(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 807 951**

(51) Int. CI.:

***A61K 31/216*** (2006.01)
***A61K 31/185*** (2006.01)
***A61K 31/192*** (2006.01)
***A61P 1/16*** (2006.01)
***A61P 13/12*** (2006.01)
***A61P 43/00*** (2006.01)
***G01N 33/68*** (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.09.2012 E 17154858 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.06.2020 EP 3222275**

(54) Título: **Métodos de monitorización terapéutica de profármacos de ácido fenilacético**

(30) Prioridad:

**20.04.2012 US 201261636256 P**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
**24.02.2021**

(73) Titular/es:

**IMMEDICA PHARMA AB (100.0%)**
**Norrtullsgatan 15**
**113 29 Stockholm, SE**

(72) Inventor/es:

**SCHARSCHMIDT, BRUCE y**
**MOKHTARANI, MASOUD**

(74) Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

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 de monitorización terapéutica de profármacos de ácido fenilacético

ANTECEDENTES

Los trastornos de retención de nitrógeno asociados con niveles de amoníaco elevados incluyen trastornos de ciclo de la urea (UCD), encefalopatía hepática (EH), y enfermedad renal avanzada o insuficiencia renal, a menudo denominada enfermedad renal en etapa terminal (ESRD).

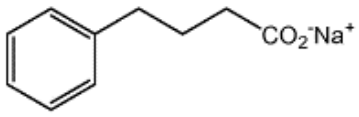
Los UCD incluyen varias deficiencias hereditarias de enzimas o transportadores necesarios para la síntesis de urea a partir de amoniaco, incluyendo las enzimas que participan en el ciclo de la urea. El ciclo de urea se representa en la Figura 1, que también ilustra cómo ciertos fármacos de eliminación de amoniaco actúan para ayudar a la eliminación del amoníaco excesivo. Con referencia a la Figura 1, N-acetilglutamato derivado de N-acetil glutamina sintetasa (NAGS) de se une a carbamil fosfato sintetasa (CPS), que activa CPS y da como resultado la conversión de amoniaco y bicarbonato a carbamil fosfato. A su vez, el carbamil fosfato reacciona con la ornitina para producir citrulina en una reacción mediada por la ornitina transcarbamilasa (OTC). Una segunda molécula de nitrógeno residual se incorpora al ciclo de la urea en la siguiente reacción, mediada por la arginosuccinato sintetasa (ASS), en la que la citrulina se condensa con ácido aspártico para formar ácido argininosuccínico. El ácido argininosuccínico es escindido por liasa de argininosuccina (ASL) para producir arginina y fumarato. En la reacción final del ciclo de la urea, la arginasa (ARG) escinde la arginina para producir ornitina y urea. De los dos átomos de nitrógeno incorporados en urea, uno se origina a partir de amoníaco libre ($NH_4^+$) y el otro de aspartato. Los individuos con UCD nacidos sin capacidad sintética de urea residual significativa típicamente se presentan en los primeros días de vida (presentación neonatal). Los individuos con función residual típicamente aparecen más tarde en la infancia o incluso en la edad adulta, y los síntomas pueden precipitarse por el aumento de la proteína dietética o el estrés fisiológico (por ejemplo, enfermedad intercurrente). Para los pacientes con UCD, la reducción del amoníaco en sangre es la piedra angular del tratamiento.

La EH se refiere a un espectro de signos y síntomas neurológicos que se cree que resultan de la hiperamonemia, que se producen con frecuencia en sujetos con cirrosis o ciertos otros tipos de enfermedad hepática. La EH es una manifestación común de enfermedad hepática clínicamente descompensada y más comúnmente resulta de cirrosis hepática con diversas etiologías que incluyen consumo excesivo de alcohol, infección por el virus de la hepatitis B o C, enfermedad hepática autoinmune o trastornos colestáticos crónicos como cirrosis biliar primaria. Los pacientes con EH típicamente muestran un estado mental alterado que varían de cambios sutiles a coma, características similares a los pacientes con UCD. Se cree que un aumento en el amoníaco sanguíneo debido al hígado disfuncional en la desintoxicación de proteínas dietéticas es la principal fisiopatología asociada con la EH (Ong 2003).

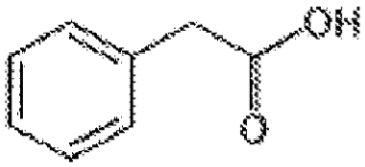
ESRD resulta de una variedad de causas incluyendo la diabetes, la hipertensión y trastornos hereditarios. ESRD se manifiesta por la acumulación en el torrente sanguíneo de sustancias normalmente excretadas en la orina, incluyendo la urea y la creatinina. Se cree que esta acumulación en el torrente sanguíneo de sustancias, incluidas las toxinas, normalmente excretadas en la orina, da lugar a manifestaciones clínicas de ESRD, a veces denominada también uremia o síndrome urémico. La ESRD se trata habitualmente mediante diálisis o trasplante de riñón. En la medida en que la urea por sí misma contribuye a estas manifestaciones y que la administración de un profármaco fenilacético (PAA) puede disminuir la síntesis de urea (véase, por ejemplo, Brusilow 1993) y por lo tanto una concentración más baja de urea en sangre, la administración de profármacos PAA puede ser beneficiosa para Pacientes con ESRD.

Los sujetos con trastornos de retención de nitrógeno cuyos niveles de amoníaco y/o síntomas no están adecuadamente controlados por la restricción dietética de proteína y/o los suplementos dietéticos son generalmente tratados con agentes de eliminación de nitrógeno tal como fenilbutirato de sodio (NaPBA, aprobado en los Estados Unidos como BUPHENYL® y en Europa como AMMONAPS®), benzoato de sodio, o una combinación de fenilacetato de sodio y benzoato de sodio (AMMONUL®). A menudo se les denomina fármacos de vías alternativas porque proporcionan al cuerpo una vía alternativa a la urea para la excreción de nitrógeno residual (Brusilow 1980; Brusilow 1991). NaPBA es un profármaco de PAA. Otro fármaco eliminador de nitrógeno actualmente en desarrollo para el tratamiento de trastornos de retención de nitrógeno es glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100), que se describe en la Patente de Estados Unidos Nº 5.968.979. El HPN-100, que se denomina comúnmente GT4P o PBA de glicerol, es un profármaco de PBA y un pre-profármaco de PAA. La diferencia entre HPN-100 y NaPBA con respecto al metabolismo es que el HPN-100 es un triglicérido y requiere digestión, presumiblemente por lipasas pancreáticas, para liberar PBA (McGuire 2010), mientras que NaPBA es una sal y se hidroliza fácilmente después de la absorción para liberar PBA.

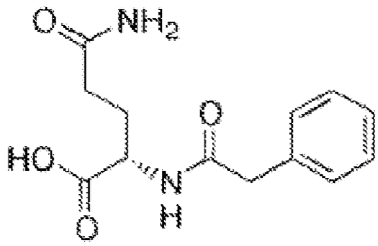
La HPN-100 y NaPBA comparten el mismo mecanismo general de acción: PBA se convierte en PAA a través de la beta oxidación, y PAA se conjuga enzimáticamente con glutamina para formar fenilacetilglutamina (PAGN), que se excreta en la orina. Las estructuras de PBA, PAA y PAGN se exponen a continuación:




fenilbutirato




ácido fenilacético




fenilacetilglutamina

El beneficio clínico de NaPBA y HPN-100 con respecto a los trastornos de retención de nitrógeno se deriva de la capacidad de PAGN para reemplazar eficazmente urea como un vehículo para la excreción de nitrógeno residual y/o para reducir la necesidad de la síntesis de urea (Brusilow 1991; Brusilow 1993). Debido a que cada glutamina contiene dos moléculas de nitrógeno, el cuerpo se libera de dos átomos de nitrógeno para cada molécula de PAGN excretada en la orina. Por lo tanto, se eliminan dos equivalentes de nitrógeno por cada mol de PAA convertido en PAGN. PAGN representa el metabolito terminal predominante, y uno que está estequiométricamente relacionado con la eliminación de nitrógeno residual, una medida de la eficacia en el caso de los estados de retención de nitrógeno.

Además de los estados de retención de nitrógeno, los profármacos de PAA pueden ser beneficiosos en una variedad de otros trastornos para los que se cree PBA y/o PAA para modificar la expresión génica y/o ejercer efectos post-traduccionales en función de la proteína. En el caso de la enfermedad de orina de sirope de arce (MSUD, también conocida como cetoaciduria de cadena ramificada), por ejemplo, el efecto aparentemente beneficioso de NaPBA en la disminución de los niveles plasmáticos de aminoácidos de cadena ramificada está mediado por la inhibición inducida por PBA de la quinasa que regula la actividad del complejo alfa-ceto-ácido deshidrogenasa de cadena ramificada o BCKDC. BCKDC es la enzima que normalmente descompone aminoácidos de cadena ramificada y es genéticamente defectuosa en pacientes con MSUD (Bruneti-Pieri 2011). De forma similar, los efectos beneficiosos putativos de los profármacos PAA para el tratamiento del cáncer (Chung 2000), las enfermedades neurodegenerativas (Ryu 2005) y la enfermedad de células falciformes (Perrine 2008) implican alteración de la expresión génica y/o efectos post-traduccionales sobre la función proteica Vía PBA y/o PAA.

Numerosas publicaciones informan de eventos adversos después de la administración de PBA y/o PAA (Mokhtarani 2012), y se informa que PAA causa toxicidad reversible cuando esté presente en altos niveles en circulación. Aunque muchas de estas publicaciones no han registrado niveles de PAA en la sangre y/o eventos adversos correlacionados temporalmente con niveles de PAA, toxicidades tales como náuseas, dolor de cabeza, emesis, fatiga, debilidad, letargo, somnolencia, mareos, desorientación han demostrado que se asocia temporalmente con niveles de PAA que van desde 499-1285 µg/ml en pacientes con cáncer que reciben PAA por vía intravenosa, y estas toxicidades han demostrado resolverse con la interrupción de la administración de PAA (Thiebault 1994; Thiebault 1995). Por lo tanto, cuando se administran profármacos de PAA para el tratamiento de trastornos de retención de nitrógeno y otras condiciones, es importante optimizar la dosificación para lograr el efecto terapéutico deseado mientras que se minimiza el riesgo de toxicidad asociada con PAA.

RESUMEN

Se proporciona en este documento un enfoque clínicamente práctico para la utilización y la interpretación de los niveles sanguíneos de PAA y PAGN para ajustar la dosis de HPN-100 con el fin de minimizar el riesgo de

toxicidades y maximizar la eficacia del fármaco.

Aquí se incluye HPN-100 para uso en un método de tratamiento de un trastorno de retención de nitrógeno seleccionado del grupo que consiste en trastornos del ciclo de la urea (UCD), encefalopatía hepática (EH), y la enfermedad renal en etapa terminal (ESRD) en un sujeto que comprende las etapas de administración de una primera dosificación de HPN-100, medir los niveles de PAA y PAGN de plasma, calcular una relación de PAA:PAGN de plasma y determinar si la dosificación de profármaco de PAA necesita ajustarse basándose en si la relación de PAA:PAGN cae dentro de un intervalo diana de 1 a 2,5. En ciertas realizaciones, el intervalo diana es 1 a 2, 1 a 1,5, 1,5 a 2, o 1,5 a 2,5. Una relación de PAA:PAGN por encima del rango diana indica que la dosis de HPN-100 necesita disminuirse. Una relación de PAA:PAGN por debajo del intervalo diana indica que se debe aumentar la dosificación de HPN-100. En ciertas realizaciones, una relación de PAA:PAGN que esté dentro del intervalo diana pero dentro de un subintervalo particular (por ejemplo, 1 a 1,5 o 2 a 2,5 donde el intervalo diana es 1 a 2,5) indica que la dosificación de HPN-100 no necesita ajustarse, pero que el sujeto necesita someterse a monitoreo más frecuente. En ciertas realizaciones, el método comprende además una etapa de administrar una segunda dosis ajustada si se determina que dicho ajuste es necesario basándose en la relación de PAA:PAGN y, opcionalmente, otras características del sujeto. En otras realizaciones, el método comprende además una etapa de administrar una segunda dosificación que es la misma o casi la misma que la primera dosis si no se considera necesario un ajuste en la dosificación. El trastorno de retención de nitrógeno es UCD, EH o ESRD. En ciertas realizaciones, la medición de los niveles plasmáticos de PAA y PAGN tiene lugar después de que la primera dosificación de HPN-100 haya tenido tiempo suficiente para alcanzar el estado estacionario, tal como entre 48 horas y 1 semana después de la administración.

Aquí se incluye HPN-100 para uso en un método de tratamiento de un trastorno de retención de nitrógeno seleccionado del grupo que consiste en trastornos del ciclo de la urea (UCD), encefalopatía hepática (EH), y la enfermedad renal en etapa terminal (ESRD) en una sujeto que ha recibido previamente una primera dosificación de HPN-100 que comprende las etapas de medición de los niveles de PAA y PAGN de plasma, calcular una relación de PAA:PAGN de plasma y determinar si la dosificación de HPN-100 necesita ajustarse basándose en si la relación de PAA:PAGN cae dentro de un intervalo diana de 1 a 2,5. En ciertas realizaciones, el intervalo diana es 1 a 2, 1 a 1,5, 1,5 a 2, o 1,5 a 2,5. Una relación de PAA:PAGN por encima del intervalo diana indica que la dosis del profármaco PAA necesita disminuirse. Una relación de PAA:PAGN por debajo del intervalo diana indica que la dosificación del profármaco PAA necesita aumentarse. En ciertas realizaciones, una relación de PAA:PAGN que está dentro del intervalo diana pero dentro de un subintervalo particular (por ejemplo, 1 a 1,5 o 2 a 2,5 donde el intervalo diana es 1 a 2,5) indica que la dosificación de HPN-100 no necesita ajustarse, pero que el sujeto necesita ser sometido a monitoreo más frecuente. En ciertas realizaciones, el método comprende además una etapa de administrar una segunda dosis ajustada si se determina que dicho ajuste es necesario basándose en la relación de PAA:PAGN y, opcionalmente, otras características del sujeto. En otras realizaciones, el método comprende además una etapa de administrar una segunda dosificación que es la misma o casi la misma que la primera dosis si no se considera necesario un ajuste en la dosificación. El trastorno de retención de nitrógeno es UCD, EH o ESRD. En ciertas realizaciones, la medición de los niveles de PAA y PAGN en plasma tiene lugar después de que la primera dosificación de HPN-100 haya tenido tiempo suficiente para alcanzar el estado estacionario, tal como de 48 horas a 1 semana después de la administración.

