

Clarke, Modet & C^o
COLOMBIA

SEÑORES

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

E.

S.

D.

100
100

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 00048944 00000001
Fecha (AMD): 2005-12-12 16:45:36 Folios: 30
Trámite : OMC PATENTES D 1 REGISTRO/ 444 REPUESTA
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

COD:08

RE.: SOLICITUD DE PATENTE EN COLOMBIA

EXPEDIENTE N° **00-48944**

TITULO: NUEVA COMPOSICION FARMACEUTICA

SOLICITANTE: ORION CORPORATION

FECHA SOLICITUD: 29 DE JUNIO DE 2000

ASUNTO: CONTESTACIÓN A REQUERIMIENTO OFICIAL

DILIA RODRIGUEZ D'ALEMAN, en mi condición de apoderada de la sociedad solicitante, por el presente escrito doy respuesta a su auto notificado por estado de 15 DE SEPTIEMBRE DE 2005 y vence 14 DE DICIEMBRE DE 2005 y me permito presentar los siguientes documentos y aclaraciones:

1. Ahtila et al.: 'Effect of entacapone, a COMT inhibitor, on the pharmacokinetics and metabolism of levodopa after administration of controlled-release levodopa-carbidopa in volunteers'. Clin. Neuropharmacol (1995 Feb) 18:46-57
2. Deleu et al.: 'The effect of carbidopa and entacapone pretreatment and the L-dopa pharmacokinetics and the metabolism in blood plasma and skeletal muscle in beagle dog: an in vivo microdialysis study'. J Pharmacol Exp Ther (1995 Jun) 273:1323-31
3. Smith et al.: 'Entacapone enhances levodopa-induced reversal of motos disability

Clarke, Modet & C^o
COLOMBIA

in MPTP-treated common marmosets'. Mov Disord (1997 Nov) 12:935-45

4. Burguera et al.: 'Entacapone: is it useful as complimentary treatment with levodopa. Rev Neurol 28:817-34

El solicitante desea aprovechar la oportunidad para efectuar las siguientes aclaraciones en relación con la información divulgada en los documentos que se anexan a este memorial.

Las molestias del paciente se mejoran significativamente usando una dosis fija de la combinación de entacapona, levodopa y carbidopa, en vez de tomar dos tabletas separadas, esto es una tableta de entacapona y una tableta de levodopa-carbidopa, muchas veces al día, como se plantea en el estado de la técnica.

De acuerdo con esto, el objetivo de la presente invención es proporcionar **una composición sólida oral** que comprende cantidades farmacéuticamente efectivas de entacapona, levodopa y carbidopa, o sales o hidratos farmacéuticamente aceptables de las mismas, la cual es estable además de permitir la suficiente absorción de los tres ingredientes activos.

Los documentos requeridos por el Examinador manifiestan la administración **combinada** de entacapona, levodopa y carbidopa, pero no hablan de una composición sólida oral que comprenda entacapona, levodopa y carbidopa. La actividad inventiva de la presente invención se basa en la invención de **una composición sólida oral** que comprende cantidades farmacéuticamente efectivas de entacapona, levodopa y carbidopa, o sales o hidratos farmacéuticamente efectivos de las mismas, que es estable y proporciona la suficiente biodisponibilidad de los tres ingredientes activos. Se explica a continuación por qué no es obvio para una persona experta en la técnica lograr este avance.

Las absorciones de levodopa, entacapona y carbidopa en el tracto

Clarke, Modet & C^o
COLOMBIA

gastrointestinal son altamente variables. Las biodisponibilidades de levodopa y carbidopa varían ambas intra e interindividualmente.

Ajustar las absorciones de las tres sustancias activas a partir de la misma formulación es difícil. Especialmente, ajustar la absorción de carbidopa es extremadamente difícil. El método para preparar la composición tiene un efecto significativo sobre la biodisponibilidad de carbidopa. Una formulación en la cual las tres sustancias activas fueran granuladas en húmedo juntas probó no proporcionar la suficiente absorción de carbidopa.

El solicitante ha establecido de manera sorpresiva que la biodisponibilidad de carbidopa se incrementa significativamente cuando se separa carbidopa de entacapona y levodopa usando gránulos separados de carbidopa o adicionando carbidopa extragranularmente. No existe sugerencia en los documentos solicitados por el Examinador para separar carbidopa de entacapona y levodopa en una formulación que comprende a las tres sustancias.

Adicionalmente, el solicitante ha establecido sorpresivamente que la celulosa microcristalina desestabiliza la composición cuando las tres sustancias activas, esto es entacapona, carbidopa y levodopa se combinan juntas. Este efecto desestabilizante por la celulosa microcristalina es inesperado debido a que la celulosa microcristalina ha probado ser un excipiente aceptable en el arte previo y es ampliamente utilizado en formulaciones farmacéuticas orales.

De hecho, la mayoría de las formulaciones levodopa-carbidopa disponibles en el mercado contienen celulosa microcristalina como vehículo. De igual manera las formulaciones de entacapona Comtess® y Comtan® contienen cantidades considerables de celulosa microcristalina.

Las composiciones que contienen a las tres sustancias activas fueron también

103 5
109

Clarke, Modet & C^o
COLOMBIA

probadas en el arte previo como incompatibles con un gran número inesperado de otros excipientes farmacéuticos ampliamente aceptados tales como dióxido de silicio coloidal, copolividona, y excipientes activos de superficie tales como polietilenglicol, polisorbato y lauril sulfato de sodio. El almacenamiento de larga duración de la composición es imposible por las incompatibilidades encontradas.

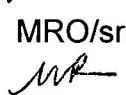
Las incompatibilidades descubiertas son inesperadas también debido a que las sustancias activas como tales, han probado ser compatibles entre sí usando estudios microcalorimétricos y análisis químicos de productos de degradación.

De esta manera, la determinación de excipientes que no desestabilizan las composiciones que comprenden las tres sustancias activas no pueden ser referidas como obvias por una persona experta en la técnica tomando en consideración el largo número de excipientes farmacéuticamente aceptables conocidos en la técnica.

La enseñanza técnica explicada arriba es nueva y no puede ser derivada a partir de los documentos solicitados por el Examinador.

Agradezco continuar con el presente trámite.

Señor Jefe,


DILIA RODRIGUEZ D'ALEMAN
MRO/srch


104 X
H

Clinical Neuropharmacology
Vol. 18, No. 1, pp. 46-57
© 1995 Raven Press, Ltd., New York

Effect of Entacapone, a COMT Inhibitor, on the Pharmacokinetics and Metabolism of Levodopa After Administration of Controlled-Release Levodopa-Carbidopa in Volunteers

S. Ahtila, *S. Kaakkola, A. Gordin, K. Korpela, S. Heinävaara,
M. Karlsson, T. Wikberg, †P. Tuomainen, and †P. T. Männistö

Orion Research Center, Orion-Farmos, Espoo; Departments of *Neurology and
†Pharmacology and Toxicology, University of Helsinki, Helsinki, Finland

Summary: We studied the effect of entacapone, a catechol-*O*-methyltransferase (COMT) inhibitor, on the pharmacokinetics and metabolism of levodopa after administration of a controlled-release (CR) levodopa-carbidopa preparation (Sinemet CR) in an open, randomized trial in 12 healthy male volunteers. The inhibition of soluble COMT (S-COMT) in red blood cells (RBCs) was also measured. Single graded doses of entacapone (100-800 mg) were administered concomitant with a single oral dose of CR levodopa, or CR levodopa was given without entacapone (control treatment), at least 1 week apart. Plasma concentrations of levodopa, 3-*O*-methyldopa (3-OMD), 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC), homovanillic acid (HVA), carbidopa, and entacapone were determined for pharmacokinetic calculations. Entacapone decreased dose-dependently the activity of S-COMT in RBCs with a maximal inhibition of 66% after the highest dose (800 mg). Entacapone increased the area under the plasma concentration-time curve (AUC) of levodopa; the increase was highest (33%) after the 400-mg dose. Entacapone did not influence time to maximal concentration (T_{max}) of levodopa. Entacapone was absorbed faster than levodopa from the CR preparation. The AUCs of 3-OMD and HVA decreased and that of DOPAC increased dose-dependently after entacapone, maximally by 69, 38, and 74%, respectively. Higher doses of entacapone (400 mg and 800 mg) decreased the AUC, but not T_{max} of carbidopa. Over the dose range studied, entacapone was well tolerated. Entacapone is an effective COMT inhibitor. It improves the pharmacokinetic profile of levodopa when used in combination with a CR levodopa preparation, as it does with a standard levodopa preparation. The results justify further clinical studies with entacapone in combination with CR preparations of levodopa. **Key Words:** Entacapone—COMT inhibition—Levodopa—Controlled-release—Carbidopa—Healthy volunteers.

Address correspondence and reprint requests to Dr. S. Ahtila, Orion Research Center, Orion-Farmos, FIN-02101 Espoo, Finland.

Levodopa is the basic medication for Parkinson's disease (PD). However, after chronic treatment for a few years, the frequency of motor fluctuations starts to increase. The reasons for the fluctuation episodes are not completely understood (1) but may be in part related to oscillating plasma levodopa levels (2,3). Therefore, strategies have been designed to prolong and smooth the plasma levels of levodopa. A controlled-release (CR) preparation of levodopa, such as Sinemet CR, is one of the possibilities now available for fluctuating patients.

The main clinical advantage of CR levodopa preparations is that the patients can take them less frequently and experience fewer "off" periods than when taking standard levodopa preparations (4). Their major drawbacks are the delayed and sometimes erratic absorption and the higher total daily dose of levodopa (up to 30%) as compared with standard levodopa (5-7). One cause for the lower bioavailability is the metabolism of levodopa to 3-O-methyldopa (3-OMD), catalyzed by catechol-O-methyltransferase (COMT), the activity of which is highest in the liver, kidney, and gut (8,9). It has been shown that the plasma levels of 3-OMD stay higher during treatment with CR levodopa than during treatment with standard levodopa (5). 3-OMD has the potential to be clinically harmful in patients with PD (10,11).

To cut down the formation of 3-OMD and to enhance the bioavailability of levodopa, new and potent COMT inhibitors have been developed (12,13). Entacapone [(E)-2-cyano-3-(3,4-dihydroxy-5-nitrophenyl)-N,N-diethyl-2-propenamide, OR-611] is a reversible and peripherally acting COMT inhibitor (14,15). It is currently studied as a potential antiparkinsonian agent administered concomitant with standard levodopa-dopa decarboxylase inhibitor (DCI) preparations in patients with PD (16-19).

In healthy volunteers, single oral doses of entacapone have produced a dose-dependent and reversible inhibition of the activity of soluble COMT (S-COMT) in red blood cells (RBCs), up to 82% after an 800-mg dose (20). Oral doses of entacapone (50-400 mg) have increased the area under the plasma concentration-time curve (AUC) of levodopa up to 65% and decreased that of 3-OMD up to 58% (21). In parkinsonian patients, the increase in the AUC of levodopa has varied between 33 and 46% after a single dose of 200 mg of entacapone even though maximal concentration (C_{max}) has not increased (16-18). Entacapone is rapidly absorbed after oral administration; its T_{max} value varies from 0.4 to 0.9 h after different doses (100-800 mg); its initial elimination half-life is 0.3-0.4 h, and terminal half-life, 1.6-3.4 h (20).

Our study was carried out to evaluate the effects of graded single doses (100-800 mg) of entacapone on the pharmacokinetics and metabolism of levodopa, given as a CR preparation of levodopa-carbidopa, in healthy volunteers. The effect of entacapone on the activity of S-COMT in RBCs and the pharmacokinetics of carbidopa and entacapone were also assessed.

METHODS

Subjects

After giving written informed consent, 12 healthy male subjects entered and completed the study. Their age was 24 ± 2 years (mean $\pm$ SD); weight, 74 ± 8 kg;

105
Ht

and height, 182 ± 3 cm. The subjects were non-smokers, without any history of major physical or psychiatric illnesses, and had been without any medication for at least 4 weeks. No abnormalities were detected in their clinical and laboratory safety results including electrocardiography (ECG). The study was approved by the Ethics Committee of Orion-Farmos and followed the guidelines of the Declaration of Helsinki.

Study Design

The study had an open, single graded-dose cross-over design with five 1-day treatment periods. The subjects were randomly assigned to treatment sequences using replicated Latin squares (William's squares). There was a wash-out period of at least 1 week between the treatment sequences. Entacapone (Orion-Farmos, Finland) was combined to a CR levodopa-carbidopa preparation (Sinemet CR, Merck Sharp & Dohme, USA). Graded doses (100, 200, 400, and 800 mg) of entacapone were administered simultaneous with a single dose of 200/50 mg CR levodopa-carbidopa, or the CR preparation was administered without entacapone (control treatment).

In the mornings of study days, after an overnight fast, a short intravenous cannula with mandrin was inserted into an antecubital vein for blood sampling. At 8 a.m., the subjects ingested their study drugs with 250 ml of water. They continued to fast until 4 h after the drug intake.

Blood samples (10 ml into EDTA tubes) for the determination of plasma concentrations of levodopa, 3-OMD, dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC), homovanillic acid (HVA), carbidopa, and entacapone were taken before (0 min) and 15, 30, 45, 60, and 90 min and 2, 3, 4, 5, 6, 8, and 10 h after the intake of study drugs.

The plasma was promptly separated by centrifugation for 10 min at $+4^{\circ}\text{C}$. For the determination of levodopa, its metabolites, and carbidopa, 500 μl of plasma was mixed with 25 μl of 10% (wt/vol) sodium metabisulfite solution, and the samples were stored at -70°C until analysis. For the determination of entacapone, about 1 ml of plasma was stored frozen at -20°C until analysis.

Blood samples (1 ml into EDTA tubes) for the determination of S-COMT in RBCs were taken before the intake of study drugs (0 sample) and 1 h thereafter. After removing plasma by centrifugation at $+4^{\circ}\text{C}$, the RBCs were washed with three volumes of ice-cold 0.9% NaCl. After three washings, the cells were stored at -80°C .

A blood sample for the determination of hematological and clinical chemistry variables for safety was taken after the last treatment sequence. Blood pressure and heart rate were followed-up throughout the study days. Adverse events were actively inquired before and only once about 10 h after the intake of study drugs; also all spontaneously reported adverse events were recorded.

Bioanalytical Determinations

For simultaneous determination of plasma levodopa, 3-OMD, DOPAC, HVA, and carbidopa, an ion-pair, reversed-phase, high-performance liquid chromatographic (RP-HPLC) method was used (22). For all analytes, the intraassay coef-

ficient of variation (CV) ($n = 8$) was $<4\%$ at a plasma concentration of 20 ng/ml and 3% at 4,000 ng/ml.

