

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
18. Februar 2010 (18.02.2010)

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2010/017570 A2

- (51) Internationale Patentklassifikation:
A61K 9/08 (2006.01) A61P 3/00 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/AT2009/000306
- (22) Internationales Anmeldedatum:
7. August 2009 (07.08.2009)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
A 1254/2008 12. August 2008 (12.08.2008) AT
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): ORPHA SWISS GMBH [CH/CH]; Untere Heslibachstrasse 41a, CH-8700 Küsnacht (CH).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): WIDMANN, Rudolf [AT/AT]; Wintergasse 85/1B, A-3002 Purkersdorf (AT).
- (74) Anwälte: NEMEC, Harald et al.; Wipplingerstrasse 30, A-1010 Wien (AT).
- (81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,

AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

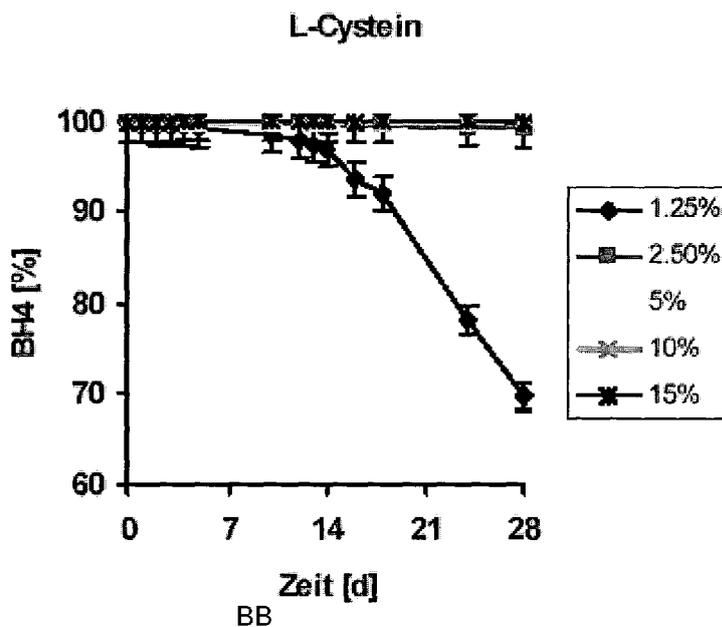
(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts (Regel 48 Absatz 2 Buchstabe g)

(54) Title: PHARMACEUTICAL FORM COMPRISING TETRAHYDROBIOPTERIN

(54) Bezeichnung: PHARMAZEUTISCHE DARREICHUNGSFORM ENTHALTEND TETRAHYDROBIOPTERIN



(57) Abstract: The invention relates to a pharmaceutical form comprising tetrahydrobiopterin or a metabolic precursor thereof, comprising an aqueous solution of tetrahydrobiopterin or a metabolic precursor thereof and an antioxidant in a dispensing container, and to a metering device for the metered dispensing of the aqueous solution, and further to the use of an antioxidant for stabilizing an aqueous solution of tetrahydrobiopterin, or a metabolic precursor thereof, for a storage period of at least one month.

(57) Zusammenfassung: Pharmazeutische Darreichungsform umfassend Tetrahydrobiopterin, oder einen metabolischen Vorläufer davon, umfassend eine wässrige Lösung von Tetrahydrobiopterin oder eines metabolischen Vorläufers davon, und eines Antioxidans in einem Abgabebehälter und eine Dosiereinrichtung zur dosierten Abgabe der wässrigen Lösung, sowie die Verwendung eines Antioxidans zum Stabilisieren einer wässrigen Lösung von Tetrahydrobiopterin, oder eines metabolischen Vorläufers davon, für einen Lagerungszeitraum von mindestens einem Monat.

BB... Time

WO 2010/017570 A2

Pharmazeutische Darreichungsform enthaltend Tetrahydrobiopterin

Die vorliegende Erfindung betrifft eine pharmazeutische Darreichungsform enthaltend Tetrahydrobiopterin, die zur Behandlung von Phenylketonurie-Varianten, die durch einen Tetrahydrobiopterin-Mangel verursacht werden, Verwendung finden kann.

Tetrahydrobiopterin stellt einen Cofaktor der Phenylalaninhydroxylase (PAH) dar und ist auch ein Cofaktor der Alkylglycerolmonooxygenase, der Tyrosinhydroxylase (TH), der Tryptophanhydroxylase (TPH) und der Stickoxidhydroxylasen, bei denen Tetrahydrobiopterin zum ersten Mal identifiziert wurde. Daher ist Tetrahydrobiopterin für die Umwandlung von Phenylalanin in Tyrosin und für die Produktion der Monoamin-Neurotransmitter Dopamin, Epinephrin, Norepinephrin und Serotonin erforderlich (Miwa et al., Arch. Biochem. Biophys. 1985; 239: 234-241).

Hyperphenylalaninämie ist eine weitverbreitete angeborene Stoffwechselkrankheit, die in den meisten Fällen (ungefähr 98%) aus einem Phenylalaninhydroxylase-Mangel aufgrund von Mutationen im Phenylalaninhydroxylase-Gen entsteht (Scriver et al. Hum Mutat 2000; 15: 99-104). Die dazugehörigen Phänotypen reichen je nach Schwere von einer klassischen Phenylketonurie ($> 1200 \mu\text{mol/l}$ Phenylalanin im Blutplasma) bis zu einer leichten Phenylketonurie ($600\text{-}1200 \mu\text{mol/l}$ Phenylalanin im Blutplasma) und einer leichten Hyperphenylalaninämie ($120\text{-}600 \mu\text{mol/l}$ Phenylalanin im Blutplasma). Patienten mit sowohl klassischer als auch schwacher Phenylketonurie benötigen eine lebenslange Diät mit Proteinrestriktion, um neurologische *Sequelae* zu verhindern und eine normale kognitive Entwicklung sicherzustellen.

Untersuchungen zeigten, dass eine Ernährungsergänzung mit Tetrahydrobiopterin die Phenylalanin-Blutplasmakonzentration bei Patienten, die Mutationen im PAH-Gen aufweisen, verringern kann (Kure et al. J Pediatr 1999; 135: 375-8), wobei aber offenbar nur bestimmte Mutationen im PAH-Gen auf eine Ansprechempfindlichkeit gegenüber Tetrahydrobiopterin hinweisen, andere Mutationen im PAH hingegen nicht. Die Tetrahydrobiopterin-sensitive Hyperphenylalaninämie kann weiters in einen Tetrahydrobiopterin-sensitiven PAH-Mangel und einen Fehler in der Synthese oder

Regeneration von Tetrahydrobiopterin, d.h., typische (schwere) Formen eines Mangels an GTP-Cyclohydrolase 1 (GTPCH), Dihydropteridinreduktase (DHPR) und 6-Pyruvoyltetrahydropterinsynthase (PTPS), unterteilt werden.

Ungefähr 1-3% der Patienten mit hartnäckiger Hyperphenylalaninämie haben eine Defizienz in der Tetrahydrobiopterin-Synthese (Danks et al. *J. Inherited Metab. Dis.* 1978; 1: 49-53; Berlow et al. *Pediatrics.* 1980; 65: 837-839). Die Mehrheit der Patienten mit Fehlern in der Tetrahydrobiopterin-Synthese weist häufig Mutationen in jenem Gen auf, das für das phosphatelimierende Enzym PTPS kodiert, welches den zweiten Schritt der Biosynthese von Tetrahydrobiopterin aus Dihydroneopterintriphosphat katalysiert. Solche Patienten, die an einer Tetrahydrobiopterin-sensitiven Hyperphenylalaninämie aufgrund eines mangelhaften Tetrahydrobiopterin-Pathways leiden, welche von einer neurologischen Degeneration begleitet sein kann, sprechen auf eine phenylalaninarme Diätbehandlung nicht an.

Daher sind Behandlungsmaßnahmen erforderlich, welche die tägliche orale Verabreichung von Tetrahydrobiopterin einschließen (Muntau et al., *New England Journal of Medicine* 2002; 347: 2122-2132). Alternativ wäre auch die Verabreichung von L-Sepiapterin vorstellbar. Niederwieser et al. berichteten, dass die Symptome einer Hyperphenylalaninämie bei einem Patienten mit Dihydrobiopterin-Mangel nach Verabreichung einer einzigen Dosis von L-Sepiapterin vorübergehend verschwanden (Niederwieser et al. *Euro J Pediatr* 1982; 138(2): 110-2). Demgemäß präsentierten Nichol und Kollegen einen Salvage-Pathway, der für die Regeneration von Tetrahydrobiopterin aus Dihydrobiopterin verantwortlich ist, und zwar über eine Dioxoverbindung und L-Sepiapterin in Niere und Leber, und der von DHPR katalysiert wird (Nichol et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1983; Band 83: 1546-1550). Eine solche Rückgewinnung von Tetrahydrobiopterin scheint unbedingt erforderlich zu sein, um eine stetige Zufuhr von reduziertem Tetrahydrobiopterin sicherzustellen und eine Anhäufung von schädlichen Stoffwechselprodukten zu verhindern. Tatsächlich führen mehrere Mutationen im DHPR-Gen bekanntermaßen zu einer bösartigen Hyperphenylalaninämie (Danks et al. *J. Inherit. Metab. Dis.* 1978; 1: 49-53).

