

[illegible]

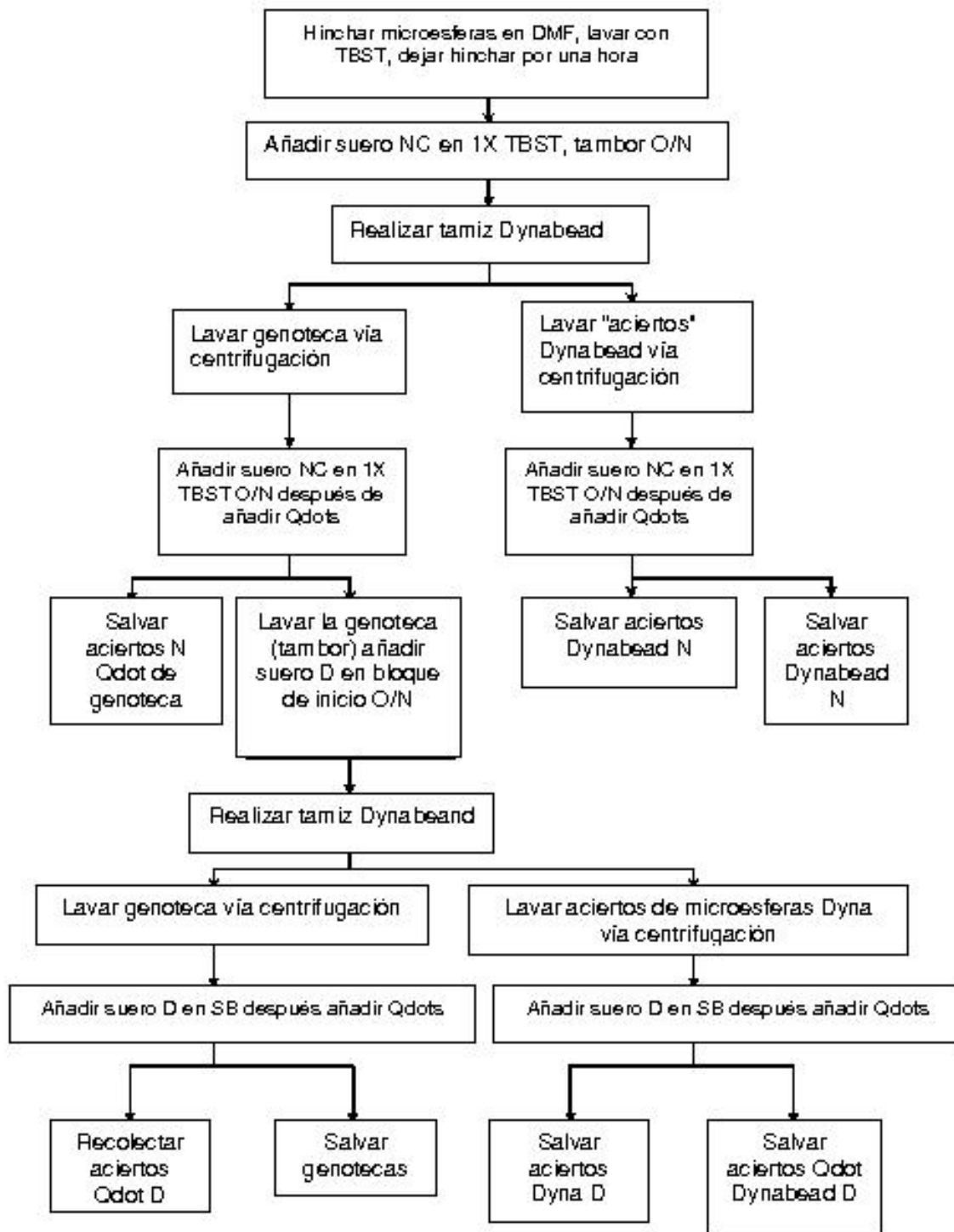
1	Titulo de la Invención (200 caracteres o espacios máximos)		
MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO Y DE TRATAMIENTO USANDO UNA GENOTECA DE LIGANDOS			
2	Datos del Solicitante / Titular		
Nombre:	OPKO PHARMACEUTICALS, LLC	Dirección Electrónica:	notificaciones@clarkemodet.com.co
Dirección:	4400 Biscayne Blvd.	Domicilio/País de constitución:	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA - FLORIDA - MIAMI
Identificación: ☐ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☒ EMPRESA EXTRANJERA ☐ IDENTIFICACION INTERNACIONAL ☐ NIT ☐ PASAPORTE			

Número:		516861772365-		
3	Solicitantes			
Apellidos - Nombres o Razón Social		Tipo	Identificación	
1.	OPKO PHARMACEUTICALS, LLC	NN	516861772365	
4	Datos del Inventor			
Nombre:		Muralidhar, Reddy MOOLA,	Dirección Electrónica:	notificaciones@clarkemodet.com.co
Dirección:		807 University Boulevard, #106	Domicilio/País de constitución:	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA - FLORIDA - JUPITER
Identificación:				
☐ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ EMPRESA EXTRANJERA ☐ NIT ☒ No Aplica ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ IDENTIFICACION INTERNACIONAL ☐ PASAPORTE				
Número:		-		
5	Inventor(es)			
Apellidos - Nombres		Domicilio		
1.	MOOLA, Muralidhar, Reddy	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA		
2.	SCHILKE, Jessica	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA		
6	Datos Inventor(es)			
País de Residencia		Departamento/Estado	Ciudad	Dirección
1.	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA	FLORIDA	JUPITER	807 University Boulevard, #106

2.	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA	FLORIDA	JUPITER	1315 Duval Street
7	Datos del Representante Legal / Apoderado			
Nombre:		SILVANA MARIA LOPEZ DIAZ	Dirección Electrónica:	notificaciones@clarkemodet.com.co
Dirección:		notificaciones@clarkemodet.com.co	Domicilio/País de constitución:	COLOMBIA - BOGOTA D.C. - BOGOTA D.C.
Identificación: ☒ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ EMPRESA ☐ IDENTIFICACION EXTRANJERA ☐ NIT ☐ PASAPORTE Número: 22468787-				
Presentación de Poder				
Año de Radicación				
Número de Radicación				
8	Datos Solicitud: PCT / WO			
Número Solicitud:		PCT/US2012/030223	Fecha Solicitud:	23/03/2012
Número Publicacion:		WO 2012/129457	Fecha Publicacion:	27/09/2012
9	Declaraciones de prioridad		☒ SI ☐ NO	
	(33) País de origen	Codigo del país	(31) No. Solicitud	(32) Fecha
1.	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA	US	61/467,256	24/03/2011
2.	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA	US	61/491,717	31/05/2011
3.	ESTADOS UNIDOS DE AMÉRICA	US	61/583,881	06/01/2012
10	Reivindicaciones			

	Número reivindicaciones:	97	Pago Reivindicaciones:	Si
11	Reducción de tasas.			
<i>Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.</i> ☐ SI ☒ NO Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.				
☐ Micro, pequeñas y medianas empresas ☐ Universidades públicas o privadas ☐ Entidades sin ánimo de lucro Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos				
12	Documentos Anexos			
☒ Reivindicaciones ☒ Descripción ☒ Dibujos y/o Figuras ☒ Resumen ☐ Certificado Depósito Material Biológico ☐ Uso de Conocimiento tradicional ☐ Listado de secuencias ☒ Artes finales 12 x 12 cm ☐ Poderes, si fuere el caso ☐ Copia de la primera solicitud si se reivindica prioridad ☐ Traducción simple de la primera solicitud, si se reivindica prioridad ☒ Otros Anexos				

Diagrama de flujo de tamiz TentaGel

**FIGURA 6**

**MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO Y DE TRATAMIENTO USANDO UNA GENOTECA
DE LIGANDOS**

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

5

Esta solicitud reclama prioridad para Solicitudes de Patente Provisionales de Estados Unidos 61/467,256, 61/491,717 y 61/583,881 presentada el 24 de marzo de 2011, 31 de mayo de 2011, y 06 de enero de 2012, respectivamente, todas las cuales están incorporadas por referencia en este documento en su totalidad.

CAMPO DE LA INVENCIÓN

15

La invención se refiere a los métodos de diagnóstico y tratamiento mediante una genoteca de ligandos y compuestos activos derivados de los mismos. Específicamente, la invención se refiere a usar una genoteca de ligandos para encontrar ligandos que se utilizan para determinar los perfiles de biomarcadores de la enfermedad y para diagnosticar o detectar una respuesta inducida por fármacos, incluyendo reacciones adversas de fármacos, efectos secundarios, resistencia a los medicamentos y eficacia terapéutica. La invención además se refiere a la identificación de biomarcadores asociados con una respuesta inducida por fármacos y proporcionar un tratamiento médico personalizado.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Micromatrices de moléculas pequeñas se han
5 convertido en herramientas cada vez más importantes en la
química combinatoria. Las matrices se producen generalmente
sintetizando una genoteca combinatoria de una resina adecuada
de microesfera, separando las microesferas en los pozos de
las placas de microtitulación y liberando los compuestos de
10 las microesferas. Las soluciones resultantes luego son
colocadas robóticamente en un portaobjetos de vidrio
químicamente modificado tal que la molécula derivada de la
genoteca se une covalentemente a la superficie. Por otra
parte, existen métodos para la síntesis de ciertas clases de
15 compuestos in situ en la superficie de la matriz. En gran
medida ha sido la aplicación más común de las micromatrices
de moléculas pequeñas como una plataforma versátil para la
selección de la genoteca, generalmente con el objetivo de
identificar ligandos de moléculas pequeñas para una
20 determinada proteína de interés.

La publicación de Patentes de Estados Unidos
2007/0003954 describe los perfiles de la proteína y del
anticuerpo utilizando micromatrices de molécula pequeña. La
aplicación describe ligandos, que se unen a radicales de
25 unión de ligando en donde los ligandos están dispuestos en
las matrices de moléculas sintéticas, que se utilizan para
seleccionar los biomarcadores y huellas moleculares. Las
matrices específicos detallados aquí incluyen, por ejemplo,
una micromatriz de peptoido con 7680 compuestos diferentes
30 unidos a la matriz. En esa descripción, las genotecas basadas

en microesferas se utilizaron como los medios iniciales para hacer peptoides que luego se transfirieron a las micromatrices con ubicaciones posibles en la micromatriz para seleccionar los fluidos biológicos. Los resultados de la
5 selección en un patrón único o huella molecular en la matriz para cualquier proteína particular en una mezcla biológica compleja. La solicitud de patente de Estados Unidos 2010/0303805, por la presente incorporada por referencia, describe ciertos peptoides y matrices de diagnósticos útiles
10 en la selección de fluidos biológicos para biomarcadores asociados con los trastornos del sistema nervioso central. Los monómeros específicos divulgados en este documento utilizados para formar las matrices en estos pueden también ser utilizados en la nueva metodología de selección de la
15 invención presente proporciona las genotecas están agrandadas a un número mucho mayor de microesferas/peptoides o microesferas/ligandos, por ejemplo, entre más de 100K a 150MM.

Los inventores de la presente solicitud han
20 encontrado que genotecas basadas en microesferas significativamente mayores (relativo a los tamices basados en micromatriz para biomarcadores de anticuerpos o tamices basados en microesferas para las células) pueden, bajo las condiciones adecuadas, usarse para seleccionar directamente
25 las muestras biológicas complejas para encontrar biomarcadores asociados a la respuesta al fármaco así como un grupo significativamente mayores de ligandos que se unen a esos radicales de unión a ligando. Este grupo significativamente más grande incluye un número
30 significativamente mayor de ligandos de alta afinidad que

sirven como herramientas de diagnóstico así como terapéuticos potenciales.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

5

En una modalidad, la invención proporciona una genoteca de ligandos. En una modalidad ejemplar, la invención proporciona una genoteca de ligandos aleatoria basada en microesferas grandes incluyendo una genoteca de ligando de
10 peptoides al azar.

En otra modalidad, la invención proporciona un método para diagnosticar una respuesta inducida por fármacos en un sujeto, el método que comprende: obtención de una muestra biológica de dicho sujeto; selección de una genoteca
15 de ligandos contra dicha muestra; identificación de las características de unión de uno o más marcadores en dicha muestra con uno o varios ligandos en la genoteca; y determinación si uno o más marcadores están asociados con la respuesta inducida por fármacos; por tanto el diagnóstico de
20 dicha respuesta inducida por fármacos en dicho sujeto. En una modalidad ejemplar, dicha respuesta inducida por los fármacos es una reacción adversa. En otra modalidad ejemplar, dicha respuesta inducida por fármaco es un efecto secundario. En otra modalidad ejemplar, dicha respuesta inducida por fármaco es una resistencia a dicho fármaco. En otra modalidad
25 ejemplar, dicha respuesta inducida por fármaco es su eficacia terapéutica incluyendo eficacia de la dosis.

En otra modalidad, la invención proporciona un método para tratar una enfermedad en un sujeto, el método que
30 comprende: obtención de una muestra biológica de dicho

sujeto; selección de una genoteca de ligandos contra dicha muestra; identificación de las características de unión de uno o más marcadores en dicha muestra con uno o varios ligandos en la genoteca; determinación si uno o más marcadores se asocian a una respuesta a un fármaco para el tratamiento de dicha enfermedad; administración de dicho fármaco a dicho sujeto, basado en la determinación de la asociación entre uno o más marcadores a dicha respuesta, de esta manera tratando dicha enfermedad en dicho sujeto.

En otra modalidad, la invención proporciona un método para la detección de un riesgo de reacción adversa a un fármaco en un sujeto, el método que comprende: obtención de una muestra biológica de dicho sujeto; la selección de una genoteca de ligandos contra dicha muestra; identificación de las características de unión de uno o más marcadores en dicha muestra con uno o varios ligandos en la genoteca; y la determinación si dicho uno o más marcadores están asociados con dicho riesgo, detectando de este modo dicho riesgo de reacción adversa a dicho fármaco en dicho sujeto.

En otra modalidad, la invención proporciona un método para el perfilado de uno o más sujetos para una respuesta a un fármaco para tratar una enfermedad, el método que comprende: obtención de una muestra biológica de dicho sujeto; la selección de una genoteca de ligandos contra dicha muestra; identificación de las características de unión de uno o más marcadores en dicha muestra con uno o varios ligandos en la genoteca; y la determinación si dicho uno o más marcadores están asociados con dicha respuesta para dicho fármaco, perfilando de este modo dicho uno o más sujetos para dicha respuesta a dicho fármaco para tratar dicha enfermedad.

En otra modalidad, la invención proporciona un método para la identificación de un marcador asociado con una respuesta inducida por el fármaco para el tratamiento de una enfermedad, el método que comprende: obtención de una muestra biológica de dicho sujeto; la selección de una genoteca de ligandos contra dicha muestra; determinación de las características de unión de un marcador en dicha muestra a un ligando en la genoteca; y la determinación si dicho marcador está asociado con dicha respuesta inducida por el fármaco para tratar dicha enfermedad, identificando de este modo dicho marcador asociado con dicha respuesta inducida por el fármaco para el tratamiento de dicha enfermedad.

En otra modalidad, la invención proporciona un método para la identificación de un marcador asociado con una respuesta a un fármaco para el tratamiento de una enfermedad, el método que comprende: obtención de un primer conjunto de muestras biológicas de uno o más sujetos exhibiendo dicha respuesta a dicho fármaco para tratar dicha enfermedad; obtención de un segundo conjunto de muestras biológicas de uno o más sujetos que no exhiben dicha respuesta a dicho fármaco para tratar dicha enfermedad; selección una genoteca de ligandos al azar contra dicha primera y segunda muestras biológicas; la determinación de las diferencias en la unión de uno o más marcadores a uno o varios ligandos en la genoteca entre dichas primera y segunda muestras biológicas; y la identificación de un marcador asociado a dicha respuesta a dicho fármaco para tratar dicha enfermedad. En una modalidad ejemplar, el marcador es un auto-anticuerpo capaz de unirse a un ligando peptoide.

Otras características y ventajas de la invención

presente serán aparentes de los siguientes ejemplos y figuras de la descripción detallada. Debe ser entendido, sin embargo, que la descripción detallada y los ejemplos específicos mientras indican modalidades preferidas de la invención se dan a modo de ejemplo solamente, puesto que varios cambios y modificaciones en el espíritu y el alcance de la invención serán aparentes para aquellos especializados en la técnica de esta descripción detallada.

10

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La figura 1 muestra un esquema químico básico de la preparación de una genoteca de Tentagel. Las microesferas (KN1B) utilizados para seleccionar muestras de suero de Alzheimer. La figura 1A muestra el inicio de una microesfera de poliestireno teniendo un grupo amino como el reactivo (una PEG o el enlazador equivalente o alternativo puede formarse entre la microesfera y el grupo amino terminal). La figura 1B muestra el aminoácido de inicio en la microesfera como metionina y que entonces reaccionó para formar, el compuesto que se muestra en la figura B. La figura 1C muestra los submonómeros (aminas monoméricas y ácidos haloacéticos) utilizados para formar la genoteca oligomérica de compuestos.

La figura 2 muestra un esquema químico básico de la preparación de una genoteca de microesferas de Tentagel (JC3B) usada para seleccionar las muestras de suero de Alzheimer. La figura 1A muestra el inicio de una microesfera de poliestireno teniendo un grupo amino como el reactivo (un PEG o el enlazador equivalente o alternativo puede formarse entre la microesfera y el grupo amino terminal). La figura 1B

muestra el aminoácido de inicio en la microesfera como metionina y que entonces reacciona para formar el compuesto que se muestra en B, la figura 1C muestra las submonómeros (aminas monoméricas y ácidos haloacéticos) utilizados para
5 formar la genoteca oligomérica de compuestos. JC3B también se utilizó para seleccionar el suero de cáncer pancreático.

La figura 3 muestra un esquema químico básico de la preparación de una genoteca de microesferas de Tentagel (JC3B) usada para seleccionar las muestras de suero de
10 Alzheimer. La figura 1A muestra el inicio de una microesfera de poliestireno teniendo un grupo amino como el reactivo (un PEG o el enlazador equivalente o alternativo puede formarse entre la microesfera y el grupo amino terminal). La figura 1B muestra el aminoácido de inicio en la microesfera como
15 metionina y que entonces reacciona para formar el compuesto que se muestra en B, la figura 1C muestra las submonómeros (aminas monoméricas y ácidos haloacéticos) utilizados para formar la genoteca oligomérica de compuestos.

La figura 4 muestra un esquema químico básico de la
20 preparación de una genoteca de microesferas de Tentagel (JC5B) usada para seleccionar las muestras de suero de Alzheimer. La figura 1A muestra el inicio de una microesfera de poliestireno teniendo un grupo amino como el reactivo (un PEG o el enlazador equivalente o alternativo puede formarse
25 entre la microesfera y el grupo amino terminal). La figura 1B muestra el aminoácido de inicio en la microesfera como metionina y que entonces reacciona para formar el compuesto que se muestra en B. La figura 1C muestra las submonómeros (aminas monoméricas y ácidos haloacéticos) utilizados para
30 formar la genoteca oligomérica de compuestos. Los monómeros

JC5B incluyen isobutilamina, 2-metoxietilamina, diaminobutano, furfurilamina, ciclohexilamina, R-metilbencilamina, piperonilamina y 4-(aminoetil) bencenosulfonamida.

5 La figura 5 muestra un esquema químico básico de la preparación de una genoteca de microesferas de Tentagel (JC7B) usada para seleccionar las muestras de suero. La figura 3A muestra el inicio de una microesfera de poliestireno teniendo un grupo amino como el reactivo (un PEG
10 o el enlazador equivalente o alternativo puede formarse entre la microesfera y el grupo amino terminal). La figura 1B muestra el aminoácido de inicio en la microesfera como metionina y que entonces reacciona para formar el compuesto que se muestra en B. La figura 1C muestra las submonómeros
15 (aminas monoméricas y ácidos haloacéticos) utilizados para formar la genoteca oligomérica de compuestos.

La figura 6 muestra un esquema del proceso de la invención para seleccionar una muestra biológica compleja usando genotecas basadas en la cabeza de ligandos peptoide.

20 La figura 7 muestra los aciertos de Dynabead de control normal (NC) después de la adición de QDot en una genoteca de peptoide (JOB) preparada para seleccionar contra una muestra de suero control normal de Alzheimer y la muestra de suero enfermo de Alzheimer. Los aciertos fueron
25 seleccionados y las restantes microesferas de ligando unidas fueron utilizadas en el tamiz basado en la enfermedad.

La figura 8 muestra la selección de la microesfera Tentagel de suero enfermo de muestras de sangre de paciente con Alzheimer después de los éxitos de NC fueron removidos.
30 Los aciertos se muestran en rojo, que es el anticuerpo

secundario Qdot unido al biomarcador asociado con la enfermedad (anticuerpo) en el suero que está unido a un peptoide enlazado a través de un enlazador de PEG para la microesfera.

5 La figura 9 muestra una prueba de reproducibilidad que utiliza una muestra de control normal (NC 030093) después de lavado SDS y adición de QDOT. La flecha muestra cuales aciertos de peptoide NC fueron elegidos para la secuencia.

10 La figura 10 muestra una prueba de reproducibilidad que utiliza una muestra de control normal (NC 050047) después de lavado de SDS y adición de QDOT.

 La figura 11 muestra una prueba de reproducibilidad que utiliza una muestra enferma después del lavado de SDS y adición de QDOT.

15 La figura 12 muestra las secuencias de peptoide de los aciertos putativos seleccionados de l tamiz de Alzheimer de la genoteca JC3B. El C-terminal está en el lado derecho de la hoja y el N-terminal está en el lado izquierdo.

20 La figura 13 muestra las estructuras químicas de los aciertos de alta afinidad preferidos del tamiz de Alzheimer de la genoteca JC3B, en este ejemplo, las estructuras mostradas tienen un residuo de cisteína y se sintetizaron después de determinar la estructura del acierto inicial en el tamiz preliminar. La genoteca JC3B contenía un
25 peptoide análogo pero tenía un residuo de metionina en el C-terminal y no un residuo de cisteína.

 La figura 14 muestra un experimento de competencia entre un ligando de alta afinidad (ADTGI) en solución en comparación con ADTG-l-ADTG-42 en un soporte de micromatriz.
30 El experimento de competición muestra que ADTGI en solución

adherido al mismo anticuerpo que se habría unido a peptoides ADTG-1, ADTG14, ADTG24, ADTG25, ADTG3I, ADTG35 y ADTG40 en el micromatriz. Se realizaron experimentos similares en cada uno de los peptoides para encontrar cuatro conjuntos de peptoides, que se unen a cuatro distintos autoanticuerpos de Alzheimer.

La figura 15 muestra los cuatro grupos de peptoides distintos, que se unen a diferentes autoanticuerpos en el tamiz de Alzheimer. Cada grupo en la figura tiene el aglutinante de afinidad más alto en la parte superior.

La figura 16A muestra los datos de prueba AD (ciegos) para un grupo de pacientes que usan peptoide Plaagl (JC3B-1) y la figura 16B muestra los datos de prueba (ciegos) para el mismo grupo de pacientes AD usando Plaag2 (JC3B-21). Cada peptoide se presenta en un micromatriz.

La figura 17A muestra datos de prueba AD (ciegos) para un grupo de pacientes que usan peptoide Plaag3 (JC3B-7) y la figura 17B muestra los datos de prueba (ciegos) para el mismo grupo de pacientes AD usando Plaag4 (3C3B-5). Cada peptoide se presenta en un micromatriz.

La figura 18A muestra los datos de prueba AD (ciegos) para un grupo de pacientes que usan peptoide Plaag5 (JC3B-R8) y la figura 18B muestra datos de prueba (ciegos) para el mismo grupo de pacientes AD usando Plaag6 (JC3B-R12). Cada peptoide se presenta en un micromatriz.

La figura 19A muestra datos de micromatriz para ADP2 en el mismo grupo de pacientes para las pruebas efectuadas usando Plaagl-6. La figura 19B muestra datos comparativos con Plaag4 con el mismo grupo de pacientes. Los datos muestran una clara correlación entre los resultados

obtenidos con un ADP2 previamente identificado y el Plaag4 recién identificado en el mismo grupo de pacientes.

La figura 20A muestra datos de micromatrices de ADP3 en el mismo grupo de pacientes para las pruebas realizadas utilizando Plaagl-6, la figura 20B muestra datos comparativos con Plaag2 con el mismo grupo de pacientes. Los datos muestran una clara correlación entre los resultados obtenidos con un ADP3 previamente identificadas y el Plaag2 recién identificado en el mismo grupo de pacientes.

La figura 21 muestra una validación de Plaag5 (acierto putativo 5 orJC3B-R8) en microesferas TentaGel en una comparación de suero enfermo AD versus control sano (agrupado) 40 ug/ml.

La figura 22A muestra los aciertos de peptoide en la matriz de cáncer pancreático usando QDot 655 y usando la genoteca JC5B. Las figuras 22B y C muestran confirmación de aciertos usando QDot 655 (flechas apuntan a los aciertos).

La figura 23 muestra la validación de aciertos de peptoide pancreático y compara la adición de suero enfermo y detección con 655 QDot versus la adición de suero normal.

La figura 24 muestra validación de aciertos mediante la mezcla de marcadores AD y marcadores PC. Los datos muestran que, el marcador PC fue detectado mientras no había ningún anticuerpo detectable en la microesfera de peptoide AD en el suero de cáncer pancreático (suero 1).

La figura 25 muestra las secuencias de aciertos de tamiz de cáncer pancreático de la genoteca JC3B.

La figura 26 muestra las secuencias de aciertos de tamiz de cáncer pancreático las secuencias de la genoteca JC5B.

Las figuras 27A, B y C muestran los resultados de un matriz SLE (Lupus). A es el control normal y B y C son suero SLE de dos diferentes grupos 1 y 2. Las flechas señalan a los aciertos.

5 La figura 28 muestra los aciertos SLE de la genoteca KN1B. El C-terminal está en el lado derecho de la hoja.

La figura 29 muestra una validación de aciertos para peptoide KN1B-20. El grupo 1 es suero enfermo agrupado en una concentración de aproximadamente 0.374 mg/mL (foto izquierda) (se muestran los aciertos con un tinte rojo en el microesfera). Suero agrupado no enfermo (imagen centro) se proporciona a una concentración de aproximadamente 0.378 mg/mL y la imagen derecha muestra un control no sérico.

15 La figura 30 muestra la unión/detección de uno de los peptoides SLE (lupus) para placas de ELISA usando dos métodos diferentes de unión a diferentes concentraciones de peptoide utilizando una etiqueta de fluoresceína.

La figura 31 muestra un ensayo de competencia entre la KN1B-20-biotina-fluoresceína unida a la placa versus KN1B-20-biotina libre en solución a diferentes concentraciones. Amortiguación de la señal se produce como la concentración de KN1B-20-biotina libre de concentraciones equimolares de unida versus libre.

25 La figura 32 muestra una placa ELISA con peptoide a diferentes concentraciones y muestra claramente una diferencia entre suero enfermo (AD)(columna 1 P) y suero control normal (columna 3) [1:200 duplicando cada pozo a 1: 400, 1:800, 1; 1.600, 3.200: 1, 1:6, 400, 1: 12.800]. La flecha apunta a la dilución de 1:800 en regulador de pH

1XTBST. La concentración de peptoide en los pozos es 10 mM. La figura 32 muestra también la validación de la plataforma de microesferas TentaGel para distinguir entre suero enfermo y control.

5 La figura 33 muestra una placa ELISA con 10 mM ADP3 y en diferentes diluciones de suero AD frente a sueros de control. La flecha apunta a la dilución de 1:800.

 La figura 34 muestra una placa ELISA con 10 mM SLE-KNJ B-20 y en diferentes diluciones de suero AD frente a
10 sueros de control. La flecha apunta a la dilución de 1:800.

 La figura 35 muestra un gráfico ELISA de suero AD usando 10 mM ADP3 preparado en regulador de pH de unión en diferentes diluciones de suero. La separación entre suero normal y enfermo se produjo, sobre la gama de dilución de
15 1:200 a través de aproximadamente 1:10,000. Las diluciones de inicio fueron 1:200 (suero AD grupo 1 0.394 mg/mL y suero no enfermo en 0.386 mg/ml).

 La figura 36 muestra un gráfico ELISA de suero SLE usando 10 mM KN1B-20 preparado en regulador de pH de unión en
20 diferentes diluciones de suero. La separación entre suero normal y enfermo se produjo sobre la gama de dilución de 1:200 a través de aproximadamente 1; 10,000. Las diluciones de inicio fueron 1:200 (suero SLE grupo 1 0.375 mg/rnL y suero no enfermo en 0.396 mg/ml).

25 La figura 37 muestra un gráfico ELISA de suero SLE usando 1.0 mM KN1B-20 preparado en DMSO a diferentes diluciones de suero. La separación entre suero normal y enfermo se produjo sobre la gama de dilución de 1:200 a través de aproximadamente 1; 10,000. Las diluciones de inicio
30 fueron 1:200 (suero SLE grupo 1 0.375 mg/rnL y suero no

enfermo en 0.322 mg/ml).

La figura 38 muestra una plataforma de FAGS para la validación de aciertos de Tentagel.

La figura 39 muestra el grado de separación entre
5 microesferas teniendo un grupo acetilo y microesferas con un grupo de 2,5-dinitrofenilo (DNP) a diferentes concentraciones de sueros (100 ug/mL a 1,000 ug/mL) y en respuesta al tratamiento con un anticuerpo secundario marcado con anti-DNP. La separación de intensidad de fluorescencia media (MFI)
10 fue mayor a la dilución mayor de sueros 1,000 ug/mL.

La figura 40 muestra que hay una competencia directa entre etanolamina-DNP libre y la unión de DNP (en un plato) al anticuerpo anti-DNP en una concentración de sueros de 1,000 ug/mL.

La figura 41 muestra anti-anticuerpo unido ADP3 de
15 sueros de control normal agrupado y sueros AD agrupados. Los datos muestran buena separación de rangos de concentración de sueros de 20 y 140 ug/mL usando dos diversos anticuerpos secundarios (cabra anti-humana Dylight 649 y cabra anti-
20 humana Alexa 647).

La figura 42 muestra auto-anticuerpo unido a ADP3 de control normal y sueros AD después de la sustracción de fondo en diferentes rangos de concentración de sueros. Hay un grado importante de separación a lo más rangos de
25 concentración de sueros de menos de 20 ug/mL a 1.20 ug/mL o mayor.

Las figuras 43 y 44 muestran las estructuras de los aciertos del ligando peptoide re-sintetizado SLE (lupus).

La figura 45 muestra la preparación de ADP3 en
30 microesferas 10 um Tentagel y la posterior escisión usando

CNBr junto con una lectura de masas specttoreaetry de la lactona mostrada.

La figura 46 muestra auto-anticuerpo unido a ADP3 de control normal y los sueros de enfermedad de Alzheimer en
5 diferentes concentraciones. Los microesferas fueron pre-bloqueados durante 3 horas con IX TBST y entonces se detectaron usando el anticuerpo secundario cabra anti-humana Alexa 647.

La figura 47 muestra que el auto-anticuerpo unido a
10 ADP3 de control normal y los sueros de enfermedad de Alzheimer en concentraciones diferentes de sueros y también muestra valores DNP.

Las figuras 48 y 49 muestran auto-anticuerpo unido a ADP3 de controles normales frente a sueros de enfermedad de
15 Alzheimer utilizando condiciones de pre-bloqueo tales como lisado y lisina E. coli.

La figura 50 muestra un simple esquema de la preparación de y la distinción entre peptoides que se utilizan en micromatrices contra aquellos peptoides que se
20 colocan en las placas de ELISA. El esquema de cómo se hacen las micromatrices de peptoide es: microesferas individuales están segregados en los pozos de placas de microtitulación y los peptoides son divididos de las microesferas para hacer una solución madre concentrada. Tenga en cuenta que cada pozo
25 contendrá un único tipo de peptoide. Varios miles peptoides luego son colocados sobre portaobjetos de vidrio químicamente modificado de tal manera que se unen covalentemente a la superficie. Pueden producirse varias miles diapositivas altamente reproducibles de una sola genoteca sintética. La
30 producción de ELISA es similar, excepto que no hay ninguna

cadena PEG en la superficie, pero la densidad de peptoides en la placa de ELISA puede ser diferente que aquella de las micromatrices.

La figura 51 muestra experimentos de ELISA con una clara distinción entre el control normal y el suero enfermo en una dilución del suero de 1:800 usando peroxidasa de rábano picante unida a un anticuerpo secundario que detecta el complejo de anticuerpo-peptoide asociado con la enfermedad. El sustrato incoloro se agrega y cambia de color (azul) durante la reacción con la enzima HRP unida.

La figura 52 muestra los datos de valoración que compara varios peptoides AD en una prueba de ELISA en diferentes diluciones de suero de suero enfermo (A) versus suero normal (B). No hay intensidad de las señales en el suero normal pero clara distinción e intensidad de todos los peptoides AD a medida que aumenta la concentración de 1:12.800 a 1:200.

La figura 53 proporciona un diagrama que valida la correlación entre el diagnóstico clínico del conjunto de muestras sin cegamiento de los pacientes AD en diversas etapas de la enfermedad de Alzheimer (o no) frente a los datos obtenidos en las mismas muestras de suero del paciente (ciegos) y que fueron seleccionados contra el peptoide ADP3 para detectar anticuerpos asociados con la enfermedad. Los resultados mostrados provienen de un estudio ciego de las muestras de plasma de la Mayo Clinic Jacksonville. UND = indeciso. La gráfica se derivó de una dilución de concentración de suero única (1:800). Una lectura de > 1 se consideró positiva, una lectura entre 1 y 0.7 se consideró indecisa y una lectura por debajo de 0.7 se consideró

negativa.

La figura 54 proporciona un diagrama que valida la correlación entre el diagnóstico clínico del conjunto de muestras sin cegamiento de los pacientes AD en diversas etapas de la enfermedad de Alzheimer (o no) frente a los datos obtenidos de las mismas muestras de suero del paciente (ciegos) y que fueron seleccionados contra los diversos peptoides AD (la gráfica es un valor promedio de los resultados de 9 peptoides) de la invención para detectar los anticuerpos asociados con la enfermedad. Los resultados mostrados provienen de un estudio ciego de las muestras de plasma de la Mayo Clinic Jacksonville. UND = indeciso. La gráfica se derivó de una dilución de concentración de suero única (1:800), una lectura >3 se consideró positiva, una lectura entre 1 y 0.7 se consideró indecisa y una lectura por debajo de 0.7 se consideró negativa.

La figura 55 proporciona un diagrama que valida la correlación entre el diagnóstico clínico del conjunto de muestras sin cegamiento de pacientes AD en diversas etapas de la enfermedad de Alzheimer (o no) frente a los datos obtenidos de las mismas muestras de suero del paciente (ciegos) y que fueron seleccionados contra los diversos peptoides AD de la invención para detectar los anticuerpos asociados con la enfermedad. Los resultados mostrados provienen de un estudio ciego de las muestras de plasma de la Mayo Clinic Jacksonville. UND = indeciso. La gráfica se derivó de una dilución de concentración de suero única (1:800). Una lectura >1 se consideró positiva, una lectura entre 1 y 0.7 se consideró indecisa y una lectura por debajo de 0.7 se consideró negativa. Los datos muestran también un

desempeño en otras demencias donde muestras de MCI/depresión están etiquetadas y las muestras de demencia del cuerpo de Lewis también son marcadas. Los datos muestran que por lo menos tres pacientes MCI tienen muestras de suero con cantidades detectables por encima de 1 de los anticuerpos capturados por los peptoides selectivos AD de la invención.

Las figuras 56A-D proporcionan datos sobre ese subconjunto de muestras de pacientes que tienen desacuerdos entre el ensayo de diagnóstico peptoide Opko Health utilizando múltiples peptoides AD versus el diagnóstico clínico después que esta información fue suministrada cuando son no cegados. La figura 56A muestra los datos de peptoides ADP3 y otros como se muestra para un paciente que estaba clínicamente enfermo para el cual el peptoide Opko Plaag4 estaba por debajo de 1.0 (UND en un solo punto; valoración AD positivo). Todos los otros peptoides Opko eran positivos para el AD (es decir, por encima de 1.0). La figura 56B muestra que todos los peptoides Opko fueron positivos para los anticuerpos asociados con la enfermedad en un paciente que fue diagnosticado actualmente como normal (no demente) sugiriendo pre-AD. La figura 56C muestra que ninguno de los peptoides Opko AD mostró una intensidad por encima de 1 en cualquier punto de dilución en un paciente que fue diagnosticado clínicamente con AD sugiriendo que este paciente tenía alguna otra forma de demencia. La figura 56D muestra que en un paciente clínicamente positivo AD, los múltiples peptoides Opko AD no eran positivos para los anticuerpos asociados con la enfermedad pero dos peptoides (Plaag6 y Plaag4) fueron positivos, por lo tanto UND en un único punto y UND incluso después de la titulación.

La figura 57 muestra el diagrama por conglomerados generado a partir de muestras previas de AD usando una micromatriz manchado con ADP3. Existe una clara correlación entre enfermo versus control en los datos de micromatrices y datos generados utilizando la plataforma de ELISA. La figura 57 también muestra que el peptóide ADP3 está seleccionado para los anticuerpos asociados con la enfermedad asociados con la enfermedad de Alzheimer y no Parkinson o Lupus (SLE).

La figura 58 ofrece un resumen del análisis de ELISA usando un total de 106 muestras de suero analizadas.

La figura 59 proporciona las estructuras químicas de Plaag7-9.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

15

En la siguiente descripción detallada, se establecen numerosos detalles específicos expuestos con el fin de proporcionar un conocimiento exhaustivo de la invención. Sin embargo, se entenderá por los entendidos en la materia que la presente invención puede ser practicada sin estos detalles específicos. En otros casos, los componentes, los procedimientos y métodos bien conocidos no se han descrito en detalle para no ocultar la invención.

La invención abarca una genoteca de ligandos y sus usos. Específicamente, la invención abarca la selección de moléculas, farmacoproteómicos, diagnóstico, tratamiento y otros usos de una genoteca al azar.

En una modalidad, la invención proporciona una genoteca de ligandos para una medicina personalizada. Los términos "medicina personalizada" en este documento, puede

referirse a la utilización de una prueba (o diagnóstico) para dirigir un medicamento (o terapia) en pacientes que tienen más probabilidades de beneficiarse de ella, o para identificar a pacientes que podrían estar en riesgo de daño de dicha terapia. Antes de un fármaco o producto de diagnóstico puede ser comercializado en los Estados Unidos y muchos otros países, es sometido a revisión estricta regulatoria de su seguridad y eficacia. En el caso de un diagnóstico para la medicina personalizada es probable que requiera la prueba de tejidos o fluidos corporales de los pacientes que recibieron el fármaco para determinar si existe un vínculo entre su respuesta a la terapia y la presencia de un marcador particular. Por consiguiente, en una modalidad, en el presente documento se proporciona un método para diagnosticar una respuesta de un fármaco para tratar una enfermedad en un sujeto, el método que comprende: obtener una muestra biológica de dicho sujeto; selección de una genoteca de ligandos contra dicha muestra; identificación de las características de unión de uno o más marcadores en dicha muestra con uno o varios ligandos en la genoteca; y para la determinación si uno o más marcadores están asociados con dicha respuesta por dicho fármaco, diagnóstico de tal modo dicha respuesta para dicho fármaco para tratar dicha enfermedad en dicho sujeto. Ejemplos de respuesta incluyen, pero no se limitan a, una reacción adversa, un efecto secundario, una resistencia a los medicamentos y una eficacia terapéutica incluyendo eficacia de la dosis.

Reacciones adversas al fármaco son la principal causa de la tasa de éxito baja de programas de desarrollo de fármacos (menos de uno en cuatro compuestos que entra en

pruebas clínicas en humanos es finalmente aprobado para su uso por la U.S. Food and Drug Administration (FDA)). La enfermedad inducida por fármacos o toxicidad presenta una única serie de retos para los desarrolladores de fármacos, ya

5 que estas reacciones a menudo no son predecibles de estudios preclínicos y no pueden ser detectadas en los primeros ensayos clínicos que involucran pequeños números de sujetos. Cuando tales efectos se detectan en las etapas posteriores de desarrollo clínico a menudo resultan en la terminación de un

10 programa de desarrollo de fármacos. Cuando un fármaco está aprobado a pesar de cierta toxicidad, su uso clínico con frecuencia severamente está restringido por la posible aparición de reacciones adversas en incluso un pequeño grupo de pacientes. La probabilidad de que tal compuesto se

15 convierta en la terapia de primera línea es pequeña (a menos que no existan productos competidores). Los ensayos clínicos que usan esta invención podrán permitir mejores predicciones de posibles reacciones tóxicas en estudios que incluyeron a un pequeño número de sujetos. Los métodos de esta invención

20 ofrecen una predicción rápidamente derivada de los efectos tóxicos futuros probables de una intervención. Por consiguiente, en otra modalidad, previsto en el presente documento es un método para la detección de un riesgo de reacción adversa a un medicamento en un sujeto, el método que

25 comprende: la obtención de una muestra biológica de dicho sujeto; la selección una genoteca de ligando contra dicho sujeto; identificación de las características de unión de uno o más marcadores en dicha muestra con uno o varios ligandos en la genoteca; y determinación si uno o más marcadores están

30 asociados con dicho riesgo, detectando de tal modo dicho

riesgo de reacción adversa a dicho fármaco en dicho sujeto.