Se describen aquí métodos para la obtención de una relación de plasma PAA:PAGN dentro de un intervalo diana en un sujeto formado por el etapas de administración de HPN-100, medición de niveles de plasma PAA y PAGN, el cálculo de una relación de plasma PAA:PAGN, y la determinación de si la relación de PAA:PAGN cae dentro del intervalo diana de 1 a 2,5. Si la relación de PAA:PAGN no cae dentro del intervalo diana, se administra una segunda dosificación ajustada, y se repiten estos pasos hasta que se alcance una relación de PAA:PAGN en plasma que cae dentro del intervalo diana. En ciertas realizaciones, el intervalo diana es 1 a 2, 1 a 1,5, 1,5 a 2, o 1,5 a 2,5. Una relación de PAA:PAGN por encima del intervalo diana indica que la dosificación del HPN-100 necesita ser disminuida y una relación de PAA:PAGN por debajo del intervalo diana indica que se debe aumentar la dosificación de HPN-100. En ciertas realizaciones, la medición de los niveles de PAA y PAGN en plasma tiene lugar después de que la primera dosificación de HPN-100 haya tenido tiempo suficiente para alcanzar el estado estacionario, tal como de 48 horas a 1 semana después de la administración.

## BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Figura 1: Ciclo de la urea.

Figura 2: Niveles plasmáticos de PAA frente a la relación de PAA:PAGN plasmática en (A) todos los sujetos combinados (adultos sanos, pacientes de 2 meses y más con UCDs y pacientes con cirrosis), (B) pacientes de 2 meses y más con UCDs, y (C) pacientes con cirrosis.

Figura 3: Probabilidad estimada (95% intervalo de confianza (IC)) de detectar correctamente una relación de plasma PAA:PAGN elevada (≥ 2.0) con una única muestra de sangre en un tiempo designado.

Figura 4: Distribución de relación de plasma PAA:PAGN (escala log) por tiempo desde la administración (horas) y categoría de relación máxima PAA:PAGN en todos los sujetos combinados.

Figura 5: Distribución de las concentraciones de plasma PAA (µg/mL) por relación de PAA:PAGN para (A) todos los sujetos y (B) sujetos UCD y EH.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Las enzimas responsables de la beta oxidación de PBA a PAA están presentes en la mayoría de los tipos de células capaces de utilizar los ácidos grasos como sustratos de energía, y la amplia distribución de estas enzimas presumiblemente explica la conversión rápida y esencialmente completa de PBA a PAA. Sin embargo, las enzimas que conjugan PAA con glutamina para formar PAGN se encuentran principalmente en el hígado y en menor medida en los riñones (Moldave 1957). Por lo tanto, la conversión de PAA a PAGN puede verse afectada en varias circunstancias, incluyendo las siguientes: a) si la capacidad de conjugación está saturada (por ejemplo, por dosis altas de profármaco de PAA); b) si la capacidad de conjugación está comprometida (por ejemplo, por disfunción hepática y/o renal grave); c) si el sustrato (glutamina) para la conjugación de PAA a PAGN es limitante de la velocidad; d) variabilidad genéticamente determinada (es decir, polimorfismos) en las enzimas responsables de la conversión de PAA a PAGN, o e) en niños pequeños, ya que la capacidad para convertir PAA en PAGN varía con el tamaño corporal medido como superficie corporal (Monteleone 2012). La presencia de cualquiera de estas condiciones puede conducir a la acumulación de PAA en el cuerpo, lo que provoca una toxicidad reversible.

El objetivo de la administración del profármaco PAA en sujetos con trastornos de retención de nitrógeno es el de proporcionar una dosis suficiente para obtener un nivel deseado de eliminación de nitrógeno mientras se evita el exceso de acumulación de PAA. El objetivo de la administración de profármacos de PAA en pacientes sin trastorno de retención de nitrógeno (por ejemplo, una enfermedad neurodegenerativa) es el de conseguir niveles de metabolitos circulantes necesarios para producir un beneficio clínico por alteración de la expresión génica y/o pliegue o función de proteínas. Sin embargo, existen varias dificultades asociadas con la determinación de la dosificación adecuada en pacientes con trastornos de retención de nitrógeno.

Los niveles plasmáticos de PAA y PAGN se ven afectados por varios factores, incluyendo la sincronización de la extracción de sangre en relación con la administración del fármaco, la función hepática, la disponibilidad de enzimas que metabolizan, y la disponibilidad de sustratos requeridos para el metabolismo. Un nivel de PAA aleatorio extraido durante una visita ambulatoria para determinar si los niveles están en el intervalo de toxicidad sin considerar el nivel de PAGN concomitante es insuficiente para informar la dosificación. En primer lugar, los niveles de PAA varían muchas veces durante el transcurso del día, fluctuando mucho entre los niveles máximo y mínimo. Por ejemplo, en el estudio pivotal de Hyperion que evaluó HPN-100 para su uso en el tratamiento de UCD adulto (ID de estudio HPN-100-006, ID de ensayo clínico NCT00992459), se obtuvieron muestras de sangre seriadas para estudios de PK durante un periodo de 24 horas durante el cual los sujetos recibían HPN-100 o NaPBA. El índice de fluctuación de PAA en un período de 24 horas, que representa la fluctuación entre la concentración máxima (típicamente observada después de la última dosis diaria o aproximadamente 12 horas) y la concentración mínima (típicamente observada en la mañana después del ayuno nocturno o a las 0 horas) Indicaron un grado muy alto de variabilidad (2150% para NaPBA y 1368% para HPN-100). Por lo tanto, un solo nivel de PAA en plasma puede no ser representativo del nivel de PAA más alto que un paciente pueda experimentar durante el día. En segundo lugar, un alto nivel de PAA en plasma puede ser sólo indicativo de las altas dosis que recibe un sujeto en lugar de un punto de preocupación si el sujeto está conjugando eficazmente PAA con glutamina para formar PAGN. Por lo tanto, basar el ajuste de dosis sólo en un nivel alto de PAA sin considerar el nivel concomitante de PAGN en plasma puede dar lugar a una reducción innecesaria de la dosis y al subtratamiento del paciente. Por el contrario, un nivel de PAA aparentemente inferior a los niveles asociados con la toxicidad podría tomarse como una indicación de una dosificación satisfactoria sin apreciar el hecho de que el nivel de PAGN concomitante puede no ser proporcional a PAA, lo que indica que PAA no está siendo eficientemente utilizado y puede estarse acumulando.

Estudios anteriores han demostrado que la conversión de PAA a PAGN es un proceso saturable que varía considerablemente entre individuos (véase, por ejemplo, Monteleone 2012), y que los pacientes con insuficiencia hepática tienen niveles de PAA más altos que los pacientes sin insuficiencia hepática (Ghabril et al., "Glycerol phenylbutyrate (GPD) administration in patients with cirrhosis and episodic hepatic encephalopathy (EH)," presentado a Digestive Disease Week, 2012). Si la formación de PAGN se ve afectada por cualquiera de los factores anteriores, el PAA se acumulará y el nitrógeno residual no se puede eliminar del cuerpo. Estudios previos también han demostrado que una pequeña proporción de individuos, incluyendo tanto adultos sanos como pacientes con UCD o EH, tienen mayores niveles de PAA que el resto de la población, presumiblemente debido a las diferencias individuales en la conjugación de PAA a PAGN y que los niveles de PAA fluctúan Muchas veces durante el día, dependiendo de la dosis y el momento de la muestra de sangre en relación con la última dosis, de modo que un único nivel en el plasma puede no ser informativo (Lee 2010, Lichter 2011).

Aunque el objetivo de la terapia de profármaco PAA para los trastornos de retención de nitrógeno es lograr los niveles de amoníaco dentro de un límite normal, no existe una correlación entre los niveles de PAA de plasma y

amoníaco de sangre. Los sujetos con trastornos de retención de nitrógeno normalmente se "dosifican para hacer efecto", lo que significa que los sujetos con capacidad sintética de urea ausente o gravemente deficiente requieren dosis más altas de profármacos de APA que los pacientes de UCD con deficiencia leve. Estas dosificaciones más altas se asocian generalmente con niveles más altos de PAA, de modo que no se aplica la respuesta de PK/PD convencional (fracción activa más alta, es decir, PAA, correlaciona con sustancia nociva inferior, es decir, amoníaco). Por lo tanto, no existe un solo nivel de PAA en plasma objetivo que pueda aplicarse a pacientes con UCD u otros trastornos de retención de nitrógeno basados en su amoníaco sanguíneo.

Los pacientes con insuficiencia hepática grave tienen un mayor riesgo de acumulación de PAA debido a niveles inadecuados de enzimas de conjugación de PAA si se tratan con profármacos PAA. Los pacientes UCD sin insuficiencia hepática cuyas enzimas de conjugación PAA son fácilmente saturadas también están en mayor riesgo de acumulación de PAA si se tratan con compuestos que producen PAA. Otros pacientes sin retención de nitrógeno tienen mayor riesgo de acumulación de PAA debido a la limitada disponibilidad de glutamina como sustrato para formar PAGN si se trata con compuestos que producen PAA, que se acumula en pacientes con estados de retención de nitrógeno.

WO 2009/134460 y WO 2010/025303 describen métodos para la determinación de una dosificación eficaz de un profármaco PAA basado en los niveles PAGN urinario, la cual se demostró un indicador más fiable de la dosis eficaz que los niveles plasmáticos de PAA o otros metabolitos. Aunque tales mediciones son muy útiles para evaluar la eliminación de nitrógeno residual, no proporcionan información completa con respecto a la capacidad del sujeto para utilizar el profármaco.
La WO2013/048558 divulga métodos para evaluar la exposición a amoniaco diaria en base a una única medición del nivel en sangre de amoniaco en ayunas. También se divulgan métodos que utilizan la técnica para ajustar la dosificación de un fármaco de eliminación de nitrógeno en un sujeto con un trastorno de retención de nitrógeno.
Mol. Genet. Metab., marzo 2012, vol. 105, p. 273-366 divulga un estudio de biomarcadores de plasma y orina para la monitorización terapéutica de profármacos de ácido fenilacético (PAA). El estudio mostró, entre otras cosas, una amplia variabilidad de los niveles de metabolito en plasma y una correlación con la dosis, mientras que la fenilacetil glutamina urinaria (U-PAGN) mostró una fuerte correlación con la dosis.
Mol. Genet. Metab., abril 2011, vol. 103, p. 323-329 divulga un estudio de comparación de fenilbutirato de sodio (NaPBA) y fenilbutirato de glicerol (GPB) para el control de amoniaco en niños con trastornos del ciclo de la urea (UCD). Se midieron los niveles en plasma y urinarios de metabolitos, se realizó un perfil del amoniaco, y se evaluaron las correlaciones del efecto del fármaco.

Ya que los niveles de PAA, PAGN, y amoníaco no proporcionan la información necesaria para determinar si un sujeto está convirtiendo eficazmente PBA a PAGN (es decir, utilizando con eficacia el profármaco PAA), hay una necesidad de mejorar los métodos de ajuste de dosis de profármaco PAA e incorporar dichos ajustes en los métodos de tratamiento de trastornos de retención de nitrógeno.

Tal como se describe en el presente documento, se ha encontrado que la relación de plasma PAA:PAGN proporciona una medida inesperadamente precisa de metabolismo de profármaco PAA en sujetos con trastornos de retención de nitrógeno y/o insuficiencia hepática. Se encontró que sujetos que pueden convertir fácilmente PAA a PAGN y que no han alcanzado el punto de saturación con respecto a la conversión de PAA a PAGN tendrán una relación de plasma PAA:PAGN de 2,5 o menos (cuando ambos se miden en µg/mL), y que los sujetos con relaciones de PAA:PAGN de más de 2,5 tienen una probabilidad significativamente mayor de experimentar un nivel PAA por encima de 400 µg/ml o 500 µg/ml durante un período de 24 horas. Una relación PAA/PAGN de menos de 2,5 se asocia principalmente con adultos sanos o sujetos adolescentes y la función hepática normal, con los sujetos que tienen una relación por debajo de 2,5 que presenta una probabilidad de 1% de experimentar un nivel de PAA mayor que 400 µg/ml y casi sin posibilidad de exhibir nivel de PAA mayor que 500 µg/ml en cualquier momento durante un período de 24 horas. Por otra parte, se observó una relación mayor que 2,5 en sujetos con insuficiencia hepática moderada, un subconjunto de sujetos sanos o pacientes con UCD con un punto de saturación relativamente más bajo y dificultad para conjugar PAA para formar PAGN y pacientes con una superficie corporal baja. Los sujetos con una relación mayor que 2,5, por otra parte, mostraron una probabilidad 20-36% de experimentar un nivel de PAA mayor que 400 µg/ml durante el día, y una probabilidad de aproximadamente el 10% de experimentar un nivel de PAA de 500 µg/L o mayor. En sujetos con una relación mayor que 3, la probabilidad de experimentar un nivel de PAA mayor que 500 µg/ml aumentó hasta el 25%. Estos resultados muestran que una relación de PAA:PAGN plasmática superior a 2,5 en un paciente con acontecimientos adversos neurológicos inexplicados y amoníaco normal indica que se debe considerar el ajuste de la dosis. Por lo tanto, la relación de PAA:PAGN en plasma proporciona un sustituto clínicamente útil para evaluar la eficacia de la conversión de PAA a PAGN.

Relación de plasma PAA:PAGN indica si un profármaco PAA está siendo efectivamente utilizado y está recogiendo nitrógeno, y por lo tanto proporciona una medida indirecta y simple de la saturación de las enzimas de conjugación, la disponibilidad de sustrato, y el posible efecto de la insuficiencia hepática o renal en este proceso. El cálculo de esta proporción permitirá un tratamiento eficaz y un ajuste de la dosis en sujetos con insuficiencia hepática conocida, sujetos que presenten signos y síntomas que se superpongan entre hiperamonemia y toxicidad

PAA y sujetos que no están controlados clínicamente a pesar de aumentarse la dosis de fármacos.

Un experto en la técnica generalmente no consideraría la relación de un metabolito activo, tales como PAA a un metabolito terminal tal como PAGN al tomar decisiones terapéuticas, ya que sería de esperar que los niveles más altos del metabolito activo se traducirían en una respuesta proporcionalmente mayor (medida por la producción de PAGN) y mayor eficacia (es decir, eliminación de nitrógeno residual). Sin embargo, los resultados proporcionados en este documento muestran que el uso de relaciones de plasma PAA:PAGN para evaluar y ajustar la dosificación de profármaco de PAA es inesperadamente superior al uso de los niveles de PAA o PAGN solo. Una vez que un sujeto excede una relación específica de PAA:PAGN, existe una alta probabilidad de que no utilicen eficazmente el resto activo y que aumentar la dosis de profármaco de PAA puede no incrementar la eficacia y, de hecho, puede dar lugar a acumulación y toxicidad de PAA.

