

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 742 045**

51 Int. Cl.:

G01N 33/74 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **26.09.2014 PCT/EP2014/070629**

87 Fecha y número de publicación internacional: **02.04.2015 WO15044352**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.09.2014 E 14776859 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.03.2019 EP 3049815**

54 Título: **Detección e inhibición de la proteína de unión al antígeno Goodpasture y su uso en diabetes**

30 Prioridad:

27.09.2013 US 201361883792 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

12.02.2020

73 Titular/es:

**FIBROSTATIN, SOCIEDAD LIMITADA (100.0%)
C/ Conde de Altea 8-7°
46005 Valencia , ES**

72 Inventor/es:

**SAUS, JUAN;
REVERT, FERNANDO y
REVERT-ROS, FRANCISCO**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 742 045 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Detección e inhibición de la proteína de unión al antígeno Goodpasture y su uso en diabetes

Antecedentes de la invención

5 La conformación del dominio no colagenoso (NC1) de la cadena $\alpha 3$ del colágeno de membrana basal IV ($\alpha 3$ NC1) depende en parte de la fosforilación. La Proteína de Unión al Antígeno Goodpasture (GPBP) (documentos WO 00/50607; WO 02/061430) es una nueva proteína quinasa no convencional que cataliza la isomerización conformacional del dominio $\alpha 3$ NC1 durante su ensamblaje supramolecular lo que da como resultado la producción y estabilización de múltiples conformeros $\alpha 3$ NC1 en las membranas basales. Los niveles elevados de GPBP se han asociado con la producción de conformeros $\alpha 3$ NC1 no tolerados que dan lugar a la respuesta autoinmune que media la enfermedad de Goodpasture (GP). En los pacientes con GP, los autoanticuerpos frente a $\alpha 3$ NC1 (también conocido como antígeno GP) causan rápidamente una glomerulonefritis progresiva y, a menudo, hemorragia pulmonar, las dos manifestaciones clínicas cardinales de la enfermedad de GP.

15 *COL4A3BP* es un gen para la regulación de la organización supramolecular de proteínas estructurales dentro (es decir, miosina) y fuera (es decir, colágeno IV) de la célula. El producto génico primario GPBP (también conocido como GPBP-1 o GPBP de 77 kDa) reside principalmente en el compartimento extracelular donde se puede encontrar circulando o unido al colágeno IV. Curiosamente, el gen también expresa isoformas alternativas que permanecen principalmente intracelulares y solubles en el citosol (es decir, GPBP-2 también conocida como GPBP Δ 26 o CERT) o insoluble y asociado a membranas celulares y orgánulos (es decir, GPBP-3 también conocida como GPBP de 91 kDa) (documentos WO 00/50607; WO 2010/009856; Revert-Ros et al., 2011, J. Biol. Chem. 286, 35030-35043).

20 Guo y colaboradores (Guo J. et al., Cell Physiol. Biochem. 2010; 26: 717-728) estudiaron el papel de la ceramida endógena en la deficiencia de palmitato de la expresión génica de proinsulina en las células β de islotes pancreáticos. Mostraron que la supresión del ARNm de la proteína de transporte de ceramida (CERT) con ARNm de interferencia pequeño contribuyó a la acumulación intracelular de ceramida en respuesta a la exposición crónica al palmitato y a la deficiencia de expresión génica de proinsulina. Concluyeron de sus experimentos que la disfunción del transporte de ceramida mediada por palmitato puede contribuir a la acumulación intracelular de ceramida y ocasionar la disfunción de las células β pancreáticas al afectar a la unión de los factores de transcripción al promotor de insulina.

Resumen de la invención

30 En un aspecto, la presente invención proporciona un inhibidor de GPBP-1 que incluye, pero no se limita a, un anticuerpo anti-GPBP-1 para usar en el tratamiento del estado pre-diabético.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona métodos para diagnosticar un estado pre-diabético que comprende

35 (a) determinar una cantidad de GPBP-1 en una muestra de un sujeto con riesgo de estar en un estado pre-diabético; y

(b) comparar la cantidad de GPBP-1 en la muestra con una cantidad de GPBP-1 en una muestra control, en donde la muestra control es una muestra de un sujeto normal;

en donde un aumento en la cantidad de GPBP-1 en la muestra en comparación con la muestra de control indica la presencia de un estado pre-diabético en el sujeto.

40 En otro aspecto, la presente invención proporciona métodos para diagnosticar una propensión a desarrollar T2D que comprende

(a) determinar una cantidad de GPBP-1 en una muestra de un sujeto con riesgo de tener en un estado pre-diabético; y

45 (b) comparar la cantidad de GPBP-1 en la muestra con una cantidad de GPBP-1 en una muestra control, en donde la muestra control es una muestra de un sujeto normal;

en donde un aumento en la cantidad de GPBP-1 en la muestra en comparación con la muestra de control indica una propensión a desarrollar T2D en el sujeto.

Descripción detallada de la invención

50 Dentro de esta solicitud, a menos que se indique lo contrario, las técnicas utilizadas pueden encontrarse en cualquiera de las distintas referencias bien conocidas como: Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Sambrook, et al., 1989, Cold Spring Harbor Laboratory Press), Gene Expression Technology (Methods in Enzymology, vol. 185,

editado por D. Goeddel, 1991. Academic Press, San Diego, CA), "Guide to Protein Purification" en Methods in Enzymology (M.P. Deutscher, ed., (1990) Academic Press, Inc.); PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications (Innis, et al., 1990. Academic Press, San Diego, CA), Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique, 2ª Ed. (R. I. Freshney, 1987. Liss, Inc. New York, NY), Gene Transfer and Expression Protocols, pags. 109-128, ed. E. J. Murray, The Human Press Inc., Clifton, N. J.) y el Catálogo Ambion 1998(Ambion, Austin, TX).

Como se usa en esta memoria, las formas singulares "un", "una" y "el/la" incluyen los referentes plurales, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. "Y" como se usa en esta memoria se usa indistintamente como "o" a menos que se indique expresamente lo contrario.

A menos que se indique claramente lo contrario en el contexto, las realizaciones descritas para un aspecto de la invención también se pueden usar en otros aspectos de la invención y en combinación con las realizaciones descritas en otros aspectos de la invención.

En un aspecto adicional, la invención proporciona un inhibidor de GPBP-1 para usar en el tratamiento del estado pre-diabético. En este aspecto, el sujeto es uno que tiene un estado pre-diabético. Como se usa en esta memoria, un "estado pre-diabético" es el estado en el que se cumplen algunos de los criterios diagnósticos para la diabetes, pero no todos. Por lo tanto, el estado pre-diabético puede comprender: 1) tener una tolerancia a la glucosa en ayunas deteriorada, que es una condición por la que la respuesta de las células beta a un desafío de glucosa oral (OGT) es deficiente o 2) tener glucosa en ayunas (IFG) sistemáticamente elevada, que es una condición en la que la glucosa en sangre en ayunas se eleva por encima de lo que se consideran valores normales, pero no es lo suficientemente alta como para ser clasificada como diabetes mellitus. El estado pre-diabético puede estar asociado con la resistencia a la insulina y un mayor riesgo de patología cardiovascular. Los individuos con un estado pre-diabético tienen un riesgo relativamente alto de desarrollar T2D.

Como se usa en esta memoria, "GPBP" se referirá a cualquier isoforma de GPBP, es decir: GPBP-1 (SEQ ID N°: 10), GPBP-2 (SEQ ID N°: 11) y GPBP-3 (SEQ ID N°: 12). GPBP-1 (también conocida como GPBP de 77 kDa) reside principalmente en el compartimento extracelular donde se puede encontrar circulando o unida al colágeno IV. GPBP-2 (también conocida como GPBP Δ 26 o CERT) es una variante de GPBP-1 de 598 residuos de longitud generada por corte y empalme alternativo de exones de ARNm que permanece principalmente intracelular y citosólica. GPBP-3 (también conocida como GPBP de 91 kDa) es una variante de GPBP-1 de 707 residuos de longitud que surge de la iniciación de la traducción alternativa del ARNm no canónico que permanece principalmente intracelular y asociada a las membranas celulares que incluye el lado externo de la membrana plasmática y orgánulos.

Como se usa en esta memoria, un "inhibidor de GPBP" se referirá a cualquier compuesto o molécula que reduzca la actividad o la expresión de todas las isoformas de GPBP o individuales.

Como se demuestra por los inventores en los ejemplos que siguen, GPBP-1 media la patogénesis en un modelo animal de T2D y la inhibición de la actividad de GPBP-1 retrasó o excluyó la hiperglucemia. Por lo tanto, los inhibidores de la expresión o actividad de GPBP-1 se pueden usar para tratar a aquellos con un estado pre-diabético. Los inventores recientemente han descubierto (datos no mostrados) que GPBP-1 realiza al menos tres actividades clave relacionadas a través de un ciclo: proteína quinasa (citoplasma y, finalmente, el núcleo y el retículo endoplásmico); chaperona (retículo endoplásmico) y "citoquina" inflamatoria (compartimento extracelular). La progresión del ciclo hacia el exterior de la célula está regulada en parte por la expresión de GPBP-3 (documento WO 2010/009856) y se completa porque la GPBP-1 extracelular se vuelve a capturar y regresa al citoplasma. La evidencia también mostró que la expresión de GPBP-2 puede compensar la deficiencia de GPBP-1 *in vivo* (Revert-Ros et al., 2011, J. Biol. Chem. 286, 35030-35043) lo que apoya que la expresión de GPBP-2 contribuya de alguna manera a la progresión normal del ciclo de GPBP. La existencia del ciclo de GPBP con etapas intra- y extracelulares significa que un trastorno causado por una actividad exagerada en el citosol se puede ver directamente interferido por un compuesto inhibidor, pero también indirectamente por cualquier inhibidor de la actividad en el RE o por un anticuerpo que bloquee la actividad extracelular; y viceversa, un trastorno causado por una actividad extracelular exagerada se puede ver interferido directamente por un anticuerpo bloqueante e indirectamente por un inhibidor de la actividad intracelular. Por lo tanto, a la luz de los inhibidores del ciclo de GPBP de cualquier isoforma de GPBP (GPBP-1, GPBP-2 y/o GPBP-3) se pueden usar para tratar a aquellos con un estado pre-diabético.

En todos los aspectos y realizaciones, el sujeto puede ser cualquier mamífero, que incluye, pero no se limita a, perro, gato, caballo o ganado (vaca, oveja, etc.). En una realización más preferida, el sujeto es un sujeto humano.

Como se usa en esta memoria, "tratar" o "que trata" significa lograr uno o más de los siguientes: (a) reducir la gravedad del trastorno; (b) limitar o prevenir el desarrollo de síntomas o complicaciones características de(l) los trastorno(s) a tratar; (c) inhibir el empeoramiento de los síntomas o complicaciones característicos de(l) los trastorno(s) a tratar; (d) limitar o prevenir la recurrencia de los síntomas o complicaciones en pacientes que anteriormente eran sintomáticos para el(los) trastorno(s).

Los síntomas y las complicaciones de la T2D que se pueden limitar con los métodos de la invención incluyen, pero no se limitan a, hiperglucemia, resistencia a la insulina, nefropatía diabética, neuropatía diabética, retinopatía

diabética, proteinuria, alteración del aclaramiento glomerular, trastornos diabéticos circulatorios e insuficiencia renal. Cualquier cantidad de limitación de estos síntomas/complicaciones es de gran beneficio para un sujeto con T2D.

5 La invención se puede usar para tratar a un sujeto con pre-diabetes mediante, por ejemplo, limitando/ralentizando la progresión de la hiperglucemia, la resistencia a insulina y/o patologías cardiovasculares en el sujeto y/o limitando/ralentizando la progresión del sujeto a la T2D.

10 En una realización, el sujeto tiene la GPBP-1 circulante aumentada en relación con el control. Esta realización puede ayudar a identificar los sujetos que más pueden beneficiarse del tratamiento. Dicho "aumento" puede ser cualquier cantidad de aumento de GPBP-1 en relación con el control (como una muestra control de un sujeto normal o niveles "normales" previamente determinados en una población control), por ejemplo, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 50%, 75%, 100% o más. En una realización, un valor normal de GPBP-1 como una referencia para una curva estándar es menor que 10 ng/ml en plasma. En varias realizaciones, un intervalo normal de GPBP puede estar entre ~ 1 ng/ml-10 ng/ml en plasma. Por lo tanto, en una realización, los sujetos identificados que tienen más de 10 ng/ml de GPBP-1 en su plasma se tratan de acuerdo con la invención. Se conocen los métodos para determinar la cantidad de GPBP circulante (véanse los documentos WO 2010/009856 y EE.UU. 7935492).

15 Se puede usar cualquier inhibidor de GPBP-1 adecuado usado en la invención. En una realización, el inhibidor de GPBP-1 comprende un anticuerpo anti-GPBP-1, como un anticuerpo monoclonal o policlonal. Como se usa en esta memoria, "anticuerpo anti-GPBP" significa que los anticuerpos se unen a todas las isoformas de GPBP o individuales. En una realización preferida que se puede combinar con cualquier otra realización, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal, como un anticuerpo monoclonal humanizado. El término anticuerpo como se usa en esta
20 memoria pretende incluir fragmentos de anticuerpos de los mismos que son selectivamente reactivos con los polipéptidos de la invención o fragmentos de los mismos. Los anticuerpos se pueden fragmentar usando técnicas convencionales o sintetizar a través de ingeniería genética usando ADN recombinante y se pueden analizar los fragmentos para determinar su utilidad de la misma manera que se describió anteriormente para anticuerpos completos. Por ejemplo, los fragmentos F(ab')₂ se pueden generar tratando el anticuerpo con pepsina. El fragmento F(ab')₂ resultante se puede tratar con papaína para producir fragmentos Fab. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpos monoclonales incluyen (i) un fragmento Fab, un fragmento monovalente que consiste esencialmente en los dominios VL, VH, CL y CH1; (ii) fragmentos F(ab)₂ y F(ab')₂, fragmentos bivalentes que comprenden dos fragmentos Fab unidos por un puente disulfuro en la región bisagra; (iii) un fragmento Fd que consiste esencialmente en los dominios VH y CH1; (iv) un fragmento Fv que consiste esencialmente en los dominios VL y VH de un solo
25 brazo de un anticuerpo, como scFV, di-scFV en tandem, dianticuerpos, trianticuerpos, etc. (v) un fragmento dAb (Ward et al., (1989) Nature 341: 544-546), que consiste esencialmente en un dominio VH; y (vi) uno o más CDRs aislados o un paratopo funcional.

30 En varias realizaciones adicionales, el inhibidor de GPBP-1 comprende uno o más inhibidores seleccionados del grupo que consiste en:

35 (a) un aptámero selectivo para GPBP-1;

(c) un ácido nucleico inhibidor selectivo para el ARNm de GPBP-1;

(d) un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos de fórmula general X1-SHCIX₂-X₃ (SEQ ID N°: 1)

en donde X₁ es 0-10 aminoácidos de la secuencia ATTAGILATL (SEQ ID N°: 2);

X₂ es E o Q; y

40 X₃ es 0-10 aminoácidos de la secuencia LMVKREDSWQ (SEQ ID N°: 3);

(e) un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SHCIE (SEQ ID N°: 4), SHCIQ (SEQ ID N°: 5), ILATLSHCIELMVKR (SEQ ID N°: 6), ILATLSHCIQLMVKR (SEQ ID N°: 7) y LATLSHCIELMVKR (SEQ ID N°: 8); y

(f) I-20:

45 **RDEVIGILKAEKMDLALLEAQYGFVTPKKVLEALQRDAFQAKSTPWQEDI**
YEKPMNELDKVVEKHKESYRRILGQLLVAEKSRRTILELEEEKRRKHKEYMEKS
DEFICLLEQECERLKKLIDQEIKSQEEKEQEKEKRVTTLKEELTKLKSFALMVVDE
QQRLTAQLTLQRQKIQELTTNAKETHTKLALAEARVQEEEQKATRLEKELQTQT
TKFHQDQDTIMAKLTNEDSQNRQLQKLAALSRQIDELEETNRSRKAEEE (SEQ
ID NO: 9).

Se conocen en la técnica las secuencias de los polipéptidos citados en lo anterior; véanse, por ejemplo, EE.UU. 7.326.768; 7.935.492; 6.579.969 y 7.147.855.

Se puede llevar a cabo la síntesis de los otros inhibidores de GPBP descritos en esta memoria por los expertos en la técnica, en base a las directrices del documento WO2011/054530.

- 5 Los péptidos se pueden derivatizar adicionalmente para proporcionar una vida media mejorada, como mediante la adición de polietilén glicol (PEG) o como se conoce de otro modo en la técnica. Los péptidos pueden comprender L-aminoácidos, D-aminoácidos (que son resistentes a las proteasas específicas de L-aminoácidos *in vivo*), una combinación de D- y L-aminoácidos y varios aminoácidos “diseñadores” (p. ej., β-metil aminoácidos, C_α-metil aminoácidos y N_α-metil aminoácidos, etc.) para transmitir propiedades especiales. Los aminoácidos sintéticos incluyen ornitina por lisina y norleucina por leucina o isoleucina.

10 Además, los péptidos pueden tener enlaces peptidomiméticos, como enlaces éster para preparar péptidos con nuevas propiedades. Por ejemplo, se puede generar un péptido que incorpore un enlace peptídico reducido, es decir, R₁-CH₂-NH-R₂, donde R₁ y R₂ son residuos o secuencias de aminoácidos. Se puede introducir un enlace peptídico reducido como una subunidad dipéptido. Dicho péptido sería resistente a la actividad de la proteasa y tendría una vida media alargada *in vivo*.

15 El término “péptido” se usa en su sentido más amplio para referirse a una secuencia de subunidades de aminoácidos, análogos de aminoácidos o peptidomiméticos. Las subunidades están unidas por enlaces peptídicos, aunque el péptido puede comprender otros restos que no están necesariamente unidos al péptido mediante un enlace peptídico. Por ejemplo, como se discutió anteriormente, el péptido puede además comprender una molécula no aminoácido que contiene un anillo aromático.

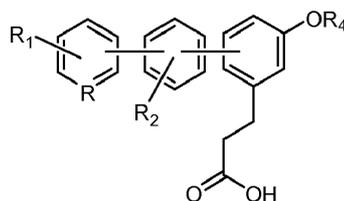
Los péptidos descritos en esta memoria se pueden sintetizar químicamente o expresarse de manera recombinante. Se puede lograr la expresión recombinante usando métodos estándar en la técnica, como se describió anteriormente. Dichos vectores de expresión pueden comprender vectores de expresión bacterianos o virales y dichas células huésped pueden ser procariontes o eucariotas.

- 25 Los inhibidores de péptido/anticuerpo se pueden administrar juntos en una composición farmacéutica con un transportador farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica puede comprender además del inhibidor de péptido/anticuerpo (a) un lioprotector; (b) un tensioactivo; (c) un agente incrementador de volumen; (d) un agente de ajuste de tonicidad; (e) un estabilizador; (f) un conservante y/o (g) un tampón.

30 En algunas realizaciones, el tampón en la composición farmacéutica es un tampón Tris, un tampón histidina, un tampón fosfato, un tampón citrato o un tampón acetato. La composición farmacéutica también puede incluir un lioprotector, p. ej., sacarosa, sorbitol o trehalosa. En ciertas realizaciones, la composición farmacéutica incluye un conservante, p. ej., cloruro de benzalconio, benzetonio, clorohexidina, fenol, m-cresol, alcohol bencílico, metilparabeno, propilparabeno, clorobutanol, o-cresol, p-cresol, clorocresol, nitrato fenilmercurio, timerosal, ácido benzoico y varias mezclas de los mismos. En otras realizaciones, la composición farmacéutica incluye un agente incrementador de volumen, como glicina. En otras realizaciones más, la composición farmacéutica incluye un agente tensioactivo, p. ej., polisorbato-20, polisorbato-40, polisorbato-60, polisorbato-65, polisorbato-80, polisorbato-85, poloxámero-188, monolaurato de sorbitán, monopalmitato de sorbitán, monolaurato de sorbitán, monestearato de sorbitán, monooleato de sorbitán, trilaurato de sorbitán, triesterato de sorbitán, trioleato de sorbitán, o una combinación de estos. La composición farmacéutica también puede incluir un agente de ajuste de tonicidad, p. ej., un compuesto que hace que la formulación sea sustancialmente isotónica o isoosmótica con sangre humana. Los agentes de ajuste de tonicidad ejemplares incluyen sacarosa, sorbitol, glicina, metionina, manitol, dextrosa, inositol, cloruro de sodio, arginina y clorhidrato de arginina. En otras realizaciones, la composición farmacéutica incluye adicionalmente un estabilizador, p. ej., una molécula que, cuando se combina con una proteína de interés, previene o reduce sustancialmente la inestabilidad química y/o física de la proteína de interés en forma liofilizada o líquida.

45 Los estabilizadores ejemplares incluyen sacarosa, sorbitol, glicina, inositol, cloruro de sodio, metionina, arginina y clorhidrato de arginina.

En otra realización, el inhibidor de GPBP-1 es un compuesto de fórmula (A) como se describe en el documento WO2011/054530:

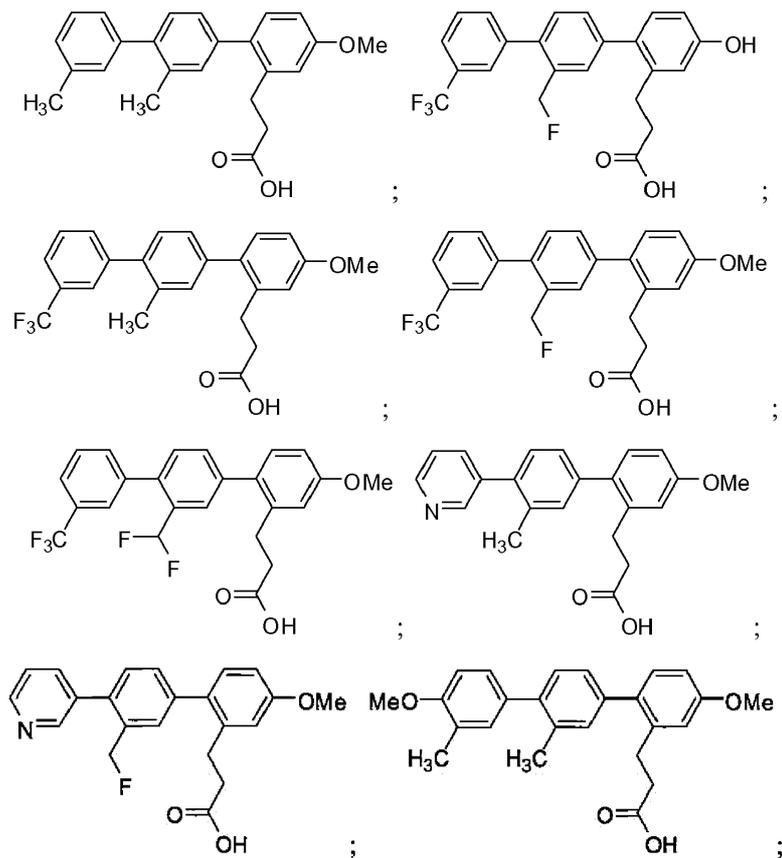


- 50 o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde:

R se selecciona de N y CR₃; R₁ es hidrógeno o alcoxi C₁-C₆; R₂ es alquilo C₁-C₆ o halo(alquilo C₁-C₆); R₃, si está presente, es alquilo C₁-C₆ o halo(alquilo C₁-C₆); y R₄ es H o alquilo C₁-C₆.

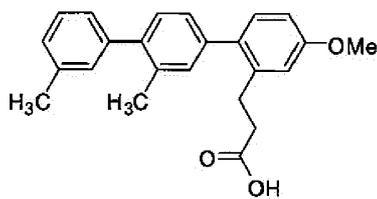
En otra realización preferida del compuesto de fórmula (A), R₁ es hidrógeno o metoxi; R₂ es metilo, fluorometilo o difluorometilo; R₃, si está presente, es metilo o trifluorometilo; y R₄ es H o metilo.

