



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 347 150**

51 Int. Cl.:
C12Q 1/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04776718 .1**

96 Fecha de presentación : **18.06.2004**

97 Número de publicación de la solicitud: **1697539**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **06.09.2006**

54 Título: **Evaluación del riesgo de reacciones adversas a fármacos.**

30 Prioridad: **10.11.2003 US 705245**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
26.10.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
26.10.2010

73 Titular/es: **Academia Sinica**
128 Sec. 2, Academia Sinica Road
Nan-Kang, Taipei, TW

72 Inventor/es: **Chen, Yuan-Tsong;**
Hung, Shuen-lu;
Chung, Wen-Hung y
Wu, Jer-Yuarn

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 347 150 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

Evaluación del riesgo de reacciones adversas a fármacos.

5 Esta invención se refiere a métodos para predecir el riesgo de un individuo de experimentar reacciones adversas a fármacos.

Bibliografía

10 Patente de Estados Unidos N° 6.583.139.

Arellano, F., y Sacristan, J.A. (1993). Allopurinol hypersensitivity syndrome: a review. *Ann. Pharmacother.* 27:337.

15 **Bigby, M., et al. (1986).** Drug-induced cutaneous reactions. A report from the Boston Collaborative Drug Surveillance Program on 15,438 consecutive inpatients, 1975 to 1982, *JAMA.* 256(24):3358-3363.

Chan, S.H., Y Tan, T. (1989). HLA and allopurinol drug eruption. *Dermatologica.* 79(1):32-33.

20 **Edwards, S.G., et al. (1999).** Concordance of primary generalised epilepsy and carbamazepine hypersensitivity en monozygotic twins. *Postgrad Med J.* 75(889):680-681.

Feltkamp, T.E., et al. (2001). Spondyloarthropaties in eastern Asia. *Curr Opin Rheumatol.* 13(4):285-290.

25 **Gennis, M.A., et al. (1991).** Familial occurrence of hypersensitivity to phenytoin. *Am J Med.* 91(6):631-634.

Green, V.J., et al. (1995). Genetic analysis of microsomal epoxide hydrolase in patients with carbamazepine hypersensitivity. *Biochem Pharmacol.* 50(9):1353-1359.

30 **Hari, Y., et al. (2001).** T cell involvement in cutaneous drug eruptions. *Clin Exp Allergy.* 31(9):1398-1408.

IHWG Technical Manual. Genomic Analysis of the Human MHC. DNABased Typing for HLA Alleles and Linked Polymorphisms. Marcel G.J. Tilanus, Editor en Jefe. Distribuido por el International Histocompatibility Working Group, número ISBN: 0-945278-02-0.

35 **Khan, M.A. (2000).** Update: the twenty subtypes of HLA-B27, *Curr Opin Rheumatol.* 12(4):235-238.

Lazarou J., et al. (1998). Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. *JAMA.* 279(15):1200-1205.

40 **Leeder, J.S. (1998).** Mechanisms of idiosyncratic hypersensitivity reactions to antiepileptic drugs. *Epilepsia.* 39 Suppl 7:S8-16.

Naisbitt, D.J., et al. (2003). Hypersensitivity reactions to carbamazepine: characterization of the specificity, phenotype, and cytokine profile of drug-specific T cell clones. *Mol Pharmacol.* 63(3):732-741.

Pichler, W.J., et al. (1997). High IL-5 production by human drug-specific T cell clones. *Int Arch Allergy Immunol.* 113(1-3):177-180.

50 **Pirmohamed, M., et al. (2001).** TNFalpha promoter region gene polymorphisms in carbamazepine-hypersensitive patients. *Neurology.* 56(7):890-896.

Roujeau, J.C., et al. (1986). HLA phenotypes and bullous cutaneous reactions to drugs. *Tissue Antigens.* 28(4):251-254.

55 **Roujeau, J.C., et al. (1987).** Genetic susceptibility to toxic epidermal necrolysis. *Arch Dermatol.* 123(9):1171-1173.

Roujeau, J.C (1994). The spectrum of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a clinical classification. *J Invest Dermatol.* 102(6):28S-30S.

Roujeau, J.C. y Stern, R.S. (1994). Severe adverse cutaneous reactions to drugs. *N Engl J Med.* 331(19):1272-1285.

65 **Roujeau, J.C., et al. (1995).** Medication use and the risk of Stevens-Johnson syndrome or toxic epidermal necrolysis. *N Engl J Med.* 333(24):1600-1607.

Shirato, S., et al. (1997). Stevens-Johnson syndrome induced by methazolamide treatment. *Arch Ophthalmol.* 115 (4):550-553.

Svensson, C.K., et al. (2000). Cutaneous drug reactions. *Pharmacol Rev.* 53(3):357-379.

Tas, S., y Sirnonart, T. (2003). Management of drug rash with eosinophilia and systemic symptoms (DRESS syndrome): an update. *Dermatology.* 206(4):353-356.

Wolkenstein, P., et al. (1995). A slow acetylator genotype is a risk factor for sulfonamide-induced toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson syndrome. *Pharmacogenetics.* 5(4):255-258.

Yates, C.R., et al. (1997). Molecular diagnosis of thiopurine S-methyltransferase deficiency: genetic basis for azathioprine and mercaptopurine intolerance. *Ann Intern Med.* 126(8):608-614.

Hildesheim Allan et al. (2002). Association of HLA class I and H alleles and extended haplotypes with nasopharyngeal carcinoma in Taiwan. *Journal of the National Cancer Institute.* 94, n° 23: 1780-1789.

Romphruk A et al. (2003) HLA-B15 subtypes en the population of north-eastern Thailand. *European Journal of Immunogenetics: Official Journal of the British Society for Histocompatibility and Immunogenetics.* 30, n° 2:153-158.

J. Gut (2002). Severe Adverse Drug Reactions and Theragenomics. *Business Briefing Pharmatech* [Online] 2002, XP002299570.

Nassif Amal et al. (2002). Drug specific cytotoxic T-cells in the skin lesions of a patient with toxic epidermal necrolysis. *Journal of Investigative Dermatology* 118, n° 4: 728-733.

Mallal S et al. (2002). Association between presence of HLA-B5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir. *Lancet*, XX, XX 359, n° 9308: páginas 727-732.

Roujeau J-C et al. (1987). *Genetic susceptibility to toxic epidermal necrolysis.* Archives of Dermatology 1987 Estados Unidos 123, n° 9: 1171-1173.

Las reacciones adversas a fármacos (RAF) son un problema clínico importante. De acuerdo con un metaanálisis ampliamente citado, las RAF se clasificaron entre la cuarta y la sexta causa más común de muerte (Lazarou *et al.*, 1998). En particular, las RAF cutáneas potencialmente serias explican aproximadamente 2-3% de todas las admisiones hospitalarias (Bigby *et al.*, 1986). Aunque las erupciones por fármaco pueden ser de ligeras a moderadas, tales como la erupción maculopapular, el eritema multiforme (EM), la urticaria y el exantema fijo medicamentoso, las RAF cutáneas más graves suponen un peligro para la vida y frecuentemente dan como resultado la muerte, tales como el síndrome de Stevens-Johnson (SJS), la necrolisis epidérmica tóxica (NET; síndrome de Lyell's) y el síndrome de hipersensibilidad (HSS).

El SJS se caracteriza por fiebre alta, malestar y un exantema ampollar de máculas de desarrollo rápido y lesiones de tipo "diana" acompañadas de la participación de la mucosa. La TEN tiene presentaciones similares con un desprendimiento de piel incluso más extensivo y una tasa de mortalidad más alta (30 a 40%). El síndrome de hipersensibilidad (HSS) se caracteriza por erupción cutánea, fiebre, dilatación de los ganglios linfáticos y participación de órganos internos; también se conoce como DRESS (Reacción a Fármaco con eosinofilia y síntomas sistémicos) o DIHS (síndrome de hipersensibilidad inducido por fármacos) (Tas y Simonart, 2003). Los pacientes con HSS con una erupción cutánea ampliamente extendida a menudo desarrollan dermatitis exfoliativa, participación de uno o más órganos internos (por ejemplo, hepatitis, neumonitis, nefritis, miocarditis, pericarditis, miositis, pancreatitis, tiroiditis), y anomalías hematológicas (eosinofilia, linfocitosis atípica, neutrofilia, neutropenia, trombopenia, anemia). Otros hallazgos pueden ser linfadenopatía, edema periorbital o facial. Aunque la incidencia de SJS/TEN es baja con una incidencia anual estimada de 3-5 por millón de personas, estas afecciones pueden matar o dañar severamente a personas sanas previamente (Roujeau y Stern, 1994). La gravedad de la afección ha provocado que las compañías farmacéuticas retiren algunos fármacos recientemente liberados.

Casi todos los casos de SJS/TEN/HSS son provocados por fármacos, comúnmente sulfonamidas, anticonvulsivantes, alopurinol, fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) y antimaláricos (Roujeau *et al.*, 1995). En Taiwán, los anticonvulsivantes (carbamazepina, fenitoína y fenobarbital) y el alopurinol son los fármacos más comunes que provocan SJS/TEN. También se detecta que otras medicaciones tales como los AINE y los antibióticos producen RAF graves.

Los recientes desarrollos de la farmacogenómica han insinuado que la susceptibilidad a las RAF se asocia con variantes genéticas. Un ejemplo satisfactorio de la aplicación del estudio farmacogenómico para prevenir los efectos secundarios inducidos por fármaco es el genotipado de la tiopurina metiltransferasa (TPMT) antes de prescribir azatioprina, un fármaco para enfermedades reumatológicas o cancerosas (Yates *et al.*, 1997). Un/os polimorfismo/s genómico/s individual/es de TPMT puede(n) provocar una deficiencia enzimática y una tasa de metabolismo lenta, lo que da como resultado leucocitopenia. Este tipo de diagnóstico molecular certificado por CLIA (Clinical Laboratory

Improvement Amendments) lo ofrecen ahora laboratorios de referencia en los Estados Unidos (Prometheus Laboratory Inc.; Genaissance Pharmaceutical) y Europa. Sin embargo se cree que la susceptibilidad de ciertos fármacos a SJS/TEN/HSS está genéticamente determinada (Gennis MA, 1991; Edwards SG, 1999), los factores genéticos responsables aún tienen que identificarse y actualmente no existe un método clínicamente útil que se pueda usar para predecir quien desarrollará SJS/TEN/HSS o con que fármacos.

Hildesheim *et al.*, 2002, indican que, en residentes en Taiwan, HLA-A*0207 o HLA-B*4601 está asociado con un riesgo aumentado de carcinoma nasofaríngeo (CNF) y el haplotipo HLA-A*3303-HLA-B*5801/2-DRB1*0301-DQB1*0201/2-DPBI*0401 también está asociado con un aumento del riesgo de TNF.

Romphmk *et al.*, 2003, describen que HLA-B*1502 es el subtipo más común de HLA-B*15 en una población que vive en el noreste de Tailandia y está en desequilibrio de ligamiento con otros loci de HLA incluyendo HLA-A*11, DRB1*1202, y CW*08.

Gut, 2002, revisa los factores de riesgo genéticos para reacciones adversas a fármacos. Por ejemplo, describe que las variantes de HLA DR3 y DQ2 se asocian con el síndrome de hipersensibilidad grave y las variantes A2, A29, B12, y DR7 se asocian con la necrolisis epidérmica tóxica.

Nassif *et al.*, 2002, describen que estaban presentes linfocitos T citotóxicos en ampollas cutáneas en un paciente que padecía necrolisis epidérmica tóxica inducida por cotrimoxazol y que estas células mantuvieron la citotoxicidad contra células autólogas *ex vivo* sin reestimulación adicional con cotrimoxazol.

Malla *et al.*, 2002, se indican que la presencia de HLA-B*5701, HLA-DR7 o HLA-DQ3 está asociada con el síndrome de hipersensibilidad inducido por abacavir.

Ronjeau *et al.*, 1987, muestran que las necrolisis epidérmicas tóxicas (TEN) relacionadas con sulfonamida están asociadas con HLA-A29, -B12, o -DR7 mientras que las TEN relacionadas con oxícam están asociadas con HLA-A2 o -B12.

La presente invención proporciona un método para predecir el riesgo de un paciente de desarrollar reacciones adversas a fármacos, particularmente SJS, TEN, o síndrome de hipersensibilidad (HSS). Se descubrió que un alelo HLA-B, el HLA-B*1502, está asociado con SJS/TEN inducidos por una variedad de fármacos. La correlación con HLA-B*1502 es más significativa para los SJS/TEN inducidos por carbamazepina, en los que todos los pacientes ensayados tienen el alelo HLA-B*1502. Además, otro alelo HLA-B, el HLA-B*5801, está asociado particularmente con los SJS/TEN inducidos por alopurinol. El HLA-B*5801 también está asociado con el síndrome de hipersensibilidad (HSS) inducido por alopurinol. Las reacciones cutáneas más leves inducidas por carbamazepina, tales como la erupción maculopapular, el eritema multiforme (EM), la urticaria y el exantema fijo medicamentoso, están asociadas particularmente con un tercer alelo, el HLA-B*4601.

