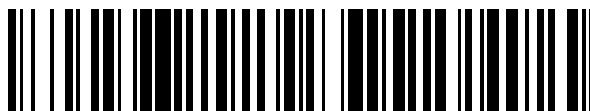


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 450 690**

51 Int. Cl.:

A61K 51/00 (2006.01)

A61K 31/198 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.06.2006 E 06780854 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.02.2014 EP 1898961**

54 Título: **Método para individualizar la terapia con levodopa/carbidopa utilizando una prueba respiratoria**

30 Prioridad:

30.06.2005 US 695503 P

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

25.03.2014

73 Titular/es:

**OTSUKA AMERICA PHARMACEUTICAL, INC.
(100.0%)
2440 RESEARCH BOULEVARD
ROCKVILLE, MD 20850, US**

72 Inventor/es:

**MODAK, ANIL S. y
KUROGI, YASUHISA**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 450 690 T3

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

DESCRIPCIÓN

Método para individualizar la terapia con levodopa/carbidopa utilizando una prueba respiratoria

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere, en general, a un método para determinar y evaluar la capacidad metabólica de la L-3,4-dihidroxifenilalanina (también conocida como, Levodopa; L-dopa; o LD) o la actividad de la DOPA descarboxilasa (DDC) en un sujeto mamífero individual a través de una prueba respiratoria, mediante la determinación de la cantidad relativa de $^{13}\text{CO}_2$ exhalado por el sujeto tras la administración intravenosa u oral de un sustrato marcado con ^{13}C , tal como la levodopa. La presente invención es útil como un análisis de fenotipo *in vivo* para la optimización de la dosis y el momento de administración del inhibidor de DOPA descarboxilasa (DDC) Carbidopa (CD) para la supresión sistémica del metabolismo de la dopamina en pacientes con enfermedad de Parkinson, mediante la evaluación de la actividad enzimática de la DDC usando el metabolito $^{13}\text{CO}_2$ en el aire espirado.

15 **Antecedentes de la invención**

Los enfoques médicos convencionales para el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad se basan solo en los datos clínicos, o se elaboran junto con una o varias pruebas diagnósticas. Este tipo de prácticas tradicionales a menudo conducen a opciones terapéuticas que no son óptimas para la eficacia de la terapia con los fármacos prescritos o para reducir al mínimo la probabilidad de efectos secundarios en un sujeto individual. El diagnóstico específico de la terapia (también conocido como teranóstico) es un campo de la tecnología médica emergente, que ofrece pruebas útiles para diagnosticar una enfermedad, elegir el régimen de tratamiento adecuado y controlar la respuesta de un sujeto. Es decir, el teranóstico es útil para predecir y evaluar la respuesta al fármaco en sujetos individuales, es decir, medicina individualizada. Por ejemplo, el conocimiento del fenotipo de un paciente o la capacidad para metabolizar el fármaco puede permitir a los médicos individualizar la terapia evitando así la posible toxicidad relacionada con el fármaco en los metabolizadores pobres y aumentar la eficacia. Las pruebas teranósticas también son útiles para seleccionar sujetos para tratamientos que son particularmente susceptibles de beneficiarse del tratamiento o para proporcionar una indicación temprana y objetiva de la eficacia del tratamiento en sujetos individuales, por lo que el tratamiento se puede modificar con la menor demora posible. Las pruebas teranósticas se pueden desarrollar en cualquier formato de prueba de diagnóstico adecuado, que incluye, pero no se limita a, p. ej., pruebas respiratorias no invasivas, pruebas de inmunohistoquímica, química clínica, inmunoanálisis, tecnologías basadas en células, y pruebas de ácidos nucleicos.

35 Un tratamiento médico convencional que necesita una prueba teranóstica fiable es el tratamiento terapéutico de la enfermedad de Parkinson (en lo sucesivo, a veces referida como "EP") con una combinación de levodopa (en lo sucesivo, a veces referida como "LD") y carbidopa (en lo sucesivo a veces referida como "CD") (Deleu et al., Eur J Clin Pharmacol. 41: 453-8, 1991).

40 Los síntomas de la EP dan como resultado en gran medida la pérdida de células productoras de dopamina en la región de la sustancia negra del cerebro de los mamíferos. Dado que la dopamina no cruza la barrera hematoencefálica (BHE), el uso de LD como un medio de terapia de reemplazo de neurotransmisor en la EP es ahora un régimen clínico convencional. Cuando la LD se toma por vía oral, algo de fármaco cruza la BHE en el sistema nervioso central y se convierte enzimáticamente en dopamina. Sin embargo, la LD se descarboxila sistémicamente en el hígado, el riñón, el tracto gastrointestinal y las células endoteliales de las paredes capilares. Esta descarboxilación periférica es responsable de efectos secundarios significativos en sujetos que incluyen náuseas, vómitos, arritmias cardíacas e hipotensión. Además, la LD que se convierte en dopamina por vía sistémica no puede entrar en el cerebro, lo que da como resultado una disminución del nivel de dopamina en el sistema nervioso central. La CD es un inhibidor de la descarboxilación de aminoácidos aromáticos que es útil para inhibir la descarboxilación periférica de LD por DDC. A diferencia de la LD, la CD no cruza la barrera hematoencefálica. La CD se administra habitualmente como un segundo fármaco con la LD para inhibir la descarboxilación periférica en el tratamiento de la EP. Es decir, la CD previene la descomposición de la LD antes de que pase al cerebro.

55 La cantidad de LD que entra en el cerebro de un sujeto es fundamental para un control óptimo de los niveles terapéuticos de la LD y el beneficio clínico consecuente de la LD. La administración eficaz de CD para inhibir la descarboxilación periférica de la LD es un factor importante que afecta a la cantidad de LD que entra en el cerebro de un sujeto. Por ejemplo, cuando se dispone de menos CD o su acción inhibitoria está comprometida, el metabolismo periférico de la LD por la DOPA descarboxilasa (en lo sucesivo, a veces referida como "DDC") es mayor y por lo tanto se encuentra disponible menos LD para la conversión enzimática mediada por DDC en el SNC. 60 La determinación de la dosis óptima de CD para el refinamiento de la liberación terapéutica de LD es confundida por la variabilidad del sujeto individual en la absorción de CD y/o la capacidad de respuesta. Los estudios que emplean LD marcada con isótopos estables (Durso et al., Clin. Pharmacol, 40: 854-860, 2000) mostraron que la absorción de CD es variable entre sujetos humanos con una consecuencia significativa para el grado de inhibición de la descarboxilación periférica entre los sujetos, así como el posterior nivel de reemplazo de la dopamina en el cerebro.

Los sujetos pueden ser clasificados como absorbedores de CD "buenos/rápidos" o absorbedores de CD "pobres/lentos" (Durso et al, J. Clin, Pharmacol, 40: 854-860, 2000). El nivel de inhibición de DDC de sujetos individuales a la misma dosis de CD también varía. A priori no hay ninguna manera de saber si un sujeto es "sensible a CD" y responderá bien a la administración de CD o es "insensible a CD" y no mostrará una marcada inhibición de DDC periférica con la administración de CD.

Mendelson et al. (J. Pharm. Pharmac., 1975, 27, 372-375) describen un método para determinar el metabolismo de la L-dopa en el cerebro y la periferia, mediante la administración de [^{1-14}C]L-dopa por vía intravenosa y por vía intraventricular a ratas, y medir el $^{14}\text{CO}_2$ exhalado. Un método para administrar [^{1-13}C]L-dopa a un sujeto y medir la excreción de cuerpo ya sea del propio compuesto o de uno de sus metabolitos se describe en el documento EP 1486785 A1. Daly et. al. (Arch. Biochem. Biophys., 1968, 126 (2), 593-598) describen el uso de ^{18}O -L-dopa en estudios con isótopos en el mecanismo de acción de la tirosina hidroxilasa suprarrenal; y Muller et. al. (Liebigs Ann. Chem., 1993, 0(5), 557-563) describen el uso de ^{18}O -L-dopa en estudios con isótopos de la biosíntesis de alcaloides de cularina. Degrazia et al. (Proc. Semin. Use Estable Isotop. Clin. Pharmacol., 1972, 71-98) describen un método para determinar la dosis óptima del inhibidor de la DOPA descarboxilasa MK486 mediante la administración de ^{14}C -DOPA y diferentes dosis de MK486 a pacientes y para determinar la dosis a la que el efecto de MK486 sobre el $^{14}\text{CO}_2$ exhalado alcanza una meseta.

Una preocupación clínica sustancial respecto a la LD es su asociación con el desarrollo de complicaciones motoras después de su uso a largo plazo en personas que padezcan EP. La estimulación dopaminérgica pulsátil como resultado de la absorción errática y la corta vida media de la LD han sido cuestiones centrales en los intentos de explicar este fenómeno. La evidencia sugiere que la alteración de la liberación de LD para proporcionar un suministro más continuo de este fármaco al cerebro puede dar como resultado un mejor control de los síntomas de la EP. Por lo tanto, existe una necesidad en la técnica de desarrollar nuevos análisis de diagnóstico útiles para evaluar la dependencia de la dosis de CD en la descarboxilación periférica de LD y la absorción de LD en el cerebro de los sujetos individuales que sufren de EP con el fin de determinar las dosificaciones de LD y CD optimizadas individuales.

Compendio de la invención

La presente invención se refiere a un método como se define mediante las reivindicaciones.

En un aspecto, la invención describe una preparación para la determinación de la capacidad metabólica de LD o la actividad de la enzima DDC en un sujeto mamífero, que comprende como ingrediente activo una LD en la que al menos uno de los átomos de carbono o de oxígeno están marcados con un isótopo, en donde la preparación es capaz de producir CO_2 marcado con isótopo después de la administración a un sujeto mamífero. En una realización, la preparación se marca con al menos un isótopo seleccionado entre ^{13}C ; ^{14}C ; y ^{18}O .

En otro aspecto, la invención describe un método para determinar la capacidad metabólica de la LD, que comprende la administración de una preparación que comprende como ingrediente activo una LD en la que al menos uno de los átomos de carbono o de oxígeno están marcados con un isótopo, en donde la preparación es capaz de producir CO_2 marcado con isótopo después de la administración a un sujeto mamífero, y medir el comportamiento de excreción de un metabolito marcado con isótopo excretado desde el cuerpo. En una realización del método, el metabolito marcado con isótopo se excreta del cuerpo en forma de CO_2 marcado con isótopo en el aire espirado.

En una realización, el método descrito por la invención es un método para determinar la capacidad metabólica de la LD en un sujeto mamífero, que comprende administrar a un sujeto mamífero una preparación que comprende como ingrediente activo una LD en la que al menos uno de los átomos de carbono o de oxígeno se marcan con un isótopo, en donde la preparación es capaz de producir CO_2 marcado con isótopo después de la administración a un sujeto mamífero, medir el comportamiento de excreción de un metabolito marcado con isótopo excretado desde el cuerpo; y evaluar el comportamiento de excreción obtenido en el sujeto. En una realización del método, se administra a un sujeto mamífero una preparación que comprende como ingrediente activo una LD en la que al menos uno de los átomos de carbono o de oxígeno están marcados con un isótopo, en donde la preparación es capaz de producir CO_2 marcado con isótopo después de la administración a un sujeto mamífero, se mide el comportamiento de excreción de CO_2 marcado con isótopo en el aire espirado, y se evalúa el comportamiento de excreción de CO_2 obtenido en los sujetos. En una realización del método, a un sujeto mamífero se le administra una preparación que comprende como ingrediente activo una LD en la que al menos uno de los átomos de carbono o de oxígeno están marcados con un isótopo, en donde la preparación es capaz de producir CO_2 marcado con isótopo después de la administración a un sujeto mamífero, se mide el comportamiento de excreción de un metabolito marcado con isótopo, y el comportamiento de excreción obtenido en el sujeto o un parámetro farmacocinético obtenido del mismo se comparan con el comportamiento o el parámetro de excreción correspondiente en un sujeto sano con una capacidad metabólica de LD normal.