5 En varias realizaciones preferidas adicionales, R₁ es H y/o R₄ es metilo. En otras realizaciones preferidas adicionales, el compuesto de fórmula (A) se selecciona del grupo que consiste en:



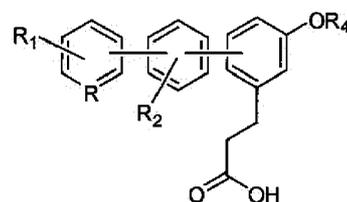
10

o una sal farmacéuticamente aceptable de este. En una realización más preferida, el compuesto es:



o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En otra realización preferida, el inhibidor de GPBP-1 es un compuesto de fórmula (B):



15

o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde:

R se selecciona de N y CR₃;

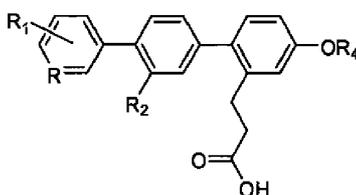
5 R₃ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), amino, (alquilo C₁-C₆)amino, di(alquilo C₁-C₆)amino, hidroxil(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, amino(alquilo C₁-C₆), sulfanil(alquilo C₁-C₆), (alquilo C₁-C₆) sulfanil(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂, (aril)alquilo C₂-C₆, y (heteroaril)alquilo C₁-C₆;

R₁ es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), hidroxil(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆) alquilo C₁-C₆, amino(alquilo C₁-C₆), sulfanil(alquilo C₁-C₆) o (alquilo C₁-C₆)sulfanil(alquilo C₁-C₆);

R₂ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆) o hidroxil(alquilo C₁-C₆); y

10 R₄ es H, alquilo C₁-C₆, -C(O)(alquilo C₁-C₂₀) o -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH.

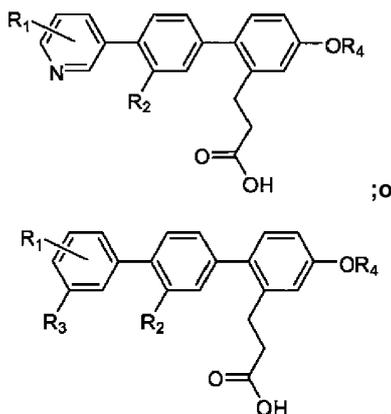
En otra realización, el inhibidor de GPBP-1 de fórmula B es un compuesto de fórmula (C):



o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

15 En una realización de los inhibidores de GPBP-1 de fórmulas (B) o (C), R se selecciona de N y CR₃; R₃ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆ o halo(alcoxi C₁-C₆); R₁ es hidrógeno, hidroxilo, alquilo C₁-C₆ o alcoxi C₁-C₆; R₂ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆) o hidroxil(alquilo C₁-C₆); y R₄ es H, alquilo C₁-C₆, -C(O)(alquilo C₁-C₂₀) o -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH.

En otra realización, el inhibidor de GPBP-1 es un compuesto que tiene la fórmula:



20 En diversas realizaciones de cualquier realización de los compuestos de fórmulas (B) y (C), R₂ puede ser alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆) o hidroxil(alquilo C₁-C₆). Por ejemplo, R₂ puede ser alquilo C₁-C₆, metilo, halo(alquilo C₁-C₆), fluorometilo, difluorometilo, hidroximetilo o hidroxil(alquilo C₁-C₆).

25 En varias realizaciones adicionales de cualquier realización de los compuestos de fórmulas (B) y (C), R₄ puede ser H, alquilo C₁-C₆, metilo, propilo, -C(O)(alquilo C₁-C₂₀) o -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH.

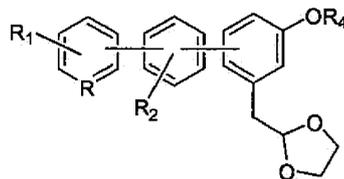
En varias realizaciones adicionales de cualquier realización de los compuestos de fórmulas (B) y (C), R₁ puede ser hidrógeno o metoxi.

30 En varias realizaciones adicionales de cualquier realización de los compuestos de fórmulas (B) y (C), R₃ puede ser alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), metilo o trifluorometilo.

En una realización adicional de los compuestos de fórmulas (B) y (C), R₁ es hidrógeno o alcoxi C₁-C₆; R₂ es hidroxil(alquilo C₁-C₆); R₃, si está presente, es alquilo C₁-C₆ o halo(alquilo C₁-C₆); y R₄ es H o alquilo C₁-C₆.

En otra realización de los compuestos de fórmulas (B) y (C), R₁ es hidrógeno o metoxi; R₂ es hidroximetilo; R₃, si está presente, es metilo o trifluorometilo; y R₄ es H o metilo.

En otra realización, el inhibidor de GPBP-1 es un compuesto de fórmula (D):

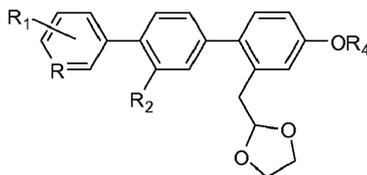


o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde:

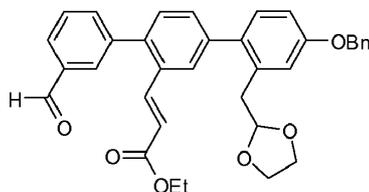
R se selecciona de N y CR₃;

- 5 R₃ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), amino, (alquilo C₁-C₆)amino, di(alquilo C₁-C₆)amino, hidroxilo(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, amino(alquilo C₁-C₆), sulfanilo(alquilo C₁-C₆), (alquilo C₁-C₆) sulfanilo(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂, (aril)alquilo C₂-C₆ y (heteroaril)alquilo C₁-C₆;
- 10 R₁ es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), hidroxilo(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, amino(alquilo C₁-C₆), sulfanilo(alquilo C₁-C₆) o (alquilo C₁-C₆)sulfanilo(alquilo C₁-C₆);
- 15 R₂ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), hidroxilo(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, formil(alquilo C₁-C₆), amino(alquilo C₁-C₆), sulfanilo(alquilo C₁-C₆), (alquilo C₁-C₆)sulfanilo(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂, -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -CH=CH-C(O)OH o -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆); y
- R₄ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆ o (aril)alquilo C₁-C₆.

En una realización, el compuesto de fórmula (D) es de la fórmula:

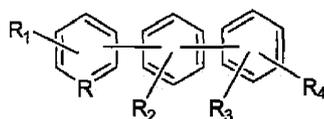


- 20 En una realización de cualquier realización del compuesto de fórmula (D), R₁ es hidrógeno. En otra realización de cualquier realización del compuesto de la fórmula (D) R es CR₃ y R₃ es formil(alquilo C₁-C₆). En otra realización, R₃ es -COH. En varias realizaciones, R₂ puede ser -CH=CH-C(O)OH; -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆); o -CH=CH-C(O)(OEt). En varias realizaciones adicionales, R₄ puede ser (aril)alquilo C₁-C₆; o -CH₂-Ph. En una realización preferida, el compuesto de fórmula D es un compuesto de la fórmula:



- 25 o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En otra realización, los inhibidores de GPBP-1 comprenden compuestos de fórmula (I):



o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde:

- 30 R se selecciona de N y CR₅;
- R₅ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), amino, (alquilo C₁-C₆)amino, di(alquilo C₁-

C₆)amino, hidroxí(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, amino(alquilo C₁-C₆), sulfanil(alquilo C₁-C₆), (alquilo C₁-C₆)sulfanil(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂, (aril)alquilo C₂-C₆ y (heteroaril)alquilo C₁-C₆;

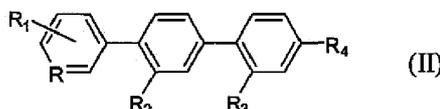
5 R₁ es hidrógeno, halógeno, hidroxí, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), hidroxí(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, amino(alquilo C₁-C₆), sulfanil(alquilo C₁-C₆) o (alquilo C₁-C₆)sulfanil(alquilo C₁-C₆);

R₂ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), hidroxí(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, formil(alquilo C₀-C₆), amino(alquilo C₁-C₆), sulfanil(alquilo C₁-C₆), (alquilo C₁-C₆)sulfanil(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂, (aril)alquilo C₁-C₆ o (heteroaril)alquilo C₁-C₆;

10 R₃ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), hidroxí(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, formil(alquilo C₁-C₆), amino(alquilo C₁-C₆), sulfanil(alquilo C₁-C₆), (alquilo C₁-C₆)sulfanil(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂, -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -CH=CH-C(O)OH, -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆), (aril)alquilo C₁-C₆ o (heteroaril)alquilo C₁-C₆; y

15 R₄ es hidroxí, halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), benciloxi, -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂, -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -CH=CH-C(O)OH, -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -O(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -O(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), (aril)alquilo C₁-C₆ o (heteroaril)alquilo C₁-C₆.

En otra realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos de fórmula (II):



20 En otra realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos de fórmulas (I) o (II) en donde:

R se selecciona de N y CR₅;

25 R₅ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, hidroxí, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), amino, (alquilo C₁-C₆)amino, di(alquilo C₁-C₆)amino, hidroxí(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, amino(alquilo C₁-C₆), sulfanil(alquilo C₁-C₆), (alquilo C₁-C₆)sulfanil(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆) y -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂;

R₁ es hidrógeno, halógeno, hidroxí, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), hidroxí(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, amino(alquilo C₁-C₆), sulfanil(alquilo C₁-C₆) o (alquilo C₁-C₆)sulfanil(alquilo C₁-C₆);

30 R₂ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), hidroxí(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, formil(alquilo C₀-C₆), amino(alquilo C₁-C₆), sulfanil(alquilo C₁-C₆), (alquilo C₁-C₆)sulfanil(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆) o -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂;

35 R₃ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), hidroxí(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, formil(alquilo C₁-C₆), amino(alquilo C₁-C₆), sulfanil(alquilo C₁-C₆), (alquilo C₁-C₆)sulfanil(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂, -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -CH=CH-C(O)OH o -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆); y

R₄ es hidroxí, halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), benciloxi, -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂, -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -CH=CH-C(O)OH, -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -O(CH₂)₁₋₅-C(O)OH o -O(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆).

En otra realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos de fórmulas (I) o (II) en donde:

40 R se selecciona de N y CR₅;

R₅ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, hidroxí, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), amino, (alquilo C₁-C₆)amino, di(alquilo C₁-C₆)amino, hidroxí(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆ y amino(alquilo C₁-C₆);

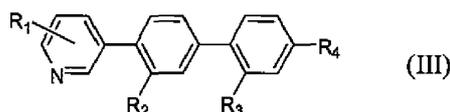
R₁ es hidrógeno, halógeno, hidroxí, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆ o halo(alquilo C₁-C₆);

45 R₂ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), hidroxí(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, formil(alquilo C₀-C₆), amino(alquilo C₁-C₆), sulfanil(alquilo C₁-C₆) o (alquilo C₁-C₆)sulfanil(alquilo C₁-C₆);

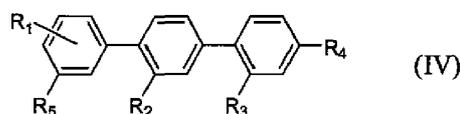
R₃ es alquilo C₁-C₆, -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂, -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -CH=CH-C(O)OH o -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆); y

R₄ es hidroxilo, halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), benciloxi, -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂, -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -CH=CH-C(O)OH, -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -O(CH₂)₁₋₅-C(O)OH o -O(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆).

En otra realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos de fórmula (II), en donde R es N. Estos compuestos se pueden representar mediante la fórmula (III):



En otra realización más, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos de fórmula (II), en donde R es CR₅. Estos compuestos se pueden representar mediante la fórmula (IV):



En una realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (I)-(IV), en donde R₁ es hidrógeno, hidroxilo o alcoxi C₁-C₆. En una realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (I)-(IV), en donde R₁ es hidrógeno. En otra realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (I) a (IV), en donde R₂ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), hidroxilo (alquilo C₁-C₆), formil(alquilo C₀-C₆), amino(alquilo C₁-C₆) o sulfanil(alquilo C₁-C₆). En otra realización más, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (I)-(IV), en donde R₂ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), hidroxilo (alquilo C₁-C₆) o formil(alquilo C₀-C₆).

En otra realización más, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (I)-(IV), en donde R₂ puede ser alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆) o hidroxilo(alquilo C₁-C₆). Por ejemplo, en ciertas realizaciones R₂ puede ser alquilo C₁-C₆ como metilo, etilo o isopropilo. En otras realizaciones, R₂ puede ser halo(alquilo C₁-C₆) como fluorometilo, difluorometilo o trifluorometilo. R₂ puede, en ciertas realizaciones, ser hidroxilo(alquilo C₁-C₆). Por ejemplo, el hidroxilo(alquilo C₁-C₆) puede ser hidroximetilo, 1-hidroxietilo o 2-hidroxietilo.

En otra realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (I)-(IV), en donde R₂ es alquilo C₁-C₆. En ciertas realizaciones R₂ es metilo. En otra realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (I)-(IV), en donde R₃ es alquilo C₁-C₆, -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -CH=CH-C(O)OH, -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆). En otra realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (I)-(IV), en donde R₃ es -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆) o -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂.

En otra realización más, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (I)-(IV), en donde R₃ es -(CH₂)₁₋₂-C(O)OH o -(CH₂)₁₋₂-C(O)(alcoxi C₁-C₆). Por ejemplo, en ciertas realizaciones, R₃ puede ser -(CH₂)₂-C(O)OH, -(CH₂)₂-C(O)(OCH₃), -(CH₂)₂-C(O)(OCH₂CH₃) o -(CH₂)₂-C(O)(OC(CH₃)₃). En otras realizaciones, R₃ puede ser -(CH₂)₂-C(O)OH, o -(CH₂)₂-C(O)(OCH₂CH₃).

En otra realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (I)-(IV), en donde R₃ es -(CH₂)₁₋₂-C(O)OH. En una realización, R₃ es -(CH₂)₂-C(O)OH. En una realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (I)-(IV), en donde R₄ es hidroxilo, halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆) o benciloxi. En otra realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (I)-(IV), en donde R₄ es hidroxilo o alcoxi C₁-C₆ (p. ej., metoxi). Preferiblemente R₄ es alcoxi C₁-C₆. En una realización más preferida, R₄ es metoxi.

En una realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a las fórmulas (I), (II) o (IV), en donde R₅ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆ o halo(alcoxi C₁-C₆). En otra realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a las fórmulas (I), (II) o (IV), en donde R₅ es alquilo C₁-C₆, como metilo. En otra realización más, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a las fórmulas (I), (II) o (IV), en donde R₅ es halo(alquilo C₁-C₆), como trifluorometilo.

En ciertas realizaciones, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos de cualquiera de las fórmulas (I), (II) o (IV), en donde R_5 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C_1-C_6 , alqueno C_2-C_6 , alquino C_2-C_6 , halo(alquilo C_1-C_6), alcoxi C_1-C_6 , halo(alcoxi C_1-C_6), amino, (alquilo C_1-C_6)amino, di(alquilo C_1-C_6)amino, hidroxilo(alquilo C_1-C_6), (alcoxi C_1-C_6)alquilo C_1-C_6 y amino(alquilo C_1-C_6);

5 R_1 es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo C_1-C_6 , halo(alquilo C_1-C_6), alcoxi C_1-C_6 o halo(alcoxi C_1-C_6);

R_2 es alquilo C_1-C_6 , halo(alquilo C_1-C_6), hidroxilo(alquilo C_1-C_6), (alcoxi C_1-C_6)alquilo C_1-C_6 , formil(alquilo C_0-C_6), amino(alquilo C_1-C_6), sulfanil(alquilo C_1-C_6) o (alquilo C_1-C_6)tio(alquilo C_1-C_6);

R_3 es $-(CH_2)_{1-2}-C(O)OH$, $-(CH_2)_{1-2}-C(O)(alcoxi\ C_1-C_6)$, $-(CH_2)_{1-2}-C(O)NH_2$, $-(CH_2)_{1-2}-C(O)NH(alquilo\ C_1-C_6)$, $-(CH_2)_{1-2}-C(O)N(alquilo\ C_1-C_6)_2$, $-CH=CH-C(O)OH$, $-CH=CH-C(O)(alcoxi\ C_1-C_6)$; y

10 R_4 es hidroxilo, alcoxi C_1-C_6 , halo(alcoxi C_1-C_6) o benciloxilo.

En ciertas realizaciones, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos de cualquiera de fórmula (III), en donde:

R_1 es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo C_1-C_6 , halo(alquilo C_1-C_6), alcoxi C_1-C_6 o halo(alcoxi C_1-C_6);

R_2 es alquilo C_1-C_6 , halo(alquilo C_1-C_6), hidroxilo(alquilo C_1-C_6), (alcoxi C_1-C_6)alquilo C_1-C_6 , formil(alquilo C_0-C_6), amino(alquilo C_1-C_6), sulfanil(alquilo C_1-C_6) o (alquilo C_1-C_6)tio(alquilo C_1-C_6);

15 R_3 es $-(CH_2)_{1-2}-C(O)OH$, $-(CH_2)_{1-2}-C(O)(alcoxi\ C_1-C_6)$, $-(CH_2)_{1-2}-C(O)NH_2$, $-(CH_2)_{1-2}-C(O)NH(alquilo\ C_1-C_6)$, $-(CH_2)_{1-2}-C(O)N(alquilo\ C_1-C_6)_2$, $-CH=CH-C(O)OH$, $-CH=CH-C(O)(alcoxi\ C_1-C_6)$; y

R_4 es hidroxilo, alcoxi C_1-C_6 , halo(alcoxi C_1-C_6) o benciloxilo.

En ciertas realizaciones, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos de cualquiera de las fórmulas (I), (II) o (IV), en donde R_1 es hidrógeno; R_2 es alquilo C_1-C_6 , halo(alquilo C_1-C_6), hidroxilo(alquilo C_1-C_6) o formil(alquilo C_1-C_6); R_3 es $-(CH_2)_{1-2}-C(O)OH$, $-(CH_2)_{1-2}-C(O)(alcoxi\ C_1-C_6)$ o $-(CH_2)_{1-2}-C(O)NH_2$; R_4 es hidroxilo o alcoxi C_1-C_6 ; y R_5 es alquilo C_1-C_6 , halo(alquilo C_1-C_6), alcoxi C_1-C_6 o halo(alcoxi C_1-C_6).

En ciertas realizaciones, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos de cualquiera de fórmula (III), en donde R_1 es hidrógeno; R_2 es alquilo C_1-C_6 , halo(alquilo C_1-C_6), hidroxilo(alquilo C_1-C_6) o formil(alquilo C_1-C_6); R_3 es $-(CH_2)_{1-2}-C(O)OH$, $-(CH_2)_{1-2}-C(O)(alcoxi\ C_1-C_6)$ o $-(CH_2)_{1-2}-C(O)NH_2$; R_4 es hidroxilo o alcoxi C_1-C_6 ; y R_5 es alquilo C_1-C_6 , halo(alquilo C_1-C_6), alcoxi C_1-C_6 o halo(alcoxi C_1-C_6).

En ciertas realizaciones, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos de cualquiera de las fórmulas (I)-(IV), en donde:

R , si está presente, se selecciona de N y CR_5 ;

R_5 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C_1-C_6 , alqueno C_2-C_6 , alquino C_2-C_6 , halo(alquilo C_1-C_6), alcoxi C_1-C_6 , halo(alcoxi C_1-C_6), amino, (alquilo C_1-C_6)amino, di(alquilo C_1-C_6)amino, hidroxilo(alquilo C_1-C_6), (alcoxi C_1-C_6)alquilo C_1-C_6 y amino(alquilo C_1-C_6);

R_1 es hidrógeno;

R_2 es alquilo C_1-C_6 ;

R_3 es $-(CH_2)_{1-2}-C(O)OH$; y

R_4 es alcoxi C_1-C_6 .

35 En ciertas realizaciones, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos de cualquiera de las fórmulas (I)-(IV), en donde:

R , si está presente, se selecciona de N y CR_5 ;

R_5 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C_1-C_6 , alqueno C_2-C_6 , alquino C_2-C_6 , halo(alquilo C_1-C_6), alcoxi C_1-C_6 , halo(alcoxi C_1-C_6), amino, (alquilo C_1-C_6)amino, di(alquilo C_1-C_6)amino, hidroxilo(alquilo C_1-C_6), (alcoxi C_1-C_6)alquilo C_1-C_6 y amino(alquilo C_1-C_6);

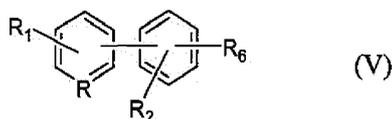
40 R_1 es hidrógeno;

R_2 es metilo;

R_3 es $-(CH_2)_{1-2}-C(O)OH$; y

R_4 es metoxilo.

En una realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos de fórmula (V):



o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde:

R se selecciona de N y CR₅;

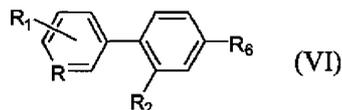
5 R₅ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), amino, (alquilo C₁-C₆)amino, di(alquilo C₁-C₆)amino, hidroxilo(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, amino(alquilo C₁-C₆), sulfanilo(alquilo C₁-C₆), (alquilo C₁-C₆)sulfanilo(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂, (arilo)alquilo C₁-C₆, y (heteroarilo)alquilo C₁-C₆;

10 R₁ es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), hidroxilo(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, amino(alquilo C₁-C₆), sulfanilo(alquilo C₁-C₆) o (alquilo C₁-C₆)sulfanilo(alquilo C₁-C₆);

15 R₂ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), hidroxilo(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, formilo(alquilo C₀-C₆), amino(alquilo C₁-C₆), sulfanilo(alquilo C₁-C₆), (alquilo C₁-C₆)sulfanilo(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂, -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -CH=CH-C(O)OH, -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆), (arilo)alquilo C₁-C₆, o (heteroarilo)alquilo C₁-C₆; y

R₆ es hidroxilo, halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), benciloxi, -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂, -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -CH=CH-C(O)OH, -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -OS(O)₂CF₃, (arilo)alquilo C₁-C₆, o (heteroarilo)alquilo C₁-C₆.

En una realización, los compuestos de fórmula (V) son de fórmula (VI):



20

En otra realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos de fórmulas (V) o (VI) en donde:

R se selecciona de N y CR₅;

25 R₅ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), amino, (alquilo C₁-C₆)amino, di(alquilo C₁-C₆)amino, hidroxilo(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, amino(alquilo C₁-C₆), sulfanilo(alquilo C₁-C₆), (alquilo C₁-C₆)sulfanilo(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆) y -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂;

R₁ es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), hidroxilo(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, amino(alquilo C₁-C₆), sulfanilo(alquilo C₁-C₆) o (alquilo C₁-C₆)sulfanilo(alquilo C₁-C₆);

30 R₂ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), hidroxilo(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, formilo(alquilo C₀-C₆), amino(alquilo C₁-C₆), sulfanilo(alquilo C₁-C₆), (alquilo C₁-C₆)sulfanilo(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂, -CH=CH-C(O)OH, -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆); y R₆ es hidroxilo, halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), benciloxi, -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₆-C(O)NH₂, -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -CH=CH-C(O)OH, -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆) o -OS(O)₂CF₃.

35

En otra realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos de fórmulas (V) o (VI) en donde:

R se selecciona de N y CR₅;

40 R₅ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), amino, (alquilo C₁-C₆)amino, di(alquilo C₁-C₆)amino, hidroxilo(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆ y amino(alquilo C₁-C₆);

R₁ es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆ o halo(alcoxi C₁-C₆);

R₂ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), hidroxilo(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, formilo(alquilo C₀-C₆), amino(alquilo C₁-C₆), sulfanilo(alquilo C₁-C₆), (alquilo C₁-C₆)sulfanilo(alquilo C₁-C₆), -CH=CH-C(O)OH, -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆); y

R₆ es hidroxilo, halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), benciloxi, -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂, -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -CH=CH-C(O)OH, -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆) o -OS(O)₂CF₃.

5 En una realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (V)-(VI), en donde R₁ es hidrógeno.

En otra realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (V)-(VI), en donde R₂ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), hidroxilo(alquilo C₁-C₆), formil(alquilo C₀-C₆), amino(alquilo C₁-C₆), sulfanil(alquilo C₁-C₆), -CH=CH-C(O)OH o -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆).

10 En otra realización más, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (V)-(VI), en donde R₂ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), hidroxilo(alquilo C₁-C₆), formil(alquilo C₀-C₆), -CH=CH-C(O)OH o -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆).

15 En otra realización más, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (V)-(VI), en donde R₂ puede ser alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), hidroxilo(alquilo C₁-C₆) o -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆). Por ejemplo, en ciertas realizaciones, R₂ puede ser alquilo C₁-C₆ como metilo, etilo o isopropilo. En otras realizaciones, R₂ puede ser halo(alquilo C₁-C₆) como fluorometilo, difluorometilo o trifluorometilo. R₂ puede, en ciertas realizaciones, ser hidroxilo(alquilo C₁-C₆). Por ejemplo, el hidroxilo(alquilo C₁-C₆) puede ser hidroximetilo, 1-hidroxietilo o 2-hidroxietilo.

En otra realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (V)-(VI), en donde R₂ es alquilo C₁-C₆. En ciertas realizaciones, R₂ es metilo.

20 En una realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (V)-(VI), en donde R₆ es hidroxilo, halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, benciloxi o -OS(O)₂CF₃.

25 En otra realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (V)-(VI), en donde R₆ es hidroxilo o alcoxi C₁-C₆ (p. ej., metoxi). En una realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a las fórmulas (V)-(VI), en donde R₅ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆ o halo(alcoxi C₁-C₆). En otra realización, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a las fórmulas (V)-(VI), en donde R₅ es alquilo C₁-C₆, como metilo. En otra realización más, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a las fórmulas (V)-(VI), en donde R₅ es halo(alquilo C₁-C₆) como trifluorometilo.

