

(12) **Übersetzung der neuen europäischen  
Patentschrift**

(97) Veröffentlichungsnummer: EP 1660067

(96) Anmeldenummer: 2004801850  
(96) Anmeldetag: 19.04.2004  
(45) Ausgabetag: 18.02.2020

(51) Int. Cl.: **A61K 31/195** (2006.01)  
**A61P 3/00** (2006.01)

(30) Priorität:  
28.07.2003 US 490473 P beansprucht.

(97) Veröffentlichungstag der Anmeldung:  
31.05.2006 Patentblatt 06/22

(97) Bekanntmachung des Hinweises auf die  
Patenterteilung:  
16.07.2008 Patentblatt 08/29

(97) Hinweis auf Einspruchsentscheidung:  
15.03.2017 Patentblatt 17 /11

(84) Benannte Vertragsstaaten:  
AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB  
GR HU IE IT LI LU MC NL PL PT RO SE SI SK  
TR

(56) Entgegenhaltungen:  
Die Entgegenhaltungen entnehmen Sie bitte der  
entsprechenden europäischen Druckschrift.

(73) Patentinhaber:  
PREKULAB LTD. A/S AF 8. MARTS 2004  
4220 KORS&OSLASH;R (DK)

(72) Erfinder:  
MATALON, REUBEN  
HOUSTON, TX 77059 (US)

(74) Vertreter:  
Patentanwälte Puchberger & Partner  
1010 Wien (ÖSTERREICH)

(54) **VERFAHREN UND MATERIALIEN ZUR BEHANDLUNG VON ERKRANKUNGEN IM ZUSAMMENHANG MIT  
STOFFWECHSELKRANKHEITEN**

## FACHGEBIET DER ERFINDUNG

Die vorliegende Erfindung betrifft im Allgemeinen Methoden und Materialien für die Behandlung von Zuständen in Verbindung mit Stoffwechselstörungen, und genauer gesagt Methoden und Materialien für die Behandlung von Zuständen in Verbindung mit Stoffwechselstörungen von bestimmten Aminosäuren.

## HINTERGRUND DER ERFINDUNG

Eine Reihe von Zuständen, die Menschen und auch Tieren zusetzen, ist Störungen im Stoffwechsel bestimmter Aminosäuren zuzuschreiben. Bei vielen dieser Störungen bezieht die Behandlung die Beschränkung der Aufnahme mit der Ernährung einer bestimmten Aminosäure oder Aminosäuren, die mit dem Zustand in Verbindung stehen, ein. Allerdings machen die auf einer Nahrungsbeschränkung basierenden Therapien die Einhaltung durch den Patienten erforderlich, und machen es darüber hinaus erforderlich, dass der Patient weiß, ob ein bestimmtes Lebensmittel die spezielle Aminosäure oder Aminosäuren, die mit dem Zustand in Verbindung stehen, enthält.

Zum Beispiel ist die Phenylketonurie ("PKU") eine Hyperaminoazidämie von Phenylalanin (Phe) in Verbindung mit einem angeborenen Fehler des Phenylalanin-Stoffwechsels, nämlich einer Mutation des Gens, das für Phenylalanin-4-hydroxylase ("PAH") codiert, welche Phenylalanin zu Tyrosin umwandelt. In einigen Fällen tritt ein weiterer Stoffwechseldefekt im Syntheseweg entweder von Dihydropteridin oder Tetrahydrobiopterin ("BH4"), d.h. PAH-Cofaktoren, die weiter zu der Hyperphenylalaninämie ("HPA") beitragen, auf. Zwar beträgt ein normaler Plasma-PHE-Spiegel etwa 0,05 mM (Pardridge, "Blood-Brain Barrier Amino Acid Transport: Clinical Implications," Kapitel 6 in *Inborn Errors of Metabolism in Humans*, Cockburn et al., Hrsg., Lancaster, England: MTP Press Ltd. (1980) ("Pardridge")), doch weisen unbehandelte "klassische" PKU-Patienten Plasma-Phe-Spiegel von über 1 mM auf (z.B. Plasma-Phe-Spiegel von etwa 1 mM bis etwa 2,5 mM oder mehr), und obschon die Behandlung mit einer Phe-armen Diät das Ziel der Reduzierung des Plasma-Phe auf unter 0,3 mM hat, ist dies aufgrund von Problemen mit der Einhaltung des Ernährungsregimes schwer zu erreichen. In den USA wird 1 von 10.000 Babies mit PKU geboren.

Die bei PKU beobachteten überhöhten Mengen an Phenylalanin im Plasma, kombiniert mit der relativ hohen Affinität des Phe für Bindungsstellen auf Trägerprotein des neutralen Aminosäure-Transportsystems in der Blut-Hirn-Schranke (blood-brain barrier, "BBB") führt zu (i) einer Anhäufung von Phe und seinen neurotoxischen Metaboliten (z.B. Phenylpyruvat, Phenylacetat, Phenyllaktat) im Gehirn und (ii) verminderten Mengen an anderen neutralen Aminosäuren als Phe, die in das Gehirn gelangen, was zu einer gestörten Hirnentwicklung und -funktion führt, da zerebrale Schlüsselwege des Stoffwechsels (z.B. Synthese von Neurotransmittern) Vorläufer-Aminosäuren, wie etwa Tyrosin, verlangen. Diese Verminderung ist bei Tyrosin ausgeprägt, welches in der Plasmazufuhr gering vorhanden ist aufgrund des Stoffwechselfehlers bei PKU in dem Enzym, das für die Umwandlung von Phenylalanin zu Tyrosin verantwortlich ist. Die derzeitige Überlegung ist die, dass die neurologischen Defizite bei PKU in erster Linie auf die Verminderung der Mengen an anderen neutralen Aminosäuren als Phe, die in das Gehirn gelangen, zurückzuführen sind (Kaufman, "Some Facts Relevant to a Consideration of a Possible Alternative Treatment for Classical Phenylketonuria," *J. Inher. Metab. Dis.*, 21 (Ergänzung 3): 4-19 (1998) ("Kaufman")).