Die Verabreichung von Tetrahydrobiopterin ist bisher jedoch mit mehreren Problemen verbunden. Feste inerte feuchtigkeitsfreie Formulierungen sind bislang als einzige Option für eine langfristige Lagerung von Tetrahydrobiopterin bekannt, da Tetrahydrobiopterin in Gegenwart eines wässrigen Lösungsmittels rasch abgebaut wird. Das hat zur Folge, dass die individuelle Dosierung, die mit dem Körpergewicht des jeweiligen Patienten in direktem Zusammenhang steht, vom Neugeborenen bis hin zum Erwachsenen stark variiert und mit einer festen Formulierung von Tetrahydrobiopterin, z.B. einem Pulver oder einer Tablette, erzielt werden muss. Dies ist kompliziert und schwierig, da einerseits jede einzelne Pulverdosis separat gewogen werden muss und andererseits das Arzneimittel rasch oxidiert wird, sobald Tetrahydrobiopterin-Pulver Sauerstoff ausgesetzt wird, wenn z.B. der Verschluss der Verpackung geöffnet ist. Folglich war es bislang unmöglich, Tetrahydrobiopterin als Massen-Pulverformulierung zum individuellen Abwiegen durch den Patienten bereitzustellen. Alle Bestrebungen, dieses Problem zu lösen, konzentrieren sich auf Strategien zur Verbesserung der Stabilität von Tetrahydrobiopterin in einer trockenen festen Formulierung und zum Auflösen von verschlossenen festen Single-Unit-Formulierungen, unmittelbar vor der Verabreichung.

Die derzeitigen Strategien zur Überwindung dieser pharmazeutischen und technologischen Herausforderungen konzentrieren sich zum Beispiel auf stabilere Derivate von Tetrahydrobiopterin, stabilere feste Kristallformen (siehe z.B. WO 2005/065018), auf das unter Stickstoff erfolgende Versiegeln in Ampullen und die Lagerung bei $\leq -20^{\circ}\text{C}$ (Schricks Laboratories, Schweiz) sowie auf das Hinzufügen von Antioxidationsmitteln zu festen Formulierungen (Fiege et al., Mol Genet Metab. 2004 Jan; 81(1): 45-51). Das Nutzen all dieser Strategien verleiht den Multi-Unit-Abgabesystemen allerdings nur für einige Wochen Stabilität, sofern sie nicht bei -20°C oder darunter gelagert werden. Daher ist eine geeignete Formulierung für eine vereinfachte, individuell angepasste orale Behandlung mit Tetrahydrobiopterin erforderlich.

Darreichungsformen von Tetrahydrobiopterin oder eines metabolischen Vorläufers von Tetrahydrobiopterin sind beispielsweise aus EP 0 209 689, EP 0 906 913, JP 10 338 637, oder JP 63 267 781 bekannt.

Es wurde nun überraschenderweise eine pharmazeutische Darreichungsform für die orale Verabreichung von Tetrahydrobiopterin oder einen metabolischen Vorläufer davon gefunden, mit deren Hilfe es leicht möglich ist, Tetrahydrobiopterin oder einen metabolischen Vorläufer davon entsprechend dem Gewicht des einzelnen Patienten zu dosieren, die zur Darreichung für Neugeborene, Kindern oder Erwachsene geeignet ist, und in der Tetrahydrobiopterin oder ein metabolischer Vorläufer davon in stabiler Form vorliegt.

In einem Aspekt stellt die vorliegende Erfindung eine pharmazeutische Darreichungsform, umfassend Tetrahydrobiopterin, oder einen metabolischen Vorläufer davon, zur Verfügung, die dadurch gekennzeichnet ist, dass sie eine wässrige Lösung von Tetrahydrobiopterin, oder eines metabolischen Vorläufers davon, und eines Antioxidans in einem Abgabebehälter und eine Dosiereinrichtung zur dosierten Abgabe der wässrigen Lösung umfasst.

Eine pharmazeutische Darreichungsform, die gemäß vorliegender Erfindung zur Verfügung gestellt wird, wird hierin auch als „(pharmazeutische) Darreichungsform gemäß (nach) vorliegender Erfindung“ bezeichnet.

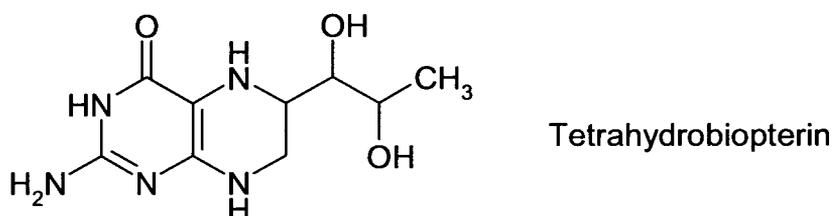
Eine pharmazeutische Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung umfasst eine orale Darreichungsform zur flüssigen Verabreichung von Tetrahydrobiopterin, oder eines metabolischen Vorläufers davon, in Form einer wässrigen Lösung.

Eine Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung umfasst Tetrahydrobiopterin, oder einen metabolischen Vorläufer davon und ein Antioxidans, die gelöst in einem wässrigen Lösungsmittel vorliegen und gegebenenfalls einen oder mehrere pharmazeutisch verträgliche Hilfsstoffe.

Das wässrige Lösungsmittel in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung ist ein Lösungsmittel, das die Protonisierung von darin gelösten Salzen oder Säuren ermöglicht und umfasst Wasser, oder Wasser in Verbindung mit einem weiteren hydrophilen Lösungsmittel, z.B. Ethanol, Isopropanol, Polyethylenglycol, Glycerin, Dimethylsulfoxid, oder Kombinationen davon.

Vorzugsweise umfasst eine wässrige Lösung in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung Wasser als Lösungsmittel, bevorzugt mindestens 50%, mindestens 60%, mindestens 70%, mindestens 80%, mindestens 90%, mindestens 99% Wasser; besonders bevorzugt ist 100% Wasser als Lösungsmittel. Falls der verwendete metabolische Vorläufer von Tetrahydrobiopterin eine geringe Löslichkeit in Wasser hat, als z.B. L-Septiapterin, das eine Löslichkeit von 0,17 g/100 g H₂O in reinem Wasser aufweist, wird bevorzugt, dass Mischungen von Wasser mit einem weiteren hydrophilen Lösungsmittel, wie z.B. Propylenglycol oder Glycerin, zum Verbessern der Löslichkeit verwendet werden. Es ist auch möglich, die Löslichkeit durch verschiedene Verfahren zu verbessern, welche die Löslichkeit bekanntermaßen verbessern, einschließlich z.B. der Ultraschallung.

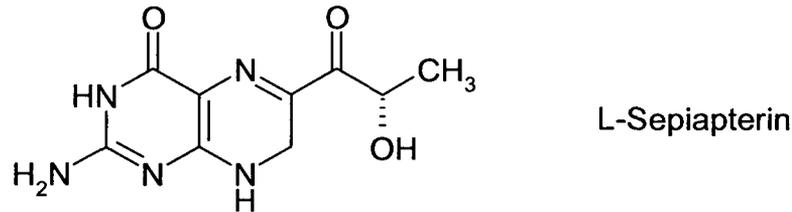
Tetrahydrobiopterin (5,6,7,8-Tetrahydro-biopterin) in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung ist eine Verbindung der Formel



und entspricht der reduzierten Form von Biopterin. Die chemische Reduktion von Biopterin ergibt zwei Diastereoisomere, nämlich (6S)- und (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin, wobei (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin der natürlichen Form von Tetrahydrobiopterin entspricht. Tetrahydrobiopterin ist auch unter dem Namen Sapropterin oder BH₄ bekannt. (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin in der Form eines Dihydrochloridsalzes wird unter dem Handelsnamen Kuvan® vermarktet. (6R,S)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin im Verhältnis von (6R)/(6S) = 70/30 ist, in der Form eines Dihydrochlorids, erhältlich z.B. von Schircks Laboratories, Schweiz.