30 En ciertas realizaciones, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos de cualquiera de las fórmulas (V)-(VI), en donde:

R₅ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), amino, (alquilo C₁-C₆)amino, di(alquilo C₁-C₆)amino, hidroxilo(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆ y amino(alquilo C₁-C₆);

35 R₁ es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆ o halo(alcoxi C₁-C₆);

R₂ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), hidroxilo(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, formil(alquilo C₀-C₆), amino(alquilo C₁-C₆), sulfanil(alquilo C₁-C₆), (alquilo C₁-C₆)tio(alquilo C₁-C₆) o -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆); y

R₆ es hidroxilo, alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆) o -OS(O)₂CF₃.

40 En ciertas realizaciones, los inhibidores de GPBP-1 son compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (V)-(VI), en donde R₁ es hidrógeno; R₂ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), hidroxilo(alquilo C₁-C₆), formil(alquilo C₀-C₆) o -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆); R₆ es hidroxilo, alcoxi C₁-C₆ o -OS(O)₂CF₃; y R₅ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆ o halo(alcoxi C₁-C₆).

La síntesis de otros inhibidores de GPBP-1 descritos en esta memoria se puede llevar a cabo por los expertos en la técnica, en base a las enseñanzas del documento WO2011/054530.

45 En una realización preferida, el inhibidor de GPBP-1 comprende o consiste en ácido 3-[4''-metoxi-3,2'-dimetil-(1,1';4',1'')terpenil-2''-il] propiónico; ácido 3-[2'-metil-4''-metoxi-3-(trifluorometil)-(1,1';4',1'')terpenil-2''-il] propiónico; combinaciones de estos o una sal farmacéuticamente aceptable de estos.

50 Los compuestos inhibidores de GPBP-1 incluyen sales, ésteres, amidas y profármacos farmacéuticamente aceptables de estos, que incluyen, pero no se limitan a, sales de carboxilato, sales de adición de aminoácidos, ésteres, amidas y profármacos de los compuestos de la presente invención que son, dentro del buen criterio médico, adecuados para usar en contacto con los tejidos de pacientes sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similares indebidas, proporcional a una relación beneficio/riesgo razonable y eficaz para su uso previsto, así como formas zwitteriónicas, cuando sea posible, de los compuestos de la invención. El término "sales" se refiere a las sales de

adición de ácido inorgánico y orgánico relativamente no tóxicas de los compuestos de la presente invención. Estas sales se pueden preparar *in situ* durante el aislamiento y la purificación final de los compuestos o haciendo reaccionar por separado el compuesto purificado en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado y aislando la sal así formada. Las sales representativas incluyen las sales de bromhidrato, clorhidrato, sulfato, bisulfato, nitrato, acetato, oxalato, valerato, oleato, palmitato, estearato, laurato, borato, benzoato, lactato, fosfato, tosilato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato y laurilsulfonato y similares. Estas pueden incluir cationes basados en los metales alcalinos y alcalinotérreos, como sodio, litio, potasio, calcio, magnesio y similares, así como los cationes de amonio, amonio cuaternario y amina no tóxicos que incluyen, pero no se limitan a, amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, etilamina y similares. (Véase, por ejemplo, Berge S. M. et al, "Pharmaceutical Salts", 1977 J. Pharm. Sci., 66: 1-19).

Los ejemplos de ésteres no tóxicos farmacéuticamente aceptables de los inhibidores incluyen ésteres de alquilo C₁-C₆, en donde el grupo alquilo son ésteres de cicloalquilo C₅-C₇ lineales o ramificados, sustituidos o no sustituidos, así como ésteres de arilalquilo como bencilo y trifenilmetilo. Se prefieren los ésteres de alquilo C₁-C₄, como metilo, etilo, 2,2,2-tricloroetilo y terc-butilo. Los ésteres de los compuestos de la presente invención se pueden preparar de acuerdo con métodos convencionales.

Los ejemplos de amidas no tóxicas, farmacéuticamente aceptables de los inhibidores incluyen amidas derivadas de amoniaco, alquilaminas C₁-C₆ primarias y dialquilaminas C₁-C₆ secundarias, en donde los grupos alquilo son lineales o ramificados. En el caso de aminas secundarias, la amina también puede estar en forma de heterociclo de 5 o 6 miembros que contiene un átomo de nitrógeno. Se prefieren las amidas derivadas de amoniaco, las aminas primarias de alquilo C₁-C₃ y las aminas secundarias de dialquilo C₁-C₂. Las amidas de los compuestos de la presente invención se pueden preparar de acuerdo con métodos convencionales.

El término "profármaco" se refiere a compuestos que se transforman rápidamente *in vivo* para producir el compuesto original de las fórmulas anteriores, por ejemplo, por hidrólisis en sangre. Se proporciona una discusión exhaustiva de los profármacos en T. Higuchi y V. Stella, "Pro-drugs as Novel Delivery Systems", Vol. 14 de A.C.S. Symposium Series y en Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987.

El término "alqueno" como se usa en esta memoria, significa un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contiene de 2 a 10 carbonos, a menos que se especifique lo contrario, y que contiene al menos un doble enlace carbono-carbono. Los ejemplos representativos de alqueno incluyen, pero no se limitan a, etenilo, 2-propenilo, 2-metil-2-propenilo, 3-butenilo, 4-pentenilo, 5-hexenilo, 2-heptenilo, 2-metil-1-heptenilo, 3-decenilo y 3,7-dimetilocta-2,6-dienilo.

El término "alcoxi" como se usa en esta memoria, significa un grupo alquilo, como se define en esta memoria, unido al resto molecular original a través de un átomo de oxígeno. Los ejemplos representativos de alcoxi incluyen, pero no se limitan a, metoxi, etoxi, propoxi, 2-propoxi, butoxi, terc-butoxi, pentiloxi y hexiloxi.

El término "alquilo" como se usa en esta memoria, significa un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contiene de 1 a 10 átomos de carbono, a menos que se especifique lo contrario. Los ejemplos representativos de alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, iso-butilo, terc-butilo, n-pentilo, 3-metilhexilo, 2,2-dimetilpentilo, 2,3-dimetilpentilo, n-heptilo, n-octilo, n-nonilo y n-decilo. Cuando un grupo "alquilo" es un grupo de enlace entre otros dos restos entonces también puede ser una cadena lineal o ramificada; los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, -CH₂-, -CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH(CH₃)-, -CH₂CH(CH₂CH₃)CH₂-.

El término "alquileo" se refiere a un grupo alquilo bivalente. Una "cadena de alquileo" es un grupo polimetileno, es decir, -(CH₂)_n-, en donde n es un número entero positivo, preferiblemente de uno a seis, de uno a cuatro, de uno a tres, de uno a dos o de dos a tres. Una cadena de alquileo sustituido es un grupo polimetileno en el que se reemplazan uno o más átomos de hidrógeno del metileno con un sustituyente. Los sustituyentes adecuados incluyen los descritos a continuación para un grupo alifático sustituido. Una cadena de alquileo también puede estar sustituida en una o más posiciones con un grupo alifático o un grupo alifático sustituido.

El término "alquínilo" como se usa en esta memoria significa un grupo hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contiene de 2 a 10 átomos de carbono y que contiene al menos un triple enlace carbono-carbono. Los ejemplos representativos de alquínilo incluyen, pero no se limitan a, acetilenilo, 1-propinilo, 2-propinilo, 3-butinilo, 2-pentinilo y 1-butinilo.

El término "arilo" como se usa en esta memoria, significa un fenilo (es decir, arilo monocíclico) o un sistema de anillo bicíclico que contiene al menos un anillo de fenilo o un anillo bicíclico aromático que contiene sólo átomos de carbono en el sistema de anillo bicíclico aromático. El arilo bicíclico puede ser azulenilo, naftilo o un fenilo fusionado a un cicloalquilo monocíclico, un cicloalqueno monocíclico o un heterociclo monocíclico. El arilo bicíclico está unido al resto molecular principal a través de cualquier átomo de carbono contenido dentro de la porción fenilo del sistema bicíclico, o cualquier átomo de carbono con el anillo de naftilo o azulenilo. Los restos de cicloalquilo monocíclico fusionados o de heterociclo monocíclico del arilo bicíclico están opcionalmente sustituidas con uno o dos grupos

5 oxo y/o tia. Los ejemplos representativos de los arilos bicíclicos incluyen, pero no se limitan a, azulenilo, naftilo, dihidroinden-1-ilo, dihidroinden-2-ilo, dihidroinden-3-ilo, dihidroinden-4-ilo, 2,3-dihidroindol-4-ilo, 2,3-dihidroindol-5-ilo, 2,3-dihidroindol-6-ilo, 2,3-dihidroindol-7-ilo, inden-1-ilo, inden-2-ilo, inden-3-ilo, inden-4-ilo, dihidronaftalen-2-ilo, dihidronaftalen-3-ilo, dihidronaftalen-4-ilo, dihidronaftalen-1-ilo, 5,6,7,8-tertahidronaftalen-1-ilo, 5,6,7,8-tertahidronaftalen-2-ilo, 2,3-dihidrobenzofuran-4-ilo, 2,3-dihidrobenzofuran-5-ilo, 2,3-dihidrobenzofuran-6-ilo, 2,3-dihidrobenzofuran-7-ilo, benzo[d][1,3]dioxol-4-ilo, benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo, 2H-cromen-2-on-5-ilo, 2H-cromen-2-on-6-ilo, 2H-cromen-2-on-7-ilo, 2H-cromen-2-on-8-ilo, isoindolina-1,3-dion-4-ilo, isoindolina-1,3-dion-5-ilo, inden-1-on-4-ilo, inden-1-on-5-ilo, inden-1-on-6-ilo, inden-1-on-7-ilo, 2,3-dihidrobencobenzofuran-1,4]dioxan-5-ilo, 2,3-dihidrobencobenzofuran-1,4]dioxan-6-ilo, 2H-benzo[b][1,4]oxazin3(4H)-on-5-ilo, 2H-benzo[b][1,4]oxazin3(4H)-on-6-ilo, 2H-benzo[b][1,4]oxazin3(4H)-on-7-ilo, 2H-benzo[b][1,4]oxazin3(4H)-on-8-ilo, benzo[d]oxazin-2(3H)-on-5-ilo, benzo[d]oxazin-2(3H)-on-6-ilo, benzo[d]oxazin-2(3H)-on-7-ilo, benzo[d]oxazin-2(3H)-on-8-ilo, quinazolin-4(3H)-on-5-ilo, quinazolin-4(3H)-on-6-ilo, quinazolin-4(3H)-on-7-ilo, quinazolin-4(3H)-on-8-ilo, quinoxalin-2(1H)-on-5-ilo, quinoxalin-2(1H)-on-6-ilo, quinoxalin-2(1H)-on-7-ilo, quinoxalin-2(1H)-on-8-ilo, benzo[d]tiazol-2(3H)-on-4-ilo, benzo[d]tiazol-2(3H)-on-5-ilo, benzo[d]tiazol-2(3H)-on-6-ilo, y benzo[d]tiazol-2(3H)-on-7-ilo. En ciertas realizaciones, el arilo bicíclico es (i) naftilo o (ii) un anillo de fenilo fusionado con un cicloalquilo monocíclico de 5 o 6 miembros, un cicloalqueno monocíclico de 5 o 6 miembros o un heterociclilo monocíclico de 5 o 6 miembros, en donde los grupos de cicloalquilo, cicloalqueno y heterociclilo fusionados están opcionalmente sustituidos con uno o dos grupos que son independientemente oxo y tia.

El término "halo" o "halógeno" como se usa en esta memoria significa -Cl, -Br, -I o -F.

20 Los términos "haloalquilo", "haloalqueno" y "haloalcoxi" se refieren a un grupo alquilo, alqueno o alcoxi, según el caso, que está sustituido con uno o más átomos de halógeno.

El término "heteroarilo", como se usa en esta memoria, significa un heteroarilo monocíclico o un sistema de anillo bicíclico que contiene al menos un anillo heteroaromático. El heteroarilo monocíclico puede ser un anillo de 5 o 6 miembros. El anillo de 5 miembros consiste en dos enlaces dobles y uno, dos, tres o cuatro átomos de hidrógeno y opcionalmente un átomo de oxígeno o azufre. El anillo de 6 miembros consiste en tres enlaces dobles y uno, dos, tres o cuatro átomos de nitrógeno. El heteroarilo de 5 o 6 miembros está conectado al resto molecular original a través de cualquier átomo de carbono o cualquier átomo de nitrógeno contenido dentro del heteroarilo. Los ejemplos representativos de heteroarilo monocíclico incluyen, pero no se limitan a, furilo, imidazolilo, isoxazolilo, isotiazolilo, oxadiazolilo, oxazolilo, piridinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, pirazolilo, pirrolilo, tetrazolilo, tiadiazolilo, tiazolilo, tienilo, triazolilo y triazinilo. El heteroarilo bicíclico consiste en un heteroarilo monocíclico fusionado a un fenilo, un cicloalquilo monocíclico, un cicloalqueno monocíclico, un heterociclilo monocíclico o un heteroarilo monocíclico. La porción de cicloalquilo o heterociclilo fusionado del grupo heteroarilo bicíclico está opcionalmente sustituida con uno o dos grupos que son independientes oxo y tia. Cuando el heteroarilo bicíclico contiene un anillo de cicloalquilo, cicloalqueno o heterociclilo fusionado, entonces el grupo heteroarilo bicíclico está conectado al resto molecular original a través de cualquier átomo de carbono o nitrógeno contenido dentro de la porción de heteroarilo monocíclico del sistema de anillo bicíclico. Cuando el heteroarilo bicíclico es un heteroarilo monocíclico fusionado a un anillo de fenilo, entonces el grupo de heteroarilo bicíclico está conectado al resto molecular original a través de cualquier átomo de carbono o átomo de nitrógeno dentro del sistema de anillo bicíclico. Los ejemplos representativos de heteroarilo bicíclico incluyen, pero no se limitan a, bencimidazolilo, benzofuranilo, benzotienilo, benzoxadiazolilo, benzoxatiadiazolilo, benzotiazolilo, cinolinilo, 5,6-dihidroquinolin-2-ilo, 5,6-dihidroisoquinolin-1-ilo, furopiridinilo, indazolilo, indolilo, isoquinolinilo, naftiridinilo, quinolinilo, purinilo, 5,6,7,8-tetrahidroquinolin-2-ilo, 5,6,7,8-tetrahidroquinolin-3-ilo, 5,6,7,8-tetrahidroquinolin-4-ilo, 5,6,7,8-tetrahidroisoquinolin-1-ilo, tienopiridinilo, 4,5,6,7-tetrahidrobencoc[1,2,5]oxadiazolilo y 6,7-dihidrobencoc[1,2,5]oxadiazol-4(5H)-onilo. En ciertas realizaciones, el heteroarilo bicíclico fusionado es un anillo de heteroarilo monocíclico de 5 o 6 miembros fusionado a un anillo de fenilo, un cicloalquilo monocíclico de 5 o 6 miembros, un cicloalqueno monocíclico de 5 o 6 miembros, un heterociclilo monocíclico de 5 o 6 miembros o un heteroarilo monocíclico de 5 o 6 miembros en donde los grupos de cicloalquilo, cicloalqueno y heterociclilo fusionados están opcionalmente sustituidos con uno o dos grupos que son independientemente oxo y tia.

50 Los inhibidores de GPBP-1 normalmente se combinan con uno o más adyuvantes apropiados para la ruta de administración indicada. Los inhibidores se pueden mezclar con lactosa, sacarosa, almidón en polvo, ésteres de celulosa de ácidos alcanoicos, ácido esteárico, talco, estearato de magnesio, óxido de magnesio, sales de sodio y calcio de ácidos fosfórico y sulfúrico, acacia, gelatina, alginato sódico, polivinilpirrolidina y/o alcohol polivinílico y en tabletas o encapsulados para administración convencional. Alternativamente, los inhibidores se pueden disolver en solución salina, agua, polietilén glicol, propilén glicol, soluciones coloidales de carboximetil celulosa, etanol, aceite de maíz, aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, goma de tragacanto y/o varios tampones. Son bien conocidos otros adyuvantes y modos de administración en la técnica farmacéutica. El transportador o diluyente puede incluir material de retardo en el tiempo, como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo solo o con una cera u otros materiales bien conocidos en la técnica.

60 Los inhibidores de GPBP-1 se pueden administrar como el único agente farmacéutico activo o se pueden usar en combinación con uno o más de los compuestos útiles para llevar a cabo los métodos de la invención. Cuando se administran como una combinación, los agentes terapéuticos se pueden formular como composiciones separadas

que se administran al mismo tiempo o en momentos diferentes, o los agentes terapéuticos se pueden administrar como una única composición.

Los inhibidores de GPBP-1 pueden estar hechos en forma sólida (que incluyen gránulos, polvos o supositorios) o en una forma líquida (p. ej., soluciones, suspensiones o emulsiones).

- 5 Los inhibidores de GPBP-1 se pueden aplicar en una variedad de soluciones y se pueden someter a operaciones farmacéuticas convencionales como esterilización y/o pueden contener adyuvantes convencionales como conservantes, estabilizadores, agentes humectantes, emulsionantes, tampones, etc.

10 Los inhibidores de GPBP-1 se pueden administrar por vía oral, tópica, parenteral, por inhalación o pulverización o rectal en formulaciones de unidades de dosificación que contienen transportadores, adyuvantes y vehículos no tóxicos farmacéuticamente aceptables. El término parenteral, como se usa en esta memoria, incluye técnicas de inyección o infusión percutánea, subcutánea, intravascular (p. ej., intravenosa), intramuscular o intratecal y similares. Las composiciones farmacéuticas que contienen inhibidores de GPBP-1 pueden estar en una forma adecuada para uso oral, por ejemplo, como tabletas, grageas, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsión, cápsulas duras o blandas o jarabes o elixires.

15 Las composiciones destinadas para uso oral se pueden preparar de acuerdo con cualquier método conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas y tales composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes conservantes con el fin de proporcionar preparaciones agradables. Las tabletas contienen el ingrediente activo mezclado con excipientes no tóxicos farmacéuticamente aceptables que son adecuados para la fabricación de tabletas. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y desintegración, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina o acacia, y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Las tabletas pueden no estar recubiertas o pueden estar recubiertas mediante técnicas conocidas. En algunos casos tales recubrimientos se pueden preparar mediante técnicas conocidas para retrasar la desintegración y la absorción en el tracto gastrointestinal y, por lo tanto, proporcionar una acción sostenida durante un periodo más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material de retardo en el tiempo como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

20 Las formulaciones para uso oral también se pueden presentar como cápsulas de gelatina dura en donde el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en las que el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

25 Las suspensiones acuosas contienen los materiales activos mezclados con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Dichos excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidropropil-metilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto y goma de acacia; agentes dispersantes o humectantes pueden ser un fosfátido natural, por ejemplo, lecitina o productos de condensación de un óxido de alquileo con ácidos grasos, por ejemplo, estearato de polioxietileno o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo, heptadecaetilenoxicetanol o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol como el monooleato de polioxietilén sorbitol o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, monooleato de polietilén sorbitan. Las suspensiones acuosas también pueden contener uno o más conservantes, por ejemplo, etilo o p-hidroxibenzoato de n-propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes y uno o más agentes edulcorantes, como sacarosa o sacarina.

35 Las suspensiones oleosas se pueden formular suspendiendo los inhibidores en un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de arachis, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco o en un aceite mineral como parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo, cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Se pueden agregar agentes edulcorantes y agentes saborizantes para proporcionar preparaciones orales agradables. Estas composiciones se pueden conservar mediante la adición de un antioxidante como ácido ascórbico.

40 Los polvos y gránulos dispersables adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan los inhibidores de GPBP-1 en mezcla con un agente dispersante o humectante, un agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes o agentes de suspensión adecuados se ejemplifican por los ya mencionados anteriormente. También pueden estar presentes excipientes adicionales, por ejemplo, agentes edulcorantes, aromatizantes y colorantes.

45 Los inhibidores de GPBP-1 también se pueden administrar en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un agente vegetal o un aceite mineral o mezclas de estos. Los agentes emulsionantes adecuados pueden ser gomas naturales, por ejemplo, goma de acacia o goma de tragacanto, fosfátidos naturales, por ejemplo, soja, lecitina y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y hexitol, anhídridos, por ejemplo, monooleato

de sorbitán y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo, monooleato de polioxietilén sorbitan. Las emulsiones también pueden contener agentes edulcorantes y aromatizantes.

- Los jarabes y elixires se pueden formular con agentes edulcorantes, por ejemplo, glicerol, propilén glicol, sorbitol, glucosa o sacarosa. Dichas formulaciones también pueden contener un demulcente, un conservante y agentes aromatizantes y colorantes. Las composiciones de inhibidor de GPBP-1 pueden estar en forma de una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. Esta suspensión se puede formular de acuerdo con la técnica conocida usando aquellos agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados que se han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol.
- Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear están el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro de sodio. Además, se emplean convencionalmente aceites fijos estériles como un disolvente o medio de suspensión. Para este propósito, se puede emplear cualquier aceite fijo suave, que incluye mono o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos como el ácido oleico encuentran uso en la preparación de inyectables.
- Las composiciones que contienen inhibidor de GPBP-1 también se pueden administrar en forma de supositorios, p. ej., para la administración rectal del medicamento. Estas composiciones se pueden preparar mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperaturas habituales pero líquido a la temperatura rectal y, por lo tanto, se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Dichos materiales incluyen manteca de cacao y polietilén glicoles.
- Las composiciones que contienen inhibidor de GPBP-1 de la presente invención se pueden administrar por vía parenteral en un medio estéril. El fármaco, dependiendo del vehículo y de la concentración usada, se puede suspender o disolver en el vehículo. De manera ventajosa, los adyuvantes como anestésicos locales, conservantes y agentes tamponantes se pueden disolver en el vehículo.

- Los niveles de dosificación de los inhibidores de GPBP-1 en el orden de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 50 mg por kilogramo de peso corporal por día, y más preferiblemente entre 0,1 mg a aproximadamente 50 mg por kilogramo de peso corporal por día, son útiles en el tratamiento de las afecciones indicadas anteriormente. La cantidad de inhibidor de GPBP-1 que se puede combinar con los materiales transportadores para producir una forma de dosificación única variará dependiendo del huésped tratado y del modo particular de administración. Las formas de unidad de dosificación contendrán generalmente entre aproximadamente 1 mg y aproximadamente 500 mg de inhibidor.

- “Farmacéuticamente aceptable” se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, dentro del alcance del buen juicio médico, son adecuados para el contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad irritación, respuesta alérgica u otros problemas o complicaciones proporcionales a una relación beneficio/riesgo razonable o que de otro modo hayan sido aprobados por la Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos como aceptables para su uso en seres humanos o animales domésticos.

- En una realización de cualquier aspecto terapéutico de la invención, el(los) inhibidor(es) de GPBP-1 se puede(n) administrar conjuntamente con uno o más de otros agentes terapéuticos para tratar la T2D y complicaciones diabéticas, que incluyen, pero no se limitan a, insulina, metformina, sulfonilureas, inhibidores de alfa glucosida, tiazolidendionas, péptido-1 similar a glucagón y análogos de estos, inhibidores de la dipeptidil peptidasa-4 e inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA).

En otro aspecto, la presente invención proporciona métodos para diagnosticar un estado pre-diabético que comprende

- (a) determinar una cantidad de GPBP-1 en una muestra de un sujeto en riesgo de tener un estado pre-diabético; y
- (b) comparar la cantidad de GPBP-1 en la muestra con una cantidad de GPBP-1 en una muestra control en donde la muestra control es una muestra de un sujeto normal;

en donde un aumento en la cantidad de GPBP-1 en la muestra en comparación con la muestra control indica la presencia de un estado pre-diabético en el sujeto.

- Como se muestra en los ejemplos que siguen, los niveles circulantes de GPBP se incrementaron significativamente en ratones normoglucémicos *Irs2^{-/-}* (modelo de T2D) en comparación con el tipo salvaje (WT). Sin embargo, en ratones diabéticos *Irs2^{-/-}*, se observó una marcada reducción en los niveles circulantes de GPBP, lo que demuestra que la regulación por aumento de GPBP ocurre en el estado pre-diabético y predice el desarrollo de la T2D. Por lo tanto, GPBP es un biomarcador del estado pre-diabético que se puede usar clínicamente para la detección temprana de resistencia a la insulina y propensión a desarrollar T2D.