Basándose en estos hallazgos, HPN-100 se proporciona para su uso en un método para tratar trastornos de retención de nitrógeno y la evaluación y el ajuste de la dosificación de HPN-100 sobre la base de relación de plasma PAA:PAGN. Generalmente, estos métodos comprenden etapas de medir los niveles de PAA y PAGN de plasma, calcular la relación de PAA:PAGN y determinar si la relación cae dentro de un intervalo diana, utilizándose esta determinación para decidir si se debe ajustar la dosificación de HPN-100. En estos métodos, se puede usar la relación de PAA:PAGN para asegurar que la producción de PAGN urinaria, la concentración de amoníaco en plasma y/o los niveles de PAA caen dentro de un intervalo diana predefinido. Tales métodos representan una mejora con respecto a los métodos previamente desarrollados para evaluar la dosificación y eficacia del HPN-100, ya que permiten una dosificación más precisa, una mayor eficacia y un menor riesgo de toxicidad asociado con la acumulación de PAA.

Se da a conocer en el presente documento intervalos diana para la relación de plasma PAA a PAGN en sujetos que están recibiendo terapia HPN-100. En ciertas realizaciones, un sujeto que exhibe una relación de PAA:PAGN que cae dentro de un intervalo diana se clasifica como dosificado adecuadamente, lo que significa que no requiere de un ajuste de la dosis de HPN-100, mientras que un sujeto que presenta una relación de PAA:PAGN que cae fuera del intervalo diana se clasifica como dosis inadecuada, lo que significa que requiere un ajuste en la dosis de HPN-100. Un sujeto que exhibe una relación de PAA:PAGN de plasma que cae por encima de un intervalo de diana se clasifica por requerir una dosis disminuida de HPN-100, mientras que un sujeto que exhibe una relación de PAA:PAGN de plasma que cae por debajo de un intervalo diana se clasifica por requerir una dosis incrementada de HPN-100.

El intervalo diana para relación de plasma PAA:PAGN es de 1 a 2,5, lo que significa que un sujeto que exhibe un PAA:PAGN que cae dentro de este rango se clasifica como adecuadamente dosificado. En otras realizaciones, el intervalo diana para la relación de plasma PAA:PAGN es de 1 a 2, 1 a 1,5, 1,5 a 2, o 1,5 a 2,5. Cuando el intervalo diana es de 1 a 2,5, un sujeto con una relación de PAA:PAGN por encima de 2,5 se clasifica por requerir una disminución en la dosificación de profármaco PAA, mientras que un sujeto con una relación de PAA:PAGN que cae por debajo de 1 se clasifica por requerir una dosificación de profármaco PAA. Un sujeto es necesariamente clasificado por requerir un aumento en la dosis de profármaco PAA si su proporción es inferior a 1 (por ejemplo, el sujeto exhibe síntomas severos de un trastorno de retención de nitrógeno).

El intervalo diana para relación de plasma PAA:PAGN puede comprender uno o más subintervalos, con los sujetos que entran en diferentes subintervalos tratándose de manera diferente a pesar de que caen dentro del intervalo diana. Por ejemplo, cuando un intervalo diana es de 1 a 2,5, un sujeto que presente una relación de PAA:PAGN por debajo de 1 o superior a 2,5 se clasificará por requerir un ajuste en la dosificación de HPN-100. Dentro del intervalo diana, los sujetos con una relación de PAA:PAGN que caen dentro de un subintervalo particular pueden tratarse como adecuadamente dosificados, incorrectamente dosificados (es decir, requiriendo un ajuste de la dosis) o bien dosificados pero requiriendo un monitoreo más frecuente. Por ejemplo, los sujetos que tienen una relación de PAA:PAGN mayor que 2 pero no superior a 2,5 pueden clasificarse como dosificados adecuadamente pero que requieren una monitorización más frecuente.

En ciertas realizaciones, los límites de subrango o el tratamiento de sujetos que caen dentro de un subrango particular, dependerá en parte de las características específicas de un sujeto, incluyendo por ejemplo perfil bioquímico o características clínicas tales como la excreción de nitrógeno objetivo, la excreción de nitrógeno real, la gravedad de los síntomas, la duración del trastorno, la edad o la salud general. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, un primer sujeto con una relación de PAA:PAGN que cae dentro del subintervalo de 2 a 2,5 puede clasificarse como adecuadamente dosificado pero que requiere un monitoreo frecuente, mientras que un segundo sujeto que cae dentro del mismo subintervalo puede clasificarse por requerir una disminución de dosificación de HPN-100. De forma similar, un primer sujeto con una relación de PAA:PAGN que cae dentro del subintervalo de 1 a 1,5 puede clasificarse como adecuadamente dosificado pero que requiere un monitoreo frecuente, mientras que un segundo sujeto que cae dentro del mismo subintervalo puede clasificarse por requerir una dosis incrementada de HPN-100. Por ejemplo, un sujeto que ha presentado recientemente síntomas particularmente agudos asociados con un trastorno particular puede clasificarse por requerir una dosis aumentada de HPN-100 cuando exhibe una relación de PAA:PAGN de 1 a 1,5, mientras que un sujeto que está clínicamente controlado puede clasificarse como bien

dosificado a pesar de una relación que caen dentro del mismo subintervalo.

Se proporciona HPN-100 para su uso en un método para tratar un trastorno del ciclo de la urea en un sujeto que tiene discapacidad hepática que ha recibido previamente una primera dosis de HPN-100. Este método comprende la medición de los niveles de PAA y PAGN en plasma, calcular la relación de PAA:PAGN en plasma, determinar si la dosificación de HPN-100 necesita ajustarse basándose en si la relación de PAA:PAGN cae dentro de un intervalo diana y administrar una segunda dosificación de HPN-100. El intervalo diana para la relación de PAA:PAGN es de 1 a 2,5. En ciertas realizaciones, el intervalo diana es de 1 a 2. La segunda dosificación es mayor que la primera dosis si la relación de PAA:PAGN es menor que 1 (es decir, la dosificación es aumentada) y menor que la primera dosis si la relación de PAA:PAGN es mayor que 2,5 (es decir, la dosificación disminuye). En ciertas realizaciones, la segunda dosificación es igual a la primera dosificación cuando la relación de PAA:PAGN es 1 a 2,5, es decir, que cae dentro del intervalo diana. En ciertas realizaciones, el intervalo diana se divide en una o más subintervalos. En algunas de estas realizaciones, la segunda dosificación puede ser igual a la primera dosificación si la relación de PAA:PAGN es de 1 a 1,5 o de 2 a 2,5, pero el sujeto puede someterse a monitorización más frecuente. En ciertas otras realizaciones, la segunda dosificación puede ser mayor que la primera dosis si la relación de PAA:PAGN es de 1 a 1,5 o 1 a 2 y el sujeto ha presentado recientemente síntomas particularmente agudos de un trastorno de retención de nitrógeno u otra condición para la cual se espera que la administración de HPN-100 sea beneficiosa. De forma similar, la segunda dosificación puede ser menor que la primera dosis si la relación de PAA:PAGN es superior a 1,5 o 2 pero no superior a 2,5, dependiendo de las características específicas del sujeto. En ciertas realizaciones, el aumento o disminución en la segunda dosificación frente a la primera dosificación depende de la relación precisa de plasma PAA:PAGN. Por ejemplo, cuando la relación de PAA:PAGN en plasma es sólo ligeramente menor que 1, la dosis puede aumentar sólo ligeramente, pero cuando la relación de PAA:PAGN es significativamente menor que 1, la dosis puede aumentarse más. De manera similar, la disminución de la dosificación para los sujetos que exhiben una relación por encima de 2,5 puede variar dependiendo de cuánto por encima de 2,5 la relación se extiende. En ciertas realizaciones, la medición de la relación de PAA y PAGN de plasma tiene lugar después de que HPN-100 ha tenido tiempo suficiente para alcanzar el estado de equilibrio (por ejemplo, 48 horas, 48 a 72 horas, 72 horas a 1 semana, 1 semana a 2 semanas o más de 2 semanas después de la administración del profármaco PAA). En ciertas realizaciones, los pasos anteriores pueden ser repetidos hasta que se logre una relación de plasma PAA:PAGN deseada (por ejemplo, 1 a 2,5 o de 1 a 2). Por ejemplo, los métodos pueden comprender la medición de los niveles de plasma PAA y PAGN después de la administración de la segunda dosis, el cálculo de la relación de plasma PAA:PAGN, la determinación de si la dosificación HPN-100 necesita ajustarse en función de si la relación de PAA:PAGN cae dentro del intervalo diana, y la administración de una tercera dosis de HPN-100.

En ciertas realizaciones, se proporciona HPN-100 para su uso en métodos para tratar un trastorno del ciclo de la urea en un sujeto al que no le ha sido previamente administrado HPN-100. Estos métodos comprenden la administración de una primera dosis de HPN-100, la medición de niveles de plasma PAA y PAGN, el cálculo de la relación de plasma PAA:PAGN, la determinación de si la dosificación HPN-100 necesita ajustarse en función de si la relación de PAA:PAGN cae dentro de un intervalo diana, y administrarse una segunda dosis de HPN-100. El intervalo diana para relación de PAA:PAGN es de 1 a 2,5. En ciertas realizaciones, el intervalo diana es de 1 a 2. La segunda dosificación es mayor que la primera dosis si la relación de PAA:PAGN es menor que 1 (es decir, se aumenta la dosificación) y menor que la primera dosis si la relación de PAA:PAGN es mayor que 2,5 (es decir, la dosificación se disminuye). En ciertas realizaciones, la segunda dosis es igual a la primera dosis cuando la relación de PAA:PAGN es de 1 a 2,5, es decir, que cae dentro del intervalo diana. En ciertas realizaciones, El intervalo diana se divide en uno o más subintervalos. En ciertas de estas realizaciones, la segunda dosis puede ser igual a la primera dosis si la relación de PAA:PAGN es de 1 a 1,5 o de 2 a 2,5, pero el sujeto puede ser sometido a un control más frecuente. En ciertas otras realizaciones, la segunda dosis puede ser mayor que la primera dosis si la relación de PAA:PAGN es de 1 a 1,5 o 1 a 2 y el sujero recientemente ha exhibido síntomas particularmente agudos de un trastorno de retención de nitrógeno u otra condición para la cual se espera que la administración de HPN-100 sea beneficiosa. Del mismo modo, la segunda dosis puede ser inferior a la primera dosis si la relación de PAA:PAGN es mayor que 1,5 o 2 pero no mayor que 2,5, dependiendo de características clínicas o bioquímicas específicas del sujeto. En ciertas realizaciones, el aumento o la disminución de la segunda dosis en comparación con la primera dosis depende de la relación de plasma PAA:PAGN. Por ejemplo, cuando la relación de plasma PAA:PAGN es sólo ligeramente menor que 1, la dosis puede ser aumentada sólo ligeramente, pero cuándo la relación de PAA:PAGN es significativamente menor que 1, la dosis se puede aumentar más. Del mismo modo, la disminución de la dosis para los sujetos que exhiben una relación por encima de 2,5 puede variar dependiendo de la medida en que la relación se extienda muy por encima de 2,5. En ciertas realizaciones, la medición de plasma PAA y la relación de PAGN tiene lugar después de que la HPN-100 haya tenido tiempo suficiente para alcanzar el estado de equilibrio (por ejemplo, 48 horas, 48 a 72 horas, 72 horas a 1 semana, 1 semana a 2 semanas, o más de 2 semanas después de la administración de HPN-100). En ciertas realizaciones, los pasos anteriores pueden ser repetidos hasta que se logre una relación de plasma PAA:PAGN deseada (por ejemplo, 1 a 2,5 o de 1 a 2). Por ejemplo, los métodos pueden comprender la medición de los niveles de plasma PAA y PAGN después de la administración de la segunda dosis, el cálculo de la relación de plasma PAA:PAGN, la determinación de si la dosificación HPN-100 necesita ajustarse en función de si la relación de PAA:PAGN cae dentro del intervalo diana y la administración de una tercera dosis de HPN-100.

En la presente se divulga un método de administración de HPN-100 a un sujeto con un trastorno del ciclo de la urea. Estos métodos comprenden la administración de una primera dosis de HPN-100, la medición de niveles de plasma PAA y PAGN, el cálculo de la relación de plasma PAA:PAGN, la determinación de si la dosificación HPN-100 necesita ajustarse en función de si la relación de PAA:PAGN cae dentro de un intervalo diana, y la administración de una segunda dosis de HPN-100. El intervalo diana para relación de PAA:PAGN es de 1 a 2,5. En ciertas realizaciones, el intervalo diana es de 1 a 2. La segunda dosificación es mayor que la primera dosis si la relación de PAA:PAGN es menor que 1 (es decir, se aumenta la dosificación) y menor que la primera dosis si la relación de PAA:PAGN es mayor que 2,5 (es decir, la dosificación se disminuye). En ciertas realizaciones, la segunda dosis es igual a la primera dosis cuando la relación de PAA:PAGN es de 1 a 2,5, es decir, que cae dentro del intervalo diana. En ciertas realizaciones, el intervalo diana se divide en uno o más subintervalos. En ciertas de estas realizaciones, la segunda dosis puede ser igual a la primera dosis si la relación de PAA:PAGN es de 1 a 1,5 o de 2 a 2,5, pero el sujeto puede ser sometido a un control más frecuente. En ciertas otras realizaciones, la segunda dosis puede ser mayor que la primera dosis si la relación de PAA:PAGN es de 1 a 1,5 o 1 a 2 y el sujeto recientemente ha exhibido síntomas particularmente agudos de un trastorno de retención de nitrógeno u otra condición para la cual se espera que la administración de profármaco PAA es beneficiosa. Del mismo modo, la segunda dosis puede ser inferior a la primera dosis si la relación de PAA:PAGN es mayor que 1,5 o 2 pero no mayor que 2,5, dependiendo de las características bioquímicas o clínicas específicas del sujeto. En ciertas realizaciones, el aumento o la disminución de la segunda dosis en comparación con la primera dosis depende de la relación de plasma PAA:PAGN. Por ejemplo, cuando la relación de plasma PAA:PAGN es sólo ligeramente menor que 1, la dosis puede ser aumentada sólo ligeramente, pero donde la relación de PAA:PAGN es significativamente menor que 1, la dosis se puede aumentar más. Del mismo modo, la disminución de la dosis para los sujetos que exhiben una relación por encima de 2,5 puede variar dependiendo de la medida en que se extienda la relación muy por encima de 2,5. En ciertas realizaciones, la medición de la relación de plasma PAA y PAGN tiene lugar después de que HPN-100 haya tenido tiempo suficiente para alcanzar el estado de equilibrio (por ejemplo, 48 horas, 48 a 72 horas, 72 horas a 1 semana, 1 semana a 2 semanas, o más de 2 semanas después de la administración de HPN-100). En ciertas realizaciones, los pasos anteriores pueden ser repetidos hasta que se logre una relación de plasma PAA:PAGN deseada (por ejemplo, 1 a 2,5 o de 1 a 2). Por ejemplo, los métodos pueden comprender la medición de los niveles de plasma PAA y PAGN después de la administración de la segunda dosis, el cálculo de la relación de plasma PAA:PAGN, la determinación de si la dosificación HPN-100 necesita ajustarse en función de si la relación de PAA:PAGN cae dentro del intervalo diana, y la administración de una tercera dosis de HPN-100.

