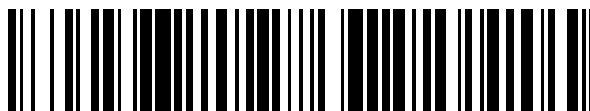


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 627 655**

51 Int. Cl.:

**A61K 9/08** (2006.01)

**A61K 9/10** (2006.01)

**A61K 31/198** (2006.01)

**A61P 25/16** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.05.2010 PCT/IL2010/000400**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.11.2010 WO10134074**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.05.2010 E 10725880 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.03.2017 EP 2432454**

54 Título: **Composiciones para la administración continua de inhibidores de DOPA descarboxilasa**

30 Prioridad:

**19.05.2009 US 179511 P**

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

**31.07.2017**

73 Titular/es:

**NEURODERM LTD (100.0%)  
Weizmann Science Park 3 Golda Meir Street  
74036 Ness Ziona, IL**

72 Inventor/es:

**YACOBY-ZEEVI, ORON y  
NEMAS, MARA**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU SLP, .**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o  
Bemerkungen) en el folleto original publicado por  
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 627 655 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 para la administración continua de inhibidores de DOPA descarboxilasa

### Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a compuestos y formulaciones útiles en métodos para tratar enfermedades y trastornos en los que se reduce el nivel de dopamina en el cerebro, por ejemplo, enfermedad de Parkinson. En particular, la invención se refiere a composiciones que comprenden arginina, levodopa y carbidopa.

### Antecedentes de la invención

10 La enfermedad de Parkinson es una afección degenerativa caracterizada por una concentración reducida del neurotransmisor dopamina en el cerebro. La levodopa (L-dopa o L-3,4-dihidroxi-fenilalanina) es un precursor metabólico inmediato de la dopamina que, a diferencia de la dopamina, es capaz de atravesar la barrera hematoencefálica y es más comúnmente utilizada para restaurar la concentración de dopamina en el cerebro. Durante los últimos 40 años, la levodopa ha seguido siendo la terapia más eficaz para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson.

15 Sin embargo, la levodopa tiene una semivida corta en el plasma que, incluso con las mejores normas asistenciales actuales, produce estimulación pulsátil dopaminérgica. Por lo tanto, la terapia a largo plazo es complicada por fluctuaciones motoras y discinesia que pueden representar una fuente de discapacidad significativa para algunos pacientes. Una estrategia terapéutica que podría suministrar en última instancia levodopa/dopamina al cerebro de una manera más continua y fisiológica proporcionaría los beneficios de la levodopa estándar con complicaciones motoras reducidas, y es muy necesaria para los pacientes que sufren la enfermedad de Parkinson y otros trastornos  
20 neurológicos o del movimiento (Olanow CW; *Mov. Dis.* 2008,23 (Suppl. 3): S613-S622). Se han desarrollado formulaciones orales de levodopa de liberación sostenida, pero, en el mejor de los casos, se ha encontrado que tales preparaciones no son más eficaces que los comprimidos convencionales. La administración continua de levodopa por administración intraduodenal o infusión también se ha intentado mediante el uso de bombas ambulatorias o parches. Tales tratamientos, especialmente intraduodenales, son extremadamente invasivos e  
25 inconvenientes. Además, tales tratamientos pueden estar asociados con efectos adversos dopaminérgicos; la administración continua de agonistas de levodopa o dopa se sigue asociando con períodos de ausencia que son autolimitantes a pesar de la administración continua del fármaco. Nutt JG; *Mov. Dis.* 2008,23 (Suppl. 3): S580-4.

30 La transformación metabólica de levodopa en dopamina es catalizada por la enzima L-aminoácido aromático descarboxilasa, una enzima ubicua con concentraciones particularmente altas en la mucosa intestinal, el hígado, el cerebro y los capilares cerebrales. Debido a la posibilidad de metabolismo extracerebral de la levodopa, es necesario administrar grandes dosis de levodopa que conducen a altas concentraciones extracerebrales de dopamina que causan náuseas en algunos pacientes. Por lo tanto, la levodopa se administra habitualmente  
35 concomitantemente con la administración oral de un inhibidor de la dopa descarboxilasa, tal como carbidopa o benserazida, que reduce en un 60-80% la dosis de levodopa requerida para una respuesta clínica, y por lo tanto previene algunos de sus efectos secundarios inhibiendo la conversión de levodopa a la dopamina fuera del cerebro. No está claro cómo se logra exactamente esta reducción de la dosis. Diversas formulaciones que comprenden levodopa sola o junto con inhibidores de enzimas asociadas con la degradación metabólica de levodopa son bien conocidas, por ejemplo, inhibidores de descarboxilasa tales como carbidopa y benserazida, inhibidores de catecol-  
40 O-metiltransferasa (COMT) tales como entacapona y tolcapona, e inhibidores de monoaminoxidasa (MAO)-A o MAO-B tales como moclobemida, rasagilina o selegilina o safinamida. Los fármacos orales actualmente disponibles incluyen SINEMET<sup>®</sup> y SINEMET<sup>®</sup>CR comprimidos de liberación sostenida que incluyen carbidopa o levodopa; STALEVO<sup>®</sup> comprimidos que contienen carbidopa, entacapona y levodopa; y MADOPAR<sup>®</sup> comprimidos que contienen levodopa y benserazida. Existe una necesidad continua y urgente de métodos y composiciones que pueden efectuar la estimulación continua de la L-dopa para tratar más eficazmente trastornos del movimiento tales como la enfermedad de Parkinson.

45 La carbidopa [monohidrato del ácido (-)-L- $\alpha$ -hidrazino- $\alpha$ -metil- $\beta$ -(3,4-dihidroxi-benceno)propanoico], un compuesto cristalino blanco, sólo ligeramente soluble en agua, es un inhibidor de la dopa descarboxilasa comúnmente administrado con levodopa. Sólo el 40-70% de una dosis oral de carbidopa se absorbe en el hombre, el mono y el  
50 perro. Aunque la carbidopa se ha administrado por vía oral con levodopa durante más de 30 años, no se ha conseguido ninguna formulación líquida estable que tenga, por ejemplo, una concentración eficaz en un volumen adecuado para su uso para administración subcutánea o transdérmica. Existe una necesidad urgente y desde hace mucho tiempo de tales formulaciones de carbidopa que se puedan administrar más fácilmente a los pacientes, especialmente en comparación con los modos invasivos actuales tales como la administración duodenal.

### Sumario de la invención

55 Se ha encontrado ahora de acuerdo con la presente invención, que una sal de arginina de carbidopa puede formar una formulación líquida estable, adecuada para, por ejemplo, la administración subcutánea, transdérmica, intradérmica, intravenosa y/o intraduodenal continua, a un pH fisiológicamente aceptable. Tales composiciones descritas son capaces de administrar de forma sustancialmente continua carbidopa a un paciente.

Se ha descubierto además que la administración sustancialmente continua de un inhibidor de la dopa descarboxilasa tal como carbidopa, junto con la coadministración discreta (por ejemplo oral) de levodopa, puede estimular la L-dopa de manera sustancialmente continua y, por tanto, extender la eficacia de un régimen de dosificación oral de levodopa y/o reducir la dosificación diaria de levodopa, mientras se trata eficazmente un movimiento y/o trastorno neurológico tal como la enfermedad de Parkinson.

La presente invención se refiere, en un aspecto, a una composición líquida farmacéuticamente aceptable que comprende arginina, levodopa y carbidopa, en donde dicha composición comprende al menos 4% en peso de levodopa, tiene una relación molar de levodopa:arginina seleccionada de 1:1,5 a 1:2,5, Tiene un pH de 8,5 a 10 y es estable a 25°C durante 48 horas o más.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un kit que comprende: a) una primera composición adecuada para la administración continua que comprende la composición líquida de la invención, es decir, una composición que comprende arginina, 4% en peso de levodopa y carbidopa, tiene una relación molar de levodopa:arginina seleccionada de 1:1,5 a 1:2,5, tiene un pH de 8,5 a 10 y es estable a 25°C durante 48 horas o más; y b) una segunda composición adecuada para administración oral que comprende levodopa o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo.

Otro aspecto de la presente invención se refiere al kit como se reivindica en el presente documento para su uso en el tratamiento de un trastorno neurológico seleccionado de: síndrome de piernas inquietas, enfermedad de Parkinson, parkinsonismo secundario, enfermedad de Huntington o síndrome similar a Parkinson, administrando continuamente la primera composición conjuntamente con la segunda composición.

Se contempla en la presente memoria una sal de arginina de un agente activo seleccionado de carbidopa y levodopa que son adecuados para, por ejemplo, la administración subcutánea, transdérmica, intradérmica, intravenosa, oral o intraduodenal continua.

También se contemplan en la presente memoria formulaciones líquidas (por ejemplo, líquido a temperatura ambiente) o de gel farmacéuticamente aceptables o composiciones que incluyen una sal de arginina de carbidopa, por ejemplo, incluyen carbidopa y arginina, que pueden ser adecuadas para administración sustancialmente continua a un paciente, p.ej. con o sin usar, por ejemplo, un parche transdérmico o bomba subcutánea (por ejemplo, una bomba similar a la de insulina). Tales composiciones líquidas contempladas pueden incluir al menos 1%, al menos 4%, al menos 6% o más en peso de carbidopa, (por ejemplo, de aproximadamente 2% a aproximadamente 6% en peso de carbidopa) y por lo tanto pueden facilitar la administración de cantidades más pequeñas de una formulación farmacológicamente aceptable para lograr eficacia en comparación con una formulación de carbidopa que sólo es capaz de tener menos del 1% en peso de carbidopa. En otra realización, se contempla en la presente memoria una composición líquida o de gel que incluye una relación molar de aproximadamente 1,0:0,5 a aproximadamente 1: a aproximadamente 2,5, por ejemplo, una relación molar 1:1,0-1,2 de carbidopa:aminoácido básico, p. ej. carbidopa:arginina. Una composición líquida que incluye carbidopa y arginina, como se contempla en la presente memoria, puede tener un pH fisiológicamente aceptable, p. ej., un pH de aproximadamente 6,5 a 9,5, por ejemplo, de aproximadamente 7 a aproximadamente 9, o de aproximadamente 8 a aproximadamente 9, a 25°C.

En otra realización más, se contempla en la presente memoria una composición líquida o de gel farmacéuticamente aceptable que incluye una relación molar de levodopa: arginina de aproximadamente 1,0:0,5 a aproximadamente 1:2, por ejemplo, aproximadamente 1:1,8. Por ejemplo, se proporciona en la presente memoria una composición líquida que puede incluir al menos aproximadamente 4% en peso, o al menos 5%, al menos aproximadamente 6% (por ejemplo, de aproximadamente 3% a aproximadamente 7%) o más en peso de levodopa. Una composición líquida que tiene levodopa y un aminoácido básico, como se contempla en la presente memoria, puede tener un pH de aproximadamente 8 a 10, por ejemplo, de aproximadamente 8,5 a aproximadamente 9,5, a 25°C.

Las composiciones líquidas ejemplares contempladas en la presente memoria pueden ser soluciones líquidas, p. ej. pueden ser una mezcla sustancialmente homogénea que incluye carbidopa y arginina, y pueden incluir agua, o alternativamente pueden ser sustancialmente no acuosas. En otras realizaciones, las composiciones contempladas también pueden incluir uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables tales como N-metilpirrolidona (NMP), polivinilpirrolidona (PVP), propilenglicol, antioxidantes o combinaciones de los mismos.

En algunas realizaciones, la composición líquida farmacéuticamente aceptable de la invención puede comprender agentes activos adicionales tales como entacapona o tolcapona.

También se proporciona en la presente memoria un kit que comprende: a) una primera composición adecuada para administración continua que comprende la formulación líquida o en gel que comprende una sal de arginina de carbidopa; b) una segunda composición adecuada para administración oral que comprende levodopa o una sal o éster farmacéuticamente aceptable de la misma; y c) opcionalmente instrucciones de la administración de la primera formulación junto con la segunda formulación.

La primera composición del kit para la administración continua de la sal de arginina de carbidopa puede formularse para administración transdérmica, intradérmica, subcutánea, intravenosa o intraduodenal, tal como utilizando una bomba de infusión.

La segunda composición del kit, es decir, la composición de levodopa, puede comprender levodopa, una sal farmacéuticamente aceptable de levodopa, preferiblemente una sal de arginina de la misma como se describe en la presente memoria, o puede ser una composición que incluye levodopa y comprende además uno o más inhibidores de descarboxilasa tal como como carbidopa y/o benserazida, o uno o más inhibidores de catecol-O-metiltransferasa (COMT) tales como entacapona y/o tolcapona, o uno o más inhibidores de MAO-A o MOA-B tales como selegilina y/o rasagilina, o combinación de los mismos.

También las composiciones proporcionadas en la presente memoria son útiles en un método para el tratamiento de una enfermedad o trastorno caracterizado por niveles reducidos de dopamina en el cerebro de un paciente (p. ej., enfermedad de Parkinson), que comprende administrar de forma sustancialmente continua a un paciente que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de descarboxilasa, una sal del mismo, por ejemplo, una sal de arginina de carbidopa, o un éster del mismo, y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de levodopa o su sal farmacéuticamente aceptable (p. ej., arginina-levodopa) o composición que comprende levodopa (por ejemplo, administrar una composición, por ejemplo, un comprimido, que tiene levodopa como su único agente activo), o una composición que incluye levodopa y uno o más de otros agentes activos tales como carbidopa, benserazida, entacapona, tolcapona, selegilina y/o rasagilina.

En una realización, las composiciones son útiles en un método para tratar o mejorar un trastorno neurológico o de movimiento en un paciente que lo necesite, que comprende: administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende una sal de aminoácido básico de carbidopa (por ejemplo, carbidopa arginina) y administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición que comprende levodopa. Por ejemplo, se puede administrar una composición que comprende carbidopa y arginina de forma sustancialmente continua y/o la composición que comprende levodopa se puede administrar a intervalos discretos (por ejemplo por administración oral una, dos, tres o más veces al día) durante la administración sustancialmente continua de la composición que comprende una sal de carbidopa-arginina.

También las composiciones proporcionadas en la presente memoria son útiles en un método de inhibición sustancialmente continua de la actividad de descarboxilasa y/o un método para aumentar la semivida de levodopa en un paciente que recibe levodopa, que comprende administrar (por ejemplo, de forma sustancialmente continua) al paciente una composición líquida o de gel que comprende una sal de carbidopa tal como carbidopa arginina. Por ejemplo, los métodos descritos pueden dar como resultado una semivida de levodopa en el plasma de un paciente que es al menos 1,5, o al menos dos veces más larga después de la administración continua de carbidopa en comparación con la semivida de la levodopa en el suero de un paciente después de administrar levodopa con administración oral discreta de carbidopa.

### Breve descripción de las figuras

Las figuras 1A-1C representan los espectros de masas de sal de arginina de carbidopa (CD).

Las figuras 2A-2C representan los espectros de masa de sal de arginina de levodopa (LD).

Las figuras 3A-3C muestran los niveles medios de carbidopa determinados en el plasma de cerdos hembra Landrace × Large White (30-35 kg) después de la administración oral de (3A) Stalevo (100/25/200 mg, LD/CD/E), (3B) Dopicar + Lodosyn (125/25 mg LD/CD), (3C) Sinemet CR (100/25 mg, LD/CD) cada 8 y 12 h, con (cuadrados) o sin (diamantes) administración subcutánea continua de solución de carbidopa al 3%.

Las figuras 4A-4B muestran niveles cerebrales de L-Dopa y dopamina (4A, paneles izquierdo y derecho, respectivamente), y niveles plasmáticos de carbidopa y L-Dopa (4B, paneles izquierdo y derecho, respectivamente), determinados en ratones CD-1 después de administración oral de levodopa/carbidopa con o sin administración subcutánea continua de carbidopa.

Las figuras 5A-5B representan los niveles medios de L-Dopa (5A) y carbidopa (5B) determinados en el plasma de cerdos hembra Landrace × Large White (30-35kg) después de la administración subcutánea continua de 0, 2 y 4% de carbidopa con administración oral de Sinemet® (100/25 mg) cada 8 h.

Las figuras 6A-6B representan los niveles medios de L-Dopa determinados en el plasma de dos cerdos hembra Landrace × Large White (30-35 kg) (6A, Cerdo nº 3; 6B, Cerdo nº 4) después de la administración subcutánea continua de 2 y 4% de carbidopa con administración oral de Dopicar® (125/12,5 mg LD/CD) + Lodosyn® (12,5 mg CD) cada 12 h.

