

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 593 378**

51 Int. Cl.:

G01N 33/68 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.01.2009 PCT/US2009/030362**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.11.2009 WO09134460**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.01.2009 E 09739263 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.06.2016 EP 2330892**

54 Título: **Métodos de tratamiento usando fármacos de secuestro de amonnia**

30 Prioridad:

29.08.2008 US 93234

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

09.12.2016

73 Titular/es:

**HORIZON THERAPEUTICS, LLC (100.0%)
150 S. Saunders Rd.
Lake Forest IL 60045, US**

72 Inventor/es:

SCHARSCHMIDT, BRUCE

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 593 378 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).

Métodos de tratamiento usando fármacos de secuestro de amoníaco**Descripción**5 Campo técnico

Esta invención se refiere a compuestos que ayudan en la eliminación de nitrógeno de desecho del cuerpo para su uso en el tratamiento de pacientes con estados de retención de nitrógeno, en los trastornos particulares de ciclo de la urea (UCD) y cirrosis complicados por la encefalopatía hepática (HE). Los compuestos se pueden administrar oralmente fármacos de molécula pequeña, y la invención se refiere a la entrega de estos compuestos y métodos para la selección de dosificaciones adecuadas para un paciente.

Fondo de arte

15 Dosificación del fármaco generalmente se basa en la medición de los niveles en sangre de la especie de fármaco activo en combinación con la evaluación clínica de la respuesta al tratamiento. Sin embargo, la presente invención se basa en pruebas que para ciertos profármacos de ácido fenilacético (PAA), es poco fiable la medición del nivel en sangre del profármaco (por ejemplo PBA) o de PAA formada del mismo. Además, la evaluación del efecto del tratamiento midiendo los niveles de amoníaco en la sangre es un inconveniente, ya que requiere la retirada de varias muestras de sangre en condiciones cuidadosamente controladas. Debido a que los niveles de amonio en sangre se ven afectados por varios factores, incluyendo proteínas de la dieta, también fallan a la hora de proporcionar una medida directa de la cantidad de amoníaco que el fármaco moviliza para su eliminación. La invención demuestra que los profármacos de ácido fenilbutírico (PBA) se comportan de manera similar a PBA de sodio, en que los niveles de PBA de medición es poco fiable para evaluar su eficacia. Esta invención proporciona un nuevo procedimiento para la dosificación en pacientes con estados de retención de nitrógeno, en particular, los pacientes con enfermedad hepática y las manifestaciones clínicas de la encefalopatía hepática y los pacientes con UCDs. Es particularmente aplicable a profármacos que liberan o se metabolizan para formar ácido fenilacético, es decir, profármacos de PAA, y aquellos profármacos que se metabolizan para formar PBA.

30 La encefalopatía hepática hace referencia a un espectro de signos y síntomas neurológicos que se producen con frecuencia en pacientes con cirrosis o ciertos tipos de enfermedad hepática.

Trastornos del ciclo de la urea se componen de varias deficiencias hereditarias de enzimas o transportadores necesarios para la síntesis de urea a partir de amoníaco. El ciclo de la urea se representa en la Figura 1, que también ilustra como ciertos fármacos de secuestro de amoníaco actúan para ayudar en la eliminación de amoníaco excesivo. Las enzimas, incluyendo sus números y modos de herencia de Comisión de Enzimas (CE) incluyen los siguientes:

- Sintetasa de fosfato de carbamil (CPS; Número CE 6.3.4.16; recesiva autosómica),
- Transcarbamilasa de ornitina (OTC; Número CE 2.1.3.3; ligada a X),
- Sintetasa de argininosuccinato (ASS; Número CE 6.3.4.5; recesiva autosómica),
- Liasa de argininosuccinato (ASL; Número CE 4.3.2.1; recesiva autosómica),
- Arginasa (ARG; Número CE 3.5.3.1; recesiva autosómica), y
- Sintetasa de glutamina de N-acetil (NAGS 1; Número CE 2.3.1.1; recesiva autosómica)

45 Estados de deficiencia de transportador mitocondrial que imitan muchas características de deficiencias de la enzima de ciclo de la urea incluyen las siguientes:

- La deficiencia de translocasa de ornitina (hiperornitinemia, hiperamonemia, homocitrulinuria o Síndrome HHH)
- Deficiencia de citrina (transportador de glutamato de aspartato)

La característica común de UCD y encefalopatía hepática que les hace tratables por los métodos de la invención es una acumulación de exceso de nitrógeno de desechos en el cuerpo, y la hiperamonemia. En individuos normales, la capacidad intrínseca del organismo para la excreción de nitrógeno residual es mayor que la producción de residuos de nitrógeno del cuerpo, por lo que los residuos de nitrógeno no se acumulan y el amoníaco no se acumula a niveles dañinos. Para los pacientes con estados de retención de nitrógeno, tales como UCD o HE, capacidad intrínseca del cuerpo para la excreción de nitrógeno residual es menor que la producción de nitrógeno de residuos del cuerpo en base a una dieta normal que contiene cantidades significativas de proteína. Como resultado, el nitrógeno se acumula en el cuerpo de un paciente que tiene un trastorno de la retención de nitrógeno, y por lo general resulta en exceso de amoníaco en la sangre. Esto tiene varios efectos tóxicos; fármacos que ayudan a eliminar el exceso de amoníaco son una parte importante de una estrategia global de gestión para estos trastornos.

Para evitar la acumulación de amoníaco a niveles tóxicos en pacientes con estados de retención de nitrógeno, la ingesta dietética de proteína (la fuente principal de nitrógeno residual exógeno) debe ser equilibrada por la capacidad del paciente para eliminar el exceso de amoníaco. La proteína dietética puede ser limitada, pero una dieta saludable requiere una cantidad significativa de proteína, en particular para la crianza de niños; Así, además de

controlar la ingesta de proteínas de la dieta, los fármacos que ayudan con la eliminación de nitrógeno se utilizan para reducir la acumulación de amoníaco (hiperamoniemia). La capacidad para eliminar el exceso de amoníaco en los pacientes tratados puede ser considerada la suma de la capacidad endógena del paciente para la eliminación de nitrógeno (si los hay) más la cantidad de capacidad adicional de eliminación de nitrógeno que es proporcionada por un fármaco de eliminación de nitrógeno. Los métodos de la invención usan una variedad de diferentes fármacos que reducen el exceso de residuos de nitrógeno y amoníaco mediante la conversión a formas excretadas fácilmente, tales como glutamina de fenilacetilo (PAGN). En algunas realizaciones, la invención se refiere a métodos para determinar o ajustar una dosis de un fármaco oral que forma PAA in vivo, que se convierte en PAGN, que se excreta después en la orina y por lo tanto ayuda a eliminar el exceso de nitrógeno.

Basándose en estudios previos en pacientes UCD individuales (por ejemplo, Brusilow, *Pediatric Research* vol 29, 147-50 (1991); Brusilow y Finkelstien, *J. Metabolism*, vol 42, 1336-39 (1993).) En el que 80-90% del fenilbutirato de sodio de nitrógeno se excreta en la orina como PAGN, guías de tratamiento actuales típicamente asumen la conversión completa de fenilbutirato de sodio u otros profármacos PAA a PAGN (por ejemplo, Berry et al., *J. Pediatrics*, vol. 138, S56-S61 (2001)) o no comentan sobre las implicaciones de la conversión incompleta de dosificación (por ejemplo, Singh, Trastornos del Ciclo de la urea Grupo Conferencia 'Declaración de consenso de una Conferencia para la Gestión de pacientes con trastornos del ciclo de urea', *Suppl a J Pediatrics* vol. 138(1), S1-S5 (2001)).

Pautas de tratamiento actuales recomiendan dosificación 4 veces al día, basándose en el hecho de que la PBA se absorbe rápidamente en el intestino cuando se administra en forma de PBA de sodio y exhibe una vida media corta en el torrente sanguíneo ('Declaración de Consenso' 2001 del Grupo de Conferencia de Trastornos del ciclo de la urea)

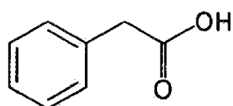
Las recomendaciones actuales para la dosificación de fenilbutirato de sodio indican que la dosis no debe exceder de 600 mg/kg (para pacientes que pesen hasta 20 kg) o, en todo caso 20 gramos en total. Simell et. Alabama. (*Pediatr Res*, 1986, Nov, 29(11):. 1117-21) da a conocer que el benzoato y fenilacetato mejoran el pronóstico de deficiencias de enzima de ciclo de urea heredadas mediante el aumento de la excreción de nitrógeno residual como productos de acilación de aminoácidos. Lee et al. (*Journal of Inherited Metabolic Disease*, vol. 31, no. suppl. 1, 1 agosto 2008) describe el uso de NPH-100 en el tratamiento de trastornos del ciclo de la urea y la evaluación de sus metabolitos y de la excreción urinaria de nitrógeno como PAGN.

Divulgación de realizaciones de la invención

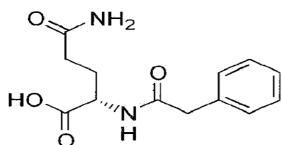
La invención proporciona un nuevo método para determinar y ajustar el horario y la dosis de glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (NPH-100), basado en la excreción urinaria de la fenilacetilglutamina de metabolito del fármaco (PAGN) y/o nitrógeno urinario total. Se basa en parte en el descubrimiento de que la biodisponibilidad de este fármaco se evalúa convencionalmente en función de los niveles sanguíneos sistémicos de los fármacos mismos o de las especies activas producidas in vivo de estos fármacos no predicen con precisión la eliminación de nitrógeno residual o reducción de amoníaco en plasma en voluntarios humanos sanos, los adultos con enfermedad hepática o pacientes con UCD que reciben amoníaco secuestro de estupefacientes, tal como se define a continuación y que la conversión de fenilbutirato se administran por vía oral de sodio (NaPBA, o PBA de sodio) para PAGN a PAGN urinaria es incompleta, típicamente alrededor de 60-75%. Los profármacos de fenilbutirato (PBA, el ingrediente activo en BUPHENYL® (fenilbutirato de sodio), que es la sal de sodio de PBA junto con pequeñas cantidades de ingredientes inertes), que es en sí mismo un profármaco de ácido fenilacético (PAA), son especialmente sujeta a los efectos descritos en el presente documento.



fenilbutirato OH



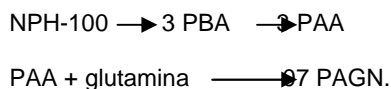
Ácido fenilacético



Fenilacetilglutamina

Tal como se usa en el presente documento se definen "fármacos de captación de amoníaco" de modo que se incluyen a todos los fármacos administrados por vía oral en la clase que contiene o se metabolizan a fenilacetato. Por lo tanto, el término incluye, al menos, fenilbutirato, BUPHENYL® (fenilbutirato de sodio), AMMONAPS®, butiroiloximetilo-4-fenilbutirato, glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (NPH-100), ésteres, éteres, y sales, ácidos y derivados de los mismos. Estos fármacos reducen los altos niveles de amoníaco endógena proporcionando ácido fenilacético in vivo, que se metaboliza de manera eficiente para formar glutamina de fenilacetilo (PAGN). PAGN se excreta en la orina de manera eficiente, llevándose dos equivalentes de nitrógeno por mol de PAA convertido en PAGN. Las referencias en este documento a fenilbutirato de sodio se entienden para incluir una referencia al producto farmacéutico BUPHENYL®, y BUPHENYL® fue utilizado para los Ejemplos de este documento siempre que los sujetos de prueba fueron tratados con fenilbutirato de sodio. Por lo tanto las dosis de PBA de sodio utilizados en los ejemplos se refieren en general a una dosis de BUPHENYL®, y las cantidades de fenilbutirato de sodio en esos ejemplos se deben interpretar en consecuencia. Tenga en cuenta que los términos "secuestrante de amoníaco" y "secuestrante de nitrógeno" se utilizan indistintamente en esta invención, lo que refleja el hecho de que los fármacos descritos en este documento bajo el amoníaco en la sangre mediante la eliminación de los residuos de nitrógeno en forma de PAGN.

La invención usa NPH-100: puede ser hidrolizado para liberar PBA, que a su vez se puede oxidar para formar FAA. Por lo tanto, NPH-100 es un profármaco de PBA, y también un profármaco de PAA. La evidencia clínica demuestra que NPH-100 se convierte en FAA en el cuerpo como se esperaba, y que FAA es entonces unido a una molécula de glutamina y se convierte en PAGN, que se elimina en la orina como se predijo. Este proceso se puede resumir de la siguiente manera:



PAGN se excreta principalmente en la orina del sujeto, y elimina dos moléculas de amoníaco por molécula de PAGN excretada. Cada molécula NPH-100 forma tres moléculas de PAA, por lo que cada molécula de NPH-100 puede promover la excreción de seis moléculas de amoníaco. Los resultados clínicos sugieren que la conversión de la NPH-100 en PBA y PAA es eficiente y bastante rápida, pero es sorprendente que sugieren que alguna conversión de HPN a PAGN puede ocurrir antes de la NPH-100 (o PBA, o PAA derivada de PBA) entra en la circulación sistémica. Como resultado, los niveles sistémicos de PAA o PBA no se correlacionan de forma fiable con la eficacia de NPH-100 como secuestrante de amoníaco.

La invención utiliza un profármaco de PBA: NPH-100. El profármaco PBA es, por lo tanto, un profármaco de un profármaco, ya que la PBA actúa para secuestrar amoníaco después de que se convierta a PAA y por lo tanto se considera un profármaco de PAA. El profármaco PBA es un éster de fenilbutirato, el profármaco PBA para su uso en la invención es NPH-100. El compuesto puede ser realizado y utilizado por métodos descritos en la Patente de EE.UU. n° 5.968.979.

Cuando una cantidad 'molar equivalente' o 'equimolar' de un segundo fármaco se destina al uso junto con o en lugar de una cierta cantidad de primer fármaco, la cantidad de cada fármaco se calcula sobre una base molar, y la cantidad equimolar del segundo fármaco es la cantidad que produce una cantidad molar igual de fármaco activo in vivo. Cuando uno de los fármacos es un profármaco, la cantidad de profármaco típicamente se refiere a la cantidad molar de las especies activas formadas a partir de aquél profármaco. Esa especie activa es por lo general PAA para los profármacos descritos en este documento, y la cantidad molar de un profármaco corresponde a la cantidad de PAA que se formaría en el cuerpo de esa cantidad del profármaco, suponiendo la conversión completa en PAA se produce in vivo. Así, por ejemplo, una molécula de NPH-100 puede ser metabolizada por hidrólisis del éster, seguido de oxidación para formar tres moléculas de PAA, por lo que un mol de NPH-100 podría considerarse equimolar a tres moles de PBA. Del mismo modo, ya que NPH-100 se hidroliza para formar tres moléculas de PBA (y una molécula de glicerina), una cantidad equimolar de NPH-100 sería un tercio de la cantidad molar de PBA.

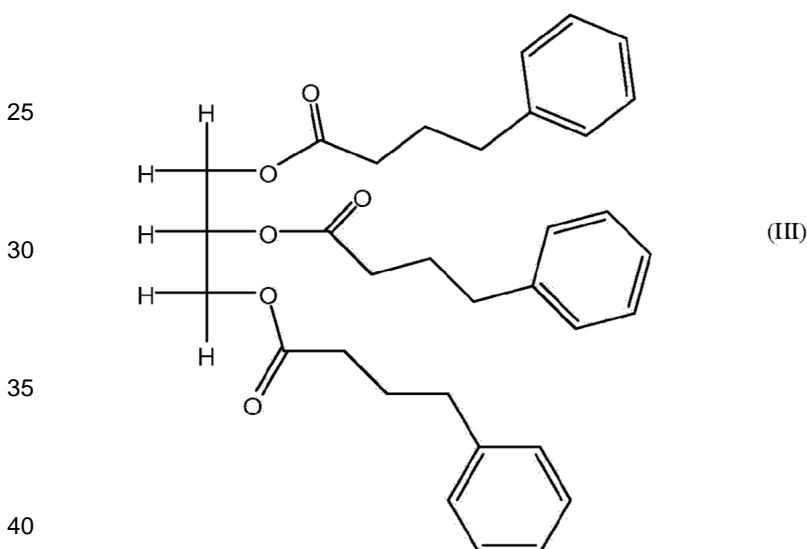
La siguiente tabla muestra las cantidades de NPH-100 que corresponden a cantidades equimolares de ciertas dosis pertinentes de BUPHENYL® (fenilbutirato de sodio). Tenga en cuenta que la conversión de la dosis PBA de sodio a la dosis de NPH-100 implica la corrección en sus diferentes formas químicas [es decir, NPH-100 consta de glicerol en enlace de éster con 3 moléculas de PBA y no contiene sodio; (sodio PBA [g] x 0,95 = NPH-100 [g])], así como la

corrección de la gravedad específica de la NPH-100, lo cual es de 1,1 g/RNL.

5	BUPHENYL® (sodio PBA)	NPH-100 PBA Dosis Equivalente (mg)	NPH-100 PBA Dosis Equivalente (mL)
	450-600 mg/kg/día (pacientes ≤ 20 kg)	428 - 570 mg/kg/día	0,39-0,52 mL/kg/día
10	9,9-13,0 g/m ² /día (pacientes ≤ 20 kg)	9,4 - 12,4 g/m ² /día	8,6-11,2 mL/m ² /día
	Dosis máxima diaria: 20 g	Dosis máxima diaria: 19 g	17,4 mL

15 El compuesto de la invención es un éster de un congénere de ácido fenilalcanoico que tiene un número par de átomos de carbono en la porción de ácido alcanoico, es anester de ácido fenilbutírico, que se puede convertir por procesos de oxidación beta eficientes de ácido fenilacético en el cuerpo. Por lo tanto, es un profármaco de ácido fenilacético.

20 La invención utiliza NPH-100 (Fórmula III):



45 dosificación diaria total de un profármaco a menudo se puede seleccionar de acuerdo con la cantidad necesaria para proporcionar una cantidad apropiada de la especie activa, si esa cantidad se conoce o se puede determinar. PBA es un profármaco para PAA; por lo tanto, una dosis inicial de PBA se podría seleccionar si se conociera una dosificación eficaz de PAA, teniendo en cuenta la fracción de PBA que se convierte en PAA y en última instancia en PAGN. Si un sujeto se ha tratado con PAA o un profármaco que se forma PAA en el cuerpo, la cantidad de fármaco utilizado anteriormente que era eficaz proporciona un posible punto de partida para la selección de una dosis de un nuevo profármaco de PAA. En este mismo paciente, después de que el nuevo profármaco se administra a la equivalencia de dosis de PAA esperada, los niveles de PAA en la materia podrían ser supervisados y la dosis del profármaco ajustado hasta que se consigue el mismo nivel en plasma de PAA que era eficaz con el tratamiento anterior. Sin embargo, la presente invención se basa en parte en el descubrimiento de que plasma PAA y los niveles de PBA no se correlacionan bien con la dosis de un profármaco PBA administrado o con la eliminación de amoníaco; para el seguimiento de un nivel de dosificación de un profármaco PBA, no se debe confiar en estos parámetros para evaluar la eficacia del profármaco. Aunque no esté obligado por la teoría subyacente, explicaciones para este efecto (es decir, la relación entre captación inconsistente de amoníaco y PBA y/o los niveles sanguíneos PAA) se proporcionan en este documento.

60 La siguiente tabla proporciona los datos de tres grupos de pruebas clínicas que muestran la relación inconsistente entre plasma PAA y niveles de PBA entre los voluntarios sanos, pacientes con cirrosis y pacientes con UCD, a pesar del hecho de que, tal como se describe en detalle más adelante,

65 todos los grupos exhibieron actividad de eliminación de amoníaco similar basado en la excreción urinaria de PAGN. En general, esto demuestra que PAGN urinaria proporciona un método conveniente para la eliminación de monitoreo amoníaco inducido por el fármaco administrado, que no requiere la extracción de sangre y se relaciona directamente

con la eliminación de nitrógeno real proporcionado por el fármaco de eliminación de nitrógeno administrado sin ser influenciado por los muchos otros factores que pueden afectar los niveles de amoníaco en plasma.

La farmacocinética en plasma de comparación de PBA, PAA, y PAGN entre los estudios

Analito	Tratamiento	C _{max} (µg/mL)	T _{max} (h)	T1/2 (h)	AUC ₂₄ (µg•h/ml)
Voluntarios sanos (Dosis unitaria - 3 g/m²/día Equivalente Mol PBA)					
PBA	Sodio PBA	221,0	0,9	0,7	542,6
	NPH-100	37,0	2,4	1,9	137,2
PAA	Sodio PBA	58,8	3,9	1,2	279,8
	NPH-100	14,9	4,0	NC	70,9
PAGN	Sodio PBA	63,1	3,2	1,7	395,1
	NPH-100	30,2	4,0	NC	262,1
Voluntarios sanos y pacientes Cirróticos (100 mg/kg/BID)¹					
PBA	Menor-Pugh A	42,8	2,3	1,2	131,7
	Menor-Pugh B	41,8	2,9	3,4	189,5
	Menor-Pugh C	44,3	3,1	1,9	192,1
PAA	Voluntarios	29,8	3,0	2,1	132,7
	Menor-Pugh A	33,2	3,8	1,8	168,8
	Menor-Pugh B	30,8	4,5	2,8	252,4
PAGN	Menor-Pugh C	53,1	4,8	7,7	579,9
	Voluntarios	25,5	3,6	1,9	130,5
	Menor-Pugh A	37,7	3,9	5,0	335,1
PAGN	Menor-Pugh B	38,1	4,0	7,5	466,99
	Menor-Pugh C	43,1	5,3	4,0	578,4
	Voluntarios	46,3	4,3	7,2	550,9
Sujetos UCD (Dosis Múltiple - Equivalente mol PBA)					
PBA	Sodio PBA	141,0	2,1	NC	739,0
	NPH-100	70,1	6,1	NC	540,0
PAA	Sodio PBA	53,0	8,1	NC	595,6
	NPH-100	40,5	8,0	NC	574,6
PAGN	Sodio PBA	83,3	7,2	3,9	1133,0
	NPH-100	71,9	8,0	4,8	1098,0
C _{max} = Concentración plasmática máxima; T _{max} = tiempo de concentración plasmática máxima; AUC ₂₄ = AUC desde el tiempo 0 a 24 horas; NC = no calculado ¹ El estudio no incluyó un brazo de comparación de fenilbutirato de sodio, valores representan únicamente dosificación NPH-100.					

