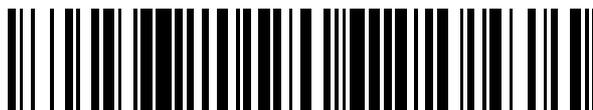


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 527 595**

51 Int. Cl.:

A61B 5/00 (2006.01)
A61K 49/00 (2006.01)
A61K 51/04 (2006.01)
A61B 5/083 (2006.01)
A61B 5/097 (2006.01)
A61M 16/06 (2006.01)
G01N 33/497 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.06.2006 E 06761702 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.10.2014 EP 1896846**

54 Título: **Solución acuosa de metacetina** ¹³C

30 Prioridad:

25.06.2005 DE 102005028836

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

27.01.2015

73 Titular/es:

FREIE UNIVERSITÄT BERLIN (50.0%)
Kaiserswerther Strasse 16-18
14195 Berlin, DE y
CHARITÉ - UNIVERSITÄTSMEDIZIN BERLIN
(50.0%)

72 Inventor/es:

STOCKMANN, MARTIN y
RIECKE, BJÖRN

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 527 595 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

Solución acuosa de metacetina ¹³C

5 La invención se refiere a una solución acuosa de metacetina de acuerdo con el preámbulo de la reivindicación 1.

10 La determinación de un parámetro de función orgánica, en particular la determinación cuantitativa de la función hepática es de gran importancia en muchos campos de la medicina. Las enfermedades hepáticas crónicas están muy extendidas en Europa, sólo con hepatitis C están infectados 8,9 millones de seres humanos. Estos individuos o
 10 pacientes con una enfermedad progresiva se encuentran en la mayoría de los casos en asistencia médica duradera. En la terapia y el tratamiento de pacientes con enfermedades hepáticas crónicas, mediante la cuantificación de la función hepática, tiene lugar un control de terapia claramente mejor y para el pronunciamiento de las decisiones de terapia correctas es decisiva la evaluación de la función hepática.

15 La resección parcial del hígado es un procedimiento habitual en la cirugía actual. Se lleva a cabo como resección segmentaria o hemihepatectomía a lo largo de los límites anatómicos. Las intervenciones quirúrgicas extensivas en el órgano parenquimatoso se facilitaron mediante el desarrollo de las más diversas técnicas de operación. La morbilidad postoperatoria por fallo hepático debido a una falta de capacidad de la función hepática en el caso de un tejido residual hepático previamente dañado o demasiado pequeño, es en cambio además un problema
 20 significativo. Una gran parte de las intervenciones quirúrgicas tiene que efectuarse en cambio en tejido hepático previamente dañado, en la mayoría de los casos un hígado transformado por cirrosis. Por lo tanto es necesario poder determinar la capacidad hepática funcional de un paciente ya antes de la resección parcial del hígado, para no exponer a los pacientes, que ya no tienen ninguna reserva funcional suficiente de su tejido hepático, a altos riesgos de operación o suministrarles otros procedimientos de terapia.

25 En el trasplante de hígado se atribuye una importancia particular a la evaluación de la función hepática, dado que en ese caso tiene que evaluarse rápidamente la función orgánica y debe tomarse una rápida decisión de terapia. En este caso puede evaluarse difícilmente además en muchas situaciones clínicas si existe un trastorno funcional parenquimatoso, o si otras causas son responsables de los síntomas clínicos de los pacientes. Por lo tanto, en
 30 resumen existe una necesidad considerable de ofrecer una prueba de la función hepática realmente cuantitativa para la amplia aplicación en Medicina.

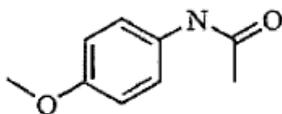
35 Por este motivo, se dan esfuerzos a nivel mundial para desarrollar pruebas sencillas que permitan realizar aseveraciones de pronóstico con respecto a las reservas funcionales del tejido celular hepático. Los parámetros de laboratorio convencionales son muy dudosos y, por este motivo, no son adecuados para ello. Estos no son suficientemente sensibles para evaluar de manera fiable los procesos biológicos complejos en los hepatocitos (biosíntesis, biotransformación, catabolismo de xenobióticos, etc.) así como sus variaciones durante la enfermedad.

40 Adicionalmente están sujetos a una pluralidad de influencias externas y se adulteran por ello. Por ejemplo se adulteran en parte mediante la necesidad de intervención terapéutica mediante sustitución de plasma humano, factores de coagulación o albúmina y por lo tanto no son útiles como parámetros de la función hepática. Una pluralidad de distintas pruebas de la función hepática se ha descrito en la bibliografía (Matsumoto, K., M. Suehiro, y col (1987). "[13C]methacetin breath test for evaluation of liver damage". Dig Dis Sci 32 (4): 344-8, 1987; Brockmoller, J. and I. Roots (1994). "Assessment of liver metabolic function. Clinical implications". Clin Pharmacokinet 27 (3): 216-48).
 45

Hasta el momento no se ha logrado con ningún procedimiento de prueba encontrar aseveraciones válidas y realmente cuantitativas para la función hepática. Hasta el momento podría conseguirse en todos los procedimientos sólo una diferenciación significativa entre distintos grupos de enfermedad con síntomas clínicamente ya reconocibles. Por lo tanto, en la práctica clínica no se utiliza ninguna prueba de la función hepática en el diagnóstico de rutina, dado que éstas no traen ninguna ganancia clínica adicional en la precisión actual.
 50

55 La prueba del aliento de ¹³C usada hasta el momento, con una administración exclusivamente oral de la sustancia es un método que puede diferenciar la capacidad de la función hepática de sujetos de ensayo sanos y pacientes con una hepatitis crónica sin cirrosis y con cirrosis en los diferentes estadios de Child-Pugh (Matsumoto, K., M. Suehiro, y col (1987). "[13C]methacetin breath test for evaluation of liver damage". Dig Dis Sci 32 (4): 344-8, 1987), pero no permite una cuantificación real.

