

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 586 945**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 47/02 (2006.01)

A61K 9/19 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.03.2014 E 14162727 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.05.2016 EP 2926805**

54 Título: **Composiciones farmacéuticas sólidas que comprenden derivados de biopterina y usos de dichas composiciones**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.10.2016

73 Titular/es:

**VASOPHARM GMBH (100.0%)
Friedrich-Bergius-Ring 15
97076 Würzburg, DE**

72 Inventor/es:

**TEGTMEIER, FRANK;
SCHINZEL, REINHARD y
SCHEURER, PETER**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 586 945 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composiciones farmacéuticas sólidas que comprenden derivados de biopterina y usos de dichas composiciones

Campo de la invención

La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas sólidas que comprenden derivados de biopterina, así como a procedimientos para obtener dichas composiciones farmacéuticas sólidas. La invención también se refiere a las composiciones farmacéuticas sólidas de la invención para tratar enfermedades.

Antecedentes de la invención

Las biopterinas y sus derivados son moléculas de interés farmacéutico. Por ejemplo, la tetrahydrobiopterina (BH4, sapropterina) ha sido aprobada recientemente para el tratamiento de la hiperfenilalaninemia (HFA) en pacientes adultos y pediátricos de 4 años de edad y mayores con fenilcetonuria (FCN). Con este propósito, la tetrahydrobiopterina se formula en el fármaco comercial (a la venta bajo el nombre de Kuvan) como un comprimido soluble con manitol (E421), hidrogenofosfato de calcio, anhidro, crospovidona tipo A, ácido ascórbico (E300), estearilfumarato de sodio y riboflavina (E101). Véase también en este contexto el documento WO 2006/055511, que se dirige a una formulación sólida estable de tetrahydrobiopterina, procedimientos para producirlas y procedimientos de tratamiento que usan dichas formulaciones.

Otros compuestos de biopterina terapéuticamente prometedores son 4-amino-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterina y 4-amino-7,8-dihidro-L-biopterina. Ambos compuestos han demostrado presentar propiedades diferentes de las de otros inhibidores de NO, lo que hace al compuesto potencialmente más adecuado que los análogos de arginina "clásicos" (Werner *et al.*, (1996). Biochemical Journal 320, 93-6, o la patente de EE. UU. 5.922.713, que divulga un procedimiento de efectuar la inhibición de la óxido nítrico sintasa y la reducción del nivel de óxido nítrico mediante el uso de una composición que comprende un compuesto de pterina). Ambos compuestos han demostrado ser eficaces en el TCE experimental (véase, por ejemplo, el documento WO 2004/084906, que se refiere al uso de derivados de pteridina para el tratamiento de la presión intracraneal, isquemia secundaria y trastornos asociados con un nivel incrementado de especies reactivas del oxígeno citotóxicas, patente de EE. UU. 8.222.828, patente europea 0 906 913, o Terpolilli *et al.*, J Neurotrauma. 2009; 26(11): 1963-75 que se dirige a investigar la eficacia terapéutica de un inhibidor de la óxido nítrico sintasa basado en tetrahydrobiopterina en el traumatismo craneoencefálico experimental). Sin embargo, estos derivados de biopterina aún no han sido aprobados para el tratamiento médico. De esta manera, hay una necesidad de proporcionar composiciones farmacéuticas que sean adecuadas para sus aplicaciones terapéuticas en seres humanos. Idealmente, dicha composición farmacéutica debe ser fácil de preparar, fácil de usar y, con todo, estable; en este contexto se advierte que los derivados de biopterina hidrogenados son sensibles frente a la oxidación, cuando se almacenan durante un largo tiempo o cuando se proporcionan en solución.

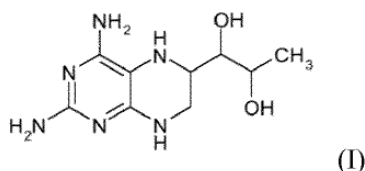
De esta manera, un objetivo de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica que contenga derivados de biopterina que satisfaga estas necesidades.

Sumario de la invención

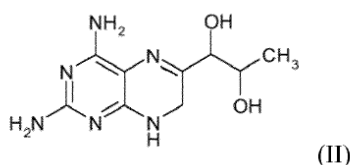
Este problema se resuelve mediante los modos de realización de la invención como se define en las reivindicaciones, se describe en la descripción y se ilustra en los ejemplos y figuras.

En un modo de realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica sólida que comprende

- a) un compuesto que tiene la fórmula (I):



- y/o un compuesto que tiene la fórmula (II):



y

b) al menos una sal de fosfato.

En un modo de realización en la composición farmacéutica de la presente invención, la al menos una sal de fosfato es un fosfato de sodio, un fosfato de potasio o un fosfato de amonio. La sal de fosfato se puede seleccionar del grupo que consiste en Na_2HPO_4 (libre de agua), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$, NaH_2PO_4 (libre de agua), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, K_2HPO_4 (libre de agua), $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 (libre de agua) y mezclas de los mismos.

En algunos modos de realización de la composición farmacéutica de la presente invención, la sal de fosfato es $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ y la cantidad del $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ presente en la composición se elige de tal manera que la proporción molar del $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ con respecto al compuesto (I) o compuesto (II) varíe desde 0,04 a 0,4.

En modos de realización adicionales de la composición farmacéutica de la presente invención, el fosfato de sodio es $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ y la cantidad del $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ presente en la composición se elige de tal manera que la proporción molar del $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ con respecto al compuesto (I) o compuesto (II) varíe desde 0,01 a 0,09.

En otros modos de realización, la composición farmacéutica de la presente invención comprende dos sales de fosfato de sodio diferentes. Opcionalmente, las dos sales de fosfato de sodio diferentes son $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ y $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$.

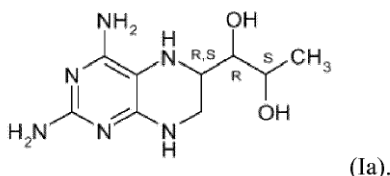
En algunos modos de realización de la composición farmacéutica de la presente invención, la cantidad del $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ y $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ presentes en la composición se elige de tal manera que la proporción molar de tanto $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ como $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ con respecto al compuesto (I) o compuesto (II) varíe desde 0,02 a 0,5.

En algunos modos de realización de la composición farmacéutica de la presente invención, la cantidad del $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ y $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ presentes en la composición se elige de tal manera que la proporción molar de cada uno de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ y $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ con respecto al compuesto (I) o compuesto (II) varíe desde 0,02 a 0,5.

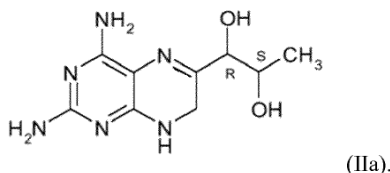
En modos de realización adicionales de la composición farmacéutica de la presente invención, el compuesto (I) y/o el compuesto (II) están presentes como la base libre.

En algunos modos de realización de la composición farmacéutica de la presente invención, la composición farmacéutica es una composición farmacéutica liofilizada.

En otro modo de realización de la composición farmacéutica de la presente invención, el compuesto (I) es un compuesto que tiene la fórmula (Ia):



En otro modo de realización de la composición farmacéutica de la presente invención, el compuesto (II) es un compuesto que tiene la fórmula (IIa):



En algunos modos de realización de la composición farmacéutica de la presente invención, la composición farmacéutica comprende un excipiente farmacéutico adicional.

En otro modo de realización de la composición farmacéutica de la presente invención, el excipiente farmacéutico adicional es una sal inorgánica. La sal inorgánica se puede seleccionar de MgCl_2 , CaCl_2 , NH_4Cl , KCl , o NaCl , preferentemente la sal inorgánica es NaCl .

En algunos modos de realización de la composición farmacéutica de la presente invención, la cantidad del NaCl presente en la composición de la presente invención se elige de tal manera que la proporción molar del NaCl con respecto al compuesto (I) o compuesto (II) varíe desde 1,5 a 4, preferentemente desde 1,8 a 3,7.

En algunos modos de realización, la composición farmacéutica de la presente invención comprende adicionalmente

agua de cristalización.

En otros modos de realización, la composición farmacéutica de la presente invención está adaptada para reconstituirse en agua.

- 5 En modos de realización adicionales, la composición farmacéutica de la presente invención está adaptada para su administración mediante infusión o inyección.

En algunos modos de realización de la composición farmacéutica de la presente invención, el compuesto (I) es (6R)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina.

En modos de realización adicionales de la composición farmacéutica de la presente invención, el compuesto (I) es (6S)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina.

- 10 En otros modos de realización de la composición farmacéutica de la presente invención, el compuesto (I) es una mezcla diastereómera que comprende más (6R)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina que (6S)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina.

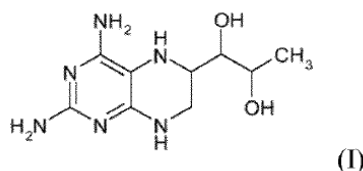
- 15 En algunos modos de realización de la composición farmacéutica de la presente invención, la cantidad de la (6R)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina y la (6S)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina se elige de tal manera que la proporción de la cantidad de (6R)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina con respecto a la (6S)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina varíe desde 0,5 a 2, preferentemente alrededor de 1,3.

- 20 En modos de realización adicionales, la composición farmacéutica de la presente invención, una dosificación unitaria de la composición contiene 650 ± 60 mg de la base libre de 4-amino-(6R,S)-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina, 140 ± 30 mg de agua de cristalización, 70 ± 7 mg de hidrogenofosfato de disodio dihidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$), $16,5 \pm 2$ mg de dihidrogenofosfato de sodio dihidratado ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) y 350 ± 30 mg de cloruro de sodio (NaCl).

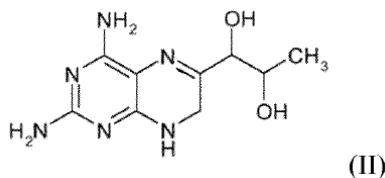
La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica liofilizada de la presente invención para su uso en el tratamiento de una enfermedad. En algunos modos de realización, la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en un traumatismo craneoencefálico, lesión cerebral no traumática, preferentemente apoplejía o meningitis, presión craneal elevada, lesión cerebral secundaria.

- 25 La presente invención se refiere adicionalmente a un procedimiento para preparar una composición farmacéutica sólida liofilizada que comprende

- a) un compuesto que tiene la fórmula (I):



y/o un compuesto que tiene la fórmula (II):



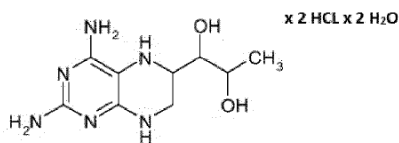
30

y

- b) al menos una sal de fosfato y opcionalmente NaCl;

comprendiendo el procedimiento:

- aa) disolver un compuesto de fórmula (III) y/o el compuesto de fórmula (II):



(III)

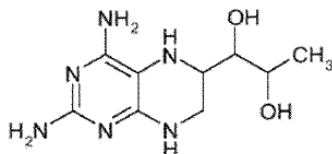
con un tampón, en el que el tampón comprende el fosfato;

bb) liofilizar la solución obtenida en aa).

5 En algunos modos de realización, el procedimiento de la presente invención comprende adicionalmente la etapa de disolver el liofilizado obtenido en bb) en un fluido farmacéuticamente aceptable para la preparación de una solución inyectable.

En consecuencia, la presente invención se refiere adicionalmente a un procedimiento para preparar una solución inyectable que comprende:

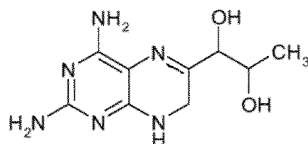
a) un compuesto que tiene la fórmula (I):



(I)

10

y/o un compuesto que tiene la fórmula (II):



(II)

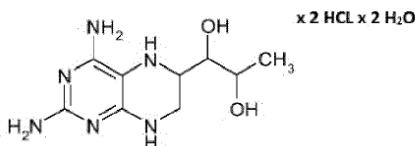
y

b) al menos una sal de fosfato y opcionalmente NaCl;

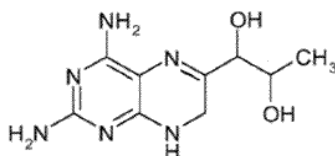
15

comprendiendo el procedimiento:

aa) disolver el compuesto de fórmula (III) y/o (II):



(III), o



(II)

con un tampón, en el que el tampón comprende el fosfato;

bb) liofilizar la solución obtenida en aa);

20

cc) reconstituir el liofilizado obtenido en bb) en un fluido farmacéuticamente aceptable para la preparación de

una solución inyectable, en el que se carga el liofilizado obtenido en bb) en un vial, preferentemente un vial de 50 ml, preferentemente en una cantidad de aproximadamente 1-1,5 g, preferentemente 1,25 g de formulación sólida.

5 En otros modos de realización en el procedimiento de la presente invención, el tampón en aa) es un tampón de hidrogenofosfato de sodio que comprende al menos una sal de fosfato.

En otros modos de realización en el procedimiento de la presente invención, el tampón en aa) comprende NaOH, tampón de hidrogenofosfato de sodio y agua. Opcionalmente, el NaOH es una disolución de NaOH 5 N.

10 En otro modo de realización del procedimiento de la presente invención, el tampón de hidrogenofosfato de sodio se prepara mediante disolución por separado de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ y $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$. En un modo de realización adicional del procedimiento de la presente invención, el tampón de hidrogenofosfato de sodio tiene un pH de 7,4 mediante la adición de la disolución de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ a la disolución de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$.

En algunos modos de realización del procedimiento de la presente invención, el tampón comprende un 12-16 % (p/p) de NaOH 5 N, un 8-12 % (p/p) de tampón de hidrogenofosfato de sodio y un 74-78 % (p/p) de agua para inyección.

15 En otro modo de realización del procedimiento de la presente invención, la solución obtenida en aa) se filtra de manera estéril, preferentemente con un filtro de 0,22 μm .

En modos de realización adicionales del procedimiento de la presente invención, el tampón tiene un pH de aproximadamente 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14.

En aún otro modo de realización del procedimiento de la presente invención, la solución en la etapa aa) tiene un pH de aproximadamente 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11, preferentemente entre 6,5-7,6, lo más preferentemente 7,4.

20 En otros modos de realización del procedimiento de la presente invención, se carga el liofilizado obtenido en bb) en viales, preferentemente en una cantidad de aproximadamente 1-1,5 g, preferentemente 1,25 g de formulación sólida. En modos de realización adicionales del procedimiento de la presente invención, el tampón se prepara con tampón desgasificado. En algunos modos de realización, el tampón se desgasifica con nitrógeno hasta que el contenido de oxígeno sea de <1,0 ppm.

25 En otro modo de realización del procedimiento de la presente invención, después de la preparación de la solución; la liofilización se inicia como máximo 2 horas más tarde.

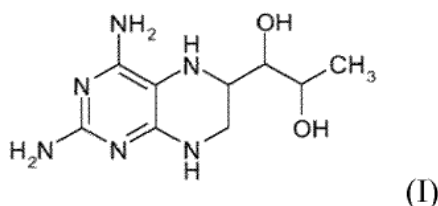
En el contexto de la presente invención, también se divulga una composición farmacéutica obtenible mediante el procedimiento de la presente invención.