- Como se usa en esta memoria, un “estado pre-diabético” es el estado en el que se cumplen algunos, pero no todos, de los criterios de diagnóstico para la diabetes. Por lo tanto, el estado pre-diabético puede comprender: 1) tener una

tolerancia a la glucosa en ayunas deteriorada, que es una condición por la cual la respuesta de las células beta a un estímulo de glucosa oral (OGT) es deficiente o 2) tener glucosa en ayunas (IFG) constantemente elevada, que es una condición en la cual la glucosa en sangre en ayunas se eleva por encima de lo que se consideran niveles normales pero no es lo suficientemente alta como para ser clasificada como diabetes mellitus. El estado pre-diabético puede estar asociado con resistencia a la insulina y un mayor riesgo de patología cardiovascular. Los individuos con un estado pre-diabético tienen un riesgo relativamente alto de desarrollar T2D. En un aspecto adicional, la invención proporciona métodos para diagnosticar una propensión a desarrollar T2D que comprende

(a) determinar una cantidad de GPBP-1 en una muestra de un sujeto en riesgo de desarrollar T2D; y

(b) comparar la cantidad de GPBP-1 en la muestra con una cantidad de GPBP-1 en una muestra control en donde la muestra control es una muestra de un sujeto normal;

en donde un aumento en la cantidad de GPBP-1 en la muestra en comparación con la muestra control se correlaciona con una propensión a desarrollar T2D en el sujeto.

Dicho "aumento" puede ser cualquier cantidad de aumento en GPBP-1 en relación con el control (como muestra control de un sujeto normal o niveles "normales" previamente determinados de GPBP-1 en una población de control), por ejemplo, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 50%, 75%, 100% o más. En una realización, un valor normal de GPBP-1 como referencia para una curva estándar es inferior a 10 ng/ml en plasma. En varias realizaciones, un intervalo normal de GPBP-1 puede estar entre ~ 1 ng/ml-10 ng/ml en plasma. Por lo tanto, en una realización, los sujetos identificados que tienen más de 10 ng/ml de GPBP-1 en su plasma se tratan de acuerdo con los métodos de la invención. Se conocen métodos para determinar la cantidad de GPBP circulante (véanse los documentos WO 2010/009856 y EE.UU. 7935492).

Como se usa en esta memoria, una "propensión para desarrollar T2D" significa que el sujeto tiene un mayor riesgo de desarrollar T2D en comparación con la población general.

En estas realizaciones, se puede usar cualquier muestra adecuada de un sujeto como se describe en esta memoria, que incluye, pero no se limita a, una muestra de suero.

Los sujetos en riesgo de un estado pre-diabético y/o en riesgo de desarrollar T2D incluyen, pero no se limitan a, aquellos sujetos con uno o más factores de riesgo seleccionados que incluyen, pero no se limitan a, obesidad, un estilo de vida sedentario, malos hábitos alimenticios (Ej: demasiada grasa, poca fibra, demasiados carbohidratos simples, etc.), antecedentes familiares de estado pre-diabético y/o T2D, 50 años o más, presión arterial alta, colesterol alto y antecedentes de diabetes gestacional.

En una realización, el diagnóstico comprende

(a) poner en contacto una muestra de plasma del sujeto con una molécula que une GPBP-1 que se une a GPBP-1 en condiciones de promover la unión selectiva de la molécula que une GPBP-1 a la GPBP-1;

(b) eliminar el plasma y las moléculas que unen GPBP-1 no unidos; y

(c) detectar la formación de complejos entre la molécula que une GPBP-1 y la GPBP-1 en la muestra de plasma, en donde la formación de complejos proporciona una medida de GPBP-1 en la muestra.

Una "molécula que une GPBP" es un péptido o una molécula de ácido nucleico que se une selectivamente a GPBP, a diferencia de una o más moléculas biológicas, estructuras, células, tejidos, etc. Las realizaciones ejemplares de dichas moléculas que unen GPBP incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos, aptámeros o sustratos. Como se usa en esta memoria, un "sustrato GPBP" es un adyuvante de la actividad biológica de GPBP que se une a GPBP, o un fragmento de esta, que retiene la actividad de unión a GPBP. Dichos sustratos de GPBP incluyen, pero no se limitan a, I-20 (SEQ ID N°: 9), proteínas que interactúan con GPBP (GIPs) (SEQ ID N°s: 14-18), proteína básica de mielina (MBP) y derivados de esta (SEQ ID N°s: 19-22), proteína priónica (PrP) (SEQ ID N°: 23), α 3NC1 (SEQ ID N°: 24) y péptido beta de la enfermedad de Alzheimer ($A\beta_{1-42}$) (SEQ ID N°: 25). Referencias ejemplares que demuestran la unión a GPBP de estos sustratos se pueden encontrar en las patentes de EE.UU. N°s. 6.579.969; 7.147.855 y 7.326.768.

Una "muestra de plasma" significa plasma sanguíneo, el componente líquido de la sangre, y se prepara, por ejemplo, mediante centrifugación de sangre completa para eliminar las células sanguíneas. Como se usa en esta memoria, una muestra de plasma también incluye una muestra de suero sanguíneo en la que se han eliminado los factores de coagulación sanguínea.

La muestra de plasma se puede obtener de cualquier sujeto adecuado, preferiblemente de un mamífero que está en riesgo de T2D o de pre-diabetes, que incluye, pero no se limita a, un ser humano, perro, gato, caballo o ganado (vaca, oveja, etc.). En una realización más preferida, la muestra de plasma se obtiene de un sujeto humano.

El anticuerpo puede ser cualquier anticuerpo selectivo de GPBP-1, ya sea policlonal, monoclonal o monoclonal humanizado como se describió anteriormente, aunque se prefieren los anticuerpos monoclonales.

Los expertos en la técnica pueden determinar las condiciones adecuadas para promover la unión de moléculas que unen GPBP, como anticuerpos, aptámeros o sustratos a GPBP en las muestras de plasma en base a las enseñanzas en esta memoria y a los ejemplos proporcionados a continuación. Por ejemplo, la unión anticuerpo-antígeno depende a menudo de interacciones hidrofóbicas (los llamados enlaces hidrofóbicos); así, se pueden usar altas concentraciones de sal, como en el intervalo molar, para reducir la unión inespecífica y aumentar la unión específica de antígeno-anticuerpo. Opcionalmente, se pueden incluir etapas adicionales para promover la selectividad y especificidad que incluyen, pero no se limitan a, una o más etapas de lavado para eliminar la GPBP y/o la molécula de unión a GPBP no unida o proteínas séricas no unidas o débilmente unidas; inhibidores de la unión no específica para reducir la unión de proteínas séricas de alta concentración, muestras de control conocidas por contener GPBP y/o controles negativos que se sabe que no se unen a GPBP y/o inclusión de muestras de plasma que se sabe que no poseen GPBP (ej: GPBP eliminada).

Los métodos pueden evaluar la presencia de GPBP en la muestra de plasma mediante técnicas estándar que incluyen, pero no se limitan a, ELISA, inmunofluorescencia y cromatografía (por ejemplo, ensayos de flujo lateral donde el anticuerpo se inmoviliza en una superficie y las proteínas plasmáticas se marcan y se dejan fluir sobre la superficie en condiciones adecuadas para permitir la unión del anticuerpo a GPBP en el plasma). En una realización, se usan perlas funcionales (tecnología Becton Dickinson) acopladas a citometría de flujo; esta técnica es un método emergente para medir los niveles de proteínas en fluidos biológicos o extractos de células/tejidos. Específicamente, las perlas hechas de una matriz de fluorescencia se recubren con uno o más anticuerpos específicos de GPBP, se mezclan con la muestra de plasma y se incuban adicionalmente con un anticuerpo de detección de GPBP marcado con ficoeritrina. Finalmente, las perlas se analizan mediante un programa de citometría de flujo que selecciona las perlas de acuerdo con la emisión de fluorescencia de la matriz y la medición del nivel de analito a través de la emisión de ficoeritrina. Hay hasta treinta tipos diferentes de perlas que se pueden detectar y discriminar simultáneamente por el citómetro. En otra realización, se usan microesferas (tecnología x MAP) acopladas a citometría de flujo o a tecnología basada en imágenes CCD (plataformas en multiplex). Específicamente, las microesferas hechas de poliestireno y teñidas internamente con fluoróforos rojos e infrarrojos se recubren con uno o más anticuerpos específicos para GPBP, se mezclan con la muestra de plasma, se incuban con un anticuerpo GPBP de detección marcado con biotina y finalmente se detectan los complejos con estreptavidina marcada con ficoeritrina. Las perlas se analizan posteriormente mediante plataformas en multiplex que seleccionan las perlas de acuerdo con la emisión de fluorescencia y la medición del nivel de analito a través de la emisión de ficoeritrina. Hay hasta quinientos tipos diferentes de microesferas que las plataformas en multiplex pueden detectar y discriminar simultáneamente. Estos métodos combinan una alta sensibilidad y rendimiento con versatilidad ya que se puede mezclar una perla específica funcional o una microesfera recubierta con anticuerpos específicos para GPBP con distintos péptidos de unión para otro analito (es decir, autoanticuerpos) y medirse simultáneamente. La medición de varios analitos podría aumentar el potencial de determinación de GPBP. En una realización, las técnicas pueden determinar solo la presencia o ausencia de GPBP. Alternativamente, las técnicas pueden ser cuantitativas y proporcionar información sobre la cantidad relativa de GPBP en la muestra. Para fines cuantitativos, se prefieren los ELISA.

La detección de la formación de inmunocomplejos se puede lograr mediante técnicas estándar de detección. Por ejemplo, la detección de inmunocomplejos se puede lograr mediante el uso de anticuerpos marcados o anticuerpos secundarios. Dichos métodos, que incluyen la elección del marcador, son conocidos por los expertos en la técnica. Alternativamente, los anticuerpos se pueden acoplar a una sustancia detectable. El término "acoplado" se usa para querer decir que la sustancia detectable está físicamente unida al anticuerpo. Las sustancias detectables adecuadas incluyen varias enzimas, grupos prostéticos, materiales fluorescentes, materiales luminiscentes y materiales radioactivos. Ejemplos de enzimas adecuadas incluyen peroxidasa de rábano, fosfatasa alcalina, β -galactosidasa o acetilcolinesterasa. Ejemplos de complejos de grupo prostético incluyen estreptavidina/biotina y avidina/biotina. Ejemplos de materiales fluorescentes adecuados incluyen umbeliferona, fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina, diclorotriazinilamina fluoresceína, cloruro de dansilo o ficoeritrina. Un ejemplo de un material luminiscente incluye luminol. Ejemplos de material radioactivo adecuado incluyen ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S o ^3H .

Los métodos comprenden la comparación de los niveles de GPBP-1 detectados en una muestra de plasma de prueba con un control, como un control de una muestra de plasma que se sabe que tiene niveles "normales" de GPBP-1 o valores normales determinados previamente para GPBP-1 en plasma del sujeto del que se obtiene el plasma. En varias realizaciones, el control proporciona una curva estándar que usa GPBP-1 recombinante o un valor de referencia. Al comparar la cantidad de GPBP-1 en la muestra de plasma con un control, un aumento de GPBP-1 en la muestra de plasma en relación con el control indica la presencia de un estado pre-diabético y/o una propensión a desarrollar T2D.

En una realización, el método comprende detectar GPBP-1 circulante nativa a partir de plasma humano. En otra realización, la molécula que une GPBP-1 comprende un anticuerpo como un anticuerpo monoclonal o policlonal.

60 Ejemplos

GPBP forma grandes agregados multiméricos cuya actividad quinasa específica es mucho mayor que la de los agregados de menor peso molecular (documento WO 2000/50607). Un motivo de cinco residuos de longitud $^{260}\text{SHCIE}^{264}$ (SEQ ID N°: 4) es el núcleo de una región que es crítica para estabilizar el ensamblaje del multímero de GPBP nativo. Un péptido aislado (Q2) que representa $^{260}\text{SHCIE}^{264}$ (SEQ ID N°: 4) y las regiones flanqueantes (LATLSHCIELMVKR) (SEQ ID N°: 8) inhibió eficazmente la actividad quinasa de GPBP (documento WO 2004/070025). Se ha demostrado que los compuestos orgánicos que imitan Q2 inhiben la actividad quinasa de GPBP (documentos WO 2011/054530 y la Patente de EE.UU. N°: 8.586.776). También se ha demostrado que el agente anti-tumoral doxorubicina inhibe la actividad quinasa de GPBP (documento WO 2014/006020). También se ha demostrado que los anticuerpos monoclonales anti-GPBP inhiben la actividad de GPBP (documento WO 2012/113785).

La T2D se asocia con resistencia a la insulina y fallo de la célula β . La insulina y el IGF-I ejercen sus actividades biológicas a través de la fosforilación y activación de las proteínas del sustrato del receptor de insulina (IRS) (Burks y White, 2001). La eliminación de *lrs2* en ratones produce resistencia periférica a la insulina y una reducción en la masa de células β , lo que da lugar a la diabetes (Withers *et al.*, 1998). Los ratones machos nulos para *lrs2* desarrollan hiperglucemia alrededor de las 8 semanas de edad y la mayoría muere por complicaciones diabéticas antes de las 16 semanas de edad. La ausencia de IRS2 también causa obesidad moderada en ratones hembra (Burks *et al.*, 2000). El fenotipo diabético muestra un dimorfismo sexual tal que las hembras desarrollan diabetes más lentamente y muchas sobreviven hasta los 6 meses de edad (Gracia-Barrado *et al.*, 2011).

Métodos experimentales

Figura 1. Niveles elevados de glucosa extracelular inducen la expresión de GPBP. Se diferenciaron células C2C12 durante 5 días en DMEM (medio de Eagle modificado de Dulbecco) suplementado con suero de caballo al 2% y antibióticos. Los cultivos se lavaron con PBS (solución salina tamponada con fosfato) y se incubaron durante otro periodo de 24 horas con DMEM suplementado con suero de caballo al 2% que contenía glucosa a las concentraciones indicadas. Las células se lavaron con PBS y se lisaron en Tris-HCl 50 mM pH 7,0, NaCl 150 mM, Tritón X-100 al 1%, PMSF 1 mM (fluoruro de fenil-metilsulfonilo), 10 mg/ml de leupeptina durante 30 minutos a 4°C. Los lisados se clarificaron mediante centrifugación (16.000 x g, 5 min, 4°C), se determinó la concentración de proteína total de los sobrenadantes (Bio-Rad) y se analizaron cantidades similares (50 μg) de cada extracto mediante transferencia de Western con anticuerpos monoclonales anti-GPBP (mAb) N27 y anti-tubulina (Sigma), como se indica en otra parte.

Figura 2. La inhibición de la GPBP quinasa aumenta el consumo de glucosa en concentraciones elevadas de glucosa extracelular. **A**, se cultivaron células A549 en DMEM más suero bovino fetal al 10% y penicilina/estreptomina con las concentraciones indicadas de glucosa durante 24 h. Luego se lisaron las células en Tris-HCl 25 mM, pH 7,5, NaCl 150 mM, Tritón X-100 al 1%, SDS al 0,1%, PMSF 1 mM, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de leupeptina, NaF 20 mM a 4°C durante 30 min. Los lisados se clarificaron mediante centrifugación a 16.000 x g durante 5 minutos (4°C) y se determinó la concentración de proteína total de los sobrenadantes (Bio-Rad). Se analizaron cantidades similares (50 μg) de cada lisado mediante transferencia de Western para la detección de la proteína AS160 fosforilada en Ser 318 (P Ser 318 AS160), GPBP y tubulina usando anticuerpos primarios obtenidos de Cell Signaling Technology, Fibrostatin SL y Sigma, respectivamente, y anticuerpos secundarios anti-conejo IgG y anti-ratón IgG conjugados con HRP de Promega. El desarrollo se realizó con el Reactivo de Detección de Transferencia de Western Amersham ECL Prime (GE Healthcare Lifesciences) y la adquisición de imágenes con un dispositivo ImageQuant LAS 4000 Mini (GE Healthcare Lifesciences). **B**, las células A549 se cultivaron en DMEM: F-12 (315 mg de glucosa/dl) suplementado con suero bovino fetal al 10% y penicilina/estreptomina con las concentraciones indicadas de T12 durante 14 h. Después de las incubaciones, se lisaron las células como en **A** y se evaluaron las concentraciones de proteínas en los sobrenadantes de manera similar. Se determinaron las concentraciones de glucosa en los medios al principio y al final del periodo de incubación con un medidor Glucocard G+ (Arkray Factory, Inc.) y se calculó la ingesta de glucosa por las células usando las concentraciones de proteína de los lisados correspondientes para fines de normalización. Se obtuvieron resultados similares con doxorubicina (0,5 μM) (datos no mostrados), un inhibidor diferente de la GPBP quinasa (documento WO/2014/006020). **C**, las células A549 se cultivaron en DMEM: F-12 (315 mg de glucosa/dl) más suero bovino fetal al 10% y penicilina/estreptomina durante 20 h en ausencia (Control) o presencia de T12 (50 μM) y se lisaron como en **A**. Se analizaron cantidades similares (50 μg) de cada lisado mediante transferencia de Western para la detección de la proteína AS160 fosforilada en Ser 318 (P Ser 318 AS160) o de tubulina como en **A**.

Figura 3. La inhibición de la GPBP quinasa también aumenta el consumo de glucosa en concentraciones fisiológicas de glucosa extracelular. Los mioblastos de ratón C2C12 se diferenciaron a miotubos en DMEM suplementado con suero de caballo al 2% y penicilina/estreptomina durante 10 días y luego se incubaron en DMEM más suero de caballo al 0,25% con una concentración inicial de glucosa de 115 mg/dl en ausencia o en presencia de T12 (50 μM) durante los tiempos indicados. Se determinaron las concentraciones de glucosa en los medios con un medidor Glucocard™ G+ (Arkray Factory, Inc.). Se muestran las medias \pm SEM (n=2). Las diferencias entre los grupos indicados fueron estadísticamente significativas de acuerdo con el análisis de la prueba t-Student. *P=0,0152; ***P=0,0005.

Figura 4. Los ratones *Irs2*^{-/-} presentaron una expresión aumentada de colágeno IV. Se recogieron los riñones de ratones macho de tipo salvaje (WT, n=9), normoglucémicos *Irs2*^{-/-} (*Irs2*^{-/-}, n=9) y diabéticos *Irs2*^{-/-} (n=9) a 8-12 semanas de edad y se embebieron en parafina para análisis inmunohistoquímico de las secciones con anticuerpos anti-colágeno tipo IV de EDM Millipore. Los ratones se consideraron diabéticos cuando los niveles de glucosa sérica en ayunas fueron superiores a 120 mg/dl. En la composición, el nivel de expresión de colágeno IV se representa en un rango de color negro (sin expresión) y blanco (expresión). Se muestran imágenes representativas. Aumento original: 400 x.

Figura 5. Los ratones *Irs2*^{-/-} presentaron una expresión aumentada de COL4A3BP. Se recogieron riñones de ratones macho de tipo salvaje (WT, n=9), normoglucémicos *Irs2*^{-/-} (*Irs2*^{-/-}, n=9) y diabéticos *Irs2*^{-/-} (n=9) a 8-12 semanas de edad y se embebieron en parafina para análisis inmunohistoquímico de las secciones con mAb anti-GPBP de Fibrostatin SL. Los ratones se consideraron diabéticos cuando los niveles de glucosa sérica en ayunas fueron superiores a 120 mg/dl. En la composición, el nivel de expresión de GPBP se representa en un rango de color negro (sin expresión) y blanco (expresión). Se muestran imágenes representativas. Aumento original: 400 x.

Figura 6. Los niveles de GPBP circulantes están aumentados en ratones normoglucémicos deficientes en *Irs2*. Se recogieron muestras de sangre de ratones de tipo salvaje (WT, n=12), normoglucémicos *Irs2*^{-/-} (*Irs2*^{-/-}, n=12) y diabéticos *Irs2*^{-/-} (n=19) en el momento del sacrificio (8-12 semanas de edad) y se midieron los niveles circulantes de GPBP usando anticuerpos mAb N26 como de captura y mAb N27 como de detección en un prototipo de ELISA sándwich esencialmente como se describe en el documento WO 2010/009856. Los ratones se consideraron diabéticos cuando los niveles de glucosa sérica en ayunas fueron superiores a 120 mg/dl. *P<0,05; ***P<0,001.

Figura 7. Efecto del tratamiento anti-GPBP sobre la glucosa en sangre en ratones de 10 semanas de edad. Diferentes grupos de ratones recibieron inyecciones intraperitoneales semanales de mAb anti-GPBP N26 o IgG de ratón (Sigma) a 1 µg/g de peso corporal y se controló semanalmente la glucosa en sangre en ayunas (vena de la cola) usando un glucómetro. Machos. Tipo salvaje tratado (WT + mAb N26, n=2), tipo salvaje control (WT + Cont IgG, n=2), *Irs2*^{-/-} tratado (KO + mAb 26, n=2), *Irs2*^{-/-} control (KO + Cont IgG 26, n=2). Hembras. Tipo salvaje tratado (n=2), tipo salvaje control (n=2), *Irs2*^{-/-} tratado (n=3), *Irs2*^{-/-} control (n=2).

Resultados y Discusión

En mioblastos diferenciados, la regulación negativa de la expresión de GPBP (es decir, *Gpbp*^{-/-}) asociada con una mayor activación de Akt (Revert-Ros et al., 2011) lo que revela que la GPBP citosólica regula negativamente la activación de Akt y deja a las células con menos capacidad de captar glucosa en respuesta a la insulina (resistencia a la insulina). Consistentemente, el aumento de la glucosa extracelular indujo la expresión de GPBP en mioblastos diferenciados (Fig. 1) lo que sugiere que los niveles intracelulares de GPBP aumentan en respuesta al aumento de las concentraciones extracelulares de glucosa (hiperglucemia) quizás en un intento de las células para prevenir los efectos nocivos de las elevadas concentraciones de glucosa intracelular. Por consiguiente, al exponer los cultivos de A549 a una concentración creciente de glucosa extracelular se observó un aumento progresivo de la expresión de GPBP que se asoció con un estado de fosforilación más bajo del sustrato Akt 160 (AS 160), el sello distintivo para la inducción de la captación de glucosa (Fig. 2A). Además, las concentraciones crecientes del compuesto inhibidor de la GPBP quinasa T12 (ácido 3-[4''-metoxi-3,2'-dimetil-(1,1;4',1'')]terfenil-2''-ilo] propiónico (documento WO 2011/054530 y la Patente de EE.UU. N°: 8.586.776); mejoraron progresivamente la captación de glucosa en células A549 cultivadas en condiciones que representan el estado hiperglucémico de T2D (Fig. 2B). Todo lo que sugiere que la inhibición de la GPBP quinasa citosólica por el compuesto T12 indujo la captación de glucosa a través de la desinhibición de Akt y la posterior fosforilación de AS160. Por consiguiente, el análisis de los lisados de cultivos celulares correspondientes mediante transferencia de Western reveló que el compuesto T12 indujo la fosforilación de AS160 (Fig. 2C) que a su vez se espera que promueva la translocación de los transportadores de glucosa GLUT1/GLUT4 a la membrana plasmática y la captación de glucosa (Sano et al., 2003). En conjunto, la evidencia sugiere que la actividad de la quinasa citosólica mejorada de GPBP asociada con hiperglucemia media al menos en parte en la resistencia periférica a la insulina. Se obtuvieron conclusiones similares cuando se trataron cultivos celulares con doxorubicina (0,5 µM) (datos no mostrados), un inhibidor adicional de la GPBP quinasa estructuralmente no relacionado (documento WO2014/006020). Además, se evaluó el papel de la actividad quinasa de GPBP en concentraciones fisiológicas de glucosa y se demostró que el compuesto T12 también redujo los niveles de glucosa extracelular de una manera dependiente de la concentración (Fig. 3), lo que sugiere que la actividad quinasa citosólica de GPBP regula negativamente la señalización dependiente de insulina en condiciones normoglucémicas y diabéticas.

Para investigar el papel de GPBP en la T2D, primero se analizó la expresión de GPBP y de colágeno IV en los riñones de ratones *Irs2*^{-/-}. La nefropatía diabética se caracteriza por la acumulación de matriz mesangial y el engrosamiento de la membrana basal en los glomérulos, así como la hipertrofia tubular renal. Estas anomalías están asociadas con la sobreproducción renal de proteínas de la matriz extracelular como el colágeno IV. De acuerdo con esto, los estudios clínicos han informado un aumento progresivo de la excreción urinaria de colágeno IV en pacientes diabéticos (Cawood et al., 2010). Por consiguiente, se ha propuesto un alto nivel de colágeno IV urinario como marcador del desarrollo y progresión de la enfermedad diabética renal temprana. Al evaluar la diabetes en el modelo de ratón *Irs2*^{-/-} se aplican los mismos criterios para los valores de glucosa en sangre que en los seres humanos; niveles de ayuno >120 mg/dl se consideran diabéticos. Se observó que los ratones con

hiperglucemia severa presentaban a menudo proteinuria (>100 mg/dl), lo que sugiere un deterioro de la función renal asociada con altos niveles de glucosa. Por lo tanto, se usó inmunohistoquímica para evaluar la expresión de colágeno IV en riñones obtenidos de ratones *Irs2^{+/+}* de tipo salvaje (WT), ratones *Irs2^{-/-}* normoglucémicos y ratones *Irs2^{-/-}* diabéticos. Se observó que la expresión de colágeno IV estaba aumentada en ambos grupos de ratones *Irs2^{-/-}* en comparación con el riñón de control WT, pero se expresó más en ratones normoglucémicos que en ratones diabéticos *Irs2^{-/-}* (Fig. 4). Dado el papel de GPBP en la regulación de la organización supramolecular del colágeno IV y en el desencadenamiento de la glomeruloesclerosis cuando se sobreexpresa (Revert *et al.*, 2007), se examinó la expresión de GPBP en secciones de riñón control y de ratones *Irs2^{-/-}*. Curiosamente, la expresión de GPBP fue paralela a la expresión de colágeno IV y, por lo tanto, GPBP se sobreexpresó en los riñones de ratones *Irs2^{-/-}* en comparación con los controles WT y aún más expresado en ratones normoglucémicos que en ratones diabéticos *Irs2^{-/-}* (Fig. 5). Por lo tanto, estos hallazgos sugieren que las citoquinas proinflamatorias asociadas con el estado pre-diabético en ratones *Irs2^{-/-}* pueden regular a la alta la expresión de GPBP que después disminuye a un nivel más basal en ratones con diabetes manifiesta (etapa inflamatoria). Estos resultados son consistentes con GPBP siendo un factor circulante pre-proinflamatorio (documento WO 2012/113785) que también juega un papel en el modelo de T2D de ratón *Irs2^{-/-}*.

