

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 656 489**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/415** (2006.01)

**A01N 43/56** (2006.01)

**A61P 3/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **09.06.2010 PCT/US2010/037879**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.12.2010 WO10144518**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.06.2010 E 10786733 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.12.2017 EP 2440049**

54 Título: **Métodos para genotipos específicos para tratar sujetos humanos usando 4-metilpirazol**

30 Prioridad:

**10.06.2009 US 185884 P**

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

**27.02.2018**

73 Titular/es:

**HORIZON ORPHAN LLC (100.0%)  
150 South Saunders Road  
Lake Forest, IL 60045, US**

72 Inventor/es:

**DALEY, THOMAS, E.;  
SQUIERS, ELIZABETH, C. y  
YU, KIN-HUNG, PEONY**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 656 489 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

**Métodos para genotipos específicos para tratar sujetos humanos usando 4-metilpirazol****REFERENCIAS CRUZADAS**

- 5 La presente solicitud reivindica la prioridad o beneficio sobre la Solicitud de Patente de EE. UU. n° 61/185,884, presentada el 10 de junio de 2009.

**CAMPO TÉCNICO**

- 10 En el presente documento se desvela el compuesto 4-metilpirazol (4-MP), o las sales fisiológicamente aceptables de este, para su uso en métodos farmacéuticos con sujetos de subpoblaciones genéticas que expresan polimorfismos específicos de los genes de alcohol deshidrogenasa y aldehído deshidrogenasa. La presente invención proporciona 4-MP, o sales fisiológicamente aceptables de este, para su uso en métodos que previenen o mejoran la intolerancia al etanol, disminuyen o mejoran los síntomas asociados con la acumulación de acetaldehídos que se produce con el consumo de etanol, o disminuyen el riesgo de padecer enfermedades o desórdenes provocados por el consumo de etanol, lo cual incluye la administración oral de 4-MP -o de sales fisiológicamente aceptables de este- a sujetos de dichas subpoblaciones usando dosis de entre alrededor de 0,5 miligramos y alrededor de 2 miligramos de 4-MP -o la masa equivalente de 4-MP-, por cada kilogramo de la masa corporal del sujeto, en una forma salina fisiológicamente aceptable; de manera que el sujeto tiene el siguiente genotipo: i) ADH2\*1/ADH2\*1 y ALDH2\*1/ALDH2\*2; ii) ADH2\*1/ADH2\*2 y ALDH2\*1/ALDH2\*2; o iii) ADH2\*1/ADH2\*2 y ALDH2\*1/ALDH2\*1.

**ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN**

- 25 Los humanos consumen etanol por diversas razones sociales, médicas y de ocio. El consumo excesivo de etanol provoca daños en una amplia variedad de tejidos, incluyendo los tejidos del hígado, el cerebro, el esqueleto y el músculo cardíaco, y es responsable de importantes tasas de morbosidad y mortalidad que afectan a la salud pública.

- 30 Muchos de los efectos del etanol están regulados por el acetaldehído, que se produce durante el metabolismo del etanol en una vía o secuencia metabólica de dos pasos en la que la alcohol deshidrogenasa (ADH) oxida el etanol para convertirlo en acetaldehído, el cual, a su vez, se metaboliza rápidamente en ácido acético por medio de la aldehído deshidrogenasa (ALDH), una enzima mitocondrial del hígado (ver Figura 1).

- 35 Los genes de ADH y ALDH expresan polimorfismos que modulan las diferencias individuales en la capacidad de oxidación del alcohol (Bosron et al., 'Hepatology', 1986, 6, 502-510). Las poblaciones del este asiático portan un alelo variante de la alcohol deshidrogenasa subtipo 2 (ADH2\*2) que codifica una enzima ADH con una sustitución de aminoácido R47H (Matsuo et al., 'Carcinogenesis', 2006, 27(5), 1018-1023; Tamakosi et al., 'Alcohol', 2003, 38, 407-410). La enzima H47 ADH es 'superactiva', y tiene un  $V_{max}$  que es alrededor de 40 veces mayor que el de la menos activa enzima R47 ADH, codificada por el alelo 'típico' o 'habitual' (ADH2\*1) (Bosron et al., 'Hepatology', 1986, 6, 502-510; Yoshida et al., 'Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.', 1991, 40, 255-287). El alelo ADH2\*2 está relacionado con la acumulación de acetaldehído (Crabb et al., 'Proc. Nutr. Soc.', 2004, 63(1), 49-63).

- 40 En las poblaciones del este asiático también prevalece un alelo variante de la aldehído deshidrogenasa subtipo 2 (ALDH2\*2) que codifica una enzima ALDH con una sustitución de aminoácido E487K (Chen et al., 'Am. J. Hum. Genet.', 1999, 65(3), 795-807). La enzima K487 ALDH presenta una actividad menor que provoca una disminución de un 40-90% en el ritmo de eliminación del acetaldehído si se compara con la enzima E487 ALDH2, más activa, codificada por el alelo 'típico' (ALDH2\*1), de manera que las personas que expresan el alelo variante muestran una actividad de ALDH2 menor o inexistente.

- 50 El acetaldehído está relacionado con síntomas agudos como enrojecimiento de la cara, taquicardia, dificultad para respirar, mareos, náuseas, vómitos y dolores de cabeza, y también con el aumento a largo plazo de riesgos de salud relacionados con los cánceres del tracto digestivo superior, el cáncer de mama, el cáncer de hígado, la enfermedad de Alzheimer, la hipertensión y los infartos de miocardio (ver Visapää et al., 'Gut', 2004, 53, 871-876; Yokoyama et al., 'Jpn. J. Clin. Oncol.', 2003, 33(3), 111-121; Ohsawa et al., 'J. Hum. Genet.', 2003, 48, 404-409). Las personas que expresan el alelo ALDH2\*2 y que tienen una actividad de ALDH2 reducida o inexistente presentan una sensibilidad o respuesta al alcohol -por ejemplo, enrojecimiento de la cara, taquicardia, etc.- cuando beben pequeñas cantidades de etanol (Goedde et al., 'Hum. Genet.', 1992, 88, 344-346; Xiao et al., 'J. Clin. Invest.', 1995, 96, 2180-2186). Por lo tanto, reducir los niveles de acetaldehído en las personas con una actividad de ALDH2 reducida o inexistente puede ser útil para paliar los síntomas agudos y los riesgos de salud a largo plazo que sufren estas personas cuando consumen etanol.

- 60 US2008/021083 describe métodos, artículos de fabricación y composiciones que son útiles para prevenir o mejorar los síntomas relacionados con la acumulación de acetaldehído o la intolerancia al etanol que presenta un sujeto con una actividad de aldehído deshidrogenasa subtipo 2 (ALDH2) reducida o inexistente.

- 65 Yin, S. et al., 'Biochemical Genetics', 1992, 30 (3-4), 344-346, describen el polimorfismo genético y la actividad de la alcohol deshidrogenasa y la aldehído deshidrogenasa del pulmón humano, las consecuencias en el metabolismo del

etanol y la citotoxicidad.

Se ha descubierto que la administración de 4-metilpirazol (también conocido como fomepizol o 4-MP) mejora o palia los síntomas relacionados con los niveles elevados de acetaldehído (ver, por ejemplo, WO 2005/085392 y la Publicación japonesa de Solicitud de Patente no examinada n° S57-106620). Sin embargo, cada vez resulta más evidente que el tratamiento con 4-MP no es adecuado para todas las subpoblaciones genéticas humanas. Por ello, es necesario contar con más información relacionada con los factores genéticos individuales que contribuyen al tratamiento eficaz con 4-MP.

## 10 RESUMEN DE LA INVENCION

En un aspecto de la divulgación, se proporcionan métodos para prevenir, disminuir, paliar o mejorar los síntomas relacionados con la intolerancia al etanol, o la acumulación de acetaldehído(s), en un sujeto con una actividad de aldehído deshidrogenasa subtipo 2 (ALDH2) reducida o inexistente. En algunas realizaciones, el sujeto también es homocigótico en lo referente al subtipo 2\*1 de alcohol deshidrogenasa (ADH2\*1/ADH2\*1) o es heterocigótico en lo referente a los subtipos 2\*1 y 2\*2 de alcohol deshidrogenasa (ADH2\*1/ADH2\*2).

En algunos aspectos de la divulgación, se proporcionan métodos para prevenir o mejorar los síntomas relacionados con la intolerancia al etanol en un sujeto con una actividad de aldehído deshidrogenasa subtipo 2 (ALDH2) reducida o inexistente, lo cual incluye administrar 4-MP -o una sal fisiológicamente aceptable de 4-MP- al sujeto. En algunas realizaciones, el sujeto también es homocigótico en lo referente al subtipo 2\*1 de alcohol deshidrogenasa (ADH2\*1/ADH2\*1) o es heterocigótico en lo referente a los subtipos 2\*1 y 2\*2 de alcohol deshidrogenasa (ADH2\*1/ADH2\*2).

En algunos aspectos de la divulgación, se proporcionan métodos para prevenir, disminuir o mejorar los síntomas relacionados con la acumulación de acetaldehídos en un sujeto con una actividad de aldehído deshidrogenasa subtipo 2 (ALDH2) reducida o inexistente, lo cual incluye administrar 4-MP -o una sal fisiológicamente aceptable de 4-MP- al sujeto. En algunas realizaciones, el sujeto también es homocigótico en lo referente al subtipo 2\*1 de alcohol deshidrogenasa (ADH2\*1/ADH2\*1) o es heterocigótico en lo referente a los subtipos 2\*1 y 2\*2 de alcohol deshidrogenasa (ADH2\*1/ADH2\*2). En algunas realizaciones, la acumulación de acetaldehído va unida al consumo de etanol.