Por consiguiente, la presente solicitud proporciona un método para evaluar el riesgo de un paciente de desarrollar una reacción adversa a fármaco en respuesta a un fármaco, que comprende la realización de un tipado de HLA usando una muestra biológica del paciente. Cualquier alelo HLA que esté asociado con la RAF con una sensibilidad de al menos aproximadamente 40% se puede usar como el factor de riesgo en la presente invención. Preferiblemente, la sensibilidad del factor de riesgo es al menos aproximadamente 50%, 60%, 70%, 80% 85% o 90%. Más preferiblemente, la sensibilidad es al menos 95%. El fármaco se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en carbamazepina, alopurinol, fenitoína, sulfasalazina, amoxicilina, ibuprofeno y ketoprofeno. Como alternativa, el fármaco preferiblemente no es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo. Preferiblemente, el factor de riesgo es un alelo HLA-B.

Específicamente, un aspecto de la presente invención proporciona un método de evaluar el riesgo de un paciente de desarrollar una reacción adversa a fármaco en respuesta a un fármaco, que comprende la determinación de la presencia de un alelo HLA-B seleccionado del grupo que consiste en HLA-B*1502, HLA-B*5801 y HLA-B*4601, en el que la presencia del alelo HLA-B es indicativa de un riesgo de una reacción adversa a fármaco. El fármaco se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en carbamazepina, alopurinol, fenitoína, sulfasalazina, amoxicilina, ibuprofeno y ketoprofeno. Más preferiblemente, el fármaco es carbamazepina, alopurinol o fenitoína.

La reacción adversa a fármaco es preferiblemente una reacción adversa cutánea a fármaco, tal como el síndrome de Stevens-Johnson, necrolisis epidérmica tóxica o HSS. En una realización preferida, el fármaco es carbamazepina y el alelo es HLA-B* 1502. En otra realización preferida, el alelo HLA-B*5801 se usa para predecir el riesgo de una RAF cutánea, tal como el síndrome de Stevens-Johnson o necrolisis epidérmica tóxica en respuesta a alopurinol. El HLA-B*5801 también es un marcador para la reacción a fármaco inducida por alopurinol con eosinofilia y síntomas sistémicos, tal como el síndrome de hipersensibilidad inducido por alopurinol. Otros subtipos de HLA-B15, B58 o B46 se pueden usar también para predecir el riesgo de RAF en lugar de HLA-B*1502, HLA-B*5801 o HLA-B*4601, tal como HLA-B*1503 o *1558.

Se puede detectar el alelo usando cualquier método conocido en la técnica. Por ejemplo, la presencia del alelo se puede determinar usando un oligonucleótido que específicamente hibride con el ácido nucleico que codifica el alelo. Preferiblemente, en la determinación se emplea el ADN preparado a partir de sangre periférica del paciente. El alelo también se puede detectar mediante, por ejemplo, métodos serológicos o de microcitotoxicidad.

La presencia del alelo de interés también se puede determinar detectando un marcador genético equivalente del alelo, que es un marcador genético que está ligado al alelo. Un marcador genético equivalente puede ser, por ejemplo, un SNP (polimorfismo de un solo nucleótido), marcador de microsatélite o cualquier tipo de polimorfismo genético. Por ejemplo, los marcadores de HLA del haplotipo HLA-B B*1502 incluyen, pero sin limitarse a, DRB1*1202, Cw*0801, Cw*0806, A*110 y MICA*019. Los marcadores de HLA del haplotipo HLA-B*5801 comprenden, por ejemplo, HLA-A*3303, Cw*0302, DRB1*0301 y MICA*00201. En otras palabras, la presencia del haplotipo HLA-B*1502, 5801 o 4601, en lugar de los alelos de por sí, es indicativa de un riesgo de reacciones adversas a fármacos.

Además se proporciona un método de exploración y/o identificación de medicinas que se pueden usar para tratar SJS/TEN inducidos por fármacos, y/o HSS, mediante el uso de HLA-B*1502, 5801 o 4601 como una diana para el desarrollo de fármacos. Por ejemplo, los candidatos a medicina pueden ponerse en contacto con células que expresan cualquiera de los alelos y los candidatos que se unen al alelo probablemente inhibirán la función del alelo. La eficacia del candidato que se une al alelo en el tratamiento de las reacciones inducidas por fármacos puede ensayarse adicionalmente.

Además, un alelo HLA que está asociado con SJS/TEN/HSS también se puede usar para seleccionar fármacos que induzcan SJS/TEN/HSS. Por ejemplo, el alelo HLA puede ponerse en contacto con un fármaco candidato y el candidato que se une al alelo puede inducir SJS/TEN/HSS y se puede ensayar adicionalmente. También pueden usarse células o animales que comprenden el alelo HLA para seleccionar fármacos que inducen SJS/TEN/HSS.

La presente invención proporciona un método de predicción del riesgo de un paciente de desarrollar reacciones adversas a fármacos, particularmente SJS, TEN o HSS. Se descubrió que un alelo HLA-B, el HLA-B*1502, está asociado con SJS/TEN inducido por una variedad de fármacos. La correlación con HLA-B*1502 es más significativa para SJS/TEN inducidos por carbamazepina, en los que todos los pacientes ensayados tienen el alelo HLA-B*1502. Además, otro alelo HLA-B, HLA-B*5801, está asociado particularmente con SJS/TEN o HSS inducidos por alopurinol. Las reacciones cutáneas más leves asociadas con carbamazepina, tales como la erupción maculopapular, el eritema multiforme (EM), la urticaria y el exantema fijo medicamentoso, están asociados particularmente con un tercer alelo, HLA-B*4601.

Antes de describir la invención con más detalle, los términos que se usan en esta solicitud se definen de la siguiente manera a no ser que se indique lo contrario.

Definiciones

Una “reacción adversa a fármaco” es un efecto no deseado y no intencionado de un fármaco. En particular, una reacción adversa a fármaco se produce a dosis que se usan para la profilaxis, el diagnóstico o la terapia.

Un “fármaco” o “medicamento”, es cualquier compuesto o material que se administra a un paciente para fines profilácticos, diagnósticos o terapéuticos.

Un paciente tiene un “riesgo” para una reacción adversa a fármaco si la probabilidad del paciente de desarrollar una reacción adversa a fármaco es más alta que la probabilidad de la población general de desarrollar una reacción adversa a fármaco. La probabilidad del paciente de desarrollar la reacción adversa a fármaco es preferiblemente al menos aproximadamente 1,5 veces, más preferiblemente al menos aproximadamente 2 veces, aún más preferiblemente al menos aproximadamente 3, 4, 5, 6, 7, 8 ó 9 veces y más preferiblemente al menos aproximadamente 10 veces más alta que la probabilidad de la población general de desarrollar la reacción adversa a fármaco. Se puede determinar la probabilidad por cualquier método conocido en la técnica, tal como mediante el uso de la incidencia de los factores de riesgo. Por ejemplo, un factor de riesgo dado está presente en 5% de la población general. Si este factor está presente en 10% de los pacientes que tienen una reacción adversa a fármaco, entonces la probabilidad de un paciente con este factor de riesgo de desarrollar la reacción adversa a fármaco es 2 veces más alta que la probabilidad de que la población general desarrolle la reacción adversa a fármaco.

Un “factor de riesgo” para una RAF es un factor que está asociado con la RAF. La sensibilidad de un factor de riesgo es preferiblemente al menos aproximadamente 40%, más preferiblemente al menos aproximadamente 50%, 60%, 70%, 80%, 85% o 90%. Más preferiblemente, la sensibilidad es al menos 95%.

La “sensibilidad” de un factor de riesgo para predecir una RAF es el porcentaje de pacientes con la RAF que tiene el factor de riesgo. En otras palabras, si cada paciente con SJS tiene el alelo A, la sensibilidad del alelo A para predecir SJS es 100%. Si 20 de entre 40 pacientes con SJS tienen el alelo B, entonces la sensibilidad del alelo B para predecir SJS es 50%.

Un “marcador genético equivalente” de un alelo de interés se refiere a un marcador genético que está ligado al alelo de interés. Los marcadores genéticos equivalentes útiles en la presente invención presentan un desequilibrio de ligamiento con el alelo de interés.

“Realización de perfil farmacogenómico” se refiere a la determinación de los factores genéticos presentes en un sujeto que están asociados con enfermedades o afecciones médicas, particularmente, reacciones adversas a fármacos.

Típicamente, en la realización de perfiles farmacogenómicos se determina un panel de factores genéticos y los factores puede que estén o puede que no estén asociados con la misma enfermedad, afección médica o reacción al fármaco.

Un “metabolito” de un fármaco se refiere a un compuesto que puede obtenerse a partir del fármaco gracias al metabolismo en un organismo vivo, preferiblemente un mamífero y más preferiblemente un ser humano.

Un “derivado” de un fármaco, como se usa en la presente memoria, se refiere a un compuesto que es igual que el fármaco con la excepción de que al menos un hidrógeno en el fármaco está sustituido con un grupo halo, hidroxilo, acilamino, alquilo, alqueno, alquino, alcoxi, arilo, ariloxi, arilo, ariloxiarilo, carboxilo, carboxilalquilo, alquilo sustituido con carboxilo, carboxilcicloalquilo, cicloalquilo sustituido con carboxilo, carboxilarilo, arilo sustituido con carboxilo, carboxilheteroarilo, heteroarilo sustituido con carboxilo, carboxilheterociclilo, heterociclilo sustituido con carboxilo, cicloalquilo, alquilo sustituido, alcoxi sustituido, arilo sustituido, ariloxi sustituido, ariloxiarilo sustituido, cicloalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo o heterociclilo sustituido. Los grupos químicos se definen a continuación o son como se definen en la Patente de Estados Unidos N° 6.583.139. El sustituyente contiene preferiblemente de cero a diez, más preferiblemente de cero a seis, más preferiblemente de cero a cuatro y lo más preferiblemente de cero a dos átomos de carbono.

Como se usa en la presente memoria, “alquilo” se refiere a grupos alquilo que tienen preferiblemente de 1 a 10 átomos de carbono y más preferiblemente de 1 a 6 átomos de carbono. Este término se ilustra mediante grupos tales como metilo, t-butilo, n-heptilo, octilo y similares.

“Alquilo sustituido” se refiere a un grupo alquilo, preferiblemente de 1 a 10 átomos de carbono, que tiene de 1 a 5 sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en alcoxi, alcoxi sustituido, acilo, acilamino, tiocarbonilamino, aciloxi, amino, amidino, alquilamidino, tioamidino, aminoacilo, aminocarbonilamino, aminotiocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, arilo sustituido, ariloxi, ariloxi sustituido, ariloxilarilo, ariloxiarilo sustituido, ciano, halógeno, hidroxilo, nitro, carboxilo, carboxialquilo, alquilo sustituido con carboxilo, carboxilcicloalquilo, cicloalquilo sustituido con carboxilo, carboxilheteroarilo, arilo sustituido con carboxilo, carboxilheterociclilo, heterociclilo sustituido con carboxilo, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, guanidino, guanidinsulfona, tiol, tioalquilo, tioalquilo sustituido, tioarilo, tioarilo sustituido, tiocicloalquilo, tiocicloalquilo sustituido, tioheteroarilo, tioheteroarilo sustituido, tioheterociclilo, tioheterociclilo sustituido, heteroarilo, arilo sustituido, heteroarilo sustituido, heterociclilo, heterociclilo sustituido, cicloalcoxi, cicloalcoxi sustituido, heteroariloxi, heteroariloxi sustituido, heterocicliloxi, heterocicliloxi sustituido, oxicarbonilamino, oxitiocarbonilamino, $-\text{OS}(\text{O})_2$ -alquilo, $-\text{OS}(\text{O})_2$ -alquilo sustituido, $-\text{OS}(\text{O})_2$ -arilo, $-\text{OS}(\text{O})_2$ -arilo sustituido, $-\text{OS}(\text{O})_2$ -heteroarilo, $-\text{OS}(\text{O})_2$ -heteroarilo sustituido, $-\text{OS}(\text{O})_2$ -heterociclilo, $-\text{OS}(\text{O})_2$ -heterociclilo sustituido, $-\text{OSO}_2$ -NRR, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -alquilo, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -alquilo sustituido, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -arilo, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -arilo sustituido, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -heteroarilo, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -heteroarilo sustituido, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -heterociclilo, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -heterociclilo sustituido, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -NR-alquilo, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -NR-alquilo sustituido, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -NR-arilo, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -NR-arilo sustituido, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -NR-heteroarilo, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -NR-heteroarilo sustituido, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -NR-heterociclilo, $-\text{NRS}(\text{O})_2$ -NR-heterociclilo sustituido, mono- y di-alquilamino, mono- y di-(alquil sustituido) amino, mono- y di-arilamino, mono- y di-(aril sustituido) amino, mono- y di(heteroaril sustituido) amino, mono- y di-heterociclil amino, mono- y di-(heterociclil sustituido) amino, aminas disustituidas asimétricas que tienen diferentes sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido; grupos alquilo sustituido que tienen grupos amino bloqueados mediante grupos de bloqueo convencionales (tales como Boc, Cbz, formilo y similares) y grupos alquilo/alquilo sustituido con $-\text{SO}_2$ -alquilo, $-\text{SO}_2$ -alquilo sustituido, $-\text{SO}_2$ -alqueno, $-\text{SO}_2$ -alqueno sustituido, $-\text{SO}_2$ -cicloalquilo, $-\text{SO}_2$ -cicloalquilo sustituido, $-\text{SO}_2$ -arilo, $-\text{SO}_2$ -arilo sustituido, $-\text{SO}_2$ -heteroarilo, $-\text{SO}_2$ -heteroarilo sustituido, $-\text{SO}_2$ -heterociclilo, $-\text{SO}_2$ -heterociclilo sustituido o $-\text{SO}_2$ -NRR, donde R es hidrógeno o alquilo.