La presente invención se basa, en parte, en el sorprendente descubrimiento que una combinación de biomarcadores de unión de peptoide puede utilizarse para individualizar la terapia en pacientes. Dada la alta variabilidad entre paciente en respuesta a un fármaco, los métodos de ensayo de la invención presente son especialmente ventajosos porque utilizan una estrategia combinatoria que toma en cuenta las diferencias en características de unión de múltiples determinantes moleculares (por ejemplo, biomarcadores de enlace peptoide) para determinar si una enfermedad en un paciente tiene una alta probabilidad de responder al tratamiento con un fármaco específico o una combinación de fármacos. Si el paciente es clasificado como un respondedor, un régimen de dosificación a la medida del paciente puede crearse entonces para lograr eficacia terapéutica sin provocar efectos secundarios tóxicos. En consecuencia, los pacientes clasificados como respondedores pueden recibir los beneficios completos de la terapia inducida por fármacos sin experimentar los efectos secundarios asociados con dicho tratamiento. Del mismo modo, los pacientes ya sometidos a tratamiento con un fármaco pueden experimentar una reducción en los efectos secundarios tóxicos sin comprometer la eficacia terapéutica mediante el ajuste de la dosis subsecuente del fármaco. Asimismo, los pacientes ya sometidos a tratamiento con un fármaco pueden ser monitoreados para evaluar si ha desarrollado resistencia al fármaco y debe administrarse una terapia alternativa.

Como resultado, los métodos de la invención presente permiten tratar una enfermedad en un sujeto, el

método que comprende: obtención de una muestra biológica de dicho sujeto; selección de una genoteca de ligandos contra dicho sujeto; identificación de las características de unión de uno o más marcadores en dicha muestra con uno o varios
5 ligandos en la genoteca; determinación si uno o más marcadores se asocian a una respuesta a un fármaco para el tratamiento de dicha enfermedad; administrar dicho fármaco a dicho sujeto, basado en la determinación de la asociación entre dicho uno o más marcadores a dicha respuesta, de este
10 modo tratando dicha enfermedad en dicho sujeto. En otra modalidad, la invención proporciona el monitoreo de un tratamiento con un fármaco en un sujeto, el método que comprende: obtención de una muestra biológica de dicho sujeto; selección de una genoteca de ligando contra dicho
15 sujeto; identificar las características de unión de uno o más marcadores en dicha muestra con uno o varios ligandos en la genoteca; determinar si dicho uno o más marcadores se asocian a una respuesta a un fármaco para el tratamiento de dicha enfermedad; administrar dicho fármaco a dicho sujeto, basado
20 en la determinación de la asociación entre uno o más marcadores a dicha respuesta, monitoreando de tal modo dicho tratamiento por dicha fármaco en dicho sujeto.

En otra modalidad, la invención proporciona una genoteca de ligandos para farmacoproteómicos e identificar un
25 marcador asociado a una respuesta al fármaco. Por consiguiente, en una modalidad, proporcionada en este documento es un método para identificar un marcador asociado con una respuesta inducida por fármacos para el tratamiento de una enfermedad, que comprende: obtención de una muestra
30 biológica de un sujeto; la selección de una genoteca de

ligando contra dicha muestra biológica; determinación de las características de unión de un marcador en dicha muestra a un ligando en la genoteca; y determinar si dicho marcador se asocia con dicha respuesta inducida por fármacos para el tratamiento de dicha enfermedad, identificación de tal modo de dicho marcador asociado con dicha respuesta inducida por fármacos para el tratamiento de dicha enfermedad. En una modalidad ejemplar, la respuesta a fármacos es una respuesta del paciente al fármaco, su dosificación o reacción adversa.

En una modalidad, uno o más aciertos o resultados de putativos de biomarcadores se identifican mediante una genoteca de ligandos de la invención. Puede obtenerse una muestra biológica de un sujeto o una pluralidad de sujetos (por ejemplo, población o subpoblación de pacientes). En algunas modalidades, puede obtenerse una primera serie de muestras biológicas de una pluralidad de sujetos que exhiben una respuesta (por ejemplo, la respuesta inducida por fármacos o respuesta a una enfermedad) y un segundo conjunto de muestras biológicas puede obtenerse de una pluralidad de sujetos no exhibiendo una respuesta. La genoteca de ligandos puede seleccionarse contra la primera y segunda muestras biológicas establecidas. Las diferencias en las características de unión de uno o más marcadores a uno o varios ligandos en la genoteca entre la primera y segunda muestras biológicas establecidas pueden ser determinadas. Basado en las diferencias en las características de unión, los aciertos o resultados putativos de biomarcadores pueden ser identificados. En algunas modalidades, los aciertos o resultados putativos son biomarcadores que reconocen anticuerpos a antígenos asociados con una respuesta, por

ejemplo, una respuesta del paciente a un fármaco, respuesta a una enfermedad y respuesta a una etapa particular de una enfermedad.

En una modalidad, para la identificación de
5 aciertos o resultados putativos de biomarcadores, una
genoteca de ligandos peptoide aleatorio, grande, basado en
microesferas que van desde unos 350K a unos 250MM pueden
usarse. Los aciertos o resultados putativos de biomarcadores
identificados en la selección inicial de la genoteca al azar
10 pueden entonces utilizarse para la selección contra las
muestras en una selección posterior para el diagnóstico o
diagnósticos de compañía discutidos en este documento.

En algunas modalidades, los aciertos o resultados
putativos conduce son validados en una selección posterior.
15 En una modalidad, la misma genoteca de ligandos que se
utilizó en la selección inicial se puede usar en la selección
posterior de validación. En otra modalidad, una genoteca
diferente de ligando (diferente a la que fue utilizada en la
selección inicial) puede utilizarse en la selección posterior
20 de validación.

En una modalidad, los aciertos o resultados
putativos asociados un primer rasgo (por ejemplo, respuesta a
una enfermedad) se identifican en la selección inicial y los
aciertos o resultados putativos identificados se utilizan
25 para seleccionar contra las muestras para determinar su
asociación con un segundo rasgo (por ejemplo, respuesta a un
fármaco). En una modalidad, los aciertos o resultados
putativos asociados con una enfermedad se identifican en la
selección inicial y los aciertos o resultados putativos
30 identificados se utilizan para seleccionar contra las

muestras para validar y determinar una asociación con una fase específica de dicha enfermedad.

En algunas modalidades, se puede realizar la selección inicial para identificar aciertos putativos en un dispositivo basado en microesferas, utilizando una genoteca grande de ligandos al azar, y la selección posterior para el diagnóstico o diagnósticos de la compañía puede realizarse utilizando cualquier plataforma, por ejemplo, micromatrices, usando una genoteca de ligandos no aleatoria o aleatoria.

En una modalidad, en una selección posterior para el diagnóstico o diagnósticos de la compañía, una primera selección puede realizarse contra una primera genoteca de ligandos y una selección posterior contra una segunda genoteca de ligandos, en donde la primera genoteca de ligandos consta de una primera serie de ligandos y la segunda genoteca de ligandos comprende un segundo conjunto de ligandos. En un ejemplo, la primera genoteca de ligandos se examina para identificar los marcadores asociados a una enfermedad, y una segunda genoteca de ligandos es seleccionada en una selección posterior para identificar marcadores asociados a una respuesta inducida por fármacos.

En un ejemplo, los aciertos o resultados putativos se utilizan en una primera selección en muestras de pacientes, recogidos antes del tratamiento del fármaco, para determinar su asociación con una enfermedad. Después del tratamiento de fármacos, las muestras se pueden recolectar de los pacientes, y en una modalidad, los mismos aciertos putativos utilizados en el grupo de tratamiento previo pueden utilizarse para identificar aquellos pacientes con ciertas etapas de enfermedad o cambios sensibles al tratamiento

farmacológico. En otra modalidad, diferentes aciertos putativos pueden usarse para controlar los efectos secundarios relacionados con el fármaco o los efectos del tratamiento que son debido a la administración de fármacos y no necesariamente están correlacionados o relacionados con el perfil de pre-tratamiento. En algunas modalidades, otra genoteca al azar puede utilizarse para encontrar biomarcadores adicionales que podrían estar asociados con el tratamiento farmacológico.

El término "fármaco", en este documento, puede referirse a cualquier fármaco, incluyendo pero no limitado a, compuestos sintéticos orgánicos o inorgánicos, una proteína, un péptido, un polisacárido y otros azúcares, un lípido, secuencias de ácidos nucleicos DNA y RNA, un oligonucleótido anti-sentido, un anticuerpo, un ligando del receptor, una enzima, un péptido de adhesión, un antígeno, una hormona, un factor de crecimiento, una ribozima y un vector retroviral.

La invención abarca cualquier fármaco adecuado conocido por uno de los expertos en la técnica. Estos fármacos están listados en el índice de Merck; Physicians' Desk Reference, PDR Network, edición 2011 (01 de diciembre de 2010); Patente de Estados Unidos 7,932,294, y Publicaciones de patente estadounidense 20060046967, 20110274695, 20110269722, 20110269709 y 20060205674, todas las cuales están incorporadas por referencia en este documento en su totalidad.

En una modalidad, la fármaco es seleccionado de una o más de las siguientes categorías/grupos: antibióticos, sedantes, hipnóticos, antidepresivos, antipsicóticos, antimaníacos, analgésicos, antipiréticos, agentes

antimigraña, anticonvulsivos, fármacos que se usan en trastornos de parkinsonismo y del movimiento, fármacos para la demencia, antieméticos, fármacos para el vértigo, activadores estimulantes del SNC, preparaciones anti-
5 infecciosas para el ojo, anti-inflamatorios, preparaciones antialérgicas, fármacos anti-glaucoma, preparaciones para curar enfermedades oculares, preparaciones aurales, preparaciones nasales, preparaciones orofaríngeas, fármacos anti-arrítmicos, anti-hipertensivos, bloqueadores alfa/beta,
10 bloqueadores de los canales, inhibidores de ACE, antagonistas del receptor de angiotensina II, diuréticos, antianginales, nitratos, bloqueadores del canal de calcio. Fármacos para insuficiencia cardíaca y el shock, vasodilatadores, coagulantes, anticoagulantes, trombolíticos, fármacos anti-
15 plaquetarios, estimulantes respiratorios, antitusivos, expectorantes, mucolíticos, descongestionantes, agentes antihistamínicos, anti-asmáticos; antiulcerosos, fármacos antisecretorios, antagonistas del receptor H.sub.2, inhibidores de la bomba de protones, análogos de
20 prostaglandina, antiácidos, antiespasmódicos, fármacos de modificación de la motilidad intestinal, anti-diarreicos, fármacos anti-motilidad, fármacos antimicrobianos, fármacos actuando en la vesícula biliar, anti-infecciosos urinarios, diuréticos, analgésicos urinarios, antiespasmódicos, fármacos
25 anti-infecciosos que actúan en la uretra y la vagina, las fármacos que actúan sobre el útero, fármacos para la hipertrofia prostática, alfa bloqueadores, anti-andrógenos, fármacos para la disfunción eréctil, espermicidas, anticonceptivos no hormonales, emolientes, queratolíticos,
30 anti-infecciosos tópicos, anti-fúngicos tópicos,

parasitocidas tópicos, esteroides tópicos, fármacos tópicos para el acné vulgar, fármacos para la psoriasis, trastornos de pigmentación y anti-seborreicos, fármacos no esteroides anti-inflamatorios (NSAID), inhibidores de COX-2, agentes
5 antiartríticos, inmunosupresores, analgésicos tópicos, relajantes musculares, fármacos neuromusculares, antibióticos de penicilina, antibióticos cefalosporina, quinolona, antibióticos de fluoroquinolona, antibióticos, antibióticos macrólido, cloranfenicol, antibióticos de tetraciclina,
10 sulfonamida, anti-anaeróbicos, metronidazol, fármacos antituberculosos, fármacos antilepra, antifúngicos, anti-protozoarios, anti-helmínticos, fármacos anti-infestación, antipalúdicos, antivirales, anabólicos, esteroides androgénicos, corticosteroides, estrógenos, progestágenos y
15 anticonceptivos hormonales, agentes fertilizantes, hormonas tróficas y fármacos relacionados, fármacos anti-tiroideos y tiroides, antidiabéticos e hiperglicémicos, vitaminas, aminoácidos, fármacos contra la obesidad, fármacos hipolipidémicas, derivados del ácido fíbrico, estatinas,
20 inhibidores de HMG CoA reductasa, grupo de ácido nicotínico, fármacos utilizados para la gota, fármacos que afectan el metabolismo óseo, bifosfonatos, fármacos anticáncer, agentes alquilantes, antibióticos citotóxicos, antimetabolitos, citarquina, Fludarquina, 5-fluorouracilo, mercaptopurina,
25 tioguanina, alcaloides vinca, etoposido, taxanos, inhibidores de topoisomerasa 1, inmunosupresores citotóxicos, Inmuno-estimulantes, citoprotectores, amifostina, estrógenos, progestógenos, antagonistas de la hormona, fármacos antineoplásicos, antialérgicos, anti-histaminas no-sedativas,
30 cetirizina, desloratadina, terfenadina, fexofenadina,

histaminas sedantes, bloqueadores del receptor de histamina, anestésicos locales, anestésicos intravenosos, anestésicos de inhalación y relajantes musculares.

En otra modalidad, el fármaco se selecciona de uno o más de los fármacos enumerados en la cuadro 1 posterior.

CUADRO 1

Ejemplos seleccionados de fármacos de marca en el mercado

10	Nombre genérico	nombres comerciales	indicaciones
	atorvastatina	Lipitor®	colesterol
	clopidrogel	Plavix®	aterosclerosis
15	etanercept	Enbrel®	RA, JRA, Ps, PsA, AS
	fluticasona	Advir®	Asma
	salmeterol		
	infliximab	Remicade®	RA, UC, CD, Ps, PsA, AS
	valsartan	Diovan®	Hipertensión
	rituximab	Rituxan®	NHL, RA
	esomeprazol	Nexium®	Úlceras
	bevacizumab	Avastin®	cáncer de colon
	aripiprazol	Abilify®	esquizofrenia
	trastuzumab	Herceptin®	cáncer de mama
20	olanzapina	Zyprexa®	esquizofrenia
	quetiapina	Seroquel®	esquizofrenia
	adalimumab	Humira®	RA, Ps, JIA, PsA, AS, CD
	ontelukast	Singulair®	Asma
	enoxaparina	Lovenox®	DVT anticoagulante
	venlafaxina	Effexor®	Depresión
	pioglitazona	Actos®	Diabetes
	candessartan	Atacand® Blopess®	Hipertensión
	escitopram	Lexapro® Cipralex®	Depresión
	glatiramer	Copaxona®	Esclerosis múltiple

NHL linfoma no Hodgkin, RA artritis reumatoide, JRA artritis reumatoide juvenil, JIA artritis idiopática juvenil, Ps soriasis, PsA artritis soriática, CD enfermedad de Crohn; UC colitis ulcerosa, AS espondilitis anquilosante.

En otra modalidad, el fármaco se selecciona de uno o más de los siguientes: Abacavir, aripiprazol, trióxido de arsénico, atomoxetina, atorvastatina, azatioprina, boceprevir, brentuximab Vedotin, Busulfano, capecitabina, carbamazepina, Carisoprodol, Carvedilol, Celecoxib, Cetuximab (1), Cetuximab (2), cevimelina, clordiazepóxido y amitriptilina, cloroquina, Citalopram (1), Citalopram (2), Clobazam, clomifeno, clomipramina, Clopidogrel, clozapina, codeína, Crizotinib, dapsona, Dasatinib, desipramina, desloratadina y pseudoefedrina, Dexlansoprazol (1), Dexlansoprazol (2), dextrometorfano y quinidina, Diazepan, doxepina, drospirenona y etinilo, estradiol, Erlotinib, esomeprazol, fluorouracilo, fluoxetina, fluoxetina y olanzapina, flurbiprofeno, fluvoxamina (1), fluvoxamina (2), fluvoxamina (3), Fulvestrant, galantamina, Gefitinib (1), Gefitinib (2), iloperidona, Imatinib (1), Imatinib (2), Imatinib (3), Imatinib (4), imipramina, Indacaterol, Irinotecan, Isosorbida e hidralazina, Lapatinib, lenalidomida, Maraviroc, mercaptopurina, Metoprolol, Mivacurium, Modafinil (1), Modafinil (2), nefazodona, Nelfinavir, Nilotinib (1), Nilotinib (2), nortriptilina, omeprazol, Panitumumab (1), Panitumumab (2), pantoprazol, paroxetina, peginterferón alfa-2b, perfenazina, fenitoína, pimozida, Prasugrel, pravastatina, propafenona, Propranolol, protriptilina, quinidina, Rabeprazol, Rasburicasa, rifampina, isoniazid, pirazinamida, risperidona, fenilacetato de sodio y benzoato de sodio, fenilbutirato de sodio, tamoxifeno, Telaprevir, Terbinafina, tetrabenazina, tioguanina, tioridazina, Ticagrelor, Timolol, tiotropio, tolterodina, Tositumomab, Tramadol y acetaminofén, Trastuzumab,

tretinoína, trimipramina, ácido valproico, Vemurafenib, venlafaxina, voriconazol, warfarina (1) y warfarina (2).

En otra modalidad, la invención comprende un diagnóstico compañero a un fármaco que se dirige a un
5 objetivo farmacológico conocido. En otra modalidad, la invención comprende a un diagnóstico compañero a un objetivo farmacológico que está experimentando un ensayo clínico. Ejemplos de un objetivo farmacológico que está experimentando un ensayo clínico incluyen, pero no se limitan a,
10 Bapineuzumab, Solanezumab, inmunoglobulina intravenosa (IVIg), Latrepirdina (Dimebon), Scyllo-inositol/ELND 005, cloruro de metiltionio (Rember), CERE-110, PBT2, Davenutida/AL-108, BMS-708163, PF-04494700/TTP488, Tideglusib/NP-12 (Nypta), Belimumab, Atacicept, Mapatumumab,
15 Apomab, Dulanermin, Odanacatib, AMG-785, DG-041, OC-000459, PLX-4032, LX-1031, y LX-1032.

Un perfil de unión de uno o más componentes de la muestra (por ejemplo, biomarcadores) puede utilizarse para predecir, diagnosticar, evaluar o tratar, cualquier
20 enfermedad, conocido por uno de los expertos en la técnica. Los términos "enfermedad" o "condición" son comúnmente reconocidos en la técnica y señalan la presencia de signos y/o síntomas en un individuo o paciente que se reconocen generalmente como anormales. Enfermedades o afecciones pueden
25 diagnosticarse y categorizado en base a los cambios patológicos. Las señales pueden incluir cualquier evidencia objetiva de una enfermedad, como los cambios que son evidentes por la examinación física de un paciente o de los resultados de las pruebas de diagnóstico. Los síntomas son
30 evidencia subjetiva de la enfermedad o una condición del

paciente, es decir, la percepción del paciente de una condición anormal que difiere de la función normal, sensación o aspecto, que puede incluir, sin limitaciones, discapacidades físicas, morbilidad, dolor y otros cambios de la condición normal experimentada por un individuo. Varias enfermedades o condiciones incluyen, pero no se limitan a; aquellas clasificadas en los libros de texto estándar de la medicina, incluyendo, sin limitación, los libros de texto de nutrición, medicina alopática, homeopática y osteopática. En ciertos aspectos de esta invención, la enfermedad o dolencia es seleccionada del grupo que consiste de los tipos de enfermedades mencionadas en los textos estándar como Harrison's Principles of Internal Medicine, 14.^{sup.th} Edición (Fauci et al, Eds., McGraw Hill, 1997), o Robbins Pathologic Basis of Disease, 6.^{sup.th} Edición (Cotran et al, Ed. W B Saunders Co., 1998), o the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders: DSM-IV, 4.^{sup.th} Edición, (American Psychiatric Press, 1994), u otros libros de texto, que se incorporan en el presente documento en su totalidad. Las enfermedades se enumeran también en las publicaciones de patente de Estados Unidos 2007/0003954 y 2011/0092384, que están incorporados en este documento en su totalidad.

Ejemplos de una enfermedad o condición incluyen, pero no se limitan a cáncer, enfermedad autoinmune, enfermedad inflamatoria, enfermedades infecciosas, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades cardiovasculares, infección bacteriana, infección viral, infección por hongos, infección por priones, estado fisiológico, estado de contaminación o salud en general.

Los métodos de selección de la genoteca de ligandos

al azar de la invención pueden utilizar las características de enlace para distinguir entre diferentes formas de una enfermedad o su estado, incluyendo estados de enfermedad previa o la severidad de un estado de enfermedad. Por ejemplo, pueden utilizarse los métodos para determinar el estado metastásico de un cáncer o la susceptibilidad a un agente o enfermedad. En algunas modalidades, la invención incluye métodos y composiciones para evaluar los radicales de unión de ligando presentes en o asociados con un cáncer, por ejemplo, pero no limitado a, el cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer de cuello uterino, cáncer de cabeza & del cuello, cáncer testicular, cáncer de ovario, cáncer de la piel, cáncer cerebral, cáncer pancreático, cáncer de hígado, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer de esófago, linfoma y leucemia.

En algunas modalidades, la invención incluye métodos y composiciones para evaluar los radicales de unión de ligando presentes en enfermedades autoinmunes, por ejemplo, pero no limitado a, miastenia gravis, hepatitis crónica activa, cirrosis biliar primaria, miocardiopatía dilatada, miocarditis, síndrome autoinmune poliendocrino tipo I (APS-I), hepatitis autoinmune, vasculitis fibrosis quística, hipoparatiroidismo adquirido, síndrome de goodpasture, enfermedad de Crohn, enfermedad coronaria, pénfigo foliáceo, pénfigo vulgar, síndrome de Guillain-Barré, diabetes Tipo 1, síndrome del hombre rígido, encefalitis de Rasmussen, gastritis autoinmune, enfermedad de Addison, síndrome hipoglucémico de insulina (enfermedad de Hirata), resistencia a la insulina tipo B, acantosis, lupus eritematoso sistémico (SLE), anemia perniciosa, artritis de

Lyme resistente al tratamiento, polineuropatía, esclerosis múltiple, enfermedades desmielinizantes fiebre reumática, dermatitis atópica, cirrosis biliar primaria, enfermedad de Graves, Hipotiroidismo autoinmune, vitiligo, oftalmopatía tiroidea asociada, tiroiditis autoinmune, tiroiditis autoinmune de Hashimoto, enfermedad celiaca, deficiencia de ACTH, miositis, dermatomiositis, polimiositis, dermatomiositis, síndrome de Sjögren, esclerosis sistémica, esclerosis sistémica progresiva, esclerosis sistémica, escleroderma, morfea, síndrome antifosfolípido primario, penfigoide ampollosa, herpes gestacional, penfigoide cicatricial, urticaria idiopática crónica, síndromes del tejido conectivo, glomerulonefritis necrosante y crescentica (NCGN), vasculitis sistémica, granulomatosis de Wegener, síndrome de Churg-Strauss, polimiositis, síndrome de Raynaud, enfermedad hepática crónica, leishmaniasis visceral, deficiencia de CI autoinmune, glomerulonefritis proliferativa membranosa (MPGN), tiempo de coagulación prolongada, púrpura trombocitopénica autoinmune, inmunodeficiencia, aterosclerosis, neuronopatía, pénfigo paraneoplásico, síndrome del hombre rígido paraneoplásico, encefalomiелitis Paraneoplásica, neuropatía autonómica subaguda, retinopatía asociada al cáncer, ataxia mioclono paraneoplásica opsoclono, síndrome de neurona motora inferior, síndrome miasténico de Lambert-Eaton y degeneración Cerebelar paraneoplásica.

En una modalidad, la invención incluye métodos y composiciones para evaluar radicales de unión de ligando presentes en enfermedades infecciosas, por ejemplo, pero no se limitan a, síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), ántrax, el botulismo, brucelosis, chancroide, Infección por

Chlamydia, cólera, coccidioidomicosis, criptosporidiosis, Ciclosporiasis, difteria, Erlichiosis, encefalitis por arbovirus, Escherichia coli Enterohemorrágica (E. coli), Giardiasis, gonorrea, Haemophilus influenzae, enfermedad de
5 Hansen (lepra), síndrome pulmonar por Hantavirus, síndrome urémico hemolítico, Hepatitis A, Hepatitis B, Hepatitis C, virus de inmunodeficiencia humana (VIH), legionelosis, Listeriosis, enfermedad de Lyme, Malaria, sarampión, enfermedad meningocócica, paperas, Pertussis (tos ferina),
10 peste, poliomielitis paralítica (polio), psitacosis (fiebre del loro), fiebre Q, la rabia, fiebre maculosa de las montañas rocosas, Sarampión, síndrome de rubéola congénita, salmonelosis, síndrome respiratorio agudo severo (SARS), shigelosis, viruela, enfermedad estreptocócica (grupo A
15 invasivo), síndrome de shock tóxico estreptocócico (STSS), Streptococcus pneumoniae, sífilis, tétanos, síndrome del choque tóxico, triquinosis, Tuberculosis, Tularemia, fiebre tifoidea, vancomicina-intermedio/Staphylococcus aureus resistente, varicela, fiebre amarilla, variante de enfermedad
20 Creutzfeldt-Jakob (vCJD), fiebre del dengue, fiebre hemorrágica Ebola, equinococosis (enfermedad de la hidátide Alveolar), infección del virus de Hendra, viruela humana, Influenza A H5N1 (influenza aviar), fiebre de Lassa, fiebre hemorrágica de Marburgo, virus de Nipah, fiebre O'nyong-
25 nyong, fiebre del Valle Rift, encefalitis equina venezolana y virus del Nilo Occidental.

La genoteca de ligandos de la invención puede utilizarse para seleccionar cualquier etapa de la enfermedad, por ejemplo, una etapa temprana de una enfermedad o una
30 avanzada etapa tardía de una enfermedad.

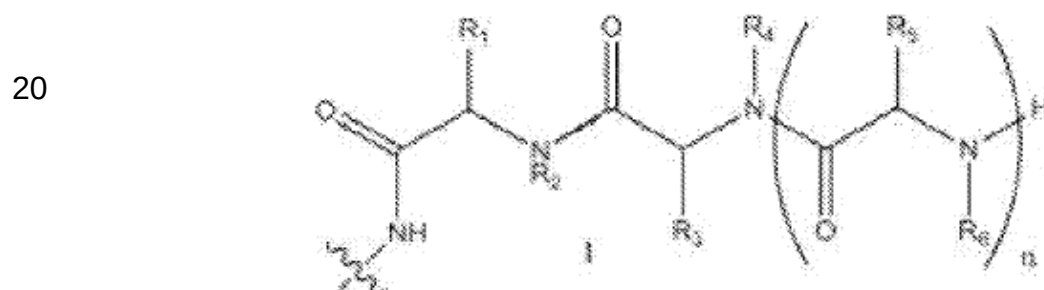
En otra modalidad, la invención incluye métodos y composiciones para evaluar radicales de unión de ligando presentes en las enfermedades neurodegenerativas, por ejemplo, pero no limitados a, accidente cerebrovascular, 5 choque hipovolémico, choque traumático, lesión por reperfusión, esclerosis múltiple, SIDA, demencia asociada; toxicidad de la neurona, enfermedad de Alzheimer, trauma en la cabeza, enfermedad respiratoria del adulto (ARDS), lesión medular aguda, enfermedad de Huntington y enfermedad de 10 Parkinson.

La invención comprende composiciones que comprenden las genotecas basadas en partículas de compuestos seleccionados de peptoides, péptidos, oligómeros, moléculas pequeñas y cualquier molécula natural derivada o 15 sintéticamente hechas y que se pueden colocar a un sistema de apoyo como una microesfera o una pequeña partícula.

De acuerdo con la presente invención, es proporcionan composiciones que comprenden peptoide(s) que unen los anticuerpos indicativos de una respuesta a un 20 fármaco y los métodos de detección de anticuerpos en una muestra que contiene anticuerpos que comprende el contacto con una muestra que contiene anticuerpos con un soporte teniendo fijado a éste un peptoide. Genotecas de ligando pueden incluir compuestos de fórmula 1 en donde los grupos R 25 en la cadena lateral amina o carbono alfa se seleccionan independientemente del grupo que consta de hidrógeno; alquilo; alilo; metilo; etilo; n-propilo; isopropilo; n-butilo; isobutilo; n-butilamina; sec-butilo; terc-butilo; pentilo; hexilo; isopentilo; arilo; heteroarilo; furanilo; 30 indolilo; tiofenilo; tiazolilo; imidazolilo; isoxazoilo;

oxazoilo; piperonilo; pirazoilo; pirrolilo; pirazinilo; piridilo; pirimidilo; pirimidinilo; purinilo; cinolinilo; benzofuranilo; benzotienilo; benzotriazolilo; benzoxazolilo; quinolina; isoxazolilo; isoquinolina cicloalquilo; alquenoilo; 5 cicloalquenoilo; fenilo; piridilo; metoxietilo; (R)-metilbencilo; C₀₋₆ alquilarilo; C₀₋₆ alquilheteroarilo; C₀₋₆ alquilo sustituido con un grupo seleccionado de OH, SH, un halógeno, OR¹⁵, COOR¹⁵, NR¹⁵ (en donde R¹⁵ se selecciona del grupo que consta de H o C₁₋₆, alquilo o C₁₋₆ alquinilo) o R¹⁶ 10 (en donde R¹⁶ se selecciona del grupo que consta de H o C₁₋₆ alquinilo); OC₁₋₆ alquilo; C₂₋₆ alquenoilo; C₂₋₆ alquinilo; C₂₋₆ alquenoilo; y C₂₋₆ alquinilo - incluyendo uno o más grupos químicos descritos en los cuadros 1 y 2 en la Solicitud de patente provisional de E.U.A. 61/467,256 que se incorpora 15 para referencia aquí en su totalidad.

En una modalidad, las genotecas de ligandos de la invención pueden comprender un compuesto de fórmula I en un soporte,



en donde R₁ se selecciona de una cadena lateral de 25 aminoácidos rica en electrones Y;

Y R₂-R₆ se seleccionan independientemente de los grupos que constan de H, C₁-C₆alquilo, C₁-C₆alquiloSCH₃; C₀-C₆alquiloC₂-C₆alquenoilo, C₀-C₆alquilo C₂-C₆alquinilo, C₁-C₆COOH, C₁-C₆alquiloOH, C₁-C₆alquiloN(R)₂, C₃-C₈cicloalquilo, C₁- 30 C₆alquilarilo, C₁-C₆alquilheteroarilo, C₁-C₆alquiloINC(O)C₁-

C₆alquilo, C₁-C₆alquilcicloamida en donde cualquiera de los grupos arilo o heteroarilo pueden ser sustituidos independientemente con -OH, Cl, F, Br, -OCH₃, SO₃NH₂ o -O-CH₂-O-.

5 Los compuestos de la genoteca de ligandos al azar (por ejemplo las genotecas de ligandos) para la selección de un fluido biológico complejo se describen detalladamente en solicitud de patente provisional de Estados Unidos 61/467,256 y 61/491,717 que se incorporan por referencia en este
10 documento en su totalidad.

Las genotecas grandes de ligando de la invención pueden utilizarse directamente en el líquido biológico, bajo las condiciones experimentales apropiadas, para seleccionar los biomarcadores y sin necesidad de utilizar menos miembros
15 de soporte (por ejemplo alrededor de 100,000 o menos) o requisito para transferir tales peptoides o ligandos a una micromatriz antes de la selección del fluido biológico. Además, las genotecas de ligando también pueden utilizarse para seleccionar los receptores basado en células que
20 específicamente se relacionan con un marcador de superficie celular particular. La presente invención, a diferencia de los métodos anteriores, permite la inclusión de un mayor número de microesferas/resinas y así las genotecas más grandes en el tamiz de agente de unión de ligando o el tamiz
25 del receptor celular para seleccionar directamente las muestras biológicas complejas.

Como se describió previamente con respecto a sistemas de micromatrices, virtualmente cualquier molécula o compuesto puede utilizarse para construir una genoteca con
30 base en resina o microesfera al azar. Estas "moléculas" o

"compuestos" pueden incluir productos naturales o compuestos artificiales o moléculas derivadas sintéticamente. El origen de estas moléculas puede ser de los sistemas biológicos, así como fuentes no derivadas biológicamente. Los ligandos preferidos para los propósitos del tamiz inicial utilizando genotecas de microesfera grandes bajo las condiciones reclamadas en la presente invención se realizan, en parte, de submonómeros, que son seleccionados de cualquier amina monomérica conocida y de cualquier haluro de ácido acético conocido o haluro de ácido acético sustituido. Por ejemplo, el cuadro 1 en la solicitud de patente Provisional de Estados Unidos 61/467,256, que es incorporada por referencia en este documento en su totalidad, proporciona una gama de grupos R sobre una amina no sustituida.

En algunas modalidades, los monómeros y/o submonómeros son seleccionados del grupo formado por cisteína, glicina, metionina, alilamina, amina del etanol, isobutilamina, diaminobutano, metilbencilamina (racémica o enantiomérica), piperoniloamina, ciclohexilamina, 3,4 dimetoxifenetiltilamina, bencilamina, N-(2-aminetil)acetamida, N-(3-aminopropil)-2-pirrolidinona, 4-(2-aminoetil)bencenosulfonamida o furfurilamina.

Haluros de ácido acético y/o ácido acético R sustituido, haluros en donde R es seleccionado de cualquier cadena lateral de aminoácido o de cualquier otro grupo incluyendo aquellos grupos o variables de las aminas monosustituidas son utilizadas también como submonómeros. Alternativamente, la combinación de cualquier amina y cualquier haluro de ácido acético puede reaccionar para formar un monómero, que entonces reacciona, con otro monómero

reactivo en una creciente cadena de peptoide para formar un oligómero de la invención.

Las genotecas combinatorias de peptoides pueden prepararse de la siguiente manera: peptoides teniendo una
5 cisteína o metionina monomérica del aminoácido unido a un soporte o un enlazador sobre un soporte o resina o microesfera pueden prepararse agregando primero el aminoácido protegido a un soporte o enlazador en un soporte. Tras la
10 adición de dicho aminoácido (o cualquier aminoácido deseado que puede servir un propósito funcional u otro propósito en el oligómero o un diagnóstico con dicho oligómero), monómeros restantes pueden añadirse utilizando química de péptidos estándar o usando submonómeros del ácido bromoacético (o un
ácido Bromoacético α -sustituido o reactivo similar) y una
15 amina monosustituida donde la amina es sustituida con un grupo R. El grupo R puede seleccionarse de cualquier peptoide conocido sustituido incluyendo los que se describen en, por ejemplo, Publicación de patente de Estados Unidos Nos.
2010/0303805 o 2010/0303835 y/o aquellas descritas en
20 Zuckermann y varias publicaciones Kodadek que están incorporadas por referencia en este documento en su totalidad. Las aminas preferidas son aquellas seleccionados de las genotecas recitadas en este documento en aminas monoméricas particulares se agregan a cada genoteca para
25 construir 1-250 MM genotecas de microesfera o resina. Los tamaños de genoteca varían de microesferas o resinas de 1 MM a 50 MM dicha diversidad de compuestos sobre estas.

El proceso para hacer cada peptoide generalmente implica (1) preparación de un reactivo del aminoácido sobre
30 un soporte (incluyendo un enlazador opcional sobre un

soporte); (2) la reacción de la molécula de aminoácido en dicho soporte con un haluro de acilo como ácido Bromoacético o ácido cloroacético para formar un derivado halogenado (3) la reacción de los derivados halogenados con una amina monosustituida para formar una amida y (4) repetir los pasos (2) y (3) para formar un peptoide. Peptoides que contienen metionina son generalmente hechos en las grandes genotecas. Peptoides que contienen cisteína típicamente se hacen cuando grandes cantidades de peptoides de alta afinidad se desean y después de la selección inicial de las grandes genotecas de microesfera o resina. En las genotecas basadas en microesfera grandes usadas para inicialmente seleccionar el fluido complejo biológico como el suero, no hay necesidad ni requisito para un enlazador PEG largo que suele ser necesario para los tamices de micromatrices. Un enlazador PEG puede ser un microesfera o resina proporcionado es un enlazador corto de menos de alrededor de 10 unidades monoméricas. En los kits de diagnóstico compuestos por microesferas de cabeza o tentagel de menos de alrededor de 50 micras (por ejemplo, 10 micras), resulta útil utilizar ambos enlazadores PEG cortos (por ejemplo entre 2-10 PEG monómeros) o más oligómeros PEG pueden ser utilizados.

Las condiciones usadas para realizar cada paso en el proceso de construcción del oligómero utilizan solventes como DMF, acetonitrilo o diclorometano. Ácido trifluoroacético es utilizado para propósitos de división y piperidina u otra base conveniente es utilizada como una base en la reacción entre un derivado de bromo y una amina. Varios grupos de protección se utilizan en la preparación del reactivo de aminoácido. En una modalidad preferida,

diaminobutano se utiliza como el primer submonómero de amina en la cadena junto a los residuos de cisteína en el C-terminal del peptoide. En el primer paso del proceso, las microesferas seleccionadas o resinas (en cantidades de 5 microesfera o miligramos) se hinchan con un solvente adecuado como DMF. Si las microesferas están "protegidas" con un grupo de protección sobre la amina reactiva en dichas microesferas, una solución de base como piperidina repetidamente se añade con el lavado posterior con DMF para desproteger la cabeza.

10 Una vez que la microesfera es desprotegida o si una microesfera como una microesfera de tentagel se utiliza inicialmente, puede reaccionar con un aminoácido adecuado como la cisteína o metionina (protegido con Fmoc u otro grupo de protección conveniente sobre el nitrógeno y protegido con

15 Trt (Trifenilmetilo) en el azufre y en suficientes cantidades molares para reaccionar con cada microesfera) con un solvente adecuado como DMF. HBTU (tetrametilouronio hexafluorofosfato (reactivo de acoplamiento) 4-metilmorfolina (base) junto con el aminoácido protegido se agregó a la solución de la

20 microesfera en un vaso de precipitados (tubo o matraz) y se agitó a temperatura ambiente para formar los aminoácidos Fmoc/Trt protegidos en la resina (o en un enlazador en la resina). Entonces, las microesferas se lavan varias veces con un solvente como DMF. El grupo Fmoc entonces es desprotegido

25 usando un reactivo adecuado que permite la reacción de la amina en el aminoácido con otro reactivo como otro aminoácido protegido o un submonómero, tal como el ácido Bromoacético y un agente activa por ejemplo DIG (3-isopropilcarbodiimida) en un solvente adecuado bajo calor (microondas con

30 agitación). Las microesferas resultantes después se lavan

varias veces y luego se tratan con una amina monomérica deseada (en exceso leve molar) en un solvente adecuado bajo calor. Las microesferas resultantes son lavadas varias veces y en repetidas ocasiones tratadas con ácido Bromoacético y la amina de elección para construir el oligómero y genoteca oligomérica. Los peptoides pueden ser divididos de las microesferas usando el ácido trifluoroacético. Una técnica alternativa u otro proceso adecuado para peptoides que comprende una modalidad preferida, por ejemplo, los peptoides con cisteína adyacente a un monómero con 1-il-n-butilamina incluye la construcción de un peptoide con dos aminoácidos en el C-terminal seguido por un proceso que incluye además añadir cualquiera de los monómeros construidos en un proceso de submonómeros en donde el segundo aminoácido es lisina. Esto incluye además la selección de cualquier monómero o submonómero para hacer submonómeros de ácido Bromoacético α -sustituido en la cual los sustituyentes del carbono pueden seleccionarse de cadenas laterales de aminoácidos típicos para formar, después de la reacción de los reactantes, peptoides α -sustituidos en donde un grupo R se encuentra en uno o ambos del carbono en la cadena de peptoide o el nitrógeno en la cadena peptoide. Los sustituyentes de un α -carbono o nitrógeno pueden ser prácticamente cualquier sustituto como se recita en este documento.

Las genotecas combinatorias de pequeñas moléculas pueden ser obtenidas comercialmente o prepararse utilizando métodos conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Bichler et al. 1995; Cho et al, 1999; LePiaie et al., 2002; Ostergaard and Holm, 1997; Yang et al, 1999). Además, la Patente de E.U.A. No. 6,344,334 y las publicaciones Gallop et al,

(1994), Gordon et al, (1994); Thompson y Eilman (1996) también son fuentes de esas moléculas y genotecas.

Las genotecas combinatorias de péptidos pueden ser obtenidas comercialmente o prepararse utilizando métodos
5 conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Stewart y Young (1984); Tam et al (1983); Merrifield (1986); y Barany y Merrifield (1979), cada una de ellas por la presente se incorporan por referencia.

Las genotecas combinatorias de los ácidos nucleicos
10 incluyen ARN o ADN pueden ser obtenidas, comercialmente o prepararse utilizando métodos conocidos en la técnica. Las genotecas combinatorias de oligosacáridos pueden ser obtenidos comercialmente o prepararse utilizando métodos conocidos en la técnica.

15 En cada caso, los "ligandos" o ligandos al azar pueden añadirse para apoyar las resinas o microesferas para formar genotecas de selección pueden ser utilizadas, bajo las condiciones descritas aquí, para seleccionar biomarcadores en fluidos biológicos complejos. Los ligandos preferidos son
20 ligandos de peptido.

Además de la construcción y/o utilización de esas genotecas, puede ser necesario o deseado caracterizar, purificar y/o sintetizar o volver a sintetizar cualquier ligando. Tales métodos son conocidos en la técnica e incluyen
25 toda la gama de métodos de purificación como HPLC vía cromatografía o métodos de purificación por medios químicos; métodos de caracterización como el espectrómetro de masas o NMR o combinaciones de cualquiera de estos métodos. Tales métodos son más descritos en, por ejemplo, la Publicación de
30 patente de US 2007/0003954, que es por la presente

incorporada por referencia. En tales casos, cualquier ligando purificada puede ser contemplado como un compuesto o compuesto substancialmente purificado.

En la metodología de selección inicial de la invención, microesferas y/o resinas se utilizaron como medio de apoyo teniendo un oligómero operablemente acoplado a dicho soporte. En los kits de diagnóstico u otros kits con "aciertos" o "aciertos putativos" de dicho tamiz inicial, los sistemas de apoyo pueden ampliarse a prácticamente cualquier sistema de soporte incluyendo micromatrices o cualquier otra plataformas de diagnóstico conocida. En estos casos, es necesario asegurar que tales kits u otro soporte, sistemas con los aciertos putativos también tienen o están adaptados para tener un detector o métodos de detección para permitir la detección de ligandos con readicales de unión de ligando unidos a estos ligandos. Los métodos de detección preferidos incluyen, por ejemplo, ELISA u otros métodos que implican el uso de anticuerpos etiquetados secundarios.