Plasma concentrations of entacapone were determined by using an RP-HPLC method with electrochemical detection (23). The chromatographic peak heights were linear over the concentration range from 10 to 4000 ng/ml. The intraassay CV was $<4\%$ at the quantitation limit (10 ng/ml) and $<2\%$ at higher concentrations ($n = 8$).

The activity of S-COMT in RBCs was determined according to the method of Schultz et al. (25) with some modifications. The prewashed RBC samples were hemolyzed with cold 1 mM Na-phosphate buffer (1:4, vol/vol, pH 7.4). After vortexing, the samples were left standing in an ice bath for 10 min and then centrifuged for 20 min at 4°C at $20,000 \times g$. The supernatant was used immediately for S-COMT assay. An aliquot of the supernatant was diluted 1:100 with 0.9% NaCl and stored at -20°C until protein assays, according to the method of Bradford (24) with a Coomassie Protein Assay Reagent Kit (Pierce, Rockford, IL, U.S.A.). Bovine serum albumin diluted with 0.9% NaCl was used for the calibration samples.

The duplicate samples were prepared by mixing 150 μl of 0.5 M Na_2HPO_4 , pH 7.8; 75 μl of 20 mM MgCl_2 ; 150 μl of 1 mM *S*-adenosyl-L-methionine iodide salt; 300 μl enzyme preparation; and 75 μl of 4 mM 3,4-dihydroxybenzoic acid as the enzyme substrate. The samples were incubated in a water bath at 37°C for 60 min. The reaction was stopped by adding 75 μl of ice-cold perchloric acid to the sample. After 10 min, the samples were centrifuged at 4°C (10 min, 5,000 rpm). The supernatant, containing the reaction products, was transferred to a 1-ml plastic syringe and filtered (Acrodisc LC PVDF, 0.45 μm) into an autosampler vial for further HPLC analysis.

The final result, the specific enzyme activity, was expressed in picomoles of vanillic acid formed per 1 min and per milligram protein (pmol of product/min/mg protein). The intraassay CV of the whole procedure was $<10\%$, and the between-day CV, $<15\%$.

Pharmacokinetic and Statistical Analyses

The pharmacokinetic parameters were calculated using standard methods (26). The maximal plasma concentrations (C_{max}) and the time to reach them (T_{max}) were determined by visual inspection of individual plasma levels of levodopa, DOPAC, HVA, carbidopa, and entacapone. The AUC was calculated using the linear trapezoidal rule from time zero to 10 h, $\text{AUC}_{(0-10\text{h})}$, for levodopa and 3-OMD, from time zero to the last quantifiable concentration, $\text{AUC}_{(0-\text{last})}$, for DOPAC, HVA, carbidopa, and entacapone. The AUC values of entacapone were also normalized for a 100-mg dose. The elimination rate constant (λ) of levodopa was calculated from the slope of the linear regression of the terminal portion of the log plasma concentration-time curve. The terminal elimination half-life ($T_{1/2}$) was calculated from the ratio $\ln 2/\lambda$.

The statistical comparisons between the effects of different doses of entacapone, administered concomitant with the CR preparation, and CR preparation

106
#7

alone on pharmacokinetic parameters were performed by means of analysis of variance (ANOVA) for a cross-over design (27). Discrete $T_{\max}$ parameter was analyzed both parametrically after logarithm transformation and nonparametrically. These analyses led to the same results. In pairwise comparisons, the parameters obtained after administration of CR preparation alone were used as controls. Pairwise comparisons were carried out using orthogonal contrasts and 95% confidence intervals for mean differences. The correlation between the maximal S-COMT inhibition (%) and the logarithm of entacapone dose and the AUC of 3-OMD was evaluated by calculating individual Pearson's correlation coefficients (r) with respective p values. Statistical analyses were carried out using SAS software (SAS Institute, Cary, NC, U.S.A.).

RESULTS

Inhibition of S-COMT in RBCs

The activity of S-COMT in RBCs at baseline before intake of study drugs and 1 h thereafter is presented in Fig. 1. The activity of S-COMT was dose-dependently inhibited by entacapone. The mean inhibition of S-COMT activity was statistically significant with each dose of entacapone compared to CR levodopa alone ($p < 0.001$). The highest inhibition, 66%, was obtained after the 800-mg dose; the other inhibition percentages were 36 (100 mg), 42 (200 mg), and 56% (400 mg). For each patient, Pearson's correlation coefficient (r) with respective p value was calculated between the logarithm of entacapone dose and the maximal inhibition of S-COMT (%). Another coefficient was calculated between the AUC of 3-OMD and the maximal inhibition of S-COMT. There was a clear correlation between the logarithm of entacapone dose and the maximal inhibition of S-COMT in all but one subject (Table 1). A significant negative correlation was observed between the AUC of 3-OMD and the maximal inhibition of S-COMT in most of the subjects (Table 1).

Pharmacokinetic Parameters of Levodopa and Its Metabolites

The mean plasma concentration-time curves of levodopa are presented in Fig. 2. The AUCs of levodopa, 3-OMD, DOPAC, and HVA are shown in Table 2, and

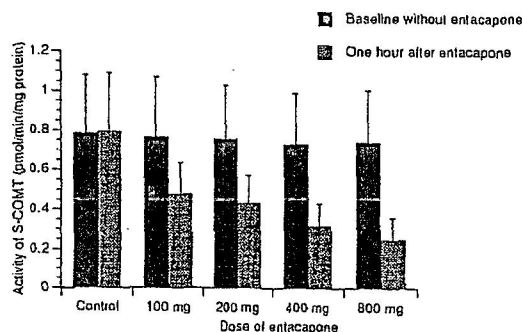


FIG. 1. Activity of soluble catechol-O-methyltransferase (S-COMT) (pmol/min/mg protein) in red blood cells at baseline and 1 h after a single oral dose of 200/50 mg of a controlled-release levodopa-carbidopa preparation administered without entacapone (control) or concomitant with graded doses of entacapone in healthy volunteers (mean $\pm$ SD, $n = 12$).

TABLE 1. Individual Pearson's correlation coefficients (r) and respective p values between logarithm dose of entacapone ($\log_{\text{dose}}$) and maximal S-COMT inhibition (%), and between AUC of 3-OMD ($\text{AUC}_{3\text{-OMD}}$) and maximal S-COMT inhibition (%)

	Subject											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
$r(\log_{\text{dose}})$	0.95	0.94	0.99	0.83	0.92	0.97	0.91	0.96	0.72	0.99	0.94	0.96
p	0.053	0.059	0.006	0.168	0.077	0.033	0.095	0.035	0.281	0.001	0.065	0.036
$r(\text{AUC}_{3\text{-OMD}})$	-0.91	-0.87	-0.99	-0.96	-0.85	-0.70	-0.99	-0.89	-0.14	-0.97	-0.96	-0.91
p	0.093	0.135	0.012	0.044	0.149	0.297	0.014	0.107	0.862	0.033	0.039	0.095

S-COMT, soluble catechol-O-methyltransferase; AUC, area under the plasma concentration-time curve; 3-OMD, 3-O-methyldopa.

107
HJ

the other pharmacokinetic parameters, in Table 3. A significant increase in the AUC of levodopa was observed after the 200- and 400-mg doses of entacapone compared with CR levodopa alone. The AUC of levodopa increased linearly with the dose of entacapone up to 400 mg (33%) but was lower with the 800-mg dose. The C_{max} of levodopa was significantly increased only by the 400-mg dose of entacapone. No significant changes in the T_{max} values of levodopa were observed after administration of entacapone. The elimination half-life of levodopa was not changed by entacapone, with the exception of a slight reduction after the 400-mg dose (Table 3).

The mean plasma concentration-time curves of 3-OMD are presented in Fig. 3. The AUC of 3-OMD was significantly decreased after all doses of entacapone compared with CR levodopa alone (Table 2). The decreases were 32, 39, 50, and 69% with the doses of 100, 200, 400, and 800 mg of entacapone.

The AUC and C_{max} of DOPAC increased, whereas the AUC of HVA decreased significantly after all doses of entacapone (Tables 2 and 3). Entacapone delayed the T_{max} of HVA and, after the highest doses (400–800 mg), also that of DOPAC (Table 3).

Pharmacokinetic Parameters of Carbidopa

There were no differences in the AUCs of carbidopa between the control and the 100- and 200-mg doses of entacapone. The AUC of carbidopa decreased significantly after the doses of 400 and 800 mg of entacapone (Table 2). C_{max} decreased statistically significantly with the 800-mg dose, but no change in T_{max} was found (Table 3).

Pharmacokinetic Parameters of Entacapone

The AUC and C_{max} of entacapone increased with the increasing doses of entacapone (Tables 2 and 3). Statistical analysis based on the dose-standardized AUC values revealed a significant increase after the 400- and 800-mg doses of entacapone (Table 2). The absorption of entacapone slowed with increasing doses of entacapone, as shown by the higher T_{max} values (Table 3).

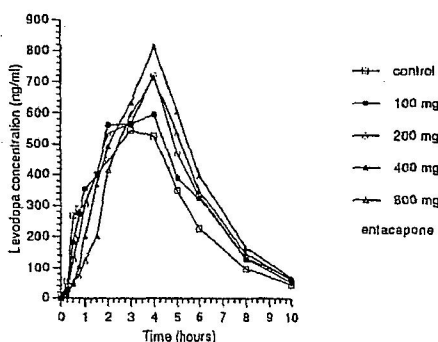


FIG. 2. Plasma concentrations of levodopa after a single oral dose of a 200/50 mg of a controlled-release levodopa-carbidopa preparation administered without entacapone (control) or concomitant with graded doses of entacapone in healthy volunteers (mean, $n = 12$; SEMs were omitted for clarity, but they were $< \pm 15\%$).

TABLE 2. The AUCs of levodopa, 3-OMD, DOPAC, HVA, carbidopa, and entacapone after a dose of 200/50 mg controlled-release levodopa/carbidopa administered without entacapone (control) or concomitant with graded doses of entacapone in healthy volunteers (mean $\pm$ SD)

	Dose of entacapone (mg)				
	Control	100 mg	200 mg	400 mg	800 mg
Levodopa ^{a,b}	2,798 $\pm$ 564	3,217 $\pm$ 643	3,386 $\pm$ 692 ^d	3,721 $\pm$ 980 ^e	3,216 $\pm$ 985
3-OMD ^{a,b}	5,120 $\pm$ 835	3,509 $\pm$ 732 ^e	3,108 $\pm$ 626 ^e	2,546 $\pm$ 651 ^e	1,601 $\pm$ 455 ^e
DOPAC ^{a,c}	220 $\pm$ 106	480 $\pm$ 124 ^e	553 $\pm$ 128 ^e	655 $\pm$ 123 ^e	844 $\pm$ 193 ^e
HVA ^{a,c}	912 $\pm$ 265	804 $\pm$ 169 ^d	743 $\pm$ 212 ^e	663 $\pm$ 156 ^e	563 $\pm$ 186 ^e
Carbidopa ^{a,c}	336 $\pm$ 155	386 $\pm$ 90	389 $\pm$ 247	288 $\pm$ 171 ^f	239 $\pm$ 109 ^e
Entacapone ^{a,c}	—	621 $\pm$ 152	1,349 $\pm$ 323	2,968 $\pm$ 692 ^d	7,235 $\pm$ 1314 ^e

AUC, area under the plasma concentration-time curve; 3-OMD, 3-O-methyldopa; DOPAC, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid; HVA, homovanillic acid.

^a Values for AUCs in hours times nanograms per milliliter.

^b AUC up to 10 h; $n = 12$.

^c AUC to the last quantifiable concentration; n at concentration-time points varies because of concentrations under quantitation limit.

^d $p < 0.01$ compared to control (entacapone: compared to 100 mg dose).

^e $p < 0.001$ compared to control (entacapone: compared to 100 mg dose).

^f $p < 0.05$ compared to control (entacapone: compared to 100 mg dose).

Safety

No significant changes were observed in safety laboratory studies or in blood pressure and heart rate. The adverse events reported were as follows: common cold symptoms, abdominal pain with possible causal relation to the study drug,

TABLE 3. Pharmacokinetic parameters of levodopa, DOPAC, HVA, carbidopa, and entacapone after a dose of 200/50 mg controlled-release levodopa/carbidopa administered without entacapone (control) or concomitant with graded doses of entacapone in healthy volunteers (mean $\pm$ SD, $n = 12$)

	Dose of entacapone (mg)				
	Control	100 mg	200 mg	400 mg	800 mg
C_{max} (ng/ml)					
Levodopa	616 $\pm$ 145	673 $\pm$ 160	804 $\pm$ 317	843 $\pm$ 217 ^a	774 $\pm$ 257
DOPAC	77 $\pm$ 33	198 $\pm$ 41 ^b	224 $\pm$ 54 ^b	249 $\pm$ 64 ^b	275 $\pm$ 50 ^b
HVA	182 $\pm$ 61	167 $\pm$ 38	164 $\pm$ 58	151 $\pm$ 31 ^c	138 $\pm$ 55 ^b
Carbidopa	94 $\pm$ 27	100 $\pm$ 34	98 $\pm$ 41	85 $\pm$ 30	74 $\pm$ 27 ^a
Entacapone	—	701 $\pm$ 313	1,307 $\pm$ 564	2,118 $\pm$ 580	4,683 $\pm$ 1538
T_{max} (h)					
Levodopa	3.21 $\pm$ 1.16	3.00 $\pm$ 0.85	3.08 $\pm$ 1.00	3.75 $\pm$ 0.62	3.83 $\pm$ 0.94
DOPAC	1.54 $\pm$ 0.98	1.46 $\pm$ 0.68	1.90 $\pm$ 0.97 ^c	2.33 $\pm$ 1.03 ^b	2.33 $\pm$ 0.62 ^b
HVA	2.56 $\pm$ 1.10	3.75 $\pm$ 0.45 ^b	4.17 $\pm$ 0.39 ^b	4.58 $\pm$ 0.79 ^b	4.67 $\pm$ 0.89 ^b
Carbidopa	4.17 $\pm$ 0.39	4.25 $\pm$ 0.45	4.08 $\pm$ 0.90	4.33 $\pm$ 0.49	4.25 $\pm$ 0.45
Entacapone	—	0.58 $\pm$ 0.19	0.81 $\pm$ 0.47 ^b	1.06 $\pm$ 0.67 ^b	1.08 $\pm$ 0.50 ^b
$T_{1/2}$ (h)					
Levodopa	1.77 $\pm$ 0.35	1.63 $\pm$ 0.35	1.68 $\pm$ 0.36	1.58 $\pm$ 0.17 ^a	1.63 $\pm$ 0.22

DOPAC, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid; HVA, homovanillic acid.