La figura 7 muestra las concentraciones medias (± DE) de LD (levodopa) (ng/ml) determinadas en plasma de cerdos hembra Landrace × Large White (30-35 kg) después de la administración oral de Stalevo (LD/CD/E 100/25/200), cada 8 h, con o sin administración continua de benserazida o carbidopa subcutánea (60 mg/día).

Las figuras 8A-8B representan los niveles plasmáticos de (8A) L-dopa y (8B) 3-O-metildopa (3-OMD) como se determinó en el plasma de cerdos hembra Landrace × Large White (30-35 kg) después de la administración subcutánea continua de 2% de carbidopa, con o sin 2,5% de entacapona, y administración oral de L-dopa/Carbidopa (LD / CD).

La Figura 9 muestra los resultados de la administración transdérmica de éster propílico de carbidopa (CDPE).

Las figuras 10A-10B representan los niveles plasmáticos de (10A) levodopa y (10B) carbidopa como se determina en el plasma de cerdos hembra Landrace x Large White (30-35 kg) después de la administración oral de LD y CD con recubrimiento entérico o sin recubrimiento como sales de arginina (denominadas LDs y CDs, respectivamente, 100/25 mg LD/CD) en comparación con Sinemet (100/25 mg LD/CD).

La figura 11 representa la inhibición de la descarboxilación de L-Dopa por carbidopa y éster propílico de carbidopa (CDPE).

Las figuras 12A-12B representan la inhibición de la descarboxilación de L-dopa (12A) y el metabolismo de L-dopa a dopamina (12B) por carbidopa y éster propílico de carbidopa en extracto de hígado.

## 10 Descripción detallada de la invención

Se describe en la presente memoria una composición líquida que tiene un pH fisiológicamente aceptable que incluye una sal de arginina de carbidopa (por ejemplo, arginina y carbidopa) que es estable a temperatura ambiente, que puede facilitar el suministro continuo de una cantidad eficaz de carbidopa a un paciente de una manera mínimamente invasiva (por ejemplo, una formulación líquida descrita comprende una concentración significativamente alta de carbidopa, de modo que no se requiere la administración de grandes cantidades de líquido). Tales formulaciones pueden facilitar la inhibición continua de descarboxilasa lo que prolonga la semivida de la levodopa. Por ejemplo, los resultados de estudios *in vivo*, como se describe a continuación, en los que se administró L-dopa continuamente en paralelo con la administración oral de carbidopa cada 6-8 horas, demuestran un patrón pulsátil de niveles plasmáticos de L-dopa que coinciden con el régimen de dosificación oral de carbidopa, pero la administración concomitante y/o repetida con frecuencia, p. ej., simultánea del inhibidor de dopa descarboxilasa (p. ej., carbidopa o una de sus sales, o benserazida) con o sin inhibidores de COMT con administración discreta o continua de levodopa, es más eficaz en el tratamiento de, por ejemplo, la enfermedad de Parkinson. Además, se ha descubierto que el perfil farmacocinético de, por ejemplo, carbidopa (con o sin entacapona) soporta dichos nuevos tratamientos que incluyen la administración sustancialmente continua de inhibidores de dopa descarboxilasa (por ejemplo, benserazida o carbidopa o una de sus sales) con o sin inhibidores de COMT junto con la administración (continua o a intervalos discretos) de, por ejemplo levodopa o una de sus sales.

En la presente memoria se contemplan formulaciones de carbidopa que permiten inesperadamente una disolución estable de concentraciones más altas (por ejemplo, mayor que 1% en peso) de carbidopa y/o levodopa, p. ej. a pH fisiológicamente aceptable, para, por ejemplo, la administración subcutánea o transdérmica sustancialmente continua. Tales formulaciones pueden ser también adecuadas para administración intravenosa, intradérmica, oral o intraduodenal. Por ejemplo, se proporcionan en la presente memoria formulaciones y métodos capaces de obtener una inhibición sustancialmente constante de la actividad de la dopa descarboxilasa tras la administración, aumentando así la semivida de la levodopa administrada y reduciendo sustancialmente la pulsatilidad de los niveles plasmáticos de levodopa para evitar bajos niveles mínimos de levodopa plasmática.

Una estrategia de tratamiento de la administración continua de carbidopa de acuerdo con la presente invención puede simular L-dopa sustancialmente continua. Por ejemplo, las terapias y/o métodos como se contempla en la presente memoria pueden extender un régimen de dosificación oral de levodopa de aproximadamente 2 a aproximadamente 3 veces al día, y/o reducir la dosis diaria de levodopa, y/o reducir o incluso eliminar el riesgo de complicaciones motoras asociadas con formulaciones orales convencionales de levodopa en pacientes con Parkinson.

En la presente memoria se contempla una formulación farmacéuticamente aceptable que incluye una sal de carbidopa-arginina que permite la administración sustancialmente continua de carbidopa. Por ejemplo, mientras que la base libre de carbidopa es prácticamente insoluble en alcohol, cloroformo o éter y sólo ligeramente soluble en agua, se contempla en la presente memoria, por ejemplo, una formulación líquida estable que incluye carbidopa y puede ser adecuada para administración sustancialmente continua a un paciente. Además, dichas formulaciones pueden tener un pH fisiológicamente aceptable.

La presente descripción proporciona una sal de arginina de carbidopa.

La descripción también proporciona, en una realización, una formulación líquida que comprende una sal de carbidopa-arginina. Por ejemplo, una sal de carbidopa-arginina descrita se puede disolver en una solución acuosa, por ejemplo, que tiene un pH de aproximadamente 6 a 9,5, preferiblemente de aproximadamente 7 a aproximadamente 9, más preferiblemente de aproximadamente 8 a 9 a 25°C o a 30°C. Alternativamente, la carbidopa (base libre) y la arginina se disuelven juntas en un líquido (por ejemplo, un líquido acuoso) para formar una formulación líquida descrita. Las formulaciones líquidas descritas pueden incluir aproximadamente 1,0% en peso o más de carbidopa o sal de arginina de carbidopa, por ejemplo, pueden incluir de aproximadamente 1% a aproximadamente 20% en peso o más de carbidopa, por ejemplo, de aproximadamente 2% a aproximadamente 10% en peso de carbidopa. Por ejemplo, una formulación líquida puede incluir carbidopa y arginina en una relación

molar de aproximadamente 1:0,5 a aproximadamente 1:2,5, o aproximadamente 1:1 a aproximadamente 1:1,2, por ejemplo, aproximadamente 1:1 o 1:1,1.

5 Las formulaciones líquidas descritas (por ejemplo, una composición líquida que comprende carbidopa y arginina o una sal arginina de carbidopa) pueden ser estables durante 24 horas, durante 48 horas, durante 7 días o más a 25°C. Por ejemplo, una formulación líquida ejemplar puede incluir una relación molar 1:1,1 de carbidopa:arginina, con aproximadamente 2% a aproximadamente 15%, o de aproximadamente 2% a aproximadamente 10%, o de 2% a aproximadamente 6% en peso de carbidopa. Tal formulación líquida de carbidopa:arginina puede ser más estable a los 7 días en comparación con una composición líquida que incluye una sal de lisina o histidina de carbidopa.

10 En algunas realizaciones, las formulaciones o composiciones líquidas descritas son soluciones líquidas, es decir, mezclas líquidas sustancialmente homogéneas. Tales mezclas líquidas pueden comprender agua y/u otros excipientes. En otra realización, las composiciones líquidas descritas pueden ser sustancialmente no acuosas.

15 Por ejemplo, como se describe en el Ejemplo 6, a continuación, se puede formar inesperadamente una solución líquida estable a partir de carbidopa y arginina. Tal solución es estable a temperatura ambiente, por ejemplo, es una solución sustancialmente transparente, incluso en altas concentraciones de carbidopa de 2, 3, 4, 6, y/u 8 por ciento en peso de carbidopa. Dichas soluciones, p. ej. hasta aproximadamente 6 por ciento en peso de carbidopa, son estables (por ejemplo, sin precipitación) al menos durante 48 horas. Además, debido a que tales soluciones descritas, incluso con concentraciones elevadas de carbidopa, tienen un pH fisiológicamente aceptable, tales soluciones pueden ajustarse a un pH apropiado, pero todavía tienen una cantidad significativa de carbidopa en un volumen menor de modo que facilitan la administración al paciente, sin administrar p.ej. grandes volúmenes de solución.

Además, las soluciones que tienen carbidopa y arginina (por ejemplo, la sal arginina de carbidopa) son inesperadamente más estables incluso en comparación con soluciones de carbidopa con otros aminoácidos básicos tales como histidina o lisina, como se muestra a continuación, por ejemplo, en el Ejemplo 6

25 Las formulaciones líquidas contempladas pueden, en algunas realizaciones, comprender además levodopa o levodopa y arginina, y/u opcionalmente un inhibidor de catecol-O-metil transferasa (COMT), tal como entacapona o tolcapona; y/o un inhibidor de la monoaminooxidasa (MAO)-A o MAO-B, tal como moclobemida, rasagilina, selegilina o safinamida.

30 También se proporciona en la presente memoria una formulación líquida que comprende una sal de arginina de levodopa, o una formulación líquida que comprende arginina y levodopa. En una realización, se proporciona en la presente memoria una formulación líquida que incluye levodopa y arginina en una relación molar de aproximadamente 1:1,5 a aproximadamente 1:2,5, o de aproximadamente 1:1,8 a aproximadamente 1,20. Tales formulaciones o soluciones de levodopa y arginina pueden tener un pH de aproximadamente 8 a aproximadamente 10, por ejemplo, de aproximadamente 8,5 a aproximadamente 9,5. Una formulación descrita que tiene levodopa y arginina puede incluir aproximadamente 2%, 3%, 4%, 5%, 6% o más en peso de levodopa, por ejemplo, puede incluir aproximadamente 4% o más en peso de levodopa.

40 En algunas realizaciones, una formulación líquida descrita será estable durante un período de 1 día, 2 días, 3 días, 1 semana o 1 mes o más a temperatura ambiente. En las realizaciones preferidas de la invención, una formulación líquida descrita comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable tal como, por ejemplo, N-metilpirrolidona (NMP), polivinilpirrolidona (PVP), propilenglicol, o una combinación de uno o más de los mismos y puede comprender además uno o más antioxidantes tales como, pero no limitados a, N-acetil-cisteína, bisulfito de sodio, glutatión y ácido ascórbico. Por ejemplo, en una realización, se proporciona en la presente memoria una formulación líquida estable que comprende de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 20% de carbidopa (por ejemplo, de aproximadamente 2% a aproximadamente 6%), de aproximadamente 0,25 a aproximadamente 20% de arginina, de aproximadamente 0 a aproximadamente 30% de NMP, de aproximadamente 0 a aproximadamente 5% de PVP, y/o de aproximadamente 0 a aproximadamente 5% de uno o más antioxidantes solubles en agua, en peso.

50 La descripción proporciona además un polvo liofilizado estable que comprende una sal de arginina de carbidopa. En una realización, dicho polvo liofilizado estable puede comprender aproximadamente 20-99% de la sal de carbidopa, aproximadamente 0-60% de NMP, aproximadamente 0-15% de PVP, y aproximadamente 0-5% de uno o más antioxidantes solubles en agua. El polvo liofilizado puede reconstituirse en una formulación líquida por adición de agua sola o agua con NMP, y puede incluir o no incluir antioxidantes.

55 Las formulaciones líquidas de la invención pueden diseñarse para la administración continua de una sal de carbidopa o levodopa a un paciente que lo necesite. Por ejemplo, se puede administrar a un paciente de forma sustancialmente continua (por ejemplo, por vía subcutánea, transdérmica, intraduodenal, intradérmica o intravenosa), una formulación que incluye la sal de arginina de carbidopa descrita, mientras que la levodopa, una sal de levodopa o una composición que comprende levodopa se administra por vía oral a intervalos discretos, por ejemplo, 2, 3, 4, o 5 veces al día.

Como se usa en la presente memoria descriptiva, la expresión "una composición que comprende levodopa" contempla formulaciones que comprenden levodopa, opcionalmente junto con uno o más inhibidores de

- 5 descarboxilasa, uno o más inhibidores de catecol-O-metiltransferasa (COMT), y/o uno o más Inhibidores de MAO-A o MAO-B. Por ejemplo, una composición que comprende levodopa puede incluir una forma farmacéutica que comprende levodopa (o una de sus sales) y opcionalmente uno o más de otros fármacos, donde la forma farmacéutica puede ser una formulación de liberación inmediata, de liberación controlada, de liberación doble o de liberación múltiple adecuada para administración oral.
- La expresión "inhibidor de descarboxilasa" se refiere a un inhibidor de dopa descarboxilasa (DDC), por ejemplo, un fármaco que inhibe el metabolismo periférico de levodopa a dopamina por la L-aminoácido aromático descarboxilasa tal como carbidopa y benserazida.
- 10 La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable" o "excipiente farmacéuticamente aceptable" tal como se utiliza en la presente memoria se refiere a todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, conservantes, antioxidantes, revestimientos, agentes isotónicos y retardadores de la absorción y similares, que son compatibles con la administración farmacéutica. El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica. Las composiciones también pueden contener otros compuestos activos que proporcionan funciones terapéuticas complementarias, adicionales o mejoradas.
- 15 La expresión "pH fisiológicamente aceptable" se entiende que significa un pH de, por ejemplo, una composición que facilita la administración de la composición a un paciente sin efectos adversos significativos, p. ej., un pH de aproximadamente 4 a aproximadamente 9.
- 20 La expresión "inhibidores de COMT" se refiere a inhibidores que inhiben la degradación de levodopa a 3-metildopa por la catecol-O-metil transferasa y prolongan la acción de la levodopa, tal como como entacapona o tolcapona. Por ejemplo, las composiciones que comprenden levodopa contempladas en la presente memoria también pueden incluir un inhibidor de descarboxilasa (carbidopa o benserazida) y entacapona, p. ej., "terapia triple".
- Las expresiones "inhibidores de MAO-A o MAO-B" se refieren a inhibidores que evitan la degradación de dopamina por monoaminoxidasas A o B, por ejemplo, moclobemida, rasagilina, selegilina o safinamida, más preferiblemente rasagilina.
- 25 También se contempla en la presente memoria un kit que comprende: a) una primera formulación que comprende una sal de arginina de carbidopa y/o carbidopa y arginina, en donde dicha primera formulación es adecuada para administración continua; b) una segunda formulación que comprende levodopa o una sal de arginina de levodopa, en donde dicha segunda formulación es adecuada para administración oral; y c) instrucciones para la administración de la formulación a) junto con la formulación b). La formulación a) que comprende la sal de carbidopa puede ser adecuada para la administración continua por cualquier vía adecuada tal como transdérmica, intravenosa, subcutánea, intradérmica, intramuscular o intraduodenal.
- 30 La primera formulación de un kit contemplado que comprende la sal de carbidopa puede ser líquida o un polvo liofilizado que se puede reconstituir en una formulación líquida o, por ejemplo, puede formar parte de un parche transdérmico, y puede estar diseñada para su administración continua por cualquier vía adecuada, tal como, pero sin limitarse a, transdérmica, intravenosa, subcutánea, intradérmica, intramuscular o intraduodenal. En una realización, la primera formulación comprende la sal de arginina de carbidopa descrita y es adecuada para administración subcutánea. La segunda formulación de un kit contemplado puede incluir la levodopa, un éster de levodopa, una sal de levodopa o una composición que comprende levodopa, y puede presentarse como cualquier dosis oral adecuada tal como, pero sin limitarse a, pastillas, comprimidos, comprimidos dispersables, cápsulas, líquido, y similares. En una realización, la segunda formulación puede estar en forma de una formulación oral de liberación inmediata, de liberación controlada o de liberación doble que comprende tanto levodopa como benserazida, o tanto levodopa como carbidopa. Dicha formulación oral en forma de pastillas, comprimidos o similares, puede comprender una relación de carbidopa o benserazida a levodopa de aproximadamente 1:10 a 1:4, preferiblemente de aproximadamente 1:4 a 1:1. Otras formulaciones contempladas incluyen formulaciones, por ejemplo, comprimidos que incluyen levodopa, carbidopa y entacapona, o p. ej. un comprimido que incluye sal de arginina de levodopa y/o sal de arginina de carbidopa.
- 35 En otra realización, el kit comprende una primera formulación líquida que comprende carbidopa y arginina adecuada para, pero no limitada a, administración transdérmica, intravenosa, subcutánea, intradérmica, intramuscular, intraduodenal continua y una segunda formulación en forma de una formulación oral de liberación inmediata, liberación controlada o de liberación doble que comprende levodopa y carbidopa. La formulación oral en forma de pastillas, comprimidos o similares, puede comprender una relación de carbidopa a levodopa de aproximadamente 1:10 a aproximadamente 1:4, preferiblemente de aproximadamente 1:4 a aproximadamente 1:1.
- 40 También se contempla en la presente memoria una formulación que comprende un éster de carbidopa tal como, pero no limitado al éster de etilo, propilo, isopropilo o hexilo de carbidopa, y sus sales. Ejemplos de ésteres de levodopa contemplados en la presente memoria incluyen los ésteres de alquilo, por ejemplo, el éster de metilo, etilo, propilo o isopropilo, o el éster de bencilo.
- 45 Las composiciones de la presente invención son útiles para el tratamiento de una enfermedad o trastorno caracterizado por niveles reducidos y/o fluctuantes de dopamina en el cerebro de un paciente, cuando se

coadministra de forma sustancialmente continua a un paciente que lo necesita junto con una cantidad terapéuticamente eficaz de levodopa o su sal, o una composición que comprende levodopa. Como se muestra en los ejemplos, la administración continua separada de carbidopa, junto con la administración de levodopa, incluso con una administración discreta (por ejemplo oral) de levodopa, a un paciente da lugar a niveles significativamente más altos de levodopa en el plasma de un paciente tras la administración, en comparación con un tratamiento estándar actual de dosificación simultánea discreta de carbidopa y levodopa. Por ejemplo, los métodos descritos pueden dar como resultado una semivida de la levodopa en el plasma de un paciente que es al menos 1,5 o al menos dos veces más larga después de la administración continua de carbidopa en comparación con la semivida de levodopa en el suero de un paciente después de administrar levodopa sin administración continua de carbidopa (por ejemplo, con administración oral discreta).