30 Adicionalmente, en el contexto de la presente invención también se divulga el uso de la composición farmacéutica liofilizada de la presente invención en la fabricación de un medicamento para tratar un sujeto que tiene traumatismo craneoencefálico, tal como traumatismo craneoencefálico cerrado, presión craneal elevada, pero también lesión cerebral secundaria o lesión cerebral no traumática, tal como apoplejía o meningitis.

35 En el contexto de la presente invención, también se divulga un procedimiento de tratamiento de una enfermedad en un sujeto, que comprende la etapa de administrar una composición farmacéutica liofilizada de la presente invención a un sujeto que lo necesita. En algunos modos de realización, en el procedimiento de tratamiento de una enfermedad en un sujeto, la dosis máxima diaria es de 20 mg/kg de peso corporal y día, preferentemente, 17,5, 15,0 o 12,5, 10, 8,5, 7,5, 5,0 o 2,5 mg/kg de peso corporal y día.

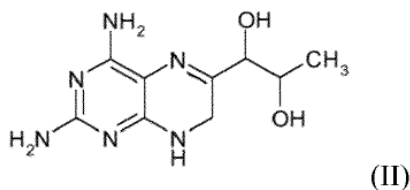
En aún otro modo de realización, la invención se refiere a una composición farmacéutica sólida que comprende

a) un compuesto que tiene la fórmula (I):



40

y/o un compuesto que tiene la fórmula (II):



y

b) al menos una sal inorgánica, preferentemente NaCl.

En dicho modo de realización, se puede elegir la cantidad del NaCl presente en la composición de la presente invención de tal manera que la proporción molar del NaCl con respecto al compuesto (I) o compuesto (II) varíe desde 1,5 a 4, preferentemente desde 1,8 a 3,7, desde 1,85 a 3,6, desde 1,9 a 3,4, lo más preferentemente desde 1,9 a 2,5.

En un modo de realización, la proporción molar de NaCl con respecto al compuesto (I) o compuesto (II) es de aproximadamente 2,2.

Breve descripción de los dibujos

La **fig.1** muestra la preparación de la sustancia farmacéutica diclorhidrato de 4-amino-(6R,S)-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina dihidratado (VAS203).

La **fig.2** muestra un procedimiento de fabricación de la especialidad farmacéutica VAS203 de acuerdo con la invención.

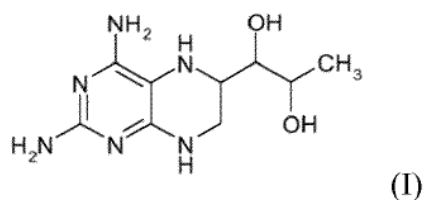
La **fig.3** muestra la estabilidad de viales de VAS203 de 1 g (lote n.º 928606), almacenados a 2-8 °C (tabla 5).

Descripción detallada de la invención

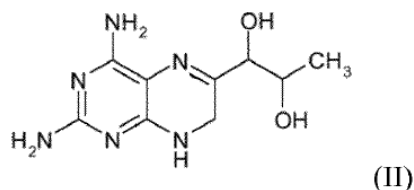
Un objetivo de la presente invención fue proporcionar composiciones farmacéuticas. Adicionalmente, estas composiciones deben ser estables y fáciles de usar. En el presente documento, se ha descubierto que al usar sales de fosfato sólidas (solas o en conexión con una sal inorgánica, tal como NaCl o KCl) en conexión con derivados de biopterina sólidos, tales como los compuestos de fórmula (I) o (II), se da como resultado composiciones farmacéuticas (formulaciones) que están muy bien adaptadas para conseguir un valor de pH o intervalo de pH, así como una osmolalidad, que, tras la disolución, sea directamente adecuado para su administración terapéutica. Las composiciones farmacéuticas sólidas son particularmente muy adecuadas y fáciles de usar, puesto que ya están adaptadas para su administración intravenosa, asegurando también así un uso preservado. Además, se está resolviendo el problema de la oxidación de los derivados de biopterina en líquidos proporcionando composiciones sólidas.

De esta manera, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica sólida que comprende

a) un compuesto que tiene la fórmula (I):



y/o un compuesto que tiene la fórmula (II):

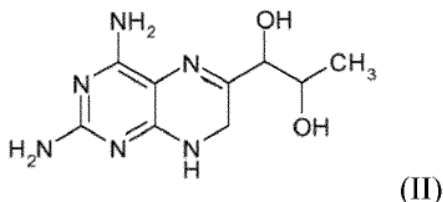


y

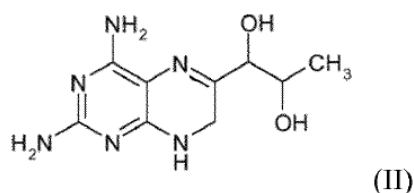
b) al menos una sal de fosfato.

Además, la presente invención también se refiere a una composición farmacéutica sólida que comprende

a) un compuesto que tiene la fórmula (I):



5 y/o un compuesto que tiene la fórmula (II):



y

b) al menos una sal inorgánica, en particular NaCl.

10 Cuando se usa en el presente documento, el término "sólido" o "composición sólida", se refiere a partículas (iones, átomos o moléculas o compuestos) que están estrechamente agrupadas entre sí. Las fuerzas entre partículas son fuertes, de modo que las partículas no se pueden mover libremente, sino que únicamente pueden vibrar. Como resultado, un sólido tiene una forma definida estable y un volumen definido. Los sólidos únicamente pueden cambiar su forma mediante fuerza, como cuando se rompen o cortan. En los sólidos cristalinos, las partículas (átomos, moléculas o iones) se agrupan en un patrón repetitivo regularmente ordenado. Hay varias estructuras de cristal diferentes y la misma sustancia puede tener más de una estructura (o fase sólida). El término "sólido" también engloba sólidos/sustancias/composiciones amorfas o no cristalinas. Habitualmente el estado de agregación se determina a temperatura ambiente y presión ambiente. La temperatura ambiente representa comúnmente el pequeño intervalo de temperaturas a las que el aire no se percibe como frío ni caliente, a menudo el intervalo se denota entre 20 y 23,5 °C, con un promedio de 21 °C (70 °F). Con presión ambiente se quiere decir una presión de entre 900 y 1200 hPa (hectopascal), preferentemente de aproximadamente 1000 hPa. Los sólidos se pueden transformar en líquidos mediante fusión y los líquidos se pueden transformar en sólidos mediante congelación. Los sólidos también pueden cambiar directamente a gases a través del procedimiento de sublimación.

25 La composición sólida de la presente invención se puede administrar (habitualmente tras su disolución en un líquido, tal como agua) a una persona ("administración"). Esto proporciona la administración de una dosis terapéuticamente eficaz de la composición sólida de la presente invención a un sujeto.

30 La "cantidad terapéuticamente eficaz" es una dosis del compuesto de fórmula (I) y/o el compuesto de fórmula (II) que produce los efectos para los que se administra. La dosis exacta depende del propósito del tratamiento y se puede establecer por un experto en la técnica usando técnicas conocidas. Como se conoce en la técnica y se describe anteriormente, pueden ser necesarios ajustes para la administración sistémica frente a localizada, edad, peso corporal, salud general, sexo, dieta, momento de administración, interacción con fármacos y la gravedad de la afección, y se podrán establecer con experimentación rutinaria por los expertos en la técnica. En este contexto, se advierte de nuevo que ambos compuestos, 4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina y 4-amino-7,8-dihidro-L-biopterina son farmacéuticamente activos. También se advierte que 4-amino-7,8-dihidro-L-biopterina se puede obtener mediante oxidación (también oxidación espontánea) a partir de 4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina. De esta manera, una composición de la invención puede comprender únicamente 4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina o 4-amino-7,8-dihidro-L-biopterina o bien una mezcla de estos dos compuestos en cualquier proporción.

40 Las composiciones sólidas de la presente invención son aplicables tanto a tratamiento en seres humanos como a aplicaciones veterinarias. Los compuestos descritos en el presente documento que tienen la actividad terapéutica deseada se pueden administrar en un vehículo farmacéuticamente aceptable a un paciente/sujeto, como se describe en el presente documento. Dependiendo de la manera de introducción, los compuestos se pueden formular de una variedad de formas como se analiza a continuación. La composición sólida de la presente invención se puede administrar sola o en combinación con otros tratamientos.

La composición sólida de la presente invención puede estar adicionalmente "adaptada para su administración intravenosa". Esto quiere decir que la composición sólida se mezcla preferentemente con un vehículo farmacéuticamente aceptable, preferentemente un fluido farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, agua o tampón o cualquiera del fluido de reconstitución como se describe a continuación, de modo que la composición sólida se pueda usar para su aplicación intravenosa. La administración intravenosa es la infusión o inyección de sustancias líquidas directamente en una vena habitualmente con una jeringuilla y una aguja hueca que atraviesa la piel hasta una profundidad suficiente para que se administre el material en el cuerpo del sujeto.

De esta manera, en modos de realización adicionales, la composición farmacéutica de la presente invención está adaptada para su administración mediante infusión o inyección. Con una "infusión" se quiere decir una administración continua durante un determinado periodo de tiempo. Por ejemplo, dicha administración puede llevar de entre 10 minutos a 4 días. De esta manera, puede llevar como máximo 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 32, 40, 48, 56, 68, 72, 86 o 96 horas. Un medio de "inyección" es un procedimiento de infusión temporal de insertar fluido en el cuerpo de un sujeto. Habitualmente dicha administración lleva menos de 10 minutos. Sin embargo, se puede repetir una inyección varias veces al día. Por ejemplo, puede tener lugar una inyección 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o 9 veces al día. Adicionalmente, la(s) inyección/inyecciones se puede(n) administrar durante 1, 2, 3 o 4 días. Sin embargo, la administración por medio de inyección o infusión también puede llevar más tiempo si es necesario. Es obvio que la duración exacta depende de muchos factores.

Típicamente las composiciones para su administración intravenosa son la composición farmacéutica sólida de la presente invención mezclada con un vehículo farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, con tampón acuoso isotónico estéril, para formar una solución farmacéutica. Cuando sea necesario, esta composición/solución también puede incluir un agente solubilizante y un anestésico local, tal como lignocaína, para aliviar el dolor en el sitio de la inyección. Generalmente, los ingredientes se suministran por separado o bien mezclados entre sí en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como un polvo liofilizado seco o concentrado libre de agua en un recipiente herméticamente cerrado, tal como un vial, una ampolla o sobre, que indique la cantidad de compuesto (I) y/o compuesto (II). Cuando la composición/solución se va a administrar mediante infusión, se puede distribuir con un frasco para infusión que contenga solución salina o agua de calidad farmacéutica estéril. Cuando la composición se administra mediante inyección o infusión, se puede proporcionar una ampolla de agua estéril para inyección o solución salina, de modo que se puedan mezclar los ingredientes antes de su administración.

El término "farmacéuticamente aceptable" quiere decir aprobado por una agencia reguladora u otra farmacopea generalmente reconocida para uso en animales, y más particularmente en seres humanos. Generalmente "farmacéuticamente aceptable" también quiere decir "fisiológicamente aceptable", lo que quiere decir que el fluido/vehículo está en consonancia con o es característico del funcionamiento normal de un sujeto vivo y no provoca toxicidad o cualquier otro efecto adverso. Dicho fluido/vehículo normalmente tiene aproximadamente el mismo pH y/o osmolalidad que, por ejemplo, fluidos, tales como la sangre de un animal.

El "fluido farmacéuticamente aceptable" puede ser uno de la siguiente lista no limitante de disolventes acuosos o no acuosos. Los disolventes no acuosos son propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como oleato de etilo. Los disolventes acuosos incluyen agua, soluciones alcohólicas/acuosas, emulsiones o suspensiones, incluyendo solución salina y medios tamponados, solución de iones de sodio, dextrosa de Ringer, dextrosa e ion de sodio, Ringer lactato o aceites fijos. Los vehículos intravenosos incluyen reponedores de nutrientes y fluidos, reponedores de electrolitos (tales como los basados en dextrosa de Ringer) y similares. Un fluido farmacéuticamente aceptable preferente es un disolvente acuoso, por ejemplo, agua estéril para inyección.

En algunos modos de realización, la composición farmacéutica sólida de la presente invención se reconstituye antes de su administración. En otros modos de realización, la composición farmacéutica de la presente invención está adaptada para reconstituirse en agua. "Reconstituirse en agua" quiere decir devolver una composición (deshidratada o concentrada) al estado líquido mediante la adición de un fluido farmacéuticamente aceptable como se describe anteriormente. Preferentemente, la composición sólida de la presente invención se reconstituye en agua.

La invención puede comprender composiciones sólidas diferentes. Por ejemplo, la composición sólida puede comprender el compuesto (I) y/o compuesto (II) además de una sal de fosfato. Por una "sal de fosfato" se quiere decir que se puede usar cualquier sal de fosfato conocida. Las sales de fosfato se refieren a muchas combinaciones diferentes del fosfato químico con sales y minerales. En un modo de realización en la composición farmacéutica de la presente invención, la al menos una sal de fosfato es un fosfato de sodio, un fosfato de potasio o un fosfato de amonio. La sal de fosfato se puede seleccionar del grupo que consiste en Na_2HPO_4 (libre de agua), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$, NaH_2PO_4 (libre de agua), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, K_2HPO_4 (libre de agua), $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 (libre de agua) y mezclas de los mismos.

En algunos modos de realización de la composición farmacéutica de la presente invención, la sal de fosfato es $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ y la cantidad del $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ presente en la composición se elige de tal manera que la proporción molar del $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ con respecto al compuesto (I) o compuesto (II) varíe desde 0,04 a 0,4, preferentemente desde 0,05 a 0,35, desde 0,075 a 0,25, desde 0,09 a 0,2. En un modo de realización, la proporción molar del $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ con respecto al compuesto (I) o compuesto (II) es de aproximadamente 0,144.

En modos de realización adicionales de la composición farmacéutica de la presente invención, el fosfato de sodio es $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, y la cantidad del $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ presente en la composición se elige de tal manera que la proporción molar del $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ con respecto al compuesto (I) o compuesto (II) varíe desde 0,01 a 0,09, preferentemente desde 0,015 a 0,07, desde 0,02 a 0,05, desde 0,025 a 0,04, desde 0,035 a 0,05. En un modo de realización, la proporción molar del $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ con respecto al compuesto (I) o compuesto (II) es de aproximadamente 0,038.

En otros modos de realización, la composición farmacéutica de la presente invención comprende dos sales de fosfato de sodio diferentes. Opcionalmente, las dos sales de fosfato de sodio diferentes son $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ y $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$.

En algunos modos de realización de la composición farmacéutica de la presente invención, la cantidad del $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ y $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ presentes en la composición se elige de tal manera que la proporción molar de tanto $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ como $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ con respecto al compuesto (I) o compuesto (II) varíe desde 0,02 a 0,5, preferentemente desde 0,03 a 0,45, desde 0,04 a 0,3, desde 0,05 a 0,25, desde 0,06 a 0,2, desde 0,07 a 0,15. En un modo de realización, la proporción molar de tanto $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ como $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ con respecto al compuesto (I) o compuesto (II) es de aproximadamente 0,18.