“Alcoxi” se refiere al grupo “alquil-O-” que incluye, a modo de ejemplo, metoxi, etoxi, n-propoxi, iso-propoxi, n-butoxi, terc-butoxi, sec-butoxi, n-pentoxi, n-hexoxi, 1,2-dimetilbutoxi y similares.

“Alcoxi sustituido” se refiere al grupo “alquil sustituido-O-”.

“Acilo” se refiere a los grupos $\text{H-C}(\text{O})$ -, alquil- $\text{C}(\text{O})$ -, alquil sustituido- $\text{C}(\text{O})$ -, alqueno- $\text{C}(\text{O})$ -, alqueno sustituido- $\text{C}(\text{O})$ -, alquino- $\text{C}(\text{O})$ -, alquino sustituido- $\text{C}(\text{O})$ -, cicloalquil- $\text{C}(\text{O})$ -, cicloalquil sustituido- $\text{C}(\text{O})$ -, aril- $\text{C}(\text{O})$ -, aril sustituido- $\text{C}(\text{O})$ -, heteroaril- $\text{C}(\text{O})$ -, heteroaril sustituido- $\text{C}(\text{O})$ -, heterociclil- $\text{C}(\text{O})$ -heterociclil sustituido- $\text{C}(\text{O})$ -, donde el alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido son como se definen en la presente memoria.

“Acilamino” se refiere al grupo $-\text{C}(\text{O})\text{NRR}$ en el que cada R se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, arilo, arilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido; en el que cada R puede unirse para formar, junto con el átomo de nitrógeno, un anillo heterocíclico o heterocíclico sustituido en el que el alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo heterociclilo sustituido son como se definen en la presente memoria.

“Aciloxi” se refiere a los grupos alquil-C(O)O-, alquil sustituido-C(O)O-, alquenil-C(O)O-, alquenil sustituido-C(O)O-, alquilil-C(O)O-, alquilil sustituido-C(O)O-, aril-C(O)O-, aril sustituido-C(O)O-, cicloalquil-C(O)O-, cicloalquil sustituido-C(O)O-, heteroaril-C(O)O-, heteroaril sustituido-C(O)O-, heterociclil-C(O)O y heterociclil sustituido-C(O)O-, donde el alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquilil, alquilil sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclillo y heterociclillo sustituido son como se definen en la presente memoria.

“Alquenilo” se refiere a un grupo alquilil que tiene preferiblemente de 2 a 10 átomos de carbono y más preferiblemente de 2 a 6 átomos de carbono y que tiene al menos 1 y preferiblemente 1-2 sitios de instauración alquenilo.

“Alquenilo sustituido” se refiere a grupos alquenilo que tienen de 1 a 5 sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en alcoxi, alcoxi sustituido, acilo, acilamino, tiocarbonilamino, aciloxi, amino, amidino, alquilamido, tioamidino, aminoacilo, aminocarbonilamino, aminotiocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, arilo sustituido, ariloxi, ariloxi sustituido, ariloxiarilo, ariloxiarilo sustituido, halógeno, hidroxilo, ciano, nitro, carboxilo, carboxilalquilo, alquilo sustituido con carboxilo, carboxilcicloalquilo, cicloalquilo sustituido con carboxilo, carboxilarilo, arilo sustituido con carboxilo, carboxilheteroarilo, heteroarilo sustituido con carboxilo, carboxilheterociclillo, heterociclillo sustituido con carboxilo, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, guanidino, guanidinsulfona, tiol, tioalquilo, tioalquilo sustituido, tioarilo, tioarilo sustituido, tiocicloalquilo, tiocicloalquilo sustituido, tioheteroarilo, tioheteroarilo sustituido, tioheterociclillo, tioheterociclillo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclillo, heterociclillo sustituido, cicloalcoxi, cicloalcoxi sustituido, heteroariloxi, heteroariloxi sustituido, heterocicililoxi, heterocicililoxi sustituido, oxicarbonilamino, oxitiocarbonilamino, -OS(O)₂-alquilo, -OS(O)₂-alquilo sustituido, -OS(O)₂-arilo, -OS(O)₂-arilo sustituido, -OS(O)₂-heteroarilo, -OS(O)₂-heteroarilo sustituido, -OS(O)₂-heterociclillo, -OS(O)₂-heterociclillo sustituido, -OSO₂-NRR, -NRS(O)₂-alquilo, -NRS(O)₂-alquilo sustituido, -NRS(O)₂-arilo, -NRS(O)₂-arilo sustituido, -NRS(O)₂-heteroarilo, -NRS(O)₂-heteroarilo sustituido, -NRS(O)₂-heterociclillo, -NRS(O)₂-heterociclillo sustituido, -NRS(O)₂-NR-alquilo, -NRS(O)₂-NR-alquilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-alquilo, -NRS(O)₂-NR-arilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-heteroarilo, -NRS(O)₂-NR-heteroarilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-heterociclillo, -NRS(O)₂-NR-heterociclillo sustituido; mono- y di-alquilamino, mono- y di-(alquil sustituido)amino, mono- y di-arilamino, mono- y di-(aril sustituido)amino, mono- y di-heteroarilamino, mono- y di-(heteroaril sustituido)amino, mono- y di-heterocicilil amino, mono- y di-(heterocicilil sustituido)amino, aminas disustituidas asimétricas que tienen sustituyentes diferentes seleccionados entre el grupo que consiste en alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclillo y heterociclillo sustituido y grupos alquenilo sustituido que tienen grupos amino bloqueados mediante grupos de bloqueo convencionales (tales como Boc, Cbz, formilo y similares) y grupos alquenilo/alquenilo sustituido con -SO₂-alquilo, -SO₂-alquilo sustituido, -SO₂-alquenilo, -SO₂-alquenilo sustituido, -SO₂-cicloalquilo, -SO₂-cicloalquilo sustituido, -SO₂-arilo, -SO₂-arilo sustituido, -SO₂-heteroarilo, -SO₂-heteroarilo sustituido, -SO₂-heterociclillo, -SO₂-heterociclillo sustituido o -SO₂NRR, donde R es hidrógeno o alquilo.

“Alquilil” se refiere a un grupo alquilil que tiene preferiblemente de 2 a 10 átomos de carbono y más preferiblemente de 3 a 6 átomos de carbono y que tiene 1 y preferiblemente 1-2 sitios de instauración alquilil.

“Alquilil sustituido” se refiere a grupos alquilil que tienen de 1 a 5 sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en alcoxi, alcoxi sustituido, acilo, acilamino, tiocarbonilamino, aciloxi, amino, amidino, alquilamido, tioamidino, aminoacilo, aminocarbonilamino, aminotiocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, arilo sustituido, ariloxi, ariloxi sustituido, ariloxiarilo, ariloxiarilo sustituido, halógeno, hidroxilo, ciano, nitro, carboxilo, carboxilalquilo, alquilo sustituido con carboxilo, carboxilcicloalquilo, cicloalquilo sustituido con carboxilo, carboxilarilo, arilo sustituido con carboxilo, carboxilheteroarilo, heteroarilo sustituido con carboxilo, carboxilheterociclillo, heterociclillo sustituido con carboxilo, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, guanidino, guanidinsulfona, tiol, tioalquilo, tioalquilo sustituido, tioarilo, tioarilo sustituido, tiocicloalquilo, tiocicloalquilo sustituido, tioheteroarilo, tioheteroarilo sustituido, tioheterociclillo, tioheterociclillo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclillo, heterociclillo sustituido, cicloalcoxi, cicloalcoxi sustituido, heteroariloxi, heteroariloxi sustituido, heterocicililoxi, heterocicililoxi sustituido, oxicarbonilamino, oxitiocarbonilamino, -OS(O)₂-alquilo, -OS(O)₂-alquilo sustituido, -OS(O)₂-arilo, -OS(O)₂-arilo sustituido, -OS(O)₂-heteroarilo, -OS(O)₂-heteroarilo sustituido, -OS(O)₂-heterociclillo, -OS(O)₂-heterociclillo sustituido, -OSO₂-NRR, -NRS(O)₂-alquilo, -NRS(O)₂-alquilo sustituido, -NRS(O)₂-arilo, -NRS(O)₂-arilo sustituido, -NRS(O)₂-heteroarilo, -NRS(O)₂-heteroarilo sustituido, -NRS(O)₂-heterociclillo, -NRS(O)₂-heterociclillo sustituido, -NRS(O)₂-NR-alquilo, -NRS(O)₂-NR-alquilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-alquilo, -NRS(O)₂-NR-arilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-heteroarilo, -NRS(O)₂-NR-heteroarilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-heterociclillo, -NRS(O)₂-NR-heterociclillo sustituido; mono- y di-alquilamino, mono- y di-(alquil sustituido)amino, mono- y di-arilamino, mono- y di-(aril sustituido)amino, mono- y di-heteroarilamino, mono- y di-(heteroaril sustituido)amino, mono- y di-heterocicilil amino, mono- y di-(heterocicilil sustituido)amino, aminas disustituidas asimétricas que tienen diferentes sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclillo y heterociclillo sustituido; grupos alquilil sustituido que tienen grupos bloqueados mediante grupos de bloqueo convencionales (tales como Boc, Cbz, formilo y similares) y grupos alquilil/alquilil sustituido, sustituidos con -SO₂-alquilo, -SO₂-alquilo sustituido, -SO₂-alquenilo, -SO₂-alquenilo sustituido, -SO₂-cicloalquilo, -SO₂-cicloalquilo sustituido, -SO₂-arilo, -SO₂-arilo sustituido, -SO₂-heteroarilo, -SO₂-heteroarilo sustituido, -SO₂-heterociclillo, -SO₂-heterociclillo sustituido o -SO₂NRR, en el que R es hidrógeno o alquilo.

“Aminoacilo” se refiere a los grupos -NRC(O)alquilo, -NRC(O)alquilo sustituido, -NRC(O)cicloalquilo, -NRC(O)cicloalquilo sustituido, -NRC(O)alquenilo, -NRC(O)alquenilo sustituido, -NRC(O)alquilil, -NRC(O)alquilil sustituido, -NRC(O)arilo, -NRC(O)arilo sustituido, NRC(O)heteroarilo, -NRC(O)heteroarilo sustituido, -NRC(O)he-

terociclilo y -NRC(O)heterociclilo sustituido en los que R es hidrógeno o alquilo y en los que el alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido son como se definen en la presente memoria.

“Aminocarboniloxi” se refiere a los grupos -NRC(O)O-alquilo, -NRC(O)O- alquilo sustituido, -NRC(O)O-alqueno, -NRC(O)O-alqueno sustituido, -NRC(O)O-alquino, -NRC(O)O-alquino sustituido, -NRC(O)O-cicloalquilo, -NRC(O)O-cicloalquilo sustituido, -NRC(O)O-arilo, -NRC(O)O-arilo sustituido, -NRC(O)O-heteroarilo, -NRC(O)O-heteroarilo sustituido, -NRC(O)O-heterociclilo y -NRC(O)O-heterociclilo sustituido en los que R es hidrógeno o alquilo y en los que el alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido son como se definen en la presente memoria.

“Oxicarbonilamino” se refiere a los grupos -OC(O)NRR, -OC(O)NR-alquilo, -OC(O)NR-alquilo sustituido, -OC(O)NR-alqueno, -OC(O)NR-alqueno sustituido, -OC(O)NR-alquino, -OC(O)NR-alquino sustituido, -OC(O)NR-cicloalquilo, -OC(O)NR-cicloalquilo sustituido, -OC(O)NR-arilo, -OC(O)NR-arilo sustituido, -OC(O)NR-heteroarilo, -OC(O)NR-heteroarilo sustituido, -OC(O)NR-heterociclilo y -OC(O)NR-heterociclilo sustituido en los que R es hidrógeno o alquilo, en los que cada R puede unirse para formar, junto con el átomo de nitrógeno, un anillo heterocíclico o heterocíclico sustituido, y en los que el alquilo, alquilo sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido son como se definen en la presente memoria.