Ein metabolischer Vorläufer von Tetrahydrobiopterin in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung schließt eine Pterin- oder Biopterin-Zwischenverbindung ein, welche intrazellulär direkt in 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin oder eine andere Pterin- oder Biopterin-Zwischenverbindung umgewandelt/reduziert werden kann, und zwar entweder über den *de novo*-Weg für die Biosynthese von Tetrahydrobiopterin oder über den für die Regeneration

von Tetrahydrobiopterin verantwortlichen Salvage-Pathway. Ein metabolische Vorläufer des (natürlichen) Tetrahydrobiopterin, nämlich L-Sepiapterin der Formel



(CAS 17094-01-8) kann bei Verabreichung durch den Pterin-Salvage-Pathway, der von der Sepiapterinreduktase-Aktivität (=7,8-Dihydro-biopterin:NADP⁺-Oxidoreduktase) abhängt, intrazellulär in (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin umgewandelt werden (Blau et al., Mol Genet Metab. 2001;74(1-2):172-185). Der metabolische Vorläufer des Tetrahydrobiopterins kann in der Form eines Salzes vorliegen, z.B. ein Salz wie jenes des (6S)- und (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterins.

In einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung ist Tetrahydrobiopterin bevorzugt ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin und (6R,S)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin, z.B. in einem Verhältnis (6R)/(6S) = 70/30, und deren Salzen, insbesondere Säureadditionssalzen, beispielsweise Hydrochloridsalzen, wie Dihydrochloridsalzen; besonders bevorzugt ist (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin, bevorzugt in der Form eines Salzes, wie eines Dihydrochloridsalzes. Ein metabolischer Vorläufer von Tetrahydrobiopterin gemäß vorliegender Erfindung ist bevorzugt L-Sepiapterin, z.B. in der Form eines Salzes.

Ein Antioxidans in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung umfasst pharmazeutisch akzeptable Sulfhydrylverbindungen, also Verbindungen, die eine oder mehrere Sulfhydrylgruppen aufweisen, z.B. Sulfhydrylgruppen, die zu kovalenten, brückenbildenden Disulfidbindungen oxidiert werden können. Bevorzugte Beispiele solcher Verbindungen umfassen Aminosäuren oder Aminosäurederivate, die Sulfhydrylgruppen aufweisen, also Sulfhydrylverbindungen, insbesondere Cystein-Verbindungen, z.B. umfassend Cystein, z.B. L-Cystein und davon abgeleitete Verbindungen, wie beispielsweise N-Acetylcystein, Homocystein, N-Acetylhomocystein, Cysteinmethylester, Cysteinethylester, Homocysteinmethylester oder Homocysteinethylester; oder Mischungen aus zwei oder mehreren verschiedenen Sulfhydrylverbindungen, gegebenenfalls in der Form

eines Salzes. Ein bevorzugtes Antioxidans in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung ist Cystein, wie L-Cystein, oder N-Acetylcystein, z.B. in der Form eines Salzes, wie eines Hydrochlorids.

Das Molverhältnis von Tetrahydrobiopterin oder des metabolischen Vorläufers davon zum Antioxidans in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung umfasst ein Verhältnis von 1,5:1 bis 1:4 oder mehr, z.B. 1,1:1; 1:1; 1:1,1; 1:1,2; 1:1,3; 1:1,4; 1:1,5; 1:2; 1:3 oder 1:4; oder mehr; bevorzugt beträgt das Molverhältnis mindestens 1:1, wie z.B. 1:1 bis 1:4, z.B. 1:1 bis 1:1,5, bevorzugt etwa 1:1. Die obere Grenze des in der Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung enthaltenen Antioxidans wird durch die Löslichkeit des jeweiligen Antioxidans im jeweils verwendeten wässrigen Lösungsmittel festgelegt.

Eine Stabilisierung des Tetrahydrobiopterins oder eines metabolischen Vorläufers davon in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung wird bereits bei einem Molverhältnis von 1,5:1 (Tetrahydrobiopterin:Antioxidans), eine beträchtliche Stabilisierung bei einem Molverhältnis von (etwa) 1:1 beobachtet.

Im Fall von (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin in der Form eines Dihydrochlorids als Tetrahydrobiopterin und L-Cystein in der Form eines Hydrochlorids als Antioxidans werden bevorzugt 1 g Antioxidans auf 1,5 g bis 2 g, z.B. auf 1,6 g, 1,7 g, 1,8 g, 1,9 g oder 2,0 g Tetrahydrobiopterin eingesetzt, z.B. 1 g Antioxidans auf 2,0 g Tetrahydrobiopterin.

Die bevorzugte Konzentration von Tetrahydrobiopterin und/oder eines Vorläufers davon in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung sollte die Verabreichung von genügend Tetrahydrobiopterin und/oder eines metabolischen Vorläufers davon ermöglichen. Die Flüssigkeitsmenge soll genügend Tetrahydrobiopterin und/oder einen metabolischen Vorläufer davon umfassen, um bei einem an Tetrahydrobiopterin-sensitiver Hyperphenylalaninämie leidenden Patienten eine therapeutische Reaktion auszulösen. Bei einer speziellen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung wird die exakte Dosierung durch Überwachung der Wirksamkeit bestimmt, um die Symptome von Tetrahydrobiopterin-sensitiver Hyperphenylalaninämie zu lindern, welche bei Patienten mit einer Tetrahydrobiopterin-Synthese-Defizienz z.B. an normalen physiologischen Phenylalaninspiegeln und einer normalen Produktion von Catecholaminen und Serotonin

erkennbar sind. Die erforderliche Dosis liegt typischerweise im Bereich zwischen 5 mg und 80 mg Tetrahydrobiopterin und/oder eines metabolischen Vorläufers davon pro kg Körpergewicht, vorzugsweise im Bereich von 10 mg bis 40 mg pro kg Körpergewicht. Diese Dosis kann in einer einzelnen Dosis oder in mehreren kleineren Dosierungen verabreicht werden, welche im Laufe des Tages, insbesondere in zwei Dosen von 2,5 mg bis 40 mg Tetrahydrobiopterin und/oder eines metabolischen Vorläufers davon, pro kg Körpergewicht, vorzugsweise von 5 mg bis 20 mg pro kg Körpergewicht bei jeder Dosierung, verabreicht werden. Es wird besonders bevorzugt, dass 10 mg/kg Körpergewicht zweimal täglich verabreicht werden, und somit ist es bei einem Neugeborenen von z.B. 4 kg erforderlich, dass etwa 40 mg Tetrahydrobiopterin in einer festgelegten Menge der flüssigen Formulierung enthalten sind, während bei einem Erwachsenen von 100 kg etwa 1000 mg Tetrahydrobiopterin in einer festgelegten Menge der flüssigen Formulierung enthalten sein sollen.

Eine Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung umfasst Tetrahydrobiopterin oder einen metabolischen Vorläufer davon, insbesondere (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin·2HCl und/oder einen metabolischen Vorläufer davon, im Bereich von 0,5 Gew% bis 50,0 Gew%, vorzugsweise 2,0 Gew% bis 25 Gew.%, wie 2,0 Gew% bis 20 Gew.%, noch bevorzugter von 4,0 Gew% bis 15 Gew%, z. B. 5,0 Gew% bis 15 Gew%, beispielsweise etwa 10 Gew%. Die Konzentration des Antioxidans in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung wird angepasst, um ein ausreichendes Molverhältnis zur Stabilisierung des Tetrahydrobiopterins zu erhalten.

Die wässrige Lösung in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung weist bevorzugt einen sauren pH-Wert auf, beispielsweise einen pH Wert unterhalb von 5, vorzugsweise unterhalb von 3 und noch bevorzugter unterhalb von 2, wie etwa 5,0, 4,5, 4,0, 3,5, 3,0, 2,5, 2,0, 1,5, 1,0 oder weniger, z.B. 1.0 bis 5.5. Der gewünschte "Säuregrad" wird typischerweise allein durch Auflösen von Tetrahydrobiopterin-Säureadditionssalzen, z.B. (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin-dihydrochlorid-Säureadditionssalz, erzielt. Falls die gewünschten niedrigen pH-Werte nicht durch das jeweilige Tetrahydrobiopterin selbst erzielt werden, wird eine Anpassung des gewünschten pH-Werts mittels einer ansäuernden Substanz bevorzugt. Der gewünschte saure pH-Wert unterhalb von 2 kann bei einer L-

Sepiapterin enthaltenden, sauren flüssigen Formulierung, die in einer zu 99% reinen kristallinen Form erhältlich ist (Cayman Chemical), zum Beispiel durch Ergänzung mit einer geeigneten Menge einer ansäuernden Substanz eingestellt werden.

