

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 613 506**

51 Int. Cl.:

G01N 33/497 (2006.01)

A61B 10/00 (2006.01)

A61K 49/00 (2006.01)

G01N 33/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.08.2011 PCT/JP2011/068714**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.02.2012 WO2012023590**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.08.2011 E 11818231 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.11.2016 EP 2618145**

64 Título: **Método para la medición cuantitativa de acidez gástrica usando sal de carbonato con ¹³C**

30 Prioridad:

19.08.2010 JP 2010184486

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

24.05.2017

73 Titular/es:

**OTSUKA PHARMACEUTICAL CO., LTD. (100.0%)
9, Kanda-Tsukasa-machi, 2-chome, Chiyoda-ku
Tokyo 101-8535, JP**

72 Inventor/es:

**INADA, MAKOTO;
KUNIZAKI, JUN-ICHI;
TOBITA, KAZUKI;
AKAMATSU, SUGURU y
IIZUKA, SHINJI**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 613 506 T3

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

DESCRIPCIÓN

Método para la medición cuantitativa de acidez gástrica usando sal de carbonato con ¹³C

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a un método de medición de la acidez gástrica de un mamífero usando un compuesto de carbonato marcado con ¹³C. Más específicamente, la presente invención se refiere a un método de medición no invasiva y cuantitativa de la acidez gástrica de un mamífero usando aire espirado excretado después de la administración de un compuesto de carbonato marcado con ¹³C.

10 La presente invención también se refiere a un método de diagnóstico de una enfermedad que se relaciona con la secreción de ácido gástrico midiendo la tendencia de la acidez gástrica (hiperacidez, normal, hipoacidez o anacidez), y un método de medición del efecto de un fármaco que tiene la acción de suprimir ácido gástrico (denominado en lo sucesivo un "reductor de ácido gástrico").

15 Además, la presente invención se refiere a, desde otra perspectiva como ejemplos de la aplicación de los métodos anteriores, un método de evaluación de la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en un sujeto; y un método de evaluación del efecto de un fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en un sujeto, y la susceptibilidad de un sujeto al fármaco.

Técnica anterior

20 Se sintetizan un gran número de fármacos en forma de ácidos orgánicos o bases orgánicas. Se sabe que algunos de estos ácidos orgánicos y bases orgánicas están influidos por la acidez gástrica, causando grandes cambios en la biodisponibilidad; como resultado, no producen los efectos farmacológicos esperados, o producen efectos secundarios inesperados y graves. Además, en la sociedad cada vez más envejecida de hoy en día, se dice que el número de pacientes con hipoacidez o anacidez está aumentando rápidamente.

25 En el caso de tales pacientes, se cree que el medir la tendencia (hiperacidez, normal, hipoacidez, anacidez o similares) de la acidez gástrica (concentración de HCl x cantidad de jugo gástrico) antes de la medicación proporciona información muy útil para seleccionar un fármaco, y predecir los efectos terapéuticos y secundarios del fármaco. La aparición de inhibidores de la secreción de ácido gástrico, tales como antagonistas de H₂ e inhibidores de la bomba de protones (PPI), ha contribuido enormemente al tratamiento de úlceras gástricas y duodenales. Sin embargo, la recrudescencia o reaparición (en particular, reaparición de esofagitis por reflujo) después del tratamiento se ha convertido en un problema en los últimos años; por tanto, métodos medicinales de tratamiento para úlceras gástricas y duodenales, que incluyen revisiones de los métodos de tratamiento, están atrayendo atención como un objeto a ser examinado en el campo médico. El tratamiento con un inhibidor de la secreción de ácido gástrico suprime la secreción de ácido gástrico, y su efecto terapéutico puede evaluarse midiendo la secreción de ácido gástrico básico. La reaparición de esofagitis por reflujo es un fenómeno de rebote causado cuando se interrumpe la administración de un inhibidor de la secreción de ácido gástrico, y se supone que es predecible de algún modo midiendo la producción de ácido gástrico.

35 Así, la medición de la acidez gástrica supuestamente hace posible predecir los efectos terapéuticos y secundarios de un fármaco hasta cierto grado. Además, como la tendencia de la acidez gástrica ha sido evidente en algunas enfermedades (por ejemplo, úlcera gástrica, úlcera duodenal, cáncer gástrico, gastritis crónica, enfermedad del hígado/de las vías biliares/pancreática, anemia perniciosa, enfermedad por deficiencia del complejo de vitamina B, estenosis pilórica, síndrome de Zollinger-Ellison, y similares), se cree que la medición de la acidez gástrica encontrará una amplia aplicación en el diagnóstico de enfermedades.

45 Métodos conocidos de medición de la producción de ácido gástrico incluyen un método que comprende succionar ácido del estómago a través de un tubo nasogástrico, mientras que se da un estímulo para promover la secreción. Sin embargo, este método no es práctico ya que es invasivo, e impone esfuerzo físico y mental a un sujeto. Como método no invasivo se propone un método que comprende administrar por vía oral una gran cantidad de un carbonato insoluble en agua que contiene un isótopo a un sujeto, y medir la cantidad de secreción gástrica del contenido del isótopo en dióxido de carbono excretado en aire espirado (Bibliografía de patente 1). Sin embargo, este método mide el contenido del isótopo en el dióxido de carbono producido como resultado de la neutralización completa de la acidez gástrica; por consiguiente, a un sujeto debe administrársele una cantidad en exceso del carbonato con respecto al volumen de ácido gástrico. Además, antes de recoger el aire espirado, es necesario esperar durante al menos 60 minutos (preferentemente al menos 150 minutos), que es el tiempo requerido para que el ácido gástrico sea completamente neutralizado con el carbonato administrado más el tiempo para que se establezca el contenido de isótopo en el dióxido de carbono en el aire espirado; por consiguiente, la medición requiere problemáticamente tiempo.

55 También se propone un método que comprende administrar por vía oral una composición que contiene isótopo a un sujeto y medir no invasivamente el pH gástrico a partir de la cantidad del isótopo en el dióxido de carbono excretado en aire espirado, como en el método anterior (Bibliografía de patente 2). Sin embargo, este método se basa en el hallazgo de que cuando una composición que contiene un compuesto marcado con isótopo se cubre con una base

soluble dependiente del pH, tal como una base entérica o una base gastrosoluble, el comportamiento del isótopo en el dióxido de carbono excretado del cuerpo cambia según el pH gástrico, y hay una relación constante entre el pH gástrico y el comportamiento de excreción del compuesto marcado. Así, este método requiere el uso de una preparación de administración cubierta con una base soluble dependiente del pH.

5 Los documentos CN 101 262 891 A y WO 2007/007100 A2 se refieren a un método de medición de la cantidad de secreción gástrica en un mamífero que implica administrar una sustancia o formulación que contiene una cantidad en exceso de un carbonato insoluble en agua al mamífero para reaccionar con ácido en el estómago, en el que el carbonato insoluble está enriquecido con al menos un isótopo seleccionado de ^{13}C , ^{14}C , ^{17}O y ^{18}O en una cantidad conocida. Se deja que el contenido del o cada isótopo seleccionado en el dióxido de carbono exhalado se establezca
10 antes de obtener una muestra de aire exhalado que contiene dióxido de carbono, y determinar el contenido del isótopo seleccionado o cada isótopo seleccionado en el dióxido de carbono exhalado.

Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. 21(3), 2009, 266-272 se refiere a un método de medición de la secreción de ácido gástrico no invasivamente en el que carbonato cálcico marcado con ^{13}C es ingerido por un participante en ayunas. El carbonato neutraliza el ácido gástrico para producir $^{13}\text{CO}_2$, que es espirado en la respiración. La medición del exceso
15 de $^{13}\text{CO}_2$ en la respiración permite calcular a partir de ésta la cantidad de ácido gástrico secretado durante la prueba, a condición de que otras variables que afectan la producción y excreción de CO_2 sean minimizadas o controladas.

El documento WO 2008/028116 A2 se refiere a un método de determinación y evaluación de la capacidad metabólica (de CYP2C19) relacionada con citocromo P450 2C19 en un sujeto mamífero individual mediante un
20 ensayo de respiración, determinando la cantidad relativa de $^{13}\text{CO}_2$ exhalado por el sujeto tras la administración intravenosa o por vía oral de un compuesto de sustrato CYP2C19 marcado con ^{13}C .

Gut 1999; 45(Suppl I), I18-I22 desvela una invención que se refiere al diagnóstico de infección por *H. pylori* usando una prueba de espiración de urea marcada con ^{13}C . La actividad de ureasa, que sirve de índice para la infección por *H. pylori*, se evalúa midiendo la cantidad de $^{13}\text{CO}_2$ en aire espirado producida mediante la degradación de urea
25 marcada con ^{13}C por ureasa, con el fin de diagnosticar infección por *H. pylori*.

25 Lista de referencias

Bibliografía de patente

PTL 1: Publicación de patente japonesa sin examinar N.º 2009-515139

PTL 2: WO01/97863A1

Sumario de la invención

30 Problema técnico

Es un objetivo de la presente invención proporcionar un método de medición cuantitativa de la acidez gástrica de un mamífero, que incluye un ser humano, de una manera no invasiva y simple, usando un compuesto de carbonato
35 marcado con ^{13}C .

Es otro objetivo de la presente invención proporcionar un método de diagnóstico de una enfermedad que se relaciona con la secreción de ácido gástrico midiendo la tendencia de la acidez gástrica (hiperacidez, normal, hipoacidez o anacidez), y un método de medición del efecto de un reductor de ácido gástrico (por ejemplo, inhibidores de la secreción de ácido gástrico, tales como inhibidores de la bomba de protones y bloqueantes de H_2 ; y fármacos para neutralizar ácido gástrico, tales como antiácidos). Es un objetivo adicional de la presente invención
40 proporcionar, como ejemplos de aplicación de los métodos anteriores, un método de evaluación de la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en un sujeto; y un método de evaluación del efecto de un fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en un sujeto, y la susceptibilidad de un sujeto al fármaco.

Solución al problema

Para resolver los problemas anteriores, los presentes inventores analizaron el comportamiento de excreción de
45 $^{13}\text{CO}_2$ en aire espirado obtenido después de administrar por vía oral un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C a mamíferos, y encontraron que, independientemente del grado de acidez gástrica de los mamíferos, hay una correlación lineal que pasa por el origen entre la dosis del compuesto de carbonato marcado con ^{13}C y $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$ en un momento en el tiempo para recoger el aire espirado. Aquí, " $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$ " significa la diferencia $[\Delta^{13}\text{C} (\text{‰}) = (\delta^{13}\text{C})_t - (\delta^{13}\text{C})_0]$ entre la relación (" $(\delta^{13}\text{C})_t$ ") de la cantidad de $^{13}\text{CO}_2$ con respecto a la cantidad de $^{12}\text{CO}_2$ en el aire espirado
50 en un momento en el tiempo para recoger el aire espirado (t), y la relación (" $(\delta^{13}\text{C})_0$ ") de la cantidad de $^{13}\text{CO}_2$ con respecto a la cantidad de $^{12}\text{CO}_2$ en el aire espirado antes de la administración del compuesto de carbonato marcado con ^{13}C . Además, "dosis" significa la cantidad del compuesto de carbonato marcado con ^{13}C administrada a un sujeto mamífero; y engloba tanto la dosis (número de moles, peso) del compuesto de carbonato marcado con ^{13}C

administrado a 1 cuerpo de un sujeto mamífero como la dosis (número de moles, peso) del compuesto de carbonato marcado con ^{13}C administrada por kg de peso corporal de un sujeto mamífero.

5 Los presentes inventores también encontraron que cuando la dosis supera una cierta cantidad, la curva de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) frente a la dosis del compuesto de carbonato marcado con ^{13}C alcanza un valor casi constante (valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)) según el grado de acidez gástrica de los mamíferos; que la dosis a la que $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) alcanza una meseta (correspondiente a la "cierta cantidad" anterior) varía dependiendo de la acidez gástrica de los mamíferos; y que hay una relación correspondiente entre la dosis y la acidez gástrica. Basándose en estos hallazgos, los presentes inventores confirmaron que la acidez gástrica de cada sujeto puede medirse y evaluarse usando el valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) como índice. Como se ha descrito anteriormente, independientemente del grado de acidez gástrica de los mamíferos, hay una correlación lineal que pasa por el origen entre la dosis del compuesto de carbonato marcado con ^{13}C y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) hasta que $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) alcanza una meseta.

15 Además, los presentes inventores confirmaron que, como en el caso de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) anterior, cuando la dosis supera una cierta cantidad, el "área bajo la curva $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)-tiempo" (ABC) frente a la dosis del compuesto de carbonato marcado con ^{13}C alcanza un valor casi constante (valor de meseta de ABC) según el grado de acidez gástrica de los mamíferos; que la dosis a la que el ABC alcanza una meseta (correspondiente a la "cierta cantidad" anterior) varía dependiendo de la acidez gástrica de los mamíferos, y hay una relación correspondiente entre la dosis y la acidez gástrica; y que, como en el caso de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰), la acidez gástrica de cada sujeto puede medirse y evaluarse usando el valor de meseta de ABC como índice. Además, como en el caso de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰), independientemente del grado de acidez gástrica de mamíferos, hay una correlación lineal que pasa por el origen entre la dosis del compuesto de carbonato marcado con ^{13}C y el ABC hasta que el ABC alcanza una meseta.

20 Como se ha descrito anteriormente, el método de la presente invención hace posible medir y evaluar cuantitativamente la acidez gástrica de un sujeto no invasivamente en un corto periodo de tiempo, sin refrenar al sujeto durante un largo periodo de tiempo, usando $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) como índice.

La presente invención se llevó a cabo basándose en estos hallazgos, e incluye las siguientes realizaciones.

25 (I) Método de medición de la acidez gástrica de un mamífero

(I-1) Un método de medición de la acidez gástrica de un mamífero que comprende las etapas de:

30 (1) usar, como muestra de prueba, aire espirado de un sujeto mamífero excretado en cualquier momento en el tiempo en el plazo de 30 minutos después de la administración por vía oral de una cantidad predeterminada de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C , midiendo el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado;

(2) comparar el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido) obtenido en la etapa (1) con el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ correspondiente (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia) que ha sido obtenido de antemano en un mamífero de control; y

35 (3) determinar la acidez gástrica del sujeto mamífero basándose en una diferencia entre el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido obtenido anteriormente.

(I-2) El método según el punto (I-1), en el que el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ es $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)_t (t es un tiempo de recogida de aire espirado, en el plazo de 30 minutos) obtenido de aire espirado de un sujeto mamífero recogido en cualquier momento en el tiempo en el plazo de 30 minutos después de la administración por vía oral de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C .

40 (I-3) El método según el punto (I-1) o (I-2), en el que la cantidad predeterminada es 10 mg a 5 g.

(I-4) El método según uno cualquiera de los puntos (I-1) a (I-3), en el que el compuesto de carbonato marcado con ^{13}C es al menos un compuesto de carbonato seleccionado del grupo que consiste en carbonatos de metales alcalinos, carbonatos de metales alcalinotérreos, carbonato de amonio, hidrogenocarbonatos de metales alcalinos e hidrogenocarbonato de amonio.

45 (I-5) El método según uno cualquiera de los puntos (I-1) a (I-3), en el que el compuesto de carbonato marcado con ^{13}C es al menos un compuesto de carbonato seleccionado del grupo que consiste en carbonato sódico, carbonato de potasio, carbonato cálcico, carbonato de magnesio, carbonato de bario, carbonato de amonio, hidrogenocarbonato de potasio, hidrogenocarbonato de sodio e hidrogenocarbonato de amonio.

50 (I-6) El método según uno cualquiera de los puntos (I-1) a (I-5), en el que el aire espirado usado como muestra de prueba es aire espirado de un sujeto mamífero excretado en cualquier momento en el tiempo en el plazo de 20 minutos, preferentemente 15 minutos después de la administración por vía oral de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C .

(I-7) El método según uno cualquiera de los puntos (I-2) a (I-6), en el que el mamífero de control usado en la etapa de comparación (2) es un mamífero que tiene acidez gástrica normal, y la etapa de determinación (3) es una etapa

de determinar que la acidez gástrica del sujeto mamífero es la misma o superior a la acidez gástrica del mamífero de control cuando el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia son el mismo, o que la acidez gástrica del sujeto mamífero es inferior a la acidez gástrica del mamífero de control cuando el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido es inferior al comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia.

5 (II) Método de medición de un efecto de un reductor de ácido gástrico

(II-1) Un método de medición de un efecto de un reductor de ácido gástrico en un mamífero, comprendiendo el método las siguientes etapas (1) a (4):

10 (1) usar, como muestra de prueba, aire espirado de un sujeto mamífero excretado en cualquier momento en el tiempo en el plazo de 30 minutos después de la administración por vía oral de una cantidad predeterminada de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C , siendo la administración por vía oral realizada después de la administración de un reductor de ácido gástrico, midiendo el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado,

15 (2) comparar el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido) obtenido en la etapa (1) con el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ correspondiente (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia) medido en un mamífero (mamífero de control) al que se ha administrado por vía oral de antemano una cantidad predeterminada de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C sin administrar el reductor de ácido gástrico;

(3) determinar la acidez gástrica del sujeto mamífero basándose en una diferencia entre el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido obtenido anteriormente; y

20 (4) determinar el efecto del reductor de ácido gástrico en el sujeto mamífero usando la acidez gástrica del sujeto mamífero obtenida anteriormente como índice.

25 (II-2) El método según el punto (II-1), en el que el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ es $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})_t$ (t es un tiempo de recogida de aire espirado, en el plazo de 30 minutos) obtenido de aire espirado de un sujeto mamífero recogido en cualquier momento en el tiempo en el plazo de 30 minutos después de la administración por vía oral de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C .

(II-3) El método según el punto (II-1) o (II-2), en el que la cantidad predeterminada es 10 mg a 5 g.

30 (II-4) El método según uno cualquiera de los puntos (II-1) a (II-3), en el que el compuesto de carbonato marcado con ^{13}C es al menos un compuesto de carbonato seleccionado del grupo que consiste en carbonatos de metales alcalinos, carbonatos de metales alcalinotérreos, carbonato de amonio, hidrogenocarbonatos de metales alcalinos e hidrogenocarbonato de amonio.

(II-5) El método según uno cualquiera de los puntos (II-1) a (II-3), en el que el compuesto de carbonato marcado con ^{13}C es al menos un compuesto de carbonato seleccionado del grupo que consiste en carbonato sódico, carbonato de potasio, carbonato cálcico, carbonato de magnesio, carbonato de bario, carbonato de amonio, hidrogenocarbonato de potasio, hidrogenocarbonato de sodio e hidrogenocarbonato de amonio.

35 (II-6) El método según uno cualquiera de los puntos (II-1) a (II-5), en el que el aire espirado usado como muestra de prueba es aire espirado de un sujeto mamífero excretado en cualquier momento en el tiempo en el plazo de 20 minutos, preferentemente 15 minutos después de la administración por vía oral de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C .

40 (II-7) El método según uno cualquiera de los puntos (II-1) a (II-6), en el que la etapa (3) es una etapa de determinar que la acidez gástrica del sujeto mamífero es la misma o superior a la acidez gástrica del mamífero de control cuando el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia son el mismo, o que la acidez gástrica del sujeto mamífero es inferior a la acidez gástrica del mamífero de control cuando el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido es inferior al comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia.

45 (II-8) El método según el punto (II-7), en el que la etapa (4) es una etapa de determinar que el reductor de ácido gástrico administrado no tiene efecto sobre el sujeto mamífero cuando la acidez gástrica del sujeto mamífero medida en la etapa (3) es la misma o superior a la acidez gástrica del mamífero de control; o que el reductor de ácido gástrico administrado tiene un efecto sobre el sujeto mamífero cuando la acidez gástrica del sujeto mamífero medida en la etapa (3) es inferior a la acidez gástrica del mamífero de control.

50 (II-9) El método según uno cualquiera de los puntos (II-1) a (II-8), en el que el reductor de ácido gástrico es un inhibidor de la bomba de protones, un bloqueante de H_2 o un antiácido.

(II-10) El método según el punto (II-9), en el que el inhibidor de la bomba de protones es al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en omeprazol, lansoprazol, pantoprazol, rabeprazol y esomeprazol; el bloqueante de H_2 es al menos un miembro seleccionado del grupo que consiste en ranitidina, cimetidina, famotidina, nizatidina, lafutidina y clorhidrato de acetato de roxatidina; y el antiácido es al menos un miembro seleccionado del

grupo que consiste en hidróxido de magnesio, fosfato de calcio dibásico anhidro, carbonato cálcico precipitado, hidrogenocarbonato de sodio y óxido de magnesio.