En algunos modos de realización de la composición farmacéutica de la presente invención, la cantidad del $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ y $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ presentes en la composición se elige de tal manera que la proporción molar de cada uno de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ y $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ con respecto al compuesto (I) o compuesto (II) varíe desde 0,02 a 0,5, preferentemente desde 0,025 a 0,4, desde 0,025 a 0,3, desde 0,025 a 0,2, desde 0,03 a 0,1. En algunos modos de realización, la cantidad de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ presente en la composición se elige de tal manera que la proporción molar del $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ con respecto al compuesto (I) o compuesto (II) varíe desde 0,01 a 0,09 y la cantidad del $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ presente en la composición se elige de tal manera que la proporción molar del $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ con respecto al compuesto (I) o compuesto (II) varíe desde 0,04 a 0,4. Aquí, también se aplican las demás cantidades de las sales de fosfato aplicadas de manera individual $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ y $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ como se describe anteriormente. En algunos modos de realización, la composición farmacéutica sólida comprende al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6 o más sales de fosfato. En un modo de realización, la composición farmacéutica sólida de la presente invención comprende 2 sales de fosfato (diferentes).

Cuando se usa en el presente documento, se entiende que el término "aproximadamente" quiere decir que puede haber variación en el intervalo o valor respectivo (tal como pH, concentración, porcentaje, molaridad, tiempo, etc.) que puede ser de hasta un 5 %, hasta un 10 %, hasta un 15 % o hasta e incluyendo un 20 % del valor dado. Por ejemplo, si una formulación comprende aproximadamente 5 mg/ml de un compuesto, se entiende que esto quiere decir que una formulación puede tener entre 4 y 6 mg/ml, preferentemente entre 4,25 y 5,75 mg/ml, más preferentemente entre 4,5 y 5,5 mg/ml e incluso más preferentemente entre 4,75 y 5,25 mg/ml, siendo lo más preferente 5 mg/ml. Lo mismo también se aplica a la molaridad. Por ejemplo, se ha de entender una molaridad de aproximadamente 1 como una molaridad de entre 0,8 a 1,2, preferentemente 0,85 a 1,15, más preferentemente entre 0,9 a 1,1, incluso más preferentemente entre 0,95 a 1,05, siendo lo más preferente 1.

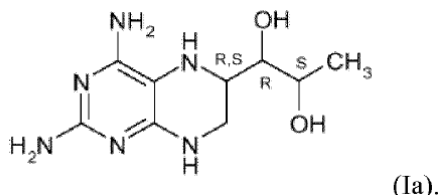
De forma alternativa, la presente invención se refiere a composiciones sólidas, que comprenden el compuesto (I) y/o compuesto (II) y una sal inorgánica diferente de una sal de fosfato. En estas composiciones, la sal inorgánica puede ser cualquiera de los componentes exclusivos, salvo el compuesto (I) o (II) (en este caso, no hay presente ninguna sal de fosfato). De forma alternativa, en la composición de la invención puede estar presente una sal inorgánica en combinación con al menos un fosfato. Cuando se hace referencia en el presente documento, el término "sal inorgánica" quiere decir cualquier sal inorgánica adecuada. Opcionalmente, la sal inorgánica se selecciona de MgCl_2 , CaCl_2 , NH_4Cl , KCl o NaCl . En algunos modos de realización preferentes, la sal inorgánica es NaCl . En algunos modos de realización de la composición farmacéutica de la presente invención, la cantidad del NaCl presente en la composición de la presente invención (solo o junto con al menos un fosfato) se elige de tal manera que la proporción molar del NaCl con respecto al compuesto (I) o compuesto (II) varíe desde 1,5 a 4, preferentemente desde 1,8 a 3,7, desde 1,85 a 3,6, desde 1,9 a 3,4, lo más preferentemente desde 1,9 a 2,5. En uno de dichos modos de realización, la proporción molar del NaCl con respecto al compuesto (I) o compuesto (II) es de aproximadamente 2,2.

En las composiciones de la invención, los compuestos (I) y/o compuesto (II) pueden estar presentes como mezclas diastereómeras o mezclas de 11, 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 estereoisómeros para el compuesto (I) y 1, 2, 3, 4, 5 o 6 estereoisómeros para el compuesto (II), preferentemente de uno o dos estereoisómeros.

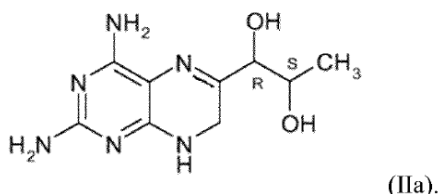
De esta manera, el compuesto de fórmula (I) puede comprender mezclas diastereómeras del compuesto de fórmula (I) o mezclas de uno o más estereoisómeros del compuesto de fórmula (I). El compuesto (I) puede ser (6R)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina. En modos de realización adicionales, el compuesto (I) es (6S)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina. En otros modos de realización, el compuesto (I) es una mezcla diastereómera que comprende más (6R)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina que (6S)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina. En algunos modos de realización, la cantidad de la (6R)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina y la (6S)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina se elige de tal manera que la proporción de la cantidad de (6R)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina con respecto a la (6S)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina varíe desde 0,5 a 2, preferentemente desde 0,5 a 1,9, desde 0,7 a 1,8,

desde 0,8 a 1,7, desde 0,9 a 1,6, desde 1 a 1,5, lo más preferentemente desde 1,1 a 1,4. En un modo de realización, la cantidad de la (6R)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina y la (6S)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina se elige de tal manera que la proporción de la cantidad de (6R)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina con respecto a la (6S)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina sea de alrededor de 1,3. En algunos modos de realización, la composición farmacéutica de la presente invención comprende únicamente el compuesto (I).

El compuesto (I) también puede ser un compuesto que tenga la fórmula (Ia):



De manera similar, cuando se hace referencia en el presente documento, el compuesto de fórmula (II) puede comprender mezclas estereoisómeras del compuesto de fórmula (II) o mezclas de uno o más estereoisómeros del compuesto de fórmula (II). En algunos modos de realización de la composición farmacéutica de la presente invención, el compuesto (II) es 4-amino-7,8-dihidro-L-biopterina. En otro modo de realización, el compuesto (II) es un compuesto que tiene la fórmula (IIa):



En algunos modos de realización, la composición farmacéutica de la presente invención comprende únicamente el compuesto (II).

En las composiciones farmacéuticas sólidas, también puede estar presente el compuesto (I) y/o el compuesto (II) como la base libre. Cuando se hace referencia en el presente documento, una "base libre" se refiere a la forma básica pura de una amina, en lugar de su forma de sal. Adicionalmente, este término se usa para describir la forma de amina desprotonada de un compuesto. Un contraión común es un ion de un ácido inorgánico, tal como un cloruro cargado negativamente. Por ejemplo, compárese la base libre amina (NH_2) con clorhidrato de amina ($\text{NH}_3^+ \text{Cl}^-$) al añadir HCl.

Como se menciona anteriormente, los derivados de biopterina son sensibles frente a la oxidación en líquidos. Por lo tanto, la composición farmacéutica sólida también se puede proporcionar como una composición farmacéutica liofilizada. Cuando se usa en el presente documento, el término "liofilizado/a" quiere decir criodesecación, que es un procedimiento de deshidratación. La criodesecación se efectúa congelando el material y entonces reduciendo la presión circundante para permitir que se sublime directamente el agua congelada en el material desde la fase sólida a la fase gaseosa. En algunos modos de realización, el contenido de agua residual final en el producto liofilizado está entre un 0 % a un 15 %, preferentemente entre un 0 % a un 12 %, (p/p). Los procedimientos para realizar la liofilización son conocidos por el experto en la técnica.

Como es evidente para el experto en la técnica, las composiciones farmacéuticas pueden comprender adicionalmente 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más excipientes farmacéuticos adicionales. Un "excipiente farmacéutico" o aditivos son compuestos añadidos a los compuestos de fórmula (I) y/o (II). Estos aditivos pueden cumplir una función específica. Se pueden añadir para incrementar la masa, favorecer la fabricación, mejorar la estabilidad, potenciar la administración de fármacos y la selección, y modificar la seguridad de los fármacos o el perfil farmacocinético. Los ingredientes que se usan durante la fabricación de la especialidad farmacéutica, pero puede que no estén presentes en la composición sólida de la presente invención, también se consideran excipientes (los ejemplos incluyen agua para productos liofilizados y gases inertes en la cámara volátil de los recipientes). Los excipientes farmacéuticos adecuados incluyen almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, trehalosa, manitol, sorbitol, glicina, histidina, rafinosa, gelatina, malta, arroz, harina, yeso, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, ion de sodio, leche desnatada en polvo, glicerol, propileno, glicol, dextrosa, dextrano, agua, etanol y similares. Si se desea, la composición también puede contener cantidades menores de agentes humectantes o emulsionantes o agentes tamponadores del pH. Estas composiciones pueden adoptar la forma de soluciones, suspensiones, emulsión y similares.

Por ejemplo, si la composición sólida de la presente invención comprende un compuesto de fórmula (I) y/o de fórmula (II) y una sal de fosfato, un posible excipiente farmacéutico adicional puede ser una sal inorgánica. La sal inorgánica

puede ser cualquier sal inorgánica como se describe anteriormente. Por otro lado, si la composición farmacéutica de la presente invención comprende un compuesto de fórmula (I) y/o de fórmula (II) y una sal inorgánica, un excipiente farmacéutico adicional puede ser una sal de fosfato. La sal de fosfato puede ser cualquier sal de fosfato como se describe anteriormente.

- 5 Además de los excipientes farmacéuticos que pueden estar presentes en las composiciones farmacéuticas sólidas de la presente invención, en algunos modos de realización la composición farmacéutica de la presente invención puede comprender agua de cristalización, por supuesto, igualmente también pueden estar presentes excipientes farmacéuticos adicionales. Como se usa en el presente documento de acuerdo con su habitual significado en la técnica, el "agua de cristalización" o "agua de hidratación" quiere decir agua que se produce en el interior de los cristales, en la presente invención, ambas sales inorgánicas, tales como Na_2HPO_4 o NaH_2PO_4 , así como el derivado de biopterina del compuesto (I) o compuesto (II), puede tener agua de cristalización. Mientras que en las sales de fosfato sólidas, tales como $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ o $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, el agua de cristalización está presente en cantidades estequiométricas definidas, la cantidad de agua de cristalización presente en la forma sólida del compuesto (I) o compuesto (II) puede variar dependiendo de las condiciones para la síntesis y/o cristalización del compuesto que se usa para la preparación de la formulación sólida de la presente invención. Sin pretender vincularse a ninguna teoría, se cree que el agua de cristalización que está presente en la forma sólida del compuesto (I) o compuesto (II), por ejemplo, puede estar unida por medio de enlaces de hidrógeno a los dos grupos amino del compuesto (I) o (II) que están presentes como base libre. Con propósitos ilustrativos, se hace referencia en este contexto a una dosificación unitaria de la composición que contiene 650 ± 60 mg de la base libre de 4-amino-(6R,S)-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina, 140 ± 30 mg de agua de cristalización, 70 ± 7 mg de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, $16,5 \pm 2$ mg de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, y 350 ± 30 mg de cloruro de sodio (NaCl). En esta dosificación unitaria, las dos sales de fosfato de sodio están presentes como dihidratos, mientras que el agua de cristalización que está presente en la cantidad de 140 ± 30 mg de agua de cristalización únicamente se refiere al agua que está presente en asociación con la base libre del compuesto (I) y/o compuesto (II).
- 25 Como se acaba de describir, la composición farmacéutica de la presente invención se puede proporcionar en una dosificación unitaria. Una "dosificación unitaria" de las composiciones farmacéuticas sólidas de la presente invención quiere decir que los ingredientes se mezclan entre sí en una dosificación unitaria, lo que implica típicamente una mezcla de componentes farmacológicos activos, tales como el compuesto (I) y/o compuesto (II), y componentes no farmacológicos (excipientes), tales como al menos una sal de fosfato y/o al menos una sal inorgánica.
- 30 Adicionalmente, una dosificación unitaria puede comprender excipientes adicionales, tales como al menos una sal de fosfato o al menos una sal inorgánica y/o junto con otro material no reutilizable que no se pueda considerar ni ingrediente ni envase (tal como un recubrimiento de cápsula, por ejemplo). Igualmente el término dosificación unitaria también puede englobar envases no reutilizables (especialmente cuando cada especialidad farmacéutica está envasada individualmente). La dosificación unitaria también puede comprender composiciones farmacéuticas sólidas reconstituidas de la presente invención.

Para una dosificación unitaria ejemplar, se esboza a continuación un cálculo de las proporciones molares de los ingredientes de esta dosificación unitaria.

		Composición	Masa molar	Mol (media)	forma
$\text{C}_9\text{H}_{16}\text{N}_6\text{O}_2$	Compuesto de fórmula (i)	650 +/- 60 mg	240,27 g/mol	0,0027053	sólido
$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{N}_6\text{O}_2$	Compuesto de fórmula (ii)	650 +/- 60 mg	238,26 g/mol	0,0027282	sólido
H_2O	Agua de cristalización	140 +/- 30 mg	18,02 g/mol	0,0077691	
NaCl	Cloruro de sodio	350 +/- 30 mg	58,44 g mol ⁻¹	0,005989	sal
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	Hidrogenofosfato de disodio dihidratado	70 +/- 7 mg	177,99 g/mol	0,0003932	Sólido dihidratado
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	Dihidrogenofosfato de sodio dihidratado	16,5 +/- 2 mg	156,01 g/mol	0,0001057	Sólido dihidratado

Proporción molar entre n_{NaCl} / $n_{\text{compuesto (i)}}$ = $0,005989 \text{ mol} / 0,0027053 \text{ mol} \sim 2,214$

40 Proporción molar entre n_{NaCl} / $n_{\text{compuesto (ii)}}$ = $0,005989 \text{ mol} / 0,0027282 \text{ mol} \sim 2,195$

Proporción molar entre $n_{\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} + n_{\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} / n_{\text{compuesto (i)}} = 0,0003932 \text{ mol} + 0,0001057 \text{ mol} / 0,0027053 \text{ mol} \sim 0,18$

Proporción molar entre $n_{\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} + n_{\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} / n_{\text{compuesto (ii)}} = 0,0003932 \text{ mol} + 0,0001057 \text{ mol} / 0,0027282 \text{ mol} \sim 0,18$

5 Proporción molar entre $n_{\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} / n_{\text{compuesto (i)}} = 0,0003932 \text{ mol} / 0,0027053 \text{ mol} \sim 0,145$

Proporción molar entre $n_{\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} / n_{\text{compuesto (ii)}} = 0,0003932 \text{ mol} / 0,0027282 \text{ mol} \sim 0,144$

Proporción molar entre $n_{\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} / n_{\text{compuesto (i)}} = 0,0001057 \text{ mol} / 0,0027253 \text{ mol} \sim 0,038$

Proporción molar entre $n_{\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} / n_{\text{compuesto (ii)}} = 0,0001057 \text{ mol} / 0,0027282 \text{ mol} \sim 0,038$

$n_{\text{compuesto (i)}} = m_{\text{compuesto (i)}} / M_{\text{compuesto (i)}} = 0,710 \text{ g} / 240,27 \text{ g mol}^{-1} = 0,002955 \text{ mol}$

10 $n_{\text{compuesto (i)}} = m_{\text{compuesto (i)}} / M_{\text{compuesto (i)}} = 0,590 \text{ g} / 240,27 \text{ g mol}^{-1} = 0,0024556 \text{ mol}$

$n_{\text{compuesto (i)}} = m_{\text{compuesto (i)}} / M_{\text{compuesto (i)}} = 0,650 \text{ g} / 240,27 \text{ g mol}^{-1} = 0,0027053 \text{ mol}$