“Arilo” o “Ar” se refiere un grupo carbocíclico aromático insaturado de 6 a 14 átomos de carbono que tiene un solo anillo (por ejemplo, fenilo) o múltiples anillos condensados (por ejemplo, naftilo o antrilo), donde dichos anillos condensados pueden ser aromáticos o no aromáticos (por ejemplo, 2-benzoxazolinona, 2H-1,4-benzoxazin-3(4H)-ona-7-ilo y similares). Los arilos preferidos incluyen fenilo y naftilo.

Arilo sustituido se refiere a grupos arilo que están sustituidos con 1 a 3 sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en hidroxilo, acilo, acilamino, tiocarbonilamino, aciloxi, alquilo, alquilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, amidino, alquilamidino, tioamidino, amino, aminoacilo, aminocarboniloxi, aminocarbonilamino, aminotiocarbonilamino, arilo, arilo sustituido, ariloxi, ariloxi sustituido, cicloalcoxi, cicloalcoxi sustituido, heteroariloxi, heteroariloxi sustituido, heterociclioxi, heterociclioxi sustituido, carboxilo, carboxilalquilo, carboxilalquilo sustituido, carboxilcicloalquilo, cicloalquilo sustituido con carboxilo, carboxilarilo, arilo sustituido con carboxilo, carboxilheteroarilo, heteroarilo sustituido con carboxilo, carboxiheterociclilo, heterociclilo sustituido con carboxilo, carboxilamida, ciano, tiol, tioalquilo, tioalquilo sustituido, tioarilo, tioarilo sustituido, tioheteroarilo, tioheteroarilo sustituido, tiocicloalquilo, tiocicloalquilo sustituido, tioheterociclilo, tioheterociclilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, guanidino, guanidinsulfona, halo, nitro, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo, heterociclilo sustituido, cicloalcoxi, cicloalcoxi sustituido, heteroariloxi, heteroariloxi sustituido, heterociclioxi, heterociclioxi sustituido, oxicarbonilamino, oxicarbonilamino, -SO(O)₂-alquilo, -S(O)₂-alquilo sustituido, -S(O)₂-cicloalquilo, -S(O)₂-cicloalquilo sustituido, -S(O)₂-alqueno, -S(O)₂-alqueno sustituido, -S(O)₂-arilo, -S(O)₂-arilo sustituido, -S(O)₂-heteroarilo, -S(O)₂-heteroarilo sustituido, S(O)₂-heterociclilo, -S(O)₂-heterociclilo sustituido, -OS(O)₂-alquilo, -OS(O)₂-alquilo sustituido, -OS(O)₂-arilo, -OS(O)₂-arilo sustituido, -OS(O)₂-heteroarilo, -OS(O)₂-heteroarilo sustituido, -OS(O)₂-heterociclilo, -OS(O)₂-heterociclilo sustituido, -OSO₂-NRR, -NRS(O)₂-alquilo, -NRS(O)₂-alquilo sustituido, -NRS(O)₂-arilo, -NRS(O)₂-arilo sustituido, -NRS(O)₂-heteroarilo, -NRS(O)₂-heteroarilo sustituido, -NRS(O)₂-heterociclilo, -NRS(O)₂-heterociclilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-alquilo, -NRS(O)₂-NR-alquilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-arilo, -NRS(O)₂-NR-arilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-heteroarilo, -NRS(O)₂-NR-heteroarilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-sustituido, -NRS(O)₂-NR-heterociclilo sustituido, mono- y di-alquilamino, mono- y di-(alquilo sustituido)amino, mono- y di-arilamino, mono- y di-(arilo sustituido)amino, mono- y di-heteroarilamino, mono- y di-(heteroarilo sustituido)amino, mono- y di-heterociclil amino, mono- y di-(heterociclil sustituido)amino, aminas disustituidas asimétricas que tienen diferentes sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo, heterociclilo sustituido, grupos amino en el arilo sustituido bloqueados mediante grupos de bloqueo convencionales (tales como Boc, Cbz, formilo y similares), y -SO₂NRR, en el que R es hidrógeno o alquilo.

“Ariloxi” se refiere al grupo aril-O que incluye, a modo de ejemplo, fenoxi, naftoxi y similares.

“Ariloxi sustituido” se refiere a grupos aril sustituido-O-.

“Ariloxiarilo” se refiere al grupo -aril-O-arilo.

“Ariloxiarilo sustituido” se refiere a grupos ariloxiarilo sustituidos con 1 a 3 sustituyentes en cualquiera o en los dos anillos arilo seccionados entre el grupo que consiste en hidroxilo, acilo, acilamino, tiocarbonilamino, aciloxi, alquilo, alquilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, alqueno, alqueno sustituido, alquino, alquino sustituido, amidino, alquilamidino, tioamidino, amino, aminoacilo, aminocarboniloxi, aminocarbonilamino, aminotiocarbonilamino, arilo, arilo sustituido, ariloxi, ariloxi sustituido, cicloalcoxi, cicloalcoxi sustituido, heteroariloxi, heteroariloxi sustituido, heterociclioxi, heterociclioxi sustituido, carboxilo, carboxilalquilo, alquilo sustituido con carboxilo, carboxilcicloalquilo, cicloalquilo sustituido con carboxilo, carboxilarilo, arilo sustituido con carboxilo, carboxilheteroarilo, heteroarilo sustituido con carboxilo, carboxilheterociclilo, heterociclilo sustituido con carboxilo, carboxilamido, ciano, tiol,

tioalquilo, tioalquilo sustituido, tioarilo, tioarilo sustituido, tioheteroarilo, tioheteroarilo sustituido, tiocicloalquilo, tiocicloalquilo sustituido, tioheterociclilo, tioheterociclilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, guanidino, guanidinsulfona, halo, nitro, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo, heterociclilo sustituido, cicloalcoxi, cicloalcoxi sustituido, heteroariloxi, heteroariloxi sustituido, heterociclioxi, heterociclioxi sustituido, oxicarbonilamino, oxitiocarbonilamino, -S(O)₂-alquilo, -S(O)₂-alquilo sustituido, -S(O)₂-cicloalquilo, -S(O)₂-cicloalquilo sustituido, -S(O)₂-alquenilo, -S(O)₂-alquenilo sustituido, -S(O)₂-arilo, -S(O)₂-arilo sustituido, -S(O)₂-heteroarilo, -S(O)₂-heteroarilo sustituido, -S(O)₂-heterociclilo, -S(O)₂-heterociclilo sustituido, -OS(O)₂-alquilo, -OS(O)₂-alquilo sustituido, -OS(O)₂-arilo, -OS(O)₂-arilo sustituido, -OS(O)₂-heteroarilo, -OS(O)₂-heteroarilo sustituido, -OS(O)₂-heterociclilo, -S(O)₂-heterociclilo sustituido, -OSO₂-NRR, -NRS(O)₂-alquilo, -NRS(O)₂-alquilo sustituido, -NRS(O)₂-arilo, -NRS(O)₂-arilo sustituido, -NRS(O)₂-heteroarilo, -NRS(O)₂-heteroarilo sustituido, -NRS(O)₂-heterociclilo, -NRS(O)₂-heterociclilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-alquilo, -NRS(O)₂-alquilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-arilo, -NRS(O)₂-NR-arilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-heteroarilo, -NRS(O)₂-heteroarilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-heterociclilo, -NRS(O)₂-NR-heterociclilo sustituido, mono- y di-alquilamino, mono- y di-(alquil sustituido)amino, mono- y di-arilamino, mono- y di-(aril sustituido)amino, mono- y di-heteroarilamino, mono- y di-(heteroaril sustituido)amino, mono- y di-heterocicliamino, mono- y di-(heterocicli sustituido)amino, aminas disustituidas asimétricas que tienen diferentes sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido, grupos amino en el arilo sustituido bloqueado mediante grupos de bloqueo convencionales (tales como Boc, Cbz, formilo y similares) y sustituidos con -SO₂NRR en el que R es hidrógeno o alquilo.

“Cicloalquilo” se refiere grupos alquilo cíclicos de 3 a 8 átomos de carbono que tienen un solo anillo cíclico incluyendo, a modo de ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclooctilo y similares. Se excluyen de esta definición los grupos alquilo de anillos múltiples tales como adamantilo, etc.

“Cicloalquenilo” se refiere a grupos alquenilo cíclicos de 3 a 8 átomos de carbono que tienen una sola o múltiples insaturaciones pero que no son aromáticos.

“Cicloalquilo sustituido” y “cicloalquenilo sustituido” se refieren a grupos cicloalquenilo y cicloalquilo, preferiblemente de 3 a 8 átomos de carbono, que tienen de 1 a 5 sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en oxo (=O), tioxo (=S), alcoxi, alcoxi sustituido, acilo, acilamino, tiocarbonilamino, aciloxi, amino, amidino, alquilamidino, tioamidino, aminoacilo, aminocarbonilamino, aminotiocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, arilo sustituido, ariloxi, ariloxi sustituido, ariloxiarilo, ariloxiarilo sustituido, halógeno, hidroxilo, ciano, nitro, carboxilo, carboxilalquilo, alquilo sustituido con carboxilo, cicloalquilo sustituido con carboxilo, carboxilcicloalquilo, cicloalquilo sustituido con carboxilo, carboxilarilo, arilo sustituido con carboxilo, carboxilheteroarilo, heteroarilo sustituido con carboxilo, carboxilheterociclilo, heterociclilo sustituido con carboxilo, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, guanidino, guanidinsulfona, tiol, tioalquilo, tioalquilo sustituido, tioarilo, tioarilo sustituido, tiocicloalquilo, tiocicloalquilo sustituido, tioheteroarilo, tioheteroarilo sustituido, tioheterociclilo, tioheterociclilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo, heterociclilo sustituido, cicloalcoxi, cicloalcoxi sustituido, heteroariloxi, heteroariloxi sustituido, heterociclioxi, heterociclioxi sustituido, oxicarbonilamino, oxitiocarbonilamino, -OS(O)₂-alquilo, -OS(O)₂-alquilo sustituido, -OS(O)₂-arilo, -OS(O)₂-arilo sustituido, -OS(O)₂-heteroarilo, -OS(O)₂-heteroarilo sustituido, -OS(O)₂-heterociclilo, -OS(O)₂-heterociclilo sustituido, -OSO₂-NRR, -NRS(O)₂-alquilo, -NRS(O)₂-alquilo sustituido, -NRS(O)₂-arilo, -NRS(O)₂-arilo sustituido, -NRS(O)₂-heteroarilo, -NRS(O)₂-heteroarilo sustituido, -NRS(O)₂-heterociclilo, -NRS(O)₂-heterociclilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-alquilo, -NRS(O)₂-NR-alquilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-arilo, -NRS(O)₂-NR-arilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-heteroarilo, -NRS(O)₂-NR-heteroarilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-heterociclilo, -NRS(O)₂-NR-heterociclilo sustituido, mono- y di-alquilamino, mono- y di-(alquil sustituido)amino, mono- y di-arilamino, mono- y di-(aril sustituido)amino, mono- y di-heteroarilamino, mono- y di-(heteroaril sustituido)amino, mono- y di-heterocicliamino, mono- y di-(heterocicli sustituido)amino, aminas disustituidas asimétricas que tienen diferentes sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclilo y heterociclilo sustituido, grupos alquilino sustituido que tienen grupos amino bloqueados mediante grupos de bloqueo convencionales (tales como Boc, Cbz, formilo y similares) y grupos alquilino/alquilino sustituido que están sustituidos con -SO₂-alquilo, -SO₂-alquilo sustituido, -SO₂-alquenilo, -SO₂-alquenilo sustituido, -SO₂-cicloalquilo, -SO₂-cicloalquilo sustituido, -SO₂-arilo, -SO₂-arilo sustituido, -SO₂-heteroarilo, -SO₂-heteroarilo sustituido, -SO₂-heterociclilo, -SO₂-heterociclilo sustituido o -SO₂NRR en el que R es hidrógeno o alquilo.

“Cicloalcoxi” se refiere a grupos -O-cicloalquilo.

“Cicloalcoxi sustituido” se refiere a grupos -O-cicloalquilo sustituido.

“Halo” se refiere a flúor, cloro, bromo y yodo y preferiblemente es cloro o bromo.

“Heteroarilo” se refiere a un grupo carbocíclico aromático de 2 a 10 átomos de carbono y de 1 a 4 heteroátomos seleccionados entre los grupos que consisten en oxígeno, nitrógeno y azufre dentro del anillo. Dichos grupos heteroarilo pueden tener un solo anillo (por ejemplo, piridilo o furilo) o múltiples anillos condensados (por ejemplo, indolizínilo o benzotienilo). Los heteroarilos preferidos incluyen piridilo, pirrolilo, indolilo y furilo.