^a $p < 0.05$ compared to control (entacapone: compared to 100 mg dose).

^b $p < 0.001$ compared to control (entacapone: compared to 100 mg dose).

^c $p < 0.01$ compared to control (entacapone: compared to 100 mg dose).

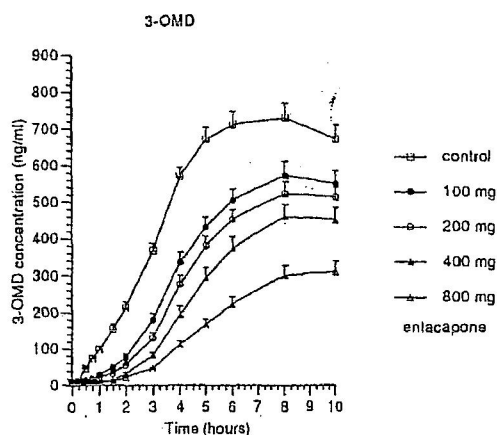


FIG. 3. Plasma concentrations of 3-O-methyldopa (3-OMD) after a single oral dose of 200/50 mg of a controlled-release levodopa-carbidopa preparation administered without entacapone (control) or concomitant with graded doses of entacapone in healthy volunteers (mean + SEM, $n = 12$).

and dizziness. In general, the adverse events reported were mild or moderate and incidental events, except for one case of persistent common cold symptoms throughout the study.

DISCUSSION

As far as we know, this is the first report of the use of entacapone in combination with a CR preparation of levodopa. Entacapone inhibited dose-dependently the COMT activity in RBCs and decreased the formation 3-OMD, a COMT-dependent metabolite of levodopa. The results confirm that entacapone is an orally active COMT inhibitor in humans. Very similar results have been obtained when entacapone alone and in combination with a standard levodopa-DCI preparation was studied in healthy volunteers (20,21). A decrease of 47% in 3-OMD AUC levels was observed in parkinsonian patients after 1 week's treatment with 200 mg of entacapone in combination with standard levodopa-DCI (t.i.d. or q.i.d.) (17). In our study, the corresponding figure was 39% after a single dose of 200 mg of entacapone. Because the decrease in 3-OMD plasma levels after entacapone correlates with the decrease in COMT activity in RBCs, the determination of 3-OMD levels is probably adequate to follow the level of COMT inhibition in clinical studies, as has been suggested also by others (28).

The AUC of levodopa was maximally increased by 33% after the 400-mg dose of entacapone, indicating improved bioavailability of levodopa. When a standard levodopa preparation was used in healthy volunteers, entacapone increased the AUC of levodopa by 65% after a 400-mg dose (21). In parkinsonian patients, a single dose of entacapone (200 mg) increased the AUC by 35–46% (16–18). Thus entacapone seems to improve the bioavailability of levodopa slightly more with a standard than with a CR preparation. The reason for this dissimilarity may be the different absorption profiles of entacapone and levodopa from a CR preparation. The absorption of entacapone was considerably faster than that of levodopa. In fact, entacapone was already mostly eliminated when the maximal plasma concentration of levodopa was reached. Thus a slow release (SR) formulation of

entacapone might further improve the bioavailability of levodopa from CR preparations of levodopa. Entacapone did not significantly change the absorption rate of levodopa, as inferred from the unchanged T_{max} values. The peak concentration of levodopa was slightly increased by entacapone, in contrast to results with a standard levodopa preparation (21).

Neither in this nor in the previous study by Keränen et al. (21) was any significant change in the plasma $T_{1/2}$ of levodopa observed after entacapone. However, a prolongation of $T_{1/2}$ of levodopa has been seen in the recent studies in parkinsonian patients (16,19). Thus the major consequence of COMT inhibition seems to be the increase in the availability of levodopa, but the reduction in the elimination rate of levodopa may also be important in patients.

The AUC of DOPAC, a monoamine oxidase (MAO)-dependent metabolite of dopamine, was significantly and linearly increased after all doses of entacapone. The same was shown previously by Keränen et al. (21). This increase is due to shifting of peripheral dopamine metabolism from the COMT pathway to the MAO pathway and to the blockade of further metabolism of DOPAC to HVA (catalyzed by COMT). The AUC of plasma HVA, the end product of dopamine metabolism, was significantly and linearly decreased after all doses of entacapone and provides further evidence that entacapone is an active COMT inhibitor.

In our study, the AUC of carbidopa was significantly decreased after the 400- and 800-mg doses of entacapone, and the C_{max} of carbidopa was reduced after 800 mg of entacapone. Entacapone obviously affects the absorption of carbidopa from the gastrointestinal tract. When the dose of entacapone is increased to a certain level, this effect becomes important. The decreasing amount of carbidopa was probably insufficient to prevent the peripheral conversion of levodopa to dopamine. This was reflected as a decrease in levodopa bioavailability with the 800-mg dose of entacapone. The reduced carbidopa concentrations were reflected also as an increase in the AUC of DOPAC.

In agreement with the previous studies in healthy volunteers and parkinsonian patients (16-21), entacapone was well tolerated. No dose-related adverse events were observed in this single-dose study. Although COMT is an important enzyme in the metabolism of the endogenous catecholamines, its acute peripheral inhibition did not cause any hemodynamic effects, nor were there any laboratory abnormalities that could be attributed to entacapone.

In conclusion, entacapone was shown to be an effective COMT inhibitor. The dose-dependent inhibition of COMT activity after the acute administration of entacapone was reflected as changes in the plasma concentrations of the metabolites of levodopa and dopamine. Entacapone increased the AUC of levodopa when used with a CR preparation of levodopa-carbidopa, as it has done with standard levodopa. However, the effect on levodopa bioavailability was slightly less with the CR preparation than with standard levodopa, evidently because entacapone is absorbed and eliminated faster than levodopa. High doses of entacapone (400-800 mg) did not further improve the pharmacokinetic profile of levodopa and may decrease the absorption of carbidopa from the gastrointestinal tract. The results suggest that the optimal single dose of entacapone would be about 200 mg. Entacapone seems to be useful also in combination with a CR

109
H

formulation of levodopa and may offer a new therapeutic approach, especially in the treatment of parkinsonian patients with fluctuating response to levodopa.

REFERENCES

1. Fahn S. Fluctuations of disability in Parkinson's disease: pathophysiological aspects. In: Marsden CD, Fahn S, eds. *Movement disorders*. London: Butterworth Scientific, 1982:123-45.
2. Nutt JG. On-off phenomenon: relation to levodopa pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Ann Neurol* 1987;22:535-40.
3. Montgomery EB. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of levodopa. *Neurology* 1992;42 (suppl 1):17-22.
4. Cedarbaum JM, Silvestri M, Clark M, et al. Results of long-term treatment with controlled-release levodopa/carbidopa (Sinemet CR). *J Neural Transm Park Dis Dement Sect* 1990;2:205-13.
5. Cedarbaum JM, Lyn Breck RN, Kutt H, McDowell FH. Controlled-release levodopa/carbidopa. II. Sinemet CR4 treatment of response fluctuations in Parkinson's disease. *Neurology* 1987;37:1607-12.
6. Goetz CG, Tanner CM, Klawans HL, Shannon KM, Carroll VS. Parkinson's disease and motor fluctuations: long-acting carbidopa/levodopa (CR-4). *Neurology* 1987;37:875-8.
7. Yeh KC, August TF, Bush DF, et al. Pharmacokinetics and bioavailability of Sinemet CR: a summary of human studies. *Neurology* 1989;39(suppl 2):25-38.
8. Guldberg HC, Marsden CD. Catechol-O-methyltransferase: pharmacological aspects and physiological role. *Pharmacol Rev* 1975;27:135-206.
9. Nissinen E, Tuominen R, Perhoniemi V, Kaakkola S. Catechol-O-methyltransferase activity in human and rat small intestine. *Life Sci* 1988;42:2609-14.
10. Männistö PT, Kaakkola S. New selective COMT inhibitors: useful adjuncts for Parkinson's disease? *Trends Pharmacol Sci* 1989;10:54-6.
11. Männistö PT, Ulmanen I, Lundström K, et al. Characteristics of catechol-O-methyl-transferase (COMT) and properties of selective COMT inhibitors. *Prog Drug Res* 1992;39:291-350.
12. Bäckström R, Honkanen E, Pippuri A, et al. Synthesis of some novel potent and selective catechol-O-methyltransferase inhibitors. *J Med Chem* 1989;32:841-6.
13. Borgulya J, Bruderer H, Bernauer K, Zürcher G, Da Prada M. Catechol-O-methyltransferase-inhibiting pyrocatechol derivatives: synthesis and structure-activity studies. *Helv Chim Acta* 1989;72:952-68.
14. Nissinen E, Lindén I-B, Schultz E, Pohto P. Biochemical and pharmacological properties of a peripherally acting catechol-O-methyltransferase inhibitor entacapone. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 1992;346:262-6.
15. Kaakkola S, Wurtman R. Effects of catechol-O-methyltransferase inhibitors and L-3,4-dihydroxyphenylalanine with or without carbidopa on extracellular dopamine in rat striatum. *J Neurochem* 1993;60:137-44.
16. Myllylä VV, Sotaniemi KA, Illi A, Suominen K, Keränen T. Effect of entacapone, a novel catechol-O-methyltransferase inhibitor, on the pharmacokinetics of levodopa and cardiovascular responses in patients with Parkinson's disease. *Eur J Clin Pharmacol* 1993;45:419-23.
17. Kaakkola S, Teräväinen H, Ahtila S, Rita H, Gordin A. Effect of entacapone, a COMT inhibitor, on clinical disability and levodopa metabolism in parkinsonian patients. *Neurology* 1994;44:77-80.
18. Merello M, Lees AJ, Webster R, Bovington M, Gordin A. The effect of entacapone, a peripherally acting catechol-O-methyltransferase inhibitor, on the motor response to acute treatment with levodopa in patients with Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994;57:186-9.
19. Nutt JG, Woodward WR, Beckner RM, Stone CK, et al. Effects of peripheral catechol-O-methyltransferase (COMT) inhibitor on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of levodopa in parkinsonian patients. *Neurology* 1994;44:1913-19.
20. Keränen T, Gordin A, Karlsson M, et al. Inhibition of soluble catechol-O-methyltransferase and single dose pharmacokinetics after oral and intravenous administration of entacapone. *Eur J Clin Pharmacol* 1994;46:151-7.
21. Keränen T, Gordin A, Harjola V-P, et al. The effect of catechol-O-methyltransferase inhibition by entacapone on the pharmacokinetics and metabolism of levodopa in healthy volunteers. *Clin Neuropharmacol* 1993;16:145-56.
22. Wikberg T. Simultaneous determinations of levodopa, its main metabolites and carbidopa in plasma by liquid chromatography. *J Pharm Biomed Anal* 1991;9:167-76.
23. Karlsson M, Wikberg T. Liquid chromatographic determination of a new catechol-O-

- methyltransferase inhibitor, entacapone, and its Z-isomer in human plasma and urine. *J Pharmacol Biomed Anal* 1992;10:593-600.
24. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. *Anal Biochem* 1976;72:248-54.
 25. Schultz E, Nissinen E, Kaakkola S. Determination of catechol-O-methyltransferase activity in erythrocytes by high performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Biomed Chromatogr* 1989;1:64-7.
 26. Gibaldi M, Perrier D. *Pharmacokinetics*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker, 1982.
 27. Jones B, Kenward M. *Design and analysis of cross-over trials*. London: Chapman and Hall, 1989.
 28. Zürcher G, Dingerjanse J, Da Prada M. Ro 40-7592, a potent inhibitor of extracerebral and brain catechol-O-methyl transferase: preclinical and clinical findings. In: Agnoli A, Campanella G, eds. *New developments in therapy of Parkinson's disease*. Rome: John Libbey CIC s.r.l., 1991:37-43.

The Effect of Carbidopa and Entacapone Pretreatment on the L-Dopa Pharmacokinetics and Metabolism in Blood Plasma and Skeletal Muscle in Beagle Dog: An *in Vivo* Microdialysis Study

DIRK DELEU, SOPHIE SARRE, GUY EBINGER and YVETTE MICHOTTE

Department of Neurology, University Hospital AZ-VUB (D.D., G.E.) and Department of Pharmaceutical Chemistry and Drug Analysis, Pharmaceutical Institute, Vrije Universiteit Brussel (D.D., S.S., Y.M.), Laarbeeklaan 103, B-1090 Brussels, Belgium and Department of Pharmacology, College of Medicine, Sultan Qaboos University, P.O. Box 35, Al Khod, Muscat-123, Sultanate of Oman (D.D.)

Accepted for publication February 21, 1995

ABSTRACT

The effects of carbidopa and entacapone pretreatment on the pharmacokinetics and metabolism of i.v. administered L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-dopa) have been examined *in vivo* in blood plasma and skeletal muscle extracellular fluid (ECF), in beagle dog, by microdialysis. Both with or without carbidopa, blood plasma L-dopa levels declined biexponentially after the i.v. administration of L-dopa. In contrast to blood plasma, a monoexponential decline was observed in muscle ECF in both these pharmacological conditions. Pretreatment with carbidopa had no significant effect on the pharmacokinetic parameters of L-dopa in blood plasma, but resulted in an increase in the area under the concentration versus time curve (AUC) and elimination half-life ($t_{1/2}$) of L-dopa in muscle ECF (0.61 hr), compared with values achieved after L-dopa alone. Carbidopa pretreatment enhanced the accumulation of 3-O-methyldopa

(3-OMD) and dopamine (DA) in muscle ECF but decreased that of L-3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) in both blood plasma and muscle ECF. Entacapone had a pronounced inhibitory effect on the formation of 3-OMD, resulting in a reduction of the AUC for 3-OMD by 98% and 85% in blood plasma and muscle ECF, respectively. Pretreatment with carbidopa plus entacapone enhanced the T_{max} of L-dopa in muscle ECF compared with the values achieved after pretreatment with carbidopa alone. In addition, the elimination half-life (2.66 hr) and volume of distribution by area of L-dopa in blood plasma and its AUC and $t_{1/2}$ in muscle ECF (1.80 hr) were enhanced substantially. No DA was detected, but DOPAC levels were enhanced in both blood plasma and muscle ECF. These results suggested that carbidopa has a L-dopa-sparing effect in skeletal muscle, which is further enhanced by entacapone.