Eine pharmazeutische Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung kann weiterhin einen oder mehrere pharmazeutisch verträgliche Hilfsstoffe umfassen. Pharmazeutisch verträgliche Hilfsstoffe die in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung vorliegen können, umfassen Hilfsstoffe, die in der Galenik Verwendung finden, bevorzugt Geschmackszusätze, Konservierungsmittel, ansäuernde Substanzen und/oder Farbmittel.

Eine pharmazeutische Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung kann durch Zusatz eines wässrigen Lösungsmittels zu einer festen pharmazeutischen Zusammensetzung, umfassend Tetrahydrobiopterin, oder einen metabolischen Vorläufer davon, ein Antioxidans, und gegebenenfalls pharmazeutisch verträgliche Hilfsstoffe, oder durch die Herstellung einer wässrigen Lösung von Tetrahydrobiopterin, oder eines metabolischen Vorläufers davon und eines Antioxidans, gegebenenfalls unter Zusatz eines pharmazeutisch verträglichen Hilfsstoffs, wobei die wässrige Lösung in einen Abgabebehälter, der mit einer Dosiereinrichtung zur dosierten Abgabe der wässrigen Lösung verbunden werden kann, oder verbunden ist, eingebracht ist oder eingebracht wird, erhalten werden, wobei der Wassergehalt einer festen pharmazeutischen Zusammensetzung vorzugsweise im Bereich von 1,0% bis 5,0%, z.B. 1,5% bis 4,0% liegt.

Eine solche feste pharmazeutische Zusammensetzung umfasst beispielsweise Pulver, Pellets Granulate oder Preßlinge, wie Tabletten, in denen, neben Geschmackszusätzen, Konservierungsmitteln, ansäuernden Substanzen und/oder Farbmitteln als pharmazeutisch verträgliche Hilfsstoffe weitere pharmazeutisch verträgliche Hilfsstoffe, wie Trocknungsmittel, Füllstoffe und/oder Granulierungsmittel vorliegen können. Werden solche festen pharmazeutischen Zusammensetzungen zur Herstellung einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung verwendet, kann die wässrige Lösung in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung ebenfalls solche weiteren pharmazeutisch verträglichen Hilfsstoffe enthalten.

Ein Geschmackszusatz gemäß vorliegender Erfindung umfasst eine Verbindung, mit deren Hilfe der Geschmack einer pharmazeutischen Formulierung gemäß vorliegender Erfindung verbessert werden kann, wie beispielsweise natürlich vorkommende Süßstoffe, künstliche Nahrungssüßstoffe, Geschmacksstoffe, die beispielsweise einen Zimt-, Vanille-, Kirsch-, Erdbeer-, Orangen-, Bananen- und/oder Apfelgeschmack hervorrufen können.

Ein natürlich vorkommender Süßstoff, der in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung Verwendung finden kann, umfasst Monosaccharide, wie Glucose, Galactose, Mannose, Xylitol; Disaccharide, wie Fructose, Saccharose, Lactose, Maltose, Mischungen von Mono- und Disacchariden, sowie Mischungen von Mono- und/oder Disacchariden mit Polysacchariden, beispielsweise Maltodextrose, ein künstlicher Nahrungssüßstoff schließt kalorienfreie oder kalorienarme Zuckerersatzstoffe, wie Sorbit, Mannit, Aspartam (z.B. NutrasweetTM, EqualTM), Saccharin, Acesulfam K, ein.

Ein Süßstoff, der in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung vorliegen kann, umfasst vorzugsweise Glucose, Galactose, Mannose, Xylitol, Fructose, Saccharose, Lactose, Maltose und/oder Maltodextrin.

Ein Konservierungsmittel, das in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung Verwendung finden kann, umfasst alle natürlichen oder synthetischen Verbindungen, die pharmazeutisch zugelassen sind und Lebensmitteln, Getränken oder Pharmazeutika beigelegt werden können, um den Verderb, sei es durch Mikrobewachstum oder durch unerwünschte chemische Veränderungen, hinauszuzögern, wie antimikrobielle Verbindungen, die das Wachstum von Bakterien und Pilzen hemmen, z.B. Benzoate, Borate, Sorbate, Carbonate, Acetate, wie Natriumbenzoat, Kaliumbenzoat, Benzoesäure, Natriumsorbat, Kaliumsorbat, Sorbinsäure, p-Hydroxybenzoesäuremethylester, p-Hydroxybenzoesäureethylester, Natriumborate, Dimethyldicarbonat oder Dimethylacetat. Andere Konservierungsmittel können zusätzlich auch eine antioxidierende Wirkung aufweisen und zur Stabilisierung von Tetrahydrobiopterin in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung beitragen. Konservierungsmittel, die eine antioxidierende Wirkung aufweisen, umfassen z.B. Phenolverbindungen, wie z.B. butyliertes Hydroxyanisol (BHA) und die verwandte Verbindung butyliertes Hydroxytoluol (BHT).

Ein Konservierungsmittel in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung umfasst vorzugsweise Natriumbenzoat, Natriumborat, Dimethyldicarbonat, Dimethylacetat, butyliertes Hydroxyanisol, oder butyliertes Hydroxytoluol.

Eine ansäuernde Substanz, die in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung vorliegen kann, umfasst pharmazeutisch zugelassene, salzbildende Säuren, siehe z.B. Berge et al., *Pharmaceutical salts* 1977 *J.Pharm.Sci.*; 66(1):1-19, z.B. feste Säuren. Eine ansäuernde Substanz gemäß vorliegender Erfindung kann auch eine antioxidierende Wirkung aufweisen und somit die Stabilität einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung noch weiter verbessern. Beispiele solcher ansäuernder Substanzen umfassen Zitronensäure, Weinsäure, Benzoesäure.

Eine wässrige Lösung enthaltend Tetrahydrobiopterin und/oder einen metabolischen Vorläufer davon kann ihre Farbe bei einer Lagerung über einen längeren Zeitraum gegebenenfalls verändern, wobei eine solche Verfärbung nicht unbedingt bedeutet, dass die therapeutische Wirksamkeit beeinträchtigt wird. Beispielsweise um das äußere Erscheinungsbild der wässrigen Lösung zu bewahren, kann eine Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung ein Farbmittel umfassen.

Ein Farbmittel das in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung vorliegen kann, schließt natürliche und synthetische Farbstoffe, die pharmazeutisch akzeptabel sind, ein. Eine große Anzahl solcher Farbstoffe ist bekanntermaßen für die Verwendung in pharmazeutischen Zusammensetzungen geeignet, beispielsweise natürliche Farbstoffe, wie Annatto-Extrakt, Anthocyaninen, β -Carotin, beta-APO 8, Carotinal, schwarzer Johannisbeere, gebrannter Zucker, Canthaxanthin, Karamell, Carbo medicinalis, Karmin, Karminblau, Carminsäure, Karotte, Chlorophyll, Chlorophyllin, Cochenille-Extrakt, Kupfer-Chlorophyll, Kupfer-Chlorophyllin, Curcumin, Curcumin/CU-Chlor, Holunderbeere, Weinbeere, Hibiskus, Lutein, gemischte Carotinoide, Paprika, Riboflavin, Spinat, Brennessel, Titandioxid, Gelbwurz, Naturfarben, Aronia/Rotfrucht, Rübensaftfarben, Paprikaextrakt, Paprika-Oleoresin; oder synthetische Farbstoffe, wie Allurarot, Amaranth, Carmoisin, Echtröt E, Erythrosin, Grün S, Patentblau V, Ponceau 4R, Chinolingelb, Rot 2G, Sunsetgelb, Tartrazin.

Wird für die Herstellung einer pharmazeutischen Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung eine feste pharmazeutische Zusammensetzung, umfassend Tetrahydrobiopterin, oder einen metabolischen Vorläufer davon, verwendet, kann die Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung neben bereits angeführten Ingredienzien zusätzlich Trocknungsmittel, Füllstoffe und/oder Granulierungsmittel umfassen.

Ein Trocknungsmittel, das in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung vorliegen kann, umfasst eine Substanz welche imstande ist, die hygroskopische Eigenschaft eines pharmazeutischen Wirkstoffs oder von pharmazeutisch verträglichen Hilfsstoffen auszugleichen; beispielsweise SiO_2 , das z.B. in Syloid[®] AL oder in Aerosilen vorliegt, oder CaCO_3 .

Ein Füllstoff, der in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung vorliegen kann, umfasst beispielsweise Lactose, Saccharose, Cellulose und deren Derivaten (z.B. Hydroxyethylcellulose und Hydroxypropylcellulose), Stärke, Talkum, und/oder Calciumhydrogenphosphat

Ein Granulierungsmittel, das in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung vorliegen kann, umfasst beispielsweise Ethanol, Gelatine, Crospovidon und/oder Polyvinylpyrrolidon.