Obschon eine Phenylalanin-arme Ernährung die Phe-Plasmaspiegel bei "klassischer" PKU auf unter 0,3 mM senken kann und die geistige Retardierung in Verbindung mit einer unbehandelten PKU mildern kann, wird die Einhaltung der Diät problematisch, wenn PKU-Patienten die Pubertät erreichen, was zu einem Anstieg der Phe-Plasmaspiegel und sowohl zu einem Verlust der Intelligenz als auch zu Veränderungen der weißen Materie im Gehirn führt. Aus Phe-eingeschränkten Diäten können auch Ernährungsmängel entstehen. Daher sind alternative Behandlungen entwickelt worden. Um zum Beispiel eine befürchtete Erschöpfung der Neurotransmitter Dopamin und Serotonin zu überwinden, sind PKU-Patienten mit den Neurotransmitter-Vorläufern Tyrosin und Tryptophan behandelt worden (Lou, "Large Doses of Tryptophan and Tyrosine as Potential Therapeutic Alternative to Dietary Phenylalanine Restriction in Phenylketonuria," *Lancet*, 2: 150-151 (1983)). Um die Zufuhr von Phe in das Gehirn zu vermindern, wurde älteren PKU-Patienten eine Ergänzung aus verzweigtkettigen neutralen Aminosäuren, umfassend Valin, Isoleucin und Leucin, verabreicht (Berry et al, "Valine, Isoleucine and Leucine. A New Treatment for Phenylketonuria," *Am. J. Dis. Child.*, 144: 539-543 (1990) ("Berry")), der eine signifikante Verbesserung bei Verhaltensdefiziten berichtete. Bei Kaufmann wurde vorgeschlagen, dass der Zusatz der Neurotransmitter-Vorläufer Tyrosin und Tryptophan zu der Ergänzung von Berry zu einer weiteren Verbesserung führen sollte. Allerdings war die Wirksamkeit dieser Behandlungen mit Aminosäure-Nahrungsergänzungen umstritten.

Die Tyrosinämie ist ein weiteres Beispiel eines Zustands, der einer Störung im Verstoffwechseln bestimmter Aminosäuren zuzuschreiben ist. Genauer gesagt stellt die Tyrosinämie eine

Störung dar, die durch einen Defekt in dem terminalen Enzym des Tyrosin-Stoffwechselfads verursacht wird, was zu einer Anhäufung von Fumarylacetoacetat führt, welches zu Succinylaceton umgebaut wird, welches sich anreichert und für die Leber toxisch ist. Die Tyrosinämie ist mit einem Leberversagen, Lebererkrankungen und Hepatokarzinom verbunden. Eine Lebertransplantation kann die normale Enzymaktivität für den Tyrosin-Stoffwechselfad wieder herstellen und wird in fortgeschrittenen Fällen angewendet. Dies ist jedoch eine schwierige und kostspielige Therapie. Eine andere derzeit angewendete Therapie für die Tyrosinämie umfasst einen zweifachen Ansatz: (i) Verwendung eines neuen Inhibitors der Tyrosinhydroxylase, NTBC (2-(2-Nitro-4-trifluormethylbenzoyl)-1,3-cyclohexandion), welches die Bildung von Succinylaceton verhindert; und (ii) eine sowohl an Tyrosin als auch Phenylalanin arme Ernährung, um die Menge an Tyrosin zu handhaben, die verstoffwechselt werden muss. Allerdings sind Sicherheitsfragen bezüglich des NTBC bisher unbeantwortet, und die Beschränkung der Nahrungsaufnahme von Tyrosin und Phenylalanin hängt von der Kenntnis und der Einhaltung durch den Patienten ab, was, wie oben erwähnt, problematisch sein kann, insbesondere bei Jugendlichen und Erwachsenen.

Die Alkaptonurie stellt ein weiteres Beispiel eines Zustands dar, der einer Störung im Verstoffwechseln bestimmter Aminosäuren zuzuschreiben ist. Die derzeitigen Therapien umfassen eine beschränkte Nahrungsaufnahme von Phenylalanin und Tyrosin, um eine Anhäufung des Metaboliten Homogentisinsäure zu reduzieren. Einige Patienten nehmen NTBC und Vitamin C ein, um Homogentisinsäure-Aggregate zu vermindern. Allerdings sind die Sicherheitsfragen bezüglich des NTBC bis heute unbeantwortet und hängt die Nahrungsbeschränkung von Tyrosin und Phenylalanin von der Kenntnis und Einhaltung durch den Patienten ab, was, wie oben erwähnt, problematisch sein kann.

Die Homozystinurie stellt ein weiteres Beispiel eines Zustands dar, der einer Störung im Verstoffwechseln bestimmter Aminosäuren zuzuschreiben ist. Patienten mit diesem Zustand befolgen häufig eine Methionin-beschränkte Diät. Die Nahrungsbeschränkung des Methionins hängt jedoch von der Kenntnis und der Einhaltung durch den Patienten ab, was, wie oben erwähnt, problematisch sein kann.

Eine Reihe von Zuständen ist Stoffwechselstörungen zuzuschreiben, die den Stoffwechsel von verzweigtkettigen Aminosäuren (branched chain amino acids, "BCAAs"), wie etwa Leucin, Isoleucin und Valin, beeinflussen. Leucin, Isoleucin und Valin sind essentielle Aminosäuren, die aus Nahrungsprotein bezogen werden müssen. Ein Defekt in einem Schritt eines vielstufigen Stoffwechselfades, welcher die BCAAs zu Energie umwandelt, führt zur Anhäufung eines Intermediat-Metaboliten der BCAA bis zu toxischen Mengen, was zu einer Erkrankung führt. Hierbei handelt es sich um eine große Gruppe von Erkrankungen, die zum Beispiel die Ahornsirupurin-Krankheit ("MSUD"), isovalerische Azidämie, methylmalonische

Azidämie und proprionische Azidämie umfassen. Diese Erkrankungen werden mit speziellen Nahrungsrezepturen behandelt, die arm an BCAAs mit dem Stoffwechseldefekt sind. Wie oben erörtert, ist eine erfolgreiche Handhabung dieser Erkrankungen und Bedingungen durch die Nahrungsbeschränkung einer Aminosäure oder einer bestimmten Kombination von Aminosäuren jedoch von der Kenntnis und Einhaltung durch den Patienten abhängig, was problematisch sein kann.

Pietz Joachim et al: "Large neutral amino acids block phenylalanine transport into brain tissue in patients with phenylketonuria", Journal of Clinical Investigation, Bd. 103, Nr. 8 (1999), Seiten 1169-1178, XP002389747, beschreibt die Messung des Gehirn-Phe bei Patienten mit PKU während einer oralen Phe-Provokation mit und ohne zusätzliche Supplementierung mit anderen LNAA's. Ein experimentelles Protokoll der Phe- und LNAA-Aufnahme wurde angewendet, wobei den Patienten eine Einzeldosis an gereinigtem L-Phe und ein LNAA-Gemisch, enthaltend Val, Met, iLeu, Leu, Tyr, His und Trp, verabreicht wurde.

Austic R. E. et al: "Effects of dietary mixtures of amino acids on fetal growth and material and fetal amino acid pools in experimental maternal phenylketonuria." The American Journal of Clinical Nutrition, Bd. 69, Nr. 4 (1999), Seiten 687-696, XP002389748 beschreibt eine Studie darüber, ob ein Nahrungsgemisch aus mehreren LNAAs das fötale Hirnwachstum verbessern und das Aminosäure-Profil im fötalen Gehirn bei einem Rattenmodell von durch Methylphenylalanin induzierter maternaler PKU normalisieren würde. Vier LNAA-Ergänzungen wurden verwendet, umfassend Thr, Val, iLeu, Leu, Met, Trp und Tyr.