Los soportes pueden hacerse de cualquier material adecuado. Materiales utilizados para realizar estos soportes pueden incluir, por ejemplo, vidrio, plástico, resinas poliméricas o cerámicas o microesferas. Los soportes también pueden incluir materiales tales como níquel, latón, acero u otros metales o mezclas de metales. Los soportes también pueden ser condicionados a tener enlazadores y/u otros medios para enlazar o conectar a reaccionar con un ligando o grupo activo de un ligando. Estos grupos se describen también en la publicación de patente de US No. 2007/0003954. En la presente invención, el número de resinas o microesferas con ligandos individuales unidos a estos o un enlazador y luego a dicho

soporte oscila entre más de 100K a unos 150 millones (MM). El número preferido había utilizado en los métodos de análisis inicial de la invención varía entre 1MM y 2MM ligandos/resinas.

5 Resinas TentaGel® son preferidas para la metodología de selección del ligando grande de la invención. Estas resinas son copolímeros injertados que consisten en una matriz de poliestireno reticulado bajo en el cual se injerta polietilenglicol (PEG o FOB). Las resinas TentaGel son
10 comercialmente disponibles (Rapp Polymere GmbH). Como PECS es un polímero "tipo cameleon" con propiedades hidrofílicas e hidrofóbicas, el copolímero de injerto muestra propiedades químicas modificadas. Según el fabricante, hay en principio dos maneras de introducir PEG en la matriz de poliestireno
15 modificada. El procedimiento de inmovilización más simple es acoplar un PEG vía uno de sus grupos hidroxilo terminal a poliestireno clorometilado según la síntesis del éter clásica o utilizar otros PEG bifuncionales para el acoplamiento sobre el soporte sólido. El fabricante encontró que mediante el
20 fraguado de copolimerización de injerto aniónica el paso de PEG a paso directamente en la matriz, las cadenas PEG de masas moleculares de hasta 20 kilo dalton han sido inmovilizados sobre los poliestirenos entrelazados funcionalizados. Los copolímeros de injerto con cadenas PEG
25 de unos 2000-3000 daltons demostraron ser óptimos con respecto a tasas cinéticas, movilidad, capacidad de hinchazón y resina. Como no hay ningún procedimiento para conseguir PEG monodisperso con más de 10 unidades de óxido de etileno por cualquier técnica de polimerización, es teóricamente
30 imposible introducir cadenas PEG monodispersas con más de 10

unidades de óxido de etileno a la resina o conseguir PEG monodisperso por polimerización directa sobre la columna vertebral de poliestireno (monodisperso se define como: PEG sin ninguna distribución de peso molecular). Estos
5 copolímeros de injerto son presión estable y pueden ser utilizados en los procesos por lotes, así como bajo condiciones de flujo continuo. El copolímero contiene aproximadamente 50-70% PEG (p/p). Las propiedades de estos polímeros son altamente dominadas por las propiedades de PEG
10 y frente a la matriz de poliestireno.

Establecer una genoteca química o genoteca de péptido por el enfoque "uno compuesto un microesfera" es fundamental para saber el número de microesferas que están disponibles dentro de una cierta cantidad de resina, así como
15 la capacidad de microesferas individuales. El microesfera 1 resume algunos tamaños de las partículas y los correlaciona con la capacidad correspondiente de una sola microesfera. Los cálculos se basan en una carga típica de microesferas TentaGel que se encuentran en el rango de 0.25-0.3 mmol/g.
20 Para la caracterización analítica por lo menos 5 pmol de péptido resina-unida son necesarios para la secuencia en una microesfera. Para estimar la cantidad de resina óptima para la genoteca, que puede ser manejada económicamente, hay que tener en cuenta los tamaños de microesfera y las capacidades
25 de la microesfera. Con respecto a la homogeneidad del proceso de difusión y tasas cinéticas así como para el análisis único de microesfera y cuantificación de microesferas individuales, todas nuestras microesferas muestran una distribución de tamaño muy estrecho.

resina	tamaño [µm]	microesferas /g	capacidad/microesfera
TentaGel NH ₂	750 µm	4.62 x 10 ³	65 nmol
TentaGel NH ₂	500 µm	1.5 x 10 ⁴	19 nmol
TentaGel NH ₂	300 µm	6.4 x 10 ⁴	4 nmol
TentaGel NH ₂	200 µm	2.15 x 10 ⁵	1.3 nmol
TentaGel NH ₂	130 µm	8.87 x 10 ⁵	280 - 330 pmol
TentaGel NH ₂	90 µm	2.86 x 10 ⁶	80 - 100 pmol
TentaGel M NH ₂	35 µm	4.55 x 10 ⁷	5.5 pmol
TentaGel M NH ₂	20 µm	2.4 x 10 ⁸	1.0 pmol
TentaGel M NH ₂	10 µm	1.95 x 10 ⁹	0.13 pmol

5

10 Correlación del tamaño de partícula, número de microesferas por gramo de resina y capacidad por microesferas individuales. Cálculo de la capacidad individual de la microesfera se basa en una capacidad de 0.25 - 0.3 mmol/g de resina

15

Existen varios tipos de resinas TentaGel disponibles con propiedades a la medida dependientes de su aplicación:

20

Resinas S TentaGel:

El espaciador PEG se une a la cadena troncal de poliestireno mediante un enlace de alquilo. Este enlace no es sensible a los ácidos o bases. Este tipo de resina es un tipo de resina utilizada para la síntesis de péptidos, síntesis orgánica en fase sólida o química combinatoria.

25

Resinas PAP TentaGel:

El PEG se une a la cadena troncal de poliestireno mediante un acoplamiento de éter bencílico. Esta unión de

30

éter bencílico es sensible a duras condiciones ácidas como 100% TFA o mezclas de TFA/FMSBr.

Se utilizan estas resinas especialmente adaptadas para los procedimientos de inmunización o para sintetizar derivados modificados con PEG (productos conectados PEG), con duras condiciones ácidas, el espaciador PEG es dividido junto con el compuesto sintetizado del soporte sólido soluble para obtener compuestos modificados con PEG mediante la aplicación de las condiciones de fase sólida (por ejemplo, péptidos modificados con PEG).

Resinas N TentaGel:

El espaciador PEG se une a la cadena troncal de poliestireno mediante un enlace de éter bencílico. Estas resinas a medida se utilizan en química de oligonucleótidos para síntesis de oligonucleótidos de pequeña y gran escala. En comparación al vidrio CPG se aumenta la capacidad de un factor de K).

Como las resinas TentaGel son copolímeros compuestos de poliestireno y polietilenglicol, propiedades químicas y físicoquímicas de ambos polímeros base tienen que ser tomados en cuenta.

PEG por sí mismo es un polímero higroscópico. Se sabe de la literatura que esteres PEG no son muy estables y fácilmente hidrolizados. Dependiente de las condiciones de almacenamiento y tiempo de almacenamiento, PEG por sí mismo puede ser oxidado a lo largo de la cadena de poliéter para formar peróxidos o ésteres. En consecuencia, el tratamiento con ácido o el tratamiento con bases, hidroliza el PEG formado - ésteres que resultan en una pequeña cantidad de

"PEG - fuga". Esta salida puede ser notada por MS o NMR como señales PEG e impurezas en el producto final. Este comportamiento químico es fiel a todos los PEG - y polímeros basados en PEG.

5

10

15

20

TentaGel S:	"S" significa una resina estándar, aplicable a un gran número de aplicaciones, útiles en lotes y sistemas de flujo pasante
TentaGel R:	una resina adecuada adaptada para síntesis de fin de búsqueda.. La resina muestra un volumen incrementado de hinchazón pero es menos resistente a la presión. Adecuada para péptidos grandes y secuencias difíciles
TentaGel HL:	esta versión cargada altamente de TentaGel combina una capacidad significativamente mayor con las ventajas de las resinas TentGel.
TentaGel MB:	las macroesferas TentaGel son destaca por los diámetros de partícula extraordinariamente grandes y capacidades altas basadas en la tecnología de TentaGel y diseñada para la síntesis de grano única y análisis de grano único
TentaGel N:	este tipo de resina se diseña para la síntesis de oligonucleótidos a gran escala automatizada
TentaGel J:	este tipo de resina se ha desarrollado para inmunoconjugados poliméricos
TentaGel M:	la forma de microesfera de 10, 20, 30 µm de este TentaGel y su mono-dispersión permite aplicaciones en clasificadores automatizados, para crear genotecas grandes, síntesis de velocidad alta, etc.
TentaGel B:	describe resinas TentaGel bifuncionales, donde los sitios reactivos en la superficie externa de la grano se protege de forma ortogonal a los sitios del reactivo ubicados en el volumen interno de la grano y resinas híbridas para la división de secuencia

25

30

utilizarse otras resinas y/o partículas para construir un ligando por genoteca de microesfera. Por ejemplo, las resinas de poliestireno ligeramente reticuladas o resinas poliamida pueden ser utilizadas. El grupo que une el sustrato con la microesfera de resina puede ser una parte esencial de la síntesis en fase sólida. El enlazador es un grupo especializado de protección, en tanto el momento, el

enlazador atará un grupo funcional, sólo para que vuelva a aparecer al final de la síntesis. El enlazador no debe verse afectado por la química que se utiliza para modificar o ampliar el compuesto adjunto. Y finalmente el paso de
5 división debe proceder fácilmente y en un buen rendimiento. El mejor enlazador debe permitir la unión y división en rendimiento cuantitativo.

En ciertos aspectos, el apoyo puede ser una microesfera, una placa, una tira reactiva, un filtro, una
10 membrana, un alfiler o un pozo. Detección puede abarcar RIA, FIA, ELISA, Western blot, citometría de flujo, FRET o resonancia de plasmón superficial.

Enlazadores del ácido carboxílico

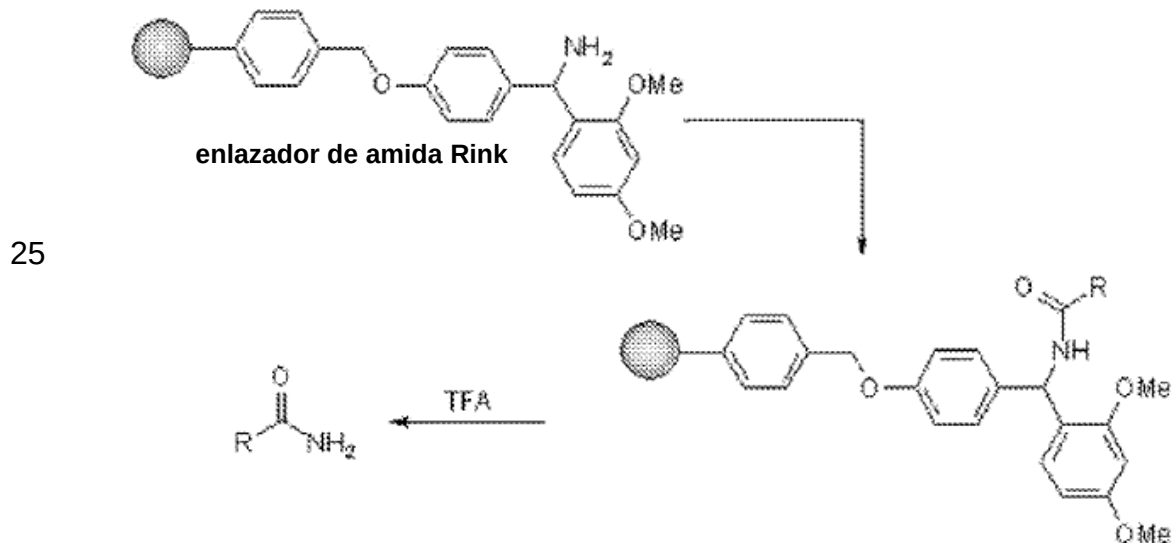
15 El primer grupo enlace utilizado para la síntesis de péptidos lleva el nombre del padre de síntesis en fase sólida. La resina Merrifield es funcionalizada poliestireno reticulado con un grupo de clorometilo. El grupo carbonilo se une por el desplazamiento nucleofílico del cloruro con una
20 sal carboxilato de cesio en DMF. La división para regenerar el ácido carboxílico se logra por el fluoruro de hidrógeno.

La segunda clase del enlazador utilizada para ácido carboxílico es el enlazador de Wang. Los aciertos del enlazador generalmente se unen al poliestireno reticulado,
25 TentaGel y poliacrilamida para formar la resina Wang, fue diseñado para la síntesis de ácidos carboxílicos péptido usando la estrategia Fmoc-protección y debido al diseño del alcohol bencílico activado, el producto ácido carboxílico puede ser dividido con TFA. Se ha desarrollado una forma más
30 ácido lábil de la resina de Wang. La resina SA.SRIN tiene la

misma estructura que el enlazador de Wang, pero con la adición de un grupo metoxi para estabilizar el ion carbomum formado durante ácido catalizado, división.

5 Enlazadores carboxamida

El enlazador Rink se prefiere generalmente para generar carboxamida primaria en fase sólida, a la invención presente, este enlazador se utiliza cuando la fabricación o re-sintetizar los aciertos o aciertos putativos desde el tamiz principal de la invención. En tales casos, la cisteína es el primer monómero reaccionado con el enlazador de Rink y luego el proceso implica la adición posterior de monómero para construir el oligómero o química de submonómero subsecuente para construir el oligómero. La mayor sensibilidad de ácido en el enlazador de Rink es una consecuencia de los dos grupos de metoxi donantes de electrones adicionales. En la generación de carboxamida primario, se une el material de partida, el enlazador como un ácido carboxílico y después modificación sintética es dividida de la resina con TEA.



30 El uso de resina Rink para producir carboxamida

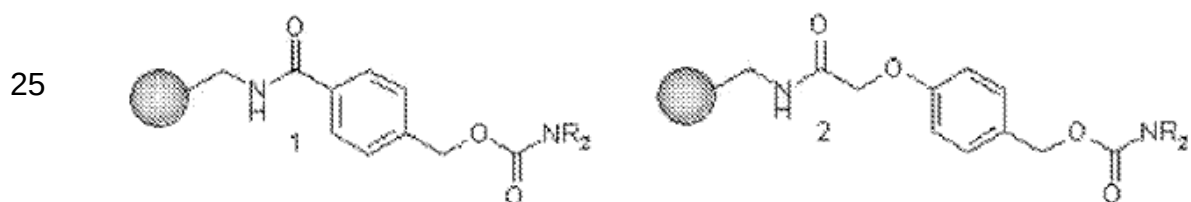
siguiendo la división TFA-catalizada.

Enlazador de alcohol

El enlazador de hidroxilo basado en el grupo de protección tetrahidropiraniolo (THP) ha sido desarrollado por Thompson y Ellmann. Todo tipo de alcoholes añaden fácilmente a dihidropiraa y el resultante grupo de protección THP es estable a la base fuerte, pero fácilmente dividido con ácido. Este enlazador se une a una resina Merrifield. El grupo tritilo es un buen grupo de ácido lábil de protección para un lote de heteroátomos. El grupo de tritilo se ha utilizado para alcoholes de anclaje en la síntesis de una genoteca de β -mercaptocetonas.

Carbamatos y enlazador amina

El enlazador carbamato se ha utilizado para la síntesis de una genoteca combinatoria de 576 poliaminas preparadas en la búsqueda de inhibidores de infecciones parasitarias tripanosomales. Dos enlazadores fueron investigados. Uno basado en ácido hidroximetilbenzoico 1, y el otro, un grupo donante de electrones se ha añadido 2. El último permitió la división por TFA mientras que el primero podría ser dividido con fuertes condiciones ácidas.



Un enlazador muy útil se ha desarrollado recientemente para la generación de amina terciaria. (Aminas terciarias comúnmente se utilizan en las moléculas de

arrastre). Las aminas primarias y secundarias se introducen al enlazador por la adición de Michael. La amina puede ser alquilada al ion del amonio cuaternario unido a resina. En una condición básica suavemente, eliminación de Hoffmann se produce para dar unas aminas terciarias de alta pureza.

Enlazadores Traceless

En algunos casos, las materias primas se cargan en la resina en una forma, como el ácido carboxílico y divididas en otra forma; por ejemplo una carboxamida. Esto es perfectamente aceptable si el objetivo, compuesto requiere la función liberada. (Péptidos invariablemente contienen un ácido carboxílico o carboxamida). Sin embargo, el crecimiento de interés en genotecas combinatorias de no-péptidos de bajo peso molecular ha suscitado la necesidad de nuevos tipos de enlazadores. Estos enlazadores muestran una función inespecífica después de la división, los enlazadores Traceless se llaman así porque un examen del compuesto final no revela ningún rastro del punto de acoplamiento a la fase sólida.

Muestras

Como comentamos anteriormente, los fluidos biológicos complejos preparados para análisis en el proceso de la invención incluyen o pueden incluir una serie de potenciales biomarcadores incluyendo marcadores expresados en células (células no adherentes, incluyendo las células T u otras células efectoras inmunes), microorganismos, proteínas, péptidos, lípidos, polisacáridos, pequeñas moléculas,

moléculas orgánicas, moléculas inorgánicas, moléculas biológicas e incluyendo cualquier molécula detectable o legible en tal entorno complejo. En una modalidad preferida, estos marcadores son anticuerpos y, en particular, son los anticuerpos generados como resultado de una enfermedad o condición. En una modalidad preferida, los fluidos corporales tales como suero, plasma, saliva u otros líquidos o muestras procedentes de un paciente o animal u organismo son la fuente de dichos marcadores. Cada muestra o tejido o biológicamente derivado, o derivado ambientalmente u obtenido muestra está condicionado, tratado o diluido o manejado de otra forma con el fin de exponer dicha muestra a la selección inicial o cualquier selección posterior mediante aciertos putativos o ligandos que tienen afinidad por estos biomarcadores. Las muestras se diluyen conforme a los métodos recitados en el presente documento para proporcionar o permitir suficiente distinción entre niveles de fondo o ruido y señales asociadas con la unión de un ligando a una molécula de unión de ligando.

El tiempo y/o las condiciones necesarias para exponer los ligandos/apoyos para tales muestras dependen de la muestra particular y otros factores. Las condiciones preferidas para el proceso de la invención reivindicada están descritas en este documento. En casi todos los casos, los pasos de lavado o elución y otros medios de acondicionamiento se utilizan después de la exposición del fluido biológico a la genoteca grande de ligando y/o ligandos o kits derivados de dicha genoteca. Las soluciones acuosas se utilizan incluyendo soluciones reguladoras de pH como regulador de pH HEPES, buffer Iris o fosfato regulador de pH salino. Sistemas

de apoyo también pueden tratarse con materiales absorbentes de energía para facilitar la desorción o ionización de un "complejo" de una superficie de apoyo. Medios químicos son utilizados también para separar o eliminar complejos de radical ligando-ligando de unión de soportes.

Métodos de detección para la detección de complejos de radical de unión ligando-ligando sobre un soporte incluyen medios fotométricos y no-fotométrico. Estos métodos incluyen asegurar que el proceso incluya un método para detectar y medir la absorbancia, fluorescencia, índice de refracción, polarización o luz, dispersión. Estos incluyen los medios directos y/o indirectos para medir estos parámetros. Métodos que implican fluorescencia incluyen etiquetado fluorescente en métodos inmunológicos como ensayo ELISA o sándwich. Métodos de índice de refracción incluyen resonancia de plasmón superficial (SPR), métodos acoplados de reja (por ejemplo, acopladores de rejilla uniforme de sensores, sensores ópticos interrogados de longitud de onda (WIOS) y acopladores de rejilla), espejo resonante y técnicas de interferométricas. Métodos que implican polarización incluyen elipsometría. También podrán utilizarse métodos de dispersión de la luz. Otros medios para etiquetado y/o separar y/o detectar también pueden incluir los medios magnéticos. Imágenes por resonancia magnética, espectrometría de iones fase gas. MRI puede ser utilizado.

El análisis de los datos generados normalmente implica la cuantificación de la señal debido al biomarcador detectado versus un control o referencia. Los datos pueden ser analizados por cualquier medio adecuado. Computadoras y programas informáticos pueden ser utilizados para generar y

analizar los datos. Las microesferas y/u otros soportes pueden ser códigos de computadora o cifrados para propósitos de identificación. El análisis de datos incluye el análisis de la fuerza de la señal en las condiciones particulares del ensayo o métodos de detección, ligandos, radicales de unión de ligando o radicales de referencia y/o radicales de detección secundaria pueden ser etiquetados o radiomarcados o etiquetadas con un radical detectable. Uno de ordinaria habilidad en la técnica puede evaluar la diferencia y/o distinción entre muestras de fluidos biológicos que tienen biomarcadores asociados con la enfermedad contra los pacientes de control o sanos, las muestras que no contienen tales marcadores. Uno de ordinaria habilidad en la técnica también puede determinar, conforme a los métodos descritos en este documento, la presencia de positivos falsos u otros aciertos que son o pueden encontrarse en las muestras control para considerar y/o quitar tales "aciertos" y uno de habilidad común en la técnica, en virtud de los métodos descritos en este documento, puede continuar el proceso de determinar o encontrar biomarcadores asociados con la enfermedad en muestras de pacientes con enfermedad o afección bandeja. La "detección" de tales aciertos, en todos los casos, se logra por medios para detectar la unión de un radical de unión a ligando tal como un biomarcador asociado con la enfermedad u otro marcador a ligandos en una genoteca de ligando tales como los descritos en este documento.

Los biomarcadores asociados con las enfermedades y/o condiciones recitadas en el presente documento variarán dependiendo de la etapa particular de la enfermedad y/o condición del paciente particular o animal u otro organismo

evaluado. Los ligandos, que son los aciertos putativos y los compuestos recitados en el presente documento, se esperan que, en muchos casos, imiten el antígeno natural que inicia la respuesta inmune y/o formación de anticuerpos o células inmunes en primera instancia. La presente invención y proceso de selección reclamado y recitado en el presente documento no requieren conocimientos del antígeno particular o el anticuerpo generado en respuesta al antígeno. Los ligandos el, sin embargo, pueden ser útiles en su propio derecho como vacunas o candidatos de fármacos además de ser útil en los tamices y métodos de diagnóstico recitados en el presente. La presente invención así incluye compuestos y composiciones farmacéuticas.

15

Tamices de peptoides:

Para seleccionar genotecas de peptoide combinatorial una microesfera-un-compuesto (OBOC), decenas de miles de millones de microesferas con peptoides están preparadas y luego mezcladas con una muestra biológica compleja. La muestra biológica compleja inicial preferiblemente es una muestra de control y una muestra biológica compleja posterior tratada con una genoteca de ligandos que ha "eliminado" los aciertos de control entonces es tratada y/o seleccionada contra una muestra biológica compleja enferma. Los ligandos/microesferas que interactúan, con al menos un biomarcador asociado con la enfermedad entonces se detectan, identifican y aíslan y/o caracterizan. En una modalidad preferida, se utiliza un protocolo de selección Tentagel que comprende (1) la preparación de la

microesfera, (2) selección de fluidos biológicos complejos y (3) detección de aciertos.

Tamices de péptidos

5 Para seleccionar genotecas de péptido combinatorial una microesfera-un-compuesto (OBOC), decenas de miles de millones de microesferas con péptidos están preparadas y luego mezcladas con una muestra biológica compleja siguiendo los procesos descritos aquí. Los microesferas que interactúan
10 con biomarcadores asociados con la enfermedad entonces son identificados y aislados para la determinación de la estructura compuesta. Por ejemplo, selección de genoteca de péptido OBOC utilizando estreptavidina (SA) como la proteína de sonda, marcada con un colorante fluorescente rojo y
15 utilizando el equipo clasificador de flujo COPAS BIO-BEAD para separar las microesferas no fluorescentes de las fluorescentes pueden realizarse. Véase Manmi et al. J. Comb. Chem, 2009, 11 (1), pp 146-150. Los tintes rojos que pueden utilizarse son ATTO 590 y roja Texas. Después de incubar la
20 genoteca con el conjugado colorante fluorescente rojo-SA, se obtienen las microesferas positivas causadas por la interacción de péptido-SA. Las microesferas son analizadas por espectrometría de masas tiempo-de-vuelo de ionización de desorción con láser asistida por matriz (MALDI-TOF MS). Así,
25 las genotecas de péptido pueden utilizarse de manera análoga al proceso descrito en este documento con peptoides en donde muestras de fluidos biológicos de control iniciales se utilizan para quitar cualquier acierto de ligando/microesfera de la genoteca de compuestos de inicio y en donde los
30 miembros restantes de la genoteca se utilizan a continuación

para seleccionar cualquier acierto en una muestra de fluido biológico complejo enfermo. Estos aciertos son los aciertos putativos que luego se llevan adelante en cualquier kit de diagnóstico.

5 De manera similar, cualquier ligando puede seleccionarse sobre las microesferas o soportes mediante los procesos descritos en este documento. Estos ligandos incluyen, además de peptoides o péptidos, oligómeros de ácidos nucleicos, polisacáridos, moléculas pequeñas y/o
10 cualquier combinación de éstos que se pueden construir en genotecas y, bajo las condiciones recitadas en el presente documento, usados para seleccionar fluido biológico complejo.

Kits y herramientas de diagnóstico

15 Cualquiera de los compuestos o composiciones descritos aquí además se pueden utilizar en kits de diagnóstico en un entorno clínico o de laboratorio. Estos kits pueden variar desde un punto simple de análisis de diagnóstico para el cuidado para instrumentos o sondas
20 complejos y multiplexados. Los sistemas de soporte y "embalaje" que rodea el núcleo del sistema de apoyo/ligando puede seleccionarse de kits comerciales actuales que están diseñados para incluir los aciertos putativos y/o aciertos que son re-sintetizados e instalados en plataformas adecuadas
25 o pueden ser utilizados en kits de diagnóstico nuevamente diseñados. Los kits típicamente se acompañarán por todos los reactivos e instrucciones convenientes para usar los kits para la selección y/o el diagnóstico de la enfermedad o dolencia concreta para la cual el kit está diseñado.
30 Cualquier kit o método constará de al menos un acierto

putativo o ligando que se ha identificado de acuerdo con el método de selección recitada en el presente. Este ligando o pluralidad de ligandos puede seleccionarse desde el mismo ligando o una mezcla de ligandos que forman los compuestos de la invención. Los ligandos pueden seleccionarse según su afinidad por un biomarcador asociado con la enfermedad para un estado de enfermedad particular o un grupo o batería de enfermedades o afecciones. Los ligandos preferidos son ligandos peptoide. Los kits también contendrán instrucciones para los médicos que diagnostican una determinada enfermedad o condición y etiquetado específico para el kit particular y estado de enfermedad o condición. La presente invención así incluye una combinación de un kit incluyendo todos sus componentes esenciales como los peptoides putativos o ligandos encontrados de una selección inicial utilizando cualquiera de las genotecas divulgadas aquí y/o conocidas en virtud de los métodos específicos recitados en el presente y las instrucciones de etiquetado. También se prevé que los procesos particulares y métodos y materiales divulgados en el presente pueden utilizarse en una clínica y laboratorio bajo la supervisión de un operador experto. Los kits y/o instrumentos o equipos conforman ligandos tales como peptoides que son específicos para los anticuerpos asociados con la enfermedad y/o células. El "kit" puede abarcar un completo kit de diagnóstico y/o kit de selección o el "kit" puede abarcar los componentes o subcomponentes que contienen o que comprenden los peptoides de diagnóstico, los anticuerpos descubiertos y caracterizados a través de estos peptoides o antígenos nativos que son descubiertos y purificados y/o caracterizados como resultado de la

interacción con y el descubrimiento de los auto-anticuerpos. Dichos anticuerpos y los antígenos purificados forman parte de la presente invención.

En una modalidad, prevista en el presente documento
5 es un kit para el diagnóstico de una enfermedad. En otra modalidad, en el presente documento se proporciona un kit para el tratamiento de una enfermedad. El kit puede abarcar una genoteca de ligandos, reactivos de detección para la selección de la genoteca de ligandos contra una muestra
10 biológica, adyuvantes para la selección y un prospecto. El prospecto puede incluir instrucciones para realizar los pasos de diagnóstico, e instrucciones para la determinación de la administración de un fármaco e instrucciones para la administración del fármaco en base a la determinación. En
15 algunas modalidades, el kit puede incluir un prospecto que tiene una etiqueta aprobada por la FDA o una autoridad de aprobación de fármacos en otros países.

Las genotecas de ligandos de la presente invención se utilizan para encontrar y determinar los ligandos que se
20 unen a biomarcadores asociados con la enfermedad. Estos ligandos son luego utilizados en los kits y/o métodos descritos generalmente para evaluar, seleccionar o diagnosticar enfermedades o condiciones. Estos métodos de diagnóstico implican típicamente la selección y encontrar
25 biomarcadores asociados con enfermedades que comprenden anticuerpos y/u otros marcadores biológicos. Como se indicó anteriormente, estos anticuerpos pueden ser identificados además y caracterizados usando los ligandos de la invención en columnas aptas para sacar o eliminar tales anticuerpos de
30 muestras de sangre. Los anticuerpos pueden utilizarse a su

vez por la sonda y descubrir el antígeno nativo asociado con dichos anticuerpos. La presente invención así incluye tanto los anticuerpos como los antígenos purificados asociados con tales anticuerpos y que son descubiertos, aislados y
5 caracterizados mediante los métodos de la invención.

Kits y/u otros medios para seleccionar y/o diagnosticar enfermedades o condiciones deben, en primera instancia, evaluarse contra las muestras del paciente. Estas muestras del paciente pueden derivarse de las muestras de
10 control normal o de las muestras del paciente en donde dicho paciente, se ha identificado como un paciente que tiene o se sospecha de tener esa enfermedad o condición. El paciente puede tener otros síntomas asociados con la enfermedad más allá de la "presencia" de un biomarcador asociado con la
15 enfermedad. El paciente puede estar en una etapa temprana de la enfermedad, no puede tener la enfermedad o dolencia en absoluto o puede estar en una etapa tardía de una determinada enfermedad. En cualquier contexto clínico y bajo controles y directrices apropiadas, las muestras de pacientes y clínicas
20 pueden suministrarse en forma cegada y luego evaluadas con los compuestos de la invención. Los datos generados como resultado de la selección pueden analizarse luego sin cegamiento para encontrar o no encontrar resultados estadísticamente significativos o correlaciones con los datos
25 conocidos o subyacentes sobre cualquier paciente particular o un grupo de pacientes. La presente invención comprende un método de selección para detectar la presencia de una enfermedad o condición que comprende (1) selección de una muestra biológica de un paciente con al menos un compuesto de
30 la invención; (2) selección de una muestra biológica de

control bajo las mismas condiciones usando dicho al menos un compuesto y (3) comparación de los datos de control sanos contra los datos del paciente para determinar la presencia o ausencia de un biomarcador asociado con la enfermedad. Un

5 grupo de pacientes o las muestras de pacientes teniendo o sospechosos de tener la enfermedad x puede ser seleccionado contra un kit o sonda diagnóstico con al menos un compuesto de la invención y los datos generados con respecto a cada paciente puede utilizarse sobre una base de caso por caso

10 para confirmar o validar un estado de enfermedad o condición o falta de ella. Tales datos generados en el presente documento pueden utilizarse en combinación con la información total, conocida en ese paciente particular, para evaluar la condición del paciente y proporcionar orientación al médico

15 para ofrecer opciones de tratamiento médico. La "información" generada como resultado de cualquier tamiz puede utilizarse en el sitio del ensayo clínico para evaluar los pacientes individuales que están tomando terapia de fármacos. La presente invención así incluye un método para evaluar la

20 progresión clínica de la prueba que comprende el uso de un tamiz realizado, según los métodos descritos en este documento. En una modalidad preferida, la presente invención se refiere a un método de selección para o el diagnóstico de un estado de enfermedad temprana que comprende el uso de un

25 tamiz o compuesto reclamado aquí para detectar un biomarcador asociado con la enfermedad. La invención es particularmente útil en el contexto de la intervención temprana de la enfermedad en donde la detección de estos biomarcadores se espera que ocurra antes de la progresión de la enfermedad

30 agresiva. En otro contexto; se espera la intervención

temprana en la enfermedad cardiovascular y/o enfermedad metabólica así como la enfermedad neurológica para salvar vidas y prevenir o ser útil para la prevención de mayor desarrollo de esas enfermedades sin tratamiento o
5 intervención médica temprana.

La presente invención también incluye métodos para aumentar la resolución o la eficacia de la diferencia entre un control o solución estándar y el fluido biológico complejo que contiene el biomarcador asociado con la enfermedad. Por
10 ejemplo, los métodos incluyen el pre-acondicionamiento o pre-tratamiento o pre-bloqueo del sistema/suero con tampones y/o agentes de acondicionamiento tales como lisado y/o lisina E. coli.

En otra modalidad, se proporciona un método de
15 tratamiento de un sujeto sospechado de tener una enfermedad que comprende (a) poner en contacto una muestra que contiene anticuerpos de dicho sujeto con uno o más soportes teniendo fijados un peptoide compuesto por un peptoide de las fórmulas recitadas en el presente (b) detectar anticuerpos unidos a
20 dichos peptoides; y (c) tomar una decisión de tratamiento basada en el resultado del paso (b). El método puede abarcar además obtener dicha muestra de un sujeto. El método puede abarcar también realizar un diagnóstico de una enfermedad para un sujeto del que se obtuvo dicha muestra si el
25 anticuerpo se une al peptoide es mayor que, al observado en pacientes no enfermos de control. El método también puede abarcar el tomar una decisión de tratamiento para dicho sujeto. La muestra puede contactarse con más de un peptoide de fórmulas recitadas en el presente. La muestra puede
30 contactarse con una plataforma múltiplex para los propósitos

de diagnóstico de varios estados de enfermedades o condiciones. El soporte puede ser una microesfera, una placa, una tira reactiva, un filtro, una membrana, un alfiler o un pozo. La muestra puede ser sangre, suero, saliva o CSF. La
5 detección puede abarcar RIA, FLA, ELISA, Western blot, citometría de flujo, FRET o resonancia superficial de plasmón.

Una modalidad adicional se dirige a una composición de anticuerpo aislada de un fluido biológico que es
10 indicativa de una enfermedad, en ciertas modalidades los anticuerpos son aislados por el contacto de una muestra con tales anticuerpos con una composición de peptoide que une específicamente anticuerpos indicativos o asociados a una enfermedad. Los anticuerpos pueden ser quitados, aislados o
15 purificados a partir de otros componentes específicos no-anticuerpo y no-D. Entonces los anticuerpos pueden ser lavados y/o desasociados de los agentes de captura de peptoide.

En ciertas modalidades, una matriz de peptoide de
20 la peptoides descubiertos en el proceso descrito en este documento es cruzado por hibridación con una muestra biológica que se ha complementado con un lisado bacteriano, por ejemplo, un lisado E. coli. La muestra biológica incluye una muestra de control y una muestra con un marcador para un
25 trastorno del sistema nervioso central. Por ejemplo, diapositivas de micromatriz están cubiertas con una cámara de hibridación y equilibradas con 1XTBST (50 mM Tris, pH 8.0, 150 mM NaCl, 0.1% Tween20) durante unos 15 minutos. Las diapositivas están bloqueadas entonces con un lisado
30 bacteriano en una concentración de por lo menos, a lo más, o

acerca de 0.5, 1, 1.5, 2 mg/ml de lisado. Se retira el lisado y las diapositivas se incuban con sobre un mililitro de muestra biológica (con una concentración aproximada de proteína de 5, 10, 15, 20 o 25 Dg/ml incluyendo todas las gamas y los valores entre estos) en lisados bacterianos con agitación suave. Micromatrices luego son lavadas con 1XTBST y cruzadas por hibridación con los anticuerpos Anti-IgG etiquetados (por ejemplo, en dilución 1:400). Entonces se lavan los portaobjetos con un regulador de pH adecuado. Las diapositivas se secan utilizando una centrífuga (por ejemplo, por 5 min a 1500 rpm) y escaneada en un escáner de microarreglo, por ejemplo, usando un láser de 635 nm con un 100% de potencia y un tubo de ganancia fotomultiplicador 600 o 650. La presente invención así también se refiere a un método de reducción de ruido de antisueros de fondo en un ensayo de diagnóstico que comprende el tratamiento de la muestra de plasma control y la muestra enferma con un lisado E. coli y el contacto con dichas muestras con una matriz peptoide o ligando. Se cree que este proceso puede utilizarse para soportar el tratamiento de cualquier matriz utilizada para detectar y distinguir los anticuerpos en el suero en el contexto de comparar una muestra de control a una muestra enferma.

Se contempla que cualquier método o composición descrita aquí puede aplicarse con respecto a cualquier otro método o composición descrita en este documento.

El uso de la palabra "un" o "uno/una" cuando se utiliza conjuntamente con el término "que comprende" en las reivindicaciones y/o la especificación puede significar "uno", pero también es consistente con el significado de "uno

o una," "al menos uno" y "uno o más de uno."

Se contempla que cualquier modalidad discutida en esta especificación puede aplicarse con respecto a cualquier método o composición de la invención y viceversa. Además, las composiciones y los kits de la invención pueden utilizarse para lograr métodos de la invención.

A través de esta aplicación, el término "acerca de" se utiliza para indicar que un valor incluye la variación inherente, de error para el dispositivo, siendo el método empleado para determinar el valor o la variación que existe entre los sujetos del estudio.

Se entiende que cualquiera uno de los aciertos putativos o peptoides descubiertos a través del proceso recitado en este documento también puede ser un fármaco terapéutico o candidato de vacuna. La presente invención se refiere así a un proceso para descubrir fármacos candidatos o vacunas que comprenden el uso del tamiz en virtud de los métodos descritos en este documento.

Los ejemplos siguientes se presentan para ilustrar más plenamente las modalidades preferidas de la invención. No deben de ninguna manera interpretarse, sin embargo, como limitar el amplio campo de la invención.

EJEMPLOS

25

EJEMPLO 1

Preparación de la genoteca

Protocolo para la síntesis de peptoide (Cyst-Peptoide o metionina-Peptoide)

30

El siguiente ejemplo muestra cómo se generaron las genotecas de peptoide de la invención. Los materiales utilizados en el ejemplo incluyen matraces de reacción o vasos de precipitados, tubo de plástico, 3 jeringas de 10-15 ml con agujas. Guantes de látex, 10-15 probetas de polipropileno de 15 ml y micropipetas con puntas seguras de solventes (1000 μ l), pipetas de vidrio y microesferas de resina. Los productos químicos y/o reactivos utilizados incluyeron N,N Dimetilformamida, ácido Bromoacético (BMA), dimetilformamida anhidra, piperidina, acetonitrilo, 3-diisopropilcarbodimida (D1C), ácido Trifluoroacético, 5(6)-Carboxifluoresceína, diclorometano (DCM) y 4-Metilmorfolina (NMM). También se utilizaron las diferentes aminas utilizadas en la preparación de cada genoteca así como HBTU (Tetrametiluronio Hexafluorofosfato) y trietilsilano.

Preparación de peptoides

La concentración de cada amina utilizada en el proceso se calcula utilizando la siguiente la fórmula: $V = \frac{FW}{d/1000 \times 2M \times 5ml}$

Procedimiento:

Paso 1

Hinchazón de las microesferas de la resina.

(a) 250 miligramos de microesferas de resina se colocaron en un matraz de reacción seco limpio y 5 ml de DMF hidratado se añadió a las microesferas que se dejaron hinchar durante un período de una hora o menos. Las microesferas se lavaron con DMF varias veces (2 ó 3X) bajo vacío.

Paso 2

Los pasos (b), (c) y (d) se omitieron cuando las "microesferas desprotegidos" (por ejemplo, TeMa-Gel) fueron utilizados.

5 Solución al 20% de piperidina (base) usando DMF anhidro como el solvente fue utilizado en el proceso siguiente:

Los siguientes procesos que comprenden los pasos (b), (c) y (d) se realizaron dos veces cuando se usan las
10 "microesferas protegidas"

(b) 2.5 ml de solución al 20% de piperidina se añadió a las microesferas protegidas;

(c) después de agregar piperidina, el matraz de reacción fue colocado en un agitador/incubadora durante 20
15 minutos, ajustado a 200 rpm @ 25°C.

(d) el matraz de reacción entonces fue lavado 8-10 veces con DMF hidratado usando 5 ml de DMF.

También se prepararon las siguientes soluciones:

468 mg Fmoc-Cys (Trt)-OH en DMF anhidro (2 ml de
20 volumen) (solución A).

161.6 mg de NMM, en DMF anhidro 2 ml

303.2 mg de HBTU se agregó al frasco con NMM (solución B).

25 Adición de HBTU/NMM y Fmoc-Cys

Se agregó 1 ml de cada solución A y solución B a las microesferas - (HBTU/NMM) y Fmoc-Cys(Trt)-OH) y agitar durante 1 hora.

Las microesferas fueron lavadas en DMF 5-10 veces.

30 La solución restante 1 ml de la solución A y B se

agregó a las microesferas que se agitaron por un período de 1 hora y luego se lavaron otra vez en DMF 5-10 veces.

También se prepararon las siguientes soluciones;

20% Piperidina (en DMF anhidra)

5 Ácido Bromoacético 2 M

DMF 50% DIC/A

Solución 2 M de cada amina

Los siguientes pasos (a), (b) y (c) fueron realizados dos veces, 2.5 ml de solución al 20% de piperidina fue agregada; (b) el matraz de reacción fue agitado a 200 rpm a 25 grados C y luego (c) las microesferas se lavaron con DMF 8X a 10X.

Una solución 10 ml de ácido Bromoacético 2 M se preparó.

15 Una solución 10 ml de 50% 3.2 M DIC/ DMF anhidro (v/v) también se preparó.

Se prepararon soluciones de amina 2M de cada amina en y para cada genoteca.

Para la síntesis de peptoide, 1 ml de solución madre 2M se utilizó cada vez que una amina fue añadida en la cadena de peptoide.

Paso 3

25 Se agregó 1 ml de ácido Bromoacético en el recipiente de la reacción;

(b) 1 ml de solución al 50% DIC/DMF entonces fue agregada y la solución resultante, estuvo (c) en microondas durante 15 segundos @ 10% de potencia.

30 El paso (c) se realizó dos veces girando el frasco de lado a lado entre conjuntos de microlavado.

Se formó un precipitado blanco después de cada paso de microondas. Las microesferas se lavaron entonces 8-10 veces con DMF.