“Heteroarilo sustituido” se refiere a grupos heteroarilo que están sustituidos con 1 a 3 sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en hidroxilo, acilo, acilamino, tiocarbonilamino, aciloxi, alquilo, alquilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquilino, alquilino sustituido, amidino, alquilamidino, tioa-

midino, amino, aminoacilo, aminocarboniloxi, aminocarbonilamino, aminotiocarbonilamino, arilo, arilo sustituido, ariloxi, ariloxi sustituido, cicloalcoxi, cicloalcoxi sustituido, heteroariloxi, heteroariloxi sustituido, heterociclioxi, heterociclioxi sustituido, carboxilo, carboxilalquilo, alquilo sustituido con carboxilo, carboxilcicloalquilo, cicloalquilo sustituido con carboxilo, carboxilarilo, arilo sustituido con carboxilo, carboxilheteroarilo, heteroarilo sustituido con carboxilo, carboxilheterociclioxi, heterociclioxi sustituido con carboxilo, carboxilamido, ciano, tiol, tioalquilo, tioalquilo sustituido, tioarilo, tioarilo sustituido, tioheteroarilo, tioheteroarilo sustituido, tiocicloalquilo, tiocicloalquilo sustituido, tioheterociclioxi, tioheterociclioxi sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, guanidino, guanidinsulfona, halo, nitro, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclioxi, heterociclioxi sustituido, cicloalcoxi, cicloalcoxi sustituido, heteroariloxi, heteroariloxi sustituido, heterociclioxi, heterociclioxi sustituido, oxicarbonilamino, oxitiocarbonilamino, -S(O)₂-alquilo, -S(O)₂-alquilo sustituido, -S(O)₂-cicloalquilo, -S(O)₂-cicloalquilo sustituido, -S(O)₂-alqueno, -S(O)₂-alqueno sustituido, -S(O)₂-arilo, -S(O)₂-arilo sustituido, -S(O)₂-heteroarilo, -S(O)₂-heteroarilo sustituido, -S(O)₂-heterociclioxi, -S(O)₂-heterociclioxi sustituido, -OS(O)₂-alquilo, -OS(O)₂-alquilo sustituido, -OS(O)₂-arilo, -OS(O)₂-arilo sustituido, -OS(O)₂-heteroarilo, -OS(O)₂-heteroarilo sustituido, -OS(O)₂-heterociclioxi, -OS(O)₂-heterociclioxi sustituido, -OSO₂-NRR, -NRS(O)₂-alquilo, -NRS(O)₂-alquilo sustituido, -NRS(O)₂-arilo, -NRS(O)₂-arilo sustituido, -NRS(O)₂-heteroarilo, -NRS(O)₂-heteroarilo sustituido, -NRS(O)₂-heterociclioxi, -NRS(O)₂-heterociclioxi sustituido, -NRS(O)₂-NR-alquilo, -NRS(O)₂-NR-alquilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-arilo, -NRS(O)₂-NR-arilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-heteroarilo, -NRS(O)₂-NR-heteroarilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-heterociclioxi, -NRS(O)₂-NR-heterociclioxi sustituido, mono- y di-alquilamino, mono- y di-(alquil sustituido)amino, mono- y di-arilamino, mono- y di-(aril sustituido)amino, mono- y di-heteroarilamino, mono- y di-(heteroaril sustituido)amino, mono- y di-heterociclioxi amino, mono- y di-(heterociclioxi sustituido)amino, aminas disustituidas asimétricas que tienen diferentes sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclioxi y heterociclioxi sustituido, grupos amino en el arilo sustituido bloqueados mediante grupos de bloqueo convencionales (tales como Boc, Cbz, formilo y similares) y -SO₂NRR, en el que R es hidrógeno o alquilo.

“Heteroariloxi” se refiere al grupo -O-heteroarilo y “heteroariloxi sustituido” se refiere al grupo -O-heteroarilo sustituido.

“Heterociclo” o “heterociclioxi” se refiere a un grupo saturado o insaturado que tiene un solo anillo o múltiples anillos condensados, que contienen de 1 a 10 átomos de carbono y de 1 a 4 heteroátomos seleccionados entre el grupo que consiste en nitrógeno, azufre u oxígeno dentro del anillo. En sistemas de anillos condensados, uno o más de los anillos puede ser arilo o heteroarilo.

“Heterociclioxi sustituido” se refiere a grupos heterociclo que están sustituidos con 1 a 3 sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en oxo (=O), tioxo (=S), alcoxi, alcoxi sustituido, acilo, acilamino, tiocarbonilamino, aciloxi, amino, amidino, alquilamidino, tioamidino, aminoacilo, aminocarbonilamino, aminotiocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, arilo sustituido, ariloxi, ariloxi sustituido, ariloxiarilo, ariloxiarilo sustituido, halógeno, hidroxilo, ciano, nitro, carboxilo, carboxilalquilo, alquilo sustituido con carboxilo, carboxilcicloalquilo, cicloalquilo sustituido con carboxilo, carboxilarilo, arilo sustituido con carboxilo, carboxilheteroarilo, heteroarilo sustituido con carboxilo, carboxilheterociclioxi, heterociclioxi sustituido con carboxilo, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, guanidino, guanidinsulfona, tiol, tioalquilo, tioalquilo sustituido, tioarilo, tioarilo sustituido, tiocicloalquilo, tiocicloalquilo sustituido, tioheteroarilo, tioheteroarilo sustituido, tioheterociclioxi, tioheterociclioxi sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclioxi, heterociclioxi sustituido, cicloalcoxi, cicloalcoxi sustituido, heteroariloxi, heteroariloxi sustituido, heterociclioxi, heterociclioxi sustituido, oxicarbonilamino, oxitiocarbonilamino, -OS(O)₂-alquilo, -OS(O)₂-alquilo sustituido, -OS(O)₂-arilo, -OS(O)₂-arilo sustituido, -OS(O)₂-heteroarilo, -OS(O)₂-heteroarilo sustituido, -OS(O)₂-heterociclioxi, -OS(O)₂-heterociclioxi sustituido, -OSO₂-NRR, -NRS(O)₂-alquilo, -NRS(O)₂-alquilo sustituido, -NRS(O)₂-arilo, -NRS(O)₂-arilo sustituido, -NRS(O)₂-heteroarilo, -NRS(O)₂-heteroarilo sustituido, -NRS(O)₂-heterociclioxi, -NRS(O)₂-heterociclioxi sustituido, -NRS(O)₂-NR-alquilo, -NRS(O)₂-NR-alquilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-arilo, -NRS(O)₂-NR-arilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-heteroarilo, -NRS(O)₂-NR-heteroarilo sustituido, -NRS(O)₂-NR-heterociclioxi, -NRS(O)₂-NR-heterociclioxi sustituido, mono- y di-alquilamino, mono- y di-(alquil sustituido)amino, mono- y di-arilamino, mono- y di-(aril sustituido)amino, mono- y di-heteroarilamino, mono- y di-(heteroarilamino sustituido)amino, mono- y di-heterociclioxi, mono- y di-(heterociclioxi sustituido)amino, aminas disustituidas asimétricas que tienen diferentes sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en alquilo, alquilo sustituido, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heterociclioxi y heterociclioxi sustituido, grupos alquilino sustituido que tienen grupos amino bloqueados mediante grupos de bloqueo convencionales (tales como Boc, Cbz, formilo y similares) y grupos alquilino/alquilino sustituidos que están sustituidos con -SO₂-alquilo, -SO₂-alquilo sustituido, -SO₂-alqueno, -SO₂-alqueno sustituido, -SO₂-cicloalquilo, -SO₂-cicloalquilo sustituido, -SO₂-arilo, -SO₂-arilo sustituido, -SO₂-heteroarilo, -SO₂-heteroarilo sustituido, -SO₂-heterociclioxi, -SO₂-heterociclioxi sustituido o -SO₂NRR, en el que R es hidrógeno o alquilo.

Los ejemplos de heterociclos y heteroarilos incluyen, pero sin limitación, azetidina, pirrol, imidazol, pirazol, piridina, pirazina, pirimidina, piridazina, indolizina, isoindol, indol, dihidroindol, indazol, purina, quinolizina, isoquinolina, quinolina, ftalazina, naftilpiridina, quinoxalina, quinazolina, cinolina, pteridina, carbazol, carbolina, fenantridina, acridina, fenantrolina, isotiazol, fenazina, isoxazol, fenoxazina, fenotiazina, imidazolidina, imidazolina, piperidina, piperazina, indolina, ftalimida, 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina, 4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofeno, tiazol, tiazolidina, tiofeno, benzo[b]tiofeno, morfolino, tiomorfolino, piperidinilo, pirrolidina, tetrahidrofuranilo y similares.

“Heterociclioxi” se refiere al grupo -O-heterociclioxi y “heterociclioxi sustituido” se refiere al grupo -O-heterociclioxi sustituido.

Métodos

Existen pruebas de que la patogénesis de varias reacciones similares multisistémicas de hipersensibilidad a fármaco implica la presentación restringida por MHC de fármacos o de metabolitos de fármacos, con unión directa de estos antígenos no peptídicos a moléculas de MHC o haptenación a proteínas endógenas antes de la activación de células T (Svensson *et al.*, 2000). Se descubrió que las células T citotóxicas CD8+ que se infiltran en la piel eran dominantes en las reacciones vesiculares tales como SJS/TEN (Hari *et al.*, 2001), mientras que las células T colaboradoras CD4+ eran características de reacciones adversas cutáneas a fármaco más leves, tales como la erupción maculopapular (Pichler *et al.*, 1997). Puesto que se conoce que el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) es importante en la determinación de sensibilidad inmune mediada por células T frente a los antígenos, tales como metabolitos de fármacos, se evaluó si los alelos del complejo mayor de histocompatibilidad estaban asociados con SJS/TEN/HSS inducidos por fármacos.

Se realizó un tipado HLA en pacientes con reacciones adversas a fármacos. Los resultados indicaron que HLA-B*1502 estaba en presente en 42 de 42 (100%) pacientes con SJS/TEN que recibieron carbamazepina (Ejemplo 1). También se encontró el alelo en 17 de 53 (32%) pacientes con SJS/TEN que recibieron otros fármacos (8 fenitoína, 2 alopurinol, 2 amoxicilina, 1 sulfasalazina, 1 ketoprofeno, 1 Ibuprofeno y 2 fármacos desconocidos). Particularmente, 8 de 17 pacientes (47,05%) que desarrollaron SJS/TEN después de tomar fenitoína también portaron el alelo HLA-B*1502. Por otro lado, el alelo solo se encontró en 4,1% (3/73) del grupo tolerante a carbamazepina, en 0% (0/32) del grupo tolerante a fenitoína, en 6,3% (9/142) de los pacientes que tuvieron reacciones adversas a fármaco más leves distintas a SJS y en 5,3% (5/94) de la población general. Usando el grupo tolerante como control, la razón de probabilidades, sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo para SJS/TEN inducidos por carbamazepina asociados a B*1502 fueron 1712, 100%, 95,89%, 96,0% y 100%, respectivamente. Para SJS/TEN inducidos por fenitoína asociados a B*1502, la razón de probabilidades, sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo fueron 58, 47%, 100%, 100% y 65,35%, respectivamente. Por consiguiente, la presencia de este alelo HLA-B se puede usar en la identificación de pacientes con alto riesgo de SJS/TEN inducidos por fármaco, particularmente SJS/TEN inducidos por carbamazepina y fenitoína.

Parece que las reacciones adversas leves inducidas por carbamazepina están asociadas con otro alelo, el HLA-B*4601. Por tanto, 10 de entre 16 (62,5%) de los pacientes con estas reacciones más leves frente a la carbamazepina tuvieron el HLA-B*4601. Por el contrario, solo se encontró el alelo en 26% (19/73) del grupo tolerante a carbamazepina. La razón de probabilidades para las RAF cutáneas más leves inducidas por carbamazepina asociadas a B*4601 fue 4,73. Por consiguiente, HLA-B*4601 se puede usar en la evaluación del riesgo para una RAF cutánea leve inducida por carbamazepina.

Un tercer alelo HLA-B, HLA-B*5801, se encontró en 17 de entre 17 (100%) pacientes con SJS/TEN o pacientes con hipersensibilidad que recibieron alopurinol, pero solo en 18% de la población general. La razón de probabilidades, sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo para la hipersensibilidad o los SJS/TEN inducidos por alopurinol asociados a B*5801 fueron 155, 100%, 82%, 84,7%, y 100%, respectivamente (Ejemplo 2). El HLA-B*5801 puede, por tanto, usarse para predecir el riesgo de desarrollar reacciones adversas a fármacos en respuesta a alopurinol.

Por consiguiente, la presente invención proporciona un método para evaluar el riesgo de un paciente de desarrollar una reacción adversa a fármaco después de tomar un fármaco, que comprende la determinación de la presencia de un alelo HLA-B seleccionado del grupo que consiste en HLA-B*1502, HLA-B*5801 y HLA-B*4601, en el que la presencia del alelo HLA-B es indicativa de un riesgo de desarrollar una reacción adversa a fármaco. En una realización preferida, el HLA-B*1502 se usa para predecir el riesgo de SJS/TEN, particularmente SJS/TEN inducidos por carbamazepina.