$n_{\text{compuesto (ii)}} = m_{\text{compuesto (ii)}} / M_{\text{compuesto (ii)}} = 0,710 \text{ g} / 238,25 \text{ g mol}^{-1} = 0,00298 \text{ mol}$

$n_{\text{compuesto (ii)}} = m_{\text{compuesto (ii)}} / M_{\text{compuesto (ii)}} = 0,590 \text{ g} / 238,25 \text{ g mol}^{-1} = 0,0024763 \text{ mol}$

$n_{\text{compuesto (ii)}} = m_{\text{compuesto (ii)}} / M_{\text{compuesto (ii)}} = 0,650 \text{ g} / 238,25 \text{ g mol}^{-1} = 0,0027282 \text{ mol}$

15 $n_{\text{NaCl}} = m_{\text{NaCl}} / M_{\text{NaCl}} = 0,380 \text{ g} / 58,44 \text{ g mol}^{-1} = 0,0065023 \text{ mol}$

$n_{\text{NaCl}} = m_{\text{NaCl}} / M_{\text{NaCl}} = 0,320 \text{ g} / 58,44 \text{ g mol}^{-1} = 0,0054757 \text{ mol}$

$n_{\text{NaCl}} = m_{\text{NaCl}} / M_{\text{NaCl}} = 0,350 \text{ g} / 58,44 \text{ g mol}^{-1} = 0,005989 \text{ mol}$

$n_{\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} = m_{\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} / M_{\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} = 0,077 \text{ g} / 177,99 \text{ g mol}^{-1} = 0,0004326 \text{ mol}$

$n_{\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} = m_{\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} / M_{\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} = 0,063 \text{ g} / 177,99 \text{ g mol}^{-1} = 0,0003539 \text{ mol}$

20 $n_{\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} = m_{\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} / M_{\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} = 0,07 \text{ g} / 177,99 \text{ g mol}^{-1} = 0,0003932 \text{ mol}$

$n_{\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} = m_{\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} / M_{\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} = 0,185 \text{ g} / 156,01 \text{ g mol}^{-1} = 0,001185 \text{ mol}$

$n_{\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} = m_{\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} / M_{\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} = 0,145 \text{ g} / 156,01 \text{ g mol}^{-1} = 0,000929 \text{ mol}$

$n_{\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} = m_{\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} / M_{\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}} = 0,165 \text{ g} / 156,01 \text{ g mol}^{-1} = 0,001057 \text{ mol}$

$n_{\text{H}_2\text{O}} = m_{\text{H}_2\text{O}} / M_{\text{H}_2\text{O}} = 0,17 \text{ g} / 18,02 \text{ g mol}^{-1} = 0,0094339 \text{ mol}$

25 $n_{\text{H}_2\text{O}} = m_{\text{H}_2\text{O}} / M_{\text{H}_2\text{O}} = 0,11 \text{ g} / 18,02 \text{ g mol}^{-1} = 0,0061043 \text{ mol}$

$n_{\text{H}_2\text{O}} = m_{\text{H}_2\text{O}} / M_{\text{H}_2\text{O}} = 0,14 \text{ g} / 18,02 \text{ g mol}^{-1} = 0,0077691 \text{ mol}$

En resumen, una dosificación unitaria contiene $650 \pm 60 \text{ mg}$ de la base libre de 4-amino-7,8-dihidro-L-biopterina y/o de 4-amino-(6R,S)-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina, $140 \pm 30 \text{ mg}$ de agua de cristalización, $70 \pm 7 \text{ mg}$ de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}$, $16,5 \pm 2 \text{ mg}$ de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}$ y $350 \pm 30 \text{ mg}$ de NaCl. En modos de realización típicos, esta dosificación unitaria se refiere a y se envasa para su administración en un vial de 50 ml, puesto que después de la reconstitución con un volumen de 50 ml de vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como agua *ad inject*, se obtiene una solución para inyección o infusión que se puede administrar inmediatamente. De esta manera, por ejemplo, si se usa una dosificación unitaria diferente, por ejemplo, un vial de 30 ml, se ajustan en consecuencia las cantidades de todos los componentes de la composición. En el ejemplo de un vial de 30 ml, la cantidad de cada componente se reduciría a 3/5 (un 60 %). Eso quiere decir que una dosificación unitaria de 30 ml contendrá $390 \pm 36 \text{ mg}$ de la base libre de 4-amino-7,8-dihidro-L-biopterina y/o de 4-amino-(6R,S)-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina, $84 \pm 18 \text{ mg}$ de agua de cristalización, $42 \pm 4,2 \text{ mg}$ de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}$, $9,9 \pm 1,2 \text{ mg}$ de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{ H}_2\text{O}$ y $210 \pm 18 \text{ mg}$ de NaCl.

La composición farmacéutica de la presente invención también puede comprender moléculas adicionales, por ejemplo, compuestos relacionados generados durante el procedimiento de producción de la composición farmacéutica de la presente invención. De esta manera, la composición farmacéutica de la presente invención puede comprender 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 o más compuestos adicionales. Estos compuestos adicionales se pueden seleccionar de uno o más de los compuestos, incluyendo, pero sin limitarse a, el grupo que consiste en 4-amino-7,8-dihidro-L-biopterina (que se puede generar mediante oxidación espontánea de 4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina, véase anteriormente), 4-amino-L-biopterina, (6R,S)-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina, 1-[(6R,S)-2,4-diamino-5,6,7,8-tetrahidropteridin-6-yl]propanol,

1-[(6R,S)-2,4-diamino-5,6,7,8-tetrahidropteridin-6-il]propano,
 (1R,2S)-1-[(6R,S)-2-(acetilamino)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidropteridin-6-il]-1,2-diacetoxi-propano,
 2,4-diamino-7,8-dihidropteridina o 2,4-diaminopteridina, por nombrar unos pocos compuestos ilustrativos.

Como se esboza anteriormente, los derivados de pteridina han demostrado presentar propiedades diferentes de las de otros inhibidores de NO, lo que hace al compuesto potencialmente más adecuado que los análogos de arginina "clásicos". De esta manera, la presente invención también se refiere a un uso de una composición farmacéutica liofilizada de la presente invención para el tratamiento de una enfermedad. En algunos modos de realización, la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en un traumatismo craneoencefálico, lesión cerebral no traumática, preferentemente apoplejía o meningitis, presión craneal elevada, lesión cerebral secundaria.

El término "traumatismo craneoencefálico" o "traumatismo cerebral" se produce cuando una fuerza externa lesiona el cerebro de manera traumática. El TCE se puede clasificar en base a la gravedad, mecanismo (traumatismo craneoencefálico penetrante o cerrado) u otras características (por ejemplo, que se produzca en una localización específica o en una área extensa). Se puede producir un traumatismo craneoencefálico como consecuencia de un impacto focal en la cabeza, por una aceleración/deceleración repentina en el cráneo o por una combinación compleja tanto de movimiento como de impacto repentino, así como ondas de choque o penetración por un proyectil. La escala de coma de Glasgow (ECG), el sistema más comúnmente usado para clasificar la gravedad del TCE, cataloga el nivel de consciencia de una persona en una escala de 3-15 en base a reacciones verbales, motoras y de apertura ocular con respecto a estímulos. En general, se acepta que un TCE con una ECG de 13 o por encima es leve, 9-12 es moderado y 8 o por debajo es grave. Existen sistemas similares para niños pequeños. Desde el punto de vista del diagnóstico, se distingue adicionalmente entre TCE abiertos y cerrados. Se considera que un TCE abierto es una lesión en la que las meninges cerebrales (duramadre) están destruidas mecánicamente y el cerebro está en contacto con el entorno a través de esta abertura. A menudo, un TCE abierto se asocia con la salida de líquido y restos de tejido cerebral. En un TCE cerrado, el cráneo permanece intacto, y el daño primario del cerebro (traumatismo) se caracteriza por lesiones locales, tales como contusiones o hematomas y/o daños en el tejido cerebral difusos. Cuando se hace referencia en el presente documento, el término "cráneo" es el conjunto del esqueleto óseo y cartilaginoso existente del neurocráneo y viscerocráneo (craneofacial) de la cabeza de los vertebrados. "Intracraneal" quiere decir dentro del cráneo.

Por el contrario, una "lesión cerebral no traumática" no implica una fuerza mecánica externa para adquirir una lesión cerebral. Las causas de una lesión cerebral no traumática pueden incluir falta de oxígeno, glucosa o sangre. Las infecciones pueden provocar encefalitis (inflamación del cerebro), meningitis (inflamación meníngea) o toxicidad celular como, por ejemplo, provocada por insuficiencia hepática fulminante, como pueden los tumores o venenos. Estas infecciones se pueden producir a través de apoplejía, infarto de miocardio, semiahogamiento, estrangulamiento o un coma diabético, envenenamiento u otras causas químicas, tales como alcoholismo o sobredosis de drogas, infecciones o tumores y afecciones degenerativas, tales como enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Parkinson. Una enfermedad neurodegenerativa aguda está representada por "apoplejía", que se refiere a la pérdida de la función cerebral debida a alteraciones en el aporte de sangre al cerebro, especialmente cuando se produce rápidamente, y, a menudo, se asocia con enfermedad cerebrovascular. Esto se puede producir después de isquemia (falta de circulación sanguínea) provocada por obstrucción (trombosis, embolia arterial), o de una hemorragia del sistema nervioso central (SNC) o de los vasos sanguíneos intracraneales. Como resultado, el área afectada del cerebro no puede funcionar normalmente.

Otra enfermedad que se puede tratar es la "meningitis", que es una inflamación aguda de las membranas que recubren el cerebro y la médula espinal, conocidas colectivamente como las meninges. La inflamación puede estar provocada por infección con virus, bacterias u otros microorganismos y menos comúnmente por determinados fármacos.

Además del daño provocado en el momento de la lesión, el traumatismo cerebral (lesión cerebral no traumática o traumatismo craneoencefálico) provoca "lesión secundaria" o "lesión cerebral secundaria", que hace referencia a una variedad de acontecimientos que tienen lugar en los minutos y días después de la lesión. Estos procesos, que incluyen alteraciones en la circulación sanguínea cerebral y en la presión dentro del cráneo, contribuyen sustancialmente al daño desde la lesión inicial. Los acontecimientos de lesiones secundarias pueden incluir, por ejemplo, daño en la barrera hematoencefálica, liberación de factores que provocan inflamación, sobrecarga de radicales libres, liberación excesiva del neurotransmisor glutamato (excitotoxicidad), flujo de entrada de iones de calcio y sodio en las neuronas y disfunción de las mitocondrias. Los axones lesionados en la sustancia blanca del cerebro se pueden separar de sus cuerpos celulares como resultado de lesiones secundarias, matando potencialmente a esas neuronas. Otros factores en la lesión secundaria son los cambios en la circulación sanguínea al cerebro; desintegración temporal repetida de la barrera hematoencefálica; isquemia (circulación sanguínea insuficiente); hipoxia cerebral (oxígeno insuficiente en el cerebro); edema cerebral (inflamación del cerebro); y presión intracraneal aumentada (la presión en el cráneo).

También puede ser que la presión intracraneal se pueda elevar debido a inflamación o a un efecto de masa de una lesión, tal como una hemorragia. Como resultado, se reduce la presión de perfusión cerebral (la presión de la circulación sanguínea en el cerebro); se produce isquemia. Cuando la presión en el cráneo aumenta demasiado, puede provocar muerte cerebral o hernia, en la que las partes del cerebro se oprimen por estructuras en el cráneo. El

término "presión intracraneal" (PIC) quiere decir la presión en el interior del cráneo y, de esta manera, en el tejido cerebral y líquido cefalorraquídeo (LCR). El cuerpo tiene varios mecanismos mediante los que mantiene la PIC estable, con presiones del LCR que varían en aproximadamente 1 mmHg en adultos normales a través de cambios en la producción y absorción del LCR. La PIC se mide en milímetros de mercurio (mmHg) y, en reposo, es normalmente de 7–15 mmHg para un adulto en decúbito supino. Los cambios en la PIC se atribuyen a cambios de volumen en uno o más de los compartimentos contenidos en el cráneo. Una "presión elevada en el cráneo" o "presión intracraneal elevada" quiere decir una presión incrementada en el cráneo de un sujeto en comparación con un sujeto normal sano. Como la presión intracraneal está normalmente entre 7–15 mmHg; de esta manera, a 20–25 mmHg, el límite superior de la normal, ya se considera una presión intracraneal elevada y se puede necesitar un tratamiento para reducir esta presión. De esta manera, como se puede considerar una presión intracraneal elevada cualquier presión más alta de 20 mmHg en el cráneo de un sujeto en decúbito supino, preferentemente una presión es más alta de 25 mmHg, más alta de 26 mmHg, más alta de 27 mmHg, más alta de 28 mmHg, más alta de 29 mmHg, más alta de 30 mmHg, más alta de 31 mmHg, más alta de 32 mmHg, más alta de 33 mmHg, más alta de 34 mmHg o más alta de 35 mmHg.

En esta línea, en el contexto de la presente invención, se divulga adicionalmente el uso de la composición farmacéutica liofilizada de la presente invención en la fabricación de un medicamento para tratar un sujeto que tiene un traumatismo craneoencefálico cerrado, presión craneal elevada y lesión cerebral secundaria. Cuando se hace referencia en el presente documento, un "traumatismo craneoencefálico cerrado" quiere decir un tipo de traumatismo craneoencefálico en el que el cráneo y la duramadre permanecen intactos (véase también anteriormente).

En el contexto de la presente invención, también se divulga un procedimiento de tratamiento de una enfermedad en un sujeto, que comprende la etapa de administrar una composición farmacéutica liofilizada de la presente invención a un sujeto que lo necesita.

Para la administración, el médico responsable y los factores clínicos determinan la pauta posológica. Como es bien conocido en la técnica médica, las dosificaciones para un paciente cualquiera dependen de muchos factores, incluyendo la estatura del paciente, área de superficie corporal, edad, compuesto particular que se va a administrar, sexo, tiempo y vía de administración, salud general y otros fármacos que se estén administrando simultáneamente. Una dosis típica diaria puede estar, por ejemplo, en el intervalo de 2,5 mg/kg a 12,5 mg/kg de peso corporal; sin embargo, también se contemplan dosis por debajo o por encima de este intervalo ejemplar, considerando especialmente los factores mencionados anteriormente.

Las dosificaciones se dan preferentemente una vez al día durante como máximo 4 días, sin embargo, durante la evolución del tratamiento las dosis se pueden dar en intervalos de tiempo mucho más largos y en necesidad se pueden dar en intervalos de tiempo mucho más cortos, por ejemplo, diariamente. En un caso preferente, se supervisa la respuesta inmunitaria usando procedimientos descritos en el presente documento y procedimientos adicionales conocidos por los expertos en la técnica y las dosificaciones se optimizan, por ejemplo, en tiempo, cantidad y/o composición. Las dosificaciones varían, pero una dosificación preferente para la administración intravenosa del compuesto (I) y/o compuesto (II) es desde aproximadamente 2,5 mg/kg a 12,5 mg/kg de peso corporal y día.

Si la pauta es una inyección o una infusión continua a corto plazo, también debe estar en el intervalo de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 1 mg de unidades por kilogramo de peso corporal por minuto, respectivamente. Se puede supervisar la evolución mediante evaluación periódica.