US-Patent Nr. 3,832,465 beschreibt eine L-Aminosäure-Zusammensetzung, die für die intravenöse Verabreichung an Neugeborene, Frühgeborene und Patienten in der neonatalen Periode vorgesehen ist, welche Zusammensetzung die 20 natürlich vorkommenden Aminosäuren außer Asn oder Glu umfasst. Die Zusammensetzung ist daraufhin maßgeschneidert, Veränderungen im freien Aminosäure-Profil im Blut zu verhindern.

Angesichts des Obigen besteht ein Bedarf nach Methoden und Materialien zur Behandlung von Zuständen, wie etwa der Phenylketonurie, die einer Störung in der Verstoffwechslung bestimmter Aminosäuren zuzuschreiben sind, und die vorliegende Erfindung ist, zum Teil, auf die Erfüllung dieses Bedarfs gerichtet.

## **ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG**

Die vorliegende Erfindung betrifft eine LNAA-Ergänzung zum Behandeln eines Individuums, das an Phenylketonurie und/oder Phenylalanämie leidet, durch enterales Verabreichen, bestehend aus 195 mg L-Tyr, 51 mg L-Trp, 32 mg L-Met, 35 mg L-iLeu, 32 mg L-Thr, 35 mg L-Val, 80 mg L-Leu, 20 mg L-His und 20 mg L-Lys besteht; oder die aus 195,0 mg L-Tyr, 51,0

mg L-Trp, 32,0 mg L-Met, 35,0 mg L-iLeu, 32,0 mg L-Thr, 35,0 mg L-Val, 130,0 mg L-Leu, 30,0 mg L-His, 30,0 mg L-Arg und 30,0 mg L-Lys.

### **AUSFÜHRLICHE BESCHREIBUNG DER ERFINDUNG**

Wie hierin verwendet, soll sich "LNAA-Ergänzung" auf jegliche Zusammensetzung beziehen, die zumindest ein oder mehrere große neutrale Aminosäuren, wie etwa Phe, Leu, Tyr, Trp, Met, iLeu, Val und Threo, umfasst. Die LNAA-Ergänzung kann wahlweise weitere Komponenten enthalten, wie etwa basische Aminosäuren (z..B. Arg, His, Lys etc.) und/oder weitere Aminosäuren, Vitamine, Mineralien, Bindemittel, Verdünnungsmittel, Dispergiermittel und andere Exzipienten. Zur Veranschaulichung kann die LNAA-Ergänzung ein, zwei, drei, vier, fünf, sechs oder mehr als sechs große neutrale Aminosäuren enthalten. Die LNAA-Ergänzung kann im Wesentlichen frei von ein oder mehreren spezifizierten Aminosäuren sein, wie zum Beispiel in dem Falle, bei dem die LNAA-Ergänzung im Wesentlichen frei von der Aminosäure Z ist. Wie in diesem Zusammenhang verwendet, wird eine LNAA-Ergänzung als im Wesentlichen frei von Aminosäure Z erachtet, wenn Aminosäure Z in einer Menge vorhanden ist, die geringer als 10 % ist (z.B. geringer als etwa 9 %, geringer als etwa 8 %, geringer als etwa 7 %, geringer als etwa 6 %, geringer als etwa 5 %, geringer als etwa 4 %, geringer als etwa 3 %, geringer als etwa 2 % und/oder geringer als etwa 1 %) nach Gewicht des Gesamtgewichts aller der in der LNAA-Ergänzung vorhandenen großen neutralen Aminosäuren.

"Behandeln", wie hierin verwendet, soll sich auf die Behandlung der direkten oder indirekten Ursache eines Zustandes beziehen; auf die Behandlung der Symptome eines Zustandes; oder auf beides.

"Individuum", wie hierin verwendet, soll sich auf jegliches Tier beziehen, wie etwa jegliches Säugetier, z.B. Mäuse, Ratten, Katzen, Kaninchen, Hunde, Schweine, Pferde, Kühe, und Primaten, wie etwa Menschen. Zur Veranschaulichung soll "Individuum", wie hierin verwendet, menschliche Säuglinge, menschliche Kinder, menschliche Jugendliche, menschliche Erwachsene, männliche Menschen, weibliche Menschen, Menschen, die weniger als etwa 2 Jahre alt sind, Menschen, die zwischen etwa 2 Jahre und 5 Jahre alt sind, Menschen, die zwischen etwa 5 Jahre und etwa 10 Jahre alt sind, Menschen, die zwischen etwa 10 Jahre und etwa 18 Jahre alt sind, Menschen, die zwischen etwa 18 Jahre und etwa 30 Jahre alt sind, Menschen, die zwischen etwa 30 Jahre und etwa 40 Jahre alt sind, Menschen, die zwischen etwa 40 Jahre und etwa 50 Jahre alt sind, Menschen, die zwischen etwa 50 Jahre und etwa 60 Jahre alt sind, Menschen, die über 60 Jahre alt sind, Menschen, die an Phenylketonurie und/oder Phenyl-alanämie leiden, umfassen

Wie hierin verwendet, soll sich "enterale Verabreichung" einer Substanz auf jegliche Verabreichung beziehen, die die Substanz an ein oder mehrere Abschnitte des Magen-Darm- (gastrointestinal, "GI") -Trakts liefert, wie etwa den Magen, den Dünndarm und den Dickdarm. Zum Beispiel kann die enterale Verabreichung oral erfolgen, zum Beispiel durch Schlucken einer Tablette, Kapsel oder einer anderen festen Dosierungsform oder durch Schlucken einer Flüssiglösung oder Suspension. Zusätzlich oder alternativ kann die enterale Verabreichung durch eine Ernährungssonde, durch eine Magensonde oder durch andere herkömmliche Methoden der enteralen Verabreichung erfolgen.

Bei einer bestimmten Ausführungsform dieses Aspekts der vorliegenden Erfindung besteht die LNAA-Ergänzung pro 500 mg der LNAA-Ergänzung aus: 195 mg L-Tyr, 51 mg L-Trp, 32 mg L-Met, 35 mg L-iLeu, 32 mg L-Thr, 35 mg L-Val, 80 mg L-Leu, 20 mg L-His und 20 mg L-Lys.

In einer anderen Ausführungsform besteht die LNAA-Ergänzung aus 195,0 mg L-Tyr, 51,0 mg L-Trp, 32,0 mg L-Met, 35,0 mg L-iLeu, 32,0 mg L-Thr, 35,0 mg L-Val, 130,0 mg L-Leu, 30,0 mg L-His, 30,0 mg L-Arg und 30,0 mg L-Lys.