Por ejemplo, un síntoma de la intolerancia al etanol, o la acumulación de acetaldehído, en un sujeto puede seleccionarse de un grupo que comprende los siguientes: enrojecimiento, ritmo cardiaco elevado, palpitaciones, hipotensión, náuseas, mareos, dolor de cabeza, vómitos, diarrea, malestar estomacal, ataxia y confusión.

En otro aspecto de la divulgación, se proporcionan métodos para reducir el riesgo o probabilidad que tiene un sujeto -con una aldehído deshidrogenasa subtipo 2 (ALDH2) reducida o inexistente- de padecer una enfermedad o un desorden provocados por el consumo de etanol. En algunas realizaciones, el sujeto también es homocigótico en lo referente al subtipo 2\*1 de alcohol deshidrogenasa (ADH2\*1/ADH2\*1) o es heterocigótico en lo referente a los subtipos 2\*1 y 2\*2 de alcohol deshidrogenasa (ADH2\*1/ADH2\*2). Las enfermedades o dolencias asociadas con el consumo de etanol pueden incluir -por ejemplo y sin limitaciones- la resaca, la gastritis alcohólica, los daños en el hígado provocados por el alcohol, los cánceres del tracto aerodigestivo superior, los cánceres del tracto digestivo, el cáncer de mama, la enfermedad de Alzheimer de aparición tardía, la hipertensión, el infarto de miocardio, la enfermedad de Párkinson, la esclerosis lateral amiotrófica y la isquemia cerebral. En las realizaciones preferidas, las enfermedades asociadas con el consumo de etanol incluyen los cánceres del tracto aerodigestivo superior, los cánceres del tracto digestivo, el cáncer de mama, la enfermedad de Alzheimer de aparición tardía, la hipertensión, el infarto de miocardio, la enfermedad de Párkinson, la esclerosis lateral amiotrófica y la isquemia cerebral.

La invención también proporciona 4-MP, o una sal fisiológicamente aceptable de este, para su uso en métodos que reducen el riesgo o probabilidad que tiene un sujeto de padecer una enfermedad o un desorden provocados por el consumo de etanol, lo cual incluye administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad de 4-MP, o una sal fisiológicamente aceptable de este, de entre 0,5 y 2,0 mg/kg o la masa equivalente de 4-MP en una forma salina fisiológicamente aceptable, la cual es eficaz para aumentar el catabolismo de acetaldehído en el sujeto, de manera que el acetaldehído es un producto del consumo de etanol por parte del sujeto, reduciendo así el riesgo o probabilidad que tiene el sujeto de padecer una enfermedad o un desorden provocados por la exposición al acetaldehído; y de manera que el sujeto tiene el siguiente genotipo: i) ADH2\*1/ADH2\*1 y ALDH2\*1/ALDH2\*2; ii) ADH2\*1/ADH2\*2 y ALDH2\*1/ALDH2\*2; o iii) ADH2\*1/ADH2\*2 y ALDH2\*1/ALDH2\*1.

En algunas realizaciones de la divulgación, los métodos proporcionados incluyen administrar al sujeto dosis de entre alrededor de 0,1 mg y alrededor de 5 mg de 4-MP -o la masa equivalente de 4-MP-, por cada kilogramo de la masa corporal del sujeto, en una forma salina fisiológicamente aceptable. En algunas realizaciones de la divulgación, los métodos proporcionados incluyen administrar al sujeto dosis de entre alrededor de 0,1 mg y alrededor de 4 mg de 4-MP -o la masa equivalente de 4-MP-, por cada kilogramo de la masa corporal del sujeto, en una forma salina fisiológicamente aceptable. En algunas realizaciones de la divulgación, los métodos proporcionados incluyen administrar al sujeto dosis de entre alrededor de 1 mg y alrededor de 4 mg de 4-MP -o la masa equivalente de 4-MP-

, por cada kilogramo de la masa corporal del sujeto, en una forma salina fisiológicamente aceptable.

5 En la presente invención, los compuestos se usan en métodos que incluyen administrar al sujeto dosis de entre 0,5 mg y 2 mg de 4-MP -o la masa equivalente de 4-MP-, por cada kilogramo de la masa corporal del sujeto, en una forma salina fisiológicamente aceptable.

10 En algunas realizaciones, los compuestos se usan en métodos que incluyen administrar al sujeto dosis de 0,5 mg, alrededor de 1 mg, alrededor de 1,5 mg o 2 mg de 4-MP -o la masa equivalente de 4-MP-, por cada kilogramo de la masa corporal del sujeto, en una forma salina fisiológicamente aceptable.

En algunas realizaciones, el 4-MP se administra oralmente.

En algunas realizaciones, el 4-MP se administra oralmente antes de que el sujeto consuma etanol.

15 En algunas realizaciones, el 4-MP se administra oralmente entre alrededor de dos horas y alrededor de 15 minutos antes de que el sujeto consuma etanol.

20 En otras realizaciones, el 4-MP se administra oralmente al mismo tiempo que el sujeto consume etanol o después de que el sujeto haya consumido etanol.

En algunas realizaciones, el porcentaje de reducción del ritmo de eliminación de etanol en el sujeto no es mayor que alrededor de un 10% en comparación con el ritmo de eliminación de etanol de un sujeto a quien no se le ha administrado 4-MP.

25 En algunas realizaciones, los compuestos se usan en métodos que incluyen administrar una cantidad eficaz de 4-MP que reduce la acumulación de acetaldehído entre alrededor de un 25% y alrededor de un 60% en comparación con un sujeto a quien no se le ha administrado 4-MP.

30 En algunas realizaciones, los compuestos se usan en métodos que incluyen administrar una cantidad de 4-MP, o una sal fisiológicamente aceptable de este, que es eficaz para reducir o inhibir en el sujeto la actividad de oxidación de etanol de la alcohol deshidrogenasa.

En algunas realizaciones, se administra una cantidad eficaz de una sal de clorhidrato de 4-MP.

35 En algunas realizaciones, los genotipos ALDH2 y ADH2 del sujeto se determinan antes de la administración de 4-MP.

40 En otro aspecto, se proporcionan composiciones que contienen 4-MP, o una sal fisiológicamente aceptable de este, y un excipiente fisiológicamente aceptable, adecuado para la administración oral a un sujeto.

45 En algunas realizaciones de la divulgación, las composiciones pueden usarse para prevenir, disminuir, paliar o mejorar los síntomas relacionados con la intolerancia al etanol -o la acumulación de acetaldehído(s)-, que van unidos al consumo de etanol, en un sujeto con una actividad de ALDH2 reducida o inexistente. En algunas realizaciones de la divulgación, las composiciones pueden usarse para reducir el riesgo de padecer una enfermedad o un desorden, provocados por el consumo de etanol, en un sujeto con una actividad de ALDH2 reducida o inexistente.

50 En un aspecto adicional de la divulgación, el uso de 4-MP, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, opcionalmente en la fabricación de un medicamento, se proporciona para prevenir, disminuir, paliar o mejorar los síntomas relacionados con la intolerancia al etanol -o los síntomas relacionados con la acumulación de acetaldehído(s)-, que van unidos al consumo de etanol, en un sujeto con una actividad de ALDH2 reducida o inexistente.

55 En un aspecto adicional de la divulgación, el uso de 4-MP, o una sal farmacéuticamente aceptable de este, opcionalmente en la fabricación de un medicamento, se proporciona para reducir el riesgo de padecer una enfermedad o un desorden, provocados por el consumo de etanol, en un sujeto con una actividad de ALDH2 reducida o inexistente.

## DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

60 Figura 1 (Fig. 1). Metabolismo del etanol.

65 Figura 2. Gráfico de la concentración media de acetaldehído en suero medida en sujetos con una actividad de ALDH2 reducida, que también son homocigóticos en lo referente a ADH2\*1/ADH2\*1 o heterocigóticos en lo referente a ADH2\*1/ADH2\*2, tras administrar una dosis de 1 mg/kg de 4-MP (círculos llenos); comparación con un placebo (círculos vacíos).

Figura 3. Gráfico de la concentración media de acetaldehído en suero medida en sujetos con una actividad de ALDH2 reducida o inexistente, que también son homocigóticos en lo referente a  $ADH2^*2/ADH2^*2$ , tras administrar una dosis de 1 mg/kg de 4-MP (círculos llenos); comparación con un placebo (círculos vacíos).

5 Figura 4. Gráfico de la concentración media de acetaldehído en suero medida en todos los sujetos con una actividad de ALDH2 reducida o inexistente, tras administrar una dosis de 4-MP (círculos llenos); comparación con un placebo (círculos vacíos).

## 10 TERMINOLOGÍA

10 De forma general, la nomenclatura usada en el presente texto y las técnicas de laboratorio relacionadas con la química medicinal, la bioquímica y la farmacología que se describen en el presente texto son bien conocidas y se usan habitualmente en este campo. A menos que se especifique lo contrario, generalmente todos los términos técnicos y científicos que se usan en el presente texto tienen el mismo significado que el que entiende habitualmente una persona con habilidades y conocimientos ordinarios en el campo al que pertenece la presente divulgación. En caso de que un término usado en el presente texto tenga diversas definiciones, a menos que se especifique lo contrario prevalecerán aquellas que se indiquen en esta sección.

15 Tal y como se utiliza en el presente texto, 'alrededor de' indica un rango o intervalo de  $\pm 10\%$ . Por ejemplo, 'alrededor de 4 mg de 4-MP' hace referencia a un rango o intervalo de entre 3,6 mg y 4,4 mg de 4-MP.