En una realización del método, a un sujeto mamífero se le administran simultáneamente una CD inhibidora de la DDC junto con una preparación que comprende como ingrediente activo una LD en la que al menos uno de los

átomos de carbono o de oxígeno están marcados con un isótopo, en donde la preparación es capaz de producir CO₂ marcado con isótopo después de la administración a un sujeto mamífero, se mide el comportamiento de excreción de un metabolito marcado con isótopo para determinar la dosis óptima de CD para la supresión de la DCC en el sujeto.

5 En una realización, el método descrito por la invención es un método para determinar la existencia, la no existencia, o el grado de desorden metabólico de LD en un sujeto mamífero, que comprende las etapas de administrar al sujeto, una preparación que comprende como un ingrediente activo una LD en la que al menos uno de los átomos de carbono o de oxígeno están marcados con un isótopo, en donde la preparación es capaz de producir CO₂ marcado con isótopo después de la administración a un sujeto mamífero, medir el comportamiento de excreción de un metabolito marcado con isótopo excretado desde el cuerpo, y evaluar el comportamiento de excreción obtenido en el sujeto.

10 En una realización, el método descrito por la invención es un método para determinar la capacidad metabólica de la LD, que comprende administrar a un sujeto mamífero una preparación que comprende como ingrediente activo una LD en la que al menos uno de los átomos de carbono o de oxígeno están marcados con un isótopo, en donde la preparación es capaz de producir CO₂ marcado con isótopo después de la administración al sujeto mamífero, y medir el comportamiento de excreción de un metabolito marcado con isótopo excretado desde el cuerpo. En una realización del método, el metabolito marcado con isótopo se excreta del cuerpo en forma de CO₂ marcado con isótopo en el aire espirado.

15 En una realización, el método de la invención es un método para determinar la eficacia de un inhibidor de la DDC para tratar una afección médica en un primer sujeto mamífero, que comprende las etapas de: (a) administrar al primer sujeto el inhibidor de la DDC y una LD en la que al menos uno de los átomos de carbono o de oxígeno están marcados con un isótopo, en donde la LD es capaz de producir CO₂ marcado con isótopos; (b) determinar el nivel de capacidad metabólica de la LD que comprende las etapas de medir el CO₂ marcado con isótopo producido en el primer sujeto; y (c) comparar el nivel de capacidad metabólica de la LD del primer sujeto con el nivel de capacidad metabólica de la LD convencional de referencia, en donde una similitud en el nivel de capacidad metabólica de la LD del primer sujeto en comparación con el nivel de capacidad metabólica de la LD del patrón de referencia indica que el inhibidor de DDC es eficaz para tratar la afección médica en el primero sujeto mamífero.

20 En una realización, el método descrito por la invención es un método para determinar la dosis óptima de un inhibidor de la DDC para tratar una afección médica en un primer sujeto mamífero, que comprende las etapas de: (a) administrar al primer sujeto la CD inhibidora de DDC y una LD en la que al menos uno de los átomos de carbono o de oxígeno están marcados con un isótopo, en donde la LD es capaz de producir CO₂ marcado con isótopo; (b) determinar el nivel de capacidad metabólica de LD, un comportamiento de excreción o un parámetro farmacocinético mediante la medición de CO₂ marcado con isótopo producido en el sujeto; y (c) determinar la dosis óptima de CD para maximizar la eficacia de la LD sobre la base de los resultados obtenidos en la etapa (b). La dosis óptima de CD cuando se utiliza con LD se utilizará eficazmente para el tratamiento de la afección médica del sujeto mamífero.

25 En una realización del método, el nivel de capacidad metabólica de la LD convencional de referencia es el nivel de capacidad metabólica LD del primer sujeto antes de la administración del inhibidor de DDC. En una realización del método, el nivel de capacidad metabólica de la LD convencional de referencia es la media del nivel de capacidad metabólica de LD de un uno o más segundos sujetos mamíferos.

30 En una realización, el método descrito por la invención es un método para la selección de un tratamiento profiláctico o terapéutico de un sujeto, que comprende: (a) determinar el fenotipo, incluyendo la actividad de la enzima DDC o la capacidad metabólica de la LD, del sujeto; (b) asignar el sujeto a una clase de sujeto sobre la base del fenotipo del sujeto, y (c) seleccionar un tratamiento profiláctico o terapéutico basado en la clase del sujeto, en donde la clase de sujeto comprende dos o más individuos que muestran un nivel de inhibición de DDC que es al menos 10 por ciento inferior a un nivel de inhibición de DDC convencional de referencia. En una realización del método, que comprende la siguiente etapa (c) en lugar de la anterior (c); etapa (c) seleccionar un tratamiento profiláctico o terapéutico basado en la clase del sujeto, en donde la clase del sujeto comprende dos o más individuos que muestran un nivel de inhibición de DDC que es al menos aproximadamente 10% mayor que un nivel de inhibición de DDC convencional de referencia. En una realización del método, que comprende la siguiente etapa (c") en lugar de la anterior (c); etapa (c") seleccionar un tratamiento profiláctico o terapéutico sobre la base de la clase del sujeto, en donde la clase del sujeto comprende dos o más individuos que muestran un nivel de inhibición de DDC dentro de al menos aproximadamente 10 por ciento de un nivel de inhibición de DDC convencional de referencia. En una realización del método, el tratamiento se selecciona entre la administración de un fármaco, la selección de un fármaco que se va a administrar, la selección de una dosis del fármaco, y la selección del momento de administración del fármaco.

35 En una realización, el método descrito por la invención es un método para la selección de un tratamiento profiláctico o terapéutico de un sujeto, que comprende las etapas de: (a) administrar a un sujeto la CD inhibidora de DDC y una LD en la que al menos uno de los átomos de carbono o de oxígeno se marca con un isótopo, en donde la LD es

capaz de producir CO₂ marcado con isótopo; (b) determinar el nivel de inhibición metabólica de LD por CD, midiendo el CO₂ marcado con isótopo producido en el sujeto, y (c) seleccionar un tratamiento profiláctico o terapéutico, incluyendo el momento de administración de la CD, sobre la base del nivel de inhibición metabólica de LD por CD en el sujeto.

5 En una realización, el método descrito por la invención es un método para la selección de un tratamiento profiláctico o terapéutico para un sujeto, que comprende: (a) determinar el fenotipo, incluyendo la actividad de la enzima DDC o la actividad metabólica LD del sujeto; (b) asignar el sujeto a una clase de sujeto sobre la base del fenotipo del sujeto; y (c) seleccionar un tratamiento profiláctico o terapéutico sobre la base de la clase de sujeto, en donde la clase de sujeto comprende dos o más individuos que metabolizan LD a una velocidad al menos aproximadamente 10 por ciento mayor que una velocidad convencional de referencia del metabolismo de LD. En una realización del método, que comprende la etapa siguiente (C) en lugar de la anterior (c); etapa (c) seleccionar un tratamiento profiláctico o terapéutico sobre la base de la clase de sujeto, en donde la clase de sujeto comprende dos o más individuos que metabolizan la LD a una velocidad al menos aproximadamente 10 por ciento menor que una velocidad convencional de referencia del metabolismo de LD. En una realización del método, que comprende la siguiente etapa (c") en lugar de la anterior (c); etapa (c") seleccionar un tratamiento profiláctico o terapéutico sobre la base de la clase de sujeto, en donde la clase de sujeto comprende dos o más individuos que metabolizan la LD a una velocidad dentro de al menos aproximadamente 10 por ciento de una velocidad convencional de referencia del metabolismo de LD. En una realización del método, el tratamiento se selecciona entre la administración de un fármaco, la selección de un fármaco a administrar, la selección de una dosis del fármaco, y la selección del momento de administración del fármaco.

25 En una realización del método, el tratamiento se selecciona entre la administración de un fármaco, la selección de un fármaco a administrar, la selección de una dosis del fármaco, y la selección del momento de administración del fármaco.

30 En una realización, el método descrito por la invención es un método para evaluar la capacidad metabólica de LD, que comprende las etapas de: administrar un sustrato de DCC marcado con ¹³C a un sujeto mamífero; medir el ¹³CO₂ exhalado por el sujeto; y determinar la capacidad metabólica de LD a partir del ¹³CO₂ medido. En una realización del método, el sustrato de DCC marcado con ¹³C es una LD marcada con ¹³C. En una realización del método, el sustrato de DCC marcado con ¹³C se administra de forma no invasiva. En una realización del método, el sustrato de DCC marcado con ¹³C se administra por vía intravenosa o por vía oral. En una realización del método, el ¹³CO₂ exhalado se mide espectroscópicamente. En una realización del método, el ¹³CO₂ exhalado se mide mediante espectroscopia de infrarrojos. En una realización del método, el ¹³CO₂ exhalado se mide con un analizador de masas. En una realización del método, el ¹³CO₂ exhalado se mide a lo largo de al menos tres periodos de tiempo para generar una curva de respuesta a la dosis, y la capacidad metabólica de LD se determina a partir del área bajo la curva. En una realización del método, el ¹³CO₂ exhalado se mide a lo largo de al menos dos dosificaciones diferentes del sustrato de DCC marcado con ¹³C. En una realización del método, el ¹³CO₂ exhalado se mide durante al menos los siguientes puntos de tiempo: t₀, un momento anterior a la ingestión del sustrato marcado con ¹³C; t₁, un momento después de que el sustrato marcado con ¹³C haya sido absorbido en el torrente sanguíneo del sujeto; y t₂, un momento durante la primera fase de eliminación. En una realización del método, la capacidad metabólica de LD se determina a partir de la pendiente de δ¹³CO₂ en los momentos t₁ y t₂ calculada de acuerdo con la siguiente ecuación: pendiente = [(δ¹³CO₂)₂ - (δ¹³CO₂)₁]/(t₂-t₁) - en donde δ¹³CO₂ es la cantidad de ¹³CO₂ exhalado. En una realización del método, se administra un antagonista de LD al sujeto antes de la administración de un sustrato de DCC marcado con ¹³C.

50 En otro aspecto, la invención describe un kit que comprende: un sustrato de DCC marcado con ¹³C, y las instrucciones proporcionadas con el sustrato que describen cómo determinar la capacidad metabólica de LD marcada con ¹³C en un sujeto. En una realización del kit, el sustrato de DCC marcado con ¹³C es LD marcada con ¹³C. En una realización del kit, el kit comprende adicionalmente al menos tres bolsas de recogida de aire.

55 En una realización, el kit descrito por la invención es un kit que comprende: un sustrato de DDC marcado con ¹³C y al menos un inhibidor de la DDC, y las instrucciones proporcionadas con el sustrato que describen la forma de determinar la dosis de antagonista y el momento de administración de los inhibidores en un sujeto. En una realización del kit, el sustrato de DDC marcado con ¹³C es LD marcada con ¹³C y el inhibidor es CD. En una realización del kit, el kit comprende además al menos seis bolsas de recogida de aire.

Breve descripción de los dibujos

60 Las figuras de los dibujos representan las realizaciones preferidas a modo de ejemplo, no a modo de limitación. En las figuras, los mismos números de referencia se refieren a los mismos elementos o similares.

La Figura 1 es un dibujo esquemático de los ganglios basales y las estructuras anatómicas relacionadas del cerebro de los mamíferos.

La Figura 2 es un dibujo esquemático del metabolismo de la levodopa.

La Figura 3 es un dibujo esquemático del efecto clínico obtenido con la terapia con levodopa en pacientes con enfermedad de Parkinson moderada (EP). Es una cita de Obeso JA et al. (Olanow CW, eds Obeso JA eds. Beyond the Decade of the Brain. Vol. 2. Dopamine agonists in early Parkinson's disease. Kent. Reino Unido. Wells Medical Ltd. 1997. 11-35)

La Figura 4 es un gráfico que ilustra la absorción de carbidopa (CD) variable en sujeto humanos expresada como la concentración de carbidopa (CD) en suero en el transcurso del tiempo (ng/ml) después de la administración oral de 50 mg de CD. Durso et al. (J. Clin. Pharmacol, 40: 854-860, 2000) mostraron una amplia variación en la absorción de CD. Los sujetos humanos clasificados como absorbedores de CD "buenos/rápidos" (N = 4) son designados por círculos rellenos. Los sujetos humanos clasificados como absorbedores de CD "pobres/lentos" (N = 5) son designados por círculos huecos.