(III) Método de evaluación de la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en un sujeto mamífero, efecto de un fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en un sujeto mamífero, o/y susceptibilidad de un sujeto mamífero al fármaco

- 5
- (III-1) Un método de evaluación de la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en un sujeto mamífero, efecto de un fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en el sujeto mamífero, o/y susceptibilidad del sujeto mamífero al fármaco, comprendiendo el método las siguientes etapas (1) a (4):
- 10 (1) usar, como muestra de prueba, aire espirado de un sujeto mamífero excretado en cualquier momento en el tiempo en el plazo de 30 minutos después de la administración por vía oral de una cantidad predeterminada de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C , siendo la administración por vía oral realizada después de la administración de omeprazol o lansoprazol, midiendo el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado,
- 15 (2) comparar el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido) obtenido en la etapa (1) con el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ correspondiente (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia) medido en un mamífero (mamífero de control) al que se ha administrado por vía oral de antemano una cantidad predeterminada de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C sin administrar omeprazol y lansoprazol;
- 20 (3) determinar la acidez gástrica del sujeto mamífero basándose en una diferencia entre el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido obtenido anteriormente; y
- (4) determinar la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en el sujeto mamífero, efecto de un fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en el sujeto mamífero, o/y susceptibilidad del sujeto mamífero al fármaco, usando la acidez gástrica del sujeto mamífero obtenida anteriormente como índice.
- 25 (III-2) El método según el punto (III-1), en el que el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ es $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})_t$ (t es un tiempo de recogida de aire espirado, en el plazo de 30 minutos) obtenido de aire espirado de un sujeto mamífero recogido en cualquier momento en el tiempo en el plazo de 30 minutos después de la administración por vía oral de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C .
- (III-3) El método según el punto (III-1) o (III-2), en el que la cantidad predeterminada es 10 mg a 5 g.
- 30 (III-4) El método según uno cualquiera de los puntos (III-1) a (III-3), en el que el compuesto de carbonato marcado con ^{13}C es al menos un compuesto de carbonato seleccionado del grupo que consiste en carbonatos de metales alcalinos, carbonatos de metales alcalinotérreos, carbonato de amonio, hidrogenocarbonatos de metales alcalinos e hidrogenocarbonato de amonio.
- 35 (III-5) El método según uno cualquiera de los puntos (III-1) a (III-3), en el que el compuesto de carbonato marcado con ^{13}C es al menos un compuesto de carbonato seleccionado del grupo que consiste en carbonato sódico, carbonato de potasio, carbonato cálcico, carbonato de magnesio, carbonato de bario, carbonato de amonio, hidrogenocarbonato de potasio, hidrogenocarbonato de sodio e hidrogenocarbonato de amonio.
- (III-6) El método según uno cualquiera de los puntos (III-1) a (III-5), en el que el aire espirado usado como muestra de prueba es aire espirado de un sujeto mamífero excretado en cualquier momento en el tiempo en el plazo de 20 minutos, preferentemente 15 minutos después de la administración por vía oral de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C .
- 40 (III-7) El método según uno cualquiera de los puntos (III-1) a (III-6), en el que la etapa (3) es una etapa de determinar que la acidez gástrica del sujeto mamífero es la misma o superior a la acidez gástrica del mamífero de control cuando el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia son el mismo, o que la acidez gástrica del sujeto mamífero es inferior a la acidez gástrica del mamífero de control cuando el $^{13}\text{CO}_2$ medido es inferior al $^{13}\text{CO}_2$ de referencia.
- 45 (III-8) El método según el punto (III-7) que comprende como etapa (4) una etapa de determinar la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en un sujeto mamífero, en el que la etapa (4) es una etapa de determinar que la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en el sujeto mamífero es normal o alta cuando la etapa (3) determina que la acidez gástrica del sujeto mamífero es la misma o superior a la acidez gástrica del mamífero de control; o que la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en el sujeto mamífero es baja cuando la etapa (3) determina que la acidez gástrica del sujeto mamífero es inferior a la acidez gástrica del mamífero de control.
- 50

(III-9) El método según el punto (III-7) o (III-8) que comprende como etapa (4) una etapa de determinar el efecto de un fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en un sujeto mamífero, en el que

(a) en el caso en el que el fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 muestre un efecto antes de ser metabolizado, la etapa (4) es una etapa de determinar que el efecto del fármaco en el sujeto mamífero es bajo cuando la etapa (3) determina que la acidez gástrica del sujeto mamífero es la misma o superior a la acidez gástrica del mamífero de control, o que el efecto del fármaco en el sujeto mamífero es alto cuando la etapa (3) determina que la acidez gástrica del sujeto mamífero es inferior a la acidez gástrica del mamífero de control; o

(b) en el caso en el que el fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 muestre un efecto por metabolización, la etapa (4) es una etapa de determinar que el efecto del fármaco en el sujeto mamífero es alto cuando la etapa (3) determina que la acidez gástrica del sujeto mamífero es la misma o superior a la acidez gástrica del mamífero de control, o que el efecto del fármaco en el sujeto mamífero es bajo cuando la etapa (3) determina que la acidez gástrica del sujeto mamífero es inferior a la acidez gástrica del mamífero de control.

(III-10) El método según uno cualquiera de los puntos (III-7) a (III-9) que comprende como etapa (4) una etapa de determinar la susceptibilidad de un sujeto mamífero a un fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4, en el que

(a) en el caso en el que el fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 muestre un efecto antes de ser metabolizado, la etapa (4) es una etapa de determinar que la susceptibilidad del sujeto mamífero al fármaco es alta cuando la etapa (3) determina que la acidez gástrica del sujeto mamífero es la misma o superior a la acidez gástrica del mamífero de control, o que la susceptibilidad del sujeto mamífero al fármaco es baja cuando la etapa (3) determina que la acidez gástrica del sujeto mamífero es inferior a la acidez gástrica del mamífero de control; o

(b) en el caso en el que el fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 muestre un efecto por metabolización, la etapa (4) es una etapa de determinar que la susceptibilidad del sujeto mamífero al fármaco es baja cuando la etapa (3) determina que la acidez gástrica del sujeto mamífero es la misma o superior a la acidez gástrica del mamífero de control, o que la susceptibilidad del sujeto mamífero al fármaco es alta cuando la etapa (3) determina que la acidez gástrica del sujeto mamífero es inferior a la acidez gástrica del mamífero de control.

(III-11) El método según el punto (III-9) o (III-10), en el que el fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 es uno cualquiera de aquellos seleccionados del grupo que consiste en diazepam, omeprazol, lansoprazol, propranolol y clopidogrel.

(III-12) El método según el punto (III-9) o (III-10), en el que el fármaco que presenta un efecto antes de ser metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 es uno cualquiera de aquellos seleccionados del grupo que consiste en diazepam, omeprazol, lansoprazol y propranolol.

(III-13) El método según (III-9) o (III-10), en el que el fármaco que presenta un efecto por ser metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 es clopidogrel.

Efectos ventajosos de la invención

El método de la presente invención para medir acidez gástrica hace posible medir cuantitativamente la acidez gástrica de una manera simple usando una prueba de espiración usando un compuesto de carbonato marcado con ¹³C como una preparación oral, sin imponer ninguna carga mental o física en un sujeto que es un mamífero, que incluye un ser humano.

Además, el método de la presente invención hace posible diagnosticar una enfermedad que se relaciona con la secreción de ácido gástrico para un sujeto mamífero; medir y evaluar el efecto de un fármaco que se relaciona con la secreción de ácido gástrico (por ejemplo, inhibidores de la secreción de ácido gástrico tales como inhibidores de la bomba de protones y bloqueantes de H₂) o un fármaco que tiene la acción de neutralizar ácido gástrico (por ejemplo, antiácidos) (estos fármacos se denominan "reductores de ácido gástrico"); o medir y evaluar fácilmente el efecto de un fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4, y la susceptibilidad al fármaco (por ejemplo, que incluye deficiencias, etc., en estas enzimas del metabolismo).

Por ejemplo, en el caso en el que se usen inhibidores de la bomba de protones, tales como lansoprazol, entre los fármacos que se relacionan con la secreción de ácido gástrico, los fármacos son metabolizados por las enzimas del metabolismo hepático CYP2C19 y CYP3A4. Así, midiendo la acidez gástrica de sujetos mamíferos después de la administración de estos fármacos, puede medirse y evaluarse la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 y CYP3A4 en los sujetos mamíferos (reducción o elevación en CYP2C19 y CYP3A4 debido a defectos genéticos o presencia de polimorfismos de las enzimas del metabolismo hepático).

Además, desde esta perspectiva, la presente invención puede proporcionar un método de medición y evaluación de la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en un mamífero, que incluye un ser humano, usado como sujeto de prueba; y también puede proporcionar un método de medición y evaluación del efecto sobre un sujeto mamífero de un fármaco que presenta su efecto antes de ser metabolizado por la enzima o enzimas, o de un fármaco que presenta su efecto siendo metabolizado por la enzima o enzimas (esto también puede considerarse como susceptibilidad de un sujeto mamífero a estos fármacos).

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 (1) muestra la correlación entre cada dosis de la preparación de administración y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰). La Fig. 1 (2) muestra la correlación entre cada dosis de la preparación de administración y el "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) -tiempo" (ABCt). Aquí, "tiempo" significa un tiempo (t) desde cuando la preparación de administración se administra a cuando se recoge aire espirado. En la dosis hasta una cierta cantidad, correlaciones lineales que pasan por el origen se muestran entre la dosis y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰), y entre la dosis y ABCt, independientemente del grado de acidez gástrica de los sujetos (mamíferos). También se muestra que el valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) y la dosis del mismo al que $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) se vuelve constante y el valor de meseta de ABCt y la dosis del mismo a la que ABCt se vuelve constante varían dependiendo del grado de la acidez gástrica de los sujetos (mamíferos) (a: acidez gástrica alta, b: acidez gástrica normal, y c: acidez gástrica baja).

La Fig. 2 es un gráfico que muestra cambios con el tiempo en $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) medido de $^{13}\text{CO}_2$ en aire espirado después de cada una de las suspensiones de ^{13}C -CaCO₃ a diversas concentraciones (2500, 1000, 500, 200, 100, 20 y 4 $\mu\text{mol}/4$ ml) se administrara a ratas en el Ejemplo experimental 1. En la Fig. 2, $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) [$(\delta^{13}\text{C}_t) - (\delta^{13}\text{C}_0)$] en el aire espirado se representa en la ordenada, mientras que el tiempo de recogida de aire espirado (minutos) después de la administración de ^{13}C -CaCO₃ se representa en la abscisa. $(\delta^{13}\text{C}_t)$ es una relación de concentración de $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ en el aire espirado en cada momento de recogida en el tiempo (t) después de la administración de ^{13}C -CaCO₃. $(\delta^{13}\text{C}_0)$ es una relación de concentración $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ en el aire espirado antes de la administración de ^{13}C -CaCO₃ (0).

La Fig. 3 muestra correlaciones entre la dosis de ^{13}C -CaCO₃ ($\mu\text{mol}/\text{kg}$) de 4 a 200 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado en sujetos (mamíferos: ratas) (Ejemplo experimental 1). La Fig. 3(1) es un gráfico que muestra una correlación entre la dosis ($\mu\text{mol}/\text{kg}$) y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado en el caso en el que el aire espirado recogido 5 minutos después de la administración de la preparación de administración se usó como muestra de prueba. La Fig. 3(2) es un gráfico que muestra una correlación entre la dosis ($\mu\text{mol}/\text{kg}$) y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado en el caso en el que el aire espirado recogido 10 minutos después de la administración de la preparación de administración se usó como muestra de prueba. La Fig. 3(3) es un gráfico que muestra una correlación entre la dosis ($\mu\text{mol}/\text{kg}$) y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado en el caso en el que el aire espirado recogido 15 minutos después de la administración de la preparación de administración se usó como muestra de prueba.

La Fig. 4 muestra correlaciones entre la dosis de ^{13}C -CaCO₃ ($\mu\text{mol}/\text{kg}$) de 4 a 200 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ y el "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)-tiempo" (ABC) determinada en el Ejemplo experimental 1. El gráfico del ABC para un tiempo de recogida de aire espirado de 0 a 60 minutos (ABC60) frente a la dosis de ^{13}C -CaCO₃ (4 a 200 $\mu\text{mol}/\text{kg}$) se muestra en el lado derecho, mientras que el gráfico de ABC para un tiempo de recogida de aire espirado de 0 a 120 minutos (ABC120) frente a la dosis de ^{13}C -CaCO₃ (4 a 200 $\mu\text{mol}/\text{kg}$) se muestra en el lado izquierdo.

La Fig. 5(1) muestra, en el lado izquierdo, una correlación entre la dosis de ^{13}C -CaCO₃ ($\mu\text{mol}/\text{kg}$) de 4 a 200 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en un momento de recogida de aire espirado de 30 minutos, que se determinó en el Ejemplo experimental 1; y muestra, en el lado derecho, una relación entre la dosis de ^{13}C -CaCO₃ ($\mu\text{mol}/\text{kg}$) de 4 a 2500 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en un momento de recogida de aire espirado de 30 minutos, que se determinó en el Ejemplo experimental 1 (la ordenada se indica por Log). La Fig. 5(2) muestra, en el lado izquierdo, una correlación entre la dosis de ^{13}C -CaCO₃ ($\mu\text{mol}/\text{kg}$) de 4 a 200 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ y el ABC para un tiempo de recogida de aire espirado de 0 a 60 minutos (ABC60), que se determinó en el Ejemplo experimental 1 (este gráfico es el mismo gráfico mostrado en el lado derecho de la Fig. 4). La Fig. 5(2) también muestra una relación entre la dosis de ^{13}C -CaCO₃ ($\mu\text{mol}/\text{kg}$) de 4 a 2500 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ y el ABC60 en el lado derecho (la ordenada se indica por Log).

En la Fig. 6, \square - y \blacksquare -, respectivamente, muestran cambios en $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) ($\delta^{13}\text{C}_t$ en el aire espirado en cada momento en el tiempo para recoger el aire espirado (t) después de la administración de ^{13}C -CaCO₃ menos $\delta^{13}\text{C}_0$ en el aire espirado antes de la administración de ^{13}C -CaCO₃) en el aire espirado medido en el Grupo 1 (grupo de control: ratas normales) y Grupo 2 (grupo modelo con acidez gástrica reducida) frente al tiempo transcurrido después de la administración de la suspensión de ^{13}C -CaCO₃ (momento en el tiempo para recoger el aire espirado) (Ejemplo experimental 2).

En la Fig. 7, \square - y \blacksquare -, respectivamente, muestran cambios en $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) ($\delta^{13}\text{C}_t$ en el aire espirado en cada momento en el tiempo para recoger el aire espirado después de la administración de ^{13}C -CaCO₃ menos $\delta^{13}\text{C}_0$ en el aire espirado antes de la administración de ^{13}C -CaCO₃) en el aire espirado después de administrar la suspensión de ^{13}C -CaCO₃ al Grupo 1 (grupo de control: ratas normales) a una dosis de 500 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ y después

de administrar la suspensión de ^{13}C - CaCO_3 al Grupo 2 (grupo de control: ratas normales) a una dosis de 1000 $\mu\text{mol/kg}$ frente al tiempo (t) después de la administración. Además, $-\Delta$ - y $-\blacktriangle$ -, respectivamente, muestran cambios en $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado después de administrar la suspensión de ^{13}C - CaCO_3 al Grupo 3 (grupo modelo con acidez gástrica elevada) a una dosis de 500 $\mu\text{mol/kg}$, y después de administrar la suspensión de ^{13}C - CaCO_3 al Grupo 4 (grupo modelo con acidez gástrica elevada) a una dosis de 1000 $\mu\text{mol/kg}$ frente al tiempo (t) después de la administración (Ejemplo experimental 3).

La Fig. 8 muestra correlaciones entre la dosis de ^{13}C - CaCO_3 ($\mu\text{mol/kg}$) de 4 a 1000 $\mu\text{mol/kg}$ y el "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)-tiempo" para un tiempo de recogida de aire espirado de 0 a 120 minutos (ABC120), que se determinó en el Ejemplo experimental 3, en el Grupo 1 (grupo de control: ratas normales, $-\blacklozenge$ -) y Grupo 4 (grupo modelo con acidez gástrica elevada, $-\blacktriangle$ -).

La Fig. 9 muestra cambios en $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) ($\delta^{13}\text{C}_t$ en el aire espirado en cada momento de recogida en el tiempo (t) después de la administración de la disolución de administración menos $\delta^{13}\text{C}_0$ en el aire espirado antes de la administración de la disolución de administración) en el aire espirado después de administrar la suspensión de ^{13}C - CaCO_3 a 4 $\mu\text{mol/4 ml}$ a ratas a una tasa de 4 ml por kg de peso corporal en el Ejemplo experimental 4, y después de que cada una de las disoluciones de administración (10, 20, 50 y 100 $\mu\text{mol/4 ml}$) de una mezcla de ^{12}C - CaCO_3 a cada concentración de 6, 16, 46 y 96 $\mu\text{mol/4 ml}$ y ^{13}C - CaCO_3 a 4 $\mu\text{mol/4 ml}$ se administrara a las ratas a una tasa de 4 ml por kg de peso corporal en el Ejemplo experimental 4.

La Fig. 10 muestra cambios en $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) (valor de $\delta^{13}\text{C}$ en el aire espirado en cada momento de recogida en el tiempo después de la administración menos el valor de $\delta^{13}\text{C}$ en el aire espirado antes de la administración) en el aire espirado después de administrar la suspensión de ^{13}C - CaCO_3 a 4 $\mu\text{mol/4 ml}$ a ratas a una tasa de 4 ml por kg de peso corporal en el Ejemplo experimental 5 y después de que cada una de las mezclas (concentraciones finales: 10, 20, 50 y 100 $\mu\text{mol/4 ml}$) de ^{13}C - CaCO_3 a 4 $\mu\text{mol/4 ml}$ y acetato sódico se administraran a las ratas a una tasa de 4 ml por kg de peso corporal en el Ejemplo experimental 5.

La Fig. 11 muestra cambios con el tiempo en $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) medido a partir de $^{13}\text{CO}_2$ en el aire espirado después de que cada una de las suspensiones de ^{13}C - CaCO_3 a diversas concentraciones (400, 300, 200, 100, 50 y 20 mg/50 ml) se administrara a seres humanos (50 ml/cuerpo) en el Ejemplo experimental 6. En la Fig. 11, $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado se representa en la ordenada, y el tiempo de recogida de aire espirado (minutos) después de la administración de ^{13}C - CaCO_3 se representa en la abscisa.

La Fig. 12 muestra correlaciones entre la dosis de ^{13}C - CaCO_3 (mg/cuerpo) de 20 a 200 mg/cuerpo y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado en sujetos (seres humanos) (Ejemplo experimental 6). La Fig. 12(1) muestra una correlación entre la dosis (mg/cuerpo) y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado en el caso en el que el aire espirado recogido 8 minutos después de la administración de la preparación de administración se usó como muestra de prueba. La Fig. 12(2) muestra una correlación entre la dosis (mg/cuerpo) y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado en el caso en el que el aire espirado recogido 12 minutos después de la administración de la preparación de administración se usó como muestra de prueba. La Fig. 12(3) muestra una correlación entre la dosis (mg/cuerpo) y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado en el caso en el que el aire espirado recogido 16 minutos después de la administración de la preparación de administración se usó como muestra de prueba.

La Fig. 13 muestra correlaciones entre la dosis de ^{13}C - CaCO_3 (mg/kg) de 20 a 200 mg/cuerpo y el "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)-tiempo" (ABC), que se determinó en el Ejemplo experimental 6. El gráfico del ABC para un tiempo de recogida de aire espirado de 0 a 20 minutos (ABC20) frente a la dosis de ^{13}C - CaCO_3 (20 a 200 mg/cuerpo) se muestra en el lado izquierdo, mientras que el gráfico del ABC para un tiempo de recogida de aire espirado de 0 a 60 minutos (ABC60) frente a la dosis de ^{13}C - CaCO_3 (20 a 200 mg/cuerpo) se muestra en el lado derecho.

La Fig. 14 muestra, en el lado izquierdo, una correlación entre la dosis de ^{13}C - CaCO_3 (mg/cuerpo) de 20 a 200 mg/cuerpo y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en un momento de recogida de aire espirado de 30 minutos, que se determinó en el Ejemplo experimental 6; y muestra, en el lado derecho, una relación entre la dosis de ^{13}C - CaCO_3 (mg/cuerpo) de 20 a 400 mg/cuerpo y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en un momento de recogida de aire espirado de 30 minutos, que se determinó en el Ejemplo experimental 6 (la ordenada se indica por Log).