Ein Abgabebehälter in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung umfasst einen luft- und flüssigkeitsdichten Behälter, vorzugsweise aus Glas, z.B. Braunglas, oder Kunststoff, z.B. optisch undurchsichtigen Kunststoff. Der Abgabebehälter weist bevorzugt ein Fassungsvermögen von 10 ml bis 1000 ml, wie 25 ml bis 1000 ml, z. B. 25 ml bis 500 ml, wie 50 ml bis 200 ml, beispielsweise 10 ml, 25 ml, 50 ml, 75 ml, 100 ml, 125 ml, 150 ml, 175 ml, 200 ml, 300 ml, 400 ml, 500 ml, 600 ml, 700 ml, 800 ml, 900 ml oder 1000 ml; auf.

Der Abgabebehälter in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung kann Befestigungsmittel, z.B. Schraubengewinde, die zum Verbinden, z.B. zum Befestigen, der

Dosiereinrichtung, die zur dosierten Abgabe der wässrigen Lösung geeignet ist, mit oder an dem Abgabebehälter umfassen.

Eine Dosiereinrichtung zur dosierten Abgabe der wässrigen Lösung in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung umfasst eine Flüssigkeitsdosiereinrichtung, z.B. eine Pumpe, Spritze oder Pipettenpumpe, die zum Abgeben gewünschter Mengen einer wässrigen Lösung geeignet ist.

Die Dosiereinrichtung umfasst vorzugsweise einen Betätiger, der im Abgabebehälter angeordnet sein kann oder sich in den Abgabebehälter erstrecken kann. Die Dosiereinrichtung umfasst vorzugsweise eine Pumpvorrichtung als Betätiger, welche am Abgabebehälter beweglich montiert sein kann und sich z.B. über eine Kanüle, in den Abgabebehälter erstreckt. Durch Bewegen der Pumpvorrichtung zur Auslassöffnung des Abgabebehälters tritt eine genau dosierte Menge der wässrigen Lösung aus der Auslassöffnung des Abgabebehälters.

Die Dosiereinrichtung ist zur Abgabe von Aliquoten der wässrigen Lösung geeignet, z.B. von 100 μl bis 2000 μl , wie 200 μl bis 1500 μl , z.B. 500 μl bis 1000 μl ; beispielsweise 100 μl , 200 μl , 300 μl , 400 μl , 500 μl , 600 μl , 700 μl , 800 μl , 900 μl , 1000 μl , 1100 μl , 1200 μl , 1300 μl , 1400 μl , 1500 μl , 1600 μl , 1700 μl , 1800 μl , 1900 μl oder 2000 μl . Das exakte Volumen der durch die Dosiereinrichtung abgegebenen Aliquote der wässrigen Lösung kann entweder vorgegeben sein oder an das gewünschte Volumen mechanisch anpassbar sein.

In einer Ausführungsform stellt die vorliegende Erfindung eine Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung zur Verfügung, in der die Dosiereinrichtung mit dem Abgabebehälter fest verbunden ist.

Der Abgabebehälter mit oder ohne der Dosiereinrichtung kann zusätzlich in eine aus Aluminium-Verbundmaterial bestehende Folie eingeschweißt sein, um eine Oxidation des Wirkstoffes vor der Verwendung zu verhindern.

In einer anderen Ausführungsform stellt die vorliegende Erfindung einen Kit zur Verfügung, der die wässrige Lösung in einem Abgabebehälter und die Dosiereinrichtung getrennt, aber zusammen in einer Packung verpackt, umfasst.

Eine wässrige Lösung in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung, kann mit Hilfe einer Dosiereinrichtung zur dosierten Abgabe, die mit dem Abgabebehälter verbunden wird, oder verbunden ist, in passender Dosis einem Patienten verabreicht werden. Die Verabreichung kann durch direkte Einnahme der passenden Dosis durch den Patienten erfolgen, oder die passende Dosis kann, möglichst unmittelbar vor dem Verzehr, einem Nahrungsmittel, wie Milch, Joghurt, alkoholfreie Getränke, Säfte, z.B. Orangensaft oder Apfelsaft, Coca Cola, Suppe, Wasser, Babynahrung zur Einnahme durch den Patienten beigefügt werden. Es hat sich beispielsweise herausgestellt, dass Verdünnungen einer wässrigen Lösung in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung mit Muttermilch oder Verdünnungen einer wässrigen Lösung in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung mit einer Lösung einer Trockenmilchnahrung, z.B. einer 12.2 Gew%igen Lösung einer Trockenmilchnahrung, wie Aptamil®, HA Pre®, Milupa®, nicht koagulieren; z.B. wenn ein Verhältnis von 1 Teil einer wässrigen Lösung in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung enthaltend z.B. 10% Tetrahydrobiopterin, mit 5 Teilen von Muttermilch oder mit 5 Teilen einer Verdünnung einer wässrigen Darreichungsform mit einer Lösung einer Trockenmilchnahrung, z.B. einer 12.2 Gew%igen Lösung einer Trockenmilchnahrung, wie Aptamil®, HA Pre®, Milupa®, eingesetzt wird. An Kinder und Säuglinge kann eine wässrige Lösung in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung daher auch zusammen mit Muttermilch oder mit einer Lösung einer Trockenmilchnahrung, wie Aptamil®, HA Pre®, Milupa®, oder auch mit Babynahrung, wie sie z.B. käuflich zu erwerben ist, verabreicht werden.

In einem Aspekt kann die Herstellung einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung durch die Herstellung einer wässrigen Lösung von Tetrahydrobiopterin, oder eines metabolischen Vorläufers davon und eines Antioxidans, gegebenenfalls unter Zusatz von Arzneimittelhilfsstoffen, erfolgen, wobei die wässrige Lösung in einen Abgabebehälter, der mit einer Dosiereinrichtung zur dosierten Abgabe der wässrigen Lösung verbunden ist oder verbunden wird, eingebracht ist oder eingebracht wird.

Das Herstellungsverfahren für eine Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung umfasst in einem Aspekt die folgenden Schritte:

- (i) das Abwiegen eines Antioxidans, z.B. einer Sulfhydrylverbindung und von Tetrahydrobiopterin oder eines metabolischen Vorläufers davon und gegebenenfalls pharmazeutisch verträglichen Hilfsstoffen,
- (ii) gegebenenfalls das Vermischen von Ingredienzien aus (i),
- (iii) das Auflösen des Antioxidans, Tetrahydrobiopterins oder eines metabolischen Vorläufers davon und gegebenenfalls pharmazeutisch verträglicher Hilfsstoffe, oder Mischungen davon in einem wässrigen Lösungsmittel, und
- (iv) gegebenenfalls das Einbringen der wässrigen Lösung oder der wässrigen Lösungen aus (iii) in einen Abgabebehälter, der mit einer Dosiereinrichtung zur dosierten Abgabe der wässrigen Lösung verbunden ist oder verbunden wird.

Das Auflösen des Antioxidans, Tetrahydrobiopterins oder eines metabolischen Vorläufers davon und gegebenenfalls pharmazeutisch verträglicher Hilfsstoffe kann entweder durch jeweils getrennte Auflösung der Ingredienzien in einem wässrigen Lösungsmittel erfolgen, oder ein oder mehrere, gegebenenfalls alle, Ingredienzien werden gemeinsam in einem wässrigen Lösungsmittel gelöst.

Das Einbringen der wässrigen Lösung oder der wässrigen Lösungen in einen Abgabebehälter, der mit einer Dosiereinrichtung zur dosierten Abgabe der wässrigen Lösung verbunden ist oder verbunden wird, kann durch Abfüllen einer wässrigen Lösung oder wässriger Lösungen von einem, mehreren oder allen Ingredienzien in den Abgabebehälter erfolgen, oder eine wässrige Lösung von einem, mehreren, oder allen Ingredienzien wird direkt im Abgabebehälter erzeugt und gegebenenfalls werden wässrige Lösungen von einem oder mehreren Ingredienzien hinzugefügt.

In einem anderen Aspekt kann die Herstellung einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung aus einer festen Darreichungsform, z.B. in der Form von Pulvern, Pellets, Granulen, Preßlingen, Tabletten, von Tetrahydrobiopterin, oder eines metabolischen Vorläufers davon und eines Antioxidans, und gegebenenfalls pharmazeutisch verträglichen Hilfsstoffen, durch Zusatz eines wässrigen Lösungsmittels erhalten werden, wobei die

wässrige Lösung in einen Abgabebehälter, der mit einer Dosiereinrichtung zur dosierten Abgabe der wässrigen Lösung verbunden ist oder verbunden wird, eingebracht ist oder eingebracht wird.