En la presente se divulgan métodos para lograr una relación de plasma PAA:PAGN en un sujeto con un trastorno del ciclo de la urea que tiene un trastorno hepático. Estos métodos comprenden la administración de una primera dosis de HPN-100, la medición de niveles de plasma PAA y PAGN, el cálculo de la relación de plasma PAA:PAGN, la determinación de si la dosificación HPN-100 necesita ajustarse en función de si la relación de PAA:PAGN cae dentro de un intervalo diana, y la administración de una segunda dosis de HPN-100 basada en la relación de PAA:PAGN. Si la relación de PAA:PAGN está por encima del intervalo diana, la segunda dosis es menor que la primera dosis. Si la relación de PAA:PAGN está por debajo del intervalo diana, la segunda dosificación es mayor que la primera dosificación. Estos pasos se repiten hasta que se logre una relación de plasma PAA:PAGN diana. La relación diana está dentro de un intervalo diana de 1 a 2,5. En ciertos aspectos, la relación diana cae dentro de un intervalo de 1 a 2. En ciertos aspectos, el aumento o disminución de la segunda dosis en comparación con la primera dosis depende de la relación de plasma PAA:PAGN. Por ejemplo, cuando la relación de plasma PAA:PAGN es sólo ligeramente menor que 1, la dosis puede ser aumentada sólo ligeramente, pero donde relación de PAA:PAGN es significativamente menor que 1, la dosis se puede aumentar más. Del mismo modo, la disminución de la dosis para los sujetos que exhiben una relación por encima de 2,5 puede variar dependiendo de cómo se extienda la relación muy por encima de 2,5. En ciertos aspectos, la medición de plasma PAA y la relación de PAGN tiene lugar después de que la HPN-100 haya tenido tiempo suficiente para alcanzar el estado de equilibrio (por ejemplo, 48 horas, 48 a 72 horas, 72 horas a 1 semana, 1 semana a 2 semanas, o más de 2 semanas después de la administración de HPN-100).

En la presente se divulgan métodos para evaluar la dosis de HPN-100 en un sujeto al que previamente se le ha administrado una primera dosificación de HPN-100. Estos métodos comprenden la medición de niveles de plasma PAA y PAGN, el cálculo de la relación de plasma PAA:PAGN, y determinar si la primera dosis de HPN-100 es eficaz en función de si la relación de PAA:PAGN cae dentro de un intervalo diana. El intervalo diana para relación de PAA:PAGN es de 1 a 2,5. En ciertos aspectos, el intervalo diana es de 1 a 2. En ciertas de estos aspectos, la primera dosis se considera demasiado bajo si la relación de PAA:PAGN es menor que 1, y demasiado alto si la relación de PAA:PAGN es mayor que 2,5. En ciertos aspectos, el intervalo diana se divide en uno o más subintervalos. En algunos de estos aspectos, la primera dosis se considera potencialmente eficaz si la relación de PAA:PAGN es de 1 a 1,5 o de 2 a 2,5, pero el sujeto puede ser sometido a un control más frecuente. En ciertos otros aspectos, la primera dosis puede considerarse demasiado baja si la relación de PAA:PAGN es de 1 a 1,5 o 1 a 2 y el sujeto recientemente ha exhibido síntomas particularmente agudos de un trastorno de retención de nitrógeno u otra condición para la cual se espera que la administración de HPN-100 sea beneficiosa. De manera similar, en ciertos aspectos la primera dosis puede considerarse demasiado alta si la relación de PAA:PAGN es mayor que 1,5 o 2 pero no mayor que 2,5, dependiendo de características bioquímicas o clínicas específicas del sujeto. En ciertos

aspectos, la medición de plasma PAA y la relación de PAGN tiene lugar después de que la HPN-100 haya tenido tiempo suficiente para alcanzar el estado de equilibrio (por ejemplo, 48 horas, 48 a 72 horas, 72 horas a 1 semana, 1 semana a 2 semanas, o más de 2 semanas después de la administración de HPN-100). En ciertos aspectos, los métodos comprenden además una etapa de administración de una segunda dosis que difiere de la primera dosificación, y en algunos de estos aspectos los pasos anteriores se pueden repetir hasta que se logre una relación de plasma PAA:PAGN deseada (por ejemplo, 1 a 2,5 o 1 a 2). Por ejemplo, los métodos pueden comprender la administración de una segunda dosis que difiere de la primera dosis, la medición de niveles de plasma PAA y PAGN después de la administración de la segunda dosis, el cálculo de la relación de plasma PAA:PAGN, y la determinación de si la segunda dosis de HPN-100 es eficaz en función de si la relación de PAA:PAGN cae dentro de un intervalo diana.

En la presente se divulgan métodos para ajustar la dosificación de HPN-100 en un sujeto que tiene discapacidad hepática al que previamente se ha administrado una primera dosis un profármaco de PAA. Estos métodos comprenden la medición de niveles de plasma PAA y PAGN, el cálculo de la relación de plasma PAA:PAGN, y determinar si hay que ajustar la dosis de HPN-100 en función de si la relación de PAA:PAGN cae dentro de un intervalo diana. El intervalo diana para la relación de PAA:PAGN es de 1 a 2,5. En ciertos aspectos, el intervalo diana es de 1 a 2. Una relación de PAA:PAGN de menos de 1 indica que la dosis HPN-100 necesita ajustarse hacia arriba, mientras que una relación de PAA:PAGN encima de 2,5 indica que la dosis HPN-100 necesita estar ajustada a la baja. En ciertos aspectos, el intervalo diana se divide en uno o más subintervalos. En algunos de estos aspectos, una relación de PAA:PAGN de 1 a 1,5 o de 2 a 2,5 indica que la dosis no necesita ser ajustada, pero que el sujeto debe estar sometido a un control más frecuente. En ciertos otros aspectos, una relación de PAA:PAGN de 1 a 1,5 o de 1 a 2 indica que la dosificación debe aumentarse cuando el sujeto recientemente ha mostrado síntomas particularmente agudos de un trastorno de retención de nitrógeno u otra condición para la cual se espera que la administración del profármaco PAA sea beneficiosa. De manera similar, en ciertos aspectos una relación de PAA:PAGN mayor que 1,5 o 2 pero no mayor que 2,5 puede indicar que la dosis necesita ser disminuida, dependiendo de las características bioquímicas o clínicas específicas del sujeto. En ciertos aspectos, la medición de plasma PAA y la relación de PAGN tiene lugar después de que la HPN-100 haya tenido tiempo suficiente para alcanzar el estado de equilibrio (por ejemplo, 48 horas, 48 a 72 horas, 72 horas a 1 semana, 1 semana a 2 semanas, o más de 2 semanas después de la administración de HPN-100). En ciertos aspectos cuando se haga una determinación de que la dosis debe ajustarse, los métodos comprenden además una etapa de administración de una segunda dosis que difiere de la primera dosificación, y en ciertas de estas realizaciones, los pasos anteriores pueden ser repetidos hasta que se logre una relación de plasma PAA:PAGN deseada (por ejemplo, 1 a 2,5 o de 1 a 2). Por ejemplo, los métodos pueden comprender la administración de una segunda dosis que difiere de la primera dosis, la medición de los niveles de plasma PAA y PAGN después de la administración de la segunda dosis, el cálculo de la relación de plasma PAA:PAGN, y determinar si la segunda dosis de HPN-100 necesita ajustarse en función de si la relación de PAA:PAGN cae dentro de un intervalo diana. En ciertos aspectos, el aumento o la disminución de la segunda dosis en comparación con la primera dosis depende de la relación de plasma PAA:PAGN. Por ejemplo, cuando la relación de plasma PAA:PAGN es sólo ligeramente menor que 1, la dosis puede ser aumentada sólo ligeramente, pero donde la relación de PAA:PAGN es significativamente menor que 1, la dosis se puede aumentar más. Del mismo modo, la disminución de la dosis para los sujetos que exhiben una relación por encima de 2,5 puede variar dependiendo de cómo se extienda la relación muy por encima de 2,5.

En la presente se divulgan métodos para optimizar la eficacia terapéutica de HPN-100 para uso en el tratamiento de un trastorno de retención de nitrógeno en un sujeto. Estos métodos comprenden la medición de niveles de plasma PAA y PAGN en un sujeto al que previamente se ha administrado HPN-100, el cálculo de la relación de plasma PAA:PAGN, la determinación de si hay que ajustar la dosis de HPN-100 en función de si la relación de PAA:PAGN cae dentro de un intervalo diana, y la administración de una dosis ajustada de HPN-100 como sea necesario. Estos pasos se repiten hasta que el sujeto exhibe una relación de plasma PAA:PAGN que cae dentro del intervalo diana (1 a 2,5). Una relación de plasma de PAA:PAGN de menos de 1 indica que la dosis debe ser ajustada hacia arriba, mientras que una relación mayor de 2,5 indica que la dosis debe ser disminuida. En ciertos aspectos, el intervalo diana se divide en uno o más subintervalos. En algunos de estos aspectos, Una relación de PAA:PAGN de 1 a 1,5 o de 2 a 2,5 indica que la dosis no necesita ajustarse, pero que el sujeto debe ser sometido a un control más frecuente. En ciertos otros aspectos, Una relación de PAA:PAGN de 1 a 1,5 o de 1 a 2 indica que la dosificación debe aumentarse cuando el sujeto recientemente ha mostrado síntomas particularmente agudos de un trastorno de retención de nitrógeno u otra condición para la cual se espera que la administración de profármaco PAA es beneficiosa. De manera similar, en ciertos aspectos una relación de PAA:PAGN mayor que 1,5 o 2 pero no mayor que 2,5 puede indicar que la dosis necesita ser disminuida, dependiendo de las características bioquímicas o clínicas específicas del sujeto. En ciertos aspectos, la medición de plasma PAA y la relación de PAGN tiene lugar después de que la HPN-100 haya tenido tiempo suficiente para alcanzar el estado de equilibrio (por ejemplo, 48 horas, 48 a 72 horas, 72 horas a 1 semana, 1 semana a 2 semanas, o más de 2 semanas después de la administración del profármaco PAA). En ciertos aspectos, la magnitud del aumento o disminución de la dosis puede estar basada en la precisa relación de PAA:PAGN. Por ejemplo, Una relación de PAA:PAGN que es ligeramente menor que 1 puede indicar que la dosis necesita ser aumentada ligeramente, mientras que una proporción significativamente menor que 1 puede indicar que la dosis necesita ser aumentada en un grado mayor. En ciertos aspectos, los pasos anteriores se repiten hasta que el sujeto exhibe una relación de PAA:PAGN que cae dentro del

intervalo diana.

En ciertas realizaciones, los métodos proporcionados en este documento pueden usarse en conjunción con los métodos descritos en el documento WO 2009/134460 y WO 2010/025303. En estas realizaciones, pueden determinarse los niveles de PAGN urinarios, además de la relación de PAA:PAGN en plasma, usándose las dos mediciones para evaluar o ajustar la dosis de profármaco PAA.

Un "profármaco PAA" tal como se usa en el presente documento se refiere a cualquier medicamento que contiene o se convierte en PAA después de la administración a un sujeto, o a cualquier sal, éster, ácido farmacéuticamente aceptable, o derivado del mismo. Un profármaco PAA se puede administrar por cualquier vía, incluyendo la administración oral o parenteral. Un profármaco PAA se puede convertir directamente al PAA (por ejemplo, una sal o éster de PAA; PBA o una sal o éster del mismo tal como NaPBA), o puede ser convertido en PAA a través de un intermedio (por ejemplo, un pre-profármaco tal como HPN-100). Otros ejemplos de profármacos PAA incluyen butiroiloximetilo-4-fenilbutirato. El profármaco PAA utilizado en la invención es HPN-100.

Un ajuste de la dosis de HPN-100 como se discute en el presente documento puede referirse a un cambio en la cantidad de fármaco por administración (por ejemplo, un aumento de una primera dosis de 3 ml a una segunda dosis de 6 mL), un cambio en el número de la administración dentro de un período de tiempo particular (por ejemplo, un aumento de una vez al día a dos veces al día), o cualquier combinación de los mismos.

Un "sujeto en necesidad del mismo" tal como se usa aquí se refiere a cualquier individuo que tiene una condición o se sospecha que tiene una condición para la cual se espera que la administración de un profármaco PAA será beneficiosa. Por ejemplo, un sujeto puede ser un individuo con un trastorno de la retención de nitrógeno o se sospecha que tiene un trastorno de la retención de nitrógeno, incluyendo por ejemplo UCD, EH, y/o insuficiencia renal/nefropatía terminal (Lee 2010; McGuire 2010; Lichter 2011). Del mismo modo, un sujeto puede tener o se sospecha que tendrá otra condición para la cual se espera que la administración del profármaco PAA será beneficiosa, incluyendo, por ejemplo cáncer (Thiebault 1994; Thiebault 1995), trastornos neurodegenerativos tales como la enfermedad de Huntington (Hogarth 2007), esclerosis lateral amiotrófica (ALS) (Cudkowicz 2009), y la atrofia muscular espinal (SMA) (Mercuri 2004; Brahe 2005), trastornos metabólicos (por ejemplo, enfermedad de orina sirope de arce (MSUD) (Bruneti-Pieri 2011), o la enfermedad de células falciformes (Hines 2008) .

A un sujeto al que se ha administrado previamente HPN-100 le puede haber sido administrado el fármaco para cualquier duración de tiempo suficiente para alcanzar el estado estacionario. Por ejemplo, el sujeto puede haber sido administrado el fármaco en un período de 2 a 7 días, 1 semana a 2 semanas, 2 semanas a 4 semanas, 4 semanas a 8 semanas, 8 semanas a 16 semanas, o más de 16 semanas.