La administración contemplada de, por ejemplo, carbidopa y levodopa, siguiendo los métodos descritos, típicamente puede llevarse a cabo durante un periodo de tiempo definido (normalmente semanas, meses o años dependiendo de la combinación seleccionada). Las terapias contempladas pretenden abarcar la administración de múltiples agentes terapéuticos de una manera en la que se administra de forma sustancialmente continua un inhibidor de la dopa descarboxilasa mientras se administra la levodopa a intervalos discretos, así como la administración de agentes terapéuticos contemplados, o al menos dos de los agentes terapéuticos, de manera sustancialmente simultánea. La administración puede efectuarse por cualquier vía apropiada incluyendo, pero sin limitarse a, vías orales, vías intravenosas, vías intramusculares, vías intradérmicas, vía subcutánea, transdérmica y absorción directa a través de tejidos de membrana mucosa.

En algunas realizaciones, la levodopa se puede administrar por la misma vía o por vías diferentes en comparación con la administración de, p. ej. una formulación de carbidopa contemplada. Por ejemplo, la carbidopa puede administrarse por vía subcutánea, por ejemplo, de forma sustancialmente continua, mientras que la levodopa puede administrarse por vía oral, p. ej. a intervalos discretos. En una realización, se administra una composición de carbidopa líquida descrita (por ejemplo, que tiene carbidopa y arginina) de forma sustancialmente continua, mientras que se administra una composición oral que incluye levodopa (y también puede incluir uno o más de otros agentes activos tales como un inhibidor de dopa descarboxilasa) Intervalos discretos. Alternativamente, por ejemplo, tanto la levodopa como la carbidopa se pueden administrar por vía subcutánea o transdérmica.

La enfermedad o trastorno caracterizado por niveles reducidos de dopamina en el cerebro contemplados aquí son trastornos neurológicos o del movimiento incluyendo síndrome de piernas inquietas, enfermedad de Parkinson, parkinsonismo secundario, enfermedad de Huntington, síndrome similar a Parkinson, parálisis supranuclear progresiva (PSP), atrofia de sistema múltiple (MSA), esclerosis lateral amiotrófica (ALS), síndrome de Shy-Drager y afecciones que resultan de una lesión cerebral incluyendo intoxicación por monóxido de carbono o manganeso. En una realización preferida, la enfermedad a tratar es la enfermedad de Parkinson.

En realizaciones preferidas, el inhibidor de descarboxilasa contemplado es la sal de arginina de carbidopa. Una formulación de carbidopa/arginina descrita se puede administrar de forma sustancialmente continua usando p. ej. una formulación líquida, por ejemplo, mediante una bomba para infusión subcutánea (bomba de insulina) a una velocidad media de aproximadamente 10-250  $\mu\text{l/hora}$ , preferiblemente aproximadamente 1 5-85  $\mu\text{l/hora}$ , junto con la administración oral de levodopa, una sal de arginina de levodopa, o composición que comprende levodopa.

Por ejemplo, de acuerdo con la invención, una cantidad farmacéuticamente eficaz de una composición que comprende carbidopa y arginina puede administrarse de forma sustancialmente continua a un paciente para tratar un trastorno neurológico o de movimiento, por ejemplo, enfermedad de Parkinson, mientras que la segunda composición del kit comprende levodopa o una sal de la misma, por ejemplo, la sal de arginina de levodopa, se administra de forma no continua al paciente,

En algunas realizaciones, la composición que comprende carbidopa y arginina puede ser líquida a temperatura ambiente. La composición se puede administrar de forma sustancialmente continua durante 12 horas, 1 día, 1 semana o más. La composición que comprende levodopa puede formar la totalidad o parte de una formulación oral de liberación inmediata, de liberación controlada o de liberación doble que comprende levodopa y opcionalmente benserazida o carbidopa, y puede administrarse 1, 2, 3, o 4 o más veces al día, por ejemplo, por administración oral (por ejemplo, por comprimido).

También las composiciones proporcionadas en la presente memoria son útiles en un método para el tratamiento de una enfermedad o trastorno caracterizado por niveles reducidos de dopamina en el cerebro de un paciente (por ejemplo, enfermedad de Parkinson) que comprende co-administrar de forma sustancialmente continua a un paciente que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de una sal de levodopa descrita.

La invención que ahora se describe en términos generales, se entenderá más fácilmente haciendo referencia a los siguientes ejemplos.

### Ejemplos

Ejemplo de referencia 1. Preparación y caracterización de la sal de carbidopa-arginina



La sal de carbidopa (CD)-arginina se preparó como sigue:

Se pesó carbidopa [Teva Pharmaceuticals Ltd., Israel] en un recipiente adecuado con L-arginina [Merck] (en relación molar de 1:1) y se añadió una disolución de bisulfito de sodio al 0,2% [Sigma] en agua para obtener una concentración final de 4,0% de carbidopa. La mezcla se calentó a  $65 \pm 10^\circ\text{C}$  con agitación constante. Cuando los sólidos se disolvieron completamente, la solución se filtró usando una membrana de nylon de  $0,45 \mu\text{m}$ . La solución filtrada se congeló inmediatamente en hielo seco y posteriormente se sometió a liofilización. Se obtuvieron cristales blanquecinos y posteriormente se sometieron a análisis de MS. Los resultados analíticos de MS mostraron claramente iones y fragmentos de carbidopa y L-arginina (figura 1a). El pico 249 representa carbidopa + Na ( $226 + 23$ ) con fragmentos: 227, 188 y 144 (figura 1b); el pico 176 representa arginina + 2H ( $174 + 2$ ) con fragmentos: 157, 130 y 116 (figura 1c).

Ejemplo de referencia 2. Preparación de solución / formulación de carbidopa para administración subcutánea

Se preparó una solución/formulación de carbidopa al 4% como sigue:

Se pesó carbidopa [Assia Ltd., Israel] en un recipiente adecuado y se añadió agua para obtener el 73% del peso total del lote proyectado. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos. Se añadió L-arginina [Sigma] a la mezcla para obtener una relación molar 1:1 con carbidopa. La mezcla se calentó a  $65 \pm 10^\circ\text{C}$  con agitación constante. Cuando los sólidos se disolvieron completamente, se añadió N-metil-2-pirrolidona [Pharmasolve, ISP] para obtener la concentración final del 10% (p/p). Se preparó solución de bisulfito de sodio [Sigma] y se añadió para obtener una concentración final de 1% (v/p). La agitación se continuó durante 30 minutos adicionales a  $65 \pm 3^\circ\text{C}$ . Posteriormente, se preparó una solución de PVP [polivinilpirrolidona, Sigma] y se añadió para obtener una concentración final de 1% (v/p). La agitación se continuó durante 30 minutos a  $65 \pm 3^\circ\text{C}$ . Se detuvo el calentamiento y la preparación se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. La solución se filtró usando una membrana estéril de  $0,22 \mu\text{m}$  de PVDF.

Se prepararon soluciones/formulaciones de carbidopa-arginina, al 2 y 3%, diluyendo la solución/formulación de carbidopa-arginina al 4% con la cantidad respectiva de agua doblemente destilada (DDW).

Ejemplo de referencia 3. Preparación de solución/formulación de carbidopa para administración subcutánea

Se preparó una solución/formulación de carbidopa al 6% como sigue:

Se pesaron carbidopa [Teva Pharmaceuticals Ltd, Israel] y L-arginina [Merck] (relación molar 1:1,1) en un recipiente adecuado y se añadió agua para obtener el 84% del peso total del lote proyectado. Se añadió N-metil-2-pirrolidona [Pharmasolve, ISP] para obtener la concentración final del 5% (p/p) de solución de bisulfito de sodio [Sigma] y se añadió para obtener una concentración final de 0,1% (v/p). La mezcla se calentó a  $65 \pm 10^\circ\text{C}$  con agitación constante. Cuando los sólidos se disolvieron completamente, el calentamiento se detuvo y la preparación se dejó enfriar a temperatura ambiente. La solución se filtró usando una membrana estéril de  $0,22 \mu\text{m}$  de PVDF.

Ejemplo de referencia 4. Preparación de la solución/formulación de carbidopa para administración subcutánea

Se preparó una solución/formulación de carbidopa al 4% como sigue:

Se pesaron carbidopa [Teva] y L-arginina [Merck] (relación molar 1:1,1) en un recipiente adecuado y se añadió agua para obtener el 89% del peso total del lote proyectado. Se añadió N-metil-2-pirrolidona [Pharmasolve, ISP] para obtener la concentración final de 3,5% (p/p). Se preparó solución de bisulfito sódico [Sigma] y se añadió para obtener una concentración final de 0,05% (v/p). La mezcla se calentó a  $65 \pm 10^\circ\text{C}$  con agitación constante. Cuando los sólidos se disolvieron completamente, el calentamiento se detuvo y la preparación se dejó enfriar a temperatura ambiente. La solución se filtró usando una membrana estéril de  $0,22 \mu\text{m}$  de PVDF.

Se prepararon soluciones/formulaciones al 2 y 3% de carbidopa-arginina diluyendo la solución/formulación de carbidopa-arginina al 4% con la cantidad respectiva de agua doblemente destilada (DDW) que contenía 3,5% de N-MP, con o sin bisulfito de sodio al 0,05%.

Ejemplo de referencia 5. Preparación de la formulación de carbidopa para la administración transdérmica

Se preparó una formulación de Carbidopa al 8% como sigue:

Se pesaron carbidopa [Teva] y L-arginina [Merck] (relación molar 1:1) en un recipiente adecuado y se añadió propilenglicol [Merck] para obtener el 75% del peso total del lote proyectado. Se preparó solución de bisulfito sódico [Sigma] y se añadió para obtener una concentración final de 0,05%. La mezcla se calentó a  $65 \pm 10^\circ\text{C}$  con agitación constante. Cuando los sólidos se disolvieron completamente, el calentamiento se detuvo y la preparación se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se añadió PEG-400 [Merck], 10% del peso total del lote proyectado. El pH se ajustó a 7,5 con ácido láctico al 85% [Fluka].

Ejemplo de referencia 6. Preparación y estabilidad de soluciones/formulaciones de Carbidopa-Arginina, Carbidopa-Lisina y Carbidopa-Histidina

Las soluciones/formulaciones de carbidopa se prepararon como sigue:

5 Se pesó carbidopa [Teva] en un recipiente adecuado y se añadió L-arginina [Merck] o L-lisina [Sigma] o L-histidina [Sigma] (en relación molar 1:1, 1:1,1 o 1:2). Se añadió N-metil-2-pirrolidona [Pharmasolve, ISP] para obtener la concentración final del 5% (p/p). Se preparó solución de bisulfito sódico [Sigma] y se añadió para obtener una concentración final de 0,05% (v/p). La mezcla se calentó a  $68 \pm 3^\circ\text{C}$  con agitación constante. Cuando los sólidos se disolvieron completamente, el calentamiento se detuvo y la preparación se dejó enfriar a temperatura ambiente. Las formulaciones estables (CD:lisina al 2% y CD:arginina al 2%, relación molar 1:1,1) se sometieron adicionalmente a análisis de HPLC a  $t = 0$  y  $t = 7$  días a  $25^\circ\text{C}$ .

10 Los resultados muestran la diferencia significativa entre los tres aminoácidos básicos [L-arginina (PI-10,76), L-lisina (PI-9,74) y L-histidina (PI-7,59)] con respecto a su efecto sobre la solubilidad y la estabilidad de carbidopa en solución acuosa: La Tabla 1 indica la solubilidad y estabilidad de la carbidopa en estas soluciones acuosas con aminoácidos básicos (arginina, lisina o histidina) según se determina visualmente (Tabla 1A) o por HPLC UV (Tabla 1B). Con arginina, se preparó una solución estable de carbidopa al 6%, mientras que se pudo formular una solución con sólo menos del 4% con lisina (Tabla 1A). Además, una disolución de carbidopa al 2% con lisina era menos estable que con arginina después de 7 días a  $25^\circ\text{C}$  (Tabla 1B). Además, no se pudo hacer una solución estable con histidina en concentraciones  $\geq 1\%$  (Tabla 1A).

Tabla 1A

Solución de Carbidopa y Arginina						
Concentración CD (%)	2	4	4	5	6	8
Relación molar CD:Arginina	1 a 1	1 a 1	1 a 1,1	1 a 1,1	1 a 1,1	1 a 1,1
pH de la solución	8,2	8,2	8,4	8,5	8,7	8,9
Aspecto de la solución	Transparente, Ligeramente amarillo	Transparente, Ligeramente amarillo	Transparente, Ligeramente amarillo	Transparente, Ligeramente amarillo	Transparente, Ligeramente amarillo	Transparente, Ligeramente amarillo
Estabilidad después de 48 h (visual)	Estable	Estable	Estable	Estable	Estable	Precipitado en 24 h
Soluciones de carbidopa y lisina						
Concentración CD (%)	2	4	2	4		
Relación molar CD:Lisina	1 a 1	1 a 1	1 a 1,1	1 a 1,1		
pH de la solución	8,1	N/A	8,2	8,23		
Aspecto de la solución	Transparente, ligeramente amarillo	No se disolvió	Transparente, amarillo	Precipitado en pocos minutos		
Estabilidad después de 48 h (visual)	Precipitado después de 2 h	N/A	Estable	N/A		
Soluciones de carbidopa e histidina						
Concentración CD (%)	1	4	2	4		
Relación molar CD:Histidina	1 a 1,1	1 a 1,1	1 a 2	1 a 2		
pH de la Solución	N/A	N/A	6,7	N/A		
Aspecto de la solución	No se disolvió	No se disolvió	Transparente, Blanco	No se disolvió		
Estabilidad después de 48 h (visual)	N/A	N/A	Precipitado después de 1h	N/A		

Tabla 1B

Aminoácido (AA)	Relación molar CD: AA	CD (%)	Tiempo de Análisis	Ensayo de CD (%)	Perfil de Impurezas (Área%)				
					3-OMD	RT 5,3	RT 12,6	RT 13,6	RT 14,5
Lisina	1:1.1	2	t=0	95.1	0	3,3	0	0,50	1,07
Arginina	1:1.1	2	t=0	94.1	0	4,5	0	0,41	1,05
Lisina	1:1.1	2	T = 7d a RT	70.8	0	N/A	0	1,39	26,4
Arginina	1:1.1	2	T = 7d a RT	77.6	0	N / A	0	1,34	19,4
N/A = No aplicable									

## Ejemplo de referencia 7. Preparación de sal de levodopa-arginina

La sal de levodopa (LD)-arginina se preparó como sigue:

