮肤等, 并分析样品以鉴定 sirtuin 调节化合物或其代谢物的存在、sirtuin 调节化合物或其代谢物的量和 / 或 sirtuin 调节化合物或其代谢物的类型。来自生物样品中的 sirtuin 调节化合物或其代谢物的鉴定、定量和定性可以通过本领域技术人员已知的各种方法来实现, 例如, 免疫分析、色谱法、质谱法 (MS), 包括液相色谱 (LC) -MS/MS、LC-ESI-MS/MS (电喷雾电离, ESI), 高效液相色谱 - 二极管阵列检测器 (HPLC-DAD) 或在线紫外光电二极管阵列检测和质谱检测 (LC-DAD-MS 和 LC-UV-MS-MS) (参见例如 Wang 等, J. Chromatogr B analyt Technol Biomed Life Sci

829:97-106 (2005) ;Urpi-sarda 等, Anal Chem 77:3149-55 (2005) ;Wenzel 等, Mol Nutr Food Res 49:472-81 (2005) ;Wenzel 等, Mol Nutr Food Res 49:482-94 (2005) ;Wang 等, J Pharm Sci 93:2448-57 (2004) ;Meng 等, J Agric Food Chem 52:935-42 (2004) ; 和 Yu 等, Pharm Res 19:1907-14 (2002) )。在某些具体实施方案中,该方法可以包括在分析之前从生物样品中提取、纯化或部分纯化 sirtuin 调节剂或其代谢物。在其它具体实施方案中,可能需要将结果与一种或多种已知的 sirtuin 调节剂或其代谢物的标准品作比较。

[1505] 在其它具体实施方案中,本发明提供用于鉴定有效用于调节动物或人类受试者的细胞中线粒体质量和 / 或线粒体功能的药物,如 sirtuin 调节化合物的方法(例如试验,如筛选试验或高通量筛选)。在某些具体实施方案中,对候选药物增加线粒体质量和 / 或改善线粒体功能的能力进行筛选。在一个示例性的具体实施方案中,本发明所述的方法可用于鉴定增加细胞中线粒体质量和 / 或改善线粒体功能的药物,例如 sirtuin 活化化合物。

[1506] 在一个具体实施方案中,用于鉴定调节线粒体质量和 / 或功能的药物的方法包括将含有线粒体的细胞的样品与候选药物相接触,并确定至少一种线粒体功能指标的水平,其中相对于不存在该药物时所述指标的水平来说,候选药物改变了线粒体功能指标的水平表明它是改变线粒体功能的药物。

[1507] 在另一个具体实施方案中,用于鉴定调节线粒体质量和 / 或功能的药物的方法包括鉴定线粒体生合成调节剂。该方法可以包括在足以诱导线粒体生合成的条件和时间内,用包含线粒体的细胞与刺激相接触;并检测候选信号分子被改变的水平,其中相对于未与刺激相接触的细胞中的候选信号分子的水平来说,已与诱导线粒体生合成的刺激相接触的细胞中的候选信号分子的水平发生改变表明该候选信号分子是线粒体生合成的调节剂。在一个更具体实施方案中,该刺激是选自冷应激、电刺激或肾上腺素刺激。在某些其它具体实施方案中,线粒体生合成是通过测定线粒体功能指标来检测的,所述线粒体功能指标是氧消耗、线粒体 DNA 的量、线粒体质量或 ATP 生物合成因子。在某些其它具体实施方案中,该候选信号分子调节 PGC 基因或 NRF 基因的活性。在某些其它具体实施方案中,候选信号分子是通过 PGC 基因或 NRF 基因来调节的。在某些其它具体实施方案中,发生改变的候选信号分子水平是核酸水平、多肽水平和蛋白质磷酸化水平。

[1508] 在某些具体实施方案中,线粒体功能指标可以是线粒体电子传递链酶。该方法可以包括检测电子传递链酶的催化活性、测定样品中每一线粒体的酶活性、测定样品中每单位蛋白质的酶活性、检测电子传递链酶的量、测定样品中每一线粒体的酶的量和 / 或测定样品中每单位蛋白质的酶的量。在某些具体实施方案中,线粒体电子传递链酶包括至少一种线粒体复合体 I、线粒体复合体 II、线粒体复合体 III、线粒体复合体 IV 和 / 或线粒体复合体 V 的亚单位。线粒体复合体 IV 亚单位可以是 COX1、COX2 或 COX4,线粒体复合体 V 亚单位可以是 ATP 合成酶亚单位 8 或 ATP 合成酶亚单位 6。

[1509] 在其它具体实施方案中,线粒体功能指标可以是线粒体基质成分、线粒体膜成分和 / 或线粒体内膜成分。线粒体膜成分可以是腺嘌呤核苷酸转运体(ANT)、电压依赖性阴离子通道(VDAC)、苹果酸一天冬氨酸穿梭途径、钙单向转运体、UCP-1、UCP-2、UCP-3 (例如 Boss 等, 2000 Diabetes 49:143; Klingenbergs 1999 J. Bioenergetics Biomembranes 31:419)、己糖激酶、外周苯并二氮 <sup>卓</sup> 受体、线粒体间膜肌酸激酶、亲环素 D (cyclophilin D)、编码多肽的 Bcl-2 基因家族、三羧酸酯载体(tricarboxylate carrier) 或二羧酸酯载

体(dicarboxylate carrier)。

[1510] 在某些具体实施方案中,线粒体功能指标为三羧酸循环酶。该方法可以包括测量三羧酸循环酶的催化活性、测定样品中每一线粒体的酶活性、测定样品中每单位蛋白质的酶活性、测量三羧酸循环酶的量、测定样品中每一线粒体的酶量和 / 或测定样品中每单位蛋白质的酶量。三羧酸循环酶可以是柠檬酸合成酶、顺乌头酸酶、异柠檬酸脱氢酶、 $\alpha$ -酮戊二酸脱氢酶、琥珀酰辅酶 A 合成酶、琥珀酸脱氢酶、延胡索酸酶或苹果酸脱氢酶。

[1511] 在其它具体实施方案中,线粒体功能指标可以是样品中每一细胞中的线粒体质量。线粒体质量可以利用线粒体选择性试剂(如壬基吖啶橙)或通过形态测量分析法来测定。在某些具体实施方案中,线粒体功能指标可以是样品的每一细胞中线粒体的数量,它可以利用线粒体选择性试剂如荧光试剂来测定。

[1512] 在其它具体实施方案中,线粒体功能指标可以是样品的每一细胞中线粒体 DNA (“mtDNA”)的量。每一细胞中线粒体 DNA 的量可以用绝对(例如每一细胞中 mtDNA 的量)或相对(例如,相对核 DNA 的 mtDNA 的比例)的术语来测量和 / 或表示。在某些具体实施方案中,线粒体 DNA 是通过用寡聚核苷酸引物在足以让引物与线粒体 DNA 杂交的条件和时间内接触包含线粒体 DNA 的生物样品,所述寡聚核苷酸引物具有与存在于线粒体 DNA 中的序列的互补的核苷酸序列;并检测引物与线粒体 DNA 的杂交,并对线粒体 DNA 进行定量来测量的。在某些具体实施方案中,检测步骤包括的技术可以是聚合酶链反应、寡聚核苷酸引物延伸试验、连接酶链反应或限制片段长度多态性分析。在某些具体实施方案中,线粒体 DNA 是通过用寡聚核苷酸引物在足以让引物与线粒体 DNA 杂交的条件和时间内,接触包含扩增的线粒体 DNA 的样品,所述寡聚核苷酸引物具有与存在于扩增的线粒体 DNA 中的序列互补的核苷酸序列;并检测引物与线粒体 DNA 的杂交,并对线粒体 DNA 进行定量来测量的。在某些具体实施方案中,检测步骤包括的技术可以是聚合酶链反应、寡聚核苷酸引物延伸试验、连接酶链反应或限制片段长度多态性分析。在某些具体实施方案中,使用的扩增线粒体 DNA 的技术可以是聚合酶链反应、转录扩增系统或自主序列复制。在某些具体实施方案中,线粒体 DNA 是通过用寡聚核苷酸引物在足以让引物与线粒体 DNA 杂交的条件和时间内,接触包含线粒体 DNA 的生物样品,所述寡聚核苷酸引物具有与存在于线粒体 DNA 中的序列互补的核苷酸序列;并检测引物与线粒体 DNA 的杂交和延伸以制备产物,并对线粒体 DNA 进行定量来测量的。在某些具体实施方案中,对比步骤包括通过用寡聚核苷酸引物在足以让引物与线粒体 DNA 杂交的条件和时间内,接触包含扩增的线粒体 DNA 的样品,所述寡聚核苷酸引物具有与存在于扩增的线粒体 DNA 中的序列互补的核苷酸序列,并检测引物与线粒体 DNA 的杂交和延伸以制备产物,并对线粒体 DNA 进行定量来测量线粒体 DNA。在某些具体实施方案中,所使用的扩增线粒体 DNA 的技术可以是聚合酶链反应(PCR)、包括定量和竞争性 PCR (Ahmed 等, BioTechniques 26:290-300, 1999)、转录扩增系统或自主序列复制。在某些具体实施方案中,样品中线粒体 DNA 的量是利用寡聚核苷酸引物延伸试验来测定的。在其它具体实施方案中,线粒体 DNA 的量是通过在结合到双链核酸上的可测定的标记化合物(例如溴化乙啶)的存在下,将样品利用氯化铯梯度从核 DNA 中分离出来(参见例如, Welter 等, Mol. Biol. Rep. 13:17-120, 1988),并对应于线粒体和核 DNA 的相对和 / 或绝对信号进行比较来测定的。

[1513] 在其它具体实施方案中,线粒体功能指标是样品中每个细胞的 ATP 量。该方法可

以包括测量样品中每一线粒体的 ATP 量, 测量样品中每单位蛋白质的 ATP 量, 测量样品中每单位线粒体质量的 ATP 量, 测量样品的每单位线粒体蛋白质中的 ATP 量。在某些具体实施方案中, 线粒体功能指标是样品中 ATP 的合成速率或 ATP 生物合成因子。该方法可以包括测量 ATP 生物合成因子的催化活性, 测定样品中每一线粒体的 ATP 生物合成因子活性, 测定样品的每单位线粒体质量的 ATP 生物合成因子活性, 测定样品的每单位蛋白质的 ATP 生物合成因子活性, 测量 ATP 生物合成因子的数量, 测定样品的每一线粒体的 ATP 生物合成因子数量和 / 或测定样品的每单位蛋白质的 ATP 生物合成因子数量。

[1514] 在其它具体实施方案中, 线粒体功能指标可以是以下的一种或多种: 自由基产生、活性氧物质(reactive oxygen species)、蛋白质的亚硝基化、蛋白质的羰基改性、DNA 氧化、mtDNA 氧化、蛋白质氧化、蛋白质羰基改性、蛋白质的丙二醛加合物(adducts)、糖化氧化(glycoxidation product)产物、脂质过氧化产物、8'-OH- 鸟苷加合物、BARS、对细胞内钙增高的细胞反应和 / 或对至少一种凋亡因子的细胞反应。在某些具体实施方案中, 线粒体功能指标是氧消耗, 它可以根据任何多种已知的方法来确定(例如, Wu 等, 1999 Cell 98:115; Li 等, 1999 J. Biol. Chem. 274:17534)。

[1515] 功能性线粒体包含由位于线粒体 DNA (mtDNA) 中的线粒体基因编码和由不位于环状线粒体基因组的线粒体外基因(例如核基因)编码的基因产物。16.5kb 的 mtDNA 编码 22 个 tRNA、两种核糖体 RNA (rRNA) 和 13 种电子传递链(ETC) 的酶, 所述电子传递链为精细多复合体线粒体组件(assembly), 例如呼吸氧化磷酸化发生在这里。绝大多数线粒体的结构和功能蛋白质是由线粒体外的, 并且可能绝大多数情况下是核、基因所编码的。因此, 线粒体和线粒体外基因可以通过基因产物及其下游中间体, 包括代谢物、分解产物、底物、前体、辅助因子等直接或间接地相互作用。由于 mtDNA 缺陷、线粒体外 DNA 缺陷、线粒体或线粒体外基因产物缺陷、下游中间体缺陷或这些和其它因素的组合可以导致线粒体功能的改变, 例如电子传递活性损害, 氧化磷酸化缺陷或自由基生成增多。

[1516] 在某些具体实施方案中, 本发明提供的一种酶是线粒体功能指标。该酶可以是线粒体酶, 它还可以是 ETC 酶或三羧酸循环酶。该酶还可以是 ATP 生物合成因子, 它可以包括如本发明提供的 ETC 酶和 / 或三羧酸循环酶或其它酶或与产生 ATP 有关的细胞成分。“非酶”是指不是酶的线粒体功能指标(即, 它不是本发明提供的线粒体酶或 ATP 生物合成因子)。在某些其它具体实施方案中, 酶是线粒体功能的共同指标(co-indicator)。下列酶可能不是本发明的线粒体功能指标, 但可能是本发明提供的线粒体功能共同指标: 柠檬酸合成酶(EC 4.1.3.7)、己糖激酶 II (EC 2.7.1.1)、细胞色素 C 氧化酶(EC 1.9.3.1)、磷酸果糖激酶(EC 2.7.1.11)、磷酸甘油醛脱氢酶(EC 1.2.1.12)、糖原磷酸化酶(EC 2.4.1.1)、肌酸激酶(EC 2.7.3.2)、NADH 脱氢酶(EC 1.6.5.3)、甘油 3- 磷酸脱氢酶(EC 1.1.1.8)、磷酸丙糖脱氢酶(EC 1.2.1.12)、和苹果酸脱氢酶(EC 1.1.1.37)。

[1517] 在其它具体实施方案中, 线粒体功能指示剂是任何 ATP 生物合成因子、ATP 的产生、线粒体质量或线粒体数量、自由基的产生、对细胞内钙增加的细胞反应和 / 或对凋亡因子的细胞反应。在某些具体实施方案中, 线粒体 DNA 含量可能不是线粒体功能的指示剂, 但可能是本发明提供的线粒体功能的共预报剂(predictor)或线粒体功能的共指示剂。

[1518] i. 酶线粒体功能指标

[1519] 在某些具体实施方案中, 用于鉴定调节线粒体质量和 / 或功能的药物的方法包括

检测和 / 或绝对或相对地测量生物待测样品中至少一种线粒体功能指标, 其中线粒体功能指标是酶。本发明提供的这种酶可以是线粒体酶或作为酶的 ATP 生物合成因子, 例如 ETC 酶或三羧酸循环酶。

[1520] 在有关用于鉴定调节线粒体质量和 / 或功能的药物的方法的上下文中涉及的“酶量”、“酶催化活性”或“酶表达水平”是指包括有关任何线粒体酶的量、活性或表达水平或 ATP 生物合成因子的量、活性或表达水平; 它们各自还可以包括, 例如 ETC 酶的量、活性或表达水平或三羧酸循环酶的量、活性或表达水平。在本发明最优选的具体实施方案中, 酶是本发明提供的具有酶催化活性的天然或重组的蛋白或多肽。作为非限定性的例子, 这种酶可以是酶、全酶、酶复合物、酶亚单位、酶片段、衍生物或类似物或等等, 包括截短的、处理的或裂解的酶。

[1521] 本发明提供的可以作为线粒体功能指标的线粒体酶是指具有酶催化活性和 / 或功能的线粒体分子成分, 其作为酶辅助因子能够影响酶的催化活性。本发明所使用的线粒体是由“线粒体分子成分”组成, 其可以是蛋白质、多肽、肽、氨基酸或其衍生物; 脂质、脂肪酸或等等、或其衍生物; 碳水化合物、糖或等等或其衍生物, 核酸、核苷酸(nucleotide)、核苷(nucleoside)、嘌呤、嘧啶或相关分子、或其衍生物, 或等等; 或任何这些成分的共价或非共价复合的组合、或任何其它稳定的生物分子或线粒体的临时成分。

[1522] 可以作为本发明提供的线粒体功能指标或线粒体功能共同指标的线粒体酶, 或可以作为本发明提供的线粒体功能指标的 ATP 生物合成因子可以包括 ETC 酶, 其是指任何线粒体分子成分, 它是与线粒体内膜和线粒体基质有关的线粒体电子传递链(ETC)复合体的线粒体酶成分。ETC 酶可以包括由线粒体和核基因编码的任何多 ETC 亚单位多肽。ETC 通常被描述为包含复合体 I(NADH:辅酶 Q 还原酶)、复合体 II(琥珀酸脱氢酶)、复合体 III(辅酶 Q:细胞色素 C 氧化还原酶)、复合体 IV(细胞色素 C 氧化酶)和复合体 V(线粒体 ATP 合成酶), 其中各个复合体包括多种多肽和辅助因子(对于综述, 参见例如 Walker 等, 1995 *Meths. Enzymol.* 260:14; Emster 等, 1981 *J. Cell Biol.* 91:227s-255s, 及其引用的参考文献)。

[1523] 可以作为本发明提供的线粒体功能指标的线粒体酶, 或者可以作为本发明提供的线粒体功能指标的 ATP 生物合成因子还可以包括三羧酸循环酶, 其包括调节还已知为柠檬酸循环或三羧酸循环的系列生物化学 / 生物能反应的线粒体分子成分(参见例如, Lehninger, *Biochemistry*, 1975 Worth Publishers, New York; Voet 和 Voet, *Biochemistry*, 1990 John Wiley & Sons, New York; Mathews 和 van Holde, *Biochemistry*, 1990 Benjamin Cummings, Menlo Park, Calif.)。三羧酸循环酶包括柠檬酸合酶、顺乌头酸酶、异柠檬酸脱氢酶、 $\alpha$ -酮戊二酸脱氢酶复合体、琥珀酰辅酶 A 合成酶、琥珀酸脱氢酶、延胡索酸酶和苹果酸脱氢酶的亚单位和辅助因子。三羧酸循环酶还包括功能上与三羧酸循环的反应相联系的酶和辅助因子, 例如烟酰胺腺嘌呤二核苷酸、辅酶 A、焦磷酸硫胺素、硫辛酰胺、二磷酸鸟苷、黄素腺嘌呤二核苷酸和二磷酸核苷激酶。

[1524] 本发明所述的方法还部分涉及 2 型糖尿病与线粒体功能指标的相关性, 所述线粒体功能指标可以是 ATP 生物合成因子、变化的 ATP 量或变化的 ATP 产量。例如, 线粒体 ATP 生物合成降低可能是从中可以确定患 2 型糖尿病的危险的线粒体功能指标。

[1525] “ATP 生物合成因子”是指任何天然生成的提高线粒体中 ATP 产生效率的细胞成分。这样的细胞成分可以是蛋白质、多肽、肽, 氨基酸、或其衍生物、脂质、脂肪酸或

等等、或其衍生物；碳水化合物、糖或等等或其衍生物、核酸、核苷酸(nucleotide)、核苷(nucleoside)、嘌呤、嘧啶或相关分子、或其衍生物，或等等。无论这种 ATP 生物合成因子是否是核基因或核外基因(例如线粒体基因)的产物，ATP 生物合成因子至少包括 ETC 和三羧酸循环的成分(参见例如，Lehninger, Biochemistry, 1975 Worth Publishers, New York; Voet 和 Voet, Biochemistry, 1990 John Wiley & Sons, New York; Mathews 和 van Holde, Biochemistry, 1990 Benjamin Cummings, Menlo Park, Calif.)以及任何参与 ATP 合成的蛋白质、酶或其它细胞成分。参与 ATP 合成可以包括但无需限于：催化与 ATP 合成有关的任何反应、ATP 或酶辅助因子的横跨膜输入和 / 或输出、编码线粒体酶的基因的转录和 / 或这种基因转录的翻译。

[1526] 确定细胞成分是否为 ATP 生物合成因子的组合物和方法为本领域所熟知，并且包括确定 ATP 生成的方法(包括确定样品中的 ATP 生成速率)和 ATP 自身定量的方法。ATP 生物合成因子对 ATP 生成的贡献可以利用例如向细胞或无细胞体系加入的分离的 ATP 生物合成因子来确定。ATP 生物合成因子可以直接地或间接地调节影响 ATP 生成的生物合成途径中的一步或多步。例如，ATP 生物合成因子可以是催化导致 ATP 生成的特定化学反应的酶。在另一个例子中，ATP 生物合成因子可以是提高这种酶的效率的辅助因子。在另一个例子中，ATP 生物合成因子可以是直接或间接影响 ATP 生物合成途径的被引入细胞或无细胞体系的外源性遗传因子。本领域普通技术人员能够很容易比较在候选的 ATP 生物合成因子存在和不存在时，ATP 生物合成途径产生的 ATP。ATP 生成的常规测定可以利用用于 ATP 定量检测的任何已知方法来完成，例如通过列举说明而不限于：通过任选地包括色谱分离的方法从样品中微分萃取；分光光度测定法；从接触过适当形式可检测的标记的 ATP 前体分子，例如<sup>32</sup>P 的样品中回收的标记的 ATP 并定量；对与 ATP 合成或降解有关的酶活性定量；或本领域已知的其它技术。因此，在本发明的某些具体实施方案中，生物样品中的 ATP 的量或生物样品中 ATP 的生成(包括 ATP 生成速率)可以是线粒体功能指标。在一个具体实施方案中，例如，可以通过测量催化 D- 荧光素氧化的荧光素酶的荧光来对 ATP 进行定量，这是一种 ATP 依赖性方法。

[1527] “酶催化活性”是指通过针对一种或多种特定的细胞功能的特定酶或一类酶所实现的任何功能。例如，“ATP 生物合成因子催化活性”是指通过本发明提供的有助于 ATP 生成的 ATP 生物合成因子所实现的任何功能。通常，酶催化活性表现为通过特定的酶，例如作为 ATP 生物合成因子的酶来促进化学反应，其中至少一种酶底物或反应物被共价修饰以形成产物。例如，酶催化活性可以导致底物或反应物因共价化学键的形成或断裂而被修饰，但本发明无需受到这种限制。测量酶催化活性的各种方法为本领域普通技术人员已知并取决于被测的特定活性。

[1528] 对于许多酶，包括本发明提供的线粒体酶或作为 ATP 生物合成因子的酶，酶催化活性的定量标准已经很好地建立起来。这些标准包括例如可以由国际单位(IU)、酶周转率、催化速率常数( $K_{cat}$ )、Michaelis-Menten 常数( $K_m$ )、特定活性、用于测量至少一种酶催化活性水平的本领域已知的任何其它酶学方法所定义的活性。线粒体酶，例如 ATP 生物合成因子的特定活性可以以每单位时间并进一步地任选为每单位样品质量(例如每单位蛋白质或每单位线粒体质量)中可检测的转化为产物的底物的单位来表示。

[1529] 在某些具体实施方案中，酶催化活性可以以样品中每单位总蛋白每单位时间可

检测的被酶转化为产物的底物的单位,样品中每单位线粒体质量每单位时间可检测的被酶转化为产物的底物的单位,或者样品中每单位线粒体蛋白质量每单位时间可检测的被酶转化为产物的底物的单位来表示。酶催化活性的产物可以通过取决于特定产物的量和理化性质的适当方法来检测。因此,可以通过例如举例说明而不限制于辐射测量法、比色法、分光光度法、荧光测定法、免疫测定法或质谱分析方法或本领域普通技术人员容易明白的其它适当方法来检测。

[1530] 在某些具体实施方案中,酶催化活性的产物的检测可以直接完成,而在某些其它具体实施方案中,产物的检测可以通过向底物或反应物引入可检测的指示部分或标记来完成,例如标记酶、染料、放射性核素、发光基团、荧光基团或生物素等。在分析酶催化活性的反应之后,未反应的底物和 / 或反应产物中存在的所述标记的量是利用适用于特定的可检测指示部分或标记的方法来确定的。对于放射性基团,放射性核衰减监测、闪烁计数、亲近闪烁分析(SPA)或放射自显影方法通常是适用的。对于免疫测量,可以制备适当标记的抗体包括例如具有放射性核素、荧光基团、亲和标记、生物素或生物素模拟序列(biotin mimetic sequences)的抗体或制备成抗体-酶偶联物的抗体(参见,例如 Weir, D. M., *Handbook of Experimental Immunology*, 1986, Blackwell Scientific, Boston; Scouten, W. H., *Methods in Enzymology* 135:30-65, 1987; Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988; Haugland, 1996 *Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals*-Sixth Ed., *Molecular Probes*, Eugene, Oreg. ; Scopes, R. K., *Protein Purification: Principles and Practice*, 1987, Springer-Verlag, New York; Hermanson, G. T. 等, *Immobilized Affinity Ligand Techniques*, 1992, Academic Press, Inc., New York; Luo 等, 1998 *J. Biotechnol.* 65:225 及其引用的参考文献)。光谱方法可用于检测染色(包括,例如酶反应的比色分析产物)、发光基团和荧光基团。生物素可以利用偶联到不同指示基团(通常是放射性或荧光基团或酶)上的亲和素或链霉亲和素来检测。酶指示基团通常可以通过加入底物(通常经过一段特定时间),然后通过光谱法、分光光度法或对反应产物的其它分析方法来检测。利用熟知的技术,标准品和标准添加物可用于确定样品中的酶催化活性水平。

[1531] 如上所述,ATP 生物合成因子的酶催化活性还可以包括导致 ATP 生成的其它功能性活性,不只涉及底物或反应物的共价变化的活性。例如举例说明而不作为限制,作为酶的 ATP 生物合成因子可以是横跨膜转运分子,它通过酶催化活性促进代谢物在细胞间隔之间运动。这种代谢物可以是 ATP 或涉及 ATP 合成的其它细胞成分,如基因产物及其下游中间体,包括代谢物、分解产物、底物、前体、辅助因子等。作为另一个非限定性的例子,无论其酶催化活性,作为酶的 ATP 生物合成因子瞬时以促进 ATP 合成的方式结合到涉及 ATP 合成的细胞成分上。这种结合可以例如将细胞成分传递至另一种涉及 ATP 合成的酶和 / 或以促进 ATP 合成的方式改变细胞成分的构象。此外,对于这个例子,这种构象的改变可能是信号传导途径、变构活化途径、转录激活途径或等等的一部分,其中细胞成分间的相互作用导致 ATP 生成。

[1532] 因此,ATP 生物合成因子可包括例如线粒体膜蛋白。适合的线粒体膜蛋白包括诸如腺嘌呤核苷酸转运体(ANT; 例如 Fiore 等, 1998 *Biochimie* 80:137; Klingenberg 1985 *Ann.*

New York Acad. Sci. 456:279)、电压依赖性阴离子通道(VDAC, 也称之为膜孔蛋白; 例如 Manella, 1997 J. Bioenergetics Biomembr. 29:525)、苹果酸天冬氨酸穿梭、线粒体钙单向转运体(例如, Litsky 等, 1997 Biochem. 36:7071)、解偶联蛋白(UCP-1, -2, -3; 参见例如, Jezek 等, 1998 Int. J. Biochem. Cell Biol. 30:1163)、己糖激酶、外周苯二氮草受体、线粒体间膜肌酸激酶, 亲环蛋白D、编码多肽的Bcl-2基因家族、三羧酸酯载体(tricarboxylate carrier) (例如, Iacobazzi 等, 1996 Biochim. Biophys. Acta 1284:9; Bisaccia 等, 1990 Biochim. Biophys. Acta 1019:250) 和二羧酸酯载体(dicarboxylate carrier) (例如, Fiermonte 等, 1998 J. Biol. Chem. 273:24754; Indiveri 等, 1993 Biochim. Biophys. Acta 1143:310; 对于线粒体膜转运体的全面综述参见例如, Zonatti 等, 1994 J. Bioenergetics Biomembr. 26:543 及其引用的参考文献) 的线粒体成分。