Die oben erörterten verschiedenen Aspekte der vorliegenden Erfindung können mittels jeglicher geeigneten Form der enteralen Verabreichung der LNAA-Ergänzung an das Individuum ausgeführt werden. Es wird zu erkennen sein, dass die tatsächliche, gemäß der vorliegenden Erfindung zu verabreichende bevorzugte Menge an LNAA-Ergänzung entsprechend der jeweiligen großen neutralen Aminosäure oder -säuren, die in der LNAA-Ergänzung vorhanden sind, der Beschaffenheit der anderen, in der LNAA-Ergänzung vorhandenen Komponenten und der Form der enteralen Verabreichung variieren wird. Viele Faktoren, die die Wirkung der LNAA-Ergänzung modifizieren können (z.B. Körpergewicht, Geschlecht, Ernährung, Zeit der Verabreichung, Verabreichungsweg, Ausscheidungsrate, Verfassung des Individuums, Wirkstoff-Kombinationen und Reaktions-Empfindlichkeiten und -Schweregrade), können durch Fachleute des Gebiets berücksichtigt werden. Die Verabreichung kann kontinuierlich oder periodisch innerhalb der maximal tolerierten Dosis erfolgen. Die optimalen Verabreichungsraten für einen gegebenen Satz von Bedingungen können durch die Fachleute des Gebiets unter Anwendung herkömmlicher Dosisverabreichungstests, wie etwa jenen, die in den folgenden Beispielen beschrieben sind, bestimmt werden. Kurz gefasst kann die Dosierung auf dem Plasmaspiegel des Phenylalanins beruhen. Zum Beispiel kann die Dosierung auf dem Spiegel des Plasma-Phenylalanins 0, 3 und/oder 6 Stunden nach der Verabreichung der LNAA-Ergänzung basieren.

Zur Veranschaulichung kann die LNAA-Ergänzung in einer einzigen oralen Dosis von etwa 0,1 g bis etwa 10 g pro kg Körpergewicht des Individuums im Wesentlichen zu einer Mahlzeit verabreicht werden. Wie hierin verwendet soll sich "im Wesentlichen zu einer Mahlzeit" auf

einen Zeitraum von etwa 4 Stunden vor einer Mahlzeit bis etwa 1 Stunde nach der Mahlzeit beziehen, wie etwa von etwa 4 Stunden vor der Mahlzeit bis etwa zu der Mahlzeit, von etwa 3 Stunden vor der Mahlzeit bis etwa zu der Mahlzeit, von etwa 2 Stunden vor der Mahlzeit bis etwa zu der Mahlzeit, von etwa 1 Stunden vor der Mahlzeit bis etwa zu der Mahlzeit und/oder von etwa 0,5 Stunden vor der Mahlzeit bis etwa zu der Mahlzeit. Zum Beispiel kann die LNAA-Ergänzung in einer einzelnen oralen Dosis von etwa 0,2 g bis etwa 5 g pro kg, wie etwa von etwa 0,3 g bis etwa 3 g pro kg, von etwa 0,3 g bis etwa 3 g pro kg, von etwa 0,4 g bis etwa 2 g pro kg, von etwa 0,5 g bis etwa 1 g pro kg Körpergewicht des Individuums im Wesentlichen zu einer Mahlzeit verabreicht werden. Alternativ kann die LNAA-Ergänzung zum Beispiel in mehrfachen oralen Dosen, die über den Tag verteilt sind (z.B. verabreicht alle 2-6 Stunden), verabreicht werden. Wahlweise kann die LNAA-Ergänzung so formuliert werden, dass sie eine verzögerte Freisetzung der LNAAs über einen Zeitraum hinweg bietet. Zur Veranschaulichung kann die vorliegende Erfindung außerdem eine Beschränkung der Nahrungsaufnahme an Phenylalanin des Individuums umfassen. Für die Zwecke der vorliegenden Erfindung ist die Nahrungsaufnahme an Phenylalanin eines Individuums als beschränkt zu erachten, wenn die Ernährung des Individuums (i) insgesamt oder zum Teil auf der Grundlage des Phenylalaningehalts ausgewählt wird, oder (ii) wenn die Ernährung des Individuums eine tägliche Gesamtaufnahme an Phenylalanin von im Wesentlichen weniger (z.B. über 50 % weniger) als der täglichen Gesamtaufnahme an Phenylalanin der Allgemeinbevölkerung umfasst. Alternativ kann die Methode der vorliegenden Erfindung außerdem eine Nicht-Beschränkung der Nahrungsaufnahme an Phenylalanin des Individuums umfassen. Für die Zwecke der vorliegenden Erfindung ist die Nahrungsaufnahme an Phenylalanin eines Individuums als nicht beschränkt zu erachten, wenn die Ernährung des Individuums eine tägliche Gesamtaufnahme an Phenylalanin beinhaltet, die im Wesentlichen dieselbe (z.B. plus oder minus weniger als 50%) wie die tägliche Gesamtaufnahme an Phenylalanin der Allgemeinbevölkerung ist.

Die LNAA-Ergänzungen können unter Verwendung von Aminosäuren hergestellt werden, die aus natürlichen Quellen stammen, oder die Aminosäuren können mittels den Fachleuten des Gebiets wohl bekannten Methoden synthetisch hergestellt werden. Sie können von irgendeiner geeigneten Dosierungsform sein, wie etwa den oben beschriebenen, die für die enterale Verabreichung geeignet sind, und sie können, zusätzlich zu großen neutralen Aminosäuren und anderen Aminosäuren, Vitamine, Mineralien, Exzipienten und ähnliches enthalten. Zum Beispiel umfassen geeignete Dosierungsformen für die orale Verabreichung Tabletten, dispergierbare Pulver, Granula, Kapseln, Suspensionen, Sirupe und Elixiere. Zu inerten Verdünnungsmitteln und Trägern für Tabletten zählen zum Beispiel Calciumkarbonat, Natriumkarbonat, Laktose und Talk. Die Tabletten können auch granulierende und zersetzende

Wirkstoffe enthalten, wie etwa Stärke und Alginsäure; Bindemittel, wie etwa Stärke, Gelatine und Akazie; und Gleitmittel, wie etwa Magnesiumstearat, Stearinsäure und Talk. Die Tabletten können unbeschichtet oder mittels bekannter Techniken zur Verzögerung des Zerfalls und der Absorption beschichtet sein. Inerte Verdünnungsmittel und Träger, die in Kapseln verwendet werden können, umfassen zum Beispiel Calciumkarbonat, Calciumphosphat und Kaolin. Die zuvor genannten Kapseln oder Tabletten können wahlweise so formuliert werden, dass sie eine verzögerte Freisetzung der LNAAs über einen bestimmten Zeitraum bieten. Suspensionen, Sirupe und Elixiere können herkömmliche Exzipienten enthalten, zum Beispiel Methylcellulose, Tragant, Natriumalginat; Benetzungsmittel, wie etwa Lecithin und Polyoxyethylenstearat; und Konservierungsmittel, wie etwa Ethyl-p-hydroxybenzoat.