- 5 Se pesó levodopa [Teva] en un recipiente adecuado con L-arginina [Merck] (en relación molar de 1:1,8) y se añadió una disolución de bisulfito sódico al 0,2% en agua para obtener una concentración final de 4,4% de L-Dopa. La mezcla se calentó a  $65 \pm 10^\circ\text{C}$  con agitación constante. Cuando los sólidos se disolvieron completamente, la solución se filtró usando una membrana de nylon de  $0,45 \mu\text{m}$ . La solución filtrada se congeló inmediatamente en hielo seco y posteriormente se sometió a liofilización. La solución filtrada se congeló inmediatamente en hielo seco y posteriormente se sometió a liofilización. Se obtuvieron cristales blanquecinos y posteriormente se sometieron a análisis de MS. Los resultados analíticos de MS (mostrados en la Fig. 2) mostraron claramente los iones de LD y arginina. LD: 197 con fragmentos 178,97, 151,96, 136,98 (Figuras 2a y 2b); Arginina: 175 con fragmentos 130, 116 (Figuras 2a y 2c)

- 15 Ejemplo de referencia 8. Preparación de soluciones/formulaciones de carbidopa y carbidopa/entacapona para administración subcutánea y su evaluación de seguridad local en cerdos

Se prepararon soluciones/formulaciones de carbidopa al 10% y de carbidopa/entacapona al 4/6% como sigue:

- 20 Se pesó carbidopa [Assia Ltd.] en un recipiente adecuado y se añadió agua para obtener el 73% del peso total del lote proyectado. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos. Se añadió Larginina [Sigma] a la mezcla para obtener una relación molar 1:1 con carbidopa. La mezcla se calentó a  $65 \pm 10^\circ\text{C}$  con agitación constante. Cuando los sólidos se disolvieron completamente, se añadió N-metil-2-pirrolidona [Pharmasolve, ISP] para obtener la concentración final del 10% (p/p). Se preparó solución de bisulfito de sodio [Sigma] y se añadió para obtener una concentración final de 1% (v/p). La agitación se continuó durante 30 minutos adicionales a  $65 \pm 3^\circ\text{C}$ . Posteriormente, se preparó una solución de PVP [polivinilpirrolidona, Sigma] y se añadió para obtener una concentración final de 1% (v/p). La agitación se continuó durante 30 minutos a  $65 \pm 3^\circ\text{C}$ . Se detuvo el calentamiento y la preparación se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. La solución se filtró usando una membrana estéril de  $0,22 \mu\text{m}$  de PVDF. La solución filtrada se congeló inmediatamente en hielo seco y posteriormente se sometió a liofilización. Los cristales liofilizados se reconstituyeron con agua doblemente destilada para obtener soluciones de carbidopa al 4 y 10%. Se añadió la entacapona [extraída de Comtan®, Novartis] a la solución de carbidopa al 4% para obtener una concentración final de 6% (p/v). Ambas formulaciones (CD al 10% y CD/E al 4/6%) se administraron continuamente por vía sc a cerdos durante un periodo de 21 horas para evaluar posibles reacciones locales. Las evaluaciones macroscópicas y microscópicas indicaron que la administración subcutánea continua de 21 horas de estas soluciones/formulaciones de carbidopa era segura. (Tabla 2).

- 35 La Tabla 2 indica los resultados de una evaluación histológica de biopsias cutáneas obtenidas de cerdos hembra Landrace x Large White tras la administración subcutánea continua de CD al 10% (carbidopa) o CD/entacapona al 4/6% durante un periodo de 21 horas, a razón de 25 u 82  $\mu\text{l/h}$ .

Tabla 2

	Cerdo nº 1				Cerdo nº 2			
	L		R		L		R	
	CD 10%		CD/Ent 4/6%		CD/Ent 4/6%		CD 10%	
Tasa de Infusión	Activación de la vaina (h)							
25 µl/h	21 h		-		21 h		-	
82 µl/h	-		21 h		-		21 h	
Parámetro	Observación Histológica (Tiempo después de la eliminación del parche)							
	0	10 d	0	10 d	0	10 d	0	10 d
Localización de la lesión	Hipodermis	Sin lesiones	Sin lesiones	Sin lesiones	Sin lesiones	Sin lesiones	Hipodermis	Sin lesiones
Distribución	Perivascular						Perivascular	
Grado de inflamación	0-1						0-1	
Tipo de célula predominante	N						N	
Necrosis	-						-	
Fibrosis	-						-	
<p><u>Clave:</u> Localización: Epidermis, dermis, hipodermis; Distribución: Difusa, multifocal, perivascular; Inflamación Grado de puntuación: 0 - sin inflamación, 1 - muy leve, 2 - moderado, 3 - grave; Tipo de célula predominante: linfocitos (L), macrófagos (M), neutrófilos (N); Necrosis: Sí/No; Fibrosis: Sí/No</p>								

Ejemplo de referencia 9. Efecto de la administración subcutánea continua de la carbidopa en el perfil farmacocinético de levodopa y carbidopa en cerdos

- 5 En este experimento, el propósito fue determinar el efecto de la administración subcutánea continua de carbidopa, con la coadministración oral de L-dopa/carbidopa, en la farmacocinética de levodopa en cerdos.

Se administró por vía oral a cerdos que pesaban 30-35 kg bien Stalevo® (Novartis, 100/25/200 mg, LD/CD/E), Dopicar® [Teva] + Lodosyn® (Merck & Co) (125/25 mg, LD/CD) o Sinemet CR® (MSD, 100/25 mg, LD/CD) tres veces o dos veces al día (cada 8 o 12 h, respectivamente) con o sin carbidopa (60 mg/cerdo/día) durante un periodo total de 68 h. Se recogieron muestras de sangre en tiempos de medición predeterminados y se analizaron los niveles plasmáticos de L-dopa y carbidopa mediante LC-MS.

- 10 Los resultados mostraron que la coadministración de carbidopa subcutánea continua con cualquier preparación oral de LD aumenta significativamente (más de  $\times 2$ ) la semivida ( $t_{1/2}$ ) y el AUC de la levodopa. Por el contrario, el aumento de la dosis oral o la frecuencia de carbidopa no mejoró considerablemente el perfil PK de levodopa, como se muestra en la Tabla 3. Además, se mantuvieron los niveles estacionarios de CD a  $164 \pm 34$  ng/ml durante las 68 horas de administración continua SC de carbidopa (60 mg/cerdo/día). Esto estaba en oposición al patrón fluctuante y los niveles mínimos muy bajos de CD obtenidos después de la administración del tratamiento de referencia (Figs. 3A - 3C). No se observaron signos de toxicidad local o sistémica relacionada con el tratamiento a lo largo de todo el período de estudio de 68 horas.

- 20 Los parámetros farmacocinéticos de la levodopa se determinaron en plasma de cerdos hembra Landrace  $\times$  Large White (30-35 kg) tras la administración oral de (A) Stalevo (100/25/200 mg, LD/CD/E), (B) Dopicar + Lodosyn 125/25 mg LD/CD), (C) Sinemet CR (100/25 mg, LD/CD) cada 8 y 12 h (cada 8h = cada 8 horas), con o sin administración subcutánea continua (SC) de solución de carbidopa al 3% , y los resultados se muestran en la Tabla 3:

Tabla 3A.

Tratamiento Oral	Stalevo (100/ 25/200 mg)				
Tratamiento SC	Parámetros PK				
	C <sub>Máximo</sub>	T <sub>Máximo</sub>	T <sub>1/2</sub>	AUC <sub>0-8</sub>	AUC <sub>0-∞</sub>
Sin CD SC (n=8)	2392 ±1363,9	2,3 ±0,89	1,4 ±0,30	8109 ±4145,2	8309 ±4265,2
Con CD SC (n=12)	2355 ±1157,1	2,1 ±1,00	2,9 ±0,41	17527 ±8470,8	19330 ±8284,8
Significación* (p)	NS	NS	2E-08	0,005	0,001

Tabla 3B.

Tratamiento Oral	LD/CD (125/ 25 mg)				
Tratamiento SC	Parámetros PK				
	C <sub>Máximo</sub>	T <sub>Máximo</sub>	T <sub>1/2</sub>	AUC <sub>0-8</sub>	AUC <sub>0-∞</sub>
Sin CD SC (n=7)	2472 ±735,6	0,9 ±0,53	1,1 ±0,22	7200 ±3093,2	7302 ±3071,3
Con CD SC (n=14)	4050 ±1369,5	0,8 ±0,43	2,5 ±0,43	17922 ±4375, 7	19230 ±4625, 5
Significación* (p)	0,005	NS	1E-07	7,4E-06	3,3E-06

5 Tabla 3C.

Tratamiento Oral	Sinemet CR (100/ 25 mg)				
Tratamiento SC	Parámetros PK				
	C <sub>Máximo</sub>	T <sub>Máximo</sub>	T <sub>1/2</sub>	AUC <sub>0-8</sub>	AUC <sub>0-∞</sub>
Sin CD SC (n=8)	1691 ±556,2	0,9 ±0,52	1,2 ±0,19	4792 ±1190,8	4929 ±1196,6
Con CD SC (n=15)	2830 ±929,2	1,2 ±0,92	2,6 ±0,46	12688 ±3516,3	13505 ±3344,4
Significación* (p)	0,002	NS	3,2E-08	2,3E-06	3,6E-07
* Usando una prueba t unilateral con varianzas iguales					

Ejemplo de referencia 10. Efecto de la administración subcutánea continua de carbidopa sobre la distribución cerebral de levodopa y dopamina en ratones

- 10 En este experimento, el propósito fue determinar el efecto de la administración subcutánea continua de carbidopa (15 mg/kg/d) sobre los niveles de levodopa y dopamina en el cerebro después de la administración oral de levodopa/carbidopa (32/8 mg/kg tres veces al día) en ratones.

- 15 Se implantaron por vía subcutánea en ratones bombas Alzet que contenían solución salina (control negativo), vehículo o solución de carbidopa. Un día después de la implantación se administró por vía oral LD/CD cada 8 h. El nivel de levodopa y dopamina en el cerebro se determinó después de la 4ª dosis oral de LD/CD. Los resultados mostraron que los niveles de dopamina siete horas después de la administración de LD oral eran significativamente más altos en los cerebros de ratones que recibían por vía SC de forma continua carbidopa (Fig. 4A), simultáneamente con niveles más altos de LD plasmática (Fig. 4B).

Ejemplo de referencia 11. Efecto de la dosis de administración subcutánea continua de carbidopa sobre la toxicidad local y perfil farmacocinético de levodopa y carbidopa en cerdos

- 20 En este experimento, el propósito era determinar el efecto de la dosis de carbidopa administrada continuamente por vía subcutánea a cerdos con tolerancia local y la farmacocinética de L-dopa.

- Se administró por vía oral a cerdos que pesaban 30-35 kg Sinemet® (Merck & Co., 100/25 mg, LD/CD), tres veces al día (cada 8h), o Dopicar® (Teva) + Lodosyn® (Merck & Co., (125/25 mg LD/CD), dos veces al día (cada 12 h), con vehículo subcutáneo continuo, carbidopa al 2% o 4% (0, 40 o 80 mg/cerdo/d, respectivamente) durante un período total de 24 h. Se recogieron muestras de sangre en tiempos de medición predeterminados y se analizaron los niveles plasmáticos de L-dopa y carbidopa mediante LC-MS. Las biopsias de piel se recogieron de los sitios de infusión inmediatamente, 1 y 2 semanas después de la administración y la tolerancia local se evaluó mediante análisis histológico de los portaobjetos teñidos con H y E. No se observaron anomalías histológicas relacionadas con el tratamiento en los sitios de infusión.
- 5
- No se observó efecto significativo en la dosis sobre los niveles plasmáticos de L-dopa cuando se administraron conjuntamente soluciones de carbidopa al 2 o 4% con Sinemet® (Figs. 5A-5B) o Dopicar® + Lodosyn® (Figs. 6A - 6B). Por lo tanto, en las condiciones experimentales empleadas, se sugirió que la administración subcutánea continua de carbidopa al 2%, o menos, puede ser suficiente para mantener la inhibición óptima de la DDC (dopa descarboxilasa) en cerdos.
- 10
- Ejemplo de referencia 12. Efecto de la administración subcutánea continua de carbidopa, con y sin administración subcutánea continua de entacapona, sobre la farmacocinética de levodopa en cerdos
- 15
- En este experimento, el objetivo fue determinar los niveles plasmáticos de L-dopa, tras la administración subcutánea continua de carbidopa, con o sin entacapona, concomitantemente con la administración oral de L-dopa/carbidopa en cerdos. Los niveles plasmáticos de L-dopa se midieron por HPLC-ECD. Los resultados en la Fig. 8 mostraron que la entacapona redujo eficazmente los niveles de 3-OMD (3-orto-metildopa) (8B), pero no extendió la farmacocinética de la levodopa (8A), lo que sugiere que la entacapona y/o la inhibición de la COMT interfieren con las rutas dependientes de carbidopa/DDC, u otras rutas metabólicas de LD.
- 20
- Ejemplo de referencia 13. Efecto de la administración subcutánea continua de benserazida sobre la farmacocinética de levodopa en cerdos
- 25
- En este experimento, el propósito fue determinar los niveles plasmáticos de L-dopa, después de la coadministración oral de L-dopa/carbidopa con administración subcutánea continua de otro inhibidor de la DDC, la benserazida. Los niveles plasmáticos de L-dopa se midieron por HPLC-ECD.
- Los resultados mostraron que la benserazida amplió el perfil farmacocinético de LD, lo que sugiere que la inhibición continua de dopa-decarboxilasa (DDC), por cualquier inhibidor de DDC, aumenta la semivida de eliminación de LD, como se muestra en la Fig. 7.
- 30
- Ejemplo de referencia 14 - Suministro transdérmico de éster propílico de carbidopa (CDPE) a través del espesor completo de piel de cerdo ex vivo usando el sistema de suministro de celdas de Franz.
- 35
- En este experimento, el propósito era determinar la liberación transdérmica de éster propílico de carbidopa a través de una piel porcina de espesor completo, ex vivo, utilizando el sistema de suministro de celdas de Franz. Se prepararon formulaciones en gel que contenían CDPE. Se recogieron muestras de la celda receptora en los tiempos 0, 16, 19 y 22 horas después de la aplicación de la formulación sobre la piel. La cantidad de compuestos CD en el fluido de la celda receptora se determinó mediante un espectrofotómetro a 280 nm. Los resultados mostrados en la Fig. 9 demuestran que el CDPE penetra en la piel de una manera dependiente de la dosis potenciadora.
- 40
- Ejemplo de referencia 15. Efecto de la administración oral de sales de levodopa-arginina y carbidopa-arginina en el perfil farmacocinético de levodopa y carbidopa
- 45
- En este experimento, el propósito era determinar la farmacocinética de LD y CD administradas por vía oral como sales de arginina, bien con recubrimiento entérico o no. Se administró a los cerdos por vía oral 255/45 mg de sal de LD-arginina (LD)/sal de CD-arginina (CD) a cerdos de 30-35 kg en cápsulas de gelatina recubiertas o sin recubrimiento (correspondientes a 100/25 LD/CD). Los niveles plasmáticos de LD y CD se midieron por HPLC-ECD.
- Los resultados en las Figs. 10A-10B demostraron que las LDs y CDs fueron absorbidas más rápidamente y eficientemente en comparación con LD/CD (Sinemet®), y que la administración oral de LDs/CDs con recubrimiento entérico amplió la PK de LD (10A) y CD (10B) plasmáticas.
- 50
- Ejemplo de referencia 16 - Efecto inhibitorio de ésteres de carbidopa sobre la actividad de Dopa-decarboxilasa (DDC) in vitro
- En este experimento, el propósito fue determinar el efecto inhibitorio de los ésteres de carbidopa (CDE) sobre la actividad de las dopa-decarboxilasa. Las enzimas DDC se obtuvieron a partir de homogeneizado de hígado porcino y su actividad se midió comparando las concentraciones de LD con y sin éster propílico de carbidopa (CDPE). La preparación de homogeneizado de hígado se basó en el método descrito por Umezawa et al; (*J. Antib.* 1975,28 (12): 947 - 52).

Todas las muestras se separaron en columnas de cromatografía líquida de alta presión y la identidad y concentración de L-Dopa y dopamina se determinaron por HP HPLC UV - análisis a 280 nm.

Los resultados mostrados en las Figs. 11 y 12A-12B demuestran que CDPE inhibe la descarboxilación de L-dopa a dopamina, de manera similar a carbidopa y benserazida.

- 5 A menos que se indique otra cosa, todos los números que expresan cantidades de ingredientes, condiciones de reacción, etc., usados en la memoria descriptiva, deben entenderse como modificados en todos los casos por el término "aproximadamente". En consecuencia, a menos que se indique lo contrario, los parámetros numéricos expuestos en esta memoria descriptiva son aproximaciones que pueden variar dependiendo de las propiedades deseadas que se pretende obtener mediante la presente invención.