Para evaluar aún más esta posibilidad se usó un ELISA desarrollado previamente para la detección de la GPBP circulante (documento WO 2010/009856) y la Patente de EE.UU. N°.: 7.935.492) para medir los niveles de GPBP en muestras de suero obtenidas de ratones control y de los dos grupos de *Irs2^{-/-}* (normoglucémicos y diabéticos). De acuerdo con los resultados de las inmuntinciones, los niveles circulantes de GPBP estaban aumentados significativamente en ratones normoglucémicos *Irs2^{-/-}* en comparación con los WT (Fig. 6). Sin embargo, en ratones diabéticos *Irs2^{-/-}*, se observó una marcada reducción en los niveles circulantes de GPBP. Estos resultados sugieren que la regulación a la alta de GPBP ocurre en el estado pre-diabético probablemente en paralelo con las citoquinas proinflamatorias. Por lo tanto, dada la disponibilidad de un ELISA sensible para detectar GPBP en suero, nuestras observaciones en el modelo *Irs2^{-/-}* indican que GPBP es un posible biomarcador novedoso del estado pre-diabético que se podría usar clínicamente para la detección temprana de resistencia a la insulina y la diabetes.

La eliminación de *Irs* produce diabetes en ratones debido a la resistencia periférica a la insulina y a una reducción en la masa de células β pancreáticas (Withers *et al.*, 1998). Sin embargo, este fenotipo diabético muestra un dimorfismo sexual; los ratones machos *Irs2^{-/-}* a menudo mueren de complicaciones diabéticas a las 12 semanas de edad, pero las hembra *Irs2^{-/-}* desarrollan una forma más leve de diabetes y muchas viven hasta 6 meses (García-Barrado, 2011). Además, los ratones hembra *Irs2^{-/-}* muestran hiperleptinemia y desarrollan obesidad moderada en contraste con los macho *Irs2^{-/-}* que a menudo son más delgados que los ratones control (Burks *et al.*, 2000).

Nuestra observación de que GPBP y el colágeno IV están regulados en ratones normoglucémicos *Irs2^{-/-}* sugiere que esta quinasa puede estar involucrada en la progresión del estado pre-diabético al diabético. Si efectivamente GPBP tiene un papel en esta patología, se esperaría que la inhibición de GPBP retrase o prevenga el desarrollo de diabetes en modelos pre-diabéticos. Para evaluar esta posibilidad, los ratones normoglucémicos *Irs2^{-/-}* se trataron con N26, anticuerpos específicos para GPBP que inhiben la unión de GPBP al dominio α 3NC1 del colágeno IV (documento WO 2012/113785). Los niveles de glucosa se monitorizaron como un indicador del estado metabólico. Dado el dimorfismo sexual presente en este modelo de diabetes, se evaluó anti-GPBP tanto en machos como en hembras. En este estudio, se inició el tratamiento cuando los ratones tenían 10 semanas de edad y se administró N26 a 1 μ g/g de peso corporal una vez a la semana mediante una inyección intraperitoneal. Los niveles de glucosa en ayunas en hembras y en machos WT tratados con anti-GPBP fueron similares a los tratados con una IgG control, lo que demuestra que el tratamiento con anti-GPBP no alteró los niveles de glucosa basal (Fig. 7). Aunque el tratamiento era capaz de mantener la glucemia a niveles normales en machos *Irs2^{-/-}* una semana después de la iniciación del tratamiento, la hiperglucemia prosiguió rápidamente durante la segunda semana y alcanzó valores similares independientemente de si los ratones recibieron inyecciones de N26 o no; y, por lo tanto, todos los machos *Irs2^{-/-}* murieron por complicaciones diabéticas dentro de un mes del inicio del estudio. En contraste, las hembras *Irs2^{-/-}* tratadas con terapia anti-GPBP vivieron hasta 7 meses con niveles normales de glucosa mientras las hembras *Irs2^{-/-}* tratadas con una IgG control desarrollaron hiperglucemia progresivamente.

Colectivamente, los datos apoyan que la GPBP extracelular pre-proinflamatoria (documento WO 2012/113785) media la patogénesis en el modelo *Irs2^{-/-}* para la T2D. Esto también apoya la idea de que el aumento de los niveles circulantes de GPBP son diagnósticos de inflamación entrante que media la hiperglucemia y la T2D. Por consiguiente, la administración temprana de anticuerpos bloqueantes de GPBP (pre-diabéticos) retrasó el inicio de la hiperglucemia en los machos y evitó la hiperglucemia en las hembras. Por lo tanto, se desveló la GPBP extracelular para ser un nuevo biomarcador potencial para detectar la etapa pre-diabética así como una nueva terapia potencial para el tratamiento de la T2D. Además, los anticuerpos anti-GPBP emergen como una espada de doble filo frente a la T2D que detecta pacientes que desarrollarán T2D y como un medicamento biológico para tratar estos pacientes.

De especial interés fue observar que la administración individual de tres reguladores negativos no relacionados de GPBP (es decir, T12, doxorubicina y N26) en diferentes modelos experimentales (es decir, miocitos, línea celular de adenocarcinoma de pulmón A549 y ratón *Irs2^{-/-}*) redujeron las concentraciones de glucosa extracelular. La evidencia también apoya que se logra la reducción de la glucosa extracelular al menos en parte a través de la fosforilación de

la proteína citosólica AS160 lo que da lugar a una mayor absorción de glucosa. Esta observación proporciona evidencia independiente adicional de la GPBP extracelular para regular la actividad de la GPBP intracelular que media la patogénesis en el modelo de ratón *Irs2*^{-/-} para la T2D.

REFERENCIAS

- Burks DJ, Font de Mora J, Schubert M, Withers DJ, Myers MJ, Towery H, Altamuro SA, Flint CA, White MF. 2000. IRS-2 pathways integrate female reproduction and energy homeostasis. *Nature* 407:377-82.
- Burks DJ, White MF. 2001. The role of IRS proteins in beta cell physiology. *Diabetes* 456: 120-125.
- 5 Cawood TJ, Bashir M, Brady J, Murray B, Murray PT, O'Shea D. 2010. Urinary collagen IV and π GST: potential biomarkers for detecting localized kidney injury in diabetes--a pilot study. *Am. J. Nephrol.* 32:219-25.
- Garcia-Barrado MJ, Iglesias-Osma MC, Moreno-Viedma V, Pastor Mansilla MF, González SS, Carretero J, Moratinos J, Burks DJ. 2011. Differential Sensitivity To Adrenergic Stimulation Underlies The Sexual Dimorphism In The Development Of Diabetes Caused By Irs-2 Deficiency. *Biochem Pharmacol.* 81:279-88.
- 10 Revert F, Merino R, Monteagudo C, Macias J, Peydró A, Alcácer J, Muniesa P, Marquina R, Blanco M, Iglesias M, Revert-Ros F, Merino J, Saus J. 2007. Increased Goodpasture antigen-binding protein expression induces type IV collagen disorganization and deposit of immunoglobulin A in glomerular basement membrane. *Am. J. Pathol.* 171:1419-30.
- 15 Revert-Ros F, López-Pascual E, Granero-Moltó F, Macías J, Breyer R, Zent R, Hudson BG, Saadeddin A, Revert F, Blasco R, Navarro C, Burks D, Saus J. Goodpasture antigen-binding protein (GPBP) directs myofibril formation: identification of intracellular downstream effector 130-kDa GPBP-interacting protein (GIP130). *J Biol Chem.* 286:35030-43.
- Sano H, Kane S, Sano E, Míinea CP, Asara JM, Lane WS, Garner CW, Lienhard GE. 2003. Insulin-stimulated phosphorylation of a Rab GTPase-activating protein regulates GLUT4 translocation. *J Biol Chem.* 278:14599-602.
- 20 Withers DJ, Gutierrez JS, Towery H, Burks DJ, Ren JM, Previs S, Zhang Y, Bernal D, Pons S, Shulman GI, Bonner-Weir S, White MF. 1998. Disruption of IRS-2 causes type 2 diabetes in mice. *Nature.* 391:900-4.

Listado de secuencias

- <110> FibroStatin, S.L.
- 25 <120>Detección e Inhibición de la Proteína de Unión al Antígeno Goodpasture y su uso en la Diabetes
- <130> 150-338 PCT
- <150> 61/883792
- <151>27-09-2013
- <160> 25
- 30 <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 25
- <212> PRT
- <213>Secuencia Artificial
- 35 <220>
- <223>Sintético
- <220>
- <221>CARACTERÍSTICA_MISC
- <222> (1)..(10)
- 40 <223>Ausente opcionalmente
- <220>
- <221>CARACTERÍSTICA_MISC
- <222> (15)..(15)
- <223> Xaa is E or Q
- 45 <220>
- <221>CARACTERÍSTICA_MISC
- <222> (16)..(25)
- <223>Ausente opcionalmente

ES 2 742 045 T3

<400> 1

Ala Thr Thr Ala Gly Ile Leu Ala Thr Leu Ser His Cys Ile Xaa Leu
1 5 10 15

Met Val Lys Arg Glu Asp Ser Trp Gln
20 25

5 <210> 2
<211> 10
<212> PRT
<213>Secuencia Artificial

<220>
<223>Sintético

10 <400> 2

Ala Thr Thr Ala Gly Ile Leu Ala Thr Leu
1 5 10

15 <210> 3
<211> 10
<212> PRT
<213>Secuencia Artificial

<220>
<223>Sintético

<400> 3

20

Leu Met Val Lys Arg Glu Asp Ser Trp Gln
1 5 10

25 <210> 4
<211> 5
<212> PRT
<213>Secuencia Artificial

<220>
<223>Sintético

<400> 4

30

Ser His Cys Ile Glu
1 5

<210> 5
<211> 5
<212> PRT
<213>Secuencia Artificial

35 <220>
<223>Sintético

<400> 5

40

Ser His Cys Ile Gln
1 5

<210> 6
<211> 15
<212> PRT
<213>Secuencia Artificial

ES 2 742 045 T3

<220>
<223>Sintético

<400> 6

	Ile	Leu	Ala	Thr	Leu	Ser	His	Cys	Ile	Glu	Leu	Met	Val	Lys	Arg
5	1				5					10					15

<210> 7
<211> 15
<212> PRT
<213>Secuencia Artificial

10 <220>
<223>Sintético

<400> 7

	Ile	Leu	Ala	Thr	Leu	Ser	His	Cys	Ile	Gln	Leu	Met	Val	Lys	Arg
	1				5					10					15

15 <210> 8
<211> 14
<212> PRT
<213>Secuencia Artificial

20 <220>
<223>Sintético

<400> 8

	Leu	Ala	Thr	Leu	Ser	His	Cys	Ile	Glu	Leu	Met	Val	Lys	Arg
	1				5					10				

25 <210> 9
<211> 265
<212> PRT
<213>Secuencia Artificial

<220>
<223>Sintético

30 <400> 9

ES 2 742 045 T3

Arg Asp Glu Val Ile Gly Ile Leu Lys Ala Glu Lys Met Asp Leu Ala
 1 5 10 15

Leu Leu Glu Ala Gln Tyr Gly Phe Val Thr Pro Lys Lys Val Leu Glu
 20 25 30

Ala Leu Gln Arg Asp Ala Phe Gln Ala Lys Ser Thr Pro Trp Gln Glu
 35 40 45

Asp Ile Tyr Glu Lys Pro Met Asn Glu Leu Asp Lys Val Val Glu Lys
 50 55 60

His Lys Glu Ser Tyr Arg Arg Ile Leu Gly Gln Leu Leu Val Ala Glu
 65 70 75 80

Lys Ser Arg Arg Gln Thr Ile Leu Glu Leu Glu Glu Glu Lys Arg Lys
 85 90 95

His Lys Glu Tyr Met Glu Lys Ser Asp Glu Phe Ile Cys Leu Leu Glu
 100 105 110

Gln Glu Cys Glu Arg Leu Lys Lys Leu Ile Asp Gln Glu Ile Lys Ser
 115 120 125

Gln Glu Glu Lys Glu Gln Glu Lys Glu Lys Arg Val Thr Thr Leu Lys
 130 135 140

Glu Glu Leu Thr Lys Leu Lys Ser Phe Ala Leu Met Val Val Asp Glu
 145 150 155 160

Gln Gln Arg Leu Thr Ala Gln Leu Thr Leu Gln Arg Gln Lys Ile Gln
 165 170 175

Glu Leu Thr Thr Asn Ala Lys Glu Thr His Thr Lys Leu Ala Leu Ala
 180 185 190

Glu Ala Arg Val Gln Glu Glu Glu Gln Lys Ala Thr Arg Leu Glu Lys
 195 200 205

Glu Leu Gln Thr Gln Thr Thr Lys Phe His Gln Asp Gln Asp Thr Ile
 210 215 220

Met Ala Lys Leu Thr Asn Glu Asp Ser Gln Asn Arg Gln Leu Gln Gln
 225 230 235 240

Lys Leu Ala Ala Leu Ser Arg Gln Ile Asp Glu Leu Glu Glu Thr Asn
 245 250 255

Arg Ser Leu Arg Lys Ala Glu Glu Glu
 260 265

5 <210> 10
 <211> 624
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

ES 2 742 045 T3

<400> 10

Met Ser Asp Asn Gln Ser Trp Asn Ser Ser Gly Ser Glu Glu Asp Pro
1 5 10 15

Glu Thr Glu Ser Gly Pro Pro Val Glu Arg Cys Gly Val Leu Ser Lys
20 25 30

Trp Thr Asn Tyr Ile His Gly Trp Gln Asp Arg Trp Val Val Leu Lys
35 40 45

Asn Asn Ala Leu Ser Tyr Tyr Lys Ser Glu Asp Glu Thr Glu Tyr Gly
50 55 60

Cys Arg Gly Ser Ile Cys Leu Ser Lys Ala Val Ile Thr Pro His Asp
65 70 75 80

ES 2 742 045 T3

Phe Asp Glu Cys Arg Phe Asp Ile Ser Val Asn Asp Ser Val Trp Tyr
 85 90 95
 Leu Arg Ala Gln Asp Pro Asp His Arg Gln Gln Trp Ile Asp Ala Ile
 100 105 110
 Glu Gln His Lys Thr Glu Ser Gly Tyr Gly Ser Glu Ser Ser Leu Arg
 115 120 125
 Arg His Gly Ser Met Val Ser Leu Val Ser Gly Ala Ser Gly Tyr Ser
 130 135 140
 Ala Thr Ser Thr Ser Ser Phe Lys Lys Gly His Ser Leu Arg Glu Lys
 145 150 155 160
 Leu Ala Glu Met Glu Thr Phe Arg Asp Ile Leu Cys Arg Gln Val Asp
 165 170 175
 Thr Leu Gln Lys Tyr Phe Asp Ala Cys Ala Asp Ala Val Ser Lys Asp
 180 185 190
 Glu Leu Gln Arg Asp Lys Val Val Glu Asp Asp Glu Asp Asp Phe Pro
 195 200 205
 Thr Thr Arg Ser Asp Gly Asp Phe Leu His Ser Thr Asn Gly Asn Lys
 210 215 220
 Glu Lys Leu Phe Pro His Val Thr Pro Lys Gly Ile Asn Gly Ile Asp
 225 230 235 240
 Phe Lys Gly Glu Ala Ile Thr Phe Lys Ala Thr Thr Ala Gly Ile Leu
 245 250 255
 Ala Thr Leu Ser His Cys Ile Glu Leu Met Val Lys Arg Glu Asp Ser
 260 265 270
 Trp Gln Lys Arg Leu Asp Lys Glu Thr Glu Lys Lys Arg Arg Thr Glu
 275 280 285
 Glu Ala Tyr Lys Asn Ala Met Thr Glu Leu Lys Lys Lys Ser His Phe
 290 295 300
 Gly Gly Pro Asp Tyr Glu Glu Gly Pro Asn Ser Leu Ile Asn Glu Glu
 305 310 315 320
 Glu Phe Phe Asp Ala Val Glu Ala Ala Leu Asp Arg Gln Asp Lys Ile

ES 2 742 045 T3

325 330 335

Glu Glu Gln Ser Gln Ser Glu Lys Val Arg Leu His Trp Pro Thr Ser
340 345 350

Leu Pro Ser Gly Asp Ala Phe Ser Ser Val Gly Thr His Arg Phe Val
355 360 365

Gln Lys Pro Tyr Ser Arg Ser Ser Ser Met Ser Ser Ile Asp Leu Val
370 375 380

Ser Ala Ser Asp Asp Val His Arg Phe Ser Ser Gln Val Glu Glu Met
385 390 395 400

Val Gln Asn His Met Thr Tyr Ser Leu Gln Asp Val Gly Gly Asp Ala
405 410 415

Asn Trp Gln Leu Val Val Glu Glu Gly Glu Met Lys Val Tyr Arg Arg
420 425 430

Glu Val Glu Glu Asn Gly Ile Val Leu Asp Pro Leu Lys Ala Thr His
435 440 445

Ala Val Lys Gly Val Thr Gly His Glu Val Cys Asn Tyr Phe Trp Asn
450 455 460

Val Asp Val Arg Asn Asp Trp Glu Thr Thr Ile Glu Asn Phe His Val
465 470 475 480

Val Glu Thr Leu Ala Asp Asn Ala Ile Ile Ile Tyr Gln Thr His Lys
485 490 495

Arg Val Trp Pro Ala Ser Gln Arg Asp Val Leu Tyr Leu Ser Val Ile
500 505 510

Arg Lys Ile Pro Ala Leu Thr Glu Asn Asp Pro Glu Thr Trp Ile Val
515 520 525

Cys Asn Phe Ser Val Asp His Asp Ser Ala Pro Leu Asn Asn Arg Cys
530 535 540

Val Arg Ala Lys Ile Asn Val Ala Met Ile Cys Gln Thr Leu Val Ser
545 550 555 560

Pro Pro Glu Gly Asn Gln Glu Ile Ser Arg Asp Asn Ile Leu Cys Lys
565 570 575

Ile Thr Tyr Val Ala Asn Val Asn Pro Gly Gly Trp Ala Pro Ala Ser
580 585 590

Val Leu Arg Ala Val Ala Lys Arg Glu Tyr Pro Lys Phe Leu Lys Arg
595 600 605

Phe Thr Ser Tyr Val Gln Glu Lys Thr Ala Gly Lys Pro Ile Leu Phe
610 615 620

ES 2 742 045 T3

<210> 11
 <211> 598
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5 <400> 11

```

Met Ser Asp Asn Gln Ser Trp Asn Ser Ser Gly Ser Glu Glu Asp Pro
 1          5          10          15

Glu Thr Glu Ser Gly Pro Pro Val Glu Arg Cys Gly Val Leu Ser Lys
 20          25          30

Trp Thr Asn Tyr Ile His Gly Trp Gln Asp Arg Trp Val Val Leu Lys
 35          40          45

Asn Asn Ala Leu Ser Tyr Tyr Lys Ser Glu Asp Glu Thr Glu Tyr Gly
 50          55          60

Cys Arg Gly Ser Ile Cys Leu Ser Lys Ala Val Ile Thr Pro His Asp
 65          70          75          80

Phe Asp Glu Cys Arg Phe Asp Ile Ser Val Asn Asp Ser Val Trp Tyr
 85          90          95

Leu Arg Ala Gln Asp Pro Asp His Arg Gln Gln Trp Ile Asp Ala Ile
 100         105         110

Glu Gln His Lys Thr Glu Ser Gly Tyr Gly Ser Glu Ser Ser Leu Arg
 115         120         125

Arg His Gly Ser Met Val Ser Leu Val Ser Gly Ala Ser Gly Tyr Ser
 130         135         140

Ala Thr Ser Thr Ser Ser Phe Lys Lys Gly His Ser Leu Arg Glu Lys
 145         150         155         160

Leu Ala Glu Met Glu Thr Phe Arg Asp Ile Leu Cys Arg Gln Val Asp
 165         170         175
    
```

ES 2 742 045 T3

Thr Leu Gln Lys Tyr Phe Asp Ala Cys Ala Asp Ala Val Ser Lys Asp
180 185 190

Glu Leu Gln Arg Asp Lys Val Val Glu Asp Asp Glu Asp Asp Phe Pro
195 200 205

Thr Thr Arg Ser Asp Gly Asp Phe Leu His Ser Thr Asn Gly Asn Lys
210 215 220

Glu Lys Leu Phe Pro His Val Thr Pro Lys Gly Ile Asn Gly Ile Asp
225 230 235 240

Phe Lys Gly Glu Ala Ile Thr Phe Lys Ala Thr Thr Ala Gly Ile Leu
245 250 255

Ala Thr Leu Ser His Cys Ile Glu Leu Met Val Lys Arg Glu Asp Ser
260 265 270

Trp Gln Lys Arg Leu Asp Lys Glu Thr Glu Lys Lys Arg Arg Thr Glu
275 280 285

Glu Ala Tyr Lys Asn Ala Met Thr Glu Leu Lys Lys Lys Ser His Phe
290 295 300

Gly Gly Pro Asp Tyr Glu Glu Gly Pro Asn Ser Leu Ile Asn Glu Glu
305 310 315 320

Glu Phe Phe Asp Ala Val Glu Ala Ala Leu Asp Arg Gln Asp Lys Ile
325 330 335

Glu Glu Gln Ser Gln Ser Glu Lys Val Arg Leu His Trp Pro Thr Ser
340 345 350

Leu Pro Ser Gly Asp Ala Phe Ser Ser Val Gly Thr His Arg Phe Val
355 360 365

Gln Lys Val Glu Glu Met Val Gln Asn His Met Thr Tyr Ser Leu Gln
370 375 380

Asp Val Gly Gly Asp Ala Asn Trp Gln Leu Val Val Glu Glu Gly Glu
385 390 395 400

Met Lys Val Tyr Arg Arg Glu Val Glu Glu Asn Gly Ile Val Leu Asp
405 410 415

Pro Leu Lys Ala Thr His Ala Val Lys Gly Val Thr Gly His Glu Val
420 425 430

ES 2 742 045 T3

Cys Asn Tyr Phe Trp Asn Val Asp Val Arg Asn Asp Trp Glu Thr Thr
 435 440 445

Ile Glu Asn Phe His Val Val Glu Thr Leu Ala Asp Asn Ala Ile Ile
 450 455 460

Ile Tyr Gln Thr His Lys Arg Val Trp Pro Ala Ser Gln Arg Asp Val
 465 470 475 480

Leu Tyr Leu Ser Val Ile Arg Lys Ile Pro Ala Leu Thr Glu Asn Asp
 485 490 495

Pro Glu Thr Trp Ile Val Cys Asn Phe Ser Val Asp His Asp Ser Ala
 500 505 510

Pro Leu Asn Asn Arg Cys Val Arg Ala Lys Ile Asn Val Ala Met Ile
 515 520 525

Cys Gln Thr Leu Val Ser Pro Pro Glu Gly Asn Gln Glu Ile Ser Arg
 530 535 540

Asp Asn Ile Leu Cys Lys Ile Thr Tyr Val Ala Asn Val Asn Pro Gly
 545 550 555 560

Gly Trp Ala Pro Ala Ser Val Leu Arg Ala Val Ala Lys Arg Glu Tyr
 565 570 575

Pro Lys Phe Leu Lys Arg Phe Thr Ser Tyr Val Gln Glu Lys Thr Ala
 580 585 590

Gly Lys Pro Ile Leu Phe
 595

<210> 12
 <211> 707
 <212> PRT
 5 <213> Homo sapiens
 <400> 12

Thr Ala Ala Ala Ala Asp Gly Trp Lys Gly Arg Leu Pro Ser Pro Leu
 1 5 10 15

Val Leu Leu Pro Arg Ser Ala Arg Cys Gln Ala Arg Arg Arg Gly
 20 25 30

Gly Arg Thr Ser Ser Leu Leu Leu Leu Pro Pro Thr Pro Glu Arg Ala
 35 40 45

ES 2 742 045 T3

Leu Phe Ala Ser Pro Ser Pro Asp Pro Ser Pro Arg Gly Leu Gly Ala
 50 55 60
 Ser Ser Gly Ala Ala Glu Gly Ala Gly Ala Gly Leu Leu Leu Gly Cys
 65 70 75 80
 Arg Ala Ser Met Ser Asp Asn Gln Ser Trp Asn Ser Ser Gly Ser Glu
 85 90 95
 Glu Asp Pro Glu Thr Glu Ser Gly Pro Pro Val Glu Arg Cys Gly Val
 100 105 110
 Leu Ser Lys Trp Thr Asn Tyr Ile His Gly Trp Gln Asp Arg Trp Val
 115 120 125
 Val Leu Lys Asn Asn Ala Leu Ser Tyr Tyr Lys Ser Glu Asp Glu Thr
 130 135 140
 Glu Tyr Gly Cys Arg Gly Ser Ile Cys Leu Ser Lys Ala Val Ile Thr
 145 150 155 160
 Pro His Asp Phe Asp Glu Cys Arg Phe Asp Ile Ser Val Asn Asp Ser
 165 170 175
 Val Trp Tyr Leu Arg Ala Gln Asp Pro Asp His Arg Gln Gln Trp Ile
 180 185 190
 Asp Ala Ile Glu Gln His Lys Thr Glu Ser Gly Tyr Gly Ser Glu Ser
 195 200 205
 Ser Leu Arg Arg His Gly Ser Met Val Ser Leu Val Ser Gly Ala Ser
 210 215 220
 Gly Tyr Ser Ala Thr Ser Thr Ser Ser Phe Lys Lys Gly His Ser Leu
 225 230 235 240
 Arg Glu Lys Leu Ala Glu Met Glu Thr Phe Arg Asp Ile Leu Cys Arg
 245 250 255
 Gln Val Asp Thr Leu Gln Lys Tyr Phe Asp Ala Cys Ala Asp Ala Val
 260 265 270
 Ser Lys Asp Glu Leu Gln Arg Asp Lys Val Val Glu Asp Asp Glu Asp
 275 280 285
 Asp Phe Pro Thr Thr Arg Ser Asp Gly Asp Phe Leu His Ser Thr Asn
 290 295 300