Las figuras 5 a 8 muestran gráficos que ilustran la supresión mediada por CD del metabolismo de LD periférico por la enzima DCC en sujetos humanos. La Figura 5 es un gráfico de la presencia de $^{13}\text{CO}_2$ en muestras de aliento espirado expresado como delta sobre el valor inicial (DOB) de un sujeto humano (Vlt 1) pretratado con la dosis indicada de CD como una función del tiempo (min). La Figura 6 es un gráfico del porcentaje de recuperación de la dosis (PDR) de LD marcada con ^{13}C como $^{13}\text{CO}_2$ en muestras de aliento espirado observado en un sujeto humano (Vlt 1) pretratado con la dosis indicada de CD como una función del tiempo (min). La Figura 7 es un gráfico de la presencia de $^{13}\text{CO}_2$ en muestras de aliento espirado expresada como DOB de un sujeto humano (Vlt 2) pretratado con la dosis indicada de CD como una función del tiempo (min). La Figura 8 es un gráfico de la PDR de LD marcada con ^{13}C como $^{13}\text{CO}_2$ en muestras de aliento espirado observado en un sujeto humano (Vlt 2) pretratado con la dosis indicada de CD como una función del tiempo (min).

Las figuras 9 a 14 muestran gráficos que ilustran el efecto del momento de dosificación de carbidopa (CD) sobre el metabolismo de LD periférico por la enzima DDC en sujetos humanos. La Figura 9 es un gráfico de la evolución en el tiempo (min) de la aparición de $^{13}\text{CO}_2$ en muestras de aliento expresada como DOB de un sujeto humano (Vlt 1) que recibe la dosis indicada de CD, ya sea 1 h antes de la administración de LD ya sea simultáneamente a este tratamiento con LD. La Figura 10 es un gráfico de la evolución en el tiempo (min) de la PDR de LD marcada con ^{13}C como $^{13}\text{CO}_2$ en muestras de aliento de un sujeto humano (Vlt 1) al que se administra la dosis indicada de CD, ya sea 1 hora antes del tratamiento con LD o simultáneamente al tratamiento con LD. La Figura 11 es un gráfico de la evolución en el tiempo (min) de la aparición de $^{13}\text{CO}_2$ en muestras de aliento expresada como DOB de un sujeto humano (Vlt 2) que recibe la dosis indicada de CD, ya sea 1 h antes de la administración de LD o simultáneamente al tratamiento con LD. La Figura 12 es un gráfico de la evolución en el tiempo (min) de la PDR LD marcada con ^{13}C como $^{13}\text{CO}_2$ en muestras de aliento en un sujeto humano (Vlt 2) al que se administra la dosis indicada de CD, ya sea 1 hora antes del tratamiento con LD o simultáneamente al tratamiento con LD. La Figura 13 es un gráfico de la evolución en el tiempo (min) de la aparición de $^{13}\text{CO}_2$ en muestras de aliento expresada como DOB de un sujeto humano (Vlt 2) que recibe la dosis indicada de CD, ya sea 1 h antes de la administración de LD, 2 h antes de la administración de LD o simultáneamente al tratamiento con LD. La Figura 14 es un gráfico de la evolución en el tiempo (min) de la PDR de LD marcada con ^{13}C como $^{13}\text{CO}_2$ en muestras de aliento en un sujeto humano (Vlt 2) al que se administra la dosis indicada de CD, ya sea 1 h antes de tratamiento con LD, 2 h antes de tratamiento con LD, o simultáneamente al tratamiento con LD.

Descripción detallada de la invención

Se ha de apreciar que ciertos aspectos, modos, realizaciones, variaciones y características de la invención se describen a continuación en varios niveles de detalle con el fin de proporcionar una comprensión sustancial de la presente invención. La presente invención describe una prueba de fenotipo *in vivo* diagnóstica, no invasiva, para evaluar la actividad de la enzima DOPA descarboxilasa (DDC; CE 4.1.1.28), utilizando su sustrato enzimático (por ejemplo, levodopa, también conocido como, L-dopa o LD) marcado con isótopo incorporado al menos en una posición específica. La presente invención utiliza la interacción enzima DCC-sustrato de manera que haya liberación de CO_2 marcado con isótopo estable (p. ej., $^{13}\text{CO}_2$) en el aire espirado de un sujeto mamífero. La cuantificación posterior de CO_2 marcado con isótopo estable permite la determinación indirecta de la farmacocinética del sustrato y la evaluación de la actividad enzimática de DDC (es decir, capacidad metabólica de LD). En una realización, la invención proporciona una prueba respiratoria para la evaluación de la actividad de la DDC periférica sobre la base de la administración oral o intravenosa de una LD marcada con isótopo estable ^{13}C combinado con o sin carbidopa inhibidora de DDC (CD; también conocida como, C-dopa), y la medición de la proporción de $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ en el aire espirado utilizando instrumental asequible comercialmente, p. ej., espectrómetros de masa o infrarrojo (IR).

Una preocupación clínica sustancial en relación con la LD es su asociación con el desarrollo de las complicaciones motoras después de su uso a largo plazo en la terapia de reemplazo de neurotransmisores en sujetos que sufren la enfermedad de Parkinson. La estimulación dopaminérgica pulsátil como resultado de la absorción errática y la corta vida media de la LD han sido cuestiones centrales en los intentos de explicar este fenómeno. La evidencia sugiere que la alteración de la liberación de LD para proporcionar un suministro más continuo de este fármaco en el cerebro puede dar como resultado un mejor control de los síntomas de la EP. El método de la invención resuelve una

necesidad en la técnica de un método no invasivo útil para definir los regímenes terapéuticos para modular la actividad de la DDC (es decir, la capacidad metabólica de LD) en un sujeto que proporciona una LD más controlada y continua en el cerebro del sujeto. Por ejemplo, en una realización, el método de la invención es útil para determinar la dosis de CD para suprimir completamente la actividad de la DDC periférica en un sujeto. En otra realización, el método de la invención también es útil para determinar el momento ideal de administración de CD antes de la dosis de LD.

La prueba de diagnóstico (prueba respiratoria) de la presente invención es ventajosa ya que es rápida y no invasiva, representando por lo tanto menos carga sobre el sujeto para dar una evaluación exacta *in vivo* de la actividad de la enzima DDC tanto de forma segura como sin efectos secundarios. En consecuencia, los diversos aspectos de la presente invención se refieren a preparaciones, métodos de diagnósticos/teranósticos y kits útiles para identificar individuos con predisposición a la enfermedad o para clasificar a las personas con respecto a la capacidad de respuesta a los fármacos, los efectos secundarios, o la dosis óptima de fármaco. A continuación se muestran diferentes realizaciones concretas que ilustran estos aspectos.

I. Definiciones

Según se utiliza en la presente memoria, el término "respuesta clínica" significa cualquiera o todos los siguientes: una medida cuantitativa de la respuesta, sin respuesta, y respuesta adversa (es decir, efectos secundarios).

Según se utiliza en la presente memoria, el término "cantidad eficaz" de un compuesto es una cantidad suficiente para lograr un efecto terapéutico y/o profiláctico deseado, por ejemplo, una cantidad que da como resultado la prevención o una disminución de los síntomas asociados con una enfermedad que está siendo tratada, por ejemplo, la EP. La cantidad de compuesto administrado al sujeto dependerá del tipo y gravedad de la enfermedad y de las características del individuo, como la salud general, la edad, el sexo, el peso corporal y la tolerancia a los fármacos. También dependerá del grado, gravedad y tipo de enfermedad.

Según se utiliza en la presente memoria, el término "afección médica" incluye, pero no se limita a, cualquier afección o enfermedad que se manifiesta en forma de uno o más síntomas físicos y/o psicológicos para los cuales es deseable el tratamiento, e incluye enfermedades previamente y recientemente identificadas y otros trastornos.

Según se utiliza en la presente memoria, el término "sujeto" significa que preferiblemente el sujeto es un mamífero, tal como un ser humano, pero también puede ser un animal, por ejemplo, animales domésticos (por ejemplo, perros, gatos y similares), animales de granja (por ejemplo, vacas, ovejas, cerdos, caballos y similares) y animales de laboratorio (por ejemplo, monos, ratas, ratones, cobayas y similares).

Según se utiliza en la presente memoria, la administración de un agente o fármaco a un sujeto incluye la auto-administración y la administración por otro. También ha de apreciarse que los diversos modos de tratamiento o prevención de las afecciones médicas descritos están destinados a representar un tratamiento o prevención "sustancial", que un tratamiento o prevención incluye total, pero también menos que total, y en el que se logra algún resultado biológicamente o médicamente relevante.

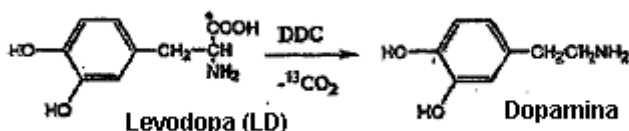
Según se utiliza en la presente memoria, el término "comportamiento de excreción" incluye, pero no se limita a, la cantidad de excreción de un metabolito, la tasa de excreción de un metabolito, y el cambio en la cantidad y velocidad con el paso del tiempo.

Los detalles de una o más realizaciones de la invención se exponen a continuación en la descripción adjunta. Aunque se puede utilizar en la práctica o ensayo de la presente invención cualquier método y material similar o equivalente a los descritos en el presente documento, los métodos y materiales preferidos se describen a continuación. Otras características, objetos y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la descripción y de las reivindicaciones. En la memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares incluyen referentes plurales a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en este documento tienen el mismo significado que se entiende comúnmente por un experto normal en la técnica a la que pertenece esta invención. Todas las referencias citadas en la presente memoria se incorporan a la presente memoria como referencia en su totalidad y para todos los propósitos en la misma medida que si se indicara específicamente e individualmente cada publicación, patente o solicitud de patente para ser incorporada como referencia en su totalidad para todos los propósitos.

II. General

La L-3,4-dihidroxifenilalanina (en lo sucesivo, "LD"; también conocida como, ácido (-)-L-a-amino-b-(3,4-dihidroxibenceno)propanoico; L-dopa; Levodopa; Dopar®, y Larodopar®), es un aminoácido de origen natural presente tanto en las plantas como en los animales. La LD se convierte en la amina biológicamente activa, la dopamina, por medio de la enzima DDC en el organismo animal y humano como se muestra a continuación. El

metabolismo de la LD por la DDC tiene lugar tanto en el tejido periférico como en el sistema nervioso central. En el cerebro de los mamíferos, el producto de descarboxilación dopamina se produce en grandes cantidades en los ganglios basales.



5 La alteración de la producción de dopamina en el cerebro de los mamíferos en condiciones tales como la EP puede conducir a una profunda alteración del sistema nervioso central. La EP es una enfermedad neurodegenerativa progresiva que afecta al 1% de la población mayor de 65 años. Actualmente, alrededor de 1 millón de pacientes en los EE.UU. tienen EP. Cerca de 50.000 estadounidenses son diagnosticados de EP anualmente, según el National Institute of Neurological Disorders and Stroke, que estima que el coste total de la atención médica a los pacientes con EP superará los 5.600.000.000 de dólares este año.

15 Los síntomas de la EP son en gran medida el resultado de la pérdida de células productoras de dopamina en la región de la sustancia negra del cerebro de los mamíferos (véase la Figura 1). Aproximadamente el 50-60% del suministro normal de dopamina tiene que ser agotado antes de que aparezcan los síntomas. A primera vista, la terapia de reemplazo de neurotransmisores utilizando dopamina parecería un enfoque lógico para la gestión de los síntomas de la EP, sin embargo, la dopamina no atraviesa la barrera hematoencefálica.

20 En contraste con la dopamina, cuando se toma LD por vía oral, algo del fármaco cruza la BHE hasta el sistema nervioso central. Una vez que la LD cruza la BHE, se convierte enzimáticamente en dopamina (véase la Figura 2). El aumento resultante en las concentraciones de dopamina en el cerebro mejora la conducción nerviosa y alivia los trastornos del movimiento en la EP. De hecho, la LD tiene un fuerte efecto terapéutico en pacientes con EP. El uso de LD como un método de terapia de reemplazo de neurotransmisores en la EP es ahora un régimen clínico convencional. Aunque se han desarrollado numerosas terapias en un intento de mejorar la gestión de la EP, p. ej., los agonistas dopaminérgicos y los inhibidores de COMT y MAO-B, la LD sigue siendo el tratamiento más eficaz para el control sintomático de la enfermedad de Parkinson.