Una realización de la invención es un método para determinar y/o ajustar la dosis de un fármaco amoníaco secuestrante (NPH-100) en pacientes con UCD, por lo que la dosis se basa en la cantidad de proteínas dietaria que el paciente está consumiendo, el porcentaje de conversión anticipado del fármaco a PAGN, y la capacidad de urea residual del paciente sintético, si lo hay. Los ajustes de dosis, si es necesario, se basan en la excreción urinaria observada de PAGN y/o nitrógeno urinario total (TUN), la diferencia entre los dos refleja la capacidad endógena del paciente para la excreción de nitrógeno residual. Esta capacidad endógena puede estar ausente en ciertos pacientes que tienen trastornos del ciclo de la urea innata debido a deficiencias metabólicas congénitas, pero los pacientes con trastornos de acumulación de nitrógeno de comienzo tardío en general, tienen una cierta capacidad endógena, a la que se refiere frecuentemente como su capacidad de síntesis de la urea residual. Véase Brusilow, los avances en las enfermedades del hígado, cap. 12, pp. 293-309 (1995). El nivel de amoníaco en plasma del sujeto también puede determinarse; este es un parámetro crítico para el seguimiento de la eficacia de un programa de tratamiento global, pero refleja una variedad de factores, tales como proteínas de la dieta y el estrés fisiológico, así como el efecto de un fármaco utilizado para promover la excreción de nitrógeno.

Una vez que se ha determinado la capacidad endógena residual del paciente para la excreción de nitrógeno residual, ya sea como la diferencia entre la salida PAGN y la producción total de nitrógeno o de salida como nitrógeno total urinario en ausencia de un fármaco de amoníaco de lavado, la cantidad tolerable de proteínas de la dieta se puede calcular para ese paciente de acuerdo con la dosis del fármaco secuestrante de amoníaco que se administra, o la dosificación del fármaco amoníaco secuestrante se puede ajustar o calcular para compensar una ingesta de proteínas estimada.

Otra realización es un método para determinar y ajustar la dosis de un fármaco de amoníaco secuestrante (NPH-100) para administrarse a un paciente con enfermedad hepática, incluyendo la encefalopatía hepática, por lo que la dosis inicial se basa en la cantidad de proteína dietaria que el paciente está consumiendo, la conversión anticipada del fármaco para PAGN, y la capacidad de urea residual del paciente sintético, si lo hay. Mientras que la capacidad de síntesis de urea en pacientes con enfermedad hepática sería generalmente mayor que para los pacientes con UCDs, se esperaría que una considerable variabilidad entre pacientes entre los dos grupos en función, respectivamente, de la gravedad de su enfermedad hepática y la gravedad de su defecto enzimático heredado. Los ajustes de dosis en base a la excreción urinaria observada de PAGN y nitrógeno total de residuos se ajustarían a estas características individuales del paciente.

Se ha supuesto generalmente para tales determinaciones que un profármaco se convierte con una eficiencia del 100% en PAGN para la eliminación [véase, por ejemplo, Berry et al., J Pediatrics 138(1), S56-S61 (2001), donde la Figura 1 asume conversión 100%]; y un informe encontró que alrededor del 80-90% de PAA o PBA se excreta a partir de un individuo específico como PAGN. Brusilow, Pediatric Research 29 (2), 147-150 (1991). Ahora se ha encontrado que NPH-100 y fenilbutirato están ambos convertidos en PAGN urinaria en un rendimiento global de aproximadamente 60% a aproximadamente 75%, en promedio, la eficiencia de conversión (alrededor de 60% se observó en pacientes UCD y una conversión de aproximadamente 75% se observó en pacientes de cirrótico, por ejemplo); en consecuencia, este factor de eficiencia se puede utilizar para calcular con mayor precisión o determinar los niveles iniciales de dosificación para estos fármacos, o los niveles de proteína dietéticos aceptables para los pacientes que utilizan estos fármacos. Teniendo en cuenta este tipo de conversión, cada gramo de NPH-100 puede facilitar la eliminación de nitrógeno residual de aproximadamente un gramo (1,3 gramos) de proteínas de la dieta por día. Tenga en cuenta que PAGN se lleva dos moléculas de amoníaco por molécula de PAGN. Ejemplos de cálculos basados en estos parámetros se proporcionan en los Ejemplos 9 y 10 en el presente documento.

En un aspecto, la invención proporciona un método para la transición de un paciente de fenilacetato o fenilbutirato a NPH-100. El método implica la determinación de la cantidad de sustitución de NPH-100 que se selecciona en función de la dosis actual del paciente de fenilacetato o fenilbutirato, y se ajusta de acuerdo con los niveles de PAGN excretado que resultan cuando se administra el profármaco.

En algunas realizaciones, la transición de fenilbutirato puede emprenderse en más de un solo paso y la excreción urinaria de PAGN y nitrógeno total permitiría el seguimiento de captación de amoníaco durante la transición (por ejemplo, para pacientes clínicamente "frágiles" con una propensión por hiperamonemia frecuente). Los métodos se pueden utilizar dos, tres, cuatro, cinco o más de cinco pasos si se considera clínicamente prudente. En cada paso, una fracción de la dosis inicial de fenilbutirato correspondiente al número de pasos que se utilizan para la transición se sustituye por una cantidad apropiada (es decir, la cantidad necesaria para entregar una cantidad equimolar de PBA) de NPH-100, por ejemplo, si la transición se ha de hacer en tres pasos, alrededor de un tercio del fenilbutirato sería reemplazado con un profármaco en cada paso.

Otros aspectos de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada y los ejemplos proporcionados en este documento.

Por conveniencia, las cantidades de PAA (ácido fenilacético), de PBA (ácido butírico de fenilo), o de NPH-100 para ser administradas a un sujeto como se describe aquí, se refieren a una dosis diaria total. Debido a que estos compuestos se utilizan en cantidades relativamente grandes diarias, la dosis diaria total puede tomarse en dos, tres, cuatro, cinco, o seis, o más de seis dosis diarias, y diferentes fármacos se pueden administrar en horarios diferentes. Así, la dosificación diaria total mejor describe un régimen de tratamiento con un fármaco para la comparación con los tratamientos con fármacos relacionados.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra la disposición de residuos de nitrógeno a través del ciclo de la urea y por la vía auxiliar que involucra PAGN.

La Figura 2 muestra un modelo convencional para describir comportamiento farmacocinético (PK) de un profármaco, el cual, en el caso de fenilbutirato, supone que PBA y PAA deben llegar a la circulación sistémica con el fin de activarse; es decir, con el fin de convertirse en PAGN y de secuestrar amoníaco.

La Figura 3 representa un modelo adaptado para describir el comportamiento de PK de PBA de sodio o de otros fármacos como la NPH-100 que se puede convertir en PBA y PAA, basándose en las observaciones descritas en el presente documento que muestra que el metabolismo de NPH-100 se traduce en menores niveles plasmáticos de PAA y PBA mientras que proporciona el efecto farmacológico equivalente. A diferencia del modelo convencional, este modelo permite la conversión 'presistémica' de PBA/PAA a PAGN y explica la relación inconsistente entre los niveles sanguíneos de estos metabolitos y la excreción de nitrógeno residual mediada por PAGN.

La figura 4 muestra cómo los niveles plasmáticos de PAA, PBA, y PAGN cambian a lo largo del tiempo tras la administración de una dosis única de PBA o NPH-100. Se muestra que el nivel máximo de PAA es más bajo cuando se utilice el profármaco PBA, NPH-100, y el nivel de PAA a las 24 horas después de la administración es mayor con el profármaco. Por lo tanto el profármaco proporciona un nivel más sostenido de plasma PAA.

La Figura 5 presenta datos sobre los niveles de amoníaco a partir de las pruebas en el Ejemplo 3.

La Figura 6 presenta una explicación anatómica para las observaciones de que el profármaco (PBA) se puede convertir a PAGN antes de alcanzar la circulación sistémica (corresponde al modelo representado en la Figura 3).

La Figura 7 muestra que los niveles de PBA fluctúan de forma relativamente rápida después de la dosificación en adultos sanos, mientras que los niveles de PAA y PAGN alcanzan un estado bastante estable después de unos pocos días de tratamiento con fenilbutirato de sodio.

La Figura 8 muestra que los niveles de PBA, PAA y PAGN alcanzan estados estacionarios en diferentes momentos en los adultos sanos y PAA tarda más tiempo en alcanzar un nivel de estado estacionario en pacientes con cirrosis

Las figuras 9a, 9b y 9c, muestran que en los sujetos tratados con NPH-100, hay poca o ninguna correlación entre la dosis de NPH-100 y los niveles plasmáticos tanto de PBA como de PAA en el sujeto. Sin embargo, también muestra que la excreción urinaria de PAGN se correlaciona bien con la dosis de NPH-100.

La Figura 10 muestra los niveles de amonio en plasma [zona de tiempo normalizado bajo la curva o TN-AUC o área bajo la curva (AUC)] durante el día y la noche por 10 pacientes con UCD tratados durante siete días, ya sea con PBA de sodio o una dosis equimolar de NPH-100, e ilustra que NPH-100 proporciona un mejor control de los niveles de amoniaco que PBA: tanto el AUC (área bajo la curva), que es un índice de la exposición total de amoniaco, y C_{max} , que mide la concentración máxima de amoniaco, fueron más bajos en los sujetos que recibieron NPH-100 que en los sujetos que recibieron una dosis equimolar de PBA.

La Figura 11 muestra que NPH-100 hizo un mejor trabajo que PBA de gestión de niveles plasmáticos de nitrógeno durante la noche.

La Figura 12 demuestra que en pacientes cuyos niveles de amonia fueron bien controlados con PBA de sodio, NPH-100 mantuvo el control. Por el contrario, los pacientes cuyos niveles de amoniaco fueron elevados a pesar del tratamiento con PBA de sodio exhibieron el mayor beneficio en términos de un mejor control de amoniaco a partir de NPH-100.

La Figura 13 resume los datos de la Figura 12 y proporciona una comparación estadística de los niveles de amoniaco para los pacientes en PBA de sodio y los de NPH-100. También se muestra el rango normal para cada conjunto de pacientes.

Modos de llevar a cabo la invención

En un aspecto, la invención se reduce a la práctica en la determinación de la dosis, la pauta de administración y ajustes de dosis necesarios para el tratamiento de estados de retención de nitrógeno incluyendo trastornos del ciclo de la urea y la enfermedad hepática complicada por la encefalopatía hepática. La dosis inicial y el calendario se basan en las consideraciones teóricas como el porcentaje estimado de conversión del fármaco a PAGN, el nitrógeno residual que resulta de proteínas de la dieta del paciente y el porcentaje de fármaco convertido a y se excreta como PAGN. Una vez iniciado el tratamiento, posteriores ajustes de dosis entonces se harían si es necesario, en la medida real de la producción urinaria de PAGN, o un parámetro correlacionado bien como el amoniaco urinario total o la relación de PAGN a creatinina.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para la transición a un paciente de fenilbutirato o fenilacetato a un profármaco de fenilbutirato (que es un profármaco de PAA), que es NPH-100. Por una serie de razones, NPH-100 se considera un fármaco más deseable que la PBA de sodio para muchos pacientes que tienen niveles altos de amoniaco y requieren tratamiento con un fármaco secuestrante de amoniaco. En particular, se evita el sabor desagradable asociado con PBA de sodio, y se reduce la ingesta de sodio potencialmente perjudicial, ya que el fenilbutirato se administra como una sal de sodio. Una gran mayoría de los pacientes (nueve de cada diez pacientes UCD que participaron en el estudio clínico descrito en el ejemplo 3) prefirieron NPH-100 respecto a PBA de sodio en pruebas clínicas. Así, muchos pacientes que han sido tratados con fenilbutirato como un fármaco secuestrante de amoniaco pueden querer hacer la transición desde él a NPH-100.

Parece lógico que un médico transicione a un paciente de fenilbutirato de un profármaco de fenilbutirato mediante el cálculo de la cantidad del profármaco que produciría una cantidad de PBA que corresponde a la dosis de fenilbutirato previamente administrada al paciente. Esto era de esperar para producir el mismo nivel de plasma de sangre del ingrediente activo, PBA. La eficacia del nuevo tratamiento con el profármaco podría entonces ser evaluada mediante el control de los niveles de fenilbutirato en la sangre, para establecer los mismos niveles

alcanzados cuando se administró PBA. Como se discute más adelante, sin embargo, este enfoque no es adecuado, ya que, sorprendentemente, los niveles plasmáticos de PBA no se correlacionan bien con las dosis administradas de NPH-100 o con la eficacia de una dosis de NPH-100 o PBA de sodio. (Tenga en cuenta que PBA de sodio es la forma ácida de fenilbutirato, que es el nombre común para el fármaco BUPHENYL®, y se administra típicamente como BUPHENYL®, que es una sal sódica de PBA. Las referencias a tratamiento con PBA en el presente documento abarcan la administración del compuesto neutral de fenititirato o una sal de fenilbutirato. Típicamente, y en todos los ejemplos de trabajo del presente documento, PBA se administra como BUPHENYL®.)

Alternativamente, puesto que PBA es un profármaco para PAA, la dosis de un profármaco de fenilbutirato podría calcularse de acuerdo con la cantidad teóricamente formada de PAA, que debe ser la misma cantidad que la que se calcula a partir de la dosis PBA, ya que se espera que una molécula de PBA produzca una molécula de PAA. El peso molecular de PBA de sodio, la forma farmacéutica registrada de PBA (la sal de sodio de PBA), es 186; el peso molecular de NPH-100 es 530, y por supuesto NPH-100 proporciona tres equivalentes de PBA por molécula, por lo que se necesitarían sólo una tercera parte de los moles de NPH-100 para reemplazar una cantidad molar de PBA o PAA. Así, cada gramo de PBA de sodio podría ser sustituido por 0,95 gramos de NPH-100; y al ser NPH-100 un líquido con una densidad de 1,1 g/ml, cada gramo de PBA de sodio sería sustituido por 0,87 ml de NPH-100, suponiendo que NPH-100 se utiliza como un líquido sin diluir. Esto se puede utilizar para seleccionar una dosis de partida de NPH-100 para los pacientes que están en transición de PBA de sodio a NPH-100. Alternativamente, una dosis inicial de NPH-100 en un paciente que todavía no está tomando BUPHENYL® (fenilbutirato de sodio) tendría que tener en cuenta la observación sorprendente descrita en más detalle más adelante (véanse los ejemplos 2 y 3) que la conversión de PBA, cuando se administra como NPH-100, en PAGN urinaria es incompleta y de promedio de 60-75%.

Alternativamente, el médico podría medir los niveles en plasma de cualquiera de PBA o PAA en un sujeto que reciba una cantidad eficaz de PBA, y determinar una dosis de un profármaco PBA mediante la administración suficiente del profármaco para producir los mismos niveles en plasma de PBA o PAA. El médico podría entonces controlar la cantidad de cualquiera de PBA o PAA en la sangre para asegurarse de que la cantidad apropiada de fármaco activo se producía en el cuerpo. Se podría esperar que un profármaco de fenilbutirato proporcionaría una concentración ligeramente inferior de plasma sanguíneo de PAA o PBA de fenilbutirato, y por lo tanto un efecto de secuestro de nitrógeno inferior, ya que la conversión del profármaco en el fármaco activo puede ser de menos de 100% de eficiencia. Por lo tanto el seguimiento de PAA o los niveles plasmáticos de PBA y el aumento de la dosis de profármaco para llevar los niveles hasta los obtenidos mediante la administración de fenilbutirato podría esperarse para producir el mismo efecto fisiológico como la dosis de fenilbutirato. Sin embargo, se ha descubierto que no es necesario que el nivel plasmático de PAA o PBA observado tras la administración de un profármaco de fenilbutirato coincida con la producida por una cantidad eficaz de fenilbutirato, con el fin de lograr el mismo efecto de eliminación de amoníaco. Más bien, la eficacia del profármaco NPH-100 correlaciona con los niveles urinarios PAGN, no con los niveles plasmáticos de PAA o PBA.

Se han desarrollado modelos para describir cómo se espera que los fármacos o profármacos de secuestro de amoníaco se comportan en vivo. Un modelo, el cual se muestra en la Figura 2, refleja los enfoques convencionales de la evaluación de la eficacia del fármaco como se aplica a NPH-100 basándose en los niveles sanguíneos de PAA o PBA. Las pruebas clínicas han demostrado que NPH-100 no produce los niveles plasmáticos de PAA y PBA que se podría esperar a partir de este modelo, sin embargo, a pesar de que es al menos tan eficaz en una base equimolar como PBA para controlar los niveles de amoníaco en sangre, y para eliminar amoníaco como PAGN a través de la orina. Así, el modelo convencional no tiene en cuenta algunas diferencias metabólicas importantes entre PBA y NPH-100. Se planteó la hipótesis de que, en comparación con PBA de sodio, un mayor porcentaje de PBA derivado de NPH-100 se convierte en PAGN para la eliminación (o PAA o PBA derivada de ella) antes de entrar en la circulación sistémica (el "compartimento central" en la Figura 2). El reconocimiento de esta diferencia importante e inesperada subyace en ciertos aspectos de la presente invención.

Un modelo de trabajo refinado en base a las observaciones descritas en el presente documento y como se indica en esta descripción se representa en la Figura 3. Se apoya la conclusión de que PBA derivada de NPH-100, así como de PBA de sodio puede ser convertida en PAGN sin entrar en circulación sistémica; presumiblemente, NPH-100 o sus productos metabólicos iniciales (por ejemplo, un compuesto de fórmula I en la que uno o dos de R1-R3 representan grupos de fenilbutirilo, y el uno o dos de R1-R3 restantes representan H - los productos esperados de la hidrólisis parcial de NPH-100) puede llegar al hígado y ser convertidos en PAGN, antes de alcanzar la circulación sistémica. Por otra parte, la conversión fraccional de PBA derivada de NPH-100 es mayor que para PBA absorbida cuando PBA se administra en forma de sal, una observación que explica los bajos niveles en sangre de PBA tras la administración de NPH-100 en comparación con PBA de sodio a pesar de actividad de captación de amoníaco equivalente o potencialmente superior. Esta observación dio lugar al reconocimiento de que los niveles plasmáticos de PAA o PBA no son indicadores fiables de la eficacia de un profármaco PBA como NPH-100, y no debe confiarse en ella para establecer o ajustar las dosis de tales compuestos de profármaco PBA. Los datos presentados en este documento, por ejemplo, tal como se resume en la Figura 9, demuestran este efecto. Los métodos alternativos para la monitorización de un sujeto tratado con NPH-100 son necesarios, y se proporcionan en este documento.

Además, el modelado PK/PD, como se refleja por consideraciones y representado en las figuras 3 y 6, demuestran

que NPH-100 sólo se absorbe aproximadamente el 40% tan rápidamente como PBA cuando se dosifica por vía oral. Como resultado, NPH-100 proporciona un efecto de suministro de liberación lenta, a pesar de que parece metabolizar a PBA rápidamente una vez absorbido. Esto proporciona gran flexibilidad en la dosificación y explica por qué NPH-100 se puede dosificar, por ejemplo, tres veces al día o incluso dos veces al día para proporcionar los niveles de amoníaco de manera similarmente estables que requieren cuatro o más dosis de PBA para lograrse.