5 Paso 4

Se agregó 1 ml de la primera amina en la secuencia en el matraz de reacción que contiene el intermedio bromo desde el paso anterior y el recipiente fue agitado para distribuir uniformemente la amina en las microesferas. La
10 reacción se inició entonces utilizando el microondas durante 15 segundos @ 10% potencia 2 veces. Las microesferas reaccionadas luego se lavaron con DMF hidratado 8-10 veces.

Los pasos 3 y 4 se repitieron hasta que todas las aminas fueron agregadas para hacer los peptoides objetivo.

15

Paso 5

Las cabezas fueron lavadas con diclorometano (DCM) 3 veces y se deja secar.

20

Paso 6

Los peptoides fueron entonces divididos de las microesferas usando una solución TFA al 95% (5 ml). Los peptoides fueron recogidos luego de las microesferas que
25 fueron lavadas con un solvente (CH₃CN y agua) para quitar peptoides residuales. El gas argón fue usado para remover cualquier TFA residual. Los peptoides fueron entonces liofilizadas y caracterizados y purificados según sea necesario.

30

Las condiciones de reacción especificadas arriba

podrán modificarse sobre una base según sea necesario dependiendo de las cantidades necesarias para cualquier composición de la microesfera particular.

Las figuras 1-5 generalmente demuestran cómo la
5 genoteca de la invención fue preparada para una enfermedad, por ejemplo, AD diagnósticos, diagnósticos de cáncer de páncreas y lupus. En general las microesferas teniendo parte de una amina estaban vinculadas a un residuo de aminoácido a través de una serie de pasos usando química de péptidos
10 estándar que luego reaccionó con un radical carbonilo activado con un grupo haluro que luego reaccionó con una amina monomérica teniendo un grupo R. Los pasos 2 y 3 del ciclo se repitieron como se muestra en las figuras para crear genotecas de grandes peptoides de ligandos distintos 1 MM a
15 2MM. La genoteca de selección inicial preparada en resina Tentagel o microesferas típicamente con un aminoácido de metionina como el primer monómero en la cadena. El presente inventor utiliza tal aminoácido para facilitar la división de una microesfera o una resina que no tiene un enlazador
20 divisible. La resina de Rink utilizada para construir la cisteína que contiene peptoides tiene enlazadores que no necesitan o requieren el uso de metionina como el primer aminoácido. Las cisteína que contienen peptoides fueron típicamente re-sintetizados después del tamiz inicial
25 encontró los aciertos putativos. El grupo azufre cisteína permite la reacción de la cadena peptoide con, por ejemplo, otro radical reactivo sobre un sustrato de plataforma de diagnóstico. El peptoide que fue re-sintetizado también contenía un radical 1-il-n-butilamino como la primera cadena
30 lateral en la cadena después de la amina del aminoácido. Se

cree que este grupo es necesario para mostrar el peptoide y para solubilizar el peptoide en soluciones acuosas.

EJEMPLO 2

5 Metodología de selección general

Microesferas de 160 micras Tentagei unidas a un peptoide de elección se hincharon durante la noche en DMF. Las microesferas luego se lavaron diez veces en un recipiente de reacción con agua Millipore y agitación vigorosa. Agua fresca de Millipore se añadió cada vez, y en el lavado número 10, las microesferas se dejaron sacudir toda la noche a 150-200 rpm. Al día siguiente, los microesferas se lavaron de la misma manera con IX TBST y se deja sacudir a 150-200 rpm durante al menos 3 horas.

Las microesferas entonces se dividieron uniformemente en tubos cónico de 15 ml, aproximadamente 0.5 gramos por tubo en IX TBST. TBST fue removido, y 4ml de suero humano normal diluido se agregó a cada tubo. El suero de reserva hecho en IX TBST fue Nano-goteado para obtener la concentración deseada de 20ug/ml. Los tubos que contienen suero y cabezas fueron luego se revuelven durante la noche a 4 grados centígrados en la oscuridad. El suero fue entonces pipeteado de los tubos y reemplazado con 4 ml IX TBST. Los tubos entonces se invirtieron lentamente para luego re-suspender las microesferas y luego se deja asentar. TBST se quitó y agregó dos veces más, para un total de tres lavados TBST.

La solución de anticuerpo secundario entonces se preparó, mediante la preparación de 5ul de anti-humano contra

cabra igG Qdot 655 por 1 ml 1X TBST. La última adición de TBST fue extraída de las microesferas, se agregaron 4ml de la solución Qdot y las microesferas se revolvieron durante 2 horas a cuatro grados centígrados en la oscuridad. Las microesferas luego se dejaron asentar, y la solución Qdot fue removida. Las microesferas luego se lavaron tres veces con 4ml de 1X TBST. Las microesferas fueron luego vertidas en una placa Petri clara de observación bajo un microscopio UV que contiene un filtro DAP I. Se eliminaron todas las microesferas manchadas de rojo.

Después que el primer tamiz se completó, las microesferas fueron vertidas en tubos cónicos de 15 ml y revueltos a cuatro grados centígrados durante al menos cuatro horas antes de la siguiente adición de la muestra de suero. El suero enfermo entonces fue agregado a las microesferas de la misma manera como la adición de suero normal, con la excepción que el suero se diluyó en el bloque de inicio de PBS en contraposición a 1X TBST. Sin embargo, la solución original fue preparada en 1X TBST para obtener la concentración apropiada con la nano-gota. La adición de suero y adición de anticuerpos secundaria es la misma que con el suero normal.

Una vez infectados los "aciertos" fueron quitados, se agruparon en un tubo eppendorf de 1.5 ml y se calentaron a 95 grados centígrados durante 25-30 minutos en 1% SDS. El SDS fue quitado del tubo y reemplazado por agua Millipore. Las microesferas fueron entonces revueltas durante 15 minutos a cuatro grados centígrados. Luego el agua fue reemplazada con agua fresca, y las microesferas se revolvieron por otros 15 minutos. El agua fue luego removida y se había reemplazado

con solución de acetonitrilo/agua 50/50 y se dejó revolver otros 15 minutos. Las microesferas fueron luego separadas en pozos individuales en una placa de 96 pozos y se dejó secar.

Una solución de 20-30mg de bromuro de cianógeno, 5 acetonitrilo 500ul, 400ul de ácido acético glacial y 100ul de agua Millipore fue hecha y 20ul de solución se agregó a cada pozo con una microesfera de acierto. La placa fue cubierta y se dejó agitar durante 16 horas a 100 rpm. Entonces fue quitada la tapa y la solución de división se evaporó de los 10 pozos. Los aciertos fueron luego transferidos en una placa MSM y secuenciado utilizando un analizador de MALDI/TOF/FOF 4800.

La figura 6 proporciona un esquema general de la metodología de selección descrita y reclamada en este 15 documento.

EJEMPLO 3

Diagnóstico de una respuesta a fármacos para el tratamiento de una enfermedad

20

Quinientos miligramos de microesferas Tentagel de 160 micras (genoteca JC3B) se agregaron a un tubo cónico de 15 ml. Cinco mililitros de DMF se agregaron al tubo, y los microesferas se dejaron asentar durante la noche para 25 hincharse. Al día siguiente, DMT se pipetea del tubo y se reemplaza con cinco mililitros de IX TBST. El tubo se invierte para mezclar y las microesferas entonces se les permitió asentarse en la parte inferior y IX TBST se removió. Cinco mililitros de IX TBST se agregó y quitó cinco veces 30 más.

Muestras de suero normal se preparan añadiendo 4 mililitros de bloque de inicio PBS a un tubo, y agregando 7ul de cada una de cuatro muestras tratadas con medicamentos distintos al mismo tubo. El suero se agrega a las 5 microesferas lavadas y microesferas y suero se dejan revolver durante la noche a cuatro grados Celsius en la oscuridad. A la mañana siguiente, las microesferas son extraídas del tambor y se dejaron asentar antes que el suero fuera pipeteado del tubo. Cuatro mililitros de IX TBST se agregaron 10 al tubo y el tubo se invierte para mezclar. El TBST es entonces pipeteado del tubo y reemplazado con cuatro mililitros de IX TBST fresco y se removi6 nuevamente.

Solución de DYNA-microesfera entonces es preparada agregando 50 ul de microesferas bien mezcladas de cabra IgG 15 anti-humana DYNA a cuatro mililitros de IX TBST. Luego se agrega la mezcla de las microesferas lavadas. Las microesferas se permiten entonces revolver durante dos horas a cuatro grados centígrados en la oscuridad.

Sin lavar las microesferas, se realiza un tamiz de 20 microesferas DYNA. El tubo se coloca en un soporte magnético y llenado hasta el borde con IX TBST. El imán y el tubo se agitan lentamente durante dos minutos, y las microesferas se les permitió asentarse en el soporte magnético. El TBST y las microesferas libres que se asentaron en la parte inferior se 25 eliminaron cuidadosamente, para no tocar las microesferas de acierto unidas a los lados por el imán y reemplazado con IX TBST fresco, se repite el proceso dos o tres veces, hasta que no se vieron las microesferas unidas a los lados del tubo. Las microesferas de acierto se combinan en un tubo.

30 Las microesferas sin aciertos restantes se

dividieron en tubos de 15 ml, invertidos y rápidamente pulsados centrifugados. El sobrenadante es eliminado y reemplazado con IX TBST fresco. Este proceso se repitió 6-8 veces hasta que no sean visibles las microesferas DYNA en la solución de la microesfera/TBST. Se lavaron las microesferas de acierto de la misma manera.

Las microesferas se combinan de nuevo en un tubo de 15 ml y suero normal se agregó a las microesferas de la misma manera como se estableció anteriormente y se permitió revolver durante la noche a 4 grados centígrados en la oscuridad. Además, tres mililitros de cada cuatro muestras normales se añade 1 ml de bloque de inicio PBS, y esta solución se agregó al tubo de microesfera de la microesfera DYNA "acierto". Al día siguiente, las microesferas se lavaron del mismo 'modo como con la adición de suero normal'.

20 ul de cabra anti-humano IgG Quantum Dot 655 son diluidos en 4 mililitros IX TBST (20ul Qdot en 1 ML IX TBST para el tubo de "acierto") y agregaron a las microesferas. La solución se revolvió durante dos horas a cuatro grados centígrados en la oscuridad. El tubo de acierto y sin acierto es lavado cuatro veces con IX TBST y se seleccionó para microesferas rojas brillantes bajo un microscopio UV. Las microesferas restantes son revolvieron en 4 mililitros de IX TBST durante una hora, y una muestra de suero tratado enferma o fármaco se agregó en la misma manera que la muestra de suero normal. la matriz magnética y las adiciones Qdot se realizaron de la misma manera como se mencionó anteriormente. Los aciertos se secuenciaron luego en un espectrómetro de masas MALDI TOF/TOF.

EJEMPLO 4**Datos de micromatriz con una medición sencilla**

Las micromatrices se prepararon como se describe en la Publicación de Patente de Estados Unidos No. 2010/0303805, que es por la presente incorporada por referencia, las diapositivas de micromatriz están cubiertas con la cámara de hibridación y equilibradas con IXBST (50 mM Iris, pH 8.0, 150 mM NaCl 0.1% Tween20) durante 15 minutos. Las diapositivas se bloquearon entonces con 1 ml de regulador de pH de bloqueo durante 1 hora a 4°C. Se retira el regulador de pH de bloqueo y las diapositivas se incubaron con 1 ml de suero (20 mg/ml) durante 16 horas a 4°C con agitación suave. En un método alternativo, las diapositivas se bloquearon con 1 ml de lisado E. coli (1.5 mg/ml) durante 1 hora a 4°C. Se retira el lisado de E. coli y las diapositivas se incuban con 1 ml de suero (15 mg/ml) en lisado E. coli (1.5 mg/ml) durante 18 horas a 4°C con agitación suave. Las micromatrices entonces se lavaron tres veces con IXBST y se hibridaron con Alexa-647 etiquetada anticuerpo Anti IgG (5 mg/ml) durante 2 horas en un agitador orbital a 4°C. Los cartuchos de cámara fueron removidos de las diapositivas de micromatriz y lavados con IXBST (3x15 min) seguido por 0.1XBST (1x10). Las diapositivas son secadas en centrífuga (5 min a 1500 RPM) y escaneadas en un escáner de microarreglos (Gene Pix Autoloader 4200) mediante el uso de láser 635 nm al 100% de potencia y 600 o 650 de ganancia de tubo fotomultiplicador. Todas las imágenes escaneadas se analizaron mediante el software Gene Fix Pro 6.0 y Genespring.

EJEMPLO 5**Protocolo ELISA**

Placas activadas con maleimida de 96 pozos fueron
5 obtenidas de Thermo Scientific y se lavaron tres veces con
regulador de pH de lavado 400ul/pozo (fosfato de sodio 0.1M,
cloruro de sodio 0.15 M, 0.05% Tween 20, pH 7.2), usando una
arandela de placa de Beckman Coulter. El peptoide de interés
se diluyó a 10 mM en regulador de pH de unión de PBS (fosfato
10 de sodio 0.1M, 0.15 M cloruro sódico, EDTA 10 mM, pH 7.2) y
200ul de la solución de peptoide se ha añadido a los pozos
adecuados. La placa se dejó incubar entonces en la oscuridad
durante dos horas a temperatura ambiente con agitación a 500
rpm. La solución peptoide entonces se aspiró de los pozos con
15 arandela de placa de troquel y otra vez se lavaron tres veces
con 400ul/pozo de regulador de pH de lavado. L-cisteína
HCL:H₂O (Thermo Scientific) se diluyó a 10 ug/mL en regulador
de pH de unión, y se agregaron 200 ul por pozo. La placa fue
incubada durante una hora en la oscuridad a temperatura
20 ambiente con agitación a 500 rpm y se lavaron tres veces.
200ul StartingBlock™ (PBS) regulador de pH de bloqueo (Thermo
Scientific) se añadió a los pozos y la placa se incubó
durante una hora a 4° Celsius en la oscuridad con agitación a
500 rpm. La placa se lavó tres veces con la arandela de la
25 placa, y las muestras de suero se prepararon por dilución en
serie en regulador de pH de unión de 1:200 hacia abajo. Las
concentraciones de soluciones madre de muestra 1:200 se
tomaron con un nano-gota (Thermo Scientific), para asegurarse
que eran similares. Cada muestra diluida fue agitada antes de
30 preparar la siguiente dilución. 200 ul de la dilución de

suero apropiada (enfermedad y normal) se agregó a la placa de troquel, así como un regulador de pH de unión sin suero como un control. El suero se dejó incubar durante dos horas a temperatura ambiente en la oscuridad con agitación a 500 rpm.

5 Otra vez se lava la placa y 200ul de una dilución 1;30,000 IgG HRP anti-humano de cabra (MilHpore) en regulador de pH de unión se añadió a los pozos adecuados y se incuban a temperatura ambiente durante 30 minutos con 500 rpm agitando en la oscuridad. La placa se lavó tres veces y 100 ul de
10 solución TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina) se agrega a cada pozo y color se permitió desarrollar durante 30 minutos en un banco en la oscuridad. 100 ul de solución de paro de ácido sulfúrico 2M fue añadida para detener la reacción, y los pozos fueron leídos en una absorbancia de 450 usando un
15 lector de placas.

Así, en cada caso y con respeto a cada tratamiento farmacológico, el proceso de la invención puede ser utilizado para descubrir rápidamente los biomarcadores asociados con una respuesta de fármacos (por ejemplo, una reacción adversa,
20 una resistencia a los medicamentos y la eficacia de dosis terapéutica) y ligandos que se unen a estos marcadores. Estos ligandos -este grupo más grande de ligandos- pueden entonces utilizarse para múltiples propósitos de diagnóstico y/o terapéuticos. Las plataformas de diagnóstico incluyen
25 micromatrices, métodos basados en microesferas y sistemas ELISA. Las condiciones utilizadas anteriormente constituyen un aspecto importante de la invención. Estas condiciones incluyen rangos de dilución para sueros así como la concentración de un peptoide particular en un microesfera o
30 en un pozo y métodos de detección. El número de microesferas

teniendo un peptoide en una microesfera puede variar dependiendo del kit de prueba en particular o kit de selección. Estos números también pueden variar dependiendo de si se utilizan microesferas/ligandos en el protocolo de
5 selección inicial y método recitado en el presente documento y/o se utilizan en un kit de prueba basado en el descubrimiento de un ligando de alta afinidad.

Será apreciado por los entendidos en la materia que podrían realizarse cambios en las modalidades descritas
10 anteriormente sin apartarse del amplio concepto inventivo de las mismas. Se entiende, por lo tanto, que esta invención no está limitada a las modalidades particulares descritas, pero se pretende cubrir las modificaciones que están dentro del espíritu y el alcance de la invención, según lo definido por
15 las reivindicaciones anexadas.

REIVINDICACIONES

Habiéndose descrito la invención como antecede, se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes reivindicaciones:

5

1. Un método para diagnosticar una respuesta inducida por fármaco en un sujeto, el método que comprende: la obtención de una muestra biológica de dicho sujeto; la selección de una genoteca de ligandos contra dicha muestra; 10 identificación de las características de unión de uno o más marcadores en dicha muestra con uno o varios ligandos en la genoteca; y determinar si dicho uno o más marcadores están asociados con dicha respuesta inducida por fármacos, diagnósticando de tal modo dicha respuesta inducida por 15 fármacos en dicho sujeto.

2.- El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque dicha respuesta es un efecto secundario de dicho fármaco, una reacción adversa a dicho fármaco, una resistencia a dicho fármaco o una eficacia de 20 dosis terapéuticas de dicho fármaco.

3.- El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque dicho fármaco es por lo menos uno de los fármacos enumerados en el cuadro 1.

4.- El método de conformidad con la reivindicación 25 1, caracterizado porque comprende además el paso de determinar si dicho sujeto responde o no responde a un tratamiento o terapia por dicho fármaco.

5.- El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque dicha respuesta inducida por el 30 fármaco se asocia con una enfermedad o una etapa de dicha

enfermedad.

6.- El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque dicha enfermedad es un cáncer, una enfermedad autoinmune, una enfermedad inflamatoria, una
5 enfermedad infecciosa, una enfermedad neurodegenerativa o una enfermedad cardiovascular.

7.- El método de conformidad con la reivindicación 6, caracterizado porque la enfermedad de cáncer es el cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer de
10 cuello uterino, cáncer de cabeza y cuello, cáncer testicular, cáncer de ovario, cáncer de piel, cáncer de cerebro, cáncer pancreático, cáncer de hígado, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer de esófago, linfoma o leucemia, como ligandos que reconocen los marcadores únicos a estos
15 estados de enfermedad.

8.- El método de conformidad con la reivindicación 6, caracterizado porque la enfermedad autoinmune es lupus, miestenia gravis, esclerosis múltiple, narcolepsia, artritis reumatoide, nefritis, enfermedad de Chagas, escleroderma o
20 enfermedad de Sjögren.

9.- El método de conformidad con la reivindicación 6, caracterizado porque la enfermedad infecciosa es un resultado de la infección con virus, bacterias u hongos.

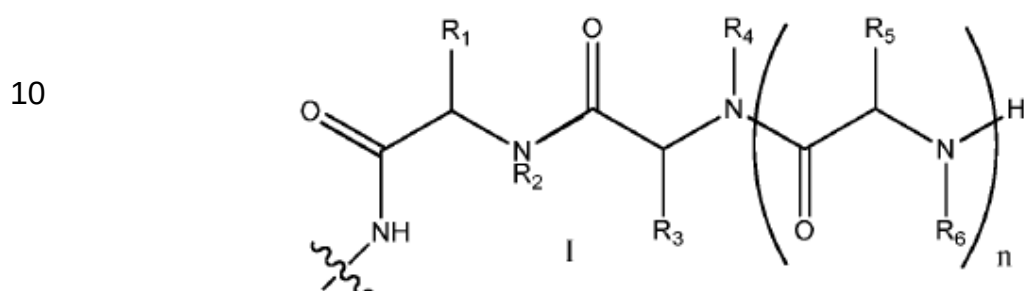
10.- El método de conformidad con la reivindicación
25 6, caracterizado porque la enfermedad neurodegenerativa es la enfermedad de Alzheimer, demencia o enfermedad de Creutzfeld-Jacob.

11.- El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque dicha genoteca de ligandos comprende
30 una pluralidad de ligandos identificados en un tamiz inicial

temprano o pre-selección basado en reactividad conocida a dichos marcadores de unión a ligando.

12.- El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque dicha genoteca de ligandos es una genoteca de peptoides.

13.- El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la genoteca comprende un compuesto de fórmula I,



en donde R_1 se selecciona de una cadena lateral de aminoácidos rica en electrones Y;

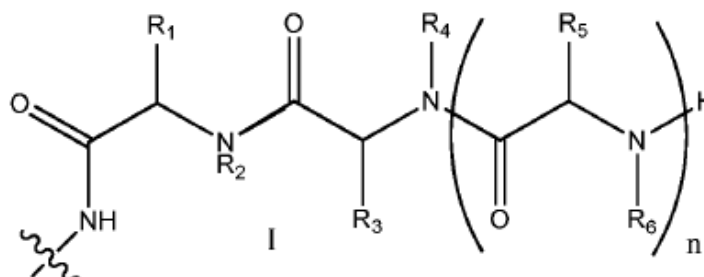
R_2 se selecciona de H;

y R_3 - R_6 se seleccionan independientemente de los grupos que constan de H, C_1 - C_6 alquilo, C_1 - C_6 alquiloSCH₃; C_0 - C_6 alquiloC₂- C_6 alquenilo, C_0 - C_6 alquilo C₂- C_6 alquinilo, C_1 - C_6 COOH, C_1 - C_6 alquiloOH, C_1 - C_6 alquiloN(R)₂, C_3 - C_8 cicloalquilo, C_1 - C_6 alquilarilo, C_1 - C_6 alquilheteroarilo, C_1 - C_6 alquiloINC(O) C_1 - C_6 alquilo, C_1 - C_6 alquilocicloamida en donde cualquiera de los grupos arilo o heteroarilo pueden ser sustituidos independientemente con -OH, Cl, F, Br, -OCH₃, SO₃NH₂ o -O-CH₂-

25 O-.

14.- El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la genoteca comprende un compuesto de fórmula I,

5



10

en donde los compuestos se producen por un proceso que comprende el uso de un reactivo seleccionado del grupo que consta de

(A) furfurilamina; 3,4-dimetoxietanolamina; bencilamina; N-(2-aminoetil)acetamida; N-(3-aminopropil)-2-pirrolidinona; etanolamina; glicina; diaminobutano; alilamina; piperonilamina; metilbencilamina; isobutilamina; 4-(2-aminoetil)bencenosulfonamida o ciclohexilamina; o

(B) metoxietilamina; piperonilamina; ciclohexilamina; diaminobutano; metilbencilamina; isobutilamina; furfurilamina o 4-(2-aminoetil)bencenosulfonamida; o

(C) furfurilamina, etanolamina; glicina; diaminobutano; alilamina; piperonilamina; metilbencilamina; isobutilamina o 4-(2-aminoetil)bencenosulfonamida; o

(D) furfurilamina, N-(2-aminoetil)acetamida; N-(3-aminoetil)-2-pirrolidinona; etanolamina; glicina; diaminobutano; alilamina; piperonilamina; metilbencilamina; isobutilamina; 4-(2-aminoetil)bencenosulfonamida; o

(E) cisteína, glicina, alilamina, etanolamina, isobutilamina, metilbencilamina, piperonilamina, metionina,

30

ciclohexilamina, 3,4-dimetoxifenetilamina, bencilamina, N-(2-aminoetil)acetamida, N-(3-aminopropil)-2-pirrolidona, 4-(2-aminoetil)bencenosulfonamida y furfurilamina; y

en donde,

5 R_1 se selecciona del grupo que consiste de $-(C_1-C_6)SCH_3$;

R_2 se selecciona de H;

R_3 y R_5 se seleccionan independientemente de los grupos que consisten de H, $-C_1-C_6$ alquilo, $-C_1-C_6$ alquilSCH₃, $-C_0-C_6$ alquilC₂-C₆alquenilo, $-C_0-C_6$ alquil C₂-C₆alquinilo, $-C_1-C_6COOH$, $-C_1-C_6$ alquilOH, C_1-C_6 alquilN(R)₂, $-C_3-C_8$ cicloalquilo, $-C_1-C_6$ alquilarilo, $-C_1-C_6$ alquilheteroarilo, $-C_1-C_6$ alquilNC(O)C₁-C₆alquilo, $-C_1-C_6$ alquilcicloamida en donde cualquiera de los grupos arilo o heteroarilo se pueden sustituir
10
15 independientemente con -OH, Cl, F, Br, -OCH₃, -SO₂NH₂ o -O-CH₂-O-.

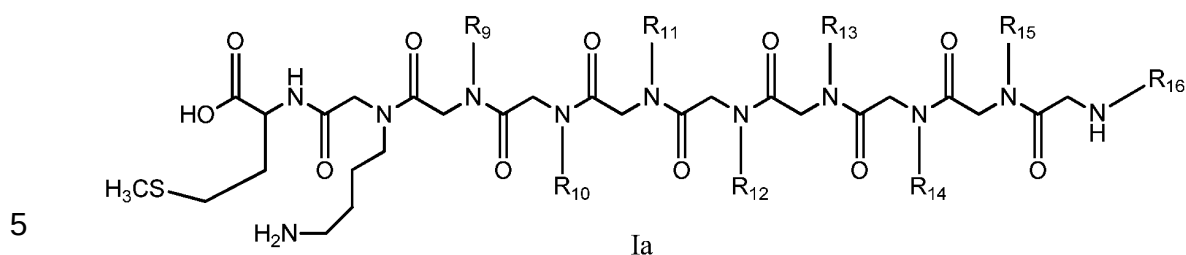
R_4 se selecciona del grupo que consiste de furfurilo o $-(C_1-C_6$ alquil)NR₇R₈,

R_6 se selecciona del grupo que consiste de H, 1-il-
20 alilo, 1-il-2-hidroxietilo, isobutilo, 1-il-n-butilamine, metilbencilo, piperonilo, ciclohexilo, 1-il-2-(3,4-dimetoxifenil)etilo, bencilo, 1-il-2-(acetamida)etilo, 1-il-3-2-pirrolidinona, 1-il-2-(4-bencenosulfonamida)etilo o furfurilo y

25 n es 3-11.

15.- El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la genoteca comprende un compuesto

que tiene la fórmula Ia



en donde el compuesto se selecciona del grupo que consiste de un compuesto de fórmula Ia en donde,

(a) R₉ es n-butilamina; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es piperonilo; R₁₂ es metilbencilo; R₁₃ es piperonilo; R₁₄ es metilbencilo; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es 1-il-2-metoxietilo;

(b) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es ciclohexilo; R₁₃ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₄ es 1-il-2,2-dimetiletíl(isobutilo); R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es metilbencilo;

(c) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es piperonilo; R₁₂ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R₁₄ es metilbencilo; R₁₅ es metilbencilo y R₁₆ es ciclohexilo;

(d) R₉ es piperonilo; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es isobutilo; R₁₂ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₃ es metilbencilo; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es isobutilo y R₁₆ es 1-il-n-butilamina;

(e) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es metilbencilo; R₁₂ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₃ es ciclohexilo; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es metilbencilo y R₁₆ es piperonilo;

(f) R₉ es piperonilo; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es isopropilo; R₁₂ es isopropilo; R₁₃ es 1-il-2-metoxietilo;

R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo;

(g) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es piperonilo; R₁₂ es metilbencilo; R₁₃ es piperonilo; R₁₄ es metilbencilo; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es ciclohexilo;

(h) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es metilbencilo; R₁₂ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₃ es ciclohexilo; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es metilbencilo y R₁₆ es piperonilo;

(i) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es metilbencilo; R₁₁ es metilbencilo; R₁₂ es 1-il-n-butilamina; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R¹⁴ es ciclohexilo; R¹⁵ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R¹⁶ es ciclohexilo;

(j) R₉ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₀ es metilbencilo; R₁₁ es metilbencilo; R₁₂ es ciclohexilo; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R₁₄ es metilbencilo; R₁₅ es isobutilo y R₁₆ es 1-il-n-butilamina;

(k) R₉ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₀ es isobutilo; R₁₁ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₂ es piperonilo; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es metilbencilo y R₁₆ es 1-il-2-metoxietilo;

(l) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es ciclohexilo; R₁₃ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₄ es isobutilo; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es metilbencilo;

(m) R₉ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₃ es metilbencilo; R₁₄ es 1-il-n-butilamina; R₁₅ es furfurilo y R₁₆ es furfurilo;

(n) R_9 es ciclohexilo; R_{10} es ciclohexilo; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es furfurilo; R_{13} es 1-il-2-metoxietilo; R_{14} es 1-il-2-metoxietilo; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es furfurilo;

5 (o) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es piperonilo; R_{11} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{12} es 1-il-2-metoxietilo; R_{13} es metilbencilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es 1-il-2-metoxietilo y R_{16} es metilbencilo;

(p) R_9 es ciclohexilo; R_{10} es ciclohexilo; R_{11} es piperonilo; R_{12} es 1-il-n-butilamina; R_{13} es 1-il-n-butilamina; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es 1-il-n-butilamina y R_{16} es isobutilo;

(q) R_9 es piperonilo; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es 1-il-2-metoxietilo; R_{12} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{13} es piperonilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es metilbencilo y R_{16} es metilbencilo;

(r) R_9 es metilbencilo; R_{10} es metilbencilo; R_{11} es metilbencilo; R_{12} es 1-il-n-butilamina; R_{13} es piperonilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es piperonilo y R_{16} es 1-il-n-butilamina;

(s) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es metilbencilo; R_{12} es 1-il-n-butilamina; R_{13} es metilbencilo; R_{14} es metilbencilo; R_{15} es 1-il-2-metoxietilo y R_{16} es piperonilo;

25 (t) R_9 es metilbencilo; R_{10} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{13} es isobutilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es metilbencilo y R_{16} es 1-il-2-metoxietilo;

30 (u) R_9 es 1-il-2-metoxietilo; R_{10} es 1-il-n-

butilamina; R_{11} es isobutilo; R_{12} es isobutilo; R_{13} es ciclohexilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es ciclohexilo;

(v) R_9 es isobutilo; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es metilbencilo; R_{13} es 1-il-n-butilamina; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es piperonilo y R_{16} es piperonilo;

(w) R_9 es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{10} es isobutilo; R_{11} es metilbencilo; R_{12} es 1-il-2- metoxietilo; R_{13} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{14} es isobutilo; R_{15} es 1-il-2- metoxietilo y R_{16} es ciclohexilo;

(x) R_9 es furfurilo; R_{10} es furfurilo; R_{11} es piperonilo; R_{12} es ciclohexilo; R_{13} es piperonilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es ciclohexilo;

(y) R_9 es piperonilo; R_{10} es piperonilo; R_{11} es 1-il-2-metoxietilo; R_{12} es 1-il-2-metoxietilo; R_{13} es 1-il-n-butilamina; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es 1-il-n-butilamina y R_{16} es 1-il-2- metoxietilo;

(z) R_9 es piperonilo; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es isobutilo; R_{12} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{13} es metilbencilo; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es isobutilo y R_{16} es 1-il-n-butilamina;

(aa) R_9 es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{10} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{11} es metilbencilo; R_{12} es metilbencilo; R_{13} es 1-il-n-butilamina; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo;

(bb) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-2-metoxietilo; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es isobutilo; R_{13} es

ciclohexilo; R₁₄ es 1-il-n-butilamina; R₁₅ es 1-il-n-butilamina y R₁₆ es piperonilo;

(cc) R₉ es ciclohexilo; R₁₀ es metilbencilo; R₁₁ es ciclohexilo; R₁₂ es piperonilo; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R₁₄ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₅ es 1-il-n-butilamina y R₁₆ es 1-il-2-metoxietilo;

(dd) R₉ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₀ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₃ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₄ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₅ es isobutilo y R₁₆ es ciclohexilo;

(ee) R₉ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₀ es metilbencilo; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es 1-il-n-butilamina; R₁₃ es piperonilo; R₁₄ es isobutilo; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es 1-il-n-butilamina;

(ff) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es metilbencilo; R₁₁ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₂ es metilbencilo; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R₁₄ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es ciclohexilo;

(gg) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₃ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₄ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₅ es 1-il-n-butilamina y R₁₆ es metilbencilo;

(hh) R₉ es ciclohexilo; R₁₀ es ciclohexilo; R₁₁ es metilbencilo; R₁₂ es 1-il-n-butilamina; R₁₃ es metilbencilo; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es metilbencilo y R₁₆ es 1-il-n-butilamina;

(ii) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es furfurilo; R₁₁

es metilbencilo; R_{12} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{13} es furfurilo; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es metilbencilo y R_{16} es ciclohexilo;

(jj) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es metilbencilo;
 5 R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{13} es 1-il-2-metoxietilo; R_{14} es metilbencilo; R_{15} es 1-il-2-metoxietilo y R_{16} es isobutilo;

(kk) R_9 es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es
 10 metilbencilo; R_{13} es metilbencilo; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es metilbencilo;

(ll) R_9 es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{10} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es 1-il-n-butilamina; R_{13} es metilbencilo; R_{14}
 15 es 1-il-n-butilamina; R_{15} es metilbencilo y R_{16} es 1-il-n-butilamina;

(mm) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{11} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{12} es 1-il-2-metoxietilo; R_{13} es
 20 1-il-n-butilamina; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es metilbencilo;

(nn) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es piperonilo; R_{12} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{13} es 1-il-n-butilamina; R_{14} es
 25 metilbencilo; R_{15} es metilbencilo y R_{16} es ciclohexilo;

(oo) R_9 es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{10} es metilbencilo; R_{11} es metilbencilo; R_{12} es 1-il-n-butilamina; R_{13} es metilbencilo; R_{14} es piperonilo; R_{15} es 1-il-n-butilamina y R_{16} es 1-il-2-metoxietilo;

30 (pp) R_9 es piperonilo; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11}

es 1-il-n-butilamina; R_{12} es metilamina; R_{13} es piperonilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es piperonilo y R_{16} es 1-il-2-metoxietilo;

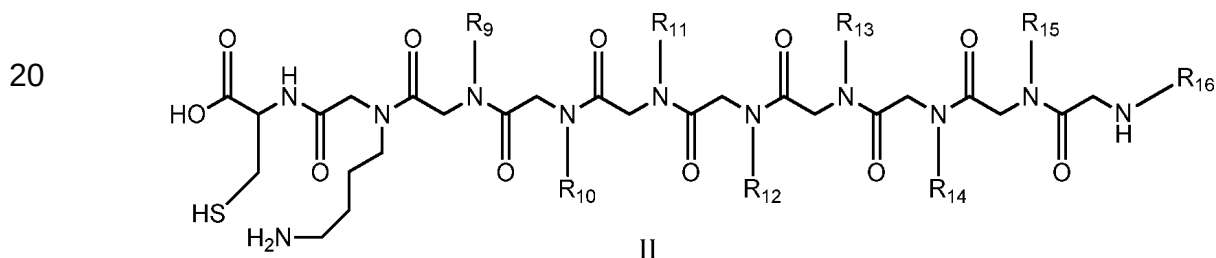
(qq) R_9 es ciclohexilo; R_{10} es ciclohexilo; R_{11} es furfurilo; R_{12} es 1-il-2-metoxietilo; R_{13} es isobutilo; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es metilbencilo y R_{16} es metilbencilo;

(rr) R_9 es piperonilo; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es isobutilo; R_{12} es isobutilo; R_{13} es 1-il-2-metoxietilo; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo;

(ss) R_9 es ciclohexilo; R_{10} es ciclohexilo; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es metilbencilo; R_{13} es 1-il-n-butilamina; R_{14} es metilbencilo; R_{15} es ciclohexilo y R_{16} es piperonilo;

y sus sales farmacéuticamente aceptables.

16.- El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque la genoteca comprende un compuesto de la fórmula:



en donde el compuesto se selecciona del grupo que consiste de un compuesto de fórmula II en donde,

(a) R_9 es n-butilamina; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es piperonilo; R_{12} es metilbencilo; R_{13} es piperonilo; R_{14} es metilbencilo; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es 1-il-2-metoxietilo;

(b) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-2-

(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es ciclohexilo; R_{13} es 1-il-2-metoxietilo; R_{14} es 1-il-2,2-dimetiletil(isobutilo); R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es metilbencilo;

5 (c) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es piperonilo; R_{12} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{13} es 1-il-n-butilamina; R_{14} es metilbencilo; R_{15} es metilbencilo y R_{16} es ciclohexilo;

(d) R_9 es piperonilo; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} 10 es isobutilo; R_{12} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{13} es metilbencilo; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es isobutilo y R_{16} es 1-il-n-butilamina;

(e) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es metilbencilo; R_{12} es 1-il-2-metoxietilo; R_{13} 15 es ciclohexilo; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es metilbencilo y R_{16} es piperonilo;

(f) R_9 es piperonilo; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es isopropilo; R_{12} es isopropilo; R_{13} es 1-il-2-metoxietilo; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo 20 y R_{16} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo;

(g) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es piperonilo; R_{12} es metilbencilo; R_{13} es piperonilo; R_{14} es metilbencilo; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es ciclohexilo;

25 (h) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es metilbencilo; R_{12} es 1-il-2-metoxietilo; R_{13} es ciclohexilo; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es metilbencilo y R_{16} es piperonilo;

(i) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es metilbencilo; R_{11} 30 es metilbencilo; R_{12} es 1-il-n-butilamina; R_{13} es 1-il-n-

butilamina; R^{14} es ciclohexilo; R^{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R^{16} es ciclohexilo;

(j) R_9 es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{10} es metilbencilo; R_{11} es metilbencilo; R_{12} es ciclohexilo; R_{13} es
5 1-il-n-butilamina; R_{14} es metilbencilo; R_{15} es isobutilo y R_{16} es 1-il-n-butilamina;

(k) R_9 es 1-il-2-metoxietilo; R_{10} es isobutilo; R_{11} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{12} es piperonilo; R_{13} es 1-il-n-butilamina; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es metilbencilo
10 y R_{16} es 1-il-2-metoxietilo;

(l) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es ciclohexilo; R_{13} es 1-il-2-metoxietilo; R_{14} es isobutilo; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es metilbencilo;

15 (m) R_9 es 1-il-2-metoxietilo; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es 1-il-2-metoxietilo; R_{13} es metilbencilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es furfurilo y R_{16} es furfurilo;

(n) R_9 es ciclohexilo; R_{10} es ciclohexilo; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es furfurilo; R_{13} es 1-il-2-metoxietilo; R_{14} es 1-il-2-metoxietilo; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es furfurilo;

(o) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es piperonilo; R_{11} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{12} es 1-il-2-metoxietilo; R_{13} es metilbencilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es 1-il-2-metoxietilo y R_{16} es metilbencilo;

(p) R_9 es ciclohexilo; R_{10} es ciclohexilo; R_{11} es piperonilo; R_{12} es 1-il-n-butilamina; R_{13} es 1-il-n-butilamina; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es 1-il-n-butilamina
30 y R_{16} es isobutilo;

(q) R₉ es piperonilo; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₂ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₃ es piperonilo; R₁₄ es 1-il-n-butilamina; R₁₅ es metilbencilo y R₁₆ es metilbencilo;

5 (r) R₉ es metilbencilo; R₁₀ es metilbencilo; R₁₁ es metilbencilo; R₁₂ es 1-il-n-butilamina; R₁₃ es piperonilo; R₁₄ es 1-il-n-butilamina; R₁₅ es piperonilo y R₁₆ es 1-il-n-butilamina;

10 (s) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es metilbencilo; R₁₂ es 1-il-n-butilamina; R₁₃ es metilbencilo; R₁₄ es metilbencilo; R₁₅ es 1-il-2-metoxietilo y R₁₆ es piperonilo;

15 (t) R₉ es metilbencilo; R₁₀ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₃ es isobutilo; R₁₄ es 1-il-n-butilamina; R₁₅ es metilbencilo y R₁₆ es 1-il-2-metoxietilo;

20 (u) R₉ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es isobutilo; R₁₂ es isobutilo; R₁₃ es ciclohexilo; R₁₄ es 1-il-n-butilamina; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es ciclohexilo;

25 (v) R₉ es isobutilo; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es metilbencilo; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R₁₄ es 1-il-n-butilamina; R₁₅ es piperonilo y R₁₆ es piperonilo;

(w) R₉ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₀ es isobutilo; R₁₁ es metilbencilo; R₁₂ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₃ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₄ es isobutilo; R₁₅ es 1-il-2-metoxietilo y R₁₆ es ciclohexilo;

30 (x) R₉ es furfurilo; R₁₀ es furfurilo; R₁₁ es

piperonilo; R_{12} es ciclohexilo; R_{13} es piperonilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es ciclohexilo;

(y) R_9 es piperonilo; R_{10} es piperonilo; R_{11} es 1-il-
5 2-metoxietilo; R_{12} es 1-il-2-metoxietilo; R_{13} es 1-il-n-butilamina; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es 1-il-n-butilamina y R_{16} es 1-il-2- metoxietilo;

(z) R_9 es piperonilo; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es isobutilo; R_{12} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{13}
10 es metilbencilo; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es isobutilo y R_{16} es 1-il-n-butilamina;

(aa) R_9 es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{10} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{11} es metilbencilo; R_{12} es metilbencilo; R_{13} es 1-il-n-butilamina; R_{14} es 1-il-n-
15 butilamina; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo;

(bb) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-2-metoxietilo; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es isobutilo; R_{13} es ciclohexilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es 1-il-n-
20 butilamina y R_{16} es piperonilo;

(cc) R_9 es ciclohexilo; R_{10} es metilbencilo; R_{11} es ciclohexilo; R_{12} es piperonilo; R_{13} es 1-il-n- butilamina; R_{14} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{15} es 1-il-n-butilamina y R_{16} es 1-il-2-metoxietilo;

(dd) R_9 es 1-il-2-metoxietilo; R_{10} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{11} es 1-il-n- butilamina; R_{12} es 1-il-2-metoxietilo; R_{13} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{14} es 1-il-2-metoxietilo; R_{15} es isobutilo y R_{16} es ciclohexilo;

(ee) R_9 es 1-il-2-metoxietilo; R_{10} es metilbencilo;

R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es 1-il-n-butilamina; R₁₃ es piperonilo; R₁₄ es isobutilo; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es 1-il-n-butilamina;

(ff) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es metilbencilo;

5 R₁₁ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₂ es metilbencilo; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R₁₄ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es ciclohexilo;

(gg) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₃ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₄ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₅ es 1-il-n-butilamina y R₁₆ es metilbencilo;

(hh) R₉ es ciclohexilo; R₁₀ es ciclohexilo; R₁₁ es metilbencilo; R₁₂ es 1-il-n-butilamina; R₁₃ es metilbencilo; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es metilbencilo y R₁₆ es 1-il-n-butilamina;

(ii) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es furfurilo; R₁₁ es metilbencilo; R₁₂ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₃ es furfurilo; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es metilbencilo y R₁₆ es ciclohexilo;

(jj) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es metilbencilo; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₃ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₄ es metilbencilo; R₁₅ es 1-il-2-metoxietilo y R₁₆ es isobutilo;

(kk) R₉ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es metilbencilo; R₁₃ es metilbencilo; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es metilbencilo;

30 (ll) R₉ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₀

es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es 1-il-n-butilamina; R_{13} es metilbencilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es metilbencilo y R_{16} es 1-il-n-butilamina;

5 (mm) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{11} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{12} es 1-il-2-metoxietilo; R_{13} es 1-il-n-butilamina; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es metilbencilo;

10 (nn) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es piperonilo; R_{12} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{13} es 1-il-n-butilamina; R_{14} es metilbencilo; R_{15} es metilbencilo y R_{16} es ciclohexilo;

(oo) R_9 es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{10} es metilbencilo; R_{11} es metilbencilo; R_{12} es 1-il-n-butilamina; R_{13} es metilbencilo; R_{14} es piperonilo; R_{15} es 1-il-n-butilamina y R_{16} es 1-il-2-metoxietilo;

(pp) R_9 es piperonilo; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es metilamina; R_{13} es piperonilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es piperonilo y R_{16} es 1-il-2-metoxietilo;

(qq) R_9 es ciclohexilo; R_{10} es ciclohexilo; R_{11} es furfurilo; R_{12} es 1-il-2-metoxietilo; R_{13} es isobutilo; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es metilbencilo y R_{16} es metilbencilo;

25 (rr) R_9 es piperonilo; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es isobutilo; R_{12} es isobutilo; R_{13} es 1-il-2-metoxietilo; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo;

(ss) R_9 es ciclohexilo; R_{10} es ciclohexilo; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es metilbencilo; R_{13} es 1-il-n-

30

butilamina; R₁₄ es metilbencilo; R₁₅ es ciclohexilo y R₁₆ es piperonilo;

y sus sales farmacéuticamente aceptables.