L-3,4-Dihydroxyphenylalanine (L-dopa) in conjunction with a peripheral decarboxylase inhibitor (PDI) remains the key-stone for the symptomatic treatment of Parkinson's disease (PD). Although L-dopa initially reverses motor dysfunction in PD, patients in a more advanced stage respond clinically in an unpredictable way (Fahn, 1974). There is ample evidence that peripheral pharmacokinetic factors contribute to the complex response to L-dopa, notably the erratic and slowed gastric emptying that emerges after long-term use (Deleu *et al.*, 1991a) and/or changed tissue accumulation of the drug.

This has lead to a renewed interest in the peripheral pharmacokinetics of L-dopa.

In rat, the effect of the PDI on the L-dopa pharmacokinetics in plasma, after the i.v. administration of L-dopa has been studied thoroughly (Doller *et al.*, 1978; Leppert *et al.*, 1988; Rose *et al.*, 1991). Furthermore, it has been shown that after the administration of L-dopa in rats, its concentrations in the skeletal muscle were higher than in other tissues (Ordonez *et al.*, 1974; Romero *et al.*, 1973; Rose *et al.*, 1988). Rose *et al.* (1988) demonstrated that concomitant administration of carbidopa enhanced the accumulation of L-dopa, dopamine (DA) and 3-O-methyldopa (3-OMD) in muscle after its oral administration, whereas the L-3,4-dihydroxyphenylacetic

Received for publication September 19, 1994.

ABBREVIATIONS: ALAAD, aromatic L-amino acid decarboxylase; AUC, area under the concentration versus time curve; $C_{d,a}$, concentration of the compound of interest in the dialysate; $C_{e,e,a}$, concentration of the compound of interest in the extracellular space; C_{max} , maximum drug concentration; Cl, clearance; COMT, catechol-O-methyltransferase; DA, dopamine; DOPAC, L-3,4-dihydroxyphenylacetic acid; ECF, extracellular fluid; HPLC, high-performance liquid chromatography; IS, internal standard; L-dopa, L-3,4-dihydroxyphenylalanine; 3-OMD, 3-O-methyldopa; PD, Parkinson's disease; PDI, peripheral decarboxylase inhibitor; RL, relative loss; $t_{1/2}$, elimination half-life in skeletal muscle extracellular fluid; $t_{1/2\alpha}$, distribution half-life in blood plasma; $t_{1/2\beta}$, elimination half-life in blood plasma; T_{max} , time to reach the maximum drug concentration; $V_{d\beta}$, volume of distribution by area.

acid (DOPAC) concentrations were unaffected. Because skeletal muscle is the largest tissue mass in the body, the total amount of L-dopa taken up in this tissue may be considerable and the storage of L-dopa may reduce the amount of L-dopa available for entry into the brain.

The consequence of chronically using a PDI is that L-dopa metabolism is predominantly shifted toward the formation of high concentrations of 3-OMD (Nut and Fellman, 1984) and might contribute to the elimination of L-dopa, thereby reducing its plasma half-life and area under the concentration versus time curve (AUC). Although the clinical significance of 3-OMD at the blood-brain barrier and in the brain is still equivocal, the systemic pool of 3-OMD might potentially serve as an important sink for exogenously administered L-dopa.

Entacapone (OR-611) is a novel potent and selective peripheral catechol-O-methyltransferase (COMT) inhibitor. Studies in both volunteers and Parkinsonian patients revealed that a 200-mg dose of entacapone inhibited soluble COMT in erythrocytes by 50 to 75% and increased the AUC of L-dopa by 40 to 60% (Keränen *et al.*, 1991; Myllylä *et al.*, 1992). The degree of inhibition correlated closely with the plasma concentration of the drug, with recovery of the activity of the enzyme within 8 hr. The plasma elimination half-life ($t_{1/2\beta}$) of this COMT inhibitor after i.v. administration is 0.5 hr in humans (Keränen *et al.*, 1991).

The purpose of our *in vivo* microdialysis studies was to determine whether carbidopa and carbidopa plus entacapone had any favorable effect on the pharmacokinetics and metabolism of acute i.v. administered L-dopa in blood plasma and skeletal muscle extracellular fluid (ECF) in beagle dogs. Beagle dog was chosen as the experimental animal because this species has L-dopa disposition kinetics similar to those observed in man, after the i.v. administration of the drug (Sasahara *et al.*, 1980).

Materials and Methods

Animals

Four healthy male beagle dogs (body weights, 8–9.5 kg) bred at Janssen Pharmaceutica were used. Food and water were freely available except the 24 hr covering the day of the experiment. All animal experiments in these studies were carried out according to the Declaration of Helsinki and to the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.

Implantation of the Microdialysis Probes

The same protocol was used as described previously (Deleu *et al.*, 1991b). Briefly, after fasting overnight the dog was anesthetized with sodium pentobarbital (25 mg/kg i.v.) and anesthesia was maintained with 15 to 20% of the induction pentobarbital dose, as required to suppress the cornea reflex. The temperature was monitored and kept at 37°C by a warming plate covering the anesthetized animal. Once a satisfactory level of anesthesia was achieved and physiological parameters were stable, the microdialysis probes (Carnegie Medicine, Stockholm, Sweden) were inserted. The probes had an outer diameter of 0.25 mm and a membrane length of 16 mm with a molecular cutoff point of 20 kdalton. For i.v. microdialysis, the probe was inserted by means of an i.v. guide [1.4 mm inside diameter (I.D.); Carnegie Medicine, Stockholm, Sweden] into a peripheral vein of the foreleg, and the probe was secured to the skin by a suture. For intramuscular microdialysis, a small incision (2 cm) was made in the skin overlying the gluteal muscle of the hind leg. The guide cannula was pushed into the muscle, and the microdialysis probe was in-

serted, sealed into the guide tube and secured to the muscle by a suture.

Microdialysis Conditions

Microdialysis sampling was performed using the CMA/100 microinjection pump coupled to the microdialysis probes. After the implantation of the probes, a stabilization period of 0.5 hr was introduced, during which the probes were continuously perfused with the modified Ringer's solution at a flow rate of 5 μ l/min. The base-line samples were collected followed by the administration of L-dopa (20 mg/kg i.v.). Intravenous microdialysis samples were then collected at 4, 8, 16, 24, 32, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160 and 180 min (corresponding to the following sampling duration: initially two collections of 4 min followed by four collections of 8 min and subsequently every 20 min) and i.m. microdialysis samples were collected at 10, 20, 30, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160 and 180 min (corresponding to the following sampling duration: initially four collections of 10 min and subsequently every 20 min). The dialysis samples were diluted with the antioxidant and stored at -24°C until assayed.

In Vivo Calibration

The internal reference or retrodialysis technique, using α -methyl-dopa as internal standard (IS) or *in vivo* marker, was applied to determine the *in vivo* concentrations of the compounds of interest (Larsson, 1991; Scheller and Kolb, 1991; Van Belle *et al.*, 1993). Because the relative recovery cannot be determined *in vivo*, the relative loss (RL) was substituted and defined as the loss of the IS from the perfusate; this method represented a reversed mode of determining *in vivo* recovery.

The *in vivo* RLs in blood plasma and skeletal muscle ECF (RL_{cal}) were determined in a separate set of *in vivo* calibration experiments by adding L-dopa, DA, DOPAC, α -methyl-dopa (1 μ g/ml each) and 3-OMD (3 μ g/ml) to the perfusates of both the i.v. and i.m. probes. Five 8-min dialysate samples were collected simultaneously from blood plasma and muscle ECF. They were immediately diluted with 100 μ l of antioxidant solution and frozen at -24°C until assayed. The RLs of the different compounds in blood plasma and muscle ECF were then calculated from the concentrations in the dialysate (C_d) and initial concentrations in the perfusate (C_p):

$$RL_{cal} = \frac{C_p - C_d}{C_p} \quad (1)$$

Subsequently, the K values = $RL_{cal,IS}/RL_{cal,a}$, with $RL_{cal,a}$ being the RL of the compound of interest (L-dopa, DA, DOPAC and 3-OMD) and $RL_{cal,IS}$ the RL of α -methyl-dopa, were calculated.

In each pharmacological experiment the RL of the internal standard (RL_{IS}) was determined and calculated as in equation (1). The actual concentration of the compound of interest in the extracellular space ($C_{ec,a}$) was then given by the following equation:

$$C_{ec,a} = C_{d,a} \cdot K/RL_{IS} \quad (2)$$

where $C_{d,a}$ is the concentration of the compound of interest in the dialysate from the pharmacological experiments. Except for the carbidopa-pretreatment regimen, no systemic drugs were administered during these *in vivo* calibration experiments.

The RL in blood plasma (mean $\pm$ S.D.; $n=20$) was $40.32 \pm 4.06\%$ for L-dopa, $39.86 \pm 4.34\%$ for DOPAC, $57.58 \pm 4.70\%$ for DA, $29.67 \pm 4.43\%$ for 3-OMD and $35.73 \pm 4.53\%$ for α -methyl-dopa. The RL in muscle ECF (mean $\pm$ S.D.; $n=20$) was $25.43 \pm 2.73\%$ for L-dopa, $21.89 \pm 3.18\%$ for DOPAC, $27.22 \pm 4.81\%$ for DA, $18.17 \pm 2.66\%$ for 3-OMD and $17.21 \pm 2.38\%$ for α -methyl-dopa. The precision of the RL of the compounds of interest for i.v. and i.m. microdialysis was estimated from the residual variance calculated in the one-way analysis of variance (ANOVA) ($\alpha=0.05$) and ranged for the different compounds of interest from 1.9 to 4.2% and 4.6 to 7.5% for i.v. and

i.m. dialysis, respectively. Similarly, the mean K values were significantly different among the dogs. Therefore, the data were pooled to obtain a better estimate of the K values within the group of dogs studied. The precision of the K values for i.v. and i.m. microdialysis was estimated from the residual variance calculated in the one-way ANOVA. The reproducibility of the K values for these compounds ranged from 3.5 to 6.8% for i.v. and 1.4 to 6.2% for i.m. dialysis.

Protocol for Pharmacokinetic Studies

In the first series of experiments L-dopa alone was administered to the dogs (1); in the second series, L-dopa after carbidopa pretreatment (2); in the third series, L-dopa after carbidopa plus entacapone pretreatment (3). An appropriate pretreatment regimen was given, as described below. In each series the dogs were taken in a random order. The crossover experiments were carried out at 2-week intervals.

(1) **L-dopa alone.** After collecting the base-line dialysates from blood plasma and skeletal muscle ECF, L-dopa (20 mg/kg) was given i.v. over 2 min. Subsequently, i.v. and i.m. dialysis samples were collected for 3 hr.

(2) **L-dopa plus carbidopa.** Carbidopa pretreatment (100 mg oral daily) was started 1 week before the experiment. Immediately after the induction of the anesthesia an additional i.v. dose (100 mg) was administered to the dog. Subsequently, the same procedure was followed as in the first series of experiments (1).

(3) **L-dopa with carbidopa plus entacapone.** The carbidopa pretreatment was similar to the one used in the second series (2). To provide a continuous optimal inhibition of the O-methylation, entacapone (15 mg/kg i.v.) was administered 1 hr before the L-dopa administration (20 mg/kg i.v.) and was repeated 2 hr later. A procedure similar to that in the first series of experiments (1) was then followed.

Drugs and Chemicals

L-dopa, carbidopa, 3-OMD and α -methyldopa were supplied by Merck Sharp and Dohme Research Laboratories (Rahway, NJ, USA). DA hydrochloride was purchased from UCB (Brussels, Belgium) and DOPAC was from Sigma (St. Louis, MO, USA). The COMT inhibitor, entacapone [OR-611; N,N-diethyl-2-cyano-3-(3,4-dihydroxy-5-nitrophenyl)propenamide] was a gift from Orion Pharmaceutica (Espoo, Finland). All other chemicals were analytical reagent grade and purchased from Merck (Darmstadt, Germany). 1-Octane sulfonic acid sodium salt was obtained from Janssen Chemical/Aldrich Europe (Beerse, Belgium). A modified Ringer's solution [147 mM Na^+ , 1.1 mM Ca^{++} , 4 mM K^+ and 155.6 mM Cl^- (pH 6.5) containing the antioxidant (0.1% (m/v) $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ and 0.01% (m/v) Na_2EDTA)] was used as perfusion fluid.

L-dopa and carbidopa for i.v. administration were prepared as described previously (Deleu *et al.*, 1991c). Briefly, L-dopa (20 mg/kg) was dissolved in 1 M HCl (100 mg of drug/ml) and then diluted with 10 ml of 0.9% NaCl just before administration. Carbidopa (100 mg/kg) for i.v. administration was prepared in the same way. Carbidopa for oral administration was prepared in caps. Entacapone (15 mg/kg) was dissolved in phosphate buffer (pH 7.4; 0.067 M).

Determination of Dialysate L-dopa, DA, DOPAC, 3-OMD and α -Methyldopa Concentrations

Microdialysis samples were assayed by high-performance liquid chromatography (HPLC) with electrochemical detection as described previously (Deleu *et al.*, 1994a). For each injection, a dual chromatogram was recorded; one at high sensitivity (1 nA/V) for DA and DOPAC and one at low sensitivity (10 nA/V) for L-dopa, 3-OMD and α -methyldopa. The peak areas of the L-dopa, DOPAC, DA and 3-OMD were linearly related to the amounts of L-dopa, DOPAC, DA, 3-OMD and α -methyldopa from 5 ng/ml to 150 $\mu\text{g}/\text{ml}$. The detection limits (signal-to-noise ratio was 3) for L-dopa, DOPAC, DA and 3-OMD were 35, 100, 80 and 500 fmol on-column, respectively.

Pharmacokinetic Analysis

The *in vivo* concentrations of L-dopa, DA and their metabolites ($C_{\text{me},s}$) were calculated by determining their concentrations in the dialysate ($C_{d,s}$) and then accounting for the RL by equation (2). The midpoints of the collection time were taken as the time points for graphical representation and were corrected for the lag time resulting from the dead space of the input and output tubing.