Un "profármaco PAA" Tal como se usa en el presente documento se refiere a cualquier medicamento que contiene o se convierte en PAA después de la administración a un sujeto, o a cualquier sal, éster, ácido farmacéuticamente aceptable, o derivado del mismo. Un profármaco PAA se puede administrar por cualquier vía, incluyendo la administración oral o parenteral. Un profármaco PAA se puede convertir directamente al PAA (por ejemplo, PBA o una sal del mismo tal como NaPBA), o puede ser convertido en PAA a través de un producto intermedio (por ejemplo, un pre-profármaco tal como HPN-100). Otros ejemplos de profármacos incluyen PAA butiroiloximetilo-4-fenilbutirato. El profármaco PAA utilizado en la invención es HPN-100.

Un ajuste de la dosis de HPN-100 como se discute en el presente documento puede referirse a un cambio en la cantidad de fármaco por administración (por ejemplo, un aumento de una primera dosis de 3 mL a una segunda dosis de 6 mL), un cambio en el número de la administración dentro de un período de tiempo particular (por ejemplo, un aumento de una vez al día a dos veces al día), o cualquier combinación de los mismos.

Los términos "tratar", "tratando" o "tratamiento" tal como se usa en el presente documento puede referirse a prevenir un trastorno, retardar la aparición o la tasa de desarrollo de un trastorno, reduciendo el riesgo de desarrollar un trastorno, prevenir o retrasar el desarrollo de los síntomas asociados con un trastorno, reduciendo o terminando los síntomas asociados con un trastorno, generando una regresión completa o parcial de un trastorno, o alguna combinación de los mismos. Por ejemplo, cuando el trastorno a tratar es un trastorno de retención de nitrógeno, "tratar" puede referirse a la reducción de los niveles de nitrógeno de residuos debajo de un nivel umbral, la prevención de los niveles de nitrógeno de residuos de alcanzar un nivel umbral, disminuyendo la probabilidad de que los niveles de nitrógeno de residuos exceda de un nivel de umbral, reduciendo o terminando los síntomas asociados con los niveles de nitrógeno de residuos elevados, o una combinación de los mismos.

Con respecto a los métodos de tratamiento descritos en este documento, la interpretación de la relación de PAA:PAGN debe realizarse en el contexto del objetivo terapéutico. Por ejemplo, en sujetos que reciben tratamiento para un trastorno de retención de nitrógeno, el objetivo terapéutico es la eliminación de nitrógeno de desechos en forma de PAGN. En los sujetos que reciben tratamiento para otros trastornos para los que se espera que la administración de HPN-100 será beneficiosa (por ejemplo, trastornos neurodegenerativos, MSUD), el objetivo terapéutico es la consecución de manera segura de los niveles plasmáticos diana de PAA y/o PBA.

Puede usarse cualquier método conocido en la técnica para obtener una muestra de sangre plasma. Por ejemplo, la sangre de un sujeto se puede dibujar en un tubo que contenía heparina o ácido etilendiaminotetraacético (EDTA). En ciertas realizaciones, la muestra se puede colocar en hielo y se centrifugó para obtener plasma dentro de los 15 minutos de la recogida, almacenados a 2-8°C (36-46°F) y se analizaron dentro de 3 horas de la recogida. En otras realizaciones, la muestra de plasma sanguíneo se congela rápidamente, se almacena a <- 18°C (< 0 grados Fahrenheit) y se analizó en un momento posterior. Por ejemplo, la muestra puede ser analizada en 0-12 horas, 12-24 horas, 24-48, 48-96 horas después de la congelación, o dentro de cualquier otro período de tiempo durante el que la muestra ha demostrado estabilidad. En ciertas de estas realizaciones, la muestra de sangre se almacena a una temperatura entre 0-15°C, como por ejemplo 2-8°C. En otras realizaciones, la muestra de sangre se almacena por debajo de 0°C o por debajo de -18°C.

La medición de PAA y los niveles de PAGN en una muestra de plasma se lleva a cabo usando técnicas conocidas en la técnica. Por ejemplo, los niveles de PAA y PAGN pueden medirse usando cromatografía de líquidos/análisis de espectrometría de masas.

EJEMPLOS

Ejemplo 1: Análisis de relación de PAA:PAGN en sujetos UCD y EH:

Plasma PAA y niveles de PAGN y la relación PAA:PAGN fueron analizados en más de 4000 muestras de plasma obtenidas de diversos ensayos clínicos de adultos sanos, adultos hepáticamente impedidos con cirrosis Child-Pugh B o C clínicamente descompensada, y pacientes UCD con de 29 días o más. Los adultos sanos y con insuficiencia hepática recibieron NPD-100, mientras que los sujetos UCD recibieron tanto HPN-100 como NaPBA. Poblaciones de ensayos clínicos se resumen en las Tablas 1 y 2.

Tabla 1: Los estudios clínicos y poblaciones de análisis

| **Grupo de estudio** | **Descripción** | **Demografía** | **Protocolos incluidos** | **Poblaciones de análisis** |
|---|---|---|---|---|
| 1 | Exposición a corto plazo (<= 2-4 semanas) en sujetos UCD | Adultos y niños de edades de 29 o más días (N = 81) | UP 1204-003 HPN-100-005 SO HPN-100-006 100-012 HPN- | A, B |
| 2 | Exposición a largo plazo en UCD y sujetos HE | Adultos y niños mayores de 6 años o mayores (N = 180) | HPN-100-005SE HPN-100-007 HPN-100-008 Parte B | A |
| 3 | Exposición a corto plazo (<= 4 semanas) en sujetos con disfunción hepática | Adultos (n = 15) | HPN-100-008 Parte A | A, B |
| 4 | Exposición a corto plazo (<= 4 semanas) en sujetos sanos | Adultos (N = 98) | HPN-100-010 | A, B |

La población de análisis A consistió en niveles cuantificables de metabolitos de PAA y PAGN derivados de todos los estudios descritos anteriormente. Todos los niveles de PAA y PAGN utilizados para el análisis procedían de muestras de sangre extraídas una vez que la dosificación con NaPBA o HPN-100 había alcanzado el estado estacionario. La población de análisis B consistió en niveles cuantificables de metabolitos PAA y PAGN durante los estudios en los que se analizaron farmacocinética, extrayéndose sangre durante 12 o 24 horas en estado estacionario y conociéndose la sincronización de la muestra de sangre en relación con la dosificación. Los sujetos en los grupos de estudio 1, 3 y 4 anteriores contribuyeron a estos puntos. La población de análisis B era la fuente de los análisis que examinaron cómo los niveles de PAA cambian con el tiempo en relación con la administración, donde la dosificación podría haber sido, ya sea con NaPBA o HPN-100. Para ser elegible para la población de análisis B, el momento de la extracción de sangre en relación con el momento de inicio de dosificación durante el periodo de administración tuvieron que haberse registrado.

Los datos sobre los niveles de metabolitos se agruparon en una amplia gama de niveles de edad-bebés, niños pequeños, niños, adolescentes y adultos. Todos los niños, definidos como de edades menores de 18 años, eran pacientes UCD. La mayoría de los puntos de muestreo de sangre provenían de los adultos (89,4%). Los recién nacidos (<29 días de edad) no fueron estudiados en cualquiera de los ensayos clínicos para el agente de investigación NPD-100. La población de puntos de muestreo de sangre fue aproximadamente igualmente dividida

entre mujeres y hombres (57,3% mujeres, 42,7% hombres).

Para examinar la capacidad predictiva de Relaciones PAA:PAGN, se consideró un sujeto que ha alcanzado un alto valor de PAA si cualquier valor PAA hasta 24 horas desde el inicio de la dosificación era igual o superior de 400 µg/ml o igual o superior de 500 µg/mL. Las relaciones PAA:PAGN se agruparon en uno de los tres esquemas de categorización: a) [0 - <= 2,0], [> 2,0], b) [0- <= 2,5, > 2,5], c) [0- < = 3,0, > 3,0]. El resultado categórico de medidas repetidas se modeló utilizando GEE con una función de enlace logit, categoría de relación como la variable independiente, y SUBJECTID como el factor de medidas repetidas. Los intervalos de confianza para las probabilidades predichas se calcularon por estimación bootstrap de 1000 remuestreos de los datos originales, como se detalla en Davison y Hinkley, "Bootstrap Methods and Their Application," Cambridge Univ. Press (1997), pp. 358-362.

Los resultados se resumen en las Figuras 2-5. Se observó una relación curvilínea sorprendente entre los niveles de plasma PAA y relación de PAA:PAGN en cualquier punto de tiempo dado. La Figura 2A muestra la relación entre la relación de concentraciones de PAA:PAGN y los niveles de PAA absolutos en microgramos por mililitro entre muestras de sangre que tenían valores cuantificables tanto para PAA como PAGN. El eje de relación (es decir, 'X' del eje) se traza en una escala logarítmica (base e). Para relaciones de menos de 1,0, los aumentos en relación no están asociados con niveles correspondientemente elevados o aumento de PAA. Por encima de proporciones de 1,0, hay un aumento gradual de los niveles de PAA, y una fase de expansión notable en los niveles de PAA que comienza en la proximidad de una relación de 2,0. Este hallazgo sugiere que cuando la relación de precursor PAA al producto PAGN se aproxima a valores más altos, los valores de PAA también son correspondientemente altos. Este aumento en la proporción de precursor (PAA) a producto (PAGN) implica conversión ineficaz de PAA a PAGN, independientemente de si la PAA se deriva de HPN-100 o NaPBA.

Para determinar si acumulación excesiva de PAA es una función de la dosificación, los diagramas mencionados anteriormente se repitieron, pero ajustándose esta vez por nivel de dosis asignada de NaPBA o HPN-100 en el momento de la extracción de sangre. Dado que la población UCD consistía en una mezcla de los niños y adultos sometidos tanto a la terapia a corto plazo como a la terapia a largo plazo, la dosis diaria asignada total para pacientes con UCD se estandarizó a la superficie corporal y en gramos PBA-equivalentes metro$^2$. Los sujetos sanos y EH eran todos adultos y su dosis asignada no se ajustó por la superficie corporal. Se registraron los niveles de dosis para los sujetos sanos y los sujetos EH se informaron en HPN-100 equivalente mL. Se informó de niveles de dosis para los sujetos UCD en gramos NaPBA-equivalentes.

El exceso de PAA sobre PAGN, indicado por proporciones más grandes a medida que aumenta PAA, era evidente en todos los grupos de dosificación, las poblaciones de enfermedad, y tipos de tratamiento en pacientes con UCD (es decir, se aplica tanto a NaPBA como HPN-100). Este hallazgo sugiere que el análisis de relación de precursor (PAA) a producto (PAGN) puede ser predictivo de la eficacia de la conversión entre los pacientes con o sin disfunción hepática (pacientes con UCD tienen una función hepática normal, aparte de su disfunción de ciclo de urea) e independientemente de la dosis. Como corolario, la presencia de disfunción hepática (por ejemplo, cirrosis) por sí mismo, no es necesariamente un factor determinante fiable de si un paciente en particular está en riesgo de altos niveles de PAA.

La capacidad de relaciones PAA:PAGN para predecir las concentraciones de PAA extremadamente altas de plasma se determinó mediante el modelado de la probabilidad de que un sujeto excedería un valor PAA de 400 o 500 µg/ml en cualquier momento durante un período de dosificación de 24 horas, en base a la relación de PAA a PAGN, calculada antes de la dosis (presumiblemente punto mínimo), 12 horas después de la dosificación (presumiblemente pico), y la relación máxima encontrada en cualquier momento entre antes de la dosis y 12 horas después de la dosis. Este intervalo de 0-12 horas fue elegido por razones prácticas, ya que abarcaría todo el intervalo correspondiente a la visita habitual para pacientes ambulatorios.

Puesto que los sujetos podían tener múltiples periodos de dosificación dentro de un estudio clínico dado, la probabilidad se modeló usando las ecuaciones de estimación generalizadas. Tres categorizaciones de proporciones fueron modeladas: a) [0 - <= 2.0] [> 2,0], b) [0- <= 2,5, > 2,5], c) [0- <= 3,0, > 3,0]. Los modelos se repitieron con valores de PAA mayores o iguales a 500 µg/ml considerados extremos. Los resultados se resumen en la Tabla 3.
Tabla 3: Las probabilidades de los valores de PAA extremos encontrados durante el muestreo PK de 24 horas con relaciones PAA:PAGN (todos los sujetos combinados)

| Valor PAA considerado alto | | Tiempo de extracción de sangre utilizado para la clasificación de relación | Proporción observada de PAA/PAGN | Probabilidad de que un sujeto con esta relación excederá del Valor Alto* (%) | Intervalo de confianza bootstrapped 95% ** |
|---|---|---|---|---|---|
| [<=2, 0, >2, 0] | >=400 µg/mL | t=0 (ayunas) | <= 2, 0 > 2, 0 | 0, 005 (0, 5%) 0, 164 (16, 4%) | 0, 004, 0, 020 0, 041, 0, 281 |
| | | t = 12 horas | <= 2, 0 > 2, 0 | 0, 003 (0, 3%) 0, 227 (22, 7%) | 0, 004, 0, 021 0, 048, 0, 412 |
| | | MAX(0-12) | <= 2, 0 > 2, 0 | 0, 002 (0, 2%) 0, 143 (14, 3%) | 0, 004, 0, 010 0, 036, 0, 263 |
| | >=500 µg/mL | t=0 (ayunas) | <= 2, 0 > 2, 0 | no convergen | |
| | | t = 12 horas | <= 2, 0 > 2, 0 | no convergen | |
| | | MAX(0-12) | <= 2, 0 > 2, 0 | no convergen | |
| [<=2, 5, >2, 5] | >=400 µg/mL | t=0 (ayunas) | <= 2, 5 > 2, 5 | 0, 008 (0, 8%) 0, 191 (19, 1%) | 0, 004, 0, 023 0, 053, 0, 366 |
| | | t = 12 horas | <= 2, 5 > 2, 5 | 0, 007 (0, 7%) 0, 364 (36, 4%) | 0, 004, 0, 016 0, 125, 0, 752 |
| | | MAX(0-12) | <= 2, 5 > 2, 5 | 0, 003 (0, 3%) 0, 200 (20, 0%) | 0, 004, 0, 013 0, 050, 0, 381 |
| | >=500 µg/mL | t=0 (ayunas) | <= 2, 5 > 2, 5 | 0, 003 (0, 3%) 0, 084 (8, 4%) | 0, 004, 0, 011 0, 029, 0, 214 |
| | | t = 12 horas | <= 2, 5 > 2, 5 | no convergen | |
| | | MAX(0-12) | <= 2, 5 > 2, 5 | no convergen | |
| [<=3, >3] | >=400 µg/mL | t=0 (ayunas) | <= 3, 0 > 3, 0 | 0, 010 (1, 0%) 0, 205 (20, 5%) | 0, 004, 0, 025 0, 059, 0, 398 |
| | | t = 12 horas | <= 3, 0 > 3, 0 | 0, 013 (1, 3%) 0, 250 (25, 0%) | 0, 004, 0, 028 0, 113, 0, 576 |
| | | MAX(0-12) | <= 3, 0 > 3, 0 | 0, 003 (0, 3%) 0, 229 (22, 9%) | 0, 004, 0, 014 0, 059, 0, 438 |
| | >=500 µg/mL | t=0 (ayunas) | <= 3, 0 > 3, 0 | 0, 003 (0, 3%) 0, 102 (10, 2%) | 0, 004, 0, 010 0, 032, 0, 255 |
| | | t = 12 horas | <= 3, 0 > 3, 0 | no convergen | |
| | | MAX(0-12) | <= 3, 0 > 3, 0 | no convergen | |

Análisis repetido para cada categoría de corte de relación independiente.