Opcionalmente se pueden emplear ensayos *in vitro* para ayudar a identificar intervalos de dosificación óptimos. La dosis precisa que se va emplear en la formulación también depende de la vía de administración y la gravedad de la enfermedad, y se debe decidir de acuerdo con el criterio del facultativo y las circunstancias de cada paciente. Se pueden extrapolar dosis eficaces a partir de curvas dosis-respuesta procedentes de sistemas de prueba en modelos animales o *in vitro*. Preferentemente, la composición farmacéutica se administra directamente o en combinación con un adyuvante.

La dosis máxima diaria (DMD) se basa en la cantidad del compuesto (I) y/o (II), que se usa típicamente para la indicación principal de sujetos (por ejemplo, adultos) por día. Sin embargo, la pauta posológica puede diferir de inyecciones a infusiones o incluso infusiones y/o inyecciones múltiples al día. En algunos modos de realización, en el procedimiento de tratamiento de una enfermedad en un sujeto, la dosis máxima diaria es de 12,5 mg/kg de peso corporal, preferentemente 12,5, 11,5, 10,5, 9,5, 8,5, 7,5, 6,5, 5,5, 4,5, 3,5, 2,5 mg/kg de peso corporal. En algunos modos de realización, la dosis máxima diaria es de 10,0, 9,0 o preferentemente 8,5 mg/kg de peso corporal, o incluso más baja, tal como 7,5, 5,0, 2,5 mg/kg de peso corporal.

Como se usa en el presente documento, un intervalo que se define como "(desde) X a Y" se equipara a un intervalo que se define como "entre X e Y". Ambos intervalos incluyen específicamente el límite superior y también el límite inferior. Esto quiere decir que, por ejemplo, un intervalo de "2,5 mg/kg a 12,5 mg/kg" o "entre 2,5 mg/kg a 12,5 mg/kg" incluye una concentración de 2,5, 3,5, 4,5, 5,5, 6,5, 7,5, 8,5, 9,5, 10,5, 11,5 y 12,5, así como cualquier valor intermedio dado.

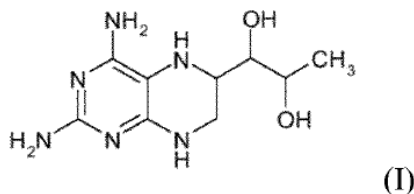
También se contempla que las composiciones farmacéuticas se empleen en enfoques de coterapia, es decir, en

coadministración con otros medicamentos o fármacos, por ejemplo, otros fármacos para prevenir, tratar o aliviar enfermedades, tales como lesión cerebral no traumática o traumática.

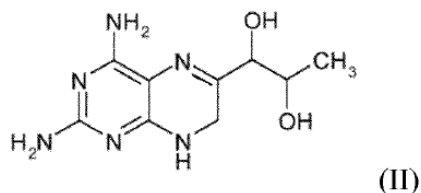
Los "sujetos" que se tratan en la presente invención son preferentemente mamíferos, tales como seres humanos, monos, gatos, perros, caballos, cerdos, ganado vacuno, ratones o ratas, siendo preferentes los seres humanos.

- 5 La presente invención también contempla un procedimiento para preparar una composición farmacéutica sólida liofilizada que comprende

a) un compuesto que tiene la fórmula (I):



y/o un compuesto que tiene la fórmula (II):



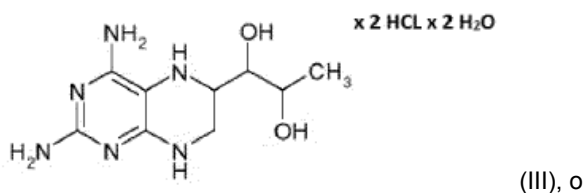
10

y

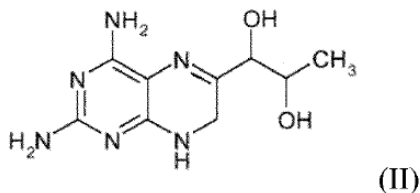
b) al menos una sal de fosfato;

comprendiendo el procedimiento:

aa) disolver el compuesto de fórmula (III) y/o (II):



15



con un tampón, en el que el tampón comprende el fosfato; y

bb) liofilizar la solución obtenida en aa).

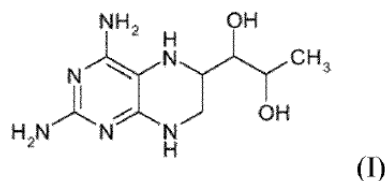
20

En este contexto, se advierte que mientras el compuesto de fórmula (II) está fácilmente disponible como tal a partir de síntesis, el producto de síntesis típico del compuesto de fórmula (I) es su diclorhidrato dihidratado mostrado en la fórmula (III). Por este motivo, en el procedimiento de preparación de una composición sólida de la invención que contiene el compuesto de fórmula (I), 4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina, el material de partida es típicamente diclorhidrato de 4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina dihidratado, el compuesto de fórmula (III).

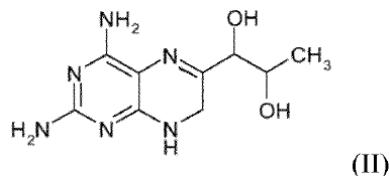
25

También, la presente invención se refiere adicionalmente a un procedimiento para preparar una composición farmacéutica sólida liofilizada que comprende

a) un compuesto que tiene la fórmula (I):



y/o un compuesto que tiene la fórmula (II):

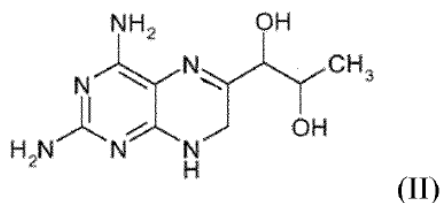
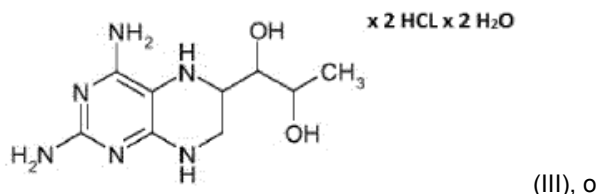


5 y

b) al menos un ácido inorgánico, preferentemente NaCl;

comprendiendo el procedimiento:

aa) disolver el compuesto de fórmula (III) y/o de fórmula (II):



10

con un tampón;

bb) liofilizar la solución obtenida en aa).

15

El tampón como se describe en aa) se usa para disolver el compuesto de fórmula (III) y/o de fórmula (II) para dar una solución tampón-compuesto. En general, un tampón es una solución que contiene un ácido (o una base) débil y la sal de ese ácido (o esa base) débil. Adicionalmente, resiste cambios en el pH cuando se le añaden pequeñas cantidades de un ácido o un álcali. Varios fosfatos pueden formar diversas combinaciones de tampones diferentes. Tres posibles fosfatos de sodio pueden incluir NaH₂PO₄, dihidrogenofosfato de sodio, Na₂HPO₄, hidrogenofosfato de disodio, Na₃PO₄, fosfato de sodio.

20

El tampón en aa) también puede ser un tampón de hidrogenofosfato de sodio que comprenda al menos una sal de fosfato. Un "tampón de hidrogenofosfato de sodio" es un tampón que comprende una sal de fosfato de sodio. En algunos modos de realización, el tampón de fosfato de sodio comprende al menos una sal de fosfato de sodio como se describe anteriormente. En otros modos de realización, el tampón de fosfato de sodio comprende 2, 3, 4, 5 o más sales de fosfato de sodio, preferentemente las dos sales de fosfato diferentes como se describe anteriormente. En otro modo de realización del procedimiento de la presente invención, el tampón de hidrogenofosfato de sodio se prepara mediante disolución por separado de NaH₂PO₄ • 2 H₂O y Na₂HPO₄ • 2 H₂O.

25

El término "disolución por separado" quiere decir que la disolución de cada fosfato de sodio tiene lugar espaciada una

de la otra, por ejemplo, en materiales de vidrio diferentes. En un modo de realización adicional del procedimiento de la presente invención, el tampón de hidrogenofosfato de sodio tiene un pH de 7,4 mediante la adición de la disolución de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ a la solución de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$.

- Además, el tampón en aa) puede comprender NaOH, tampón de hidrogenofosfato de sodio y agua. Opcionalmente, el NaOH es una solución de NaOH 5 N. Una "solución de NaOH 5 N" quiere decir una solución de NaOH (hidróxido de sodio) que tiene una normalidad de 5 (5 N). Si la concentración de una solución de hidróxido de sodio es $c(\text{NaOH}) = 5 \text{ mol/l}$, entonces su normalidad es de 5 N.

En algunos modos de realización del procedimiento de la presente invención, el tampón comprende un 12-16 % (p/p) de NaOH 5 N, un 8-12 % (p/p) de tampón de hidrogenofosfato de sodio y un 74-78 % (p/p) de agua para inyección.

- En modos de realización adicionales del procedimiento de la presente invención, el tampón tiene un pH de aproximadamente 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14.

En aún otro modo de realización del procedimiento de la presente invención, la solución en la etapa aa) tiene un pH de aproximadamente 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11, preferentemente entre 6,5-7,6, lo más preferentemente aproximadamente 7,4.

- El tampón se puede preparar de formas diferentes. Por ejemplo, se puede preparar bajo desgasificación para dar un tampón desgasificado. Un "tampón desgasificado" se refiere a la retirada de gases disueltos, por ejemplo, oxígeno, a partir de líquidos, especialmente agua o soluciones acuosas. Burbujear una solución con un gas inerte sustituye los gases reactivos nocivos disueltos, tales como oxígeno y dióxido de carbono. Se usan comúnmente nitrógeno, argón, helio y otros gases inertes. Para completar la sustitución, se debe agitar vigorosamente la solución y burbujear durante mucho tiempo. En algunos modos de realización, el tampón se desgasifica con nitrógeno hasta que el contenido de oxígeno sea de $<1,0 \text{ ppm}$ (partes por millón).

- Como una etapa adicional más en el procedimiento, se puede filtrar de manera estéril la solución obtenida en aa), preferentemente con un filtro de $0,22 \mu\text{m}$. Filtrar de manera estéril abarca cualquier procedimiento que elimine (retire) o mate todas las formas de vida microbiana, incluyendo agentes transmisibles (tales como hongos, bacterias, virus, formas de esporas, etc.) presentes en una superficie, contenidas en un fluido, en medicinas o en una composición (sólida o fluida). Aquí, la esterilización consigue mediante filtración. También se puede conseguir la esterilización mediante la aplicación de calor, productos químicos, irradiación, alta presión, o combinaciones de los mismos con una etapa de filtración. El filtro puede tener tamaños de poro diferentes. Habitualmente un filtro con tamaño de poro de $0,2 \mu\text{m}$ (microfiltración) retira eficazmente los microorganismos. En el procesamiento de productos biológicos, se deben retirar o inactivar virus, por ejemplo, mediante calor o glutaral o similares. Se usan nanofiltros con un tamaño de poro más pequeño de 20-50 nm (nanofiltración). Cuanto más pequeño es el tamaño de poro, más pequeño es el caudal. Para conseguir un rendimiento total más alto o para evitar un bloqueo prematuro, se pueden usar prefiltros para proteger los filtros de membrana de poro pequeño.

- En otro modo de realización del procedimiento de la presente invención, después de la preparación de la composición farmacéutica, la liofilización se inicia como máximo 2 horas más tarde, preferentemente como máximo 1,5 horas más tarde, 1 hora más tarde, 30 minutos más tarde, lo más preferentemente como máximo 15 minutos más tarde.

En el contexto de la presente invención, también se divulga una composición farmacéutica obtenible mediante el procedimiento de la presente invención.

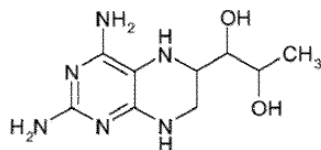
- Para una mejor manipulación de la composición farmacéutica sólida de la presente invención, el liofilizado obtenido en bb) o la composición farmacéutica de la presente invención se carga en viales, preferentemente en una cantidad de aproximadamente 1-1,5 g, preferentemente aproximadamente 1,25 g de formulación sólida. Cuando se usa como "dosificación unitaria", se carga la cantidad de aproximadamente 1-1,5 g, o preferentemente de aproximadamente 1,25 g de formulación sólida en un vial de 50 ml. El término "vial" se refiere a un (pequeño) vaso o frasco de vidrio o plástico, usado a menudo para almacenar composiciones farmacéuticas como líquidos o sólidos. Hoy en día, los viales también se hacen a menudo de plásticos, tal como polipropileno o poliestireno. Por supuesto, también se puede usar cualquier otro recipiente adecuado para el almacenamiento de la composición sólida de la invención.

- Para obtener una solución inyectable lista para usar, el procedimiento de la presente invención también comprende la etapa de reconstituir el liofilizado obtenido en bb) en un fluido farmacéuticamente aceptable para la preparación de una solución inyectable. El término "solución inyectable" se refiere a una solución que se puede usar para su administración intravenosa, preferentemente para inyección o infusión (véase también anteriormente la divulgación para la inyección). Una solución inyectable comprende un fluido farmacéuticamente aceptable.

La presente invención se caracteriza adicionalmente mediante la siguiente lista de puntos:

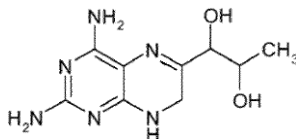
Punto 1. Una composición farmacéutica sólida que comprende

- a) un compuesto que tiene la fórmula (I):



(I)

y/o un compuesto que tiene la fórmula (II):

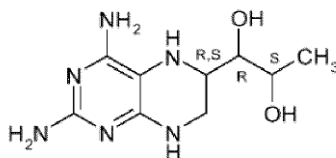


(II)

y

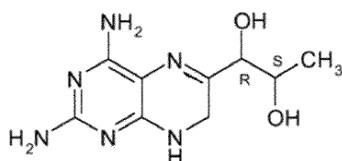
- 5 b) al menos una sal de fosfato.

- Punto 2. La composición farmacéutica del punto 1, en la que la al menos una sal de fosfato es un fosfato de sodio, un fosfato de potasio o un fosfato de amonio.
- Punto 3. La composición farmacéutica del punto 2, en la que la sal de fosfato se selecciona del grupo que consiste en Na_2HPO_4 (libre de agua), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$, NaH_2PO_4 (libre de agua), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, K_2HPO_4 (libre de agua), $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 (libre de agua) y mezclas de los mismos.
- 10 Punto 4. La composición farmacéutica del punto 2, en la que la sal de fosfato es $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ y en la que la cantidad del $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ presente en la composición se elige de tal manera que la proporción molar del $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ con respecto al compuesto (I) o compuesto (II) varíe desde 0,04-0,4.
- 15 Punto 5. La composición farmacéutica del punto 2, en la que el fosfato de sodio es $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, y en la que la cantidad del $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ presente en la composición se elige de tal manera que la proporción molar del $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ con respecto al compuesto (I) o compuesto (II) varíe desde 0,01 a 0,09.
- Punto 6. La composición farmacéutica de cualquiera de los puntos 1-5, que comprende dos sales de fosfato de sodio diferentes.
- 20 Punto 7. La composición farmacéutica del punto 6, en la que las dos sales de fosfato de sodio diferentes son $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ y $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$.
- Punto 8. La composición farmacéutica del punto 7, en la que la cantidad del $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ y $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ presentes en la composición se elige de tal manera que la proporción molar de tanto $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ como $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ con respecto al compuesto (I) o compuesto (ii) varíe desde 0,02 a 0,5.
- 25 Punto 9. La composición farmacéutica de cualquiera de los puntos 1-8, en la que el compuesto (I) y/o el compuesto (II) están presentes como la base libre.
- Punto 10. La composición farmacéutica de cualquiera de los puntos 1-9, en la que la composición farmacéutica es una composición farmacéutica liofilizada.
- 30 Punto 11. La composición farmacéutica de cualquiera de los puntos 1-10, en la que el compuesto (I) es un compuesto que tiene la fórmula (Ia):



(Ia).