A la vista de estas observaciones del comportamiento farmacocinético inesperado, plasma PAA y los niveles de PBA no deben utilizarse para evaluar o controlar el tratamiento de un sujeto con NPH-100 o PBA de sodio. Se necesitan métodos alternativos, y se proporcionan en el presente documento, para el seguimiento de un sujeto tratado con NPH-100. Por un lado, se ha encontrado que entre 50 y 85% de NPH-100 se convierte en PAGN urinaria, típicamente de aproximadamente 60% a aproximadamente 75%. Esta eficiencia de conversión de NPH-100 y PBA de sodio en pacientes con UCD es sorprendente a la luz de las referencias anteriores que por lo general han supuesto que la eficiencia de conversión de PBA de sodio era alrededor de 100%. PAGN urinaria se ha demostrado que se correlaciona inversamente con los niveles de nitrógeno de residuos, por ejemplo, amoníaco, en la sangre, por lo tanto eficacia de NPH-100 se puede evaluar mediante la medición de PAGN urinaria. También se ha encontrado que NPH-100 tiene poco o ningún efecto en los niveles de creatinina. Además, debido a los niveles de creatinina en los adultos sanos y pacientes con estados de retención de nitrógeno son normalmente bastante estables, la medición de la producción PAGN en la orina con el tiempo, o la medición de la relación de las concentraciones de PAGN a creatinina, que pueden hacerse fácilmente en las pruebas de punto, proporcionan una manera de monitorear la efectividad de NPH-100. En un aspecto, la invención proporciona así un método para evaluar la eficacia de un tratamiento con NPH-100, que comprende la determinación de la relación de PAGN a creatinina en una prueba de "punto orina". Los estudios clínicos demuestran que la excreción urinaria de PAGN, y la relación de PAGN a creatinina en la orina, se correlacionan bien con los niveles de amoníaco en sangre: un aumento de PAGN o de la relación de PAGN/creatinina se correlaciona con la disminución de los niveles de amoníaco plasma. En consecuencia, en un método, pacientes NPH-100 tratados son supervisados por medición de la producción PAGN urinaria, o mediante la medición de la relación de PAGN a creatinina en las pruebas de punto de orina. Este método se puede utilizar para controlar el tratamiento de un paciente sin tratamiento previo, o de un paciente que está en transición de PBA a NPH-100, o un paciente que está siendo tratado con NPH-100. El aumento de los niveles de salida PAGN urinaria, o un aumento en la proporción de PAGN a creatinina en las pruebas de punto proporciona una manera de determinar si un régimen de dosificación que utiliza NPH-100 u otro profármaco PBA está promoviendo la eliminación del exceso de amoníaco, y para comparar dos métodos de tratamiento para determinar cuál es más eficaz para el sujeto en particular.

Si bien los niveles de amoníaco de plasma se utilizan a menudo para evaluar el control de la enfermedad en pacientes UCD, a menudo es un inconveniente para confiar en los niveles de amoníaco de plasma para optimizar la dosificación de NPH-100 fuera de un entorno clínico. Por otra parte, los niveles de amoníaco en plasma se ven afectados por muchos factores y pueden resultar elevados independientemente de lo bien que funcione el tratamiento de fármacos; refleja la dieta y otros factores, así como la adecuación de una dosis del fármaco que se utiliza. Amoníaco en plasma varía mucho, incluso cuando esté relativamente bien controlado, basado en horario de las comidas, el tiempo de fármacos, y varios otros factores. Por lo tanto para reflejar de manera significativa el efecto del fármaco, los niveles plasmáticos de amoníaco necesitan que supervisa el tiempo por muestreos de sangre repetidos, que no es práctico para el control rutinario de algunos pacientes y que no proporciona información directa acerca de si un fármaco secuestrante de amoníaco está trabajando. Las mediciones de PAGN urinaria, por otra parte, se pueden hacer más convenientemente como un método de monitoreo de rutina, ya que no requieren la asistencia médica para recoger las muestras para la prueba. Por otra parte, PAGN urinaria mide específicamente la separación de nitrógeno residual proporcionada por el agente de secuestro, mientras que muchos otros factores que afectan los niveles de amoníaco pueden causar control de amoníaco para inducir a error en relación con el efecto real del fármaco de eliminación de nitrógeno. Así, aunque en teoría un número de diferentes parámetros se pudo medir para evaluar la eficacia de una dosis de NPH-100, sólo las mediciones basadas en PAGN urinaria son a la vez convenientes y fiables como una medida directa del efecto del fármaco de eliminación de nitrógeno.

En otro aspecto, la invención proporciona un factor de eficiencia de utilización de NPH-100 sobre 60% a aproximadamente 75%, que se puede utilizar para determinar con más precisión una dosis de partida inicial de cualquiera de los fármacos y/o correlacionar la ingesta de proteínas de la dieta con PAGN urinaria proyectada .

En un aspecto, la invención proporciona un método para la transición de un paciente de fenilbutirato de NPH-100. El método implica la determinación de la dosis inicial de NPH-100 que se selecciona en función de la dosis actual del paciente de fenilbutirato. Por ejemplo, la cantidad de NPH-100 necesaria para proporcionar una cantidad molar igual de PBA se calcularía (una cantidad equimolar), y esta cantidad equimolar se administra al paciente. La excreción urinaria de los niveles de amoníaco PAGN o plasma sería supervisada, y la dosis de HPN se aumenta o disminuye según sea necesario para establecer un nivel de excreción de PAGN que es aproximadamente el mismo que el proporcionado por una cantidad eficaz utilizada previamente de fenilbutirato u otro nitrógeno de secuestro de fármacos. Por lo general, un sujeto realiza la migración de PAA u otro profármaco PAA a NPH-100 usando este método sería examinado para la salida PAGN urinaria antes de la transición y después, y la dosis de NPH-100 se ajustaría según sea necesario para que coincida con la salida PAGN urinaria de este paciente cuando se trata con el fármaco PAA anterior o profármaco, suponiendo que el tratamiento de profármaco PAA anterior se consideró eficaz.

Esto proporciona una transición más segura y más eficaz para NPH-100 que los métodos que se basan en el uso de una cantidad equimolar y sin el seguimiento de los efectos in vivo de esa cantidad del nuevo fármaco. También se evita el riesgo de una dosificación incorrecta y sobretratamiento potencial que podría resultar si se monitoreaba PAA o PBA y trataron de ajustar la dosis NPH-100 para que coincidiera con el nivel de PAA o PBA al nivel correspondiente según lo dispuesto mediante la administración de fenilbutirato de sodio en sí.

En algunas realizaciones, la transición de fenilbutirato podría llevarse a cabo en más de un solo paso y la excreción urinaria de nitrógeno total y PAGN permitiría el seguimiento de captación de amoníaco durante la transición. En algunas realizaciones, un paciente que toma una dosis inicial de fenilbutirato se transiciona de fenilbutirato a NPH-100 en pasos. Los métodos pueden utilizar dos, tres, cuatro, cinco, o más de cinco pasos. En cada paso, una fracción de la dosis inicial de fenilbutirato correspondiente al número de pasos que se utilizan para la transición se sustituye por una cantidad apropiada de NPH-100. La cantidad apropiada para cada paso puede ser aproximadamente una cantidad suficiente para proporcionar una cantidad molar igual de PBA si se supone que el profármaco se convierte cuantitativamente en PBA. Nota, también, que BUPHENYL® (fenilbutirato de sodio) contiene aproximadamente 6% de ingredientes inactivos, por lo que es adecuado para los cálculos de base sobre el contenido de PBA del fármaco en lugar de en el peso del fármaco formulado. Se controla entonces el paciente para determinar la cantidad de efecto de secuestro de amoníaco que se ha proporcionado. La cantidad de NPH-100 puede entonces ajustarse para producir aproximadamente la misma cantidad de excreción de amoníaco en forma de PAGN excretada que se logró por la dosis inicial de fenilbutirato, si el paciente estaba bien controlado.

Un médico que está cambiando a un paciente de PBA a NPH-100 deben ser conscientes de que una cantidad efectiva de NPH-100 no produce necesariamente un nivel de PAA o de PBA que es tan alto como los que se observan cuando se administra fenilbutirato de sodio. Se ha informado de que PAA exhibe cierta toxicidad a altas concentraciones de plasma. Thibault, et al, *Cancer Research*, 54(7): 1690-94 (1994) y *Cancer*, 75(12):2932-38 (2005). Dado esto, y teniendo en cuenta las propiedades únicas de NPH-100 descrito anteriormente, es particularmente importante que un médico no utilice los niveles plasmáticos de PAA o PBA para medir la eficacia de NPH-100. Si se administra NPH-100 en cantidades suficientes para que coincida con plasma PBA o los niveles de PAA proporcionados mediante la administración de fenilbutirato, por ejemplo, la dosis de NPH-100 puede ser innecesariamente alta.

El paciente sin tratamiento previo es uno que no recibe actualmente un tratamiento farmacéutico de eliminación de amoníaco para controlar los niveles de nitrógeno. Si bien no se recomiendan niveles de dosificación para fármacos secuestrantes de nitrógeno en muchos casos, la dosis correcta para un paciente ingenuo puede ser inferior a esas gamas, por ejemplo, y, con menor frecuencia, puede estar por encima de una cantidad equimolar en comparación con las dosis recomendadas para PBA de sodio. La dosis inicial de PAA o un profármaco del PAA puede ser calculada por métodos conocidos en la técnica una vez la ingesta dietética de un paciente de la proteína se conoce, y suponiendo que el paciente tiene una función hepática relativamente normal. Saul W Bmsilow, "Fenilacetilglutamina puede sustituir a la urea como un vehículo para la excreción de nitrógeno residual," *Pediatric Research* 29: 147-150, (1991). También se conocen métodos para medir la cantidad total de nitrógeno excretado en la orina; en el caso de un sujeto que toma un fármaco que actúa proporcionando PAA, el nitrógeno total de residuos incluirá PAGN excretada.

Se estima que alrededor del 47% de nitrógeno en las proteínas consumidas se convertirá en nitrógeno residual, y que cerca del 16% de proteína en promedio es nitrógeno. El uso de estas figuras, y suponiendo NPH-100 se convierte de manera eficiente a PAGN, una dosis diaria de alrededor de 19 g de NPH-100 proporcionaría un vehículo para excretar el nitrógeno residual de aproximadamente 43 g de proteínas de la dieta; cada gramo de NPH-100 sería capaz eliminar nitrógeno residual de aproximadamente 2 g de proteína dietética. Además, si se estima que eficiencia de utilización de NPH-100 es de entre aproximadamente 50% y 85% en varios pacientes individuales (como se describe aquí, se ha encontrado que aproximadamente el 60-75% de NPH-100 se convierte en PAGN urinaria en promedio), lo cual es consistente con las observaciones clínicas hasta la fecha, y estos factores pueden utilizarse para refinar aún más la relación entre la ingesta de proteínas de la dieta y los niveles de dosificación NPH-100 para un sujeto dado. Con este refinamiento, cada gramo de NPH-100 ayudaría con la eliminación de residuos de nitrógeno durante alrededor de 1 gramo (~1,3 gramos) de proteínas de la dieta. Este factor puede ser usado para calcular una dosis adecuada de NPH-100 si la ingesta de proteínas de la dieta se conoce o controla, y que puede ser utilizado para calcular una ingesta de proteínas de la dieta tolerable para un sujeto que recibe NPH-100.

Este método también se puede utilizar para establecer una ingesta de proteínas de la dieta diaria recomendada para un paciente, mediante la determinación de la capacidad de eliminación de nitrógeno endógeno del paciente, el cálculo de una cantidad de proteínas de la dieta que esta capacidad endógena permite al paciente procesar sin la ayuda de un fármaco de eliminación de nitrógeno, y la adición a la cantidad de proteínas de la dieta del paciente puede procesar una cantidad de proteína que el paciente sería capaz de procesar cuando se utiliza una dosificación particular de PBA o un profármaco PBA como NPH-100. Utilizando NPH-100 como un ejemplo, una dosis máxima diaria de alrededor de 19 gramos de NPH-100, utilizada en una eficacia estimada de 60%, permitiría al paciente tratado eliminar los residuos de nitrógeno que corresponde a aproximadamente 40 g de proteínas de la dieta.

En algunas realizaciones, sino que también es útil para medir la excreción PAGN, que representa alrededor del

5 nitrógeno total de residuos excretados cuando PAA o un profármaco de la FAA está trabajando. El nitrógeno total de
residuos excretados menos la cantidad de PAGN excretado representa la capacidad endógena del paciente para
excretar los desechos de nitrógeno a través del ciclo de la urea u otros mecanismos, y es útil para determinar la
cantidad de la ingesta de proteínas que el paciente puede administrar en una dosis determinada fármaco, y también
para la comprensión de si el paciente requiere extremadamente estrecha vigilancia. La capacidad endógena para
excretar los desechos nitrogenados será específica muy paciente. La dosificación de NPH-100 entonces puede
establecerse mediante la determinación de la capacidad endógena del sujeto para eliminar el nitrógeno de residuos;
restando la cantidad de proteínas de la dieta correspondiente a la capacidad de eliminación de nitrógeno endógeno
del sujeto; y proporcionar una dosificación de NPH-100 suficiente para permitir al objeto de manejar el equilibrio de
nitrógeno residual, basado en la ingesta de proteínas de la dieta del sujeto.

15 El plasma o nivel en sangre de amoníaco está determinado también opcionalmente, además de medir PAGN
urinaria, para evaluar la eficacia del fármaco en general, el régimen dietético para un paciente particular. Si el control
de amoniaco es inadecuado, puede que sea necesario aumentar la dosis de fármacos de eliminación de nitrógeno
en el caso de que se pueda hacer, o la ingesta de proteínas de la dieta del paciente se puede disminuir si eso es
factible.

20 En algunos casos, la dosis de NPH-100 puede estar limitada a las dosis que no superen los niveles de dosificación
recomendados para fenilbutirato, ajustando por el hecho de que cada mol de NPH-100 puede producir tres moles de
fenilbutirato. La etiqueta para el uso de PBA de sodio para el tratamiento crónico de UCDs recomienda una dosis
diaria que no exceda de 20 g; una dosificación diaria en una gama de 9,9-13,0 g/m² establecida de acuerdo con el
tamaño del sujeto para los sujetos de más de 20 kg de peso; y se indica una dosis dentro de un rango de 450-600
mg/kg para los sujetos con un peso inferior o igual a 20 kg. Mientras que dosis más bajas de NPH-100 pueden
proporcionar secuestro de amoníaco comparable a PBA sobre una base equivalente molar, pudiéndose ser
adecuado para seleccionar una dosis más alta de NPH-100 para lograr el control de amoniaco adecuado para
ciertos sujetos. Típicamente, la dosis no superará los rangos recomendados para las dosis de fenilbutirato para una
indicación dada. Por tanto, puede ser apropiado administrar NPH-100 a una dosis diaria que no exceda de una
cantidad de NPH-100 que corresponde a las cantidades molares de fenilbutirato descritas anteriormente (y de
corregir por el hecho de que NPH-100 puede proporcionar tres moléculas de PBA). Para un sujeto que pesa más de
20 kg, un intervalo de dosificación para la NPH-100 estaría entre 8,6 y 11,2 ml/m². Para un sujeto que pesa menos
de 20 kg, un intervalo de dosificación de alrededor de 390 a 520 µL/kg por día de NPH-100 sería apropiado,
basándose en el uso de una cantidad equimolar en comparación con las dosis recomendadas de NPH-100. No hay
evidencia a sugerir que NPH-100 produciría efectos adversos a una velocidad superior a la de una cantidad
equimolar de PBA de sodio, por lo que el límite superior diaria recomendada de 20 g por día de PBA de sodio
sugiere que un límite de dosis diaria de NPH-100 basada en las recomendaciones para la PBA de sodio se
correspondería con una cantidad equimolar de NPH-100, o alrededor de 19 g ó 17,4 ml.

40 También se ha encontrado que NPH-100 no exhibe indicaciones de toxicidad a dosis equimolares en comparación
con la dosis PBA aprobada de 20 g/día y es poco probable que una dosis 2-3 veces el equivalente a 20 gramos de
PBA produzca niveles de PAA en sangre que den lugar a reacciones adversas. Además, la tolerabilidad de tomar
NPH-100 es mucho mayor que para PBA y una relación lineal se ha observado entre la dosis de NPH-100 y la salida
de PAGN hasta dosis de 17,4 ml. En algunos pacientes o entornos clínicos, se espera que una dosis NPH-100 muy
por encima de la dosis de PBA aprobada pueda ser beneficiosa; por ejemplo, en pacientes con UCD que exhiben
hiperamoniemia recurrente incluso en dosis máximas de PBA de sodio, en pacientes con UCD que necesitan un
aumento de proteínas en la dieta para apoyar las exigencias del cuerpo, o en pacientes con otros estados de
retención de nitrógeno.

50 La dosis inicial de la NPH-100 para un paciente sin tratamiento previo se puede calcular como la cantidad de
nitrógeno de desecho que debe ser eliminada en base a la ingesta de proteínas de la dieta del paciente. Esta
cantidad puede ser reducida por una cantidad equivalente al nitrógeno residual que el paciente puede eliminar
mediante el uso de la capacidad endógena de eliminación de nitrógeno residual del paciente, que puede medirse
como se describe en el presente documento. La dosis de partida adecuada de NPH-100 se puede calcular mediante
la estimación de la ingesta de proteínas de la dieta que necesita ser gestionada a través del fármaco de eliminación
de nitrógeno, y proporcionar una dosis de fármaco que asciende a aproximadamente 1 g de NPH-100 por 1-2
gramos de proteína de la dieta en exceso de la cantidad que la capacidad endógena de eliminación de nitrógeno del
paciente puede manejar, teniendo en cuenta el porcentaje esperado de conversión de la PBA administrada a PAGN
urinaria. El método incluye además opcionalmente la evaluación de la producción de orina PAGN para ver si se da
cuenta de la cantidad esperada de nitrógeno residual, y opcionalmente puede incluir la medición de los niveles
plasmáticos de amoníaco en el objeto de asegurar que un nivel aceptable de amoniaco se ha logrado. La
comprobación de los niveles de amoníaco de plasma del paciente proporciona una medida de la eficacia del
programa de tratamiento global, incluyendo la dieta y la dosificación del fármaco.

65 La siguiente tabla resume la cantidad de proteínas en la dieta que las dosis de NPH-100 por debajo de (dosis 1),
dentro de (dosis 2) y superior a (dosis 3) las correspondientes a las dosis recomendadas de PBA de sodio que se
esperaría "cubrir" (es decir, median que resulta en excreción de nitrógeno residual), teniendo en cuenta los
siguientes supuestos: 1 gramo de PAA media la excreción de ~0,18 gramos de nitrógeno residual si están

completamente convertidos a PAGN; 60% de la PAA entregada como el profármaco de PBA liberado de NPH-100 se convierte en PAGN; 47% de proteínas de la dieta se excreta como nitrógeno residual, y 16% de proteínas de la dieta consiste en nitrógeno (Brusilow 1991; Calloway 1971). Estos factores se pueden utilizar cuando se relaciona la ingesta de proteínas de la dieta, la dosificación del fármaco y la eliminación de nitrógeno de desechos para los propósitos de la presente invención.

Dosis de NPH-100 y excreción de nitrógeno de desechos esperada a base de proteína dietética

Dosis 1	3 mL BID	Corresponde a ~0.47x la dosis administrada en el Ejemplo 2, para un adulto de 70 kg y ~0.35x la cantidad de PBA (~6,1 g) entregada en la dosis máxima aprobada de PBA de sodio de 20 g Esperado a mediar en la excreción de nitrógeno residual asociado con ~8,5 g de proteína en la dieta
Dosis 2	9 mL BID	Corresponde a 1,42x la dosis administrada en el ejemplo 2, para un adulto de 70 kg y ~01,1x la cantidad de PBA (18,2 g) entregada en la dosis máxima aprobada de PBA de sodio de 20 g Esperado a mediar en la excreción de nitrógeno residual asociado con ~26 g de proteína en la dieta
Dosis 3	15 mL BID	Corresponde a ~2.36x la dosis administrada en el Ejemplo 2, para un adulto de 70 kg y ~1.73x la cantidad de PBA (~30,3 g) entregada en la dosis máxima aprobada de PBA de sodio de 20 g Esperado a mediar en la excreción de nitrógeno residual asociado con ~43 g de proteína en la dieta

En la presente memoria, los niveles plasmáticos de amoníaco son aceptables cuando están en o por debajo de un nivel considerado normal para el sujeto, y por lo general este nivel significaría que el amoníaco en plasma está por debajo de alrededor de 40 µmol/L. En ciertas pruebas clínicas descritas en el presente documento el límite superior de la normalidad para los sujetos se encontraba entre 26 y 35 µmol/L, y se reconoce en la técnica que un nivel normal de amoníaco variará dependiendo de exactamente cómo se mide; por lo tanto, como se usa para describir los niveles de amoníaco en el presente documento, "aproximadamente" significa que el valor es aproximado, y típicamente dentro de 10% del valor numérico indicado.

Cuando el paciente ha sido previamente tratado con PAA o un profármaco del PAA, el médico que aplica el tratamiento podría depender, en todo o en parte, en el tratamiento previo para establecer una dosificación para un nuevo profármaco PAA, o un profármaco del PBA, para ser administrado al mismo paciente. Si el fármaco anterior fue razonablemente eficaz para la gestión de la condición del paciente, el médico puede ajustar la dosis de un nuevo profármaco PAA o PBA por referencia a la anterior, de modo que el nuevo fármaco se administra a una dosificación que proporciona la misma dosis de PAA para el paciente, asumiendo la conversión completa de cada profármaco en PAA.

De nuevo, como se discutió anteriormente, a veces es deseable medir PAGN excretada además de nitrógeno total de residuos excretados. El nitrógeno total de residuos excretados menos la cantidad de PAGN excretada representa la capacidad endógena del paciente para excretar los desechos de nitrógeno a través del ciclo de la urea u otros mecanismos, y es útil para determinar la cantidad de la ingesta de proteínas que el paciente puede administrar en una dosis de fármaco determinada, y también para la comprensión si el paciente requiere vigilancia extremadamente estrecha. La capacidad endógena para excretar los desechos nitrogenados será muy específica al paciente.

Cuando el sujeto esté recibiendo tratamiento con un fármaco de eliminación de nitrógeno, puede ser necesario volver a evaluar la ingesta dietética del paciente de la proteína periódicamente, ya que muchos factores pueden afectar el equilibrio entre la ingesta de nitrógeno, la excreción de nitrógeno, y la dosis de un fármaco de eliminación de nitrógeno. La invención se puede utilizar para determinar la cantidad de proteínas que la dieta de un paciente puede manejar, basándose en la medición de los niveles de excreción de nitrógeno del paciente. Además, puede ser útil para medir el nivel de PAGN del paciente como se discutió anteriormente, para ayudar a determinar la capacidad endógena del paciente para la excreción de desechos de nitrógeno a través del ciclo de la urea u otros mecanismos.