* Probabilidad derivada de modelo de Ecuaciones de Estimación Generalizados con función de enlace logit.

** Intervalo de confianza se deriva del método descrito en Davison y Hinkley, "Bootstrap Methods and Their Application", Cambridge Univ. Press (1997), pp. 358-362, usando 1000 re-muestreos de datos originales.

Debido a la escasez de muestras en las que PAA igualó o superó 500 µg/mL, 400 µg/ml resultó ser un valor diana más estable y predecible (es decir, alto). De las tres categorizaciones de relación consideradas, el punto de

corte de 2,5 era el mejor discriminador y predictor del riesgo de experimentar un valor alto. Por ejemplo, en referencia a la Tabla 3, un sujeto con una relación PAA:PAGN > 2,5 a T = 12 horas después de la dosificación tiene una probabilidad de 36,4% (95% c.i. = 0,125, 0,752) de exceder de 400 µg/ml en PAA en algún momento durante el período de muestreo PK de 24 horas.

Los resultados fueron similares si la proporción se calcula a partir de plasma elaborado antes de la dosis, 12 horas después de la iniciación de la dosificación, o la relación máxima encontrada en cualquier momento entre antes de la dosis y 12 horas después de la iniciación de la dosificación.

Debido a la muy alta variabilidad intra-día de los niveles de plasma PAA, una relación de PAA:PAGN observada como superior a 2,0 en un cierto tiempo después de la dosificación no permanece mayor que 2,0 en tiempos posteriores. Para evaluar el tiempo óptimo para la obtención de una medición de la relación PAA:PAGN (es decir, el tiempo que da la mayor probabilidad de detectar correctamente un sujeto cuya relación de PAA:PAGN nunca es igual o superior a 2,0 durante el periodo de dosificación), las proporciones se evaluaron a 0 ( pre-dosis) y 2, 4, 6, 8, 10, y 12 horas después de la dosificación y modelado usando la metodología GEE. Diferencias por pares en la sensibilidad entre los puntos de tiempo fueron evaluadas utilizando medios LS y se calcularon intervalos de confianza.

La Figura 3 traza las probabilidades estimadas de detectar correctamente un perfil de relación que siempre es igual o excede 2,0. Con la excepción de tiempo = 2 horas y tiempo = 10 horas, los puntos de tiempo de 0, 4, 6, 8, y 12 horas después de la dosificación fueron igualmente eficaces en sujetos de detección que igualan o exceden una relación de PAA:PAGN de 2,0 en algún punto durante el periodo de dosificación. Sensibilidades estaban en el intervalo de 75-90 por ciento. Había muy pocas muestras de sangre recogidas a T = 10 horas para analizar las diferencias inter-tiempo. No se observaron diferencias en el valor predictivo. Por ejemplo, las muestras de sangre recogidas en t = 2 horas después de la dosificación tenían una probabilidad significativamente menor de detectar sujetos que igualan o exceden una relación de PAA:PAGN de 2,0 que las muestras recogidas a t = 0 (p = 0,036), 4 (*p* = 0,032), o 6 horas (p = 0,017) después de la dosificación (valores de p son las comparaciones de probabilidad t = 2 horas con otros puntos de tiempo). Del mismo modo, una muestra recogida en t = 12 horas después de la iniciación de la dosificación tenían la probabilidad más alta (87%) de detectar un sujeto cuya relación nunca es igual o superior a 2.0. Sin embargo, para los propósitos clínicos prácticos, las diferencias en el valor predictivo entre puntos de tiempo era trivial con respecto a la variabilidad dramáticamente mayor en los propios valores PAA, lo que significa que extracciones aleatorias de sangre se pueden utilizar para la medición de la relación PAA:PAGN.

La exploración adicional de la fluctuación de relaciones PAA:PAGN lo largo del tiempo se llevó a cabo dividiendo la población de sujetos en cohortes de acuerdo con la máxima relación de PAA:PAGN alcanzada durante el tiempo de muestreo PK 24 horas durante el periodo de dosificación. Las cohortes se dividieron en "bajo" (relación máxima <= 2,0), "medio" (relación máxima: 2,01-2,50) y "alto" (relación máxima> 2,50). Cada cohorte fue seguida con el tiempo durante el período de dosificación en t = 0 horas (dosis previa), 4, 6, y 8 horas después de la dosificación y la distribución de relaciones PAA:PAGN dentro de la cohorte resumida usando diagramas de cajas y bigotes en cada punto de tiempo. Este análisis se realizó para la población PK de punto de tiempo específico en su conjunto (población de análisis B), así como para cada subpoblación de enfermedad por separado.

La Figura 4 traza la progresión de relaciones para todos los sujetos combinados. Cada "panel" de la trama que divide el espacio de gráficos en tres partes representa una cohorte. Los sujetos en el gran cohorte tenían relaciones elevadas durante el día y no sólo en un punto de tiempo determinado. Por lo tanto, los sujetos en esta cohorte (n = 73 períodos de sujeto/dosificación) comenzaron con altas relaciones (relación mediana> 2,5) y se mantuvo alta durante las primeras 12 horas. Este hallazgo es consistente con los hallazgos representados en la Figura 3 que revelaron la consistencia de la sensibilidad en las proporciones.

La relación entre los niveles de PAA y relaciones PAA:PAGN se analizó adicionalmente mediante la categorización proporciones en "baja" (relación máxima <= 2,0), (relación máxima: 2,01-2,50) "medio", y (relación máxima "alto" > 2,50). A diferencia del análisis anterior, este análisis no se asoció períodos sujetos/dosificación con determinadas cohortes (es decir, todas las muestras y todos los puntos de tiempo se combinan con respecto a la materia o período de dosificación).

La Figura 5A muestra los diagramas de caja y bigotes de los niveles de PAA agrupados en las categorías anteriores de relación de PAA:PAGN para todos los sujetos, mientras que la Figura 5B muestra lo mismo solamente para sujetos UCD y EH. Los resultados fueron muy similares en ambos conjuntos de análisis. Después de una prueba de Kruskal-Wallis global estadísticamente significativa (p <0,0001), las comparaciones por pares de los niveles de PAA se realizaron utilizando Wilcoxon-Mann-Whitney con una corrección de Bonferroni alfa de (0,0167). En ambos conjuntos de análisis, los coeficientes de más de 2,5 tuvieron niveles de PAA significativamente mayores (p <0,001) que cualquiera de proporciones entre 2,0 - 2,5 o proporciones de menos de 2,0. Además, proporciones entre 2,0 - 2,5 se asociaron con niveles de PAA significativamente más altos que las proporciones de menos de 2,0 (p <0,001).

Ejemplo 2: Análisis de relación de PAA:PAGN como una guía para ajuste de la dosis y el seguimiento en un paciente UCD:

El paciente 1 era una mujer parcial OTC de 15 años de edad que recibía HPN-100 como terapia de mantenimiento para su UCD a una dosis de 9 ml/día. El amoniaco de la paciente había sido controlado desde su última visita rutinaria hace aproximadamente 6 meses, pero se quejaba de dolor de cabeza y falta de apetito durante los últimos 3 días. Los niveles de amoníaco y de metabolitos se ensayaron después de ayuno durante la noche y mostraron los siguientes resultados: amoniaco 55 m mol/L, PAA y PAGN debajo de los niveles de cuantificación. El médico sospechaba incumplimiento en la administración de fármacos y repitió las pruebas en mediodía varias horas después del almuerzo y encontró los siguientes resultados: amoníaco: 117 m mol/L; PAA 55 µg/L, PAGN 121 µg/L, y relación de PAA:PAGN aproximadamente 0,5. El paciente indicó que había sido totalmente compatible con su medicación. Sobre la base de la relación PAA:PAGN de 0,5 y amoníaco de 117, el médico decidió aumentar la dosis de HPN-100 a 12 ml/día. Después de una semana de tratamiento con la nueva dosis de HPN-100, todos los síntomas se resolvieron y los ensayos de laboratorio después de un ayuno durante la noche mostraron lo siguiente: amoníaco 9 µmol/L; PAA 12,9 µg/L, PAGN de 9 µg/L, y relación de PAA:PAGN de 1,3. Pruebas a mediodía mostraron lo siguiente: amoniaco 35 µmol/L, PAA 165 µg/L, PAGN 130 µg/L, y una relación de PAA:PAGN de ~ 1,2. Se consideró el paciente controlado y la dosis se mantuvo en 12 ml/día.

Ejemplo 3: Análisis de relación de PAA:PAGN como una guía para ajuste de la dosis en un paciente UCD:

El paciente 2 era un 1 año de edad macho OTC de recibir 600 mg/kg de NaPBA por día. El paciente presentaba una mala alimentación y somnolencia. Las pruebas de laboratorio mostraron niveles de amoníaco de <9 µmol/L, los niveles de PAA de 530 µg/L, los niveles de PAGN de 178 µg/L, y una relación de PAA:PAGN de> 2,5, lo que sugiere que la dosis de NaPBA era mayor que la que el paciente podría convertir efectivamente PAGN. El médico tratante decidió reducir la dosis de NaPBA a 450 mg/Kg/día. Después de una semana de tratamiento con la nueva dosis, la madre del paciente informó que estaba comiendo bien y ya no estaba somnolienta. Las pruebas de laboratorio mostraron lo siguiente: amoniaco 20 µmol/L, PAA 280 µg/L, y PAGN 150 µg/L.

Ejemplo 4: Análisis de relación de PAA:PAGN como una guía para la evaluación de importancia de un alto nivel de PAA en un paciente UCD:

El paciente 3 es una mujer de OTC de 25 años de edad que está siendo tratada con HPN-100. El médico tuvo que aumentar la dosis de HPN-100 varias veces a fin de lograr amoníaco clínico y de sangre dentro de límites normales. El paciente 3 se trató a una dosis de 18 ml/día para su UCD durante el mes pasado. En su próxima visita al consultorio, ella no tenía ninguna queja y no se reportaron los siguientes resultados de laboratorio: amoniaco 22 µmol/L, PAA 409 µg/L, PAGN 259 µg/L, y relación de PAA:PAGN de 1,5. A pesar de los niveles relativamente altos de PAA del paciente, la relación de PAA:PAGN indica que el sujeto estaba siendo tratado adecuadamente y que el paciente era capaz de metabolizar eficazmente la alta dosis de HPN-100 que recibía. El médico decidió continuar con el tratamiento según lo previsto. Ejemplo 5: Análisis de relación de PAA:PAGN como una guía para ajuste de la dosis en un paciente con atrofia muscular espinal y la enfermedad hepática concomitante:

El paciente 4 era una mujer de 2 años a la que se trataba con una forma líquida de NaPBA para su SMA de tipo II. El paciente también sufría de infección de virus de hepatitis C crónica por vía perinatal adquirida de su madre infectada. El paciente había sufrido leve a moderada elevación de las transaminasas desde su nacimiento, y episodios de ictericia y una biopsia de hígado reciente han confirmado la presencia de la hepatitis crónica y cirrosis. El paciente estaba recibiendo 4 g de NaPBA por día, y el médico quería aumentar la dosis debido al crecimiento del paciente, pero estaba preocupado por los efectos de la disfunción del hígado en el metabolismo de fármacos. El médico ordenó niveles de plasma PAA y PAGN y los resultados fueron los siguientes: PAA 110 µg/L, PAGN 85 µg/L, relación de PAA:PAGN de 1,2. El médico decidió aumentar la dosis de NaPBA a 6 g/día, y repitió las mediciones de nivel de metabolitos en plasma después de una semana de tratamiento con el nuevo régimen. Los resultados fueron los siguientes: PAA 155 µg/L, PAGN 110 µg/L, y relación de PAA:PAGN de 1,4. El médico decidió dejar al paciente en 6 g/día de NaPBA ya que su hígado parece tener la capacidad adecuada para metabolizar 6 g de NaPBA.

Ejemplo 6: Análisis de relación de PAA:PAGN como una guía para el ajuste de la dosis en un paciente con la enfermedad de Huntington y la enfermedad hepática concomitante:

El paciente 5 era un varón de 56 años diagnosticado con la enfermedad de Huntington hace varios años. También tenía un historial de abuso de alcohol y fue diagnosticado con cirrosis alcohólica el año pasado. Su esposa lo inscribió en ensayos clínicos que implicaron un fármaco experimental que administra PBA a un ritmo lento, permitiendo así dosificación del fármaco una vez al día. El estudio tuvo una opción para aumento de la dosis después de 2 semanas de tratamiento si es clínicamente seguro. Aunque el protocolo no excluye los pacientes con disfunción hepática, el investigador estaba preocupado por el metabolismo PBA y la posible acumulación de PAA en dosis más altas debido a la disfunción hepática del paciente. El investigador inscribió el paciente en el grupo de dosis baja y realizó mediciones de plasma PBA, PAA y PAGN después de 6 semanas de tratamiento con el fármaco experimental. El paciente informó de una mejoría en sus síntomas de EH sin queja específica. Los niveles de

metabolitos de plasma después de seis semanas de tratamiento fueron los siguientes: PBA 45 µg/L; PAA 159 µg/L, y PAGN 134 µg/L. La dosificación del fármaco se incrementó en un 50%. Después de cuatro días de tratamiento en la nueva dosis, el paciente comenzó a quejarse de episodios cortos de somnolencia. El investigador realizó un análisis de sangre y se observó lo siguiente: PBA 44 µg/L; PAA 550 µg/L, PAGN 180 µg/L, y relación de PAA:PAGN de> 3. La relación de PAA:PAGN mayor de 2,5 indica que el hígado del paciente no podría metabolizar eficazmente la dosis más alta del fármaco, y por lo tanto el investigador decidió reducir la dosis del fármaco experimental y no continuar el aumento de la dosis.