10

**REIVINDICACIONES**

1. Una composición líquida farmacéuticamente aceptable que comprende arginina, levodopa y carbidopa, en donde dicha composición comprende al menos 4% en peso de levodopa, tiene una relación molar de levodopa:arginina seleccionada de 1:1,5 a 1:2,5, tiene un pH de 8,5 a 10 y es estable a 25°C durante 48 horas o más.
- 5 2. La composición líquida farmacéuticamente aceptable de la reivindicación 1, que comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable seleccionado preferiblemente de N-metilpirrolidona, polivinilpirrolidona, propilenglicol, antioxidantes, o combinaciones de los mismos.
3. La composición líquida farmacéuticamente aceptable de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, que comprende además agua.
- 10 4. La composición líquida farmacéuticamente aceptable de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende además entacapona o tolcapona.
5. La composición líquida farmacéuticamente aceptable de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde la composición líquida tiene un pH de aproximadamente 8,5 a aproximadamente 9,5 a 25°C.
- 15 6. Un kit que comprende: a) una primera composición adecuada para administración continua que comprende la composición líquida de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5; y b) una segunda composición adecuada para administración oral que comprende levodopa o una sal o éster farmacéuticamente aceptable de la misma.
7. El kit de la reivindicación 6, en donde dicha primera composición para administración continua es para administración transdérmica, intradérmica, subcutánea, intravenosa o intraduodenal.
8. El kit de la reivindicación 7, en el que dicha administración continua comprende el uso de una bomba de infusión.
- 20 9. El kit de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, en donde la segunda composición comprende además carbidopa, benserazida, entacapona, tolcapona, o una combinación de los mismos.
10. El kit de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 9, donde la segunda composición comprende una sal farmacéuticamente aceptable de levodopa, preferiblemente la sal de arginina de levodopa.
- 25 11. El kit de una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 10 para su uso en el tratamiento de un trastorno neurológico seleccionado de: síndrome de piernas inquietas, enfermedad de Parkinson, parkinsonismo secundario, enfermedad de Huntington o síndrome de tipo Parkinson, administrando de forma continua la primera composición junto con la segunda composición.
12. El kit de la reivindicación 11 para su uso en el tratamiento o mejora de la enfermedad de Parkinson.



Fig. 1A

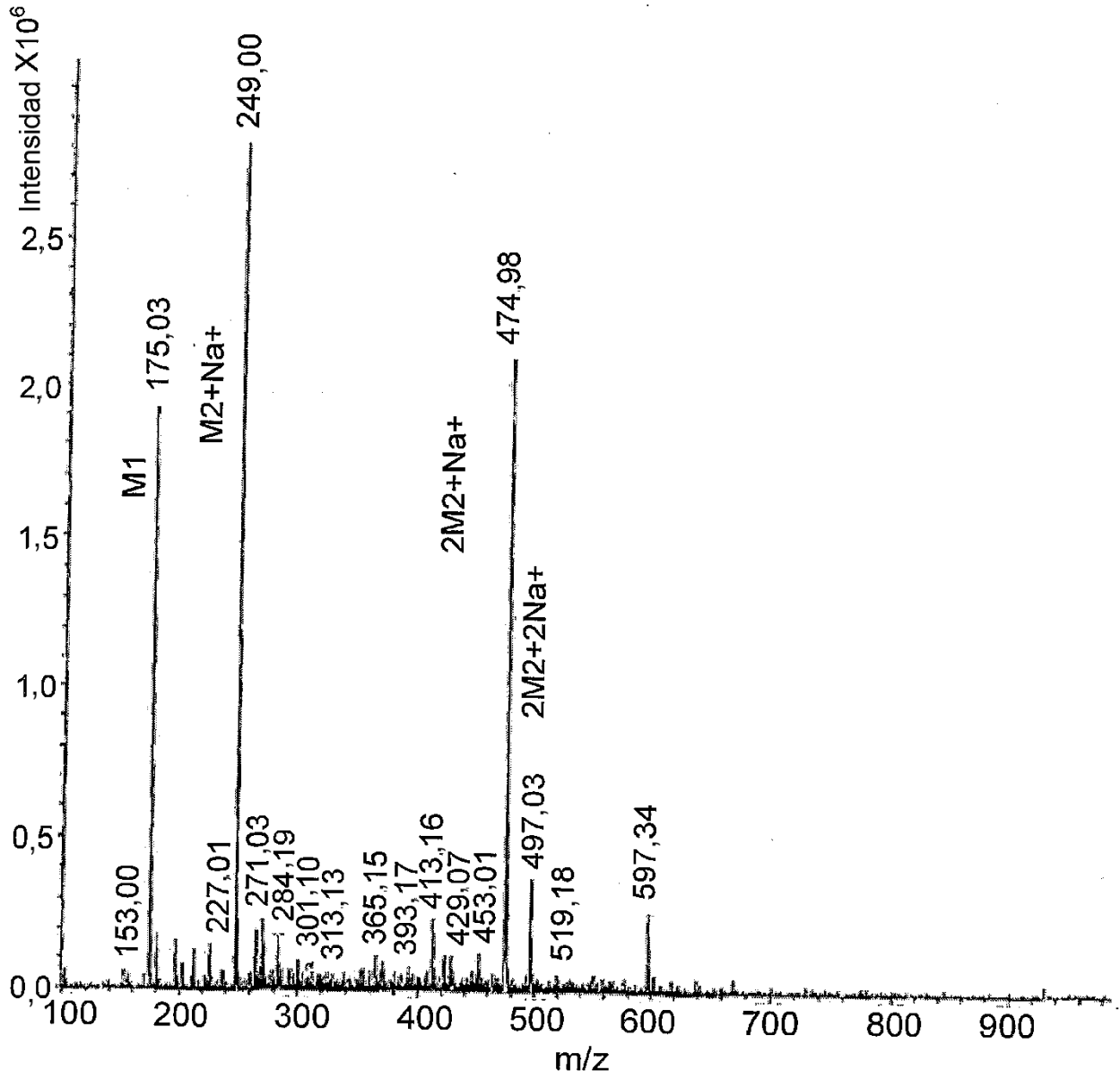


Fig. 1B

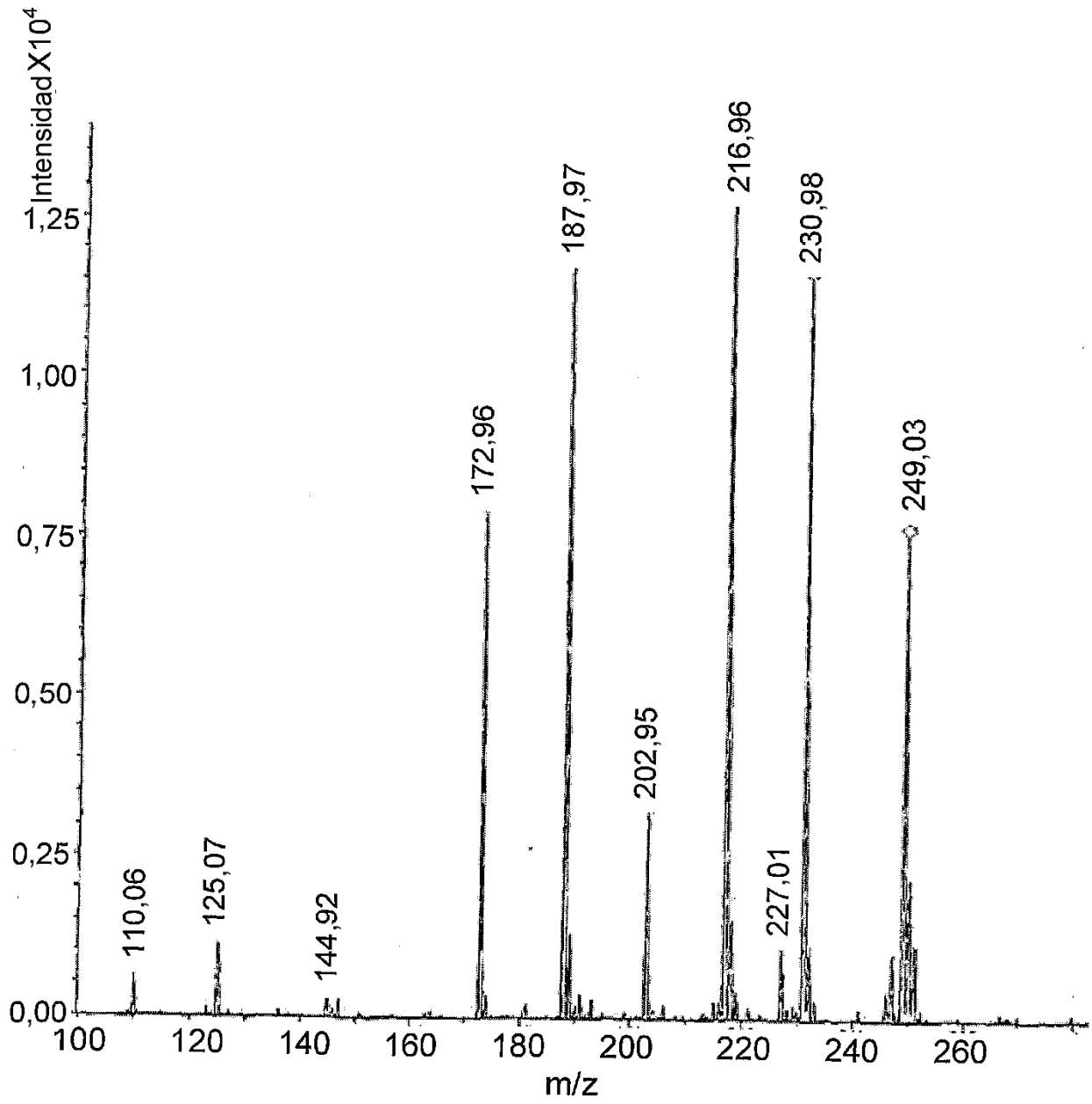


Fig. 1C

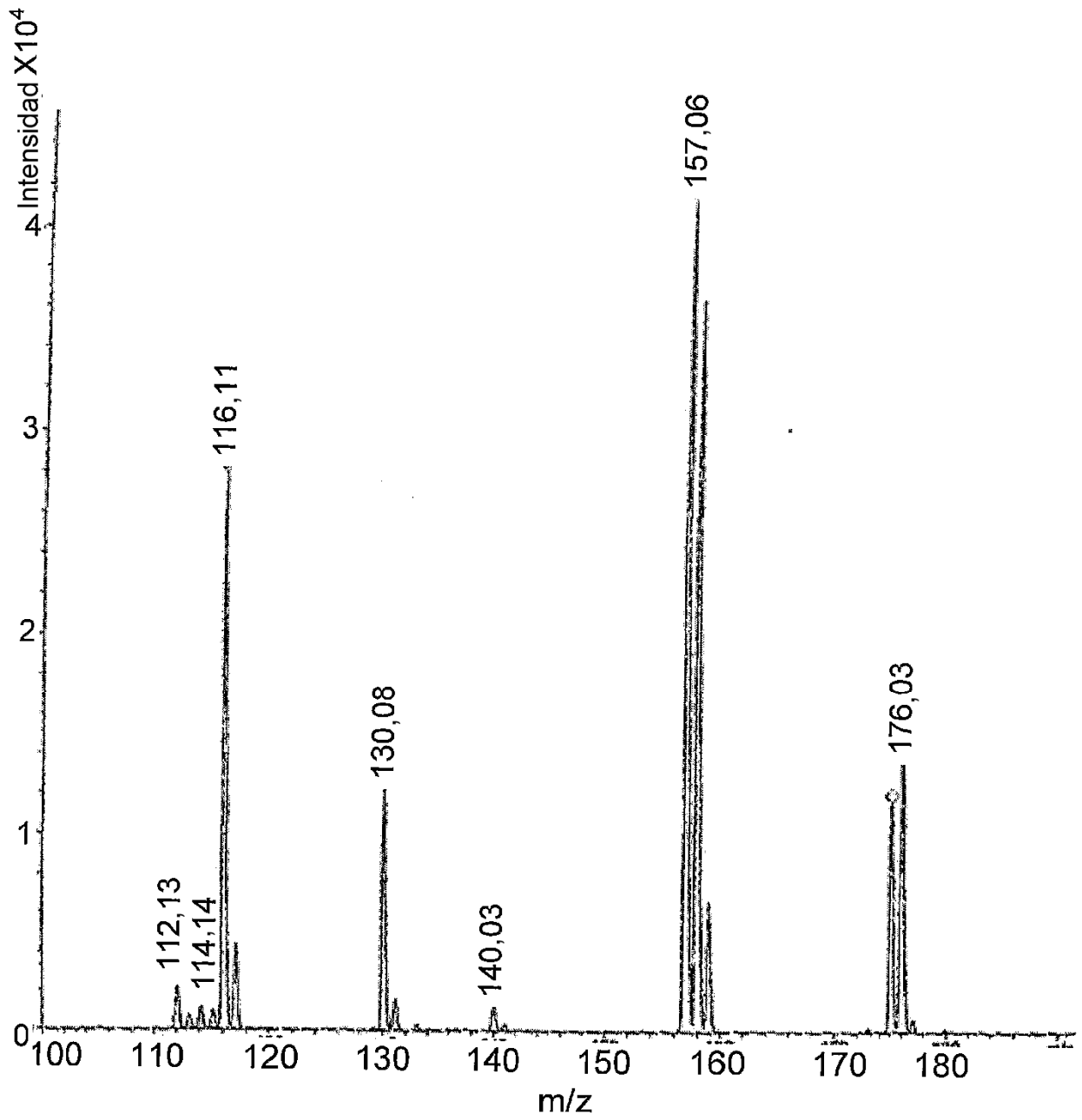
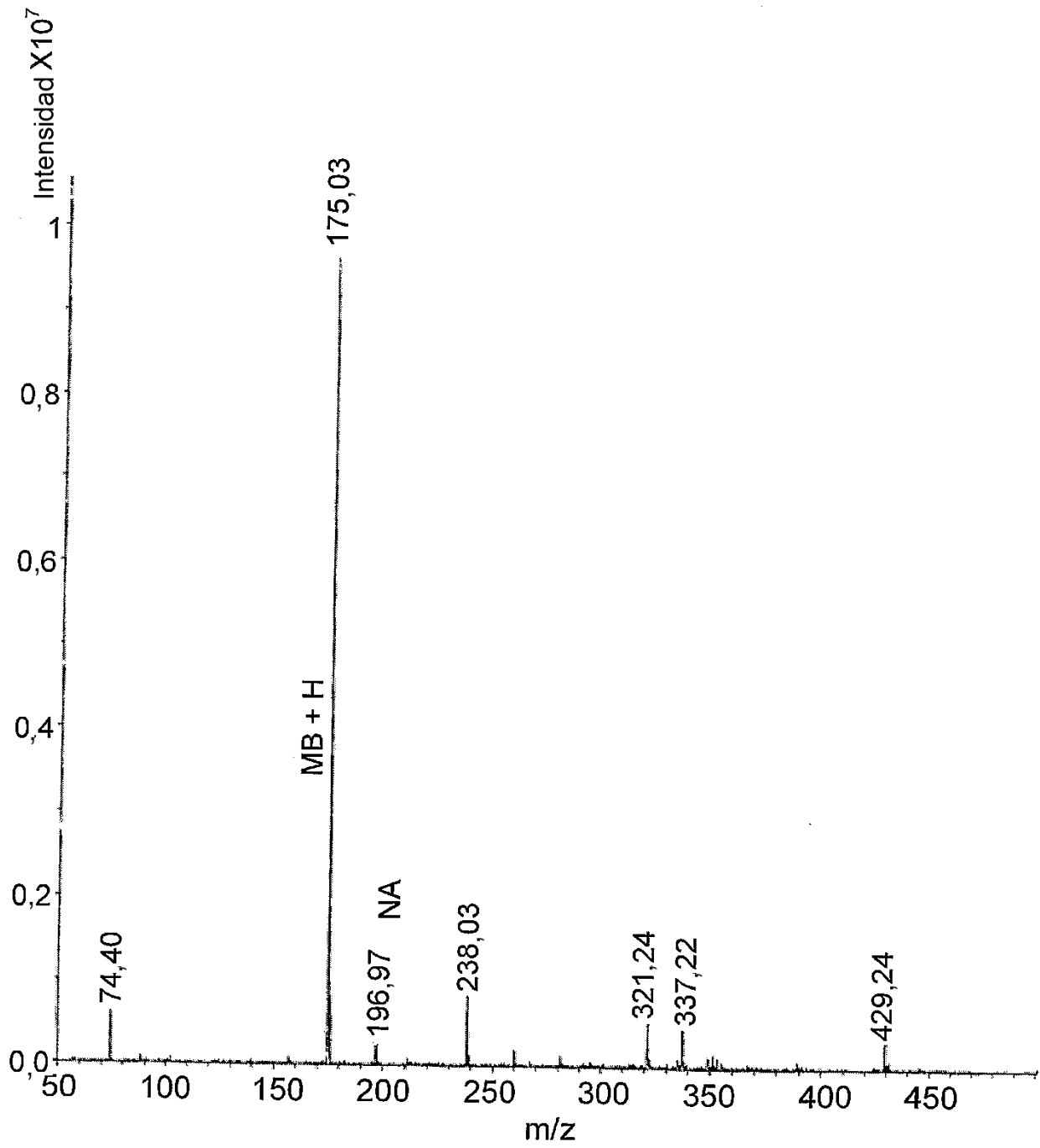