En los métodos anteriores, el paciente puede ser uno que tenga un trastorno del ciclo de la urea, u otros trastornos de acumulación de nitrógeno. En muchas realizaciones, los métodos son aplicables a pacientes que tienen un trastorno de ciclo de la urea, pero una función hepática relativamente normal.

NPH-100 es el profármaco PBA utilizado en estos métodos.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para hacer la transición a un paciente de tratamiento con una cantidad inicial de fenilacetato o fenilbutirato a una cantidad final de NPH-100, que comprende:

- a) la determinación de una cantidad de reemplazo de NPH-100 para reemplazar al menos una parte del fenilacetato o fenilbutirato;
- b) la sustitución de la cantidad de sustitución de NPH-100 para la porción de fenilacetato o fenilbutirato; y
- c) el control de la cantidad de PAGN excretada por el paciente para evaluar la eficacia de la cantidad de sustitución NPH-100.

Opcionalmente, este método comprende el ajuste de la cantidad de NPH-100 y la administración de una cantidad ajustada de NPH-100, entonces el seguimiento posterior de excreción de PAGN para evaluar la eficacia de la cantidad ajustada de NPH-100. La cantidad de sustitución de NPH-100 puede ser aproximadamente una cantidad equimolar a la cantidad de PBA que se sustituye.

Por razones que se discuten ampliamente en el presente documento, es engañoso confiar en los niveles de PAA al administrar un profármaco a un paciente (o un nuevo profármaco) de PAA o PBA. La disponibilidad de mecanismos basados en el hígado para una rápida conversión de un profármaco en PAGN sin entrar necesariamente en el sistema sistémico hace que los niveles plasmáticos de PAA y PBA sean insuficientes como predictores de eficacia, por lo que el método se basa en la PAGN excretada para evaluar y monitorear el tratamiento con un profármaco PAA o PBA que se va a dar al paciente.

En muchos casos, será posible hacer la transición de un paciente directamente de, por ejemplo, fenilbutirato a NPH-100 en una sola etapa, en lugar de en pasos incrementales. Por lo tanto todo el PAA o profármaco PAA utilizado anteriormente puede ser reemplazado con una cantidad de sustitución adecuada de NPH-100. Sin embargo, en algunas situaciones (por ejemplo, "pacientes frágiles", los pacientes que toman dosis en o cerca de los límites recomendados de PAA o profármaco PAA, y para pacientes que tienen la capacidad endógena muy limitada para la excreción de desechos de nitrógeno, o en situaciones donde la capacidad del paciente para metabolizar o excretar el fármaco es incierta), puede ser preferible para la transición del fármaco inicial a NPH-100 en dos o más etapas o pasos. Así, la transición se puede hacer en 2, 3, 4 o 5 pasos, y en cada paso una fracción del fármaco original ("por ejemplo, aproximadamente la mitad de una transición de dos pasos, alrededor de un tercio de una transición de tres pasos, etc.) se sustituye por el NPH-100 a administrarse. Este enfoque puede ser apropiado para un paciente UCD "frágil" que se sabe es susceptible de episodios repetidos de hiperamonemia mientras recibe tratamiento o mientras se hace una gran cantidad de fármaco que promueve la eliminación de nitrógeno.

Los métodos también incluyen la medición opcionalmente urinaria de nitrógeno total y PAGN urinaria después de al menos 3 días de la administración del fármaco, momento en el que se ha alcanzado un estado de equilibrio. También puede incluir el cálculo de la cantidad de fármaco convertido a PAGN, que se espera que sea al menos 50%, para determinar si el fármaco está teniendo el efecto deseado. Una dosificación adecuada del fármaco sería identificada como uno donde la cantidad de PAGN excretada es suficiente para limpiar la cantidad esperada de nitrógeno residual de la ingesta dietética de proteína, que se puede ajustar para tener en cuenta la capacidad de eliminación de nitrógeno endógeno del paciente.

La fracción de residuos de nitrógeno que se desea borrar en un solo paso puede seleccionarse teniendo en cuenta la gravedad del estado del paciente (trastorno de acumulación de nitrógeno). En algunas realizaciones, será apropiado concentrar la eliminación de aproximadamente 50% del nitrógeno de residuos para cuya liquidación se necesita asistencia. En algunas realizaciones, el método se dirigirá a la eliminación de aproximadamente 100% del nitrógeno de residuos.

Como se ha demostrado en el presente documento, el método apropiado para determinar una dosis adecuada de NPH-100 tendrá en cuenta el PAGN excretada, en lugar de estar basada únicamente en criterios menos confiables para evaluar el profármaco PBA administra por vía oral.

En otra realización, la invención se puede utilizar para administrar NPH-100 a un paciente, que comprende la determinación de la tasa de excreción de PAGN para el sujeto después de la administración de NPH-100, y seleccionar o ajustar un horario de administración de la dosis basada en la tasa de excreción de PAGN. Ventajosamente, NPH-100 alcanza el secuestro de nitrógeno comparable al de PBA pero presenta un perfil cinético de liberación lenta que produce un nivel de amoniaco más estable en el sujeto tratado. En algunas realizaciones, los métodos de la invención se pueden usar en la administración de NPH-100 a un sujeto a una dosificación que proporciona control de nivel de amoniaco comparable al conseguido mediante PBA, pero con la exposición significativamente menor del sujeto a PBA sistémica. En algunas realizaciones, el sujeto experimenta parámetros farmacocinéticos para PBA que demuestran menor exposición a PBA, incluyendo un AUC inferior y C_{max} para PBA, mientras se mantiene un nivel de amoniaco de plasma comparable o mejor que el proporcionado por el tratamiento con una dosis de PBA dentro del intervalo normal de dosificación. Cuando NPH-100 y PBA se administraron a pacientes con UCD en dosis equimolares, el paciente que recibe NPH-100 tuvo en general niveles plasmáticos de

amonio más bajos, y también exposición menor de PBA:

	AUC (NH ₃) µg- hr/mL	C _{max} (NH ₃) µg - hr/mL	AUC (PBA) µg- hr/mL	C _{max} (PBA) µg- hr/mL
PBA	38,4(20)	79,1(40)	739(49)	141(44)
NPH-100	26,1(10)	56,3(28)	540(60)	70(65)

Mientras que un conjunto mayor de datos es necesario para demostrar la significación estadística, cantidades limitadas de datos están disponibles, en parte, debido a la rareza de estas condiciones. Sin embargo, los datos indican que el tratamiento de PBA resultó en el control de nivel de amoníaco menos eficaz y una mayor exposición a PBA, mientras que el profármaco PBA de NPH-100 en la dosificación equimolar proporcionó un mejor control del nivel de amoníaco y niveles menores de exposición de PBA. En consecuencia, en un aspecto, la invención se puede utilizar para tratar a un paciente UCD con NPH-100, en el que NPH-100 produce un mejor control de nivel de amoníaco PBA sin aumentar la exposición del paciente a PBA a juzgar por las AUC y C_{max} de PBA, en comparación con el tratamiento con una cantidad equimolar de PBA. El tratamiento utiliza NPH-100 como el profármaco, y en algunas realizaciones la AUC para la exposición PBA es menor con NPH-100 que con PBA en al menos aproximadamente 20%; o la exposición a PBA tras el tratamiento con NPH-100 es inferior en al menos aproximadamente 30% en comparación con el tratamiento con PBA; o estas dos condiciones se cumplen para demostrar una menor exposición a la PBA. En algunas realizaciones, la AUC para PBA es menor que aproximadamente 600 y la C_{max} para PBA es inferior a aproximadamente 100 cuando el profármaco es administrado. Preferiblemente, NPH-100 proporciona los niveles de amoníaco de plasma que promedian menos de aproximadamente 40 µmol/L o no más de 35 µmol/L.

El perfil cinético de liberación lenta ventajosa de NPH-100 permite dosificación menos frecuente y más flexible en pacientes seleccionados, en comparación con PBA de sodio. Mientras que todos los pacientes con UCDs y una propensión a la elevación de los niveles de amoníaco en principio debería ser capaz de beneficiarse de la actividad de secuestro de amoníaco de la NPH-100, pacientes con UCD con capacidad de síntesis de la urea residual sustancial (por ejemplo, UCD cuyas primeras manifestaciones ocurren en varios años de edad o más; es decir, pacientes que no exhiben inicio neonatal) serían los mejores candidatos para tres veces al día o incluso dos veces al día con NPH-100. Los pacientes con cirrosis y también serían candidatos para una dosificación menos frecuente, ya que incluso los pacientes con enfermedad hepática grave tienen capacidad de síntesis de urea residual significativa (Rudman et al., *J. Clin. Invest.* 1973).

Las realizaciones específicas de la invención incluyen las siguientes:

A. Un método para determinar una dosificación eficaz de NPH-100 para un paciente en necesidad de tratamiento para un trastorno de retención de nitrógeno, que comprende el monitoreo del efecto de dosificación inicial de NPH-100, en la que monitorizar el efecto consiste esencialmente en la determinación de la producción de la glutamina de fenilacetilo urinaria del paciente (PAGN).

En este método, la dosis inicial para un paciente sin tratamiento previo tendría en cuenta el porcentaje esperado de conversión de la PBA se administra a PAGN urinaria, y la salida PAGN urinaria se puede determinar como una proporción de PAGN urinaria de creatinina urinaria, ya que se ha demostrado por otros que la creatinina, cuya excreción diaria tiende a ser constante para un individuo dado, puede ser utilizada como un medio para normalizar las mediciones de parámetros urinarios a la vez que se corrige por las variaciones en el volumen urinario. En estos métodos, el trastorno de retención de nitrógeno puede ser encefalopatía hepática crónica o un trastorno del ciclo de la urea. Los niveles de amoníaco de plasma también pueden ser controlados para ajustar el programa de tratamiento global y la ingesta de proteínas de la dieta, pero como se mencionó anteriormente, PAGN urinaria proporciona una forma preferida para evaluar el papel del fármaco en la eliminación de nitrógeno de desechos.

B. Un método para determinar una dosificación eficaz de NPH-100 para un paciente en necesidad de tratamiento para un trastorno de retención de nitrógeno, que comprende monitorizar el efecto de una dosis inicial de NPH-100, en el que la dosis inicial para un paciente sin tratamiento previo tendría en cuenta el porcentaje esperado de conversión de la PHA que se administra a PAGN urinaria, y en el que monitorizar el efecto de la dosificación inicial de NPH-100 consiste esencialmente en la determinación de la producción de la glutamina de fenilacetilo urinaria del paciente (PAGN) y/o nitrógeno urinario total. En estos métodos, la administración de la dosis eficaz de NPH-100 al paciente preferiblemente produce un nivel normal de amoníaco de plasma en el paciente. Esto puede ser un nivel de aproximadamente 35 o aproximadamente 40 µmol/L.

C. Un método para determinar una dosis de partida de NPH-100 para un paciente que tiene un trastorno de retención de nitrógeno, que comprende el cálculo de la dosis de NPH-100 basada en una eficiencia de utilización de aproximadamente 60% a aproximadamente 75%. En tales métodos, la dosis de NPH-100 puede calcularse a partir de la ingesta de proteínas de la dieta del paciente, o puede ser estimado a partir

del peso corporal del paciente y la tasa de crecimiento aproximada. En tales métodos, la dosis de NPH-100 frecuentemente se reduce para tener en cuenta la capacidad de síntesis de la urea residual del paciente, mediante el ajuste de la cantidad de NPH-100 para reflejar la cantidad de captación de amoníaco necesaria en vista de la capacidad endógena del paciente para la eliminación de nitrógeno.

5 D. Un método para determinar una dosis de NPH-100 para un paciente que tiene un trastorno de la retención de nitrógeno, que comprende:

- 10 a) la determinación de la capacidad de síntesis de la urea residual del paciente;
 b) la determinación de la ingesta de proteínas de la dieta del paciente;
 c) la estimación de la producción de objetivo de PAGN urinaria del paciente de a partir de a) y b);
 d) la determinación de una cantidad de NPH-100 necesaria para movilizar el importe objetivo de PAGN urinaria basada en aproximadamente 60% a aproximadamente 75% de conversión del profármaco PAA en PAGN urinaria.

15 E. NPH-100 para uso en un método para tratar un paciente que tiene un trastorno de retención de amoníaco con una dosificación adecuada de NPH-100, que comprende:

- 20 a) la determinación de la capacidad de síntesis de la urea residual del paciente;
 b) la determinación de la ingesta de proteínas de la dieta del paciente;
 c) la estimación a partir de a) y b) de la producción de objetivo de PAGN urinaria del paciente;
 d) la determinación de una cantidad de NPH-100 necesaria para la movilización de la cantidad objetivo de PAGN urinaria basada en aproximadamente 60% a aproximadamente 75% de conversión de NPH-100 en PAGN urinaria; y
 25 e) la administración al paciente de la dosis adecuada de NPH-100;

G. Un método para la transición de un paciente que recibe tratamiento con una cantidad inicial de fenilacetato o fenilbutirato a una cantidad final de NPH-100, que comprende:

- 30 a) la determinación de una cantidad de reemplazo de NPH-100 para reemplazar al menos una parte del fenilacetato o fenilbutirato;
 b) la sustitución de la cantidad de sustitución de NPH-100 para el fenilacetato o fenilbutirato;
 c) el control de la cantidad de PAGN urinaria excretada por el paciente para evaluar la eficacia de la cantidad de sustitución de NPH-100.

35 En estos métodos, un aumento en la cantidad de PAGN urinaria puede indicar que la cantidad de NPH-100 puede ser reducida, y una disminución en PAGN urinaria puede indicar que la cantidad de NPH-100 necesita ser aumentada.

40 En estos métodos, el profármaco PBA es NPH-100.

45 En los métodos anteriores, la exposición a PBA tras el tratamiento con el profármaco NPH-100 es inferior en al menos aproximadamente 30% en comparación con el tratamiento con PBA. Además, comúnmente la AUC para PBA es menor que alrededor de 600 y la Cmax para PBA es menor que aproximadamente 100 NPH-100 a ser administrado. También, en los métodos anteriores, cuando el sujeto se trata con NPH-100, el sujeto normalmente logra y mantiene los niveles normales de amoníaco de plasma.

Los siguientes ejemplos se ofrecen para ilustrar pero no para limitar la invención.

50 Los datos por debajo de tres estudios humanos y un estudio preclínico ilustran que el enfoque convencional de la evaluación de la exposición al fármaco y el efecto mediante la medición de los niveles en sangre no se correlaciona con secuestro de nitrógeno según la evaluación de la excreción urinaria de PAGN o por reducción de amoníaco de plasma. Estos datos demuestran que, sorprendentemente, el nivel plasmático de PBA o PAA visto con una cantidad eficaz de un profármaco puede ser mucho menor que el nivel plasmático de PBA o PAA visto con una cantidad eficaz de manera similar de fenilbutirato. Por otra parte, demuestran la necesidad de permitir la conversión incompleta de PBA de sodio o de NPH-100 en PAGN en la selección de la dosis de partida, el comportamiento de liberación retardada y las implicaciones para el programa de dosificación de la entrega de PBA como un triglicérido en lugar de como una sal, y la posibilidad de la administración de NPH-100 en dosis mayores que las recomendadas actualmente para PBA de sodio. Estos son seguidos por una explicación biológica de los hallazgos.

60 Ejemplo 1

Seguridad de dosis única y PK en adultos sanos

65 Para evaluar su perfil farmacocinético (PK) y farmacodinámico (PD), NPH-100 se administró en una dosis única a 24 adultos sanos. Muestras farmacocinéticas se tomaron previamente a la dosis y a los 15 y 30 minutos después de la dosis y 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24, y 48 horas después de la dosis. Como veremos más adelante, los niveles

- 5 plasmáticos de los principales metabolitos NPH-100 PBA, PAA y PAGN eran muchas veces más bajos después de la administración de NPH-100 que después de PBA de sodio. Por el contrario, la excreción urinaria de PAGN fue similar entre los dos grupos (4905 +/- 1414 mg tras PBA de sodio y 4130 +/- 925 mg tras NPH-100) y se determinó que las diferencias que se observaron se debían en gran parte a la colección incompleta debido a la detención de la recolección de orina a las 24 horas (tenga en cuenta que la excreción de PAGN tras la administración de PBA de sodio fue completada en gran medida a las 24 horas, pero continuó más allá de las 24 horas después de la administración de NPH-100). Por lo tanto, las concentraciones de metabolitos en plasma no reflejan con precisión la actividad de eliminación de amoníaco comparativo de PBA de sodio y NPH-100.
- 10 Tres voluntarios adultos sanos fueron tratados con una dosis única de PBA de sodio o de NPH-100 a una dosis de 3 g/m². Los niveles plasmáticos de PAA, PBA, y PAGN se supervisaban periódicamente durante 12-24 horas por métodos conocidos. Los resultados se muestran en la Figura 4, la cual muestra una curva para cada sujeto (obsérvese la escala logarítmica).
- 15 En cada panel, las curvas representan los niveles de PBA, PAA o PAGN medidos en los sujetos que recibieron PBA de sodio a dosis de 3 g /m², o NPH-100 en una cantidad calculada para proporcionar una cantidad equimolar de PBA a la proporcionada por el sodio PBA dosificación. Tres curvas para cada material son por tres sujetos que recibieron las dosis especificadas de PBA de sodio o de NPH-100.
- 20 En el panel de la izquierda, la curva superior representa los niveles de PBA; el intermedio representa los niveles de PAA; y el más bajo de los tres conjuntos de líneas representa los niveles de PAGN. En el panel de la derecha, las tres curvas más bajas en el intervalo de tiempo 10-15 horas son todas por PBA; y las tres más altas curvas a 15-25 horas representan niveles PAGN. Los niveles de PAA no se determinaron después de aproximadamente 12 horas, y eran por lo general cerca de las curvas PAGN hasta ese momento.

25

Ejemplo 2

La administración de NPH-100 a pacientes con enfermedad hepática

- 30 Para determinar su perfil farmacocinético (PK) y farmacodinámico (PD) en pacientes con enfermedad del hígado, pruebas clínicas se llevaron a cabo en el que se administró NPH-100 por vía oral en una sola dosis (100 mg/kg/día en el día 1), y dos veces al día durante 7 días consecutivos (200 mg/kg/día durante los días 8 al 14, en dos dosis de 100 mg/kg por dosis), a los sujetos con insuficiencia hepática con cirrosis (resultados Child-Pugh de A, B, o C) y para un grupo de control de género y edad de adultos sanos con función hepática normal. En el día 15, los sujetos recibieron una dosis única de NPH-100 (100 mg/kg). Muestras de sangre PK se tomaron previamente a la dosis, a los 15 y 30 minutos después de la dosis, y a las 1, 1,5, 2, 3, 4, 6, 8, 12, y 24 horas después de la dosis en los días 1, 8 y 15, y en 48 horas después de la dosificación en días 1 y 15. En días 9-14, las muestras de sangre se tomaron previamente a la dosis de la mañana y a las 2 horas después de la dosis de la mañana. Se recogió orina 0-4, 4-8, 8-12 y 12-24 horas después de la dosis en los días 1, 8 y 15, y a las 24-48 horas después de la dosis en los días 1 y 15.

40

- 45 NPH-100 se metaboliza a través de la vía predominante en todos los grupos de materias, y los metabolitos PAG alternativos NPH-100 (glicina de fenilacetil), PBG (glicina de fenilbutirilo), y PBGN (glutamina de fenilbutirilo) estaban por debajo del límite de cuantificación en todas las muestras de plasma. Tanto el grado de exposición sistémica (AUC_{0-t}) y C_{max} para PBA y PAA tendió a ser mayor en el grupo Child-Pugh grupo B o C que en el grupo Child-Pugh A o el grupo de voluntarios sanos, aunque no hubo diferencias significativas en estas variables en el día 15.

- 50 Como se describe a continuación, los niveles plasmáticos de PAA se correlacionaron con la clasificación Childs-Pugh (es decir, eran mayores en los pacientes con enfermedad hepática más grave). Sin embargo, la conversión media de NPH-100 a PAGN era ~ 75%, y no se observaron diferencias entre los pacientes con cirrosis y voluntarios sanos normales, lo que demuestra que la insuficiencia hepática no afecta la capacidad de los sujetos para activar el profármaco PBA de NPH-100 o para utilizarlo para la eliminación del exceso de amoníaco. Por lo tanto, como se resume en más detalle a continuación, los niveles de metabolitos en plasma no se correlacionan bien con la dosis NPH-100 y, al igual que para los adultos sanos, los niveles de metabolitos en plasma no reflejan con precisión el efecto de secuestro de nitrógeno de NPH-100. Por otra parte, la conversión media de PAA administrado a PAGN tenía un promedio del 75% en esta población de pacientes.