20 El término 'sujeto' hace referencia a los animales como los mamíferos, incluyendo -pero sin limitarse a- primates (por ejemplo, humanos), monos, ganado, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, cerdos, ciervos, osos, ratas, ratones y similares. En las realizaciones preferidas, el sujeto es un humano.

25 Tal y como se utilizan en el presente texto, los términos 'tratar' o 'tratamiento' hacen referencia a un método para paliar o aliviar un desorden y/o los síntomas relacionados con él.

30 En algunas realizaciones, los términos 'prevenir', 'previniendo' o 'prevención' hacen referencia a compuestos que se usan en un método que evita que un sujeto desarrolle un desorden o los síntomas relacionados con él. En algunas realizaciones, los términos 'prevenir', 'previniendo' o 'prevención' hacen referencia a compuestos que se usan en un método para reducir el riesgo o la probabilidad de que un sujeto desarrolle un desorden o los síntomas relacionados con él.

35 Tal y como se utiliza en el presente texto, el término 'sal fisiológicamente aceptable' hace referencia a las sales de adición ácidas, relativamente no tóxicas, inorgánicas y orgánicas de los compuestos de la presente invención.

40 Tal y como se utiliza en el presente texto, la frase 'síntoma(s) de acumulación de acetaldehído que va unida al consumo de etanol' hace referencia a cualquier síntoma que experimentan los sujetos con una actividad de aldehído deshidrogenasa subtipo 2 (ALDH2) reducida o inexistente cuando consumen etanol. Los síntomas pueden incluir -pero no se limitan a- enrojecimiento, ritmo cardíaco elevado, palpitaciones, hipotensión, náuseas, mareos, dolor de cabeza, vómitos, diarrea, malestar estomacal, ataxia y confusión.

45 La frase 'sujeto con una actividad de aldehído deshidrogenasa subtipo 2 (ALDH2) reducida o inexistente' hace referencia a un sujeto que es un portador homocigótico o heterocigótico del alelo variante  $ADH2^*2$  del gen ALDH2, tal y como se describe en Goedde et al., 'Hum. Genet.', 1992, 88, 344-346; y Xiao et al., 'J. Clin. Invest.', 1995, 96, 2180-2186, o a un sujeto que expresa cualquier enzima variante de ALDH2 que presenta menos actividad que la enzima normal de ALDH2, tal y como se determina por medio del ensayo de actividad de la aldehído deshidrogenasa descrito en Xiao et al., 'J. Clin. Invest.', 1995, 96, 2180-2186.

50 La frase 'el sujeto es homocigótico para (en lo referente a) el subtipo  $2^*1$  de alcohol deshidrogenasa ( $ADH2^*1/ADH2^*1$ ) o es heterocigótico para (en lo referente a) los subtipos  $2^*1$  y  $2^*2$  de alcohol deshidrogenasa ( $ADH2^*1/ADH2^*2$ )' hace referencia a un sujeto que es portador homocigótico o heterocigótico del alelo 'típico'  $ADH2^*1$ .

55 Tal y como se utiliza en el presente texto, 'intolerancia al etanol' hace referencia a una dolencia o enfermedad en la que un sujeto padece un síntoma de acumulación de acetaldehído(s) que va a unido al consumo de etanol.

60 Tal y como se utiliza en el presente texto, 'ritmo o tasa de eliminación de etanol' hace referencia a la reducción de la concentración de etanol en el torrente sanguíneo de un sujeto durante un período de tiempo después de que el sujeto haya ingerido etanol. Normalmente, el ritmo de eliminación de etanol puede expresarse mediante milimol(es) de etanol/kilogramo(s) de la masa corporal del sujeto/hora(s). Las técnicas de muestreo sanguíneo y análisis de los niveles de etanol en sangre resultan muy conocidas para las personas versadas en la materia (ver, por ejemplo, Inoue et al., 'Alcoholism: Clinical and Experimental Research', 1984, 8, 319-322). El 'cambio porcentual en el ritmo de eliminación del etanol' (o 'porcentaje de cambio en el ritmo de eliminación del etanol') puede calcularse de la siguiente manera:

Cambio porcentual en la eliminación de EtOH =  $(1 - \text{Ritmo de eliminación de EtOH del sujeto tras tomar 4-MP} / \text{Ritmo de eliminación de EtOH del sujeto antes de tomar 4-MP}) \times 100$

5 donde EtOH representa el etanol y un número de cambio porcentual en la eliminación de etanol que es menor de 100 supone una reducción en el cambio porcentual en la eliminación de EtOH. Los niveles de etanol en sangre también pueden calcularse, por ejemplo, basándose en algoritmos que toman en cuenta la cantidad de etanol consumida por un sujeto, la masa corporal del sujeto y el periodo de tiempo transcurrido desde el consumo de etanol; o, como en otro ejemplo, los niveles de etanol en sangre pueden extrapolarse a partir de un análisis del  
10 aliento del sujeto, y similares, como bien saben las personas versadas en la materia.

Tal y como se utiliza en el presente texto, 'acumulación de acetaldehído(s)' hace referencia a la producción de acetaldehído en un sujeto que ha consumido etanol. Las técnicas de muestreo sanguíneo y análisis de los niveles de acetaldehído en sangre resultan muy conocidas para las personas versadas en la materia. Ver, por ejemplo, Inoue et al., 'Alcoholism: Clinical and Experimental Research', 1984, 8, 319-322. Asimismo, ver, por ejemplo, Stowell, 'Clin. Chim. Acta.', 1979, 98, 201-5; McCarver-May et al., 'Journal of Analytical Toxicology', 1997, 21, 134-141; y Nagy et al., 'Rapid Communications in Mass Spectrometry', 2004, 18, 2473-2478. Normalmente, las concentraciones máximas de acumulación de acetaldehído se dan entre 15 minutos y una hora después del consumo de etanol por parte de un sujeto con una actividad de ALDH2 reducida o inexistente. Cuando en el presente texto se utilice la frase  
15 'cambio porcentual en la acumulación de acetaldehído', debe entenderse que esto significa un cambio en las concentraciones máximas de acetaldehído en un sujeto con una actividad de ALDH2 reducida o inexistente, de manera que puede calcularse del siguiente modo:

25 Cambio porcentual en la acumulación de acetaldehído =  $(1 - \text{Concentración máxima de acetaldehído tras tomar 4-MP} / \text{Concentración máxima de acetaldehído antes de tomar 4-MP}) \times 100$

donde un número de cambio porcentual en la acumulación de acetaldehído que es menor de 100 supone una reducción en el cambio porcentual en la acumulación de acetaldehído. Las concentraciones de acetaldehído en sangre también pueden extrapolarse a partir del análisis del aliento del sujeto, o a partir de cambios fisiológicos mensurables en otros parámetros, como el ritmo cardíaco o el enrojecimiento, y similares, como bien saben aquellas  
30 personas versadas en la materia.

Tal y como se utiliza en el presente texto, cuando se especifica la masa de 4-MP, por ejemplo, '2 mg de 4-MP', esta cantidad hace referencia a la masa equivalente de 4-MP en su forma libre básica. Así, por ejemplo, si en un método desvelado en el presente texto han de administrarse 2 mg de 4-MP en una forma salina dada, las personas versadas en la materia pueden realizar las conversiones necesarias usando las masas moleculares de la forma salina de 4-MP y de la forma libre básica de 4-MP para determinar la masa real de la forma salina de 4-MP, la cual es necesaria para obtener la masa equivalente a 2 mg de 4-MP en su forma libre básica. En otro ejemplo, si un método de la presente invención requiere administrar 2 mg de 4-MP en su forma libre básica, no será necesario realizar ninguna  
35 conversión.

Tal y como se utiliza en el presente texto, el término 'cantidad eficaz' hace referencia a la cantidad de 4-MP, o de una sal fisiológicamente aceptable de este, que es suficiente para obtener unos efectos deseables o beneficiosos cuando, por ejemplo, se pone en contacto con una enzima de alcohol deshidrogenasa o, en otro ejemplo, cuando se administra a un sujeto. En algunas realizaciones, la 'cantidad eficaz' es, por ejemplo, aquella cantidad que previene, reduce, palía o mejora los síntomas asociados con la acumulación de acetaldehídos en un sujeto que va unida al consumo de etanol, o que reduce el riesgo o la probabilidad de que un sujeto padezca una enfermedad o un desorden provocados por el consumo de etanol.  
45

50 Tal y como se utiliza en el presente texto, el término 'síntoma' es intercambiable con 'signo' o 'señal'. Por lo tanto, tal y como se utiliza en el presente texto, 'síntoma' hace referencia a una condición física que es indicadora de una enfermedad o desorden particulares, los cuales pueden ser detectados por el sujeto que padece dicha enfermedad o desorden particular o por una persona que no sea el sujeto, sin que esta reciba información verbal por parte de dicho sujeto.

55 Tal y como se utiliza en el presente texto, el término 'AUC' hace referencia al área bajo la curva de un gráfico sobre la concentración de acetaldehído en suero versus el periodo de tiempo tras la administración de 4-MP a un sujeto. En algunas realizaciones, la AUC está limitada a entre 0 y 8 horas ( $AUC_{0-8H}$ ).

60 Tal y como se utiliza en el presente texto, el término 'AUC promedio' hace referencia al área bajo la curva de un gráfico sobre la concentración de acetaldehído en suero versus el periodo de tiempo tras la administración de 4-MP a diversos sujetos de una población de muestra. En algunas realizaciones, la AUC promedio está limitada a entre 0 y 8 horas ( $AUC_{0-8H}$  promedio).