La Fig. 15 es un gráfico que muestra la influencia de CYP2C19 y el inhibidor de CYP3A4 ketoconazol en la capacidad de secreción de ácido gástrico del inhibidor de la bomba de protones omeprazol (véase el Ejemplo experimental 7).

La Fig. 16 es un gráfico que muestra la influencia de CYP2C19 y el inhibidor de CYP3A4 ketoconazol en la acción inhibidora de la agregación de plaquetas de clopidogrel (véase el Ejemplo de referencia 1).

Descripción de realizaciones(1) Preparación usada para medir acidez gástrica

El método de medición de la acidez gástrica de la presente invención se realiza, como se describe después, usando, como sujeto, un mamífero al que un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C se administra por vía oral.

- 5 El compuesto de carbonato marcado con ^{13}C no está limitado y puede ser cualquier compuesto que, después de ser administrado por vía oral a un sujeto, reaccione con ácido gástrico y en algunos casos se degrade o metabolice en el estómago del sujeto, y se excrete en el aire espirado como dióxido de carbono marcado con ^{13}C ($^{13}\text{CO}_2$).

10 Ejemplos del compuesto que aparece rápidamente como dióxido de carbono marcado con ^{13}C en el aire espirado después de haber reaccionado con ácido gástrico en el estómago incluyen una amplia variedad de compuestos de carbonato marcados con ^{13}C que generan iones carbonato marcado con ^{13}C ($^{13}\text{CO}_3^{2-}$) o iones hidrogenocarbonato marcado con ^{13}C ($\text{H}^{13}\text{CO}_3^{-1}$) en una molécula cuando se disuelven. Ejemplos de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C tal incluyen compuestos de carbonato en un sentido estrecho que incluyen carbonatos de metales alcalinos tales como carbonato sódico y carbonato de potasio; carbonatos de metales alcalinotérreos tales como carbonato cálcico, carbonato de magnesio y carbonato de bario; y carbonato de amonio; y compuestos de hidrogenocarbonato que incluyen hidrogenocarbonatos de metales alcalinos tales como hidrogenocarbonato de potasio e hidrogenocarbonato de sodio; e hidrogenocarbonato de amonio. Ejemplos preferibles incluyen carbonato cálcico, carbonato de magnesio, carbonato sódico, carbonato de potasio, hidrogenocarbonato de sodio e hidrogenocarbonato de potasio. Tales compuestos pueden reflejar y medir correctamente la producción de ácido gástrico ya que es poco probable que sean influidos por factores fisiológicos tales como la absorción y el metabolismo.

15 Ejemplos de compuestos marcados con ^{13}C distintos de compuestos de carbonato marcado con ^{13}C , que aparecen como dióxido de carbono marcado con ^{13}C ($^{13}\text{CO}_2$) en el aire espirado después de disolverse y luego degradarse o metabolizarse en el cuerpo, incluyen aminoácidos marcados con ^{13}C , proteínas, ácidos orgánicos, sales (por ejemplo, sales de metales alcalinos, tales como Na) de ácidos orgánicos, sacáridos, lípidos, y similares. Estos compuestos generan dióxido de carbono marcado con ^{13}C en el aire espirado mediante el metabolismo hepático, después de ser digeridos y absorbidos. Ejemplos de los aminoácidos incluyen glicina, fenilalanina, triptófano, metionina, valina, histidina, y similares. Ejemplos de los ácidos orgánicos incluyen ácido acético, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido butírico, ácido propiónico, ácido octanoico, y sus sales de metales alcalinos. Ejemplos de sacáridos incluyen glucosa, galactosa, xilosa, lactosa, y similares. Ejemplos de los lípidos incluyen triglicéridos de cadena media tales como trioctanoína. Sin embargo, estos ejemplos no son limitantes. Preferentemente, puede usarse un aminoácido tal como glicina, un ácido orgánico tal como ácido acético o ácido octanoico, o una sal de metal alcalino (por ejemplo, sal de sodio o sal de potasio) de un ácido orgánico tal.

20 El método de marcado con el isótopo (^{13}C) no está limitado, y puede ser uno convencional. Además, puede usarse una amplia variedad de compuestos de carbonato marcado con ^{13}C conocidos o comercialmente disponibles, que se marcan con un isótopo tal (^{13}C) (Sasaki, "5.1 Application of Stable Isotopes in Clinical Diagnosis": Kagaku no Ryoiki [Journal of Japanese Chemistry] 107, "Application of Stable Isotopes in Medicine, Pharmacy, and Biology", pp. 149-163 (1975), Nankodo: Kajiwara, RADIOISOTOPES, 41, 45-48 (1992), etc.).

25 La preparación que va a administrarse a un sujeto (mamífero) en el método de la presente invención (en lo sucesivo denominado simplemente "preparación de administración") puede ser de por sí el compuesto de carbonato marcado con ^{13}C anteriormente mencionado (usado individualmente), o puede usarse en forma de una composición preparada añadiendo, como otros componentes, por ejemplo, un excipiente tal como lactosa, sacarosa, cloruro sódico, glucosa, urea, almidón, carbonato cálcico, caolín, celulosa cristalina o ácido silícico; un aglutinante tal como jarabe simple, disolución de glucosa, disolución de almidón, disolución de gelatina, carboximetilcelulosa, Shellac, metilcelulosa, fosfato de potasio o polivinilpirrolidona; un disgregante tal como almidón seco, alginato de sodio, polvo de agar, polvo de laminaran, ésteres de ácidos grasos de sorbitano con polioxietileno, laurilsulfato de sodio, monoglicérido de ácido esteárico, almidón o lactosa; un acelerador de la absorción tal como base de amonio cuaternario o laurilsulfato de sodio; un humectante, tal como glicerina o almidón; un lubricante tal como estearato de talco purificado, polvo de ácido bórico o polietilenglicol; otros aditivos (por ejemplo, un mejorador del aroma, mejorador del sabor, estabilizador, etc.); o similares.

30 La preparación de administración usada en la presente invención puede ser un sólido, semisólido o líquido, y puede formularse en diversas formas tales como polvos, gránulos, comprimidos, píldoras y líquidos. Sin embargo, es preferible que la preparación de administración usada en la presente invención se disuelva rápidamente en el estómago. Desde este punto de vista, cápsulas en las que un compuesto marcado con ^{13}C se encapsula con una base de cápsula no son particularmente preferibles. También desde el punto de vista de la solubilidad instantánea, gránulos, comprimidos y píldoras no están preferentemente cubiertos por una película soluble dependiente del pH o un recubrimiento de azúcar poco soluble.

35 La cantidad de la preparación de administración no está limitada, pero puede seleccionarse adecuadamente generalmente del intervalo de 10 mg a 20 g, y preferentemente del intervalo de 10 mg a 10 g, por dosis unitaria

debido a que una cantidad tal de la preparación es fácil de tomar. La cantidad del compuesto de carbonato marcado con ^{13}C contenida por dosis unitaria de la preparación de administración no está limitada, pero puede seleccionarse adecuadamente generalmente del intervalo de 10 mg a 5 g, preferentemente 10 mg a 4 g, más preferentemente 20 mg a 2 g por cuerpo. Además, la cantidad puede ajustarse adecuadamente según el tipo y peso corporal individual de un sujeto mamífero. La administración se realiza en el plazo de 30 minutos, preferentemente 20 minutos, y más preferentemente 15 minutos antes de la recogida del aire espirado para medir la acidez gástrica, generalmente una vez o dos veces, preferentemente una vez.

(II) Método de medición de la acidez gástrica

La medición de la acidez gástrica de un mamífero en la presente invención se realiza no invasivamente usando, como muestra de prueba, el aire espirado recogido del mamífero (denominado algunas veces más adelante en el presente documento un "sujeto") al que se ha administrado por vía oral la preparación de administración anteriormente mencionada (compuesto de carbonato marcado con ^{13}C o preparación que contiene el compuesto).

Los mamíferos elegidos por la presente invención no están limitados, en tanto que el aparato respiratorio y el aparato digestivo (particularmente el sistema de secreción de ácido gástrico de los mamíferos tenga la misma función que el aparato respiratorio y el aparato digestivo de los seres humanos. Ejemplos de los mismos incluyen seres humanos, monos, perros, gatos, conejos, cobayas, ratas, ratones, y similares. Se usan preferentemente seres humanos; sin embargo, cuando se usan animales de prueba, se prefieren perros, conejos, cobayas, ratas y ratones debido a que están fácilmente disponibles y son fáciles de manipular.

Un método que incluye las siguientes etapas (1) a (3) es una realización del método de medición de la acidez gástrica.

(1) La etapa en la que usando, como muestra de prueba, el aire espirado de un sujeto mamífero excretado en cualquier momento en el tiempo en el plazo de 30 minutos después de la administración por vía oral de una cantidad predeterminada de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C , se mide el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado.

(2) La etapa en la que el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ (denominado más adelante en el presente documento "comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido") obtenido en la etapa (1) se compara con el comportamiento del $^{13}\text{CO}_2$ correspondiente (denominado más adelante en el presente documento "comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia") que ha sido obtenido de antemano en un mamífero de control.

(3) La etapa en la que la acidez gástrica del sujeto mamífero se determina basándose en la diferencia entre el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia obtenido anteriormente.

Como "compuesto de carbonato marcado con ^{13}C " usado en las etapas (1) y (2) anteriores, pueden usarse aquellos mencionados en la sección (I). En lugar del compuesto de carbonato marcado con ^{13}C , pueden usarse las preparaciones que contienen el compuesto de carbonato marcado con ^{13}C explicado en la sección (I). (En la presente invención, un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C y una preparación de administración por vía oral que contiene el compuesto de carbonato marcado con ^{13}C se denominan correctivamente una "preparación de administración"). En este sentido, el "compuesto de carbonato marcado con ^{13}C " mencionado en la etapa (1) anterior también puede denominarse la "preparación de administración".

Las etapas respectivas en el método de medición de la acidez gástrica se explican a continuación.

(1) Etapa de medición del comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado

La etapa (1) es una etapa de recoger aire espirado de un sujeto (mamífero) al que una cantidad predeterminada de una preparación de administración (un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C o una preparación que contiene el compuesto) se ha administrado por vía oral de antemano, y medir el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ contenido en el aire espirado recogido.

El método y el momento de administración por vía oral de la preparación de administración al sujeto no están limitados. Para medir la acidez gástrica básica (acidez gástrica en ayunas), la preparación se administra preferentemente a un estómago vacío para evitar la influencia de alimentos. Más preferentemente, se desea que la preparación se administre por vía oral 4 horas, incluso más preferentemente 10 horas después del inicio del ayuno. Sin embargo, para medir la acidez gástrica bajo condiciones fisiológicas generales mientras que se reducen las variaciones en los valores medidos entre individuos, es preferible medir la acidez gástrica después de la estimulación de la secreción de ácido gástrico. En este caso, es preferible administrar una bebida de prueba (por ejemplo, agua, bebida que contiene cafeína, bebida alcohólica y sopa de consomé; y alimentos sólidos o líquidos tales como Calorie Mate (marca registrada) o inyectar un estimulante de la secreción de ácido gástrico (por ejemplo, clorhidrato de histamina, clorhidrato de betazol, gastrina, insulina, etc.) para estimular la secreción de ácido gástrico, y entonces administrar por vía oral una preparación al menos una hora después de la administración o inyección.

Cuando la preparación de administración por vía oral administrada al sujeto entra en el estómago, se disuelve con el jugo gástrico para liberar un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C , y el compuesto de carbonato marcado con ^{13}C reacciona con el ácido gástrico para formar dióxido de carbono marcado con ^{13}C ($^{13}\text{CO}_2$). El dióxido de carbono marcado con ^{13}C es gradualmente excretado en el aire espirado.

- 5 Una fórmula de reacción para formar dióxido de carbono marcado con ^{13}C ($^{13}\text{CO}_2$) se muestra a continuación usando carbonato cálcico marcado con ^{13}C ($\text{Ca}^{13}\text{CO}_3$) como compuesto de carbonato marcado con ^{13}C .



El "comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ " medido en la presente invención es el siguiente (c) o (d):

- 10 (c) La diferencia [$\Delta^{13}\text{C} (\text{‰}) = \delta^{13}\text{C}_t - \delta^{13}\text{C}_0$] (denominada más adelante en el presente documento " $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})_t$ " o " $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$ ") entre la "relación de la cantidad de $^{13}\text{CO}_2$ con respecto a la cantidad de $^{12}\text{CO}_2$ " (denominada más adelante en el presente documento " $\delta^{13}\text{C}_t$ ") incluida en el aire espirado recogido en cualquier momento en el tiempo para recoger el aire espirado (t) en el plazo de 30 minutos después de la administración por vía oral de una cantidad predeterminada de la preparación de administración, y la "relación de la cantidad de $^{13}\text{CO}_2$ con respecto a la cantidad de $^{12}\text{CO}_2$ " (denominada más adelante en el presente documento " $\delta^{13}\text{C}_0$ ") incluida en el aire espirado antes de la administración por vía oral de la preparación de administración.

(d) ABC "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$ -tiempo" calculada haciendo un gráfico que representa el tiempo desde la administración de la cantidad predeterminada de la preparación de administración hasta la recogida de aire espirado en la abscisa y $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$ en la ordenada.

- 20 El comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ es $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$ o el "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$ -tiempo" (ABC), preferentemente $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$.

Específicamente, el comportamiento de tal $^{13}\text{CO}_2$ puede medirse del siguiente modo.

- 25 Después de administrar por vía oral la cantidad predeterminada de la preparación de administración a un sujeto, el aire espirado se recoge según un método de prueba de espiración de ^{13}C convencional (Kajiwara, RADIOISOTOPES, 41, 45-48 (1992); Kajiwara et al., RADIOISOTOPES, 41, 331-334 (1992), etc.). La cantidad de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado se mide como la "relación de concentración de $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ ($\delta^{13}\text{C}$)" en cada momento en el tiempo para recoger el aire espirado (t) (" $\delta^{13}\text{C}_t$ ": la relación de la cantidad de $^{13}\text{CO}_2$ con respecto a la cantidad de $^{12}\text{CO}_2$ (dióxido de carbono) excretado en el aire espirado, t representa un tiempo de recogida de aire espirado (un tiempo transcurrido después de la administración de la preparación de administración)).

- 30 Posteriormente, basándose en la diferencia entre " $\delta^{13}\text{C}_t$ " y la referencia "relación de concentración de $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ ($\delta^{13}\text{C}$)" (denominada algunas veces en lo sucesivo " $\delta^{13}\text{C}_0$ "), que se ha medido de antemano antes de la administración de la preparación de administración, se calcula " $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$ " [$\Delta^{13}\text{C} (\text{‰}) = \delta^{13}\text{C}_t - \delta^{13}\text{C}_0$]. El comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado en cualquier momento en el tiempo (t) en el plazo de 30 minutos después de la administración de la preparación puede obtenerse según la fórmula anterior [$\Delta^{13}\text{C} (\text{‰}) = \delta^{13}\text{C}_t - \delta^{13}\text{C}_0$] ("t" significa un tiempo de recogida de aire espirado en el plazo de 30 minutos desde la administración de la preparación de administración).

El comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado con el tiempo puede obtenerse representando el cambio de $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$ con el tiempo. Específicamente, el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ puede obtenerse haciendo un gráfico que representa el tiempo de recogida de aire espirado (min); en otras palabras, el transcurso de tiempo (min) después de la administración de la preparación en la abscisa y $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$ en la ordenada.

- 40 La sustancia marcada ($^{13}\text{CO}_2$) contenida en el aire espirado recogido puede medirse y analizarse por una técnica de análisis convencional, tal como recuento de centelleo líquido, espectroscopía de masas, análisis espectroscópico de infrarrojos, análisis espectroquímico de emisión, o análisis espectral de resonancia magnética. Desde el punto de vista de la exactitud de medición, se prefieren el análisis espectroscópico de infrarrojos y la espectrometría de masas.

- 45 Además, el "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$ -tiempo" (ABC) puede obtenerse calculando el área bajo la curva basándose en el gráfico en el que el transcurso de tiempo (min) después de la administración de la preparación de administración (tiempo de recogida de aire espirado: t) se representa en la abscisa y $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$ se representa en la ordenada.

- 50 El momento de recogida del aire espirado es generalmente al menos 10 segundos y preferentemente al menos un minuto después de la administración por vía oral de la preparación de administración. El tiempo hasta que el aire espirado se recoge después de la administración de la preparación de administración está preferentemente en el plazo de 30 minutos, más preferentemente 20 minutos, e incluso más preferentemente 15 minutos. Por ejemplo, el aire espirado puede recogerse una vez o dos veces en el intervalo de 10 segundos a 30 minutos, preferentemente 1 minuto a 20 minutos, y más preferentemente 1 minuto a 15 minutos después de la administración por vía oral de la

preparación de administración, y se usa como muestra de prueba. El aire espirado se recoge preferentemente una vez.

La Fig. 1 (1) y (2) ilustran esquemáticamente los resultados de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) así obtenido frente a la dosis de la preparación de administración y el "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)-tiempo" (ABC) frente a la dosis de la preparación de administración, respectivamente. En la Fig. 1, a muestra la correlación entre la dosis y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) o ABC de un mamífero que tiene acidez gástrica más alta de la normal; b muestra la correlación entre la dosis y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) o ABC de un mamífero que tiene acidez gástrica normal; y c muestra una correlación entre la dosis y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) o ABC de un mamífero que tiene acidez gástrica más baja de la normal.

Como se muestra en la figura, independientemente del grado de acidez gástrica, en todos los sujetos que tienen acidez gástrica normal, los sujetos (mamíferos) que tienen acidez gástrica superior a la acidez normal (incluyendo, por ejemplo, pacientes con "hiperacidez") y los sujetos (mamíferos) que tiene acidez gástrica más baja de la acidez normal (incluyendo, por ejemplo, pacientes con "hipoacidez o anacidez"), la correlación que pasa por el origen se observa entre la dosis de la preparación de administración y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰), o entre la dosis y ABC hasta una cierta cantidad; sin embargo, el valor llega a ser constante cuando la dosis supera una cierta cantidad. Una cierta cantidad tal se denomina "valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)" o "valor de meseta de ABC", y la dosis a la que $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) o ABC alcanza el valor de meseta se denomina "dosis de referencia".

El "valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)" y la "dosis de referencia" varían dependiendo de la acidez gástrica del sujeto (mamífero). Específicamente, como se muestra en la Fig. 1 (1), el "valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)" y la "dosis de referencia" dependen de la acidez gástrica del sujeto (mamífero). Cuando el "valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)" y la "dosis de referencia" de la acidez gástrica normal se consideran como valores estándar (denominado más adelante en el presente documento "valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) normal" y "dosis de referencia normal" por comodidad en la presente memoria descriptiva), un sujeto (sujeto con acidez gástrica alta) que tiene acidez gástrica más alta de la normal, tal como un paciente con hiperacidez, tiene un valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) más alto que el valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) normal, y una dosis de referencia más alta que la dosis de referencia normal. Un sujeto (sujeto con acidez gástrica baja) que tiene acidez gástrica más baja de la normal, tal como un paciente con hipoacidez o anacidez, tiene un valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) más bajo que el valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) normal, y una dosis de referencia más baja que la dosis de referencia normal.

El "valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)" y la "dosis de referencia" de un sujeto (mamífero) que tiene acidez gástrica más alta de la normal se denominan "valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) de acidez alta" y "dosis de referencia de acidez alta" por comodidad. El "valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)" y la "dosis de referencia" de un sujeto (mamífero) que tiene acidez gástrica más baja de la normal se denominan "valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) de acidez baja" y "dosis de referencia de acidez baja" por comodidad.

El "valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)" (valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) normal, valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) de acidez alta y valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) de acidez baja) y la "dosis de referencia" (dosis de referencia normal, dosis de referencia de acidez alta y dosis de referencia de acidez baja) pueden obtenerse realizando las siguientes etapas (a) a (c) en un mamífero de control de antemano, y haciendo un gráfico (denominado más adelante en el presente documento una representación "dosis- $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)") en la que la dosis de preparación de administración se representa en la abscisa y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) se representa en la ordenada.

(a) La etapa en la que una preparación de administración (incluyendo una preparación que contiene un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C solo) se administra por vía oral a un mamífero de control a una dosis que oscila de 0 a 2500 (dosis), y la cantidad de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado del mamífero se mide para cada dosis.