60 La sustancia metacetina se desmetila a través de la enzima CYP1A2 en el hígado en una reacción de una sola etapa que discurre rápidamente para dar paracetamol, generándose a continuación CO₂. Mediante el marcaje con ¹³C del grupo metilo unido a través del puente de éter puede medirse entonces ¹³CO₂ en el aire exhalado. La siguiente fórmula (I) reproduce la fórmula estructural de metacetina:



(I)

Con los procedimientos hasta el momento no puede conseguirse el objetivo de una cuantificación real con un resultado de medición individual. Esto tiene dos causas:

1. La base de las aseveraciones de una prueba del aliento es que la etapa que va a evaluarse en la cascada de los procesos de absorción y el metabolismo debe ser la etapa determinante de la velocidad. En el caso del procedimiento hasta el momento para la evaluación de la función hepática (administración oral de la sustancia de ensayo) no obstante, en su mayor parte, la reabsorción es la etapa determinante de la velocidad, no la reacción del sustrato en el hígado.

2. Para poder encontrar aseveraciones cuantitativas sobre un sistema enzimático, en el presente caso: para poder determinar la capacidad de la función hepática máxima, es decir, la capacidad hepática funcional, debe aprovechar al menos rápidamente el sistema enzimático que va a someterse a ensayo. Sólo en este caso la reacción transcurre independientemente de la concentración de sustrato.

Es decir, para una cuantificación real es indispensable alcanzar el exceso de sustrato. Si esto no se consigue, la velocidad de conversión es directamente proporcional a y, por lo tanto, dependiente de la concentración de sustrato, que por su parte cae de manera no lineal. Una aseveración cuantitativa sobre la capacidad funcional se hace imposible. En todos los trabajos con sustancias de ensayo utilizadas por vía oral no podría por lo tanto tener lugar ninguna cuantificación real, dado que no se consigue una utilización enzimática con los procedimientos hasta el momento. Esto tiene las siguientes causas:

1. En el caso del uso oral la metacetina tiene que atravesar en primer lugar el estómago y transportarse hasta el duodeno y el yeyuno proximal, para poder reabsorberse. Sólo entonces puede alcanzar la sustancia el hígado a través de la vena porta. En principio este proceso requiere tiempo y provoca una inundación retardada e incompleta en el hígado. Esto es extraordinariamente variable y se ve afectado por numerosos estados fisiológicos y patológicos. Por ejemplo en el caso de la cirrosis hepática, en la que podrían utilizarse pruebas de la función hepática para la clasificación de etapas y para la gestión de terapia, el paso intestinal y la reabsorción está fuertemente modificado (Castilla-Cortazar, I., J. Prieto, y col (1997). "Impaired intestinal sugar transport in cirrhotic rats: correction by low doses of insulin-like growth factor I". *Gastroenterology* 113 (4): 1180-7). También en el transcurso después de operaciones abdominales (por ejemplo resecciones de hígado o trasplante de hígado) no es posible mediante una atonía intestinal (íleo paralítico) en absoluto ninguna aseveración segura.

2. Una dosificación suficiente de la sustancia de prueba es necesaria. En el caso de una dosificación demasiado pequeña tal como en la mayoría de los procedimientos para la realización de la prueba del aliento de metacetina oral no se consigue *per se* una utilización del sistema enzimático.

Así mismo puede observarse que metacetina es extremadamente poco soluble en agua o en un tampón acuoso. Cristaliza en una solución acuosa habitual en el plazo de horas a días. Una solución de este tipo puede usarse, si se usa, sólo para aplicaciones orales de metacetina. No son posibles otras formas de aplicación.

Además, en los procedimientos hasta el momento se analiza la tasa de recuperación porcentual de la dosis utilizada (% de dosis/h) así como la dosis acumulativa en determinados instantes o intervalos temporales, para determinar la función hepática. El cálculo del % de dosis/h define las cantidades de sustrato que han reaccionado de manera no absoluta y no considera así mismo el peso corporal individual del paciente. Una individualización y por lo tanto una normalización para la clasificación de la capacidad hepática funcional máxima no puede tener lugar por lo tanto en un colectivo convencional.

La determinación hasta el momento de la dosis acumulativa metabolizada D_{kum} a lo largo de un periodo de tiempo determinado es así mismo poco significativa con respecto a la capacidad hepática funcional. Para una aseveración fiable (segura) sobre la capacidad de conversión máxima del sistema enzimático a lo largo del tiempo, esta debería utilizarse en este sentido a lo largo de todo el periodo de tiempo. Este no es el caso por los motivos mencionados anteriormente. Por lo tanto, el cálculo usado por el momento de la dosis acumulativa no puede utilizarse para la cuantificación de la capacidad hepática funcional.

Para evitar las desventajas relacionadas con la administración oral con respecto a la reabsorción, se desarrolló una prueba del aliento con una inyección intravenosa de ^{13}C -metacetina (Lingenfeller, Th., y col (1998). "Intravenous [^{13}C]-Methacetin breath test for evaluation of liver function in cirrotic patients and healthy controls". *Gastroenterology* 114 (4): A1291). A este respecto se inyectó a los sujetos de ensayo una dosis de ^{13}C -metacetina de 1 mg/kg de peso corporal. La composición de la solución no se describió. Por medio de esta prueba del aliento pudieron diferenciarse las personas sanas de pacientes con cirrosis hepática.

Por Merck-Index, 11 edición, 1989 se conoce que la metacetina es poco soluble en agua, por el contrario es soluble en ácidos o bases diluidos.

5 La invención se basa en el objetivo de crear una solución de metacetina en la que la metacetina disuelta permanece disuelta de manera estable a lo largo de un periodo de tiempo de semanas o meses.

Este objetivo se consigue mediante una solución acuosa de metacetina con las características de la reivindicación 1. Otras configuraciones se mencionan en las reivindicaciones 2 a 8.

10 Esta solución de metacetina puede usarse por ejemplo en un procedimiento de análisis para la determinación de un parámetro de función orgánica de un individuo humano o animal. De acuerdo con este procedimiento de análisis se mide el contenido en $^{13}\text{CO}_2$ en el aire exhalado del individuo, formándose el $^{13}\text{CO}_2$ en el organismo del individuo de manera enzimática a partir de un sustrato, que se administró previamente al individuo y a continuación se exhala por el individuo. La medición del contenido en $^{13}\text{CO}_2$ en el aire exhalado del individuo tiene lugar a este respecto con un
15 aparato de medición correspondiente. La velocidad de conversión máxima del sustrato en el organismo del individuo se determina mediante una variación del contenido en $^{13}\text{CO}_2$ medido en el aire exhalado del individuo por medio de una cinética enzimática de orden cero. Es decir, este procedimiento de análisis parte de un punto de vista cinético-enzimático.