[1533] 在本发明使用的关于鉴定线粒体质量和 / 或功能调节剂的方法中, 酶量是指包括线粒体酶或本发明提供的作为 ATP 生物合成因子的酶的酶量, 或者另一种存在的 ATP 生物合成因子, 即被选择作为线粒体功能指标, 而不考虑酶催化活性的酶或 ATP 生物合成因子的有形存在的量。根据特定酶或 ATP 生物合成因子的理化性质来变化确定酶量的优选方法。在本发明最优选的具体实施方案中, 酶量的确定可以使用蛋白质化学中本领域技术人员很容易熟悉的常规方法, 例如举例说明而不限于以下更详细记载的方法, 来定量测定蛋白质或多肽的水平。

[1534] 因此, 酶量的确定可以采用本领域已知的任何适当方法, 其用于对作为本发明提供的酶或 ATP 生物合成因子的特定细胞成分定量, 在优选的具体实施方案中, 所述特定细胞成分为蛋白质或多肽。根据酶或 ATP 生物合成因子的种类和理化性质, 酶量的确定可以通过光密度测量法、质谱法、分光光度法、荧光测定法、免疫测定法、色谱法、电化学或定量检测特定细胞成分的任何其它方法进行。确定酶量的方法还包括有效用于检测酶催化活性的产物的上述方法, 包括直接测量酶量的方法和测量可检测的标记或指示部分的方法。在某些优选的具体实施方案中, 酶量是通过免疫测定分离的酶或 ATP 生物合成因子来确定的。在本发明某些优选的具体实施方案中, 用于定量测定生物分子如酶或 ATP 生物合成因子的这些和其它免疫和免疫化学技术可以利用本领域普通技术人员已知的多种分析方法, 包括但不限于酶联免疫吸附测定法(ELISA)、放射性免疫测定法(RIA)、荧光免疫法、免疫沉淀反应、平衡透析、免疫扩散和其它技术来实施。(参见例如, Harlow 和 Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988; Weir, D. M., Handbook of Experimental Immunology, 1986, Blackwell Scientific, Boston.)。例如, 该分析可以以 Western 印迹(blot) 的形式来实施, 其中来自生物样品的包含蛋白质的制品经凝胶电泳、转移至适当的膜并使之与对酶或作为蛋白或多肽的 ATP 生物合成因子具有特异性的抗体反应。之后利用本领域熟知的以及以上所述的适当的检测试剂来检测膜上抗体的存在。

[1535] 在某些具体实施方案中, 包括例如本发明提供的酶的线粒体功能的指标(或共同指标)可以以分离的形式存在, 例如从原始环境(例如, 如果是天然存在时的天然环境)中分离出来。例如, 活体动物中存在的天然生成的多肽不是分离的, 但是从天然系统中的某些或所有共存原料中分离得到的相同多肽是分离的。这种多肽可以是组合物的一部分, 并且由于这种组合物不是其天然环境的一部分, 多肽仍然是分离的。

[1536] 针对根据本发明的方法的用途,亲和技术在上下文提及的分离酶或 ATP 生物合成因子蛋白或多肽中是有效的,亲和技术可以包括利用涉及酶或 ATP 生物合成因子的特异性结合作用来实现分离的任何方法。例如,因为酶或 ATP 生物合成因子蛋白或多肽可以包含共价连接的寡糖片段,如在允许糖与凝集素结合的条件下,将酶(或 ATP 生物合成因子)结合到适当的固定化的凝集素上的亲和技术是一种特别有效的亲和技术。

[1537] 其它有效的亲和技术包括用于分离和 / 或检测特定蛋白或多肽抗原(例如,酶或 ATP 生物合成因子)的免疫学技术,该技术依赖于存在于因子上的抗原决定簇和抗原的抗体结合位点之间的特异性结合作用。抗体或其它亲和试剂与抗原的结合是“特异性的”,其中这种结合作用涉及的  $K_a$  大于或等于大约  $10^4 M^{-1}$ , 优选为大于或等于大约  $10^5 M^{-1}$ , 更优选为大于或等于大约  $10^6 M^{-1}$ , 并且还更优选为大于或等于大约  $10^7 M^{-1}$ 。结合搭档或抗体的亲合力可以很容易地利用常规技术,例如 Scatchard 等, Ann. New York Acad. Sci. 51:660 (1949) 中所述的方法来确定。

[1538] 免疫学技术包括但不限于免疫亲和层析、免疫沉淀反应、固相免疫吸附或其它免疫亲和方法。对于这些和其它有效的亲和技术,参见例如, Scopes, R. K., Protein Purification: Principles and Practice, 1987, Springer-Verlag, New York; Weir, D. M., Handbook of Experimental Immunology, 1986, Blackwell Scientific, Boston; 和 Hermanson, G. T. 等, Immobilized Affinity Ligand Techniques, 1992, Academic Press, Inc., California; 其全部并入本发明作为参考,并作为分离和表征复合物的相关技术,包括亲和技术的详细资料。

[1539] 如上所述,线粒体功能指标可以是蛋白质或多肽、例如酶或 ATP 生物合成因子。蛋白质或多肽可以是未修饰的多肽或者可以是经翻译后修饰的多肽,例如通过糖基化、磷酸化、脂肪酰化包括糖基化磷脂酰肌醇固定(anchor)修饰或等等、磷酯酶裂解如磷脂酰肌醇一特异性磷酯酶 c 介导的水解或等等、蛋白酶裂解、脱磷酸化作用或任何其它类型的蛋白翻译后修饰,如涉及共价化学键的形成或断裂的修饰。

[1540] ii 作为线粒体功能指标的线粒体质量、线粒体体积或线粒体数量

[1541] 在某些具体实施方案中,调节线粒体质量和 / 或功能的药物的鉴定方法包括检测和 / 或测量生物测试样品中的至少一种线粒体功能指标,其中该线粒体功能指标是绝对或相对的线粒体质量、线粒体体积或线粒体数量。

[1542] 线粒体质量、体积和 / 或线粒体数量的定量方法为本领域已知的,并且可以包括例如有代表性的生物样品的定量染色。典型地,线粒体的定量染色可以使用细胞器选择性探针或染料,包括但不限于线粒体选择性试剂,如结合到线粒体分子成分的荧光染料(例如壬基吖啶橙、MitoTrackers)或聚集在线粒体中作为线粒体内膜电化学电位的函数的电位测定染料(参见例如, Haugland, 1996 Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals, Sixth Ed., Molecular Probes, Eugene, Oreg.)来进行。作为另一个例子,线粒体质量、体积和 / 或数量可以通过形态学分析定量(例如, Cruz-Orive 等, 1990 Am. J. Physiol. 258:L148; Schwerzmann 等, 1986 J. Cell Biol. 102:97)。这些或本领域已知的用于样品中的线粒体质量、体积和 / 或线粒体数量定量的任何其它方法都处于本发明的考虑的范围内。例如,这种用于计算线粒体密度的定量测定法是被考虑的,但并不有意作为限制。在某些具体实施方案中,样品中线粒体蛋白质量是使用熟知的方法来测定的。例如,本

领域普通技术人员可以很容易使用已建立的细胞分离技术从生物样品中制备分离的线粒体组分,从而使用任何本领域熟知的多种蛋白质定量方法来确定蛋白质含量。

[1543] iii. 包括线粒体 DNA 含量的线粒体功能指标

[1544] 在其它具体实施方案中,鉴定线粒体质量和 / 或功能的调节剂的方法包括检测和 / 或测量生物测试样品中至少一种线粒体功能指标,其中该线粒体功能指标是线粒体 DNA 的绝对或相对的量。线粒体 DNA (mtDNA) 含量的定量可以通过任何有效用于该目的的多种已知的技术来完成,包括但不限于寡聚核苷酸探针杂交或使用具有线粒体 DNA 序列特异性的寡聚核苷酸引物的聚合酶链反应(PCR) (参见例如 Miller 等, 1996 J. Neurochem. 67:1897; Fahy 等, 1997 Nucl. Ac. Res. 25:3102; 美国专利申请 No. 09/098,079; Lee 等, 1998 Diabetes Res. Clin. Practice 42:161; Lee 等, 1997 Diabetes 46(suppl. 1):175A)。一种特别有效的方法是 Fahy 等 (Nucl. Acids Res. 25:3102, 1997) 以及 Ghosh 等公开 (Am. J. Hum. Genet. 58:325, 1996) 的引物延伸试验。适当的杂交条件可以在引用的参考文献中找到或者使用本领域普通技术人员熟知的方法,根据特定的核酸靶点和选择的寡聚核苷酸探针来作出变化(参见例如, Ausubel 等, Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing, 1987; Sambrook 等, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, 1989)。

[1545] 基于引物与靶序列的特异性杂交来测定样品中存在的特异性核酸靶序列(例如 mtDNA) 的量的其它有效技术的例子包括:靶核酸序列的特异性扩增以及扩增产物的定量,包括但不限于聚合酶链反应(PCR, Gibbs 等, Nucl. Ac. Res. 17:2437, 1989)、转录扩增系统(例如, Kwoh 等, 1989 Proc. Nat. Acad. Sci. 86:1173)、链置换扩增(例如, Walker 等, Nucl. Ac. Res. 20:1691, 1992; Walker 等, Proc. Nat. Acad. Sci. 89:392, 1992) 以及自主序列复制系统(3SR, 参见例如, Ghosh 等, in Molecular Methods for Virus Detection, 1995 Academic Press, New York, pp. 287-314; Guatelli 等, Proc. Nat. Acad. Sci. 87:1874, 1990),其引用的参考文献被全部引入本发明作为参考。其它有效的扩增技术包括例如连接酶链反应(例如, Barany, Proc. Nat. Acad. Sci. 88:189, 1991)、Q-β 复制酶试验(Cahill 等, Clin. Chem. 37:1482, 1991; Lizardi 等, Biotechnol. 6:1197, 1988; Fox 等, J. Clin. Lab. Analysis 3:378, 1989) 和环状探针技术(例如, Cloney 等, CHn. Chem. 40:656, 1994),以及熟悉本领域的人员已知的其他适合的方法。

[1546] 引物延伸试验产物的序列长度或分子量可以利用本领域技术人员熟悉的用于表征核酸序列大小的任何已知方法来测定。在一个具体实施方案中,引物延伸产物是通过凝胶电泳来表征的。在另一个具体实施方案中,引物延伸产物是通过质谱( MS) 来表征的,其还可以包括基质辅助激光解吸电离 / 飞行时间 (MALDI-TOF) 分析或本领域技术人员已知的其它 MS 方法。参见例如,美国专利 Nos. 5,622,824、5,605,798 和 5,547,835。在另一个具体实施方案中,引物延伸产物是通过液相或气相色谱来表征的,其还可以包括高效液相色谱 (HPLC)、气相色谱 - 质谱 (GC-MS) 或其它熟知的色谱方法。

[1547] iv. 作为线粒体功能指标的对细胞内钙增加的细胞反应

[1548] 由于与检测和 / 或测量线粒体功能指标有关,本发明的某些方面涉及监测细胞内钙的动态平衡和 / 或对干扰这种动态平衡的细胞反应,包括生理性和病理生理性的钙调节。对增加的细胞内钙的细胞反应范围广泛,正如用于检测这种反应的方法和试剂的

范围一样。许多特异性细胞反应为本领域普通技术人员已知的；这些反应取决于选择的生物样品中存在的特定细胞类型。作为非限定性的例子，对增加的细胞内钙的细胞反应包括特定的分泌产物的分泌、特定的预先形成的成分的胞吐作用、糖原代谢和细胞增殖增加(参见例如, Clapham, 1995 Cell 80:259; Cooper, The Cell-AMolecular Approach, 1997 ASM Press, Washington, D. C. ;Alberts, B. , Bray, D. , 等 , Molecular Biology of the Cell, 1995 Garland Publishing, New York)。

[1549] 作为简要的背景,线粒体内钙的正常变化是与正常代谢调节相关的(Dykens, 1998 in Mitochondria & Free Radicals in Neurodegenerative Diseases, Beal, Howell 和 Bodis-Wollner, Eds., Wiley-Liss, New York, pp. 29-55 ;Radi 等 , 1998 in Mitochondria & Free Radicals in Neurodegenerative Diseases, Beal, Howell 和 Bodis-Wollner, Eds., Wiley-Liss, New York, pp. 57-89 ;Gunter 和 Pfeiffer, 1991, Am. J. Physio. 27:C755 ;Gunter 等 , 1994, Am. J. Physiol. 267:313)。例如,线粒体游离钙的水平波动可能是针对 ATP 利用增加而调节氧化代谢的原因,这是通过酶的变构调节(由 Crompton 等 , 1993 Basic Res. Cardiol. 88:513-523 综述) 和磷酸甘油穿梭(Gunter 等 , 1994 J. Bioenerg. Biomembr. 26:471) 实现的。

[1550] 正常线粒体功能包括通过截留(sequestration)线粒体基质中的过量钙来调节细胞液内游离钙的水平。根据细胞类型,细胞液内钙浓度通常为 50-100nM。在功能正常的细胞中,当钙水平达到 200-300nM,线粒体开始聚集,发挥平衡通过线粒体内膜中的钙单向转运体的钙流入和通过钠依赖性和钠非依赖性钙载体的钙流出的功能。在某些实例中,无论钙调节功能障碍是否是线粒体功能的原因或结果,这种细胞内钙动态平衡的破坏是与线粒体功能有关的疾病(如 2 型糖尿病)的特征。

[1551] 因此,如上所述,增高的线粒体钙水平可以因细胞液内游离钙开始升高而聚集。这种增高的线粒体钙浓度结合 ATP 减少或与线粒体病理有关的其它病症可导致线粒体内膜电位的破坏(参见, Gunter 等 , 1998 Biochim. Biophys. Acta 1366:5 ;Rottenberg 和 Marbach, 1990, Biochim. Biophys. Acta 1016:87)。生物样品中线粒体外(细胞液)钙水平比线粒体中存在的水平要高可以作为个体患 2 型糖尿病的风险因素。就 2 型糖尿病而言,线粒体或细胞液钙水平可以从上述范围变动,并且其范围可以是例如大约 1nM 到大约 500mM,更典型为大约 10nM 到大约 100mM,并通常为大约 20nM 到大约 1mM,其中“大约”表示 +/-10%。已知本领域中有多种钙指标,包括但不限于,例如 fura-2 (McCormack 等 , 1989 Biochim. Biophys. Acta 973:420) ;mag-fura-2 ;BTC (美国专利 No. 5, 501, 980) ;fluo-3、fluo-4 和 fluo-5N (美国专利 No. 5, 049, 673);rhod-2 ;benzothiaza-1 ;和 benzothiaza-2 (所有这些都可以从 Molecular Probes, Eugene, Oreg 购得)。根据用于鉴定 2 型糖尿病风险性的本发明的方法,监测细胞内钙的这些或任何其它方法是要考虑的。

[1552] 为了监测作为对增加的细胞内钙的细胞反应的线粒体功能指标,诱导增加细胞质和线粒体的钙,包括钙离子载体浓度的化合物为本领域普通技术人员所熟知,测量细胞内钙和线粒体内钙的方法也是如此(参见例如, Gunter 和 Gunter, 1994 J. Bioenerg. Biomembr. 26:471 ;Gunter 等 , 1998 Biochim. Biophys. Acta 1366:5 ;McCormack 等 , 1989 Biochim. Biophys. Acta 973:420 ;Orrenius 和 Nicotera, 1994 J. Neural. Transm. Suppl. 43:1 ;Leist 和 Nicotera, 1998 Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 132:79 ; 以

及 Haugland, 1996 Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals, Sixth Ed., Molecular Probes, Eugene, Oreg. )。因此,根据即刻公开的内容和熟知的方法,本领域技术人员可以容易地选择用于本方面的合适的离子载体(或导致细胞质和 / 或线粒体的钙离子浓度升高的另一种化合物)以及检测细胞内和 / 或线粒体内钙的适当方法。

[1553] 钙离子流入线粒体似乎主要取决于,并可能完全取决于在线粒体内膜通过电子传递建立的跨膜电化学负电位(DY),并且在缺乏 DY 时甚至施加 8 倍量的钙浓度梯度都无法产生这种流入(Kapus 等, 1991 FEBS Lett. 282:61)。因此,当膜电位耗尽时,正如出现解偶联剂如 2,4-二硝基苯酚和簇基氰化物对-三氟-甲氧基苯腙(FCCP)时,线粒体可以释放钙。因此,根据本发明的某些具体实施方案, DY 的破坏可能因细胞液游离钙流入线粒体而被强化,如同可能在某些包括患有 2 型 DM 的受试者的细胞所遭遇的生理状况下出现的情况。对这种破坏的检测可以通过本发明提供的多种方法来实现。

[1554] 典型地,线粒体膜电位可以根据本领域技术人员容易熟悉的方法来确定,包括但不限于检测和 / 或测量可检测的化合物,如荧光指示剂、光探针和 / 或灵敏性 pH 和离子选择性电极(参见例如, Ernster 等, 1981 J. Cell Biol. 91:227s 及其引用的参考文献;还参见 Haugland, 1996 Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals, Sixth Ed., Molecular Probes, Eugene, Oreg., pp. 266-274 和 589-594)。例如,通过举例说明但不作为限制的,荧光探针 2-,4-二甲基氨基苯乙烯基-N-甲基吡啶盐(DASPMI)和四甲基罗丹明酯(tetramethylrhodamine esters)(例如,四甲基罗丹明甲酯 TMRM;四甲基罗丹明乙酯(TMRE)或相关化合物(参见,例如 Haugland, 1996, 同上)可以在线粒体中聚集后被定量,这是一种依赖于线粒体膜电位并与线粒体膜电位成比例的方法(参见例如, Murphy 等, 1998 in Mitochondria & Free Radicals in Neurodegenerative Diseases, Beal, Howell 和 B odis-Wollner, Eds., Wiley-Liss, New York, pp. 159-186 及其引用的参考文献;以及环球信息网 probes. com/handbook/toc. html 上的 Molecular Probes On-line Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals)。其它可使用的荧光可检测化合物包括但不限于罗丹明 123、罗丹明 B 己酯、DiOC<sub>6</sub>(3)、JC-1[5,5',6,6'-四氯-1,1',3,3'-四乙基苯咪唑簇花青碘化物(参见 Cossarizza 等, 1993 Biochem. Biophys. Res. Comm. 197:40; Reers 等, 1995 Meth. Enzymol. 260:406)、rhod-2(参见美国专利 No. 5,049,673;所有前述化合物都可以从 Molecular Probes, Eugene, Oreg 购得)以及罗丹明 800 (Lambda Physik, GmbH, Gottingen, Germany;参见 Sakanoue 等, 1997 J. Biochem. 121:29)。用于监测线粒体膜电位的方法还在美国专利申请 No. 09/161,172 中公开。

[1555] 线粒体膜电位还可以通过非荧光方法,例如通过使用 TTP(四苯基膦离子)和 TTP-敏 感 电 极(Kamo 等, 1979 J. Membrane Biol. 49:105;Porter 和 Brand, 1995 Am. J. Physiol. 269:R1213)来测量。本领域技术人员将能够选择适当的可检测化合物或其它适当的方法用于测量 DY<sub>m</sub>。通过举例说明而非限制的, TMRM 稍微优于 TMRE, 因为在从线粒体流出后, TMRE 在内质网(endoplasmic reticulum)和细胞质中产生的残留信号比 TMRM 稍微多一些。

[1556] 作为另一个非限制性的例子,膜电位可以利用基质体积和 / 或吡啶核苷氧化还原测定法结合分光光度法或荧光定量法,由间接测量的线粒体对可检测的荷电溶质的渗透性来另外计算或选择性计算。膜电位依赖性的跨线粒体内膜的基质交换扩散还可

以提供膜电位的间接测量。(参见例如, Quinn, 1976, The Molecular Biology of Cell Membranes, University Park Press, Baltimore, Md., pp. 200-217 及其引用的参考文献)。

[1557] 如上所述,因细胞内钙增加引起钙在线粒体的异常聚集的高度敏感性也可以表征 2 型糖尿病。根据本发明,这种线粒体敏感性可提供线粒体功能指标。此外,多种生理上相关的试剂,包括过氧化氢和自由基可以与钙起到协同作用以诱导 DY 的破坏(Novgorodov 等, 1991 Biochem. Biophys. Acta 1058:242; Takeyama 等, 1993 Biochem. J. 294:719; Guidox 等, 1993 Arch. Biochem. Biophys. 306:139)。

[1558] v. 包括对细胞凋亡刺激的反应的线粒体功能指标

[1559] 在另一个具体实施方案中,鉴定线粒体质量和 / 或功能调节剂的方法可以包括检测和 / 或测量线粒体功能指标,其中线粒体功能包括细胞程序性死亡或凋亡。对各种已知的致凋亡刺激的反应的范围广泛,正如用于检测这种反应的方法和试剂的范围一样。

[1560] 在导致多种细胞类型的凋亡的系列事件中,线粒体功能障碍被认为很关键的。(Kroemer 等, FASEB J 9:1277-87, 1995)。线粒体生理可以处于细胞程序性死亡的初期事件中(Zamzami 等, J. Exp. Med. 182:367-77, 1995; Zamzami 等, J. Exp. Med. 181:1661-72, 1995),并且由这种线粒体功能引起的活性氧物质(ROS)水平的提高可能引起凋亡级联反应(Ausserer 等, Mol Cell Biol 14:5032-42, 1994)。在某些细胞类型中,线粒体膜电位(DY<sub>m</sub>)的降低是在伴随凋亡的核 DNA 降解之前发生的。在无细胞系统中,富含线粒体而非核的组分能够诱导核凋亡(Newmeyer 等, Cell 70:353-64, 1994)。导致细胞代谢状态改变如提高细胞内 ROS 的线粒体呼吸活性的混乱可能发生于 2 型糖尿病中,并可能通过凋亡机制进一步诱导致病事件。

[1561] 氧化应激的线粒体可以释放能诱导染色体凝缩,即一种凋亡前的事件的预先形成的可溶性因子(Marchetti 等, Cancer Res. 56:2033-38, 1996)。此外,抗凋亡基因产物 Bcl-2 家族的成员是位于线粒体外膜中的(Monaghan 等, J. Histochem. Cytochem. 40:1819-25, 1992),并且这些蛋白似乎保护膜免受氧化应激(Korsmeyer 等, Biochim. Biophys. Act. 1271:63, 1995)。Bcl-2 在这种膜上的定位似乎对调节凋亡是非常必需的(Nguyen 等, J. Biol. Chem. 269:16521-24, 1994)。因此,线粒体生理上的改变可能是凋亡的重要调节剂。

[1562] 因此,线粒体功能受损可以表现为一种或多种凋亡因子诱导凋亡的阈值较低。很多凋亡因子是熟悉本领域的人员已知的(参见例如, Green 等, 1998 Science 281:1309 及其引用的参考文献),可以包括举例说明但不受限制的是:肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ );Fas 配体;谷氨酸;N- 甲基-D- 天冬氨酸(NMDA);白介素-3(IL-3);除莠霉素 A(Mancinit 等, 1997 J. Cell. Biol. 138:449-469);百草枯(Costantini 等, 1995 Toxicology 99:1-2);乙二醇;蛋白激酶抑制剂,例如,星孢菌素(staurosporine)、calphostin C、咖啡酸苯乙酯、氯化白屈菜红碱、染料木黄酮;1-(5- 异喹啉磺酰基)-2- 甲基哌嗪;KN-93;N-[2-((对-溴肉桂酰) 氨基) 乙基]-5-5- 异喹啉磺胺;d- 赤式神经鞘鞍醇衍生物;紫外辐射;离子载体,例如离子霉素和缬氨霉素;MAP 激酶诱导剂,例如茴香霉素、N- 花生四烯酸氨基乙醇;细胞周期阻断剂,例如阿非迪霉素(aphidicolin)、秋水仙酰胺、5- 氟尿嘧啶,高三尖杉酯碱;乙酰胆碱酯酶抑制剂,例如小檗碱;抗雌激素类,例如他莫昔芬;促氧化剂,例如叔丁基过氧化物、过氧化氢;自由基,例如一氧化氮;无机金属离子,例如镉;DNA 合成

抑制剂,例如放线菌素 D ;DNA 嵌入剂,例如阿霉素、硫酸博来霉素、羟基脲、甲氨蝶呤、丝裂霉素 C、喜树碱、柔红霉素;蛋白质合成抑制剂,例如放线菌酮、嘌呤霉素、雷帕霉素;影响微管蛋白形成或稳定性的药物,例如长春碱、长春新碱、秋水仙碱、4- 羟基苯基维甲胺 (4-hydroxyphenylretinamide)、紫杉醇 (paclitaxel) ;Bad 蛋白、Bid 蛋白和 Bax 蛋白(参见,例如 Jurgenmeier 等, 1998 Proc. Nat. Acad. Sci. USA95:4997-5002 及其引用的参考文献);钙和无机磷酸盐 (Kroemer 等, 1998 Ann. Rev. Physiol. 60:619)。

[1563] 在一个具体实施方案中,其中线粒体功能指标是细胞对凋亡因子的反应,可以对生物样品中被怀疑正在凋亡的细胞进行关于形态学、渗透性以及其它可以表征凋亡状态的变化的检测。例如,举例说明但不限于,许多类型的细胞的凋亡会改变形态学上的外观,如:质膜起泡、细胞形状变化、基体粘附能力丧失以及其它本领域普通技术人员例如通过光学显微镜可以很容易检测到的形态变化。作为另一个例子,正在凋亡的细胞染色体会出现断裂和分解,这些现象通过显微镜和 / 或者通过使用本领域已知的包括荧光染料的 DNA 特异性或染色质特异性的染料观察很明显。这些细胞还会表现出质膜通透性的变化,这可以通过采用活体染料(例如碘化丙啶、台盼蓝)或者检测乳酸脱氢酶向细胞外环境渗漏来检测。对于熟悉本领域的人员来说,这些以及其它通过形态学标准、细胞膜通透性改变及相关变化来检测细胞凋亡的方法是显而易见的。

[1564] 在另一个具体实施方案中,其中线粒体功能指标是细胞对凋亡因子的反应,可以对生物样品的细胞中的细胞膜磷脂酰丝氨酸 (PS) 从质膜的内层向外层的转位作用进行分析,这种转位作用可以通过例如测量磷脂酰丝氨酸特异性蛋白膜联蛋白与细胞膜外层的结合来检测 (Martin 等, J. Exp. Med. 182:1545, 1995 ;Fadok 等, J. Immunol. 148:2207, 1992.)。在另一个具体实施方案中,对凋亡因子的细胞 / 生化反应是通过分析被称为半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶的凋亡活化蛋白酶家族的任何成员的特异性蛋白酶的活性诱导来确定的(参见,例如, Green 等, 1998 Science 281:1309)。本领域普通技术人员应该很容易熟悉半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶活性的测定方法,例如通过测定半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶介导的对特异性识别的蛋白底物的裂解作用。这些底物可以包括,例如聚-(二磷酸腺苷 - 核糖) 聚合酶 (PARP) 及其它被本领域已知的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶裂解的天然存在的或合成的多肽和蛋白质(参见,例如, Ellerby 等, 1997 J. Neurosci. 17:6165)。已经定义了合成的肽底物 (Kluck 等, 1997 Science 275:1132;Nicholson 等, 1995 Nature 376:37)。底物的其它非限定性的例子包括核蛋白,如 U1-70kDa 和 DNA-PKcs (Rosen 和 Casciola-Rosen, 1997 J. Cell. Biochem. 64:50; Cohen, 1997 Biochem. J. 326:1)。