Pharmacokinetic parameters were calculated for L-dopa, 3-OMD, DA and DOPAC in blood plasma (bl) and skeletal muscle ECF (m). The peak concentration of L-dopa (C_{max}) and its corresponding time (T_{max}) are given in muscle ECF only, because the drug was given as a rapid i.v. administration. The terminal portion of the L-dopa decay curve in blood plasma (plotted as $\log_{10}$ L-dopa concentration vs. time) was treated by the method of least squares linear regression. The slopes of the regressed lines were used to calculate the terminal first-order elimination rate constant of L-dopa ($\beta = 2.303 \times \text{slope}$) and the elimination half-life ($t_{1/2\beta} = \ln 2/\beta$). The first-order elimination rate constant of L-dopa (k) in muscle was calculated ($k = 2.303 \times \text{slope}$) as well as its elimination half-life ($t_{1/2k} = \ln 2/k$). The AUC between 0 and 3 hr (AUC_{0-3}) for L-dopa, DA, DOPAC and 3-OMD in blood plasma and muscle ECF were derived by use of the linear trapezoidal rule and were extrapolated to infinity for L-dopa ($\text{AUC}_{0-\infty}$) beyond the last measured concentration by the term (C/β) for blood plasma and (C/k) for muscle ECF.

The pharmacokinetic parameters were also calculated for the initial decline of the L-dopa levels in blood plasma, the α -phase or distribution phase, using the method of residuals and measuring the distribution half-life ($t_{1/2\alpha}$) of L-dopa in blood plasma. Blood plasma clearance (Cl) for L-dopa was calculated from the formula:

$$\text{Cl} = \text{i.v. dose}/\text{AUC}_{0-\infty} \quad (3)$$

The volume of distribution by area ($V_{d\beta}$) was calculated from the formula:

$$V_{d\beta} = \text{Cl}/\beta \quad (4)$$

Statistical Analysis

The pharmacokinetic data are expressed as arithmetic means $\pm$ S.E.M. for the number of observations ($n = 4$; four dogs). Pharmacokinetic parameters in the three treatment groups were compared by two-way ANOVA, with "subject" and "treatment" as main factors. A significant intersubject effect was not found for the tested parameters. Therefore, one-way ANOVAs were carried out, where appropriate, followed by Student-Newman-Keuls multicomparison test. Comparison of pharmacokinetic parameters between blood and muscle ECF were estimated by the two-tailed paired Student's t test. For all statistical tests, effects were considered to be significant for $P \leq .05$.

Results

The effect of carbidopa on the pharmacokinetics of L-dopa and DA, and their metabolites in the blood plasma and skeletal muscle ECF. The effect of carbidopa on the pharmacokinetic properties of L-dopa, 3-OMD, DA and DOPAC, in blood plasma and skeletal muscle ECF, are summarized in tables 1 and 2, respectively.

The base-line levels of L-dopa in blood plasma and skeletal muscle ECF were below the limit of detection, both after L-dopa alone and after carbidopa pretreatment. The acute i.v. injection of L-dopa, either with or without carbidopa pretreatment, resulted in a sharp rise in the L-dopa blood plasma levels, followed by a biexponential decline (fig. 1A). The profile of the pharmacokinetic curve in muscle ECF is shown in figure 1B. The pretreatment with carbidopa enhanced the $\text{AUC}_{0-\infty}$ for L-dopa in blood plasma (128%; N.S.) and muscle

TABLE 1

Summary pharmacokinetics of L-dopa, DA and their metabolites in blood plasma, with and without carbidopa and with carbidopa plus entacapone pretreatment, after the administration of a single i.v. dose of L-dopa (20 mg/kg).

Values are presented as mean $\pm$ S.E.M. For all the parameters, $n = 4$.

Pharmacokinetic Parameters	Without Carbidopa	With Carbidopa	With Carbidopa plus Entacapone
$t_{1/2\alpha}$ L-dopa (hr)	0.04 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0.01	0.07 $\pm$ 0.01
$t_{1/2\beta}$ L-dopa (hr)	0.40 $\pm$ 0.11	0.76 $\pm$ 0.18	2.66 $\pm$ 0.41***
AUC _{0-3(h)} L-dopa (nmol/ml-hr)	65.49 $\pm$ 8.17	141.28 $\pm$ 16.04	183.78 $\pm$ 43.7
AUC _{0-3(h)} L-dopa (nmol/ml-hr)	66.57 $\pm$ 8.93	151.75 $\pm$ 17.86	229.23 $\pm$ 58.92
AUC _{0-3(h)} 3-OMD (nmol/ml-hr)	53.37 $\pm$ 12.41	65.15 $\pm$ 11.12	1.33 $\pm$ 0.33**
AUC _{0-3(h)} DA (nmol/ml-hr)	0.09 $\pm$ 0.04	ND ^a	ND ^a
AUC _{0-3(h)} DOPAC (nmol/ml-hr)	1.98 $\pm$ 0.30	ND ^a	0.11 $\pm$ 0.04
Cl L-dopa (l/hr/kg)	1.42 $\pm$ 0.38	0.75 $\pm$ 0.08	0.50 $\pm$ 0.16
V_{dij} L-dopa (l/kg)	0.74 $\pm$ 0.23	0.74 $\pm$ 0.28	1.65 $\pm$ 0.34*

^a Not detectable.

Significance of difference between experiments with carbidopa by one-way ANOVA and Student-Newman-Keuls pairwise comparison. * $P \leq .05$; ** $P \leq .01$;

*** $P \leq .001$.

TABLE 2

Summary pharmacokinetics of L-dopa, DA and their metabolites in skeletal muscle ECF with and without carbidopa and with carbidopa plus entacapone pretreatment, after the administration of a single i.v. dose of L-dopa (20 mg/kg)

Values are presented as mean $\pm$ S.E.M. For all the parameters, $n = 4$.

Pharmacokinetic Parameters	Without Carbidopa	With Carbidopa	With Carbidopa plus Entacapone
C_{max} L-dopa (nmol/ml)	36.90 $\pm$ 3.74	75.48 $\pm$ 27.02	72.28 $\pm$ 9.40
T_{max} L-dopa (hr)	0.21 $\pm$ 0.04	0.13 $\pm$ 0.04	0.25 $\pm$ 0.00§
$t_{1/2}$ L-dopa (hr)	0.40 $\pm$ 0.03	0.61 $\pm$ 0.12	1.80 $\pm$ 0.63
AUC _{0-3(m)} L-dopa (nmol/ml-hr)	22.77 $\pm$ 2.98††	70.09 $\pm$ 18.63*†	86.05 $\pm$ 8.36
AUC _{0-3(m)} L-dopa (nmol/ml-hr)	23.03 $\pm$ 3.05††	75.05 $\pm$ 20.80**	130.72 $\pm$ 10.82§§†
AUC _{0-3(m)} 3-OMD (nmol/ml-hr)	10.58 $\pm$ 0.59††	30.37 $\pm$ 6.66*†	4.62 $\pm$ 1.15§§
AUC _{0-3(m)} DA (nmol/ml-hr)	0.07 $\pm$ 0.01	0.17 $\pm$ 0.02**	ND ^a
AUC _{0-3(m)} DOPAC (nmol/ml-hr)	0.89 $\pm$ 0.11†	0.22 $\pm$ 0.05*	0.56 $\pm$ 0.29

^a Not detectable.

Significance of difference between experiments without carbidopa by one-way ANOVA and Student-Newman-Keuls pairwise comparison or by Student's t test.

* $P \leq .05$; ** $P \leq .01$.

Significance of difference between experiments with carbidopa by one-way ANOVA and Student-Newman-Keuls pairwise comparison. § $P \leq .05$; §§ $P \leq .01$.

Significance of difference from corresponding blood plasma value by Student's t test. † $P \leq .05$; †† $P \leq .01$.

ECF (226%; $P = .0012$), compared with that after L-dopa alone. The AUC_{0-3(m)} for L-dopa after L-dopa alone, was significantly higher in blood plasma compared with that in muscle ECF ($P = .01$). Carbidopa prolonged the $t_{1/2\alpha}$ (75%; N.S.) and $t_{1/2\beta}$ (90%; N.S.) of L-dopa in blood plasma and $t_{1/2}$ in muscle ECF (53%; $P = .054$), compared with those after L-dopa alone. With and without carbidopa, the $t_{1/2\alpha}$, β of L-dopa and its corresponding $t_{1/2}$ in muscle were comparable in both blood plasma and muscle ECF. Concurrent administration of carbidopa with L-dopa reduced the Cl of L-dopa in blood plasma nonsignificantly by 47%.

3-OMD could be detected at base-line in blood plasma (0.91 $\pm$ 0.45 nmol/ml after L-dopa alone and 0.89 $\pm$ 0.35 nmol/ml after carbidopa pretreatment) and in muscle ECF (0.30 $\pm$ 0.11 nmol/ml after L-dopa alone and 0.35 $\pm$ 0.19 nmol/ml after carbidopa pretreatment). Administration of L-dopa alone resulted in a gradual increase in 3-OMD concentrations in blood plasma (fig. 2A) and muscle ECF (fig. 2B). Pretreatment with carbidopa increased the AUC_{0-3(m)} for 3-OMD with 187% ($P = .003$). The increase in the AUC_{0-3(h)} for 3-OMD was not statistically significant. The AUC₀₋₃ for 3-OMD was significantly higher in blood plasma than in muscle ECF, both after L-dopa alone (404%) ($P = .008$) and L-dopa plus carbidopa pretreatment (115%) ($P = .02$).

DA could not be detected at base-line in blood plasma and muscle ECF both after L-dopa alone and after L-dopa plus carbidopa. After the i.v. administration of L-dopa alone, a

small DA peak (0.64 $\pm$ 0.31 nmol/ml) was detected in blood plasma at 0.10 hr and rapidly declined below the detection limit after 0.47 hr. Pretreatment with carbidopa decreased the DA in blood plasma to below the limits of detection of the HPLC system. In muscle ECF, however, DA was measurable both after L-dopa alone and after L-dopa plus carbidopa. The DA peak was significantly lower after carbidopa pretreatment (0.13 $\pm$ 0.07 nmol/ml) compared with that after L-dopa alone (0.34 $\pm$ 0.07 nmol/ml) ($P = .004$). Although in muscle ECF, the DA concentrations after pretreatment with carbidopa were measurable up to 2.83 hr, the DA concentrations after L-dopa alone fell below the limit of detection after 0.58 hr. Carbidopa increased the AUC_{0-3(m)} for DA significantly ($P = .01$) compared with that after L-dopa alone. The C_{max} for DA after L-dopa alone was significantly higher in blood plasma compared with muscle ECF ($P = .02$), but the AUC₀₋₃ values for DA were comparable.

Similar to DA, DOPAC could not be measured at base-line in blood plasma (fig. 3A) and muscle ECF (fig. 3B) after L-dopa alone and after L-dopa plus carbidopa. Furthermore the DOPAC concentrations in blood plasma remained below the limits of detection after pretreatment with carbidopa. The administration of L-dopa alone raised DOPAC concentrations in blood plasma with a peak (2.78 $\pm$ 0.45 nmol/ml at 0.20 hr) and followed the peak DA concentration. The C_{max} for DOPAC after L-dopa alone was significantly higher (0.81 $\pm$ 0.12 nmol/ml) compared with that after L-dopa plus carbi-

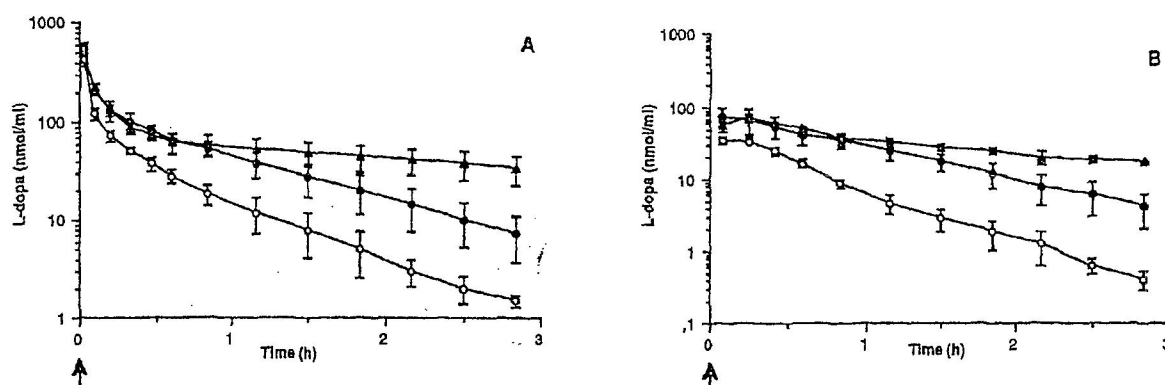


Fig. 1. Semilogarithmic plot of the concentration (nmol/ml) of L-dopa in blood plasma (A) and skeletal muscle ECF (B) after the i.v. injection (arrow) of L-dopa (20 mg/kg) alone (open circles), after pretreatment with carbidopa (closed circles) and after pretreatment with carbidopa plus entacapone (closed triangles). Data are presented as mean $\pm$ S.E.M. ($n = 4$).

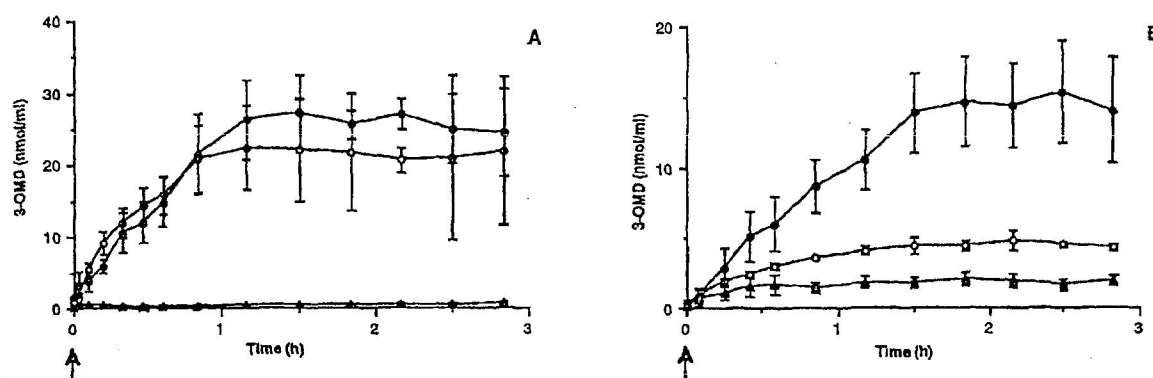


Fig. 2. Concentrations (nmol/ml) of 3-OMD in blood plasma (A) and skeletal muscle ECF (B) after the i.v. administration (arrow) of L-dopa (20 mg/kg) alone (open circles), after pretreatment with carbidopa (closed circles) and after pretreatment with carbidopa plus entacapone (closed triangles). Data are presented as mean $\pm$ S.E.M. ($n = 4$).

dopa (0.19 ± 0.12 nmol/ml) ($P = .04$). In addition, carbidopa significantly reduced the $AUC_{0 \rightarrow 3(m)}$ for DOPAC ($P = .04$) compared with that after L-dopa alone. The $AUC_{0 \rightarrow 3}$ for DOPAC in blood plasma, after L-dopa alone, was significantly higher compared with muscle ECF ($P = .02$).