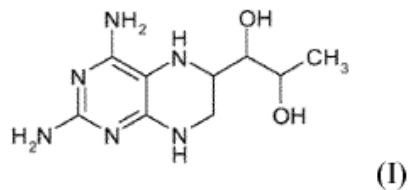
- Punto 12. La composición farmacéutica de cualquiera de los puntos 1-11, en la que el compuesto (II) es un compuesto que tiene la fórmula (IIa):



(IIa).

- Punto 13 La composición farmacéutica de cualquiera de los puntos 1-12, en la que la composición farmacéutica comprende un excipiente farmacéutico adicional.
- 5 Punto 14 La composición farmacéutica del punto 13, en la que el excipiente farmacéutico adicional es una sal inorgánica.
- Punto 15. La composición farmacéutica del punto 14, en la que la sal inorgánica se selecciona de MgCl_2 , CaCl_2 , NH_4Cl , KCl o NaCl .
- Punto 16. La composición farmacéutica del punto 15, en la que la sal inorgánica es NaCl .
- 10 Punto 17. La composición farmacéutica del punto 16, en la que la cantidad del NaCl presente en la composición se elige de tal manera que la proporción molar del NaCl con respecto al compuesto (I) o compuesto (II) varíe desde 1,5 a 4, preferentemente desde 1,8 a 3,7.
- Punto 18. La composición farmacéutica de cualquiera de los puntos 1-17, en la que la composición comprende adicionalmente agua de cristalización.
- 15 Punto 19. La composición farmacéutica de cualquiera de los puntos 1-18, en la que la composición está adaptada para reconstituirse en agua.
- Punto 20. La composición farmacéutica de cualquiera de los puntos 1-19, en la que la composición está adaptada para su administración mediante infusión o inyección.
- Punto 21. La composición farmacéutica de cualquiera de los puntos 1-20, en la que el compuesto (I) es (6R)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina.
- 20 Punto 22. La composición farmacéutica de cualquiera de los puntos 1-21, en la que el compuesto (I) es (6S)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina.
- Punto 23. La composición farmacéutica de cualquiera de los puntos 1-22, en la que el compuesto (I) es una mezcla diastereómera que comprende más (6R)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina que (6S)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina.
- 25 Punto 24. La composición farmacéutica del punto 23, en la que la cantidad de la (6R)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina y la (6S)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina se elige de tal manera que la proporción de la cantidad de (6R)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina con respecto a la (6S)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina varíe desde 0,5 a 2, preferentemente alrededor de 1,3.
- 30 Punto 25. La composición farmacéutica de cualquiera de los puntos 1-24, en la que una dosificación unitaria de la composición contiene 650 ± 60 mg de la base libre de 4-amino-(6R,S)-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina, 140 ± 30 mg de agua de cristalización, 70 ± 7 mg de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, $16,5 \pm 2$ mg de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, y 350 ± 30 mg de NaCl .
- 35 Punto 26. La composición de cualquiera de los puntos 1-25, en la que la composición comprende 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 o más compuestos adicionales, en la que los compuestos adicionales se seleccionan del grupo que consiste en uno o más de los compuestos seleccionado del grupo que consiste en 4-amino-L-biopterina, (6R,S)-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina, 1-[(6R,S)-2,4-diamino-5,6,7,8-tetrahidropteridin-6-il]propanol, 1-[(6R,S)-2,4-diamino-5,6,7,8-tetrahidropteridin-6-il]propano, (1R,2S)-1-[(6R,S)-2-(acetilamino)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidropteridin-6-il]-1,2-diacetoxi-propano, 2,4-diamino-7,8-dihidropteridina, 2,4-diaminopteridina.
- 40 Punto 27. Una composición farmacéutica liofilizada de cualquiera de los puntos 1 a 26 para su uso en el tratamiento de una enfermedad.
- Punto 28. La composición farmacéutica liofilizada para el uso para el uso del punto 27, en la que la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en un traumatismo craneoencefálico, lesión cerebral no traumática, preferentemente apoplejía o meningitis, presión craneal elevada, lesión cerebral secundaria.
- 45 Punto 29. Un procedimiento para preparar una composición farmacéutica sólida liofilizada que comprende

- a) un compuesto que tiene la fórmula (I):



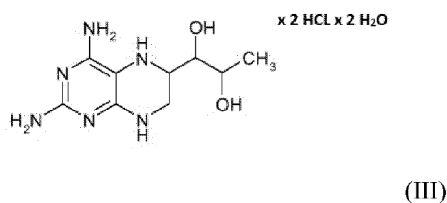
y/o un compuesto que tiene la fórmula (II):

- b) al menos una sal de fosfato;

5

comprendiendo el procedimiento:

- aa) disolver el compuesto de fórmula (III) y/o (II):

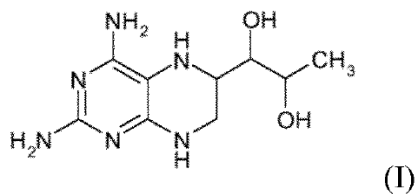


con un tampón, en el que el tampón comprende el fosfato;

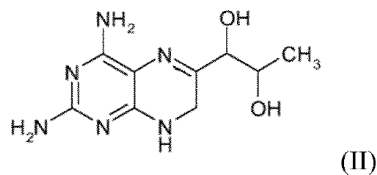
- bb) liofilizar la solución obtenida en aa).

10 Punto 30. Un procedimiento para preparar una solución inyectable que comprende:

- a) un compuesto que tiene la fórmula (I):



y/o un compuesto que tiene la fórmula (II):



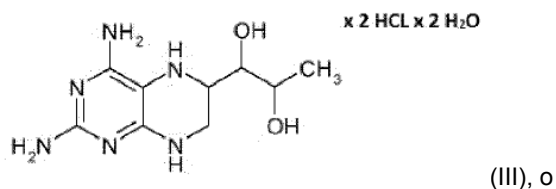
15

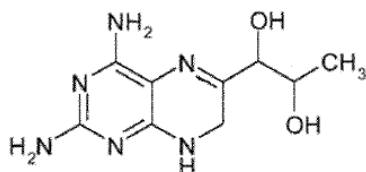
y

- b) al menos una sal de fosfato y opcionalmente NaCl;

comprendiendo el procedimiento:

- aa) disolver el compuesto de fórmula (III) y/o (II):





(II)

con un tampón, en el que el tampón comprende el fosfato;

bb) liofilizar la solución obtenida en aa);

- 5 cc) reconstituir el liofilizado obtenido en bb) en un fluido farmacéuticamente aceptable para la preparación de una solución inyectable, en el que se carga el liofilizado obtenido en bb) en un vial, preferentemente un vial de 50 ml, preferentemente en una cantidad de aproximadamente 1-1,5 g, preferentemente 1,25 g de formulación sólida.

Punto 31. El procedimiento del punto 29 o 30, en el que el tampón en aa) es un tampón de hidrogenofosfato de sodio que comprende al menos una sal de fosfato.

- 10 Punto 32. El procedimiento de cualquiera de los puntos 29-31, en el que el tampón en aa) comprende NaOH, tampón de hidrogenofosfato de sodio y agua.

Punto 33. El procedimiento del punto 31, en el que el NaOH es una solución de NaOH 5 N.

Punto 34. El procedimiento del punto 31, en el que el tampón de hidrogenofosfato de sodio se prepara mediante disolución por separado de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ y $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$.

- 15 Punto 35. El procedimiento del punto 33, en el que el tampón de hidrogenofosfato de sodio tiene un pH de 7,4 mediante la adición de la solución de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ a la disolución de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$.

Punto 36. El procedimiento de cualquiera de los puntos 29-35, en el que el tampón comprende un 12-16 % (p/p) de NaOH 5 N, un 8-12 % (p/p) de tampón de hidrogenofosfato de sodio y un 74-78 % (p/p) de agua para inyección.

- 20 Punto 37. El procedimiento de cualquiera de los puntos 29-36, en el que la solución obtenida en aa) se filtra de manera estéril, preferentemente con un filtro de 0,22 μm .

Punto 38. El procedimiento de cualquiera de los puntos 29-37, en el que el tampón tiene un pH de aproximadamente 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14.

- 25 Punto 39. El procedimiento de cualquiera de los puntos 29-38, en el que la solución en la etapa aa) tiene un pH de aproximadamente 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 u 11, preferentemente entre 6,5-7,6, lo más preferentemente 7,4.

Punto 40. El procedimiento de cualquiera de los puntos 29-39, en el que se carga el liofilizado obtenido en bb) en viales, preferentemente en una cantidad de aproximadamente 1-1,5 g, preferentemente 1,25 g de formulación sólida.

- 30 Punto 41. El procedimiento de cualquiera de los puntos 29-40, en el que el tampón se prepara con tampón desgasificado.

Punto 42. El procedimiento de cualquiera de los puntos 29-41, en el que el tampón se desgasifica con nitrógeno hasta que el contenido de oxígeno sea de <1,0 ppm.

Punto 43. El procedimiento de cualquiera de los puntos 29-42, en el que después de la preparación de la solución; la liofilización se inicia como máximo 2 horas más tarde.

35 Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente la invención. Sin embargo, estos ejemplos no se deben interpretar como que limitan el alcance de la presente invención. Los ejemplos se incluyen con propósitos de ilustración y la presente invención está limitada únicamente por las reivindicaciones.

Ejemplo 1: descripción del procedimiento de fabricación

- 40 Se prepara VAS203 en una síntesis de múltiples etapas partiendo de L-biopterina disponible comercialmente. En la figura 1 se muestra un esquema de procedimiento. La síntesis de VAS203 se basa en las publicaciones de W. Pfeleiderer *et al.* en Pteridines 1989, 1, 199-210 y Pteridines 1995, 6, 1-7.

Fue el objetivo de la primera fase de desarrollo reproducir los procedimientos de la bibliografía y estimar su viabilidad para una escala en gramos. La purificación de los intermedios mediante cromatografía ultrarrápida se eliminó y se sustituyó con etapas de precipitación o cristalización. Además, se realizaron adopciones en proporciones molares de reactivos y condiciones de reacción, de modo que estuvo disponible un procedimiento firme hasta el intermedio MAE 119 (4-amino-L-biopterina).

Fue problemático fijar una ruta firme y fiable para la hidrogenación de MAE 119 a VAS203, usando PtO₂ como catalizador. Se sometieron a prueba disolventes y medios acuosos diferentes a valores de pH diferentes, pero únicamente cuando se usó ácido clorhídrico diluido se pudieron conseguir resultados rápidos y reproducibles, especialmente en la proporción diastereómera de la sustancia farmacéutica. Se pudo reducir drásticamente la cantidad total de carga de platino residual mediante prehidrogenación del catalizador de óxido de platino (IV), así la proporción diastereómera cambió ligeramente. El procesamiento de la solución ácida de VAS203 demostró ser difícil, puesto que la simple evaporación de agua a presión reducida dejó un residuo similar al vidrio. Se logró el avance cuando se usó 2-propanol como codisolvente para el procedimiento de evaporación. Este procedimiento produjo un sólido, pero, lamentablemente, 2-propanol se incorpora a este sólido. Mediante condiciones de secado convencionales no se pudo reducir la cantidad de 2-propanol residual por debajo de un 5 % (p/p). Para superar este problema, se puede incluir una etapa de liofilización final para generar VAS203. Se pueden reunir lotes individuales para dar cantidades más grandes.

Se proporcionaron pruebas frente a la asignación estructural de VAS203 por la ruta de síntesis, respaldadas por análisis elemental, resonancia magnética nuclear (RMN de ¹H y RMN de ¹³C) espectroscopia IR y UV (datos no mostrados).

Ejemplo 2

Descripción y composición de la especialidad farmacéutica

Se suministra VAS203 como un polvo liofilizado estéril blanco a rojo pálido o marrón cargado en viales de vidrio de 50 ml en nitrógeno como atmósfera protectora. Cada vial contiene 650 ± 60 mg de la base libre de 4-amino-(6R,S)-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina y 140 ± 30 mg de agua de cristalización. Adicionalmente, los viales contienen 350 ± 30 mg de cloruro de sodio (NaCl), 70 ± 7 mg de hidrogenofosfato de disodio dihidratado (Na₂HPO₄ • 2 H₂O), y 16,5 ± 2 mg de dihidrogenofosfato de sodio dihidratado (NaH₂PO₄ • 2 H₂O). Los límites de tolerancia de la composición de especialidad farmacéutica son relativamente altos (± 10 %). El motivo de ello es la variación del contenido de clorhidrato de VAS203. El contenido de clorhidrato de VAS203 varía de lote a lote hasta un 10 % (desde 2,03 de HCl a 2,24 de HCl). Durante la preparación de la especialidad farmacéutica, se neutralizó el clorhidrato en la presente invención mediante adición de hidróxido de sodio y tampón de fosfato de sodio para obtener una solución isotónica con un valor de pH fisiológico. Por lo tanto, también varía el contenido de las moléculas generadas durante la neutralización (cloruro de sodio, hidrogenofosfato de disodio y dihidrogenofosfato de sodio) de acuerdo con el contenido de clorhidrato del lote de VAS203 respectivo. Los límites de tolerancia dados son necesarios para satisfacer las especificaciones de los parámetros pertinentes de calidad, pH y osmolaridad. La composición cualitativa de los viales de VAS203 de 1 g se enumera en la tabla 2.

Tabla 2

Componente	Referencia a normas	Función
4-amino-(6R,S)-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina	interna	Ingrediente activo
Cloruro de sodio *	FE	Osmolaridad
Hidrogenofosfato de disodio dihidratado	FE	Tampón
Dihidrogenofosfato de sodio dihidratado	FE	Tampón
Agua para inyección (<i>aqua ad inject.</i>)	FE	Disolvente usado para la reconstitución
Nitrógeno	FE	Atmósfera protectora

* Se genera cloruro de sodio durante la preparación de la formulación cuando el clorhidrato de la sustancia farmacéutica reacciona con la solución de hidróxido de sodio. Ambos ingredientes cumplen con la Farmacopea Europea.

Desarrollo farmacéutico

Aquí se desarrolla una forma de dosificación liofilizada sólida para VAS203 para la preparación de una solución para infusión.

- 5 Se seleccionó 1 g de VAS 203 *ad* 10 g de tampón de solución de hidrogenofosfato de disodio/hidróxido de sodio con un pH final de 7,4 para procesarse asépticamente, esterilizarse mediante filtración con membrana y cargarse en viales de vidrio de 50 ml. Posteriormente, se criodesecó esta solución de acuerdo con un programa de liofilización seleccionado que produce un producto liofilizado con una estabilidad excelente. En esta composición sólida, VAS 203 está presente como la base libre 4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina. Los viales se cierran en nitrógeno, se sellan con tapones de criodesecación y se cierran con tapas de vacío blancas. Se añaden los excipientes a fin de proporcionar una solución isotónica con pH fisiológico después de la reconstitución con 50 ml de agua *ad inject*. El pH de la solución isotónica final es de 6,5 a 7,6. La concentración final de la sustancia farmacéutica VAS203 es 20 mg/ml.