[1565] 如上所述,线粒体内膜可以表现出高度的选择性和对许多小分子溶质的通透性的调节,但大分子(小于大约 10kDa) 不能通过。(参见,例如, Quinn, 1976 The Molecular Biology of Cell Membranes, University Park Press, Baltimore, Md.)。然而,在进行凋亡的细胞中,线粒体膜电位的破坏可能会伴随着通透性的提高,使得大分子经扩散作用通过线粒体膜。因此,在本发明方法的另一个具体实施方案中,其中线粒体功能指标是细胞对凋亡因子的反应,检测线粒体蛋白,例如从凋亡细胞的线粒体中泄露的细胞色素 C 可以为对凋亡因子的反应提供依据,这是很容易确定的。(Liu 等, Cell 86:147, 1996)。这种对细胞色素 C 的检测可以采用分光光度法、免疫化学的方法及其它已经建立的测定特定蛋白存在的方法。

[1566] 例如,可以采用多种免疫学方法对细胞色素 C 从受到凋亡刺激(例如,离子霉素,一种熟知的钙离子载体)刺激的细胞中的释放进行追踪。因为可以根据脱辅基 - 细胞色素 C 和完整 - 细胞色素 C 的独特的分子量来区分两者,所以基质辅助激光解吸 / 电离飞行时间 (MALDI-TOF) 质谱与亲和捕获相结合非常适合于进行这种分析。例如,表面增强激光解析 / 离子化 (SELDI) 系统 (Ciphergen, Palo Alto, Calif.) 可以用来检测细胞色素 c 从凋亡因子处理的细胞的线粒体中释放。在这种方法中,细胞色素 c 特异性抗体被固定在固体支持物上用来捕获可溶性细胞提取物中存在的被释放的细胞色素 c。然后在能量吸收分子 (EAM) 的基质中包被被捕获的蛋白,采用脉冲激光激发将被捕获的蛋白从固体支持物表面解吸下来。蛋白的分子量可以通过其飞到 SELDI 质谱仪的检测器的飞行时间来确定。

[1567] 本领域普通技术人员很容易意识到还可以有其它适合于凋亡定量的技术,这些用于测定以细胞对促凋亡刺激的反应作为线粒体功能指标的技术也在本发明所提供的方法的范围之内。

[1568] vi. 以自由基的产生作为线粒体功能指标

[1569] 在某些具体实施方案中,用于鉴定线粒体质量和 / 或功能的调节剂的方法包括检测生物样品中作为线粒体功能指标的自由基的产生。尽管线粒体是生物系统中自由基的主要来源(参见,例如 Murphy 等, 1998 in *Mitochondria and Free Radicals in Neurodegenerative Diseases*, Beal, Howell 和 Bodis-Wollner, Eds., Wiley-Liss, New York, pp. 159-186 及其引用的参考文献),本发明所述的方法也不应该受到限制,无论是来源于特殊的亚细胞位置,自由基的产生仍可以作为线粒体功能的指标。例如,本领域已经知道很多导致自由基形成的细胞内生化途径,它们是通过由如黄素连接的氧化酶、超氧化物歧化酶或一氧化氮合成酶的酶催化的反应生成代谢物,如过氧化氢、一氧化氮或超氧自由基,检测这些自由基的方法也是本领域已知的(参见,例如 Kelver, 1993 *Crit. Rev. Toxicol.* 23:21; Halliwell B. 和 J. M. C. Gutteridge, *Free Radicals in Biology and Medicine*, 1989 Clarendon Press, Oxford, UK; Davies, K. J. A. 和 F. Ursini, *The Oxygen Paradox*, Cleup Univ. Press, Padova, IT)。线粒体功能,如电子传递链中的任何步骤出现差错,都可能导致高活性的自由基的生成。如上所述,由于线粒体功能而产生的自由基包括活性氧物质 (ROS),例如,超氧化物、过氧化亚硝酸盐和羟基自由基,及其它可能对细胞产生毒性的潜在的活性物质。因此,在某些具体实施方案中,线粒体功能指标可以是存在于生物样品中的可检测的自由基物质。在某些具体实施方案中,可检测的自由基是 ROS。

[1570] 可有效用作线粒体功能指标的自由基的检测方法为本领域已知,并取决于具体的自由基。通常,生物样品中自由基产生的水平可以根据本领域技术人员容易熟悉的方法进行测定,包括但不限于检测和 / 或测量:包括戊糖素 (pentosidine)、羧甲基赖氨酸和吡咯啉的糖基化氧化产物;包括乙二醛、丙二醛和 4- 羟基壬烯醛的脂质氧化产物;硫代巴比妥酸活性物质 (TBARS; 参见,例如 Steinbrecher 等, 1984 *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 81:3883; Wolff, 1993 *Br. Med. Bull.* 49:642) 和 / 或者根据其它化学检测方法进行测定,如水杨酸盐对羟基自由基的捕获(例如, Ghiselli 等, 1998 *Meths. Mol. Biol.* 108:89; Halliwell 等, 1997 *Free Radic. Res.* 27:239) 或特异性加合物的形成(参见例如 Mecocci 等, 1993 *Ann. Neurol.* 34:609; Giulivi 等, 1994 *Meths. Enzymol.* 233:363),包括丙二醛的生成、蛋白质亚硝基化、包括线粒体 DNA 氧化的 DNA 氧化作用、8- 羟基鸟

昔加合物(例如 Beckman 等, 1999 *Mutat. Res.* 424:51)、蛋白质氧化、蛋白质羰基化修饰(例如 Baynes 等, 1991 *Diabetes* 40:405; Baynes 等, 1999 *Diabetes* 48:1); 电子自旋共振(ESR)探针; 循环伏安法; 荧光或化学发光指示剂(还参见, 例如 Greenwald, R. A. (ed.), *Handbook of Methods for Oxygen Radical Research*, 1985 CRC Press, Boca Raton, Fla.; Acworth 和 Bailey, (eds.), *Handbook of Oxidative Metabolism*, 1995 ESA, Inc., Chelmsford, Mass.; Yla-Herttuala 等, 1989 *J. Clin. Invest.* 84:1086; Velazquez 等, 1991 *Diabetic Medicine* 8:752; Belch 等, 1995 *Int. Angiol.* 14:385; Sato 等, 1979 *Biochem. Med.* 21:104; Traverso 等, 1998 *Diabetologia* 41:265; Haugland, 1996 *Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals*—Sixth Ed., *Molecular Probes*, Eugene, Oreg., pp. 483-502, 及其引用的参考文献)。例如, 举例说明但不限于, 荧光探针二氯二氢荧光素双醋酸盐及其羧酸衍生物羧基二氯二氢荧光素双醋酸盐(参见, 例如 Haugland, 1996, 同上)的氧化产物在细胞中聚集后定量, 该过程依赖于活性氧物质的存在, 并与存在的活性氧物质成比例(还参见, 例如 *Molecular Probes* On-line *Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals*, 环球信息网: [probes.com/handbook/toc.html](http://probes.com/handbook/toc.html))。其它可以用于本发明自由基生成检测的可检测的荧光化合物包括但不限于: 二氢罗丹明及二氢罗丹明衍生物、顺式-十八烷四烯酸, 试卤灵衍生物、光泽精及其它熟悉本领域的人员已知的适合的化合物。

[1571] 因此, 也如上所述, 自由基介导的损伤可能使电子传递链无数的蛋白质中的一种或多种失活, 这样可能揭示线粒体负责氧化磷酸化和 ATP 产生的化学渗透机制。作为 ATP 生物合成因子的线粒体功能功能指标, 包括测定 ATP 生成在本发明有更详细的阐述。自由基介导的对线粒体功能完整性的破坏只是与线粒体功能相关的多种机制的一个例子, 所述线粒体功能可能导致由线粒体内膜维持的电化学电位被破坏。

[1572] 在另一个具体实施方案中, 本发明提供了治疗可能受益于线粒体质量增加和/或功能增强的个体的方法。该方法可以包括首先确定患有线粒体功能障碍的病人。上述用于鉴定调节线粒体质量和/或功能的药物的方法还用于确认会受益于线粒体质量增加和/或活性增强的个体。例如, 上述方法可以用于测量来自一个个体的生物样品的线粒体质量和/或功能, 并与另一个体(例如, 具有正常线粒体质量和/或功能的个体)、一个对照群体或线粒体质量和/或功能的标准预定值进行比较。

#### [1573] IV. 药物制剂及给予方式

[1574] 根据本发明所使用的药物组合物可以采用一种或多种生理上可接受的载体或赋形剂, 以任何常规方法来配制。因此, sirtuin 活化和抑制化合物及它们生理上可以接受的盐及溶剂化物可以配制成为以下途径给予: 例如注射(例如皮下注射、肌肉注射、腹腔注射)、吸入或吹入(通过口或鼻)、口服、含服、胃肠道外、舌下或直肠给予。在一种具体实施方案中, 化合物是局部给药的, 即靶细胞例如脂肪细胞所在部位。

[1575] 化合物可以配制成为适于多种给予量的需要, 包括全身给予和局部或区域给予。技术和配方通常可以在 Remmington's *Pharmaceutical Sciences*, Meade Publishing Co., Easton, PA 中找到。对于全身给予, 优选为注射, 包括肌肉注射、静脉注射、腹腔注射、皮下注射。就注射而言, 化合物可以配制成为液体溶液, 优选为生理上相容的缓冲液如 Hank's 溶液或 Ringer's 溶液。另外, 化合物也可以配制成为固体形式, 并在使用前即刻再溶解或悬

浮。冻干形式也包括在内。

[1576] 就口服给予而言,药物组合物可以采用例如片剂、锭剂(lozanges)或胶囊的形式,用药物学上可接受的赋形剂,如粘合剂(例如,预胶化的玉米淀粉、聚乙烯吡咯酮、羟丙基甲基纤维素);填充剂(例如,乳糖、微晶纤维素或磷酸氢钙);润滑剂(例如,硬脂酸镁、滑石粉或二氧化硅);崩解剂(例如,土豆淀粉或淀粉乙醇酸钠);或湿润剂(例如,十二烷基硫酸钠)通过常规方法制备。片剂可以采用本领域已知的方法进行包衣。用于口服给予的液体制剂可以采用,例如溶液、糖浆或混悬液的形式,或者它们可以作为干燥产品出现,使用前与水或其它适合的载体配制。这些液体制剂可以用药物学上可接受的添加剂,例如悬浮剂(例如,山梨醇糖浆、纤维素衍生物或氢化食用脂肪);乳化剂(例如,卵磷脂或阿拉伯胶);非水载体(例如,ationd油,油酯,乙醇或分馏的植物油);以及防腐剂(例如,甲基或丙基-对-羟基苯甲酸酯或山梨酸)以常规方法制备。如果需要,制剂还可以包含缓冲盐、调味剂、着色剂和甜味剂。用于口服给予的制剂还可以适当地配制成对活性化合物可控地释放。

[1577] 多酚类如白藜芦醇,可以氧化并失去刺激sirtuin的活性,尤其是以液体或半固体形式存在时。为了防止氧化并保留含多酚的化合物刺激sirtuin的活性,可以将该化合物储存在氮气中或者密封于一类胶囊和/或隔绝氧的箔材包装(例如Capsugel<sup>TM</sup>)中。

[1578] 就吸入给予而言,采用合适的推进剂,例如二氯二氟甲烷、三氯氟甲烷、二氯四氟乙烷、二氧化碳或其它合适的气体,化合物可以以气雾剂喷雾送出的形式方便地从加压包装或雾化器中输出。就加压气雾剂而言,剂量单位可以通过提供输送一定量的阀门来确定。在使用吸入器或吹入器时,胶囊和例如明胶的药包可以被配制成包含化合物和适合的基质粉末如乳糖或淀粉的粉末混合物。

[1579] 化合物可以被配制成通过注射,例如推注或持续输注来进行非胃肠道给予。注射用制剂可以制成加入防腐剂的单位剂量的形式,例如在安瓿中或者在多剂量的容器中。组合物可以采用如混悬液、溶液或者以油或水为载体的乳液的形式,也可以包含如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂的调节剂。或者,活性成分可以采用粉末形式,在使用前用合适的载体,例如无热原的无菌水配制。

[1580] 化合物还可以配制成直肠组合物,如栓剂或例如含有常规栓剂基质如可可脂或其它甘油酯的保留灌肠剂。

[1581] 除上述制剂外,化合物还可以被配制成储存制剂(depot preparation)。这种长效制剂可以采用植入(例如,皮下或肌肉内)或肌肉注射的方式给予。因此,例如,化合物可以与适当的聚合的或疏水性材料(例如作为可接受的油中的乳液)或离子交换树脂一起来配制,或制成微溶性衍生物,例如制成微溶性盐。控释剂型还包括贴剂。

[1582] 在某些具体实施方案中,药物组合物可以采用本领域已知的医疗装置给予。例如,本发明所述的药物组合物可以采用一种无针头的皮下注射装置给予,如美国专利Nos. 5,399,163、5,383,851、5,312,335、5,064,413、4,941,880、4,790,824或4,596,556所公开的装置。有效用于本发明的熟知的植入物和模块的例子包括:美国专利No. 4,487,603公开的用于以可控速率分配药物的可植入的微灌注泵;美国专利No. 4,486,194公开的用于透皮给药的治疗装置;美国专利No. 4,447,233公开的以精确输注速率输送药物的药物灌注泵;美国专利No. 4,447,224公开的持续性输送药物的变流可植入灌注装置;美国专利No. 4,439,196公开的具有多室间隔的渗透性药物输送系统;以及美国专利No. 4,475,196

公开的渗透性药物输送系统。当然,还已知许多其它这样植入物、输送系统和模块。

[1583] 在某些具体实施方案中,本发明所述的化合物可以配制成为用于向中枢神经系统(CNS)输送(Begley, Pharmacology & Therapeutics 104:29-45(2004)中进行了综述)。用于将药物输送到中枢神经系统的常规方法包括:神经外科方法(例如,脑内注射或脑室灌注);为探讨血脑屏障的内源性运输通路而对药物进行的分子操作(例如构建包含具有对上皮细胞表面分子的亲和力的运输肽,以及本身无法透过血脑屏障(BBB)的药物的嵌合蛋白);用于提高药物的脂溶性的药理学方法(例如将水溶性药物偶联到脂质或胆固醇载体上);利用高渗破坏作用(hyperosmotic disruption)瞬时破坏血脑屏障的完整性(由向颈动脉注入甘露醇溶液或者应用如血管紧张素肽的生物活性物质导致)。

[1584] 一种达到持续释放动力学的可能的方法是将活性化合物包埋或包封入纳米颗粒中。纳米颗粒可以以粉末、加入赋形剂的粉末混合物或悬浮液的形式给予。纳米颗粒的胶体悬浮液可以很容易地通过小直径的插管给予。

[1585] 纳米颗粒是直径为从大约5nm到高达大约1000nm的颗粒。下文中所用的术语“纳米颗粒”是指活性化合物分散于聚合物基质中而形成的颗粒,又称之为“纳米微球”,而且还是指由含有活性化合物的核组成的纳米颗粒,所述活性化合物被聚合物膜包围,又称之为“纳米微囊”。在某些具体实施方案中,优选的纳米颗粒的直径为大约50nm到大约500nm,尤其是大约100nm到200nm。

[1586] 纳米颗粒可以通过分散的单体原位聚合或使用预制的聚合物来制备。因为原位制备的聚合物经常不是生物可降解的和/或含有强毒性的副产物,因此优选由预制的聚合物制备纳米颗粒。由预制的聚合物制备的纳米颗粒可以通过不同的技术来制备,例如乳化蒸发、溶剂置换、盐析、机械研磨、微量沉淀以及乳化扩散。

[1587] 基于上述方法,纳米颗粒可以由多种类型的聚合物制得。就本发明方法的应用而言,纳米颗粒优选由生物相容的聚合物来制备。术语“生物相容的”是指引入生物环境后材料对生物环境无严重影响。由生物相容的聚合物得到的那些聚合物特别优选还是生物可降解的。术语“生物可降解的”是指引入生物环境后材料被酶解或化学降解为可以随后被清除的小分子。例子为由如聚乳酸(PLA)、聚羟乙酸(PGA)的羟基羧酸形成的聚酯类,聚己内酯(PCL),乳酸和羟乙酸的共聚物(PLGA),乳酸和己内酯的共聚物,聚 $\epsilon$ -己内酯,聚羟基丁酸和聚原酸酯,聚氨酯,聚酸酐,聚缩醛,聚二氢吡喃,聚氰基丙烯酸酯,天然聚合物,如藻酸盐和其它包括右旋糖酐和纤维素的多糖,胶原和白蛋白。

[1588] 合适的表面改性剂优选选自己知的有机和无机药物赋形剂。这种赋形剂包括各种聚合物、低分子量寡聚物、天然产物和表面活性剂。优选的表面改性剂包括非离子型和离子型表面活性剂。表面改性剂有代表性的例子包括明胶、酪蛋白、卵磷脂(磷脂类)、阿拉伯胶、胆固醇、西黄蓍胶、硬脂酸、苯扎氯铵、硬脂酸钙、单硬脂酸甘油酯、十八六醇、聚西托醇乳化蜡、山梨聚糖酯、聚氧乙烯烷基醚,例如聚乙二醇醚,如聚西托醇1000(cetomacrogol 1000)、聚氧乙烯蓖麻油衍生物、聚氧乙烯失水山梨醇脂肪酸酯,例如市售的吐温类、聚乙二醇、聚氧乙烯硬脂酸酯、胶体二氧化硅、磷酸盐、十二烷基硫酸钠、羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、邻苯二甲酸酯、非晶纤维素、硅酸镁铝、三乙醇胺、聚乙烯醇和聚乙烯吡咯酮(PVP)。大部分这些表面改性剂都是已知的药物赋形剂,并在由美国药学会(American Pharmaceutical

Association) 和英国药学会(The Pharmaceutical Society of Great Britain)、英国医药出版社(Pharmaceutical Press)于 1986 年联合出版的药物赋形剂手册(Handbook of Pharmaceutical Excipients) 中有详细描述。

[1589] 有关纳米颗粒制备的详细记载可以在美国专利 No. 6, 264, 922 中找到, 其内容引入本发明作为参考。

[1590] 脂质体是另一种易于注射的药物输送系统。因此, 在本发明的方法中, 活性化合物也可以以脂质体输送系统的形式给予。脂质体为本领域技术人员所熟知。脂质体可以由多种磷脂来制备, 如胆固醇、磷脂酰胆碱的硬脂酰胺。可用于本发明方法的脂质体包括所有类型的脂质体, 包括但不限于, 小的单层囊泡、大的单层囊泡和多层囊泡。

[1591] 脂质体可用于多种治疗目的, 特别是用于携带治疗药物到达靶细胞。脂质体药物制剂的优点在于提供了改善药物输送性能的潜力, 其包括例如, 药物的控制释放。脂质体到达靶点区域、靶细胞或靶位点常常需要更长的循环时间。尤其是当靶点区域、靶细胞或靶位点不在给予部位附近时, 这是非常必要的。例如, 当脂质体是全身给予时, 最好用亲水性物质包被脂质体, 例如包被如聚乙二醇的亲水性聚合物链以延长脂质体的血液循环时间。这种表面修饰的脂质体通常被称为“长循环”或“空间稳定”的脂质体。

[1592] 一种对脂质体的表面修饰为连接聚乙二醇(PEG)链, 作为特点其具有从大约 1000 道尔顿(Da) 到大约 5000 道尔顿(Da) 的分子量, 以及摩尔百分比为大约 5% 的脂质组成脂质体(参见, 例如, Stealth Liposomes, CRC Press, Lasic, D. 和 Martin, F., eds., Boca Raton, FL, (1995) 及其引用的参考文献)。与非表面改性的脂质体相比, 这种脂质体表现出的药物代谢动力学性质特征在于肝脏和脾脏通过单核吞噬细胞系统(MPS)对脂质体的摄取呈非剂量依赖性下降, 以及血液循环时间显著延长, 而非表面改性的脂质体则会很快地被从血液中清除并且在肝脏和脾脏聚积。

[1593] 在某些具体实施方案中, 将复合物进行屏蔽以提高其循环半衰期或者提高核酸对降解, 例如核酸酶的降解的抗性。

[1594] 本发明使用的术语“屏蔽的(shielding)”及其同源词“被屏蔽的(shielded)”是指“屏蔽部分”在体内或体外减少本发明所述的复合物与血清补体或存在于血清中的其它物质的非特异性相互作用的能力。屏蔽部分可以通过一种或多种机制来减少复合物与这些物质的相互作用或与这些物质的结合, 包括例如非特异性空间或非特异性电子相互作用。这种相互作用的例子包括非特异性静电相互作用、电荷相互作用、范德华力、空间位阻等。对于作为屏蔽部分起作用的部分, 其可以减少与血清补体或其它物质的相互作用, 联系或结合的机理不一定要明确。人们能够通过确定复合物能否与血清物质结合以及结合的程度来确定一个部分能否作为屏蔽部分。

[1595] 应注意的是“屏蔽部分”可以是多功能的。例如, 屏蔽部分还可以用作例如靶向因子。相对于屏蔽部分屏蔽复合物的机理, 屏蔽部分也可以被称为多功能的。不希望受已提出的机理或理论的局限, 这种多功能屏蔽部分的例子为 pH 敏感性的内体膜破裂性合成聚合物(pH sensitive endosomal membrane-disruptive synthetic polymers), 如 PPAA 或 PEAA。某些聚烷基丙烯酸已显示出能破坏内体膜而使外表面的细胞膜保持完整(Stayton 等 (2000) J. Control. Release 65: 203-220; Murthy 等 (1999) J. Control. Release 61: 137-143; WO 99/34831), 从而提高细胞生物利用度并发挥靶向因子的功能。然

而, PPAA 减少被引入的复合物与血清补体的结合, 从而发挥作为屏蔽部分的功能。

[1596] 另一种生产 sirtuin 调节剂, 如白藜芦醇及其衍生物的制剂, 尤其是溶液的方法是利用环糊精。环糊精是指  $\alpha$ -,  $\beta$ - 或  $\gamma$ - 环糊精。Pitha 等在美国专利 No. 4, 727, 064 中对环糊精有详细描述, 其引入本发明作为参考。环糊精是葡萄糖的环状寡聚体; 这些化合物与任何其分子适合进入环糊精分子的亲脂性空腔的药物形成包合物。

[1597] 本发明的组合物中的环糊精可以是  $\alpha$ -,  $\beta$ - 或  $\gamma$ - 环糊精。 $\alpha$ - 环糊精包含六个吡喃型葡萄糖单位;  $\beta$ - 环糊精包含七个吡喃型葡萄糖单位;  $\gamma$ - 环糊精包含八个吡喃型葡萄糖单位。一般认为这些分子形成截锥形,  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - 环糊精分别具有 4.7-5.3 埃, 6.0-6.5 埃和 7.5-8.3 埃的核心开口。本发明的组合物可以包含两种或多种  $\alpha$ -,  $\beta$ - 或  $\gamma$ - 环糊精的混合物。然而, 有代表性地, 本发明的组合物仅包含  $\alpha$ -,  $\beta$ - 或  $\gamma$ - 环糊精中的一种。

[1598] 本发明的组合物中最优选的环糊精是无定形环糊精化合物。无定形环糊精是指环糊精的非结晶混合物, 其中混合物是由  $\alpha$ -,  $\beta$ - 或  $\gamma$ - 环糊精制得的。通常, 无定形环糊精是由所需种类的环糊精经过非选择性烷基化反应制得的。用于该目的的适合的烷基化试剂包括但不限于: 环氧丙烷、缩水甘油、iodoacetarnide、氯乙酸盐和 2-二乙氨基氯乙烷。进行反应会产生含有多种成分的混合物, 从而阻止环糊精结晶化。根据所用的起始环糊精的种类及烷化剂, 可以制得各种各样的烷基化环糊精, 它们理所当然有不同。适用于本发明的组合物的无定形环糊精为  $\beta$ - 环糊精的羟丙基、羟乙基、葡萄糖基、麦芽糖基和麦芽三糖基衍生物、羧基酰胺甲基- $\beta$ - 环糊精、羧甲基- $\beta$ - 环糊精、羟丙基- $\beta$ - 环糊精和二乙基氨基- $\beta$ - 环糊精。

[1599] Marier 等, J. Pharmacol. Exp. Therap. 302:369-373 (2002) 中提供了一个在环糊精存在时溶解白藜芦醇例子, 其内容引入本发明作为参考, 其中用含有 20% 羟丙基- $\beta$ - 环糊精的 0.9% 的盐水配制 6mg/mL 的白藜芦醇溶液。

[1600] 如上所述, 本发明的物质的组合物包含优选取代的无定形环糊精和一种或多种 sirtuin 调节剂的含水制剂。sirtuin 调节剂和环糊精的相对用量根据各种 sirtuin 调节剂的相对量及环糊精对化合物的作用而变化。通常, 作为 sirtuin 调节剂的化合物的重量与环糊精的重量的比例为在 1:1 到 1:100 的范围内。选自 sirtuin 调节剂的化合物和环糊精的重量比的范围为 1:5 到 1:50, 更优选的范围为 1:10 到 1:20, 据认为所述比例能最有效用于提高 sirtuin 调节剂的循环利用率。

[1601] 重要的是, 如果包含 sirtuin 调节剂和环糊精的水溶液采用非胃肠道给予, 尤其是通过静脉途径, 环糊精中基本无热原污染物。各种形式的环糊精, 如无定形环糊精, 可以从包括 Sigma-Aldrich, Inc. (St. Louis, Mo., USA) 的多个销售商购得。羟丙基- $\beta$ - 环糊精的生产方法在 Pitha 等的美国专利 No. 4, 727, 064 中公开, 其引入本发明作为参考。

[1602] 关于环糊精作为增溶化合物的应用的其它记载可以在 US2005/0026849 中找到, 其内容引入本发明作为参考。

[1603] 迅速崩解或溶解的剂型可有效用于药物活性物质的快速吸收, 尤其口腔和舌下吸收。对于吞咽经典固体剂型, 如囊片和片剂有困难的老年和儿科病人来说, 快速溶解的剂型是有利的。此外, 快速溶解的剂型避开了与例如可咀嚼剂型有关的缺点, 其中活性物质在病人口中的存留时间对确定掩味剂的量及病人可以忍受的活性药物的喉部异物感 (grittiness) 的程度中发挥重要作用。

[1604] 为克服这些问题,制造商已经开发出了多种快速溶解的固体口服制剂。这些制剂可以从包括 Cima Labs、Fuisz Technologies Ltd.、Prographarm、R. P. Scherer、Yamanouchi-Shaklee 和 McNeil-PPC, Inc 的生产商处购得。所有这些制造商出售不同类型的快速溶解固体口服制剂。参见,例如 Cima Labs 的专利和出版物,如美国专利 No. 5,607,697、5,503,846、5,223,264、5,401,513、5,219,574 和 5,178,878、WO 98/46215、WO 98/14179;Fuisz Technologies (现在是 BioVail 的一部分) 的专利,如美国专利 No. 5,871,781、5,869,098、5,866,163、5,851,553、5,622,719、5,567,439 和 5,587,172;Prographarm 的美国专利 No. 5,464,632;R. P. Scherer 的专利,如美国专利 No. 4,642,903、5,188,825、5,631,023 和 5,827,541;Yamanouchi-Shaklee 的专利,如美国专利 No. 5,576,014 和 5,446,464;Janssen 的专利,如美国专利 No. 5,807,576、5,635,210、5,595,761、5,587,180 和 5,776,491;Eurand America, Inc 的美国专利 Nos. 5,639,475 和 5,709,886;L. A. B. Pharmaceutical Research 的美国专利 Nos. 5,807,578 和 5,807,577;Schering Corporation 的专利,如美国专利 Nos. 5,112,616 和 5,073,374;Laboratoire L. LaFon 的美国专利 No. 4,616,047;Takeda Chemicals Inc., Ltd. 的美国专利 No. 5,501,861;Elan 的美国专利 No. 6,316,029。