(b) La etapa en la que $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)_t se obtiene calculando una diferencia ($\Delta^{13}\text{C}$ (‰) = $\delta^{13}\text{C}_t - \delta^{13}\text{C}_0$) entre la relación de la cantidad de $^{13}\text{CO}_2$ con respecto a la cantidad de $^{12}\text{CO}_2$ (relación de concentración de $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$) (" $\delta^{13}\text{C}_t$ ") en el aire espirado en un momento en el tiempo para recoger el aire espirado (t) y la relación de la cantidad de $^{13}\text{CO}_2$ con respecto a la cantidad de $^{12}\text{CO}_2$ (relación de concentración de $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$) (" $\delta^{13}\text{C}_0$ ") en el aire espirado antes de la administración, basado en la cantidad de $^{13}\text{CO}_2$ obtenida anteriormente.

(c) La etapa en la que $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)_t obtenido en la etapa (b) anterior se representa frente a la dosis de la preparación de administración para formar una curva de calibración.

El mamífero de control usado en el presente documento es preferentemente el mismo tipo de animal que el sujeto mamífero. Por ejemplo, cuando el sujeto de medición (mamífero) es un ser humano, el sujeto de control es preferentemente un ser humano (mamífero); y cuando el sujeto de medición (mamífero) es una rata, el sujeto de control es preferentemente una rata (mamífero). Aunque no hay limitación, el sexo, edad, peso, y similares del sujeto de control se corresponden preferentemente con aquellos del sujeto mamífero. En lo anterior, la unidad de dosis (0 a 2500) es, por ejemplo, "μmol/kg" o "mg/cuerpo". Como se muestra en los ejemplos, cuando se usan animales de prueba tales como ratas, puede usarse la unidad "μmol/kg"; y, para seres humanos, se usa preferentemente la unidad "mg/cuerpo".

El valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) normal y la dosis de referencia normal pueden calcularse usando un mamífero (normal mamífero) que tiene acidez gástrica normal como mamífero de control. En general, los mamíferos comunes tienen acidez gástrica normal; sin embargo, por ejemplo, puede ser mejor confirmar de antemano si el mamífero de control tiene acidez gástrica normal usando los otros métodos de medición descritos, por ejemplo, en "Stomach, intestinal, pancreatic function examinations" (Outline of Clinical Examination, 33ª edición, Kanehara & Co., Ltd.) y Bibliografía de patente 1. La acidez gástrica usada en la presente invención se corresponde con "[la concentración de ácido clorhídrico en el estómago (mEq/l)] x [volumen de jugo gástrico (l)]".

El valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) de acidez alta y la dosis de referencia de acidez alta pueden calcularse usando un mamífero que tiene acidez gástrica más alta de la normal como mamífero de control. Mamíferos que tienen acidez gástrica alta pueden distinguirse por los otros métodos de medición de la acidez gástrica (véase Bibliografía de patente 1 y las referencias mencionadas anteriormente). Alternativamente, pueden prepararse mamíferos que tienen acidez gástrica alta usando una medición artificial, es decir, administrando al mamífero normal un fármaco que promueve y aumenta la secreción de ácido gástrico, como se muestra en el Ejemplo experimental 3 mencionado después, para aumentar la acidez gástrica. Pueden usarse los mamíferos así obtenidos.

El valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) de acidez baja y la dosis de referencia de acidez baja pueden calcularse usando un mamífero que tiene acidez gástrica más baja de la normal como mamífero de control. Los mamíferos que tienen acidez gástrica baja puede distinguirse por los otros métodos de medición de acidez gástrica (véase Bibliografía de patente 1 y las referencias mencionadas anteriormente). Alternativamente, pueden prepararse mamíferos que tienen acidez gástrica baja usando una medición artificial, es decir, administrando al mamífero normal un fármaco que inhibe la secreción de ácido gástrico, como se muestra en el Ejemplo experimental 2 mencionado después, para reducir la acidez gástrica. Pueden usarse los mamíferos así obtenidos.

En la etapa (1), la dosis de la preparación de administración (un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C o una preparación que contiene el compuesto) que ha sido administrada de antemano a un sujeto (mamífero) en la etapa (1) puede determinarse basándose en la representación "dosis- $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)" preparada para el mamífero de control de antemano, o la "dosis de referencia" (dosis de referencia normal, dosis de referencia de acidez alta y dosis de referencia de acidez baja) obtenida de la representación. En la presente invención, esto se llama una "dosis predeterminada". La dosis predeterminada usada en la etapa (1) es generalmente más baja que la dosis de referencia de acidez alta, preferentemente en el intervalo de la dosis de referencia de acidez baja a la dosis de referencia de acidez alta, y más preferentemente la dosis de referencia normal o aproximadamente la dosis de referencia normal (dosis de referencia normal $\pm 100 \mu\text{mol/kg}$ o $\pm 100 \text{mg/cuerpo}$). La dosis de referencia normal no está limitada, y puede ser aproximadamente $200 \mu\text{mol/kg}$ o 200mg/cuerpo .

Así, se explica la relación entre el "valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)" y la "dosis de referencia". Como se muestra en la Fig. 1, puede observarse una relación similar entre el "valor de meseta de ABC" y la "dosis de referencia"; por tanto, puede usarse el valor de meseta de ABC en lugar del valor de meseta de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰).

(2) Etapa de comparación del comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia

(3) Etapa de determinación de la acidez gástrica del sujeto mamífero

La etapa (2) es una etapa de comparación del comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido) obtenido en la etapa (1) con el comportamiento del $^{13}\text{CO}_2$ correspondiente (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia) que ha sido obtenido de antemano en un mamífero de control.

La etapa (3) es una etapa de determinación de la acidez gástrica de un sujeto mamífero basándose en la diferencia entre el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia obtenido en la etapa (2).

El "comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ " es el siguiente (c) o (d), y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido en el mismo tipo de animal que el sujeto mamífero cuyo comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido) se mide, se usa como el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia.

(c) Diferencia [$\Delta^{13}\text{C}$ (‰) = $\delta^{13}\text{C}_t - \delta^{13}\text{C}_0$] entre la "relación de la cantidad de $^{13}\text{CO}_2$ con respecto a la cantidad de $^{12}\text{CO}_2$ " ($\delta^{13}\text{C}_t$) incluida en el aire espirado recogido en cualquier momento en el tiempo (t) para recoger el aire espirado en el plazo de 30 minutos después de la administración por vía oral de la cantidad predeterminada de la preparación de administración y la "relación de la cantidad de $^{13}\text{CO}_2$ con respecto a la cantidad de $^{12}\text{CO}_2$ " ($\delta^{13}\text{C}_0$) incluida en el aire espirado antes de la administración por vía oral de la preparación de administración.

(d) ABC "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)-tiempo" calculada haciendo un gráfico que representa el tiempo desde la administración de la cantidad predeterminada de la preparación de administración hasta la recogida de aire espirado en la abscisa y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en la ordenada.

El comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ es $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) o ABC, y más preferentemente $\Delta^{13}\text{C}$ (‰).

Por ejemplo, cuando $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) se usa como el "comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ ", la acidez gástrica del sujeto mamífero puede cuantificarse por el siguiente método.

(i) Como una dosis predeterminada, la dosis de referencia normal de la preparación de administración se administra a un sujeto mamífero.

(ii) El aire espirado se recoge en cualquier momento en el tiempo en el plazo de 30 minutos después de la administración, y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) (esto se llama " $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) medido") se obtiene basándose en la cantidad de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado.

(iii) A partir de la representación "dosis- $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)" (curva de calibración que indica la relación entre la dosis de preparación de administración y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)), que se ha producido de antemano para el mamífero de control que tiene acidez gástrica normal, se obtiene $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) (denominado " $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) de referencia") correspondiente a la dosis de referencia normal, y se compara con $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) medido.

(iv) Cuando $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) medido es inferior a $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) de referencia, puede determinarse que la acidez gástrica del sujeto mamífero es más baja del valor normal.

(v) Cuando $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) medido es el misma que $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) de referencia, puede determinarse que la acidez gástrica del sujeto mamífero es la misma que o superior al valor normal.

Por ejemplo, con referencia a figura izquierda de la Fig. 12 (Ejemplo experimental 6), que es la representación "dosis- $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)" en la que se administra por vía oral $\text{Ca}^{13}\text{CO}_3$ a una dosis de hasta 200 mg/cuerpo a un ser humano, cuando $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) es un valor (140) que corta la representación "dosis- $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)" 8 minutos después de la administración por vía oral de 150 mg/cuerpo de la preparación de administración ($\text{Ca}^{13}\text{CO}_3$), se determina que la acidez gástrica es normal o superior a la normal; y cuando $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) es inferior a ese valor (140), por ejemplo, 100, se determina que la acidez gástrica es más baja que la normal.

En este caso, la acidez gástrica del sujeto mamífero puede calcularse del siguiente modo.

(a) Obtener la dosis (mg/cuerpo o $\mu\text{mol/kg}$) (denominada más adelante en el presente documento "cantidad equivalente de carbonato cálcico") a la que la representación "dosis- $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)" corta con el valor de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) medido.

(b) Calcular la acidez gástrica (M o Eq) usando la cantidad equivalente de carbonato cálcico obtenida en la etapa (a) (mg/cuerpo o $\mu\text{mol/kg}$) según la siguiente fórmula.

$$\text{Acidez gástrica (mM [mmol])} = [\text{cantidad equivalente de carbonato cálcico (mg/cuerpo)} \times 2] / \text{peso molecular del CaCO}_3; \text{ o}$$

$$\text{Acidez gástrica (}\mu\text{Eq)} = \text{cantidad equivalente de carbonato cálcico (}\mu\text{mol/kg)} \times \text{peso de sujeto mamífero} \times 2$$

Basándose en lo anterior, en la representación "dosis- $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)" en la figura izquierda superior de la Fig. 12, se determina que la cantidad equivalente de carbonato cálcico (mg/cuerpo) del sujeto cuyo $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) medido es 100 es 100 mg/cuerpo; por tanto, la acidez gástrica del sujeto es 2 mM según la siguiente fórmula.

$$\text{Acidez gástrica (mM [mmol])} = [100 \text{ mg/cuerpo} \times 2] / 100 \text{ (peso molecular del CaCO}_3\text{)}.$$

Como otro método, cuando el "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)-tiempo" (ABC) se usa como el "comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ ", la acidez gástrica del sujeto mamífero puede cuantificarse por el siguiente método.

(i) Como una dosis predeterminada, la dosis de referencia normal de la preparación de administración se administra a un sujeto mamífero.

(ii) Después de la administración, el aire espirado se recoge con el tiempo, y se obtiene $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) basándose en la cantidad de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado en un periodo predeterminado. El "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)-tiempo" (ABC) (denominada "ABC medida") se obtiene haciendo un gráfico que representa el tiempo desde la administración hasta la recogida de aire espirado en la abscisa y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en la ordenada.

(iii) A partir de la representación "dosis-ABC" (curva de calibración que indica la relación entre la dosis de la preparación de administración y el área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)-tiempo (ABC)), que ha sido producida de antemano para el mamífero de control, se obtiene ABC (denominada "ABC de referencia") correspondiente a la dosis de referencia normal, y se compara con el ABC medida.

(iv) Cuando el ABC medida es inferior al ABC de referencia, puede determinarse que la acidez gástrica del sujeto mamífero es más baja del valor normal.

(v) Cuando el ABC medida es la misma que el ABC de referencia, puede determinarse que la acidez gástrica del sujeto mamífero es la misma que o superior al valor normal.

En este caso, similar al caso donde se usa $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) como el "comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ ", la acidez gástrica del sujeto mamífero puede cuantificarse del siguiente modo.

(a) Obtener la dosis (mg/cuerpo o $\mu\text{mol}/\text{kg}$) (denominado más adelante en el presente documento "cantidad equivalente de carbonato cálcico") a la que la representación "dosis-ABC" corta con el valor de ABC medida.

(b) Calcular la acidez gástrica (M o Eq) usando la cantidad equivalente de carbonato cálcico obtenida en la etapa (a) según la siguiente fórmula.

$$\text{Acidez gástrica (mM [mmol])} = [\text{cantidad equivalente de carbonato cálcico (mg/cuerpo) x 2}] / \text{peso molecular del CaCO}_3; \text{ o}$$

$$\text{Acidez gástrica } (\mu\text{Eq}) = \text{cantidad equivalente de carbonato cálcico } (\mu\text{mol}/\text{kg}) \times \text{peso de sujeto mamífero} \times 2$$

El método de medición de la acidez gástrica de la presente invención explicado anteriormente puede usarse como método de diagnóstico o evaluación de la presencia o ausencia de una disminución o aumento de la secreción de ácido gástrico básico de mamíferos.

El método de medición de la acidez gástrica de la presente invención, particularmente el método usando $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) como "comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ ", es útil porque el método puede evaluar y diagnosticar no invasivamente la acidez gástrica de una manera simple con pocas recogidas de aire espirado (preferentemente una vez), y sin refrenar a un sujeto durante un largo periodo de tiempo. Usando el método de medición de la acidez gástrica de la presente invención, puede medirse la tendencia de la acidez gástrica (hiperacidez gástrica, normal, hipoacidez, anacidez, etc.), y, por consiguiente, pueden diagnosticarse enfermedades que implican la secreción de ácido gástrico. Además, pueden evaluarse el efecto de fármaco o el efecto del tratamiento con reductor de ácido gástrico. Específicamente, la evaluación puede realizarse midiendo la acidez gástrica antes y después de la administración del reductor de ácido gástrico a un sujeto usando la preparación de administración de la presente invención, y comparando los resultados. Por este método, pueden evaluarse el efecto de fármaco del fármaco de administración (reductor de ácido gástrico) y el efecto del tratamiento con cada fármaco en el sujeto. Por consiguiente, el método puede usarse como un medio para seleccionar un fármaco (reductor de ácido gástrico) adecuado para cada sujeto.

Además, como reductor de ácido gástrico, pueden usarse fármacos que tienen un efecto de aumentar el pH gástrico, que incluyen inhibidores de la secreción de ácido gástrico tales como inhibidores de la bomba de protones (PPI) y bloqueantes de H_2 , y fármacos que tienen un efecto de neutralización del ácido gástrico tales como antiácidos. Por tanto, la presente invención puede usarse como un método de detección de un cambio del pH gástrico por los fármacos para evaluar el efecto de los fármacos en un sujeto.

Para realizar el método de la presente invención, cuando se predice de antemano que la acidez gástrica del sujeto es alta, la acidez gástrica del sujeto puede evaluarse con exactitud o económicamente usando la dosis de referencia de acidez alta como dosis predeterminada. Cuando se evalúa el efecto del reductor de ácido gástrico en un sujeto que tiene acidez gástrica alta, como se espera una disminución en la acidez gástrica debido a la administración de un fármaco tal, la dosis de referencia normal se usa como una dosis predeterminada, y el efecto del fármaco puede así evaluarse con exactitud o económicamente. Cuando se predice de antemano que la acidez gástrica del sujeto es baja, la acidez gástrica del sujeto puede evaluarse económicamente usando la dosis de referencia de acidez baja como dosis predeterminada.

De los reductores de ácido gástrico, inhibidores de la bomba de protones tales como omeprazol y lansoprazol son fármacos metabolizados por enzimas del metabolismo hepático tales como CYP2C19 y CYP3A4. Por tanto, los efectos de estos fármacos dependen de la actividad enzimática (actividad metabólica) de CYP2C19 y CYP3A4 en un sujeto; sin embargo, como estas enzimas tienen una gran cantidad de polimorfismo genético, y la actividad enzimática (capacidad metabólica) es diferente dependiendo del polimorfismo genético, el efecto del omeprazol y el del lansoprazol son diferentes. Usando el método de medición de la acidez gástrica de la presente invención, puede medirse y evaluarse la actividad enzimática (actividad metabólica) de CYP2C19 y CYP3A4 en un sujeto basándose en la acidez gástrica después de la administración de omeprazol o lansoprazol. Incluso cuando se usan fármacos distintos de omeprazol y lansoprazol, evaluando la acidez gástrica después de la administración de omeprazol o lansoprazol, también puede evaluarse la susceptibilidad de un sujeto a fármacos cuya actividad se elimina por ser metabolizados por CYP2C19 y CYP3A4, o fármacos que presentan actividad por ser metabolizados por tales enzimas (por ejemplo, Plavix).

(III) Método de medición del efecto de un reductor de ácido gástrico

Como se indica anteriormente, usando el método de medición de la acidez gástrica de la presente invención, puede medirse el efecto del reductor de ácido gástrico en un sujeto mamífero. Específicamente, el método de medición del efecto puede realizarse por las siguientes etapas (1) a (4).

(1) La etapa en la que usando, como muestra de prueba, el aire espirado de un sujeto mamífero excretado en cualquier momento en el tiempo en el plazo de 30 minutos después de la administración por vía oral de

una cantidad predeterminada de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C , siendo la administración por vía oral realizada después de la administración de un reductor de ácido gástrico, se mide el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado.

5 (2) La etapa en la que el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido) obtenido en la etapa (1) se compara con el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ correspondiente (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia) medido en un mamífero (mamífero de control) al que se ha administrado por vía oral de antemano una cantidad predeterminada de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C sin administrar el reductor de ácido gástrico.

10 (3) La etapa en la que la acidez gástrica del sujeto mamífero se determina basándose en la diferencia entre el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido obtenido anteriormente.

(4) La etapa en la que el efecto del reductor de ácido gástrico en el sujeto mamífero se determina usando la acidez gástrica del sujeto mamífero obtenida anteriormente como índice.

15 El reductor de ácido gástrico incluye un inhibidor de la bomba de protones y un bloqueante de H_2 , teniendo cada uno un efecto de inhibición de la secreción de ácido gástrico, y un antiácido que tiene un efecto de neutralización de ácido gástrico.

20 Un inhibidor de la bomba de protones es un fármaco que actúa sobre la bomba de protones de las células parietales gástricas, e inhibe la secreción de ácido gástrico. Ejemplos de los fármacos incluyen omeprazol, lansoprazol, pantoprazol, rabeprazol, esomeprazol, y similares. Un bloqueante de H_2 es un fármaco que inhibe la secreción de ácido gástrico antagonizando competitivamente un receptor de histamina H_2 , que está presente en células parietales gástricas y potencia la secreción de ácido gástrico. Ejemplos de los mismos incluyen ranitidina, cimetidina, famotidina, nizatidina, lafutidina, clorhidrato de acetato de roxatidina, y similares. Además, un antiácido es un fármaco que tiene un efecto de neutralización del ácido gástrico producido en exceso para ajustar el pH gástrico. Ejemplos de los mismos incluyen hidróxido de magnesio, fosfato de calcio dibásico anhidro, carbonato cálcico precipitado, hidrogenocarbonato de sodio, óxido de magnesio, y similares.

25 La etapa (1), en la que se mide el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado, puede realizarse en un sujeto mamífero al que se administra por vía oral un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C después de la administración de un reductor de ácido gástrico cuyo efecto es un interés de evaluación. El sujeto mamífero es preferentemente un ser humano, como en el método de medición de la acidez gástrica. También pueden usarse animales de prueba tales como monos, perros, gatos, conejos, cobayas, ratas, ratones, etc.

30 El intervalo entre la administración del reductor de ácido gástrico y la administración del compuesto de carbonato marcado con ^{13}C a un sujeto mamífero no está limitado, pero está generalmente en el intervalo de 1 minuto a 12 horas, preferentemente 2 a 480 minutos, y más preferentemente 5 a 240 minutos.

35 Excepto por el uso del sujeto mamífero al que se administra un reductor de ácido gástrico antes de la administración de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C , la etapa (1) se realiza del mismo modo que en el método explicado en el punto (1) de la sección "(II) Método de medición de la acidez gástrica" anterior. Similarmente, al igual que el compuesto de carbonato marcado con ^{13}C , puede usarse la preparación de administración explicada en la sección "(I) Preparación usada para medir acidez gástrica".

40 La etapa (2), en la que se comparan el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia, es una etapa de comparación del comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido) obtenido en la etapa (1) y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ correspondiente (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia) que ha sido obtenido de antemano en un mamífero de control. El mamífero de control usado en el presente documento es un mamífero al que se administra por vía oral una cantidad predeterminada de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C como en el sujeto mamífero, sin administrar un reductor de ácido gástrico, y es generalmente el mismo tipo de sujeto mamífero, que se explica en el punto (II) anterior. No hay limitación particular, pero el mamífero de control tiene preferentemente el mismo sexo, y casi la misma edad y peso que el sujeto mamífero.

45 Excepto por el uso del comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ obtenido en el mamífero de control anteriormente mencionado como el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia, la etapa (2) puede usar el mismo método explicado en los puntos (1) y (2) de la sección "(II) Método de medición de la acidez gástrica".