Zur Veranschaulichung kann die Ergänzung in einer einzigen oralen Dosis von etwa 0,1 g bis etwa 10 g pro kg Körpergewicht des Individuums im Wesentlichen zu einer Mahlzeit verabreicht werden. Zum Beispiel kann die Zusammensetzung in einer einzelnen oralen Dosis von etwa 0,2 g bis etwa 5 g pro kg, wie etwa von etwa 0,3 g bis etwa 3 g pro kg, von etwa 0,4 g bis etwa 2 g pro kg, von etwa 0,5 g bis etwa 1 g pro kg Körpergewicht des Individuums im Wesentlichen zu einer Mahlzeit verabreicht werden. Alternativ kann die Zusammensetzung zum Beispiel in mehrfachen oralen Dosen, die über den Tag verteilt werden (z.B. verabreicht alle 2-6 Stunden), verabreicht werden.

## **BEISPIELE**

### Beispiel 1 – Die Hypothese

Die Verfügbarkeit von Aminosäuren im Gehirn wird bestimmt durch (i) die Plasmazufuhr der Aminosäure, und (ii) die Konkurrenz der durch Plasma zugeführten Aminosäuren um eine gemeinsame Aminosäure-Bindungsstelle(n) auf dem Trägerprotein des BBB-Transporters für neutrale Aminosäuren. Es wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Konkurrenz um neutrale Aminosäuren an einer gemeinsamen Träger-Bindungsstelle unter physiologischen Bedingungen für das zentrale Nervensystem einzigartig ist (Pardridge, welches hierin durch Bezugnahme mit aufgenommen ist) und dass diese Konkurrenz die Grundlage für die Korrelation des BBB-Transports und der klinischen Störungen, die das Gehirn beeinträchtigen (z.B. PKU), ist. Während sich bisherige PKU-bezogene Studien auf den kompetitiven Transport von nicht-Phe-LNAAs durch die Blut-Hirn-Schranke, um den Eintritt von Phe in das Gehirn zu unterdrücken, bezogen haben, wurde dabei der Transport von LNAAs aus dem gastrointestinalen Trakt und in das Blut hinein ignoriert, was eine Hauptdeterminante der Plasmazufuhr an Aminosäuren darstellen kann.

Neun separate Transportsysteme sind in der BBB identifiziert worden (Oldendorf, "Measurement of Brain Uptake of Radiolabelled Substances Using a Tritiated Water Internal Stan-

dard, "Brain Res., 24(2): 372-376 (1970), welches hierin durch Bezugnahme mit aufgenommen ist). Der Transport eines gegebenen Substrats durch die BBB ist durch seine Affinitätskonstante  $K_m$  gekennzeichnet. Ein niedrigerer  $K_m$ -Wert entspricht einer größeren Affinität für die Bindungsstelle des Trägerproteins. Jedes BBB-Transportsystem vermittelt den transkapillaren Fluss einer Gruppe von Substraten. Zum Beispiel vermittelt ein Transportsystem den Transport von LNAAs, ein anderes vermittelt den Transfer von Hexosen etc.

Drei der BBB-Transportsysteme vermitteln den Transport der häufigen Aminosäuren, bei separaten Trägerproteinen für LNAAs, für basische Aminosäure und für saure Aminosäuren. Die Werte der Michaelis-Konstante  $K_m$  für die drei Klassen von häufigen Aminosäuren sind nachstehend in Tabelle 1 angegeben (Pardridge, welches hierin durch Bezugnahme mit aufgenommen ist).

**TABELLE 1**

System	repräsentative Aminosäure oder anderes Substrat	$K_m$ (mM)
Neutrale Aminosäuren	Phe	0,12
Basische Aminosäuren	Lys	0,10
Saure Aminosäuren	Glu	0,04
Hexosen	Glukose	9
Schilddrüsenhormon	T3	0,0011

Obschon viel quantitative Information bezüglich der BBB-Transportsysteme gewonnen worden ist, ist relativ wenig bezüglich der Modulation der Trägerproteine bekannt. Die entwicklungsmäßige oder pathologische Induktion oder Repression der Transporteraktivität würde erwartungsgemäß die Stoffwechselfade im Gehirn grundlegend beeinflussen, die durch die Verfügbarkeit von Vorläufern begrenzt sind.

Die absoluten und apparenten  $K_m$ -Werte der neutralen Aminosäuren an der BBB sind experimentell bestimmt worden (Pardridge, welches hierin durch Bezugnahme mit aufgenommen ist). Der Absolutwert der  $K_m$  ist der Wert der  $K_m$  in der Abwesenheit der Konkurrenz durch andere neutrale Aminosäuren um die Bindungsstelle auf dem LNAA-Trägerprotein. Die "apparente  $K_m$ " ist der Wert der  $K_m$  in der Gegenwart anderer LNAAs, die um die Bindungsstelle auf dem LNAA-Trägerprotein konkurrieren. Der apparente  $K_m$ - (" $K_m(\text{app})$ ") -Wert einer gegebenen Aminosäure wird aus dem absoluten  $K_m$ -Wert und der Summe der Verhältnisse des Plasmaspiegels jeder LNAA, geteilt durch ihren  $K_m$ -Wert, errechnet, wie in nachstehender Gleichung 1 gezeigt.

$$K_m(\text{app}) = K_m (1 + \sum [aa] / K_m] \quad (\text{Gleichg. 1})$$

Die experimentellen Werte der  $K_m(\text{app})$  für das LNAA-Transportsystem in der BBB sind nachstehend in Tabelle 2 angegeben (Pardridge, welches hierin durch Bezugnahme mit aufgenommen ist).