17.- El método de conformidad con la reivindicación
5 1, caracterizado porque dicha genoteca de ligandos es una genoteca de ligandos basada en microesferas comprendiendo una pluralidad de microesferas con ligandos unidos a las microesferas.

18.- El método de conformidad con la reivindicación
10 1, caracterizado porque dicha selección se realiza mediante una matriz.

19.- El método de conformidad con la reivindicación
18, caracterizado porque dicha matriz es una micromatriz, un portaobjetos de microscopio, una placa, un chip o una
15 población de microesferas.

20. El método de conformidad con la reivindicación
18, caracterizado porque dicha matriz que comprende un sustrato sólido con una superficie; una pluralidad de ligandos unidos a dicho sustrato, cada uno de dicho ligando
20 que comprende un segmento de anclaje establemente ligado a la superficie del sustrato, un segmento de peptoide y un segmento de enlazador de conexión y separación de los segmentos de anclaje y peptoide.

21.- El método de conformidad con la reivindicación
25 18, caracterizado porque dicha matriz comprende entre aproximadamente 1000 y 100,000 distintos ligandos.

22.- El método de conformidad con la reivindicación
18, caracterizado porque dicha matriz comprende entre aproximadamente 2000 y 50,000 distintos ligandos.

30 23.- El método de conformidad con la reivindicación

18, caracterizado porque dicha matriz incluye entre unos 4000 y 25,000 distintos ligandos.

24.- El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque dicha matriz incluye entre unos 6000 y 15,000 distintos ligandos.

25.- El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque dicha matriz incluye entre unos 7000 y 12,500 distintos ligandos.

26.- El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque dicha matriz incluye entre unos 8000 y 10,000 distintos ligandos.

27.- El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque dicha matriz consta de un radical de unión de ligando entrelazado a dicha matriz.

28.- El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el paso de determinación comprende la detección de las moléculas de unión fluorescente.

29.- El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque dicha matriz incluye ligandos etiquetados de forma fluorescente.

30. El método de demanda 1, en el cual dicha proyección consta de una revisión inicial contra una primera genoteca ligando y una proyección posterior contra una segunda genoteca de ligando.

31.- El método de conformidad con la reivindicación 30, caracterizado porque dicha selección inicial se realiza contra una primera muestra recogida antes de administrar dicho fármaco a dicho sujeto, y dicha selección posterior se realiza contra una segunda muestra recogida después de administrar dicho fármaco a dicho sujeto.

32.- El método de conformidad con la reivindicación 30, caracterizado porque dicha primera genoteca de ligandos se selecciona para una primera respuesta y dicha segunda genoteca de ligandos es seleccionado para una segunda
5 respuesta.

33.- El método de conformidad con la reivindicación 32, caracterizado porque dicha primera respuesta está asociada con dicha enfermedad y dicha segunda respuesta está asociada con dicha respuesta inducida por fármaco.

10 34.- El método de conformidad con la reivindicación 32, caracterizado porque dicha primera respuesta está relacionada con dicha enfermedad y dicha segunda respuesta está asociada con una etapa de dicha enfermedad.

15 35.- El método de conformidad con la reivindicación 30, caracterizado porque dicha primera genoteca de ligandos consta de una primera serie de ligandos y dicha segunda genoteca de ligandos comprende un segundo conjunto de ligandos.

20 36.- El método de conformidad con la reivindicación 35, caracterizado porque dicho primer conjunto de ligandos son diferentes de dicho segundo conjunto de ligandos.

25 37.- El método de conformidad con la reivindicación 35, caracterizado porque uno o más de dicho primer conjunto de ligandos son los mismos que uno o más de dicho segundo conjunto de ligandos.

38.- El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque dicha muestra biológica es tejido, célula, orina, suero, sangre entera, líquido cefalorraquídeo, esputo, saliva o semen.

30 39.- El método de conformidad con la reivindicación

1, caracterizado porque dicho sujeto es un sujeto humano o animal.

40.- El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque dichos pasos de diagnóstico se
5 realizan conforme a las instrucciones de un prospecto.

41.- El método de conformidad con la reivindicación 40, caracterizado porque dicho prospecto comprende instrucciones para realizar dichos pasos de diagnóstico, instrucciones para la determinación de la administración de
10 un fármaco e instrucciones para la administración de dicho fármaco basado en la determinación.

42.- El método de conformidad con la reivindicación 40, caracterizado porque dicho prospecto es un inserto en un kit, dicho kit compuesto por dicha genoteca y componentes
15 para realizar dichos pasos de diagnóstico.

43.- Un método para tratar una enfermedad en un sujeto, el método que comprende:

obtención de una muestra biológica de dicho sujeto;
selección de una genoteca de ligandos contra dicha
20 muestra;

identificación de las características de unión de uno o más marcadores en dicha muestra con uno o varios ligandos en la genoteca;

determinación si dicho uno o más marcadores se
25 asocian a una respuesta a un fármaco para el tratamiento de dicha enfermedad;

administración de dicho fármaco a dicho sujeto, basado en la determinación de la asociación entre uno o más marcadores a dicha respuesta, de esta manera tratando dicha
30 enfermedad en dicho sujeto.

44.- Un método para tratar una enfermedad en un paciente, el método que comprende:

obtención de una muestra biológica de dicho paciente;

5 selección de una muestra con una genoteca que comprende al menos un ligando para determinar un perfil de unión de ligando;

administración de dicho fármaco a dicho paciente, basado en los resultados de dicho perfil de unión de ligando
10 en dicho paciente, en donde dicho al menos un ligando tiene una afinidad a uno o más anticuerpos asociados con dicha enfermedad

45.- Un método de monitoreo de un tratamiento con un fármaco en un sujeto, el método que comprende: la
15 obtención de una muestra biológica de dicho sujeto; selección de una genoteca de ligando contra dicho sujeto; identificación de las características de unión de uno o más marcadores en dicha muestra con uno o varios ligandos en la genoteca; la determinación si dicho uno o más marcadores se
20 asocian a una respuesta a un fármaco para el tratamiento de dicha enfermedad; administración de dicho fármaco a dicho sujeto, basado en la determinación de asociación entre uno o más marcadores a dicha respuesta, monitoreando de tal modo dicho tratamiento por dicha fármaco en dicho sujeto.

25 46.- Un método para la detección de un riesgo de reacción adversa a un fármaco en un sujeto, el método que comprende:

la obtención de una muestra biológica de dicho sujeto;

30 la selección una genoteca de ligando contra dicha

muestra;

identificación de las características de unión de uno o más marcadores en dicha muestra con uno o varios ligandos en la genoteca; y

5 determinación si uno o más marcadores están asociados con dicho riesgo, detectando de tal modo dicho riesgo de reacción adversa a dicho fármaco en dicho sujeto.

47.- Un método para el perfilado de uno o más sujetos para una respuesta a un fármaco para tratar una
10 enfermedad, el método que comprende:

obtención de una muestra biológica de dicho sujeto;

la selección de una genoteca de ligandos contra dicho sujeto;

identificación de las características de unión de
15 uno o más marcadores en dicha muestra con uno o varios ligandos en la genoteca; y

la determinación si dicho uno o más marcadores están asociados con dicha respuesta para dicho fármaco, perfilando de este modo dicho uno o más sujetos para dicha
20 respuesta a dicho fármaco para tratar dicha enfermedad.

48.- Un método para diagnosticar una respuesta inducida por fármacos en un sujeto, el método que comprende: obtención de una muestra biológica de dicho sujeto; selección de una genoteca de ligandos contra dicha muestra;
25 identificación de las características de unión de uno o más marcadores en dicha muestra con uno o varios ligandos en la genoteca; en donde al menos uno de dichos uno o más marcadores es un auto-anticuerpo capaz de unirse a un ligando de peptoide; y determinación si uno o más marcadores están
30 asociados con la respuesta inducida por fármacos; por tanto

diagnosticando dicha respuesta inducida por fármacos en dicho sujeto.

49.- Un método para proporcionar un pronóstico de una respuesta inducida por fármaco para el tratamiento de una enfermedad en un sujeto, el método que comprende: obtención
5 de una muestra biológica de dicho sujeto; selección de una genoteca de ligandos contra dicha muestra; identificación de las características de unión de uno o más marcadores en dicha muestra con uno o varios ligandos en la genoteca; y la
10 determinación si dicho uno o más marcadores están asociados con dicha respuesta inducida por fármacos, de tal modo proporcionando dicho pronóstico de dicha respuesta inducida por fármacos para el tratamiento de dicha enfermedad en dicho sujeto.

15 50.- Un kit para el diagnóstico de una enfermedad de acuerdo con la reivindicación 1 que comprende: una genoteca de ligandos, reactivos de detección para la selección de dicha genoteca de ligando contra una muestra biológica, adyuvantes para dicha selección y un prospecto, en
20 donde dicho prospecto incluye instrucciones para realizar dichos pasos de diagnóstico, instrucciones para la determinación de la administración de un fármaco, y las instrucciones para la administración de dicho fármaco basado en la determinación.

25 51.- Un kit para el tratamiento de una enfermedad de acuerdo con la reivindicación 43 que comprende: una genoteca de ligandos, reactivos de detección para la selección de dicha genoteca de ligando contra una muestra biológica, adyuvantes para dicha selección y un prospecto, en
30 donde dicho prospecto incluye instrucciones para realizar

dichos pasos de diagnóstico, instrucciones para la determinación de la administración de un fármaco, y las instrucciones para la administración de dicho fármaco basado en la determinación.

5 52.- Un método para identificar un marcador asociado con una respuesta inducida por fármacos para el tratamiento de una enfermedad, que comprende: obtención de una muestra biológica de un sujeto; la selección de una genoteca de ligando contra dicha muestra biológica;
10 determinación de las características de unión de un marcador en dicha muestra a un ligando en la genoteca; y determinar si dicho marcador se asocia con dicha respuesta inducida por fármacos para el tratamiento de dicha enfermedad, identificando de tal modo dicho marcador asociado con dicha
15 respuesta inducida por fármacos para el tratamiento de dicha enfermedad.

 53.- El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque dicha genoteca consta de unos 350,000 a cerca de 150 ligandos MM.

20 54.- El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque dicha genoteca de ligandos es una genoteca de ligandos al azar.

 55.- El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque dicha genoteca de ligando es una
25 genoteca de ligandos no aleatoria.

 56.- El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque dicha genoteca de ligandos es un peptoide.

 57.- El método de conformidad con la reivindicación
30 52, caracterizado porque por lo menos un ligando en dicha

genoteca de ligando tiene una afinidad a un anticuerpo al antígeno que está asociado a la respuesta inducida por fármacos para el tratamiento de dicha enfermedad.

5 58.- El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque dicho marcador es un auto-anticuerpo capaz de unirse a un ligando peptoide.

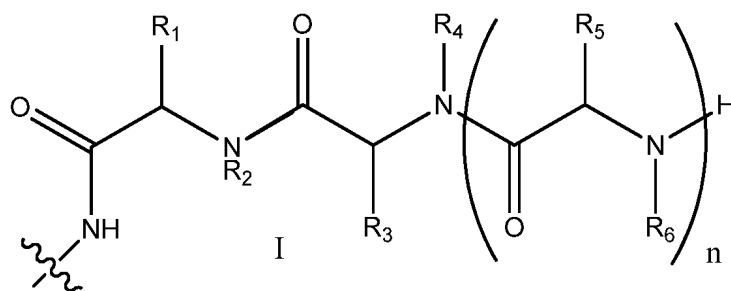
59.- El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque la genoteca de ligando es una genoteca de ligando basada en microesferas comprendiendo una pluralidad de microesferas con ligandos unidos a las microesferas.

60.- El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque dicha selección se realiza mediante una matriz.

15 61.- El método de conformidad con la reivindicación 60, caracterizado porque dicha matriz es una micromatriz, un portaobjetos de microscopio, una placa, un chip o una población de microesferas.

20 62.- El método de conformidad con la reivindicación 60, caracterizado porque dicha matriz comprende un sustrato sólido teniendo una superficie; una pluralidad de ligandos unidos a dicho sustrato, cada uno de dichos ligando que comprende un segmento de anclaje establemente ligado a la superficie del sustrato, un segmento de peptoide y un segmento enlazador de conexión y separación de los segmentos de anclaje y peptoide.

63.- El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque la genoteca comprende un compuesto de la fórmula I,

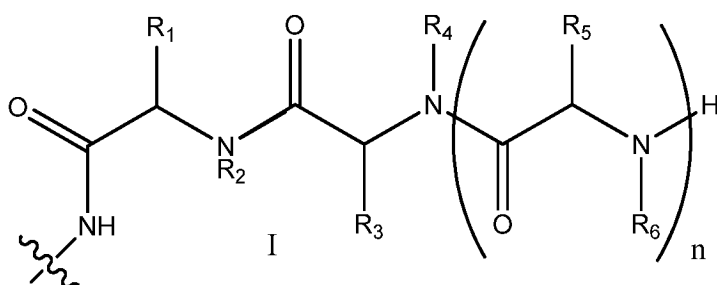


en donde R_1 se selecciona de una cadena lateral de aminoácido rica en electrones Y;

R_2 se selecciona de H;

y R_3 - R_6 se seleccionan independientemente de los grupos que consisten de H, $-\text{C}_1$ - C_6 alquilo, $-\text{C}_1$ - C_6 alquil SCH_3 , $-\text{C}_0$ - C_6 alquil C_2 - C_6 alquenilo, $-\text{C}_0$ - C_6 alquil C_2 - C_6 alquinilo, $-\text{C}_1$ - C_6 COOH , $-\text{C}_1$ - C_6 alquilOH, C_1 - C_6 alquil $\text{N}(\text{R})_2$, $-\text{C}_3$ - C_8 cicloalquilo, $-\text{C}_1$ - C_6 alquilarilo, $-\text{C}_1$ - C_6 alquilheteroarilo, $-\text{C}_1$ - C_6 alquil $\text{NC}(\text{O})\text{C}_1$ - C_6 alquilo, $-\text{C}_1$ - C_6 alquilcicloamida en donde cualquiera de los grupos arilo o heteroarilo se pueden sustituir independientemente con $-\text{OH}$, Cl , F , Br , $-\text{OCH}_3$, $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ o $-\text{OCH}_2\text{-O-}$.

64.- El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque la genoteca comprende un compuesto de la fórmula I



en donde los compuestos se producen por un proceso que comprende el uso de un reactivo seleccionado del grupo que consiste de:

(A) furfurilamina; 3,4-dimetoxietanolamina; bencilamina; N-(2-aminoetil)acetamida; N-(3-aminopropil)-2-

pirrolidinona; etanolamina; glicina; diaminobutano; alilamina; piperonilamina; metilbencilamina; isobutilamina; 4-(2-aminoetil)bencenosulfonamida o ciclohexilamina; o

(B) metoxietilamina; piperonilamina; 5 ciclohexilamina; diaminobutano; metilbencilamina; isobutilamina; furfurilamina o 4-(2-aminoetil)bencenosulfonamida; o

(C) furfurilamina, etanolamina; glicina; diaminobutano; alilamina; piperonilamina; metilbencilamina; 10 isobutilamina o 4-(2-aminoetil)bencenosulfonamida; o

(D) furfurilamina, N-(2-aminoetil)acetamida; N-(3-aminoetil)-2-pirrolidinona; etanolamina; glicina; diaminobutano; alilamina; piperonilamina; metilbencilamina; isobutilamina; 4-(2-aminoetil)bencenosulfonamida; o

(E) cisteína, glicina, alilamina, etanolamina, 15 isobutilamina, metilbencilamina, piperonilamina, metionina, ciclohexilamina, 3,4-dimetoxifenetilamina, bencilamina, N-(2-aminoetil)acetamida, N-(3-aminopropil)-2-pirrolidona, 4-(2-aminoetil)bencenosulfonamida y furfurilamina; y

20 en donde,

R_1 se selecciona del grupo que consiste de $-(C_1-C_6)SCH_3$;

R_2 se selecciona de H;

R_3 y R_5 se seleccionan independientemente de los 25 grupos que consisten de H, $-C_1-C_6$ alquilo, $-C_1-C_6$ alquilSCH₃, $-C_0-C_6$ alquilC₂-C₆alquenilo, $-C_0-C_6$ alquil C₂-C₆alquinilo, $-C_1-C_6COOH$, $-C_1-C_6$ alquilOH, C_1-C_6 alquilN(R)₂, $-C_3-C_8$ cicloalquilo, $-C_1-C_6$ alquilarilo, $-C_1-C_6$ alquilheteroarilo, $-C_1-C_6$ alquilNC(O)C₁-C₆alquilo, $-C_1-C_6$ alquilcicloamida en donde cualquiera de los 30 grupos arilo o heteroarilo se pueden sustituir

independientemente con -OH, Cl, F, Br, -OCH₃, -SO₂NH₂ o -O-CH₂-O-.

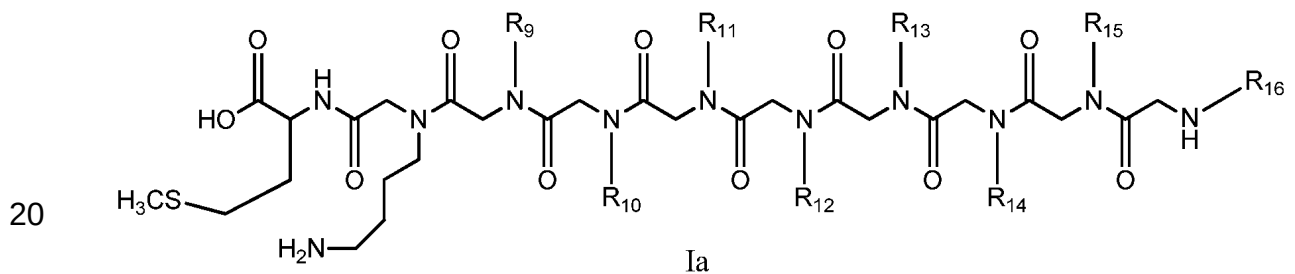
R₄ se selecciona del grupo que consiste de furfurilo o -(C₁-C₆alquil)NR₇R₈,

5 R₆ se selecciona del grupo que consiste de H, 1-il-alilo, 1-il-2-hidroxietilo, isobutilo, 1-il-n-butylamine, metilbencilo, piperonilo, ciclohexilo, 1-il-2-(3,4-dimetoxifenil)etilo, bencilo, 1-il-2-(acetamida)etilo, 1-il-3-2-pirrolidinona, 1-il-2-(4-bencenosulfonamida)etilo o
10 furfurilo y

n es 3-11.

65.- El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque la genoteca comprende un compuesto que tiene la fórmula Ia

15



en donde el compuesto se selecciona del grupo que consiste de un compuesto de fórmula Ia en donde,

(tt) R₉ es n-butylamina; R₁₀ es 1-il-n-butylamina;
25 R₁₁ es piperonilo; R₁₂ es metilbencilo; R₁₃ es piperonilo; R₁₄ es metilbencilo; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es 1-il-2-metoxietilo;

(uu) R₉ es 1-il-n-butylamina; R₁₀ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₁ es 1-il-n-butylamina; R₁₂ es
30 ciclohexilo; R₁₃ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₄ es 1-il-2,2-

dimetiletil(isobutilo); R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es metilbencilo;

(vv) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es piperonilo; R_{12} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{13} es 1-il-n-butilamina; R_{14} es metilbencilo; R_{15} es metilbencilo y R_{16} es ciclohexilo;

(ww) R_9 es piperonilo; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es isobutilo; R_{12} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{13} es metilbencilo; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es isobutilo y R_{16} es 1-il-n-butilamina;

(xx) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es metilbencilo; R_{12} es 1-il-2-metoxietilo; R_{13} es ciclohexilo; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es metilbencilo y R_{16} es piperonilo;

(yy) R_9 es piperonilo; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es isopropilo; R_{12} es isopropilo; R_{13} es 1-il-2-metoxietilo; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo;

(zz) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es piperonilo; R_{12} es metilbencilo; R_{13} es piperonilo; R_{14} es metilbencilo; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es ciclohexilo;

(aaa) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es metilbencilo; R_{12} es 1-il-2-metoxietilo; R_{13} es ciclohexilo; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es metilbencilo y R_{16} es piperonilo;

(bbb) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es metilbencilo; R_{11} es metilbencilo; R_{12} es 1-il-n-butilamina; R_{13} es 1-il-n-butilamina; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es ciclohexilo;

(ccc) R₉ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₀ es metilbencilo; R₁₁ es metilbencilo; R₁₂ es ciclohexilo; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R₁₄ es metilbencilo; R₁₅ es isobutilo y R₁₆ es 1-il-n-butilamina;

5 (ddd) R₉ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₀ es isobutilo; R₁₁ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₂ es piperonilo; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es metilbencilo y R₁₆ es 1-il- 2-metoxietilo;

10 (eee) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₁ es 1-il-n- butilamina; R₁₂ es ciclohexilo; R₁₃ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₄ es isobutilo; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es metilbencilo;

15 (fff) R₉ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₃ es metilbencilo; R₁₄ es 1-il-n-butilamina; R₁₅ es furfurilo y R₁₆ es furfurilo;

20 (ggg) R₉ es ciclohexilo; R₁₀ es ciclohexilo; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es furfurilo; R₁₃ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₄ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es furfurilo;

(hhh) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es piperonilo; R₁₁ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₂ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₃ es metilbencilo; R₁₄ es 1-il-n-butilamina; R₁₅ es 1-il-2- metoxietilo y R₁₆ es metilbencilo;

25 (iii) R₉ es ciclohexilo; R₁₀ es ciclohexilo; R₁₁ es piperonilo; R₁₂ es 1-il-n-butilamina; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R₁₄ es 1-il-n-butilamina; R₁₅ es 1-il-n-butilamina y R₁₆ es isobutilo;

30 (jjj) R₉ es piperonilo; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₂ es 1-il-2-

(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{13} es piperonilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es metilbencilo y R_{16} es metilbencilo;

(kkk) R_9 es metilbencilo; R_{10} es metilbencilo; R_{11} es metilbencilo; R_{12} es 1-il-n-butilamina; R_{13} es piperonilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es piperonilo y R_{16} es 1-il-n-butilamina;

(lll) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es metilbencilo; R_{12} es 1-il-n-butilamina; R_{13} es metilbencilo; R_{14} es metilbencilo; R_{15} es 1-il-2-metoxietilo y R_{16} es piperonilo;

(mmm) R_9 es metilbencilo; R_{10} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{13} es isobutilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es metilbencilo y R_{16} es 1-il-2-metoxietilo;

(nnn) R_9 es 1-il-2-metoxietilo; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es isobutilo; R_{12} es isobutilo; R_{13} es ciclohexilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es ciclohexilo;

(ooo) R_9 es isobutilo; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es metilbencilo; R_{13} es 1-il-n-butilamina; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es piperonilo y R_{16} es piperonilo;

(ppp) R_9 es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{10} es isobutilo; R_{11} es metilbencilo; R_{12} es 1-il-2-metoxietilo; R_{13} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{14} es isobutilo; R_{15} es 1-il-2-metoxietilo y R_{16} es ciclohexilo;

(qqq) R_9 es furfurilo; R_{10} es furfurilo; R_{11} es piperonilo; R_{12} es ciclohexilo; R_{13} es piperonilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y

R₁₆ es ciclohexilo;

(rrr) R₉ es piperonilo; R₁₀ es piperonilo; R₁₁ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₂ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R₁₄ es 1-il-n-butilamina; R₁₅ es 1-il-n-butilamina
5 y R₁₆ es 1-il-2- metoxietilo;

(sss) R₉ es piperonilo; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es isobutilo; R₁₂ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₃ es metilbencilo; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es isobutilo y R₁₆ es 1-il-n-butilamina;

10 (ttt) R₉ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₀ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₁ es metilbencilo; R₁₂ es metilbencilo; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R₁₄ es 1-il-n-butilamina; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo;

15 (uuu) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es isobutilo; R₁₃ es ciclohexilo; R₁₄ es 1-il-n-butilamina; R₁₅ es 1-il-n-butilamina y R₁₆ es piperonilo;

(vvv) R₉ es ciclohexilo; R₁₀ es metilbencilo; R₁₁ es
20 ciclohexilo; R₁₂ es piperonilo; R₁₃ es 1-il-n- butilamina; R₁₄ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₅ es 1-il-n-butilamina y R₁₆ es 1-il-2-metoxietilo;

(www) R₉ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₀ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₁ es 1-il-n- butilamina; R₁₂ es
25 1-il-2-metoxietilo; R₁₃ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₄ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₅ es isobutilo y R₁₆ es ciclohexilo;

(xxx) R₉ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₀ es metilbencilo; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es 1-il-n- butilamina; R₁₃ es
30 piperonilo; R₁₄ es isobutilo; R₁₅ es 1-il-2-

(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es 1-il-n-butilamina;

(yyy) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es metilbencilo;
 R_{11} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{12} es
 metilbencilo; R_{13} es 1-il-n-butilamina; R_{14} es 1-il-2-
 5 (4(bencenosulfonamida)etilo; R_{15} es 1-il-2-
 (4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es ciclohexilo;

(zzz) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-2-
 metoxietilo; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es 1-il-2-
 (4(bencenosulfonamida)etilo; R_{13} es 1-il-2-metoxietilo; R_{14} es
 10 1-il-2-metoxietilo; R_{15} es 1-il-n-butilamina y R_{16} es
 metilbencilo;

(aaaa) R_9 es ciclohexilo; R_{10} es ciclohexilo; R_{11} es
 metilbencilo; R_{12} es 1-il-n-butilamina; R_{13} es metilbencilo;
 R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es metilbencilo y R_{16} es 1-il-n-
 15 butilamina;

(bbbb) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es furfurilo; R_{11}
 es metilbencilo; R_{12} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo;
 R_{13} es furfurilo; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es metilbencilo y R_{16}
 es ciclohexilo;

20 (cccc) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es metilbencilo;
 R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es 1-il-2-
 (4(bencenosulfonamida)etilo; R_{13} es 1-il-2-metoxietilo; R_{14} es
 metilbencilo; R_{15} es 1-il-2-metoxietilo y R_{16} es isobutilo;

(dddd) R_9 es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{10}
 25 es 1-il-n-butilamina; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es
 metilbencilo; R_{13} es metilbencilo; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es
 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es metilbencilo;

(eeee) R_9 es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{10}
 es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{11} es 1-il-n-
 30 butilamina; R_{12} es 1-il-n-butilamina; R_{13} es metilbencilo; R_{14}

es 1-il-n-butilamina; R₁₅ es metilbencilo y R₁₆ es 1-il-n-butilamina;

(ffff) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₁ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₂ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es metilbencilo;

(gggg) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es piperonilo; R₁₂ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R₁₄ es metilbencilo; R₁₅ es metilbencilo y R₁₆ es ciclohexilo;

(hhhh) R₉ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₀ es metilbencilo; R₁₁ es metilbencilo; R₁₂ es 1-il-n-butilamina; R₁₃ es metilbencilo; R₁₄ es piperonilo; R₁₅ es 1-il-n-butilamina y R₁₆ es 1-il-2-metoxietilo;

(iiii) R₉ es piperonilo; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es metilamina; R₁₃ es piperonilo; R₁₄ es 1-il-n-butilamina; R₁₅ es piperonilo y R₁₆ es 1-il-2-metoxietilo;

(jjjj) R₉ es ciclohexilo; R₁₀ es ciclohexilo; R₁₁ es furfurilo; R₁₂ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₃ es isobutilo; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es metilbencilo y R₁₆ es metilbencilo;

(kkkk) R₉ es piperonilo; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es isobutilo; R₁₂ es isobutilo; R₁₃ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo;

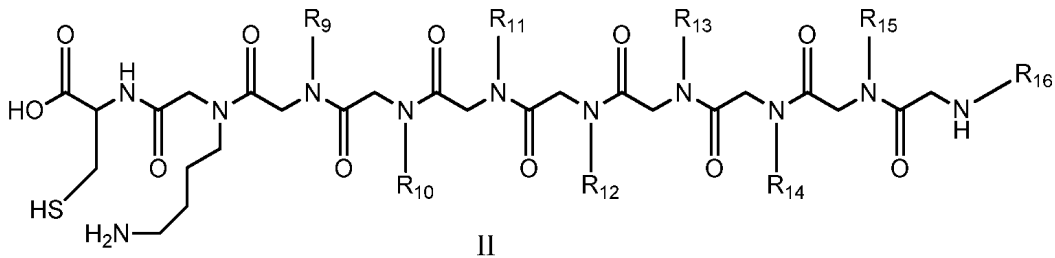
(llll) R₉ es ciclohexilo; R₁₀ es ciclohexilo; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es metilbencilo; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R₁₄ es metilbencilo; R₁₅ es ciclohexilo y R₁₆ es piperonilo;

y sus sales farmacéuticamente aceptables.

66.- El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque la genoteca comprende un compuesto de la fórmula

5

10



en donde el compuesto se selecciona del grupo que consiste de un compuesto de fórmula II en donde,

(tt) R_9 es n-butilamina; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es piperonilo; R_{12} es metilbencilo; R_{13} es piperonilo; R_{14} es metilbencilo; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es 1-il-2-metoxietilo;

(uu) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es ciclohexilo; R_{13} es 1-il-2-metoxietilo; R_{14} es 1-il-2,2-dimetiletíl(isobutilo); R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es metilbencilo;

(vv) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es piperonilo; R_{12} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{13} es 1-il-n-butilamina; R_{14} es metilbencilo; R_{15} es metilbencilo y R_{16} es ciclohexilo;

(ww) R_9 es piperonilo; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es isobutilo; R_{12} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{13} es metilbencilo; R_{14} es ciclohexilo; R_{15} es isobutilo y R_{16} es 1-il-n-butilamina;

(xx) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es metilbencilo; R₁₂ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₃ es ciclohexilo; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es metilbencilo y R₁₆ es piperonilo;

5 (yy) R₉ es piperonilo; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es isopropilo; R₁₂ es isopropilo; R₁₃ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo;

(zz) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es piperonilo; R₁₂ es metilbencilo; R₁₃ es piperonilo; R₁₄ es metilbencilo; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es ciclohexilo;

(aaa) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es metilbencilo; R₁₂ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₃ es ciclohexilo; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es metilbencilo y R₁₆ es piperonilo;

(bbb) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es metilbencilo; R₁₁ es metilbencilo; R₁₂ es 1-il-n-butilamina; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R¹⁴ es ciclohexilo; R¹⁵ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R¹⁶ es ciclohexilo;

(ccc) R₉ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₀ es metilbencilo; R₁₁ es metilbencilo; R₁₂ es ciclohexilo; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R₁₄ es metilbencilo; R₁₅ es isobutilo y R₁₆ es 1-il-n-butilamina;

25 (ddd) R₉ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₀ es isobutilo; R₁₁ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₂ es piperonilo; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es metilbencilo y R₁₆ es 1-il-2-metoxietilo;

(eee) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es

30

ciclohexilo; R_{13} es 1-il-2-metoxietilo; R_{14} es isobutilo; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es metilbencilo;

(fff) R_9 es 1-il-2-metoxietilo; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es 1-il-2-metoxietilo; R_{13} es metilbencilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es furfurilo y R_{16} es furfurilo;

(ggg) R_9 es ciclohexilo; R_{10} es ciclohexilo; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es furfurilo; R_{13} es 1-il-2-metoxietilo; R_{14} es 1-il-2-metoxietilo; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es furfurilo;

(hhh) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es piperonilo; R_{11} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{12} es 1-il-2-metoxietilo; R_{13} es metilbencilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es 1-il-2-metoxietilo y R_{16} es metilbencilo;

(iii) R_9 es ciclohexilo; R_{10} es ciclohexilo; R_{11} es piperonilo; R_{12} es 1-il-n-butilamina; R_{13} es 1-il-n-butilamina; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es 1-il-n-butilamina y R_{16} es isobutilo;

(jjj) R_9 es piperonilo; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es 1-il-2-metoxietilo; R_{12} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{13} es piperonilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es metilbencilo y R_{16} es metilbencilo;

(kkk) R_9 es metilbencilo; R_{10} es metilbencilo; R_{11} es metilbencilo; R_{12} es 1-il-n-butilamina; R_{13} es piperonilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es piperonilo y R_{16} es 1-il-n-butilamina;

(lll) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-n-butilamina; R_{11} es metilbencilo; R_{12} es 1-il-n-butilamina; R_{13} es metilbencilo; R_{14} es metilbencilo; R_{15} es 1-il-2-metoxietilo y R_{16} es piperonilo;

(mmm) R₉ es metilbencilo; R₁₀ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₃ es isobutilo; R₁₄ es 1-il-n-butilamina; R₁₅ es metilbencilo y R₁₆ es 1-il-2-
5 metoxietilo;

(nnn) R₉ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es isobutilo; R₁₂ es isobutilo; R₁₃ es ciclohexilo; R₁₄ es 1-il-n-butilamina; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es ciclohexilo;

10 (ooo) R₉ es isobutilo; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es metilbencilo; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R₁₄ es 1-il-n-butilamina; R₁₅ es piperonilo y R₁₆ es piperonilo;

(ppp) R₉ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₀
15 es isobutilo; R₁₁ es metilbencilo; R₁₂ es 1-il-2- metoxietilo; R₁₃ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₄ es isobutilo; R₁₅ es 1-il-2- metoxietilo y R₁₆ es ciclohexilo;

(qqq) R₉ es furfurilo; R₁₀ es furfurilo; R₁₁ es piperonilo; R₁₂ es ciclohexilo; R₁₃ es piperonilo; R₁₄ es 1-
20 il-n-butilamina; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es ciclohexilo;

(rrr) R₉ es piperonilo; R₁₀ es piperonilo; R₁₁ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₂ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R₁₄ es 1-il-n-butilamina; R₁₅ es 1-il-n-butilamina
25 y R₁₆ es 1-il-2- metoxietilo;

(sss) R₉ es piperonilo; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es isobutilo; R₁₂ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₃ es metilbencilo; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es isobutilo y R₁₆ es 1-il-n-butilamina;

30 (ttt) R₉ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₀

es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{11} es metilbencilo;
 R_{12} es metilbencilo; R_{13} es 1-il-n-butilamina; R_{14} es 1-il-n-
 butilamina; R_{15} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es
 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo;

5 (uuu) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-2-
 metoxietilo; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es isobutilo; R_{13} es
 ciclohexilo; R_{14} es 1-il-n-butilamina; R_{15} es 1-il-n-
 butilamina y R_{16} es piperonilo;

(vvv) R_9 es ciclohexilo; R_{10} es metilbencilo; R_{11} es
 10 ciclohexilo; R_{12} es piperonilo; R_{13} es 1-il-n- butilamina; R_{14}
 es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{15} es 1-il-n-
 butilamina y R_{16} es 1-il-2-metoxietilo;

(www) R_9 es 1-il-2-metoxietilo; R_{10} es 1-il-2-
 (4(bencenosulfonamida)etilo; R_{11} es 1-il-n- butilamina; R_{12} es
 15 1-il-2-metoxietilo; R_{13} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo;
 R_{14} es 1-il-2-metoxietilo; R_{15} es isobutilo y R_{16} es
 ciclohexilo;

(xxx) R_9 es 1-il-2-metoxietilo; R_{10} es metilbencilo;
 R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es 1-il-n-butilamina; R_{13} es
 20 piperonilo; R_{14} es isobutilo; R_{15} es 1-il-2-
 (4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es 1-il-n-butilamina;

(yyy) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es metilbencilo;
 R_{11} es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R_{12} es
 metilbencilo; R_{13} es 1-il-n-butilamina; R_{14} es 1-il-2-
 25 (4(bencenosulfonamida)etilo; R_{15} es 1-il-2-
 (4(bencenosulfonamida)etilo y R_{16} es ciclohexilo;

(zzz) R_9 es 1-il-n-butilamina; R_{10} es 1-il-2-
 metoxietilo; R_{11} es 1-il-n-butilamina; R_{12} es 1-il-2-
 (4(bencenosulfonamida)etilo; R_{13} es 1-il-2-metoxietilo; R_{14} es
 30 1-il-2-metoxietilo; R_{15} es 1-il-n-butilamina y R_{16} es

metilbencilo;

(aaaa) R₉ es ciclohexilo; R₁₀ es ciclohexilo; R₁₁ es metilbencilo; R₁₂ es 1-il-n-butilamina; R₁₃ es metilbencilo; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es metilbencilo y R₁₆ es 1-il-n-butilamina;

(bbbb) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es furfurilo; R₁₁ es metilbencilo; R₁₂ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₃ es furfurilo; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es metilbencilo y R₁₆ es ciclohexilo;

10 (cccc) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es metilbencilo; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₃ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₄ es metilbencilo; R₁₅ es 1-il-2-metoxietilo y R₁₆ es isobutilo;

15 (dddd) R₉ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es metilbencilo; R₁₃ es metilbencilo; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es metilbencilo;

20 (eeee) R₉ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₀ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es 1-il-n-butilamina; R₁₃ es metilbencilo; R₁₄ es 1-il-n-butilamina; R₁₅ es metilbencilo y R₁₆ es 1-il-n-butilamina;

25 (ffff) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₁ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₂ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es metilbencilo;

30 (gggg) R₉ es 1-il-n-butilamina; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es piperonilo; R₁₂ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R₁₄ es

metilbencilo; R₁₅ es metilbencilo y R₁₆ es ciclohexilo;

(hhhh) R₉ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo; R₁₀ es metilbencilo; R₁₁ es metilbencilo; R₁₂ es 1-il-n-butilamina; R₁₃ es metilbencilo; R₁₄ es piperonilo; R₁₅ es 1-il-n-butilamina y R₁₆ es 1-il-2-metoxietilo;

(iiii) R₉ es piperonilo; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es metilamina; R₁₃ es piperonilo; R₁₄ es 1-il-n-butilamina; R₁₅ es piperonilo y R₁₆ es 1-il-2-metoxietilo;

10 (jjjj) R₉ es ciclohexilo; R₁₀ es ciclohexilo; R₁₁ es furfurilo; R₁₂ es 1-il-2-metoxietilo; R₁₃ es isobutilo; R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es metilbencilo y R₁₆ es metilbencilo;

(kkkk) R₉ es piperonilo; R₁₀ es 1-il-n-butilamina; R₁₁ es isobutilo; R₁₂ es isobutilo; R₁₃ es 1-il-2-metoxietilo; 15 R₁₄ es ciclohexilo; R₁₅ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo y R₁₆ es 1-il-2-(4(bencenosulfonamida)etilo;

(llll) R₉ es ciclohexilo; R₁₀ es ciclohexilo; R₁₁ es 1-il-n-butilamina; R₁₂ es metilbencilo; R₁₃ es 1-il-n-butilamina; R₁₄ es metilbencilo; R₁₅ es ciclohexilo y R₁₆ es 20 piperonilo;

y sus sales farmacéuticamente aceptables.

67.- El método de conformidad con la reivindicación 59, caracterizado porque dicha genoteca basada en microesferas comprende un radical de unión a ligando 25 entrelazado a microesferas.

68.- El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque el paso de determinación comprende la detección de moléculas de unión fluorescentes.

69.- El método de conformidad con la reivindicación 30 52, caracterizado porque dicha genoteca comprende ligandos

etiquetados de modo fluorescente.

70.- El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque dicha muestra biológica se obtiene en la etapa temprana de la enfermedad.

5 71.- El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque dicha muestra biológica se obtiene en la etapa tardía de dicha enfermedad.

72.- El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque el método además comprende
10 identificar un marcador asociado a una etapa de dicha enfermedad.