50 La etapa (3), que determina la acidez gástrica, puede realizarse basándose en una diferencia entre el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido obtenido en la etapa (2), y puede usar el mismo método explicado en los puntos (2) y (3) de la sección "(II) Método de medición de la acidez gástrica".

La etapa (4), que determina el efecto del reductor de ácido gástrico, se lleva a cabo usando la acidez gástrica del sujeto mamífero obtenida en la etapa (3) como índice.

55 Específicamente, en la etapa (4), cuando la acidez gástrica del sujeto mamífero medida en la etapa (3) es la misma o superior a la acidez gástrica del mamífero de control, puede determinarse que el reductor de ácido gástrico

administrado no tiene efecto sobre el sujeto mamífero. Cuando la acidez gástrica del sujeto mamífero medida en la etapa (3) es inferior a la acidez gástrica del mamífero de control, puede determinarse que el reductor de ácido gástrico administrado tiene un efecto sobre un sujeto mamífero.

5 (IV) Método de evaluación de la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en un sujeto mamífero, efecto de un fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en un sujeto mamífero, o/y susceptibilidad de un sujeto mamífero al fármaco

10 Como se indica anteriormente, usando el método de medición de la acidez gástrica de la presente invención, pueden evaluarse la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en el sujeto mamífero, el efecto metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en el sujeto mamífero, o/y la susceptibilidad del sujeto mamífero al fármaco.

Específicamente, el método de evaluación puede llevarse a cabo realizando las siguientes etapas (1) a (4).

15 (1) La etapa en la que usando, como muestra de prueba, el aire espirado de un sujeto mamífero excretado en cualquier momento en el tiempo en el plazo de 30 minutos después de la administración por vía oral de una cantidad predeterminada de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C , siendo la administración por vía oral realizada después de la administración de omeprazol o lansoprazol, se mide el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado.

20 (2) La etapa en la que el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido) obtenido en la etapa (1) se mide con el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ correspondiente (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia) medido en un mamífero (mamífero de control) al que se ha administrado por vía oral de antemano una cantidad predeterminada de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C sin administrar el omeprazol o lansoprazol.

(3) La etapa en la que la acidez gástrica del sujeto mamífero se determina basándose en la diferencia entre el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido obtenido anteriormente.

25 (4) La etapa en la que se determinan la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en el sujeto mamífero, el efecto metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en el sujeto mamífero, o/y la susceptibilidad del sujeto mamífero al fármaco usando la acidez gástrica del sujeto mamífero obtenida anteriormente como índice.

Aquí, omeprazol y lansoprazol son ambos fármacos que son metabolizados en el cuerpo por los efectos de CYP2C19 y CYP3A4, que son enzimas del metabolismo hepático.

30 La etapa (1), en la que se mide el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado, puede realizarse en un sujeto mamífero al que se administra por vía oral un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C después de la administración de omeprazol o lansoprazol. El sujeto mamífero es preferentemente un ser humano, como en el método de medición de la acidez gástrica. También pueden usarse animales de prueba tales como monos, perros, gatos, conejos, cobayas, ratas, ratones, etc.

35 El intervalo entre la administración de omeprazol o lansoprazol y la administración del compuesto de carbonato marcado con ^{13}C al sujeto mamífero no está limitada, pero está generalmente en el intervalo de 1 minuto a 12 horas, preferentemente 2 a 480 minutos, y más preferentemente 5 a 240 minutos.

40 Excepto por el uso del sujeto mamífero al que se administra que omeprazol o lansoprazol antes de la administración de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C , la etapa (1) se realiza del mismo modo que en el método explicado en el punto (1) de la sección "(II) Método de medición de la acidez gástrica" anterior. Similarmente, al igual que el compuesto de carbonato marcado con ^{13}C , puede usarse la preparación de administración explicada en la sección "(I) Preparación usada para medir acidez gástrica".

45 La etapa (2), en la que se comparan el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia, es una etapa de comparación del comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido) obtenido en la etapa (1) y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ correspondiente (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia) que ha sido obtenido de antemano en un mamífero de control. El mamífero de control usado en el presente documento es un mamífero al que se administra por vía oral una cantidad predeterminada de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C como en el sujeto mamífero, sin administrar omeprazol o lansoprazol; y, como se explica en el punto (II) anteriormente, el mamífero de control es generalmente el mismo tipo del sujeto mamífero. No hay limitación particular, pero el mamífero de control preferentemente tiene el mismo sexo, y casi la misma edad y peso que el sujeto mamífero.

50 Excepto por el uso del comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ obtenido en el mamífero de control anteriormente mencionado como el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia, la etapa (2) puede usar el mismo método que el explicado en los puntos (1) y (2) de la sección "(II) Método de medición de la acidez gástrica".

La etapa (3), que determina la acidez gástrica, puede realizarse basándose en una diferencia entre el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia obtenido en la etapa (2) y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido, y puede usar el mismo método que el explicado en los puntos (2) y (3) de la sección "(II) Método de medición de la acidez gástrica".

- 5 Usando la acidez gástrica del sujeto mamífero obtenida en la etapa (3) como índice, puede realizarse la etapa (4), es decir, (a) determinar la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en el sujeto mamífero, (b) determinar el efecto del fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4, o/y (c) determinar la susceptibilidad del sujeto mamífero al fármaco.

10 La etapa (4) puede ser una etapa de determinación de uno cualquiera de o al menos dos puntos de (a) a (c) anteriores referentes al sujeto mamífero, usando la acidez gástrica del sujeto mamífero como índice. Preferentemente, es la etapa de determinación de la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en el sujeto mamífero (etapa (a)), la etapa de determinación del efecto de un fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 (etapa (b)), y la etapa de realización de la etapa (b) después de la etapa (a).

15 En el caso en el que la etapa (4) incluya la etapa (a) de determinación de la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en un sujeto mamífero, cuando la acidez gástrica del sujeto mamífero medida en la etapa (3) es la misma o superior a la del mamífero de control, la etapa (4) puede determinar que la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en el sujeto mamífero es normal o superior a la normal. Alternativamente, cuando la acidez gástrica del sujeto
20 mamífero medida en la etapa (3) es inferior a la del mamífero de control, la etapa (4) puede determinar que la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en el sujeto mamífero es inferior a la normal.

25 En el caso en el que la etapa (4) incluya la etapa (b) de determinación del efecto del fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4, el efecto del fármaco es diferente cuando el fármaco pierde o reduce su actividad cuando es metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4, y cuando el fármaco expresa o aumenta su actividad cuando es metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4.

30 En el caso en el que el fármaco que pierde o reduce su actividad cuando es metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 se usa como fármaco, cuando la acidez gástrica del sujeto mamífero medida en la etapa (3) es la misma o superior a la del mamífero de control, la etapa (4) puede determinar que el efecto del fármaco en el sujeto es bajo; y cuando la acidez gástrica del sujeto mamífero medida en la etapa (3) es inferior a la del mamífero de control, la etapa (4) puede determinar que el efecto del fármaco en el sujeto es alto.

35 Por otra parte, en el caso en el que el fármaco que expresa o aumenta su actividad cuando es metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 se usa como fármaco, cuando la acidez gástrica del sujeto mamífero medida en la etapa (3) es la misma o superior a la del mamífero de control, la etapa (4) puede determinar que el efecto del fármaco en el sujeto mamífero es alta; y cuando la acidez gástrica del sujeto mamífero medida en la etapa (3) es inferior a la del mamífero de control, la etapa (4) puede determinar que el efecto del fármaco en el sujeto es bajo.

40 En el caso en el que la etapa (4) incluya etapa (c) de determinación de la susceptibilidad del sujeto mamífero al fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4, la susceptibilidad es diferente cuando el fármaco pierde o reduce su actividad cuando es metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4, y cuando el fármaco expresa o aumenta su actividad cuando es metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4.

45 En el caso en el que el fármaco que pierde o reduce su actividad cuando es metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 se usa como un fármaco, cuando la acidez gástrica del sujeto mamífero medida en la etapa (3) es la misma o superior a la del mamífero de control, la etapa (4) puede determinar que la susceptibilidad del sujeto mamífero al fármaco es baja; y cuando la acidez gástrica del sujeto mamífero medida en la etapa (3) es inferior a la del mamífero de control, la etapa (4) puede determinar que la susceptibilidad del sujeto mamífero al fármaco es alta.

50 En el caso en el que el fármaco que expresa o aumenta su actividad cuando es metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 se usa como fármaco, cuando la acidez gástrica del sujeto mamífero medida en la etapa (3) es la misma o superior a la del mamífero de control, la etapa (4) puede determinar que la susceptibilidad del sujeto mamífero al fármaco es alta; y cuando la acidez gástrica del sujeto mamífero medida en la etapa (3) es inferior a la del mamífero de control, la etapa (4) puede determinar que la susceptibilidad del fármaco al sujeto es
55 baja.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos experimentales se proporcionan para ilustrar la presente invención, y no son para limitar el alcance de la presente invención.

Ejemplo experimental 1

5 Evaluación de una correlación entre la dosis ($\mu\text{mol/kg}$) de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ y la diferencia entre las relaciones de concentración de $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ (valores de $\delta^{13}\text{C}$) antes y después de la administración [$\Delta^{13}\text{C} (\text{‰}) = (\text{valor de } \delta^{13}\text{C})_t - (\text{valor de } \delta^{13}\text{C})_0$], y evaluación de una correlación entre la dosis ($\mu\text{mol/kg}$) de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ y el "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$ -tiempo" (ABC)

(1) Preparación de disoluciones de administración de $^{13}\text{C-CaCO}_3$

10 Se preparó una suspensión de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (15 ml) a una concentración de 2500 $\mu\text{mol/4 ml}$ añadiendo, en porciones pequeñas, una disolución acuosa al 0,5 % de CMC (carboximetilcelulosa de sodio disuelta en agua destilada para inyección) a 946,8 mg de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (MW: 101, fabricado por Cambridge Isotope Laboratory) mientras que se amasaba la mezcla resultante en un mortero. La suspensión de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ obtenida se diluyó con la disolución acuosa al 0,5 % de CMC para preparar disoluciones de administración a diversas concentraciones (2500, 1000, 500,
15 200, 100, 20 y 4 $\mu\text{mol/4 ml}$).

(2) Experimento

Cada una de las suspensiones de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ a diversas concentraciones preparadas anteriormente se administró a la fuerza por vía oral (4 ml/kg) a ratas en ayunas (macho, ratas SD: n=3) como animales experimentales. Se recogió
20 aire espirado antes de la administración de las suspensiones de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (antes de la administración de $^{13}\text{C-CaCO}_3$) (0 minutos) y en cada momento en el tiempo (2, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100 y 120 minutos) después de la administración de las suspensiones de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (después de la administración de $^{13}\text{C-CaCO}_3$), y se determinó $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$ con un espectrómetro de masas para el análisis de aire espirado (ABCA: fabricado por SerCon) a partir de la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado. Se determinó $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$ midiendo las relaciones de concentración de $^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2$ (valores de $\delta^{13}\text{C}$) en el aire espirado antes de la administración de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (0
25 minutos) y en el aire espirado en cada momento en el tiempo para recoger el aire espirado (t minutos) después de la administración de $^{13}\text{C-CaCO}_3$, y calculando $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$ a partir de la diferencia [(valor de $\delta^{13}\text{C})_t - (\text{valor de } \delta^{13}\text{C})_0$] entre el valor de $\delta^{13}\text{C}$ [(valor de $\delta^{13}\text{C})_t$] en cada momento de recogida en el tiempo (t) después de la administración de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ y el valor de $\delta^{13}\text{C}$ [(valor de $\delta^{13}\text{C})_0$] antes de la administración de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (lo mismo se aplica a los ejemplos experimentales descritos a continuación).

30 La Fig. 2 muestra cambios en $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$ en el aire espirado medido después de que cada una de las suspensiones de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ a diversas concentraciones se administrara a las ratas. En la Fig. 2, $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$ en el aire espirado se representa en la ordenada, y el tiempo de recogida de aire espirado (minutos) después de la administración de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ se representa en la abscisa. Como se muestra en la Fig. 2, se observó que $^{13}\text{C-CaCO}_3$ se metabolizó en el cuerpo y se excretó como $^{13}\text{CO}_2$ en el aire espirado. Además, se observó un fenómeno de saturación cuando la
35 dosis superó 200 $\mu\text{mol/kg}$ (-■-).

La Fig. 3 muestra relaciones entre la dosis de suspensión de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ ($\mu\text{mol/kg}$) de 4 $\mu\text{mol/kg}$ a 200 $\mu\text{mol/kg}$ y $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$ en el aire espirado en cada momento en el tiempo para recoger el aire espirado ((1) 5 minutos después de la administración, (2) 10 minutos después de la administración y (3) 15 minutos después de la administración). La Fig. 3 revela que $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$ en el aire espirado frente a la dosis ($\mu\text{mol/kg}$) hasta 200 $\mu\text{mol/kg}$ muestra una línea recta que casi pasa por el origen en todas las muestras de aire espirado, independientemente de cuándo se recogió el aire
40 espirado. Es decir, cuando el aire espirado recogido al menos 5 minutos después de la administración de la preparación de administración en el intervalo de dosis de al menos no más de 200 $\mu\text{mol/kg}$ se usó como muestra de prueba, se observó una correlación lineal entre la dosis ($\mu\text{mol/kg}$) de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ y $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$ en el aire espirado (valores de R^2 : 0,9 o más).

45 La Fig. 4 muestra correlaciones entre la dosis de suspensión de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ ($\mu\text{mol/kg}$) de 4 $\mu\text{mol/kg}$ a 200 $\mu\text{mol/kg}$ y el "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C} (\text{‰})$ -tiempo de recogida de aire espirado (60 minutos o 120 minutos)" (ABC). El gráfico del ABC para un tiempo de recogida de aire espirado de 0 a 60 minutos (ABC60) frente a la dosis de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (4 a 200 $\mu\text{mol/kg}$) se muestra en el lado derecho, mientras que el gráfico del ABC para un tiempo de recogida de aire espirado de 0 a 120 minutos (ABC120) frente a la dosis de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (4 a 200 $\mu\text{mol/kg}$) se muestra en el lado
50 izquierdo. Como es evidente de estos gráficos, las ABC para un tiempo de recogida de aire espirado de 0 a 60 minutos y para un tiempo de recogida de aire espirado de 0 a 120 minutos (ABC60 y ABC120) frente a la dosis de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ ($\mu\text{mol/kg}$) hasta 200 $\mu\text{mol/kg}$ muestran líneas rectas que casi pasan por el origen. Es decir, se observaron correlaciones lineales entre las ABC y la dosis de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ en el intervalo de al menos no más de 200 $\mu\text{mol/kg}$.

55 Los resultados anteriores indican que en mamíferos con acidez gástrica normal, hay una correlación lineal entre la dosis del compuesto de carbonato marcado con ^{13}C en el intervalo de no más de 200 $\mu\text{mol/kg}$ y el comportamiento

de excreción de $^{13}\text{CO}_2$ en el aire espirado (concentración de $^{13}\text{CO}_2$ ($\Delta^{13}\text{C}$ (‰)) en el aire espirado en cada momento en el tiempo para recoger el aire espirado y el "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)-tiempo" (ABC)).

5 Como se muestra en las Fig. 3 y 4, hay una correlación lineal entre la dosis de suspensión de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ ($\mu\text{mol/kg}$) hasta 200 $\mu\text{mol/kg}$ y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰), y hay una correlación lineal entre la dosis de suspensión de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ ($\mu\text{mol/kg}$) hasta 200 $\mu\text{mol/kg}$ y el "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)-tiempo" (ABC). La Fig. 5 (1) muestra una relación entre la dosis de 4 a 2500 $\mu\text{mol/kg}$ y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en un momento de recogida de aire espirado de 30 minutos. En la Fig. 5(1), se muestra una relación entre la dosis de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (4 a 200 $\mu\text{mol/kg}$) y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el lado izquierdo, mientras que la relación entre la dosis de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (4 a 2500 $\mu\text{mol/kg}$) y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) se muestra en el lado derecho. Los resultados revelan que cuando la dosis de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ es no más de una cierta cantidad, hay una correlación lineal entre la dosis y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰); sin embargo, cuando la dosis supera cierta cantidad, el valor de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) llega a ser constante (meseta), como se muestra en la Fig. 1 (1).

10 La Fig. 5 (2) muestra una relación entre la dosis de 4 a 2500 $\mu\text{mol/kg}$ y ABC para un tiempo de recogida de aire espirado de 0 a 60 minutos. En la Fig. 5 (2), se muestra una relación entre la dosis de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (4 a 200 $\mu\text{mol/kg}$) y el ABC en el lado izquierdo (la misma que el gráfico en el lado derecho de la Fig. 4), mientras que la relación entre la dosis de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (4 a 2500 $\mu\text{mol/kg}$) y el ABC se muestra en el lado derecho. Los resultados revelan que al igual que en $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) anterior, cuando la dosis de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ es no más de una cierta cantidad, hay una correlación lineal entre la dosis y el ABC; sin embargo, cuando la dosis supera cierta cantidad, el valor de ABC llega a ser constante (meseta), como se muestra en la Fig. 1 (2).

Ejemplo experimental 2

20 Medición de la disminución de la secreción de ácido gástrico

(1) Preparación de una disolución de administración de inhibidor de la bomba de protones (PPI: omeprazol)

A 1 vial de Omepral Injection 20 (omeprazol 20 mg/vial, AstraZeneca K.K.) que tiene la acción de suprimir la secreción de ácido gástrico, se añadió 1 ml de solución salina fisiológica de manera que la concentración fuera 20 mg/ml, y la mezcla resultante se usó como disolución de administración de PPI.

25 (2) Experimento

Se usaron ratas en ayunas (macho, ratas SD) como animales experimentales.

30 Al Grupo 1 (grupo de control: ratas normales, n=3), la suspensión de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (100 $\mu\text{mol/4 ml}$) preparada en el Ejemplo experimental 1 se administró por vía oral (4 ml/kg). Al Grupo 2 (grupo modelo con acidez gástrica reducida: ratas administradas con PPI, n=3), la disolución de administración de PPI (20 mg/ml) se administró por vía intravenosa (1 ml/kg) para producir modelos animales con secreción de ácido gástrico suprimida, y la suspensión de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (100 $\mu\text{mol/4 ml}$) se administró por vía oral (4 ml/kg) 4 horas después de la administración de la disolución de administración de PPI.

35 En las ratas en cada grupo, se recogió aire espirado antes de la administración de la suspensión de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (0 minutos) y en cada momento en el tiempo (2, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 y 60 minutos) después de la administración de la suspensión de $^{13}\text{C-CaCO}_3$; y se midió $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) con un espectrómetro de masas para el análisis de aire espirado (ABCA: fabricado por SerCon) a partir de la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado.

La Fig. 6 muestra los resultados. En la Fig. 6, \square - y \blacksquare - muestran respectivamente cambios en $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado medido en el Grupo 1 (grupo de control) y Grupo 2 (grupo modelo con acidez gástrica reducida) con el tiempo.

40 La Fig. 6 revela que $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado de las ratas cuya secreción de ácido gástrico se había suprimido por la administración de PPI (grupo modelo con acidez gástrica reducida: \blacksquare -) fue significativamente más bajo que $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado de las ratas normales (grupo de control: \square -).

45 Los resultados anteriores indican que incluso en el caso de mamíferos con acidez gástrica reducida debido a supresión de secreción de ácido gástrico, hay una correlación lineal (linealidad) entre la dosis del compuesto de carbonato marcado con ^{13}C en el intervalo de al menos no más de 100 $\mu\text{mol/kg}$, y el comportamiento de excreción de $^{13}\text{CO}_2$ en el aire espirado (concentración de $^{13}\text{CO}_2$ ($\Delta^{13}\text{C}$ (‰)) en el aire espirado en cada momento en el tiempo para recoger el aire espirado y "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)-tiempo" (ABC)).

Ejemplo experimental 3Medición del aumento de la secreción de ácido gástrico(1) Preparación de una disolución de administración de pentagastrina

5 Se añadieron DMSO y 2 ml de solución salina fisiológica a 7,5 mg de pentagastrina (SIGMA) que tiene la acción de estimular y aumentar la secreción de ácido gástrico de manera que la cantidad total fuera 10 ml, para preparar una disolución de administración de pentagastrina a una concentración de 0,75 mg/ml.

(2) Experimento

Se usaron ratas en ayunas (macho, ratas SD) como animales experimentales.