65 Tal y como se utiliza en el presente texto, el término ' $C_{max}$ ' hace referencia a la concentración máxima de acetaldehído en suero tras la administración de 4-MP a un sujeto.

Tal y como se utiliza en el presente texto, el término ' $C_{\max}$  promedio' hace referencia a la concentración media máxima de acetaldehído en suero tras la administración de 4-MP a diversos sujetos de una población de muestra.

5 Tal y como se utiliza en el presente texto, el término 'valor de P' (o 'P-valor') hace referencia a la probabilidad de obtener un determinado resultado. Cuanto menor sea el valor de P, el resultado será menos probable y, por lo tanto, será más significativo estadísticamente. En algunas realizaciones, un valor P de 0,05 corresponde a un 5% de posibilidades de obtener un determinado resultado.

10 Tal y como se utiliza en el presente texto, 'SE' ('Standard Error', en inglés) hace referencia al error estándar de la media de una población de muestra. En algunas realizaciones, 'SE' puede hacer referencia a una estimación de la desviación estándar que se calcula a partir de los datos de muestra obtenidos en una población de muestra.

## DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

15 La presente invención proporciona compuestos para su uso en métodos que son útiles para reducir o mejorar la gravedad de un síntoma fisiológico adverso o prevenir dicho síntoma, asociado con la acumulación de acetaldehído(s) que va unida al consumo de alcohol por parte de un sujeto, de manera que el sujeto es un miembro de subpoblaciones genéticas que expresan polimorfismos específicos de los genes de alcohol deshidrogenasa y aldehído deshidrogenasa, tal y como se explicará con más detalle en el presente texto.

20 Tal y como se explica más adelante, los compuestos proporcionados se usan en métodos que incluyen la administración de 4-MP o de una sal fisiológicamente aceptable de 4-MP. Sin limitarse a ninguna teoría o mecanismo particulares, se cree que el 4-MP actúa inhibiendo la alcohol deshidrogenasa (ADH) para reducir la acumulación -y producción- de acetaldehído que se deriva del consumo de etanol. Sin limitarse a ninguna teoría o mecanismo particulares, también se cree que algunas subpoblaciones genéticas de sujetos humanos que son intolerantes al alcohol, las cuales se identifican más adelante, tienen más probabilidades de beneficiarse de los métodos que se describen en el presente documento, mientras que otras subpoblaciones genéticas de sujetos humanos que son intolerantes al alcohol, las cuales también se identifican más adelante, tienen menos probabilidades de beneficiarse de los métodos que se describen en el presente documento.

30 *Métodos para prevenir o mejorar los síntomas de intolerancia al etanol o de la acumulación de acetaldehídos en subpoblaciones genéticas de sujetos humanos que expresan polimorfismos específicos de los genes ALDH2 y ADH2*

35 En un aspecto de la divulgación, se proporcionan métodos para prevenir, disminuir, paliar o mejorar los síntomas relacionados con la intolerancia al etanol, o la acumulación de acetaldehído(s), en un sujeto con una actividad de aldehído deshidrogenasa subtipo 2 (ALDH2) reducida o inexistente. En algunas realizaciones, el sujeto también es homocigótico en lo referente al subtipo 2\*1 de alcohol deshidrogenasa (ADH2\*1/ADH2\*1) o es heterocigótico en lo referente a los subtipos 2\*1 y 2\*2 de alcohol deshidrogenasa (ADH2\*1/ADH2\*2).

40 En algunas realizaciones, los compuestos proporcionados se usan en métodos que incluyen administrar 4-metilpirazol (4-MP) al sujeto.

45 El 4-metilpirazol (o 4-MP; también conocido como fomepizol) está disponible comercialmente de la mano de distribuidores químicos, incluyendo, por ejemplo, Sigma Aldrich (San Luis, Misuri, Estados Unidos), y también puede sintetizarse fácilmente en cantidades comercialmente viables de grado farmacéutico.

50 En algunas realizaciones, los genotipos ALDH2 y ADH2 del sujeto se determinan antes de la administración del 4-MP.

En la presente invención, los compuestos se usan en métodos que incluyen administrar al sujeto entre 0,5 mg y 2 mg de 4-MP -por cada kilogramo de masa corporal del sujeto-.

55 En algunas realizaciones, el compuesto que se usa en los métodos es la forma básica libre (o base libre) de 4-MP. En otras realizaciones, en los métodos puede usarse una sal fisiológicamente aceptable de 4-MP. En algunas realizaciones, en los métodos que se describen en el presente texto puede usarse una sal de clorhidrato de 4-MP.

60 El 4-MP puede administrarse solo o en combinación con otras sustancias o agentes activos. En algunas realizaciones, se administra una composición que contiene el 4-MP y otros ingredientes, tal y como se explica más adelante.

65 El 4-MP puede administrarse de acuerdo con cualquier técnica que sea conocida para aquellas personas versadas en la materia. En algunas realizaciones, el 4-MP puede administrarse de forma transdérmica. En algunas realizaciones preferidas, el sujeto puede autoadministrarse el 4-MP. En algunas realizaciones preferidas, el 4-MP puede administrarse oralmente. Cuando se administra oralmente, el 4-MP puede estar en forma sólida, por ejemplo, en polvo, comprimidos, cápsulas y similares, o en forma líquida.

En algunas realizaciones, la cantidad de 4-MP administrada puede ser de entre 0,5 mg/kg y 2 mg/kg. En algunas realizaciones de la divulgación, la cantidad de 4-MP administrada puede ser de entre alrededor de 0,1 mg/kg y alrededor de 4 mg/kg. En algunas realizaciones de la divulgación, la cantidad de 4-MP administrada puede ser de entre alrededor de 1 mg/kg y alrededor de 5 mg/kg. En algunas realizaciones de la divulgación, la cantidad de 4-MP administrada puede ser de entre alrededor de 1 mg/kg y alrededor de 4 mg/kg. Como comprenderán aquellas personas versadas en la materia, las cantidades de 4-MP que se han de administrar, tal y como se describe en el presente documento, se basan en la masa corporal del sujeto, expresada en kilogramos. En algunas realizaciones de la invención, se administran alrededor de 0,1 mg/kg, alrededor de 0,5 mg/kg, alrededor de 1,5 mg/kg, alrededor de 2 mg/kg, alrededor de 2,5 mg/kg, alrededor de 3 mg/kg, alrededor de 3,5 mg/kg, alrededor de 4 mg/kg, alrededor de 4,5 mg/kg o alrededor de 5 mg/kg de 4-MP al sujeto con una actividad de ALDH2 reducida o inexistente. En algunas realizaciones, la cantidad de 4-MP administrada puede ser de entre 0,5 mg/kg y 2 mg/kg.

En algunas realizaciones, la cantidad de 4-MP -o de una sal fisiológicamente aceptable de este- que se administra puede ser eficaz para reducir o inhibir en el sujeto la actividad de oxidación de etanol de la alcohol deshidrogenasa.

En algunas realizaciones, el 4-MP puede administrarse antes de que el sujeto haya consumido etanol. En algunas realizaciones, el 4-MP puede administrarse alrededor de un minuto, alrededor de quince minutos o alrededor de una hora antes de que el sujeto consuma etanol. En algunas realizaciones, el 4-MP puede administrarse oralmente entre alrededor de dos horas y alrededor de quince minutos antes de que el sujeto consuma etanol.

En algunas realizaciones, el 4-MP puede administrarse al mismo tiempo que el sujeto consume etanol. En algunas realizaciones, el 4-MP puede administrarse inmediatamente antes o después de que el sujeto consuma etanol. En algunas realizaciones, el 4-MP puede administrarse a un sujeto después de que el sujeto haya consumido etanol.

Puede ser particularmente ventajoso minimizar las concentraciones máximas de acetaldehído en la sangre de los sujetos con una actividad de ALDH2 reducida o inexistente, sin que haya una reducción simultánea en el ritmo de eliminación de etanol, a fin de evitar las consecuencias de que haya períodos de tiempo relativamente largos en los que el sujeto se encuentra bajo la influencia del etanol. Con algunas dosis de 4-MP que se contemplan en el presente texto, es decir, entre 0,5 mg/kg y 2 mg/kg, la reducción o disminución porcentual en el ritmo de eliminación de etanol puede tener un impacto insignificante o mínimo, tal y como se explica más adelante.

En algunas realizaciones, los compuestos proporcionados se usan en métodos que incluyen la administración de 4-MP, de manera que la reducción porcentual en la eliminación de etanol oscila desde alrededor de un 0%, alrededor de un 1%, alrededor de un 2%, alrededor de un 3%, alrededor de un 4%, alrededor de un 5% o alrededor de un 6% hasta no más de alrededor de un 10%. Por ejemplo, si un sujeto que no se ha tratado con 4-MP tiene un ritmo de eliminación de etanol de 2,50 mmol/kg/h y tiene un ritmo de eliminación de etanol de 2,30 mmol/kg/h cuando se le administra 4-MP, entonces la reducción porcentual en la eliminación de etanol es de un 8%.

En algunas realizaciones, los compuestos proporcionados se usan en métodos que pueden tener una reducción porcentual en el ritmo de eliminación de etanol en el sujeto que va desde de la 'no reducción' o un 1-2% de reducción en el ritmo de eliminación de etanol hasta menos de alrededor de un 7%, alrededor de un 8%, alrededor de un 9% o alrededor de un 10% de reducción en el ritmo de eliminación de etanol del sujeto. En algunas realizaciones, los compuestos proporcionados se usan en métodos que provocan una reducción en el ritmo de eliminación de etanol de entre alrededor de un 5% y alrededor de un 10%. En algunas realizaciones, la reducción porcentual en el ritmo de eliminación de etanol en el sujeto no es mayor que alrededor de un 10% en comparación con el ritmo de eliminación de etanol de un sujeto que no se ha tratado con 4-MP.