ES 2 742 045 T3

Gly Asn Lys Glu Lys Leu Phe Pro His Val Thr Pro Lys Gly Ile Asn
 305 310 315 320

Gly Ile Asp Phe Lys Gly Glu Ala Ile Thr Phe Lys Ala Thr Thr Ala
 325 330 335

Gly Ile Leu Ala Thr Leu Ser His Cys Ile Glu Leu Met Val Lys Arg
 340 345 350

Glu Asp Ser Trp Gln Lys Arg Leu Asp Lys Glu Thr Glu Lys Lys Arg
 355 360 365

Arg Thr Glu Glu Ala Tyr Lys Asn Ala Met Thr Glu Leu Lys Lys Lys
 370 375 380

Ser His Phe Gly Gly Pro Asp Tyr Glu Glu Gly Pro Asn Ser Leu Ile
 385 390 395 400

Asn Glu Glu Glu Phe Phe Asp Ala Val Glu Ala Ala Leu Asp Arg Gln
 405 410 415

Asp Lys Ile Glu Glu Gln Ser Gln Ser Glu Lys Val Arg Leu His Trp
 420 425 430

Pro Thr Ser Leu Pro Ser Gly Asp Ala Phe Ser Ser Val Gly Thr His
 435 440 445

Arg Phe Val Gln Lys Pro Tyr Ser Arg Ser Ser Ser Met Ser Ser Ile
 450 455 460

Asp Leu Val Ser Ala Ser Asp Asp Val His Arg Phe Ser Ser Gln Val
 465 470 475 480

Glu Glu Met Val Gln Asn His Met Thr Tyr Ser Leu Gln Asp Val Gly
 485 490 495

Gly Asp Ala Asn Trp Gln Leu Val Val Glu Glu Gly Glu Met Lys Val
 500 505 510

Tyr Arg Arg Glu Val Glu Glu Asn Gly Ile Val Leu Asp Pro Leu Lys
 515 520 525

Ala Thr His Ala Val Lys Gly Val Thr Gly His Glu Val Cys Asn Tyr
 530 535 540

Phe Trp Asn Val Asp Val Arg Asn Asp Trp Glu Thr Thr Ile Glu Asn

ES 2 742 045 T3

His Arg Gln Gln Asp Lys Asp Ser Pro Ser Glu Ser Asp Val Ile Leu
 35 40 45
 Pro Cys Pro Lys Ala Glu Lys Pro His Ser Gly Asn Gly His Gln Ala
 50 55 60
 Glu Asp Leu Ser Arg Asp Asp Leu Leu Phe Leu Leu Ser Ile Leu Glu
 65 70 75 80
 Gly Glu Leu Gln Ala Arg Asp Glu Val Ile Gly Ile Leu Lys Ala Glu
 85 90 95
 Lys Met Asp Leu Ala Leu Leu Glu Ala Gln Tyr Gly Phe Val Thr Pro
 100 105 110
 Lys Lys Val Leu Glu Ala Leu Gln Arg Asp Ala Phe Gln Ala Lys Ser
 115 120 125
 Thr Pro Trp Gln Glu Asp Ile Tyr Glu Lys Pro Met Asn Glu Leu Asp
 130 135 140
 Lys Val Val Glu Lys His Lys Glu Ser Tyr Arg Arg Ile Leu Gly Gln
 145 150 155 160
 Leu Leu Val Ala Glu Lys Ser Arg Arg Gln Thr Ile Leu Glu Leu Glu
 165 170 175
 Glu Glu Lys Arg Lys His Lys Glu Tyr Met Glu Lys Ser Asp Glu Phe
 180 185 190
 Ile Cys Leu Leu Glu Gln Glu Cys Glu Arg Leu Lys Lys Leu Ile Asp
 195 200 205
 Gln Glu Ile Lys Ser Gln Glu Glu Lys Glu Gln Glu Lys Glu Lys Arg
 210 215 220
 Val Thr Thr Leu Lys Glu Glu Leu Thr Lys Leu Lys Ser Phe Ala Leu
 225 230 235 240
 Met Val Val Asp Glu Gln Gln Arg Leu Thr Ala Gln Leu Thr Leu Gln
 245 250 255
 Arg Gln Lys Ile Gln Glu Leu Thr Thr Asn Ala Lys Glu Thr His Thr
 260 265 270
 Lys Leu Ala Leu Ala Glu Ala Arg Val Gln Glu Glu Glu Gln Lys Ala
 275 280 285