**TABELLE 2**

Aminosäure	Typischer Plasmaspiegel (mM)	$K_m$ (mM)	$K_m(\text{app})$ (mM)
<b>LNAA's</b>			
Phe	0,05	0,12	0,45
Leu	0,10	0,15	0,53
Tyr	0,09	0,16	0,58
Trp	0,10	0,19	0,71
Met	0,04	0,19	0,77
ILeu	0,07	0,33	1,3
Val	0,14	0,63	2,5
Threo	0,19	0,73	3,0
<b>Basische Aminosäuren</b>			
His	0,05	0,28	1,1
Arg	0,10	0,09	0,40
Lys	0,30	0,10	0,25

Gleichung 1 sagt voraus, dass dann, wenn der Plasmaspiegel einer LNAA viel geringer ist als ihr Wert der  $K_m$ , diese Aminosäure nicht wirksam um die Trägerprotein-Bindungsstelle konkurrieren wird. Die  $K_m$  für die Bindung von LNAAs an Trägerproteine in anderen Organen als dem Gehirn beträgt 5-10 mM (siehe Tabelle 3), was 50-100-mal höher ist als die physiologische Plasmakonzentration der LNAAs. Gleichung 1 sagt voraus, dass keine signifikanten Konkurrenzeffekte unter normalen physiologischen Bedingungen in vivo für LNAAs in anderen Geweben als dem Gehirn auftreten werden. Allerdings ist die Konkurrenz in peripherem Gewebe in vitro bei Plasmakonzentrationen der Aminosäuren von 5-50 M nachgewiesen worden. Aus diesen Beobachtungen zieht der Anmelder die Hypothese, dass hohe Mengen einer Zufuhr an nicht-Phe-Aminosäuren möglicherweise mit Phe an dem GI-Trakt-Transporter konkurrieren könnten.

Die experimentellen Werte der  $K_m$  für den Transport in Darmepithelien sind nachstehend in Tabelle 3 angegeben (Pardridge, welches hierin durch Bezugnahme mit aufgenommen ist).

TABELLE 3

Aminosäure	Darmepithelien Km (mM)
Phe	1
Leu	2
Met	5
His	6
Val	3

Da LNAAs mit mehreren klinischen Störungen assoziiert sind und da die LNAAs in das Gehirn über den LNAA-Transporter der BBB gelangen, ist die Gehirn-Clearance dieser Aminosäuren den Auswirkungen der zuvor genannten Konkurrenz unterworfen. Da Phe eine relativ hohe Affinität für den LNAA-Transporter aufweist (Tabelle 1) und da die Plasmaspiegel von Phe bei Phenylketonurie deutlich erhöht sind, führt PKU zur Sättigung der Bindungsstellen des BBB-Trägerproteins durch Phe und folglich zu überhöhten Mengen des Phe im Gehirn und zu verminderten Mengen der anderen LNAAs im Gehirn (Pardridge, "Blood-Brain Barrier Carrier-Mediated Transport and Brain Metabolism of Amino Acids, "Neurochem. Res. , 23: 635-644 (1998), welches hierin durch Bezugnahme mit aufgenommen ist).

Daher wurde die Hypothese aufgestellt, dass eine Supplementierung mit nicht-Phe-LNAAs mit Phe an dem BBB-Transportsystem wirksam konkurrieren könnte, was den Phe-Transport in das Gehirn vermindern und den Transport der anderen LNAAs erhöhen und dadurch die Symptome der PKU mildern könnte (Andersen et al., "Lowering Brain Phe Levels by Giving Other LNAAs," Arch. Neurol., 33(10): 684-686 (1976) und Kaufman, "Phenylketonuria: Biochemical Mechanisms", S. 1-132 in Agranoff et al., Hrsg., Advances in Neurochemistry, New York: Plenum Press (1977), welches hierin durch Bezugnahme mit aufgenommen ist). Um die Zufuhr des Phe in das Gehirn zu vermindern, wurde eine Ergänzung an verzweigtkettigen neutralen Aminosäuren, umfassend Valin, Isoleucin und Leucin, an ältere PKU-Patienten verabreicht (Berry, welches hierin durch Bezugnahme mit aufgenommen ist), der eine signifikante Verbesserung bei Verhaltensdefiziten berichtete. Kaufman schlug vor, dass der Zusatz der Neurotransmitter-Vorläufer Tyrosin und Tryptophan zu Berry's Ergänzung zu einer weiteren Verbesserung führen könnte (Kaufman, welches hierin durch Bezugnahme mit aufgenommen ist).

Diese Hypothese wurde experimentell durch eine quantitative NMR-Messung der Gehirnspiegel an Phe bei PKU-Patienten während einer oralen Phe-Provokation (0,1 g/kg) mit und ohne Supplementierung durch 0,15 g/kg an nicht-Phe LNAAs getestet (Pietz et al, "Large Neutral Amino Acids Block Phenylalanine Transport into Brain Tissue in Patients with Phenylketonuria," J. Clin. Invest. , 103(8): 1169-1178 (1999) ("Pietz"), welches hierin durch Bezugnahme mit aufgenommen ist). Die LNAA-Ergänzung enthielt Valin, Methionin, Isoleucin, Leucin, Tyrosin, Histidin und Tryptophan. Der Grundlinien-Plasmaspiegel von Phe betrug

1 mM und der Gehirnspiegel von Phe betrug 0,25 mM ohne LNAA-Supplementierung. Pietz, welches hierin durch Bezugnahme mit aufgenommen ist, beobachtete einen Gehirnspiegel an Phe, der nach der Phe-Provokation auf 0,4 mM anstieg, begleitet von einer gestörten Gehirnaktivität bei einem EEG. Bei einer gleichzeitigen LNAA-Supplementierung war die Phe-Zufuhr in das Gehirn jedoch vollständig blockiert und es zeigte sich keine Verlangsamung der EEG-Aktivität. Diese Forschungsstudien führten Lilab zu der Entwicklung von Prekunil, einer handelsüblichen LNAA-Ergänzung für die Behandlung der PKU.

### Beispiel 2 – Formulierung der LNAA-Ergänzung

Wie oben angegeben, stellte der vorliegende Erfinder die Hypothese auf, dass eine LNAA-Nahrungsergänzung, die daraufhin entworfen ist, sowohl mit dem Transport von Phe aus dem GI-Trakt in das Blut zu konkurrieren und ihn zu unterdrücken als auch mit dem Transport von Phe aus dem Blut durch die BBB in das Gehirn zu konkurrieren und ihn zu unterdrücken, als einer PKU-Behandlung eingesetzt werden könnte. Genauer gesagt wurde die Hypothese aufgestellt, dass die orale Verabreichung der LNAA-Ergänzung bei jeder Mahlzeit den Phe-Transport aus dem GI-Trakt in das Blut unterdrücken sollte, so dass das BBB-Transportersystem durch die hohen Mengen an Phe, die typischerweise in dem Blut des PKU-Patienten vorhanden sind, nicht überlastet wird.

Wie in Gleichung 1 gezeigt, steht der Term  $[(aa)/Km]$  bei jeder Aminosäure für die Fähigkeit jener Aminosäure, mit Phe an der Bindungsstelle des Trägerproteins zu konkurrieren. Wie in Tabelle 1 erkennbar, sind Leu, Tyr, Trp und Met LNAAs, die mit Phe an dem BBB-Trägerprotein wirksam konkurrieren sollten.