Con las dosis de 4-MP que se contemplan en los métodos instantáneos, la reducción porcentual en las concentraciones máximas de acetaldehído en sangre puede reducirse en un sujeto con una actividad de ALDH2 reducida.

En algunas realizaciones, los compuestos que se usan en los métodos proporcionados pueden reducir la acumulación de acetaldehído entre alrededor de un 50% y alrededor de un 60% en un sujeto con una actividad de ALDH2 reducida o inexistente en comparación con los casos en los que no se administra 4-MP al sujeto. En algunas realizaciones, la acumulación máxima de acetaldehído puede eliminarse o reducirse eficazmente entre alrededor de un 95%, 90%, 85%, 80%, 75%, 70%, 65%, 60%, 55%, 50%, 45%, 40%, 35%, 30%, 25%, 20%, 15%, 10% o alrededor de un 5%.

En algunas realizaciones, los compuestos que se usan en los métodos proporcionados previenen o mejoran los síntomas de la intolerancia al etanol, o la acumulación de acetaldehído, en un sujeto, de manera que los síntomas se seleccionan de un grupo que comprende los siguientes: enrojecimiento, ritmo cardiaco elevado, palpitaciones, hipotensión, náuseas, mareos, dolor de cabeza, vómitos, diarrea, malestar estomacal, ataxia y confusión.

*Métodos para reducir el riesgo o probabilidad que tiene un sujeto de padecer una enfermedad o un desorden provocados por el consumo de etanol en subpoblaciones genéticas de sujetos humanos que expresan polimorfismos específicos de los genes ALDH2 y ADH2*

En otro aspecto de la divulgación, se proporcionan métodos para reducir el riesgo o probabilidad que tiene un sujeto con una actividad de aldehído deshidrogenasa subtipo 2 (ALDH2) reducida o inexistente de padecer una enfermedad o un desorden provocados por el consumo de etanol. En algunas realizaciones, el sujeto también es homocigótico en lo referente al subtipo 2\*1 de alcohol deshidrogenasa (ADH2\*1/ADH2\*1) o es heterocigótico en lo referente a los subtipos 2\*1 y 2\*2 de alcohol deshidrogenasa (ADH2\*1/ADH2\*2).

En algunas realizaciones, el compuesto que se usa en los métodos es la forma básica libre (o base libre) de 4-MP. En otras realizaciones, en los métodos puede usarse una sal fisiológicamente aceptable de 4-MP. En algunas realizaciones, en los métodos que se describen en el presente texto puede usarse una sal de clorhidrato de 4-MP.

En algunas realizaciones, los compuestos se usan en métodos que incluyen administrar al sujeto entre 0,5 mg y 2 mg de 4-MP -por cada kilogramo de la masa corporal del sujeto-.

En algunas realizaciones, los genotipos ALDH2 y ADH2 del sujeto se determinan antes de la administración de 4-MP.

En algunas realizaciones, los compuestos que se usan en los metodos son eficaces para aumentar el catabolismo de acetaldehído(s) en el sujeto, reduciendo así el riesgo o probabilidad de que el sujeto padezca una enfermedad o un desorden causados por la exposición al acetaldehído.

En algunas realizaciones, el acetaldehído es un producto del consumo de etanol por parte del sujeto.

En algunas realizaciones, la enfermedad o desorden comprende los cánceres del tracto aerodigestivo superior, los cánceres del tracto digestivo o el cáncer de mama. En una realización adicional, el cáncer del tracto aerodigestivo superior comprende el cáncer de esófago, orofaríngeo, hipofaríngeo, de la laringe, de la cabeza o del cuello. En otra realización adicional, el cáncer del aparato digestivo comprende el cáncer de estómago o el cáncer de colon.

En algunas realizaciones, la enfermedad o el desorden comprenden el Alzheimer de aparición tardía, la hipertensión, el infarto de miocardio, la enfermedad de Párkinson, la esclerosis lateral amiotrófica y la isquemia cerebral.

## 8. EJEMPLOS

*81. Reducir la concentración de acetaldehído en subpoblaciones genéticas de sujetos humanos que expresan polimorfismos específicos de los genes ALDH2 y ADH2*

El ejemplo demuestra que el 4-MP funciona a la hora de reducir la acumulación de acetaldehído que va unida al consumo de etanol en subpoblaciones genéticas de sujetos humanos que expresan polimorfismos específicos de los genes ALDH2 y ADH2

### 8.1.1. Métodos

Se llevó a cabo un estudio -ciego, de intrasujeto, controlado, de una sola dosis, con escalada de dosis- con 4-MP para atenuar la toxicidad relacionada con el acetaldehído en sujetos con síntomas de un metabolismo congénito de etanol alterado y con una exposición simultánea al etanol.

Para la población de estudio se seleccionaron treinta y dos (n=32) sujetos humanos sanos de ascendencia japonesa, de entre 21 y 50 años, que tenían intolerancia al etanol, puesto que presentaban enrojecimiento, palpitaciones cardíacas y/o náuseas tras un consumo de etanol, y que dieron un resultado positivo en una prueba con un parche cutáneo de etanol.

Se seleccionaron al azar veinticuatro sujetos (n=24) y se les administraron 1 mg/kg, 3 mg/kg o 5 mg/kg de 4-MP, seguidos de una dosis oral de un 20% de etanol (5 mg/kg) 30 minutos después. El protocolo de administración de las dosis se muestra en la Tabla 1.

**Tabla 1: Protocolo de administración de dosis de 4-MP**

Dosis de 4-MP	4-MP y después EtOH	EtOH y después 4-MP
1 mg/kg	12 sujetos	4 sujetos
3 mg/kg	4 sujetos	4 sujetos
5 mg/kg	8 sujetos	

Usando el mismo protocolo, de manera que el 4-MP se sustituyó por un placebo, cada uno de los 24 sujetos seleccionados al azar sirvió como su propio control.

- 5 Posteriormente, los 24 sujetos seleccionados al azar se sometieron a un muestreo sanguíneo, y los niveles de acetaldehído de la sangre muestreada se analizaron en puntos temporales específicos tras el consumo de etanol.

10 Para el análisis de acetaldehído, las muestras de sangre se prepararon mediante dilución con un estándar interno (acetaldehído-d4), con una derivatización de acetaldehído con dinitrofenilhidrazina en ácido hidroclicórico, con una división por fracciones (o 'porcionado') líquido-líquido y un intercambio de solvente(s). La derivatización forma un derivado de acetaldehído-dinitrofenilhidrazina (DNPH) que aumenta drásticamente el punto de ebullición de la molécula y, por tanto, su estabilidad relativa, en comparación con el propio acetaldehído (Nagy et al., 'Rapid Communications in Mass Spectrometry', 2004, 18, 2473-2478). Los analitos derivados (o derivatizados) se separaron usando una cromatografía Jones (Grace-Vydac), 50 mm x 2,1 mm, con una columna de 3 µm colocada en un horno a 28° C. Se usaron dos fases móviles con un gradiente que consistía en 30:70 acetonitrilo:agua versus 90:10 acetonitrilo:agua con un 0,1% de ácido fórmico. El analito derivatizado se detectó en un cromatógrafo líquido de alto rendimiento con un espectrómetro de masas (HPLC/MS/MS). La cuantificación se realizó usando una curva de regresión lineal ajustada según los estándares de impurezas con una ponderación 1/x, preparada para diluciones de acetaldehído en agua. Las muestras y los estándares se inyectaron a 2 µL.

20 Después, se genotipificó el ALDH2 y el ADH2 de los 32 sujetos en el 'Alcohol Research Center' de la Universidad de Indiana (Indiana University), en EE. UU., usando (i) un procedimiento de aislamiento de ADN genómico y (ii) un ensayo TaqMan de discriminación alélica.

- 25 i. Aislamiento de ADN genómico: primero se aisló el ADN usando el método 'HotSHOT' para aislar ADN genómico de calidad PCR (Truett et al., 'Biotechniques', 2000, 29(1), 52, 54). Durante un breve espacio de tiempo, la sangre transferida a un papel de filtro (círculos de 3 mm) se colocó en el pocillo de una placa de 96 pocillos y se mezcló con una solución de 75 µL, 25 mM de NaOH/0,3 mM de EDTA y se calentó a 95° C durante 40 minutos; después, se llevó a cabo una neutralización con una solución de 75 µL y 40 mM de Tris-HCl (pH 5). Para cada PCR se usaron 1-5 microlitros.
- 30 ii. Ensayo TaqMan de discriminación alélica: Para el ensayo de discriminación alélica se usó un ensayo múltiple (más de una pareja cebador/sonda por cada reacción) de punto final (los datos se recogen al final del proceso de PCR). Cada mezcla del ensayo contenía dos sondas TaqMan diferentes (Applied Biosystems, Foster City, California, EE. UU.), marcadas con un tinte reportero fluorescente VIC o FAM, que se unían preferentemente a uno de los alelos. El genotipo de cada muestra se determinó mediante los niveles de fluorescencia de los tintes reporteros y se agrupó en un gráfico con otras muestras con el mismo genotipo. Cada reacción contenía 5 µL de '2XTaqMan Universal PCR Mastermix, No AmpErase UNG', 3,75 µL de agua, 0,25 µL de una mezcla de ensayo 40X, y 1 µL de muestra de ADN. Se incluyeron ocho u once controles en cada placa de 96 pocillos: dos controles sin plantilla, dos o tres muestras heterocigóticas, y dos o tres de cada una de las muestras homocigóticas. Se realizó un termociclado en los termocicladores PTC-200 de MJ Research. Después, los productos de la PCR se analizaron en un instrumento de Sistema de Detección de Secuencia (SDS) ABI PRISM® 7300. Se usó Software de SDS 1.3.1. para convertir los datos en bruto en componentes de tinte puros y los resultados de la discriminación alélica se plasmaron en un gráfico de dispersión de 'Alelo X versus Alelo Y' (por ejemplo, ADH2\*1 versus ADH2\*2); cada genotipo se veía en el gráfico como un grupo o racimo de puntos.