60

65

	Analito	Grupo de sujetos	Relación promedio geométrico	de 90% CI	Valor P para el efecto de grupo
5	PBA	AUC _{0-t}			0,40
		Child-Pugh A	0.92	0.58-1.43	
		Child -Pugh B	1.26	0.80-1.97	
10	PBA	Child -Pugh C	1.37	0.87-2.14	0.52
		C _{max}			
		Child-Pugh A	1.42	0.87-2.31	
		Child -Pugh B	1.35	0.83-2.21	
		Child -Pugh C	1.50	0.92-2.45	
15	PAA	AUC _{0-t}		0.48-3.06	0.64
		Child -Pugh A	1.22	0.61-3.85	
		Child -Pugh B	1.53	0.77-4.88	
		Child -Pugh C	1.94		
20	PAA	C _{max}			0,72
		Child -Pugh A	1,33	0.70-2.52	
		Child -Pugh B	1,16	0.61-2.20	
		Child -Pugh C	1,52	0.80-2.88	

25 AUC_{0-t}, área bajo la curva de concentración plasmática de tiempo 0 hasta la última concentración medible;
 IC: intervalo de confianza;
 C_{max}, la concentración plasmática máxima observada;
 PAA, ácido fenilacético;
 PBA, ácido fenilbutírico.

30 durante la administración de dosis múltiples (8 días) 15, hubo una tendencia para concentraciones sistémico mayores de PBA y PAA en los sujetos con mayor insuficiencia hepática (Child-Pugh B o C) en comparación con el grupo de Child-Pugh A y los voluntarios sanos. A diferencia de PBA, PAA se acumuló significativamente en el plasma durante la dosificación de varios días. Las diferencias entre dosificación única (día 8) y múltiple (día 15: el estado de equilibrio) fueron significativas para AUC₀₋₁₂ y C_{max} de PAA para todos los sujetos combinados (p <0,001), pero no para la PBA. Después de la dosificación en el día 15, el grado de exposición a PAA, pero no PBA, se correlacionó significativamente con insuficiencia hepática.

40 La eficacia clínica de NPH-100 depende de su capacidad de secuestro de amoníaco, a través de la conjugación de glutamina con PAA para formar PAGN. Después de la dosificación en cada día, PAGN era el principal metabolito excretado: 42-49% de la dosis administrada de NPH-100 se excretó como PAGN en días 1, 25-45% en el día 8, y 58-85% en el día 15. Cantidades muy bajas de PBA y PAA se excretaron en la orina (\leq 0,05% de la dosis total de NPH-100). No hubo diferencias significativas en la cantidad de PAGN excretada entre cualquiera de los grupos de Child-Pugh y los voluntarios sanos. La excreción PAGN urinaria es también una indicación de la capacidad de eliminación de amoníaco de NPH-100, como 2 moles de amoníaco se combinan con 1 mol de PAA para producir PAGN. Insuficiencia hepática no tuvo ningún efecto significativo en la capacidad de eliminación de amoníaco de NPH-100 en este estudio. No hubo diferencias significativas en la cantidad de PAGN excretada entre cualquiera de los grupos de Child-Pugh y los voluntarios sanos. Las observaciones de que la insuficiencia hepática no tuvo un efecto significativo sobre la capacidad secuestro de amoníaco de NPH-100 en este estudio, pero se asoció con la acumulación de PAA en el plasma hace resaltar la importancia de utilizar PAGN urinaria en lugar de los niveles sanguíneos de metabolitos para guiar el efecto del fármaco y, como corolario, la importancia de la invención, como también lo hace el hecho de que la media de conversión de porcentaje de PAA se administran en PAGN urinaria entre los 4 grupos de tratamiento era de ~75%.

55

60

65

La excreción urinaria pagn después de la dosis en el Día 15 (0-48 horas).

5	La excreción urinaria de PAGN después de la dosis en el Día 15 (0-48 Horas). Cantidad excretada (µmol) Promedio (SD) Rango	Child-Pugh A (8) 31431 (15291) 16016-65229	Child-Pugh B (8) 25152 (11426) 13643-41635	Child-Pugh C (8) 30752 (20860) 6331-60139	Adultos sanos (8) 28716 (8223) 17203-41092
10	Molar % de dosis excretada Promedio (SD) rango	79,6 (30,5) 48,9-138,2	58,2 (29,2) 26,5-99,6	85,0 (65,1) 23,1-221,1	68,6 (21,9) 30,6-96,
15	Molar % de dosis de amoniaco secuestrado Promedio (SD) rango	159,2 (60,9) 97,9-276,4	116,3 (58,3) 53,0-199,2	169,9 (130,1) 46,3-442,3	137,2 (43,9) 61,3-193,4

De particular interés, no había relación entre los niveles plasmáticos de PBA y PAA, que exhibió un cambio de dirección no estadísticamente significativa hacia niveles plasmáticos mayores en pacientes con enfermedad hepática que los adultos sanos, y la excreción urinaria de PAGN.

EJEMPLO 3

Administración de NPH-100 a adultos con UCDS

Para profundizar en su perfil farmacocinético (PK) y farmacodinámico (PD) en estados clínicos asociados con la retención de nitrógeno, 10 pacientes adultos UCD fueron transicionados de PBA de sodio a una dosis equimolar de PBA de NPH-100. Se exigió que los sujetos recibiesen una dosis estable de PBA de sodio antes de la inscripción. Al momento de inscribirse, todos los sujetos recibieron PBA de sodio durante 7 días y luego fueron ingresados en una unidad de estudio (visita 2-1) para la observación durante la noche y mediciones de PK de 24 horas y de amoniaco y recogidas de orina. Los sujetos fueron entonces convertidos a la dosis equimolar PBA de NPH-100, ya sea en una sola etapa o en múltiples etapas, dependiendo de la dosis total de PBA de sodio; 9 de cada 10 pacientes convirtieron en una sola etapa. Los sujetos mantuvieron la dosis de NPH-100 de 100% durante una semana y fueron luego readmitidos en la unidad de estudio para PK repetida (Visita 11-1), recogidas de amoniaco y orina.

Los resultados de este estudio, que se resumen en detalle más adelante, demuestran que, al igual que en los adultos sanos y en pacientes con enfermedad hepática, niveles de metabolitos en plasma no se correlacionan bien con actividad de eliminación de amoniaco como se refleja en la excreción urinaria de PAGN y se corrobora por los resultados de amoniaco plasma. Por otra parte, los resultados demuestran una variabilidad individual considerable entre el porcentaje tanto de PBA de sodio como de NPH-100 que se convirtió a PAGN urinaria.

[00117] Análisis farmacocinética, de amoniaco y de seguridad: Como se resume en la tabla a continuación, los 7 días de administración de NPH-100 resultaron en niveles de PAA y de PAGN plasmática comparables pero niveles de PBA ligeramente más bajos en comparación con la dosis equivalente molar de PBA de PBA de sodio.

La comparación de los parámetros farmacocinéticos en estado estable - PBA de sodio vs NPH-100

Parámetro PK	Promedio Aritmético (CV%)	
	Sodio de PBA (N=10)	NPH-100 (N=10)
Plasma de PBA		
AUC ₀₋₂₄ (µg·h/mL)	739 (49,2)	540 (60,1)
C _{max} (µg/mL)	141 (44,3)	70,1 (64,7)
C _{min} . (µg/mL)	0,588 (255)	2,87 (265)
PAA en Plasma		
AUC ₀₋₂₄ (µh/mL)	595,6 (123,9)	574,6 (168,9)
C _{max_{ss}} (µg/mL)	53,0 (94,7)	40,5 (147,6)
C _{min_{ss}} (µg/mL)	3,56 (194,4)	7,06 (310,7)
PAGN en Plasma		
AUC ₀₋₂₄ (µg·h/mL)	1133 (31,1)	1098 (44,2)
C _{max_{ss}} (µg/mL)	83,3 (25,8)	71,9 (56,0)
C _{min_{ss}} (µg/mL)	16,8 (86,1)	12,1 (134,4)

AUC₀₋₂₄: El área bajo la concentración desde el tiempo 0 (previamente a la dosis) a las 24 horas, C_{max}: La concentración plasmática máxima en estado estacionario, C_{min}: concentración plasmática mínima en estado de equilibrio, A_e: cantidad excretada en 24 horas
¹La dosis media (SD) de PBA de sodio = 12,6 (4,11) g; la media (SD) dosis NPH-100 = 12,3 (3,91) g.

A pesar de los niveles diferentes de sangre de PBA, la excreción urinaria total de PAGN era similar para los dos tratamientos que se resumen en la siguiente tabla. Es importante destacar que, a diferencia de las suposiciones inherentes en las pautas de tratamiento actuales que toda PBA de sodio administrada se convierte en PAGN urinaria, se observó una considerable variabilidad interindividual en el porcentaje de PAA administrada convertida a PAGN, con un promedio de ~60% y similar tanto PBA de sodio como NPH-100. Por otra parte, el patrón de 24 horas de la excreción parecía diferenciarse en que la producción de orina de PAGN alcanzó su nivel más alto durante las "horas de la tarde" (recogida de orina de 6-12 horas) para los pacientes tratados con PBA de sodio, mientras que la producción máxima de PAGN ocurrió (recolección de orina de 12-24 horas) durante la noche para los pacientes en tratamiento de NPH-100. Esta diferencia probablemente refleja las características de liberación lenta y mayor duración de las concentraciones sanguíneas eficaces de PAA después de la administración de NPH-100 en comparación con PBA de sodio. NPH-100 o bien no fue detectable o por debajo de los límites de cuantificación en todas las muestras de sangre.

Comparación de la cantidad excretada media de PAGN (μg) - PBA de sodio (fenilbutiratos de sodio) vs NPH-100

Tratamiento	PAGN 0-6 horas	PAGN 0-12 horas	PAGN 12-24 horas	Excreción total PAGN (CV%)
PBA de sodio	2.452.838	4.859.121	4.645.447	12.153.473 (48,2)
NPH-100	2.381.371	3.027.310	5.433.033	10.784.747 (25,9)

Como se resume en la siguiente tabla, el tiempo medio de área normalizada bajo los valores de curva (TN-AUC) para el amoníaco venosa después de NPH-100 fueron direccionalmente inferiores (31%) a los observados con PBA de sodio (26,1 vs. 38,4 $\mu\text{mol/L}$) aunque las diferencias no alcanzaron significación estadística (Figura 10). Del mismo modo, concentraciones máximas de amoníaco venoso siguientes a NPH-100 eran direccionalmente inferiores (~29%; no estadísticamente significativas) a las observadas con PBA de sodio (56,3 vs. 79,1 $\mu\text{mol/L}$, respectivamente).

El límite superior de la normalidad para el amoníaco venosa varió entre los sitios de estudio de 26 a 35 $\mu\text{mol/L}$. El examen de los valores de amoníaco (TN-AUC) para cada paciente demostró que los pacientes con niveles de amoníaco más altos en PBA de sodio mostraron mayor disminución de los valores de amoníaco después de la administración de NPH-100 (Figura 12). Además, el valor medio después de amoníaco NPH-100 (26,1 $\mu\text{mol/L}$) estuvo dentro del rango normal, mientras que estaba por encima del límite superior normal (ULN) después de PBA de sodio (fenilbutirato de sodio) (38,4 $\mu\text{mol/L}$) (Figura 13). Asimismo, el porcentaje medio de los valores normales de amoníaco aumentó de 58% después del tratamiento PBA de sodio al 83% después del tratamiento de NPH-100.

El amoníaco venosa Farmacodinámica Después de siete días de dosificación, ya sea con sodio o PBA HPN-100

Sujeto	PBA de Sodio			NPH-100		
	Cmax _{ss} ($\mu\text{mol/L}$)	TN-AUC ($\mu\text{mol/L}$)	Dosis Equivalente de PBA	Cmax _{ss} ($\mu\text{mol/L}$)	TN-AUC ($\mu\text{mol/L}$)	Dosis PBA Equivalente
1001	29,0	16,47	17,5	63,0	19,8	13,1
1002	31,0	20,9	15,8	31,0	19,3	15,9
1004	85,0	46,8	99,2	106	35,1	9,16
1006	150	71,5	17,5	13,0	8,30	17,7
2001	88,0	52,1	6,57	33,0	22,7	6,71
2003	31,0	17,5	11,8	74,0	21,1	12,2
3002	108	22,3	16,5	36,0	21,9	17,7
3004	115	62,9	13,1	75,0	38,4	13,1
5001	82,2	35,8	8,76	57,0	35,5	8,85
5002	72,2	37,7	8,76	75,2	39,1	8,85
N	10	10	10	10	10	10
Medio	79,1	38,4	12,6	56,3	26,1	12,3
SD	40,1	19,6	4,11	27,9	10,3	3,91
Mediana	83,6	36,8	12,5	60,0	22,3	12,7
Min	29,0	16,4	6,57	13,0	8,30	6,71
Max	150	71,5	17,5	106	39,1	17,7
25%	31,0	20,0	--	32,5	19,7	--
75%	110	54,8	--	75,0	36,2	--

Esta reducción de la exposición al amoníaco entre los pacientes con UCD refleja mejor control durante la noche entre los sujetos que recibieron NPH-100, como se resume en la siguiente tabla y en la figura 11. Este estudio muestra que tanto la AUC y Cmax para el amoníaco fueron menores con NPH-100, indicando menor exposición total de amoníaco, y especialmente por la noche, NPH-100 mostraron un efecto significativamente más fuerte. Aunque no es estadísticamente significativo, debido al pequeño tamaño de la población, esto demuestra que NPH-100 es al menos tan eficaz, y al parecer más, que PBA sobre una base equimolar basada en la medida clave, su capacidad para movilizar el amoníaco para la eliminación urinaria. Con base en los resultados preliminares, NPH-100 también proporciona los niveles de amoníaco más estables, y reduce el riesgo de hiperamonemia. En este ensayo, 9 de 10 sujetos que experimentaron tanto NPH-100 como PBA de sodio indicaron una preferencia por NPH-100.

Además, en este estudio, no se observaron efectos adversos graves (SAEs) en pacientes que toman NPH-100, mientras que dos sujetos que recibieron PBA experimentaron hiperamonemia sintomática; y el número total de efectos adversos (AEs) reportados entre los sujetos que tomaron NPH-100 (5 sujetos reportaron un total de 15 AEs) era menor que el número de acontecimientos adversos entre los sujetos que tomaron PBA (7 sujetos reportaron 21 AEs).

La siguiente tabla resume los datos comparativos globales de PBA de sodio y NPH-100, administrada en forma de equimolares (n=100) (véase tablas anteriores y en las figuras 10-13 para datos adicionales).

Parámetros	PBA de Sodio	NPH-100
NH ₃ : AUC Total	38,4 ± 19,6	26,1 ± 10,3
NH ₃ Cmax	79,1 ± 40,1	56,3 ± 27,9
Exposición a NH ₃ : DÍA (6-12 horas)	37,1	32,9
Exposición a NH ₃ : NOCHE (12-24 horas)	36,3	21,3
Efectos adversos	21 reportados por 7 sujetos	15 reportados por 5 sujetos
Efectos adversos serios	2 (hiperamonemia sintomática)	0
Excreción de PAGN	Comparable	Comparable

Si bien las diferencias entre PBA de sodio y NPH-100 no alcanzaron significación estadística debido al tamaño pequeño de la muestra, NPH-100 mostró una clara tendencia hacia la eficacia mayor a dosis equimolares, y era particularmente eficaz para mejorar el control durante la noche de los niveles de amoníaco.

La figura 9a muestra que los niveles de PBA en la sangre no se correlacionan con dosis de NPH-100 recibidas. Traza las AUC de 24 horas para PBA y la Cmax de PBA contra dosis NPH-100 (panel superior), y mientras que AUC y Cmax se trazan juntos en cada paciente, que no muestran ninguna relación con dosis NPH-100: tanto exposiciones más altas y más bajas de PBA se produjeron en pacientes que reciben dosis altas de NPH-100. La figura 9b muestra que niveles de PAA son igualmente no correlacionados con dosis de HPN.

La figura 10 ilustra la tendencia mostrada en la prueba clínica, donde NPH-100 proporciona un mejor control global del nitrógeno residual.

La Figura 11 ilustra que la mejora del control del tiempo de la noche del exceso de amoníaco se logra con NPH-100.

La Figura 12 muestra que especialmente para los pacientes con niveles más altos de amoníaco cuando se trata con PBA de sodio (Na PBA), NPH-100 proporciona un mejor control de PBA de sodio, mientras que en los pacientes con niveles de amoníaco inferiores (aquellos por quienes PBA de sodio parece funcionar relativamente bien), NPH-100 proporciona un control de amoníaco al menos comparable. Tenga en cuenta que para pacientes que tienen niveles de amoníaco por encima de aproximadamente 40 µmol/L cuando se tratan con PBA de sodio, NPH-100 a dosis equimolares proporcionan un control superior de amoníaco, y niveles de amoníaco consistentemente reducidos por debajo de aproximadamente 40 µmol/L. Así, para los pacientes cuyos niveles de amoníaco son anormales (por ejemplo por encima de aproximadamente 40 µmol /L) cuando se trata con PBA de sodio, que se espera que un mejor control de amoníaco se puede conseguir con una cantidad equimolar de NPH-100. En base a esto, las dosis de NPH-100 se pueden determinar como se establece en el presente documento. La Figura 13 ilustra que los niveles de amoníaco se controlan mejor en esta prueba por NPH-100 que con PBA de sodio, por ejemplo, los niveles de promedio de amoníaco son más bajos, y tienden a estar por debajo del límite superior para normal.

Ejemplo 4

Relación entre el control de amoníaco y excreción de PAGN urinaria

Como parte del estudio clínico en pacientes con UCD descritos en el ejemplo anterior (Ejemplo 3), se examinó la relación entre los niveles de amoníaco en plasma y la excreción urinaria de PAGN. A diferencia de los niveles sanguíneos de PAA o PBA que presentaban una relación consistente con los niveles de amoníaco (es decir, controlar el amoníaco), de amonio en sangre evaluado como el área de normalización temporal bajo la curva mostró una relación curvilínea inversa a PAGN urinaria. Es decir, amoníaco de plasma disminuyó a medida que aumentó PAGN urinaria. Por otra parte, la relación entre el amoníaco y la excreción urinaria PAGN no difirió entre PBA de sodio y NPH-100 lo que sugiere que este método de determinación de la dosis es independiente de la formulación del producto. La figura 5 muestra un gráfico de plasma de amoníaco (TN-AUC) versus excreción de PAGN urinaria.

Ejemplo 5

Experimentación con Programa de Dosificación

Los resultados de dosis única de modelado PK/PD observados en los ejemplos anteriores sugirieron que NPH-100 mostró características de liberación retardada en comparación con PBA de sodio con un potencial correspondiente para aumentar la flexibilidad en la dosificación, que se exploró más en los estudios clínicos adicionales descritos anteriormente. En uno de estos, NPH-100 se administró dos veces al día, así como en el estado de ayuno y de alimentación. En el otro, NPH-100 se administró tres veces al día con las comidas. Tanto dosis 3 veces al día como 2 veces al día resultó de una proporción similar de PAGN excretada en la orina y, como se ha demostrado en pacientes adultos con UCD, dosis tres veces al día se asoció con el control de amoníaco eficaz.

En el Ejemplo 2, también se llevaron a cabo una serie de análisis estadísticos que comparan las variables de PK después de dosificación de NPH-100 alimentada frente a ayunada y dosificación de NPH-100 única frente a múltiple. No hubo diferencias PK o PD observadas cuando se administró NPH-100 después de un ayuno (día 1) o con una comida (día 8). En consecuencia, se cree que NPH-100 se puede administrar de manera eficaz sin la necesidad de que acompañe una comida, mientras que la inserción de la etiqueta y el paquete de PBA de sodio (PBA de sodio) indican que se debe tomar con las comidas. Además de la falta de diferencia para las variables PAA PK entre los estados de ayuno y alimentación (Días 8 vs. 1), la siguiente tabla también ilustra la acumulación de plasma de PAA que se produce con una dosificación múltiple (Días 15 vs. 8).