ES 2 742 045 T3

Thr Arg Leu Glu Lys Glu Leu Gln Thr Gln Thr Thr Lys Phe His Gln
 290 295 300

Asp Gln Asp Thr Ile Met Ala Lys Leu Thr Asn Glu Asp Ser Gln Asn
 305 310 315 320

Arg Gln Leu Gln Gln Lys Leu Ala Ala Leu Ser Arg Gln Ile Asp Glu
 325 330 335

Leu Glu Glu Thr Asn Arg Ser Leu Arg Lys Ala Glu Glu Glu Leu Gln
 340 345 350

Asp Ile Lys Glu Lys Ile Ser Lys Gly Glu Tyr Gly Asn Ala Gly Ile
 355 360 365

Met Ala Glu Val Glu Glu Leu Arg Lys Arg Val Leu Asp Met Glu Gly
 370 375 380

Lys Asp Glu Glu Leu Ile Lys Met Glu Glu Gln Cys Arg Asp Leu Asn
 385 390 395 400

Lys Arg Leu Glu Arg Glu Thr Leu Gln Ser Lys Asp Phe Lys Leu Glu
 405 410 415

Val Glu Lys Leu Ser Lys Arg Ile Met Ala Leu Glu Lys Leu Glu Asp
 420 425 430

Ala Phe Asn Lys Ser Lys Gln Glu Cys Tyr Ser Leu Lys Cys Asn Leu
 435 440 445

Glu Lys Glu Arg Met Thr Thr Lys Gln Leu Ser Gln Glu Leu Glu Ser
 450 455 460

Leu Lys Val Arg Ile Lys Glu Leu Glu Ala Ile Glu Ser Arg Leu Glu
 465 470 475 480

Lys Thr Glu Phe Thr Leu Lys Glu Asp Leu Thr Lys Leu Lys Thr Leu
 485 490 495

Thr Val Met Phe Val Asp Glu Arg Lys Thr Met Ser Glu Lys Leu Lys
 500 505 510

Lys Thr Glu Asp Lys Leu Gln Ala Ala Ser Ser Gln Leu Gln Val Glu
 515 520 525

Gln Asn Lys Val Thr Thr Val Thr Glu Lys Leu Ile Glu Glu Thr Lys
 530 535 540

ES 2 742 045 T3

Arg Ala Leu Lys Ser Lys Thr Asp Val Glu Glu Lys Met Tyr Ser Val
545 550 555 560

Thr Lys Glu Arg Asp Asp Leu Lys Asn Lys Leu Lys Ala Glu Glu Glu
565 570 575

Lys Gly Asn Asp Leu Leu Ser Arg Val Asn Met Leu Lys Asn Arg Leu
580 585 590

Gln Ser Leu Glu Ala Ile Glu Lys Asp Phe Leu Lys Asn Lys Leu Asn
595 600 605

Gln Asp Ser Gly Lys Ser Thr Thr Ala Leu His Gln Glu Asn Asn Lys
610 615 620

Ile Lys Glu Leu Ser Gln Glu Val Glu Arg Leu Lys Leu Lys Leu Lys
625 630 635 640

Asp Met Lys Ala Ile Glu Asp Asp Leu Met Lys Thr Glu Asp Glu Tyr
645 650 655

Glu Thr Leu Glu Arg Arg Tyr Ala Asn Glu Arg Asp Lys Ala Gln Phe
660 665 670

Leu Ser Lys Glu Leu Glu His Val Lys Met Glu Leu Ala Lys Tyr Lys
675 680 685

Leu Ala Glu Lys Thr Glu Thr Ser His Glu Gln Trp Leu Phe Lys Arg
690 695 700

Leu Gln Glu Glu Glu Ala Lys Ser Gly His Leu Ser Arg Glu Val Asp
705 710 715 720

Ala Leu Lys Glu Lys Ile His Glu Tyr Met Ala Thr Glu Asp Leu Ile
725 730 735

Cys His Leu Gln Gly Asp His Ser Val Leu Gln Lys Lys Thr Lys Ser
740 745 750

Thr Arg Lys Gln Glu Gln Arg Phe Arg Lys Arg Asp
755 760

<210> 15

<211> 1135

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 15

ES 2 742 045 T3

Met Arg Ser Arg Gly Ser Asp Thr Glu Gly Ser Ala Gln Lys Lys Phe
1 5 10 15

Pro Arg His Thr Lys Gly His Ser Phe Gln Gly Pro Lys Asn Met Lys
20 25 30

His Arg Gln Gln Asp Lys Asp Ser Pro Ser Glu Ser Asp Val Ile Leu
35 40 45

Pro Cys Pro Lys Ala Glu Lys Pro His Ser Gly Asn Gly His Gln Ala
50 55 60

Glu Asp Leu Ser Arg Asp Asp Leu Leu Phe Leu Leu Ser Ile Leu Glu
65 70 75 80

Gly Glu Leu Gln Ala Arg Asp Glu Val Ile Gly Ile Leu Lys Ala Glu
85 90 95

Lys Met Asp Leu Ala Leu Leu Glu Ala Gln Tyr Gly Phe Val Thr Pro
100 105 110

Lys Lys Val Leu Glu Ala Leu Gln Arg Asp Ala Phe Gln Ala Lys Ser
115 120 125

Thr Pro Trp Gln Glu Asp Ile Tyr Glu Lys Pro Met Asn Glu Leu Asp
130 135 140

Lys Val Val Glu Lys His Lys Glu Ser Tyr Arg Arg Ile Leu Gly Gln
145 150 155 160

Leu Leu Val Ala Glu Lys Ser Arg Arg Gln Thr Ile Leu Glu Leu Glu
165 170 175

Glu Glu Lys Arg Lys His Lys Glu Tyr Met Glu Lys Ser Asp Glu Phe
180 185 190

Ile Cys Leu Leu Glu Gln Glu Cys Glu Arg Leu Lys Lys Leu Ile Asp
195 200 205

Gln Glu Ile Lys Ser Gln Glu Glu Lys Glu Gln Glu Lys Glu Lys Arg
210 215 220

Val Thr Thr Leu Lys Glu Glu Leu Thr Lys Leu Lys Ser Phe Ala Leu
225 230 235 240

Met Val Val Asp Glu Gln Gln Arg Leu Thr Ala Gln Leu Thr Leu Gln

ES 2 742 045 T3

Thr Val Met Phe Val Asp Glu Arg Lys Thr Met Ser Glu Lys Leu Lys
500 505 510

Lys Thr Glu Asp Lys Leu Gln Ala Ala Ser Ser Gln Leu Gln Val Glu
515 520 525

Gln Asn Lys Val Thr Thr Val Thr Glu Lys Leu Ile Glu Glu Thr Lys
530 535 540

Arg Ala Leu Lys Ser Lys Thr Asp Val Glu Glu Lys Met Tyr Ser Val
545 550 555 560

Thr Lys Glu Arg Asp Asp Leu Lys Asn Lys Leu Lys Ala Glu Glu Glu
565 570 575

Lys Gly Asn Asp Leu Leu Ser Arg Val Asn Met Leu Lys Asn Arg Leu
580 585 590

Gln Ser Leu Glu Ala Ile Glu Lys Asp Phe Leu Lys Asn Lys Leu Asn
595 600 605

Gln Asp Ser Gly Lys Ser Thr Thr Ala Leu His Gln Glu Asn Asn Lys
610 615 620

Ile Lys Glu Leu Ser Gln Glu Val Glu Arg Leu Lys Leu Lys Leu Lys
625 630 635 640

Asp Met Lys Ala Ile Glu Asp Asp Leu Met Lys Thr Glu Asp Glu Tyr
645 650 655

Glu Thr Leu Glu Arg Arg Tyr Ala Asn Glu Arg Asp Lys Ala Gln Phe
660 665 670

Leu Ser Lys Glu Leu Glu His Val Lys Met Glu Leu Ala Lys Tyr Lys
675 680 685

Leu Ala Glu Lys Thr Glu Thr Ser His Glu Gln Trp Leu Phe Lys Arg
690 695 700

Leu Gln Glu Glu Glu Ala Lys Ser Gly His Leu Ser Arg Glu Val Asp
705 710 715 720

Ala Leu Lys Glu Lys Ile His Glu Tyr Met Ala Thr Glu Asp Leu Ile
725 730 735

Cys His Leu Gln Gly Asp His Ser Val Leu Gln Lys Lys Leu Asn Gln
740 745 750

ES 2 742 045 T3

Gln Glu Asn Arg Asn Arg Asp Leu Gly Arg Glu Ile Glu Asn Leu Thr
755 760 765

Lys Glu Leu Glu Arg Tyr Arg His Phe Ser Lys Ser Leu Arg Pro Ser
770 775 780

Leu Asn Gly Arg Arg Ile Ser Asp Pro Gln Val Phe Ser Lys Glu Val
785 790 795 800

Gln Thr Glu Ala Val Asp Asn Glu Pro Pro Asp Tyr Lys Ser Leu Ile
805 810 815

Pro Leu Glu Arg Ala Val Ile Asn Gly Gln Leu Tyr Glu Glu Ser Glu
820 825 830

Asn Gln Asp Glu Asp Pro Asn Asp Glu Gly Ser Val Leu Ser Phe Lys
835 840 845

Cys Ser Gln Ser Thr Pro Cys Pro Val Asn Arg Lys Leu Trp Ile Pro
850 855 860

Trp Met Lys Ser Lys Glu Gly His Leu Gln Asn Gly Lys Met Gln Thr
865 870 875 880

Lys Pro Asn Ala Asn Phe Val Gln Pro Gly Asp Leu Val Leu Ser His
885 890 895

Thr Pro Gly Gln Pro Leu His Ile Lys Val Thr Pro Asp His Val Gln
900 905 910

Asn Thr Ala Thr Leu Glu Ile Thr Ser Pro Thr Thr Glu Ser Pro His
915 920 925

Ser Tyr Thr Ser Thr Ala Val Ile Pro Asn Cys Gly Thr Pro Lys Gln
930 935 940

Arg Ile Thr Ile Leu Gln Asn Ala Ser Ile Thr Pro Val Lys Ser Lys
945 950 955 960

Thr Ser Thr Glu Asp Leu Met Asn Leu Glu Gln Gly Met Ser Pro Ile
965 970 975

Thr Met Ala Thr Phe Ala Arg Ala Gln Thr Pro Glu Ser Cys Gly Ser
980 985 990

Leu Thr Pro Glu Arg Thr Met Ser Pro Ile Gln Val Leu Ala Val Thr
995 1000 1005

ES 2 742 045 T3

Gly Ser Ala Ser Ser Pro Glu Gln Gly Arg Ser Pro Glu Pro Thr
 1010 1015 1020

Glu Ile Ser Ala Lys His Ala Ile Phe Arg Val Ser Pro Asp Arg
 1025 1030 1035

Gln Ser Ser Trp Gln Phe Gln Arg Ser Asn Ser Asn Ser Ser Ser
 1040 1045 1050

Val Ile Thr Thr Glu Asp Asn Lys Ile His Ile His Leu Gly Ser
 1055 1060 1065

Pro Tyr Met Gln Ala Val Ala Ser Pro Val Arg Pro Ala Ser Pro
 1070 1075 1080

Ser Ala Pro Leu Gln Asp Asn Arg Thr Gln Gly Leu Ile Asn Gly
 1085 1090 1095

Ala Leu Asn Lys Thr Thr Asn Lys Val Thr Ser Ser Ile Thr Ile
 1100 1105 1110

Thr Pro Thr Ala Thr Pro Leu Pro Arg Gln Ser Gln Ile Thr Val
 1115 1120 1125

Glu Pro Leu Leu Leu Pro His
 1130 1135

<210> 16
 <211> 1133
 <212> PRT
 5 <213> Homo sapiens
 <400> 16

Met Arg Ser Arg Gly Ser Asp Thr Glu Gly Ser Ala Gln Lys Lys Phe
 1 5 10 15

Pro Arg His Thr Lys Gly His Ser Phe Gln Gly Pro Lys Asn Met Lys
 20 25 30

His Arg Gln Gln Asp Lys Asp Ser Pro Ser Glu Ser Asp Val Ile Leu
 35 40 45

Pro Cys Pro Lys Ala Glu Lys Pro His Ser Gly Asn Gly His Gln Ala
 50 55 60

Glu Asp Leu Ser Arg Asp Asp Leu Leu Phe Leu Leu Ser Ile Leu Glu
 65 70 75 80

ES 2 742 045 T3

Gly Glu Leu Gln Ala Arg Asp Glu Val Ile Gly Ile Leu Lys Ala Glu
85 90 95

Lys Met Asp Leu Ala Leu Leu Glu Ala Gln Tyr Gly Phe Val Thr Pro
100 105 110

Lys Lys Val Leu Glu Ala Leu Gln Arg Asp Ala Phe Gln Ala Lys Ser
115 120 125

Thr Pro Trp Gln Glu Asp Ile Tyr Glu Lys Pro Met Asn Glu Leu Asp
130 135 140

Lys Val Val Glu Lys His Lys Glu Ser Tyr Arg Arg Ile Leu Gly Gln
145 150 155 160

Leu Leu Val Ala Glu Lys Ser His Arg Gln Thr Ile Leu Glu Leu Glu
165 170 175

Glu Glu Lys Arg Lys His Lys Glu Tyr Met Glu Lys Ser Asp Glu Phe
180 185 190

Ile Cys Leu Leu Glu Gln Glu Cys Glu Arg Leu Lys Lys Leu Ile Asp
195 200 205

Gln Glu Ile Lys Ser Gln Glu Glu Lys Glu Gln Glu Lys Glu Lys Arg
210 215 220

Val Thr Thr Leu Lys Glu Glu Leu Thr Lys Leu Lys Ser Phe Ala Leu
225 230 235 240

Met Val Val Asp Glu Gln Gln Arg Leu Thr Ala Gln Leu Thr Leu Gln
245 250 255

Arg Gln Lys Ile Gln Glu Leu Thr Thr Asn Ala Lys Glu Thr His Thr
260 265 270

Lys Leu Ala Leu Ala Glu Ala Arg Val Gln Glu Glu Glu Gln Lys Ala
275 280 285

Thr Arg Leu Glu Lys Glu Leu Gln Thr Gln Thr Thr Lys Phe His Gln
290 295 300

Asp Gln Asp Thr Ile Met Ala Lys Leu Thr Asn Glu Asp Ser Gln Asn
305 310 315 320

Arg Gln Leu Gln Gln Lys Leu Ala Ala Leu Ser Arg Gln Ile Asp Glu

ES 2 742 045 T3

Lys Gly Asn Asp Leu Leu Ser Arg Val Asn Met Leu Lys Asn Arg Leu
 580 585 590

Gln Ser Leu Glu Ala Ile Glu Lys Asp Phe Leu Lys Asn Lys Leu Asn
 595 600 605

Gln Asp Ser Gly Lys Ser Thr Thr Ala Leu His Gln Glu Asn Asn Lys
 610 615 620

Ile Lys Glu Leu Ser Gln Glu Val Glu Arg Leu Lys Leu Lys Leu Lys
 625 630 635 640

Asp Met Lys Ala Ile Glu Asp Asp Leu Met Lys Thr Glu Asp Glu Tyr
 645 650 655

Glu Thr Leu Glu Arg Arg Tyr Ala Asn Glu Arg Asp Lys Ala Gln Phe
 660 665 670

Leu Ser Lys Glu Leu Glu His Val Lys Met Glu Leu Ala Lys Tyr Lys
 675 680 685

Leu Ala Glu Lys Thr Glu Thr Ser His Glu Gln Trp Leu Phe Lys Arg
 690 695 700

Leu Gln Glu Glu Glu Ala Lys Ser Gly His Leu Ser Arg Glu Val Asp
 705 710 715 720

Ala Leu Lys Glu Lys Ile His Glu Tyr Met Ala Thr Glu Asp Leu Ile
 725 730 735

Cys His Leu Gln Gly Asp His Ser Val Leu Gln Lys Lys Leu Asn Gln
 740 745 750

Gln Glu Asn Arg Asn Arg Asp Leu Gly Arg Glu Ile Glu Asn Leu Thr
 755 760 765

Lys Glu Leu Glu Arg Tyr Arg His Phe Ser Lys Ser Leu Arg Pro Ser
 770 775 780

Leu Asn Gly Arg Arg Ile Ser Asp Pro Gln Val Phe Ser Lys Glu Val
 785 790 795 800

Gln Thr Glu Ala Val Asp Asn Glu Pro Pro Asp Tyr Lys Ser Leu Ile
 805 810 815

Pro Leu Glu Arg Ala Val Ile Asn Gly Gln Leu Tyr Glu Glu Ser Glu
 820 825 830

ES 2 742 045 T3

Asn Gln Asp Glu Asp Pro Asn Asp Glu Gly Ser Val Leu Ser Phe Lys
835 840 845

Cys Ser Gln Ser Thr Pro Cys Pro Val Asn Arg Lys Leu Trp Ile Pro
850 855 860

Trp Met Lys Ser Lys Glu Gly His Leu Gln Asn Gly Lys Met Gln Thr
865 870 875 880

Lys Pro Asn Ala Asn Phe Val Gln Pro Gly Asp Leu Val Leu Ser His
885 890 895

Thr Pro Gly Gln Pro Leu His Ile Lys Val Thr Pro Asp His Val Gln
900 905 910

Asn Thr Ala Thr Leu Glu Ile Thr Ser Pro Thr Thr Glu Ser Pro His
915 920 925

Ser Tyr Thr Ser Thr Ala Val Ile Pro Asn Cys Gly Thr Pro Lys Gln
930 935 940

Arg Ile Thr Ile Leu Gln Asn Ala Ser Ile Thr Pro Val Lys Ser Lys
945 950 955 960

Thr Ser Thr Glu Asp Leu Met Asn Leu Glu Gln Gly Met Ser Pro Ile
965 970 975

Thr Met Ala Thr Phe Ala Arg Ala Gln Thr Pro Glu Ser Cys Gly Ser
980 985 990

Leu Thr Pro Glu Arg Thr Met Ser Pro Ile Gln Val Leu Ala Val Thr
995 1000 1005

Gly Ser Ala Ser Ser Pro Glu Gln Gly Arg Ser Pro Glu Pro Thr
1010 1015 1020

Glu Ile Ser Ala Lys His Ala Ile Phe Arg Val Ser Pro Asp Arg
1025 1030 1035

Gln Ser Ser Trp Gln Phe Gln Arg Ser Asn Ser Asn Ser Ser Ser
1040 1045 1050

Val Ile Thr Thr Glu Asp Asn Lys Ile His Ile His Leu Gly Ser
1055 1060 1065

Pro Tyr Met Gln Ala Val Ala Ser Pro Val Arg Pro Ala Ser Pro
1070 1075 1080

ES 2 742 045 T3

Ser Ala Pro Leu Gln Asp Asn Arg Thr Gln Gly Leu Ile Asn Gly
 1085 1090 1095

Ala Leu Asn Lys Thr Thr Asn Lys Val Thr Ser Ser Ile Thr Ile
 1100 1105 1110

Thr Pro Thr Ala Thr Pro Leu Pro Arg Gln Ser Gln Ile Thr Val
 1115 1120 1125

Ser Asn Ile Tyr Asn
 1130

<210> 17
 <211> 1133
 <212> PRT
 5 <213> Homo sapiens
 <400> 17

Met Arg Ser Arg Gly Ser Asp Thr Glu Gly Ser Ala Gln Lys Lys Phe
 1 5 10 15

Pro Arg His Thr Lys Gly His Ser Phe Gln Gly Pro Lys Asn Met Lys
 20 25 30

His Arg Gln Gln Asp Lys Asp Ser Pro Ser Glu Ser Asp Val Ile Leu
 35 40 45

Pro Cys Pro Lys Ala Glu Lys Pro His Ser Gly Asn Gly His Gln Ala
 50 55 60

Glu Asp Leu Ser Arg Asp Asp Leu Leu Phe Leu Leu Ser Ile Leu Glu
 65 70 75 80

Gly Glu Leu Gln Ala Arg Asp Glu Val Ile Gly Ile Leu Lys Ala Glu
 85 90 95

Lys Met Asp Leu Ala Leu Leu Glu Ala Gln Tyr Gly Phe Val Thr Pro
 100 105 110

Lys Lys Val Leu Glu Ala Leu Gln Arg Asp Ala Phe Gln Ala Lys Ser
 115 120 125

Thr Pro Trp Gln Glu Asp Ile Tyr Glu Lys Pro Met Asn Glu Leu Asp
 130 135 140

Lys Val Val Glu Lys His Lys Glu Ser Tyr Arg Arg Ile Leu Gly Gln
 145 150 155 160

ES 2 742 045 T3

Leu Leu Val Ala Glu Lys Ser Arg Arg Gln Thr Ile Leu Glu Leu Glu
 165 170 175
 Glu Glu Lys Arg Lys His Lys Glu Tyr Met Glu Lys Ser Asp Glu Phe
 180 185 190
 Ile Cys Leu Leu Glu Gln Glu Cys Glu Arg Leu Lys Lys Leu Ile Asp
 195 200 205
 Gln Glu Ile Lys Ser Gln Glu Glu Lys Glu Gln Glu Lys Glu Lys Arg
 210 215 220
 Val Thr Thr Leu Lys Glu Glu Leu Thr Lys Leu Lys Ser Phe Ala Leu
 225 230 235 240
 Met Val Val Asp Glu Gln Gln Arg Leu Thr Ala Gln Leu Thr Leu Gln
 245 250 255
 Arg Gln Lys Ile Gln Glu Leu Thr Thr Asn Ala Lys Glu Thr His Thr
 260 265 270
 Lys Leu Ala Leu Ala Glu Ala Arg Val Gln Glu Glu Glu Gln Lys Ala
 275 280 285
 Thr Arg Leu Glu Lys Glu Leu Gln Thr Gln Thr Thr Lys Phe His Gln
 290 295 300
 Asp Gln Asp Thr Ile Met Ala Lys Leu Thr Asn Glu Asp Ser Gln Asn
 305 310 315 320
 Arg Gln Leu Gln Gln Lys Leu Ala Ala Leu Ser Arg Gln Ile Asp Glu
 325 330 335
 Leu Glu Glu Thr Asn Arg Ser Leu Arg Lys Ala Glu Glu Glu Leu Gln
 340 345 350
 Asp Ile Lys Glu Lys Ile Ser Lys Gly Glu Tyr Gly Asn Ala Gly Ile
 355 360 365
 Met Ala Glu Val Glu Glu Leu Arg Lys Arg Val Leu Asp Met Glu Gly
 370 375 380
 Lys Asp Glu Glu Leu Ile Lys Met Glu Glu Gln Cys Arg Asp Leu Asn
 385 390 395 400
 Lys Arg Leu Glu Arg Glu Thr Leu Gln Ser Lys Asp Phe Lys Leu Glu

ES 2 742 045 T3

Glu Thr Leu Glu Arg Arg Tyr Ala Asn Glu Arg Asp Lys Ala Gln Phe
 660 665 670

Leu Ser Lys Glu Leu Glu His Val Lys Met Glu Leu Ala Lys Tyr Lys
 675 680 685

Leu Ala Glu Lys Thr Glu Thr Ser His Glu Gln Trp Leu Phe Lys Arg
 690 695 700

Leu Gln Glu Glu Glu Ala Lys Ser Gly His Leu Ser Arg Glu Val Asp
 705 710 715 720

Ala Leu Lys Glu Lys Ile His Glu Tyr Met Ala Thr Glu Asp Leu Ile
 725 730 735

Cys His Leu Gln Gly Asp His Ser Val Leu Gln Lys Lys Leu Asn Gln
 740 745 750

Gln Glu Asn Arg Asn Arg Asp Leu Gly Arg Glu Ile Glu Asn Leu Thr
 755 760 765

Lys Glu Leu Glu Arg Tyr Arg His Phe Ser Lys Ser Leu Arg Pro Ser
 770 775 780

Leu Asn Gly Arg Arg Ile Ser Asp Pro Gln Val Phe Ser Lys Glu Val
 785 790 795 800

Gln Thr Glu Ala Val Asp Asn Glu Pro Pro Asp Tyr Lys Ser Leu Ile
 805 810 815

Pro Leu Glu Arg Ala Val Ile Asn Gly Gln Leu Tyr Glu Glu Ser Glu
 820 825 830

Asn Gln Asp Glu Asp Pro Asn Asp Glu Gly Ser Val Leu Ser Phe Lys
 835 840 845

Cys Ser Gln Ser Thr Pro Cys Pro Val Asn Arg Lys Leu Trp Ile Pro
 850 855 860

Trp Met Lys Ser Lys Glu Gly His Leu Gln Asn Gly Lys Met Gln Thr
 865 870 875 880

Lys Pro Asn Ala Asn Phe Val Gln Pro Gly Asp Leu Val Leu Ser His
 885 890 895

Thr Pro Gly Gln Pro Leu His Ile Lys Val Thr Pro Asp His Val Gln
 900 905 910

ES 2 742 045 T3

Asn Thr Ala Thr Leu Glu Ile Thr Ser Pro Thr Thr Glu Ser Pro His
 915 920 925

Ser Tyr Thr Ser Thr Ala Val Ile Pro Asn Cys Gly Thr Pro Lys Gln
 930 935 940

Arg Ile Thr Ile Leu Gln Asn Ala Ser Ile Thr Pro Val Lys Ser Lys
 945 950 955 960

Thr Ser Thr Glu Asp Leu Met Asn Leu Glu Gln Gly Met Ser Pro Ile
 965 970 975

Thr Met Ala Thr Phe Ala Arg Ala Gln Thr Pro Glu Ser Cys Gly Ser
 980 985 990

Leu Thr Pro Glu Arg Thr Met Ser Pro Ile Gln Val Leu Ala Val Thr
 995 1000 1005

Gly Ser Ala Ser Ser Pro Glu Gln Gly Arg Ser Pro Glu Pro Thr
 1010 1015 1020

Glu Ile Ser Ala Lys His Ala Ile Phe Arg Val Ser Pro Asp Arg
 1025 1030 1035

Gln Ser Ser Trp Gln Phe Gln Arg Ser Asn Ser Asn Ser Ser Ser
 1040 1045 1050

Val Ile Thr Thr Glu Asp Asn Lys Ile His Ile His Leu Gly Ser
 1055 1060 1065

Pro Tyr Met Gln Ala Val Ala Ser Pro Val Arg Pro Ala Ser Pro
 1070 1075 1080

Ser Ala Pro Leu Gln Asp Asn Arg Thr Gln Gly Leu Ile Asn Gly
 1085 1090 1095

Ala Leu Asn Lys Thr Thr Asn Lys Val Thr Ser Ser Ile Thr Ile
 1100 1105 1110

Thr Pro Thr Ala Thr Pro Leu Pro Arg Gln Ser Gln Ile Thr Val
 1115 1120 1125

Ser Asn Ile Tyr Asn
 1130

<210> 18
 <211> 1135
 <212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 18

ES 2 742 045 T3

Met Arg Ser Arg Gly Ser Asp Thr Glu Gly Ser Ala Gln Lys Lys Phe
1 5 10 15

Pro Arg His Thr Lys Gly His Ser Phe Gln Gly Pro Lys Asn Met Lys
20 25 30

His Arg Gln Gln Asp Lys Asp Ser Pro Ser Glu Ser Asp Val Ile Leu
35 40 45

Pro Cys Pro Lys Ala Glu Lys Pro His Ser Gly Asn Gly His Gln Ala
50 55 60

Glu Asp Leu Ser Arg Asp Asp Leu Leu Phe Leu Leu Ser Ile Leu Glu
65 70 75 80

Gly Glu Leu Gln Ala Arg Asp Glu Val Ile Gly Ile Leu Lys Ala Glu
85 90 95

Lys Met Asp Leu Ala Leu Leu Glu Ala Gln Tyr Gly Phe Val Thr Pro
100 105 110

Lys Lys Val Leu Glu Ala Leu Gln Arg Asp Ala Phe Gln Ala Lys Ser
115 120 125

Thr Pro Trp Gln Glu Asp Ile Tyr Glu Lys Pro Met Asn Glu Leu Asp
130 135 140

Lys Val Val Glu Lys His Lys Glu Ser Tyr Arg Arg Ile Leu Gly Gln
145 150 155 160

Leu Leu Val Ala Glu Lys Ser His Arg Gln Thr Ile Leu Glu Leu Glu
165 170 175

Glu Glu Lys Arg Lys His Lys Glu Tyr Met Glu Lys Ser Asp Glu Phe
180 185 190

Ile Cys Leu Leu Glu Gln Glu Cys Glu Arg Leu Lys Lys Leu Ile Asp
195 200 205

Gln Glu Ile Lys Ser Gln Glu Glu Lys Glu Gln Glu Lys Glu Lys Arg
210 215 220

Val Thr Thr Leu Lys Glu Glu Leu Thr Lys Leu Lys Ser Phe Ala Leu
225 230 235 240

ES 2 742 045 T3

Met Val Val Asp Glu Gln Gln Arg Leu Thr Ala Gln Leu Thr Leu Gln
 245 250 255

Arg Gln Lys Ile Gln Glu Leu Thr Thr Asn Ala Lys Glu Thr His Thr
 260 265 270

Lys Leu Ala Leu Ala Glu Ala Arg Val Gln Glu Glu Glu Gln Lys Ala
 275 280 285

Thr Arg Leu Glu Lys Glu Leu Gln Thr Gln Thr Thr Lys Phe His Gln
 290 295 300

Asp Gln Asp Thr Ile Met Ala Lys Leu Thr Asn Glu Asp Ser Gln Asn
 305 310 315 320

Arg Gln Leu Gln Gln Lys Leu Ala Ala Leu Ser Arg Gln Ile Asp Glu
 325 330 335

Leu Glu Glu Thr Asn Arg Ser Leu Arg Lys Ala Glu Glu Glu Leu Gln
 340 345 350

Asp Ile Lys Glu Lys Ile Ser Lys Gly Glu Tyr Gly Asn Ala Gly Ile
 355 360 365

Met Ala Glu Val Glu Glu Leu Arg Lys Arg Val Leu Asp Met Glu Gly
 370 375 380

Lys Asp Glu Glu Leu Ile Lys Met Glu Glu Gln Cys Arg Asp Leu Asn
 385 390 395 400

Lys Arg Leu Glu Arg Glu Thr Leu Gln Ser Lys Asp Phe Lys Leu Glu
 405 410 415

Val Glu Lys Leu Ser Lys Arg Ile Met Ala Leu Glu Lys Leu Glu Asp
 420 425 430

Ala Phe Asn Lys Ser Lys Gln Glu Cys Tyr Ser Leu Lys Cys Asn Leu
 435 440 445

Glu Lys Glu Arg Met Thr Thr Lys Gln Leu Ser Gln Glu Leu Glu Ser
 450 455 460

Leu Lys Val Arg Ile Lys Glu Leu Glu Ala Ile Glu Ser Arg Leu Glu
 465 470 475 480

Lys Thr Glu Phe Thr Leu Lys Glu Asp Leu Thr Lys Leu Lys Thr Leu

ES 2 742 045 T3

485 490 495

Thr Val Met Phe Val Asp Glu Arg Lys Thr Met Ser Glu Lys Leu Lys
500 505 510

Lys Thr Glu Asp Lys Leu Gln Ala Ala Ser Ser Gln Leu Gln Val Glu
515 520 525

Gln Asn Lys Val Thr Thr Val Thr Glu Lys Leu Ile Glu Glu Thr Lys
530 535 540

Arg Ala Leu Lys Ser Lys Thr Asp Val Glu Glu Lys Met Tyr Ser Val
545 550 555 560

Thr Lys Glu Arg Asp Asp Leu Lys Asn Lys Leu Lys Ala Glu Glu Glu
565 570 575

Lys Gly Asn Asp Leu Leu Ser Arg Val Asn Met Leu Lys Asn Arg Leu
580 585 590

Gln Ser Leu Glu Ala Ile Glu Lys Asp Phe Leu Lys Asn Lys Leu Asn
595 600 605

Gln Asp Ser Gly Lys Ser Thr Thr Ala Leu His Gln Glu Asn Asn Lys
610 615 620

Ile Lys Glu Leu Ser Gln Glu Val Glu Arg Leu Lys Leu Lys Leu Lys
625 630 635 640

Asp Met Lys Ala Ile Glu Asp Asp Leu Met Lys Thr Glu Asp Glu Tyr
645 650 655

Glu Thr Leu Glu Arg Arg Tyr Ala Asn Glu Arg Asp Lys Ala Gln Phe
660 665 670

Leu Ser Lys Glu Leu Glu His Val Lys Met Glu Leu Ala Lys Tyr Lys
675 680 685

Leu Ala Glu Lys Thr Glu Thr Ser His Glu Gln Trp Leu Phe Lys Arg
690 695 700

Leu Gln Glu Glu Glu Ala Lys Ser Gly His Leu Ser Arg Glu Val Asp
705 710 715 720

Ala Leu Lys Glu Lys Ile His Glu Tyr Met Ala Thr Glu Asp Leu Ile
725 730 735

ES 2 742 045 T3

Cys His Leu Gln Gly Asp His Ser Val Leu Gln Lys Lys Leu Asn Gln
 740 745 750

Gln Glu Asn Arg Asn Arg Asp Leu Gly Arg Glu Ile Glu Asn Leu Thr
 755 760 765

Lys Glu Leu Glu Arg Tyr Arg His Phe Ser Lys Ser Leu Arg Pro Ser
 770 775 780

Leu Asn Gly Arg Arg Ile Ser Asp Pro Gln Val Phe Ser Lys Glu Val
 785 790 795 800

Gln Thr Glu Ala Val Asp Asn Glu Pro Pro Asp Tyr Lys Ser Leu Ile
 805 810 815

Pro Leu Glu Arg Ala Val Ile Asn Gly Gln Leu Tyr Glu Glu Ser Glu
 820 825 830

Asn Gln Asp Glu Asp Pro Asn Asp Glu Gly Ser Val Leu Ser Phe Lys
 835 840 845

Cys Ser Gln Ser Thr Pro Cys Pro Val Asn Arg Lys Leu Trp Ile Pro
 850 855 860

Trp Met Lys Ser Lys Glu Gly His Leu Gln Asn Gly Lys Met Gln Thr
 865 870 875 880

Lys Pro Asn Ala Asn Phe Val Gln Pro Gly Asp Leu Val Leu Ser His
 885 890 895

Thr Pro Gly Gln Pro Leu His Ile Lys Val Thr Pro Asp His Val Gln
 900 905 910

Asn Thr Ala Thr Leu Glu Ile Thr Ser Pro Thr Thr Glu Ser Pro His
 915 920 925

Ser Tyr Thr Ser Thr Ala Val Ile Pro Asn Cys Gly Thr Pro Lys Gln
 930 935 940

Arg Ile Thr Ile Leu Gln Asn Ala Ser Ile Thr Pro Val Lys Ser Lys
 945 950 955 960

Thr Ser Thr Glu Asp Leu Met Asn Leu Glu Gln Gly Met Ser Pro Ile
 965 970 975

Thr Met Ala Thr Phe Ala Arg Ala Gln Thr Pro Glu Ser Cys Gly Ser
 980 985 990

ES 2 742 045 T3

Leu Thr Pro Glu Arg Thr Met Ser Pro Ile Gln Val Leu Ala Val Thr
 995 1000 1005

Gly Ser Ala Ser Ser Pro Glu Gln Gly Arg Ser Pro Glu Pro Thr
 1010 1015 1020

Glu Ile Ser Ala Lys His Ala Ile Phe Arg Val Ser Pro Asp Arg
 1025 1030 1035

Gln Ser Ser Trp Gln Phe Gln Arg Ser Asn Ser Asn Ser Ser Ser
 1040 1045 1050

Val Ile Thr Thr Glu Asp Asn Lys Ile His Ile His Leu Gly Ser
 1055 1060 1065

Pro Tyr Met Gln Ala Val Ala Ser Pro Val Arg Pro Ala Ser Pro
 1070 1075 1080

Ser Ala Pro Leu Gln Asp Asn Arg Thr Gln Gly Leu Ile Asn Gly
 1085 1090 1095

Ala Leu Asn Lys Thr Thr Asn Lys Val Thr Ser Ser Ile Thr Ile
 1100 1105 1110

Thr Pro Thr Ala Thr Pro Leu Pro Arg Gln Ser Gln Ile Thr Val
 1115 1120 1125

Glu Pro Leu Leu Leu Pro His
 1130 1135

<210> 19

<211> 197

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 19

Met Ala Ser Gln Lys Arg Pro Ser Gln Arg His Gly Ser Lys Tyr Leu
 1 5 10 15

Ala Thr Ala Ser Thr Met Asp His Ala Arg His Gly Phe Leu Pro Arg
 20 25 30

His Arg Asp Thr Gly Ile Leu Asp Ser Ile Gly Arg Phe Phe Gly Gly
 35 40 45

Asp Arg Gly Ala Pro Lys Arg Gly Ser Gly Lys Val Pro Trp Leu Lys
 50 55 60

ES 2 742 045 T3

Pro Gly Arg Ser Pro Leu Pro Ser His Ala Arg Ser Gln Pro Gly Leu
65 70 75 80

Cys Asn Met Tyr Lys Asp Ser His His Pro Ala Arg Thr Ala His Tyr
85 90 95

Gly Ser Leu Pro Gln Lys Ser His Gly Arg Thr Gln Asp Glu Asn Pro
100 105 110

Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr Pro Pro Pro
115 120 125

Ser Gln Gly Lys Gly Arg Gly Leu Ser Leu Ser Arg Phe Ser Trp Gly
130 135 140

Ala Glu Gly Gln Arg Pro Gly Phe Gly Tyr Gly Gly Arg Ala Ser Asp
145 150 155 160

Tyr Lys Ser Ala His Lys Gly Phe Lys Gly Val Asp Ala Gln Gly Thr
165 170 175

Leu Ser Lys Ile Phe Lys Leu Gly Gly Arg Asp Ser Arg Ser Gly Ser
180 185 190

Pro Met Ala Arg Arg
195

<210> 20
<211> 186
<212> PRT
<213> Homo sapiens

5

<400> 20

Met Ala Ser Gln Lys Arg Pro Ser Gln Arg His Gly Ser Lys Tyr Leu
1 5 10 15

Ala Thr Ala Ser Thr Met Asp His Ala Arg His Gly Phe Leu Pro Arg
20 25 30

His Arg Asp Thr Gly Ile Leu Asp Ser Ile Gly Arg Phe Phe Gly Gly
35 40 45

Asp Arg Gly Ala Pro Lys Arg Gly Ser Gly Lys Val Pro Trp Leu Lys
50 55 60

Pro Gly Arg Ser Pro Leu Pro Ser His Ala Arg Ser Gln Pro Gly Leu
65 70 75 80

ES 2 742 045 T3

Cys Asn Met Tyr Lys Asp Ser His His Pro Ala Arg Thr Ala His Tyr
85 90 95

Gly Ser Leu Pro Gln Lys Ser His Gly Arg Thr Gln Asp Glu Asn Pro
100 105 110

Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr Pro Arg Thr Pro Pro Pro
115 120 125

Ser Gln Gly Lys Gly Ala Glu Gly Gln Arg Pro Gly Phe Gly Tyr Gly
130 135 140

Gly Arg Ala Ser Asp Tyr Lys Ser Ala His Lys Gly Phe Lys Gly Val
145 150 155 160

Asp Ala Gln Gly Thr Leu Ser Lys Ile Phe Lys Leu Gly Gly Arg Asp
165 170 175

Ser Arg Ser Gly Ser Pro Met Ala Arg Arg
180 185

<210> 21
 <211> 171
 5 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 21

Met Ala Ser Gln Lys Arg Pro Ser Gln Arg His Gly Ser Lys Tyr Leu
1 5 10 15

Ala Thr Ala Ser Thr Met Asp His Ala Arg His Gly Phe Leu Pro Arg
20 25 30

His Arg Asp Thr Gly Ile Leu Asp Ser Ile Gly Arg Phe Phe Gly Gly
35 40 45

Asp Arg Gly Ala Pro Lys Arg Gly Ser Gly Lys Asp Ser His His Pro
50 55 60

Ala Arg Thr Ala His Tyr Gly Ser Leu Pro Gln Lys Ser His Gly Arg
65 70 75 80

Thr Gln Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr
85 90 95

Pro Arg Thr Pro Pro Pro Ser Gln Gly Lys Gly Arg Gly Leu Ser Leu
100 105 110

ES 2 742 045 T3

Ser Arg Phe Ser Trp Gly Ala Glu Gly Gln Arg Pro Gly Phe Gly Tyr
 115 120 125

Gly Gly Arg Ala Ser Asp Tyr Lys Ser Ala His Lys Gly Phe Lys Gly
 130 135 140

Val Asp Ala Gln Gly Thr Leu Ser Lys Ile Phe Lys Leu Gly Gly Arg
 145 150 155 160

Asp Ser Arg Ser Gly Ser Pro Met Ala Arg Arg
 165 170

5 <210> 22
 <211> 160
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 22

Met Ala Ser Gln Lys Arg Pro Ser Gln Arg His Gly Ser Lys Tyr Leu
 1 5 10 15

Ala Thr Ala Ser Thr Met Asp His Ala Arg His Gly Phe Leu Pro Arg
 20 25 30

His Arg Asp Thr Gly Ile Leu Asp Ser Ile Gly Arg Phe Phe Gly Gly
 35 40 45

Asp Arg Gly Ala Pro Lys Arg Gly Ser Gly Lys Asp Ser His His Pro
 50 55 60

Ala Arg Thr Ala His Tyr Gly Ser Leu Pro Gln Lys Ser His Gly Arg
 65 70 75 80

Thr Gln Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe Lys Asn Ile Val Thr
 85 90 95

Pro Arg Thr Pro Pro Pro Ser Gln Gly Lys Gly Ala Glu Gly Gln Arg
 100 105 110

Pro Gly Phe Gly Tyr Gly Gly Arg Ala Ser Asp Tyr Lys Ser Ala His
 115 120 125

Lys Gly Phe Lys Gly Val Asp Ala Gln Gly Thr Leu Ser Lys Ile Phe
 130 135 140

Lys Leu Gly Gly Arg Asp Ser Arg Ser Gly Ser Pro Met Ala Arg Arg
 145 150 155 160

10 <210> 23
 <211> 253
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 23

ES 2 742 045 T3

Met Ala Asn Leu Gly Cys Trp Met Leu Val Leu Phe Val Ala Thr Trp
1 5 10 15

Ser Asp Leu Gly Leu Cys Lys Lys Arg Pro Lys Pro Gly Gly Trp Asn
20 25 30

Thr Gly Gly Ser Arg Tyr Pro Gly Gln Gly Ser Pro Gly Gly Asn Arg
35 40 45

Tyr Pro Pro Gln Gly Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly
50 55 60

Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly
65 70 75 80

Trp Gly Gln Pro His Gly Gly Gly Trp Gly Gln Gly Gly Gly Thr His
85 90 95

Ser Gln Trp Asn Lys Pro Ser Lys Pro Lys Thr Asn Met Lys His Met
100 105 110

Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly Ala Val Val Gly Gly Leu Gly Gly Tyr
115 120 125

Met Leu Gly Ser Ala Met Ser Arg Pro Ile Ile His Phe Gly Ser Asp
130 135 140

Tyr Glu Asp Arg Tyr Tyr Arg Glu Asn Met His Arg Tyr Pro Asn Gln
145 150 155 160

Val Tyr Tyr Arg Pro Met Asp Glu Tyr Ser Asn Gln Asn Asn Phe Val
165 170 175

His Asp Cys Val Asn Ile Thr Ile Lys Gln His Thr Val Thr Thr Thr
180 185 190

Thr Lys Gly Glu Asn Phe Thr Glu Thr Asp Val Lys Met Met Glu Arg
195 200 205

Val Val Glu Gln Met Cys Ile Thr Gln Tyr Glu Arg Glu Ser Gln Ala
210 215 220

Tyr Tyr Gln Arg Gly Ser Ser Met Val Leu Phe Ser Ser Pro Pro Val
225 230 235 240

Ile Leu Leu Ile Ser Phe Leu Ile Phe Leu Ile Val Gly
245 250

5 <210> 24
<211> 244
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 24

ES 2 742 045 T3

Gly Leu Lys Gly Lys Arg Gly Asp Ser Gly Ser Pro Ala Thr Trp Thr
1 5 10 15

Thr Arg Gly Phe Val Phe Thr Arg His Ser Gln Thr Thr Ala Ile Pro
20 25 30

Ser Cys Pro Glu Gly Thr Val Pro Leu Tyr Ser Gly Phe Ser Phe Leu
35 40 45

Phe Val Gln Gly Asn Gln Arg Ala His Gly Gln Asp Leu Gly Thr Leu
50 55 60

Gly Ser Cys Leu Gln Arg Phe Thr Thr Met Pro Phe Leu Phe Cys Asn
65 70 75 80

Val Asn Asp Val Cys Asn Phe Ala Ser Arg Asn Asp Tyr Ser Tyr Trp
85 90 95

Leu Ser Thr Pro Ala Leu Met Pro Met Asn Met Ala Pro Ile Thr Gly
100 105 110

Arg Ala Leu Glu Pro Tyr Ile Ser Arg Cys Thr Val Cys Glu Gly Pro
115 120 125

Ala Ile Ala Ile Ala Val His Ser Gln Thr Thr Asp Ile Pro Pro Cys
130 135 140

Pro His Gly Trp Ile Ser Leu Trp Lys Gly Phe Ser Phe Ile Met Phe
145 150 155 160

Thr Ser Ala Gly Ser Glu Gly Thr Gly Gln Ala Leu Ala Ser Pro Gly
165 170 175

Ser Cys Leu Glu Glu Phe Arg Ala Ser Pro Phe Leu Glu Cys His Gly
180 185 190

Arg Gly Thr Cys Asn Tyr Tyr Ser Asn Ser Tyr Ser Phe Trp Leu Ala
195 200 205

Ser Leu Asn Pro Glu Arg Met Phe Arg Lys Pro Ile Pro Ser Thr Val
210 215 220

Lys Ala Gly Glu Leu Glu Lys Ile Ile Ser Arg Cys Gln Val Cys Met
225 230 235 240

Lys Lys Arg His

- 5 <210> 25
- <211> 42
- <212> PRT
- <213> Homo sapiens
- <400> 25

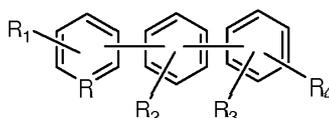
REIVINDICACIONES

1. Uninhibidor de la Proteína de Unión al Antígeno Goodpasture-1 (GPBP-1) para usar en el tratamiento del estado pre-diabético.