30 La LD también se descarboxila sistémicamente en el hígado, el riñón, el tracto gastrointestinal y las células endoteliales de las paredes de los capilares (véase la Figura 2). Esta descarboxilación periférica es responsable de efectos secundarios significativos en los sujetos que incluyen náuseas, vómitos, arritmias cardíacas e hipotensión. Además, la LD que se convierte en dopamina por vía sistémica no puede entrar en el cerebro, lo que da como resultado una disminución del nivel de dopamina del sistema nervioso central.

35 La carbidopa (en lo sucesivo, "CD"; monohidrato de ácido (-)-L-a-hidrazino-a-metil-b-(3,4-dihidroxibenceno)propanoico) es un inhibidor de la descarboxilación de aminoácidos aromáticos que es útil para inhibir la descarboxilación periférica de LD por DDC. A diferencia de la LD, la CD no cruza la barrera hematoencefálica. La CD se administra habitualmente como un segundo fármaco con la LD para inhibir la descarboxilación periférica en el tratamiento de la EP. Es decir, la CD evita la descomposición de LD antes de que entre en el cerebro.

40 La formulación combinada de liberación convencional de CD/LD (Sinemet®) está disponible en comprimidos de 10 mg/100 mg, 25 mg/100 mg y 25 mg/250 mg y CD/LD de liberación prolongada (Sinemet CR) en 25 mg/100 mg y 50 mg/200 mg. La terapia combinada de LD con CD da como resultado una ruptura de LD menos sistémica y por lo tanto entra más LD en el cerebro que se convierte en dopamina. La adición de CD al régimen terapéutico de la EP permite la administración de bajas dosis totales de LD a un sujeto en necesidad de la misma. A su vez, esto reduce el riesgo de los efectos secundarios de la LD, tales como náuseas y vómitos.

50 Si bien la terapia con LD es eficaz en la eliminación de casi todos los signos y síntomas de la EP en los primeros tres a cuatro años; más tarde, los pacientes con EP desarrollan períodos de tiempo en los que la medicación no funciona lo que da como resultado un estado de "desconexión". Durante los "períodos de desconexión", los pacientes con EP vuelven a los síntomas/signos que caracterizan la EP sin tratar. Este problema se acentúa por el hecho de que los pacientes con EP en la etapa tardía tienden a tener una respuesta de "todo o nada" a la terapia de reemplazo de LD; es decir, la respuesta a la medicación tiende a fluctuar sólo entre una buena respuesta (estado "conectado") y sin respuesta en absoluto (estado "desconectado"). En consecuencia, en la enfermedad en fase tardía, cuando el paciente está "desconectado" sus síntomas/signos tienden a ser extremadamente graves. Para los pacientes en fase tardía con "conexión/desconexión" se necesita una cantidad crítica de LD en el cerebro (nivel umbral) para mantener la actividad central de la dopamina en un nivel que dé como resultado un estado "conectado". Si los niveles de LD en el cerebro caen por debajo de este nivel umbral se produce un período de "desconexión" grave. Además, el exceso

de LD que da como resultado niveles muy altos de dopamina en el cerebro puede conducir a discinesia, alucinaciones y otros trastornos neuroconductuales. La discinesia representa contorsiones incontrolables que pueden llegar a ser más problemáticas que los propios signos de la EP. Esta necesidad de control ideal de los niveles de LD se muestra en la imagen siguiente (Figura 3).

La cantidad de LD que entra en el cerebro de un sujeto es fundamental para un control óptimo de los niveles terapéuticos de LD y un beneficio clínico consecuente de la LD. La administración eficaz de CD para inhibir la descarboxilación periférica de LD es un factor importante que afecta a la cantidad de LD que entra en el cerebro de un sujeto. Por ejemplo, cuando se dispone de menos de CD o su acción inhibitoria está comprometida, el metabolismo periférico de LD por DDC es mayor y por lo tanto hay menos LD disponible para la conversión enzimática mediada por DDC en el SNC.

La determinación de la dosis óptima de CD para el refinamiento de la liberación terapéutica de LD se confunde por la variabilidad del sujeto individual en la absorción de CD y/o la capacidad de respuesta. Los estudios que emplean LD marcada con isótopo estable (Durso et al., J. Clin. Pharmacol, 40: 854-860, 2000) demostraron que la absorción de CD es variable entre los sujetos humanos con consecuencias significativas para el grado de inhibición de la descarboxilación periférica entre los sujetos, así como el posterior nivel de reemplazo de dopamina en el cerebro (véase la Figura 4). Los sujetos pueden ser clasificados como absorbedores "buenos/rápidos" de CD (círculos rellenos) y amortiguadores "pobres/lentos" de CD (círculos huecos). El nivel de inhibición de DDC de los sujetos individuales a la misma dosis de CD también varía. A priori no hay ninguna manera de saber si un sujeto es "sensible a CD" y responderá bien a la administración de CD o "insensible a CD" y no mostrará una marcada inhibición de la DDC periférica con la administración de CD. Por otra parte, la actividad de DDC periférica no se satura a las dosis de CD utilizadas en la práctica clínica actual. (Durso et al., J. Clin. Pharmacol, 40: 854-860, 2000). Es importante, por lo tanto, estudiar la dependencia de la dosis de CD en la descarboxilación periférica de LD y la absorción de LD en el cerebro de los sujetos individuales.

Preparación y métodos

A. Preparaciones de sustrato marcado con isótopo para la enzima DDC

La presente invención describe preparaciones para determinar y evaluar fácilmente la actividad de la DDC (es decir, la capacidad metabólica de LD) en un sujeto mamífero individual. Las preparaciones son útiles para determinar el comportamiento del metabolito de LD en un sujeto y evaluar fácilmente la capacidad metabólica de LD e identificar una respuesta clínica y/o afección médica relacionadas con la actividad de DDC en el sujeto. Específicamente, las preparaciones de la invención son útiles para determinar y evaluar la capacidad metabólica de la LD en un sujeto individual midiendo el comportamiento de un metabolito de LD, en particular el comportamiento de excreción del metabolito (incluyendo la cantidad de excreción, la tasa de excreción, y el cambio en la cantidad y la tasa con el paso del tiempo), en el sujeto. La preparación para la determinación de la capacidad metabólica de LD también se puede utilizar en combinación con al menos un inhibidor de la enzima DDC (p. ej., CD) para determinar la dosificación del inhibidor de DDC requerida para suprimir la enzima DDC en un sujeto individual, así como para determinar el momento óptimo para la dosificación del inhibidor de DDC en un sujeto.

Una preparación útil en los métodos de la presente invención contiene un compuesto sustrato de DDC marcado isotópicamente, tal como la levodopa (LD), triptófano, fenilalanina, tirosina, histidina, y 5-hidroxitriptófano, como ingrediente activo. En una realización, el compuesto sustrato de DDC es una LD en la que al menos uno de los átomos de carbono o de oxígeno están marcados con un isótopo y la preparación es capaz de producir CO₂ marcado con isótopo después de la administración a un sujeto. El sustrato de DDC de la invención puede ser marcado en al menos una posición con ¹⁴C; ¹³C; y ¹⁸O. En una realización preferida, una LD se marca isotópicamente con ¹³C de manera que la preparación es capaz de producir ¹³CO₂ después de la administración a un sujeto.

Una preparación puede formularse con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Según se utiliza en la presente memoria, se pretende que "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluya cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, compuestos antibacterianos y antifúngicos, compuestos isotónicos y retardantes de la absorción, y similares, compatibles con la administración farmacéutica. Los vehículos adecuados se describen en la edición más reciente de Remington Pharmaceutical Sciences (Remington: The Science and Practice Of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins; 21 Cdr edición (2005), un texto de referencia modelo en el campo. También se pueden incorporar a las composiciones compuestos activos complementarios.

El método para marcar un sustrato de DDC con un isótopo no está limitado y puede ser un método convencional (Sasaki, "5.1 Application of Stable isotopes in Clinical Diagnosis": Kagaku no Ryoiki (Journal of Japanese Chemistry) 107, "Application of Stable Isotopes in Medicine, Pharmacy, and Biology", págs. 149-163 (1975), Nankodo: Kajiwarra, RADIOISOTOPES, 41, 45-48 (1992)). Algunos compuestos sustrato de DDC marcados isotópicamente son asequibles comercialmente, y estos productos comerciales son utilizables convenientemente. Por ejemplo, la LD

marcada con ^{13}C capaz de producir $^{13}\text{CO}_2$ después de la administración a un sujeto es útil en los métodos de la invención y es asequible comercialmente de Cambridge Isotope Laboratories Inc, Andover, MA.

Una composición farmacéutica se formula para que sea compatible con su ruta de administración pretendida. Los ejemplos de la rutas de administración incluyen la administración parenteral, por ejemplo, intravenosa, intradérmica, subcutánea, oral (incluida la inhalación), transmucosa y rectal. La preparación de la presente invención puede estar en cualquier forma adecuada para los fines de la presente invención. Los ejemplos de las formas adecuadas incluyen inyecciones, inyecciones intravenosas, supositorios, gotas oculares, soluciones nasales, y otras formas parenterales; y soluciones (incluyendo jarabes), suspensiones, emulsiones, comprimidos (ya sea sin revestir o revestidos), cápsulas, píldoras, polvos, gránulos sutiles, gránulos y otras formas orales. Las composiciones orales generalmente incluyen un diluyente inerte o un vehículo comestible.

La preparación puede consistir sustancialmente en el compuesto sustrato de DDC marcado con isótopo, especialmente LD, como ingrediente activo, pero puede ser una composición que contiene adicionalmente un vehículo o aditivo farmacéuticamente aceptable utilizado generalmente en este campo de acuerdo con la forma de preparación (forma de dosificación) (composición para la determinación de la capacidad metabólica de LD), siempre que las acciones y los efectos de la preparación de la presente invención no se vean afectados. En tal composición, la proporción del compuesto sustrato de DDC marcado con isótopo como ingrediente activo no está limitada y puede ser de aproximadamente 0,1% en peso a aproximadamente 99% en peso del peso seco total de la preparación. La proporción se puede ajustar adecuadamente dentro del intervalo anterior.

Cuando la preparación se forma en comprimidos, los vehículos útiles incluyen, pero no se limitan a, p. ej., lactosa, sacarosa, cloruro de sodio, glucosa, urea, almidones, carbonato de calcio, caolín, celulosa cristalina, ácido silícico, y otros excipientes; jarabes simples, soluciones de glucosa, soluciones de almidón, soluciones de gelatina, carboximetilcelulosa, goma laca, metilcelulosa, fosfato de potasio, polivinilpirrolidona, y otros aglutinantes; almidones secos, alginato de sodio, polvo de agar, polvo de laminaria, hidrogenocarbonato de sodio, carbonato de calcio, polioxietilensorbitán, ésteres de ácidos grasos, lauril sulfato de sodio, monoglicérido de ácido esteárico, almidones, lactosa, y otros disgregantes; sacarosa, ácido esteárico, manteca de cacao, aceites hidrogenados, y otros inhibidores de la disgregación; bases de amonio cuaternario, lauril sulfato de sodio, y otros aceleradores de la absorción; glicerina, almidones, y otros humectantes; almidones, lactosa, caolín, bentonita, ácido silícico coloidal, y otros adsorbentes; y talco purificado, estearato, polvo de ácido bórico, polietilenglicol, y otros lubricantes. Adicionalmente, los comprimidos pueden ser aquellos con recubrimientos comunes (tales como comprimidos recubiertos de azúcar, comprimidos recubiertos de gelatina, o comprimidos recubiertos con película), comprimidos de doble capa o comprimidos de múltiples capas.