10 Se proporcionaron dos grupos, Grupo 1 (ratas normales, n=3) y Grupo 2 (ratas normales, n=3), como grupos de control. La suspensión de ^{13}C -CaCO₃ preparada en el Ejemplo experimental 1 se administró por vía oral al Grupo 1 y Grupo 2 en una cantidad de 500 $\mu\text{mol/kg}$ y 1000 $\mu\text{mol/kg}$, respectivamente. Como grupos modelo con acidez gástrica elevada, se proporcionaron dos grupos, Grupo 3 (n=3) y Grupo 4 (n=3). La disolución de pentagastrina (0,75 mg/ml) se administró por vía intravenosa (1 ml/kg) al Grupo 3 y Grupo 4 para aumentar la secreción de ácido gástrico (producción de modelos animales con elevada secreción de ácido gástrico); y la suspensión de ^{13}C -CaCO₃ se administró por vía oral al Grupo 3 y Grupo 4 en una cantidad de 500 $\mu\text{mol/kg}$ y 1000 $\mu\text{mol/kg}$, respectivamente, 15 hora después de la administración de pentagastrina.

20 En las ratas en cada grupo, se recogió aire espirado antes de la administración de la suspensión de ^{13}C -CaCO₃ (0 minutos) y en cada momento en el tiempo (2, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 100 y 120 minutos) después de la administración de la suspensión de ^{13}C -CaCO₃, y se midió $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) con un espectrómetro de masas para el análisis de aire espirado (ABCA: fabricado por SerCon) a partir de la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado.

25 La Fig. 7 muestra los resultados. En la Fig. 7, \square - y \blacksquare - muestran cambios en la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ ($\Delta^{13}\text{C}$ (‰)) en el aire espirado medido en los grupos de Grupo de control 1 (grupo de administración de suspensión de ^{13}C -CaCO₃ (500 $\mu\text{mol/kg}$)) y Grupo 2 (grupo de administración de suspensión de ^{13}C -CaCO₃ (1000 $\mu\text{mol/kg}$)), respectivamente; Δ - y \blacktriangle - muestran cambios en la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ ($\Delta^{13}\text{C}$ (‰)) en el aire espirado medido en los grupos modelo con acidez gástrica elevada Grupo 3 (grupo de administración de pentagastrina + suspensión de ^{13}C -CaCO₃ (500 $\mu\text{mol/kg}$)) y Grupo 4 (grupo de administración de pentagastrina + suspensión de ^{13}C -CaCO₃ (1000 $\mu\text{mol/kg}$)), respectivamente.

30 La Fig. 7 revela que la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ ($\Delta^{13}\text{C}$ (‰)) en el aire espirado de las ratas cuya secreción de ácido gástrico ha aumentado por la administración de la pentagastrina (grupos modelo con acidez gástrica elevada: Δ - y \blacktriangle -) fue significativamente alta en comparación con la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ ($\Delta^{13}\text{C}$ (‰)) en el aire espirado de ratas normales (grupos de control: \square - y \blacksquare -).

35 La Fig. 8 muestra una comparación de correlaciones entre la dosis de ^{13}C -CaCO₃ ($\mu\text{mol/kg}$) de 4 a 2500 $\mu\text{mol/kg}$ y el "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)-tiempo" para un tiempo de recogida de aire espirado de 0 a 120 minutos (ABC120) en el grupo de control (\blacklozenge -) y el grupo modelo con acidez gástrica elevada (\blacktriangle -). Obsérvese que la relación observada entre la dosis de ^{13}C -CaCO₃ y el ABC también se encuentra entre la dosis de ^{13}C -CaCO₃ y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰).

40 Como es evidente de los resultados, en el Grupo 1 de modelo normal (grupo de control) (\blacklozenge -), las representaciones son lineales en una línea recta que pasa por el origen en la dosis hasta 200 $\mu\text{mol/kg}$, que indica que hay una correlación lineal entre la dosis y el ABC; sin embargo, cuando la dosis supera 200 $\mu\text{mol/kg}$, se observó un fenómeno de meseta. Por otra parte, en el Grupo 2 de modelo con acidez gástrica elevada (\blacktriangle -), las representaciones están en una línea recta que pasa por el origen en la dosis de al menos hasta 1000 $\mu\text{mol/kg}$, que indica que hay una correlación lineal entre la dosis y el ABC.

45 Los resultados anteriores indican que incluso en el caso de mamíferos con acidez gástrica elevada debido a elevada secreción de ácido gástrico, hay una correlación lineal (linealidad) entre la dosis del compuesto de carbonato marcado con ^{13}C en el intervalo de al menos no más de 1000 $\mu\text{mol/kg}$ y el comportamiento de excreción de $^{13}\text{CO}_2$ en el aire espirado (concentración de $^{13}\text{CO}_2$ ($\Delta^{13}\text{C}$ (‰)) en el aire espirado en cada momento en el tiempo para recoger el aire espirado y el "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)-tiempo" (ABC)). Los resultados también muestran que en el modelo con acidez gástrica elevada, el intervalo de dosis ($\mu\text{g/kg}$) en el que se observó una correlación lineal (linealidad) entre la dosis y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) y el intervalo de dosis ($\mu\text{g/kg}$) en el que se observó una correlación lineal (linealidad) entre la dosis y el ABC fueron más anchos que aquellos en el modelo normal, es decir, se observó un fenómeno de meseta en el modelo con acidez gástrica elevada a una dosis superior a aquella en el modelo normal (véase la Fig. 1).

55 A partir de los resultados de los Ejemplos experimentales 2 y 3, se confirmó la posibilidad de que la acidez gástrica pudiera ser medida cuantitativamente por una prueba de espiración que mide la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ excretada en aire espirado después de la administración de ^{13}C -CaCO₃; y que la disminución o aumento de la secreción de ácido gástrico puede evaluarse a partir de la dosis y el comportamiento de excreción de $^{13}\text{CO}_2$ en el aire espirado

(concentración de $^{13}\text{CO}_2$ ($\Delta^{13}\text{C}$ (‰)) en el aire espirado en cada momento en el tiempo para recoger el aire espirado y "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)-tiempo" (ABC)).

Ejemplo experimental 4

Administración de una mezcla de $^{12}\text{C-CaCO}_3$ y $^{13}\text{C-CaCO}_3$

- 5 (1) Preparación de disoluciones de administración de una mezcla de $^{12}\text{C-CaCO}_3$ y $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (10, 20, 50, 100 $\mu\text{mol}/4$ ml)

Se preparó una suspensión de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (20 ml) a una concentración de 4 $\mu\text{mol}/2$ ml añadiendo, en porciones pequeñas, una disolución acuosa al 0,5 % de CMC (carboximetilcelulosa de sodio disuelta en agua destilada para inyección) a 10,1 mg de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (MW: 101, fabricado por Cambridge Isotope Laboratory) mientras que se amasaba la mezcla resultante en un mortero.

- 10 Se prepararon suspensiones de $^{12}\text{C-CaCO}_3$ a concentraciones de 6, 16, 46 y 96 $\mu\text{mol}/2$ ml añadiendo, en porciones pequeñas, la disolución al 0,5 % de CMC a carbonato cálcico (MW: 100, Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) mientras que se amasaba la mezcla resultante en un mortero.

- 15 Las suspensiones así obtenidas se mezclaron en cantidades iguales para preparar disoluciones de administración de una mezcla de $^{12}\text{C-CaCO}_3$ y $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (en lo sucesivo, denominadas simplemente "disoluciones de administración de mezcla") a concentraciones de 10, 20, 50 y 100 $\mu\text{mol}/4$ ml, respectivamente. Se preparó una disolución de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ a una concentración de 4 $\mu\text{mol}/4$ ml mezclando la suspensión de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (4 $\mu\text{mol}/2$ ml) y la disolución al 0,5 % de CMC en cantidades iguales.

(2) Experimento

- 20 Cada uno de las disoluciones de administración de mezcla a diversas concentraciones preparadas anteriormente se administró a la fuerza por vía oral (4 ml/kg) a ratas en ayunas (macho, ratas SD: n=3) como animales experimentales. Se recogió aire espirado antes de la administración de las disoluciones de administración de mezcla (0 minutos) y en cada momento en el tiempo (2, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 60, 80, 100 y 120 minutos) después de la administración de las disoluciones de administración de mezcla, y se determinó $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) con un espectrómetro de masas para el análisis de aire espirado (ABCA: fabricado por SerCon) a partir de la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado.

- 25 La Fig. 9 muestra los resultados. La Fig. 9 muestra cambios en $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado después de que cada una de las disoluciones de administración de mezcla se administrara a las ratas. Como es evidente de esta gráfica, se muestra que incluso en el caso en el que $^{12}\text{C-CaCO}_3$ se añade a $^{13}\text{C-CaCO}_3$ y la mezcla resultante se administra, el comportamiento de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado no está afectado por $^{12}\text{C-CaCO}_3$.

- 30

Ejemplo experimental 5

Administración de mezclas de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ y de acetato sódico

(1) Preparación de mezclas de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ y de acetato sódico (4, 10, 20, 50 y 100 $\mu\text{mol}/4$ ml)

- 35 Se preparó una suspensión de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (20 ml) a una concentración de 4 $\mu\text{mol}/2$ ml añadiendo, en porciones pequeñas, una disolución acuosa al 0,5 % de CMC (carboximetilcelulosa de sodio disuelta en agua destilada para inyección) a 10,1 mg de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (MW: 101, fabricado por Cambridge Isotope Laboratory) mientras que se amasaba la mezcla resultante en un mortero.

Se prepararon disoluciones de acetato sódico a concentraciones predeterminadas (6, 16, 46 y 96 $\mu\text{mol}/2$ ml) añadiendo la disolución acuosa al 0,5 % de CMC a acetato sódico (MW: 82, Wako Pure Chemical Industries, Ltd.).

- 40 Las disoluciones así obtenidas se mezclaron en cantidades iguales para preparar mezclas de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ y el acetato sódico (10, 20, 50 y 100 $\mu\text{mol}/4$ ml, respectivamente). Se preparó una disolución de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ a una concentración de 4 $\mu\text{mol}/4$ ml mezclando la suspensión de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (4 $\mu\text{mol}/2$ ml) y la disolución al 0,5 % de CMC en cantidades iguales.

(2) Experimento

- 45 Cada una de las mezclas de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ y de acetato sódico a diversas concentraciones (4, 10, 20, 50 y 100 $\mu\text{mol}/4$ ml) (en lo sucesivo, denominadas simplemente "mezclas") se administró a la fuerza por vía oral (4 ml/kg) a ratas en ayunas (macho, ratas SD: n=3) como animales experimentales. Se recogió aire espirado antes de la administración de las mezclas (0 minutos) y en cada momento en el tiempo (2, 5, 10, 15, 20, 30, 40, 60, 80, 100 y 120 minutos) después de la administración de las mezclas, y se determinó $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) con un espectrómetro de masas para el análisis de aire espirado (ABCA: fabricado por SerCon) a partir de la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado.

- 50

La Fig. 10 muestra los resultados. La Fig. 10 muestran cambios en $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado después de que cada una de las mezclas se administrara a las ratas. Como es evidente de la Fig. 10, se muestra que incluso en el caso en el que un material alcalino tal como acetato sódico, que no contiene ^{13}C , se añade a ^{13}C -CaCO₃ y se administra la mezcla resultante, no hay influencia en el comportamiento de la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ en el aire espirado. Es decir, se reveló que incluso en el caso en el que un material alcalino se mezcle con ^{13}C -CaCO₃, no hay influencia en una prueba de espiración que mide la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en aire espirado después de la administración de ^{13}C -CaCO₃.

Como se muestra en los Ejemplos experimentales 4 y 5, cuando el compuesto de ^{12}C -carbonato o acetato sódico se mezcló con el compuesto de carbonato marcado con ^{13}C , no hubo influencia en el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$. Este hecho indica que el método de la presente invención puede realizarse usando una cantidad más pequeña del compuesto de carbonato marcado con ^{13}C añadiendo el compuesto de ^{12}C -carbonato o acetato sódico. Es decir, la cantidad del compuesto de carbonato marcado con ^{13}C puede reducirse, reduciéndose así el coste.

En los Ejemplos experimentales 1 a 5 descritos anteriormente, como mamíferos se usaron ratas, que son animales experimentales ampliamente usados como mamíferos con un aparato respiratorio y aparato digestivo (en particular, sistema de secreción de ácido gástrico) que tienen funciones similares a aquellas de un aparato respiratorio y aparato digestivo humanos. Las ratas se usan hasta ahora para cribar estimulantes de secreción de ácido gástrico o inhibidores de la secreción de ácido gástrico. Como se muestra en el Ejemplo experimental 6 a continuación, todos los resultados anteriormente mencionados pueden ser fácilmente extrapolados a los seres humanos, y también pueden obtenerse resultados similares en el caso en el que los experimentos anteriores se lleven a cabo para seres humanos.

Ejemplo experimental 6

Evaluación de correlaciones entre la dosis (mg/cuerpo) de ^{13}C -CaCO₃ y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰), y entre la dosis (mg/cuerpo) de ^{13}C -CaCO₃ y el "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)-tiempo" (ABC)" (seres humanos)

Se realizó el mismo experimento que en el Ejemplo experimental 1 para seres humanos (n=3) con acidez gástrica normal.

(1) Preparación de suspensiones de administración de ^{13}C -CaCO₃

Se prepararon suspensiones de administración a diversas concentraciones (400, 300, 200, 100, 50 y 20 mg/50 ml) añadiendo, en porciones pequeñas, una disolución acuosa al 0,5 % de CMC (carboximetilcelulosa de sodio disuelta en agua destilada para inyección) a ^{13}C -CaCO₃ (MW: 101, fabricado por Cambridge Isotope Laboratory) mientras que se amasaba la mezcla resultante en un mortero.

(2) Experimento

A sujetos humanos (n=3) que se habían abstenido de bebida y comida desde las 21:00 el día antes de la administración, se les administró por vía oral cada una de las suspensiones de ^{13}C -CaCO₃ a diversas concentraciones preparadas antes de las 8:30 de la mañana siguiente (50 ml/cuerpo). Se recogió aire espirado antes de la administración de las suspensiones de ^{13}C -CaCO₃ (antes de la administración de ^{13}C -CaCO₃) (0 minutos) y en cada momento en el tiempo (2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 25, 30, 40, 50 y 60 minutos) después de la administración de las suspensiones de ^{13}C -CaCO₃ (después de la administración de ^{13}C -CaCO₃), y se determinó $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) con un espectrómetro de masas para el análisis de aire espirado (ABCA: fabricado por SerCon) a partir de la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado.

Las Fig. 11 muestran cambios en $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado medido después de cada una de las suspensiones de ^{13}C -CaCO₃ a diversas concentraciones (400, 300, 200, 100, 50 y 20 mg/cuerpo) administradas a los sujetos humanos. En la Fig. 11, se representa $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado en la ordenada, y el tiempo de recogida de aire espirado (minutos) después de la administración de ^{13}C -CaCO₃ se representa en la abscisa. Como se muestra en la Fig. 11, se observó que ^{13}C -CaCO₃ se metabolizó en el cuerpo y se excretó como $^{13}\text{CO}_2$ en el aire espirado. Además, se observó un fenómeno de saturación cuando la dosis supera 200 mg/cuerpo (33 $\mu\text{mol/kg}$).

La Fig. 12 muestra relaciones entre la dosis de suspensión de ^{13}C -CaCO₃ (mg/cuerpo) de 20 mg/cuerpo a 200 mg/cuerpo y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado en cada momento en el tiempo para recoger el aire espirado ((1) 8 minutos después de la administración, (2) 12 minutos después de la administración y (3) 16 minutos después de la administración). La Fig. 12 revela que $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado frente a la dosis (mg/cuerpo) hasta 200 mg/cuerpo muestra una línea recta que casi pasa por el origen en todas las muestras de aire espirado, independientemente de cuándo se recogió el aire espirado. Es decir, cuando el aire espirado recogido al menos 8 minutos después de la administración de la preparación de administración en el intervalo de dosis de al menos no más de 200 mg/cuerpo se usó como muestra de prueba, se observó una correlación lineal entre la dosis de ^{13}C -CaCO₃ (mg/cuerpo) y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado (valores de R²: 0,9 o más).

La Fig. 13 muestra correlaciones entre la dosis de suspensión de ^{13}C -CaCO₃ (mg/cuerpo) de 20 mg/cuerpo a 200 mg/cuerpo y el "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)-tiempo de recogida de aire espirado (20 minutos o 60 minutos)"

(ABC). El gráfico del ABC para un tiempo de recogida de aire espirado de 0 a 20 minutos (ABC20) frente a la dosis de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (20 a 200 mg/cuerpo) se muestra en el lado izquierdo, mientras que el gráfico del ABC para un tiempo de recogida de aire espirado de 0 a 60 minutos (ABC60) frente a la dosis de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (20 a 200 mg/cuerpo) se muestra en el lado derecho. Como es evidente de estos gráficos, las ABC para un tiempo de recogida de aire espirado de 0 a 20 minutos y para un tiempo de recogida de aire espirado de 0 a 60 minutos (ABC20 y ABC60) frente a la dosis de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (mg/cuerpo) hasta 200 mg/cuerpo muestran líneas rectas que casi pasa por el origen. Es decir, se observaron correlaciones lineales entre las ABC y la dosis de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ de al menos no más de 200 mg/cuerpo.

Los resultados anteriores indican que en seres humanos con acidez gástrica normal, hay una correlación lineal entre la dosis del compuesto de carbonato marcado con ^{13}C en el intervalo de no más de 200 mg/cuerpo y el comportamiento de excreción de $^{13}\text{CO}_2$ en el aire espirado (concentración de $^{13}\text{CO}_2$ ($\Delta^{13}\text{C}$ (‰)) en el aire espirado en cada momento en el tiempo para recoger el aire espirado y el "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)-tiempo" (ABC)).

Como se muestra en las Figs. 12 y 13, hay una correlación lineal entre la dosis de suspensión de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (mg/cuerpo) hasta 200 mg/cuerpo y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰), y hay una correlación lineal entre la dosis de suspensión de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (mg/cuerpo) hasta 200 mg/cuerpo y el "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)-tiempo" (ABC). La Fig. 14 muestra una relación entre la dosis de 20 a 400 mg/cuerpo y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en un momento de recogida de aire espirado de 30 minutos. Los resultados revelan que cuando la dosis de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ es no más de una cierta cantidad (aquí no más de 200 mg/cuerpo), hay una correlación lineal entre la dosis y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰); sin embargo, cuando la dosis supera cierta cantidad, el valor de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) llega a ser constante (meseta), como se muestra en la Fig. 1 (1).

Ejemplo experimental 7

Una correlación entre la actividad enzimática de CYP2C19 y CYP3A4 y el efecto de omeprazol

Aunque el omeprazol, que es un inhibidor de la bomba de protones (PPI), es principalmente metabolizado por la enzima de metabolismo hepática CYP2C19, también es metabolizada por CYP3A4 como vía de derivación. Así, el efecto del omeprazol depende de la capacidad metabólica de CYP2C19 y CYP3A4 en un sujeto. Usando el método de medición de la acidez gástrica de la presente invención, se evaluó una correlación entre la actividad enzimática de CYP2C19 y CYP3A4 y el efecto de omeprazol usando un inhibidor de CYP2C19 y de CYP3A4 (ketoconazol).

(1) Preparación de muestras de prueba

(i) ketoconazol (inhibidor de CYP2C19 y de CYP3A4): Se preparó una suspensión de ketoconazol a una concentración de 50 mg/4 ml (23,54 $\mu\text{mol}/4$ ml) añadiendo, en porciones pequeñas, una disolución acuosa al 0,5 % de CMC a ketoconazol mientras que se amasaba la mezcla resultante en un mortero.

(ii) Omeprazol: Se preparó omeprazol disolviendo omeprazol para inyección en solución salina fisiológica de manera que la concentración fuera 3 mg/ml.

(iii) Suspensión de $^{13}\text{C-CaCO}_3$: Se preparó una suspensión de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ a una concentración de 100 $\mu\text{mol}/4$ ml añadiendo, en porciones pequeñas, una disolución acuosa al 0,5 % de CMC a $^{13}\text{C-CaCO}_3$ mientras que se amasaba la mezcla resultante en un mortero.

(2) Experimento

Se usaron ratas en ayunas (7 semanas de edad, hembra, ratas SD) como animales experimentales. Las ratas se dividieron en un grupo de administración de omeprazol (n=3), un grupo de pre-tratamiento de ketoconazol (n=3) y un grupo de control (n=3).