73.- El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque dicha enfermedad es un cáncer, una enfermedad autoinmune, una enfermedad inflamatoria, una
15 enfermedad infecciosa, una enfermedad neurodegenerativa o una enfermedad cardiovascular.

74.- El método de conformidad con la reivindicación 73, caracterizado porque la enfermedad del cáncer es el
20 cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de próstata, cáncer de cuello uterino, cáncer de cabeza y de cuello, cáncer testicular, cáncer de ovario, cáncer de piel, cáncer de cerebro, cáncer pancreático, cáncer de hígado, cáncer de estómago, cáncer de colon, cáncer rectal, cáncer de esófago, linfoma o leucemia.

25 75.- El método de conformidad con la reivindicación 73, caracterizado porque la enfermedad autoinmune es lupus, miestenia gravis, esclerosis múltiple, narcolepsia, artritis reumatoide, nefritis, enfermedad de Chagas, escleroderma o enfermedad de Sjögren.

30 76.- El método de conformidad con la reivindicación

73, caracterizado porque la enfermedad infecciosa es el resultado de la infección con los virus, bacterias u hongos.

77.- El método de conformidad con la reivindicación 73, caracterizado porque la enfermedad neurodegenerativa es la enfermedad de Alzheimer, demencia o enfermedad de Creutzfeld-Jacob.

78.- El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque dicha respuesta es un efecto secundario de dicho fármaco, una reacción adversa a dicho fármaco, una resistencia a dicho fármaco o una eficacia de dosis terapéutica de dicho fármaco.

79.- El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque el método además comprende identificar un marcador asociado a una población o subpoblación de pacientes.

80.- El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque por lo menos un ligando tiene una afinidad con un anticuerpo al antígeno que está asociado a una etapa de dicha enfermedad en una población o subpoblación de pacientes.

81.- El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque dicho fármaco es por lo menos uno de los fármacos enumerados en el cuadro 1.

82.- El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque las diferencias en la unión se distingue entre un sujeto que es y no es sensible a un tratamiento o terapia por dicho fármaco.

83.- El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque dicha selección consta de una selección inicial contra una primera genoteca de ligandos y

una selección posterior contra una segunda genoteca de ligandos.

84.- El método de conformidad con la reivindicación 83, caracterizado porque dicha primera genoteca de ligandos es una genoteca de ligandos al azar y dicha segunda genoteca de ligandos es una genoteca de ligandos al azar y no aleatoria.

85.- El método de conformidad con la reivindicación 83, caracterizado porque dicha segunda genoteca de ligandos comprende una pluralidad de ligandos identificados en dicha selección inicial o pre-selección basada en reactividad conocida a dichos marcadores de unión a ligando.

86.- El método de conformidad con la reivindicación 83, caracterizado porque dicha primera genoteca de ligandos consta de una primera serie de ligandos y dicha segunda genoteca de ligandos comprende un segundo conjunto de ligandos.

87.- El método de conformidad con la reivindicación 86, caracterizado porque dicho primer conjunto de ligandos son diferentes de dicho segundo conjunto de ligandos.

88.- El método de conformidad con la reivindicación 86, caracterizado porque uno o más de dicho primer conjunto de ligandos son los mismos que uno o más de dicho segundo conjunto de ligandos.

89.- El método de conformidad con la reivindicación 83, caracterizado porque dicha selección inicial se realiza contra una primera muestra recogida antes de administrar dicho fármaco a dicho sujeto, y dicha selección posterior se realiza contra una segunda muestra recogida después de administrar dicho fármaco a dicho sujeto.

90. El método de conformidad con la reivindicación 83, caracterizado porque dicha primera genoteca de ligandos se selecciona para identificar uno o más biomarcadores asociados con una primera respuesta y dicha segunda genoteca de ligandos se selecciona para identificar uno o más biomarcadores asociados con una segunda respuesta.

91.- El método de conformidad con la reivindicación 83, caracterizado porque dicha primera genoteca de ligandos se selecciona para identificar uno o más biomarcadores asociados con una respuesta y dicha segunda genoteca de ligandos es seleccionado para validar la asociación de dicho uno o más biomarcadores con dicha respuesta.

92.- El método de conformidad con la reivindicación 83, caracterizado porque dicha primera genoteca de ligandos se selecciona para identificar uno o más biomarcadores asociados con dicha enfermedad y dicha segunda genoteca de ligandos se selecciona para identificar uno o más biomarcadores asociados con una etapa de dicha enfermedad.

93.- El método de conformidad con la reivindicación 83, caracterizado porque dicha primera genoteca de ligandos se selecciona para identificar uno o más biomarcadores asociados con dicha enfermedad y dicha segunda genoteca de ligandos se selecciona para identificar uno o más biomarcadores asociados con dicha respuesta inducida por fármacos.

94.- El método de conformidad con la reivindicación 83, caracterizado porque dicha primera genoteca de ligandos se selecciona para identificar uno o más biomarcadores asociados con dicha enfermedad y/o respuesta inducida por fármacos y dicha segunda genoteca de ligandos está

seleccionada para validar la asociación de dicho uno o más biomarcadores con dicha enfermedad y/o dicha respuesta inducida por fármacos.

5 95. El método de conformidad con la reivindicación 52, caracterizado porque dicha muestra biológica es tejido, célula, orina, suero, sangre entera, líquido cefalorraquídeo, esputo, saliva o semen.

10 96.- El método de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque dicho sujeto es un sujeto humano o animal.

97.- Un marcador asociado a una respuesta a un fármaco para el tratamiento de una enfermedad, en donde dicho marcador es identificado por el método de la reivindicación 52.



(51) International Patent Classification:

C40B 20/08 (2006.01) *C40B 30/04* (2006.01)
C40B 40/10 (2006.01) *G01N 33/574* (2006.01)
G01N 33/543 (2006.01) *C07K 7/06* (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2012/030223

(22) International Filing Date:

23 March 2012 (23.03.2012)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

61/467,256 24 March 2011 (24.03.2011) US
 61/491,717 31 May 2011 (31.05.2011) US
 61/583,881 6 January 2012 (06.01.2012) US

(71) Applicant (for all designated States except US): **OPKO PHARMACEUTICALS, LLC** [US/US]; 4400 Biscayne Blvd., Miami, FL 33137 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **MOOLA, Muralidhar, Reddy** [US/US]; 807 University Boulevard, #106,

Jupiter, FL 33458 (US). **SCHILKE, Jessica** [US/US]; 1315 Duval Street, Jupiter, FL 33458 (US).

(74) Agent: **COHEN, Mark, S.**; Pearl Cohen Zedek Latzer, LLP, 1500 Broadway, 12th Floor, New York, NY 10036 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,

[Continued on next page]

(54) Title: DIAGNOSTIC AND TREATMENT METHODS USING A LIGAND LIBRARY

TentaGel screen flow chart

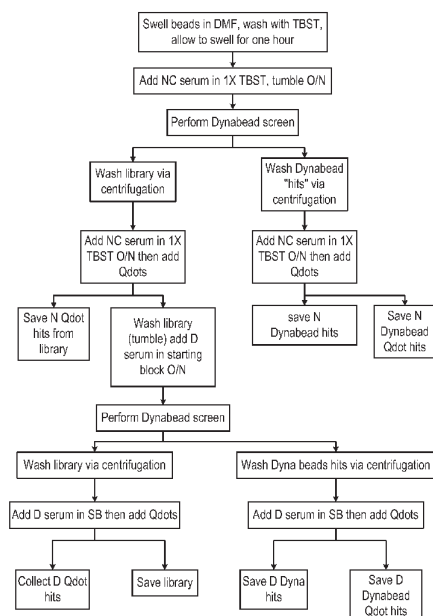


FIGURE 6

(57) Abstract: The invention relates to diagnostic and treatment methods using a ligand library. Specifically, the invention relates to using a ligand library to diagnose or detect a drug induced response, including drug adverse reaction, side effects, drug resistance, and therapeutic efficacy. The invention further relates to identifying biomarkers associated with a drug induced response and providing a personalized medical treatment.



SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

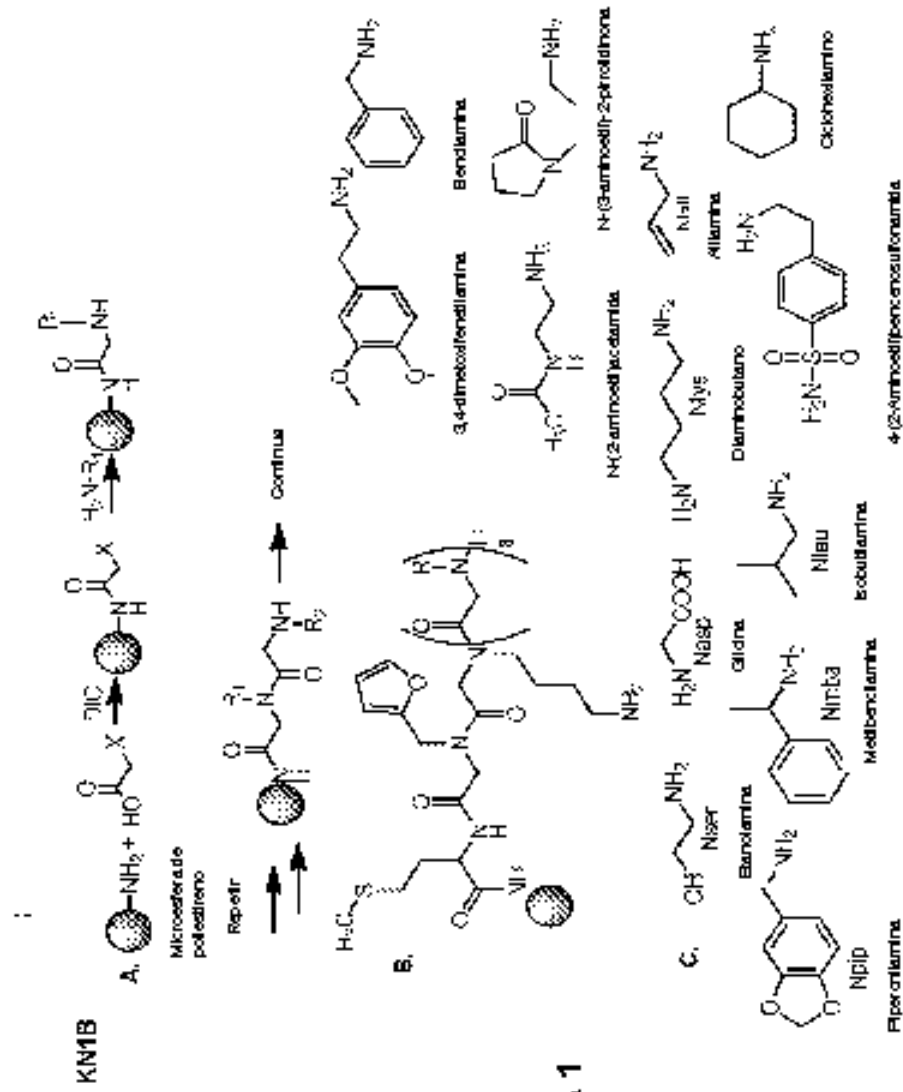
Published:

— *without international search report and to be republished upon receipt of that report (Rule 48.2(g))*

RESUMEN DE LA INVENCION

La invención se refiere a los métodos de diagnóstico y tratamiento mediante una genoteca de ligandos.

5 Específicamente, la invención se refiere a usar una genoteca de ligandos para diagnosticar o detectar una respuesta inducida por fármacos, incluyendo reacciones adversas de fármacos, efectos secundarios, resistencia a los fármacos y eficacia terapéutica. La invención además se refiere a la
10 identificación de biomarcadores asociados con una respuesta inducida por fármacos y proporcionar un tratamiento médico personalizado.



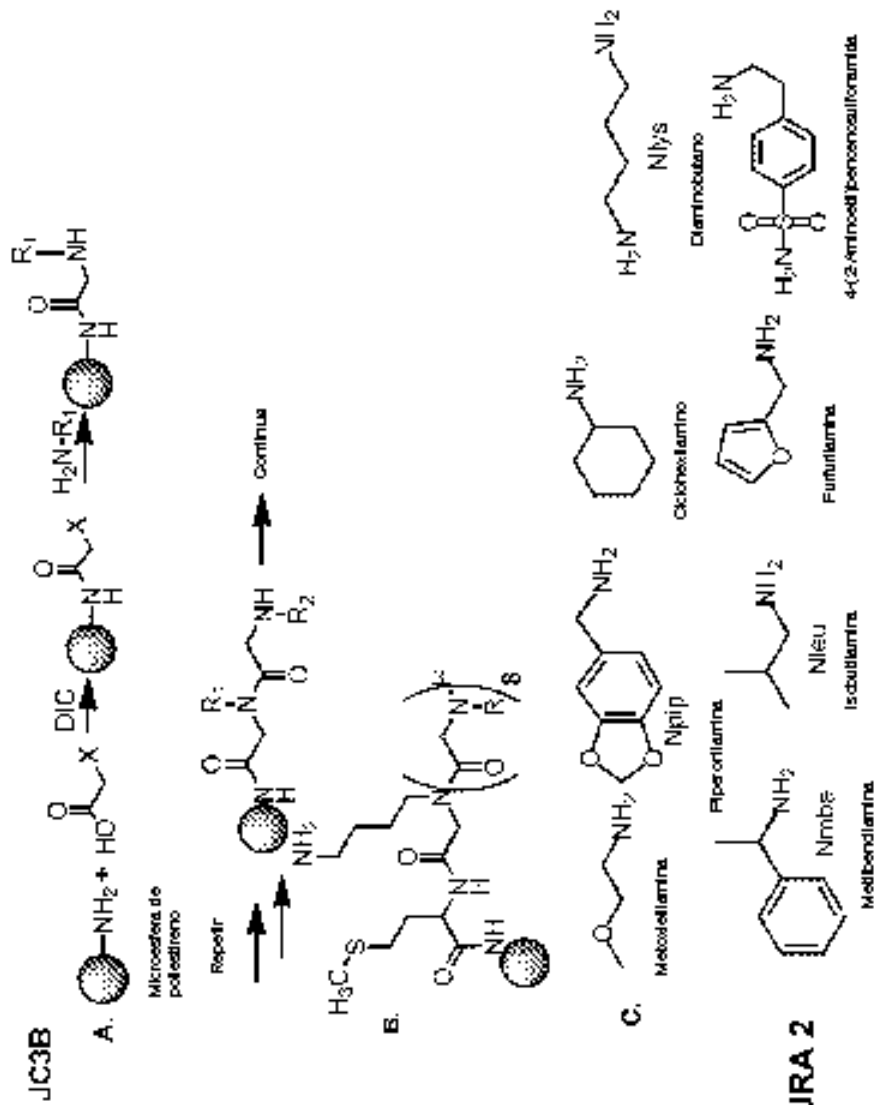


FIGURA 2

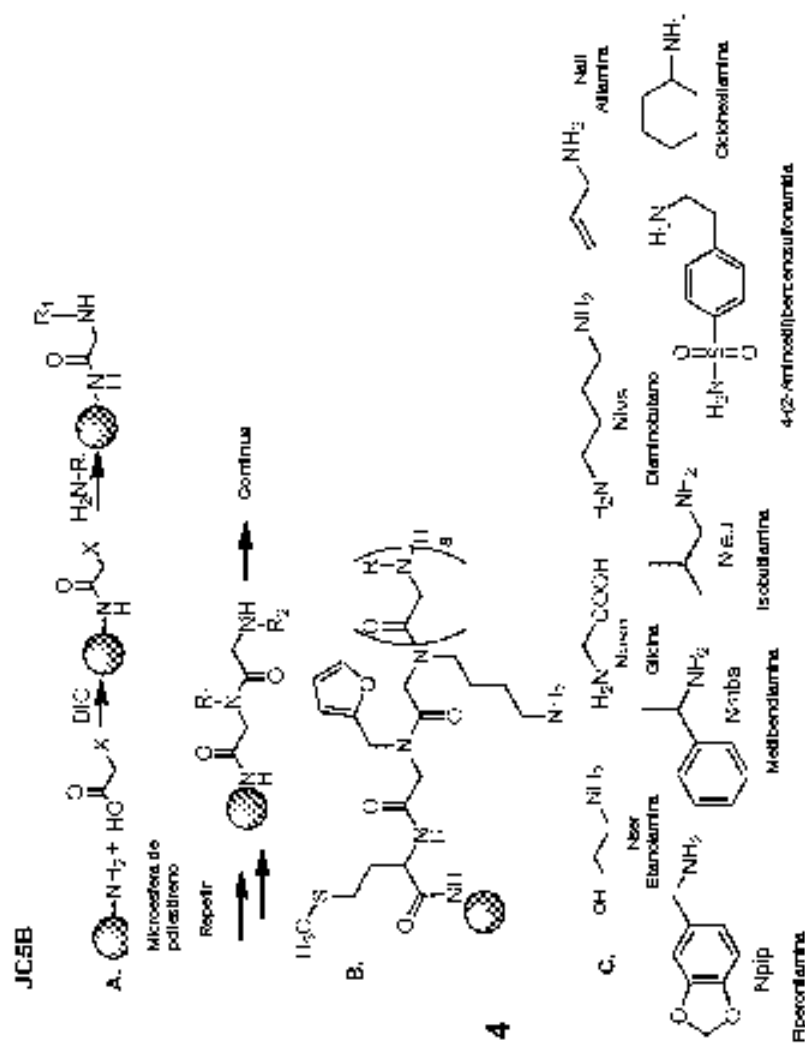


Diagrama de flujo de tamiz TentaGel

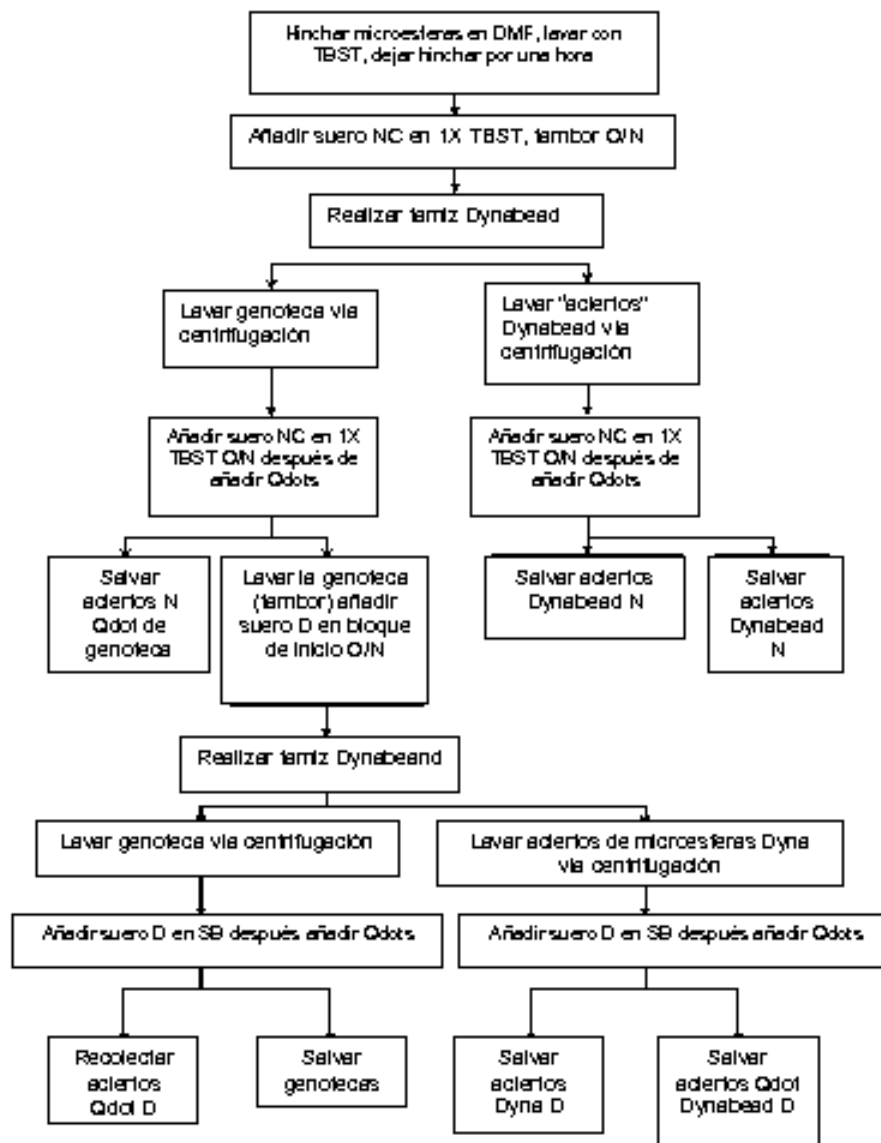
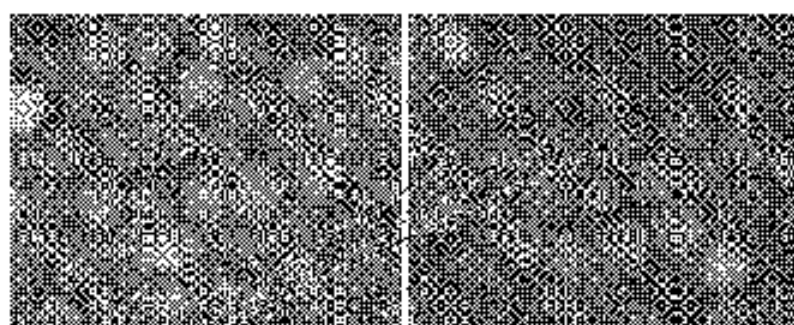


FIGURA 6

Aciertos de Dynabead NC de genoteca JC3 después de la adición
de Qdot



"bclario" elegido

FIGURA 7

Selección de genoteca TentaGel con suero enfermo

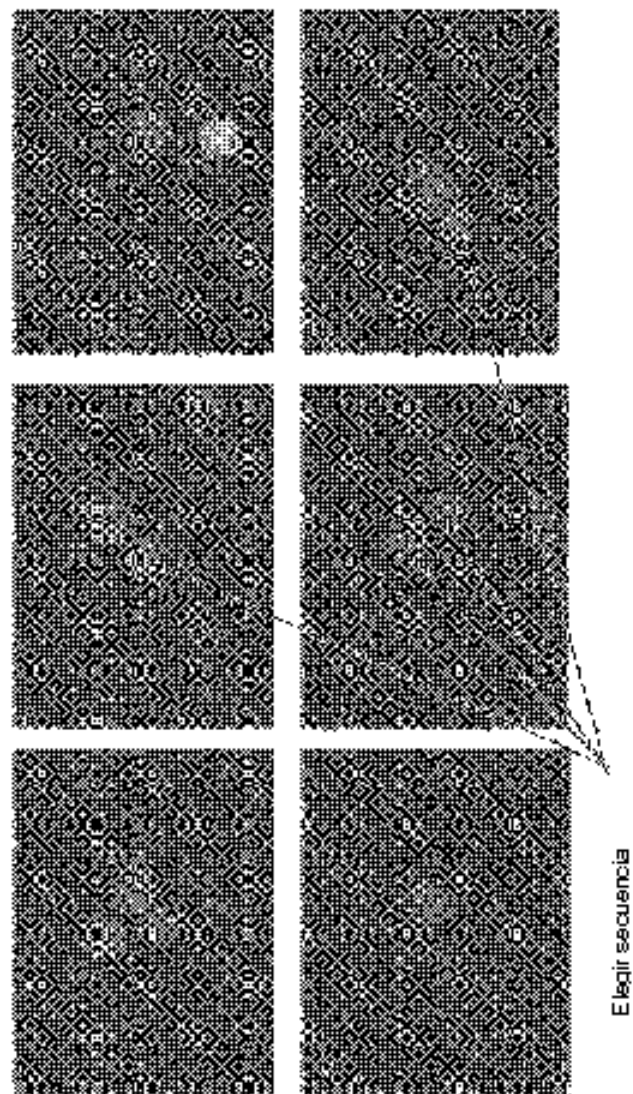


"bclario" elegido

FIGURA 8

FIGURA 9

Prueba de reproducibilidad (muestra NC 030.003 después de lavar con SDS y la adición de Qdot



Prueba de reproducibilidad (muestra NC 060047 después de lavar con SDS y la adición de Qdot

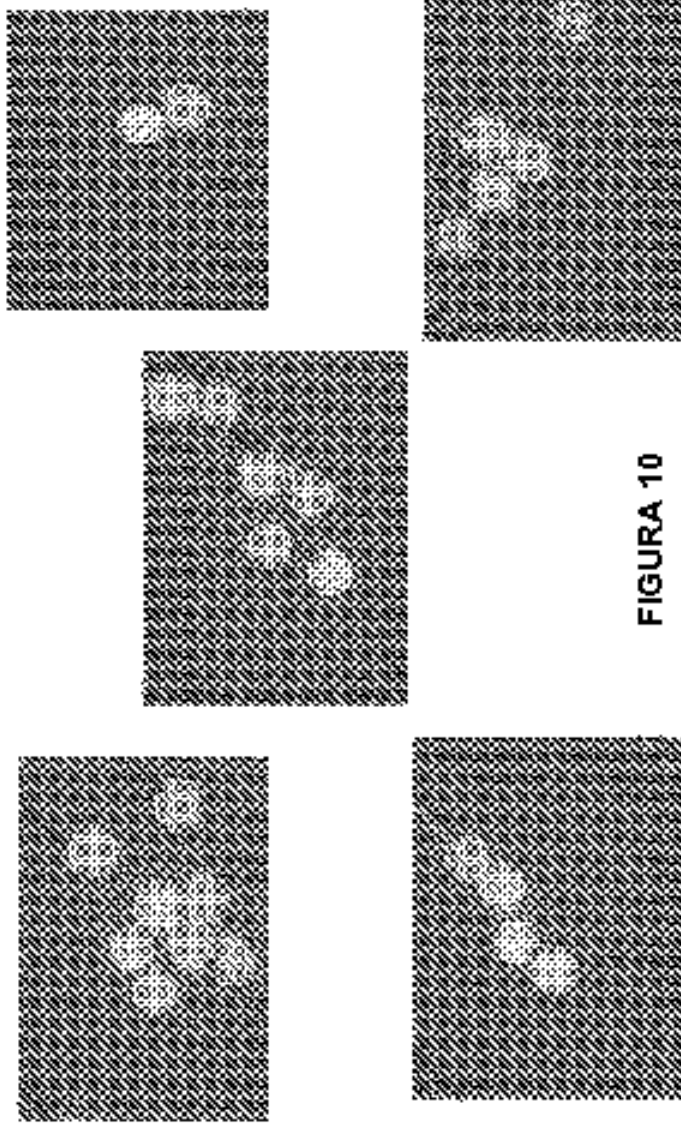
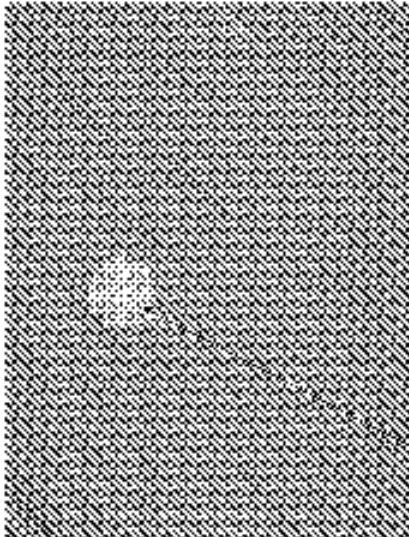
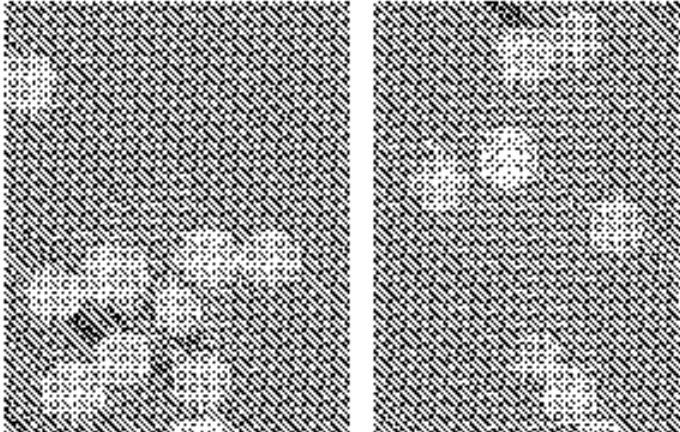


FIGURA 10

Prueba de reproducibilidad (muestra enferma después de lavar con SDS y la adición de Qdot



Eliminar antes de la siguiente adición de suero/lavar con SDS

FIGURA 11

Estructuras químicas de
aditivos putativos
seleccionados

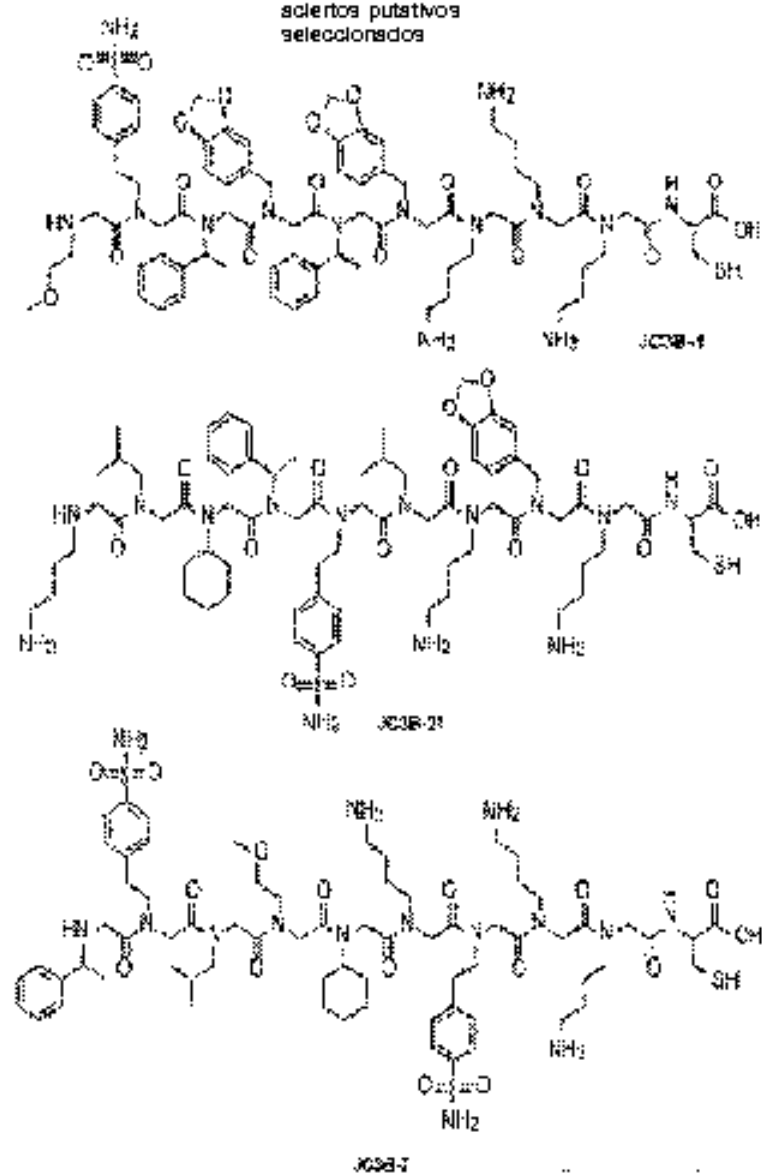
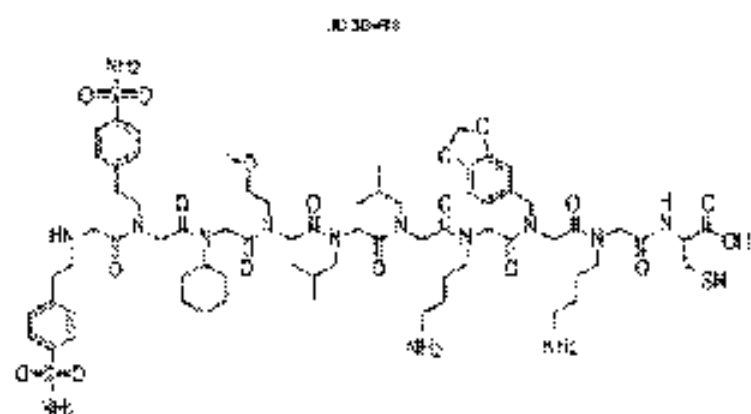
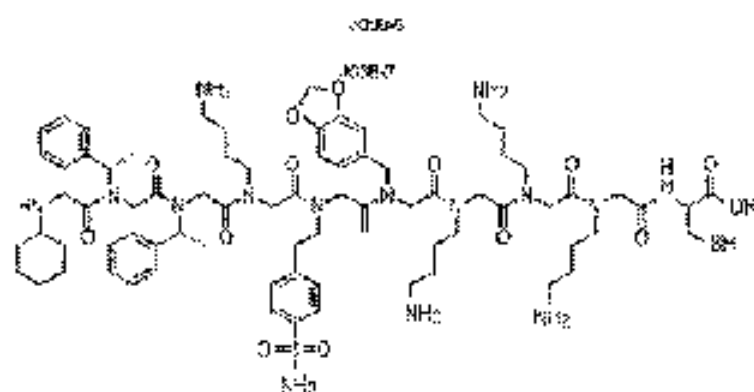
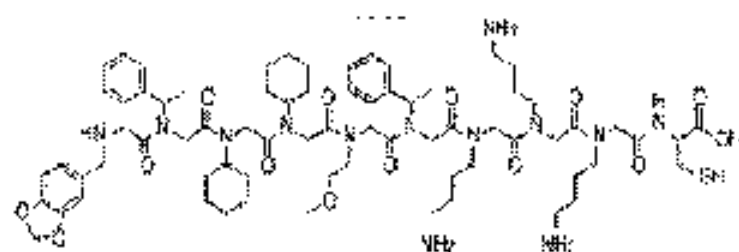


FIGURA 13A



XG19-F12

FIGURA 13B

Experimento de competición

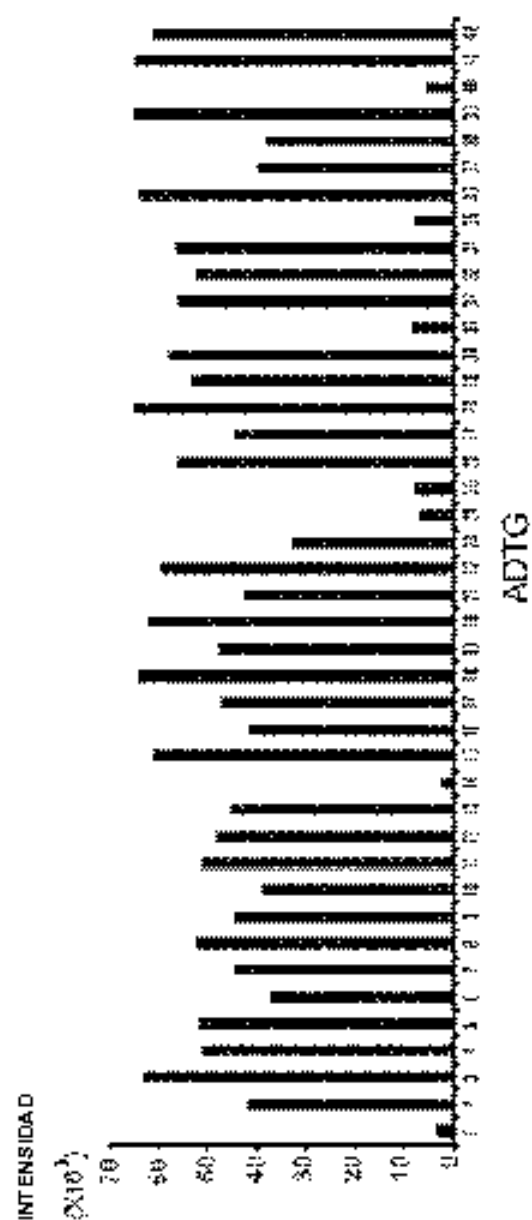


FIGURA 14

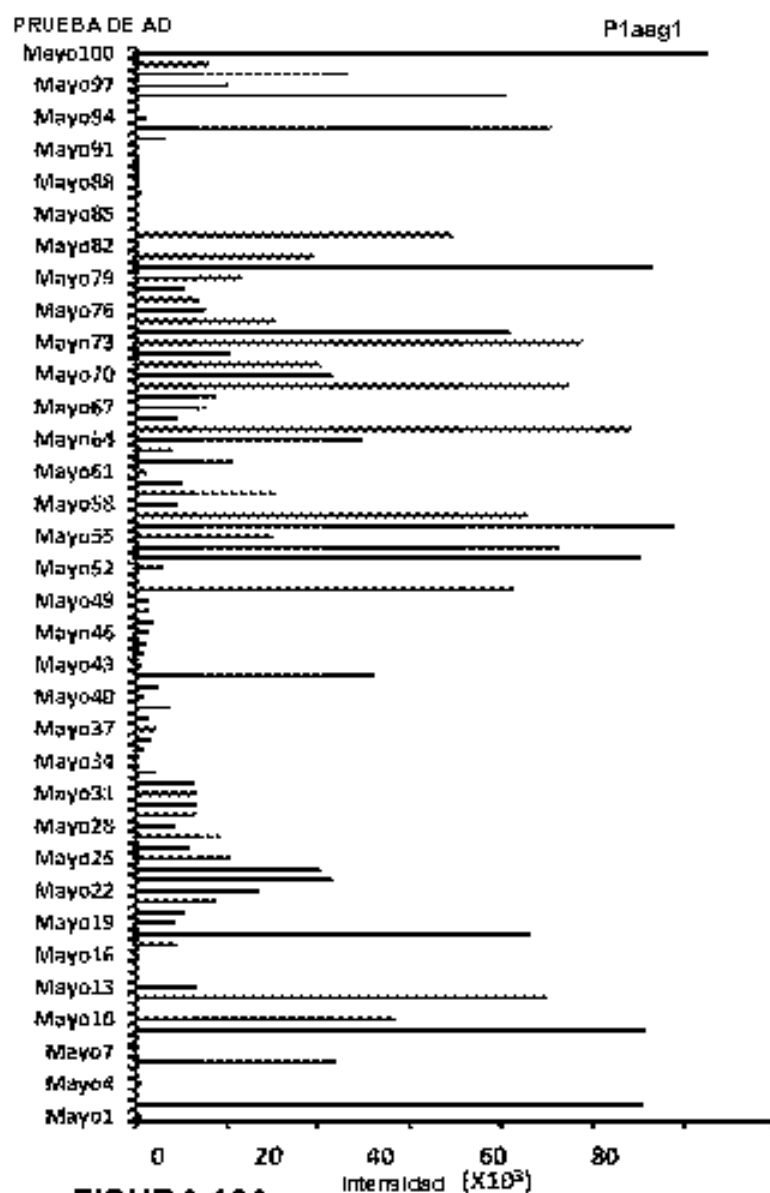
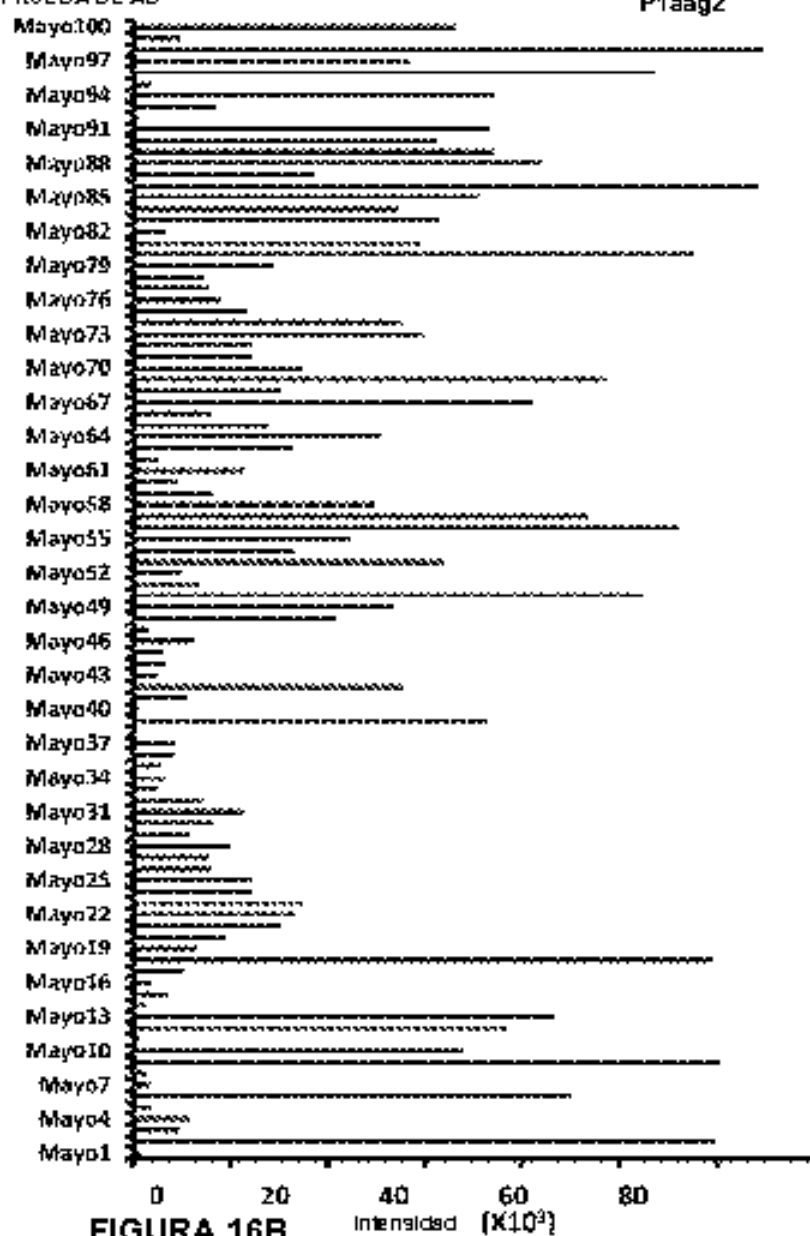