Variable PK	MenorPugh A (n = 8)	Child-Pugh B (n = 8)	Child-Pugh C (n = 8)	Voluntarios sanos(n = 8)
AUC₀₋₁₂ [(µg/mL)h]				
Día 1 Promedio	37,33 (7,29-78,42)	72,20 (23,38-174,73)	48,59 (4,75-312,43)	50,63 (14,27-150,00)
geo. (rango) CV%	53,41	64,91	109,58	79,59
Día 8 Promedio	39,64 (5,96-153,14)	73,44 (26,83-279,48)	86,36 (28,12-367,70)	34,07 (5,27-134,99)
geo. (rango) CV%	78,73	85,58	92,85	80,59
Día 15 Promedio	117,89 (23,28-413,43)	138,95 (40,21-652,99)	184,26 (14,97-2245,51)	99,16 (30,06-394,79)
geo. (rango) CV%	76,82	99,48	170,56	88,59
AUC_{0-t} [(µg/mL)·h]				
Día 1 Promedio	37,33 (7,29-78,42)	72,20 (23,38-174,73)	48,59 (4,75-12,43)	50,63 (14,27-150,00)
geo. (rango) CV%	53,41	64,91	109,58	79,59
Día 15* Promedio	121,57 (23,28-528,73)	153,00 (40,21-938,85)	194,17 (14,97-3415,51)	99,94 (30,06-420,32)
geo. (rango) CV%	92,27	118,54	198,42	93,08
C_{max} [µg/mL]				
Día 1 Promedio	9,65 (2,58-26,93)	13,52 (6,94-27,97)	10,95 (2,68-40,30)	11,81 (4,14-29,79)
geo. (rango) CV%	63,78	57,70	82,65	68,72
Día 8 Promedio	10,21 (1,64-25,66)	14,78 (4,46-42,02)	16,03 (6,49-48,07)	10,03 (2,90-28,43)
geo. (rango) CV%	62,25	74,53	72,29	66,97
Día 15[†] Promedio	29,07 (7,29-53,48)	25,46 (10,54-65,40)	33,28 (5,03-208,80)	21,92 (7,76-61,31)
geo. (rango) CV%	44,21	64,26	121,51	62,88
t_{1/2} [h]^{†2}				

continua

5

10

15

20

25

Variable PK	MenorPugh A (n = 8)	Child-Pugh B (n = 8)	Child-Pugh C (n = 8)	Voluntarios sanos(n = 8)
Día 1 Promedio (Rango)	3,50 (2,00-6,00)	5,00 (3,00-8,00)	5,00 (2,00-8,00)	6,00 (4,00-6,00)
Día 8 Promedio (Rango)	4,00 (2,00-6,00)	5,00 (3,00-8,00)	5,00 (4,00-8,00)	4,00 (3,00-6,00)
Día 15 Promedio (Rango)	4,00 (2,00-6,00)	4,00 (3,00-8,00)	5,00 (0,00-8,00)	4,00 (3,00-4,00)

*p = 0,64 para efecto de grupo; †p = 0,72 para efecto de grupo

‡² En el día 1, n = 2 en Child-Pugh grupo B y n = 0 en todos los demás grupos; en el día 15, n = 4 en el grupo A, 2 en el grupo B, 1 en el grupo C y 3 en el grupo D

AUC₀₋₁₂, área bajo la curva de concentración plasmática de tiempo 0 hasta 12 horas después de la administración; AUC_{0-t}, área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo desde 0 hasta la última concentración medible; la concentración plasmática máxima observada; CV: coeficiente de variación; geo. Media, media geométrica; n: número de sujetos; SD, desviación estándar; T_{max}, tiempo hasta la concentración plasmática máxima observada; t_{1/2}, vida media

Ejemplo 6

Resultados de Modelación PK/PD

30

35

40

45

En el caso de la mayoría de los fármacos, la fracción de una dosis administrada por vía oral que se elimina y se metaboliza por el hígado antes de alcanzar la circulación sistémica (es decir, efecto de primer paso) no se considera biodisponible, ya que no entra en la circulación sistémica y por lo tanto no es capaz de alcanzar su órgano o receptor de objetivo. Sin embargo, esto no es el caso para los fármacos de secuestro de amoníaco descritos en esta invención. Desde los hepatocitos y, posiblemente, los enterocitos contienen las enzimas necesarias para la conversión de PBA de PAA y la conversión de PAA a PAGN y desde la glutamina está presente en el esplácnico, así como la circulación sistémica, es probable que PBA se puede convertir en PAGN antes de alcanzar la circulación sistémica (es decir, "presistémica") y que esta PBA es plenamente eficaz con respecto al secuestro de amoníaco (Figura 6); es decir, totalmente activa. Para comprobar esta posibilidad, el modelado PK/PD utilizando NONMEM VI (Icon, Ellicot City, MD.) se llevó a cabo en los datos de plasma y metabolito urinario (más de 5000 puntos de datos) de los estudios clínicos antes descritos con adultos sanos, pacientes con cirrosis y sujetos UCD. Los resultados de este modelado PK/PD han validado el modelo representado en la Figura 3. Además, el modelado ha verificado que NPH-100 exhibe características de liberación lenta en comparación con PBA de sodio y proporcionado una explicación para la mala correlación entre los niveles sanguíneos de PBA/PAA y el amoníaco y la importancia de PAGN urinaria es un ajuste de dosis. Las principales conclusiones derivadas del modelado PK/PD fueron las siguientes

50

55

60

1. PBA se absorbe más lentamente (40% más rápido) desde el intestino después de la administración de NPH-100 frente a PBA de sodio (constantes de velocidad de absorción y la vida media de absorción de NPH-100 y PBA de sodio son 0,544 h⁻¹ vs 1,34⁻¹ y 1,27 h vs. 0,52 h, respectivamente).

2. Los niveles plasmáticos más bajos de PBA después de la administración de NPH-100, en comparación con PBA de sodio, de los resultados anteriores que indican una cantidad fraccionadamente mayor de PBA (31% vs. 1%) que se convierte pre sistémicamente (a PAA y PAGN) siguiente a la administración de NPH-100 que Na PBA.

3. En un conjunto de datos que contiene individuos sanos, cirróticos y UCD, el diagnóstico fue introducido como covariable sobre la biodisponibilidad estimada de NPH-100 revelando una biodisponibilidad de 32% menor estimada de PBA en adultos sanos en comparación con pacientes adultos con UCD. Los pacientes cirróticos y UCD tenían biodisponibilidad PBA similar después del tratamiento NPH-100.

Ejemplo 7

Estudio ADME en tres monos cinomolgos

65

Para evaluar el manejo preclínico de fármacos de secuestro de amoníaco, 600 mg/kg de cualquiera de PBA de sodio etiquetado de radio o etiquetado con radio NPH-100 administrada como una dosis única de 3 monos cinomolgos. Estos monos se eligieron porque, al igual que los seres humanos (y a diferencia de la mayoría de otras especies), metabolizan PAA a PAGN y por lo tanto proporcionan un modelo útil para probar profármacos de PAA. Este estudio corroboran los hallazgos clínicos que se resumen en los Ejemplos 1-3, incluyendo los siguientes: (a) la dosificación con PBA de sodio oral o NPH-100 oral no dio como resultado 100% de conversión en PAGN urinaria, (b) PBA de plasma y niveles de sangre PAA no se correlacionaron consistentemente con actividad de eliminación de amoniaco como se refleja por la salida de PAGN urinaria, y (c) NPH-100 exhibieron características de liberación lenta en comparación con PBA de sodio.

PBA y PAA etiquetadas por radio entraron en la circulación sistémica lentamente tras la administración de NPH-100 etiquetada por radio [se logró Cmax para PBA 1,5 horas después de la dosificación (52,2 µg/mL) y Cmax para PAA 8 horas después de la dosificación (114 µg/ml)], lo que corrobora los hallazgos observados en los seres humanos (entre ellos el modelado PK/PD), y esencialmente no NPH-100 apareció en la circulación sistémica o en las excreciones. Alrededor del 90% de material radiactivo derivado de NPH-100 que se excreta en la orina era PAGN, que representan el 39% de la NPH-100 administrada. Por el contrario, cuando se administró por vía oral PBA de sodio, PAGN representó sólo el 23% del material radiomarcado, y PBA no cambiada representó el 48% de la dosis administrada de PBA de sodio oral. Por lo tanto PBA de sodio oral, se utilizó menos eficientemente que NPH-100, y una cantidad inesperadamente alta de PBA se excretó sin cambios.

Ejemplo 8

Consideraciones biológicas y anatómicas

A diferencia de la mayoría de los fármacos que actúan sobre un órgano /célula/receptor diana (etc.) perfundidos por la sangre sistémica, fármacos secuestrantes de amoniaco de los tipos contemplados en la presente invención no actúan en un órgano diana, sino que actúan a través de la combinación de PAA con glutamina para formar PAGN (Figura 6). Al estar la glutamina presente en el esplácnico, así como la circulación sistémica y puesto que el hígado es un órgano metabólicamente activo capaz de catalizar todas las etapas implicadas en la conversión de NPH-100 o PBA a PAA y después a PAGN, los datos acumulados hasta la fecha, incluyendo el modelado PK/PD, así como la consideración anatómica nos llevan a la conclusión de que la formación de PAGN de PBA/PAA se produce a un grado significativo antes de que PBA/PAA llegue a la circulación sistémica (por ejemplo, dentro del hígado). Esto es especialmente cierto cuando NPH-100 se administre como profármaco PBA. Esto explica la mala correlación entre los niveles plasmáticos y efectos de captura de amoniaco y lleva a la conclusión de que el ajuste de la dosis y la dosis de estos profármacos PBA debe basarse en excreción urinaria de PAGN y nitrógeno urinario total. La figura 6 ilustra cómo esto ocurre.

Para ciertos ensayos clínicos, en particular para la comparación de NPH-100 a PBA, NPH-100 se administrará a una dosis que es equivalente (equimolar) a una cantidad de PBA de sodio que se consideraría adecuado para el paciente en particular; y la dosis puede entonces ajustarse por los métodos descritos en el presente documento. Por ejemplo, el rango de dosis de NPH-100 se coincidirá con el equivalente molar de PBA del rango de dosis de PBA de sodio aprobada (fenilbutirato de sodio) (NaPBA). NPH-100 será administrada tres veces al día (TID) con las comidas. Tenga en cuenta que la conversión de la dosis de NaPBA a la dosis de NPH-100 implica corrección por sus diferentes formas químicas (es decir NPH-100 consiste en glicerol en unión de éster con 3 moléculas de PBA y no contiene sodio) (NaPBA [g] x 0,95 = NPH-100 [g]), así como corrección para la gravedad específica de NPH-100, que es 1,1 g/mL.

Intervalos de dosis de NPH-100 que corresponden a dosis diarias recomendadas de PBA de sodio

PBA de Sodio	NPH-100 Dosis Equivalente de PBA (mg)	NPH-100 Dosis Equivalente de PBA (mL)
450-600 mg/kg/día (pacientes < 20 kg)	428 - 570 mg/kg/día	0,39-0,52 mL/kg/día
9,9-13,0 g/m2/día (pacientes > 20 kg)	9,4 - 12,4 g/m2/día	8,6-11,2 mL/m2/día
Dosis diaria máxima: 20 g	Dosis diaria máxima: 19 g	17,4 mL

¹ 20g de PBA de sodio contiene ~17,6 g de ácido fenilbutírico; 19 g de NPH-100 contiene 17,6 g de ácido fenilbutírico

Ejemplo 9

A partir de una determinación de dosis y ajuste de dosis de NPH-100

Un paciente que tiene un estado de retención de nitrógeno (por ejemplo, un trastorno del ciclo de urea heredado o cirrosis) que actualmente no están siendo tratados con un agente de eliminación de amoníaco como descrito en esta invención se determina clínicamente para estar en necesidad de tal tratamiento. Esta determinación clínica se basa en una variedad de factores (por ejemplo, signos y síntomas de HE en pacientes con cirrosis, niveles de amonio en sangre elevados).

La dosis inicial se basa en consideraciones clínicas, incluyendo la estimación de la capacidad de la urea residual sintética (se presume que un bebé con UCD que sufre hyperammonia en los primeros días de vida no tiene capacidad significativa de síntesis de la urea) y la ingesta de proteínas de la dieta apropiada (es decir, los bebés con UCD requieren un aumento de proteínas en la dieta para apoyar el crecimiento del cuerpo, pero la restricción de proteínas en la dieta a largo plazo en pacientes con cirrosis es generalmente ineficaz o contraproducente, y la metodología descrita en esta invención. Por ejemplo, un adulto con capacidad de síntesis de la urea residual limitada es tratada con una dosis inicial de NPH-100 de 19 g por día y se coloca en una dieta limitada de proteínas que contiene aproximadamente 25 g de proteína por día. La producción diaria de orina del paciente de PAGN se supervisa. La ingesta diaria de NPH-100 iguala a 19 g de NPH-100, en un peso molecular de ~530, el cual es 0,0358 mol NPH-100. Cada mol de NPH-100 teóricamente se puede convertir en tres moles de PAA y por lo tanto tres moles de PAGN, por lo que la dosis diaria de 19 g de NPH-100 podría producir 0,108 mol de PAGN in vivo. Si se convierte completamente en PAGN y toda la PAGN se excreta en la orina, la cantidad teórica de PAGN sería 28,4 g por día, lo que sería suficiente para mediar en la excreción de nitrógeno residual resultante de ~41 gramos de proteína de la dieta, suponiendo que 16% de proteínas de la dieta es nitrógeno y ~47% de nitrógeno de la dieta se excreta como nitrógeno residual (ver Brusilow).

Sin embargo, como se demuestra en el presente documento, NPH-100 se convierte típicamente en PAGN urinaria con una eficiencia de aproximadamente 60% a 75% (típicamente una conversión de aproximadamente 60% se encontró en los pacientes UCD; conversión en pacientes cirróticos era aproximadamente el 75%), por lo tanto el médico podría esperar observar aproximadamente 17 g de la producción PAGN urinaria por día a partir de esta dosis de NPH-100. Esto corresponde a 25 gramos de proteína de la dieta que es similar a la cantidad prescrita, pero menos de la cantidad teórica (41 gramos) que se podría haber esperado que esta dosis de NPH-100 explicara teóricamente. Así, el ajuste para una eficiencia del 60-75% afecta significativamente el programa de tratamiento global, y saber qué eficiencia se puede esperar permite que el médico responsable del tratamiento evite aplicar al paciente una dieta que contenga demasiada proteína para que el paciente pueda manejar esta dosis de NPH-100.

Al hacerle el seguimiento al paciente, si el médico observa una producción de PAGN urinaria mayor de lo esperado, la dosis de NPH-100 se reducirá proporcionalmente; así, si se observa 21 g de PAGN urinaria por día, el médico reducirá la dosis de NPH-100 a $(17/21) \times 19 \text{ g} = 15 \text{ g}$. Del mismo modo, si la salida de PAGN urinaria es inferior a la cantidad esperada, como por ejemplo 12 g por día, la cantidad de NPH-100 se incrementaría: si se observa 12 g y se espera 17, el médico podría ajustar la dosis de NPH-100 a $(17/12) \times 19 \text{ g} = 27 \text{ g}$ de NPH-100 por día, si esa dosis está dentro de un margen que se considera segura para su administración al paciente. O bien la dosificación de NPH-100 o la ingesta de proteínas de la dieta se podría ajustar para optimizar el plan de tratamiento para este sujeto.

De manera opcional, la salida de PAGN urinaria se puede determinar como una proporción de la concentración urinaria PAGN a la concentración de creatinina en orina; los niveles de creatinina son típicamente lo suficientemente estables como para que un individuo dado para que se proporcione un factor de normalización para el volumen de orina de manera que en lugar de determinar la PAGN urinaria diaria total, el médico puede estimar la PAGN urinaria diaria total del examen de una única muestra de orina.

El médico también puede monitorizar los niveles plasmáticos de amoníaco y la ingesta de proteínas de la dieta del paciente para determinar si la ingesta de proteínas dietética y tratamiento farmacéutico del paciente combinado produce el efecto terapéutico apropiado. La ingesta dietética de proteína o la dosis del fármaco o ambos podrían ajustarse para alcanzar un nivel normal o deseado de amoníaco de plasma, por ejemplo, un nivel por debajo de aproximadamente 40 $\mu\text{mol/L}$. Sin embargo, como se demuestra por las observaciones descritas en el presente documento, el médico no usaría los niveles plasmáticos de PAA o PBA para ajustar la dosis de NPH-100 o de otra manera a guiar el tratamiento, ya que esos niveles no se correlacionan bien con el efecto de amoníaco de secuestro de NPH-100 administrada.

Si se determina que la dosis de 19 g de NPH-100 es insuficiente (por ejemplo, el paciente requiere un aumento de la proteína de la dieta que daría lugar a la excreción de nitrógeno residual inferior o igual a su capacidad de síntesis de urea y excreción de PAGN), la dosis de NPH-100 se incrementaría lo suficiente como para cubrir la proteína de la dieta necesaria y la misma metodología de ajuste de dosis basada en la excreción urinaria PAGN se aplicaría para determinar aquella dosis de NPH-100.

En un sujeto que tiene poca o ninguna capacidad de síntesis de urea, donde esencialmente todo el nitrógeno urinario podría ser explicado por PAGN, el efecto de secuestro de amoníaco puede ser monitorizado mediante la determinación de nitrógeno urinario total (TUN), en lugar de la medición directa de los niveles de PAGN en la orina.

Opcionalmente, el TUN se puede utilizar como una medición de la capacidad de síntesis de urea, restando la cantidad de nitrógeno presente como PAGN.

5 Ejemplo 10

Determinación de una dosis de NPH-100 para un paciente que ya está en PBA de sodio

10 Un paciente con una UCD que ya está en PBA de sodio quien ha de ser transicionado a NPH-100 se sometería a evaluación de proteínas de la dieta y la medición de excreción de PAGN urinaria.

15 Si el paciente se juzga adecuado para ser controlado con PBA de sodio, a continuación la dosis inicial de NPH-100 sería la cantidad necesaria para aplicar la misma cantidad de PAA (por ejemplo, 19 gramos de NPH-100 correspondería a 20 gramos de PBA de sodio). El ajuste posterior de dosis se basa en la medición repetida de PAGN urinaria, así como la evaluación de proteínas de la dieta y el amoníaco. Sin embargo, como se demuestra por las observaciones descritas en el presente documento, el médico no utilizaría niveles plasmáticos de PAA o PBA ya sea para determinar la dosis inicial de NPH-100 o para ajustar la dosis de NPH-100 o de otro modo guiar el tratamiento, ya que esos niveles no se correlacionan bien con el efecto de eliminación de amoníaco de la NPH-100 administrada.

20 Si se determina que el paciente está adecuadamente controlado con la PBA de sodio, a continuación la dosis inicial de NPH-100 sería seleccionada para suministrar una cantidad de PAA mayor que la dosis de PBA de sodio siempre y cuando dicha dosis de NPH-100 se considere conveniente. El ajuste de dosis posterior se basa en la medición repetida de PAGN urinaria, así como la evaluación de las proteínas de la dieta y el amoníaco de plasma. Sin embargo, como se demuestra por las observaciones descritas en el presente documento, el médico no utilizaría los niveles plasmáticos de PAA o PBA ya sea para determinar la dosis inicial de NPH-100 o para ajustar la dosis de NPH-100 o de otro modo guiar el tratamiento, ya que esos niveles no se correlacionan bien con el efecto de eliminación de amoníaco de la NPH-100 administrada.

30 De manera opcional, por ejemplo, en un paciente UCD "frágil" con una historia de episodios repetidos de hiperamonemia, la conversión de PBA de sodio para NPH-100 puede ocurrir en más de un paso, por lo que, en cada paso, la dosis de PBA de sodio se reduciría en una cantidad correspondiente a la cantidad de PAA entregada por la dosis incremental de NPH-100.

35 Si se determina que la dosis de NPH-100 ue es insuficiente (por ejemplo, el paciente requiere un aumento de la proteína de la dieta que daría lugar a la producción de nitrógeno residual inferior o igual a su capacidad de síntesis de urea y excreción de PAGN), la dosis de NPH-100 se incrementa suficientemente para cubrir la proteína de la dieta necesaria y la misma metodología de ajuste de dosis basado en la excreción urinaria de PAGN se aplicaría.

40 Los ejemplos que se exponen en el presente documento son sólo ilustrativos, y no deben considerarse como limitantes de la invención.

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un método para determinar una dosificación inicial eficaz de glicerilo tri-[4fenilbutirato] (NPH-100) para un paciente en necesidad de tratamiento para un trastorno de retención de nitrógeno que comprende:
- 10 la determinación de una producción deseada de glutamina de fenilacetilo urinaria (PAGN) sobre la base de una producción deseada de nitrógeno; y el cálculo de una dosis inicial eficaz de glicerilo tri[4-fenilbutirato] (NPH-100) para producir la producción deseada de PAGN, en la que la dosis inicial efectiva se calcula sobre la base de una conversión media de glicerilo tri-[4 fenilbutirato] (NPH-100) para PAGN urinaria de 60% a 75%.
2. El método de la reivindicación 1, en el que uno o más de los siguientes casos concurre:
- 15 a) la producción de PAGN urinaria se determina como una proporción de la concentración de PAGN urinaria de creatinina en orina; b) el trastorno de la retención de nitrógeno es encefalopatía hepática crónica o un trastorno del ciclo de la urea; y c) la administración de la dosis eficaz de glicerilo tri-[4fenilbutirato] (NPH-100) para el paciente produce un nivel normal de amoniaco de plasma en el paciente.
- 20 3. Un método para determinar una dosificación eficaz de glicerilo tri-[4fenilbutirato] (NPH-100) para un paciente que tiene un trastorno de la retención de nitrógeno que comprende el cálculo de la dosis de glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (NPH-100) necesario para alcanzar un nivel objetivo de producción de glutamina de fenilacetilo urinaria (PAGN) sobre la base de una conversión media de glicerilo tri-[4 fenilbutirato] (NPH-100) en PAGN urinaria de 60% a 75%.
- 25 4. El método de la reivindicación 1, en el que la producción deseada de nitrógeno tiene en cuenta una o ambas de la ingesta de proteínas de la dieta del paciente y la capacidad de síntesis de la urea residual.
5. Un método para determinar una dosificación eficaz de glicerilo tri-[4fenilbutirato] (NPH-100) para un paciente que tiene un trastorno de retención de nitrógeno, que comprende:
- 30 a) la determinación de la capacidad de síntesis de la urea residual del paciente;
- b) la determinación de la ingesta de proteínas de la dieta del paciente;
- c) la estimación a partir de a) y b) de la producción deseada de glutamina de fenilacetilo urinaria del paciente (PAGN); y
- 35 d) la determinación de una cantidad de glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (NPH-100) necesaria para dar lugar a la producción deseada de PAGN urinaria basada en una conversión media de glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (NPH-100) para PAGN urinaria de 60% a 75%.
6. Glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (NPH-100) para uso en un método para tratar a un paciente que tenga un trastorno de retención de amoniaco con una dosificación adecuada de glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (NPH-100), en el que el método comprende:
- 40 a) la determinación de la capacidad de síntesis de la urea residual del paciente;
- b) la determinación de la ingesta de proteínas de la dieta del paciente;
- 45 c) la estimación a partir de a) y b) de la producción deseada de glutamina de fenilacetilo urinaria del paciente (PAGN);
- d) la determinación de una dosificación adecuada de glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (NPH-100) necesaria para dar lugar a la producción de PAGN urinaria en función de la conversión media de glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (NPH-100) en la PAGN urinaria de 60% a 75%; y
- 50 e) la administración al paciente de la dosis adecuada de glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (NPH-100).
7. Un método para la transición de un paciente que recibe tratamiento con una cantidad inicial de fenilacetato o fenilbutirato a una cantidad de sustitución de glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (NPH-100) que comprende:
- 55 la determinación de la cantidad de sustitución de glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (NPH-100) para reemplazar la producción de nitrógeno urinaria de al menos una porción de la fenilacetato o fenilbutirato, en donde la cantidad de sustitución se calcula basándose en una conversión media de glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (NPH-100) para glutamina de fenilacetilo (PAGN) de 60% a 75%;
- 60 la sustitución de la cantidad de sustitución de glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (NPH-100) para el fenilacetato o fenilbutirato; y, opcionalmente el control de la cantidad de PAGN urinaria excretada por el paciente para evaluar la eficacia de la cantidad de sustitución de glicerilo tri-[4 fenilbutirato] (NPH-100).
8. glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (NPH-100) para uso en un método de tratamiento de un paciente con un trastorno de la retención de nitrógeno, en el que el método comprende:
- 65

- a) la determinación de una producción deseada de glutamina de fenilacetilo urinaria (PAGN) basada en una producción deseada de nitrógeno;
- b) el cálculo de una dosificación eficaz de glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (NPH-100) en base a una conversión media de glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (NPH-100) para PAGN urinaria de 60% a 75%; y
- c) la administración de la dosis eficaz de glicerilo tri-[4-fenilbutirato] (NPH-100) para el paciente.