Fig. 2A



**Fig. 2B**

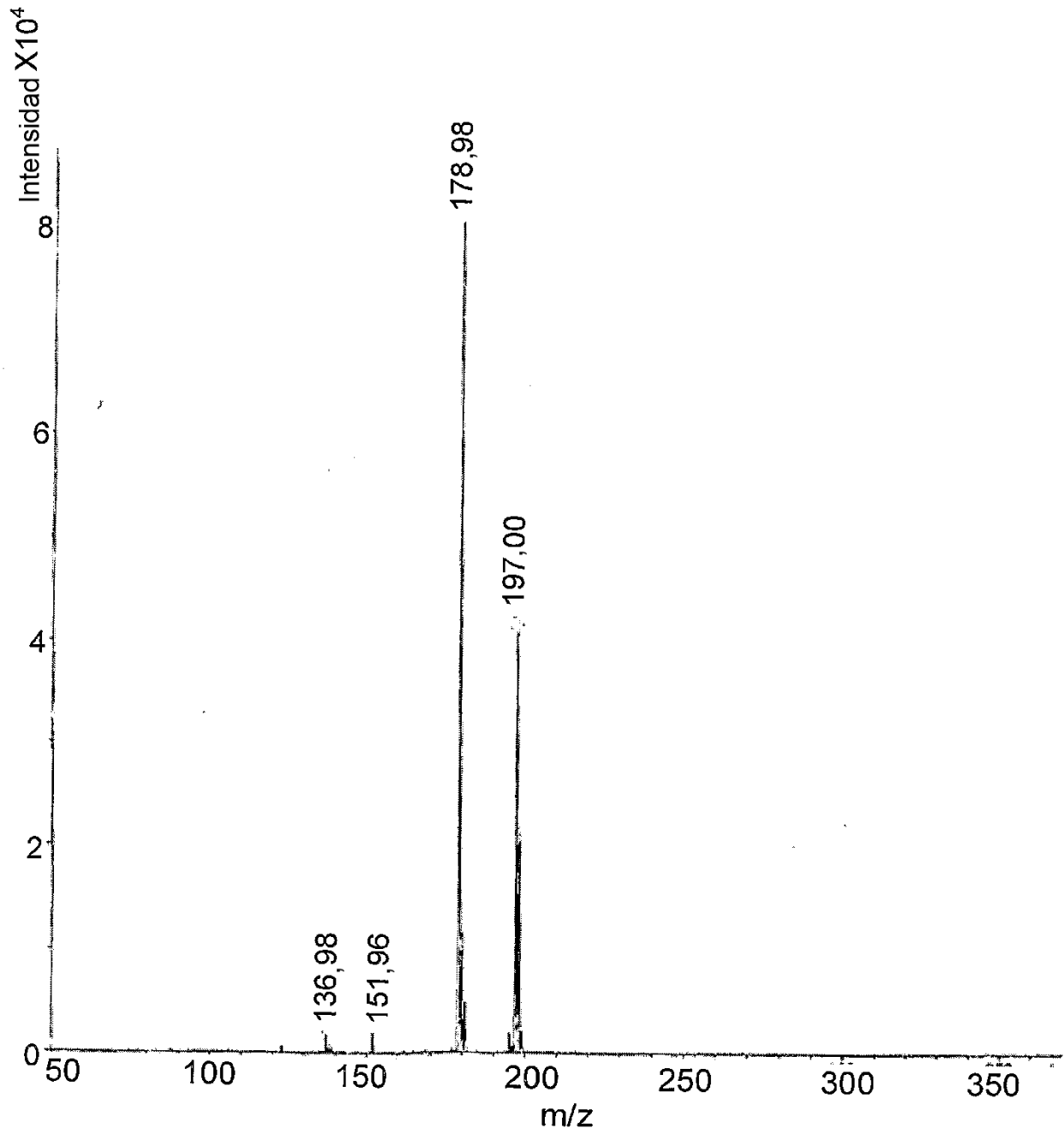


Fig. 2C

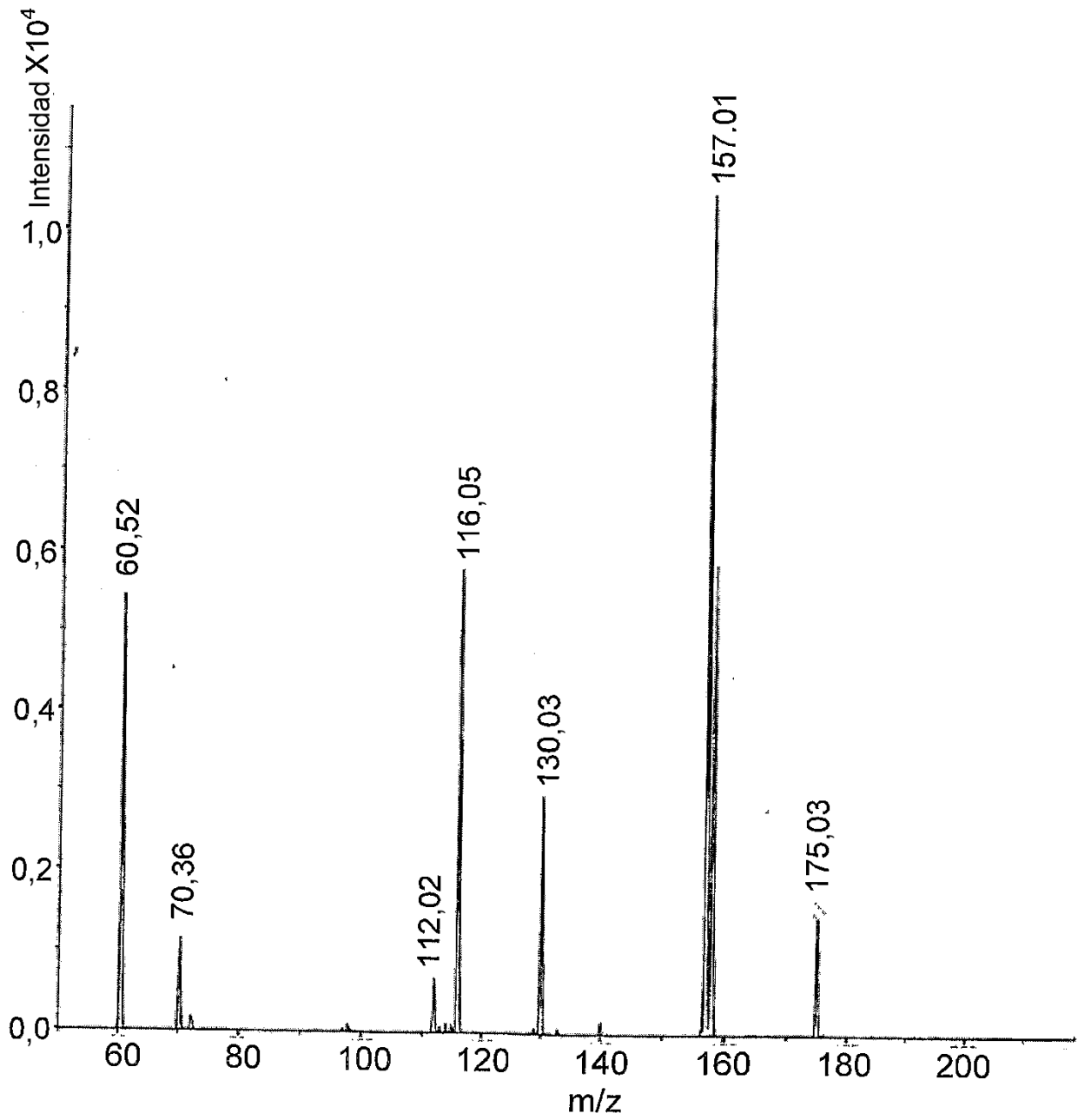


Fig. 3A

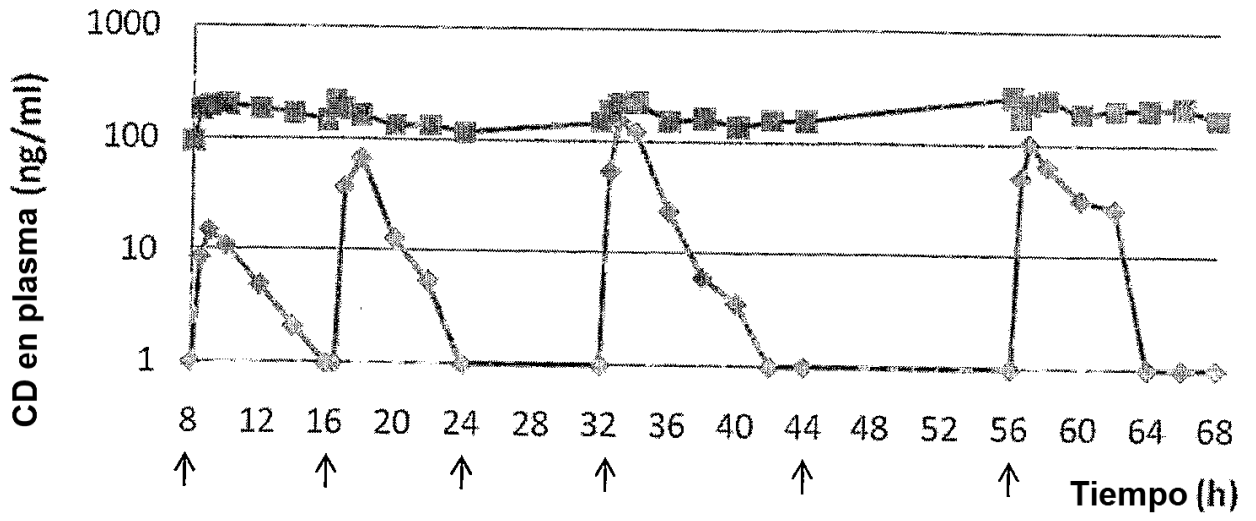


Fig. 3B

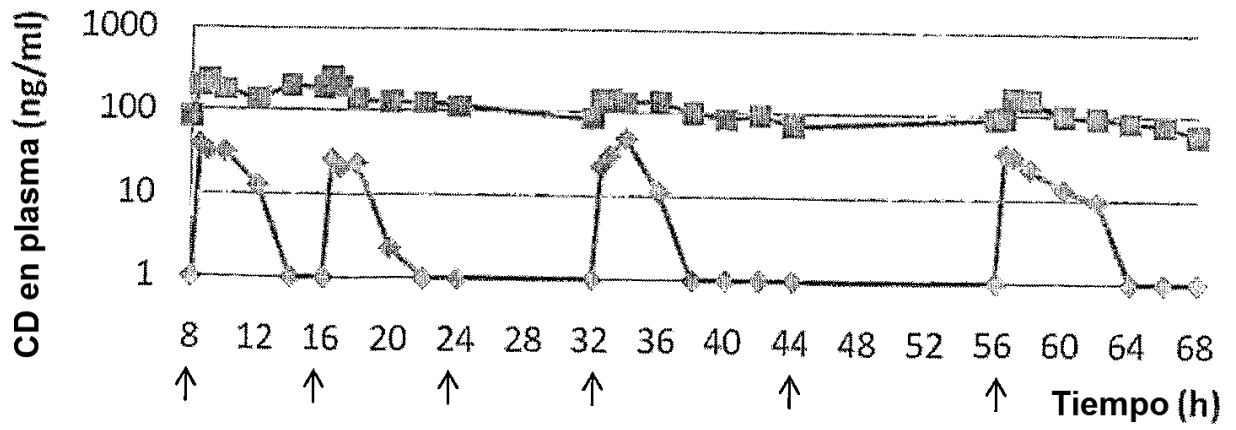
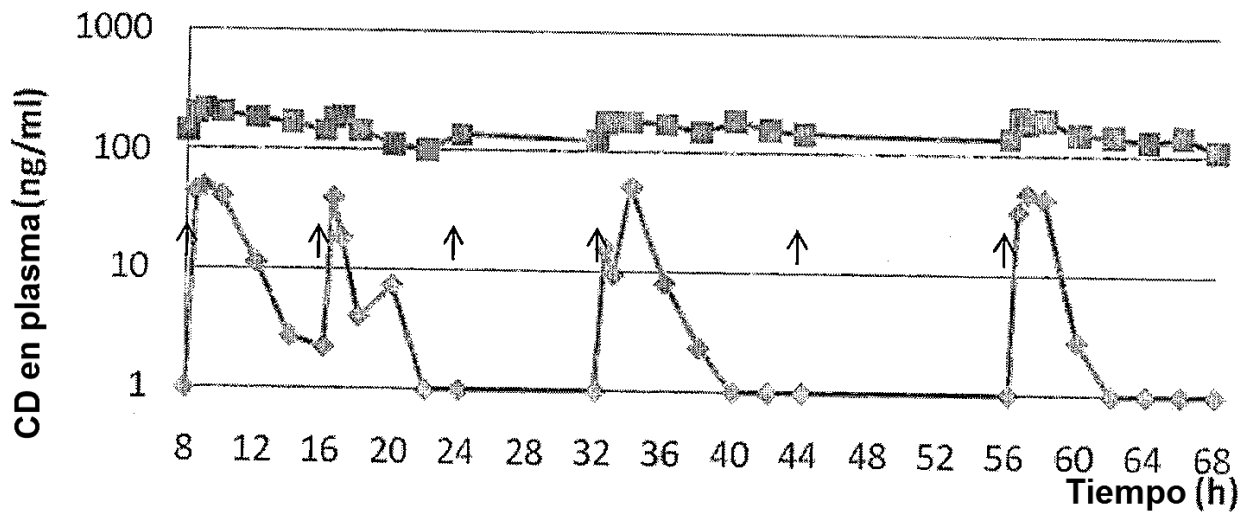
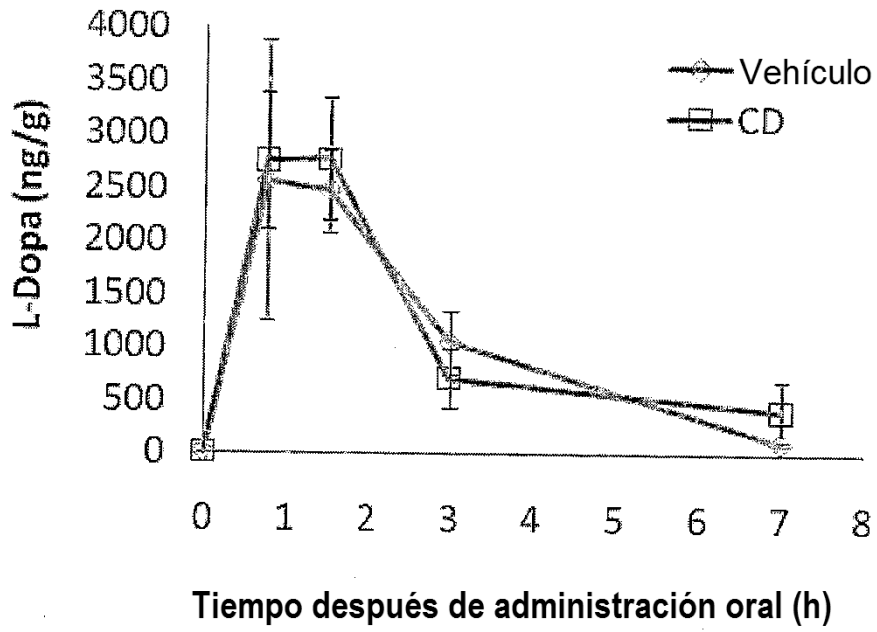