The effect of carbidopa plus entacapone on the pharmacokinetics of L-dopa, DA and their metabolites in blood plasma and skeletal muscle ECF. The pharmacokinetic properties of L-dopa, 3-OMD, DA and DOPAC after pretreatment with entacapone plus carbidopa in blood plasma and skeletal muscle ECF are summarized in tables 1 and 2, respectively. These data were compared with those obtained after pretreatment with carbidopa. The comparison between the pharmacokinetic data yielded after L-dopa alone and after pretreatment with entacapone plus carbidopa were statistically significant for all parameters, except for $t_{1/2}$ and Cl of L-dopa in blood plasma and the C_{max} of L-dopa and $AUC_{0 \rightarrow 3}$ for 3-OMD in muscle ECF. However, the comparison between these two pharmacological conditions is not given in the tables because of its irrelevance.

L-dopa could be detected at base-line in muscle ECF (0.10 ± 0.01 nmol/ml) only. After pretreatment with carbidopa plus entacapone, the i.v. administration of L-dopa resulted in a similar initial phase of the L-dopa curve in blood plasma (fig. 1A) as observed after pretreatment with carbidopa alone. The profile of the pharmacokinetic curve in muscle ECF is shown in figure 1B. The C_{max} of L-dopa in muscle was

not significantly enhanced after pretreatment with carbidopa plus entacapone, compared with that after carbidopa pretreatment alone. However, its T_{max} was increased significantly by 92% ($P = .05$). Entacapone increased the $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ for L-dopa in muscle ECF by 74% ($P = .0012$) and in blood plasma by 52%; however, the latter did not reach statistical significance. The $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ for L-dopa was significantly higher in blood plasma compared with that obtained in muscle ECF ($P = .04$). Although entacapone increased the elimination $t_{1/2}$ for L-dopa in blood plasma and muscle ECF by 250% ($P = .0004$) and 195% ($P = .054$), respectively, compared with those after pretreatment with carbidopa alone, it did not influence the $t_{1/2}$ of L-dopa. Entacapone reduced the Cl of L-dopa in blood plasma compared with that after pretreatment with carbidopa, but the difference did not reach statistical significance. In contrast, the $V_{d\beta}$ was increased by 123% ($P = .042$) after pretreatment with carbidopa plus entacapone compared with that after pretreatment with carbidopa alone.

3-OMD could be detected in blood plasma (0.33 ± 0.15 nmol/ml) and in muscle ECF (0.10 ± 0.01 nmol/ml) at base-line after pretreatment with carbidopa plus entacapone. The formation of 3-OMD was clearly inhibited in blood plasma (fig. 2A) and muscle ECF (fig. 2B). The $AUC_{0 \rightarrow 3}$ for 3-OMD in blood plasma was reduced by 98% ($P = .0025$) and in muscle ECF by 85% ($P = .003$), compared with pretreatment with

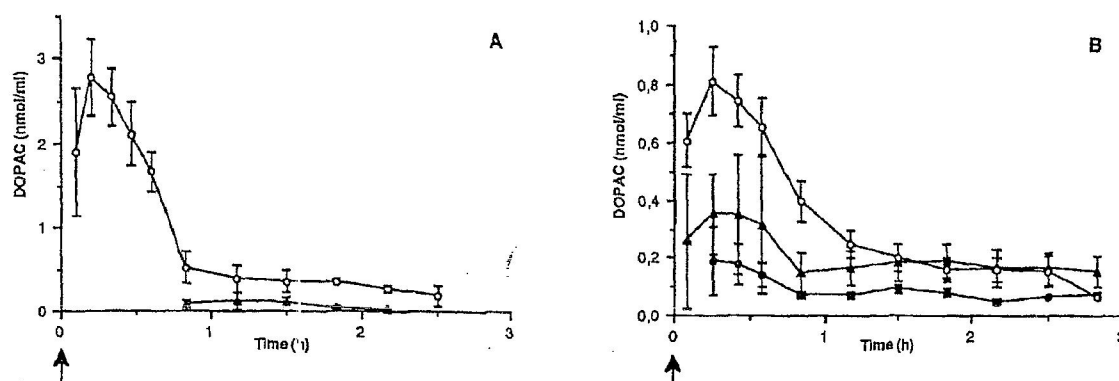


Fig. 3. Concentrations (nmol/ml) of DOPAC in blood plasma (A) and skeletal muscle ECF (B) after the i.v. administration (arrow) of L-dopa (20 mg/kg) alone (open circles), after pretreatment with carbidopa (closed circles) and after pretreatment with carbidopa plus entacapone (closed triangles). Data are presented as mean $\pm$ S.E.M. ($n = 4$).

carbidopa alone. There was no significant difference in the AUC_{0-3} for 3-OMD between blood plasma and muscle ECF.

The pretreatment with carbidopa plus entacapone kept the DA levels in blood plasma and muscle ECF below the limits of detection.

The i.v. administration of L-dopa after pretreatment with carbidopa plus entacapone resulted in a transient increase in DOPAC levels with a peak concentration (0.12 ± 0.11 nmol/ml) in blood plasma at 1.17 hr (fig. 3A) and peak levels (0.35 ± 0.14 nmol/ml) in muscle ECF at 0.25 hr (fig. 3B), both followed by a decline. Entacapone increased the AUC_{0-3} for DOPAC in muscle ECF by 155%, although the variability of the results prevented the differences reaching statistical significance.

Discussion

The pharmacokinetic data clearly indicated that the probes were monitoring two different compartments, evidenced by the difference in concentrations of the compounds of interest between blood plasma and skeletal muscle ECF. Unlike in previous experiments (Deleu et al., 1994a,b), the retrodialysis technique was used as *in vivo* calibration technique, using α -methyldopa as IS.

The effect of carbidopa on the pharmacokinetics of L-dopa and DA, and their metabolites in the blood plasma and skeletal muscle ECF. There can be no doubt that carbidopa is an inhibitor of the decarboxylation of L-dopa in blood plasma, as it effectively reduced the levels of DA and doubled the blood plasma levels of L-dopa.

Both with and without carbidopa pretreatment, the acute i.v. administration of L-dopa revealed a biexponential decline in its blood plasma curve. Similar biexponential decay, after the i.v. administration of L-dopa, has been observed in rat (Doller et al., 1978; Rose et al., 1991) dog (Cotler et al., 1976; Coutinho et al., 1971; Sasahara et al., 1980) and man (Hardie et al., 1986; Nutt et al., 1985; Sasahara et al., 1980), by use of whole-blood sampling. Furthermore, the $t_{1/2\alpha}$ of L-dopa reported by these authors in the different species was in the same range (0.02–0.05 hr). In this distribution phase, L-dopa is distributed very rapidly throughout a so-called central compartment, followed by a much slower equilibration with a peripheral compartment. The $V_{d\beta}$ indicated that L-dopa was distributed throughout the total body water. Furthermore, the distribution was probably more important in the contri-

bution to its short $t_{1/2\alpha}$ than any other factor, e.g., biotransformation, because the concentrations of its metabolites in blood plasma during this distribution phase were not enough to account for this massive and rapid decline. This first phase of L-dopa disappearance in blood plasma reduced the concentration of the drug by approximately 50% within 5 min. The present results could not fully confirm previous findings in man (Nutt et al., 1985) that carbidopa pretreatment prolongs the distribution half-life of L-dopa. In spite of the nonsignificant increase in $t_{1/2\alpha}$, the distribution volume of the drug remained the same in the presence or absence of carbidopa. This might confirm the doubt that has been casted on the clinical importance of this prominent distribution phase of L-dopa.

The second phase or β -phase of the L-dopa decay curve in blood plasma was observed after both its administration alone and after pretreatment with carbidopa. Previous estimates in man (Nutt et al., 1985) revealed an increase in the $t_{1/2\beta}$ of L-dopa in blood plasma after pretreatment with carbidopa. This corresponds with our findings; admittedly, the increase in the blood plasma did not reach statistical significance. The $t_{1/2\beta}$ of L-dopa in blood plasma and muscle ECF were in agreement with Rose et al. (1988) who observed the same proportional increase in $t_{1/2\beta}$ in blood plasma and muscle tissue after the oral administration of L-dopa in rats. The absolute values of the $t_{1/2\beta}$ for L-dopa after carbidopa pretreatment reported by these authors was 2.7 hr for plasma and 4.0 hr for muscle. The difference in values between their data and those of the present study could be due to the fact that the former study was based on postmortem observations and that L-dopa was administered orally in a dose of 200 mg/kg, which is extremely high. Finally, there may be differences between species in the uptake into tissues of aromatic amino acids (including 3-OMD).

In muscle ECF, the L-dopa curve showed a monoexponential decline. The marked increase in L-dopa concentrations in muscle ECF, after pretreatment with carbidopa, can be the combined result of the increase in the L-dopa concentrations in blood plasma, resulting from carbidopa-induced inhibition of the aromatic L-amino acid decarboxylase (ALAAD) in the intravascular compartment and the inhibition of the ALAAD activity by carbidopa in the muscle compartment. A similar effect of carbidopa was observed in blood and skeletal muscle tissue in rats by Rose et al. (1988).

Although in blood plasma the administration of L-dopa after carbidopa pretreatment decreased the proportion of available L-dopa metabolized to DA substantially, the biotransformation of L-dopa to DA was enhanced in muscle ECF. This could be explained by the proportionately higher L-dopa content in muscle ECF after pretreatment with carbidopa compared with that without carbidopa pretreatment. Alternatively, in analogy with the blood-brain barrier, this could also be explained by the relatively poor penetration of carbidopa into the muscle compartment. Finally, at least part of this DA is possibly derived from the central compartment and is simply stored in the muscle compartment. However, the undetectable DA blood plasma concentrations after pretreatment with carbidopa make the latter hypothesis very unlikely.

The DOPAC concentrations in blood plasma and muscle ECF were affected considerably by the pretreatment with carbidopa compared with those obtained after L-dopa alone. In muscle ECF, the DOPAC content was decreased, despite the rise in muscle ECF DA content. This can be explained by biochemical data, that muscle contains virtually no oxidative enzymes (Lewinsohn *et al.*, 1978), indicating that DA formed in muscle ECF may be protected from the actions of these oxidative enzymes. Therefore DOPAC, in the muscle compartment, was probably formed directly from L-dopa *via* an alternate metabolic pathway.

A gradual and persistent increase in the concentrations of 3-OMD in blood plasma and muscle ECF, both in the presence and absence of L-dopa, followed the rise in L-dopa concentrations in blood plasma. The data also confirmed that the carbidopa-induced inhibition of ALAAD augments the peripheral inactivation of L-dopa by O-methylation (Fahn, 1974), evidenced by the increase in AUC for 3-OMD in blood plasma and, particularly, in muscle ECF. Admittedly, the increase in the blood plasma did not reach statistical significance. The most striking effect of carbidopa, however, was a 3-fold increase in AUC for 3-OMD in muscle ECF compared with its relatively mild increase in blood plasma (2.9 *vs.* 1.2 times, respectively). Because there is no evidence in the literature of COMT activity in muscle ECF (Axelrod *et al.*, 1959), it is very likely that 3-OMD was formed outside the muscle compartment, deriving from blood plasma, or resulted from metabolism of the L-dopa in blood plasma by COMT in the vascular bed of the muscle (Levin and Wilson, 1977). Indeed, L-dopa can be extracted from the circulation into the capillary endothelial cells, metabolized to 3-OMD and subsequently stored in the skeletal muscle compartment. Because the rate of transfer across this endothelium is low, the subsequent biotransformation by this soluble form of COMT (Gulberg and Marsden, 1975) may be quite efficient.

Analogous to the blood-brain barrier, the uptake of L-dopa and 3-OMD in the muscle compartment can be mediated by a saturable active carrier transport system for LNAA in the capillary endothelium (Pardridge, 1977). A similar transport system has been reported in the gut wall (Wade *et al.*, 1973) and in the choroid plexus (Lorenzo and Cutler, 1969). Ordóñez *et al.* (1972) presented an argument favoring the presence of such a transport system for these amino acids. They demonstrated that, despite the fact that 3-OMD is avidly taken up into muscle, the appearance of 3-OMD in this tissue, after the administration of L-dopa, lagged considerably behind that in other tissues. Furthermore, in agreement with our findings,

after the i.p. administration of L-dopa alone in rat, they observed lower levels of 3-OMD in skeletal muscle compared with those in plasma.

The reason for the accumulation of 3-OMD in muscle ECF is basically related to the observation that 3-OMD represents a poor substrate for the ALAAD activity present in this tissue (Ferrini and Glasser, 1964). Therefore, other metabolic pathways, *e.g.*, transamination, might exist, which have proven to be of considerable importance in tissues such as heart and brain (Bartholini *et al.*, 1970). However metabolites deriving from these metabolic pathways were not detected on our chromatograms with conditions optimal for measuring L-dopa, DA, DOPAC and 3-OMD.

Skeletal muscle comprises about 40 to 47% of the total body mass in dog and man and, in a sense, is a "sleeping giant" that can dominate the whole body response. Therefore, the total amount of 3-OMD and L-dopa present in the muscle compartment may be quantitatively important after chronic i.v. administration and perhaps extremely important after oral treatment with L-dopa in combination with carbidopa (Rose *et al.*, 1988). This might have the following pharmacological implication: first, storage of L-dopa in muscle may jeopardize the amount of drug available for entry into the brain; and second, muscle may act as a sink for L-dopa and might therefore be partly responsible for maintaining plasma levels of L-dopa. If so, the therapeutic response to L-dopa could differ individually based on the pharmacokinetics of the drug in the skeletal muscle and its interaction with the vascular compartment. However, in transposing data from experimental studies of this kind to the clinical situation, it should be remembered that the pattern of metabolism of L-dopa in skeletal muscle in Parkinsonian patients may be different from that seen in dogs.

The effect of carbidopa plus entacapone on the pharmacokinetics of L-dopa and DA, and their metabolites in blood plasma and skeletal muscle ECF. In agreement with rodent (Lindén *et al.*, 1990) and primate (Cedarbaum *et al.*, 1991) studies, our data revealed an inhibition of the O-methylation in blood plasma of up to 98%. The optimal COMT inhibition of entacapone occurred in the first 2 to 3 hr after its administration, which explained the necessity of giving a second dose during the experiment (Deleu *et al.*, 1993).