[1605] 在一个制备快速溶解片剂的例子中,采用喷雾干燥法或预压法制备的用于快速溶解片剂的颗粒与赋形剂混合,并利用常规生产片剂的机器压成片剂。这些颗粒可以与多种载体,包括低密度、高成型性糖类、低成型性糖类、多元醇组合相组合,然后直接压成表现出改善的溶出度及崩解性的片剂。

[1606] 有代表性地,本发明的片剂具有约 2 到约 6Strong-Cobb 单位 (scu) 的硬度。硬度在此范围内的片剂在咀嚼时可以快速崩解或溶解。另外,片剂在水中快速崩解。在不搅拌时,一个典型的 1.1 到 1.5 克的片剂可以在平均 1-3 分钟内崩解。这样快的崩解促进了活性物质的输送。

[1607] 用于制备片剂的颗粒可以是例如低密度碱土金属盐或碳水化合物的混合物。例如,碱土金属盐混合物包括碳酸钙和氢氧化镁的组合。类似地,快速溶解片剂可以根据本发明的方法制得,所述方法包括使用 A) 喷雾干燥的超轻碳酸钙 / 麦芽糖糊精, B) 氢氧化镁; 和 C) 包含速溶山梨醇、木糖醇、甘露醇的低共熔多元醇组合。这些材料经组合来制备非常容易溶解,并促进活性组分的快速崩解的低密度片剂。另外,预先压制的颗粒可以与喷雾干燥的颗粒在同一片剂中组合使用。

[1608] 对于快速溶解的片剂,本发明中有效的 sirtuin 调节剂可以是如固体、微粒、颗粒、晶体、油或溶液的形式。用于本发明的 sirtuin 调节剂可以是喷雾干燥的产品或已经被预先压入可以减少药味的更硬的颗粒形式中的被吸附物。用于本发明的药用活性成分可以与防止活性成分在片剂被咀嚼时轻易析出的载体一起喷雾干燥。

[1609] 除了被直接加入到本发明的片剂之外,药物本身可以在制成制剂之前通过用于提高密度的预压制工艺进行处理。

[1610] 用于本发明的预压制工艺可以用来输送难溶的药物原料,以便相对于传统剂型改善该药物原料的释放。这可以实现采用较低的剂量水平来输送等量的生物可利用的药物,从而实现目前市售的药物及新化学实体的较低的毒性水平。难溶的药物原料可以采用作为纳米级颗粒的纳米颗粒的形式。

[1611] 除了活性成分和由低密度碱土金属盐类和 / 或水溶性碳水化合物制成的颗粒之外, 快速溶解片剂可以采用常规的载体或赋形剂以及已熟知的制药技术来配制。常规的载体或赋形剂包括但不限于: 稀释剂、粘合剂、胶粘剂(即纤维素衍生物和丙烯酸衍生物)、润滑剂(即硬脂酸镁或硬脂酸钙、植物油、聚乙二醇、滑石粉、月桂硫酸钠、聚氧乙烯单硬脂酸酯)、崩解剂、着色剂、调味剂、防腐剂、甜味剂以及如缓冲液、吸附剂的各种原料。

[1612] 关于制备快速溶解片剂的其它记载见于例如美国专利 No. 5, 939, 091, 其内容引入本发明作为参考。

[1613] 药物组合物(包括化妆品制剂)可以包含重量百分比从约 0.00001 到 100%, 如从 0.001 到 10%, 或者从 0.1% 到 5% 的一种或多种本发明所述的化合物。

[1614] 在一个具体实施方案中, 本发明所述的化合物被加入到含有通常适于局部给药的局部载体以及包含本领域已知的任何这样的材料的局部给药制剂中。可以选择局部载体来提供所需形式的组合物, 例如软膏剂、洗剂、乳膏、微乳、凝胶、油、溶液或等等, 局部载体可以由天然存在或来源于合成的材料组成。优选的载体对局部制剂中的活性成分或其它成分无不良影响。用于本发明的合适的局部载体的例子包括水、醇和其它无毒有机溶剂、甘油、矿物油、硅酮、凡士林、羊毛脂、脂肪酸、植物油、对羟基苯甲酸酯、蜡类等等。

[1615] 制剂可以是无色、无味的软膏剂、洗剂、乳膏、微乳和凝胶。

[1616] 化合物可以加入到通常是以凡士林或其它石油衍生物为基质的通常为半固体制剂的软膏剂中。正如本领域技术人员所知的那样, 所使用的特殊软膏剂基质将提供最佳药物输送, 并优选还提供其它理想的特性, 例如软化性等等。与其它载体(carriers)或载体(vehicles)一样, 软膏剂基质应该是惰性的、稳定的、非刺激性和非致敏的。如前面部分所引用的 Remington's 所述, 软膏剂基质可以分为以下四类: 油脂性基质、可乳化基质、乳剂基质和水溶性基质。油脂性基质包括, 例如植物油、动物来源的脂肪、石油来源的半固体碳氢化合物。可乳化软膏剂基质, 又被称为吸收性软膏剂基质, 含有很少或不含水分并且包括, 例如硫酸羟基硬脂酸甘油酯、脱水羊毛脂、亲水性凡士林。乳剂软膏剂基质是油包水(W/O)或水包油(O/W)乳剂, 并且包括例如十六醇、单硬脂酸甘油酯、羊毛脂和硬脂酸。示例性的水溶性软膏剂基质是由不同分子量的聚乙二醇(PEGs)制备的。另外, 更多信息可以参考上文提到过的 Remington's。

[1617] 化合物可以加入到洗剂中, 其通常为不经摩擦施用到皮肤表面的制剂, 并且通常是液体或半固体制剂, 其中包括活性成分的固体颗粒存在于水或醇类基质中。洗剂通常是固体的悬浮液, 并且可以包含水包油型的液体油性乳剂。由于施用较多的液体组合物更容易, 洗剂成为处理大体表面积时优选的制剂。通常需要对洗剂中的不溶物进行精细地破碎。洗剂中通常含有助悬剂以获得较好的分散性, 以及有效用于活性成分定位并保持其与皮肤接触的化合物, 例如甲基纤维素、羧甲基纤维素钠或等等。用于与本发明方法一起使用的示例性的洗剂包含与亲水性凡士林混合的丙二醇, 例如可以从 Beiersdorf, Inc. (Norwalk, Conn.) 购得的, 商标为 Aquaphor<sup>TM</sup>。

[1618] 化合物可以加入到通常是粘稠的液体或半固体乳剂, 要么是水包油型要么是油包水型的乳膏中。乳膏基质是可水洗的, 并且包含油相、乳化剂和水相。油相通常由凡士林和如十六醇或十八醇的脂肪醇组成。尽管不是必要地, 水相的体积通常会超过油相, 而且通常含有润湿剂。如前面提到的 Remington's 中所述, 乳膏剂中的乳化剂通常是非离子型、阴离

子型、阳离子型或两性表面活性剂。

[1619] 化合物可以加入到通常是由两种不混溶的液体,如油和水组成的热力学上稳定的、各向同性的透明分散体的微乳剂中,其通过表面活性剂分子的界面膜而稳定(Encyclopedia of Pharmaceutical Technology (New York:Marcel Dekker, 1992), volume 9)。对于微乳剂的制备,表面活性剂(乳化剂)、助表面活性剂(助乳化剂)、油相、水相都是必要的。合适的表面活性剂包括任何有效用于制备乳剂的表面活性剂,例如通常用于制备乳膏的乳化剂。助表面活性剂(或“助乳化剂”)通常是选自聚甘油衍生物、甘油衍生物和脂肪醇。尽管不是必要的,优选的乳化剂 / 助乳化剂的组合通常选自:单硬脂酸甘油酯和聚氧乙烯硬脂酸酯、聚乙二醇和棕榈酸硬脂酸乙二醇酯、辛酸和癸酸甘油三酯、油酰聚乙二醇甘油酯。水相不仅包括水通常还包括:缓冲液、葡萄糖、丙二醇、聚乙二醇,优选低分子量聚乙二醇(例如 PEG300 和 PEG400)和 / 或甘油等,而油相一般包括,例如脂肪酸酯、改性植物油、硅酮油、单、双和三甘油酯的混合物、PEG 的单酯和双酯(例如油酰聚乙二醇甘油酯)等。

[1620] 化合物可以加入到通常为包括由小的无机粒子制成的悬浮液(双相系统)或完全均匀分散于液体载体的大有机分子(单相凝胶)的半固体系统的凝胶制剂中。制备单相凝胶可以例如通过将活性成分、液体载体和合适的胶凝剂,如西黄蓍胶(2-5%)、藻酸钠(2-10%)、明胶(2-15%)、甲基纤维素(3-5%)、羧甲基纤维素钠(2-5%)、卡波姆(0.3-5%)或聚乙烯醇(10-20%)组合在一起,并搅拌直至生成有特征的半固体产物。其它合适的胶凝剂包括甲基羟基纤维素、聚氧乙烯 - 聚氧丙烯、羟乙基纤维素和明胶。虽然凝胶剂通常采用含水的液体载体,醇类和油类也可以用作液体载体。

[1621] 本领域技术人员已知的各种添加剂也可以包含在制剂中,例如局部制剂中。添加剂的例子包括但不限于,增溶剂、皮肤渗透促进剂、遮光剂、防腐剂(例如抗氧化剂)、胶凝剂、缓冲剂、表面活性剂(尤其是非离子型和两性表面活性剂)、乳化剂、软化剂、增稠剂、稳定剂、润湿剂、着色剂、芳香剂等。包含增溶剂和 / 或皮肤渗透促进剂,以及乳化剂、软化剂和防腐剂是特别优选的。最佳的局部制剂包括大约:2 重量% 至 60 重量%,优选为 2 重量% 至 50 重量% 的增溶剂和 / 或皮肤渗透促进剂;2 重量% 至 50 重量%,优选为 2 重量% 至 20 重量% 的乳化剂;2 重量% 至 20 重量% 的软化剂;以及 0.01 重量% 至 0.2 重量% 的防腐剂,制剂的其余部分由活性物质和载体(例如水)组成。

[1622] 皮肤渗透促进剂的作用在于促进透过适当面积的未破损皮肤区域的活性物质的显示治疗水平。合适的促进剂为本领域所熟知并且包括,例如低级烷醇,如甲醇、乙醇和 2-丙醇;烷基甲基亚砜,如二甲基亚砜(DMSO)、癸基甲基亚砜( $C_{10}MSO$ )和十四烷基甲基亚砜;吡咯烷酮,如 2-吡咯烷酮、N-甲基-2-吡咯烷酮和 N-(羟乙基)吡咯烷酮;尿素;N, N-二乙基 - 间 - 甲苯酰胺; $C_2-C_6$  烷二醇;各种各样的溶剂,如二甲基甲酰胺(DMF)、N, N-二甲基乙酰胺(DMA)、四氢糠醇;以及 1-取代氮杂环庚烷-2-酮,特别是 1-正 - 十二烷基 - 氮杂环庚烷-2-酮(月桂氮䓬酮,从 Whitby Research Incorporated, Richmond, Va. 购得,商标为 Azone<sup>RTM</sup>)。

[1623] 增溶剂的例子包括但不限于以下:亲水性醚类,如二乙二醇单乙醚(乙氧基乙二醇,以 Transcutol<sup>RTM</sup> 出售)和二乙二醇单乙醚油酸酯(以 Softcutoil<sup>RTM</sup> 出售);聚乙烯蓖麻油衍生物,如聚氧 35 蓖麻油、聚氧 40 氢化蓖麻油等;聚乙二醇,尤其是低分子量聚乙二醇,如 PEG 300、PEG 400,以及聚乙二醇衍生物,如 PEG-8 辛酸 / 癸酸甘油酯(以 Labrasol<sup>RTM</sup> 出售);

烷基甲基亚砜,如DMSO;吡咯烷酮,如2-吡咯烷酮和N-甲基-2-吡咯烷酮;和DMA。许多增溶剂也可以作为吸收促进剂。可以将单一的增溶剂加入制剂中,或者可以将增溶剂的混合物加入其中。

[1624] 合适的乳化剂和助乳化剂包括但不限于有关微乳剂的描述中提到的那些乳化剂和助乳化剂。软化剂包括,例如丙二醇、甘油、肉豆蔻酸异丙酯、聚丙二醇-2(PPG-2)十四烷基醚丙酸酯等。

[1625] 其它活性物质也可以包含在制剂中,例如抗炎剂、止痛剂、抗微生物剂、抗真菌剂、抗生素、维生素、抗氧化剂以及通常在防晒制剂中存在的防晒剂,其包括但不限于:邻氨基苯甲酸类、二苯甲酮类(尤其是二苯甲酮-3)、卡波姆衍生物、肉桂酸酯(例如甲氧基肉桂酸辛酯)、二苯酰甲烷类(例如丁基甲氧基二苯酰甲烷)、对氨基苯甲酸(PABA)及其衍生物、水杨酸酯(例如水杨酸辛酯)。

[1626] 在某些局部制剂中,活性成分存在的量的范围为制剂的大约0.25重量%至75重量%,优选的范围为制剂的大约0.25重量%至30重量%,更优选的范围为制剂的大约0.5重量%至15重量%,最优选的范围为制剂的大约1.0重量%至10重量%。

[1627] 局部皮肤处理组合物可以采用合适的容器进行包装以适应其粘度和消费者的使用目的。例如,可以将洗剂或乳膏用瓶子或者滚珠型涂布器或者推进剂驱动的气溶胶装置或者配备适合手指操作的泵的容器进行包装。当该组合物是乳膏时,可以简便地将其储存在不会变形的瓶子或挤压容器中,如管或带盖的罐。组合物也包含在胶囊中,如美国专利No. 5,063,507中所描述的。因此,本发明还提供包含本发明定义的化妆品可接受的组合物的密闭容器。

[1628] 在另一个可选择的具体实施方案中,提供的药物制剂是用于口服或非胃肠道给药的,其中制剂可以包含上述包含活化化合物的微乳剂,并可以包含可选择的药学上可接受的,尤其适合于口服或非胃肠道给药的载体(carriers)、载体(vehicles)、添加剂等。或者,含活化化合物的微乳剂可以完全如上所述而不经修饰进行口服或非胃肠道给予。

[1629] sirtuin活化剂或抑制剂给予之后,可以测量受试者的某个因素,如测量sirtuin的活性。在一个示范性的具体实施方案中,给予受试者活化或抑制化合物后,从受试者中得到细胞,如通过活组织检查获得,在活组织检查中确定sirtuin的活性或sirtuin表达水平。或者,可以跟踪检测生物标记物,如血浆生物标记物。细胞可以是受试者的任何细胞,但是如果活化化合物是局部给予的,则优选的细胞为位于给予部位附近的细胞。例如,细胞可以是脂肪细胞。

[1630] V. 示例性的试剂盒

[1631] 本发明还提供试剂盒,例如治疗用试剂盒,包括治疗或预防代谢障碍,如肥胖或糖尿病,或其继发病症的试剂盒。试剂盒可包含一种或多种高剂量的sirtuin活化剂的制剂,sirtuin活化剂如本发明所述,以及任选的用于药物与细胞相接触的装置。装置包括注射器、支架和其它用于将化合物引入受试者或施用于受试者的皮肤的装置。

[1632] 另外,试剂盒还可以包含用于测量例如上述因子的部件,所述因子如例如组织样品中的sirtuin蛋白的活性。

[1633] 其它试剂盒包括用于诊断患有或发展成代谢障碍,如肥胖或糖尿病或其继发病症的可能性的试剂盒。试剂盒可以包含用于测量sirtuin活性和/或表达水平的试剂。

[1634] 本发明还提供了用于筛选分析的试剂盒。示例性的试剂盒包含一种或多种用于进行筛选分析的试剂,例如 sirtuin 或其生物活性蛋白部分,或细胞或包含它们的细胞提取物。任何试剂盒还可以包含使用说明。

[1635] 本发明说明书通过以下实施例进行进一步阐述,其不应解释为任何方式的限制。所有引用的参考文献(包括参考文献、出版的专利、公开的专利申请以及本申请通篇引用的GenBank 登记号) 的内容都明确地引入本发明作为参考。

[1636] 除非另外指明,本发明方法的操作中均采用本领域技术中细胞生物学、细胞培养、分子生物学、转基因生物学、微生物学、重组 DNA、免疫学的常规技术。这些技术在文献中有详细解释。参见,例如 Sambrook, Fritsch 和 Maniatis (Cold Spring Harbor Laboratory Press:1989) 编辑的 Molecular Cloning A Laboratory Manual, 2<sup>nd</sup> Ed. ;DNA Cloning, Volumes I and II (D. N. Glover 编, 1985) ;Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait 编, 1984) ;Mullis 等美国专利 No:4,683,195 ;Nucleic Acid Hybridization (B. D. Hames&S. J. Higgins 编, 1984) ;Transcription And Translation (B. D. Hames&S. J. Higgins 编, 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) ;论文, Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N. Y.) ;Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells (J. H. Miller 和 M. P. Calos 编, 1987, Cold Spring Harbor Laboratory) ;Methods In Enzymology, Vols. 154 and 155 (Wu 等编) ;Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Mayer 和 Walker 编, Academic Press, London, 1987) ;Handbook Of Experimental Immunology, Volumes I-IV (D. M. Weir 和 C. C. Blackwell 编, 1986) ;Manipulating the Mouse Embryo, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y., 1986) 。

## 实施例

[1637] 现在已对本发明做了概括描述,参考下面的实施例将更容易理解本发明,本发明包含实施例的目的仅在于说明本发明的某些方面及具体实施方式,并非有意以任何方式限制本发明。

[1638] 实施例 1: 饮食诱导肥胖(DIO) 小鼠模型中 sirtuin 活化剂的代谢活性

[1639] 为了确定 SIRT-1 活化剂是否防止肥胖及相关的胰岛素抵抗的发展,向 16 周内长期接受高脂肪饮食的雄性 C57BL6J 小鼠给予白藜芦醇(通过食物混入)。对小鼠进行大范围的表型和分子分析以确定受 Sirt-1 活化影响的调节途径。参见,例如图 17-21 所示的结果。

[1640] 结果表明,小鼠对作为食品添加剂白藜芦醇有良好的耐受性,且并未引起厌食。在这项长期研究中,对 50 只雄性 C57BL6J 小鼠(年龄为 5 周)进行了为期 18 周的分析。10 只动物为一组,分为如下 5 组:

[1641] 1: 正常饮食

[1642] 2: 正常饮食 + 白藜芦醇(200mg/kg/ 天)

[1643] 3: 高脂肪饮食

[1644] 4: 高脂肪饮食 + 白藜芦醇(200mg/kg/ 天)

- [1645] 5 :高脂肪饮食 + 白藜芦醇(400mg/kg/ 天)
- [1646] 在整个研究中,每两周监测体重及食物摄入量。
- [1647] 在第 1 周中,采用双能量 X 射线吸收扫描法(dexascan)对所有组的身体组成进行分析。
- [1648] 在第 2 周中,将所有组禁食 12 小时后测量血清葡萄糖、甘油三酯、胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇和胰岛素水平,然后将小鼠以所示饮食处置(第 0 天)。
- [1649] 在第 10 周中,通过让所有动物接受腹腔葡萄糖耐量试验(IPGTT)来确定葡萄糖耐受性。进行该项实验之前,动物禁食 12 小时。
- [1650] 通过间接量热法测量 1、3、5 组(正常饮食、高脂肪饮食、高脂肪饮食 400mg)的夜间能量能耗。
- [1651] 在第 12 周中,再次对所有组的体组成采用双能量 X 射线吸收扫描法(dexascan)进行分析。
- [1652] 在第 13 周中,对 3、4、5 组(高脂肪饮食喂养的小鼠)的 30 小时内的昼夜节律活动进行研究。
- [1653] 在第 14 周中,对 3、4 和 5 组的血压和心率进行测量。
- [1654] 在第 15 周中,在上午 10:00 室温下测量所有动物的直肠温度。
- [1655] 对 1、2、3 组的昼夜节律活动的进行测量。
- [1656] 在第 16 周中,对 3、4、5 组动物的一部分(n=5)进行口服葡萄糖耐量试验(OGTT),对另一部分动物(n=5)进行腹腔胰岛素敏感性试验(IPIST)以分析葡萄糖的耐受性。在这些实验中,还要收集血液分析胰岛素水平。这些实验前,动物禁食 12 小时。
- [1657] 收集所有组的 24 小时内的粪便,测量粪便脂质的含量。
- [1658] 在第 17 周中,在对应于光照周期开始的早上 7 点,测量一部分小鼠(n=5)的血清白藜芦醇水平,三小时之后(上午 10 点)测量另一部分小鼠(n=5)。另外,测量早上 7 点收集的血液中甲状腺激素 T3 的水平及上午 10 点收集的血液中脂蛋白的水平。
- [1659] 在第 18 周中,对所有动物进行寒冷实验,即暴露于 4℃下测量动物体温。
- [1660] 三天后,处死动物。
- [1661] 处死时,收集血液并分析:血浆脂质(总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、游离脂肪酸(FFAs)) ;肝功能(丙氨酸转氨酶(ALAT)、天冬氨酸转氨酶(ASAT)、碱性磷酸酶、γ-谷氨酰转肽酶(γ-GT)) ;以及所选组的血浆葡萄糖和胰岛素脂蛋白情况(尺寸排阻色谱 size-exclusion chromatography)。
- [1662] 收集肝脏、小肠、脂肪组织(白色脂肪组织 WAT 和褐色脂肪组织 BAT)、胰脏、心脏和肌肉并称重。可采用标准的组织学方法(HE 染色、琥珀酸脱氢酶染色、油红 O 染色和细胞形态学)分析这些组织的脂质含量;通过电镜分析褐色脂肪组织(BAT)和肌肉中的线粒体。分离 RNA,用于采用定量 RT-PCR 进行的对所选基因的表达研究,所选基因涉及代谢及能量平衡。也可以对所选组织进行微阵列实验。另外,可以提取蛋白质以研究蛋白质水平以及翻译后修饰,如目的蛋白的乙酰化(例如 PGC-1 α) 的变化。
- [1663] 方法
- [1664] 动物喂养及处理。依据欧盟制定的规范,在控制温度(20-22℃)和湿度的动物园中,在具有 12 小时 :12 小时(在 7:00)的昼夜周期且无特殊病原体的条件下,将小鼠分组饲

养(5只动物/笼)。动物可以自由地饮水和进食。

[1665] 饮用水。对自来水的化学组成进行定期分析,以证明不存在 Institut d' Hydrologie, ULP, Strasbourg 中潜在的毒性物质。采用氯化氢和高氯酸对饮用水进行处理,使其 pH 值维持在 5 到 5.5, 氯浓度为 5 到 6ppm。

[1666] 饮食。标准的啮鼠动物正常饮食从 UAR 获得,高脂肪饮食从 Research Diet 获得。用正常饮食(蛋白质 16%, 脂肪 3%, 纤维 5%, 灰分 5%)或高脂肪饮食(蛋白质 26.2%, 碳水化合物 26.3%, 脂肪 34.9%)喂养小鼠。将白藜芦醇与粉末状正常饮食或粉末状高脂肪饮食混合,重新制成球团。对照组接受公司提供的球团。由于高脂肪饮食是粘稠的,没必要加水使其与白藜芦醇混合。对于正常饮食较难重新制备,向粉末中加入少量水来重新制备球团然后进行空气干燥。每周制备新批次的食物。

[1667] 采血。从眼眶后窦或从尾静脉采血。

[1668] 麻醉。对于双能量 X 射线吸收扫描实验,通过腹腔注射给予氯胺酮(200mg/kg) / Xylasine (10mg/kg) 的混合物对动物进行麻醉。

[1669] 生物化学

[1670] 采用商业试剂(Olympus)在 Olympus AU-400 自动化实验室工作站上进行实验。

[1671] 脂质和脂蛋白的分析。血清甘油三酯、总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇是采用酶学分析测定的。将含有 apo B 的脂蛋白与磷钨酸 / 镁(Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)一起沉淀之后测定血清高密度脂蛋白胆固醇的含量。游离脂肪酸水平的测定是利用 Wako 的试剂盒并根据厂家的说明进行的。

[1672] 代谢和内分泌方面的研究。采用 Medisense Precis 电极(Abbot Laboratories, Medisense products, Bedford, USA), 通过 Precision Q. I. D 分析仪 (Medisense 系统)分析血液葡萄糖浓度。通过 Precision Q. I. D 分析仪的数值和经典葡萄糖测量值的比较已经证明该方法是有效的。Precision Q. I. D 方法由于需要少量的血液而被选择,因此可以被用于如在腹腔葡萄糖耐量试验中进行多次测量。血浆胰岛素(Crystal Chem, Chicago, IL)是根据制造商的说明采用 ELISA 方法测定的。T3 的血浆水平是根据制造商提供的方案采用标准的放射性免疫分析法(RIA)测定的。

[1673] 代谢试验

[1674] 脂蛋白情况。通过快速蛋白质液相色谱获得脂蛋白的情况,其中将三种主要类别的脂蛋白,极低密度脂蛋白、低密度脂蛋白和高密度脂蛋白分开。

[1675] 腹腔葡萄糖耐量实验 - 口服葡萄糖耐量实验。IPGTT 和 OGTT 是在过夜(12 小时)禁食的小鼠上进行的。采用 20% 的葡萄糖无菌盐水(0.9% NaCl)溶液,以 2g 葡萄糖 /kg 体重的剂量对小鼠进行腹腔注射(IPGTT)或口服灌注(OGTT)。为监测葡萄糖和胰岛素,在给予葡萄糖溶液之前及之后的 15、30、45、75、90、120、150、180 分钟,从尾静脉采血。计算的葡萄糖曲线的增量区域可以作为胰岛素敏感性的测量值,而相应的胰岛素水平则表示胰岛素分泌的储量。

[1676] 腹腔胰岛素敏感性实验。向禁食动物腹腔注射常规的猪胰岛素(0.5-1.0IU/kg; Lilly, Indianapolis, IN)。注射后 0、15、30、45、60、90 分钟后采血,用上述方法分析葡萄糖。注射胰岛素后,以葡萄糖随时间下降的斜率作为胰岛素敏感性的测量值。

[1677] 能量消耗。利用 Oxymax 设备(Columbus Instruments, Columbus, OH) 测量 12 小

时内的氧消耗,即通过间接量热法来评价能量消耗。该系统由带有空气能进出的塑料笼子(每个笼子一只小鼠)的开放回路组成。动物可以自由地进食和饮水。如果进入笼子中的空气流量恒定,则利用一个非常精确的二氧化碳和氧气传感器测量空气容积中氧气和二氧化碳浓度的差别,即得到一定时间内的耗氧量。从该设备得到的数据经过与其相连的计算机处理、分析并以可输出的 Excel 文档的形式显示出来。数值以  $\text{ml kg}^{-1}\text{h}^{-1}$  表示,即通常已知的  $\text{V}\text{O}_2$ 。

[1678] 双能量 X 射线吸收测定法测定机体脂肪含量。Dexa 分析采用超高分辨率 PIXIMUS Series Densitometer (0.18x0.18mm 像素, GE Medical Systems, Madison, WI, USA) 来进行。利用 PIXIMUS 软件(version 1.4x, GE Medical Systems) 测定骨骼矿物密度 (BMD 以  $\text{g/cm}^2$  表示) 和身体组成。

[1679] 非侵入性血压和心率测量

[1680] Visitech BP-2000 血压分析系统是计算机自动控制的尾套(tail cuff) 系统,该系统用于在无操作人员干预的情况下对 4 只清醒的小鼠同时进行多次测量。将小鼠的尾巴穿入尾套,放入加热的平台上的独立的暗室中。该系统通过测定套压力来测定血压,这里的进入尾部的血流已被清除。光电传感器检测受试动物的脉搏。系统产生的结果表明申请人 (Applicant) 已经表现出与同时在颈动脉测量的动脉内平均压力有密切关系。这样可以获得可重复的收缩压和心率值。这需要在该系统中对动物训练一个星期。