20 Preferentemente en el caso del parámetro de función orgánica que va a tratarse se trata de la capacidad de la función hepática y/o la microcirculación en el hígado. Por lo tanto, el procedimiento de análisis es adecuado en particular para la cuantificación de la capacidad hepática funcional del individuo. La función del hígado es extremadamente compleja como órgano del metabolismo central. Muchas rutas de síntesis y de degradación bioquímicas están presentes en el hígado. En conjunto son casi todas las que funcionan a través de una conversión
25 enzimática.

Preferentemente se determina la relación de $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ en el aire exhalado del individuo. Este valor puede utilizarse como razón de $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ en la fórmula (1) más adelante.

30 En una configuración especialmente preferida del procedimiento el cálculo de la velocidad de conversión máxima (LiMAX) tiene lugar mediante la cantidad de sustrato que ha reaccionado por tiempo en $\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$ de peso corporal en instantes variables, en los que se alcanza el valor máximo, para que pueda tener la cuantificación real de la capacidad hepática funcional máxima. El cálculo tiene lugar de acuerdo con la siguiente fórmula (1), que describe una cinética enzimática de orden cero:
35

$$\text{LiMAX} = \frac{(\delta^{13}\text{C}_{\text{imax}} - \delta^{13}\text{C}_0) \cdot R_{\text{PDB}} \cdot P \cdot M}{\text{KG}} \quad [\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}] \quad (1)$$

40 En este caso $\delta^{13}\text{C}$ es la diferencia entre la razón de $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ de la muestra y la normativa Pee Dee Belmnite (PDB) en delta por mil, R_{PDB} es la razón de $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ de la normativa PDB (0,0112375), P es la tasa de producción de CO_2 ($300 \text{ mmol}/\text{h} \cdot \text{superficie corporal en m}^2$), M es el peso molecular del sustrato y KG el peso corporal actual del individuo en kg.

45 En una configuración preferida adicional del procedimiento no se determina la relación de $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$, sino el contenido absoluto en $^{13}\text{CO}_2$ en el aire exhalado del individuo. Esto es posible por ejemplo por medio de espectroscopía de infrarrojo selectiva de isótopos. En la fórmula (1) se trabaja directamente con las concentraciones absolutas en volumen de $^{13}\text{CO}_2$ integradas con respecto al tiempo en lugar de las relaciones de $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$, y se suprimen de esta manera también los factores R_{PDB} y P y por lo tanto la dependencia de las tasas de producción de CO_2 calculadas sólo de forma general. La concentración en volumen de $^{13}\text{CO}_2$ representa a este respecto la concentración del $^{13}\text{CO}_2$ en todo el aire exhalado, es decir, que en el uso preferido del contenido en $^{13}\text{CO}_2$ en el aire
50 exhalado del individuo además de la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ también se determina el volumen de todo el flujo de gas respiratorio. De esta manera se obtiene así mismo la tasa de conversión ($\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$), es decir, la cantidad de sustrato que ha reaccionado por tiempo normalizada con respecto al peso corporal del individuo.

55 La fórmula (1) se simplifica mediante la determinación de la concentración absoluta de $^{13}\text{CO}_2$ para dar la fórmula (2):

$$\text{LiMAX} = \frac{\int_{t=t_{\text{max}}}^{t=t_{\text{max}}+i} [^{13}\text{CO}_2] dt \cdot \int_{t=t_{\text{max}}}^{t=t_{\text{max}}+i} \dot{V} dt \cdot M}{\text{KG}} \quad [\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}] \quad (2)$$

En este caso [$^{13}\text{CO}_2$] es la concentración absoluta del $^{13}\text{CO}_2$ en el aire exhalado del individuo por unidad de volumen, V es el volumen por unidad de tiempo, t es el tiempo, t_{max} es el instante de la conversión máxima, i es la resolución temporal menor posible de manera correspondiente a la metodología de medición, M es el peso molecular del sustrato y KG es el peso corporal actual del individuo en kg.

Para la determinación del contenido en $^{13}\text{CO}_2$ en el aire exhalado se usa preferentemente un espectrómetro de infrarrojos, dado que $^{13}\text{CO}_2$ presenta una banda de absorción separable en la zona del infrarrojo.

En los aparatos de medición de NDIRS (NDIRS = espectroscopía de infrarrojos no dispersiva) se elimina el vapor de agua contenido en el aire exhalado antes de la medición de manera ventajosa mediante un intercambiador de humedad, que está conectado antes del aparato de medición, para evitar absorciones indeseadas del vapor de agua en la zona del infrarrojo. Un intercambiador de humedad especialmente adecuado es por ejemplo un intercambiador de humedad de Nafion. En cambio, son así mismo adecuados otros intercambiadores de iones, que pueden secar de forma efectiva el aire exhalado del individuo.

En el caso de una determinación selectiva de isótopos del contenido absoluto en $^{13}\text{CO}_2$ en el aire exhalado de un individuo se suprime preferentemente este secado del aire exhalado que va a analizarse, dado que las bandas del vapor de agua no se solapan con la banda o las bandas que van a observarse del $^{13}\text{CO}_2$.

En una configuración preferida del procedimiento se determina, además de la velocidad de conversión máxima del sustrato en el organismo del individuo también el tiempo de inundación, es decir, el tiempo que es necesario para alcanzar la velocidad de conversión máxima.

El tiempo de inundación se consulta preferentemente para la valoración de la microcirculación en el hígado, de modo que pueden reconocerse trastornos de microcirculación. Siempre que exista una inundación lo más rápida posible mediante, en particular, inyección en bolo intravenoso y exceso de sustrato así como el alto efecto de primer paso de metacetina u otro sustrato, puede valorarse de manera especialmente ventajosa la microcirculación hepática. En este caso se determina el tiempo de inundación hasta alcanzar la tasa de conversión máxima t_{vmax} , que se prolonga en el caso de trastornos de microcirculación, dado que en este caso la inundación de sustrato no está retrasada en todas las zonas del hígado al mismo tiempo o en conjunto. De este modo puede valorarse una perfusión del hígado.