Cuando se forma la preparación para la determinación de la capacidad metabólica de LD en píldoras, los vehículos útiles incluyen, por ejemplo, glucosa, lactosa, almidones, manteca de cacao, aceites vegetales hidrogenados, caolín, talco, y otros excipientes; polvo de goma arábiga, polvo de tragacanto, gelatina, y otros aglutinantes; y laminaria, agar y otros disgregantes. Las cápsulas se preparan de una manera rutinaria, mezclando el ingrediente activo de acuerdo con la presente invención con cualquiera de los vehículos anteriores y después introduciendo la mezcla en cápsulas de gelatina endurecida, cápsulas blandas o similares. Los vehículos útiles para su uso en supositorios incluyen, por ejemplo, polietilenglicol, manteca de cacao, alcoholes superiores, ésteres de alcoholes superiores, gelatina, y glicéridos semisintéticos.

Cuando se prepara la preparación en forma de un inyectable, la solución, emulsión o suspensión inyectable se esteriliza y es preferiblemente isotónica con la sangre. Los diluyentes útiles para la preparación del inyectable incluyen, por ejemplo, agua, alcohol etílico, macrogol, propilenglicol, alcohol isoestearílico etoxilado, alcohol isoestearílico polioxilado, y ésteres de ácidos grasos de polioxietilensorbitán. El inyectable puede contener cloruro de sodio, glucosa, o glicerina en una cantidad suficiente para hacer una solución isotónica. Asimismo, se pueden añadir al inyectable un solubilizante, tampón, agente calmante o similares habituales.

Adicionalmente, la preparación en cualquiera de las formas anteriores puede contener un aditivo farmacéuticamente aceptable, tal como un color, conservante, sabor, mejorador del olor, mejorador del sabor, edulcorante, o estabilizador. Los vehículos y aditivos anteriores pueden usarse individualmente o combinados. La cantidad del compuesto sustrato de DDC marcado con isótopo, especialmente LD (ingrediente activo) por dosis unitaria de la preparación de la presente invención varía dependiendo de la muestra de ensayo y el tipo de ingrediente activo utilizado, y no puede ser definido de manera general. Una cantidad preferida es, por ejemplo, de 1 a 300 mg/cuerpo por dosis unitaria, preferiblemente de 50 a 150 mg/cuerpo por dosis unitaria, aunque no se limita a las mismas, siempre y cuando se satisfaga la condición anterior.

B. Métodos

Una afección médica o respuesta clínica relacionada con la actividad de la enzima DDC (es decir capacidad metabólica de LD) en un sujeto se puede evaluar fácilmente utilizando los métodos de la presente invención mediante la administración de un compuesto sustrato de DDC marcado con isótopo para el sujeto y midiendo el

comportamiento de excreción (incluyendo la cantidad de excreción, la tasa de excreción, y el cambio en la cantidad y la velocidad con el paso del tiempo) de CO₂ marcado con isótopo en el aire espirado. Como tal, la presente invención proporciona métodos para determinar el aclaramiento de un compuesto sustrato de DDC marcado con isótopo en la presencia y/o ausencia de un inhibidor de la DDC para establecer un régimen de dosificación más eficaz (fórmula, dosis, número de dosis, etc.) del compuesto sustrato de DDC y/o inhibidor de la DDC para los sujetos individuales basado en la actividad de la enzima de la DDC en estos sujetos.

En una realización, la invención describe un método para determinar la capacidad metabólica de LD, mediante la administración de una preparación de LD marcada con isótopo de la invención a un sujeto mamífero, y medir el comportamiento de excreción de un metabolito marcado con isótopo excretado desde el cuerpo. En una realización, el metabolito marcado con isótopo se excreta del cuerpo en forma de CO₂ marcado con isótopo (incluyendo ¹³CO₂, ¹⁴CO₂, y C¹⁸O₂) en el aire espirado.

El metabolito marcado con isótopo en la muestra de ensayo se puede medir y analizar por medio de una técnica de análisis convencional, tal como recuento de centelleo líquido, espectroscopia de masas, análisis espectroscópico de infrarrojos, análisis espectroquímico de emisión, o análisis espectral de resonancia magnética nuclear, que se selecciona dependiendo de si el isótopo utilizado es radiactivo o no radiactivo. El ¹³CO₂ se puede medir mediante cualquier método conocido en la técnica, tal como cualquier método que pueda detectar la cantidad de ¹³CO₂ exhalado. Por ejemplo, el ¹³CO₂ se puede medir espectroscópicamente, por ejemplo, mediante espectroscopia infrarroja. Un dispositivo ilustrativo para medir el ¹³CO₂ es el espectrómetro de infrarrojos UBIT.RTM.-IR300, asequible comercialmente de Meretek (Denver, CO, USA). El sujeto, después de haber ingerido el sustrato de DDC marcado con ¹³C, puede exhalar en una bolsa de recogida de aire, que luego se adjunta al UBIT.RTM.-IR300. El UBIT.RTM.-IR300 mide la razón entre ¹³CO₂ y ¹²CO₂ en el aliento. Mediante la comparación de los resultados de la medición con los de un patrón, se puede calcular con posterioridad la cantidad de ¹³CO₂ exhalado. Alternativamente, el ¹³CO₂ exhalado se puede medir con un analizador de masas.

La preparación se administra por vía oral o parenteral a un sujeto y se mide un metabolito marcado con isótopo excretado desde el cuerpo, de manera que la capacidad metabólica de LD (existencia, inexistencia o grado de trastorno metabólico de LD (disminución/aumento)) en el sujeto se puede determinar a partir del comportamiento de excreción obtenido (el comportamiento de la cantidad de excreción y la tasa de excreción con el paso del tiempo) del metabolito marcado con isótopo. El metabolito excretado del cuerpo varía en función del tipo de ingrediente activo utilizado en la preparación. Por ejemplo, cuando la preparación comprende LD marcada con isótopo como ingrediente activo, el metabolito final es la dopamina marcada con isótopo o CO₂ marcado con isótopo. Preferiblemente, la preparación comprende, como ingrediente activo, una LD marcada con isótopo que permite la excreción de CO₂ marcado con isótopo en el aire espirado como resultado del metabolismo. Utilizando tal preparación, se puede determinar la capacidad metabólica de LD (existencia, inexistencia, o grado de desorden metabólico de la LD (disminución/aumento)) en un sujeto a partir del comportamiento de excreción (el comportamiento de la cantidad de excreción y la tasa de excreción con el paso del tiempo) de CO₂ marcado con isótopo, que se obtiene administrando la preparación al sujeto a través de la ruta oral o parenteral y midiendo el CO₂ marcado con isótopo excretado en el aire espirado.

En una realización, la invención describe un método para determinar la capacidad metabólica de LD en un sujeto mamífero, mediante la administración de una preparación de LD marcada con isótopo de la invención a un sujeto, medir el comportamiento de excreción de un metabolito marcado con isótopo excretado desde el cuerpo, y evaluar el comportamiento de excreción obtenido en el sujeto. En una realización del método, se administra a un sujeto mamífero una preparación de LD marcada con isótopo, se mide, y se evalúa el comportamiento de excreción de CO₂ marcado con isótopo en el aire espirado. En una realización del método, el comportamiento de excreción de CO₂ marcado con isótopo o un parámetro farmacocinético obtenido del mismo se comparan con el comportamiento de excreción correspondiente o parámetro en un sujeto sano con una capacidad metabólica de LD normal. Es decir, la capacidad metabólica de LD en un sujeto se puede evaluar, por ejemplo, comparando el comportamiento de excreción (el comportamiento de la cantidad de la excreción o la tasa de excreción con el paso del tiempo) de un metabolito marcado con isótopo obtenido mediante la medición anterior, con el comportamiento de excreción del metabolito marcado con isótopo en un patrón de referencia, que se mide de la misma manera.

Además, en lugar de, o además de, el comportamiento de excreción de un metabolito marcado con isótopo, el área bajo la curva (ABC), la tasa de excreción (en particular, la tasa de excreción inicial), la concentración de excreción máxima (C_{max}), la pendiente de CO₂ marcada con isótopo δ (p. ej. $\delta^{13}\text{CO}_2$) como una función del tiempo o el porcentaje de recuperación de la dosis como una función del tiempo, o un parámetro (preferiblemente parámetro farmacocinético) similar obtenido a partir del comportamiento de excreción (curva de transición de la cantidad de excreción) en el sujeto se compara con el parámetro correspondiente en el patrón de referencia. En una realización, el patrón de referencia es el comportamiento de excreción observado en uno o más sujetos sanos.

En una realización, la capacidad metabólica de LD se determina mediante un área bajo la curva (AUC), que representa gráficamente la cantidad de CO₂ marcado con isótopo exhalado (p. ej. $\delta^{13}\text{CO}_2$) En el eje de las y frente al

tiempo después de que se ingiera el sustrato marcado con isótopo. El área bajo la curva representa el CO₂ marcado con isótopo δ acumulativo (p. ej. δ¹³CO₂) recuperado.

Por ejemplo, el ¹³CO₂ también se cuantifica como δ¹³CO₂ (también conocido como, DOB) de acuerdo con la siguiente ecuación:

5 El δ¹³CO₂ es igual a (δ¹³CO₂ en el gas de muestra menos δ¹³CO₂ en la muestra de referencia base antes de la ingestión de sustrato de DDC marcado con ¹³C) donde los valores de δ se calculan (en) por = [(R_{muestra}/ R_{patrón}) -1] X 1000, y "R" es la razón de isótopo pesado a ligero (¹³CA/¹²C) en la muestra o patrón.

10 El ¹³CO₂ y ¹²CO₂ en las muestras de aire exhalado se mide por espectrometría IR utilizando el UBit-IR300 (Meretek Diagnostics, Lafayette, CO; manual de instrucciones del analizador del aliento con urea 13CO₂. Lafayette, CO: Meretek Diagnostics; 2002; A1-A2)¹² La cantidad de ¹³CO₂ presente en las muestras de aliento se expresa como delta sobre el valor inicial (DOB) que representa un cambio en la razón de ¹³CO₂/¹²CO₂ de muestras de aliento recogidas antes y después de la ingestión de sustrato marcado con ¹³C de la enzima DDC, p. ej., LD marcada con ¹³C.

$$DOB = \frac{{}^{13}\text{CO}_2}{{}^{12}\text{CO}_2} \text{ Muestra post-dosis} - \frac{{}^{13}\text{CO}_2}{{}^{12}\text{CO}_2} \text{ Muestra pre-dosis}$$

20 La cantidad de sustrato de DDC marcado con ¹³C absorbido y liberado en la respiración como ¹³CO₂ se determina para cada momento utilizando la ecuación descrita por Amarri (Amarri et al., Clin Nutr. 14:149-54 (1995)). Estos resultados se expresan como porcentaje de recuperación de la dosis (PRD).

El PRD se calcula utilizando la fórmula:

$$\frac{(\delta_t^{13} - \delta_0^{13}) + (\delta_{t+1}^{13} - \delta_0^{13})}{2} \times (t_{+1} - t) \times R_{PDB} \times 10^{-3} \times C \times 100\%$$

$$\frac{\text{mg de sustrato}}{\% \text{ en moles}} \times \frac{P \times n}{100}$$

25 donde $\delta = [R_s / R_{AP}] - 1 \times 10^3$
 $R_s = {}^{13}\text{C}:{}^{12}\text{C}$ en la muestra
 $R_{AP} = {}^{13}\text{C}:{}^{12}\text{C}$ en PDB (patrón internacional de PeeDeeBelemnita) = 0,0112372)
 30 P es el exceso de átomos en %
 n es el número de posiciones de carbonos marcadas
 $\delta_t, \delta_{t+1}, \delta_0$ son enriquecimientos en los tiempos t, t+1 y predosis, respectivamente
 C es la tasa de producción de CO₂ (C = 300 [mmol/h]*ASC
 $ASC = w^{0,5378} \times H^{0,3963} \times 0,024265$ (Área de Superficie Corporal)
 35 w: Peso (kg)
 h: Altura (cm)
 C_{máx} es el valor más alto de DOB de la curva de respiración que se deduce del sustrato de DDC marcado con C¹³.
 En una realización del método, el sustrato de DDC marcado con C¹³ es LD marcada con ¹³C.

40 Como se señaló anteriormente, la invención proporciona un método para determinar la existencia, la inexistencia, o el grado de trastorno metabólico de la DDC (es decir, una afección médica) en un sujeto mamífero mediante la administración de una preparación de la invención a un sujeto mamífero, medir el comportamiento de excreción de un metabolito marcado con isótopo excretado desde el cuerpo, y evaluar el comportamiento de excreción obtenido en el sujeto. En una realización preferida del método, el metabolito marcado con isótopo se excreta del cuerpo en
 45 forma de CO₂ marcado con isótopo en el aire espirado.