[1681] 昼夜节律活动

[1682] 自发的自主活动的测定要采用独立的箱子(boxes),每个箱子由滑动底板、可拆卸的笼子组成,并配备红外捕获器用来测量走动的活动和后腿站立(rears)。利用电子界面 (Imetronic, Pessac, France) 将箱子与计算机相连。对小鼠进行 32 小时的实验,以测量小鼠对该设备的习惯性及夜间和白昼的活动。实验期间使用自动 lickometer 测量消耗的水量。

[1683] 实施例 2 :Zucker 糖尿病大鼠模型中 sirtuin 活化剂的代谢活性

[1684] 给 Zucker 脂肪性糖尿病大鼠 (ZOF/Gmicrl-fa/fa) 每天 2 次(总剂量 400mg/kg/天) 口服白藜芦醇 (200mg/kg)、二甲双胍 (200mg/kg)、两者的组合(各 200mg/kg) 或载体 (2% 吐温 80, 10ml/kg) 长达 42 天。每组使用 8 只大鼠(六周龄, 190+10g)。动物在第 43 天进行口服葡萄糖耐量实验(葡萄糖剂量为 2g/kg, P0) 之前禁食 24 小时。在葡萄糖负载 (glucose load) (空腹血糖) 之前 35 分钟和口服葡萄糖负载 (oral glucose load) 之后的 90 分钟从后眼眶窦收集血液样品。通过 Hitachi Model1750 自动分析仪测定血清葡萄糖水平。该实验的结果见图 23。同样经过 43 天的每日的体重和食物摄取证明 4 组之间无统计学差异。另外,四组的空腹血糖水平(第 8、15、22、29、36、43 天) 之间也无差别。

[1685] 实施例 3: 饮食诱导的肥胖(DIO) 小鼠模型的生化和组织学分析

[1686] 根据上述实施例 1 的描述在小鼠中造成饮食诱导的肥胖。对用对照饮食 (C)、高脂肪饮食 (HF) 或高脂肪饮食加 400mg/kg/天白藜芦醇 (HF+R400) 饲养的小鼠进行生化和组织学分析(参见实施例 1)。

[1687] 图 24 表示如上述实施例 1 的描述进行的体重变化实验、摄食量实验和机体脂肪含量实验的结果。采用对照饮食 (C)、对照饮食加 400mg/kg/天白藜芦醇 (C+R400)、高脂肪饮食 (HF) 或高脂肪饮食加 400mg/kg/天白藜芦醇 (HF+R400) 喂养小鼠 9 周。左上方显示

经 9 周时间四个饮食组的小鼠的体重变化曲线图。右上方显示四个饮食组以 kcal/24 小时表示的小鼠摄食量的曲线图。下方显示了在治疗的第 9 周利用双能量 X 射线吸收扫描法分析的四个饮食组的小鼠机体脂肪含量的比较。数值以平均值  $\pm$  平均标准误差 (SEM n=10) 表示。BAT 是褐色脂肪组织 (右下方); Inguinal WAT 是腹股沟白色脂肪组织 (左下方); Retroperitoneal WAT 是腹膜后白色脂肪组织 (中下方); 结果显示出显著性差异 (p 值)。

[1688] 图 25 表示用对照饮食 (C)、高脂肪饮食 (HF) 或高脂肪饮食加 400mg/kg/ 天白藜芦醇 (HF+R400) 喂养 16 周后动物的血清生化分析结果。显示的数值是基于每个饮食组中 10 只动物的平均测量值。总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、甘油三酯、游离脂肪酸、天冬氨酸转氨酶 (ASAT)、丙氨酸转氨酶 (ALAT) 和碱性磷酸盐 (ALP) 的水平均采用标准方法测定。ASAT、ALP 和 ALAT 是通过动态紫外线和颜色实验测量的, 上述实验使用了基于国际临床化学联合会 (IFCC) 对 Olympus AU-400 自动化实验室工作站的推荐的方法。利用 OSR6109 试剂系统对 AST 定量, 该系统是基于 AST 催化天冬氨酸和 2- 酮戊二酸的转氨基作用生成 L- 谷氨酸和草酰乙酸的活性。草酰乙酸随后被苹果酸脱氢酶还原为 L- 苹果酸, 导致 NADH 转化为 NAD。由于 NADH 的消耗, 340nm 下测量的吸收值下降并与样品中的 AST 活性成比例。利用 OSR6107 试剂系统对 ALT 定量, 该系统是基于 ALT 将丙氨酸的氨基转移到 2- 酮戊二酸, 生成丙酮酸和谷氨酸的活性。丙酮酸然后由乳酸脱氢酶催化发生反应, 导致 NADH 转化为 NAD。与测量 AST 一样, 在 340nm 处测量 NADH 的消耗, 其与样品中 ALT 活性的量成比例。通过测定对硝基苯基磷酸盐向对硝基苯酚 (pNP) 的转化率来测定 ALP。由于 pNP 的生成, 在 410/480nm 处对吸收变化率进行双色性测量, 该变化率与样品中 ALP 活性直接成比例。每个饮食组的所有血清生化标记物的值均在正常值范围内。

[1689] 图 26 和 27 显示对用对照饮食 (C)、高脂肪饮食 (HF) 或高脂肪饮食加 400mg/kg/ 天白藜芦醇 (HF+R400) 喂养 16 周的动物的肝脏、附睾白色脂肪组织 (WAT)、褐色脂肪组织 (BAT) 和腓肠肌部分的苏木精和伊红染色。组织经收集后, 用 4% 多聚甲醛固定, 在切片 (10 微米) 和染色之前进行处理和石蜡包埋。组织处理、石蜡包埋、组织切片和组织切片的苏木精和伊红染色均采用标准的程序和商购试剂进行 (参见, 例如 McManus J. F. A. 和 Mowry, R. W., *Staining Methods. Histologic and Histochemical*, Harper 和 Row, New York 1960; Luna L. G., *Histopathological Methods and Color Atlas of Special Stains and Tissue Artifacts*, Johnson Printers, Downers Grove, IL 1992; Gabe M., *Techniques histologiques*. Masson, Paris 1968; 以及环球信息网的 statlab. com)。如图所示, 在不同饮食组的任何组织中未观察到组织学变化。

[1690] 图 28 显示了对用高脂肪饮食 (HF) 或高脂肪饮食加 400mg/kg/ 天白藜芦醇 (HF+R400) 喂养 16 周后的小鼠的褐色脂肪组织和肌肉组织 (比目鱼肌和腓肠肌) 进行琥珀酸脱氢酶染色的结果。琥珀酸脱氢酶是线粒体活性的标记物, 在照片中产生黑色染色。收集组织, 立即在甲基丁烷中冷冻, 然后在切片和染色之前在 -80°C 保存。琥珀酸脱氢酶染色是采用标准方法和商购试剂进行的 (参见, 例如 Reichmann H 和 Wildenauer D, *Histochemistry*, 96:251-3 (1991))。如图 28 所示, 接受高脂肪饮食加 400mg/kg/ 天白藜芦醇 (HF+R400) 的小鼠的褐色脂肪组织和腓肠肌组织的琥珀酸脱氢酶染色明显更深, 说明在给予白藜芦醇之后, 这些组织中线粒体活性更强。相反地, 接受高脂肪饮食 (HF) 和高脂肪饮食加 400mg/kg/ 天白藜芦醇 (HF+R400) 的小鼠的比目鱼肌组织的琥珀酸脱氢酶染色中未观察到变化。

[1691] 图 29 显示了用对照饮食(C)、高脂肪饮食(HF)或高脂肪加 400mg/kg/ 天白藜芦醇(HF+R400)饮食喂养 16 周的小鼠的腓肠肌经透射电子纤维镜放大 10,000 和 20,000 倍的结果。透射电子显微镜采用下面描述的标准方法操作。可以看到的跨越 I 形线的较暗的长方形 Z 形线是线粒体。如图所示,用高脂肪饮食加 400mg/kg/ 天白藜芦醇(HF+R400) 喂养的小鼠比对照饮食或高脂肪饮食喂养的小鼠含有更多的线粒体。

[1692] 图 30 显示用对照饮食(C)、高脂肪饮食(HF) 或高脂肪饮食加 400mg/kg/ 天白藜芦醇(HF+R400) 喂养 16 周的小鼠褐色脂肪组织经透射电子显微镜放大 4,000 和 20,000 倍的结果。透射电子显微镜采用下面描述的标准方法操作。在两种放大倍数下都可以观察到呈现白色或浅灰色颗粒的脂肪颗粒,更高放大倍数下可以观察到呈现圆的条纹结构的线粒体。高脂肪饮食加白藜芦醇饲养的动物含有较小的脂肪颗粒(上图)和较多的线粒体(下图)。

[1693] 透射电镜显微术 / 样品的制备 :腓肠肌和褐色脂肪组织的活组织检查中,切片厚度 1mm,采样后立即用 Karnovsky 固定剂(戊二醛溶于二甲胂酸盐缓冲液)固定,4℃保存,无时间限制。第二步是在 4℃下用 1% 的溶于 0.1M 二甲胂酸盐缓冲液的四氧化锇进行后固定 1 小时。然后将组织通过连续的梯度乙醇(graded alcohol)浴以及之后的环氧丙烷浴进行脱水,然后用环氧丙烷和树脂的混合物进行处理,再将其包埋在 60℃下经 48 小时后转化成固体的纯环氧树脂(环氧树脂, Epon812) 中。切成 2  $\mu$  m 厚的半薄切片用甲苯胺蓝染色,利用光学显微镜进行组织学分析。切成 70nm 厚的超薄切片用乙酸双氧铀和柠檬酸铅形成对比,用 Philips208 电子显微镜检验。

[1694] 图 31 显示用对照饮食(C)、高脂肪饮食(HF) 或高脂肪饮食加 400mg/kg/ 天白藜芦醇(HF+R400) 喂养的小鼠褐色脂肪组织、肝脏和肌肉中测量到的 Sirt1 mRNA 的水平。所示数值是基于每个饮食组中 6 只动物的平均值。数值是以相对于看家基因 18s 以及相对于正常饮食(自定义为 1) 形式表示的。基因的相对表达是利用 Sybrgreen incorporation (Lightcycler<sup>®</sup>, Roche Applied Science, Indianapolis, IN) 通过实时定量 PCR 进行的。还测定了蛋白质的表达水平及蛋白质活性。通过 SDS- 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离肝脏核提取物,然后利用 Sirt1 的特异性一抗(兔 IgG 抗 Sir2, Upstate<sup>®</sup> Biotechnology, Lake Placid, NY) 进行免疫印迹以确定蛋白质表达水平。将肝脏核提取物与抗 -PGC1  $\alpha$  抗体(PGC1 H300:sc-13063, Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA) 进行免疫共沉淀,之后用 SDS-PAGE 分离,用抗 - 乙酰化赖氨酸抗体(Cell Signaling Technology, Inc., Beverly, MA) 进行免疫印迹,从而确定 Sirt1 的活性。

[1695] 图 32 显示肝脏中的磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(PEPCK)、葡萄糖 -6- 磷酸酶(G6Pase)、Foxol、PGC1 -  $\alpha$  (过氧化物酶体增殖活化受体,  $\gamma$ , 共激活因子 1,  $\alpha$ )、Sirt1, 褐色脂肪组织中的解偶联蛋白 1 (UCP1)、酰基 - 辅酶 A 氧化酶(ACO)、Foxol、PGC1-  $\alpha$  、Sirt1, 以及肌肉中的解偶联蛋白 3 (UCP3)、肌肉型肉毒碱棕榈酰转移酶(mCPT)、Foxol、PGC1-  $\alpha$  、Sirt1 的相对基因表达。基因的相对表达是利用 Sybrgreen incorporation (Lightcycler<sup>®</sup>, Roche Applied Science, Indianapolis, IN) 通过实时定量 PCR 进行的。

[1696] 图 33 显示免疫印迹的结果,其表明白藜芦醇提高了 PGC1  $\alpha$  的去乙酰化。由用高

脂肪饮食(HF)或高脂肪饮食加400mg/kg白藜芦醇(HF+R400)喂养15周的小鼠个体的腓肠肌制备核提取物。与PGC1 $\alpha$ 抗体(Santa Cruz Biotechnology, 猫#SC-13067)一起共沉淀,用乙酰化赖氨酸特异性单克隆(Cell Signaling Technology, 猫#9441;左上方)或PGC1 $\alpha$ 抗体(Santa Cruz Biotechnology, 猫#SC-13067;左下方)为探针进行二级western印迹。对曝光进行扫描,与高脂肪饮食(HF)或高脂肪饮食加400mg/kg白藜芦醇(HF+R400)饲养的动物的总PGC1 $\alpha$ 相比较的PGC1 $\alpha$ 乙酰化水平显示在右边部分。

[1697] 实施例4:饮食诱导肥胖(Dio)小鼠模型中脂肪吸收的分析

[1698] 为研究不同饮食方法饲养的小鼠的脂肪吸收,如上所述,测定正常饮食(C)、高脂肪饮食(HF)或高脂肪饮食加400mg/kg/天白藜芦醇(HF+R400)喂养的小鼠粪便中的脂质含量。为了进行粪便脂质含量的分析,将小鼠置于代谢笼中,该笼子包括取代了小鼠寝具的金属格网底板。监测24小时内的摄食量,在确定脂肪平衡的同时收集粪便。将粪便置于真空干燥箱中70°C下干燥,然后小心去除小鼠寝具和/或食物残渣的污染物。从等分的100mg粪便中用氯仿/甲醇(2:1, v/v)在60°C下,连续搅拌30分钟萃取脂质。冷却样品,然后用Whatman No.1滤纸过滤到玻璃试管中。再加入一定量氯仿/甲醇,加水反萃取样品,剧烈振荡混匀。低速离心使相分离,然后将下层的氯仿相转移到新试管中。然后蒸干样品,先用氯仿/triton重悬,最后用水重悬。利用酶学检测试剂盒和生产商提供的方法按照总胆固醇(Biomerieux, enzymatic colour test CHOD-PAP)及甘油三酯(Biomerieux, enzymatic colour test, GPO-PAP)含量对脂肪提取物进行区分。数据表示每一粪便重总量中脂质的量。粪便脂质含量分析的结果见于图34。

[1699] 实施例5:饮食诱导肥胖(Dio)小鼠模型中的耐力和脂肪吸收的分析

[1700] 按上述实施例1中所述,对第二组动物进行包括了16周高脂肪饮食的饮食诱导肥胖的研究。该研究中的动物被分为以下四个饮食组:

[1701] 1:正常饮食

[1702] 2:正常饮食加白藜芦醇(400mg/kg/天)

[1703] 3:高脂肪饮食

[1704] 4:高脂肪饮食加白藜芦醇(400mg/kg/天)

[1705] 对经过16周的所有四个饮食组中的小鼠的体重分析见于图35。

[1706] 按所示饮食喂养14-15周后,对小鼠进行耐力研究。评价运动能力的标准检测方法是利用跑台(treadmill),即一种由密封于有机玻璃室中的变速皮带组成的系统,其还具有位于皮带后部的包括金属电击网的刺激装置。在跑步实验的前一天,开始利用驯化方法使小鼠适应跑台。依据该方法,小鼠被置于室中,以5°倾斜角27cm/s的速度跑步10分钟。对于真正的跑步实验,使用两种增加运动的方法,一种用于高脂肪饮食饲养的动物,一种用于正常饮食饲养的动物。对正常饮食的动物,实验开始时速度为25cm/s,倾斜角为5°,然后增加速度,根据图36所示的方式调整倾斜角。通常,对于体重较大且不易运动的高脂肪饮食饲养的动物,起始速度为18cm/s,倾斜角为0°,然后根据图36增加。记录5分钟间隔内的跑步距离及受电击的次数。当小鼠在5分钟内遭受大约100次电击(每次电击2mA),则认为小鼠已经筋疲力尽,将其从实验中去除。以跑步的持续时间及涉及总距离评价代表小鼠的表现(图37)。跑步前所有小鼠禁食2小时;驯化方案在下午进行,次日早上进行跑步实验。

[1707] 实施例 6 :白藜芦醇对胰岛素抵抗的作用

[1708] 目前,测量胰岛素抵抗的黄金标准方法是正常血糖钳技术。在该方法中,通过针对固定灌注速率的胰岛素以可变速率滴定葡萄糖(葡萄糖灌注速度 :GIR)使葡萄糖被“钳”在预定值(正常血糖值 5mmol/L)。研究前两到三天,在麻醉(氯胺酮和甲苯噻嗪)下,在股静脉处插管,该导管附着在小鼠头部后面,在小鼠皮下供给。手术后,将小鼠单独喂养,使其恢复至少 48 小时,这是优选的足以使它们恢复体重的时间。血糖钳方法是在清醒的、不受束缚的、无应激的、光周期颠倒的、禁食 5 小时的小鼠上进行的。小鼠经驯化(1 小时)适应笼子的顶部,它们身上的导管与注射器 - 灌注泵相连。将小鼠身上的导管分成两个分支,用来分别同时恒速和变速注射胰岛素和葡萄糖。在注射胰岛素之前,从尾静脉取样检测葡萄糖基线值。在以相当于 18mU 的胰岛素 /kg/ 分钟的  $2 \mu 1/\text{min}$  的流速持续灌注胰岛素之前,以短时间激发剂量( $6 \mu 1/\text{分钟}$ , 1min)对插管进行评价。在整个实验中,每五分钟对血糖值进行监测,15 分钟内血糖降低,开始灌注葡萄糖(20% 的盐水溶液)。改变葡萄糖的灌注速率直到达到并保持正常血糖水平(±15%)。此时,动物被“钳”住了,胰岛素抵抗的程度与维持所需血糖浓度必需的葡萄糖的量呈反向相关。GIR (mg 葡萄糖 /kg 动物 \* 分钟) 是以钳住的最后 60 分钟内的平均值来计算的。当一只动物的平均 GIR 高于另一只动物时,表明了较好的胰岛素敏感性或者葡萄糖从血浆中清除更快。

[1709] 图 38 显示利用高胰岛素(18mU/kg/ 分钟)正常血糖钳(5.5mmol/1)技术测量的白藜芦醇对胰岛素敏感性的作用。左边部分显示用对照饮食(C)、对照饮食加 400mg/kg 白藜芦醇(C+R400)、高脂肪饮食(HF)或高脂肪饮食加 400mg/kg 白藜芦醇(HF+R400)喂养 14 周的动物组的葡萄糖灌注速率(GIR)。右边部分显示达到血糖钳稳态时的平均 GIR。

[1710] 等价物

[1711] 本发明特别提供 sirtuin 活化化合物及其使用方法。本发明的特定具体实施方案已经过讨论,上述说明书用于举例说明而非限制性的。本领域技术人员在阅读本说明书后,本发明的多种变化对于本领域技术人员是显而易见的。本发明的全部范围应通过参考权利要求及其全部等价物,以及说明书和这些变化来确定。

[1712] 参考文献的引用

[1713] 本发明中提及的所用出版物及专利,包括下面列出的那些条目都全部引入本发明作为参考,并视为每个单独的出版物或专利被明确且单独地引入作为参考。如有冲突,本申请,包括本发明的任何定义将受到限制。

[1714] 全部引入本发明作为参考的还包括任何多核苷酸和多肽序列,它们具有有关进入公共数据库,例如由基因组研究所(The Institute for Genomic Research, TIGR) ([www.tigr.org](http://www.tigr.org)) 和美国国立生物技术信息中心(the National Center for Biotechnology Information, NCBI) ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) 维护的数据库的登录号。

[1715] 引入本发明作为参考的还包括以下:PCT 公开 WO2005/002672、2005/002555 和 2004/016726。

表1. 植物多酚类 (100  $\mu$ M) 对SIRT1催化速率的刺激

化合物	与对照速率的比值 平均值 $\pm$ 标准误差	结构
白藜芦醇 (3, 5, 4'-三羟基-反式-二苯乙烯)	13.4 $\pm$ 1.0	
紫铆因 (3, 4, 2', 4'-四羟基查尔酮)	8.53 $\pm$ 0.89	
白皮杉醇 (3, 5, 3', 4'-四羟基-反式-二苯乙烯)	7.90 $\pm$ 0.50	
异甘草素 (4, 2', 4'-三羟基查尔酮)	7.57 $\pm$ 0.84	
漆黄素 (3, 7, 3', 4'-四羟基黄酮)	6.58 $\pm$ 0.69	
槲皮素 (3, 5, 7, 3', 4'-五羟基黄酮)	4.59 $\pm$ 0.47	

缩写: SE, 平均值的标准误差。利用25  $\mu$ M NAD<sup>+</sup>和25  $\mu$ M p53-382乙酰化肽底物按照方法的描述进行速率测量。所有的比值数据是根据实验计算的, 其中对照反应中总脱乙酰化作用是0.25-1.25  $\mu$ M肽或乙酰化肽的起始浓度为1-5%。

图 1

续表1. 二苯乙烯和查耳酮 (100  $\mu$ M) 对SIRT1催化速率的影响

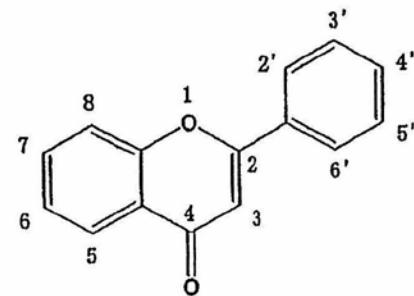
化合物	与对照速率的比值 平均值 $\pm$ 标准误差	重复	结构骨架
白藜芦醇 (3, 5, 4'-三羟基-反式-二苯乙烯)	13.4 $\pm$ 1.0	10	
白皮杉醇 (3, 5, 3', 4'-四羟基-反式-二苯乙烯)	7.90 $\pm$ 0.50	7	
去氧土大黄昔 (3, 5-二羟基-4'-甲氧基二苯乙烯3-O- $\beta$ -D-葡萄糖)	1.94 $\pm$ 0.21	6	
反式-二苯乙烯	1.48 $\pm$ 0.15	6	
土大黄昔 (3, 3', 5-三羟基-4'-甲氧基二苯乙烯3-O- $\beta$ -D-葡萄糖昔)	1.40 $\pm$ 0.37-	6	
顺式-二苯乙烯	1.14 $\pm$ 0.29	6	
紫锦因 (3, 4, 2', 4'-四羟基查尔酮)	8.53 $\pm$ 0.89	6	
4, 2', 4'-三羟基查尔酮	7.57 $\pm$ 0.84	6	
3, 4, 2', 4', 6'-五羟基查尔酮	2.80 $\pm$ 0.32	6	
查尔酮	1.34 $\pm$ 0.17	6	

缩写: SE, 平均值的标准误差。利用 25  $\mu$ M NAD<sup>+</sup>和 25  $\mu$ M p53-382乙酰化肽底物按照方法的描述进行速率测量。所有的比值数据是根据实验计算的, 其中对照反应中总脱乙酰化作用是 0.25-1.25  $\mu$ M肽或乙酰化肽的起始浓度为 1-5%。

图 2

续表2. 黄酮 (100 μM) 对SIRT1催化速率的影响 (第1部分)

化合物	与对照速率的比值 平均值 ± 标准误差	重复	结构骨架
漆黄素 (3, 7, 3', 4'-四羟基黄酮)	6.58 ± 0.69	9	
5, 7, 3', 4', 5'-五羟基黄酮	6.05 ± 0.98	6	
木樨草素 (5, 7, 3', 4'-四羟基黄酮)	5.66 ± 0.80	6	
3, 6, 3', 4'-四羟基黄酮)	5.45 ± 0.57	12	
槲皮素 (3, 5, 7, 3', 4'-五羟基黄酮)	4.59 ± 0.47	16	
7, 3', 4', 5'-四羟基黄酮)	3.62 ± 0.56	6	黄酮
山奈酚 (3, 5, 7, 4'-四羟基黄酮)	3.55 ± 0.56	6	
6-羟基芹菜素 (5, 6, 7, 4'-四羟基黄酮; 黄芩素)	3.06 ± 0.29	6	
芹菜素 (5, 7, 4'-三羟基黄酮)	2.77 ± 0.40	6	
3, 6, 2', 4'-四羟基黄酮)	2.10 ± 0.22	6	
7, 4'-二羟基黄酮	1.91 ± 0.17	6	



缩写: SE, 平均值的标准误差。利用25 μM NAD<sup>+</sup>和25 μM p53-382乙酰化肽底物按照方法的描述进行速率测量。所有的比值数据是根据实验计算的, 其中对照反应中总脱乙酰化作用是0.25-1.25 μM肽或乙酰化肽的起始浓度为1-5%。

图 3

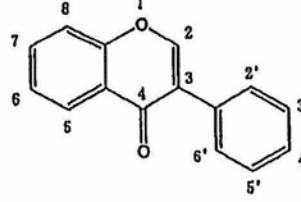
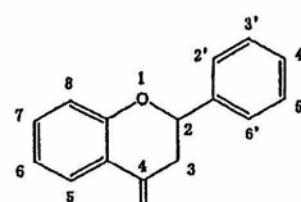
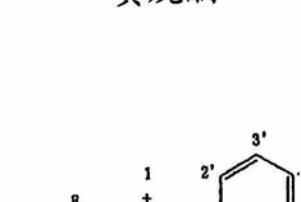
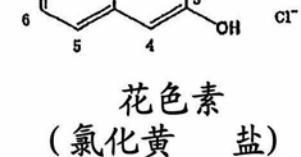
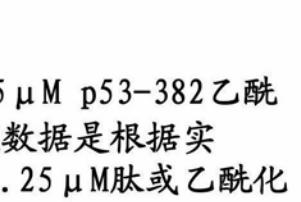
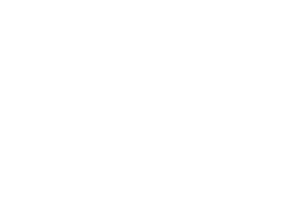
续表3. 黄酮 (100  $\mu$ M) 对SIRT1催化速率的影响 (第2部分)

化合物	与对照速率的比值 平均值 $\pm$ 标准误差	重复	结构骨架
7, 8, 3', 4'-四羟基黄酮	1.91 $\pm$ 0.39	6	
3, 6, 2', 3'-四羟基黄酮	1.74 $\pm$ 0.27	6	
4'-羟基黄酮	1.73 $\pm$ 0.12	6	
5, 4'-二羟基黄酮	1.56 $\pm$ 0.15	6	
5, 7-二羟基黄酮	1.51 $\pm$ 0.18	6	
桑色素 (3, 5, 7, 2', 4'-五羟基黄酮)	1.461 $\pm$ 0.071	6	
黄酮	1.41 $\pm$ 0.23	6	黄酮
5-羟基黄酮	1.22 $\pm$ 0.19	6	
杨梅酮 (杨梅黄素; 3, 5, 7, 3', 4', 5'-六羟基黄酮)	0.898 $\pm$ 0.070	12	
3, 7, 3', 4', 5'-五羟基黄酮	0.826 $\pm$ 0.074	12	
棉花皮素 (3, 5, 7, 8, 3', 4'-六羟基黄酮)	0.723 $\pm$ 0.062	6	

缩写: SE, 平均值的标准误差。利用25  $\mu$ M NAD<sup>+</sup>和25  $\mu$ M p53-382乙酰化肽底物按照方法的描述进行速率测量。所有的比值数据是根据实验计算的, 其中对照反应中总脱乙酰化作用是0.25-1.25  $\mu$ M肽或乙酰化肽的起始浓度为1-5%。