Al grupo de administración de omeprazol se administró por vía intravenosa una dosis única de omeprazol (3 mg/kg), y la suspensión de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (100 $\mu\text{mol}/4$ ml) se administró por vía oral a una dosis de 4 ml/kg 2 horas después de la administración. Entonces se recogió el aire espirado. Al grupo de pre-tratamiento de ketoconazol se administró por vía oral de antemano una dosis única de ketoconazol (50 mg/kg), una dosis única de omeprazol (3 mg/kg) se administró por vía intravenosa 30 minutos después de la administración, y la suspensión de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (100 $\mu\text{mol}/4$ ml) se administró por vía oral a una dosis de 4 ml/kg 2 horas después de la administración del omeprazol. Entonces se recogió el aire espirado. Al grupo de control (ratas que no habían sido tratadas), solo se les administró la suspensión de $^{13}\text{C-CaCO}_3$ (100 $\mu\text{mol}/4$ ml) por vía oral a una dosis de 4 ml/kg, y se recogió el aire espirado.

El aire espirado anterior se usó como muestras de prueba, y se midió $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) con un espectrómetro de masas para el análisis de aire espirado (ABCA: fabricado por SerCon) a partir de la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado.

La Fig. 15 muestra los resultados. En la Fig. 15, -x- indica el cambio en la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ ($\Delta^{13}\text{C}$ (‰)) en el aire espirado medido en el grupo de control; -■- indica el cambio en la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ ($\Delta^{13}\text{C}$ (‰)) en el aire espirado medido en el grupo de administración de omeprazol; y -◆- indica el cambio en la concentración de $^{13}\text{CO}_2$ ($\Delta^{13}\text{C}$ (‰)) en el aire espirado medido en el grupo de pre-tratamiento de ketoconazol.

Como se muestra en la Fig. 15, en el grupo de administración de omeprazol, se suprimió la secreción de ácido gástrico, y entonces disminuyó $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado después de administrar $^{13}\text{C}\text{-CaCO}_3$, en comparación con el grupo de control. Además, por el pre-tratamiento de ketoconazol, disminuyó $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en el aire espirado después de administrar $^{13}\text{C}\text{-CaCO}_3$. Se cree que este fenómeno indica que el metabolismo del omeprazol en el cuerpo se inhibió por el inhibidor de CYP2C19 y de CYP3A4 (ketoconazol) para potenciar la acción de suprimir la secreción de ácido gástrico, disminuyendo así la acidez gástrica.

Este experimento confirmó que usando el método de medición de la acidez gástrica de la presente invención, puede evaluarse la eficacia (efecto) de un fármaco metabolizado por CYP2C19 o por CYP2C19 y CYP3A4 en cada sujeto. El efecto del omeprazol y el del clopidogrel descrito a continuación varían entre individuos. Se sugiere que esto es parcialmente atribuible a la participación de polimorfismos de la enzima metabolizadora del fármaco el gen CYP2C19 o/y el gen CYP3A4. Así, usando el método de medición de la acidez gástrica de la presente invención, pueden evaluarse la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 y la presencia de polimorfismos genéticos de CYP2C19 o/y CYP3A4 en cada sujeto; y también puede evaluarse el efecto de un fármaco que se relaciona con la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en un sujeto (susceptibilidad de un sujeto al fármaco).

Ejemplo de referencia 1

Una correlación entre la actividad enzimática de CYP2C19 y el efecto de clopidogrel

Clopidogrel, un fármaco anti-trombótico, se convierte por CYP2C19 y CYP3A4 en un metabolito activo, que se une al receptor de P2Y₁₂ expresado en la superficie de plaquetas para inhibir la agregación plaquetaria. Así, el efecto de clopidogrel depende de la capacidad metabólica de CYP2C19 y CYP3A4 en un sujeto. Usando el método de medición de la acidez gástrica de la presente invención, se evaluó una correlación entre la actividad de CYP2C19 y CYP3A4, y el efecto de clopidogrel usando un inhibidor de CYP2C19 y de CYP3A4 (ketoconazol).

(1) Preparación de muestras de prueba

(i) Ketoconazol (inhibidor de CYP2C): Se preparó una suspensión de ketoconazol a una concentración de 50 mg/4 ml (23,54 $\mu\text{mol}/4$ ml) añadiendo, en porciones pequeñas, una disolución acuosa al 0,5 % de CMC a ketoconazol mientras que se amasaba la mezcla resultante en un mortero.

(ii) Clopidogrel: Se preparó clopidogrel disolviendo clopidogrel en una disolución acuosa al 0,5 % de CMC de manera que la concentración fuera 10 mg/ml.

(2) Experimento

Se usaron ratas en ayunas (7 semanas de edad, hembra, ratas SD) como animales experimentales. Las ratas se dividieron en un grupo de administración de clopidogrel (n=3), un grupo de pre-tratamiento de ketoconazol (n=3) y un grupo de control (n=3).

Al grupo de administración de clopidogrel se le administró por vía oral una dosis única de clopidogrel (10 mg/kg), y se recogió sangre 2 horas después de la administración. Al grupo de pre-tratamiento de ketoconazol se le administró por vía oral de antemano una dosis única de ketoconazol (50 mg/kg), una dosis única de clopidogrel (10 mg/kg) se administró por vía oral 30 minutos después de la administración, y se recogió sangre 2 horas después de la administración del clopidogrel.

Usando el plasma rico en plaquetas recogido, se midió la agregación plaquetaria por estimulación de ADP con un dispositivo de medición de la agregación de plaquetas multifuncional (fabricado por MC Medical, Inc.).

La Fig. 16 muestra los resultados. Como es evidente de estos resultados, la acción inhibitoria de la agregación de plaquetas del clopidogrel se redujo por el inhibidor de CYP2C19 y de CYP3A4 ketoconazol. Se cree que la activación metabólica del clopidogrel en el cuerpo se inhibió por el inhibidor de CYP2C19 y de CYP3A4 (ketoconazol), produciendo la reducción en la acción inhibitoria de la agregación de plaquetas.

A partir de estos resultados y los resultados en el Ejemplo experimental 6, se cree que la eficacia (efecto) de clopidogrel en cada sujeto puede evaluarse usando el método de medición de la acidez gástrica de la presente invención. Además, también se cree que usando el método de medición de la acidez gástrica de la presente invención, puede evaluarse el efecto de clopidogrel que se relaciona con la actividad enzimática (actividad metabólica) de CYP2C19 y CYP3A4 en un sujeto (susceptibilidad de un sujeto a clopidogrel).

REIVINDICACIONES

1. Un método de medición de la acidez gástrica de un mamífero que comprende las etapas de:

(1) usar, como muestra de prueba, aire espirado de un sujeto mamífero excretado en cualquier momento en el tiempo en el plazo de 30 minutos después de la administración por vía oral de una cantidad predeterminada de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C , midiendo el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ en el aire espirado;

(2) comparar el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido) obtenido en la etapa (1) con el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ correspondiente (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia) que ha sido obtenido de antemano en un mamífero de control; y

(3) determinar la acidez gástrica del sujeto mamífero basándose en una diferencia entre el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido obtenido en la etapa (2),

en el que el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ es $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) como se expone en (c) o ABC como se expone en (d):

(c) la diferencia $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) = $\delta^{13}\text{C}_t - \delta^{13}\text{C}_0$ entre la "relación de la cantidad de $^{13}\text{CO}_2$ con respecto a la cantidad de $^{12}\text{CO}_2$ " ($\delta^{13}\text{C}_t$) incluida en el aire espirado recogido en cualquier momento en el tiempo para recoger el aire espirado (t) en el plazo de 30 minutos después de la administración por vía oral de la cantidad predeterminada del compuesto de carbonato marcado con ^{13}C , y la "relación de la cantidad de $^{13}\text{CO}_2$ con respecto a la cantidad de $^{12}\text{CO}_2$ " ($\delta^{13}\text{C}_0$) incluida en el aire espirado antes de la administración por vía oral del compuesto de carbonato marcado con ^{13}C

(d) ABC "área bajo la curva de $\Delta^{13}\text{C}$ (‰)-tiempo" calculada haciendo un gráfico que representa el tiempo desde la administración de la cantidad predeterminada del compuesto de carbonato marcado con ^{13}C hasta la recogida de aire espirado en la abscisa y $\Delta^{13}\text{C}$ (‰) en la ordenada.

2. El método según la reivindicación 1, en el que la cantidad predeterminada es 10 mg a 5 g.

3. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que el compuesto de carbonato marcado con ^{13}C es al menos un compuesto de carbonato seleccionado del grupo que consiste en carbonatos de metales alcalinos, carbonatos de metales alcalinotérreos, carbonato de amonio, hidrogenocarbonatos de metales alcalinos e hidrogenocarbonato de amonio.

4. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 4, en el que la etapa de determinación (3) es una etapa de determinar que la acidez gástrica de un sujeto mamífero es la misma o superior a la acidez gástrica de un mamífero de control cuando el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia son el mismo, o la etapa de determinación (3) es una etapa de determinar que la acidez gástrica de un sujeto mamífero es inferior a la acidez gástrica de un mamífero de control cuando el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido es inferior a el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia.

5. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para su uso en (i) evaluación de un efecto de un reductor de ácido gástrico, (ii) evaluación de la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 o CYP3A4, y (iii) evaluación de un efecto de un fármaco metabolizado por CYP2C19 o CYP3A4, en un sujeto mamífero.

6. El método según la reivindicación 5, en el que (i) la evaluación de un efecto de un reductor de ácido gástrico se lleva a cabo realizando las siguientes etapas (1) a (3) y luego realizando la siguiente etapa (4):

(1) usar, como muestra de prueba, aire espirado de un sujeto mamífero excretado en cualquier momento en el tiempo en el plazo de 30 minutos después de la administración por vía oral de una cantidad predeterminada de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C , siendo la administración por vía oral realizada después de la administración de un reductor de ácido gástrico, midiendo el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado,

(2) comparar el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido) obtenido en la etapa (1) con el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ correspondiente (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia) medido en un mamífero de control al que se ha administrado por vía oral de antemano una cantidad predeterminada de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C sin administrar el reductor de ácido gástrico;

(3) determinar la acidez gástrica del sujeto mamífero basándose en una diferencia entre el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido obtenido anteriormente; y

(4) determinar el efecto del reductor de ácido gástrico en el sujeto mamífero usando la acidez gástrica del sujeto mamífero obtenida anteriormente como índice.

7. El método según la reivindicación 6, en el que

la etapa (3) es una etapa de determinar que la acidez gástrica del sujeto mamífero es la misma o superior a la acidez gástrica del mamífero de control cuando el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia son el mismo, o que la acidez gástrica del sujeto mamífero es inferior a la acidez gástrica del mamífero de control cuando el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido es inferior al comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia y

en el que la etapa (4) es una etapa de determinar que el reductor de ácido gástrico administrado no tiene efecto sobre el sujeto mamífero cuando la acidez gástrica del sujeto mamífero medida en la etapa (3) es la misma o superior a la acidez gástrica del mamífero de control; o que el reductor de ácido gástrico administrado tiene un efecto sobre el sujeto mamífero cuando la acidez gástrica del sujeto mamífero medida en la etapa (3) es inferior a la acidez gástrica del mamífero de control.

8. El método según una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 7, en el que el reductor de ácido gástrico es un inhibidor de la bomba de protones, un bloqueante de H_2 , o un antiácido.

9. El método según la reivindicación 5, en el que (ii) la evaluación de la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto de CYP2C19 como de CYP3A4 o (iii) la evaluación de un efecto de un fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto de CYP2C19 como de CYP3A4 se lleva a cabo realizando las siguientes etapas (1) a (3) y luego realizando la siguiente etapa (4):

(1) usar, como muestra de prueba, aire espirado de un sujeto mamífero excretado en cualquier momento en el tiempo en el plazo de 30 minutos después de la administración por vía oral de una cantidad predeterminada de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C , siendo la administración por vía oral realizada después de la administración de omeprazol o lansoprazol, midiendo el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ excretado en el aire espirado;

(2) comparar el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido) obtenido en la etapa (1) con el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ correspondiente (comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia) medido en un mamífero de control al que se ha administrado por vía oral de antemano una cantidad predeterminada de un compuesto de carbonato marcado con ^{13}C sin administrar omeprazol o lansoprazol;

(3) determinar la acidez gástrica del sujeto mamífero basándose en una diferencia entre el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido obtenido anteriormente; y

(4) determinar la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en el sujeto mamífero o el efecto de un fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en el sujeto mamífero, usando la acidez gástrica del sujeto mamífero obtenida anteriormente como índice.

10. El método según la reivindicación 9 en el que

la etapa (3) es una etapa de determinar que la acidez gástrica del sujeto mamífero es la misma o superior a la acidez gástrica del mamífero de control cuando el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ medido y el comportamiento de $^{13}\text{CO}_2$ de referencia son el mismo, o que la acidez gástrica del sujeto mamífero es inferior a la acidez gástrica del mamífero de control cuando $^{13}\text{CO}_2$ medido es inferior a $^{13}\text{CO}_2$ de referencia, y

que comprende como etapa (4) una etapa de determinar la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en un sujeto mamífero, en el que la etapa (4) es una etapa de determinar que la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en el sujeto mamífero es normal o alta cuando la etapa (3) determina que la acidez gástrica del sujeto mamífero es la misma o superior a la acidez gástrica del mamífero de control; o que la actividad enzimática (capacidad metabólica) de CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en el sujeto mamífero es baja cuando la etapa (3) determina que la acidez gástrica del sujeto mamífero es inferior a la acidez gástrica del mamífero de control.

11. El método según la reivindicación 10 que comprende como etapa (4) una etapa de determinar el efecto de un fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 en un sujeto mamífero, en el que

(a) en el caso en el que el fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 muestre un efecto antes de ser metabolizado, la etapa (4) es una etapa de determinar que el efecto del fármaco en el sujeto mamífero es bajo cuando la etapa (3) determina que la acidez gástrica del sujeto mamífero es la misma o superior a la acidez gástrica del mamífero de control, o que el efecto del fármaco en el sujeto mamífero es alto cuando la etapa (3) determina que la acidez gástrica del sujeto mamífero es inferior a la acidez gástrica del mamífero de control; o

(b) en el caso en el que el fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 muestre un efecto por metabolización, la etapa (4) es una etapa de determinar que el efecto del fármaco en el sujeto mamífero es alto cuando la etapa (3) determina que la acidez gástrica del sujeto mamífero es la misma o

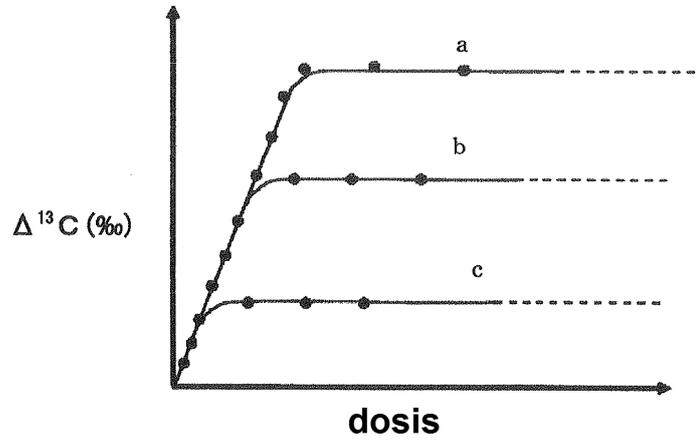
superior a la acidez gástrica del mamífero de control, o que el efecto del fármaco en el sujeto mamífero es bajo cuando la etapa (3) determina que la acidez gástrica del sujeto mamífero es inferior a la acidez gástrica del mamífero de control.

- 5 12. El método según la reivindicación 11, en el que el fármaco metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 es uno cualquiera de aquellos seleccionados del grupo que consiste en diazepam, omeprazol, lansoprazol, propranolol y clopidogrel; el fármaco que presenta un efecto antes de ser metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 es uno cualquiera de aquellos seleccionados del grupo que consiste en diazepam, omeprazol, lansoprazol y propranolol; y el fármaco que presenta un efecto por ser metabolizado por CYP2C19 sola o tanto CYP2C19 como CYP3A4 es clopidogrel.

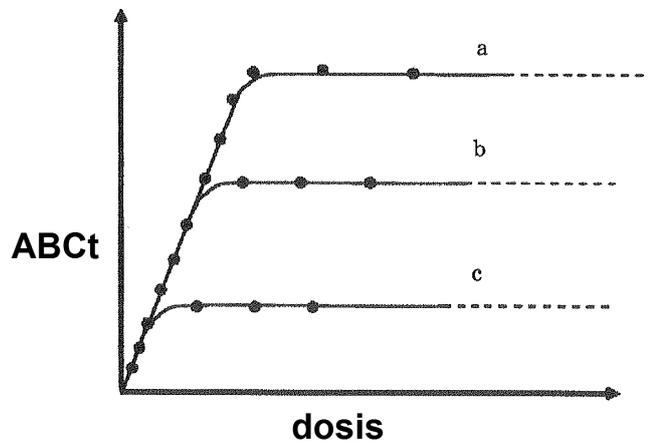
10

[FIG. 1]

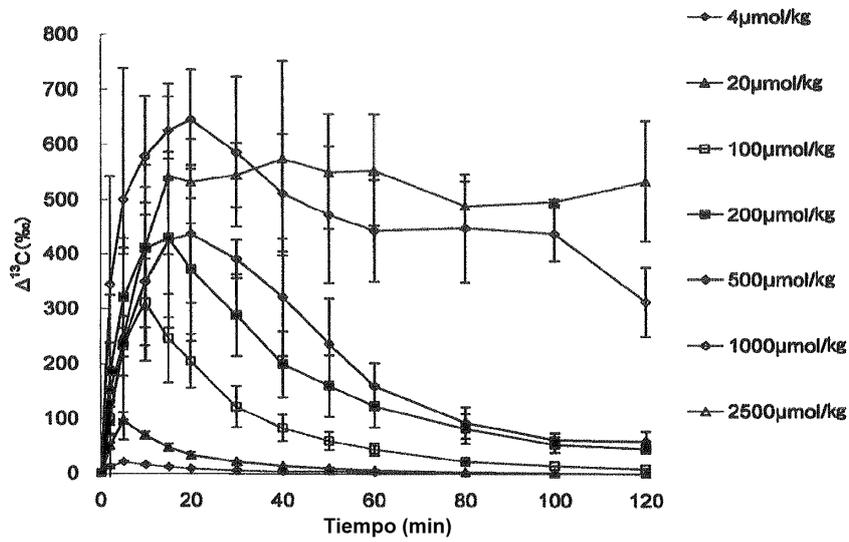
(1)



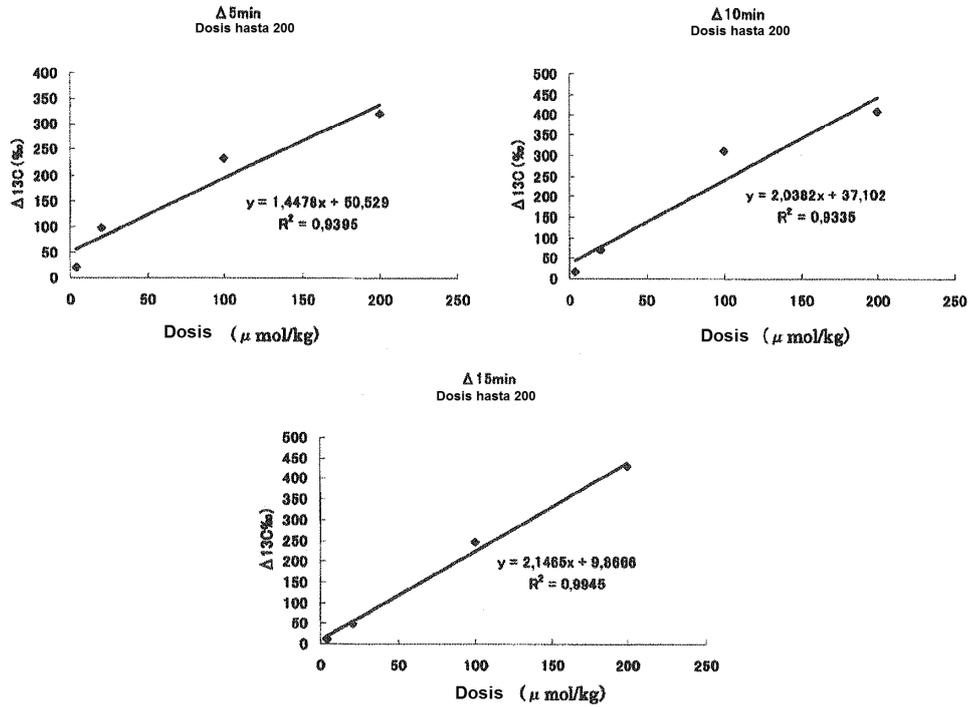
(2)