La carbamazepina, también conocida como Tegretol, Tegol, G-32883, Biston, Calepsin, Carbatrol, Epitol, Finlepsin, Sirtal, Stazepine, Telesmin, o Timonilo, es un anticonvulsivante aromático. Otros anticonvulsivantes aromáticos, incluyendo la fenitoína (Dilantin) y fenobarbital, provocan reacciones adversas a fármaco similares a la de la carbamazepina. Por tanto, el HLA-B*1502 se puede emplear para evaluar el riesgo de reacciones adversas a fármaco frente a estos otros anticonvulsivantes aromáticos también. Los anticonvulsivantes aromáticos para los que HLA-B*1502 se puede usar como un factor de riesgo también incluyen metabolitos y derivados de la carbamazepina, fenitoína o fenobarbital. Los metabolitos de estos fármacos se conocen en la técnica (Véase, por ejemplo, Gennis *et al.*, 1991; Leeder, 1998; Naisbitt *et al.*, 2003), tales como carbamazepina-10,11 epóxido, carbamazepina-10,11-diol, carbamazepina 2,3-diol, dihidrocarbamazepina, carbamazepina catecol y carbamazepina o-quinona, p-hidroxifenitoína, fenitoína dihidrodiol, fenitoína catecol, fenitoína metilcatecol y fenitoína o-quinona.

En otra realización preferida, el HLA-B*5801 se usa para predecir el riesgo de HSS o SJS/TEN inducidos por alopurinol. El alopurinol es un fármaco para la hiperuricemia y la gota crónica. Como con los otros fármacos, HLA-B*5801 también se puede usar para evaluar el riesgo que tienen los metabolitos y derivados de alopurinol.

Otros subtipos del locus HLA-B15, B58 o B46 también pueden predisponer a reacciones cutáneas adversas a fármaco, particularmente, cuando el paciente es de un origen étnico diferente. Esta variación de subtipos se ha observado en la técnica. Por ejemplo, la espondilitis anquilosante se asocia fuertemente con HLA-B27. Se han indicado muchos alelos o subtipos para HLA-B27, tales como B*2701-B*2723. Estos subtipos se distribuyen en diferentes áreas por el

mundo y muchos están asociados con espondilitis anquilosante (Khan, 2000; Feltkamp *et al.*, 2001). Se contempla que HLA-B*15, B*8 o B*46 están asociados con la RAF cutánea como se describe en la presente memoria y también pueden usarse otros subtipos de HLA-B*15, B*58 o B*46 para la evaluación del riesgo en lugar de HLA-B*1502, 5801 o 4601, por ejemplo, HLA-B*1503 o *1558.

Adicionalmente, debe apreciarse que además de los alelos específicos HLA de por sí, los marcadores genéticos que están ligados a cada uno de los alelos específicos también se pueden usar para predecir el riesgo correspondiente de una RAF. Esto es debido a que los marcadores genéticos cerca del alelo HLA de interés tienden a cosegregarse o mostrar un desequilibrio de ligamiento con el alelo de interés. Por consiguiente, la presencia de estos marcadores (marcadores genéticos equivalentes) es indicativa de la presencia del alelo de interés, el cual, a su vez, es indicativo del riesgo de RAF. Como se muestra en el Ejemplo 3, el haplotipo HLA-B*1502 incluye marcadores de HLA tales como DRB1*1202, Cw*0801, Cw*0806, A* 1101 y MICA*019. Los marcadores de HLA del haplotipo HLA-B*5801 incluyen, por ejemplo, A*3303, Cw*0302, DRB1*0301 y MICA*00201.

El marcador genético equivalente puede ser cualquier marcador, incluyendo marcadores de HLA, microsatélites y marcadores de polimorfismo de un solo nucleótido (SNP). Preferiblemente, los marcadores genéticos útiles están aproximadamente a 200 kb del locus HLA-B o menos. Más preferiblemente, los marcadores están aproximadamente a 100 kb, 80 kb, 60 kb, 40 kb ó 20 kb del locus HLA-B o menos. Son de interés particular los marcadores que se sitúan entre la región HLA-A y DRB1 de un haplotipo específico HLA-B.

Los alelos HLA pueden detectarse usando cualquier método conocido en la técnica. Preferiblemente, el ADN genómico hibrida con una sonda que es específica para el alelo de interés. La sonda puede estar marcada para la detección directa o se puede poner en contacto mediante una segunda molécula detectable que específicamente se une a la sonda. Como alternativa, se puede detectar el ADNc, el ARN o el producto de la proteína del alelo. Por ejemplo, se pueden usar el serotipado o los métodos de microcitotoxicidad para determinar el producto proteico del alelo. De manera similar, los marcadores genéticos equivalentes se pueden detectar mediante cualquiera de los métodos conocidos en la técnica.

Para aumentar adicionalmente la precisión de la predicción del riesgo, el alelo de interés y/o su marcador genético equivalente se pueden determinar junto con los marcadores genéticos de moléculas accesorias y moléculas coestimuladoras que están implicadas en la interacción entre la célula presentadora de antígeno y la interacción de la célula T. Estos marcadores genéticos incluyen marcadores de polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) y microsatélite. Las moléculas accesorias y coestimuladoras incluyen moléculas de la superficie celular, (por ejemplo, CD80, CD86, CD28, CD4, CD8, receptor de células T (TCR), ICAM-1, CD11a, CD58, CD2, *etc.*) y citocinas proinflamatorias o inflamatorias, quimiocinas (por ejemplo, TNF- α) y mediadores (por ejemplo, complementos, proteínas de apoptosis, enzimas, componentes de matriz extracelular, *etc.*). También son de interés marcadores genéticos de enzimas metabolizadoras de fármacos que están implicadas en la bioactivación y detoxificación de fármacos. Estos marcadores genéticos también incluyen marcadores SNP y microsatélite. Las enzimas metabolizadoras de fármacos incluyen enzimas de fase I (por ejemplo, la superfamilia de citocromo P450 *etc.*) y enzimas de fase II (por ejemplo, epóxido hidrolasa microsomal, arilamina N-acetiltransferasa, UDP-glucuronosyl-transferasa, *etc.*).

Además se proporciona un método de identificación o exploración de medicinas que se pueden usar para tratar HSS o SJS/TEN inducidos por fármaco usando HLA-B*1502, 5801 o 4601 como una diana en el desarrollo del fármaco. Por ejemplo, los candidatos a medicina pueden ponerse en contacto con las células que expresan cualquiera de los alelos y los candidatos que se unen al alelo probablemente inhibirán la expresión y/o función del alelo. La eficacia del candidato en el tratamiento de las reacciones adversas inducidas por fármacos se puede ensayar adicionalmente.

Kits

También se describe un kit que comprende los medios para detectar al menos un alelo seleccionado del grupo que consiste en HLA-B*1502, 5801 y 4601. Los medios son preferiblemente una sonda que se une específicamente al alelo y el kit preferiblemente también contiene reactivos de detección para la sonda. La sonda es preferiblemente un oligonucleótido. El kit puede comprender además herramientas y/o reactivos para recoger muestras biológicas de pacientes, así como aquellas para preparar ADN, ADNc, ARN genómico o la proteína del alelo a partir de las muestras. Por ejemplo, se pueden incluir cebadores de PCR para amplificar las regiones relevantes del ADN genómico.

El kit preferiblemente comprende medios para detectar al menos dos alelos seleccionados del grupo que consiste en HLA-B*1502, 5801 y 4601. Opcionalmente, el kit también puede comprender medios para detectar otros factores genéticos, particularmente aquellos útiles en la realización del perfil farmacogenómico. Un ejemplo preferido es tiopurina metiltransferasa.

Por tanto, en una realización preferida, el kit puede comprender sondas para detectar los tres alelos HLA-B*1502, 4801 y 4601. Más preferiblemente, el kit también comprende, además, los cebadores de PCR adecuados para todos y cada uno de los alelos.

Los siguientes ejemplos se ofrecen para ilustrar esta invención y no deben ser interpretados de ninguna manera como limitantes del alcance de la presente invención. Aunque esta invención se describe y se muestra particularmente haciendo referencia a realizaciones preferidas de la misma, los expertos en la materia entenderán que pueden hacerse

distintos cambios en la forma y detalles en ella sin alejarse del espíritu y alcance de la invención como se define por las reivindicaciones adjuntas.

Ejemplos

En los ejemplos presentados a continuación, las siguientes abreviaturas tienen los siguientes significados. Las abreviaturas no definidas tienen sus significados generalmente aceptados.

°C = grados Celsius

h = hora

min = minuto

sec = segundo

μM = micromolar

mm = milimolar

M = molar

ml = mililitro

μl = microlitro

mg = miligramo

μg = microgramo

RAF = reacción adversa a fármaco

SJS = síndrome de Stevens-Johnson

TEN = necrosis epidérmica tóxica

HSS = síndrome de hipersensibilidad

DRESS = reacción a fármaco con eosinofilia y síntomas sistémicos

SSO = oligonucleótido específico de secuencia.

PCR = reacción en cadena de la polimerasa.

HLA = antígeno leucocitario humano.

STRP = polimorfismo de repeticiones cortas en tándem

Materiales y Métodos

Pacientes y sujetos de control

Para los estudios descritos en los Ejemplos 1 y 2, se seleccionó un total de 112 pacientes con SJS/TEN del Hospital Memorial Chan Gung o de varios de otros centros médicos por todo Taiwán. Entre estos pacientes, 42 tenían SJS/TEN inducidos por carbamazepina (tegretol) y 17 tenían RAF graves inducidas por alopurinol. Además, se inscribieron también 126 pacientes, que habían desarrollado una reacción de hipersensibilidad más leve frente a varios fármacos. Se registró la historia farmacológica, incluyendo las dosis y la duración, y los fenotipos de las reacciones adversas a fármaco. Los criterios de diagnóstico de morfología clínica se definieron de acuerdo con Roujeau (Roujeau JC, 1994). El SJS se define como el desprendimiento de la piel de menos de 10% del área de superficie corporal, el solapamiento SJS-TEN como el desprendimiento de la piel de 10-30% y la TEN como el desprendimiento de más de 30%. El SJS, el solapamiento SJS-TEN y la TEN se denominan colectivamente SJS/TEN.

Para cada paciente, se retiró el fármaco de sospecha y se observaron los síntomas del paciente. Se excluyeron los pacientes que desarrollaron una reacción adversa cutánea a fármaco que no disminuyó con la retirada del fármaco. 73 pacientes tolerantes a tegretol se incluyeron como controles. También se seleccionaron voluntarios de la población general de taiwaneses (n = 94; intervalo de edad: 20 a 80 años). El estudio se aprobó por el comité de revisión institucional y se obtuvo el consentimiento informado.

Genotipado para HLA

Los reactivos para el oligonucleótido específico de secuencia de transferencia lineal inversa (SSO) se adquirieron de DYNAL Biotech Ltd. (Bromborough, Reino Unido) y se usaron para el genotipado de HLA. En resumen, un producto de PCR se generó usando pares de cebadores biotinilados para los exones segundo y tercero para los loci de HLA de clase I o clase II y después se hibridaron con una transferencia lineal de SSO de sondas movilizadas en una membrana de Nylon. La presencia del producto de PCR biotinilado unido a una sonda específica se detecta usando estreptavidina conjugada con peroxidasa de rábano picante (HRP) y un sustrato cromogénico soluble para producir una “línea” azul en la posición de la sonda positiva. El patrón de reactividad de las sondas se interpretó mediante el software de genotipado Dynal RELI™ SSO (DYNAL Biotech Ltd.; Bromborough, Reino Unido). Las ambigüedades potenciales se resolvieron adicionalmente por el tipado basado en la secuencia y la secuenciación del ADN realizada de acuerdo con el Manual Técnico IHWG (Grupo de Trabajo Internacional de Histocompatibilidad (International Histocompatibility Working Group)).

Genotipado SNP

Se aisló ADN genómico usando el sistema de purificación PUREGENE DNA (Gentra systems, Minnesota, Estados Unidos). El genotipado de SNP se realizó mediante espectrometría de masas MALDI-TOF del alto rendimiento. En resumen, se diseñaron cebadores y sondas usando el software SpectroDESIGNER (Sequenom, San Diego, CA, Estados Unidos). Se realizaron las reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) múltiples, los dNTP no incorporados se desfosforilaron usando la fosfatasa alcalina de gamba (Hoffman-LaRoche, Basilea, Suiza), seguida de la extensión con cebadores. La reacción de extensión con cebadores purificada se aplicó puntualmente sobre una microplaca de silicio de 384 elementos (SpectroCHIP, Sequenom), se analizó usando un espectrómetro de masas Bruker Biflex III MALDI-TOF SpectroREADER (Sequenom) y se procesó el espectro con SpectroTYPER (Sequenom).

Genotipado de polimorfismo de repeticiones cortas en tándem (STRP)

Veinte marcadores de microsatélite altamente polimórficos localizados en la región MHC se seleccionaron de la base de datos NCBI (es decir, D6S258, D6S2972, D6S510, D6S265, D6S388, D6S2814, HLAC_CA1, HLABC_CA2, MIB, MICA, TNFD, BAT2_CA, D6S273, D6S1615, DQCAR, G51152, D6S2414, D6S1867, D6S1560 y D6S1583). La heterocigosidad media de los marcadores fue 0,72 con una separación estimada de 230 kb.