图 4

续表4. 异黄酮、黄烷酮和花色素 (100  $\mu$ M) 对SIRT1催化速率的影响

化合物	与对照速率的比值 平均值 $\pm$ 标准误差	重复	结构骨架
大豆黄酮 (7, 4'-二羟基异黄酮)	2.28 $\pm$ 0.74	2	
染料木黄酮 (5, 7, 4'-三羟基异黄酮)	1.109 $\pm$ 0.026	2	
柚皮素 (5, 7, 4'-三羟基黄烷酮)	2.10 $\pm$ 0.23	6	
3, 5, 7, 3', 4'-五羟基黄烷酮	1.97 $\pm$ 0.22	5	
黄烷酮	1.92 $\pm$ 0.24	6	
氯化天竺葵色素 (3, 5, 7, 4'-四羟基氯化黄盐)	1.586 $\pm$ 0.037	2	
氯化氯定 (3, 5, 7, 3', 4'-五羟基氯化黄盐)	0.451 $\pm$ 0.015	2	
氯化翠雀啶 (3, 5, 7, 3', 4', 5'-六羟基氯化黄盐)	0.4473 $\pm$ 0.0071	2	

缩写: SE, 平均值的标准误差。利用25  $\mu$ M NAD<sup>+</sup>和25  $\mu$ M p53-382乙酰肽底物按照方法的描述进行速率测量。所有的比值数据是根据实验计算的, 其中对照反应中总脱乙酰化作用是0.25-1.25  $\mu$ M肽或乙酰化肽的起始浓度为1-5%。

图 5

续表5. 儿茶素(黄烷-3-醇)(100 μM)对SIRT1催化速率的影响

化合物	与对照速率的比值 平均值±标准误差	重复	结构骨架/结构
(-) -表儿茶素 (羟基位置: 3, 5, 7, 3', 4')	1.53 ± 0.31	4	
(-) -儿茶素 (羟基位置: 3, 5, 7, 3', 4')	1.41 ± 0.21	4	
(-) -没食子儿茶素 (羟基位置: 3, 5, 7, 3', 4', 5')	1.35 ± 0.25	4	
(+) -儿茶素 (羟基位置: 3, 5, 7, 3', 4')	1.31 ± 0.19	4	
(+) -表儿茶素 (羟基位置: 3, 5, 7, 3', 4')	1.26 ± 0.20	4	
(-) -表没食子儿茶素 (羟基位置: 3, 5, 7, 3', 4', 5')	0.41 ± 0.11	4	
(-) -表没食子儿茶素 没食子酸酯 (羟基位置: 3*, 5, 7, 3', 4', 5'; *没食子酸 酯位置)	0.32 ± 0.12	4	

缩写: SE, 平均值的标准误差。利用25 μM NAD<sup>+</sup>和25 μM p53-382乙酰化肽底物按照方法的描述进行速率测量。所有的比值数据是根据实验计算的, 其中对照反应中总脱乙酰化作用是0.25-1.25 μM肽或乙酰化肽的起始浓度为1-5%。

图 6

续表6. 自由基保护化合物 (100  $\mu$ M) 对SIRT1催化速率的影响

化合物	与对照速率的比值 平均值 $\pm$ 标准误差	重复	保护机制
日柏醇 ( <i>b</i> -崖柏素; 2-羟基 -4-异丙基-2, 4, 6-环 庚三烯-1-酮)	2.48 $\pm$ 0.15	2	铁螯合剂
L-(+)-麦角硫因 ((S)- -a-羧基-2, 3-二氢-N, N, N-三甲基-2-硫代- 1H-咪唑-4-乙铵内盐)	2.06 $\pm$ 0.48	2	抗氧化剂、过氧化 硝酸盐清除剂
咖啡酸苯酯	1.80 $\pm$ 0.16	2	铁螯合剂
MCI-186 (3-甲基-1-苯基-2-吡唑 啉-5-酮)	1.2513 $\pm$ 0.0080	2	自由基清除剂、 抗氧化剂
HBED (N, N'-二-(2-羟基苄基) 乙二胺-N, N'-二乙酸· HCl · H <sub>2</sub> O)	1.150 $\pm$ 0.090	2	铁螯合剂
氯溴索 (反式-4-(2-氨基-3, 5-二 溴苄基氨基)环己胺 · HCl)	1.075 $\pm$ 0.0026	2	自由基清除剂
U-83836E ((-)-2-((4-(2, 6-二-1- 吡咯烷基-4-嘧啶基)-1- 哌嗪)甲基)-3, 4-二氢- 2, 5, 7, 8-四甲基-2H-1- 苯并吡喃-6-醇 · 2HCl)	1.030 $\pm$ 0.055	2	Lazaroid氨基甾体、 过氧化抑制剂
Trolox 6-羟基-2, 5, 7, 8-四甲基 苯并二氢吡喃-2-甲酸)	0.995 $\pm$ 0.019	2	抗氧化剂

缩写: SE, 平均值的标准误差。利用25  $\mu$ M NAD<sup>+</sup>和25  $\mu$ M p53-382乙酰化肽底物按照方法的描述进行速率测量。所有的比值数据是根据实验计算的, 其中对照反应中总脱乙酰化作用是0.25-1.25  $\mu$ M肽或乙酰化肽的起始浓度为1-5%。

图 7

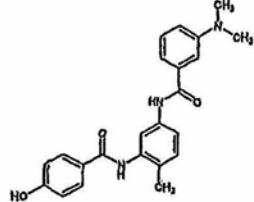
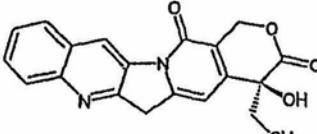
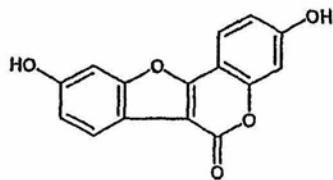
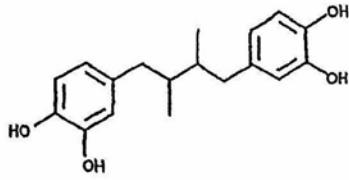
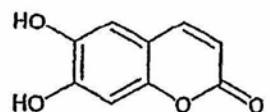
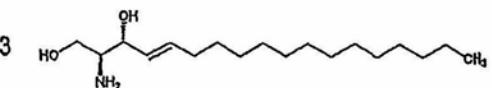
续表7. 各种各样的化合物 (100  $\mu$ M) 对SIRT1催化速率的影响

化合物	与对照速率的比值 平均值 $\pm$ 标准误差	重复	结构和活性
双嘧达莫 (2, 6-双(二乙醇氨基)- 4, 8-二哌啶基-嘧啶基 [5, 4-d]嘧啶)	3.54 $\pm$ 0.20	2	 腺苷运输、磷酸二酯酶、 5-脂氧合酶抑制剂
烟酰胺	0.428 $\pm$ 0.019	42	 Sirtuin 反应产物/抑制剂
NF279	0.0035 $\pm$ 0.0011	3	 嘌呤能受体拮抗剂
NF023	-0.0016 $\pm$ 0.0015	3	 G-蛋白拮抗剂
苏拉明	-0.0002 $\pm$ 0.0010	3	 G-蛋白拮抗剂、 逆转录酶抑制剂

缩写: SE, 平均值的标准误差。利用25  $\mu$ M NAD<sup>+</sup>和25  $\mu$ M p53-382乙酰化肽底物按照方法的描述进行速率测量。所有的比值数据是根据实验计算的, 其中对照反应中总脱乙酰化作用是0.25-1.25  $\mu$ M肽或乙酰化肽的起始浓度为1-5%。

图 8

续表8. 各种调节剂对SIRT1催化速率的影响

化合物 (浓度)	与对照速率的比值 平均值±标准误差	重复	结构
ZM 336372, (100 $\mu$ M)	3.5 ± 1.1	3	
喜树碱 (10 $\mu$ M)	2.92 ± 0.41	3	
香豆雌酚 (10 $\mu$ M)	2.30 ± 0.31	2	
NDGA, (100 $\mu$ M)	1.738 ± 0.088	3	
七叶亭 (10 $\mu$ M)	1.737 ± 0.082	3	
神经鞘氨醇	0.069 ± 0.028	3	

缩写: SE, 平均值的标准误差。利用25  $\mu$ M NAD<sup>+</sup>和25  $\mu$ M p53-382乙酰化肽底物按照方法的描述进行速率测量。所有的比值数据是根据实验计算的, 其中对照反应中总脱乙酰化作用是0.25-1.25  $\mu$ M肽或乙酰化肽的起始浓度为1-5%。

图 9

表9. 新白藜芦醇类似物 (100  $\mu$ M) 对SIRT1催化速率的影响

化合物	与对照速率的比值 平均值 $\pm$ 标准误差	N	结构	溶液稳定性 $t_{1/2}$ , 小时
BML-230 (3, 5-二羟基-4'-硫 甲基-反式-二苯乙烯)	11.8 $\pm$ 1.9	12		
白藜芦醇 (3, 5, 4'-三羟基- 反式-二苯乙烯)	10.7 $\pm$ 0.4	49		59 (乙醇) 20 (水)
BML-217 (3, 5-二羟基-4'- 氯-反式-二苯乙烯)	10.6 $\pm$ 0.4	3		
银松素 (3, 5-二羟基-反式- 二苯乙烯)	9.95 $\pm$ 0.45	3		
BML-225 (3, 5-二羟基-4'- 乙基-反式-二苯乙烯)	9.373 $\pm$ 0.014	3		
BML-212 (3, 5-二羟基-4'- 氟-反式-二苯乙烯)	8.20 $\pm$ 0.69	3		66 (乙醇)

图 10

表10. 新白藜芦醇类似物 (100  $\mu$ M) 对SIRT1催化速率的影响

化合物	与对照速率的比值 平均值 $\pm$ 标准误差	N	结构	溶液稳定性t <sub>1/2</sub> , 小时
BML-228 (3,5-二羟基 -4'-甲基- 反式-二苯乙 烯)	7.72 $\pm$ 0.12	3		
BML-232 (3,5-二羟基 -4'-叠氮- 反式-二苯乙 烯)	7.24 $\pm$ 0.12	3		
BML-229 (3,5-二羟基 -4'-硝基- 反式-二苯乙 烯)	6.78 $\pm$ 0.22	3		
BML-231 (3,5-二羟基 -4'-异丙基- 反式-二苯 乙烯)	6.01 $\pm$ 0.15	3		
BML-233 (3,5-二羟基 -4'-甲氧基- 反式-二苯 乙烯)	5.48 $\pm$ 0.33	6		

图 11

表11. 新白藜芦醇类似物 (100  $\mu$ M) 对SIRT1催化速率的影响

化合物	与对照速率的比值平均值 $\pm$ 标准误差	N	结构	溶液稳定性 $t_{1/2}$ , 小时
土大黄昔昔元 (3, 5, 3'-三羟基-4'-甲氧基-反式-二苯乙烯)	4.060 $\pm$ 0.069	3		
BML-227 (3, 4'-二羟基-5-乙酰氧基-反式-二苯乙烯)	3.340 $\pm$ 0.093	3		
BML-221 (3, 5-二羟基-4'-乙酰氧基-反式-二苯乙烯)	3.05 $\pm$ 0.54	6		504 (乙醇)
BML-218 (E)-1-(3, 5-二羟基苯基)-2-(2-萘基)乙烯	3.05 $\pm$ 0.37	6		
BML-216 3-羟基二苯乙烯	2.357 $\pm$ 0.074	3		

图 12

表12. 新白藜芦醇类似物 (100  $\mu$ M) 对SIRT1催化速率的影响

化合物	与对照速率的比值 平均值 $\pm$ 标准误差	N	结构	溶液稳定性 $t_{1/2}$ , 小时
BML-226 (3, 5, -二甲氧基 甲氧基-4'- 硫甲基-反式 -二苯乙烯)	2.316 $\pm$ 0.087	3		
BML-222 (3, 5-二羟基- 4'-乙酰胺基 -反式-二苯乙 烯)	1.88 $\pm$ 0.11	3		
BML-215 3, 4-二羟基- 反式-二苯乙 烯	1.64 $\pm$ 0.10	6		
BML-224 (E)-1-(3, 5- 二羟基苯基) -2-(环己基) 乙烯	1.297 $\pm$ 0.042	3		
3, 4-二甲氧基 -反式-二苯乙 烯	1.127 $\pm$ 0.019	3		

图 13

表13. 新白藜芦醇类似物 (100  $\mu$ M) 对SIRT1催化速率的影响

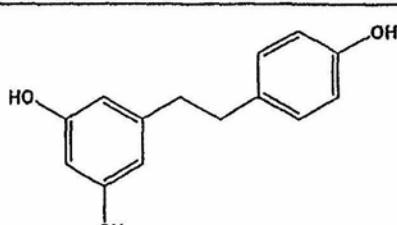
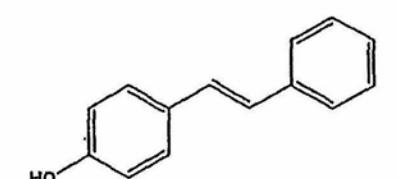
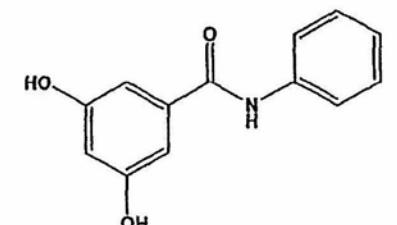
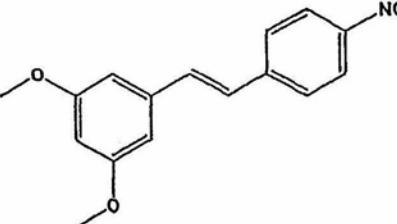
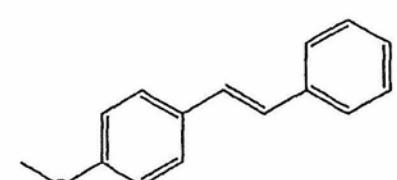
化合物	与对照速率的比值 平均值 $\pm$ 标准差	N	结构	溶液稳定性 $t_{1/2}$ , 小时
二氢白藜芦醇 (1-(3, 5,-二羟基苯基)-2-(4-羟基苯基)乙烷)	1.08 $\pm$ 0.14	4		
4-羟基-反式-二苯乙烯	0.943 $\pm$ 0.039	3		
BML-219 N-苯基-(3, 5-二羟基)苯甲酰胺	0.902 $\pm$ 0.014	3		
3, 4-二羟基-4'-硝基-反式-二苯乙烯	0.870 $\pm$ 0.019	3		
4-甲氧基-反式-二苯乙烯	0.840 $\pm$ 0.089	3		

图 14

表21. Sirtuin活化剂

化合物	活化倍数	结构	涉及的通式编号
2-[1-(2-羟苯基)亚乙基]肼-1-硫代甲酰胺	1.1		32
丙-2-炔基 3-(2, 6-二氯苯基)-5-甲基异噁唑-4-甲酸酯	1.1		33
4-{3-[ (3, 5-二氯-2-羟基苄烯基)氨基]丙基}-4, 5-二氢-1H-吡唑-5-酮	1.2		34
6-(苯硫基)-2-[2-(2-吡啶基)乙基]-2, 3-二氢-1H-苯并[de]异喹啉-1, 3-二酮	1.15		35
5-[ (4-氯苯胺基)亚甲基]-3-(4-氯苯基)-1λ-6-, 3-塞唑-1, 1, 4-三酮	1.15		36
2-(4-氯苯基)-7-甲基咪唑并[1, 2-a]吡啶-3-甲醛O-(3-氟苯基)肟	1.1		37
2-(4-叔-丁苯氧基)-N-(3-甲氧基苯基)乙酰胺	1.12		38

图 15A

3, 4, 5-三甲氧基-N-(4-甲基-1, 3-苯并噻唑-2-基)苯甲酰胺	1.12		39
3-(1, 3-苯并二氧戊环-5-基)-N-(五氟苯基)丙烯酰胺	1.09		40
[(4-氟基-1-吗啉-4-基-5, 6, 7, 8-四氢异喹啉-3-基)硫]乙酸乙酯	1.11		41
2-({[5-(4-甲基苯基)-7-(三氟甲基)-4, 5, 6, 7-四氢吡唑[1, 5-a]嘧啶-3-基]羰基}氨基)-4, 5, 6, 7-四氢-1-苯并噻吩-3-甲酸乙酯	1.1		42
6-氨基-3-(4-溴苯基)-4-(3-羟基-4-甲氧基苯基)-1, 4-二氢吡喃并[2, 3-c]吡唑-5-腈	1.1		43

图 15B

5-{{[({4-氧化-5-[3-(三氟甲基)苯基]-4,5-二氢-1H-吡唑并[3,4-d]嘧啶-6-基}硫)乙酰基]氨基}间苯二甲酸二甲酯	1.08		44
N-{{2-[4-(氨基磺酰基)苯基]乙基}-2-{{[4-氧化-3-(四氢呋喃-2-基甲基)-3,4-二氢喹唑啉-2-基]硫}乙酰胺	1.05		45
N-{{3-氯-4-[4-氯-1-萘基]氧}苯基}-2-羟基-3,5-二碘苯甲酰胺	1.24		46
	1.2		47

图 15C

5', 5', 9' -三甲基-6' - (三氟乙酰基)-5', 6' -二 氢螺[1, 3-二硫杂环戊烯 -2, 1'-噻喃并[2, 3-c]喹 啉]-2', 3', 4, 5-四甲 酸四甲酯	1.14		48
2-[2, 2, 6-三甲基-1-(3- 甲基丁酰基)-3-硫代-2, 3 -二氢喹啉-4(1H)-亚基] -1, 3-二硫杂环戊烯-4, 5 -二甲酸二甲酯	1.17		49
4-[5-[(氰甲基)硫]- 2-硫代[1, 3]噻唑并[4', 5': 4, 5]嘧啶并[1, 6-a] 苯并咪唑-3(2H)-基]苯 甲酸乙酯	1.47		50
6-氯-2, 3-二苯基-7- (三氟甲基)喹喔啉	1.12		51
6-氟-2, 3-双(4-甲基 苯基)喹喔啉	1.27		51
	1.1		52

图 15D

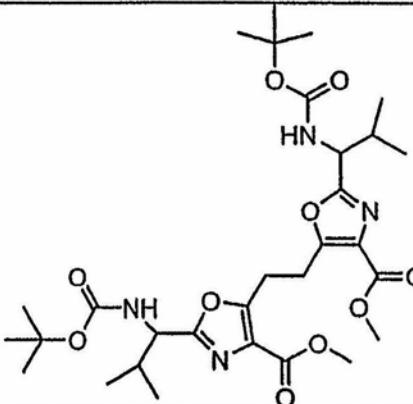
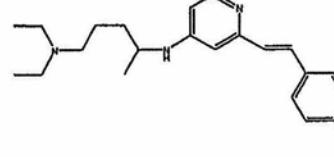
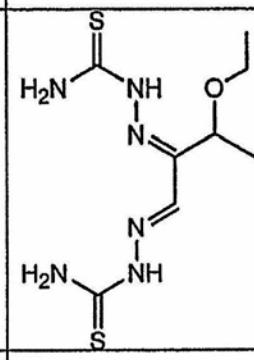
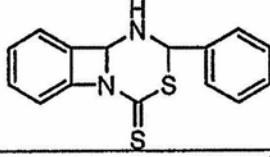
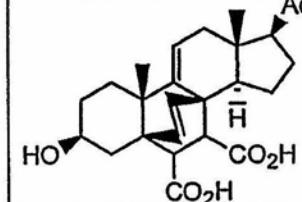
	1.28		53
吡啶, 2-(对-氯苯乙 烯基)-4-[ [4-(二乙基 氨基)-1-甲基丁基] 氨基]-, (E)-	1.06		54
格洛沙腙	1.16		55
	1.25		56
	1.1		57

图 15E

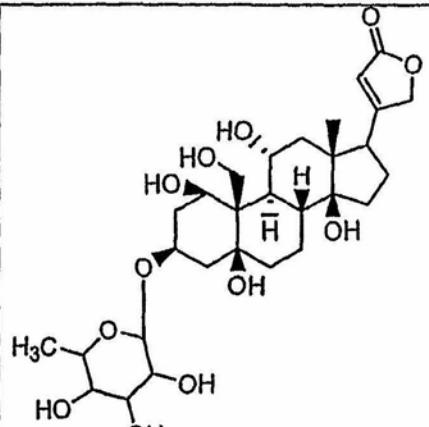
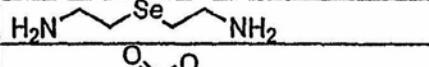
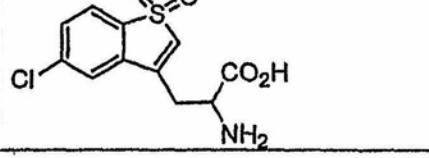
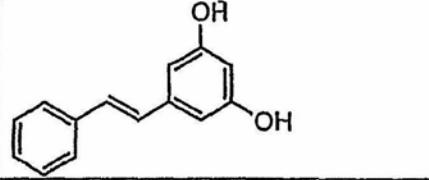
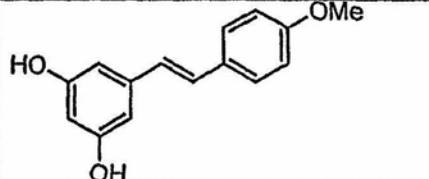
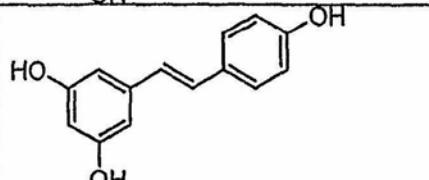
哇巴因	1.07		58
	1.16		59
	1.06		60
银松素	3.28		61
	2.1		1
白藜芦醇 4'-甲醚	2.2		1

图 15F

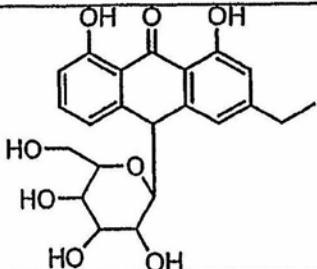
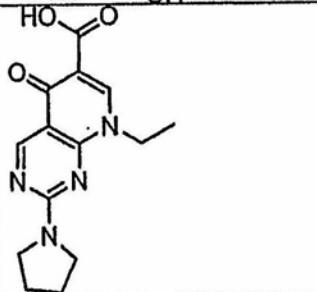
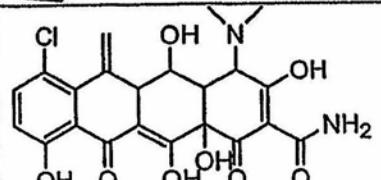
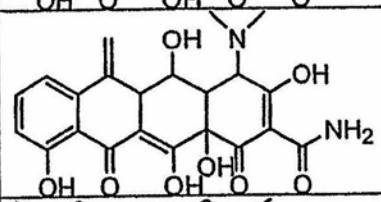
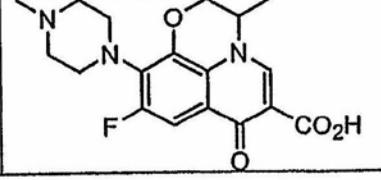
芦荟昔	1.2		62
吡咯米酸	1.47		63
甲基氯环素磺基 水杨酸盐	1.12		64
甲烯土霉素盐酸盐	1.14		64
氧氟沙星	1.5		65

图 15G

表21. Sirtuin抑制剂

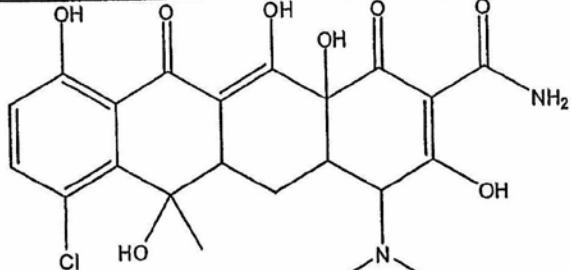
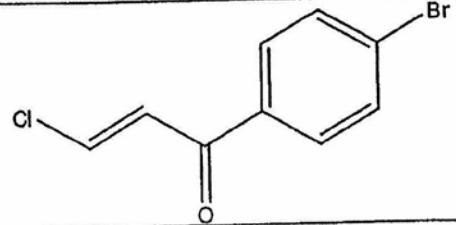
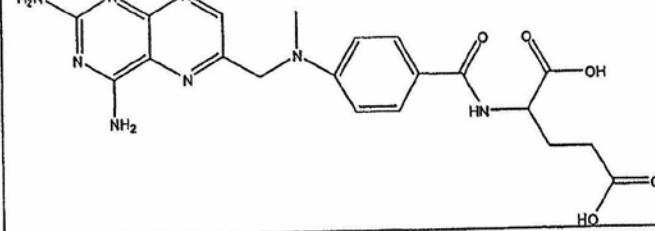
化合物	活化倍数	结构	涉及的通式编号
金霉素	<1		66
	0.27		67
甲氨蝶呤	0.53		68