Preferentemente la microcirculación y la perfusión del hígado no sólo se valoran de forma aislada, sino también clasificadas en un colectivo convencional. Para ello se normaliza el tiempo de inundación teniendo en cuenta el peso corporal del individuo con un colectivo normal. Esto mismo es válido también para la velocidad de conversión máxima. Haciendo referencia al peso corporal individual se consiguen la eliminación de una variabilidad entre individuos y con ello una normalización. Solo con ello es posible la clasificación de la capacidad hepática funcional individual en un colectivo de comparación. Con el procedimiento descrito no sólo puede diferenciarse entre función hepática limitada (por ejemplo en el caso de cirrosis hepática manifiesta) y capacidad hepática sana, sino que mediante la utilización rápida y completa del sistema enzimático pueden establecerse ahora diferencias muy pequeñas en la tasa de conversión máxima (capacidad hepática funcional) a lo largo de un amplio intervalo de medición.

Para poder detectar el instante de la velocidad de conversión máxima, es necesario un análisis de la razón de $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ o del contenido relativo o absoluto en $^{13}\text{CO}_2$ en el aire exhalado a lo largo del el tiempo.

Por lo tanto se obtienen preferentemente en instantes definidos muestras de gas respiratorio y se analizan con un analizador de gas respiratorio (aparato de medición) de acuerdo con una de las técnicas que se han descrito anteriormente. De este modo las muestras de gas pueden obtenerse por ejemplo en los instantes 0 min y 2½, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 y 60 min después de la aplicación de la sustancia de prueba (sustrato). Este procedimiento de medición se denomina también como medición fuera de línea discontinua. La medición de las muestras de gas respiratorio, es decir, del aire exhalado que va a analizarse, puede tener lugar a este respecto directamente a continuación de la obtención de la muestra o con un retardo temporal. Es decir, las muestras de gas respiratorio obtenidas pueden almacenarse de forma intermedia antes de una medición, cuando por ejemplo en ese momento no se encuentra disponible ningún aparato de medición para su uso.

De manera ideal y preferente, se lleva a cabo un análisis continuo del aire exhalado con un analizador de gas respiratorio como aparato de medición (medición en línea).

A este respecto, la medición se extiende preferentemente a lo largo de un intervalo de tiempo en el que transcurre la cinética enzimática o que es el intervalo de tiempo más corto, dentro del cual tiene lugar una determinación segura de la cinética enzimática. En individuos enfermos es necesario un análisis durante un intervalo de tiempo de alrededor de 60 minutos. En individuos sanos, en los que ya tras algunos minutos se alcanza la velocidad de conversión máxima del sustrato en el hígado, puede interrumpirse el procedimiento de análisis ya tras alcanzar la velocidad de conversión máxima, es decir después de algunos minutos (por ejemplo 5 minutos).

A partir de la medición en línea continua del contenido en $^{13}\text{CO}_2$ en el aire exhalado del individuo resulta en particular una gran ventaja temporal al examinarse individuos sanos, puesto que en la medición fuera de línea se recogen en primer lugar las muestras de aliento y a continuación se analizan, de modo que apenas es posible una interrupción anticipada del procedimiento de análisis. En cambio, también en individuos enfermos resulta también siempre una clara ventaja temporal, dado que el resultado de la medición está inmediatamente después de concluir la medición y se suprime un envío a un laboratorio o una nueva intervención del operador.

Mediante un aumento de la resolución temporal en la medición en línea continua con respecto a la medición fuera de línea discontinua se obtienen más puntos de datos, lo que da como resultado una mayor precisión del análisis de curva.

Dado que en la medición en línea continua no tiene que inflarse ninguna bolsa de gas respiratorio en tiempos establecidos, se suprime la dependencia del operario con respecto a los instantes correspondientes; los puntos de datos pueden por lo tanto asociarse con un fallo significativamente reducido a un instante de la cinética enzimática en desarrollo.

Por este motivo se prefiere también la medición en línea continua, dado que de este modo es posible una medición completamente automática, en particular cuando mediante medidas adecuadas se garantiza el flujo de entrada de gas (es decir la colocación correcta de una mascarilla respiratoria sobre la cara del individuo).

Preferentemente el aire exhalado del individuo se recoge por medio de una mascarilla respiratoria en la cara del individuo y desde allí se transfiere a través de un tubo flexible u otra conexión de unión al aparato de medición, para llevarse a cabo a continuación el procedimiento de análisis.

En una configuración especialmente preferida del procedimiento se usa como sustrato metacetina marcada con ^{13}C . Esta ^{13}C -metacetina tiene un peso molecular de 166,19 g/mol.

En el caso de la reacción de ^{13}C -metacetina en el organismo del individuo se somete a ensayo un sistema enzimático específico del hígado que, en cambio no existe en una relación tan grande que pudiera conseguirse una utilización de la enzima en ningún instante. Por lo tanto es adecuada la isoenzima del citocromo p450 CYP1A2. A través de CYP1A2 se metabolizan sólo relativamente pocas sustancias, de modo que son pocos los factores de influencia y de perturbación. No obstante, ha de considerarse representativo de la función hepática.

La sustancia metacetina se desmetila a través de CYP1A2 en una reacción de una sola etapa que transcurre rápidamente para dar paracetamol, generándose a continuación CO_2 . Mediante el alto efecto de primer paso se garantiza una reacción rápida y completa. ^{13}C -metacetina es por lo tanto la más adecuada. Mediante marcaje con ^{13}C del grupo metilo unido a través del puente de éter puede medirse entonces $^{13}\text{CO}_2$ en el aire exhalado. Esto puede tener lugar mediante análisis del aire exhalado con un analizador de gas respiratorio adecuado. Para ello son adecuados por ejemplo los procedimientos de la espectroscopía de infrarrojos no dispersiva selectiva de isótopos o la espectrometría de masas selectiva de isótopos. Con ambos procedimientos se proporciona como valor de medición la diferencia entre la razón de $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ (relación de $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$) de la muestra y las normativas Pee Dee Belmrite (PDB) en delta por mil ($\delta^{13}\text{C}$).

El valor de pH de la solución de metacetina reivindicada se ajusta de modo que la solución sea básica, prefiriéndose especialmente un valor de pH de 7,5 a 9,5 y en particular de 8,0 a 8,5. De este modo ha resultado especialmente ventajoso por ejemplo un valor de pH de 8,2.

Para una mejor disolución de la metacetina, la solución de metacetina presenta un solubilizador.

Propiedades adecuadas con respecto a facilitar la disolución presenta a este respecto propilenglicol a una concentración de 10 a 100 mg/ml, más preferentemente a de 20 a 50 mg/ml, de manera especialmente preferente a de 25 a 35 y de manera muy especialmente preferente a de 30 mg/ml del propilenglicol cuyas propiedades solubilizadoras ventajosas surten efecto.