9. El método de la reivindicación 6, en el que el paciente es un paciente con una capacidad clínicamente significativa de urea residual, y el glicerilo tri-[4 fenilbutirato] (NPH-100) se administra en dos o tres dosis por día.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

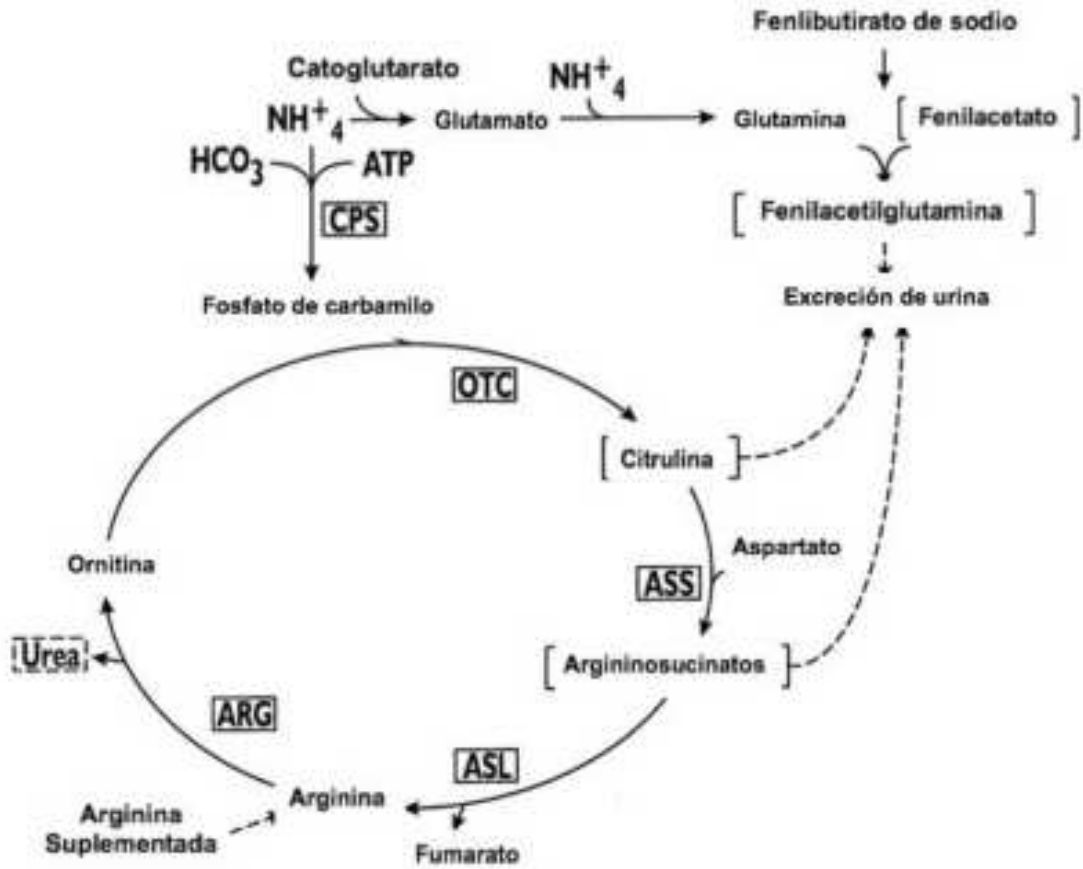


Figura 1

Figura 2

Un modelo de farmacología clínica convencional en el que sólo se presume activo el fármaco que alcance la circulación central sistémica.

Modelación PK/PD de PBA/PAA/PAGN/UPAGN
- Acercamiento convencional -

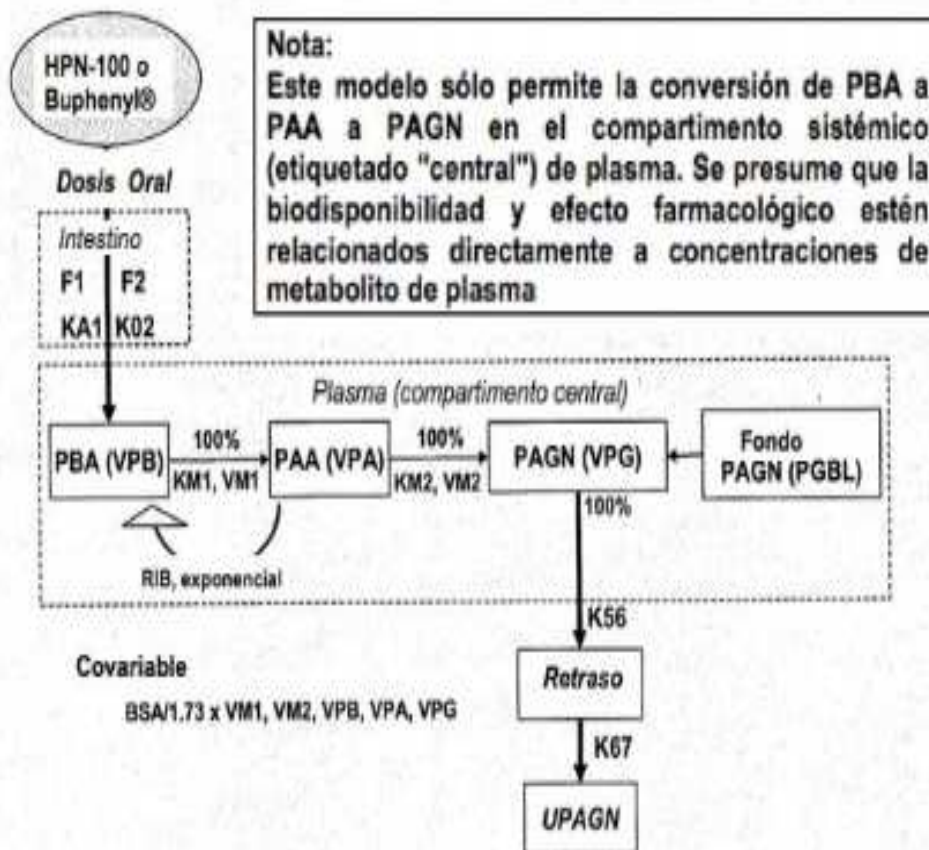


Figura 3

Un modelo farmacológico clínico modificado, como se describe en esta solicitud en el que un agente secuestrante de amoníaco convertido en PAGN antes de alcanzar circulación sistémica es plenamente activo con respecto a la excreción de nitrógeno residual. Como corolario, concentraciones de metabolitos en la circulación sistémica no correlacionan consistentemente con el efecto farmacológico.

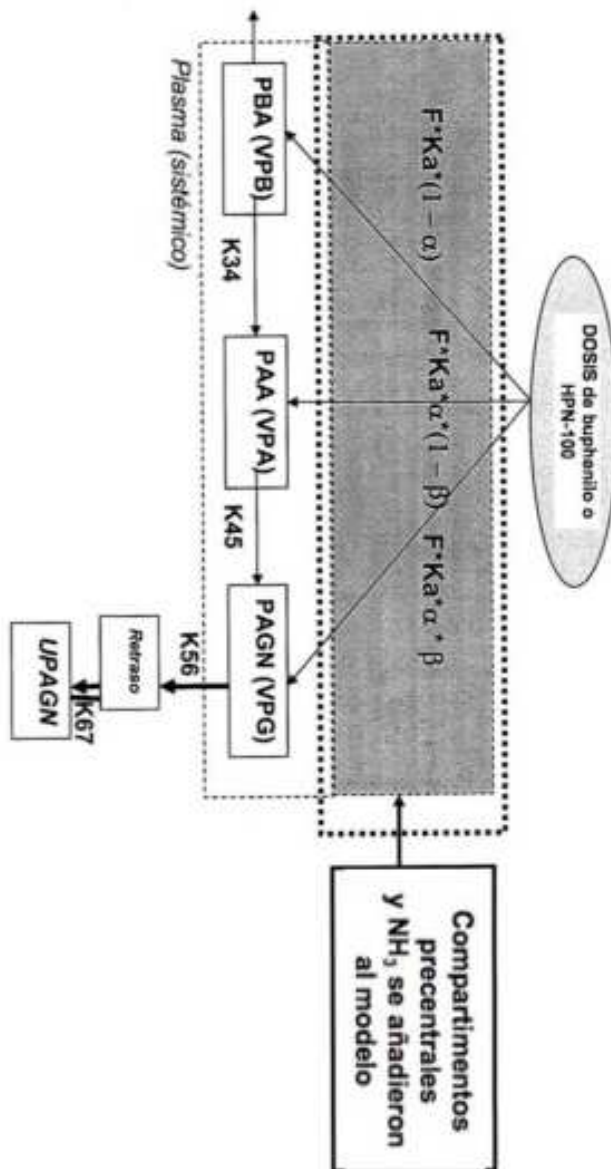
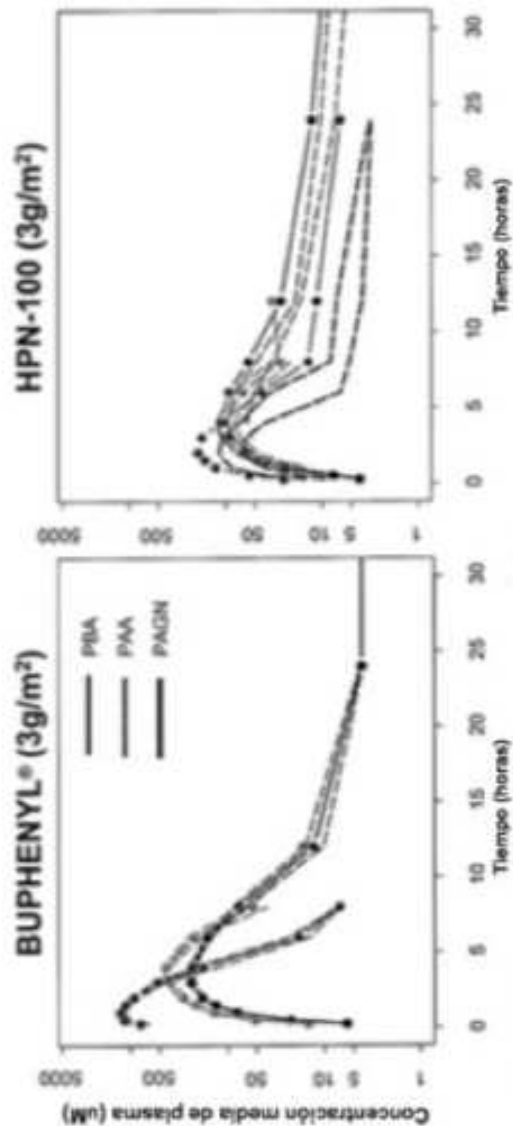


FIGURA 4



En cada panel, las curvas representan niveles medidos de PBA, PAA o PAGN en sujetos que reciben BUPHENYL® (fenilbutirato de sodio) (PBA de sodio) en una dosis de 3g/m², o NPH-100 en una cantidad calculada para proporcionar una cantidad equimolar de PBA a aquella proporcionada por la dosis de PBA de sodio. Tres curvas para cada material son para tres sujetos los cuales recibieron las dosis específicas de PBA de sodio o NPH-100. En el panel de izquierda, la curva superior representa niveles de PBA; el intermedio representa los niveles de PAA; y el más bajo de los tres conjuntos de líneas representa niveles de PAGN. En el panel de la derecha, las tres curvas más bajas en el tiempo de 10-15 horas son todas para PBA; y las tres curvas más altas en 15-25 horas representan niveles de PAGN. Niveles de PAA no se determinaron después de aproximadamente 12 horas, y se caen generalmente cerca de las curvas de PAGN hasta aquel momento.

Figura 5

Relación entre los niveles de amonio en sangre (área de tiempo normalizado parcial bajo la curva [AUC parcial]) y la producción de orina de PAGN en 10 sujetos durante el tratamiento en estado estacionario con NPH-100 o PBA de sodio. AUC parciales se representará gráficamente frente al tiempo correspondiente de la recogida de orina, que varió de 6 a 12 horas.

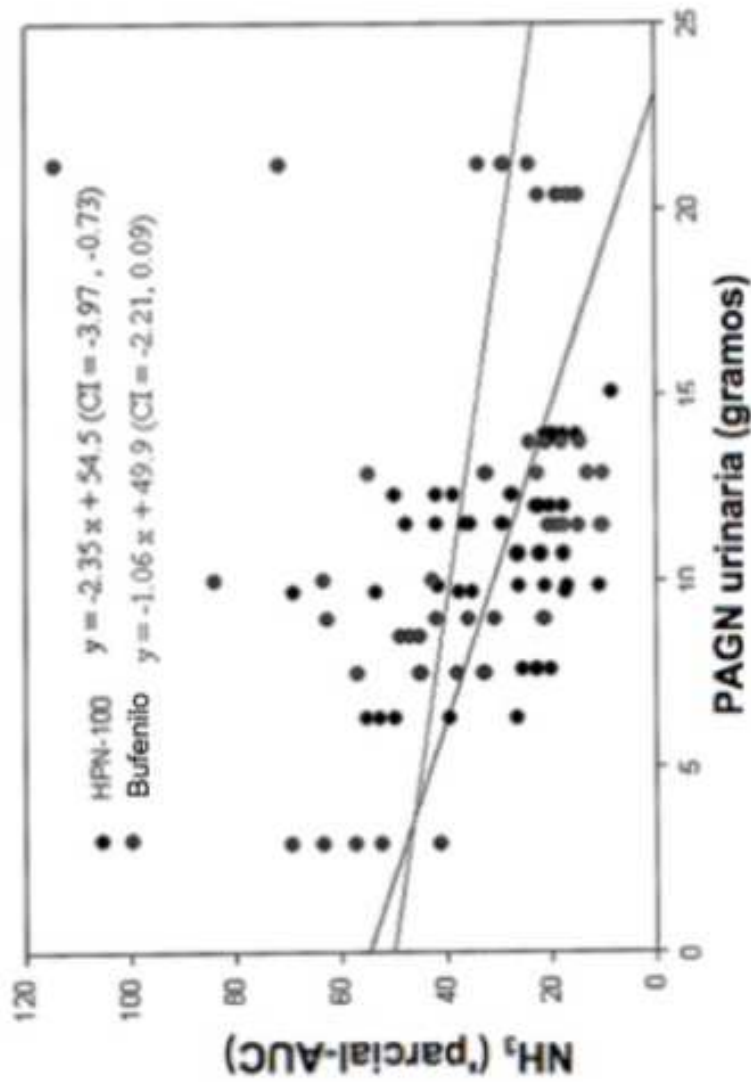
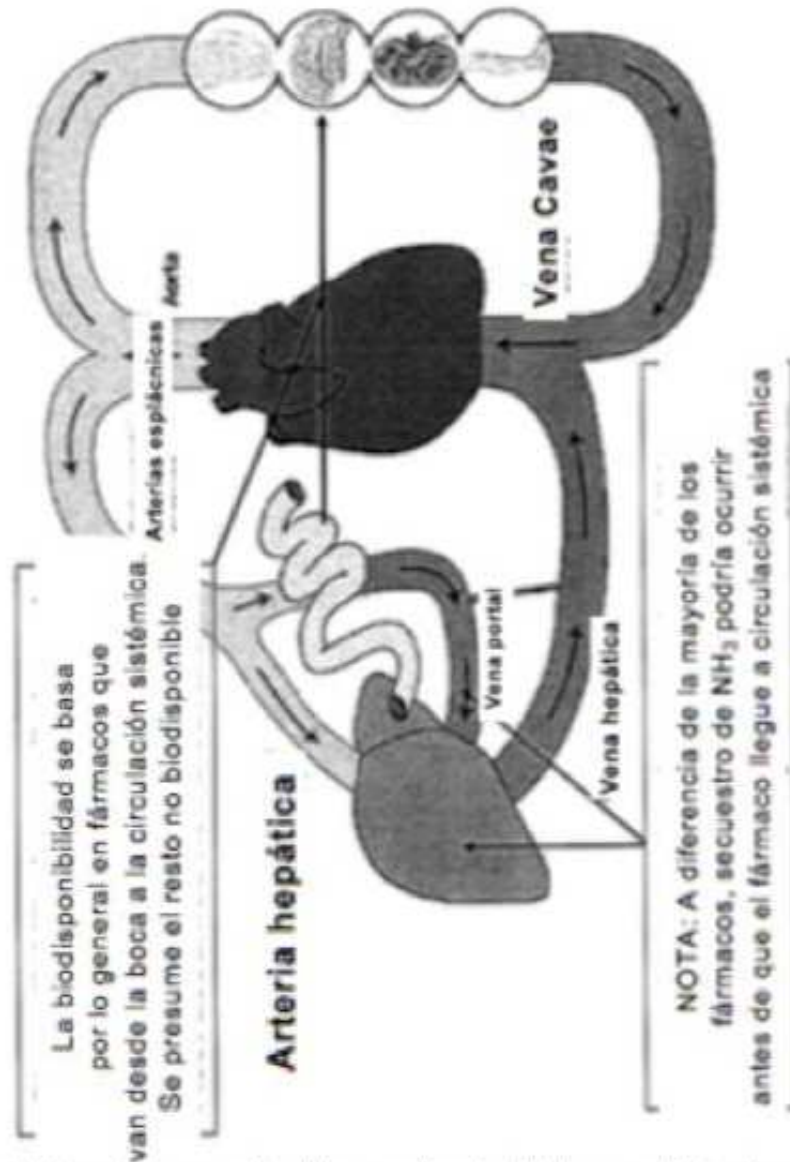


Figura 6



Representación anatómica esquemática de los compartimentos sistémicos y presistémicos (representados por la vena porta). A diferencia del caso para la mayoría de los fármacos que deben pasar por el hígado a la circulación sistémica para ejercer un efecto, PAA convertido en PAGN antes de alcanzar la circulación sistémica (por ejemplo, en el hígado) sigue siendo eficaz en la limpieza de amoníaco del cuerpo.