Obschon wenig Arbeit hinsichtlich der Charakterisierung der Affinität der LNAAs für die Bindungsstelle des Trägerproteins im GI-Trakt vorgenommen worden ist, zeigte die In vitro-Messung der LNAA-Inhibition des Phe-Transports in humanen Darmepithelzellen (Hidalgo et al., "Transport of a Large Neutral Amino Acid (Phenylalanine) in a Human Intestinal Epithelial Cell Line: Caco-2.", *Biochim. Biophys. Acta*, 1028: 25-30 (1990) („Hidalgo“), welches hierin durch Bezugnahme mit aufgenommen ist), dass Leu ein starker Inhibitor war und dass LNAAs und basische Aminosäuren interessanterweise eine Trägerprotein-Bindungsstelle in den Darmzellen zu teilen scheinen, wobei Lys eine starke Inhibition des Phe-Transports zeigt. Tabelle 4 stellt die Ergebnisse der Experimente zur Bestimmung der Aminosäure-Inhibition des Phe-Transports in Caco-2-Zellen dar, bei welchen 10  $\mu$ m Phe in Puffer auf Monoschichten in der Gegenwart einer 1 mM-Konzentration jeder Aminosäure aufgebracht wurde und der Phe-Transport durch die Monoschicht zu dem in der Abwesenheit der konkurrierenden Aminosäure in Relation gesetzt wurde.

TABELLE 4

Inhibitor	% Inhibition
LNAAs	
Leu	55 %
Tyr	45 %
Trp	36 %
Basische Aminosäuren	
Lys	50 %
His	33 %

Zu beachten ist, dass der Km-Wert für Phe bei dem Darmzell-Transportsystem durch Hidalgo, welches hierin durch Bezugnahme mit aufgenommen ist, als 0,65 mM gemessen worden ist, was dem Wert von 1 mM, wie bei Pardridge berichtet, welches hierin durch Bezugnahme mit aufgenommen ist, nahe kommt. Zu beachten ist außerdem, dass die Variation in Km zwischen verschiedenen LNAAs in Darmepithelien (Tabelle 3) größer als in BBB ist. Zum Beispiel beträgt das Verhältnis der Km-Werte für Phe/Leu/Met in den Darmepithelien 1/2/5, wohingegen es in BBB 1/1,25/1,58 beträgt.

Die derzeit für die PKU-Behandlung verwendete LNAA-Ergänzung ist Prekunil, dessen Zusammensetzung, basierend auf dem Aminosäure-Verhältnis der menschlichen Milch, in Tabelle 5 gezeigt ist. Ausgehend von den Beobachtungen der Inhibition des Phe-Transports in Caco-2-Zellen (Hidalgo, welches hierin durch Bezugnahme aufgenommen ist), entwarf der Erfinder der vorliegenden Erfindung alternative Ergänzungen (ebenfalls in Tabelle 5 als SuppM1 und SuppM2 angegeben), worin die Mengen an Leu und Lys in Prekunil signifikant erhöht wurden. Von der Erhöhung des Leu wird geglaubt, dass sie den Phe-Transport vom GI-Trakt in das Blut, und vom Blut in das Gehirn, weiter unterdrückt. Von der Erhöhung des Lys wird geglaubt, dass sie den Phe-Transport vom GI-Trakt in das Blut weiter unterdrückt.

TABELLE 5

Aminosäure	Prekunil		SuppM1		SuppM2	
	(mg)	(mmol)	(mg)	(mmol)	(mg)	(mmol)
L-Tyr	194,1	1,07	194,1	1,07	195	1,08
L-Trp	61,1	0,30	61,1	0,30	51	0,25
L-Met	49,7	0,33	49,7	0,33	32	0,21
L-iLeu	31,5	0,24	31,5	0,24	35	0,22
L-Threo	32,8	0,28	32,8	0,28	32	0,27
L-Val	32	0,27	32	0,27	35	0,30
L-Leu	30	0,24	130	1,00	80	0,61
L-His	31,3	0,20	31,3	0,20	20	0,13
L-Arg	34	0,20	34	0,20	0	0
L-Lys	0	0	0	0	20	0,14
Gesamtaminosäure	496,5	3,13	596,5	3,89	500	3,21
FOM-Km(app) für Phe		18,3		23,4		19,95

Da der Term  $[\Sigma(aa)/Km \text{ jeder } aa]$  der Gleichung 1 den Grad ausdrückt, in welchem jede Aminosäure in einer Ergänzung mit Phe bei einem gegebenen Transportsystem konkurriert und da die Km von Phe bei dem BBB-Transportsystem gemessen worden ist, kann eine Leistungszahl für die apparente Km für Phe in der Gegenwart jeder der Aminosäure-Ergänzungen der Tabelle 5 durch Summieren der Verhältnisse der Anzahl von mMol jeder Aminosäure in der Ergänzung, geteilt durch ihren Km, ausgedrückt werden. Diese "Leistungszahl" (hierin auch bezeichnet auch als "FOM") ist eine Annäherung der ersten Ordnung an den Grad, in welchem die Ergänzung den Transfer von Phe vom Plasma in das Gehirn unterdrücken kann und gibt an, dass die Ergänzungen der vorliegenden Erfindung in der Unterdrückung des Phe-Transports vom Plasma in das Gehirn um 28 % (SuppM1) und um 9 % (SuppM2) wirksamer sein sollten als Prekunil. Zu beachten ist jedoch, dass die SuppM2-Ergänzung zur Optimierung der Konkurrenz mit Phe an dem GI-Trakt-Transporter, bei lediglich einer geringfügigen Verbesserung in der FOM-Km(app) für die Konkurrenz mit Phe an dem BBB-Transporter, entworfen ist.

Die Km-Werte der nicht-Phe-LNAAs an dem Transportsystem des GI-Trakts sind nicht bekannt für alle der nicht-Phe-LNAAs (Tabelle 3), und somit lassen sich ähnliche Konkurrenzterme für die Ergänzungen der vorliegenden Erfindung nicht berechnen. Unter der aktuellen Hypothese jedoch legen die Daten von Hidalgo zu Caco-2-Zellen, welches hierin durch Bezugnahme mit aufgenommen ist, wie in Tabelle 4 dargestellt, nahe, dass Leu und Lys in der Unterdrückung des Phe-Transports aus dem GI-Trakt in das Blut wirksam sein sollten. Somit sollte die Verstärkung einer Ergänzung, wie etwa Prekunil, mit zusätzlichem Leucin und Lysin, wie in der SuppM2-Ergänzung, die Konkurrenz mit Phe an dem GI-Trakt-Transporter erhöhen, was die Plasma-Phe-Zufuhr zu der BBB reduziert.