Descripción del procedimiento de fabricación y controles del procedimiento

- 15 A un pH de 7,4, el diclorhidrato de 4-amino-(6R,S)-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina dihidratado (VAS203) disuelto en tampón de solución es muy inestable y se oxida en sus dos metabolitos 4-amino-7,8-dihidro-L-biopterina y 4-amino-L-biopterina. Por lo tanto, es importante que la solución de VAS203 se prepare con tampón desgasificado y, después de la preparación de la solución de VAS203, la liofilización se debe iniciar sin demora.

Para permitir la liofilización, se tiene que preparar un tampón de solución de VAS203 concentrada en viales de 50 ml (1 g de VAS203 *ad* 10 g de tampón). Se prepara el tampón de solución mezclando las soluciones madre:

- 20 solución al 14 % (p/p) de hidróxido de sodio (NaOH) 5 N
solución al 10 % (p/p) de tampón de hidrogenofosfato de sodio (NaPB)

500 mmol/l, pH 7,4

agua para inyección al 76 % (p/p)

- 25 Entonces se desgasifica el tampón de solución estéril con nitrógeno hasta que el contenido de oxígeno sea de <1,0 ppm. Para cada vial se usan 9,0 g de este tampón de solución para disolver 1,0 g de VAS203. Se carga el tampón de solución en un matraz purgado con nitrógeno y se añade con cuidado VAS203 (liofilizado) sólido a los 15 minutos en nitrógeno como atmósfera protectora. Después de comprobar el valor de pH, se filtra de manera estéril la solución de VAS203 con un filtro Millipak 200 de 0,22 µm. Los filtros de 0,22 µm se someten a prueba de integridad después de su uso. Se toma una muestra de 100 ml para someter a prueba el grado de contaminación microbiana. El límite del grado de contaminación microbiana de la solución de la especialidad farmacéutica antes de la filtración de manera estéril se define como = 10 ufc/100 ml. Se filtra por una segunda vez la solución restante y se distribuye en viales de 50 ml, 10 g por vial. Los viales se esterilizan antes de su carga mediante calor seco de acuerdo con la sección 5.1.1. de la Farmacopea Europea. Después de la liofilización, los viales se cierran en nitrógeno, se sellan con tapones de criodesecación y se cierran con tapas de vacío blancas. La solución de VAS203 se prepara poco antes de la criodesecación. El procedimiento de carga aséptica se ha validado usando llenado de medios. En la fig. 2 se muestra un diagrama de flujo de las etapas sucesivas del procedimiento de fabricación, indicando los componentes usados para cada etapa. El resultado es una composición sólida en la que está presente VAS203 como la base libre 4-amino-(6R,S)-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina.

Estabilidad

- 40 Se llevó a cabo la supervisión de estabilidad durante 24 meses. Las muestras se almacenaron "a largo plazo" a 5 °C (principio activo). Se llevó a cabo un estudio sobre la estabilidad acelerada a 40 °C/75 % de HR durante 6 meses (principio activo). Los procedimientos analíticos usados en el programa de estabilidad incluyen pruebas para ensayo, pureza y sustancias relacionadas. Las especificaciones aplicadas y los procedimientos usados son los mismos que para la liberación de la especialidad farmacéutica.
- 45 Se llevó a cabo la supervisión de estabilidad durante al menos 60 meses. La tabla 3 muestra las condiciones y el periodo de almacenamiento de la investigación de estabilidad. Las muestras se almacenaron "a largo plazo" a 5 °C (principio activo). Se ha llevado a cabo un estudio sobre la estabilidad acelerada a 40 °C/75 % de HR durante 6 meses (principio activo). La tabla 4 da el programa de pruebas para los diferentes puntos temporales. Los procedimientos analíticos usados en el programa de estabilidad incluyen pruebas para ensayo, pureza y sustancias relacionadas. Las especificaciones aplicadas y los procedimientos usados son los mismos que para la liberación de la especialidad farmacéutica. Los resultados ejemplares del estudio de estabilidad se muestran en la tabla 5 (que se representa como la fig. 4).

Tabla 3. Condiciones de supervisión de estabilidad que se va a llevar a cabo

Condición de almacenamiento	Envase	Periodo de almacenamiento	Puntos temporales de estabilidad (meses)
5 °C	Viales de vidrio de 50 ml	60 meses	Inicial (liberación), 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36, 48, 60
40 °C/75 % de HR	Viales de vidrio de 50 ml	6 meses	Inicial (liberación), 1, 3, 6

Tabla 4. Programa de pruebas en puntos temporales de estabilidad

Mes	Condición	Pruebas que se van a llevar a cabo *
Inicial	-	A
1	acelerada (40 °C)	B
3	a largo plazo (5 °C) y acelerada (40 °C)	B
6	a largo plazo (5 °C) y acelerada (40 °C)	A (acelerada), B (a largo plazo)
9	a largo plazo (5 °C)	B
12	a largo plazo (5 °C)	A
18	a largo plazo (5 °C)	B
24	a largo plazo (5 °C)	B
36	a largo plazo (5 °C)	A
48	a largo plazo (5 °C)	A
60	a largo plazo (5 °C)	A

* Las pruebas que se van a llevar a cabo son:

- 5
- A: especificación de tiempo de conservación completo
 - B: especificación de tiempo de conservación completo sin los elementos de prueba “esterilidad”, “endotoxinas” y “partículas”

Análisis

- 10 Los datos de estabilidad están disponibles para el lote almacenado a 5 °C y a 40 °C/75% de HR, protegido de la luz. Se observaron escasos cambios para las muestras almacenadas a ambas temperaturas durante hasta 24 meses, pero estos no mostraron una tendencia consistente y se cree que están en el intervalo de variabilidad analítica. No se formaron productos de degradación. Se pudo observar un ligero incremento para el primer metabolito (producto de oxidación) de la sustancia farmacéutica (4-amino-7,8-dihidro-L-biopterina). Después de 24 meses de almacenamiento a 5 °C en 7 de 10 viales, se han descubierto un total de 15 partículas visibles.
- 15 Los datos de estabilidad están disponibles para el lote almacenado a 5 °C y a 40 °C/75% de HR, protegido de la luz. No se detectaron cambios significativos para las muestras almacenadas a ambas temperaturas durante hasta 36 meses. No se formaron productos de degradación.

Conclusión

- 20 Los viales de la especialidad farmacéutica VAS203 son estables cuando se almacenan a 5 °C, protegidos de la luz, durante no menos de 36 meses. Los viales de la especialidad farmacéutica VAS203 son estables cuando se almacenan a 40 °C/75 % de HR, protegidos de la luz, durante no menos de 6 meses. Considerando lo anterior, se fija un tiempo de conservación de 42 meses para 1 g de polvo de VAS203 liofilizado cargado en viales de vidrio de 50 ml en nitrógeno como atmósfera protectora. La indicación de almacenamiento es almacenar los viales a 2-8 °C y los viales se deben envolver con papel de aluminio y envasar en cajas de cartón para protegerlos de la luz. Todas las especialidades farmacéuticas reconstituidas se deben inspeccionar visualmente para determinar partículas. La
- 25 indicación de almacenamiento es almacenar los viales a 2-8 °C.

- El tiempo de conservación se puede prolongar, si resulta apropiado, los datos de estabilidad acelerada y a largo a partir del estudio de estabilidad simultáneo para viales de VAS203 de 1 g y viales de placebo de 50 ml están disponibles y los resultados satisfacen las especificaciones actuales. El tiempo de conservación se determina de acuerdo con los principios descritos en la directriz Q1E de ICH:
- 30

Si no se detecta ningún cambio significativo en condiciones aceleradas durante 6 meses y los datos a largo plazo muestran poco o ningún cambio con el tiempo y una baja variabilidad, se usa el doble del periodo abarcado por datos en tiempo real como tiempo de conservación prolongado, pero el tiempo de conservación no puede superar la

duración de datos a largo plazo disponibles en más de 12 meses.

Ejemplo 3: estabilidad durante la preparación para la administración y el transcurso de la infusión

Se llevó a cabo un estudio de estabilidad a temperatura ambiente para la sustancia farmacéutica VAS203 para determinar cualquier degradación de la solución reconstituida en jeringuillas transparentes de polipropileno (PP) de 50 ml que se usan en estudios clínicos. Durante las pruebas de estabilidad, las jeringuillas de PP se expusieron a la luz natural normal. Se supervisaron el contenido de la solución, la pureza, las sustancias relacionadas y el pH durante 48 horas (iniciales, 6, 24, 48 horas después de la preparación). La tabla 6 presenta los resultados de la prueba de estabilidad.

Análisis

El contenido de la solución (ensayo) permaneció constante dentro de los límites especificados (650 ± 60 mg) durante 48 horas. Durante el periodo de prueba, la pureza cromatográfica para ambos diastereoisómeros estuvo perfectamente dentro de los límites especificados, no se pudo observar ningún cambio significativo. El contenido relativo de las sustancias relacionadas permaneció constante dentro de los límites especificados durante 48 horas. No se formaron productos de degradación. Se pudo observar un ligero incremento para el primer metabolito de VAS203 (4-amino-7,8-dihidro-L-biopterina). Sin embargo, esta oxidación estuvo provocada posiblemente por el oxígeno residual en la jeringuilla, entre 6 y 48 horas el cambio fue insignificante. El pH de la solución de VAS203 reconstituida permaneció constante dentro de los límites especificados durante 48 horas. No se pudo observar ningún cambio. No se observó sensibilidad a la luz hasta 48 horas.

Conclusión

Las investigaciones llevadas a cabo demuestran que una solución reconstituida de VAS203 es estable en su dispositivo de aplicación (jeringuilla de PP de 50 ml) a temperatura ambiente expuesta a la luz natural normal durante 48 horas. Sin embargo, se redujo la fecha de caducidad para evitar la contaminación microbiológica. La fecha de caducidad se definió como el punto temporal de preparación de la solución de VAS203 más 27 horas.

Tabla 6. Estabilidad de la solución reconstituida de VAS203 en jeringuilla de PP de 50 ml (dispositivo de aplicación), almacenada a temperatura ambiente

Elemento de prueba	Especificación (lote clínico fase I)	Periodo de almacenamiento en horas			
		0	6	24	48
Ensayo (HPLC) (calculado sobre base libre de cloruro y anhidra)	650 ± 60 mg	615 mg	610 mg	621 mg	626 mg
Pureza (HPLC) - 6R)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina [% de área]	$57,0 \pm 3,5$	55,5	55,4	55,4	55,5
- 6S)-4-amino-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina [% de área]	$37,5 \pm 3,5$	39,0	38,5	38,4	38,1
Sustancias relacionadas (HPLC)*:					
A [% de área]	$\leq 4,5$	3,3	3,8	3,8	4,1
B [% de área]	$\leq 1,2$	0,6	0,6	0,6	0,6
C [% de área]	$\leq 2,7$	1,5	1,6	1,5	1,5
Sustancias relacionadas adicionales, cada una [% de área]	$\leq 0,6$	0,2	0,2	0,2	0,1
Sustancias relacionadas adicionales, totales [% de área]	$\leq 3,0$	0,5	0,6	0,6	0,4
Solución reconstituida[§]					
- pH	6,5 a 7,6	7,1	NSP	7,1	7,1

NSP: No sometido a prueba;

§: Reconstituida en 50 ml de API

*A: 4-amino-7,8-dihidro-L-biopterina;

B: Σ (6R)-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina

(6S)-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina;

C: Σ 1-[(6R)-2,4-diamino-5,6,7,8-tetrahidropteridin-6-il]propanol

1-[(6S)-2,4-diamino-5,6,7,8-tetrahidropteridin-6-il]propanol

y

y

Se debe tener en cuenta que como se usa en el presente documento las formas singulares "un", "una" y "el/la", incluyen referencias al plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. De esta manera, por ejemplo, la referencia a "un reactivo" incluye uno o más de dichos reactivos diferentes y la referencia "al procedimiento" incluye la referencia a etapas y procedimientos equivalentes conocidos por los expertos en la técnica que se pueden modificar o sustituir para los procedimientos descritos en el presente documento.

5 A menos que se indique lo contrario, se ha de entender que el término "al menos" que precede a una serie de elementos se refiere a cada elemento en la serie. Los expertos en la técnica reconocerán o podrán establecer, usando nada más que experimentación rutinaria, muchos equivalentes con respecto a los modos de realización específicos de la invención descrita en el presente documento. Se pretende que dichos equivalentes estén englobados por la presente invención.

10 A lo largo de la presente memoria descriptiva y las reivindicaciones a continuación, a menos que el contexto requiera lo contrario, se ha de entender que la palabra "comprende" y variaciones, tales como "comprenden" o "que comprende" implican la inclusión de un número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas indicadas pero no la exclusión de ningún otro número entero o etapa o grupo de números enteros o etapa. Cuando se usa en el presente documento, el término "que comprende" se puede sustituir con el término "que contiene" o, a veces, cuando se usa en el presente documento, con el término "que tiene".

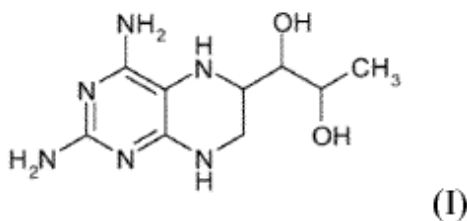
15 Cuando se usa en el presente documento, "que consiste en" excluye cualquier elemento, etapa o ingrediente no especificado en el elemento de la reivindicación. Cuando se usa en el presente documento, "que consiste esencialmente en" no excluye materiales o etapas que no afecten materialmente a las características básicas y novedosas de la reivindicación. En cada caso en el presente documento, cualquiera de los términos "que comprende", "que consiste esencialmente en" y "que consiste en" se puede reemplazar por cualquiera de los otros dos términos.

20

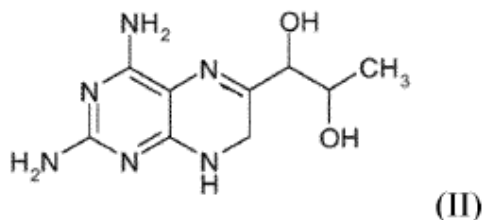
REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica sólida que comprende

a) un compuesto que tiene la fórmula (I):



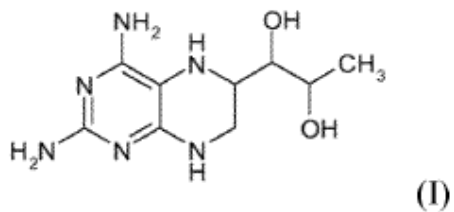
- 5 y/o un compuesto que tiene la fórmula (II):



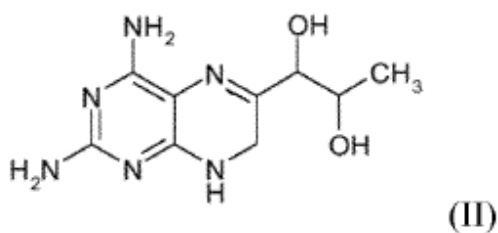
y

b) al menos una sal de fosfato.