FIGURA 16A

PRUEBA DE AD

P1aag2



PRUEBA DE AD

P1aag3

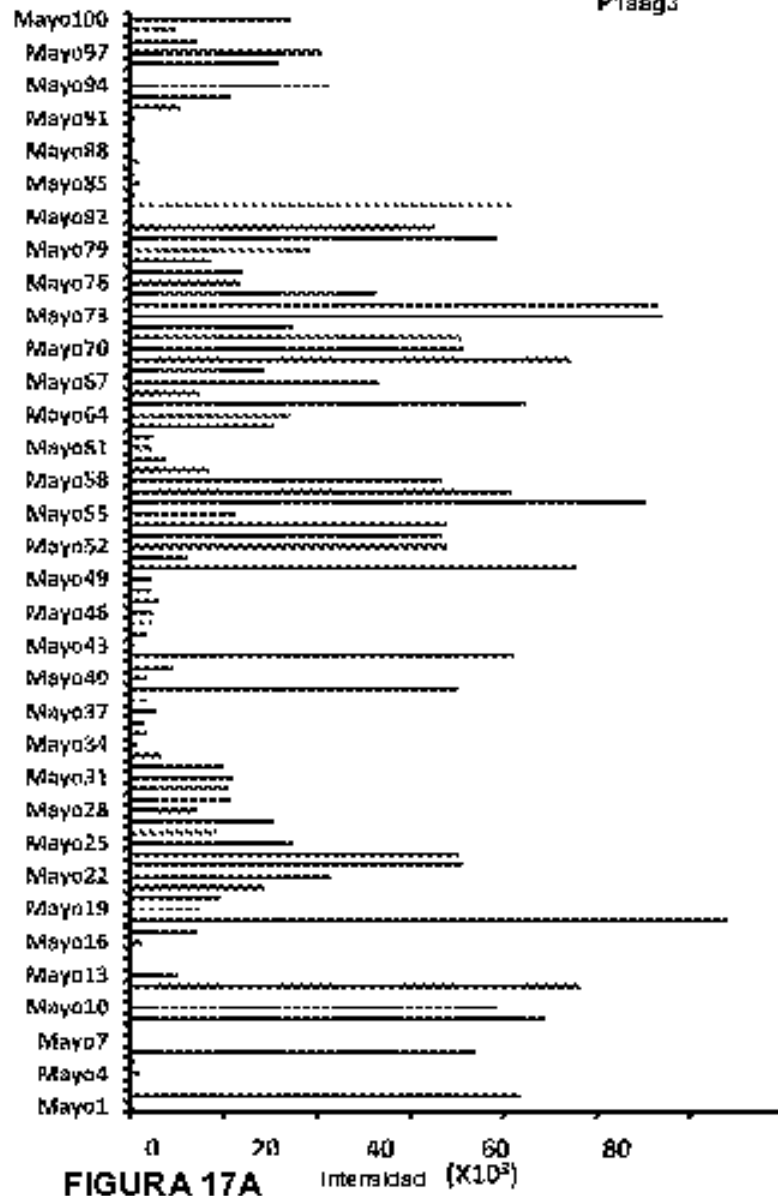
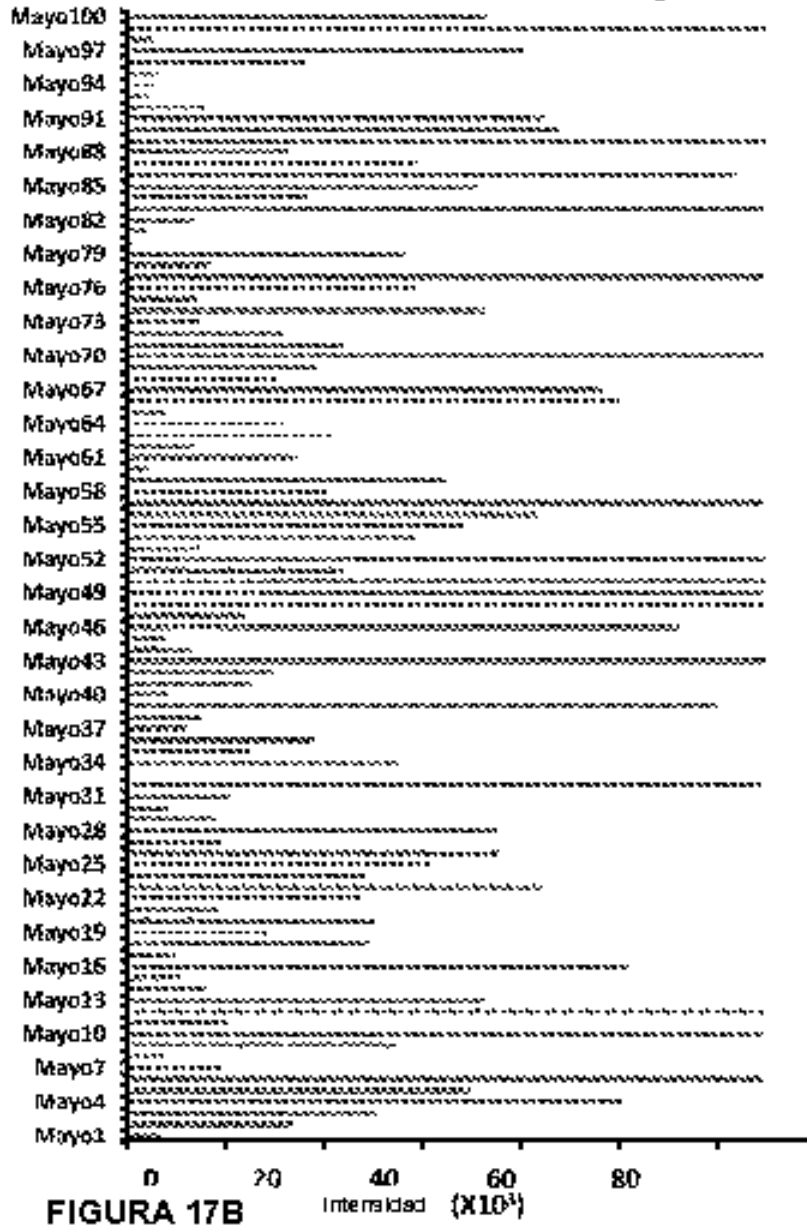


FIGURA 17A

Intensidad ($\times 10^3$)

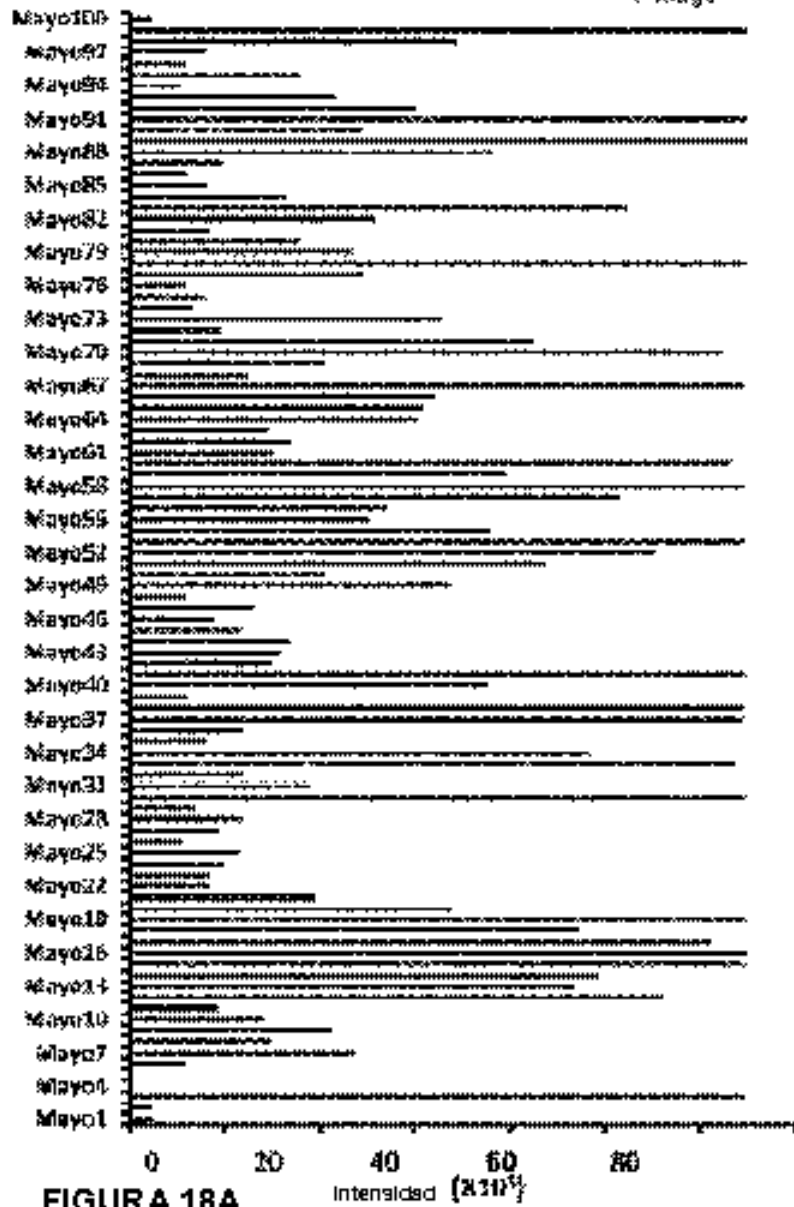
PRUEBA DE AD

P1aag4



PRUEBA DE AD

Pitag!



PRUEBA DE AD

P1aagB



FIGURA 18B

PRUEBA DE AD

ADP2

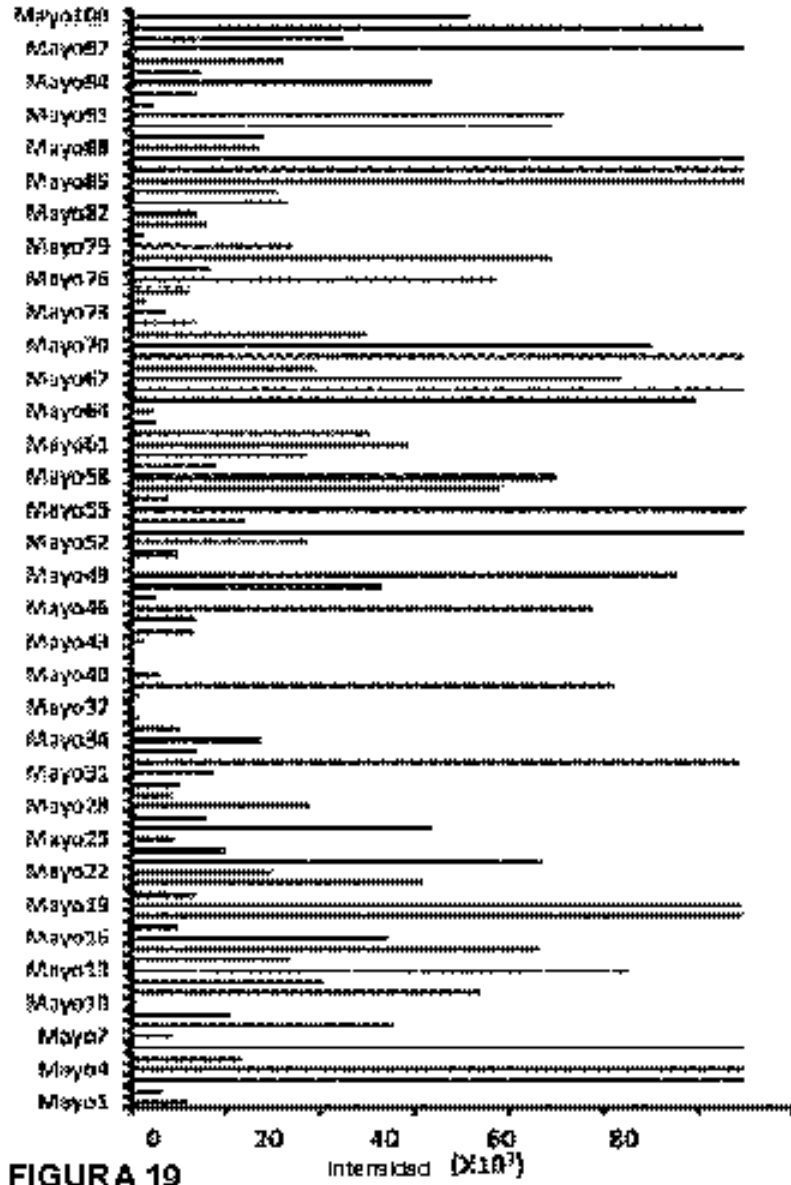


FIGURA 19

PRUEBA DE AD

P1aag4



FIGURA 19B

Intervales ($\times 10^3$)

PRUEBA DE AD

ADP3

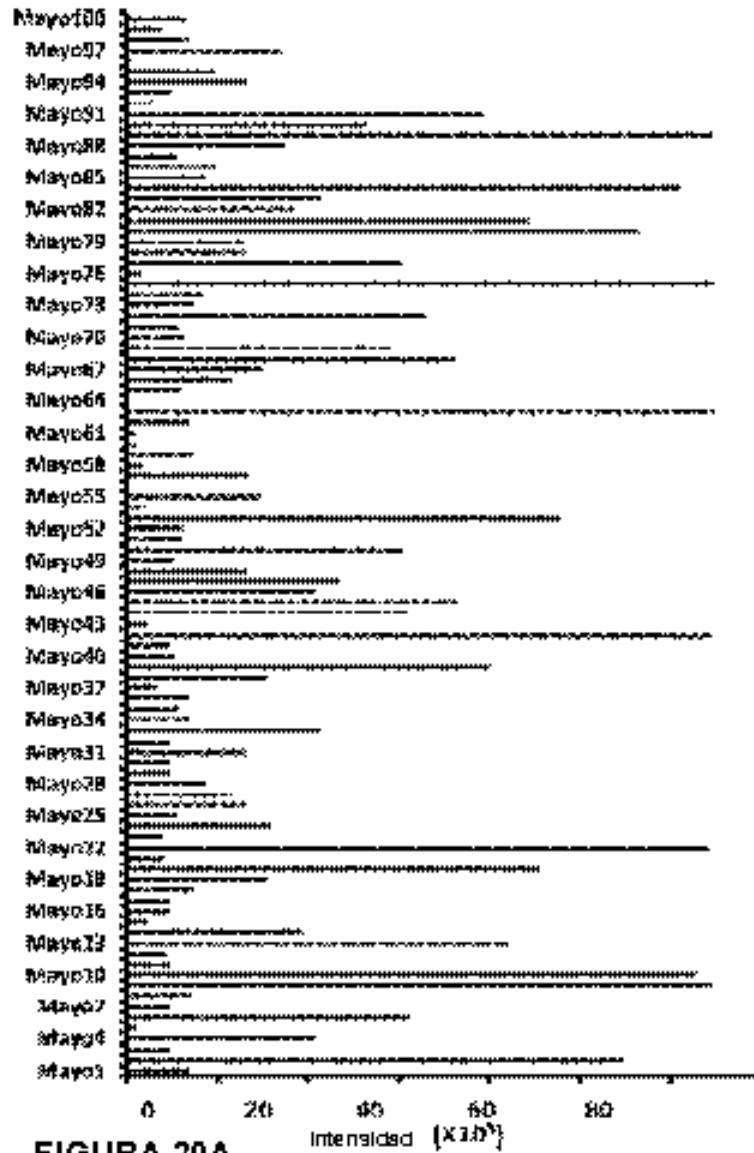
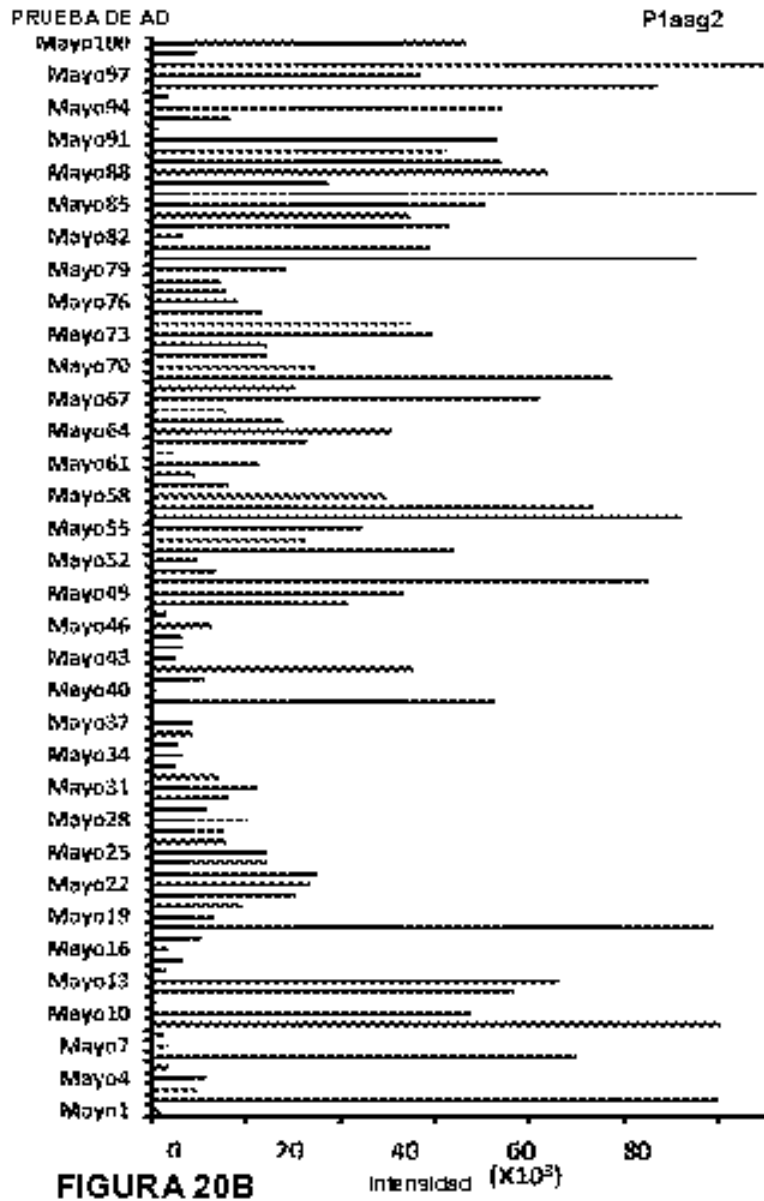
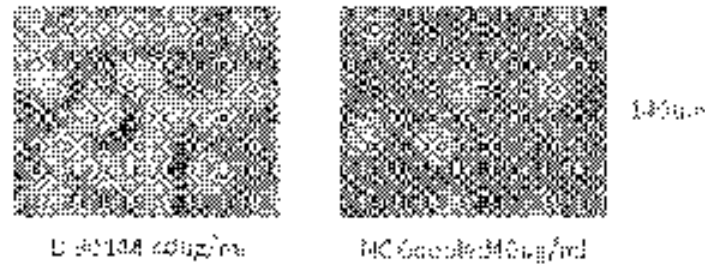


FIGURA 20A



Validación en microesferas TentaGel



Nota: Validación en microesferas TentaGel se puede usar como prueba colorimétrica para el punto de cuidado

FIGURA 21

Adierios de JC5B

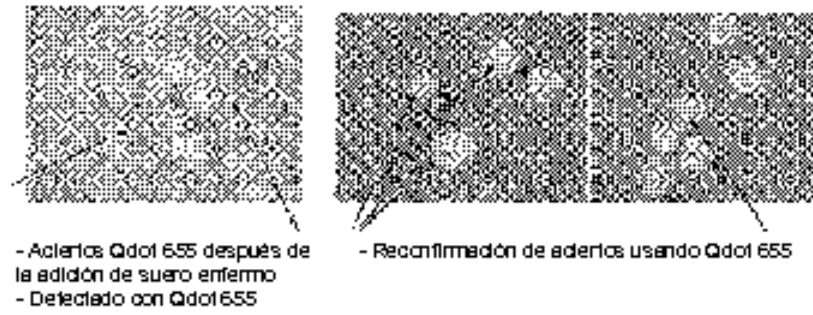
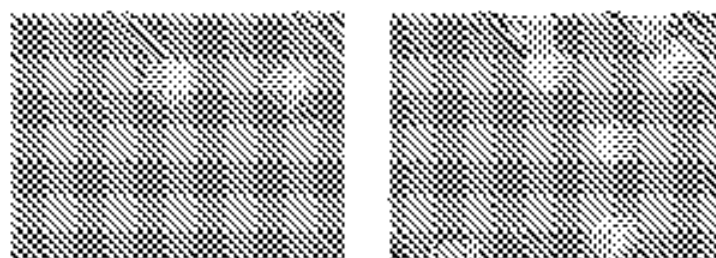


FIGURA 22

Validación de adentro



- Después de la adición de suero
enfermo
- Detectado con Qdot 655

- Después de la adición de suero
normal
- Detectado con Qdot 655

FIGURA 23

Validación de adentro por mezclado

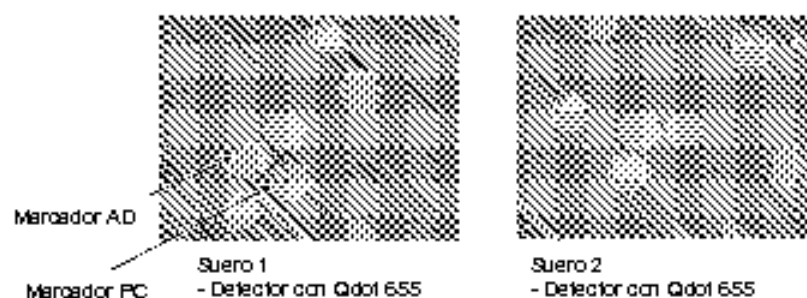


FIGURA 24

Tamiz de genoteca SLE

**FIGURA 27**

Validación del acierto para el peptido KN1B-20

**FIGURA 29**

ELISA

Unión de KN1B-20-biotina-fluoresceína a placas ELISA

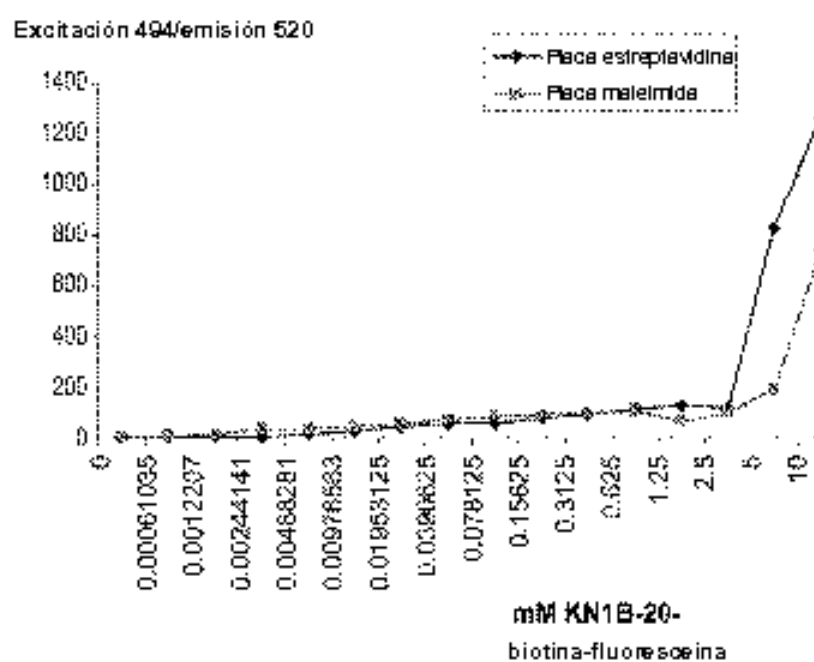
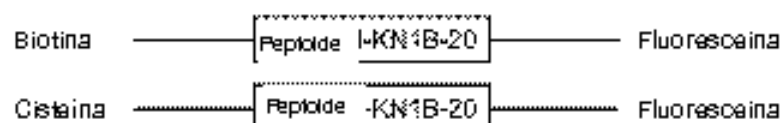


FIGURA 30

Ensayo de competición

1 mM KN1B-20-biotina-fluoresceína vs. 0, 1, 5, 10 y 50 mM KN1B-20-biotina

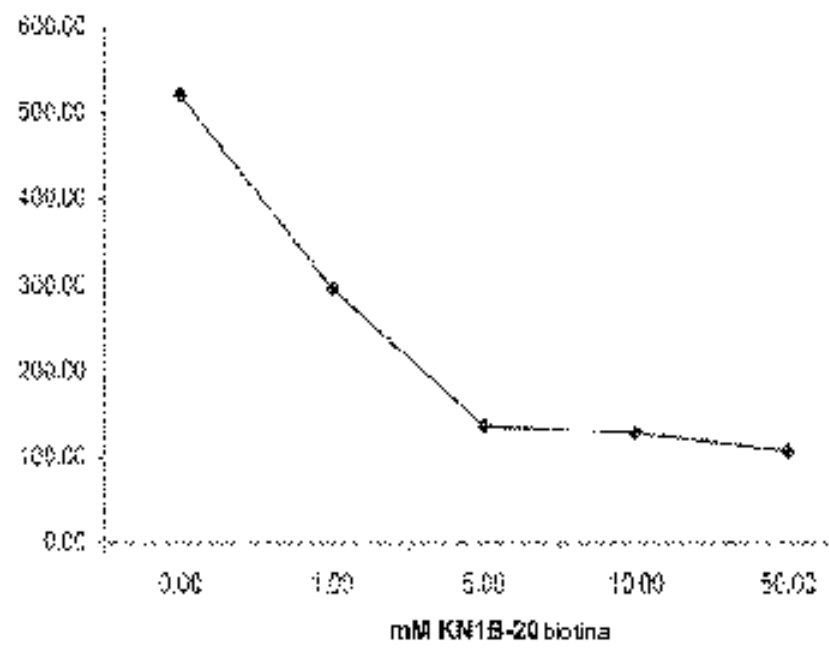
Excitación 494 nm/
emisión 520 nm

FIGURA 31

Validación de peptoides en ELISA y plataformas TentaGel

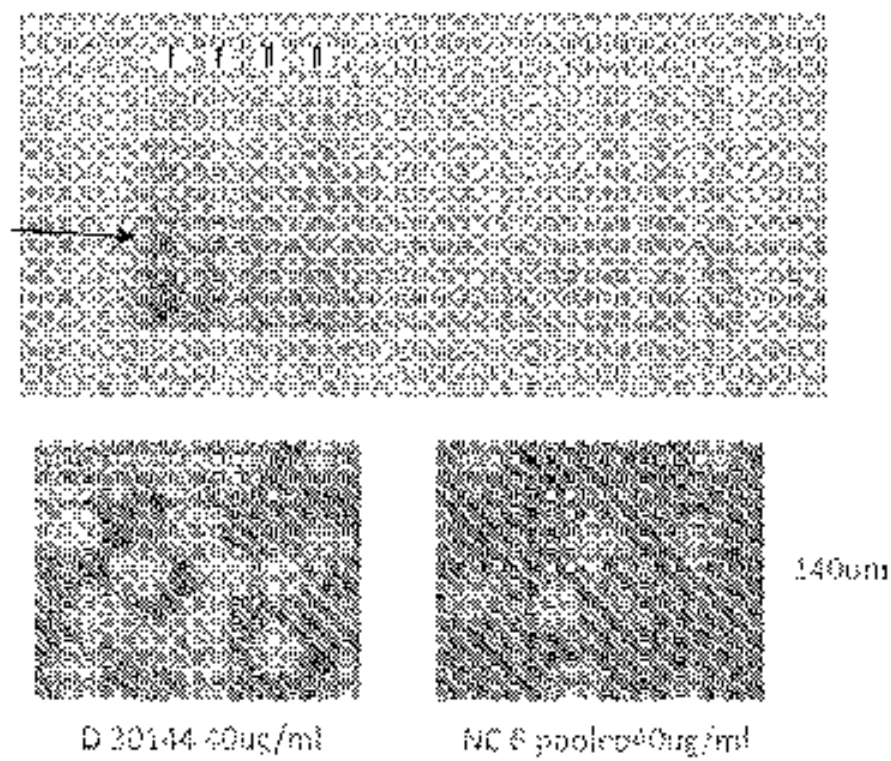


FIGURA 32

ELISA con 10mM ADP3

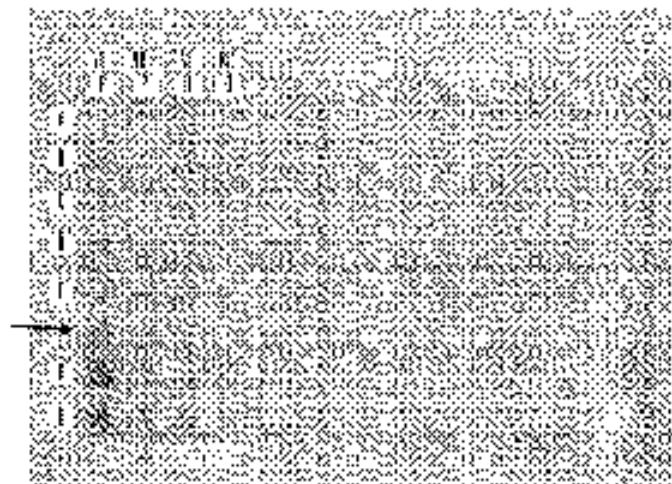


FIGURA 33

ELISA con 10mM SLE-KN1B-20

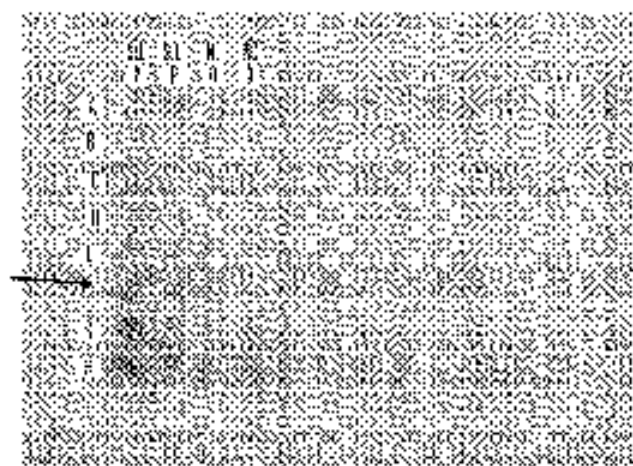


FIGURA 34

Suero AD ELISA con ADP3 10 mM (preparado en regulador de pH de unión)

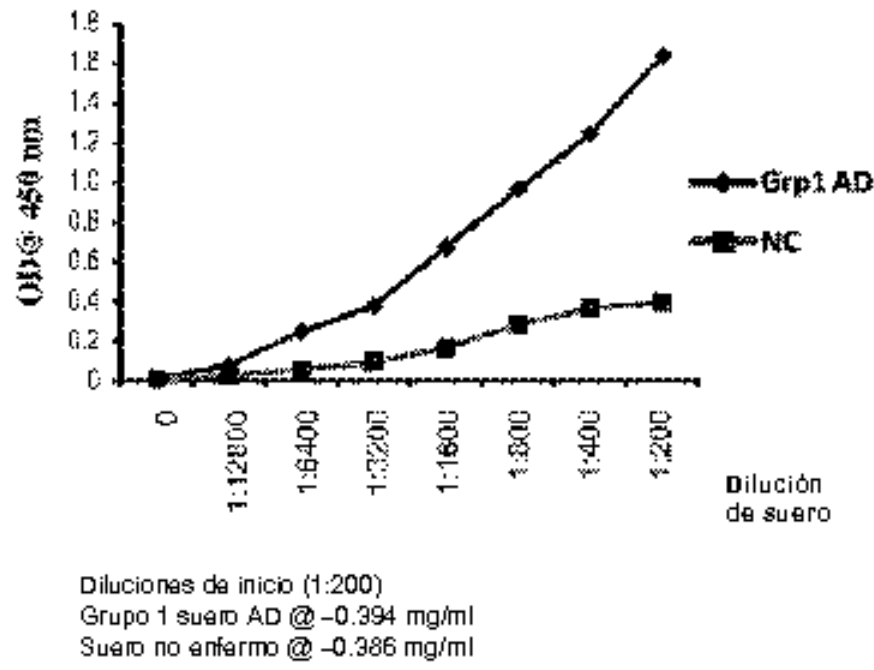


FIGURA 35

ELISA de suero SLE con 10mM KN1B-20
(preparado en DMSO)

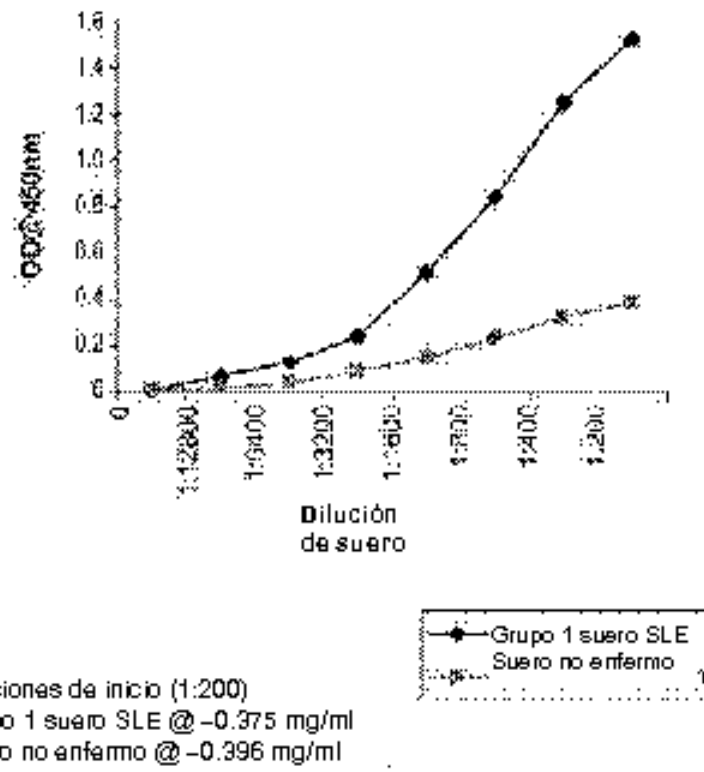


FIGURA 36

ELISA de suero SLE con 10mM KN1B-20
(preparado en DMSO)

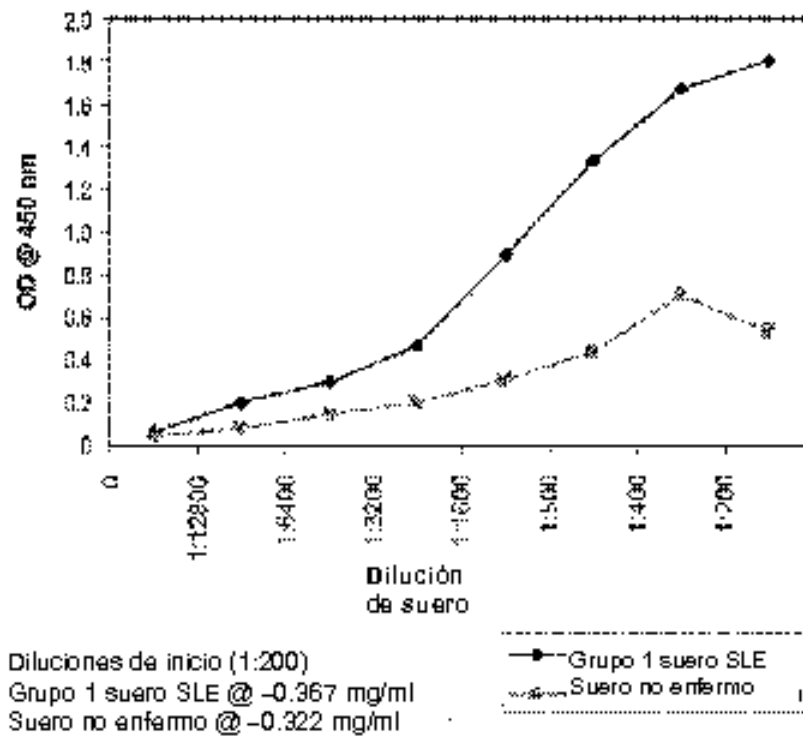


FIGURA 37

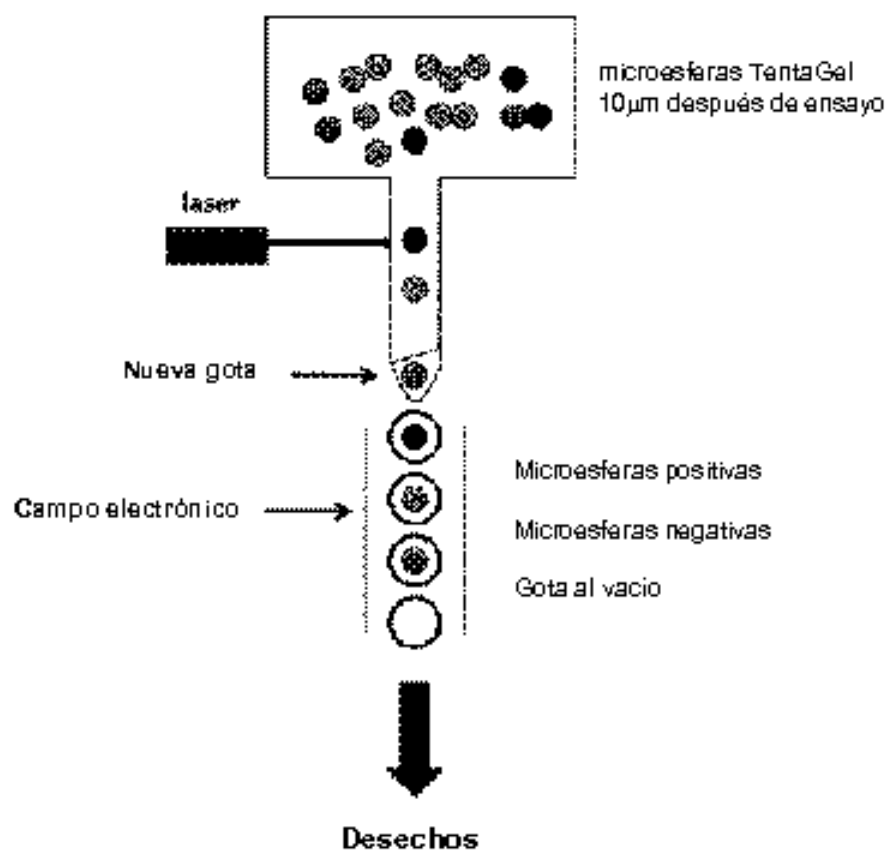


FIGURA 38

Estudio modelo: unión del grupo 2,5-dinitrofenilo (DNP) al anticuerpo anti-DNP

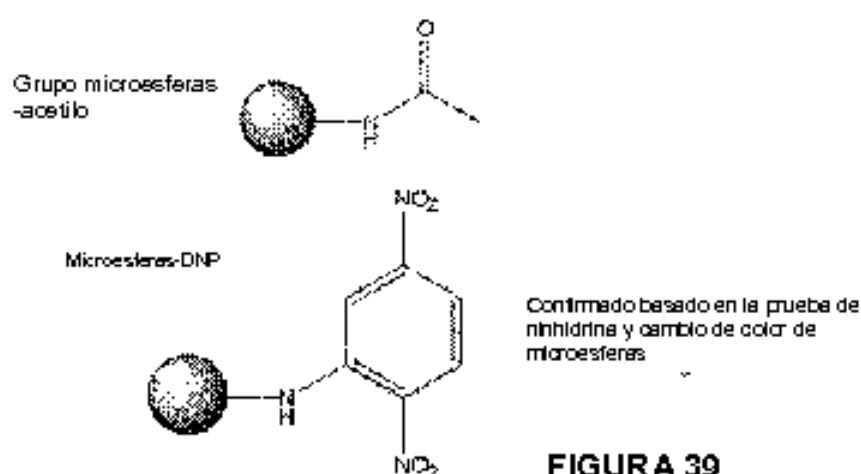
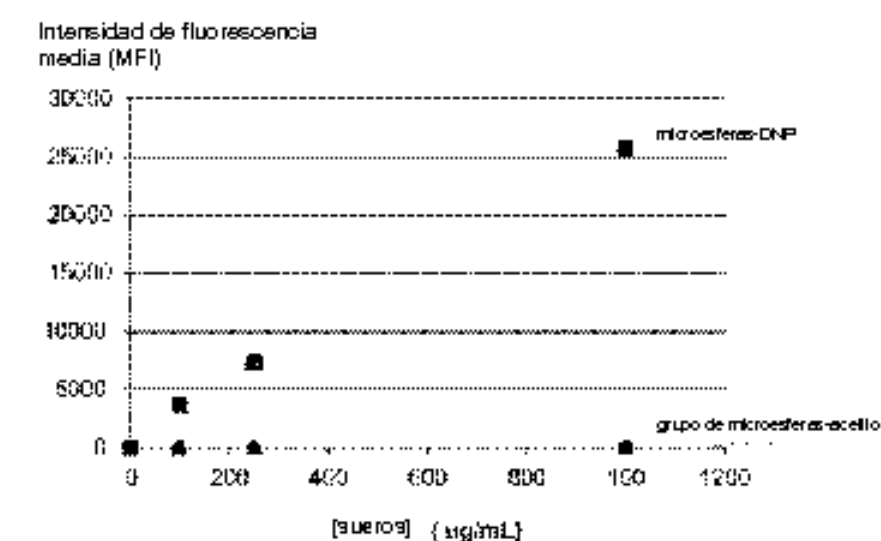