图 16

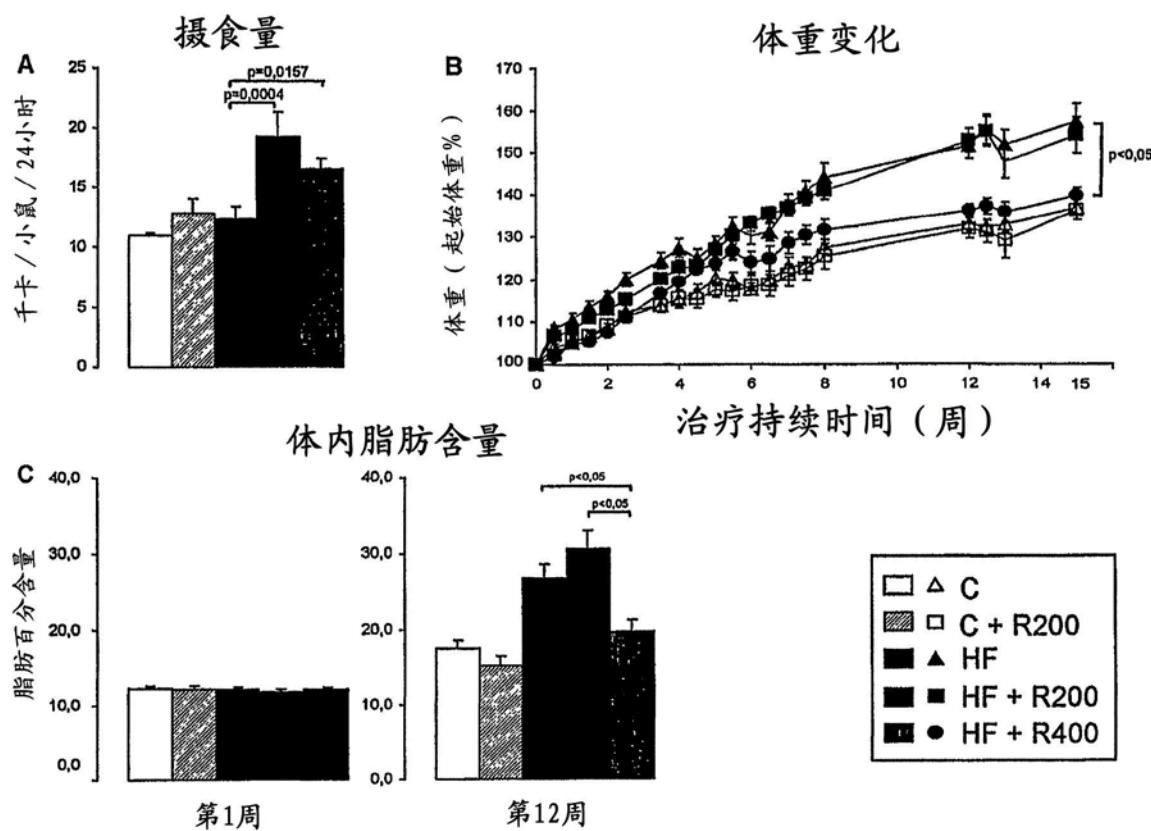
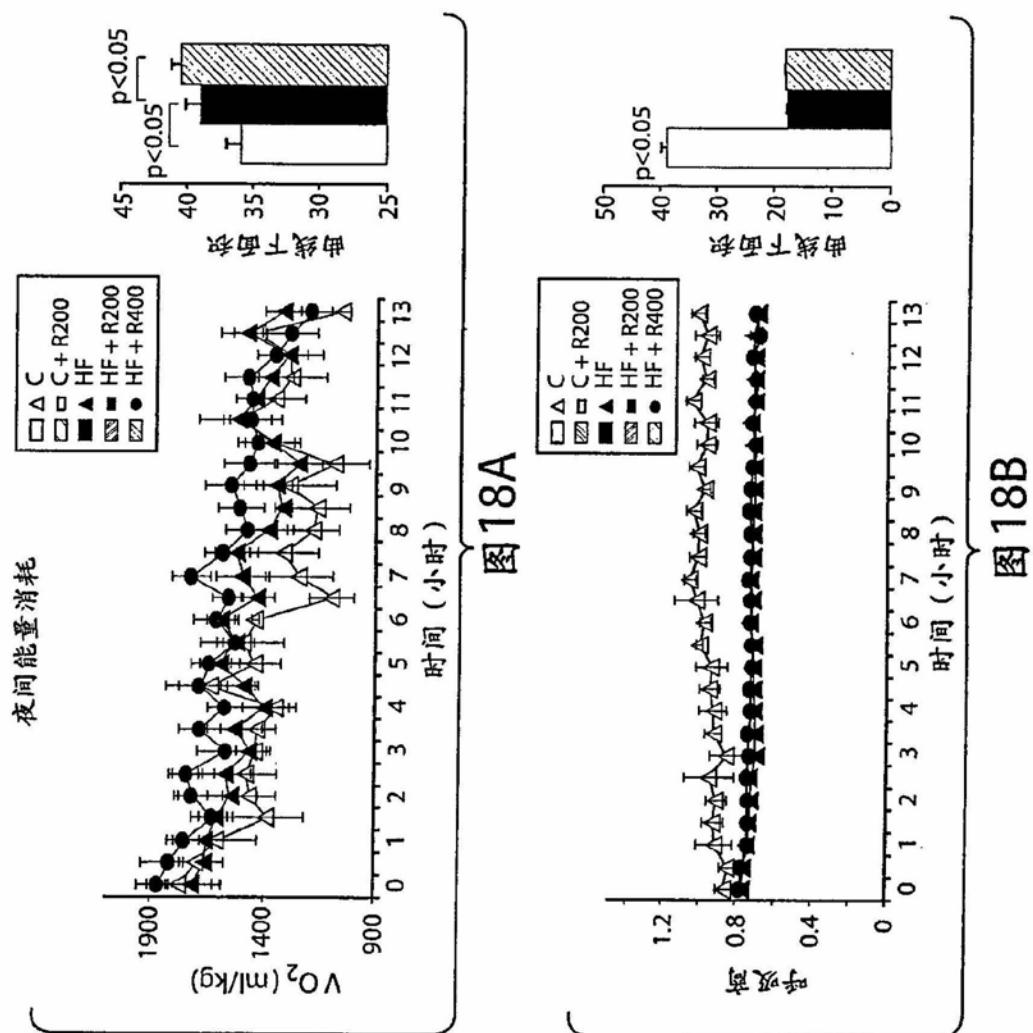