5 2. El inhibidor de GPBP-1 para uso de la reivindicación 1, en donde el sujeto ha aumentado la GPBP-1 circulante en relación con el control, en donde el control es una muestra control de un sujeto normal o niveles normales de GPBP-1 previamente determinados en una población control.

3. El inhibidor de GPBP-1 para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde el inhibidor de GPBP-1 comprende un anticuerpo monoclonal anti-GPBP-1, como un anticuerpo monoclonal humanizado.

10 4. El inhibidor de GPBP-1 para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el inhibidor de GPBP-1 comprende un compuesto de fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde:

15 R se selecciona de N y CR₅; R₅ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), amino, (alquilo C₁-C₆)amino, di(alquilo C₁-C₆)amino, hidroxilo(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, amino(alquilo C₁-C₆), sulfanil(alquilo C₁-C₆), (alquilo C₁-C₆)sulfanil(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂, (aril)alquilo C₂-C₆ y (heteroaril)alquilo C₁-C₆;

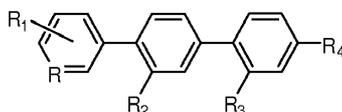
20 R₁ es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), hidroxilo(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, amino(alquilo C₁-C₆), sulfanil(alquilo C₁-C₆) o (alquilo C₁-C₆)sulfanil(alquilo C₁-C₆);

R₂ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), hidroxilo(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, formil(alquilo C₀-C₆), amino(alquilo C₁-C₆), sulfanil(alquilo C₁-C₆), (alquilo C₁-C₆)sulfanil(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂, (aril)alquilo C₁-C₆ o (heteroaril)alquilo C₁-C₆;

25 R₃ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), hidroxilo(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, formil(alquilo C₁-C₆), amino(alquilo C₁-C₆), sulfanil(alquilo C₁-C₆), (alquilo C₁-C₆)sulfanil(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂, -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -CH=CH-C(O)OH, -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆), (aril)alquilo C₁-C₆ o (heteroaril)alquilo C₁-C₆; y

30 R₄ es hidroxilo, halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), benciloxi, -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂, -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -CH=CH-C(O)OH, -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -O(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -O(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), (aril)alquilo C₁-C₆ o (heteroaril)alquilo C₁-C₆.

5. El inhibidor de GPBP-1 para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el inhibidor de GPBP-1 comprende un compuesto que tiene la fórmula:



35 o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde:

R se selecciona de N y CR₅;

40 R₅ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, ciano, nitro, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), amino, (alquilo C₁-C₆)amino, di(alquilo C₁-C₆)amino, hidroxilo(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, amino(alquilo C₁-C₆), sulfanil(alquilo C₁-C₆), (alquilo C₁-C₆)sulfanil(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆) y -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂;

R₁ es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), hidroxilo(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, amino(alquilo C₁-C₆), sulfanil(alquilo C₁-C₆) o (alquilo C₁-C₆)sulfanil(alquilo C₁-C₆);

R₂ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), hidroxil(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, formil(alquilo C₀-C₆), amino(alquilo C₁-C₆), sulfanil(alquilo C₁-C₆), (alquilo C₁-C₆)sulfanil(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆) o -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂;

5 R₃ es alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), hidroxil(alquilo C₁-C₆), (alcoxi C₁-C₆)alquilo C₁-C₆, formil(alquilo C₁-C₆), amino(alquilo C₁-C₆), sulfanil(alquilo C₁-C₆), (alquilo C₁-C₆)sulfanil(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂, -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -CH=CH-C(O)OH o -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆); y

10 R₄ es hidroxil, halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halo(alcoxi C₁-C₆), benciloxil, -(CH₂)₁₋₅-C(O)OH, -(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH₂, -(CH₂)₁₋₅-C(O)NH(alquilo C₁-C₆), -(CH₂)₁₋₅-C(O)N(alquilo C₁-C₆)₂, -CH=CH-C(O)OH, -CH=CH-C(O)(alcoxi C₁-C₆), -O(CH₂)₁₋₅-C(O)OH o -O(CH₂)₁₋₅-C(O)(alcoxi C₁-C₆).

6. El inhibidor de GPBP-1 para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el inhibidor de GPBP-1 comprende ácido 3-[4''-metoxi-3,2'-dimetil-(1,1';4',1'')terfenil-2''-il] propiónico; ácido 3-[2'-metil-4''-metoxi-3-(trifluorometil)-(1,1';4',1'')terfenil-2''-il] propiónico; combinaciones de estos o una sal farmacéuticamente aceptable de estos.

15 7. El inhibidor de GPBP-1 para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el inhibidor de GPBP-1 comprende ácido 3-[4''-metoxi-3,2'-dimetil-(1,1';4',1'')terfenil-2''-il] propiónico o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

8. El inhibidor de GPBP-1 para uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el inhibidor de GPBP-1 comprende uno o más inhibidores seleccionados del grupo que consiste en:

20 (a) un anticuerpo o aptámero selectivo para GPBP-1;

(c) un ácido nucleico inhibidor selectivo para el ARNm de GPBP-1;

(d) un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos de fórmula general X1-SHCIX2-X3 (SEQ ID N°: 1)

en donde X1 es 0-10 aminoácidos de la secuencia ATTAGILATL (SEQ ID N°: 2);

X2 es E o Q; y

25 X3 es 0-10 aminoácidos de la secuencia LMVKREDSWQ (SEQ ID N°: 3);

(e) un péptido que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SHCIE (SEQ ID N°: 4), SHCIQ (SEQ ID N°: 5), ILATLSHCIELMVKR (SEQ ID N°: 6), ILATLSHCIQLMVKR (SEQ ID N°: 7) y LATLSHCIELMVKR (SEQ ID N°: 8); y

(f) I-20:

30 **RDEVIGILKAEKMDLALLEAQYGFVTPKVVLEALQRDAFQAKSTPWQEDI**
YEKPMNELDKVVEKHKESYRRILGQLLVAEKSSRQTILELEEEKRRKHKEYMEKS
DEFICLLEQECERLKKLIDQEIKSQEEKEQEKEKRVTTLKEELTKLKSFAALMVVDE
QQRLTAQLTLQRQKIQLTTNAKETHTKLALAEARVQEEEQKATRLEKELQTQT
TKFHQDQDTIMAKLTNEDSQNRQLQKLAALSRQIDELEETNRSRLRKAEEE (SEQ
ID NO: 9).

9. Un método para diagnosticar un estado pre-diabético que comprende

(a) determinar una cantidad de GPBP-1 en una muestra de un sujeto con riesgo de tener un estado pre-diabético; y

35 (b) comparar la cantidad de GPBP-1 en la muestra con una cantidad de GPBP-1 en una muestra control, en donde la muestra control es una muestra de un el sujeto normal;

en donde un aumento en la cantidad de GPBP-1 en la muestra en comparación con la muestra de control indica la presencia de un estado pre-diabético en el sujeto.

10. Un método para diagnosticar una propensión a desarrollar diabetes tipo 2 que comprende

(a) determinar una cantidad de GPBP-1 en una muestra de un sujeto en riesgo de desarrollar diabetes tipo 2; y

40 (b) comparar la cantidad de GPBP-1 en la muestra con una cantidad de GPBP-1 en una muestra control en donde la muestra control es una muestra de un sujeto normal;

en donde un aumento en la cantidad de GPBP-1 en la muestra en comparación con la muestra control indica una propensión a desarrollar diabetes tipo 2 en el sujeto.

11. El método de la reivindicación 9 o 10, en donde el diagnóstico comprende

5 (a) poner en contacto una muestra de plasma del sujeto con una molécula que une GPBP-1 que se une a GPBP-1 en condiciones para promover la unión selectiva de la molécula que une GPBP-1 a la GPBP-1;

(b) eliminar el plasma y las moléculas que unen GPBP-1 no unidos; y

(c) detectar la formación de complejos entre la molécula que une GPBP-1 y la GPBP-1 en la muestra de plasma, en donde la formación de complejos proporciona una medida de GPBP-1 en la muestra.

10 12. El método de cualquiera de las reivindicaciones 9-11, en donde la molécula que une GPBP-1 comprende un anticuerpo, como un anticuerpo monoclonal.

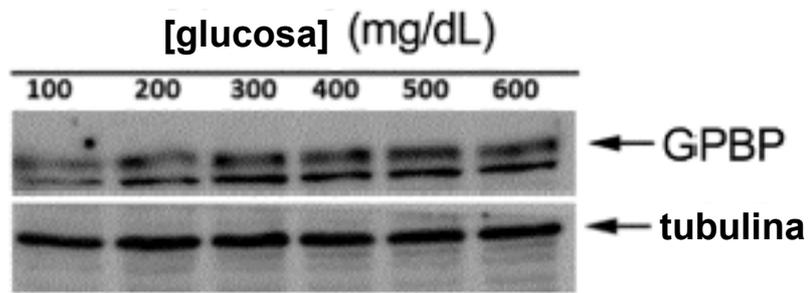


Figura 1

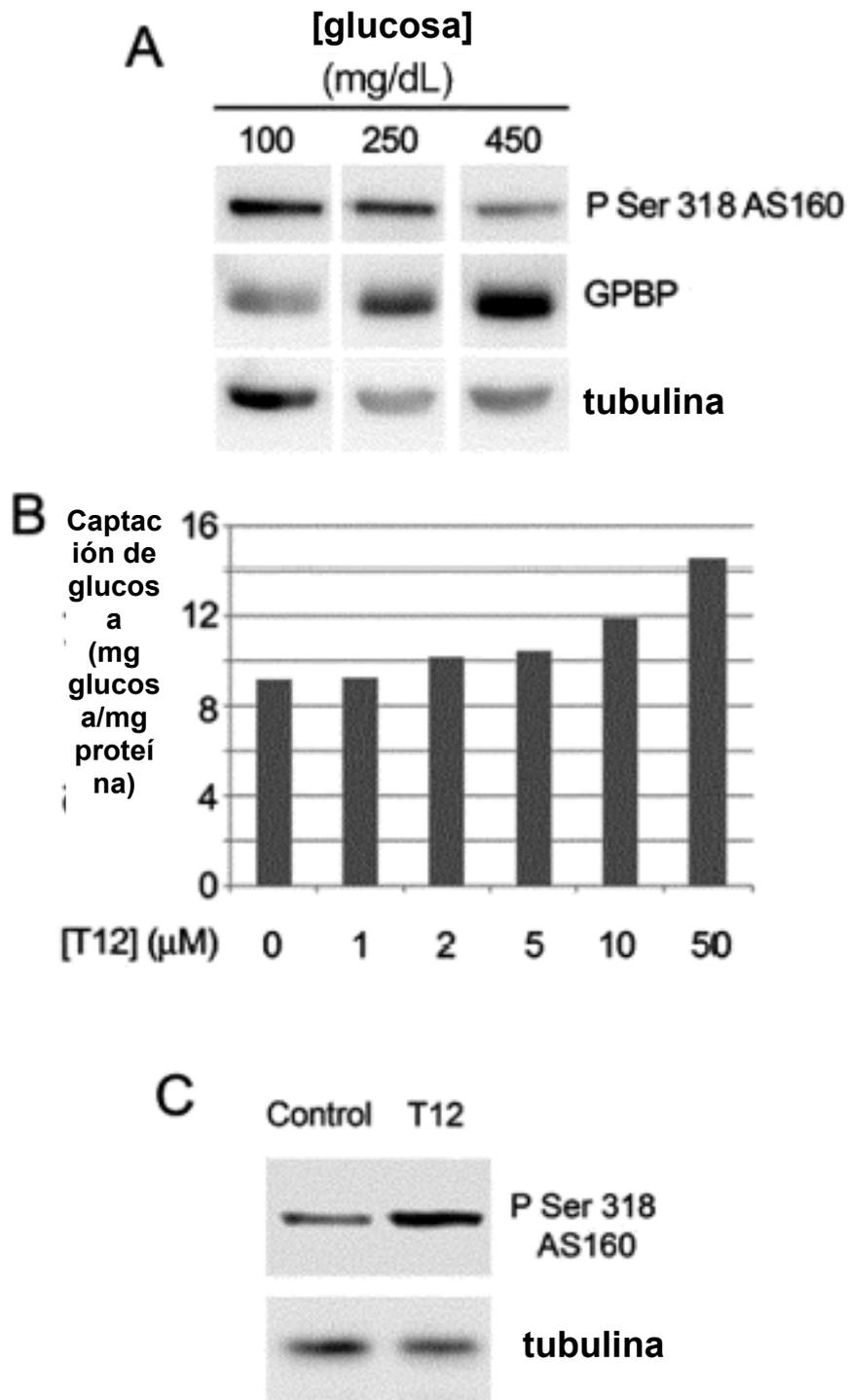


Figura 2

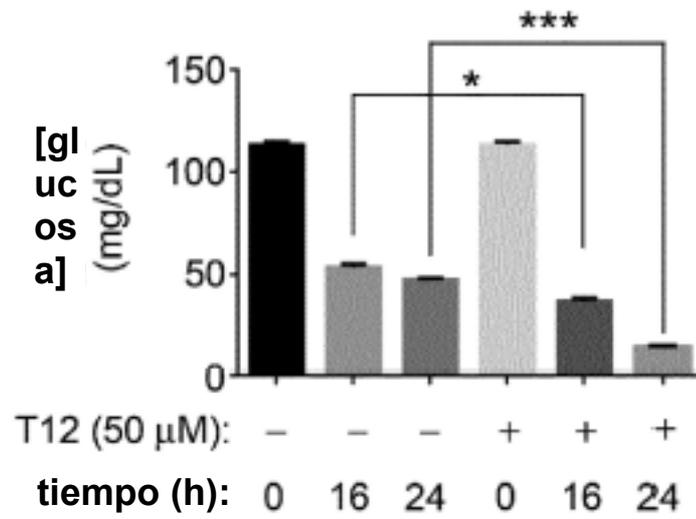


Figura 3

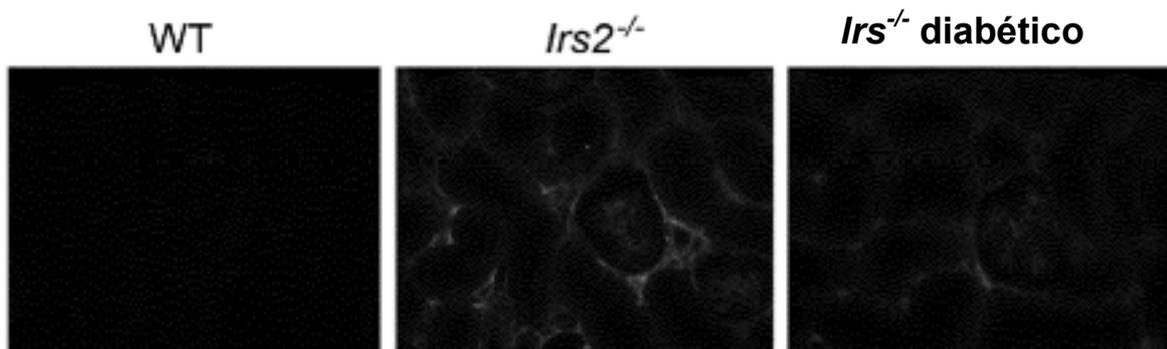


Figura 4

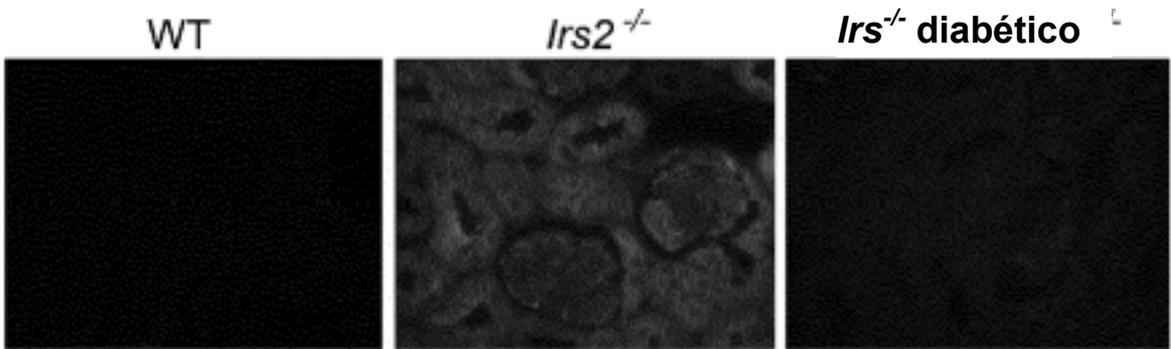


Figura 5

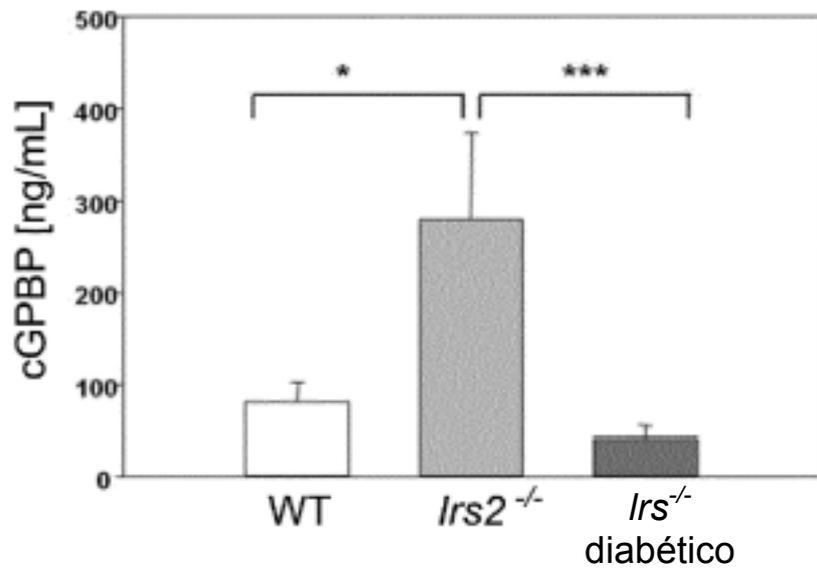


Figura 6

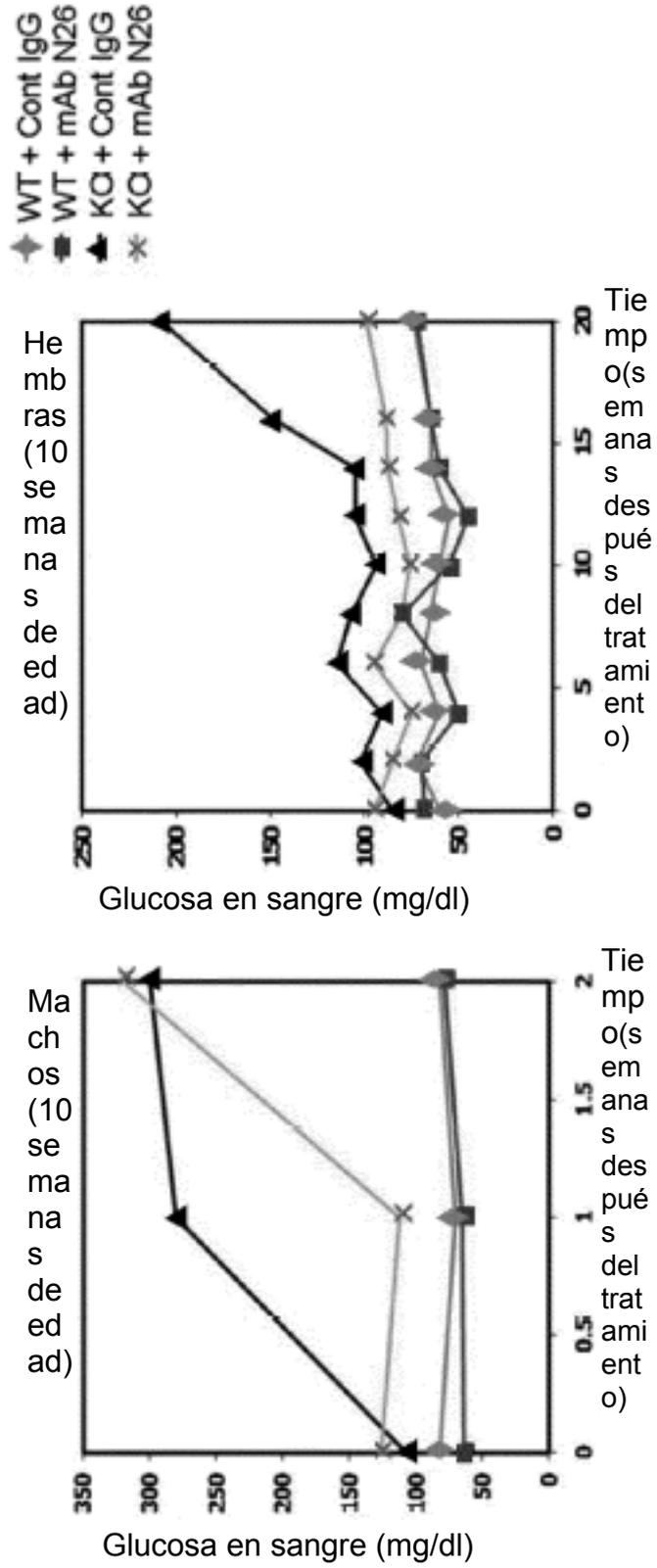


Figura 7