Eine solche feste Darreichungsform kann beispielsweise in einem Behälter, vorzugsweise luftdicht verpackt, vorliegen.

Wenn die feste Darreichungsform z.B. ein Pulver ist, umfasst ein Herstellungsverfahren z.B. die folgenden Schritte:

- (i) das Abwiegen eines Antioxidans, z.B. einer Sulfhydrylverbindung und von Tetrahydrobiopterin oder eines metabolischen Vorläufers davon und, falls gewünscht, von pharmazeutisch verträglichen Hilfsstoffen,
- (ii) das Vermischen der Ingredienzien aus (i),
- (iii) das Auflösen der Mischung aus (ii) in einem wässrigen Lösungsmittel, gegebenenfalls in einen Abgabebehälter, der mit einer Dosiereinrichtung zur dosierten Abgabe der wässrigen Lösung verbunden ist oder verbunden wird, und
- (iv) gegebenenfalls das Einbringen der wässrigen Lösung aus (iii) in einen Abgabebehälter, der mit einer Dosiereinrichtung zur dosierten Abgabe der wässrigen Lösung verbunden ist oder verbunden wird.

Wenn die feste Darreichungsform z.B. im luftdichten Behälter, beispielsweise in Sachets, in Form eines Granulats vorliegt, umfasst ein Herstellungsverfahren z.B. die folgenden Schritte:

- (i) das Abwiegen von pharmazeutisch verträglichen Hilfsstoffen, eines Antioxidans, z.B. einer Sulfhydrylverbindung und von Tetrahydrobiopterin und/oder eines metabolischen Vorläufers davon,
- (ii) das Vermischen der Ingredienzien aus (i),
- (iii) das Granulieren der Mischung aus (ii) mit einem Granulierungsmittel,
- (iv) eine Druck- oder Wärmetrocknung der Granule aus (iii),
- (v) gegebenenfalls und vorzugsweise eine Größeneinstellung der Granule aus (iv), z.B. durch Siebung,

- (vi) gegebenenfalls Hinzufügen und Einmischen von weiteren pharmazeutisch verträglichen Hilfsstoffen zu Granulen aus (v) und,
- (vii) das Auflösen der Mischung aus (vi) in einem wässrigen Lösungsmittel, gegebenenfalls in einem Abgabebehälter, der mit einer Dosiereinrichtung zur dosierten Abgabe der wässrigen Lösung verbunden ist oder verbunden wird, und
- (viii) gegebenenfalls das Einbringen der wässrigen Lösung aus (vii) in einen Abgabebehälter, der mit einer Dosiereinrichtung zur dosierten Abgabe der wässrigen Lösung verbunden ist oder verbunden wird.

Wenn die feste Zusammensetzung z.B. in Form von Pellets vorliegt, umfasst ein Herstellungsverfahren z.B. die folgenden Schritte:

- (i) das Abwiegen von pharmazeutisch verträglichen Hilfsstoffen, eines Antioxidans, z.B. einer Sulfhydrylverbindung und von Tetrahydrobiopterin und/oder eines metabolischen Vorläufers davon,
- (ii) das Vermischen der Ingredienzien aus (i),
- (iii) das Granulieren der Mischung aus (ii) mit einem Granulierungsmittel,
- (iv) das Pelletieren der Granule aus (iii),
- (v) das Trocknen der Pellets aus (iv),
- (vi) das Auflösen der Pellets aus (v) in einem wässrigen Lösungsmittel, gegebenenfalls in einem Abgabebehälter, der mit einer Dosiereinrichtung zur dosierten Abgabe der wässrigen Lösung verbunden ist oder verbunden wird, und
- (vii) gegebenenfalls das Einbringen der wässrigen Lösung aus (vi) in einen Abgabebehälter, der mit einer Dosiereinrichtung zur dosierten Abgabe der wässrigen Lösung verbunden ist oder verbunden wird.

Pulver, Pellets oder Granulate einer festen Zusammensetzung können gegebenenfalls, z.B. unter Verwendung geeigneter pharmazeutisch verträglicher Hilfsstoffe, zu Preßlingen, z.B. Tabletten verpresst sein.

Wenn die feste Zusammensetzung z.B. in Form von Preßlingen, z.B. Tabletten, vorliegt, umfasst ein Herstellungsverfahren z.B. die folgenden Schritte:

- (i) das Auflösen der Preßlinge, z.B. Tabletten, in einem wässrigen Lösungsmittel, gegebenenfalls in einem Abgabebehälter, der mit einer Dosiereinrichtung zur dosierten Abgabe der wässrigen Lösung verbunden ist oder verbunden wird, und
- (ii) gegebenenfalls das Einbringen der wässrigen Lösung aus (i) in einen Abgabebehälter, der mit einer Dosiereinrichtung zur dosierten Abgabe der wässrigen Lösung verbunden ist oder verbunden wird.

Es hat sich gezeigt, dass eine wässrige Lösung in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung bei einer Temperatur von 2°C bis 60°C, wie 4°C bis 40°C, z.B. bei Raumtemperatur stabil ist.

Eine wässrige Lösung in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung wird hierin als „stabil“ bezeichnet, wenn sie mindestens 95%, z.B. 96%, 97%, 98% oder 99% der Anfangskonzentration von Tetrahydrobiopterin, oder eines metabolischen Vorläufers davon, insbesondere (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin·2HCl, nach einer Lagerung von mindestens einem Monat, z.B. von 2, 3, 4, 5, 6, 9 oder 12 Monaten, enthält. Die Anfangskonzentration von Tetrahydrobiopterin, oder eines metabolischen Vorläufers davon, wird dabei als jene Konzentration definiert, die unmittelbar nach der Bereitstellung der wässrigen Lösung in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung durch geeignete Mittel, z.B. HPLC, bestimmt wird.

Beispielsweise infolge der Möglichkeit einer hohen Dosiergenauigkeit ist eine Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung besonders geeignet zur Verabreichung von Tetrahydrobiopterin, oder eines metabolischen Vorläufers davon, an Säuglinge oder Kinder, wobei beispielsweise die wässrige Lösung in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung vorteilhafterweise zusammen mit einem Nahrungsmittel verabreicht werden kann, beispielsweise zusammen mit Milch, wie Muttermilch und Milch, hergestellt aus Trockenmilchnahrung, alkoholfreien Getränken, Suppen, Babynahrung.

In einem weiteren Aspekt stellt die vorliegende Erfindung eine pharmazeutische Darreichungsform zur Verfügung, die besonders zur Verabreichung von Tetrahydrobiopterin, oder eines metabolischen Vorläufers davon, an Säuglinge oder Kinder, geeignet ist, z.B.

die Verwendung einer pharmazeutischen Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Phenylketonurie-Varianten, die durch einen Tetrahydrobiopterin-Mangel verursacht werden, insbesondere Hyperphenylalaninämie, durch Verabreichung von Tetrahydrobiopterin oder eines metabolischen Vorläufers davon an Kinder oder Säuglinge, insbesondere durch Verabreichung in Kombination mit Milch oder Babynahrung.

In einem anderen Aspekt stellt die vorliegende Erfindung die Verwendung eines Antioxidans, z.B. die Verwendung einer Sulfhydrylverbindung, zum Stabilisieren einer wässrigen Lösung von Tetrahydrobiopterin, oder eines metabolischen Vorläufers davon, für einen Lagerungszeitraum, z.B. zur Lagerung im offenen Zustand, von mindestens einem Monat, z.B. von 2, 3, 4, 5, 6, 9 oder 12 Monaten, zur Verfügung, wobei insbesondere das Molverhältnis des Tetrahydrobiopterins oder des metabolischen Vorläufers davon zum Antioxidans ein Verhältnis von etwa 1,5:1 bis 1:4, insbesondere von 1:1 bis 1:1,5 umfasst.

In einem weiteren Aspekt stellt die vorliegende Erfindung die Verwendung eines Antioxidans, insbesondere einer Sulfhydrylverbindung, insbesondere eines Cysteins, zum Stabilisieren einer wässrigen Lösung von Tetrahydrobiopterin, oder eines metabolischen Vorläufers davon zur Verfügung, wobei das Tetrahydrobiopterin, oder der metabolische Vorläufer davon bei $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ und $75\% \pm 5\%$ relativer Feuchtigkeit und/oder bei $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ bei $60\% \pm 5\%$ relativer Feuchtigkeit stabil sind, insbesondere wobei 95%, insbesondere 96%, 97%, 97.5%, 98% oder 99% der Anfangskonzentration von Tetrahydrobiopterin, oder eines metabolischen Vorläufers davon nach einer Lagerung von mindestens einem Monat, insbesondere 2, 3, 4, 5, 6, 9 oder 12 Monaten, erhalten bleiben.