Ejemplo 7: Análisis de relación de PAA:PAGN como una guía para el ajuste de la dosis en un paciente con MSUD:

El paciente 6 era una mujer de 4 años a la que se trata con HPN-100 para MSUD. El paciente recibía 6 mL de HPN-100 una vez al día, y el médico quería aumentar la dosis debido al crecimiento del paciente. Mediciones de plasma PAA y PAGN al mediodía después de la dosis de la medicación fueron las siguientes: PAA 550 µg/L, PAGN 180 µg/L, y relación de PAA:PAGN de > 2,5. El médico cree una dosis menor de HPN-100 no sería tan eficaz para el paciente, y decidió cambiar el régimen de dosificación a 3 mL BID en lugar de 6 mL QD basado en la alta relación de PAA:PAGN. Las pruebas se repitieron después de una semana de tratamiento con el nuevo régimen BID, con los siguientes resultados: PAA 350 µg/L, PAGN 190 µg/L, y relación de PAA:PAGN de 1,8. Basándose en la relación de 1,8, el médico decidió dejar al paciente en 3 mL BID ya que puede utilizar de manera eficiente una dosis total de 6 mL/día administrada en dosis divididas, pero no como un bolo. Ejemplo 8: Análisis de relación de PAA:PAGN como una guía para monitorizar un paciente con EH y la insuficiencia hepática:

El paciente 7 era un varón de raza blanca de 55 años con diagnóstico de cirrosis alcohólica hace 3 años. Sus niveles de transaminasas fueron ligeramente elevados y habían experimentado recientemente episodios leves de EH. En la última evaluación en el momento de ingreso en el hospital para un episodio EH de grado 2, el paciente tenía una amoniaco en sangre de 85 µmol/L, ALT de 55 U/L, y AST de 47 U/L, y una puntuación MELD calculada de 11. El médico decidió iniciar una terapia de eliminación de amoníaco para el paciente y lo trató con HPN-100 6 mL BID. El paciente volvió para una visita de seguimiento después de 3 meses, tiempo durante el cual había sufrido ningún episodio de EH. Sus evaluaciones de laboratorio mostraron lo siguiente: amoníaco de 30 µmol/L, el nivel de plasma PAA de 285 µg/mL, nivel PAGN de 120 µg/L, ALT de 66 U/L, AST de 50 U/L, y puntuación calculada MELD de 13. El médico sospecha que la función hepática del paciente puede estar deteriorándose y se preocupó por la posible acumulación de PAA. Se calculó la proporción de PAA a PAGN como 2,4, y se confirmó que el paciente no había experimentado cualquier síntoma inusual, como mareos, dolor de cabeza o náuseas. Teniendo en cuenta el control del paciente amoníaco, la falta de efectos secundarios específicos, y la remisión clínica, el médico decidió no cambiar la dosis y ver al paciente dentro de dos semanas para repetir las pruebas de laboratorio. El médico también advirtió al paciente de que debía llamarle de inmediato si experimentara cualquiera de estos síntomas. Dentro de dos semanas, las evaluaciones de laboratorio del paciente fueron esencialmente sin cambios desde la visita anterior, con una relación de PAA a PAGN de 2,3, y el paciente no informó de ningún síntoma inusual. Basado en la relación de PAA:PAGN de menos de 2,5, el médico decidió continuar la dosificación con 6 mL BID de HPN-100 hasta la próxima visita programada.

Ejemplo 9: Análisis de relación de PAA:PAGN como una guía para la vigilancia del tratamiento en un paciente con la enfermedad de Parkinson:

El tratamiento HPN-100 se inició a una dosis de 4 mL dos veces al día en un paciente con la enfermedad de Parkinson para producir niveles de circulación diana de PAA que se espera que producen un beneficio clínico. Después de una semana de tratamiento, que el nivel circulante de PAA del paciente de 50 µg/ml estaba por debajo del intervalo diana, y se determinó que la relación de PAA:PAGN era 0,9. El médico concluyó que la dosis HPN-100 se podría ajustar de manera segura hacia arriba, y la dosis se incrementó en un 50% a 6 mL BID. Se encontró que el nivel de PAA y la relación PAA/PAGN una semana más tarde eran 75 µg/ml y 1,4, respectivamente. Al ser 75 µg/ml todavía por debajo del nivel diana PAA terapéutico y la relación de PAA:PAGN de 1,4 indicó que la conversión de PAA a PAGN no había sido saturada, la dosis del paciente se aumentó de nuevo en un 50% a 9 mL BID. Una semana más tarde, se encontró que la relación de PAA y PAA:PAGN del paciente era 159 µg/ml y 2,6, respectivamente. Dado que el nivel PAA diana era ahora aproximadamente terapéutico pero la relación de PAA:PAGN indicó que la conversión de PAA a PAGN se acercaba a la saturación, la dosis HPN-100 se redujo a 8 mL BID, momento en el cual se determinó que el nivel de circulación de PAA del paciente estaba cerca del intervalo diana y se determinó que que su relación de PAA:PAGN era 2. La dosis del paciente no se ajustó adicionalmente y siguió siendo monitorizado.

REFERENCIAS


1. Brahe Eur J Hum Genet 13:256 (2005)
2. Bruneti-Pieri Human Molec Genet 20:631 (2011)
3. Brusilow Science 207:659 (1980)
4. Brusilow Pediatr Res 29:147 (1991)
5. Brusilow Metabolism 42:1336 (1993)

6. Chung Clin Cancer Res 6:1452 (2000)
7. Cudkowicz ALS 10:99 (2009)
8. Hines Pediatr Blood Cancer 50:357 (2008)
9. Hogarth Mov Disord 22:1962 (2007)
10. Lee Mol Genet Metab 100:221 (2010)
11. Lichter Mol Genet Metab 103:323 (2011)
12. McGuire Hepatology 51:2077 (2010)
13. Mercuri Neuromuscul Disord 14:130 (2004)
14. Mokhtarani Mol Genet Metab 105:342 (2012)
15. Moldave J Biol Chem 229:463 (1957)
16. Monteleone Mol Genet Metab 105:343 (2012)
17. Ong Am J Med 114:188 (2003)
18. Perrine Pediatr Ann 37:339 (2008)
19. Ryu J Neurochem 93:1087 (2005)
20. Thiebault Cancer Res 54:1690 (1994)
21. Thiebault Cancer 75:2932 (1995)

**REIVINDICACIONES**

**1.** Glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100) para su uso en un método para tratar un trastorno del ciclo de la urea en un sujeto que tiene discapacidad hepática, en donde el método comprende:

(a) administrar una primera dosis de HPN-100,
(b) medir los niveles de ácido fenilacético (PAA) y fenilacetilglutamina (PAGN) en plasma,
(c) calcular una relación de PAA:PAGN en plasma,
(d) determinar si la dosificación de (HPN-100) necesita ajustarse en base a si la relación de PAA:PAGN cae dentro de un intervalo diana de 1 a 2,5, donde una relación de PAA:PAGN por debajo del intervalo diana indica que la dosificación necesita aumentarse y una relación de PAA:PAGN por encima del intervalo diana indica que la dosificación necesita disminuirse, y
(e) administrar una segunda dosificación de HPN-100 en base a la determinación en (d).

**2.** Glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100) para su uso como en la reivindicación 1, en donde al sujeto que tiene una discapacidad hepática se la ha administrado anteriormente una primera dosificación de HPN-100.

**3.** Glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100) para su uso como en cualquier reivindicación anterior, en donde el sujeto tiene discapacidad hepática de moderada a grave.

**4.** Glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100) para su uso como en la reivindicación 3, en donde el sujeto tiene discapacidad hepática grave.

**5.** Glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100) para su uso como en la reivindicación 3, en donde el sujeto tiene discapacidad hepática moderada.

**6.** Glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100) para su uso como en cualquier reivindicación anterior, en donde el sujeto tiene 2 meses de edad o más.

**7.** Glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100) para su uso como en cualquier reivindicación anterior, en donde el intervalo diana es de 1 a 2.

**8.** Glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100) para su uso como en cualquier reivindicación anterior, en donde la medición de los niveles de PAA y PAGN se lleva a cabo de 48 horas a 1 semana después de que se haya administrado la primera dosificación de HPN-100.

**9.** Glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100) para su uso como en cualquier reivindicación anterior, en donde el HPN-100 se administra por vía oral.

**10.** Glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100) para su uso como en cualquier reivindicación anterior, en donde el sujeto está experimentando nauseas, dolor de cabeza, emesis, fatiga, debilidad, letargia, somnolencia, mareos, dificultad para hablar, pérdida de memoria, confusión, y desorientación antes de la administración de la primera dosificación.

**11.** Glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (HPN-100) para su uso como en la reivindicación 10, en donde el sujeto está experimentando nauseas, dolor de cabeza, somnolencia o confusión antes de la administración de la primera dosificación.

**Figura 1**

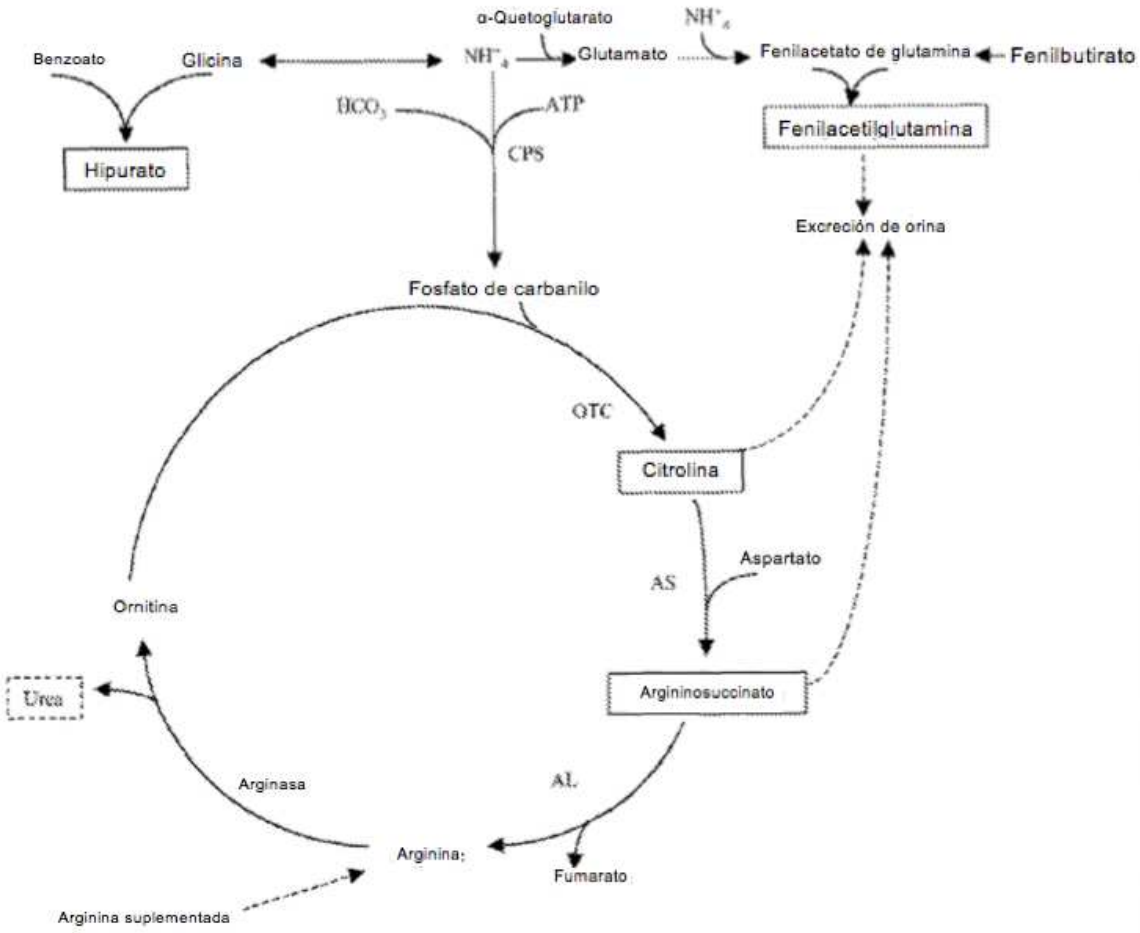

α-Quetoglutarato
$NH^+_4$
Benzoato
Glicina
$NH^+_4$
Glutamato
Fenilacetato de glutamina
Fenilbutirato
$HCO_3$
ATP
CPS
Hipurato
Fenilacetilglutamina
Excreción de orina
Fosfato de carbanilo
OTC
Citrolina
Aspartato
AS
Ornitina
Urea
Argininosuccinato
Arginasa
AL
Arginina
Fumarato
Arginina suplementada