Se diseñaron los cebadores basándose en la secuencia de oligonucleótidos indicada en la base de datos. La PCR para el genotipado se realizó en un volumen de 5 µl que contenía 10 ng de ADN genómico y 0,33 µM de cada cebador usando termocicladores GeneAmp 9700 (Applied Biosystems, Foster City, CA, Estados Unidos). Se agruparon hasta 6 productos de tamaño adecuado y marcaje fluorescente antes de la electroforesis capilar en gel. El tamaño de los amplicones polimórficos se determinó por electroforesis del secuenciador de ADN ABI 3730 (Applied Biosystems), usando el patrón de tamaño LIZ500 como un patrón de tamaño interno (Applied Biosystems). El tamaño de alelo se calculó usando el programa GENMAPPER version 3.0 (Applied Biosystems). La determinación y clasificación de alelos se realizó usando el programa SAS. En todos los experimentos de genotipado se incluyeron tres individuos de control CEPH (1331-01,1331-02,1347-2) y H20 para fines de control de calidad.

Análisis estadístico

Las frecuencias de alelos en los diferentes grupos se compararon con el método de la Chi-cuadrado con corrección de Yates construyendo tablas de 2x2. Los valores de P se corrigieron para comparaciones de alelos múltiples HLA (Pc) multiplicando los valores de P de partida por el número observado de alelos HLA presentes dentro de los loci. Las razones de probabilidades de calcularon con la modificación de Haldane, que añade 0,5 a todas las células para tener cabida para posibles resultados de 0.

*Ejemplo 1**El alelo HLA-B*1502*

En la cohorte de 238 individuos con RAF, se diagnosticó que 112 casos tenían SJS/TEN y 126 individuos tenían reacciones adversas cutáneas a fármaco más leves (eritema multiforme, erupción maculopapular, urticaria, angioedema y exantema fijo medicamentoso) frente a distintas medicaciones. Entre los 112 pacientes con SJS/TEN, se expuso a 42 individuos a carbamazepina (tegretol), 17 a alopurinol y 53 a distintas medicaciones diferentes de carbamazepina o alopurinol.

Se sometió a los pacientes a tipado de HLA como se describe en Materiales y Métodos. Como se muestra en la Tabla 1, una variante alélica de ADN en el locus HLA-B (HLA-B*1502) se asoció a pacientes con SJS/TEN inducidos por fármaco, particularmente a pacientes que recibían carbamazepina (tegretol).

TABLA 1

*Frecuencia de HLA-B*1502 en 42 pacientes taiwaneses con el síndrome de Stevens-Johnson/necrolisis epidérmica tóxica inducidos por carbamazepina (Tegretol)*

Alelo	Pacientes N=42	Controles 1 ^a N=142	Controles 2 ^b N=94	Controles 3 ^c N=73	X ²	Razón de probabilidades	P _c
B*1502	42(100%)	9(6,3)%			137,28	1194,47	3,6x10 ⁻³⁰
B*1502	42(100%)		5(5,3%)		110,919	1383,2	2,15x10 ⁻²⁴
B*1502	42(100%)			3(4,1%)	98,936	1712	9,1x10 ⁻²²

^a, pacientes que tuvieron reacciones adversas a fármacos más leves distintas a SJS

^b, población taiwanesa general

^c, pacientes que son tolerantes a carbamazepina

X², Chi-cuadrado con corrección de Yates

P_c, calculado multiplicando los valores de P de partida por el número observado de alelos HLA-B (35).

Por tanto, el HLA-B*1502 se detectó en 42 de 42 (100%) pacientes con SJS/TEN que recibieron carbamazepina. También se encontró el alelo en 17 de 53 (32%) pacientes con SJS/TEN que recibieron otros fármacos (8 fenitoína, 2 alopurinol, 2 amoxicilina, 1 sulfasalazina, 1 ketoprofeno, 1 ibuprofeno y 2 fármacos desconocidos). Particularmente, 8 de 17 pacientes (47,05%) que desarrollaron SJS/TEN después de tomar fenitoína también portaron el alelo HLA-B*1502. Por otro lado, el alelo se encontró solamente en 4,1% (3/73) del grupo tolerante a carbamazepina, 0% (0/32) del grupo tolerante a fenitoína 6,3% (9/142) de los pacientes que tuvieron reacciones adversas a fármaco más leves distintas a SJS y 5,3% (5/94) de la población general. Usando el grupo tolerante como control, la razón de probabilidades, sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo para B*1502 asociado con SJS/TEN inducidos por carbamazepina, fueron 1712, 100%, 95,39%, 96,0% y 100% respectivamente. Con un valor predictivo y una sensibilidad tan altos, el tipado de este alelo HLA-B puede usarse para identificar pacientes con alto riesgo de SJS-TEN inducidos por fármaco, particularmente SJS/TEN inducidos por tegretol.

El alelo B*1502 no parece que esté asociado con todos los fenotipos inducidos por tegretol. Como se muestra en la Tabla 2, el alelo no se detectó en los 16 pacientes que padecían reacciones cutáneas más leves a tegretol, tales como erupción maculopapular (Tabla 2). Sin embargo, otro alelo, HLA-B*4601, se asocia significativamente con estas reacciones cutáneas más leves (10 de entre 16 pacientes o 62,5%). Por lo tanto, HLA-B*4601 se puede usar como un factor de riesgo para las RAF cutáneas leves, particularmente aquellas inducidas por tegretol.

TABLA 2

Datos de fenotipo/genotipo de pacientes con RAF cutáneas inducidas por tegretol

ID	Fármaco sospechoso	Fenotipo	Genotipo HLA-B
1	Carbamazepina	SJS	B*1502/B*3802
2	Carbamazepina	SJS	B*1502/B*3501
3	Carbamazepina	SJS	B*1502/B*4006
4	Carbamazepina	SJS	B*1502/B*3802

ES 2 347 150 T3

ID	Fármaco sospechoso	Fenotipo	Genotipo HLA-B
5	Carbamazepina	SJS	B*1502/B*3802
6	Carbamazepina fenitoína	SJS	B*1502/B*3802
10	7 Carbamazepina	SJS	B*1502/B*4001
8	Carbamazepina	SJS	B*1502/B*3901
15	9 Carbamazepina	SJS	B*1502/B*5801
10	Carbamazepina	SJS	B*1502/B*5801
20	11 Carbamazepina	SJS	B*1502/B*1525
12	Carbamazepina	SJS	B*1502/B*4002
25	13 Carbamazepina	SJS	B*1502/B*4006
14	Carbamazepina	SJS	B*1502/B*5801
15	Carbamazepina	Solapamiento SJS/TEN	B*1301/B*1502
30	16 Carbamazepina	Solapamiento SJS/TEN	B*1502/B*3501
17	Carbamazepina	SJS	B*1502/B*3802
35	18 Carbamazepina	SJS	B*1502/B*4601
19	Carbamazepina	SJS	B*1301/B*1502
40	20 Carbamazepina	SJS	B*1502/B*5801
21	Carbamazepina	SJS	B*1502/B*4601
45	22 Carbamazepina, AINE	SJS	B*1502
23	Carbamazepina	SJS	B*1502/B*3501
50	24 Carbamazepina	SJS	B*1502/B*4601
25	Carbamazepina	SJS	B*1502/B*4601
55	26 Carbamazepina	SJS	B*1502/B*5801
27	Carbamazepina	SJS	B*1501/B*1502
28	Carbamazepina	SJS	B*1502/B*4001
60	29 Carbamazepina	SJS	B*1502

ES 2 347 150 T3

ID	Fármaco sospechoso	Fenotipo	Genotipo HLA-B
30	carbamazepina, meloxicam, sulidanc, fenitoína	SJS	B*1502/B*5801
31	Carbamazepina	SJS	B*1502/4601
32	Carbamazepina	SJS	B*1502/5801
33	Carbamazepina	SJS	B*1502/4601
34	Carbamazepina	SJS	B*1502/5502
35	Carbamazepina	SJS	B*1502
36	carbamazepina, fenitoína	SJS	B* 1502/4002
37	Carbamazepina	SJS	B*1502/4001
38	Carbamazepina	SJS	B*1502
39	carbamazepina, fenitoína	SJS	B*1502
40	Carbamazepina	Solapamiento SJS/TEN	B*1502/4001
41	Carbamazepina	Solapamiento SJS/TEN	B*1502/4601
42	Carbamazepina	SJS	B*1502/3802
43	Carbamazepina	erupción maculopapular	B*5801/B*4601
44	Carbamazepina	eritema multiforme	B*4001/B*4601
45	Carbamazepina	erupción maculopapular	B*1301/B*4001
46	Carbamazepina	Y angioedema	B*4601/B*5401
47	Carbamazepina	erupción maculopapular	B*4001/B*4601
48	Carbamazepina, AINE	erupción maculopapular	B*4001/B*4001
49	Carbamazepina	erupción maculopapular	B*1301/B*5502
50	Carbamazepina	inflamación labial, úlceras oral o genital	B*4601/B*5801
51	Carbamazepina	Maculopapular	B*4601/B*5801

ES 2 347 150 T3

ID	Fármaco sospechoso	Fenotipo	Genotipo HLA-B
52	Carbamazepina	Y angioedema	B*4001
53	Carbamazepina	erupción maculopapular	B*4001/B*5101
54	Carbamazepina	erupción maculopapular	B*1301/4001
55	Carbamazepina	erupción maculopapular	B*4001/B*4601
56	Carbamazepina	eritema multiforme	B*4601/B*5401
57	Carbamazepina	erupción maculopapular	B*4601
58	Carbamazepina	eritema multiforme	B*4601/5101

Ejemplo 2

*El alelo HLA-B*5801 y SJS/TEN*

También se identificó el alelo HLA-B*5801 como un factor de riesgo para el desarrollo de SJS/TEN inducidos por alopurinol. El alelo HLA-B*5801 se encontró en los 17 (100%) pacientes de RAF con SJS/RAF grave que tomaban alopurinol (Tablas 3 y 4) pero sólo en 18% de la población general taiwanesa (razón de probabilidades 155, sensibilidad 100%, especificidad 82%, valor predictivo positivo 84,7%, valor predictivo negativo 100%, $P_c = 3,7 \times 10^{-9}$). Por consiguiente, el alelo HLA-B*5801 se puede usar solo o con otros marcadores genéticos para la evaluación del riesgo de desarrollo de SJS en individuos que toman alopurinol.

TABLA 3

*Frecuencia de HLA-B*5801 en 17 pacientes taiwaneses con reacciones adversas cutáneas a fármacos graves inducidas por alopurinol*

Alelo	Pacientes n=17	Controles ^{1a} n=142	Controles 2 ^b n=94	X ²	Razón de probabilidades	P _c
B*5801	17 (100%)	26 (18,3%)		47,2	153,86	$2,1 \times 10^{-10}$
B*5801	17 (100%)		17 (18,0%)	41,7	155	$3,7 \times 10^{-9}$

^a, pacientes que tienen reacciones adversas a fármaco distintas de RAF cutánea inducida por alopurinol

^b, población taiwanesa general

X², Chi-cuadrado con corrección de Yates

P_c, calculada multiplicando los valores de P brutos por el número observado de alelos HLA-B (35).

ES 2 347 150 T3

TABLA 4

Datos de fenotipo/genotipo de pacientes con RAF cutáneas inducidas por alopurinol

ID Paciente	Farmaco sospechoso	Fenotipo	Genotipo HLA-B
59	alopurinol	SJS	B*0705/B*5801
60	alopurinol	SJS	B*4001/B*5801
61	alopurinol	SJS	B*1554/B*5801
62	alopurinol	SJS	B*3901/B*5801
63	alopurinol	SJS	B*5801
64	alopurinol	SJS	B*3901/B*5801
65	alopurinol	SJS	B*3901/B*5801
66	alopurinol	SJS	B*4001/B*5801
67	alopurinol	SJS	B*1502/B*5801
68	alopurinol	SJS	B*4001/B*5801
69	alopurinol	SJS y vasculitis en pierna	B*4601/B*5801
70	alopurinol	SJS, y liquenoide	B*4001/B*5801
71	alopurinol	SJS	B*4002/B*5801
72	alopurinol	SJS	B*4001/B*5801
73	alopurinol	SJS	B*5101/B*5801
74	alopurinol	TEN	B*1301/5801
75	alopurinol	SJS	B*5801

Ejemplo 3

*El alelo HLA-B*5801 y el síndrome de hipersensibilidad inducido por alopurinol*

En un estudio más amplio, se descubrió además que el HLA-B*5801 también está vinculado al síndrome de hipersensibilidad inducido por alopurinol (HSS). Se estudiaron 31 pacientes, incluyendo 12 pacientes con SJS, 3 con SJS/TEN, 1 con TEN y 15 con HSS. Los criterios para HSS fueron erupción cutánea (por ejemplo, maculopapular difusa, dermatitis exfoliativa), más dos de los siguientes síntomas: fiebre, eosinofilia, linfocitos circulantes atípicos, leucocitosis, daño hepatocelular agudo o empeoramiento de la función renal (Arellano *et al.*, 1993). En todos los casos inscritos se consideró al alopurinol como el fármaco culpable si el comienzo de los síntomas de RAF se producía dentro de los dos primeros meses de la exposición a alopurinol y los síntomas de RAF se resolvían tras la retirada del fármaco. Se excluyeron los pacientes con cualquiera de las siguientes afecciones se excluyeron: carencia de síntomas después de la reexposición a alopurinol y pacientes con erupción cutánea más leve que no cumplieron los criterios de HSS, SJS o TEN.