35 Basándose en el genotipado de ALDH2 y ADH2 descrito previamente, se descubrió que los sujetos pertenecían a siete grupos genotípicos (Grupos A, B, C, D, E, F y G):

40 Grupo A: heterocigótico para (en lo referente a) los subtipos 2\*1 y 2\*2 de aldehído deshidrogenasa (ALDH2\*1/ALDH2\*2) y homocigótico para el subtipo 2\*1 de alcohol deshidrogenasa (ADH2\*1/ADH2\*1); había dos sujetos (n=2) que pertenecían a este grupo;

45 Grupo B: homocigótico para el subtipo 2\*2 de aldehído deshidrogenasa (ALDH2\*2/ALDH2\*2) y homocigótico para el subtipo 2\*1 de alcohol deshidrogenasa (ADH2\*1/ADH2\*1); había un sujeto (n=1) que pertenecía a este grupo;

50 Grupo C: homocigótico para el subtipo 2\*1 de aldehído deshidrogenasa (ALDH2\*1/ALDH2\*1) y heterocigótico para los subtipos 2\*1 y 2\*2 de alcohol deshidrogenasa (ADH2\*1/ADH2\*2); había cuatro sujetos (n=4) que pertenecían a este grupo;

55 Grupo D: heterocigótico para los subtipos 2\*1 y 2\*2 de aldehído deshidrogenasa (ALDH2\*1/ALDH2\*2) y heterocigótico para los subtipos 2\*1 y 2\*2 de alcohol deshidrogenasa (ADH2\*1/ADH2\*2); había seis sujetos (n=6) que pertenecían a este grupo;

Grupo E: homocigótico para el subtipo 2\*1 de aldehído deshidrogenasa (ALDH2\*1/ALDH2\*1) y homocigótico para el subtipo 2\*2 de alcohol deshidrogenasa (ADH2\*2/ADH2\*2); había cinco sujetos (n=5) que pertenecían a este grupo;

Grupo F: heterocigótico para los subtipos 2\*1 y 2\*2 de aldehído deshidrogenasa (ALDH2\*1/ALDH2\*2) y homocigótico para el subtipo 2\*2 de alcohol deshidrogenasa (ADH2\*2/ADH2\*2); había trece sujetos (n=13) que pertenecían a este grupo; y

Grupo G: homocigótico para el subtipo 2\*2 de aldehído deshidrogenasa (ALDH2\*2/ALDH2\*2) y homocigótico para el subtipo 2\*2 de alcohol deshidrogenasa (ADH2\*2/ADH2\*2); había un sujeto (n=1) que pertenecía a este grupo.

La Tabla 2 indica los genotipos ADLH2 y ADH2 de los treinta y dos sujetos.

**Tabla 2: Genotipos ADLH2 y ADH2 de los sujetos de estudio**

	<b>ADH2*1/ADH2*1</b> Actividad normal de ADH2	<b>ADH2*1/ADH2*2</b> Actividad aumentada de ADH2	<b>ADH2*2/ADH2*2</b> ADH2 'superactivo'
<b>ALDH2*1/ALDH2*1</b> Actividad normal de ALDH2		Grupo C (4 sujetos)	Grupo E (5 sujetos)
<b>ALDH2*1/ALDH2*2</b> Actividad reducida de ALDH2	Grupo A (2 sujetos)	Grupo D (6 sujetos)	Grupo F (13 sujetos)
<b>ALDH2*2/ALDH2*2</b> Actividad inexistente de ALDH2	Grupo B (1 sujeto)		Grupo G (1 sujeto)

Los datos relativos a las concentraciones de acetaldehído medidas a partir de las muestras de sangre de los sujetos de cada uno de los siete grupos que se han descrito previamente se compararon como una función del genotipo.

**8.1.2. Resultados**

**8.1.2.1. Grupos A y D**

La Figura 2 muestra un gráfico de la concentración promedio de acetaldehído en suero medida en seis sujetos (n=6) con una actividad de ALDH2 reducida, los cuales también son homocigóticos para ADH2\*1/ADH2\*1 o heterocigóticos para ADH2\*1/ADH2\*2 (Grupos A y D), tras tomar dosis de 1 mg/kg de 4-MP, y la comparación con un placebo.

La Tabla 3 muestra los parámetros farmacocinéticos de 'C<sub>max</sub> promedio' y 'AUC<sub>0-8H</sub> promedio' calculados a partir de los datos que se muestran en la Figura 2 usando modelos matemáticos estándares que son bien conocidos para las personas versadas en la materia. Los valores de P y los errores estándar se determinaron a partir de un análisis estadístico de los datos y también se muestran en la Tabla 3.

**Tabla 3: 'C<sub>max</sub> promedio' y 'AUC<sub>0-8H</sub> promedio' calculados a partir de los datos que se muestran en la Figura 2**

	<b>4-MP (n=6)</b>	<b>Placebo (n=6)</b>	<b>Valor de P</b>
<b>C<sub>max</sub> promedio (µg/ml)</b> (SE o error estándar)	<b>41,3 (5,2)</b>	<b>64,7 (8,4)</b>	<b>0,029</b>
<b>AUC<sub>0-8H</sub> promedio de acetaldehído (µg*h/mL)</b> (SE)	<b>162 (18,7)</b>	<b>186 (14,8)</b>	<b>0,071</b>

La Figura 2 demuestra que la concentración máxima promedio de acetaldehído en la sangre debido a la ingesta de etanol puede reducirse en los sujetos con una actividad de ALDH2 reducida, los cuales también son homocigóticos para ADH2\*1/ADH2\*1 o heterocigóticos para ADH2\*1/ADH2\*2, tras administrar 1 mg/kg de 4-MP.

La Tabla 3 demuestra que la 'C<sub>max</sub> promedio' y la 'AUC<sub>0-8H</sub> promedio' de la concentración de acetaldehído en la sangre debido a la ingesta de etanol pueden reducirse de forma significativa en los sujetos con una actividad de

ALDH2 reducida, los cuales también son homocigóticos para ADH2\*1/ADH2\*1 o heterocigóticos para ADH2\*1/ADH2\*2, tras administrar 1 mg/kg de 4-MP, en comparación con la 'C<sub>max</sub> promedio' y la 'AUC<sub>0-8h</sub> promedio' en los sujetos tras beber etanol en ausencia de 4-MP. Por ejemplo, según la Tabla 3, la C<sub>max</sub> promedio se reduce de 64,7±8,4 µg/mg a 41,3±5,2 µg/mg, y la AUC<sub>0-8h</sub> promedio se reduce de 186±14,8 µg\*h/mL a 162±18,7 µg\*h/mL, en comparación con el placebo. La reducción de la C<sub>max</sub> promedio supone una reducción de aproximadamente un 36%.

Estos resultados demuestran que 1 mg/kg de 4-MP es eficaz para reducir la acumulación de acetaldehído que va unida al consumo de etanol en algunas subpoblaciones genéticas de sujetos con una actividad de ALDH2 reducida, por ejemplo, aquellos sujetos que también son homocigóticos para ADH2\*1/ADH2\*1 o heterocigóticos para ADH2\*1/ADH2\*2.

#### 8.1.2.2. Grupos F y G

La Figura 3 muestra un gráfico de la concentración promedio de acetaldehído en suero medida en seis sujetos (n=6) con una actividad de ALDH2 reducida o inexistente, los cuales también son homocigóticos para ADH2\*2/ADH2\*2 (Grupos F y G), tras tomar dosis de 1 mg/kg de 4-MP, y la comparación con un placebo.

[00101] La Tabla 4 muestra los parámetros farmacocinéticos de 'C<sub>max</sub> promedio' y 'AUC<sub>0-8h</sub> promedio' calculados a partir de los datos que se muestran en la Figura 3 usando modelos matemáticos estándares que son bien conocidos para las personas versadas en la materia. Los valores de P y los errores estándar se determinaron a partir de un análisis estadístico de los datos y también se muestran en la Tabla 4.

**Tabla 4: 'C<sub>max</sub> promedio' y 'AUC<sub>0-8h</sub> promedio' calculados a partir de los datos que se muestran en la Figura 3**

	4-MP (n=6)	Placebo (n=6)	Valor de P
C <sub>max</sub> promedio (µg/ml) (SE)	89,2 (10,0)	83,2 (8,4)	0,351
AUC <sub>0-8h</sub> promedio de acetaldehído (µg*h/mL) (SE)	221 (11,6)	206 (30,0)	0,338

La Figura 3 demuestra que la concentración máxima promedio de acetaldehído en la sangre debido a la ingesta de etanol no se reduce en los sujetos con una actividad de ALDH2 reducida o inexistente, los cuales también son homocigóticos para ADH2\*2/ADH2\*2, tras administrar 1 mg/kg de 4-MP.