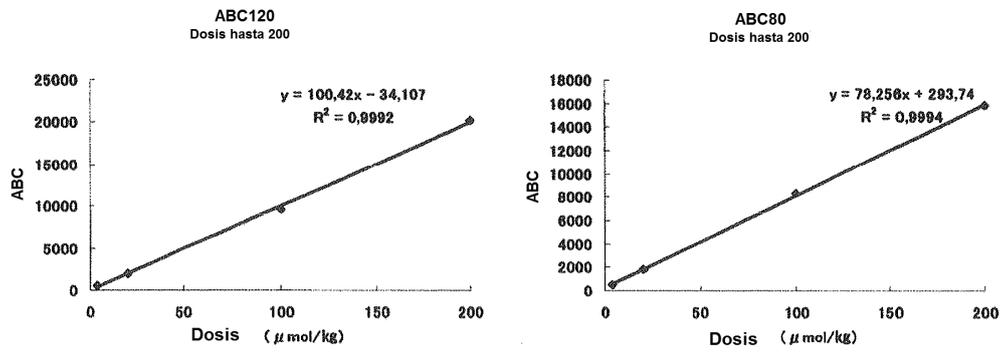
[FIG. 2]



[FIG. 3]

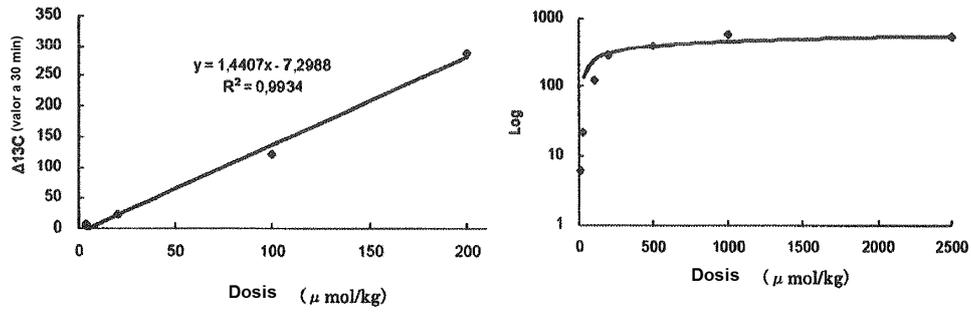


[FIG. 4]

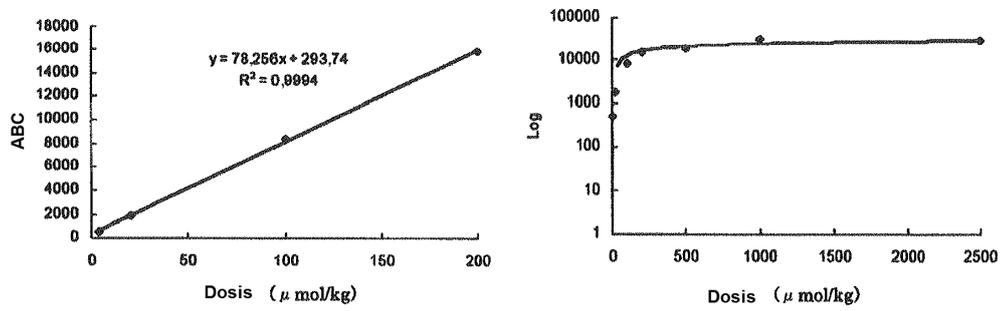


[FIG. 5]

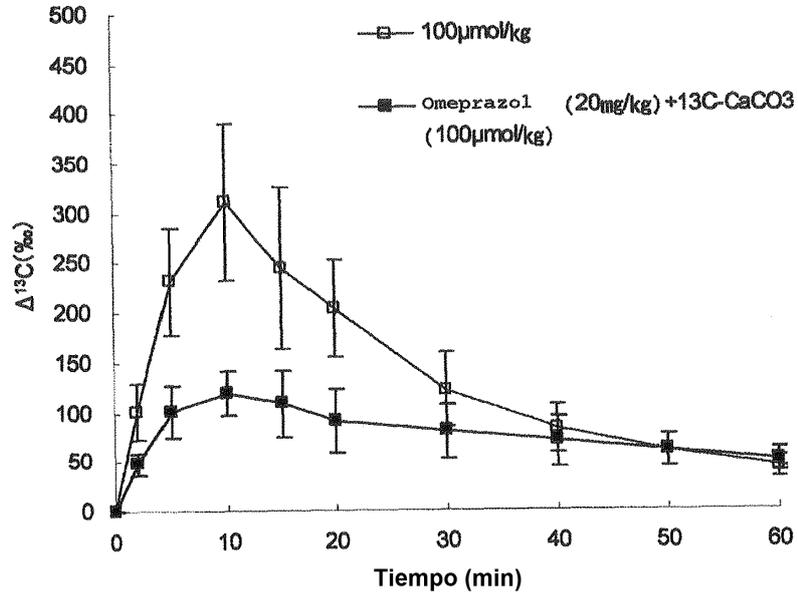
(1)



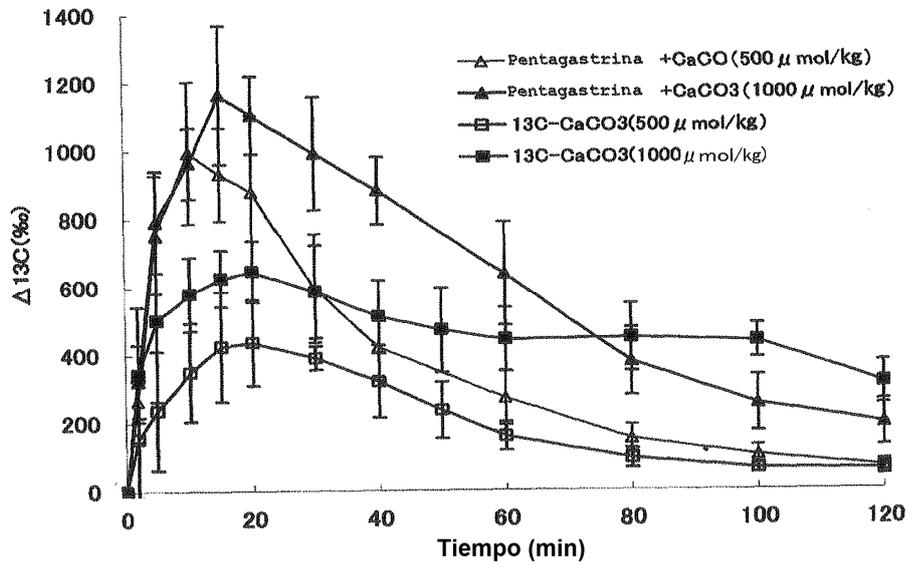
(2)



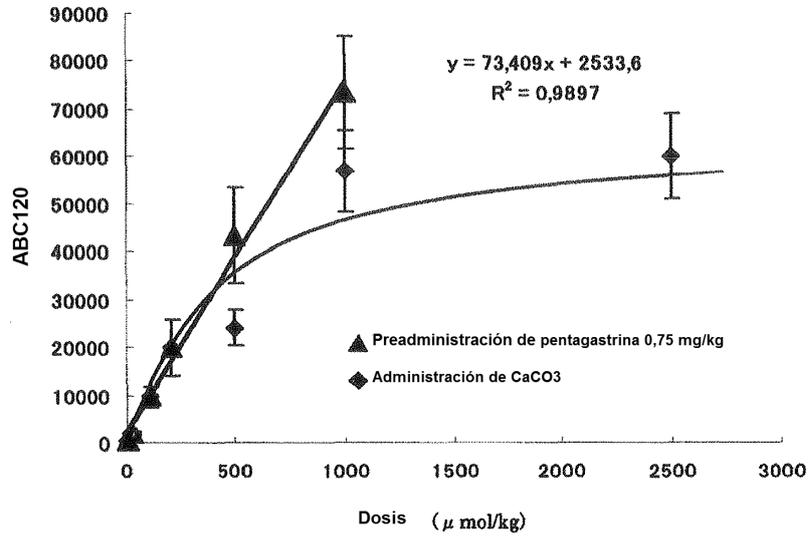
[FIG. 6]



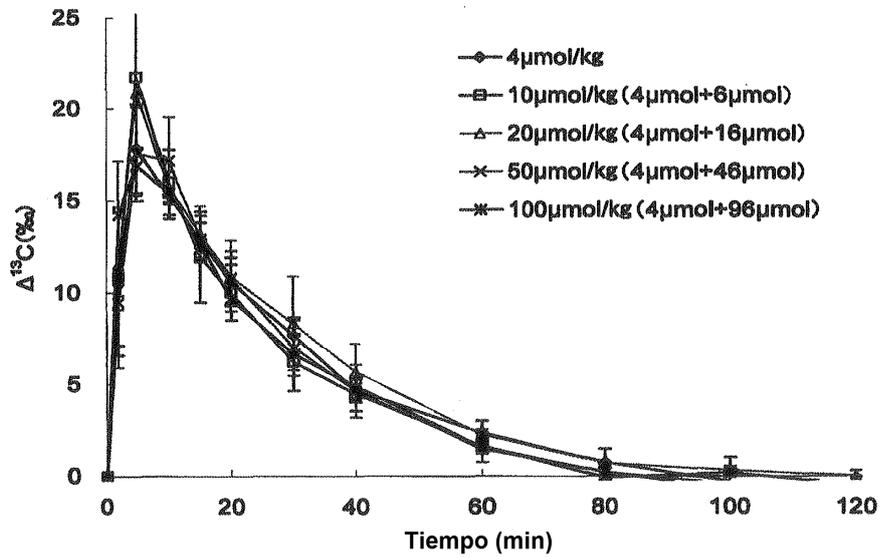
[FIG. 7]



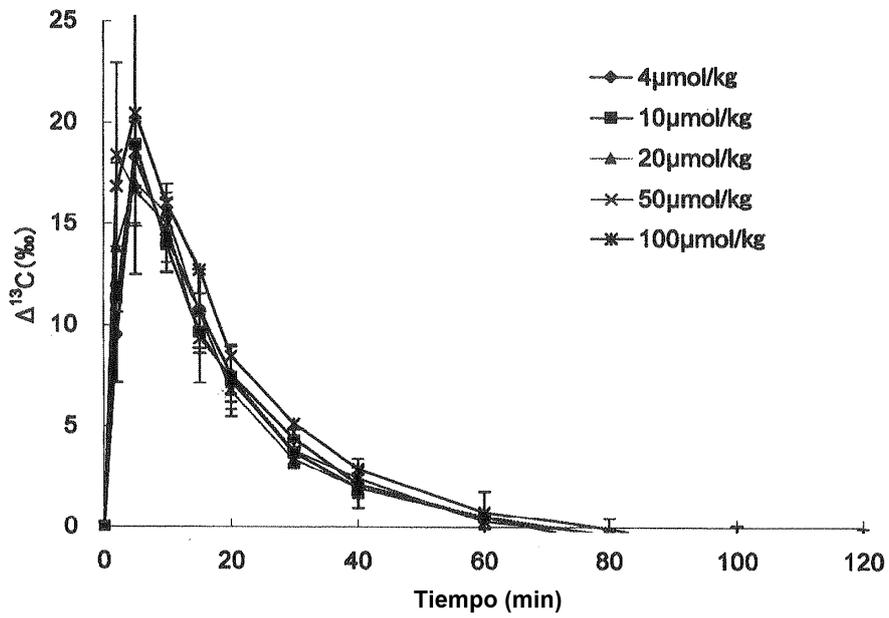
[FIG. 8]



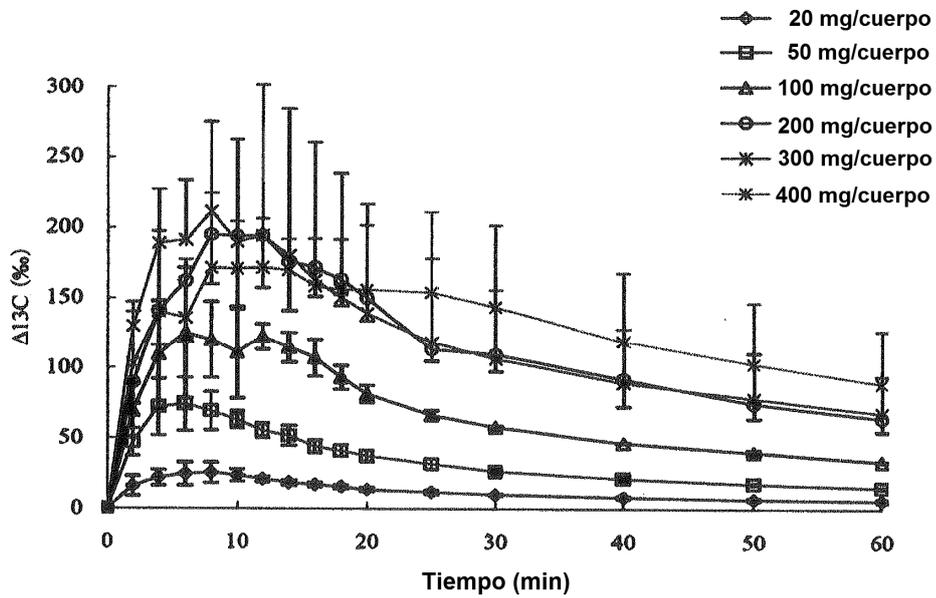
[FIG. 9]



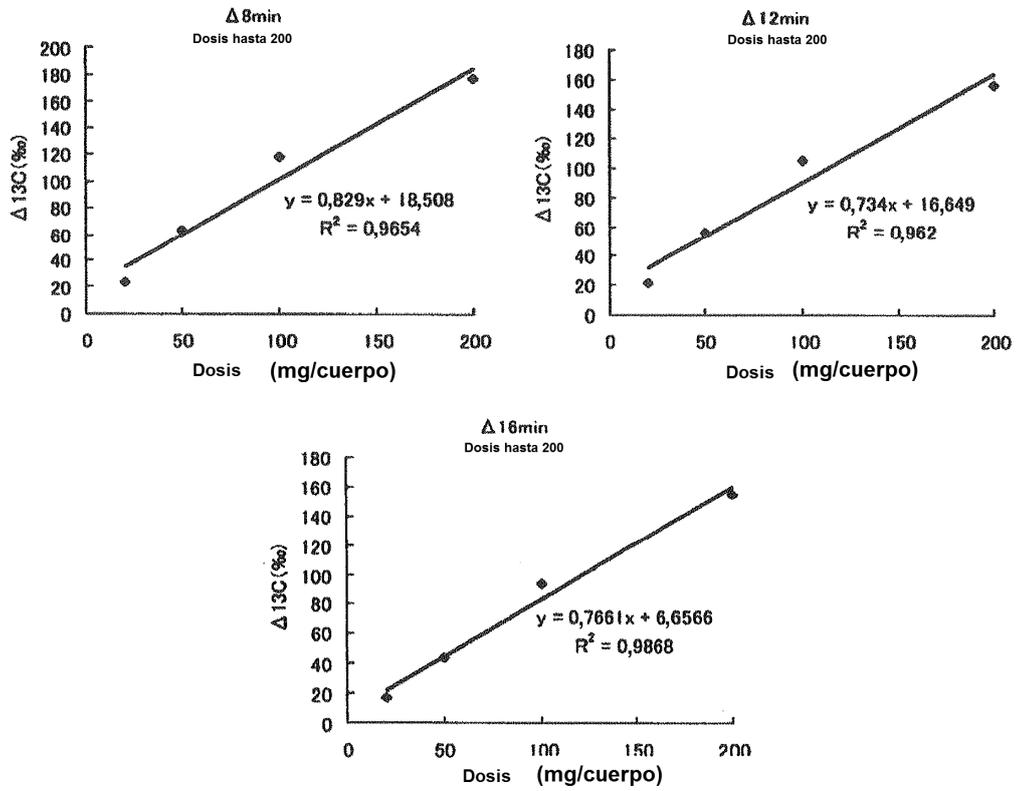
[FIG. 10]



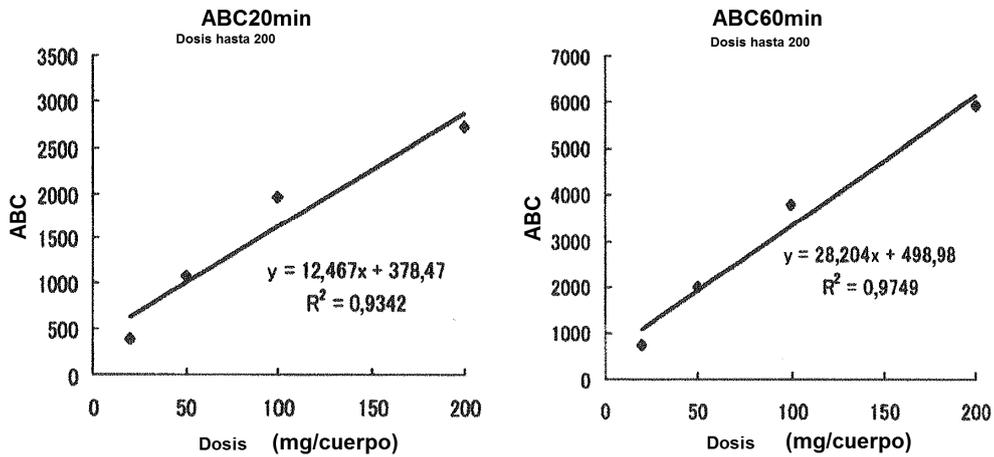
[FIG. 11]



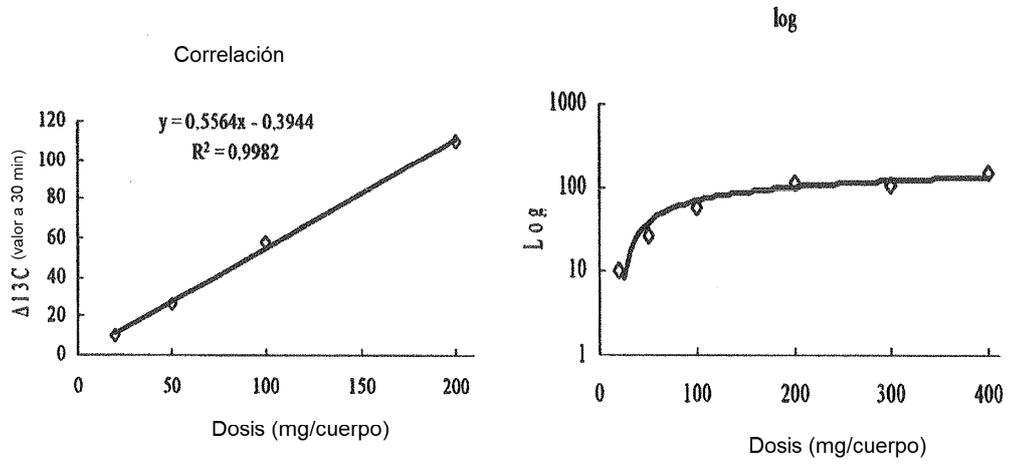
[FIG. 12]



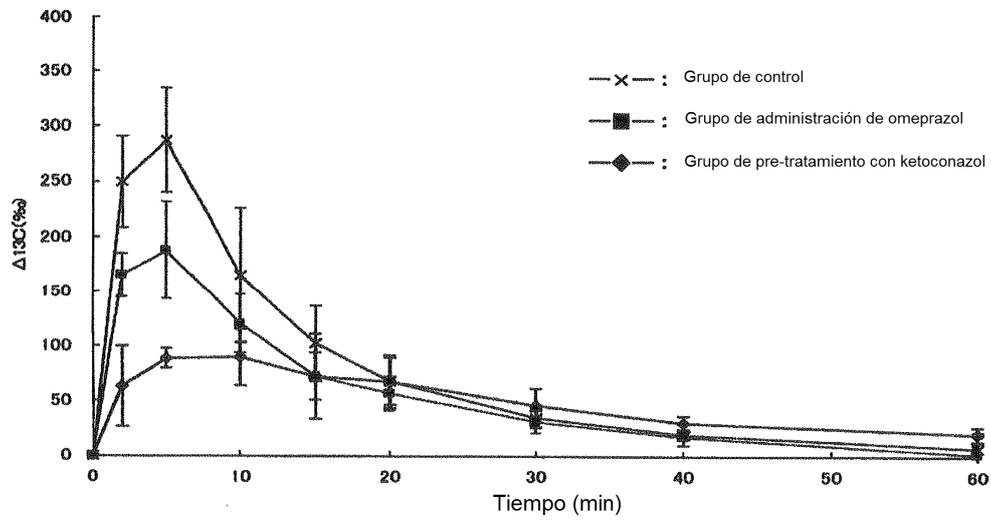
[FIG. 13]



[FIG. 14]



[FIG. 15]



[FIG. 16]