- 10 2. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la que la al menos una sal de fosfato es un fosfato de sodio, un fosfato de potasio o un fosfato de amonio.
3. La composición farmacéutica de la reivindicación 2, en la que la sal de fosfato se selecciona del grupo que consiste en Na_2HPO_4 (libre de agua), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$, NaH_2PO_4 (libre de agua), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, K_2HPO_4 (libre de agua), $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 (libre de agua) y mezclas de los mismos.
- 15 4. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que el compuesto (I) y/o el compuesto (II) están presentes como la base libre.
5. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que la composición farmacéutica es una composición farmacéutica liofilizada.
- 20 6. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que la composición farmacéutica comprende un excipiente farmacéutico adicional, preferentemente una sal inorgánica, preferentemente NaCl.
7. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en la que la composición comprende adicionalmente agua de cristalización.
- 25 8. La composición farmacéutica de cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en la que una dosificación unitaria de la composición contiene 650 ± 60 mg de la base libre de 4-amino-(6R,S)-5,6,7,8- tetrahydro-L-biopterina o de 4-amino-(6R,S)-7,8-dihidro-L-biopterina, 140 ± 30 mg de agua de cristalización, 70 ± 7 mg de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, $16,5 \pm 2$ mg de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ y 350 ± 30 mg de NaCl.
9. Una composición farmacéutica liofilizada de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para su uso en el tratamiento de una enfermedad.
- 30 10. La composición farmacéutica liofilizada para el uso de la reivindicación 9, en la que la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en un traumatismo craneoencefálico, lesión cerebral no traumática, preferentemente apoplejía o meningitis, presión craneal elevada, lesión cerebral secundaria.
11. Un procedimiento para preparar una composición farmacéutica sólida liofilizada que comprende:
- a) un compuesto que tiene la fórmula (I):



y/o un compuesto que tiene la fórmula (II):

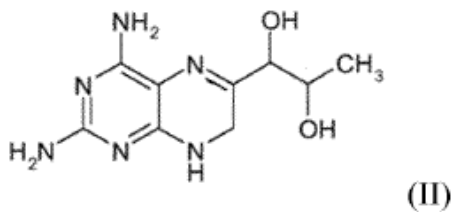
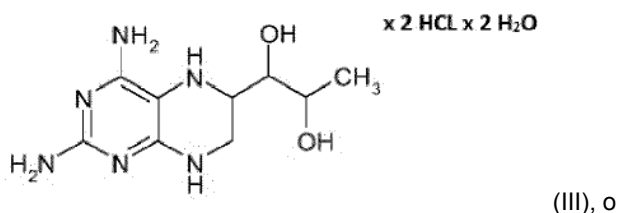


y

- 5 b) al menos una sal de fosfato y opcionalmente NaCl;

comprendiendo el procedimiento:

- aa) disolver el compuesto de fórmula (III) y/o (II):

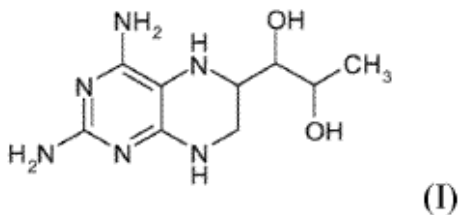


- 10 con un tampón, en el que el tampón comprende el fosfato;

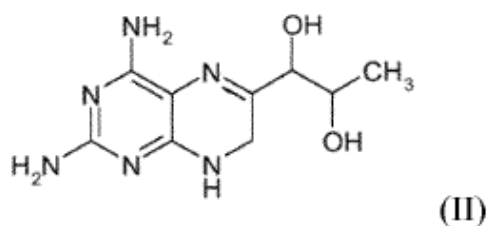
- bb) liofilizar la solución obtenida en aa);

12. Un procedimiento para preparar una solución inyectable que comprende:

- a) un compuesto que tiene la fórmula (I):



y/o un compuesto que tiene la fórmula (II):

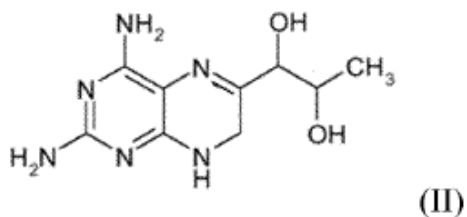
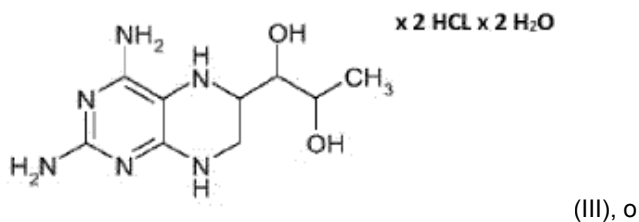


y

5 b) al menos una sal de fosfato y opcionalmente NaCl;

comprendiendo el procedimiento:

aa) disolver el compuesto de fórmula (III) y/o (II):



10 con un tampón, en el que el tampón comprende el fosfato;

bb) liofilizar la solución obtenida en aa);

cc) reconstituir el liofilizado obtenido en bb) en un fluido farmacéuticamente aceptable para la preparación de una solución inyectable, en el que se carga el liofilizado obtenido en bb) en un vial, preferentemente un vial de 50 ml, preferentemente en una cantidad de aproximadamente 1-1,5 g, preferentemente 1,25 g de formulación sólida.

15

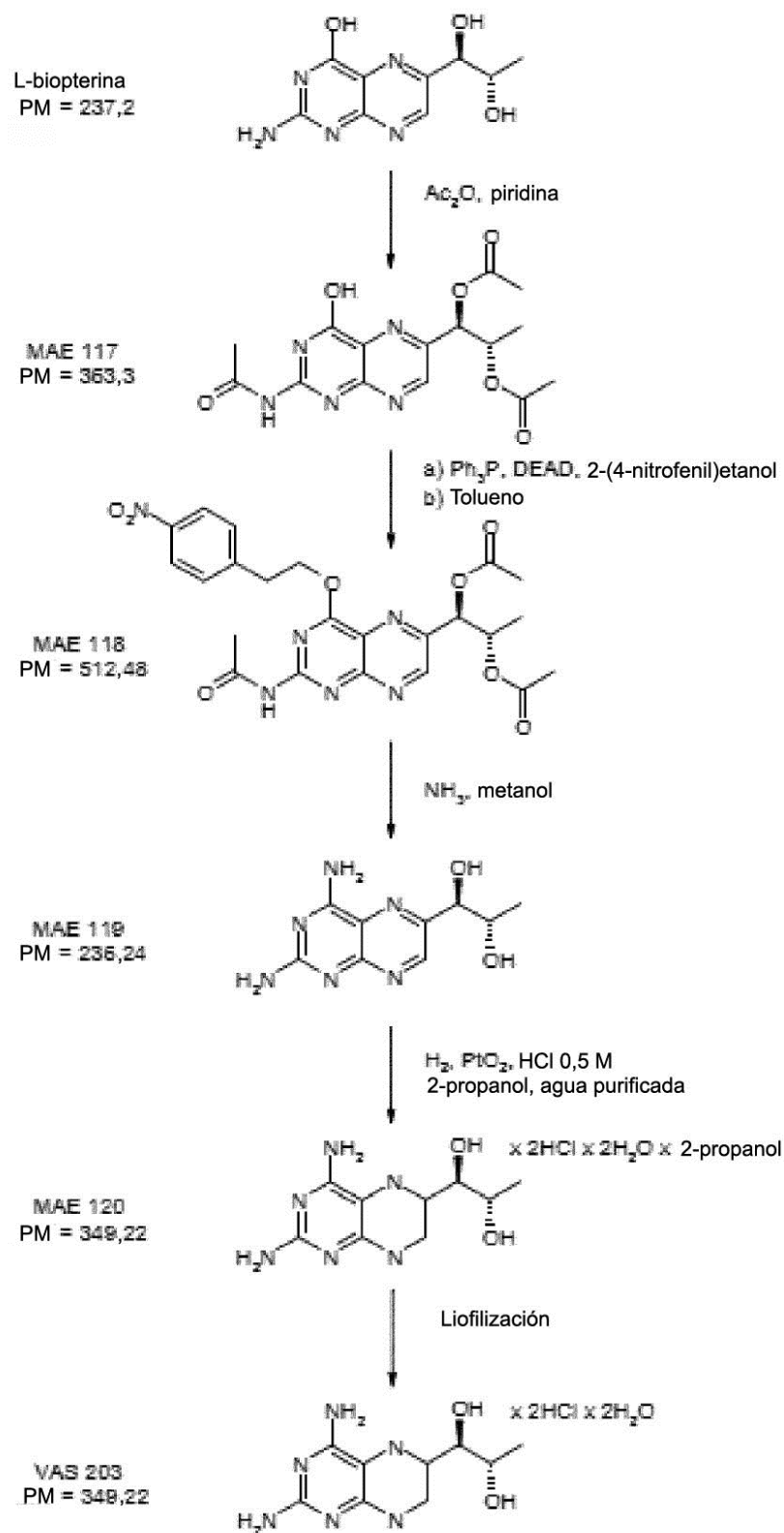
Figura 1: preparación de la sustancia farmacéutica VAS203

Fig. 2

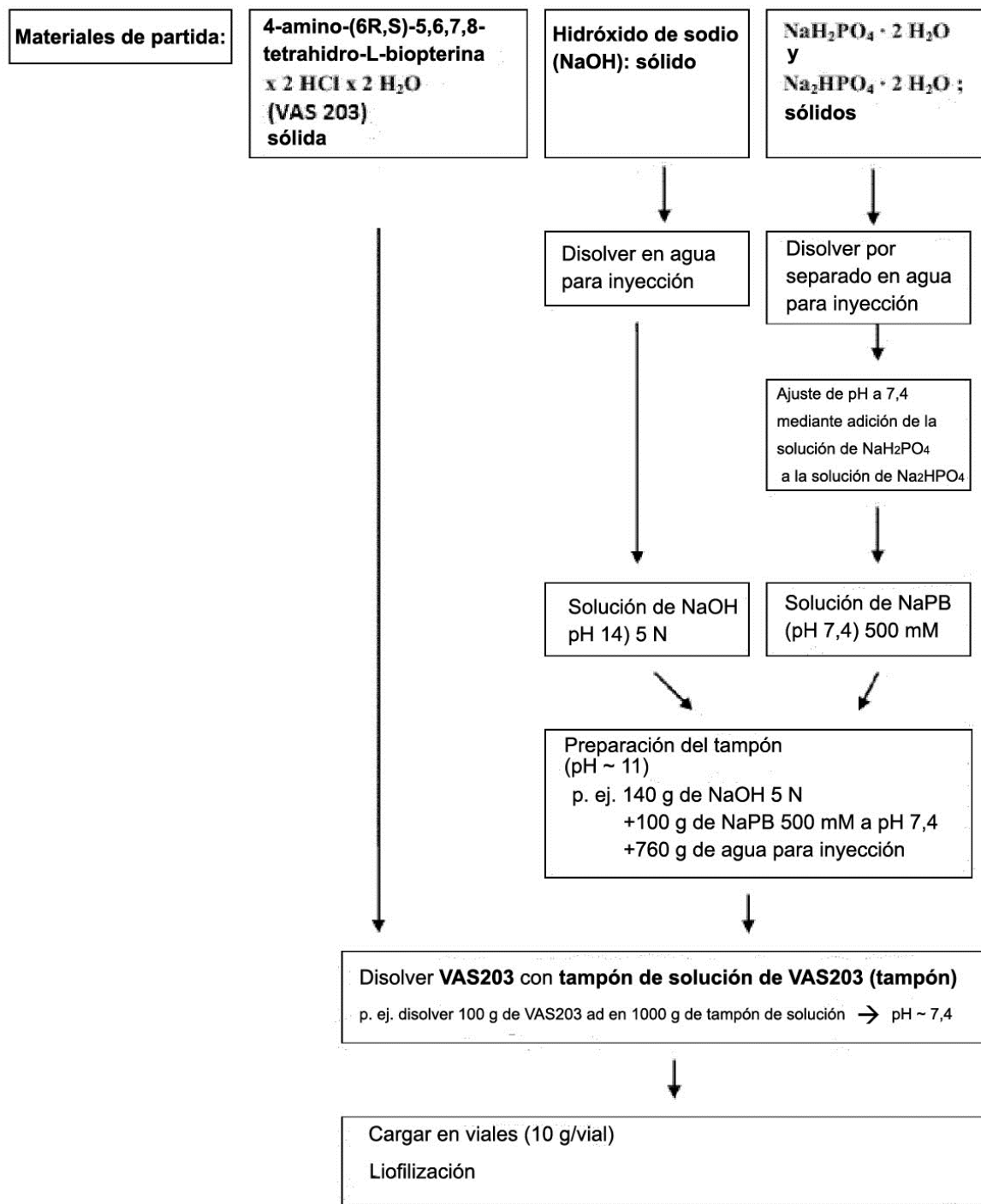


Fig. 3

Elemento de prueba	Especificación	Periodo de almacenamiento en meses							
		0	3	6	9	12	18	24	36
Aspecto	White to pale red or brown lyophilized powder	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
Identificación (HPLC)	Coelution with reference substance	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
Ensayo (HPLC) (calculado sobre base libre de cloruro y anhidra)	650 ± 60 mg	645 mg	649 mg	634 mg	660 mg	684 mg	658 mg	686 mg	694 mg
Pureza (HPLC) - (6R)-4-amino-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterina [% de área]	55,5 ± 3,0	54,6	54,6	55,0	54,6	54,4	55,1	54,8	54,6
- (6S)-4-amino-5,6,7,8-tetrahydro-L-biopterina [% de área]	40,0 ± 3,0	41,5	41,6	41,3	41,6	41,4	41,8	41,5	41,4

Fig. 3 (cont.)

Sustancias relacionadas (HPLC)*:									
A [% de área]	≤ 4,5	2,8	2,5	2,8	3,0	2,5	2,8	2,8	2,8
B [% de área]	≤ 1,0	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
C [% de área]	≤ 1,0	0,3	0,3	0,2	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2
Sustancias relacionadas adicionales, cada una [% de área]	≤ 0,6	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
Sustancias relacionadas adicionales, totales [% de área]	≤ 2,0	0,7	0,8	0,9	0,6	0,9	0,2	0,2	0,6
Agua (valoración de KF)	3,0 a 8,0 %	5,0 %	4,5 %	5,1 %	4,8	4,8 %	4,8 %	4,8 %	4,7 %
Esterilidad	Sin pruebas de crecimiento microbiano	cumple	NSP	NSP	NSP	cumple	NSP	NSP	cumple
Endotoxinas	≤ 10 UI/mg	cumple	NSP	NSP	NSP	cumple	NSP	NSP	cumple
Partículas									
- Partículas ≥ 10 µm	≤ 6000 / vial	600/vial	NSP	NSP	NSP	767/vial	NSP	NSP	115/vial
- Partículas ≥ 25 µm	≤ 600 / vial	3/vial	NSP	NSP	NSP	7/vial	NSP	NSP	1/vial
Solución reconstituida §									
- Tiempo de disolución	Máx. 2 min	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
- Apariencia	Solución amarillenta clara sin partículas visibles	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple	cumple
- pH	6,5 a 7,6	7,3	7,3	7,3	7,4	7,3	7,3	7,3	7,4
- Osmolalidad [mosmol/kg]	260 a 320	303	295	315	305	320	298	300	305

NSP: No sometido a prueba;

§: Reconstituída en 50 ml de API

*A: 4-amino-7,8-dihidro-L-biopterina; B: Σ (6R)-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina y

(6S)-5,6,7,8-tetrahidro-L-biopterina; C: Σ 1-[(6R)-2,4-diamino-5,6,7,8-tetrahidropteridin-6-il]propanol y 1-[(6S)-2,4-diamino-5,6,7,8-tetrahidropteridin-6-il]propanol