El comienzo de los síntomas para todos los pacientes fue dentro de los primeros dos meses de exposición al alopurinol y dos pacientes tuvieron un segundo ataque dentro de los dos días siguientes a la reexposición. Doce pacientes recibieron múltiples fármacos además del alopurinol, pero sus historias clínicas no revelaron reacciones

adversas a fármaco cuando estas medicaciones concomitantes se tomaron sin alopurinol. Todos los pacientes tuvieron hiperuricemia y/o artritis gotosa, así como otras enfermedades crónicas, incluyendo hipertensión (14/31), enfermedad renal crónica (16/31) y diabetes (9/31).

Noventa y ocho pacientes con artritis gotosa que habían tomado alopurinol durante al menos 6 meses (media=38 meses, intervalo=6-107 meses) sin pruebas de RAF se incluyeron como el control tolerante a alopurinol. La distribución de sexos del grupo tolerante es comparable a la prevalencia general de gota en los chinos. Además, 93 sujetos normales sirvieron como un grupo de control adicional, como la población general de Taiwán. Las variables demográficas de estos tres grupos se muestran en la Tabla 5.

TABLA 5

Variables demográficas, dosis y duración de la exposición de alopurinol en pacientes con RAF graves, pacientes tolerantes, así como sujetos normales

	RAF Severas (n=31)	Tolerantes (n=98)	Sujetos normales (n=93)
Sexo			
Hombre	12	89	52
Mujer	19	9	41
Edad (Años)			
Mediana (intervalo)	57,9 (18-91)	57,3 (21-84)	53,9 (22-91)
Dosis de alopurinol (mg/día)			
Mediana (intervalo)	143,3 (50-300)	159,2 (100-400)	Ninguno
Duración de la exposición de alopurinol			
Mediana (intervalo)	28,2 días (1-56)	38 meses (6-107)	Ninguno

El alelo HLA-B*5801 estaba presente en 31 (100%) de estos pacientes con RAF severas inducidas por alopurinol, 16 (16,3%) de los 98 pacientes tolerantes (razón de probabilidades 315, $P < 10^{-15}$) y 19 (20%) de los sujetos normales (razón de probabilidades 241 $P < 10^{-13}$). En relación al grupo tolerante a alopurinol, la carencia de este alelo tuvo un valor predictivo negativo de 100% para RAF por alopurinol y la presencia de B*5801 tuvo un valor predictivo positivo de 66%. Por lo tanto, HLA-B*5801 es un marcador con alta especificidad (84%) y sensibilidad (100%) para RAF severas inducidas por alopurinol, incluyendo RAF cutáneas y DRESS (reacción a fármaco con eosinofilia y síntomas sistémicos) inducida por alopurinol.

Ejemplo 4

*Marcadores genéticos equivalentes que están ligados a los alelos HLA-B*1502 o B*5801*

La presencia de HLA-B*1502, 5801 o 4601 puede indicarse mediante otros marcadores genéticos. En particular, los marcadores genéticos cerca del alelo HLA de interés tienden a cosegregarse o mostrar un desequilibrio de ligamiento con el alelo de interés. Por consiguiente, la presencia de estos marcadores (marcadores genéticos equivalentes) es indicativa de la presencia del alelo de interés.

Para ensayar la incidencia de marcadores genéticos equivalentes potenciales en pacientes con reacciones adversas a fármaco, se determinaron distintos marcadores en el haplotipo HLA-B*1502 respecto a su asociación con las reacciones adversas a fármacos. De hecho, los marcadores de HLA del haplotipo HLA-B*1502, tales como DRB1*1202, Cw*0801, Cw*0806, A*1101 y MICA*019, tuvieron una incidencia significativamente más alta en pacientes con SJS/TEN que se habían expuesto a carbamazepina (Tabla 6).

ES 2 347 150 T3

TABLA 6

*Contribución de los marcadores de haplotipos ancestrales de B*1502 a la susceptibilidad frente a las reacciones adversas a fármaco*

	CBZ SJS/TEN (n=42)	CBZ Más leves (n=16)	CBZ Tolerantes (n=73)	Alopurinol SJS/TEN (n=17)	Población General (n=94)
HLA-B*1502	42 (100%)	0 (0%)	3 (4,1%)	1 (5,8%)	5 (5,3%)
HLA-Cw*0801	38 (90%)	ND	10(13,7%)	2(11,7%)	10(10,6%)
HLA-Cw*0806	3 (7,1%)	ND	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
HLA-A*1101	31(73,8%)	ND	ND	ND	28 (29,8%)
HLA-DRB1*1202	35 (83,3%)	ND	ND	ND	19 (20,2%)

También se determinaron los marcadores asociados con HLA-B*5801 también se determinaron. Tomando como guía cuatro pacientes que fueron homocigotos para los alelos HLA-B*5801, se analizó la distribución de alelos de los loci HLA combinados y se definió el haplotipo ancestral como HLA-A*3303, Cw*0302, B*5801 y DRB1*0301. Este haplotipo ancestral se presentó en 12 (38,7%) de los 31 pacientes con RAF por alopurinol (Tabla 7), pero solo en 7,1% de los pacientes tolerantes y 9,7% de los sujetos normales.

TABLA 7

*Frecuencias de loci individuales o combinados del haplotipo ancestral HLA-B*5801 en pacientes con reacciones adversas a fármacos graves inducidas por alopurinol, sujetos tolerantes a alopurinol y normales*

	RAF por alopurinol (n=31)	Tolerantes a alopurinol (n=98)	Sujetos normales (n=93)
B*5801	31 (100%)	16 (16,3%) [†]	19 (20,4%) [‡]
Cw*0302	29 (93,5%)	15 (15,3%)	19 (20,4%)
A*3303	20 (64,5%)	18 (18,4%)	20 (21,5%)
DRB1*0301	21 (67,7%)	14 (14,3%)	14 (15,1%)
B*5801, Cw*0302	29 (93,5%)	15 (15,3%)	19 (20,4%)
B*5801, Cw *0302, A*3303	20 (64,5%)	13 (13,3%)	16 (17,2%)
B*5801, Cw*0302, DRB1*0301	19 (61,3%)	9 (9,2%)	10 (10,8%)
B*5801, Cw*0302, A*3303, DRB1*0301	12 (38,7%)	7 (7,1%)	9 (9,7%)

[†] Razón de probabilidades (RAF/Tolerante de Alopurinol): 315 (IC 95%, 18,3-5409,5), $p_c = 7,5 \times 10^{-16}$

[‡] Razón de probabilidades (RAF/Normal de Alopurinol): 241 (IC 95%, 14,1-4111), $p_c = 6,1 \times 10^{-14}$,

ES 2 347 150 T3

También se analizaron independientemente haplotipos mediante tipado de marcadores de STRP (polimorfismo de repeticiones cortas en tándem) en la región MHC. Un gráfico de desequilibrio de ligamiento mostró un bloque situado entre HLA-C y TNFd en el grupo de pacientes con RAF por alopurinol, pero no en el grupo tolerante. En este bloque se identificó un haplotipo (MIB*358-MICA*206-TNFd*140) cerca del gen HLA-B, lo que es coherente con los hallazgos de la asociación de B*5801 con la enfermedad ($p=0,0018$). Usando marcadores de STRP y secuenciando el alelo MICA, se descubrió que todos los pacientes con RAF por alopurinol analizados portaban el mismo alelo B (B*5801), el alelo MICA (MICA*00201) y marcador de STRP TNF (TNFd*140). Un paciente, sin embargo, no tuvo el mismo marcador de MIB (MIB*358) que el resto de los pacientes. Estos datos indican que los genes de susceptibilidad están en la región de 230 kb entre los loci HLA-B y TNF excluyendo el MIB.

REIVINDICACIONES

1. Un método para evaluar el riesgo de un paciente de desarrollar una reacción adversa a fármaco en respuesta a un fármaco, que comprende la determinación de la presencia de un alelo HLA-B seleccionado del grupo que consiste en HLA-B*1502, HLA-B*5801 y HLA-B*4601, en el que la presencia del alelo HLA-B es indicativo de un riesgo de desarrollar una reacción adversa a fármaco.
2. El método de la reivindicación 1 en el que el fármaco se selecciona del grupo que consiste en carbamazepina, alopurinol, fenitoína, sulfasalazina, amoxicilina, ibuprofeno y ketoprofeno.
3. El método de la reivindicación 1 ó 2 en el que el fármaco es carbamazepina.
4. El método de la reivindicación 1 ó 2 en el que el fármaco es alopurinol.
5. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-4 en el que la reacción adversa a fármaco es el síndrome de Stevens-Johnson (SJS), necrolisis epidérmica tóxica (TEN) o síndrome de hipersensibilidad a fármaco (HSS).
6. El método de la reivindicación 1, 2, 3 ó 5 en el que la reacción adversa a fármaco es SJS o TEN, el fármaco es carbamazepina y el alelo es HLA-B*1502.
7. El método de la reivindicación 1, 2, 4 ó 5 en el que la reacción adversa a fármaco es SJS, TEN o HSS, el fármaco es alopurinol y el alelo es HLA-B*5801.
8. El método de la reivindicación 1, 2 ó 5 en el que la reacción adversa a fármaco es SJS, TEN o HSS, el fármaco es fenitoína y el alelo es HLA-B*1502.
9. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-8 en el que la presencia del alelo se determina usando un oligonucleótido que hibrida específicamente con el ácido nucleico que codifica el alelo.
10. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-9 en el que la presencia del alelo se determina usando ADN preparado a partir de sangre periférica del paciente.
11. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-9 en el que la presencia del alelo se determina usando ARN, proteínas, células o suero preparados a partir de sangre periférica del paciente.
12. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-11 en el que la presencia del alelo se determina ensayando con respecto a un marcador genético equivalente del alelo, en el que la presencia del marcador genético equivalente es indicativa de la presencia del alelo.
13. El método de la reivindicación 12 en el que el marcador genético equivalente se selecciona del grupo que consiste en HLA-DRB1*1202, Cw*0801, Cw*0806, A*1101, MICA*019, A*3303, Cw*0302, DRB1*0301, y MICA*00201.
14. Un método para desarrollar una terapia para una reacción adversa inducida por un fármaco, que comprende la exploración de medicinas candidatas usando un ensayo en el que al menos un alelo HLA-B es una diana, en el que el alelo HLA-B se selecciona del grupo que consiste en HLA-B*1502, HLA-B*5801 y HLA-B*4601.
15. El método de la reivindicación 14 en el que la reacción adversa es el síndrome de Stevens-Johnson (SJS), necrolisis epidérmica tóxica (TEN) o síndrome de hipersensibilidad a fármaco (HSS).
16. El método de la reivindicación 14 ó 15 en el que el fármaco se selecciona del grupo que consiste en carbamazepina, alopurinol, fenitoína, sulfasalazina, amoxicilina, ibuprofeno y ketoprofeno.
17. El método de la reivindicación 14, 15 ó 16 en el que el fármaco es carbamazepina o alopurinol.
18. El método de cualquiera de las reivindicaciones 14-17 en el que la reacción adversa es SJS o TEN, el fármaco es carbamazepina y el alelo es HLA-B*1502.
19. El método de cualquiera de las reivindicaciones 14-17 en el que la reacción adversa es SJS, TEN o HSS, el fármaco es alopurinol y el alelo es HLA-B*5801.
20. El método de cualquiera de las reivindicaciones 14-19 en el que el ensayo comprende la disposición de una célula que expresa el alelo HLA-B.
21. Un método para evaluar el riesgo de un paciente para desarrollar SJS, TEN o HSS en respuesta a un fármaco, que comprende la determinación de la presencia de un subtipo HLA en una célula obtenida del paciente, en el que el subtipo HLA es un factor de riesgo para SJS, TEN o HSS y se selecciona del grupo que consiste en HLA-B*1502, HLA-B*5801 y HLA-B*4601.

ES 2 347 150 T3

22. Un método de la reivindicación 21, en el que el fármaco se selecciona del grupo que consiste en carbamazepina, alopurinol, fenitoína, sulfasalazina, amoxicilina, ibuprofeno y ketoprofeno.

5 23. Un método para identificar un fármaco que induce SJS, TEN o HSS que comprende poner en contacto una célula obtenida de un paciente que comprende un subtipo HLA con un fármaco candidato, en el que el subtipo HLA se selecciona del grupo que consiste en HLA-B*1502, HLA-B*5801 y HLA-B*4601.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65