La solución de metacetina, en una variante preferida de la invención, es estéril y/o libre de pirógenos, de modo que la solución de metacetina puede aplicarse a un individuo o paciente humano o animal, sin que deban temerse complicaciones de salud.

La metacetina tiene en la solución de metacetina una concentración del 0,2 al 0,6 % (p/v), de manera especialmente preferente del 0,3 al 0,5 % y de manera muy especialmente preferente del 0,4 %. A esta concentración la metacetina es muy soluble en la solución de metacetina de acuerdo con la invención. A concentraciones más bajas preferidas con respecto a la solubilidad aumenta significativamente el volumen de la solución de metacetina que debe aplicarse a un individuo que va a examinarse, lo que es indeseable. A una concentración de metacetina mayor existe por el contrario el riesgo de que la metacetina precipite o cristalice en la solución.

Para poder utilizar de manera ventajosa la solución de metacetina para la realización de pruebas del aliento para la

determinación de parámetros de función orgánica, la metacetina disuelta está marcada con el isótopo de carbono ^{13}C . Este marcaje estará limitado preferentemente sólo a las zonas de la molécula que se liberan durante una reacción en el organismo de un individuo como CO_2 . Este es el grupo metilo representado en la fórmula (I) en el borde izquierdo. Mediante una limitación del marcaje con ^{13}C a este grupo metilo, otros productos de degradación de la metacetina distintos del CO_2 no presentan marcaje alguno, de modo que estos productos de degradación no pueden afectar a las mediciones que se basan en la determinación del contenido del $^{13}\text{CO}_2$.

Así mismo, es posible el uso de una solución de metacetina de acuerdo con la invención en un procedimiento analítico o de diagnóstico para la determinación de la distribución dinámica de la metacetina en un órgano de un individuo por medio de espectroscopía de resonancia magnética nuclear o terapia de resonancia magnética (RMN o TRM). Dado que la RMN de ^{13}C es activa, esta es adecuada para examinar la distribución dinámica de la metacetina por ejemplo en el hígado, para poder así sacar conclusiones sobre daños hepáticos. En un procedimiento de este tipo pueden examinarse procesos dinámicos con una resolución temporal relativamente alta (en intervalo de minutos) en el hígado. Las zonas del hígado que no son accesibles para un flujo de metacetina, son alcanzadas sólo de manera insuficiente o no son alcanzadas en absoluto por otras sustancias, de modo que de esta manera puede establecerse una correlación con daños hepáticos (parciales).

La solución de metacetina de acuerdo con la invención puede usarse en un procedimiento de diagnóstico para la determinación de un parámetro de función orgánica de un individuo o paciente humano o animal. A este respecto tiene lugar una inyección intravenosa de la solución de metacetina marcada con ^{13}C de acuerdo con la invención en el organismo del individuo y a continuación un análisis del contenido relativo y/o absoluto de $^{13}\text{CO}_2$ en el aire exhalado del paciente de acuerdo con un procedimiento de análisis, que se ya explicó anteriormente.

Preferentemente, el parámetro de función orgánica que va a determinarse es la capacidad de la función hepática y/o la microcirculación en el hígado.

La inundación de sustrato rápida necesaria para la evaluación cinética-enzimática se garantiza por que la ^{13}C -metacetina se administra por vía intravenosa en bolo. Mediante la inyección en bolo intravenosa se consigue una inundación de sustrato inmediata y completa en el hígado. La reabsorción de la sustancia de prueba ^{13}C -metacetina ya no es la etapa determinante de la velocidad. Con la dosificación preferida de 2 mg de metacetina por kg de peso corporal se permite también ya en hígados sanos mediante un exceso de sustrato breve, una utilización enzimática temporal. De esta manera se hace posible la capacidad de aseveración cuantitativa real, dado que se consigue una cinética enzimática de orden cero y sólo ésta permite una aseveración sobre la capacidad máxima de un sistema enzimático.

La preparación intravenosa estable de la ^{13}C -metacetina escasamente soluble en agua en una concentración suficiente para la inyección en bolo se consigue preferentemente por que ^{13}C -metacetina se disuelve en una concentración de 4 mg/ml en agua para inyección y la adición de 30 mg de propilenglicol por ml así como un ajuste del valor de pH básico de 8,5. La solución se prepara de manera que sea estéril y que esté libre de pirógenos y se ajusta, con respecto a la osmolaridad, de modo que puede administrarse sin problema al individuo que va a examinarse a través de una vena periférica.

La invención se explicará en detalle por medio las siguientes figuras y un ejemplo de realización, sin que estas explicaciones muestren un efecto limitante el alcance de protección de la invención.

Muestran:

la figura 1 una representación gráfica de valores medios de delta con respecto al nivel de referencia a lo largo del tiempo de un estudio de la función hepática en pacientes que se sometieron a una resección parcial del hígado;

la figura 2 una representación gráfica de las capacidades hepáticas funcionales máximas (LiMAx) calculadas a partir de los datos de la figura 1 en función del tiempo;

la figura 3 una representación gráfica del tiempo de inundación del sustrato ^{13}C -metacetina en el hígado en función del tiempo para la determinación de la microcirculación en el hígado;

la figura 4 una vista lateral de un ejemplo de una mascarilla respiratoria y

la figura 5 una vista desde arriba de la mascarilla respiratoria de la figura 4.

Las figuras 1 a 3 se explicarán en detalle por medio del siguiente ejemplo de realización.

Ejemplo 1

En el contexto de un estudio prospectivo se evaluó con un procedimiento, que está caracterizado en detalle a continuación, la función hepática antes y después de las resecciones parciales del hígado en varios pacientes:

1. Procedimiento y medios para la cuantificación cinética-enzimática de la capacidad de la función hepática y para la valoración de trastornos de microcirculación del hígado, donde

a) se inyecta una solución de uso especial aplicable por vía intravenosa de metacetina marcada con ^{13}C por vía intravenosa en una dosificación suficiente y con ello se garantiza una inundación rápida de la sustancia en el hígado con exceso de sustrato en el sistema enzimático metabólico.

b) mediante análisis de la relación de $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ en el aire exhalado a lo largo de un periodo de tiempo de una hora después de la inyección se determina la velocidad de conversión máxima de la metacetina marcada con ^{13}C de acuerdo con una cinética enzimática de orden cero.

c) mediante normalización con respecto al peso corporal individual se produce una comparabilidad con un colectivo normal.

d) mediante determinación del tiempo de inundación hasta alcanzar la velocidad de conversión máxima pueden valorarse trastornos de microcirculación del hígado.