En una realización, la invención describe un método para determinar la eficacia de un inhibidor de la DDC para tratar una afección médica en un sujeto mamífero (a) administrando al sujeto del inhibidor de la DDC y una LD en la que al menos uno de los átomos de carbono o de oxígeno se marca con un isótopo, en donde la LD es capaz de producir
 50 CO₂ marcado con isótopo; (b) determinando el nivel de metabolismo de LD midiendo el CO₂ marcado con isótopo producido en el sujeto; y comparando el nivel de metabolismo de LD del sujeto a un nivel de capacidad metabólica de LD de un patrón de referencia, en donde una similitud en el nivel de capacidad metabólica de LD del sujeto en comparación con el nivel del metabolismo del LD del patrón de referencia indica que el compuesto es eficaz para tratar la afección médica en el sujeto. En una realización del método, el nivel del patrón de referencia de la
 55 capacidad metabólica de LD es el nivel de capacidad metabólica de LD del sujeto mamífero antes de la

administración del inhibidor de la DDC. En otra realización del método, un nivel de capacidad metabólica de LD del patrón de referencia es la media del nivel del metabolismo de LD de un uno o más segundos sujetos mamíferos.

5 En una realización, la invención describe un método para la selección de un tratamiento profiláctico o terapéutico de un sujeto (a) determinando el fenotipo del sujeto, (b) asignando el sujeto a una clase de sujeto sobre la base del fenotipo del sujeto, y (c) seleccionando un tratamiento profiláctico o terapéutico sobre la base de la clase de sujeto, en donde la clase de sujeto comprende dos o más individuos que muestran un nivel de inhibición de DDC que es al menos aproximadamente 10 por ciento menor que un nivel patrón de referencia de inhibición de DDC. El término "fenotipo" anteriormente mencionado incluye la actividad de la enzima DDC y la capacidad metabólica de LD del sujeto. En una realización del método, la clase de sujeto comprende dos o más individuos que muestran un nivel de inhibición de DDC que es al menos aproximadamente 10% mayor que un nivel de inhibición de DDC convencional de referencia. En una realización del método, la clase de sujeto comprende dos o más individuos que muestran un nivel de inhibición de DDC dentro de al menos aproximadamente 10 por ciento de un nivel de inhibición de DDC convencional de referencia.

15 En una realización, la invención describe un método para la selección de un tratamiento profiláctico o terapéutico de un sujeto (a) administrando a un sujeto la CD inhibidora de DDC y una LD en la que al menos uno de los átomos de carbono o de oxígeno están marcados con un isótopo, en donde la LD es capaz de producir CO₂ marcado con isótopo; (b) determinando el nivel de inhibición metabólica de LD por CD, midiendo el CO₂ marcado con isótopo producidos en el sujeto, y (c) seleccionando un tratamiento profiláctico o terapéutico, incluyendo el momento de administración de CD, sobre la base del nivel obtenido de la inhibición metabólica de LD por CD en el sujeto.

20 El tratamiento terapéutico seleccionado puede consistir en administrar un fármaco, seleccionar una dosis del fármaco, y seleccionar el momento de administración del fármaco.

25 En una realización, la invención describe un método para la selección de un tratamiento profiláctico o terapéutico de un sujeto, (a) determinando el fenotipo del sujeto, (b) asignando el sujeto a una clase de sujeto sobre la base del fenotipo del sujeto; y (c) seleccionando un tratamiento profiláctico o terapéutico sobre la base de la clase de sujeto, en donde la clase de sujeto comprende dos o más individuos que metabolizan LD a una tasa de al menos aproximadamente 10 por ciento mayor que una tasa patrón de referencia de metabolismo de LD. El término "fenotipo" anteriormente mencionado incluye la actividad de la enzima DDC y la capacidad metabólica de LD del sujeto. En una realización del método, la clase de sujeto comprende dos o más individuos que metabolizan LD a una tasa de al menos aproximadamente 10 por ciento menor que una tasa patrón de referencia de metabolismo de LD. En una realización del método, la clase de sujeto comprende dos o más individuos que metabolizan LD a una velocidad dentro de al menos aproximadamente 10 por ciento de una tasa patrón de referencia del metabolismo de LD. El tratamiento terapéutico seleccionado puede consistir en administrar un fármaco, seleccionar una dosis del fármaco, y seleccionar el momento de administración del fármaco.

30 En una realización, la invención describe un método para evaluar la capacidad metabólica de LD, administrando un compuesto sustrato de DDC marcado con ¹³C a un sujeto mamífero; midiendo el ¹³CO₂ exhalado por el sujeto; y determinando la capacidad metabólica de LD del ¹³CO₂ medido. En una realización del método, el compuesto sustrato de DDC marcado con ¹³C es una LD marcada con ¹³C. En una realización del método, el compuesto sustrato marcado con ¹³C se administra de forma no invasiva. En una realización del método, el compuesto sustrato de DDC marcado con ¹³C se administra por vía intravenosa o por vía oral. En una realización del método, el ¹³CO₂ exhalado se mide espectroscópicamente. En una realización del método, el ¹³CO₂ exhalado se mide mediante espectroscopia de infrarrojos. En otra realización del método, el ¹³CO₂ exhalado se mide con un analizador de masas. En una realización del método, el ¹³CO₂ exhalado se mide a lo largo de menos tres periodos de tiempo para generar una curva de respuesta a la dosis, y la actividad metabólica de LD se determina a partir del área bajo la curva. En una realización del método, el ¹³CO₂ exhalado se mide a lo largo de menos dos dosificaciones diferentes del compuesto sustrato de DDC marcado con ¹³C. En una realización del método, el ¹³CO₂ exhalado se mide durante al menos los siguientes momentos: a, un momento antes de ingerir el compuesto sustrato de DDC marcado con ¹³C; t₁, un momento después de que el compuesto sustrato de DDC marcado con ¹³C ha sido absorbido en el torrente sanguíneo del sujeto; y t₂, un momento durante la primera fase de eliminación. En una realización del método, la capacidad metabólica de LD determinada a partir de la una pendiente de $\delta^{13}\text{CO}_2$ en los momentos t₁ t₂ calculada de acuerdo con la siguiente ecuación: pendiente = $[(\delta^{13}\text{CO}_2)_2 - (\Delta^{13}\text{CO}_2)_1]/(T_2 - T_1)$ - en donde $\delta^{13}\text{CO}_2$ es la cantidad de ¹³CO₂ exhalado. En otra realización de la invención, se administra al sujeto un inhibidor de la DDC antes de la administración de un compuesto sustrato de DDC marcado con ¹³C. En una realización preferida de la invención, el inhibidor de la DDC es la carbidopa.

60 El método puede ser no invasivo, requiriendo únicamente que el sujeto realice una prueba respiratoria. La presente prueba no requiere un técnico altamente capacitado para realizar la prueba. La prueba se puede realizar en una oficina de médicos generales, donde está instalado el instrumento de análisis (tal como, p. ej., un UBIT.RTM.-IR300). Alternativamente, la prueba se puede realizar en el hogar del usuario, donde el usuario particular puede enviar bolsas de recogida aliento a un laboratorio de referencia para su análisis.

C. Kits

5 La invención describe también un kit para determinar la capacidad metabólica de LD. El kit puede incluir el compuesto sustrato de DDC marcado con C^{13} (p. ej., LD marcada con ^{13}C) e instrucciones proporcionadas con el sustrato que describen cómo determinar la capacidad metabólica de LD en un sujeto. El compuesto sustrato de DDC marcado con ^{13}C puede ser suministrado en forma de un comprimido, un polvo o gránulos, una cápsula, o una solución. Las instrucciones pueden describir el método para la capacidad metabólica de LD mediante el área bajo la curva, o mediante la técnica de la pendiente, como se describió anteriormente. El kit puede incluir al menos tres
10 bolsas de recogida de aliento.

15 La invención describe también un kit que comprende un compuesto sustrato de DDC marcado con ^{13}C (p. ej., LD marcada con ^{13}C) y al menos un inhibidor de DDC (p. ej., carbidopa), e instrucciones proporcionadas con el sustrato que describen cómo determinar la determinación de la dosificación de inhibidor y el calendario de dosificación del inhibidor en un sujeto. El kit puede incluir al menos seis bolsas de recogida de aliento.

20 Los siguientes ejemplos se presentan con el fin de ilustrar más completamente las realizaciones preferidas de la invención. No se debe considerar en modo alguno que estos ejemplos limitan del alcance de la invención, definida por las reivindicaciones adjuntas.

Ejemplos

25 Ejemplo 1 Determinación de la dosificación de CD óptima para la supresión del metabolismo de LD periférico utilizando el método de la prueba respiratoria de $^{13}CO_2$ de la invención

30 Los presentes estudios emplearon el método de la prueba respiratoria de $^{13}CO_2$ de la presente invención para determinar la dosis óptima de CD requerida para suprimir de manera óptima el metabolismo periférico de LD marcada con C^{13} en sujetos individuales (es decir, Vlt 1 y Vlt 2). En resumen, se recogió una muestra de prueba pre-respiratoria en sujetos humanos normales después de un ayuno durante la noche (12 h) en una bolsa de 1,3 L de aluminio (Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., Tokio, Japón). En pocas palabras, los sujetos humanos normales ingirieron dosis variables (p. ej., 25 mg-200 mg de CD) 1 h antes de la administración de 100 mg de LD marcada con ^{13}C en tres días sucesivos. Las muestras de aliento se recogieron a intervalos específicos tras la administración de LD marcada con ^{13}C para determinar la descarboxilación periférica metabólica de la droga. Es decir, se recogieron muestras de aliento a intervalos de 5 minutos durante 40 minutos, a intervalos de 10 minutos a 90 minutos y 120 minutos. El metabolismo de LD marcada con ^{13}C en ausencia de administración de CD sirvió como control. Los resultados de estos estudios se resumen las Figuras 5-8. Hay una respuesta a la dosis para la inhibición de la actividad de la enzima DDC periférica por el inhibidor CD.

40 Ejemplo 2 La preadministración de CD produce una supresión superior de descarboxilación de LD periférica en comparación con la administración de CD/LD simultánea

45 Los presentes estudios examinaron el efecto de la administración previa de CD sobre el metabolismo de LD periférico en sujetos humanos. En resumen, sujetos humanos normales ingirieron dosis variables (por ejemplo, 25 mg-200 mg de CD) o bien simultáneamente, o hasta 2 h antes de la administración de LD marcada con ^{13}C . Las muestras de aliento se recogieron a intervalos específicos tras la administración de la LD marcada con ^{13}C para determinar descarboxilación metabólica periférica de la LD marcada con ^{13}C . El metabolismo de la LD marcada con ^{13}C en la ausencia de administración de CD sirvió como control. Los resultados de estos estudios se resumen a continuación en la Tabla 1, así como en las Figuras 9-14.

Tabla 1

CD	DOB ₂₀		PRD ₄₀		C _{max}	
	1h antes	simultánea	1h antes	simultánea	1h antes	simultánea
Vlt 1	1h antes	simultánea	1h antes	simultánea	1h antes	simultánea
0 mg	45,6	45,6	29,8	29,8	58,8	58,8
25 mg	25,8 (43)	35,6 (22)	12,7 (57)	18,7 (37)	26,9 (54)	47,2 (20)
50 mg	6,8 (85)	25,5 (44)	(3,6 (88))	11,7 (61)	6,8 (88)	25,5 (57)
100 mg	10,6 (77)	16,5 (64)	5,3 (82)	9,1 (69)	10,6 (82)	17,5 (70)
Vlt 2	1h antes	simultánea	1h antes	simultánea	1h antes	simultánea
0 mg	36,7	36,7	18,8	18,8	36,7	36,7
50 mg	12,6 (66)	15,4 (58)	8,3 (56)	11,0 (41)	19,1 (48)	25 (32)
100 mg	13,6 (63)	26,7 (27)	7,8 (59)	14,1 (25)	13,5 (63)	26,7 (27)
200 mg	8,8 (76)	20,5 (44)	6,7 (70)	12,0 (36)	9,2 (75)	20,6 (44)

DOB₂₀: Valor DOB a los 20 minutos después de la administración de la LD marcada con ¹³C
PRD₄₀: Valor PRD a los 40 minutos después de la administración de la LD marcada con ¹³C

5 En la Tabla 1, las cifras entre paréntesis son el porcentaje de inhibición de DDC por CD. Delta sobre el valor inicial de ¹³CO₂ se denomina DOB. El porcentaje de dosis de LD recuperado como ¹³CO₂ se denomina PRD. La concentración máxima en el aliento de ¹³CO₂ se denomina C_{max}.