**Figura 2A**

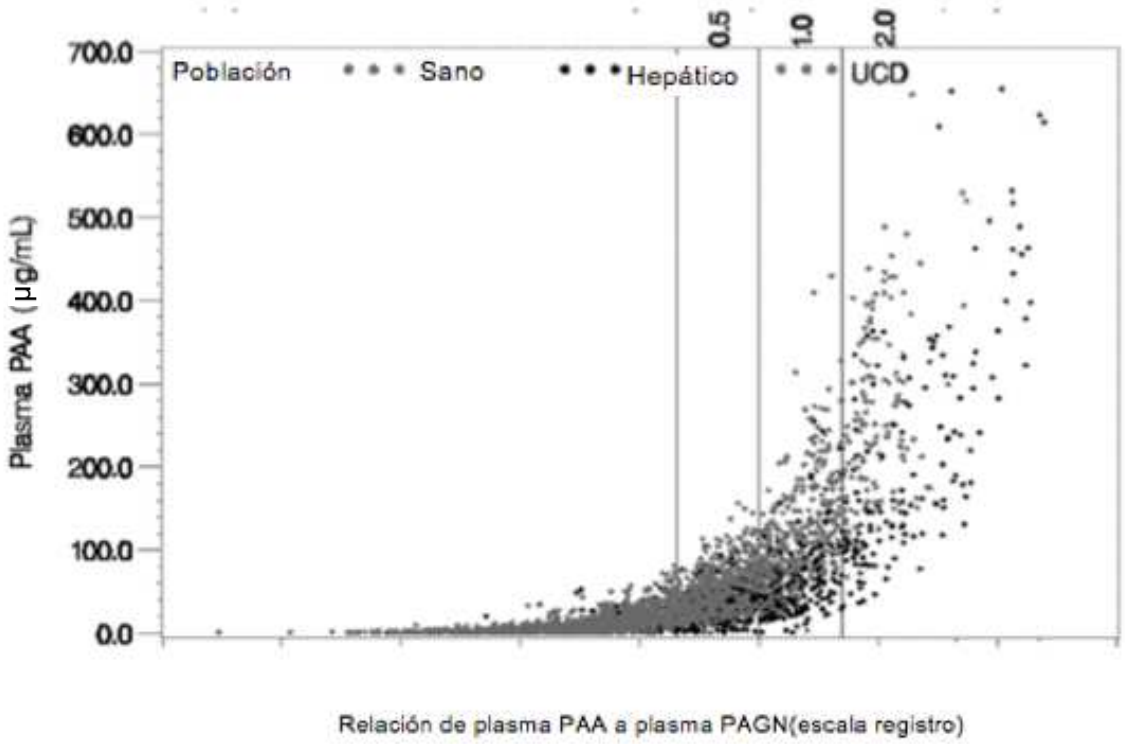
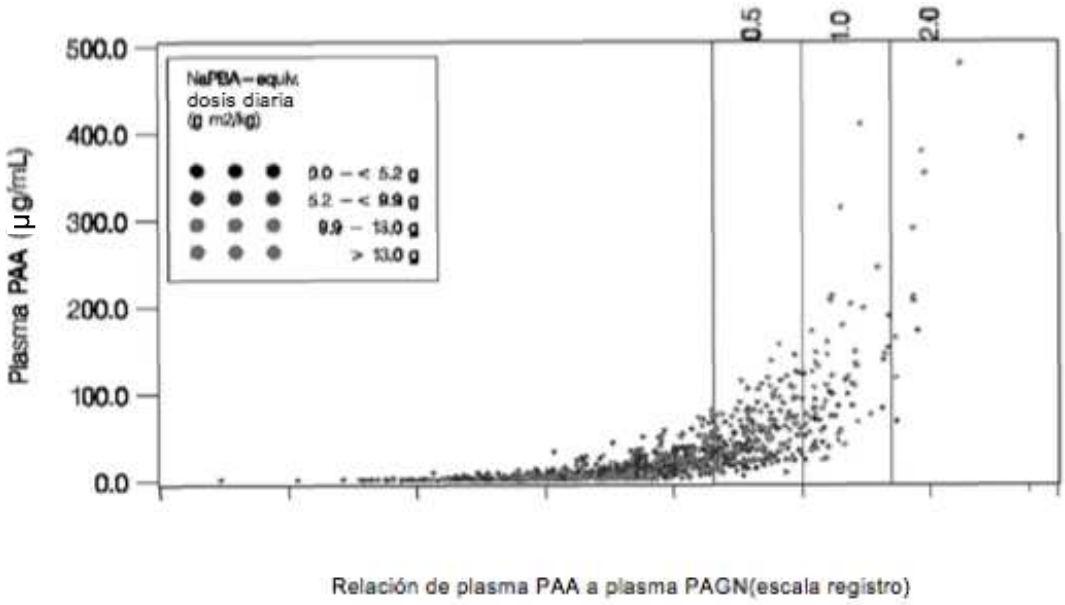

0.5
1.0
2.0
Población
Sano
Hepático
UCD
700.0
600.0
500.0
400.0
300.0
200.0
100.0
0.0
Plasma PAA (µg/mL)
Relación de plasma PAA a plasma PAGN(escala registro)

**Figura 2B**




Relación de plasma PAA a plasma PAGN(escala registro)

**Figura 2C**

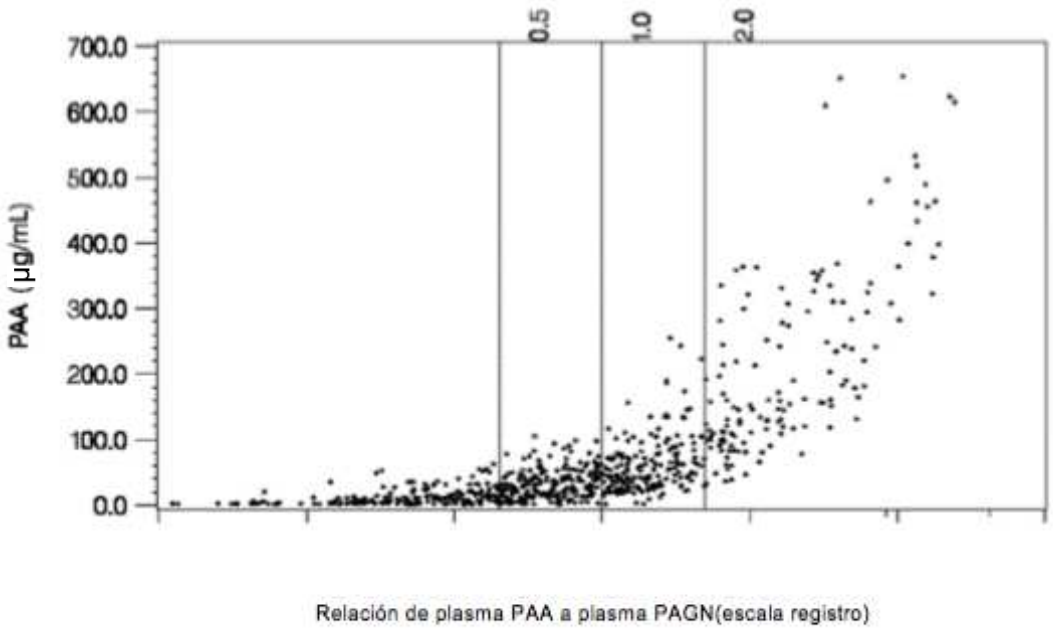
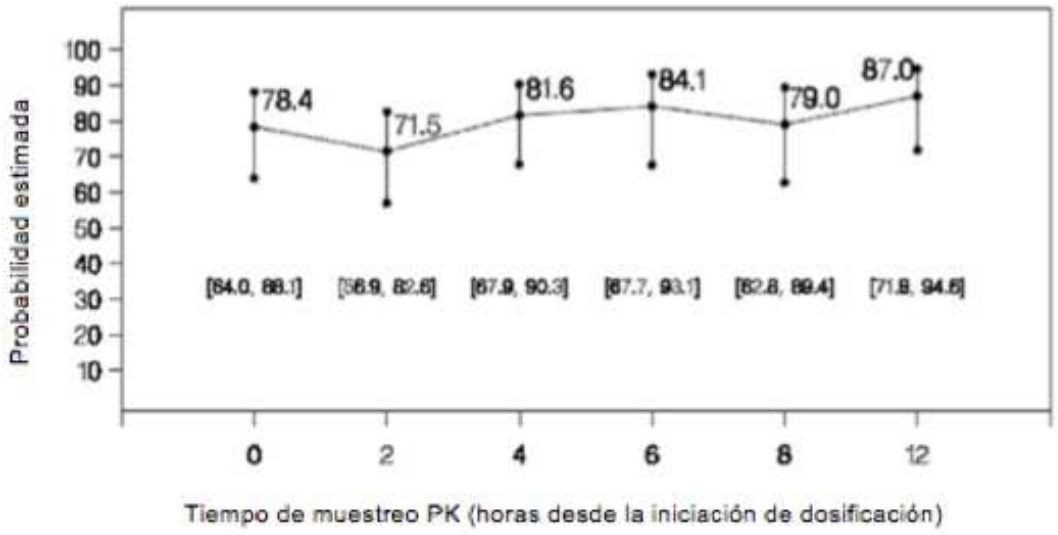

0.5
1.0
2.0
700.0
600.0
500.0
400.0
300.0
200.0
100.0
0.0
PAA (µg/mL)
Relación de plasma PAA a plasma PAGN(escala registro)

**Figura 3**




(=2 horas significa menos de t=0(p=0,038), t=4(p=0,032), y t=6(p=0,017)
Ninguna otra diferencia de tiempo estadísticamente significativa. Tiempo=10 omitido debido a demasiadas pocas observaciones

**Figura 4**

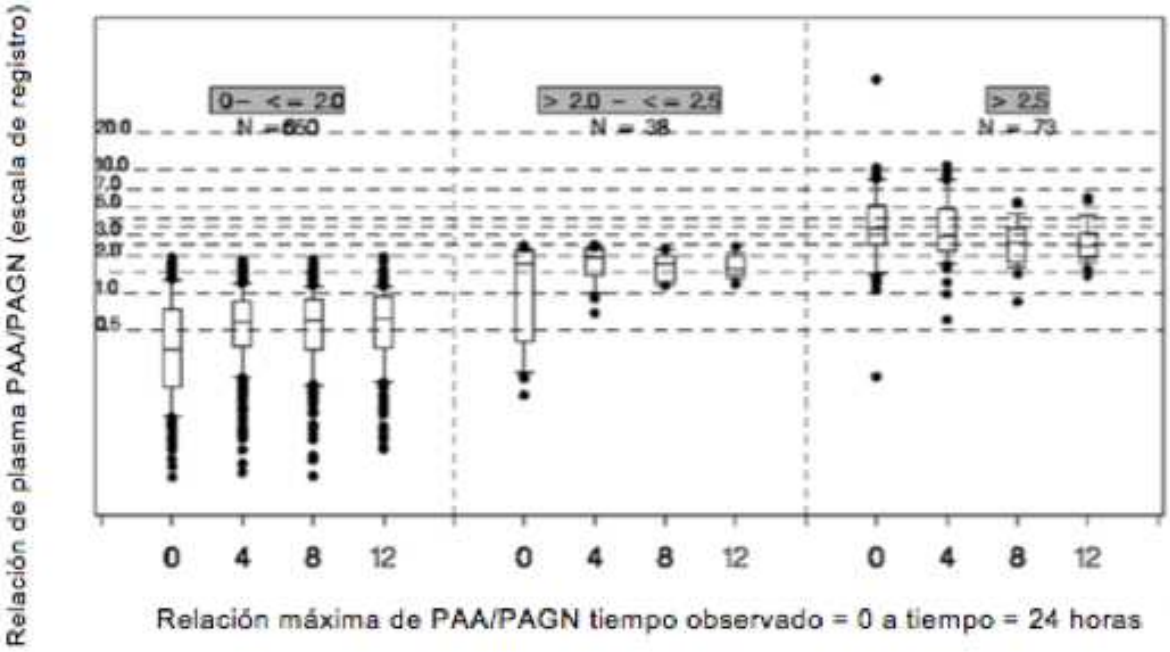
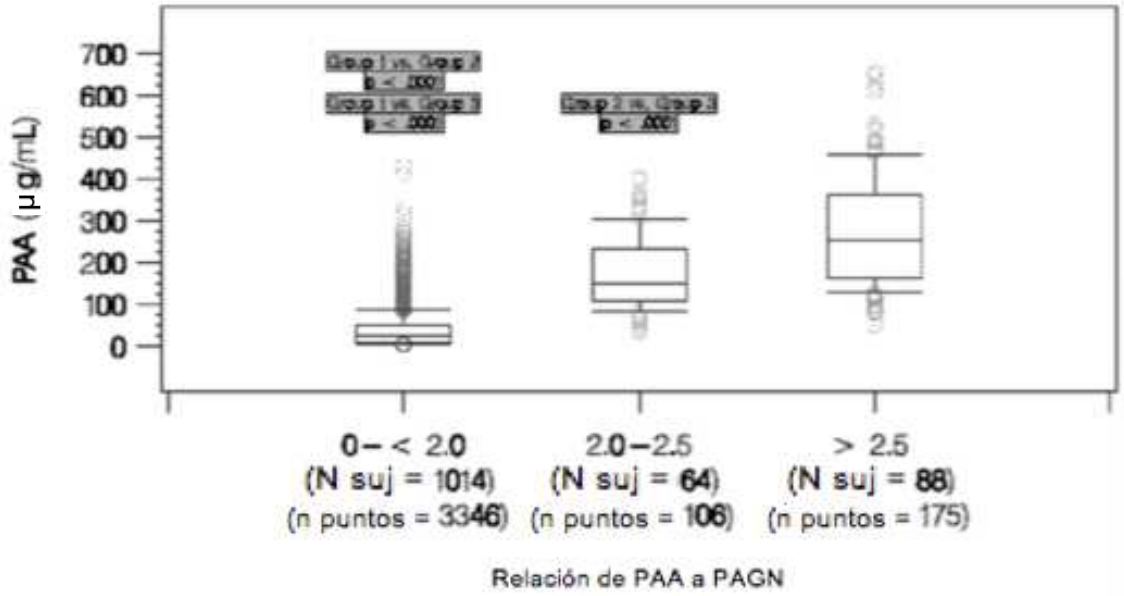

Relación de plasma PAA/PAGN (escala de registro)
0- <= 2.0
N = 660
> 2.0 - <= 2.5
N = 38
> 2.5
N = 73
0
4
8
12
Relación máxima de PAA/PAGN tiempo observado = 0 a tiempo = 24 horas

**Figura 5A**



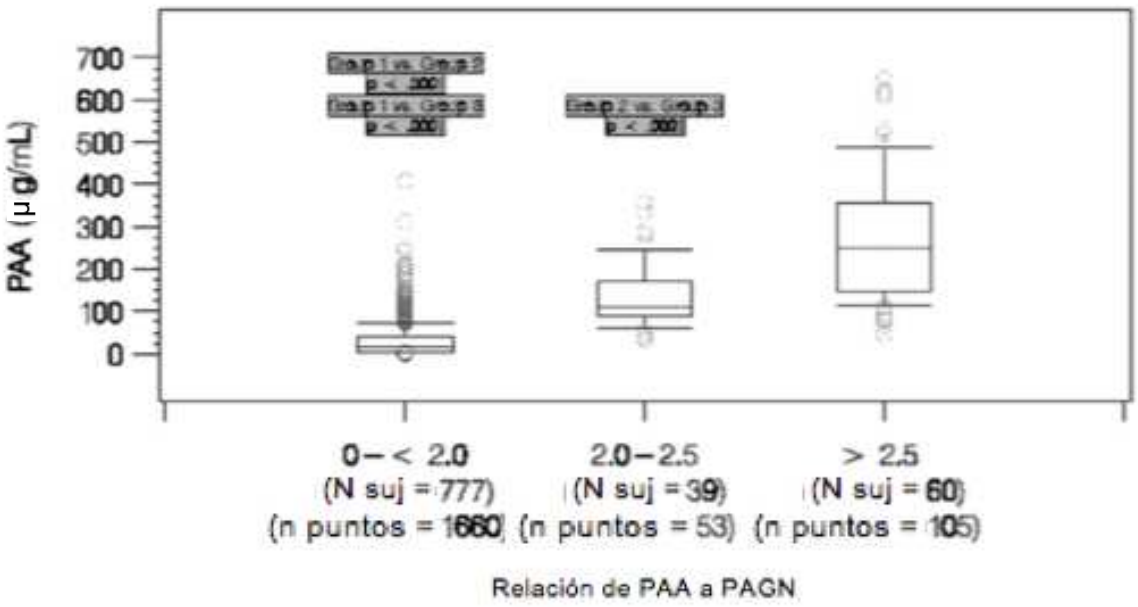


**Figura 5B**