Fig. 3C

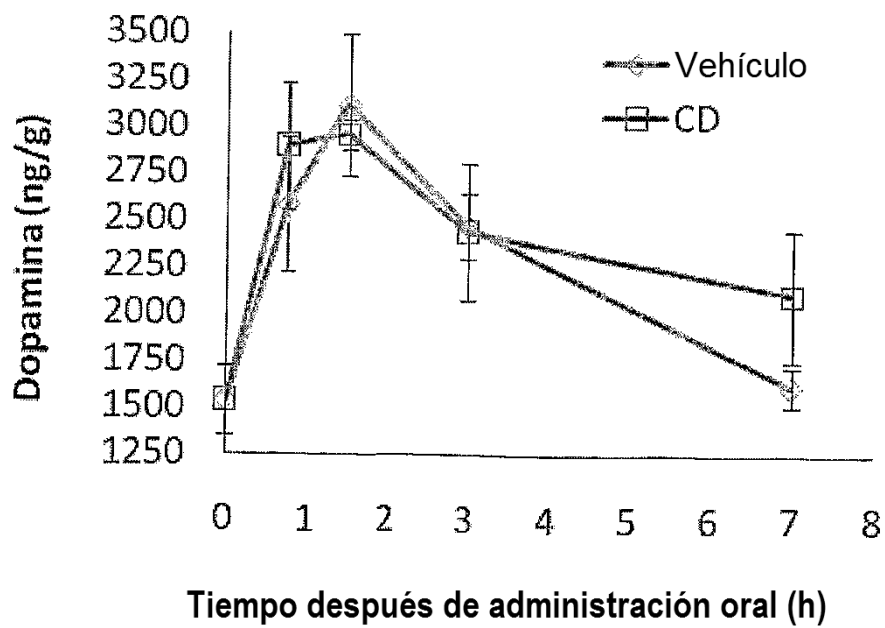




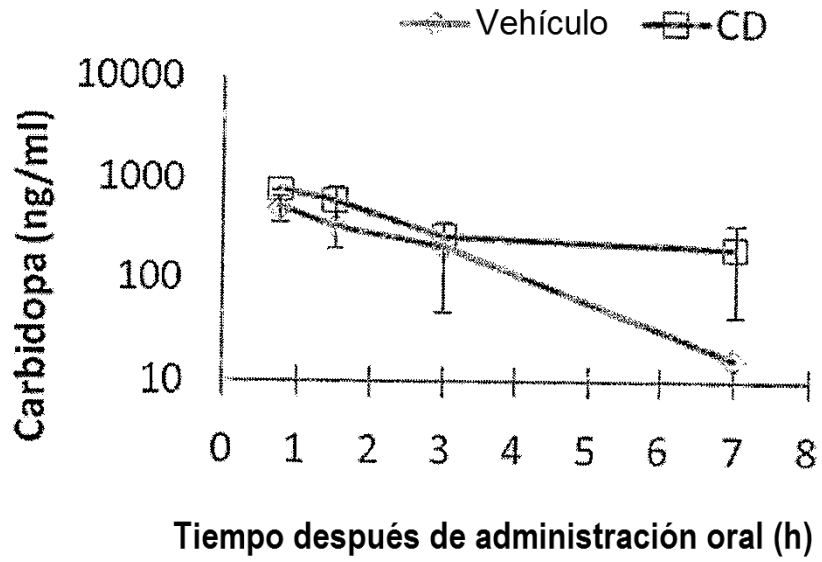
**Fig. 4A1**



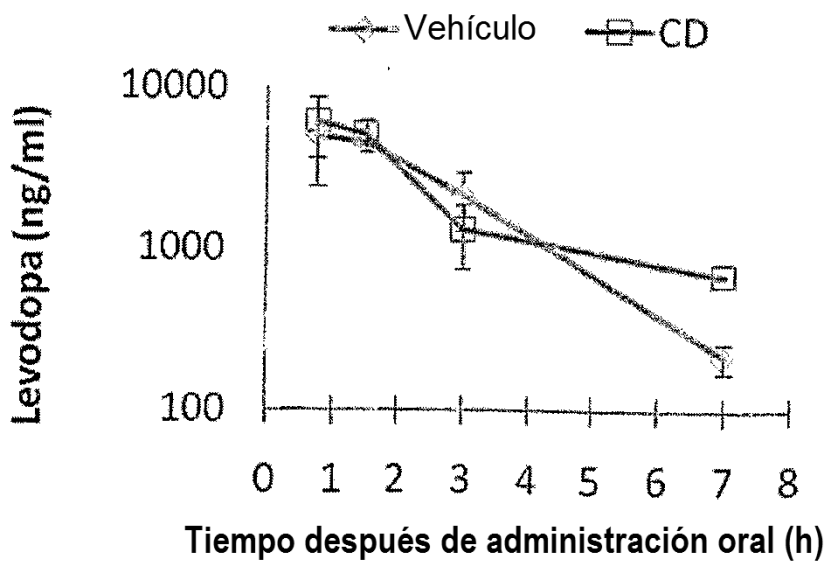
**Fig. 4A2**



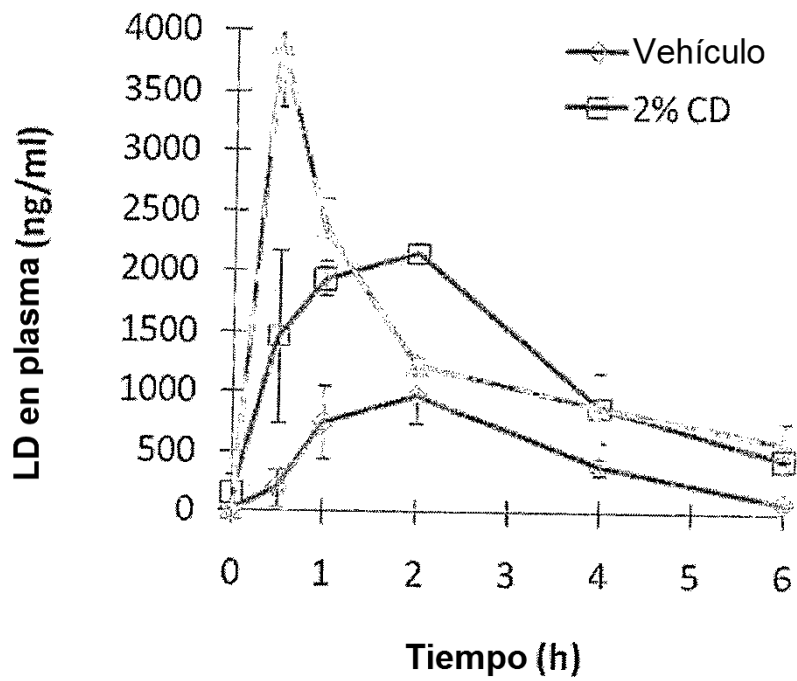
**Fig. 4B1**



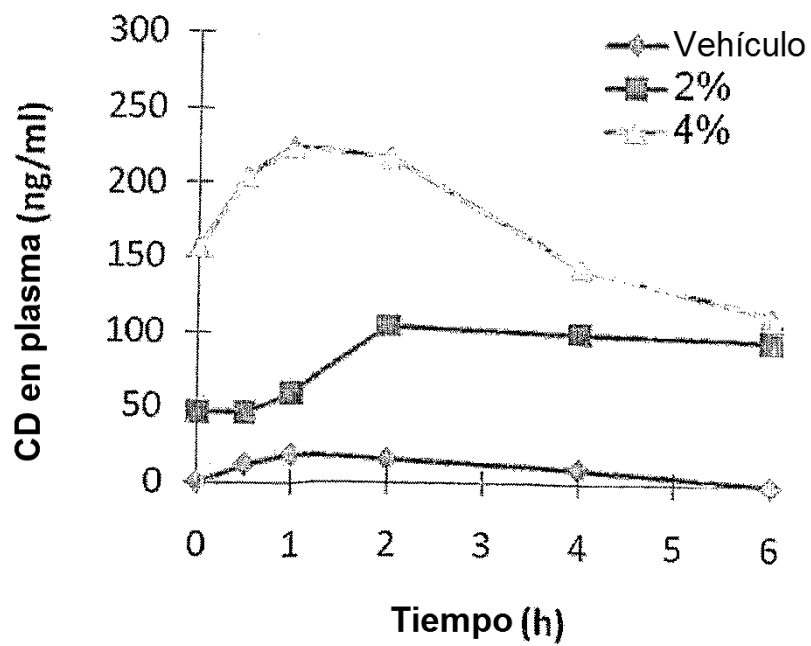
**Fig. 4B2**



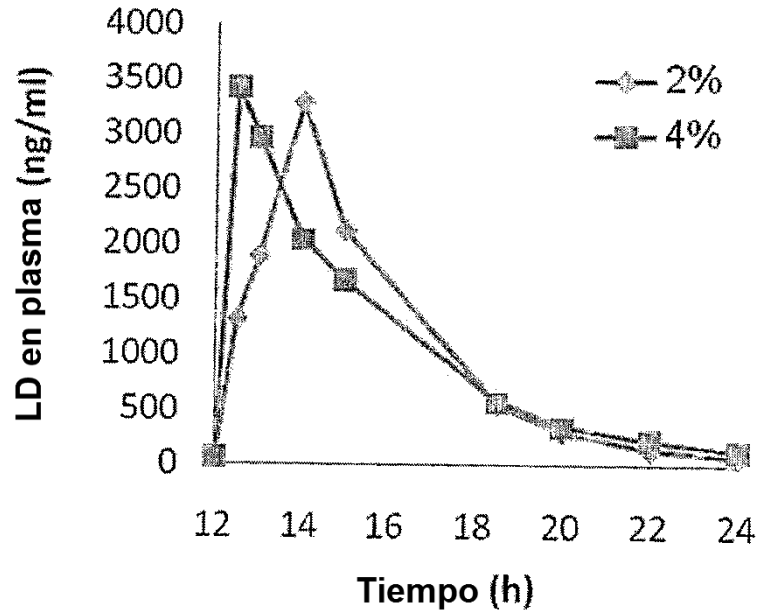
**Fig. 5A**



**Fig. 5B**



**Fig. 6A**



**Fig. 6B**

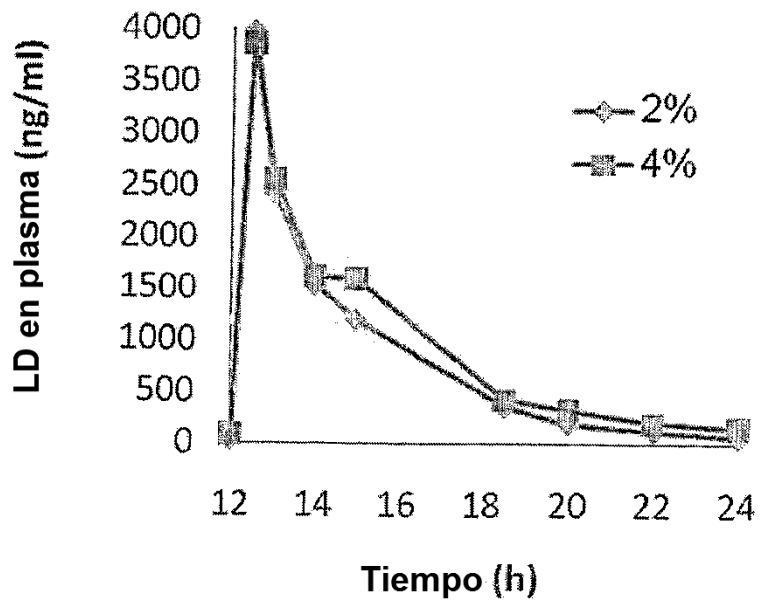
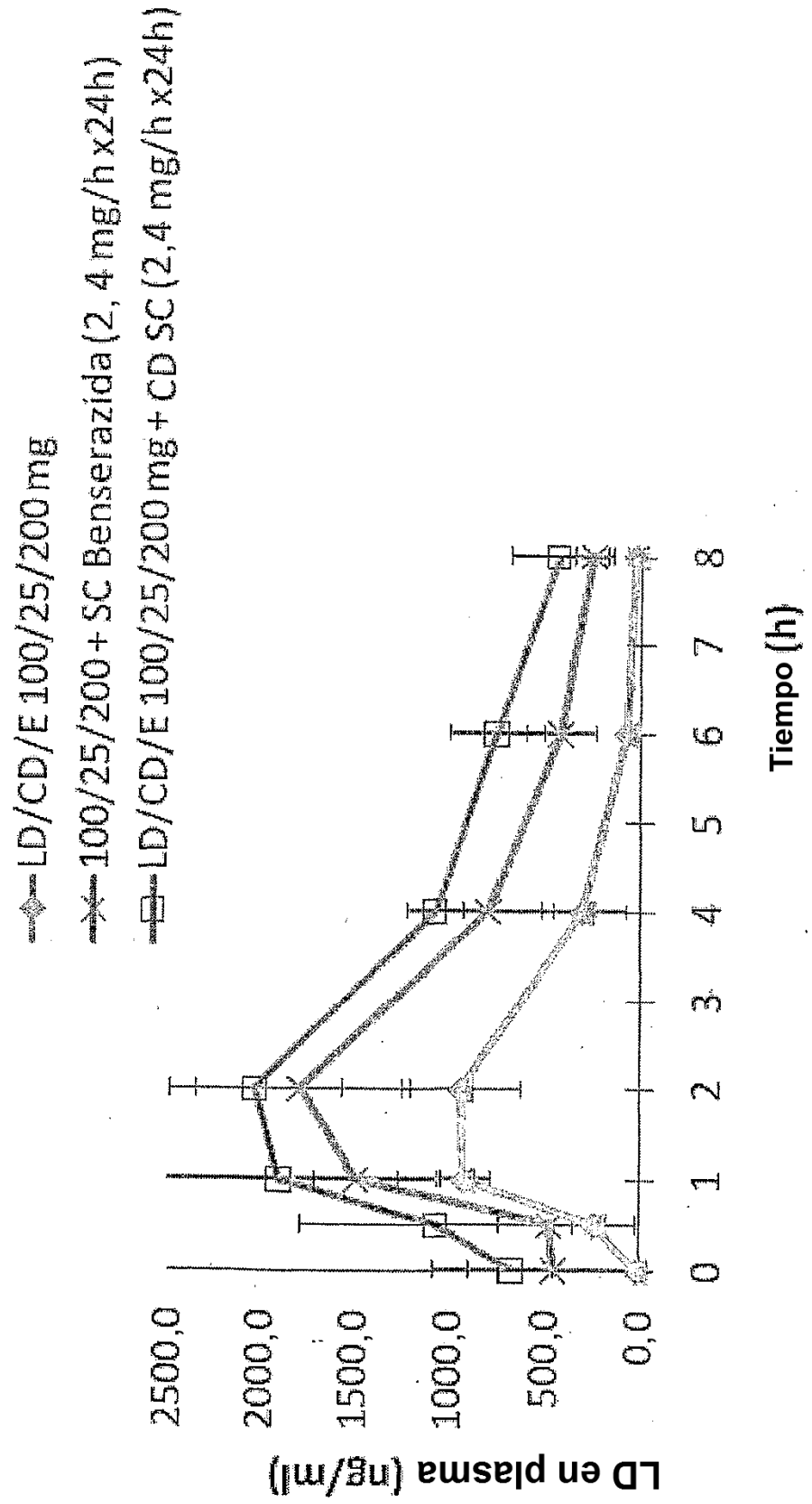
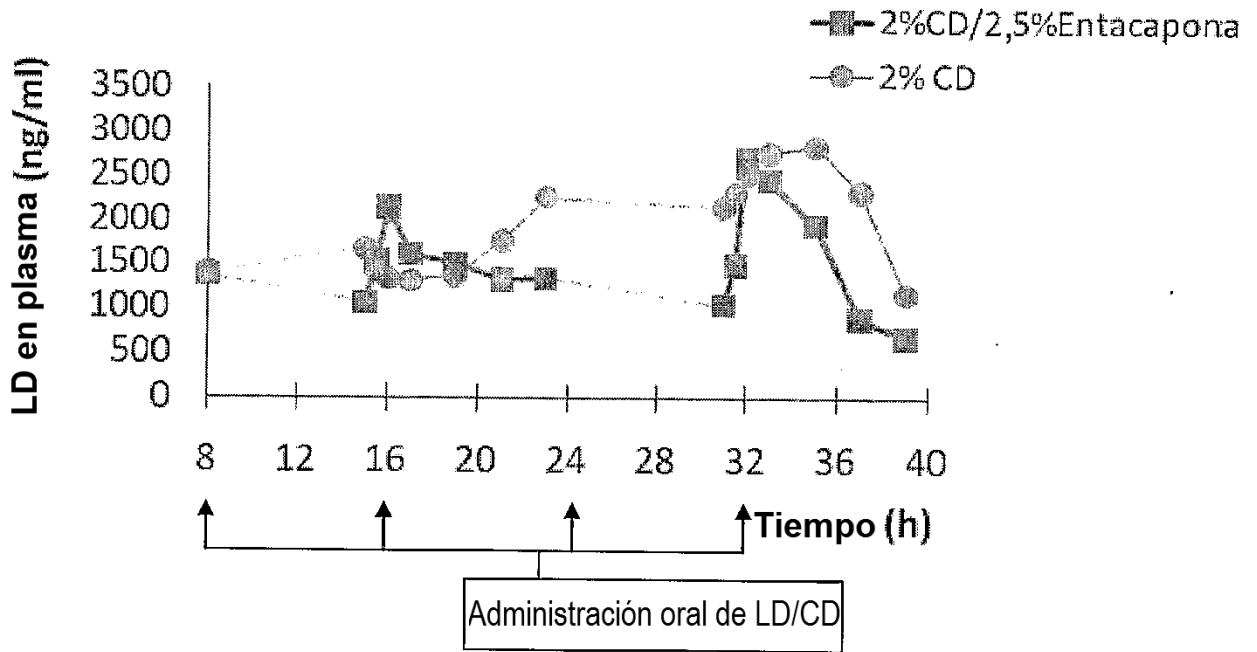