10 Como se muestra en la Tabla 1 y la Figura 9 a la Figura 14, el nivel de control del metabolismo periférico de LD marcada con ¹³C en los sujetos humanos normales fue inhibido significativamente en estos individuos después de la administración de CD a todas las concentraciones de CD sometidas a ensayo. La inhibición del metabolismo periférico de LD marcada con ¹³C también fue mayor cuando la CD se administró antes de la administración de LD marcada con ¹³C (ya sea 1 h o 2 h) en comparación con el nivel de metabolismo LD observado cuando se administraron simultáneamente CD y LD marcadas con ¹³C (Figura 6, panel E y panel F). Específicamente, la ingestión simultánea de CD/LD con dosis de 25 mg o de 50 mg de CD y de 100 mg de LD no suprimió completamente la descarboxilación periférica de DCC. Si la CD se administró 1 h antes de la dosis de LD, sin embargo, hubo una supresión máxima de DCC observada en sujetos humanos (es decir, Vlt 1 y Vlt 2). No hubo diferencia significativa en el nivel de metabolismo periférico de LD marcada con ¹³C observado cuando la CD se administró 1 h antes de la administración de LD frente a la administración del CD 2 h antes de la administración de LD.

20 Ejemplo 3 Procedimiento de la prueba respiratoria

25 En una realización del procedimiento de la prueba respiratoria de la invención, la LD marcada con ¹³C (100 mg) es ingerida por un sujeto después de un ayuno durante la noche (8-12 h), durante un período de tiempo de aproximadamente 10-15 segundos. Las muestras de aliento se recogen a intervalos de tiempo de 5 min hasta 40 min y a intervalos de 10 min a 90 min y a 120 minutos después de la ingestión de ¹³LD C-etiquetados. Las muestras de aliento son recogidas haciendo que el sujeto contenga momentáneamente la respiración durante 3 segundos antes de exhalar en una bolsa de recogida de muestras. Las muestras de aliento se analizan en un espectrofotómetro UBiT IR-300 (Meretek, Denver, CO) para determinar la razón de ¹³CO₂/¹²CO₂ en el aliento espirado, o se envían a un laboratorio de referencia. Opcionalmente, se administran oralmente al sujeto dosis variables (10-400 mg) de CD (10 min-6 h) antes de la administración de la LD marcada con ¹³C.

REIVINDICACIONES

1. Un método para la individualización de la terapia con levodopa/carbidopa en un sujeto mamífero, que comprende las etapas de:
- 5 i) medir el CO₂ marcado con isótopo exhalado por el sujeto después de haber administrado al mismo una levodopa marcada con isótopo y una primera dosificación de carbidopa, en donde metabolismo de la levodopa marcada con isótopo produce CO₂ marcado con isótopo, y determinar la capacidad metabólica de la levodopa a partir del CO₂ marcado con isótopo medido;
- 10 ii) repetir las etapas anteriores con al menos una segunda dosificación diferente de carbidopa y
iii) determinar un régimen de dosificación eficaz de carbidopa para administrarlo al sujeto.
2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el sujeto mamífero tiene la enfermedad de Parkinson.
3. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende adicionalmente la etapa de comparar el CO₂ marcado con isótopo medido en el sujeto o un parámetro farmacocinético obtenido de allí con el correspondiente CO₂ marcado con isótopo medido o parámetro en un sujeto sano con una capacidad metabólica de levodopa normal.
- 15 4. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la levodopa marcada con isótopo es levodopa marcada con ¹³C.
- 20 5. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la levodopa marcada con isótopo se administra de forma no invasiva.
6. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la levodopa marcada con isótopo se administra por vía intravenosa o por vía oral.
- 25 7. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el CO₂ exhalado marcado con isótopo se mide espectroscópicamente o con un analizador de masas.
- 30 8. El método de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el CO₂ exhalado marcado con isótopo se mide mediante una espectroscopia infrarroja.
9. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el CO₂ exhalado marcado con isótopo se mide a lo largo de al menos tres períodos de tiempo para cada dosificación de carbidopa para generar una curva que muestra la levodopa marcada con isótopo metabolizada en cada momento, y la capacidad metabólica de la levodopa se determina a partir del área bajo al menos una de las curvas.
- 35 10. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el CO₂ exhalado marcado con isótopo se mide durante al menos los siguientes momentos para cada dosis de carbidopa: t₀, un tiempo anterior a la ingestión de la levodopa marcada con isótopos; t₁, un tiempo después del cual se espera que la levodopa marcada con isótopo haya sido absorbida al menos parcialmente en el torrente sanguíneo del sujeto; y t₂, un tiempo después del cual se espera que haya comenzado la eliminación de la levodopa del sujeto.
- 40 11. El método de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el parámetro farmacocinético se selecciona a partir del porcentaje de recuperación de la dosis, el área bajo la curva, y delta sobre el valor inicial derivada de al menos una curva de respiración que representa el CO₂ marcado con isótopo generado por el sujeto para una dosis de carbidopa.
- 45 12. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde al menos una dosis de carbidopa se administra al sujeto antes de la administración de la levodopa marcada con isótopo.
- 50 13. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la determinación del régimen de dosificación eficaz incluye la determinación de una dosis óptima de carbidopa que se va a administrar al sujeto, un momento ideal para la administración de la carbidopa al sujeto, o el número óptimo de dosis de carbidopa que se van a administrar al sujeto.
- 55 14. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el isótopo es al menos un isótopo seleccionado del grupo que consiste en: ¹³C; ¹⁴C; y ¹⁸O.
- 60