2. A este respecto puede usarse una solución de metacetina marcada con ^{13}C en una concentración del 0,4%.

3. A este respecto la solución de metacetina marcada con ^{13}C para la estabilización puede contener 30 mg/ml de propilenglicol, y el valor de pH puede ajustarse de modo que sea básico.

4. A este respecto la solución de metacetina marcada con ^{13}C puede ser estéril y libre de pirógenos.

5. A este respecto la relación de $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ puede determinarse de manera ideal de forma continua o de otro modo en instantes definidos 0 min y 2½, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 y 60 min tras la inyección de la metacetina marcada con ^{13}C .

La figura 1 muestra las curvas asociadas al estudio prospectivo de los valores medios de delta con respecto a la línea de referencia (DOB) de la relación de $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ en el aire exhalado de los pacientes en los instantes de medición individuales en el transcurso temporal.

Preoperatorivamente, en el caso de una capacidad hepática funcional máxima normal puede reconocerse una evolución de curva con una pendiente empinada y una nueva caída tras alcanzar el valor máximo. Tras la resección parcial del hígado varía en el primer día tras la operación (POD1) la evolución de la curva drásticamente hacia una cinética de saturación con una función máxima claramente reducida. Con una regeneración del hígado creciente tras la resección parcial del hígado varía la forma de la curva de nuevo hacia la curva preoperatoria (POD3-10).

La figura 2 reproduce la capacidad hepática funcional real calculada de este modo en $\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$. En el POD1 cae la capacidad hepática funcional máxima (LiMAx) desde 301 +/- 24 $\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$ hasta 141 +/- 13 $\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$, para regenerarse entonces lentamente hasta un valor de 249 +/- 17 $\mu\text{g}/\text{h}/\text{kg}$ en el décimo día después de la operación (POD10).

El análisis de la microcirculación, que está representado en la figura 3, señala en paralelo después de la resección parcial del hígado una clara alteración con una prolongación del tiempo de inundación (t_{vmax}) desde 11,9 +/- 2,17 min hasta 53,5 +/- 7,51 min, que se recupera con la evolución adicional.

La figura 4 muestra un ejemplo de una mascarilla respiratoria 1, que es adecuada en particular para la introducción de aire exhalado de un individuo en un aparato de medición para la realización del procedimiento de análisis descrito anteriormente. En el caso de la mascarilla respiratoria 1 se trata de una mascarilla respiratoria de media cara.

La mascarilla respiratoria 1 presenta una carcasa 2 como cuerpo de base de mascarilla respiratoria y una almohadilla de aire 3 como almohadilla de gas, que circula en el lado representado en la parte inferior de la figura 4 de la mascarilla respiratoria 1 alrededor de la carcasa 2. Este lado está orientado, durante un uso de la mascarilla respiratoria 1, a la cara del individuo que porta la mascarilla respiratoria 1.

La carcasa 2 de la mascarilla respiratoria 1 está fabricada de un plástico sólido. La forma de base de la carcasa puede ser a este respecto de forma diferente, para que individuos con caras de diferentes formas pueden ponerse una mascarilla respiratoria 1 de la manera más ajustada posible.

En el lado superior de la mascarilla respiratoria 1, que representa la zona de la nariz N de la mascarilla respiratoria 1, están dispuestas lateralmente dos válvulas de inhalación 4, de las que en la figura 4 sólo puede verse una. A través de una abertura de paso 40 dispuesta en estas válvulas de inhalación 4 circula aire en el espacio entre la mascarilla respiratoria 1 y la cara del individuo que porta la mascarilla respiratoria 1, cuando el individuo inhala.

5 En el lado anterior de la mascarilla respiratoria 1, que está dispuesto arriba en la figura 4, está dispuesta una válvula de exhalación 5. A través de aberturas de paso 50 dispuestas en la válvula de exhalación 5 circula aire exhalado por el individuo, cuando el individuo porta correctamente la mascarilla respiratoria 1 y exhala. En el centro de esta válvula de exhalación 5 está dispuesta una conexión mínimamente cónica 6, que presenta un diámetro interior de 22
10 mm. A través de esta conexión 6 se evacua el aire exhalado por el individuo. Para ello puede usarse un tubo flexible, en este caso no representado, que está conectado a la conexión 6.

Mediante la disposición específica de las válvulas de inhalación 4 por un lado y de la válvula de exhalación 5 por otro lado, así como la configuración de las válvulas de inhalación 4 y de la válvula de exhalación 5 se garantiza una separación del aire inhalado del aire exhalado del individuo, que porta la mascarilla respiratoria 1. Además están minimizados los volúmenes de mezcla y muertos en la mascarilla respiratoria mediante la disposición de las válvulas de inhalación 4 y de la válvula de exhalación 5.

La carcasa 2 presenta además una conexión de gas cónica 7, a través de la que se introduce, en caso necesario, el oxígeno o una mezcla de gas en el espacio entre la mascarilla respiratoria 1 y la cara del individuo, que porta la mascarilla respiratoria 1. Por lo tanto es posible por ejemplo un suministro de oxígeno adicional del individuo que porta la mascarilla respiratoria 1.

En soportes 8 como elementos de fijación, que pueden tener por ejemplo la forma de ojales o boquillas, se fija una cinta de caucho no representada en la figura 4, por medio de la cual se garantiza una sujeción segura de la mascarilla respiratoria 1 sobre la cara del individuo que porta la máscara. En lugar de una cinta de caucho, podría usarse también otro dispositivo de sujeción. Los soportes 8 están dispuestos a este respecto en cada caso por parejas en el lado superior en la zona de la nariz N y en el lado inferior en la zona de la boca M de la mascarilla respiratoria 1.

La almohadilla de aire 3 de la mascarilla respiratoria 1 presenta una válvula 9 dispuesta en la zona de la boca M de la mascarilla respiratoria 1 con conexión Luer, a través de la cual puede regularse la cantidad de llenado del aire en la almohadilla de aire 3. Mediante esta posibilidad de adaptación es posible una adaptación óptima de la mascarilla respiratoria 1 a la forma de la cara del individuo que porta la mascarilla respiratoria 1.