Figura 7

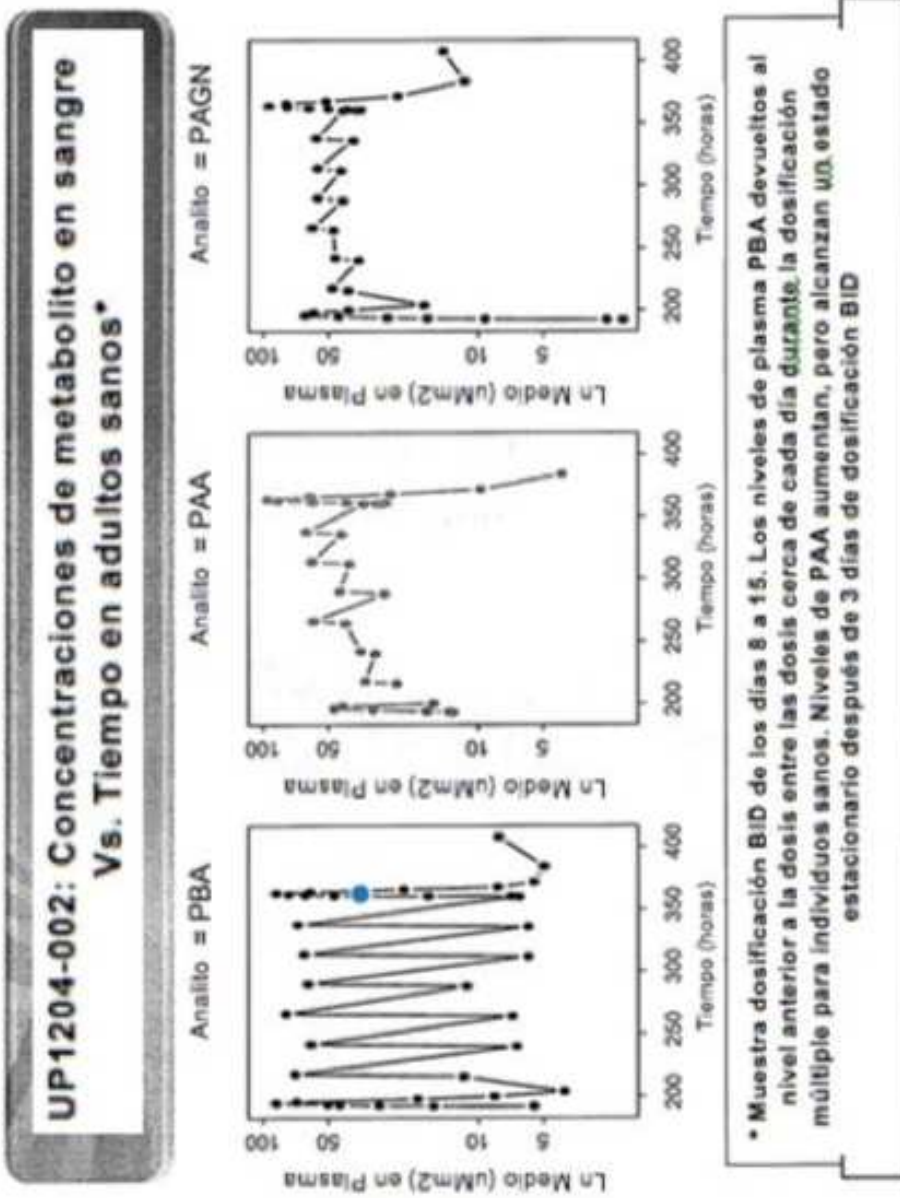


Figura 8

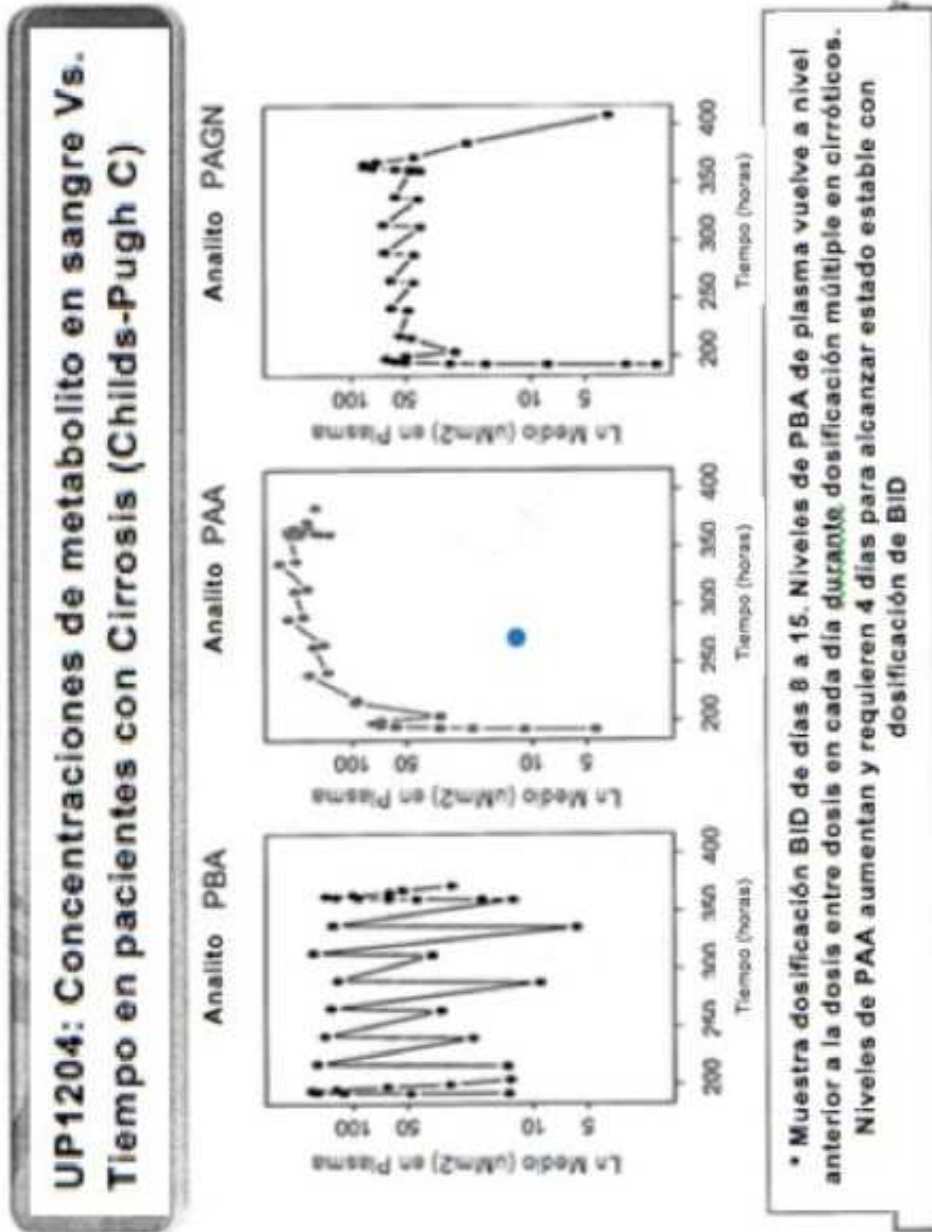


Figura 9a

Figura 9 representa la falta de correlación entre la dosis de fármacos y PBA de plasma (9a) y PAA de plasma (9b), comparado con una correlación significativa con producción urinaria de PACN (9c).

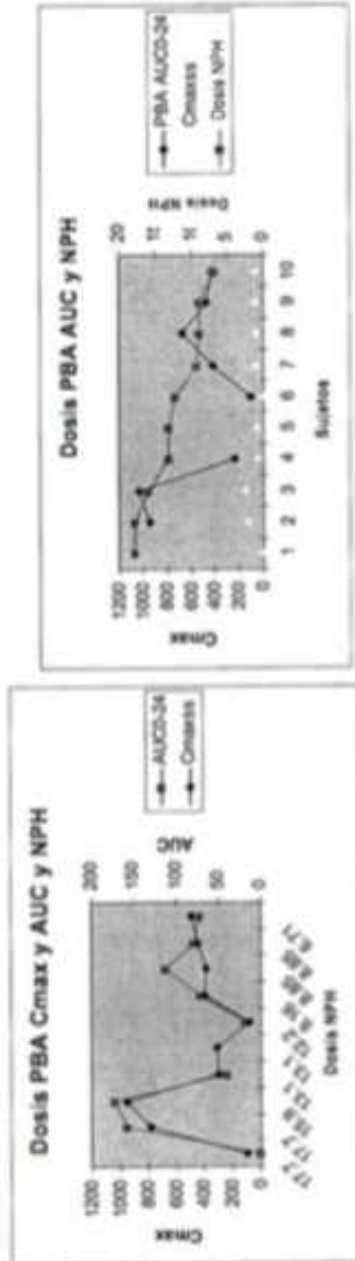


Figura 9b

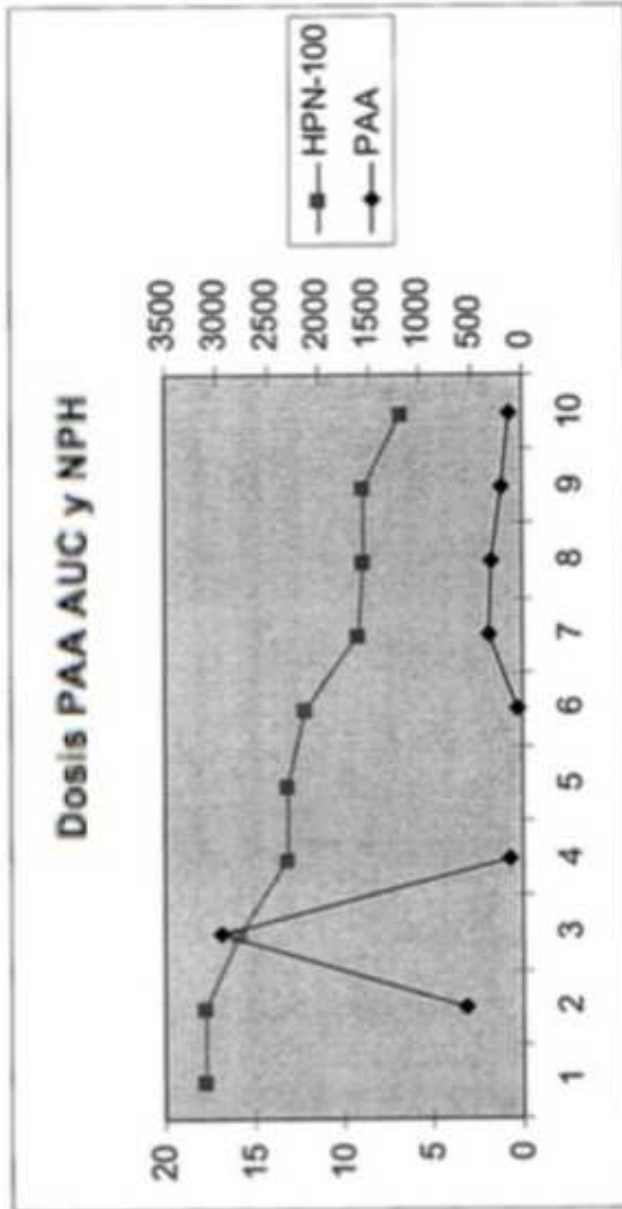


Figura 9c

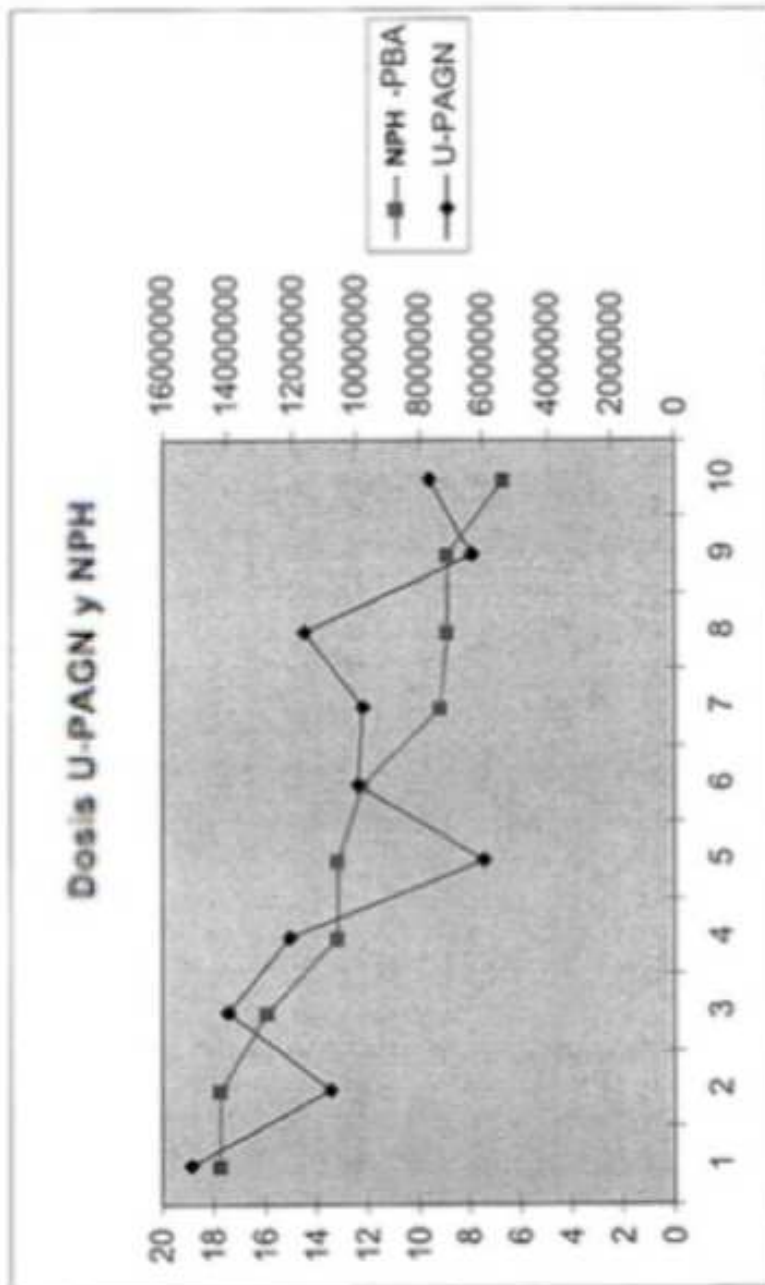


Figura 10

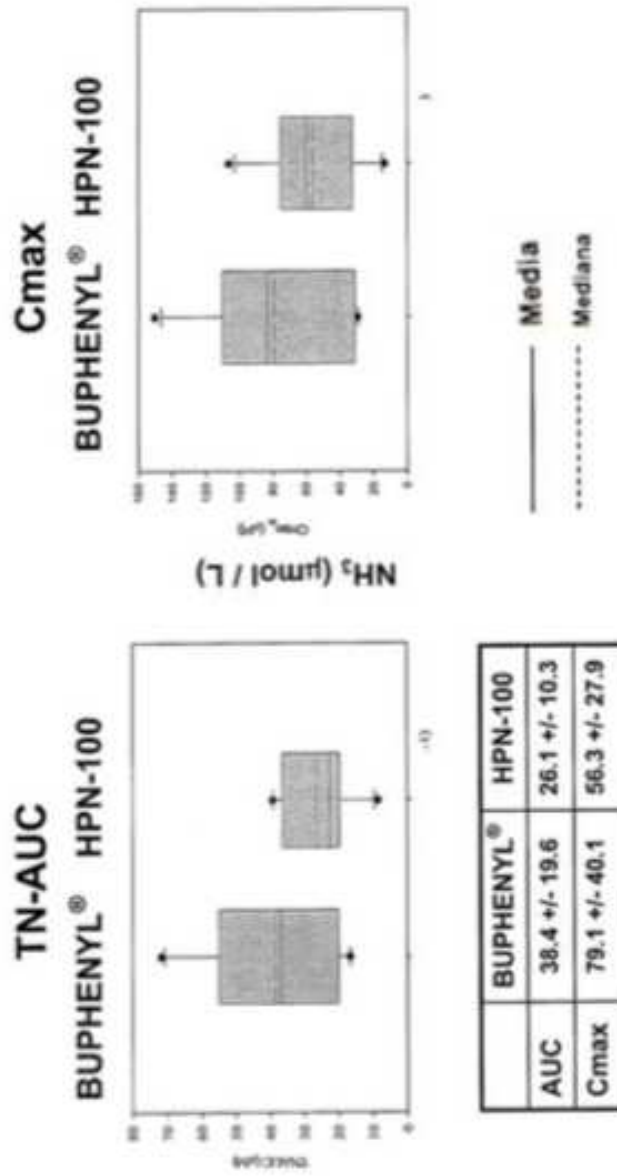
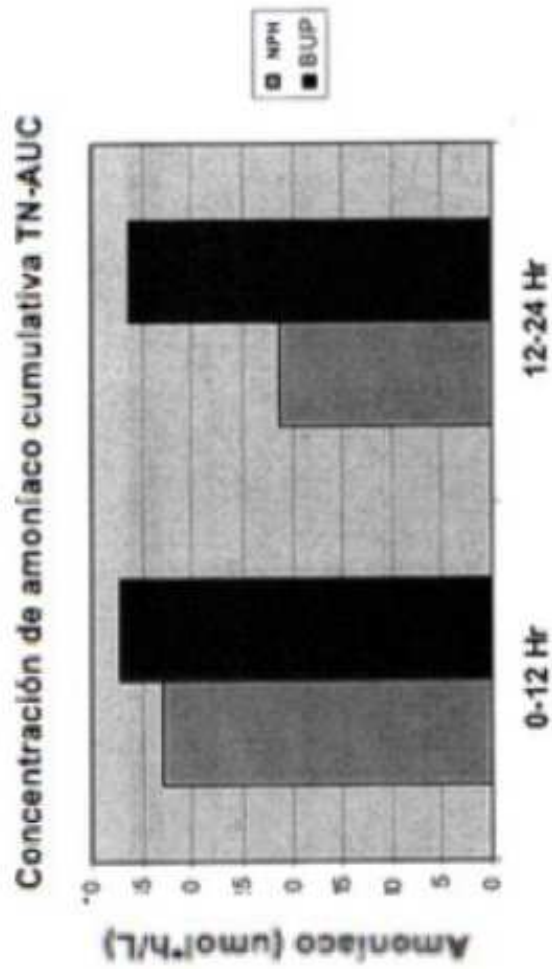


Figura 11



Niveles de amoniaco de plasma (área de normalización temporal bajo la curva [TN-AUC o AUC]) durante el día y noche en 10 pacientes UCD tratados durante siete días con PBA de sodio (BUP) o una dosis equimolar de PBA de NPH-10

Figura 12

Niveles de amoníaco de plasma (área de normalización temporal bajo la curva TN-AUC) en 10 pacientes UCD tratados durante siete días con PBA de sodio (BUP) seguidos por siete días con una dosis equimolar de PBA de NPH-100.

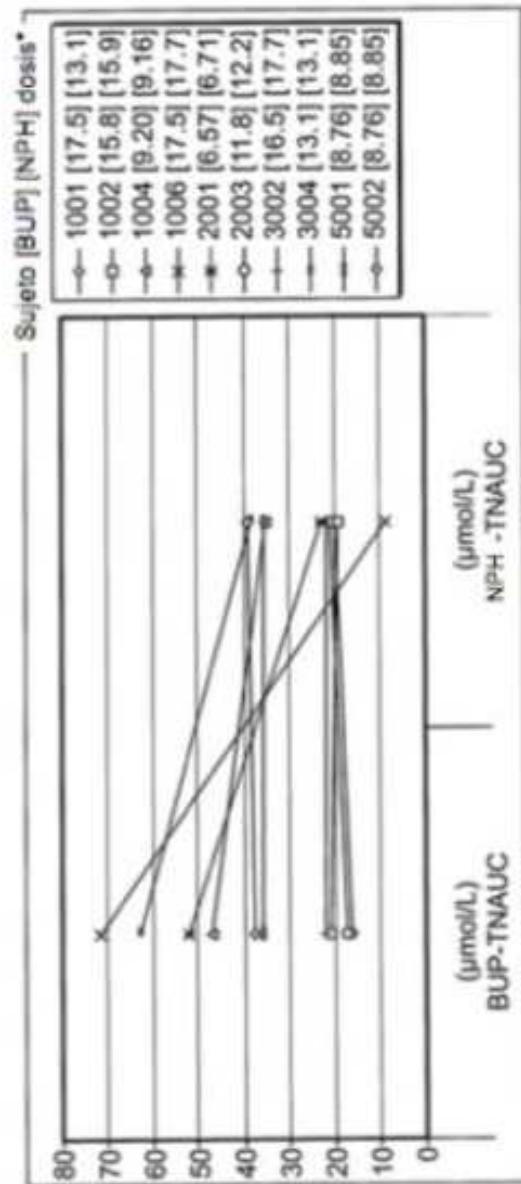
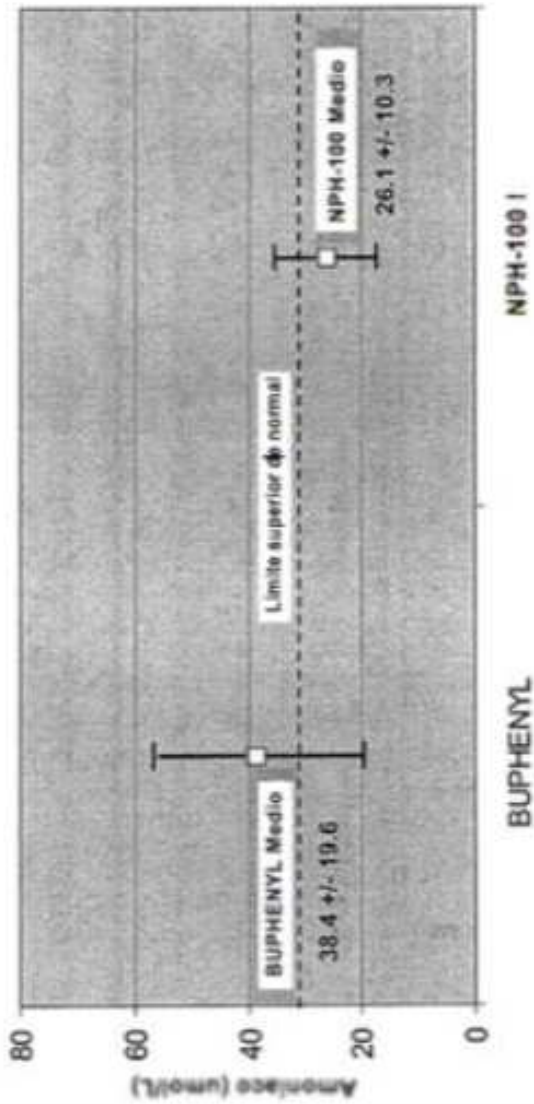


Figura 13

Amoniaco (TN-AUC) después de 7 días de tratamiento con BUPHENYL y NPH-100



Niveles medios de amoniaco de plasma (área de normalización temporal bajo la curva [TN-AUC]) en 10 pacientes UCD tratados durante siete días con PBA de sodio seguidos por siete días con una dosis equimolar de PBA de NPH-100.