FIGURA 1

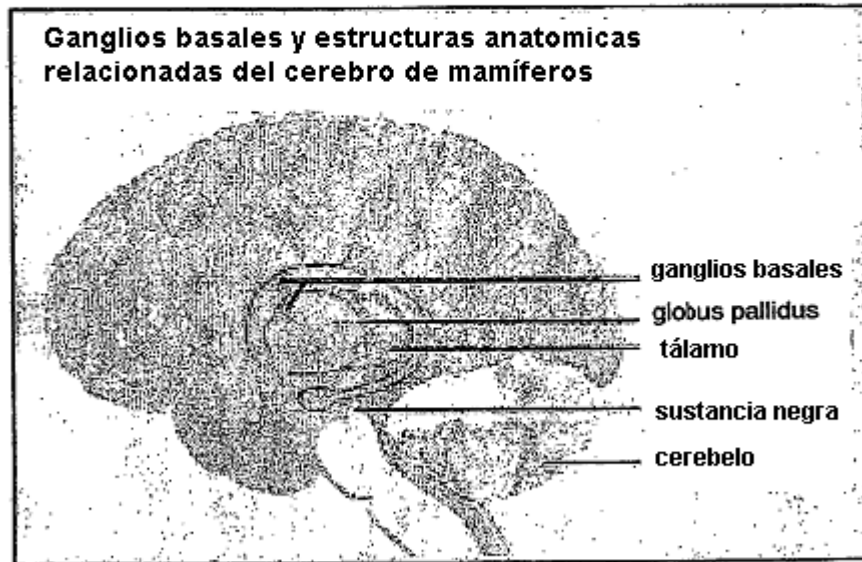


FIGURA 2

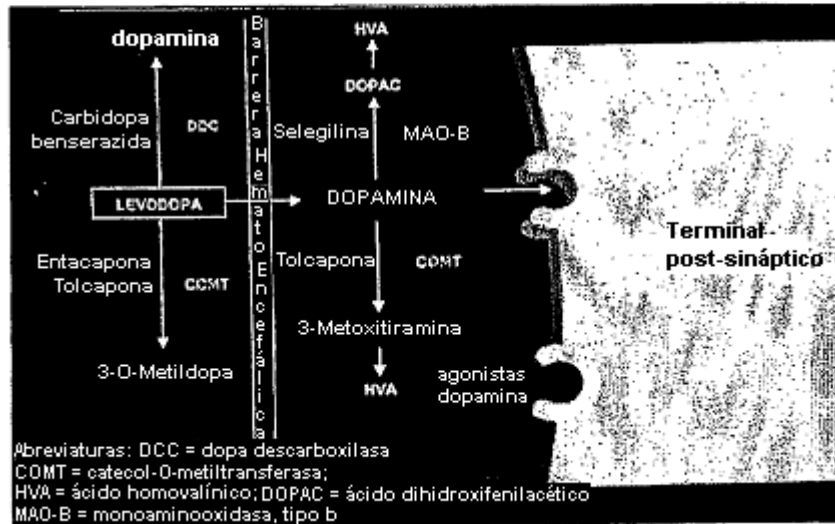


FIGURA 3

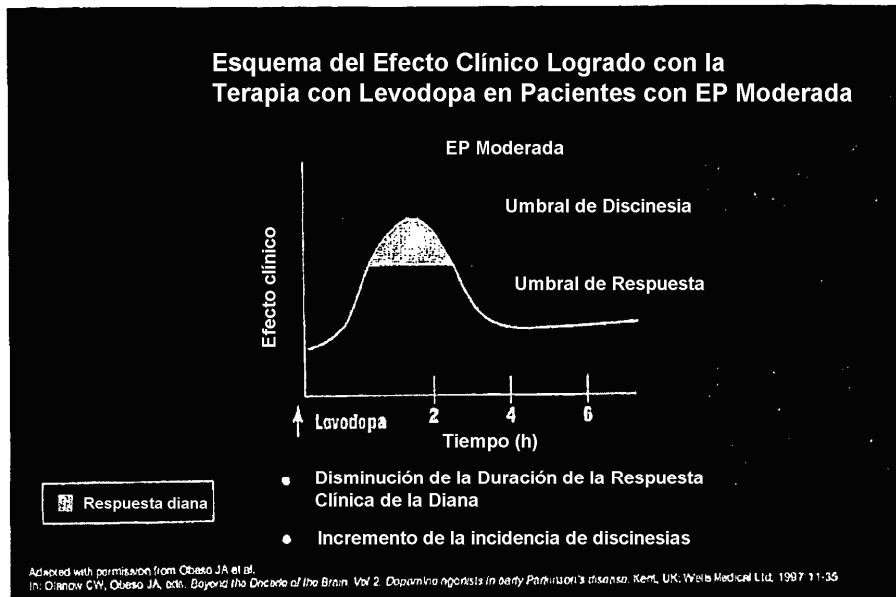


FIGURA 4

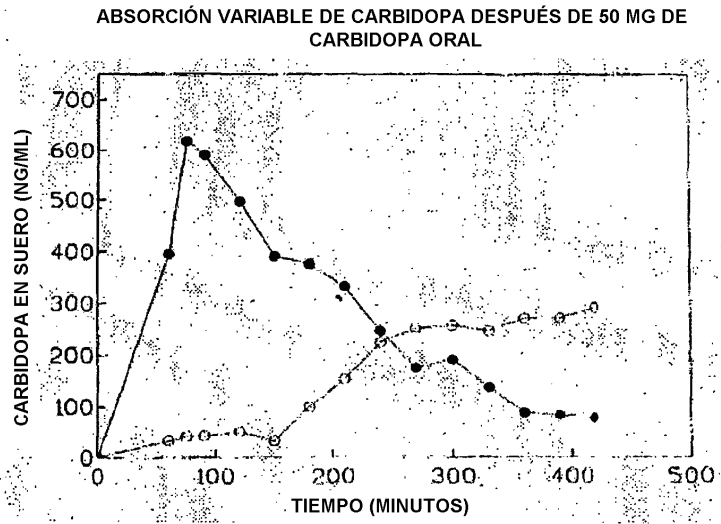


FIGURA 5

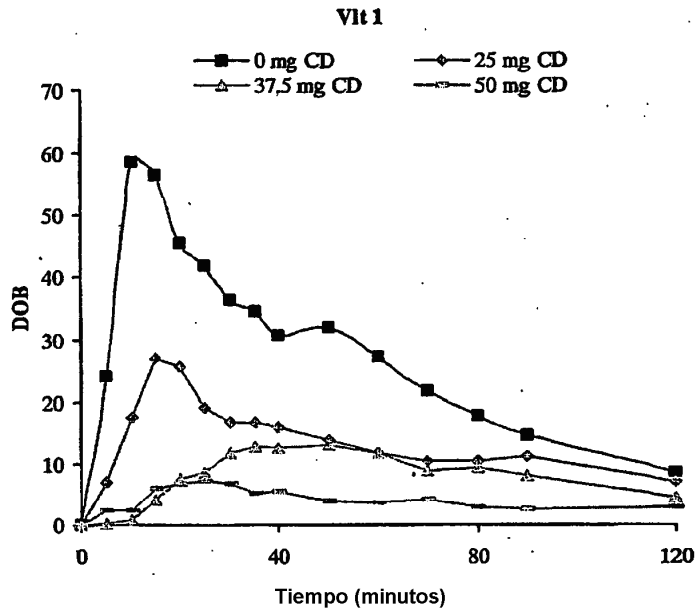


FIGURA 6

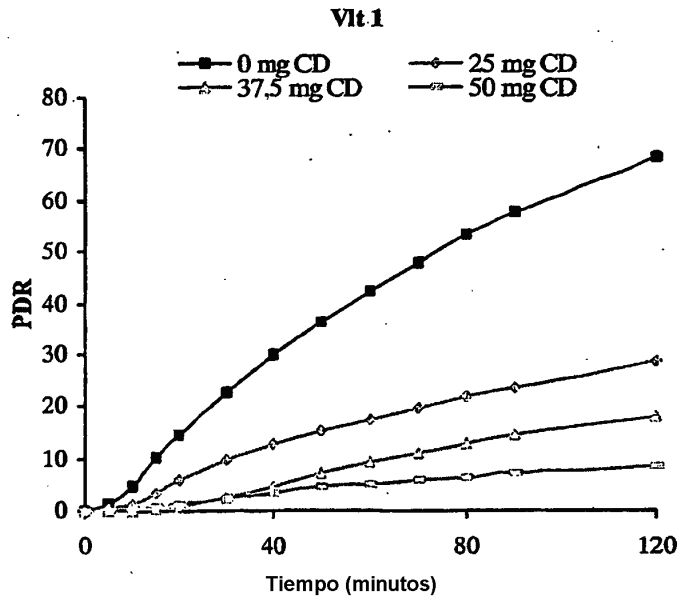


FIGURA 7

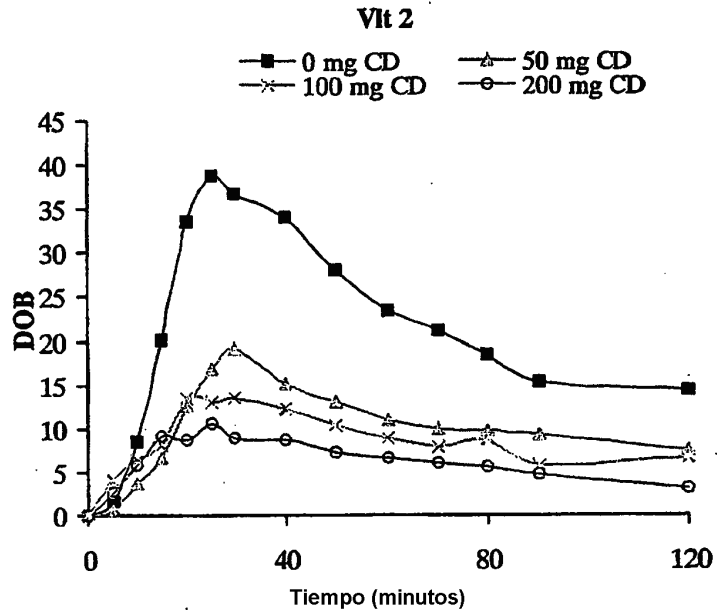


FIGURA 8

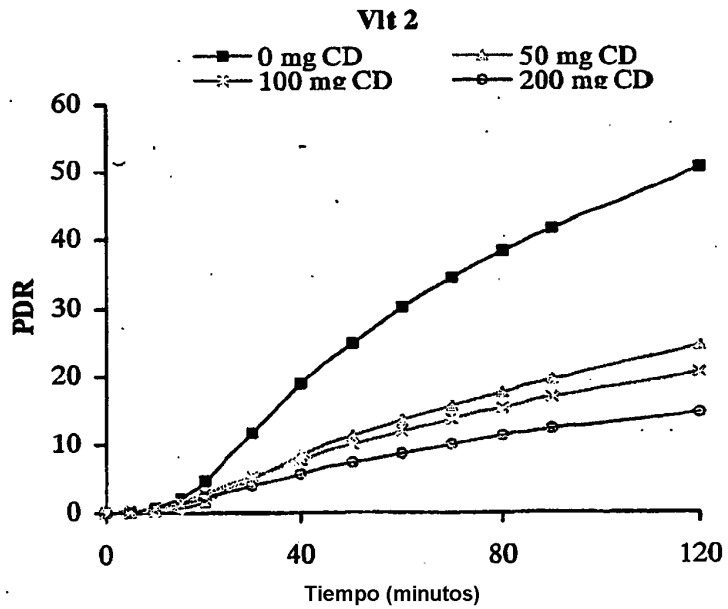


FIGURA 9

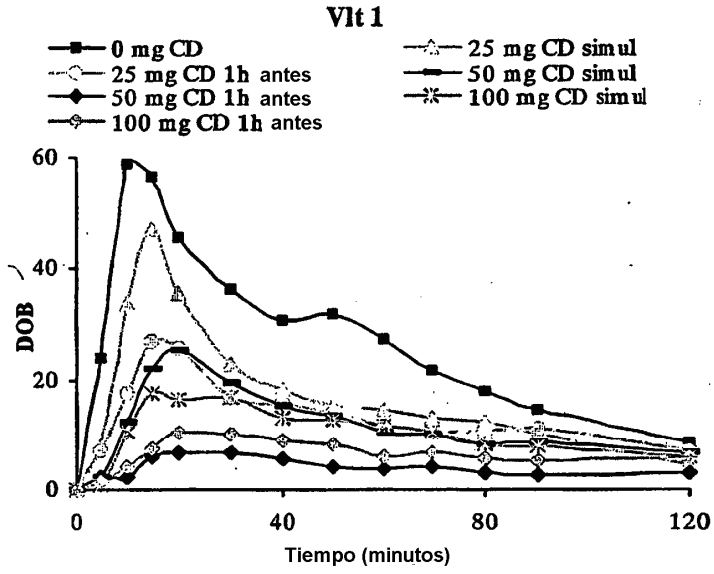


FIGURA 10

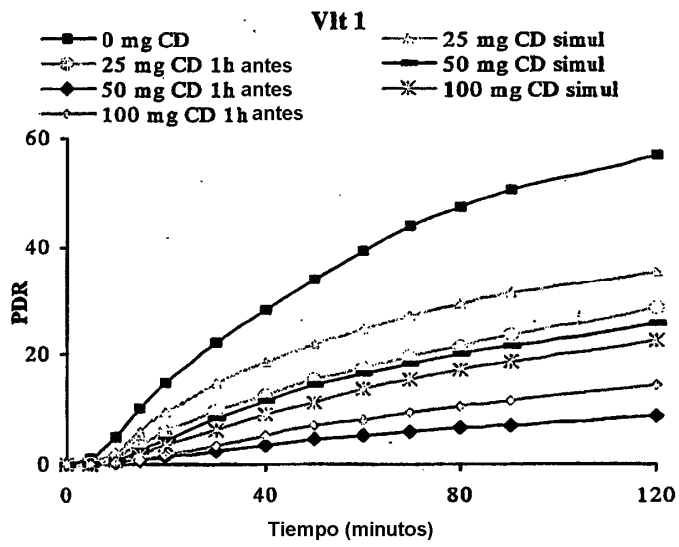


FIGURA 11

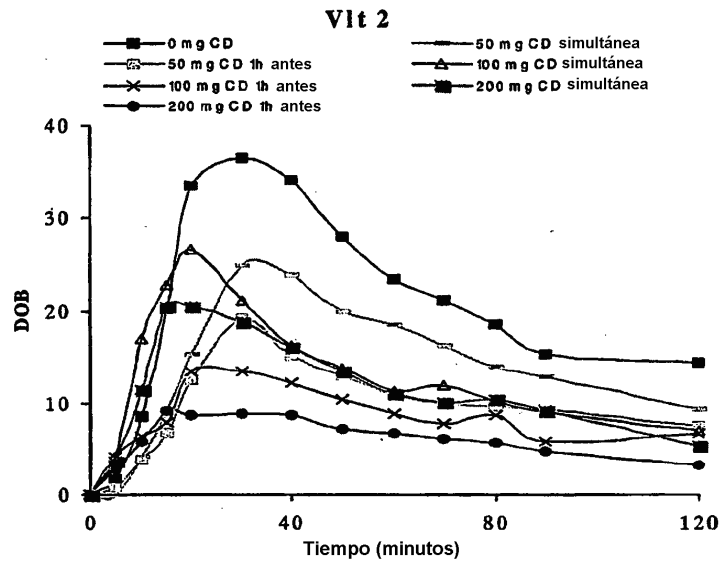


FIGURA 12

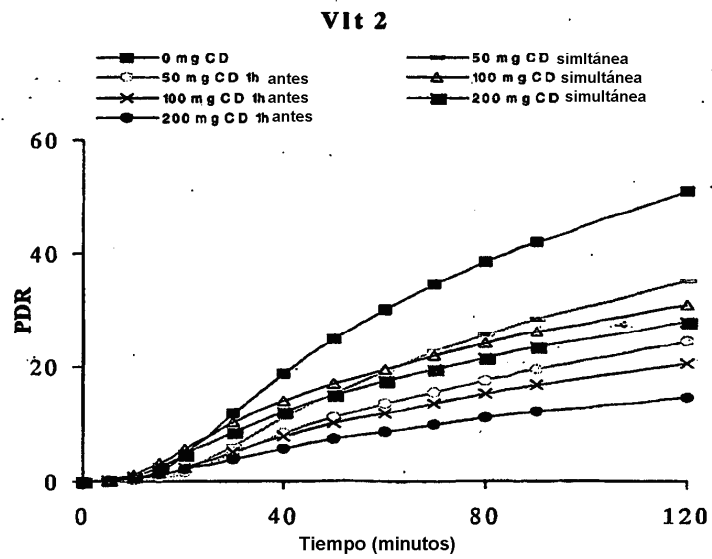


FIGURA 13

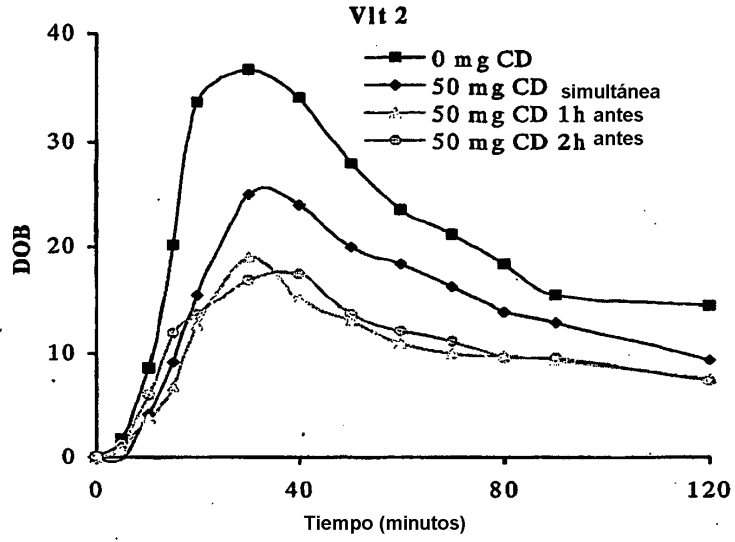


FIGURA 14