35 En la almohadilla de aire 3 está integrado además un sensor de presión 10, por medio del cual puede determinarse la presión en la almohadilla de aire 3. Para ello se extiende desde el sensor de presión 10 hasta el lado anterior de la carcasa de mascarilla, una conexión por cable 11 con la válvula de exhalación 5. En la zona de la válvula de exhalación 5 o de la conexión 6 colocada en la válvula de exhalación, la conexión por cable 11 presenta una
40 conexión enchufable 12, a la que puede conectarse una conexión por cable adicional para el control o para la lectura del sensor de presión.

Por medio del sensor de presión 10 es posible detectar si la mascarilla respiratoria 1 apoya sobre la cara de un individuo o si no está puesta. La fuerza de compresión mediante las cintas de caucho lleva a un aumento de presión en la almohadilla de aire 3. Mediante esta variación de presión y la evolución de la presión a lo largo del tiempo es posible determinar los tiempos en los que la mascarilla respiratoria 1 se apoya de manera estanca. Así mismo, puede registrarse automáticamente si el individuo se quita (involuntariamente) la mascarilla respiratoria. Esta posibilidad de control por el sensor de presión 10 incorporado en la almohadilla de aire 3 es concebible también en muchas situaciones y en otras mascarillas respiratorias con almohadilla de aire (por ejemplo en la medicina
50 intensiva).

La figura 5 muestra una vista frontal del lado anterior de la mascarilla respiratoria 1 de la figura 4. Para la explicación de la mascarilla respiratoria 1 se remite con referencia a los mismos números de referencia para los elementos ya explicados con respecto a la figura 4. En la figura 5, como complemento a la representación de la figura 4, pueden apreciarse adecuadamente la disposición lateral de las válvulas de inhalación 4 así como la disposición por parejas del soporte 8 en la zona de la nariz N y en la zona de la boca M de la mascarilla respiratoria 1.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Solución acuosa de metacetina, estando marcada la metacetina con el isótopo de carbono ¹³C, **caracterizada por que** el valor de pH de la solución es mayor de 7,0 y hasta 9,5, por que la metacetina tiene una concentración del 0,2 al 0,6 % (p/v) y por que la solución de metacetina contiene propilenglicol como solubilizador, que favorece la disolución de metacetina, en una concentración de 10 a 100 mg/ml.
- 10 2. Solución acuosa de metacetina de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada por que** el valor de pH de la solución asciende a de 7,5 a 9,5.
3. Solución acuosa de metacetina de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, **caracterizada por que** el valor de pH de la solución asciende a de 8,0 a 8,5.
- 15 4. Solución acuosa de metacetina de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por que** la concentración del propilenglicol asciende a de 20 a 50 mg/ml.
5. Solución acuosa de metacetina de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por que** la concentración del propilenglicol asciende a de 25 a 35 mg/ml.
- 20 6. Solución acuosa de metacetina de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por que** la solución de metacetina es estéril y/o está libre de pirógenos.
7. Solución acuosa de metacetina de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por que** la solución de metacetina presenta una concentración del 0,3 al 0,5 % (p/v) de metacetina.
- 25 8. Solución acuosa de metacetina de acuerdo con una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizada por que** la solución de metacetina presenta una concentración del 0,4 % (p/v) de metacetina.