FIGURA 39

Etanolamina-DNP competido en la unión de DNP al anticuerpo anti-DNP

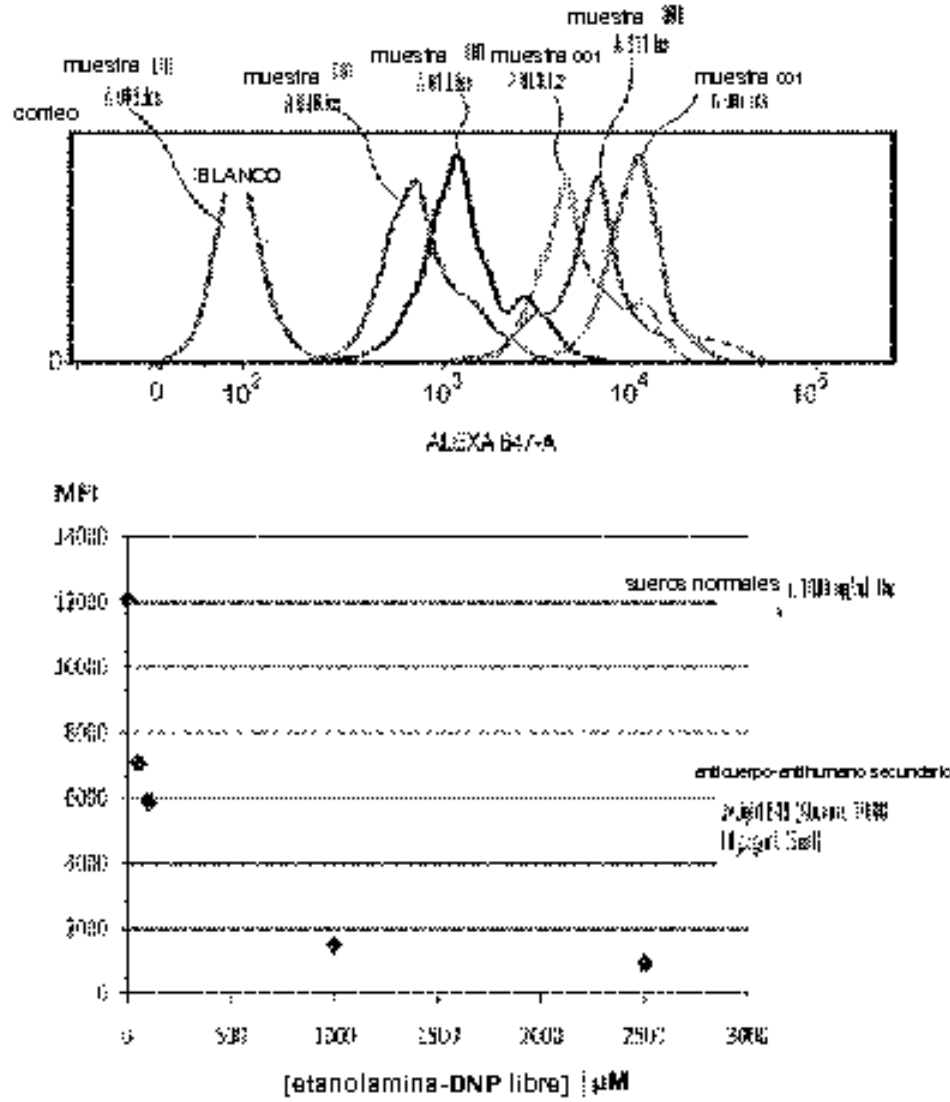


FIGURA 40

Auto-anticuerpo unido a ADP3 de control normal agrupado y sueros de enfermedad de Alzheimer (AD) agrupados

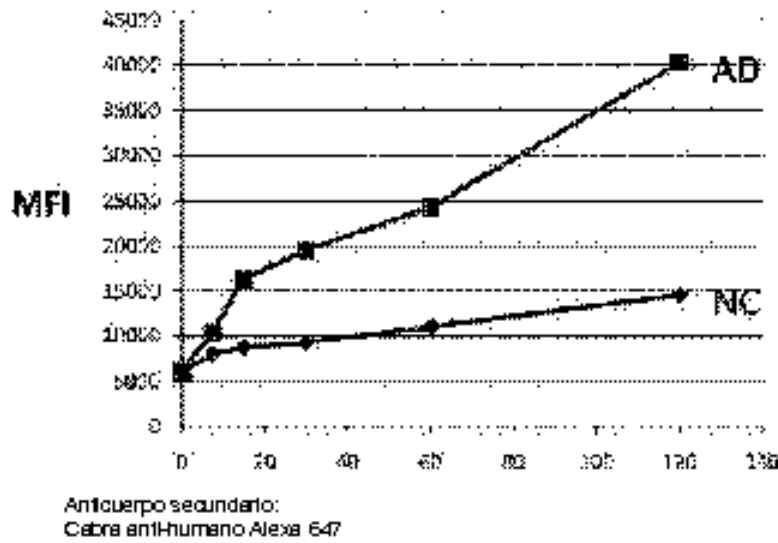
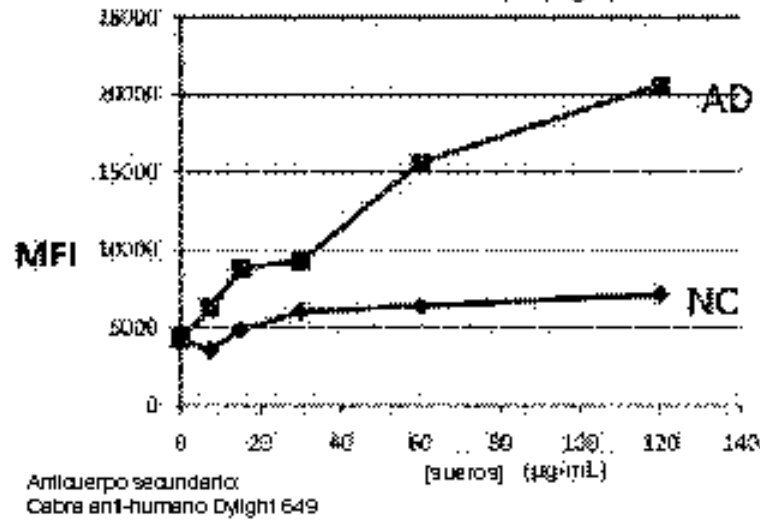


FIGURA 41A

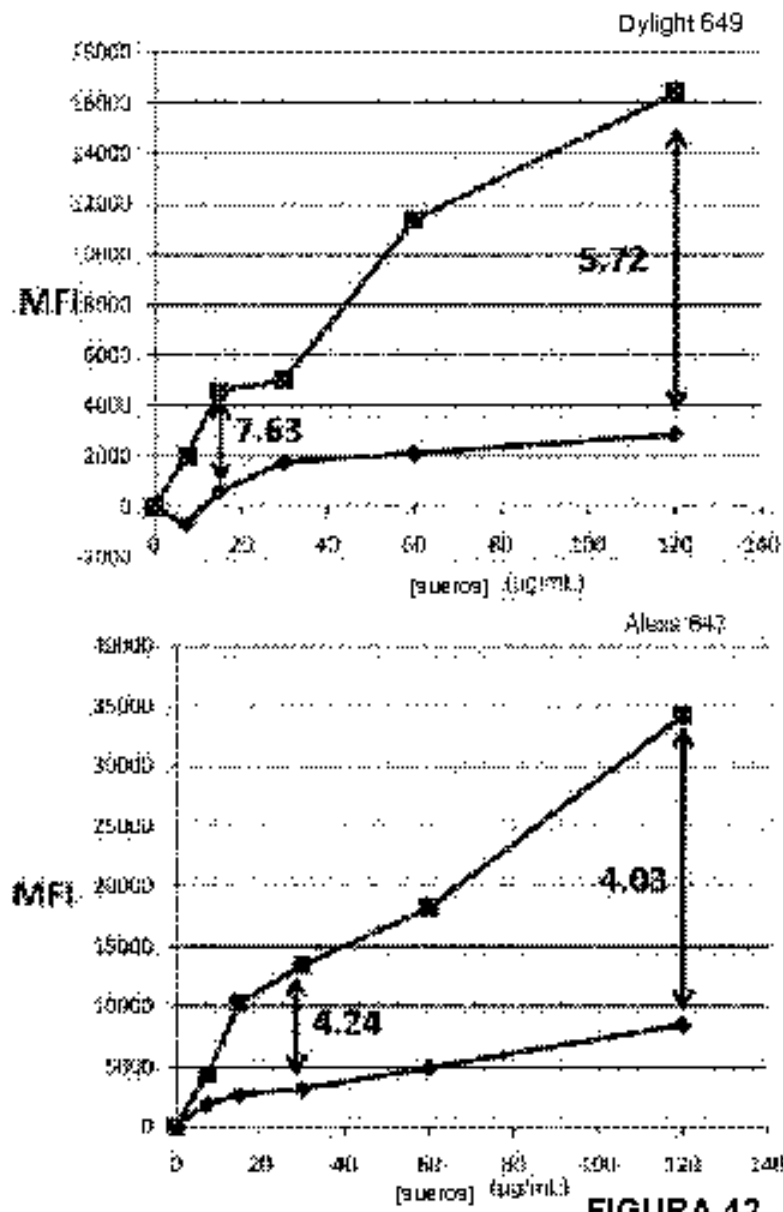


FIGURA 42

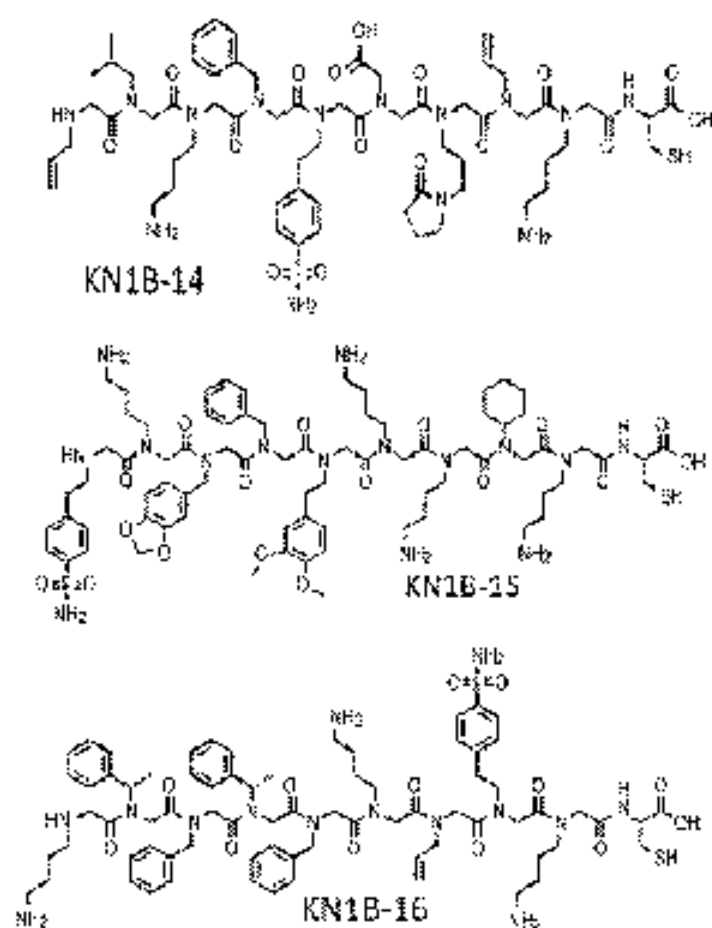


FIGURA 43A

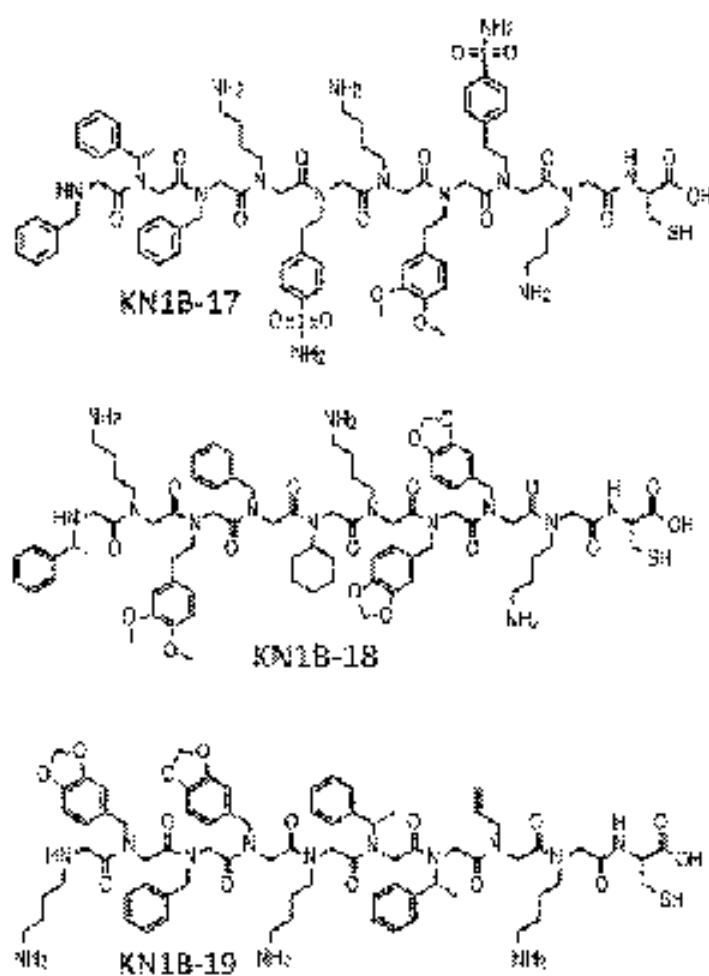


FIGURA 43B

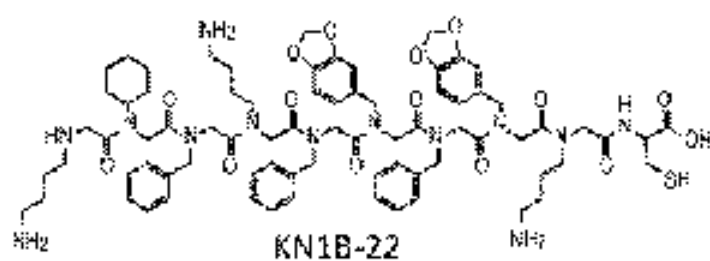
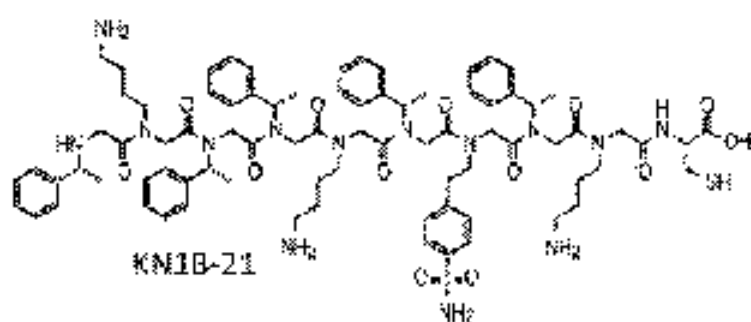
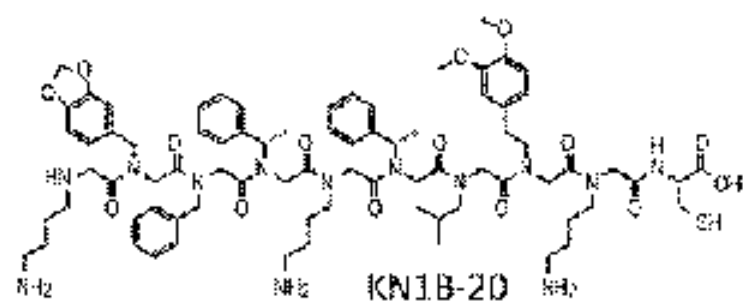
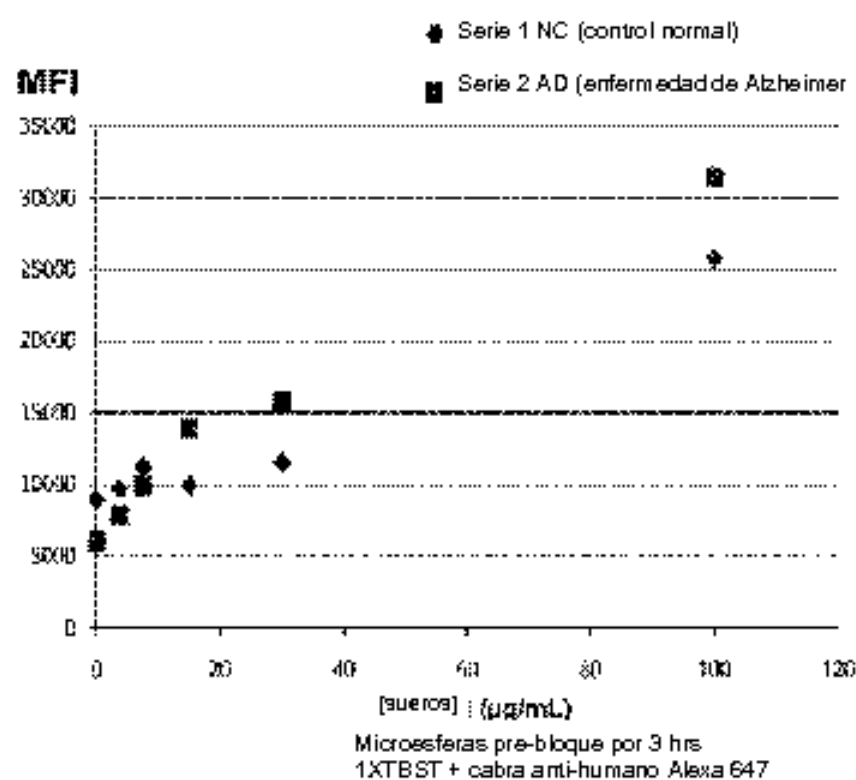


FIGURA 44

Auto-anticuerpo unido a ADP3 del control normal y sueros de enfermedad de Alzheimer



[sueros] (µg/mL)	0	3.75	7.5	15	30	100
NC	8956	9732	11105	9702	13516	25772
AD	6023	7841	9836	13058	15713	31483

FIGURA 46

Auto-anticuerpo unido a ADP3 del control normal y sueros de enfermedad de Alzheimer

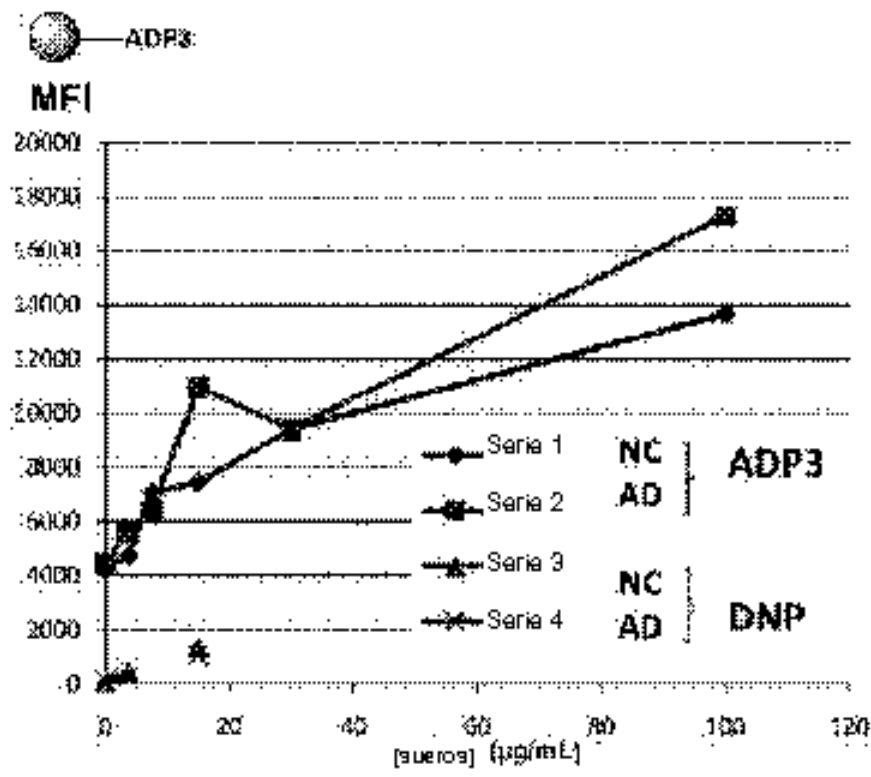


FIGURA 47

Auto-anticuerpo unido a ADP3 de control normal (NC) y sueros de enfermedad de Alzheimer (AD)

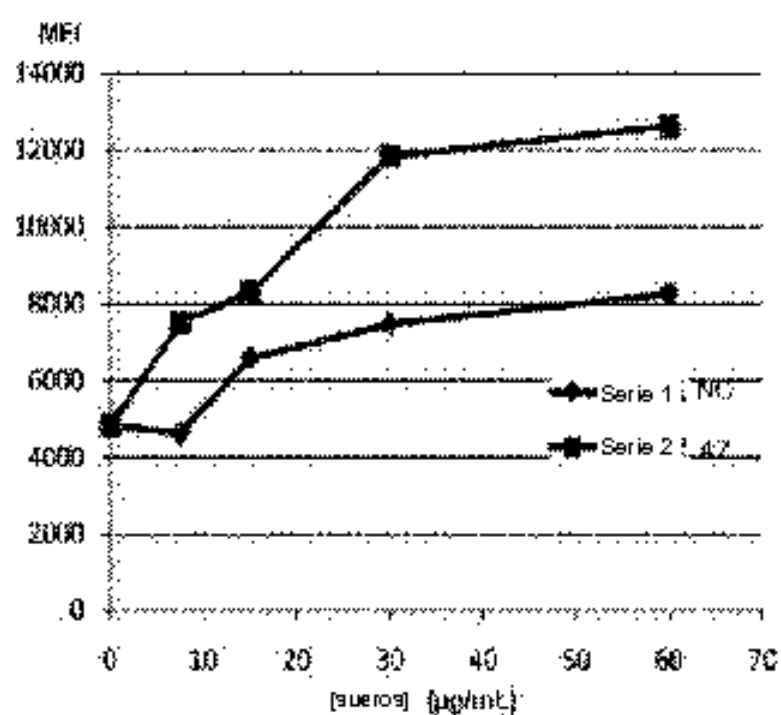
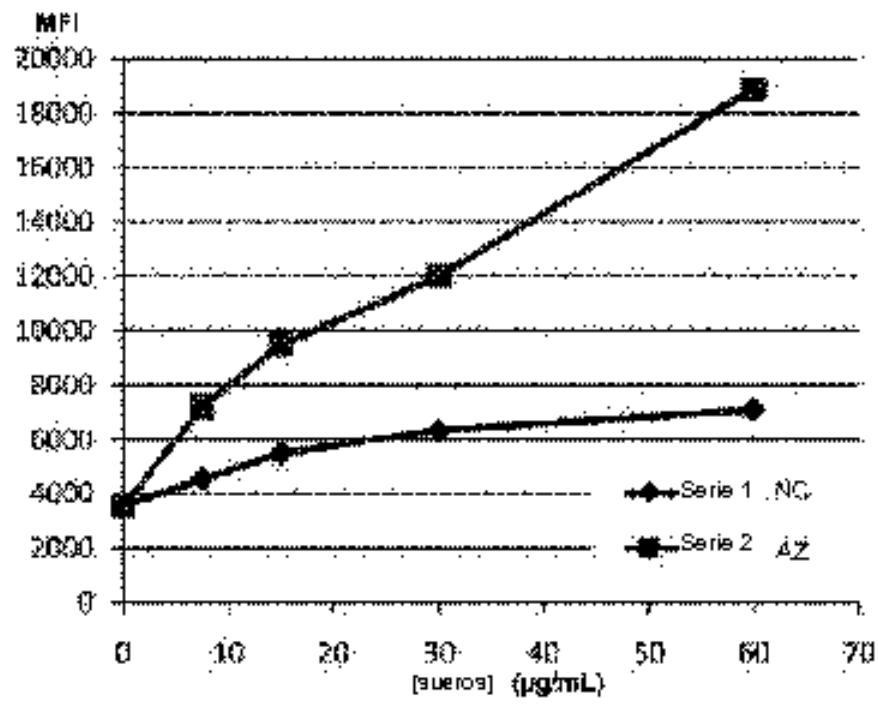


FIGURA 48

Auto-anticuerpo unido a ADP3 de control normal (NC) y sueros de enfermedad de Alzheimer (AD)



1. Pre-bloqueo en lisado E. coli + lisina 1% por 3 hrs
2. Regulador de pH + cabra anti-humano Alexa 647

FIGURA 49

Datos de titulación – de conformidad entre el diagnóstico clínico y prueba Ophkon

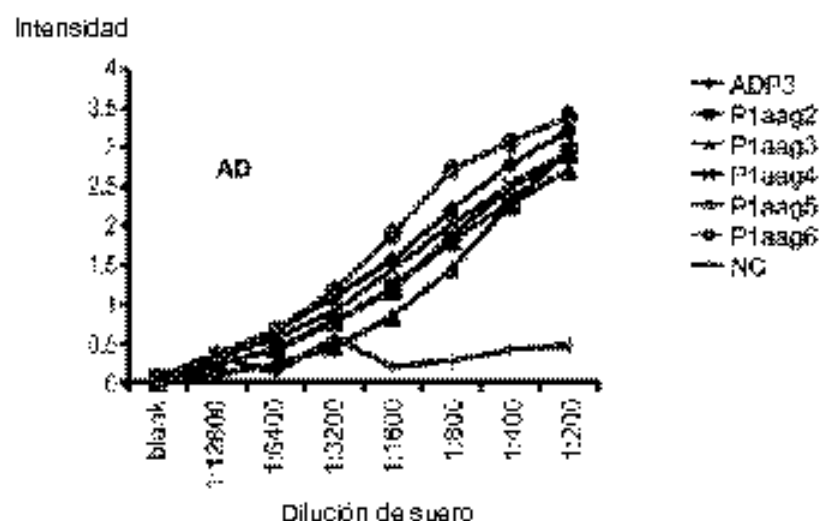


FIGURA 52A

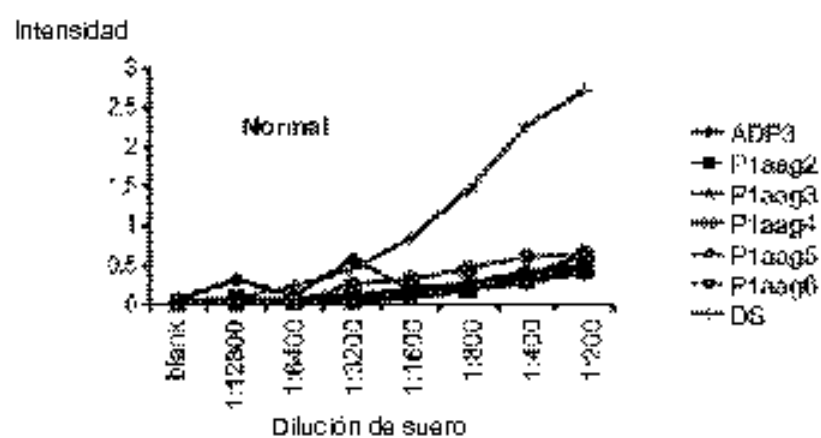


FIGURA 52B

Validación de ADP3 en la plataforma ELISA

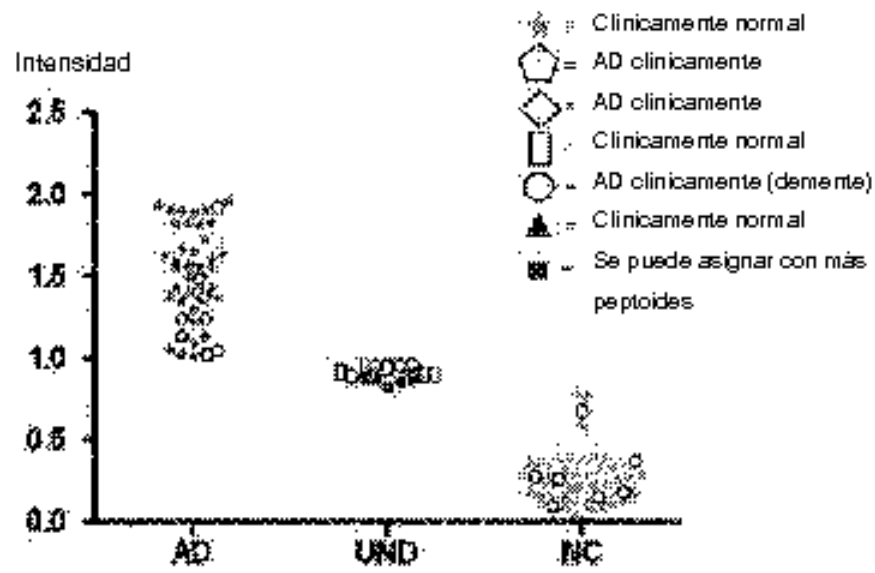


FIGURA 53

Validación de peptoides (Plaag1-9) como marcadores selectivos para la enfermedad de Alzheimer en la Plataforma ELISA

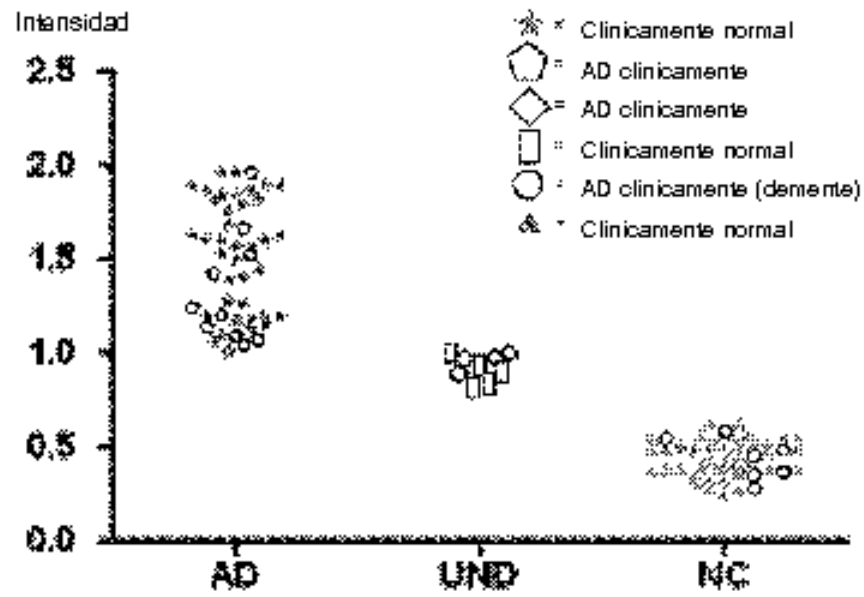


FIGURA 54

Realización de Otras Demancias

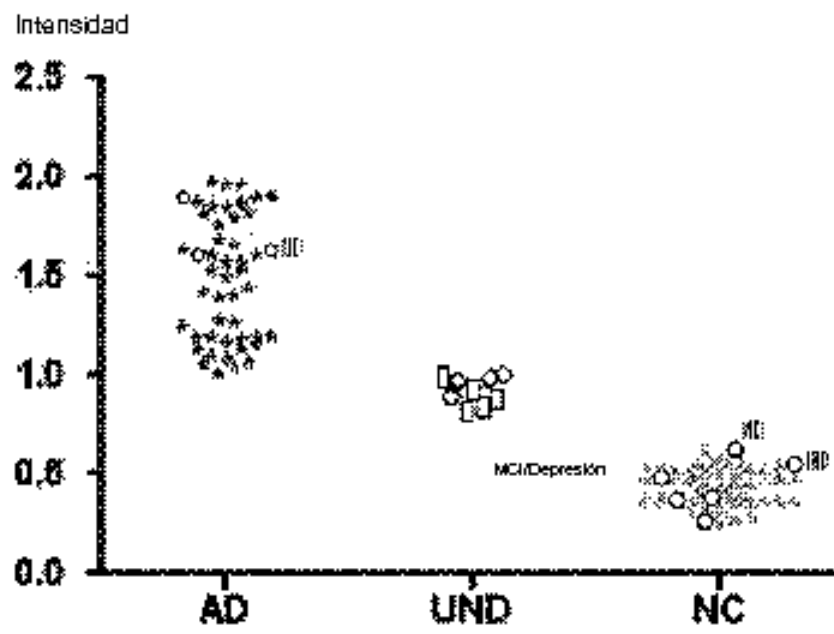
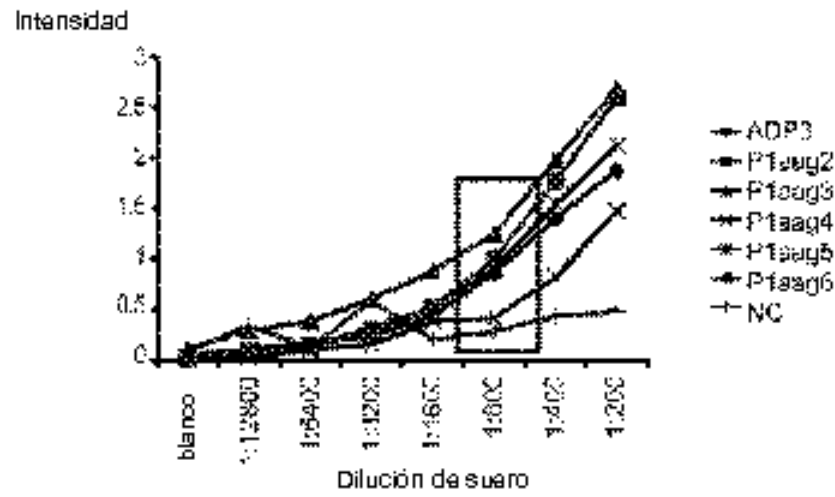


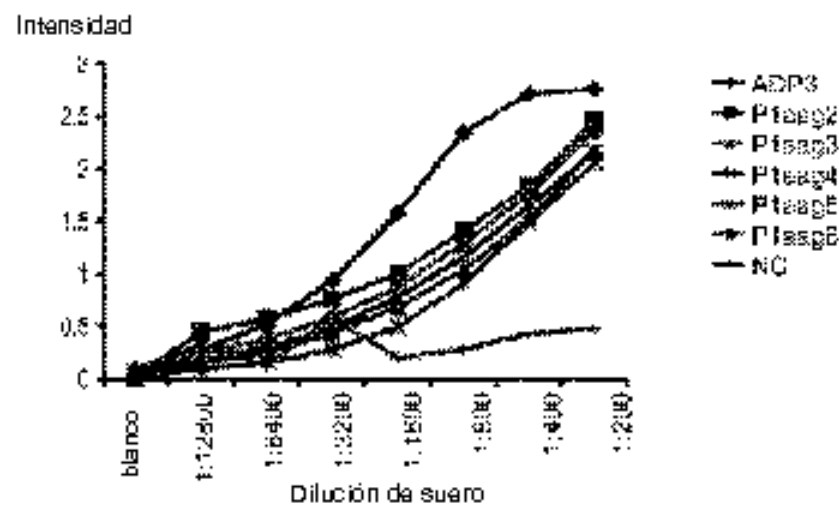
FIGURA 55

Desacuerdo entre el diagnóstico clínico y la prueba Opko



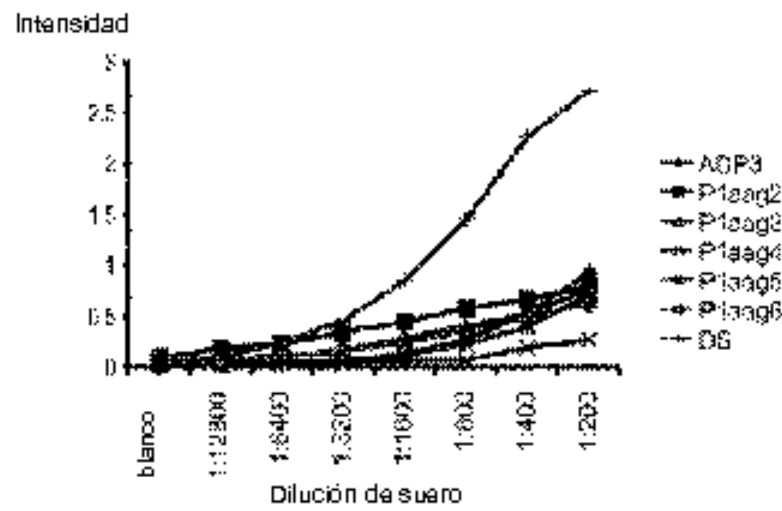
Enfermo clínicamente
Opko: UND en un punto sencillo. Titulación: AD

FIGURA 56A



clínicamente normal (sin demencia)
Opko: pre-AD aún en un punto sencillo

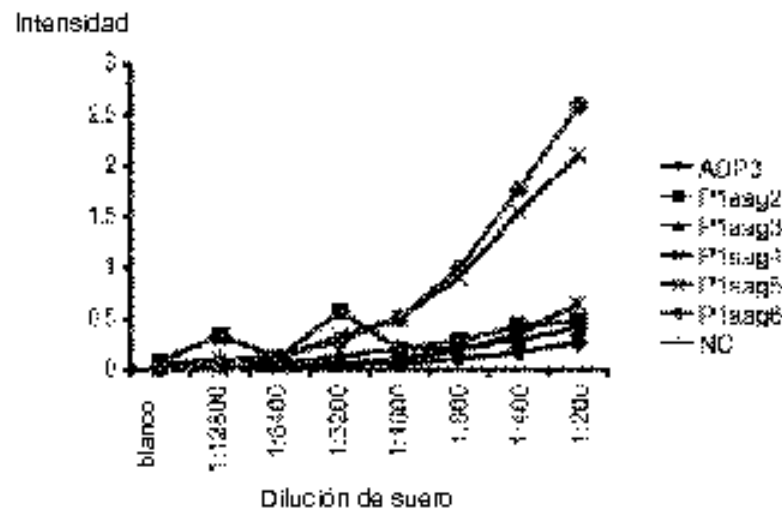
FIGURA 56B



clínicamente AD (con demencia)

Opko: No AD. Debe ser otra demencia

FIGURA 56C



clínicamente AD

Opko: UND en el punto sencillo. UND incluso después de la titulación

FIGURA 56D

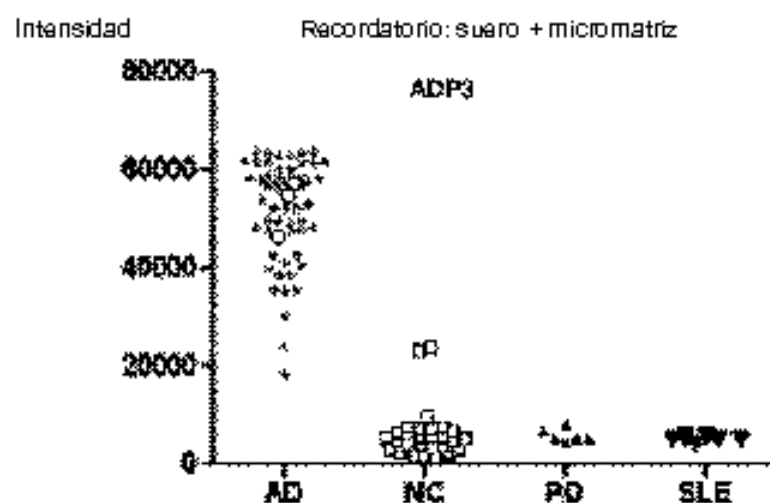


FIGURA 57

Resumen del análisis ELISA
Muestras totales de plasma probadas = 106

Diagnóstico clínico	nuestra predicción	diferencias
49 Alzheimer's	42	7 (14%)
57 Normal	47	10 (17%)

FIGURA 58

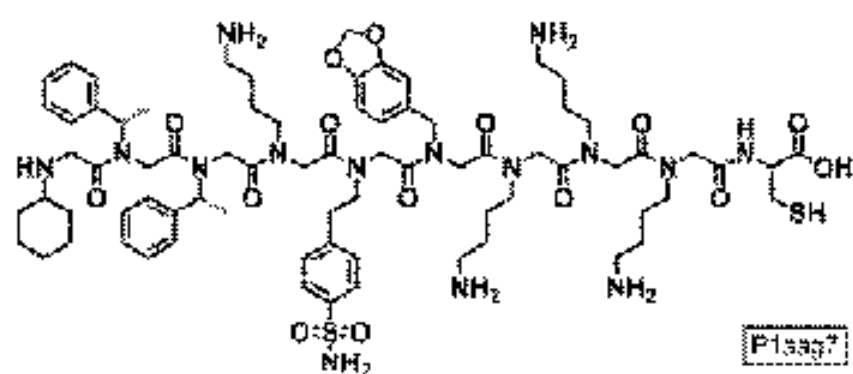


FIGURA 59A

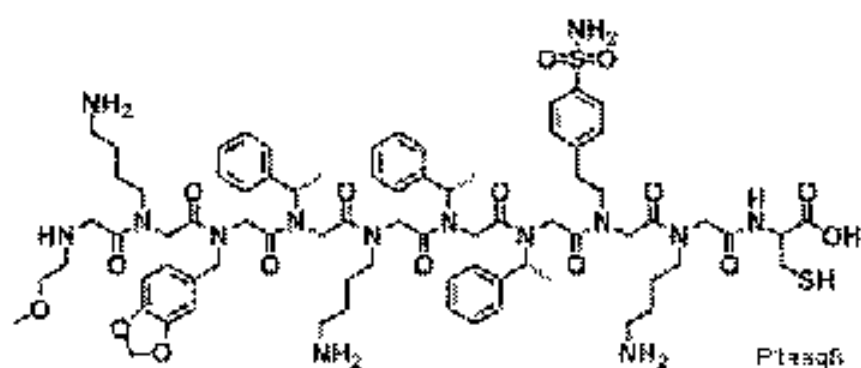


FIGURA 59B

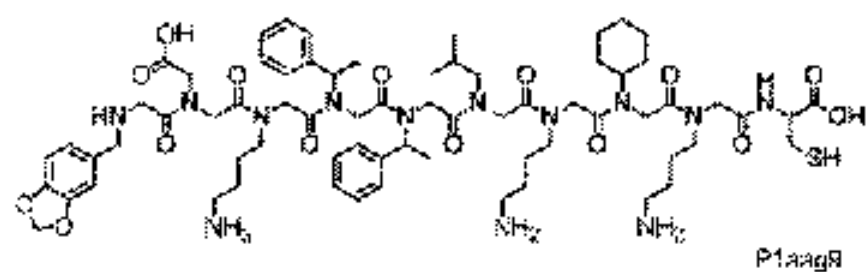


FIGURA 59C