La Tabla 4 demuestra que la 'C<sub>max</sub> promedio' y la 'AUC<sub>0-8h</sub> promedio' de la concentración de acetaldehído en la sangre debido a la ingesta de etanol no se reducen de forma significativa en los sujetos con una actividad de ALDH2 reducida o inexistente, los cuales también son homocigóticos para ADH2\*2/ADH2\*2, tras administrar 1 mg/kg de 4-MP, en comparación con la 'C<sub>max</sub> promedio' y la 'AUC<sub>0-8h</sub> promedio' en los sujetos tras beber etanol en ausencia de 4-MP.

Estos resultados indican que algunas subpoblaciones genéticas de sujetos con una actividad de ALDH2 reducida o inexistente, por ejemplo, aquellos sujetos que también son homocigóticos para ADH2\*2/ADH2\*2, tienen menos posibilidades de beneficiarse de la administración de ciertas dosis de 4-MP, por ejemplo, 1 mg/kg de 4-MP. Este resultado indica la existencia de una respuesta variable a la administración de 4-MP en sujetos humanos intolerantes al alcohol.

#### 8.1.2.3. Grupos A, B, D, F y G

La Figura 4 muestra un gráfico de la concentración promedio de acetaldehído en suero medida en veintitrés sujetos (n=23) con una actividad de ALDH2 reducida o inexistente (Grupos A, B, D, F y G), tras tomar dosis de 1 mg/kg, 3 mg/kg o 5 mg/kg de 4-MP, y la comparación con un placebo.

La Tabla 5 muestra los parámetros farmacocinéticos de 'C<sub>max</sub> promedio' y 'AUC<sub>0-8h</sub> promedio' calculados a partir de los datos que se muestran en la Figura 4 usando modelos matemáticos estándares que son bien conocidos para las personas versadas en la materia. Los valores de P y los errores estándar se determinaron a partir de un análisis estadístico de los datos y también se muestran en la Tabla 5.

**Tabla 5: 'C<sub>max</sub> promedio' y 'AUC<sub>0-8h</sub> promedio' calculados a partir de los datos que se muestran en la Figura 4**

	<b>4-MP (n=23)</b>	<b>Placebo (n=23)</b>	<b>Valor de P</b>
<b>C<sub>max</sub> promedio (µg/ml)</b> (SE)	<b>64,2 (7,0)</b>	<b>66,6 (6,3)</b>	<b>0,367</b>
<b>AUC<sub>0-8h</sub> promedio de acetaldehído (µg*h/mL)</b> (SE)	<b>182 (10,5)</b>	<b>188 (13,5)</b>	<b>0,307</b>

5 La Figura 4 demuestra que la concentración máxima promedio de acetaldehído en la sangre debido a la ingesta de etanol no se reduce en todos los sujetos con una actividad de ALDH2 reducida o inexistente, tras administrar 1 mg/kg, 3 mg/kg o 5 mg/kg de 4-MP.

10 La Tabla 5 demuestra que la 'C<sub>max</sub> promedio' y la 'AUC<sub>0-8h</sub> promedio' de la concentración de acetaldehído en la sangre debido a la ingesta de etanol no se reducen de forma significativa en todos los sujetos con una actividad de ALDH2 reducida o inexistente, tras administrar 1 mg/kg, 3 mg/kg o 5 mg/kg de 4-MP, en comparación con la 'C<sub>max</sub> promedio' y la 'AUC<sub>0-8h</sub> promedio' en los sujetos tras beber etanol en ausencia de 4-MP.

15 Estos resultados indican que algunas subpoblaciones genéticas de sujetos con una actividad de ALDH2 reducida o inexistente, por ejemplo, aquellos sujetos que también son homocigóticos para ADH2\*2/ADH2\*2, tienen menos posibilidades de beneficiarse de la administración de dosis de 4-MP que se encuentran en un rango o intervalo de 1-5 mg/kg.

20 Si se consideran en conjunto, los estudios explicados previamente indican la existencia de una respuesta variable a la administración de 4-MP en sujetos humanos intolerantes al alcohol; algunas subpoblaciones genéticas de sujetos humanos intolerantes al alcohol, por ejemplo, los sujetos con una actividad de ALDH2 reducida, los cuales también son homocigóticos para ADH2\*1/ADH2\*1 o heterocigóticos para ADH2\*1/ADH2\*2, tienen más posibilidades de beneficiarse de la administración de 4-MP en un rango o intervalo de 1-5 mg/kg que otras subpoblaciones de sujetos humanos intolerantes al alcohol, por ejemplo, los sujetos con una actividad de ALDH2 reducida que también son homocigóticos para ADH2\*2/ADH2\*2.

### 25 8.2. Administración ejemplar de 4-MP a un sujeto humano

El ejemplo que se ofrece a continuación describe una administración ejemplar de 4-MP a un sujeto humano.

30 El 4-MP en su forma básica, libre y líquida se mezcla con zumo de naranja para obtener una solución de un 0,5% (p/v) de 4-MP. El 4-MP puede guardarse en un recipiente con una copa dispensadora incorporada con marcas que indican las diferentes cantidades de solución que se van a usar con las diferentes masas corporales de las personas a quienes se va a administrar el 4-MP. En el caso de una persona con una masa corporal de alrededor de 75 kg con una actividad de ALDH2 reducida o inexistente que va a beber etanol, se vierten alrededor de 60 mililitros de 4-MP en la copa dispensadora y la persona con una actividad de ALDH2 reducida o inexistente puede beber la solución de 4-MP de la copa en los minutos u horas previos a la ingesta de alcohol.

40 Si bien la invención precedente se ha descrito con detalle tomando en cuenta las ilustraciones y los ejemplos para hacer más sencilla su comprensión, para aquellas personas versadas en la materia resultará evidente que pueden realizarse diversos cambios y modificaciones. Por lo tanto, no debe interpretarse que la descripción y los ejemplos limitan el alcance de la invención, el cual se determina en las reivindicaciones anexas.

45

50

55

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. 4-metilpirazol (4-MP), o una sal fisiológicamente aceptable de este, para su uso en un método que previene o mejora los síntomas de la intolerancia al etanol, o de la acumulación de acetaldehído(s) que va unida al consumo de etanol, o un método que reduce el riesgo de padecer una enfermedad causada por el consumo de etanol por parte de un sujeto, de manera que el método incluye la administración oral de 4-MP -o de una sal fisiológicamente aceptable de este- usando dosis de entre alrededor de 0,5 miligramos y alrededor de 2 miligramos de 4-MP -o la masa equivalente de 4-MP-, por cada kilogramo de masa corporal del sujeto, en una forma salina fisiológicamente aceptable;
- 10 y de manera que el sujeto tiene el siguiente genotipo:
- i) ADH2\*1/ADH2\*1 y ALDH2\*1/ALDH2\*2;  
ii) ADH2\*1/ADH2\*2 y ALDH2\*1/ALDH2\*2; o  
15 iii) ADH2\*1/ADH2\*2 y ALDH2\*1/ALDH2\*1.
- 20 2. El 4-MP, o una sal fisiológicamente aceptable de este, de la reivindicación 1, para usarse de manera que los síntomas de intolerancia al etanol se seleccionan de un grupo que comprende los siguientes: enrojecimiento, ritmo cardíaco elevado, palpitaciones, hipotensión, náuseas, mareos, dolor de cabeza, vómitos, diarrea, malestar estomacal, ataxia y confusión.
- 25 3. El 4-MP, o una sal fisiológicamente aceptable de este, de la reivindicación 1, de manera que el método incluye la administración de 4-MP en una forma básica libre o en una forma salina fisiológicamente aceptable.
- 30 4. El 4-MP, o una sal fisiológicamente aceptable de este, de la reivindicación 1, para usarse de manera que el método incluye la administración oral de 4-MP, o de una sal fisiológicamente aceptable de este, antes de que el sujeto consuma etanol, o al mismo tiempo que el sujeto consume etanol o después de que el sujeto haya consumido etanol.
- 35 5. El 4-MP, o una sal fisiológicamente aceptable de este, de la reivindicación 4, para usarse de manera que el método incluye la administración oral de 4-MP, o de una sal fisiológicamente aceptable de este, entre alrededor de una hora y alrededor de quince minutos antes de que el sujeto consuma etanol.
- 40 6. El 4-MP, o una sal fisiológicamente aceptable de este, de la reivindicación 1, para usarse de manera que la reducción porcentual en la tasa o ritmo de eliminación de etanol en el sujeto no es mayor que alrededor de un 10% en comparación con el ritmo de eliminación de etanol de un sujeto al que no se le ha administrado 4-MP.
- 45 7. El 4-MP, o una sal fisiológicamente aceptable de este, de la reivindicación 1, para usarse de manera que la cantidad de 4-MP -o de una sal fisiológicamente aceptable de este- que se administra es eficaz para reducir o inhibir en el sujeto la actividad de oxidación de etanol de la alcohol deshidrogenasa.
- 50 8. El 4-MP, o una sal fisiológicamente aceptable de este, de la reivindicación 7, para usarse de manera que los síntomas de la acumulación de acetaldehído(s) se seleccionan de un grupo que comprende los siguientes: enrojecimiento, ritmo cardíaco elevado, palpitaciones, hipotensión, náuseas, mareos, dolor de cabeza, vómitos, diarrea, malestar estomacal, ataxia y confusión.
- 55 9. 4-metilpirazol (4-MP), o una sal fisiológicamente aceptable de este, para su uso en un método que reduce el riesgo de que un sujeto padezca una enfermedad o un desorden causados por el consumo de etanol, de manera que el método incluye la administración de 4-MP -o de una sal fisiológicamente aceptable de este- en una cantidad de entre 0,5 y 2,0 mg/kg de 4-MP -o la masa equivalente de 4-MP-, en una forma salina fisiológicamente aceptable, la cual es eficaz para aumentar el catabolismo de acetaldehído en el sujeto, de manera que el acetaldehído es un producto del consumo de etanol por parte del sujeto, y de manera que al aumentar el catabolismo del acetaldehído se reduce el riesgo que tiene el sujeto de padecer una enfermedad o un desorden provocados por la exposición al acetaldehído;
- 60 y de manera que el sujeto tiene el siguiente genotipo:
- i) ADH2\*1/ADH2\*1 y ALDH2\*1/ALDH2\*2;  
ii) ADH2\*1/ADH2\*2 y ALDH2\*1/ALDH2\*2; o  
65 iii) ADH2\*1/ADH2\*2 y ALDH2\*1/ALDH2\*1.
10. El 4-MP, o una sal fisiológicamente aceptable de este, de cualquiera de las reivindicaciones 1 y 9, de manera que el sujeto es un humano.
11. El 4-MP, o una sal fisiológicamente aceptable de este, de la reivindicación 1, para usarse de manera que la enfermedad o desorden incluye los cánceres del tracto aerodigestivo superior, los cánceres del tracto digestivo o el cáncer de mama, o de manera que la enfermedad o desorden incluye la enfermedad de Alzheimer de aparición tardía, la hipertensión, el infarto de miocardio, la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica y la