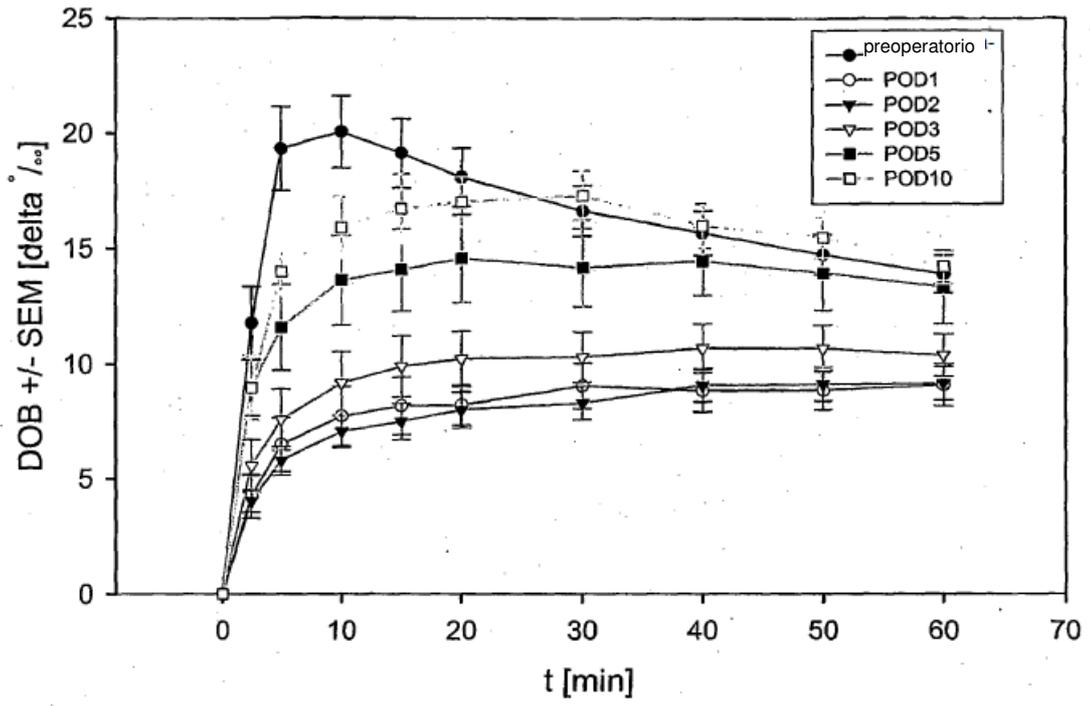


FIG. 1

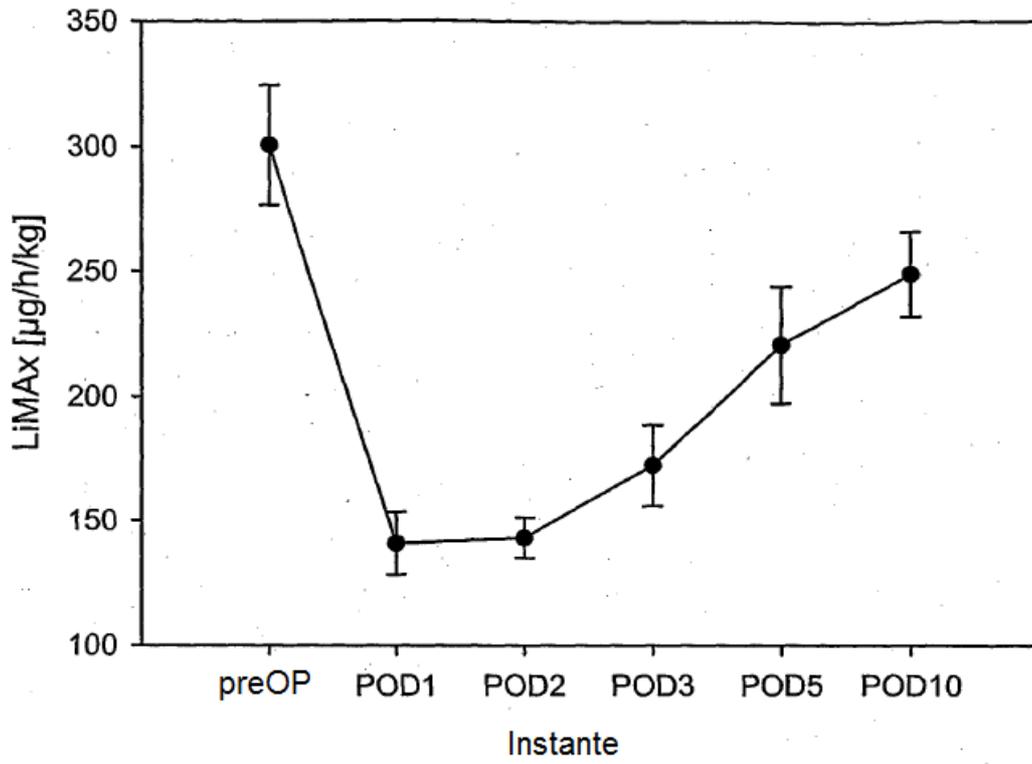


FIG. 2

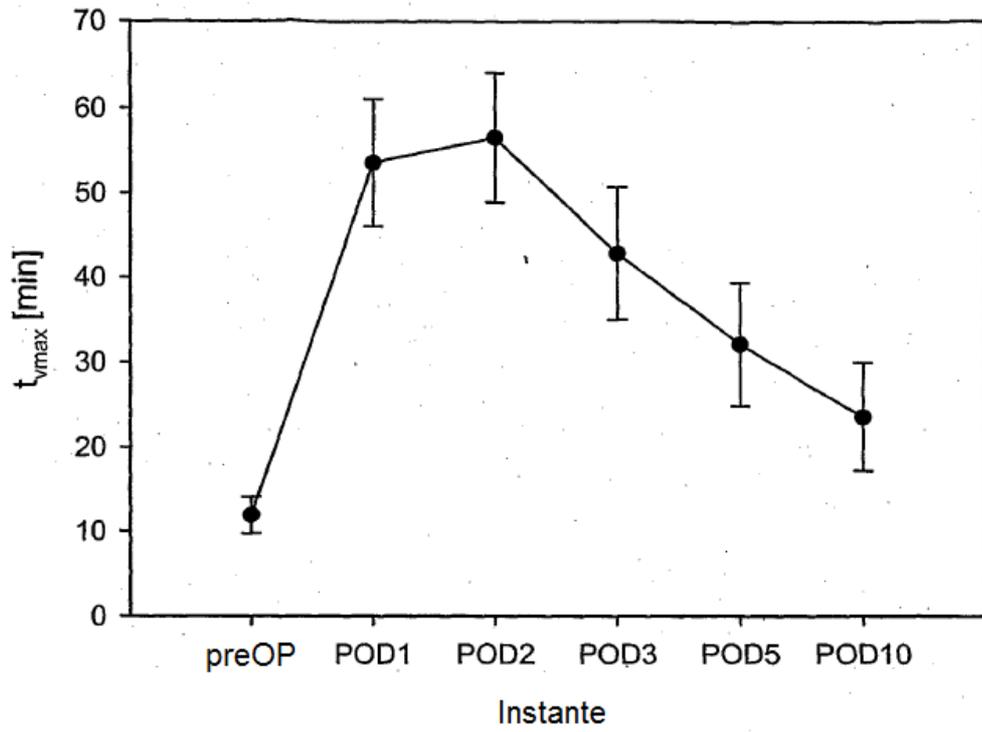


FIG. 3

Fig. 4

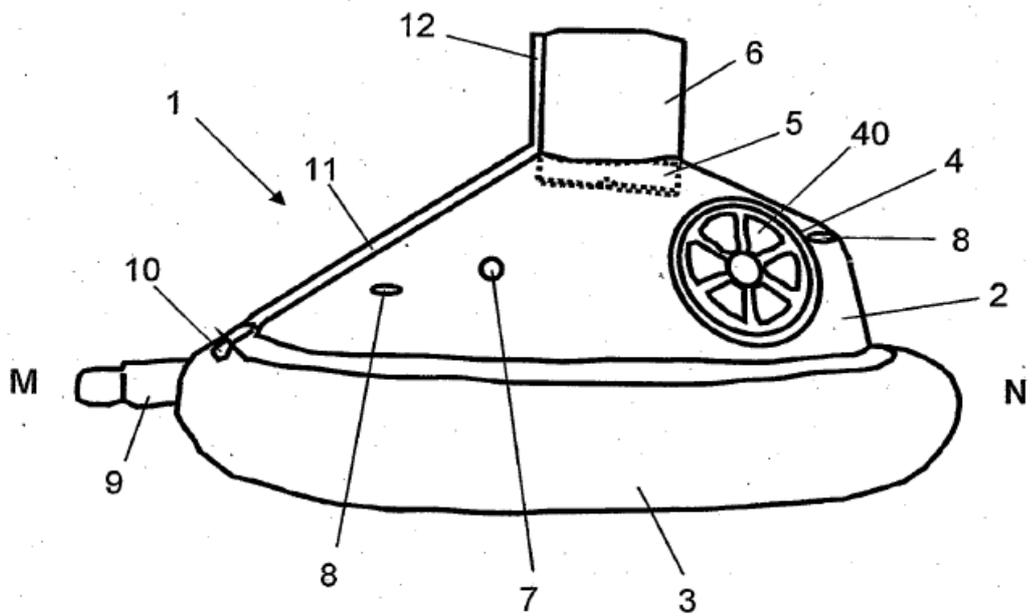


Fig. 5