In contrast to studies in primates (Cedarbaum *et al.*, 1991), the COMT inhibitor increased the $AUC_{0-\infty}$ for L-dopa, but the scatter of the results negated the difference being statistically significant and substantially prolonged the $t_{1/2\beta}$ of L-dopa in blood plasma. Similarly, Nutt *et al.* (1994) observed a 66% increase in $t_{1/2\beta}$ and 36% increase in $AUC_{0-\infty}$ for L-dopa in patients with PD, after the acute i.v. administration of L-dopa (1 mg/kg/hr), after pretreatment with carbidopa (25 mg p.o.) plus entacapone (200 mg p.o.). So, although entacapone has a potent inhibitory effect at the lining of the gastrointestinal tract, after oral intake (Nissinen *et al.*, 1988), it also exhibits an important systemic effect. It is likely that the effects of i.v. administered entacapone on L-dopa metabolism were the result of a reduction of the systemic formation of 3-OMD, a reduced Cl and an increased V_{dB} of L-dopa, compared with the effects produced by pretreatment with carbidopa alone. The reduction of the systemic formation of 3-OMD, resulting in the substantial prolongation of the $t_{1/2\beta}$ of L-dopa in blood plasma, was probably

the major determinant responsible for the significant increase in the V_{dp} . The fact that the increase in the L-dopa content in blood plasma compared with muscle ECF was lower suggested that 3-OMD formation accounted for a relatively smaller proportion of L-dopa metabolism in blood plasma after i.v. L-dopa administration in dogs. Thus, other pathways, such as conjugation (Buu *et al.*, 1985), transamination (Sandler *et al.*, 1974), renal excretion (Calne *et al.*, 1969) and accumulation in body tissues, must account for the disposition of the balance of the administered L-dopa dose.

In muscle ECF, entacapone had no effect on the C_{max} of L-dopa compared with pretreatment with carbidopa alone. Interestingly, however, the COMT inhibitor increased the T_{max} of L-dopa, which demonstrated that L-dopa was penetrating into the muscle compartment much more slowly, compared with the experiments after carbidopa alone. The $AUC_{0-\infty}$ for L-dopa in muscle ECF was significantly increased after pretreatment with carbidopa plus entacapone compared with that after carbidopa pretreatment alone. The increase in L-dopa content in muscle ECF in the experiments with carbidopa plus entacapone could be explained by the entacapone-induced inhibition of the COMT activity outside the muscle compartment or by the limited penetration of entacapone in the muscle compartment. Referring to the ratio between the AUC for L-dopa after entacapone plus carbidopa compared with that obtained after carbidopa alone, there was no difference between that for blood plasma and that for muscle ECF, suggesting that entacapone exhibited the same L-dopa-sparing effect in both tissues.

Entacapone is able to reduce the mean plasma 3-OMD concentrations in PD patients by 60% (Nutt *et al.*, 1994). In our study, entacapone was found to have a pronounced inhibitory effect on the formation of 3-OMD in blood plasma and to exhibit an almost ten times less inhibitory action on those in muscle ECF. This nonsignificant higher 3-OMD content in muscle ECF could be explained by the relatively higher muscle ECF concentrations of L-dopa, compared with those after carbidopa alone. Whatever the reason, the results suggested that the accumulation of L-dopa is enhanced after pretreatment with carbidopa plus entacapone compared with those after carbidopa alone.

Although decarboxylation was inhibited after the administration of carbidopa plus entacapone, DOPAC was formed in muscle ECF and, to a lesser extent, in blood plasma. This increase in blood plasma and muscle ECF DOPAC levels reflected the inhibition of the formation of HVA. The formation of DOPAC could then be explained by the formation via an alternate metabolic pathway directly from L-dopa (Werner *et al.*, 1969; Rinne *et al.*, 1973), because no DA was detected in blood plasma or muscle.

In conclusion, the effect of carbidopa and carbidopa plus entacapone on the pharmacokinetics and metabolic handling of L-dopa in blood plasma in beagle dog proved to be similar to that in man. Although the decarboxylation of L-dopa is not completely prevented in skeletal muscle, carbidopa has a L-dopa-sparing effect, which is further enhanced by additional pretreatment with entacapone. This L-dopa-sparing effect may play a role in the beneficial clinical effect of this drug, because Spargo and colleagues (Daniel *et al.*, 1977; Spargo *et al.*, 1979) showed that muscle plays an important role in maintaining levels of amino acids in circulating blood. Although alterations in tissue accumulation may occur in

ageing patients with PD, the L-dopa storage capacity of the muscle compartment can be reduced and the initial benefit derived from L-dopa might decline.

Acknowledgments

We gratefully acknowledge the excellent technical assistance of Mr. G. De Smet, Mrs. R-M Geens and Ms. K. Van Belle, Pharm. We wish to thank Mrs. Y. Hanssens for her editorial assistance. We are also grateful to Dr. Wyfels and his staff for their expertise during the *in vivo* experiments. We wish to thank MSD and Orion Pharmaceutica for kindly providing the drugs.

References

- AXELROD, J., ALBERS, W. AND CLEMENTE, C. D.: Distribution of catechol-O-methyltransferase in the nervous system and other tissues. *J. Neurochem.* 5: 68-71, 1969.
- BARTHOLOMI, G., KURUMA, I. AND PLETSCHER, A.: Distribution and metabolism of L-3-O-methyldopa in rats. *Br. J. Pharmacol.* 40: 461-467, 1970.
- BUU, N. T., DUHAIME, J. AND KUCHEL, O.: Effects of L-dopa on concentrations of free and sulfoconjugated catecholamines in plasma, cerebrospinal fluid, urine and central and peripheral nervous system of the rat. *J. Neurochem.* 44: 787-792, 1985.
- CALNE, D., KAROUM, F., RUTHVEN, C. AND SANDLER, M.: The metabolism of orally administered L-dopa in parkinsonism. *Br. J. Pharmacol.* 37: 57-68, 1969.
- CEDARBAUM, J. M., LEGER, G. AND GUTTMAN, M.: Reduction of circulating 3-O-methyldopa by inhibition of catechol-O-methyltransferase with OR-611 and OR-462 in cynomolgus monkeys. Implications for the treatment of Parkinson's disease. *Clin. Neuropharmacol.* 14: 330-342, 1991.
- COTLER, S., HOLAZO, A., BOXENBAUM, G. H. AND KAPLAN, S. A.: Influence of route of administration on physiological availability of levodopa in dogs. *J. Pharm. Sci.* 65: 822-827, 1976.
- COUTINHO, C. B., SPIEGEL, H. E. AND KAPLAN, S. A.: Kinetics of absorption and excretion of levodopa in dogs. *J. Pharm. Sci.* 60: 1014-1019, 1971.
- DANIEL, P. M., PRATT, O. E., SPARGO, E.: The metabolic homeostatic role of muscle and its function as a store of protein. *Lancet* II: 446-448, 1977.
- DELEU, D., EBINGER, G. AND MICHOTTE, Y.: A clinical and pharmacokinetic comparison of oral and duodenal delivery of levodopa/carbidopa in patients with Parkinson's disease with fluctuating responses to levodopa. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 41: 453-458, 1991a.
- DELEU, D., SARRE, S., EBINGER, G. AND MICHOTTE, Y.: *In vivo* pharmacokinetics of levodopa and 3-O-methyldopa in muscle. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 344: 514-519, 1991b.
- DELEU, D., SARRE, S., HERREGODTS, P., EBINGER, G. AND MICHOTTE, Y.: Continuous intravenous monitoring of levodopa and 3-O-methyldopa by microdialysis and high performance liquid chromatography with electrochemical detection. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 9: 159-165, 1991c.
- DELEU, D., SARRE, S., EBINGER, G. AND MICHOTTE, Y.: Simultaneous monitoring of levodopa, dopamine and their metabolites in skeletal muscle and subcutaneous tissue in different pharmacological conditions using microdialysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 11: 577-585, 1993.
- DELEU, D., SARRE, S., EBINGER, G. AND MICHOTTE, Y.: The effect of carbidopa on the pharmacokinetics and metabolism of intravenously administered levodopa in blood plasma and skeletal muscle. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 344: 514-519, 1994a.
- DELEU, D., SARRE, S., EBINGER, G. AND MICHOTTE, Y.: Simultaneous *in vivo* microdialysis in plasma and skeletal muscle: a study of the pharmacokinetic properties of levodopa by noncompartmental analysis. *J. Pharm. Sci.* 83: 25-28, 1994b.
- DOLLER, H. J., CONNORS, J. D., LOCK, D. R., SLOVITER, R. S., DVORCHIK, B. M. AND VESSELL, E. S.: Levodopa pharmacokinetics: alterations after benserazide, a decarboxylase inhibitor. *Drug Metab. Dispos.* 6: 164-168, 1978.
- FAHN, S.: On-off phenomenon with levodopa therapy in parkinsonism. Clinical and pharmacologic correlations and the effect of intramuscular pyridoxine. *Neurology* 24: 431-441, 1974.
- FERRINI, R. AND GLÄSSER, A.: *In vitro* decarboxylation of new phenylalanine derivatives. *Biochem. Pharmacol.* 13: 798, 1964.
- GULDBERG, H. C. AND MAUSDEN, C. A.: Catechol-O-methyltransferase: pharmacological aspects and physiological role. *Pharmacol. Rev.* 27: 135-206, 1976.
- HARDIE, R. J., LEE, A. J. AND STERN, G. M.: Pharmacokinetics of levodopa and motor fluctuations. *Adv. Neurol.* 45: 487-492, 1986.
- KERÄNEN, T., GORDIN, A., KARLSSON, M., KORPELA, K., PENTTÄNEN, P., SCHULTZ, E., SEPPÄLÄ, L. AND WIKBERG, T.: Effect of the novel catechol-O-methyltransferase inhibitor OR-611 in healthy volunteers. *Neurology* 41: suppl. 1, 345 P, 1991.
- LARSSON, C. I.: The use of an internal standard for control of the recovery in microdialysis. *Life Sci.* 49: 73-78, 1991.
- LEPPERT, P. S., CORTESE, M. AND FIX, J. A.: The effects of carbidopa dose and time and route of administration on systemic L-dopa levels in rats. *Pharm. Res.* 5: 587-591, 1988.
- LEVIN, J. A. AND WILSON, S. E.: The effect of monoamine oxidase and catechol-O-methyltransferase inhibitors on the accumulation and metabolism of

- L-³H]norepinephrine by the adventitia and media of rabbit aorta. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 203: 598-609, 1977.
- LEWINSON, R., BOHM, K. H., GLOVER, V. AND SANDLER, M.: A benzylamine oxidase distinct from monoamine oxidase B: widespread distribution in man and rat. *Biochem. Pharmacol.* 27: 1857-1863, 1978.
- LINDÉN, I. B., ETEMADZADEH, E., SCHULTZ, E. AND PORTO, P.: Selective catechol-O-methyltransferase (COMT) inhibition as potential adjunctive treatment with L-dopa in Parkinson's disease. *Mov. Disord.* 5: suppl. 1, 49, 1990.
- LORENZO, A. V. AND CUTLER, R. W. P.: Amino acid transport by choroid plexus *in vitro*. *J. Neurochem.* 16: 577-585, 1969.
- MYLLYLÄ, V. V., SOTANIEMI, K. A., ILLI, A. AND KERÄNEN, T.: Effects of entacapone, a novel COMT inhibitor, on levodopa pharmacokinetics and cardiovascular responses in Parkinson's disease patients. *Neurology* 42: suppl. 3, 442, 1992.
- NISSINEN, E., TUOMINEN, R., PERHONIEMI, V. AND KAAKKOLA, S.: Catechol-O-methyltransferase activity in human and rat small intestine. *Life Sci.* 42: 2609-2614, 1988.
- NUTT, J. G. AND FELLMAN, J. H.: Pharmacokinetics of levodopa. *Clin. Neuropharmacol.* 7: 35-49, 1984.
- NUTT, J. G., WOODWARD, W. R. AND ANDERSON, J. L.: The effect of carbidopa on the pharmacokinetics of intravenously administered levodopa: the mechanism of action in the treatment of Parkinsonism. *Ann. Neurol.* 18: 537-543, 1985.
- NUTT, J. G., WOODWARD, W. R., BECKNER, R. M., STONE, C. K., BERGGREN, K., CARTER, J. H., GANCHER, S. T., HAMMERSTAD, J. P. AND GORDIN, A.: Effect of peripheral catechol-O-methyltransferase inhibition on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of levodopa in parkinsonian patients. *Neurology* 44: 913-919, 1994.
- ORDONEZ, L. A., ROMERO, J. A. AND WURTMAN, R. J.: Tissue distribution of l-dopa evidence for a reservoir in skeletal muscle. *Fed. Proc.* 31: 589, 1972.
- ORDONEZ, L. A., ARBRUS, M., BOYSON, S., GOODMAN, M. N., RUDERMAN, N. B. AND WURTMAN, R. J.: Skeletal muscle: Reservoir for exogenous L-dopa. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 190: 187-191, 1974.
- PARDRIDGE, W. M.: Kinetics of competitive inhibition of neutral amino acid transport across the blood-brain barrier. *J. Neurochem.* 28: 103-108, 1977.
- RINNE, U. K., SOMNINEN, V. AND SUKOLA, T.: Acidoamine metabolites in cerebrospinal fluid of parkinsonian patients treated with levodopa alone or combined with a decarboxylase inhibitor. *Sur. Neurol.* 9: 349-362, 1973.
- ROMERO, J. A., LYTLE, L. D., ORDONEZ, L. A. AND WURTMAN, R. J.: Effects of L-dopa administration on the concentration of dopa, dopamine and norepinephrine in various rat tissues. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 184: 67-72, 1973.
- ROSE, S., JENNER, P. AND MARSDEN, C. D.: The effect of carbidopa on plasma and muscle levels of l-dopa, dopamine and their metabolites following l-dopa administration to rats. *Mov. Disord.* 3: 117-125, 1988.
- ROSE, S., JENNER, P. AND MARSDEN, C. D.: Peripheral pharmacokinetic handling and metabolism of L-dopa in the rat: The effect of route of administration and carbidopa pretreatment. *J. Pharm. Pharmacol.* 43: 325-330, 1991.
- SANDLER, M., JOHNSON, R. D., RUTHVEN, D. R. J., RIED, J. AND CALNE, D.: Transamination is a major pathway of L-dopa metabolism following peripheral decarboxylase inhibition. *Nature* 247: 364-366, 1974.
- SASAHARA, K., NITANAI, T., HABARA, T., MORIOKA, T. AND NAKAJIMA, E.: Dosage form design for improvement of bioavailability of levodopa. II: Bioavailability of marketed levodopa preparations in dogs and parkinsonian patients. *J. Pharm. Sci.* 69: 261-265, 1980.
- SCHELLER, D. AND KOLB, J. J.: The internal reference technique in microdialysis: A practical approach to monitoring dialysis efficiency and to calculating tissue concentration from dialysate samples. *J. Neurosci. Methods* 40: 31-48, 1991.
- SPARGO, E., PRATT, O. E. AND DANIEL, P. M.: Metabolic functions of skeletal muscles of man, mammals, birds and fishes: a review. *J. Roy. Soc. Med.* 32: 921-925, 1979.
- VAN BELLE, K., DZEKA, T., SARRE, S., EBINGER, G. AND MICHOTTE, Y.: *In vitro* and *in vivo* microdialysis calibration for the measurement of carbamazepine and its metabolites in rat brain tissue using the internal reference technique. *J. Neurosci. Methods* 49: 167-175, 1993.
- WADE, D. N., MEARRICK, P. T. AND MORRIS, J. L.: Active transport of levodopa in the intestine. *Nature* 242: 463-465, 1973.
- WERNER, W., HARRISON, W. AND KLAUANS, H.: L-dopa and cerebrospinal fluid homovanillic acid in parkinsonism. *Life Sci.* 8: 971-978, 1969.