isquemia cerebral.

5 **12.** El 4-MP, o una sal fisiológicamente aceptable de este, de la reivindicación 11, de manera que los cánceres del tracto aerodigestivo superior comprenden el cáncer de esófago, el orofaríngeo, el hipofaríngeo, el de la laringe, el de la cabeza o el del cuello, o de manera que el cáncer del aparato digestivo comprende el cáncer de estómago o el cáncer de colon.

10 **13.** El 4-MP, o una sal fisiológicamente aceptable de este, de cualquiera de las reivindicaciones 1 y 9, de manera que el método incluye la administración de una cantidad eficaz de una sal de clorhidrato de 4-MP.

**14.** El 4-MP, o una sal fisiológicamente aceptable de este, de cualquiera de las reivindicaciones 1 y 9, de manera que el método incluye la administración de alrededor de 1 miligramo de 4-MP por cada kilogramo de masa corporal del sujeto.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

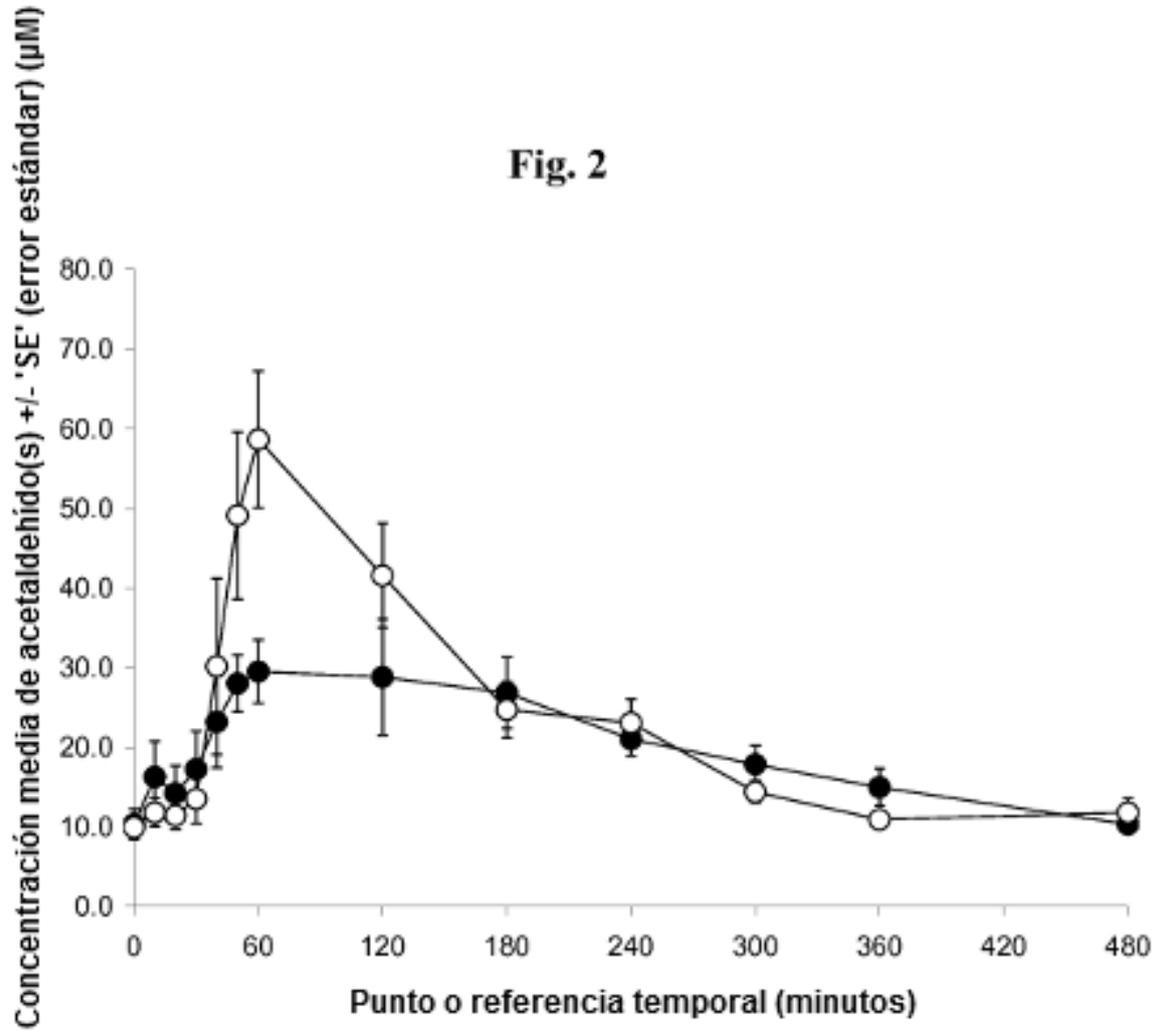
60

65

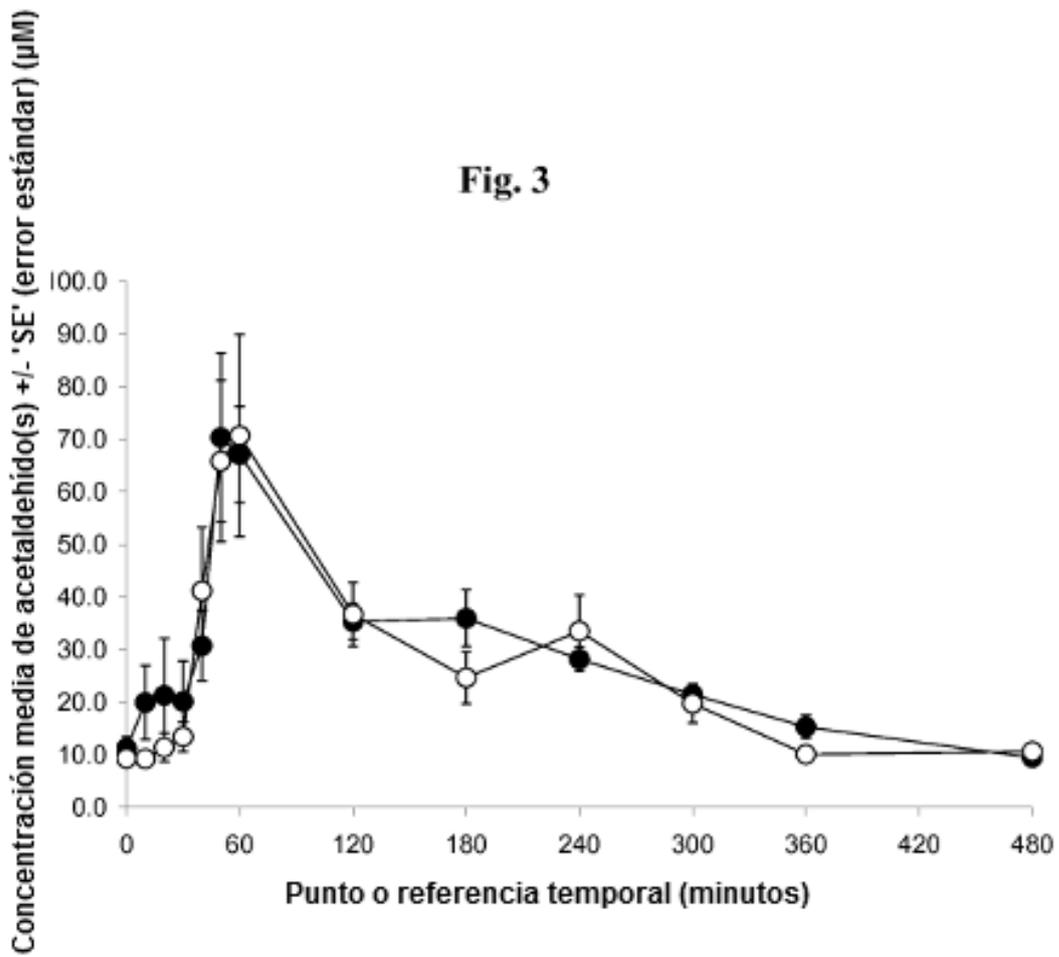
**Fig. 1 .**



**Fig. 2**



**Fig. 3**



**Fig. 4**