### Beispiel 3 – Wirkung von Prekunil, SuppM1 und SuppM2 auf die Phe-Spiegel in Mäuseplasma

Die Ergänzungen SuppM1 und SuppM2 wurden an Mäuse mit PKU, Genotyp ENU 2/2 mit Merkmalen einer klassischen PKU, in einzelnen oralen Dosen von 0,5 g/kg verabreicht, und die Plasmaspiegel an Phenylalanin wurden 0, 3, 6 und 24 Stunden nach der Dosierung überwacht. Es sollte zur Kenntnis genommen werden, dass 0,5 g/kg eine relativ geringe Dosis der Ergänzung ist, da Prekunil typischerweise bei 1 g/kg verabreicht wird. Es ist bekannt, dass LNAA-Ergänzungen typischerweise die Plasmaspiegel an Phenylalanin für mehrere Stunden nach der Einnahme unterdrücken, wobei die Wirkung dann abnimmt, so dass eine Dosierung zu jeder Mahlzeit erforderlich sein kann. Daher wurde der 6 Stunden-Wert von Phenylalanin als ein Indikator des Grades angenommen, in welchem die Phenylalanin-Anhäufung unterdrückt worden war.

Die Daten für eine einzelne Maus (P448), die keinerlei Ergänzung erhielt, für eine einzelne Maus (P455), die mit der handelsüblichen Ergänzung Prekunil dosiert wurde, für eine einzelne Maus (P430), die mit Prekunil, verstärkt mit 35 mg Leu, dosiert wurde, für zwei Mäuse (P456 und P259), die mit Prekunil plus 100 mg Leu (d.h. SuppM1) dosiert wurde, und für zwei Mäuse (P433 und P482), die mit der SuppM2-Ergänzung dosiert wurde, sind in nachstehender Tabelle 6 gezeigt. Genauer gesagt zeigt Tabelle 6 die Phe-Plasmaspiegel (mg/dl) in Mäusen, denen LNAA-Ergänzungen (0,5 g/kg, Einzeldosis) verabreicht wurden, 0, 3, 6 und 24 Stunden nach der Dosierung.

TABELLE 6

Zeit (Std.)	Kontrolle	Prekunil	Prekunil + 35 mg Leu	Prekunil + 100 mg Leu (SuppM1)		SuppM2	
	P448	P455	P430	P456	P259	P433	P482
0	33,20	27,14	27,23	25,37	27,22	18,69	21,10
3	30,91	24,23	26,02	23,20	25,57	14,63	16,86
6	28,91	22,17	25,21	17,49	19,02	13,68	15,39
24	30,14	20,89	27,13	20,88	21,42	20,06	23,78

Die Verstärkung der Prekunil-Ergänzung mit 100 mg Leu (SuppM1), einer Aminosäure, die mit Phe an den Bindungsstellen der Trägerproteine sowohl der Darmepithelien als auch der BBB wirksam konkurrieren sollte, bewirkte somit eine signifikante Unterdrückung des Phe-Plasmaspiegels. Während Prekunil selbst eine 20 %-ige Verminderung bei Phe bewirkte, bewirkte die SuppM1-Ergänzung eine 30 %-ige Reduktion im Plasma-Phe 6 Stunden nach der Dosierung für beide getesteten Mäuse. Die Verstärkung der Ergänzung sowohl mit Leucin als auch Lysin zur Anzielung des GI-Transporters, wie bei SuppM2, bewirkte eine 70 %-ige Reduktion im Plasma-Phe 6 Stunden nach der Dosierung für beide getesteten Mäuse. Die ausgezeichnete Phe-Unterdrückung der SuppM2-Ergänzung ist indikativ für ihre Fähigkeit, mit dem Phe-Transport an dem GI-Transporter wirksamer zu konkurrieren als die anderen Ergänzungen, bei gleichzeitiger Beibehaltung der Fähigkeit, an dem BBB-Transporter ähnlich zu konkurrieren.

Die Plasma-Tyrosin-Analyse für die Mäuse, denen SuppM2 verabreicht wurde, ergab stabile Mengen von 0,58-0,50 mg/dl bzw. 0,44-0,40 mg/dl Tyrosin über das 24-stündige Experiment für die Mäuse P433 bzw. P482.

Es wird zu erkennen sein, dass SuppM1 und SuppM2 möglicherweise nicht optimale Zusammensetzungen der LNAA-Ergänzung für die Behandlung von PKU darstellen. Zum Beispiel können die LNAA-Ergänzungen so modifiziert werden, dass die erforderlichen Hirnspiegel an Aminosäuren als Neurotransmitter-Vorläufer, wie Tyrosin und Tryptophan, aufrecht erhalten bleiben und zugleich die Konkurrenz der Ergänzung mit Phe an dem GI-Trakt-

Transporter verbessert wird und die Konkurrenz der Ergänzung mit Phe an dem BBB-Transporter beibehalten bleibt.

#### Beispiel 4 – Zusätzliche Formulierung der LNAA-Ergänzung

Eine zusätzliche Formulierung der Ergänzung, betitelt als SuppM3, ist in Tabelle 7 dargestellt. Diese Formulierung der Ergänzung veranschaulicht die Zusammensetzung und Methoden der vorliegenden Erfindung weiter.


**TABELLE 7**

Aminosäure	SuppM3 (mg)
L-Tyr	195,0
L-Trp	51,0
L-Met	32,0
L-iLeu	35,0
L-Threo	32,0
L-Val	35,0
L-Leu	130,0
L-His	30,0
L-Arg	30,0
L-Lys	30,0
Gesamtaminosäure	600,0

**Patentansprüche**

- 1.) LNAA-Ergänzung zum Behandeln eines Individuums, das an Phenylketonurie und/oder Phenylalanämie leidet, durch enterales Verabreichen, bestehend aus
- 195 mg L-Tyr,
  - 51 mg L-Trp,
  - 32 mg L-Met,
  - 35 mg L-iLeu,
  - 32 mg L-Thr,
  - 35 mg L-Val,
  - 80 mg L-Leu,
  - 20 mg L-His und
  - 20 mg L-Lys.
- 2.) LNAA-Ergänzung zum Behandeln eines Individuums, das an Phenylketonurie und/oder Phenylalanämie leidet, durch enterales Verabreichen, bestehend aus
- 195,0 mg L-Tyr,
  - 51,0 mg L-Trp,
  - 32,0 mg L-Met,
  - 35,0 mg L-iLeu,
  - 32,0 mg L-Thr,
  - 35,0 mg L-Val,
  - 130,0 mg L-Leu,
  - 30,0 mg L-His
  - 30,0 mg L-Arg und
  - 30,0 mg L-Lys.

20. JULI 2017



**PUCHBERGER & PARTNER**  
PATENTANWÄLTE  
REICHSRATSSTRASSE 13  
1010 VIENNA, AUSTRIA  
TEL +43 1 512 37 02  
OFFICE@PUCHBERGER.AT