图 17



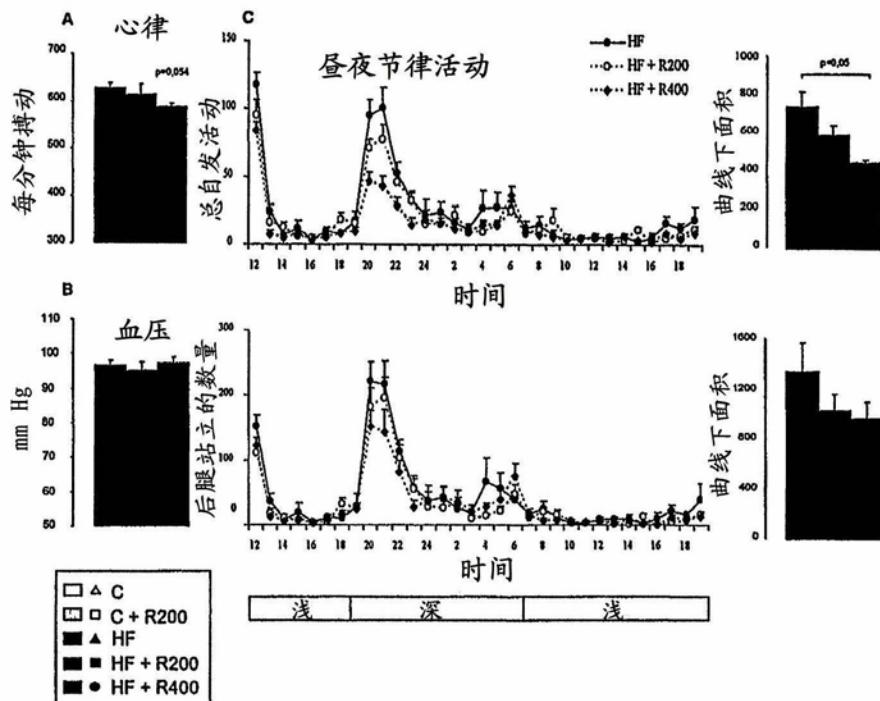


图 19

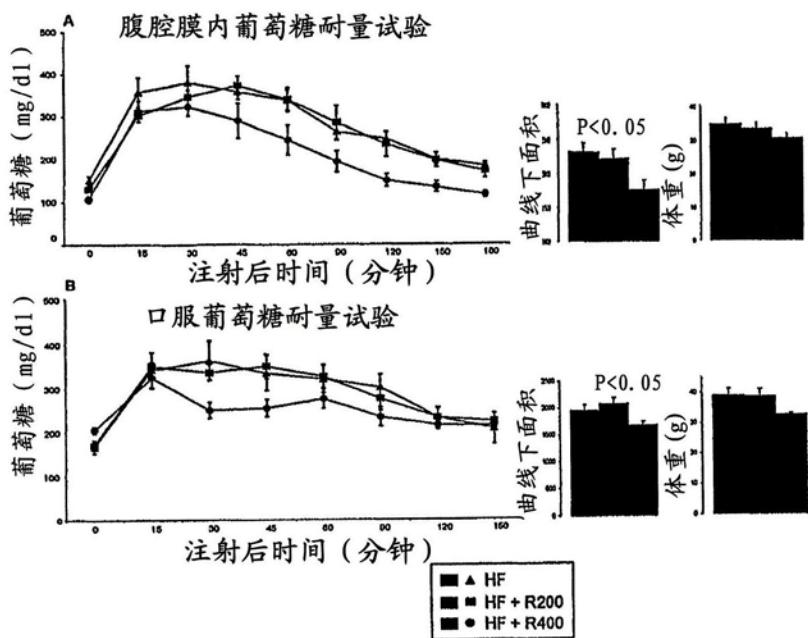


图 20

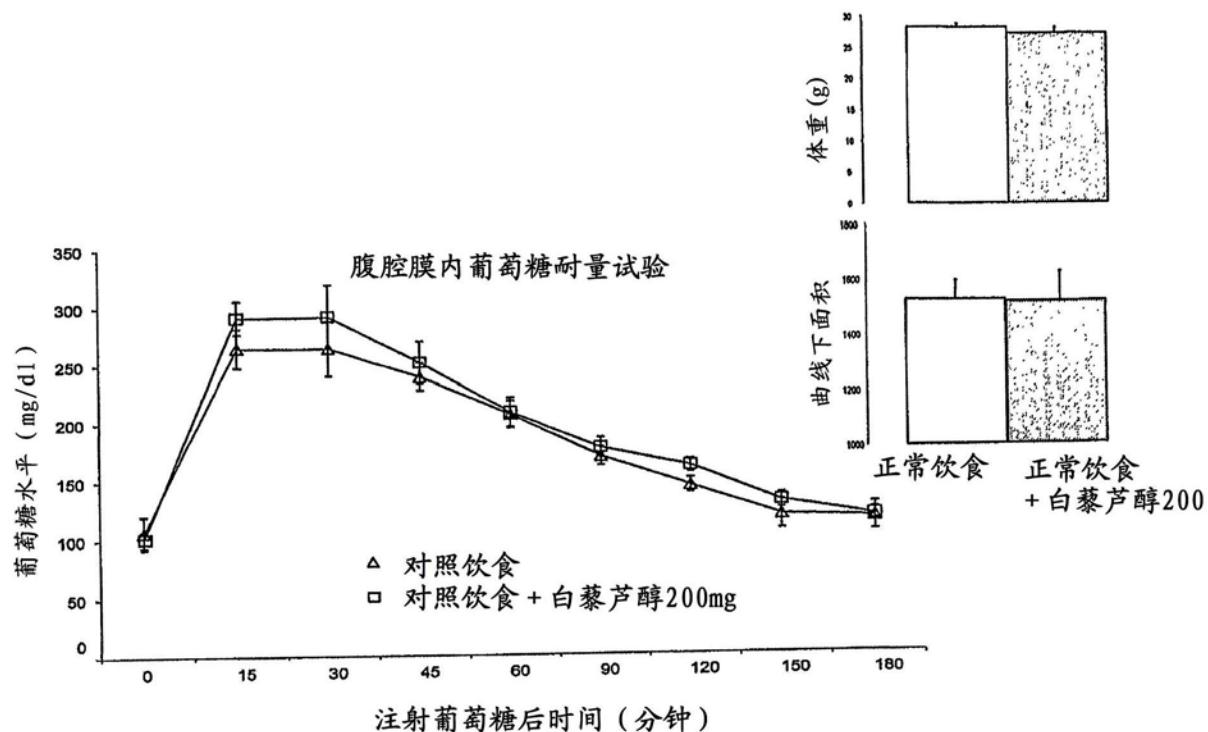


图 21

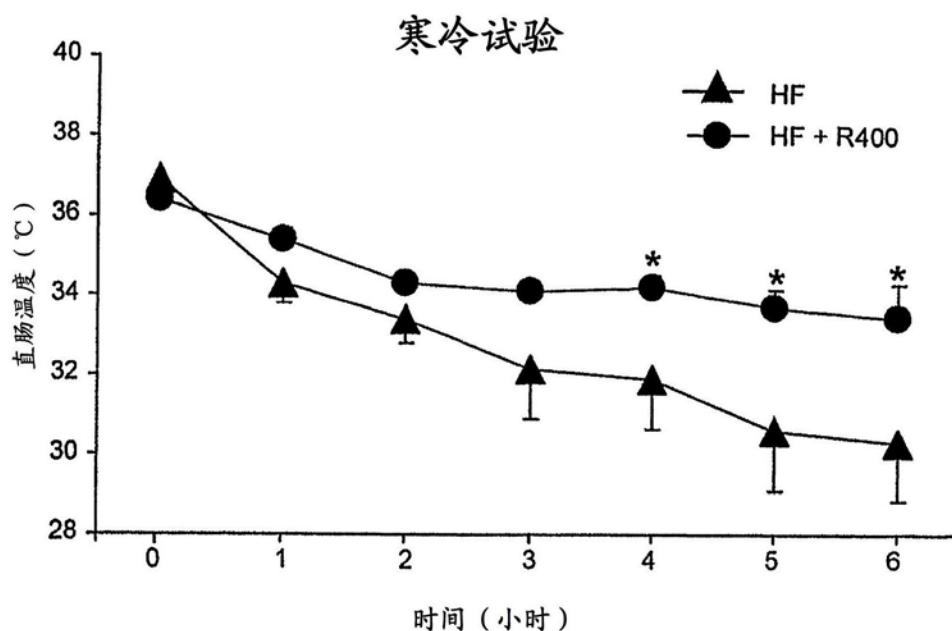


图 22

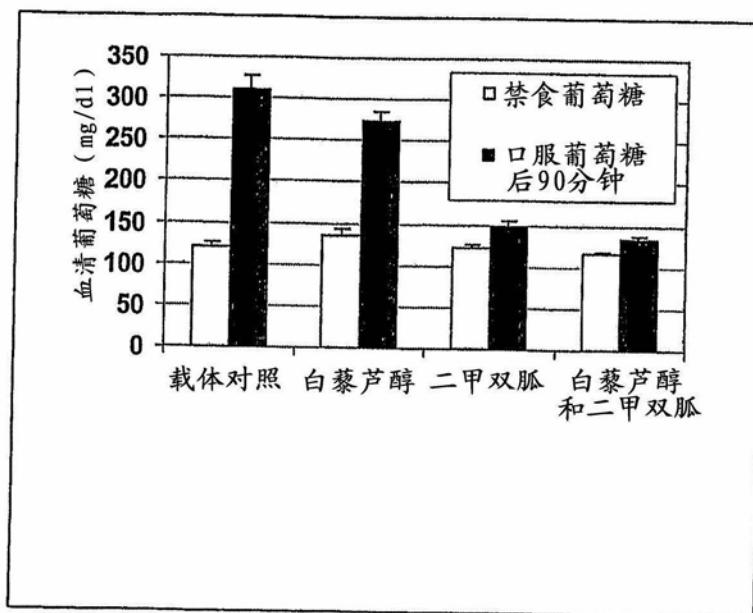


图 23

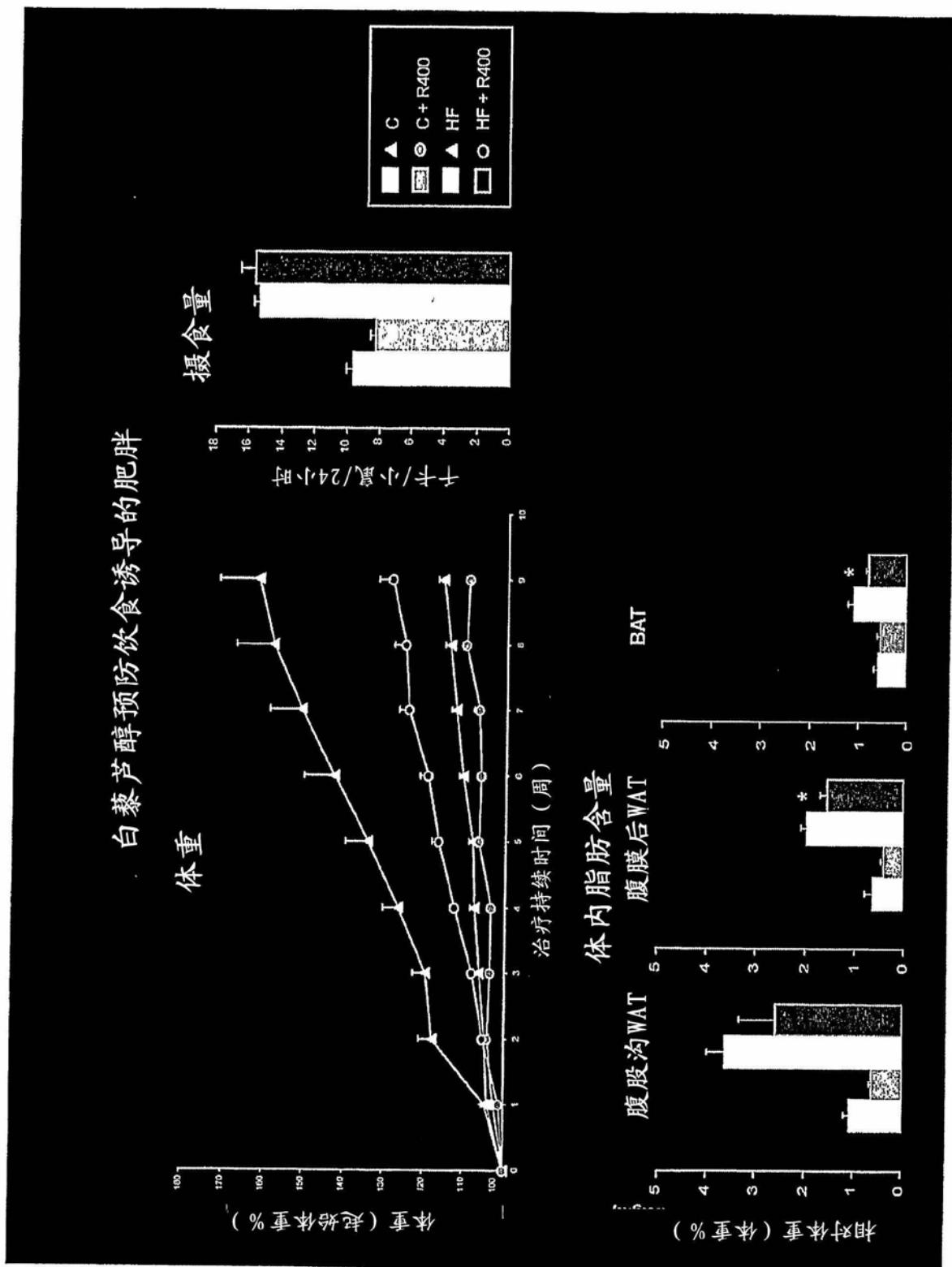


图 24

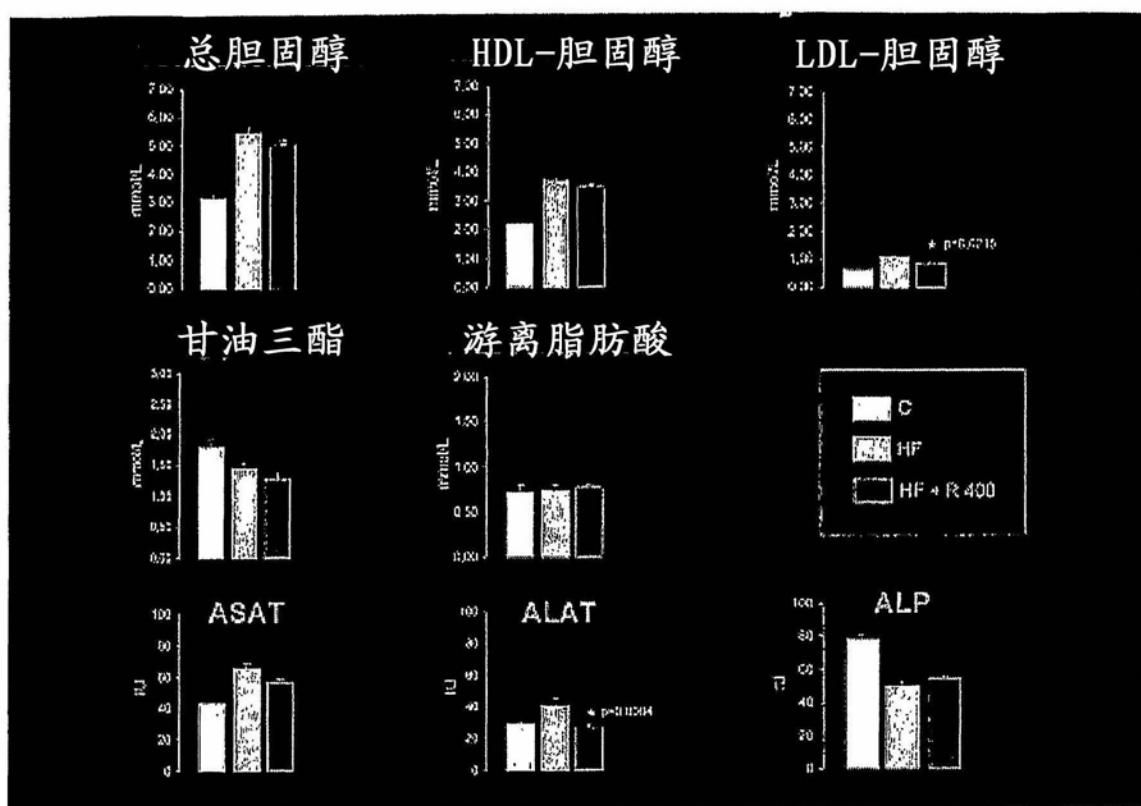


图 25

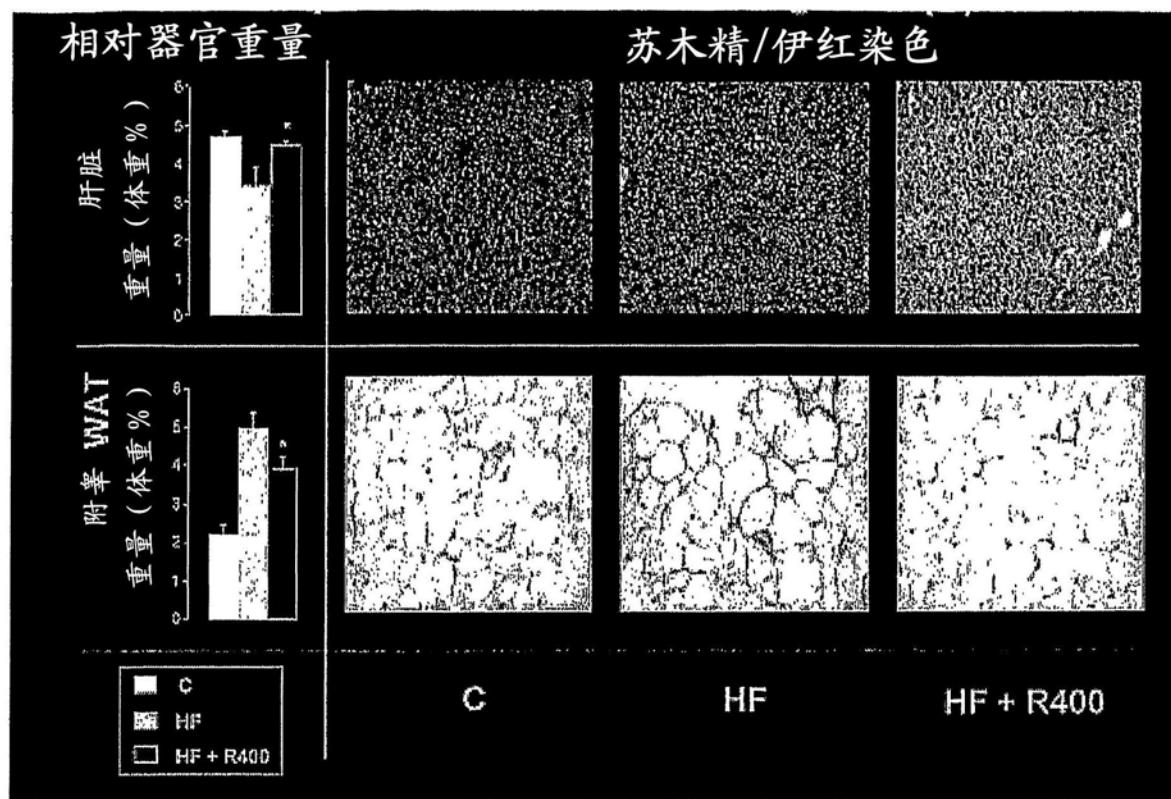


图 26

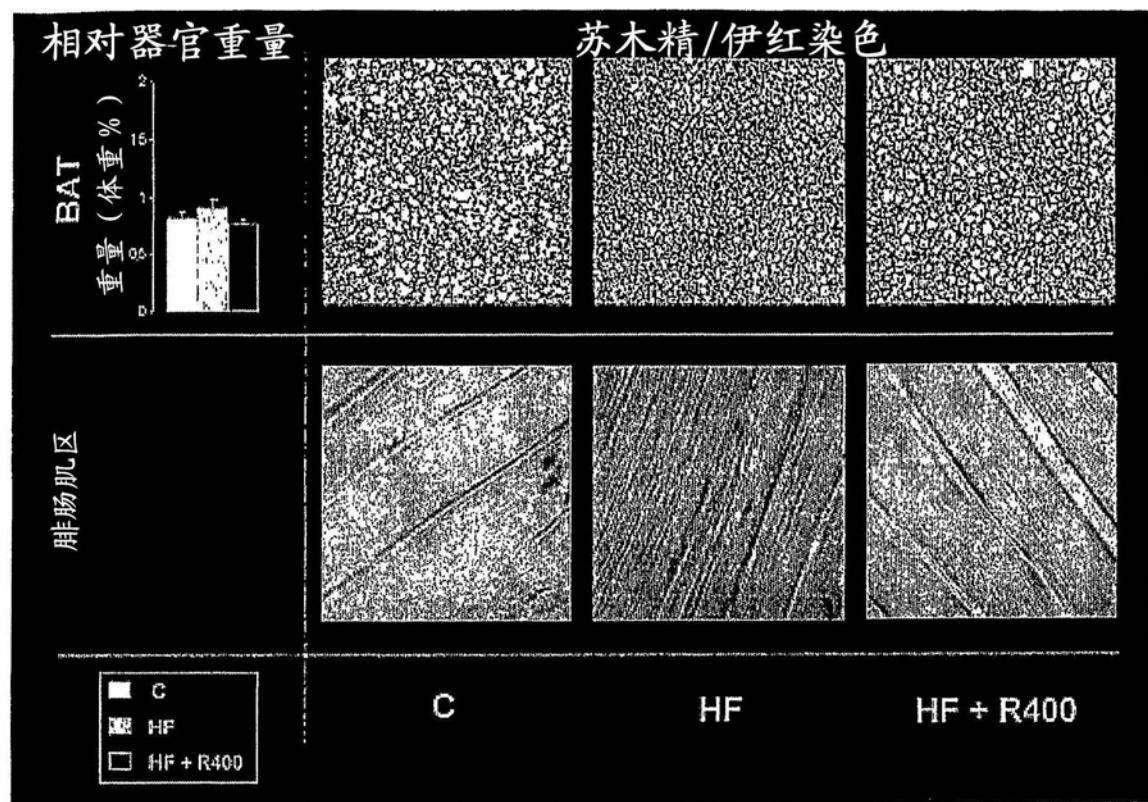


图 27

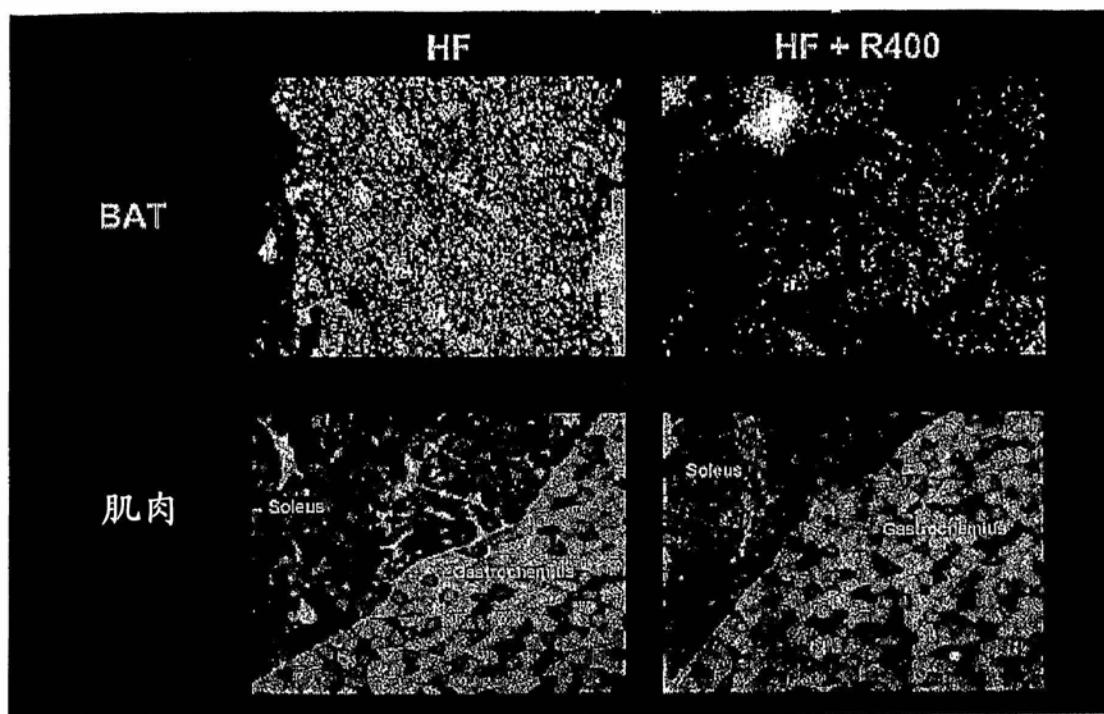


图 28

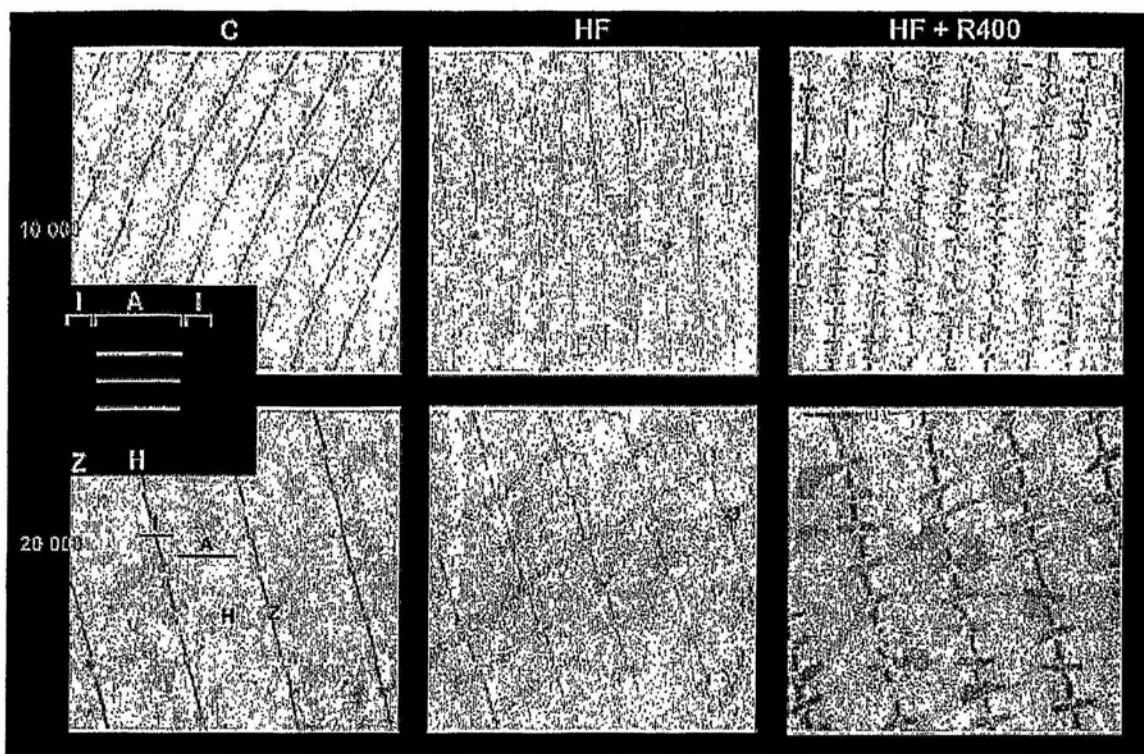


图 29

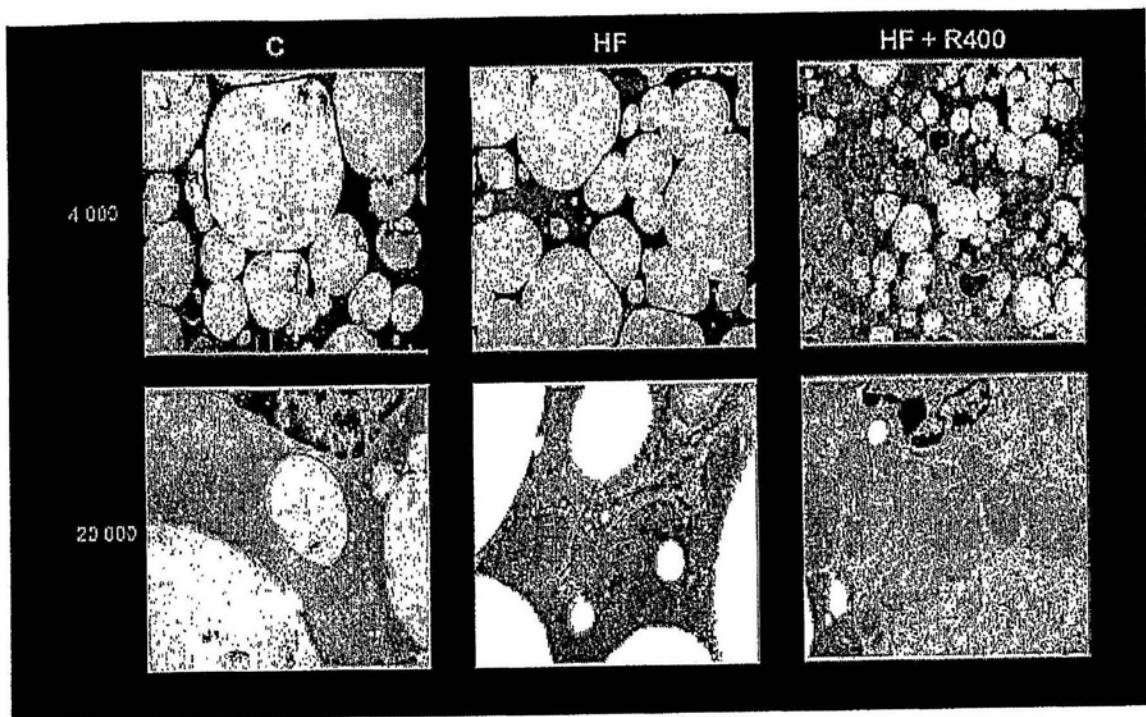


图 30

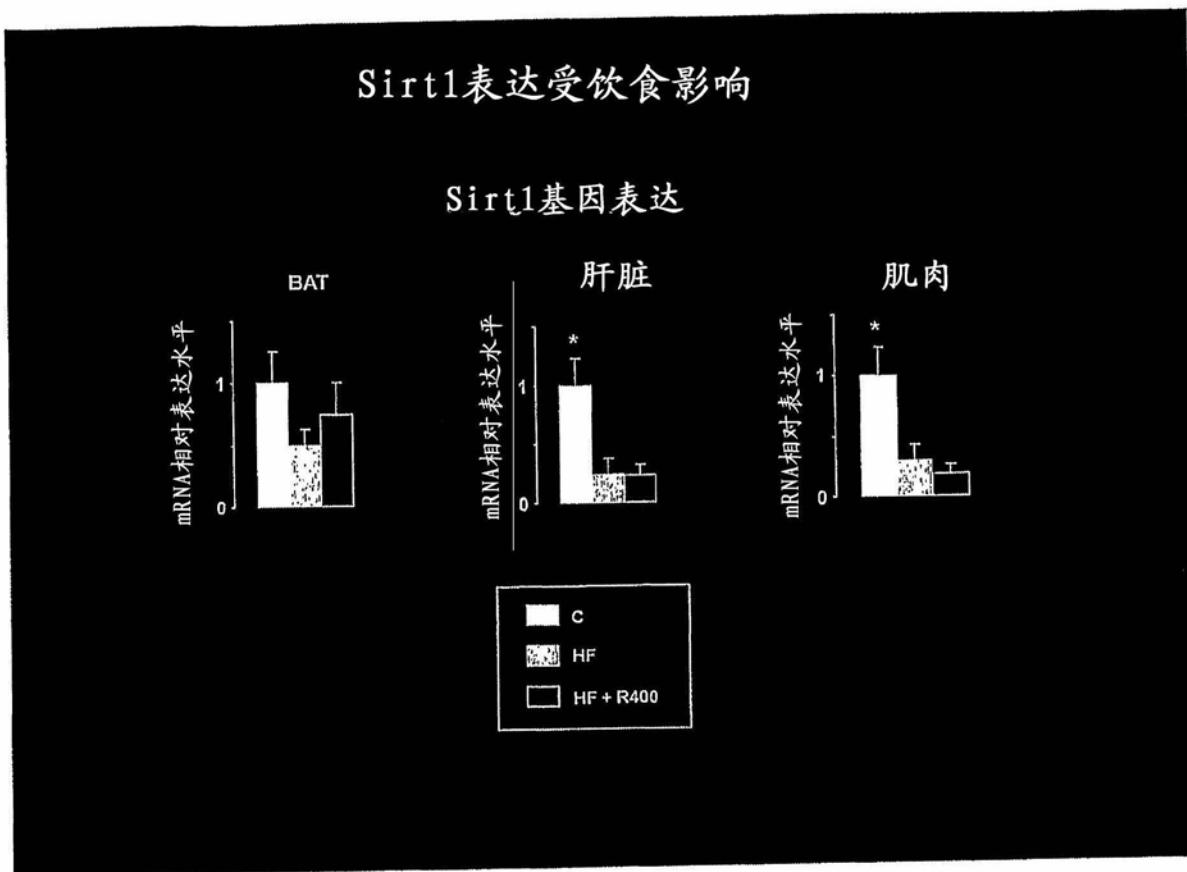


图 31

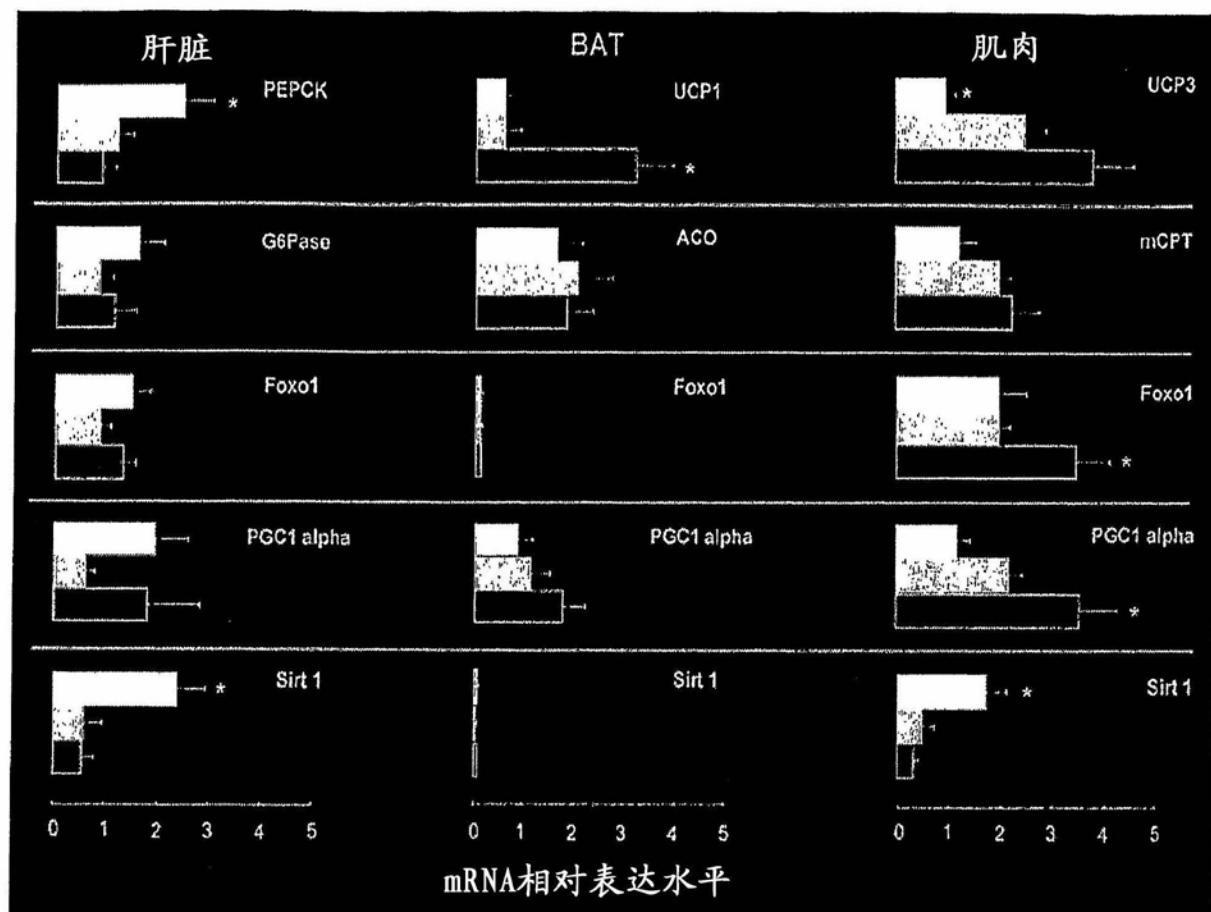


图 32

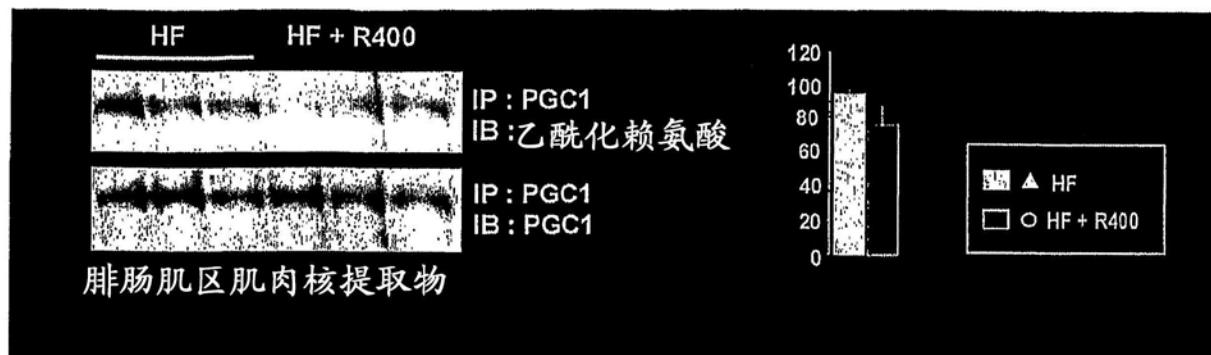


图 33

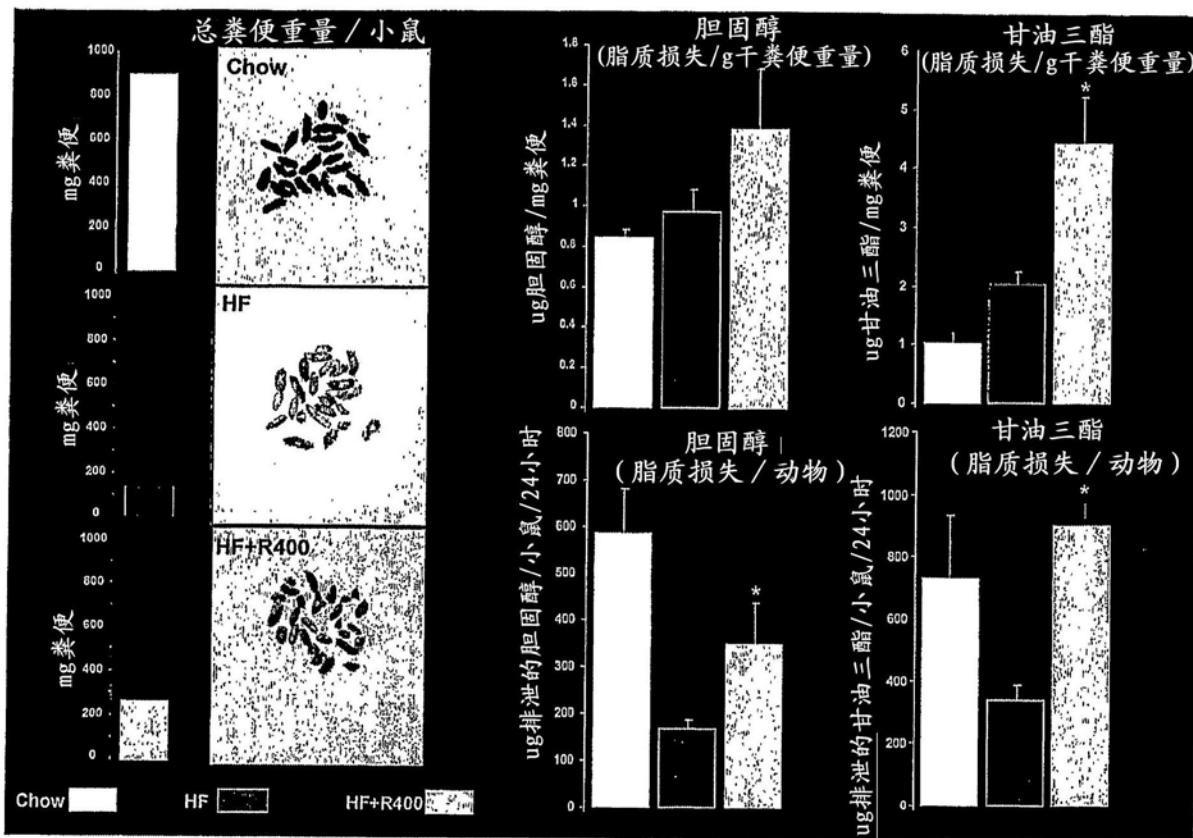


图 34

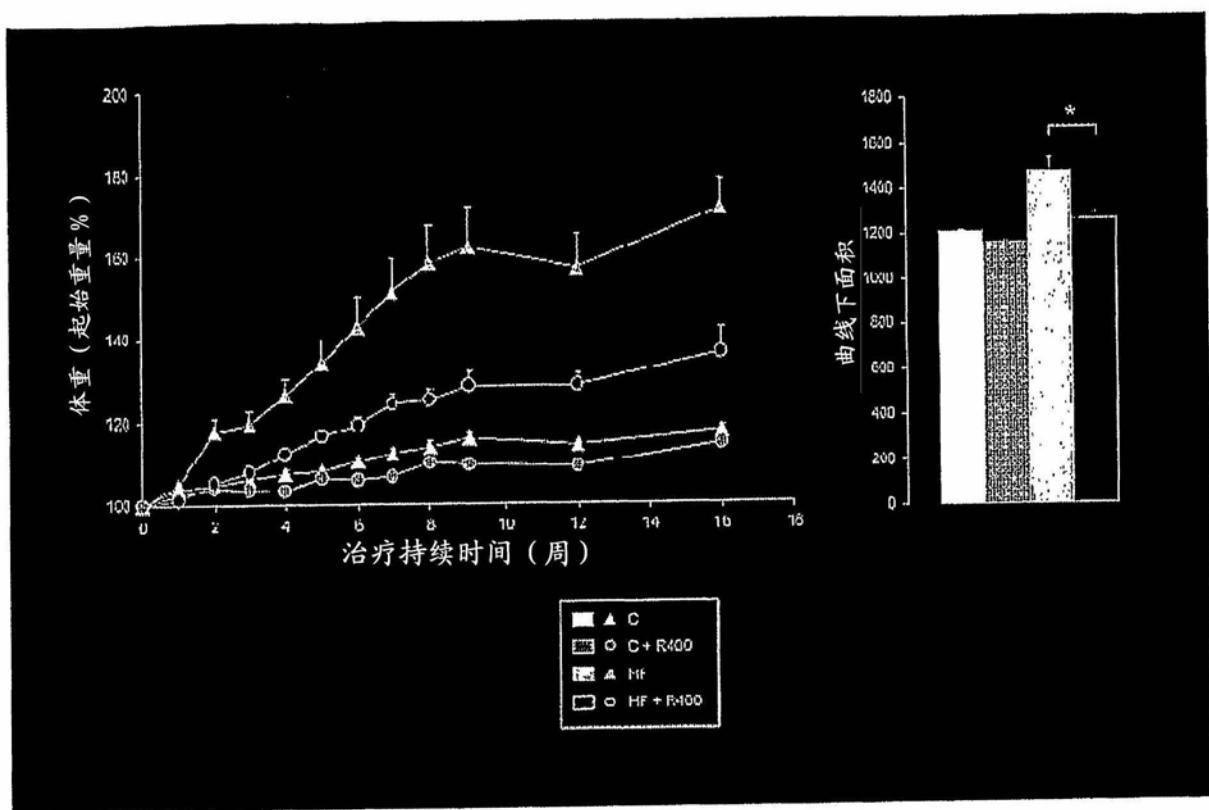
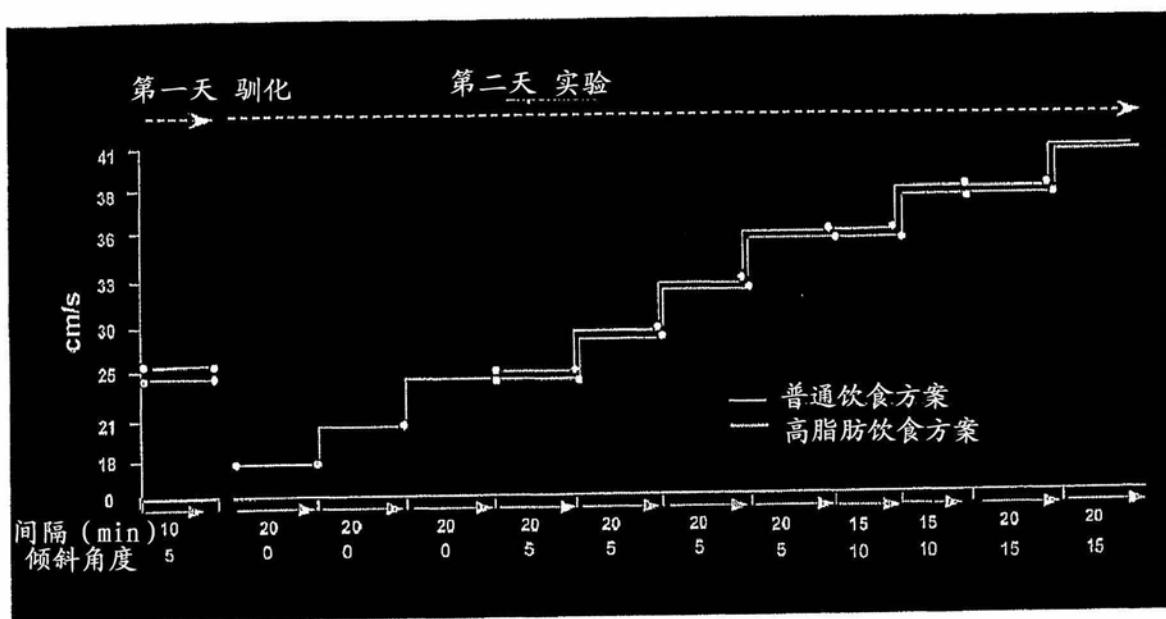


图 35



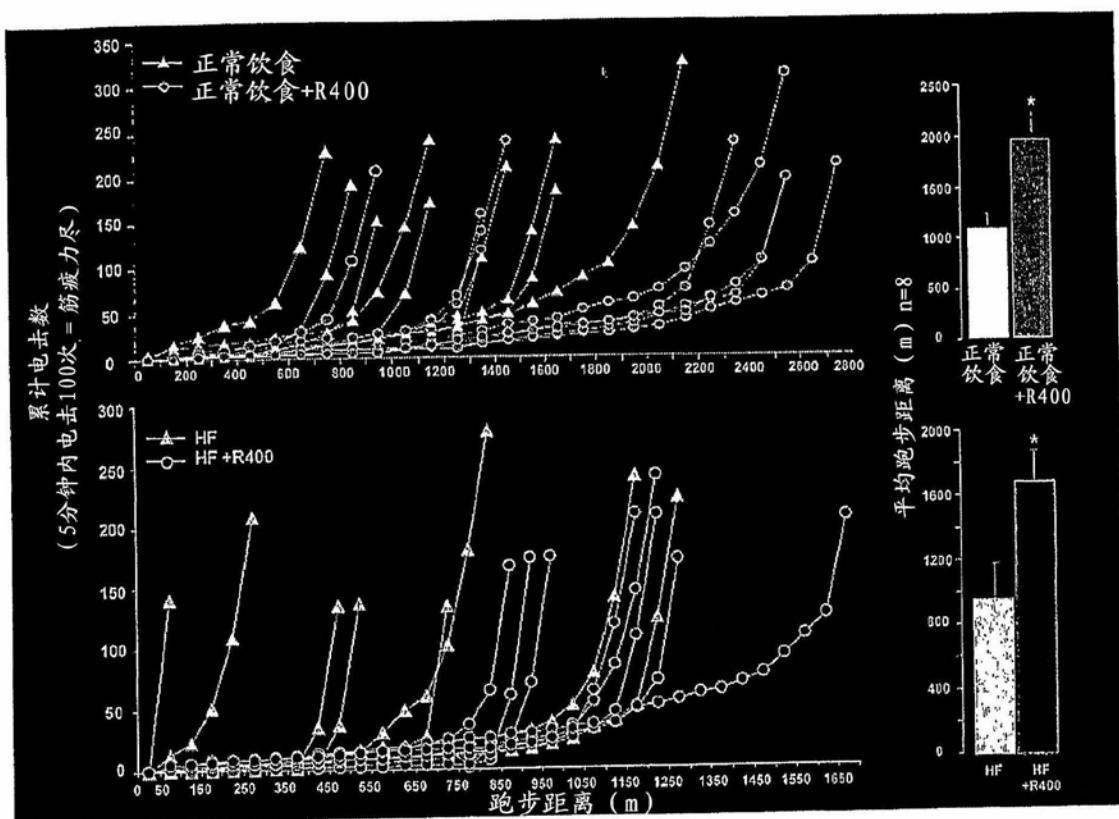


图 37

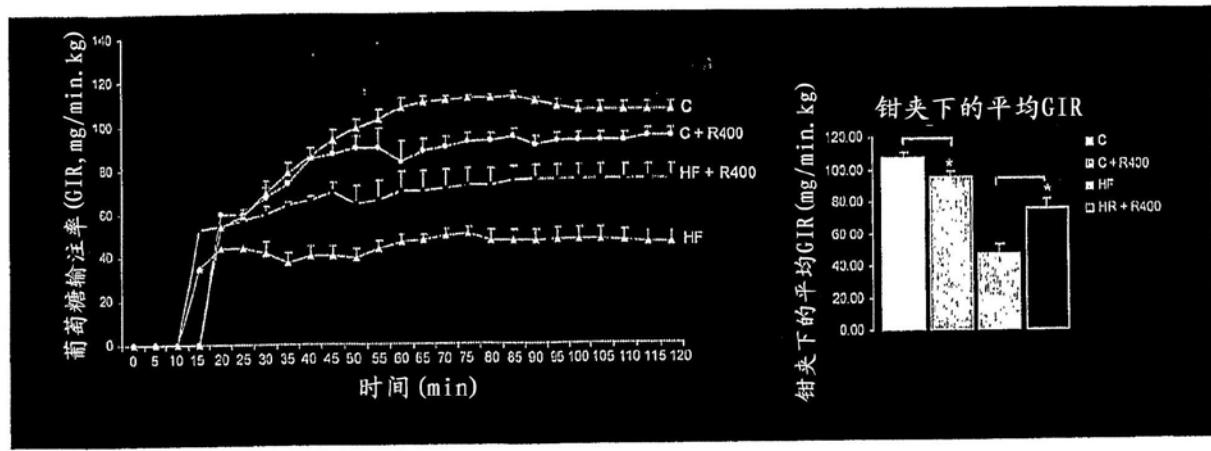


图 38