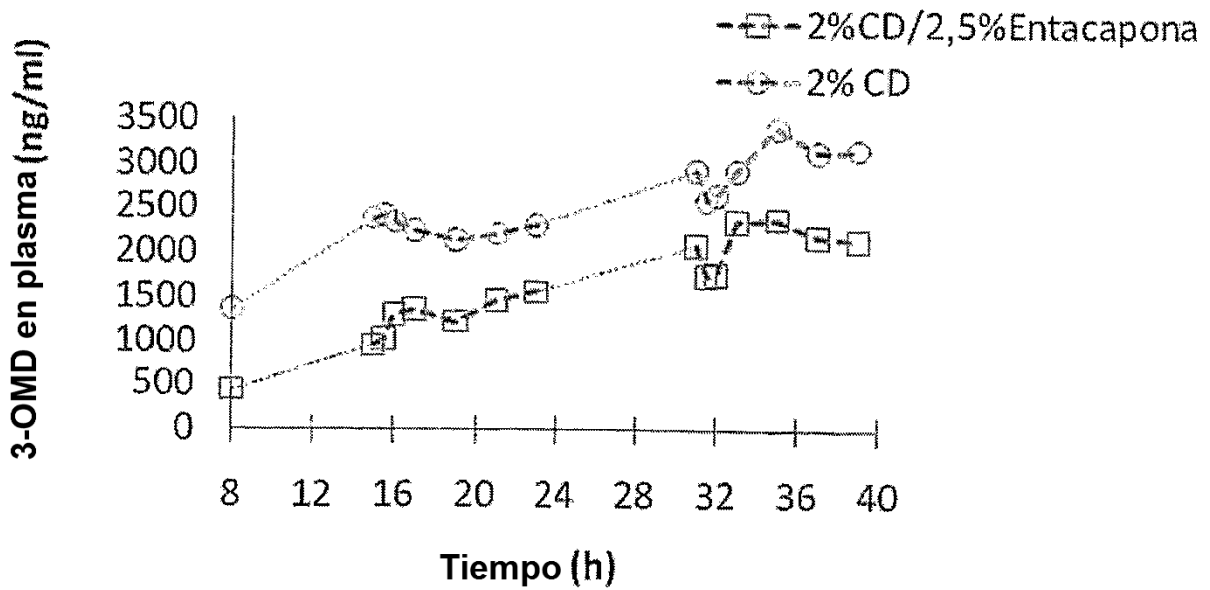
Fig. 7



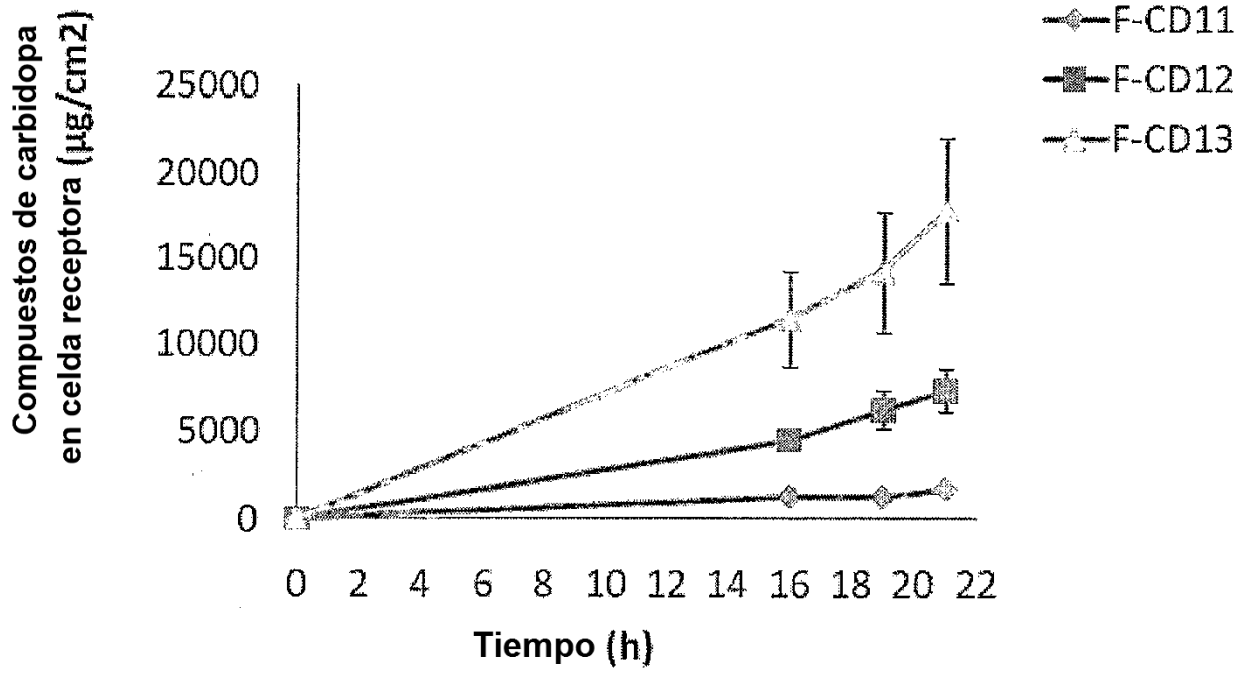
**Fig. 8A**



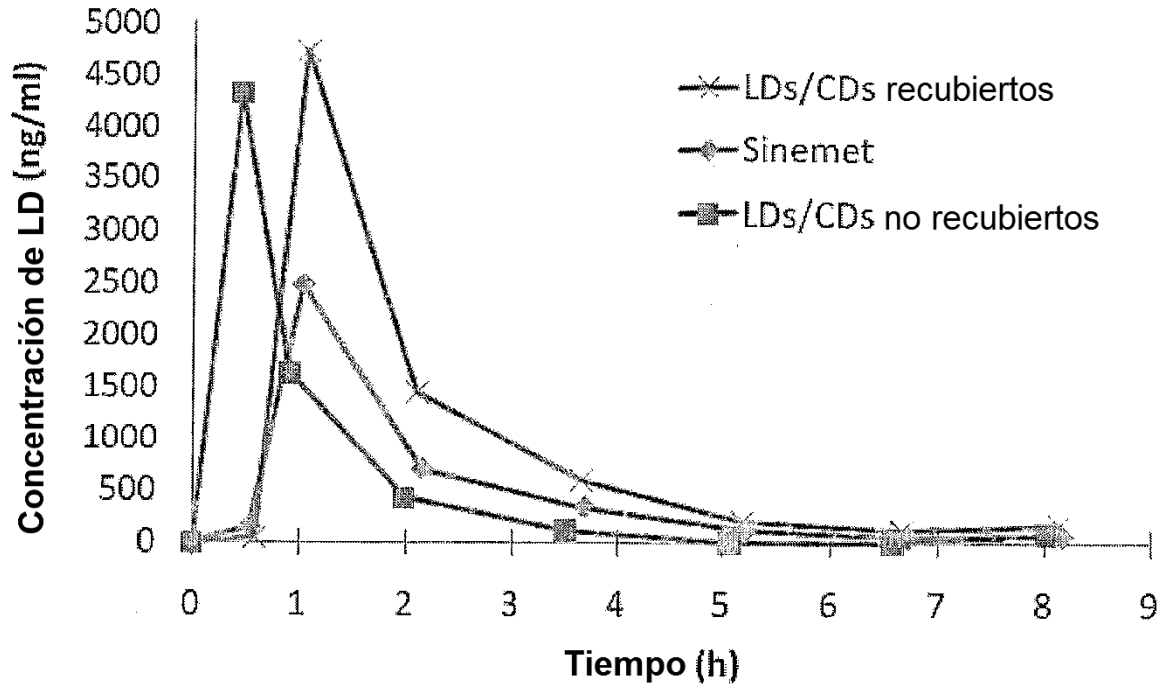
**Fig. 8B**



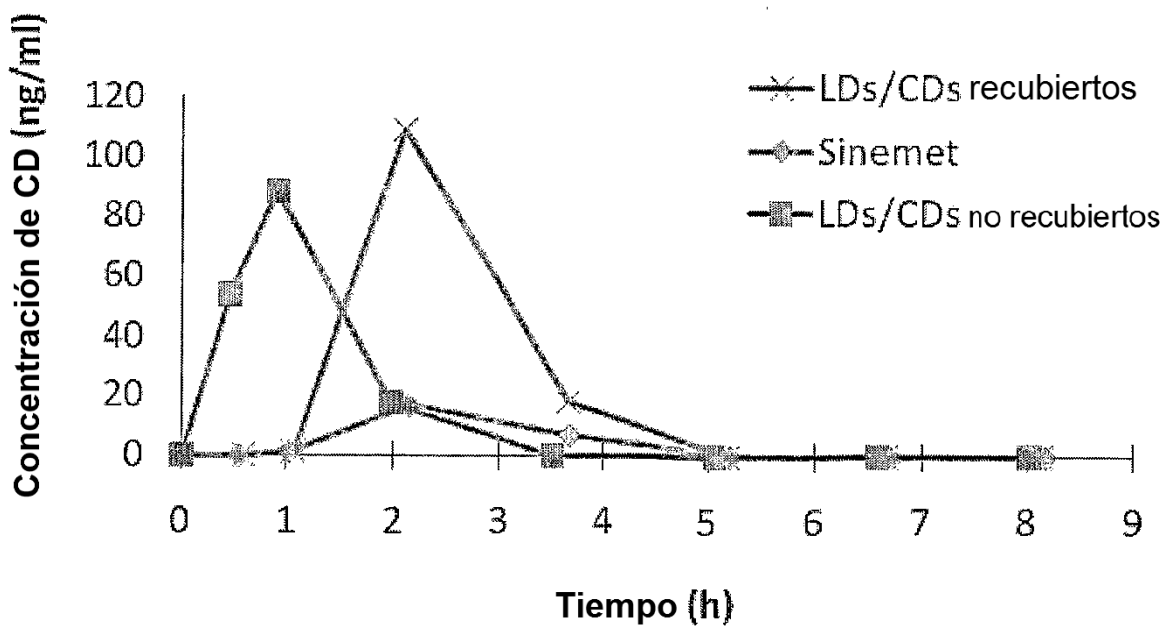
**Fig. 9**



**Fig. 10A**

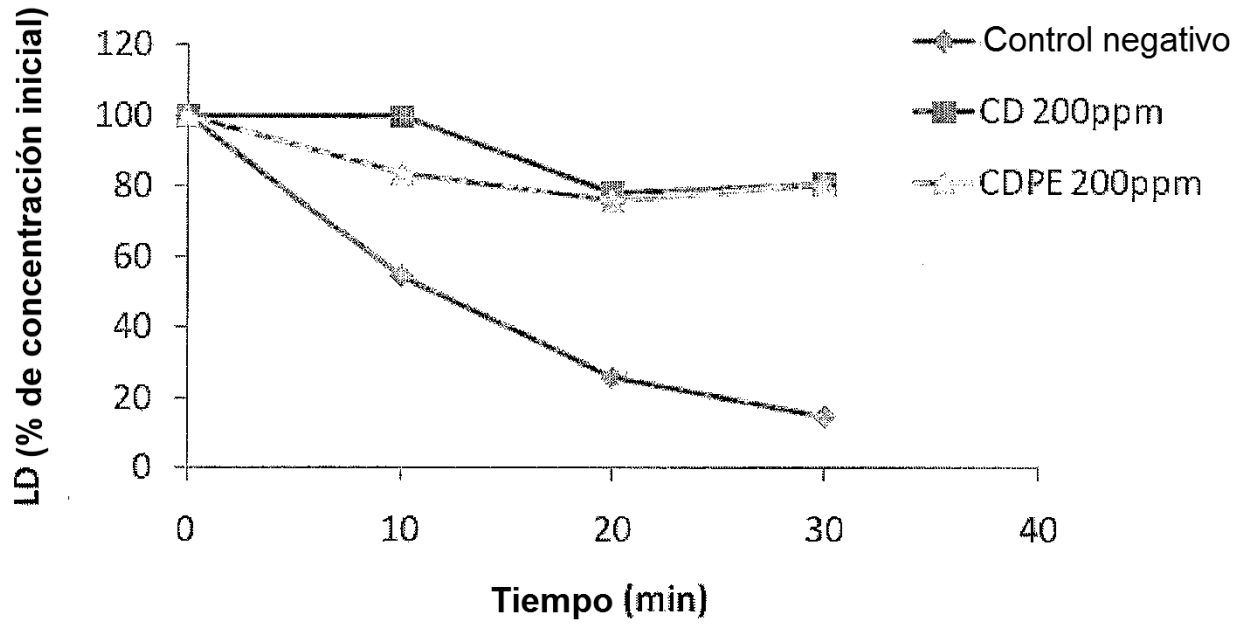


**Fig. 10B**

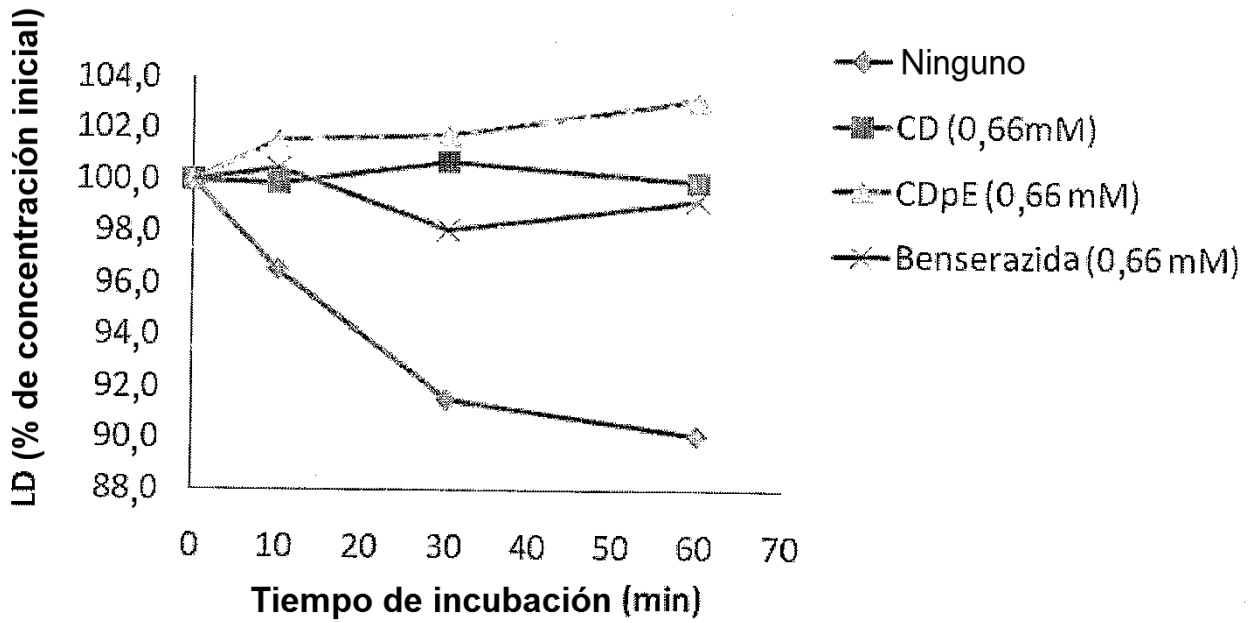




**Fig. 11**



**Fig. 12A**



**Fig. 12B**