Eine wässrige Lösung in einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung kann als Medizin, oder für die Produktion einer Medizin, zum Behandeln, Lindern oder Heilen einer Krankheit, welche die Verabreichung von Tetrahydrobiopterin und/oder eines metabolischen Vorläufers davon erfordert, wie z.B. Hyperphenylalaninämie, z.B. Tetrahydrobiopterin-sensitive Hyperphenylalaninämie, Diabetes Typ II, mehrere Formen der Hypertonie, Erektionsstörungen und Untergruppen von Störungen mit einem veränderten Neurotransmitter-Metabolismus, wie z.B. die Parkinson-Krankheit, verwendet werden.

Der Begriff "Hyperphenylalaninämie", wie er hierin verwendet wird, umfasst eine Stoffwechselstörung bei einem Säugetier, vorzugsweise beim Menschen, welche durch erhöhte Blutserumspiegel von Phenylalanin, typischerweise im Bereich von 120 und 600 $\mu\text{mol/l}$, gekennzeichnet ist.

Der Begriff "Tetrahydrobiopterin-sensitive Hyperphenylalaninämie", wie er hierin verwendet wird, umfasst jene Variante der Hyperphenylalaninämie, die durch einen Phenylalaninhydroxylase-Mangel oder einen Fehler in der Synthese von Tetrahydrobiopterin definiert ist, die durch Verabreichung von Tetrahydrobiopterin und/oder eines Vorläufers davon gelindert, behandelt oder geheilt werden kann.

Die Behandlung von Hyperphenylalaninämie und insbesondere die Behandlung von Tetrahydrobiopterin-sensitiver Hyperphenylalaninämie erfordert eine tägliche Verabreichung einer Gesamtdosis, die vom Körpergewicht des Patienten abhängt. Die täglich erforderliche Gesamtdosis wird im allgemeinen in zwei Portionen verabreicht, kann aber auch in mehr als zwei Portionen verabreicht werden.

Beschreibung der Figuren

Fig. 1. Einfluss von in den angegebenen Konzentrationen (w/v) verwendetem N-Acetylcystein auf die Stabilität von Tetrahydrobiopterin in einer wässrigen Lösung. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte von mindestens 3 Versuchen \pm Standardabweichung.

Fig. 2. Einfluss von in den angegebenen Konzentrationen (w/v) verwendetem Cystein auf die Stabilität von Tetrahydrobiopterin in einer wässrigen Lösung. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte von mindestens 3 Versuchen \pm Standardabweichung.

Beispiel 1**Dosierungsparameter für eine Einzelverabreichung einer Darreichungsform gemäß vorliegender Erfindung beim Säugling bis zum Erwachsenen.**

Die nachfolgende Tabelle 1 veranschaulicht die exakte Dosierung bei Verwendung einer 10%igen, flüssigen Formulierung von Tetrahydrobiopterin mit Hilfe einer Dosierpumpe zum Abgeben von 500 µl-Aliquoten (um die geeignete Menge an Tetrahydrobiopterin, die zum Behandeln, Lindern oder Heilen einer Tetrahydrobiopterin-sensitiven Hyperphenylalaninämie erforderlich ist, zu verabreichen, muss die beschriebene Dosis jedoch zweimal täglich angewandt werden).

Tabelle 1: Dosierung 10 mg/kg

| Gewicht des Patienten | ml pro Dosis | |
|-----------------------|------------------------|-----------------------------------|
| 5 kg | → 0,5 ml (1 Einheit) | 10%ige Tetrahydrobiopterin-Lösung |
| 10 kg | → 1 ml (2 Einheiten) | 10%ige Tetrahydrobiopterin-Lösung |
| 20 kg | → 2 ml (4 Einheiten) | 10%ige Tetrahydrobiopterin-Lösung |
| 40 kg | → 4 ml (8 Einheiten) | 10%ige Tetrahydrobiopterin-Lösung |
| 70 kg | → 7 ml (14 Einheiten) | 10%ige Tetrahydrobiopterin-Lösung |
| 100 kg | → 10 ml (20 Einheiten) | 10%ige Tetrahydrobiopterin-Lösung |

Um die Anzahl der Einheiten, die bei Erwachsenen von 70 bis 100 kg und mehr erforderlich sind, zu reduzieren, kann alternativ eine Dosierpumpe eingesetzt werden, die imstande ist, 1,0-, 1,5- oder 2,0 ml-Aliquote abzugeben.

Beispiel 2**Wässrige BH₄-Zusammensetzungen**

Flüssige Formulierung A, umfassend 10% w/w BH₄ 2HCl

| | |
|--|-----------|
| (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin·2HCl | 10 g |
| L-Cystein·HCl | 5 g |
| Natriumbenzoat (EuAB) | 0,2 g |
| demineralisiertes Wasser (EuAB) | ad 100 ml |

Flüssige Formulierung B, umfassend 10% w/w BH₄ 2HCl

| | |
|--|-----------|
| (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin·2HCl | 10 g |
| L-Cystein·HCl | 5 g |
| Syloid [®] AL | 5 g |
| Natriumbenzoat (EuAB) | 0,2 g |
| demineralisiertes Wasser (EuAB) | ad 100 ml |

Flüssige Formulierung AB, umfassend 10% w/w BH₄ 2HCl

| | |
|--|-----------|
| (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin·2HCl | 10 g |
| L-Cystein·HCl | 5 g |
| Natriumbenzoat (EuAB) | 0,1 g |
| Kaliumsorbat (EuAB) | 0.1 g |
| demineralisiertes Wasser (EuAB) | ad 100 ml |

Beispiel 3

Pulvervormischungen mit Tetrahydrobiopterin zur Herstellung von wäßrigen Lösungen

Die trockenen Formulierungen von Tetrahydrobiopterin sind dazu ausgelegt, nach Wiederherstellung in einer geeigneten Menge von demineralisiertem Wasser 100 ml einer 10%igen flüssigen Tetrahydrobiopterin-Formulierung zu ergeben. Die trockene Formulierung umfasst vorzugsweise ein Trocknungsmittel.

Feste Zusammensetzung C

| | |
|--|-------|
| (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin·2HCl | 10 g |
| L-Cystein·HCl wasserfrei | 5 g |
| Natriumbenzoat (EuAB) | 0,2 g |

Feste Zusammensetzung D (mit 1% Syloid[®])

| | |
|--|--------|
| (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin·2HCl | 10 g |
| L-Cystein·HCl wasserfrei | 5 g |
| Syloid [®] AL 1 FP (5%) | 0,15 g |
| Natriumbenzoat (EuAB) | 0,2 g |

| | |
|--|--------|
| Feste Zusammensetzung E (mit 5% Syloid®) | |
| (6R)-5,6,7,8-Tetrahydro-L-biopterin·2HCl | 10 g |
| L-Cystein·HCl wasserfrei | 5 g |
| Syloid®AL 1 FP (5%) | 0,76 g |
| Natriumbenzoat (EuAB) | 0,2 g |

Beispiel 4

Stabilität in Abhängigkeit von der hinzugefügten Sulfhydrylverbindung

Der Einfluss von N-Acetylcystein (Fig. 1) und L-Cystein (Fig. 2) in verschiedenen Konzentrationen auf die Stabilität einer 10%igen (w/w) Tetrahydrobiopterin-Lösung wird bewertet. Flüssige Formulierungen werden bei Raumtemperatur gelagert, und Aliquote werden an vorbestimmten Zeitpunkten entnommen und hinsichtlich des Tetrahydrobiopterin-Gehalts analysiert, und zwar gemäß dem von Fukushima et al. beschriebenen differenzierten Oxidationsverfahren (Fukushima T., Nixon J.C. - Analysis of reduced forms of biopterin in biological tissues and fluids. – Anal Biochem., **102** (1), 176-188, 1980; Fukushima T., Nixon J.C. - Chromatographic analysis of pteridines. - Methods Enzymol., **66**, 429-436, 1980). Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in den Figuren 1 und 2 dargestellt.

Beispiel 5

Langzeitstabilität von flüssigen BH₄-Zusammensetzungen

Die BH₄ gemäß der Formulierung A enthaltenden Pulversubstanzen werden in braune Glasflaschen von Valois übertragen, die mit bis zu 100 g Millipore-Ultrapure-Wasser gefüllt und mit den Aluscheiben und -kappen von Valois verschlossen werden. Die Hälfte der Flaschen wird zusätzlich in Alusäcken verpackt. Die Proben werden bei accellerierten Bedingungen (40°C ± 2°C und 75% ± 5% relative Feuchtigkeit) und Langzeitbedingungen (25°C ± 2°C bei 60% ± 5% relativer Feuchtigkeit) in den Klimaschrank gegeben und 6 Monate lang gelagert. Der BH₄-Gehalt am Beginn des Versuchs und nach dem Zeitraum von 6 Monaten wird unter Anwendung des sauren und alkalischen Oxidationsverfahrens von Fukushima et al. bewertet. Tabelle 2 zeigt die relativen BH₄-Mengen, die nach einer

Lagerung von 6 Monaten oder 12 Monaten gemessen werden, verglichen mit der Ausgangsmenge.

Tabelle 2

| Bedingungen | 25°C / 60% r.F. | | 40°C / 75% r.F. | |
|---|---|--|---|--|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Substanz | BH ₄ -Flüssigkeit – mit Alusack | BH ₄ -Flüssigkeit – ohne Alusack | BH ₄ -Flüssigkeit – mit Alusack | BH ₄ -Flüssigkeit – ohne Alusack |
| relative BH ₄ - Menge [%]: nach 6 Monaten | 105,1 ± 0,2 | 103,1 ± 0,2 | 103,5 ± 0,1 | 100,2 ± 0,2 |
| relative BH ₄ - Menge [%]: nach 12 Monaten | 105,0 ± 0,2 | 102,9 ± 0,2 | n.d | n.d |

n.d.: nicht durchgeführt

Es ist offensichtlich, dass der BH₄-Gehalt der flüssigen BH₄-Formulierung sich nicht einmal nach 6 Monaten unter accellerierten Lagerungsbedingungen verschlechtert.

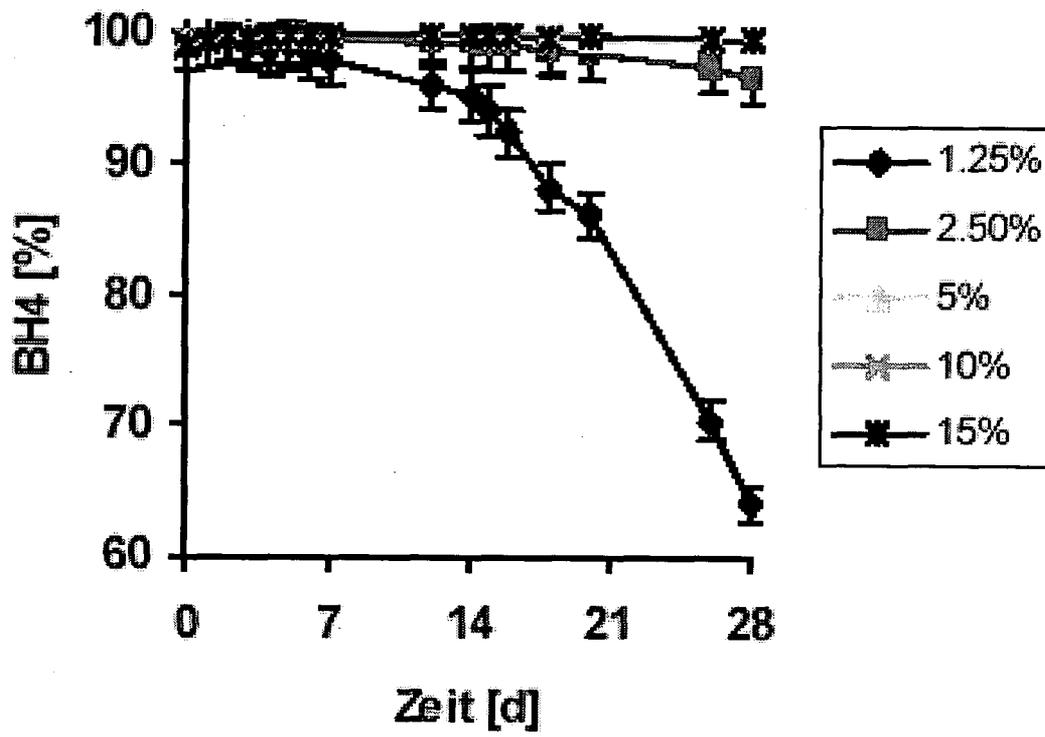
Patentansprüche

1. Pharmazeutische Darreichungsform, umfassend Tetrahydrobiopterin, oder einen metabolischen Vorläufer davon, dadurch gekennzeichnet ist, dass sie eine wässrige Lösung von Tetrahydrobiopterin oder eines metabolischen Vorläufers davon, und eines Antioxidans in einem Abgabebehälter und eine Dosiereinrichtung zur dosierten Abgabe der wässrigen Lösung, umfasst.
2. Pharmazeutische Darreichungsform nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Antioxidans eine Sulfhydrylverbindung ist.
3. Pharmazeutische Darreichungsform nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet dass die Sulfhydrylverbindung eine Cystein-Verbindung ist, insbesondere ausgewählt aus der Gruppe Cystein, und davon abgeleitete Verbindungen, insbesondere ausgewählt aus der Gruppe N-Acetylcystein, Homocystein, N-Acetylhomocystein, Cysteinmethylester, Cysteinethylester, Homocysteinmethylester oder Homocysteinethylester; oder Mischungen aus zwei oder mehreren verschiedenen Sulfhydrylverbindungen, gegebenenfalls in der Form eines Salzes, insbesondere in der Form eines Hydrochloridsalzes.
4. Pharmazeutische Darreichungsform nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass das Tetrahydrobiopterin, oder der metabolischer Vorläufer davon, in einer Konzentration von 0.5 Gew% bis 50 Gew%, insbesondere 2 Gew% bis 20 Gew%, insbesondere 5 Gew% bis 15 Gew%, vorliegt.
5. Pharmazeutische Darreichungsform nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass das Molverhältnis des Tetrahydrobiopterin oder des metabolischen Vorläufers davon zum Antioxidans ein Verhältnis von 1,5:1 bis 1:4, insbesondere von 1:1 bis 1:1,5 umfasst.

6. Pharmazeutische Darreichungsform nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass der pH-Wert der wässrigen Lösung unterhalb von 5, insbesondere unterhalb von 2 liegt.
7. Pharmazeutische Darreichungsform nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Dosiereinrichtung eine Abgabe von Aliquoten der wässrigen Lösung von 100 µl bis 2000 µl ermöglicht.
8. Pharmazeutische Darreichungsform gemäß einem der Ansprüche 1 bis 7, in der die Dosiereinrichtung mit dem Abgabebehälter fest verbunden ist.
9. Pharmazeutische Darreichungsform gemäß einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass sie einen Kit umfasst, in der die wässrige Lösung in einem Abgabebehälter und die Dosiereinrichtung getrennt, aber zusammen in einer Packung verpackt sind.
10. Verwendung eines Antioxidans, insbesondere einer Sulfhydrylverbindung, insbesondere eines Cysteins, zum Stabilisieren einer wässrigen Lösung von Tetrahydrobiopterin, oder eines metabolischen Vorläufers davon, für einen Lagerungszeitraum von mindestens einem Monat, insbesondere von 2, 3, 4, 5, 6, 9 oder 12 Monaten, wobei insbesondere das Molverhältnis des Tetrahydrobiopterins oder des metabolischen Vorläufers davon zum Antioxidans ein Verhältnis von etwa 1,5:1 bis 1:4, insbesondere von 1:1 bis 1:1,5 umfasst.
11. Verwendung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass das Tetrahydrobiopterin, oder der metabolische Vorläufer davon bei $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ und $75\% \pm 5\%$ relativer Feuchtigkeit und/oder bei $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ bei $60\% \pm 5\%$ relativer Feuchtigkeit stabil ist, insbesondere wobei 95%, insbesondere 96%, 97%, 97.5%, 98% oder 99% der Anfangskonzentration von Tetrahydrobiopterin, oder eines metabolischen Vorläufers davon nach einer Lagerung von mindestens einem Monat, insbesondere 2, 3, 4, 5, 6, 9 oder 12 Monaten, erhalten bleiben.

12. Verwendung einer pharmazeutischen Darreichungsform gemäß einem der Ansprüche 1 bis 11 zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Phenylketonurie-Varianten, die durch einen Tetrahydrobiopterin-Mangel verursacht werden, insbesondere Hyperphenylalininämie, durch Verabreichung von Tetrahydrobiopterin oder eines metabolischen Vorläufers davon an Kinder oder Säuglinge, insbesondere durch Verabreichung in Kombination mit Milch oder Babynahrung.

N-Acetylcystein



L-Cystein