Send reprint requests to: Prof. Dr. Y. Michotte, Vrije Universiteit Brussel, Pharmaceutical Institute, Department of Pharmaceutical Chemistry and Drug Analysis, Laarbeeklaan 103, B-1090 Brussels, Belgium.

Entacapone Enhances Levodopa-Induced Reversal of Motor Disability in MPTP-Treated Common Marmosets

Lance A. Smith, *Ariel Gordin, Peter Jenner, and †C. David Marsden

*Neurodegenerative Diseases Research Centre, Pharmacology Group, Biomedical Sciences Division, King's College, London, England; *Orion-Farmos, Orion Research Center, Espoo, Finland; and †University Department of Neurology, National Hospital for Neurology and Neurosurgery, Queen Square, London, England*

Summary: Oral administration of levodopa (L-dopa) (2.5–25.0 mg/kg) plus carbidopa (12.5 mg/kg p.o.) to MPTP-treated common marmosets produced a dose-related increase in locomotor activity and a corresponding decrease in motor disability. Pretreatment with the peripheral COMT inhibitor entacapone (12.5 mg/kg p.o.) enhanced the intensity and duration of the increase in locomotor activity and the reversal of motor disability produced by a threshold dose of L-dopa (2.5 mg/kg p.o.) plus carbidopa. By contrast, entacapone pretreatment did not potentiate the increased locomotor activity or reversal of motor disability produced by a near-maximal dose of L-dopa (12.5 mg/kg p.o.) plus carbidopa. The effects of entacapone (5.0–25.0 mg/kg p.o.) were dose related, with doses of >12.5 mg/kg

tending to produce less potentiation of L-dopa's effects compared to lower doses. Pretreatment with entacapone (12.5 mg/kg p.o.) without carbidopa caused a short-lasting enhancement of L-dopa's (12.5 mg/kg p.o.) action, whereas pretreatment with carbidopa (12.5 mg/kg p.o.) alone had a more dramatic effect. However, pretreatment with both carbidopa and entacapone produced the greatest overall motor response. In conclusion, entacapone enhances the motor response produced by a low-threshold dose of L-dopa plus carbidopa. However, optimization of both the dose of L-dopa and entacapone appears necessary to obtain the maximal therapeutic response. **Key Words:** Locomotor activity—Behavioral disability—MPTP—COMT inhibitor—Entacapone—Levodopa—Carbidopa.

Levodopa (L-dopa) in combination with a peripherally acting decarboxylase inhibitor, such as carbidopa or benserazide, remains the most effective drug treatment for Parkinson's disease. However, the effectiveness of L-dopa therapy diminishes with time as "wearing off" and "on-off" phenomena appear with the onset of dyskinesias. Why the loss of drug efficacy occurs remains unclear, but a more beneficial therapeutic response can be achieved by the maintenance of constant plasma levels of L-dopa by intravenous infusions (1). This suggests that treatment strategies aimed at prolonging the action of orally administered L-dopa should provide additional benefit to patients exhibiting a loss of drug effect.

The therapeutic effectiveness of L-dopa requires penetration through the blood-brain barrier and subsequent

conversion to dopamine (DA) (2). L-Dopa is metabolized in both peripheral tissues and brain by dopa decarboxylase (L-aromatic amino acid decarboxylase) to produce DA and by catechol-O-methyltransferase (COMT) to produce 3-O-methyldopa (3-OMD). The majority of an oral dose of L-dopa is converted to DA or 3-OMD in peripheral tissues, such as intestine, blood, and liver (2,3). Hence, the use of a selective peripheral decarboxylase inhibitor increases the amount of L-dopa reaching the brain. However, following inhibition of peripheral dopa decarboxylase, the formation of 3-OMD by COMT becomes more pronounced (3,4). Consequently, inactivation of peripheral COMT should increase the amount of L-dopa reaching the brain and enhance its therapeutic effects.

High concentrations of COMT are found in liver and kidneys, with lower amounts in heart, lungs, intestinal tract, and neural tissues (5,6). Previous attempts to inhibit COMT in vivo with compounds such as pyrogallol (1,2,3-trihydroxybenzene) and gallic acid (1,2,3-

Received October 23, 1996; revision received February 7, 1997.
Accepted February 16, 1997.

Address correspondence and reprint requests to Prof. P. Jenner at Pharmacology Group, Biomedical Sciences Division, King's College London, Manresa Road, London SW3 6LX, U.K.

trihydroxybenzoic acid) were limited by toxicity (7). In contrast, entacapone—a second-generation, selective, and highly potent COMT inhibitor—can be used effectively in animals and humans (4,8–10). Entacapone largely inhibits peripheral COMT as it barely penetrates the blood–brain barrier (9). In rats, entacapone increases the bioavailability of L-dopa and decreases the formation of 3-OMD. Consequently, following pretreatment with entacapone, lower doses of L-dopa plus carbidopa produce striatal DA concentrations similar to those seen with higher L-dopa doses administered in the absence of entacapone (9).

In cynomolgus monkeys treated with entacapone, positron-emission tomographic studies showed that administration of [^{18}F]dopa resulted in substantially lower plasma levels of [^{18}F]3-OMD (11). The decreased peripheral metabolism of [^{18}F]dopa after COMT inhibition resulted in increased striatal uptake of [^{18}F]dopa. Indeed, in cynomolgus monkeys treated with L-dopa plus carbidopa, administration of entacapone dose-dependently reduced 3-OMD formation and increased serum L-dopa levels (12). Similarly, in patients with Parkinson's disease, administration of entacapone increased plasma levels of L-dopa and produced a significant increase in the duration of the motor responses to L-dopa (13,14). Entacapone also potentiates the effect of L-dopa plus carbidopa in reserpinized mice, and in rats with unilateral 6-hydroxydopamine lesions of the nigrostriatal pathway (15). However, the effects of entacapone on the therapeutic actions of L-dopa have not been studied in the primate model of Parkinson's disease treated with MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine).

For this reason, we have examined the effects of entacapone on the ability of L-dopa plus carbidopa to reverse parkinsonian motor deficits in MPTP-treated common marmosets. The actions of entacapone were studied in combination with a low-threshold dose of L-dopa and in combination with a near-maximal dose to determine the most effective use of the COMT inhibitor.

METHODS

MPTP Administration

A total of 16 adult common marmosets of either sex (weight range, 290–440 g; and age range, 3–8 years) were treated once daily with MPTP hydrochloride (Research Biochemicals, Natick, MA, U.S.A.) 2 mg/kg ip dissolved in 0.9% sterile saline for up to 5 days at 2 months prior to the start of the experiments, as previously described (16–18). The effects of MPTP were most pronounced 2–3 weeks after its administration, with the marmosets exhibiting persistent motor deficits compris-

ing marked bradykinesia, loss of vocalization, flexed posture, rigidity, and, in some of the animals, intermittent postural tremor. At the time of experimentation, the marmosets had recovered from the acute effects of MPTP treatment and were able to feed and clean themselves, but still showed marked motor deficits, with bradykinesia, rigidity, and loss of vocalization, as previously reported (16–18).

Preparation and Administration of Drugs

Carbidopa (α -methyldopa hydrazine; Merck, Sharp and Dohme, Rahway, NJ, U.S.A.) or entacapone [(*E*)-2-cyano-*N,N*-diethyl-3-(3,4-dihydroxy-5-nitrophenyl) propenamide; Orion Farnos, Espoo, Finland] was suspended in 10% sucrose solution. The marmosets were pretreated with carbidopa 12.5 mg/kg by oral gavage 60 min prior to the administration of L-dopa. Entacapone was given as a pretreatment by oral gavage 30 min before L-dopa. L-Dopa (Roche Products, Garden City, Hertfordshire, U.K.) was dissolved in 10% sucrose solution and administered by oral gavage. Equivalent volumes of sucrose solution (10%) were administered at appropriate times as a control. The marmosets were randomly divided into groups of four. Within groups, the animals received vehicle or drug treatment once weekly over the course of the experiment. A Latin-square design was used for the allocation of treatments within groups.

Assessment of Locomotor Activity

On each day of the experiment, the marmosets were transferred from their home cages and placed individually into activity cages identical to those in which they were normally housed except for a clear plastic front that allowed greater visibility for observation. Each cage was fitted with eight infrared photocell emitters and their corresponding light detectors. Each interruption of a light beam by a moving animal was recorded as a movement count. Photocells were arranged so as to enable the maximal assessment of movement in all directions. The marmosets were allowed a period of 60 min in the activity cages to become acclimatized before administration of vehicle or drug treatment. Monitoring was started immediately after treatment, and locomotor activity counts were accumulated over 10-min periods for the duration of the experiment.

Assessment of Motor Disability

The components of behavior scored by observer rating were as follows: alertness (normal, 0; reduced, 1; or

sleepy, 2); reaction to stimuli (normal, 0; reduced, 1; slow, 2; or absent, 3); checking movements (present, 0; reduced, 1; or absent, 2); attention and eye movements (normal, 0; or abnormal, 1); posture (normal, 0; abnormal trunk, 1; abnormal limbs, +1; abnormal tail, +1; or grossly abnormal, 4); balance/coordination (normal, 0; impaired, 1; unstable, 2; or spontaneous falls, 3); vocalization (normal, 0; reduced, 1; or absent, 2). Assessment of these items gives a disability score of "zero" for animals behaving "normally" and a maximum disability score of 17 for severely disabled animals. The MPTP-treated common marmosets used in these studies had disability scores of 12–13 prior to L-dopa treatment. Observers were not blinded to the nature of drug treatment.

Experimental Study Design

The aim of the study was to determine the effects of pretreatment with entacapone on L-dopa plus carbidopa-induced reversal of parkinsonism in MPTP-treated common marmosets. The overall areas of investigation were as follows:

1. Generation of dose response of MPTP-treated marmosets to L-dopa plus carbidopa;
2. The effect of entacapone pretreatment on the actions of L-dopa plus carbidopa; and
3. The effect of carbidopa or entacapone pretreatment alone and in combination on L-dopa reversal of motor deficits.

Dose Response of MPTP-Treated Marmosets to Levodopa Plus Carbidopa

MPTP-treated common marmosets received 12.5 mg/kg carbidopa p.o., followed 60 min later by L-dopa (2.5, 5.0, 12.5, 18.0, or 25.0 mg/kg p.o.). The marmosets were then observer rated for motor disability for 120 min, and locomotor activity was recorded for 240 min. On the basis of these data, the doses of L-dopa used in subsequent experiments were chosen.

Effect of Entacapone Pretreatment on the Actions of Levodopa Plus Carbidopa

The range of doses of entacapone between 5.0 and 25.0 mg/kg p.o. were assessed in two experiments for their ability to potentiate the effects of L-dopa (2.5 or 12.5 mg/kg p.o.) plus carbidopa (12.5 mg/kg p.o.) when administered 30 min following carbidopa (12.5 mg/kg p.o.) treatment and 30 min prior to L-dopa treatment. The marmosets were observer rated for 240 min, and loco-

motor activity counts were recorded for 300 min. Based on these investigations, a dose of 12.5 mg/kg was selected as optimal for use in subsequent experiments.

Effect of Carbidopa or Entacapone Pretreatment Alone and in Combination on Levodopa Reversal of Motor Deficits

MPTP-treated common marmosets were pretreated with carbidopa (12.5 mg/kg p.o.) 60 min prior to L-dopa, entacapone (12.5 mg/kg p.o.) without carbidopa 30 min prior to L-dopa, and carbidopa plus entacapone vehicles or combined carbidopa plus entacapone before administration of L-dopa (12.5 mg/kg p.o.). The marmosets were observer rated for 240 min and locomotor activity counts were recorded for 300 min.

Data Analysis

Statistical differences between accumulated locomotor counts or disability scores were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) (Kruskal–Wallis) or by two-way ANOVA, followed by the Mann–Whitney test. The level of significance was set at the 5% limits.

RESULTS

Dose Responsiveness of MPTP-Treated Common Marmosets to Levodopa Plus Carbidopa

Administration of L-dopa (2.5–25.0 mg/kg p.o.) plus carbidopa (12.5 mg/kg p.o.) produced a rapid and dose-dependent increase in locomotor activity, with effects lasting for >150 min at the highest dose employed (Fig. 1A). L-Dopa doses of ≥ 5.0 mg/kg produced statistically significant increases in locomotor activity when compared with vehicle-treated marmosets (Fig. 1B; Kruskal–Wallis, $H = 18.92$, $df = 5$, $p < 0.05$). Administration of L-dopa (2.5–25.0 mg/kg p.o.) plus carbidopa (12.5 mg/kg p.o.) induced a corresponding dose-dependent decrease in motor disability scores (Fig. 2A). At L-dopa doses of ≥ 12.5 mg/kg, a maximal reversal of motor disability was observed that lasted for >120 min. Total disability scores summed over 120 min were statistically different from vehicle treatment for all doses of L-dopa, including the lowest 2.5-mg/kg dose (Fig. 2B; Kruskal–Wallis, $H = 16.4$, $df = 5$, $p < 0.05$). No adverse reactions (for example, nausea or vomiting) were observed with L-dopa. No dyskinesias were observed, although some stereotyped climbing behavior was observed at 18.0 or 25.0 mg/kg. Based on these data, doses of L-dopa for use in subsequent experiments were selected. A threshold dose of 2.5 mg/kg L-dopa was chosen, along with an effective, but near-maximal, dose of 12.5 mg/kg.

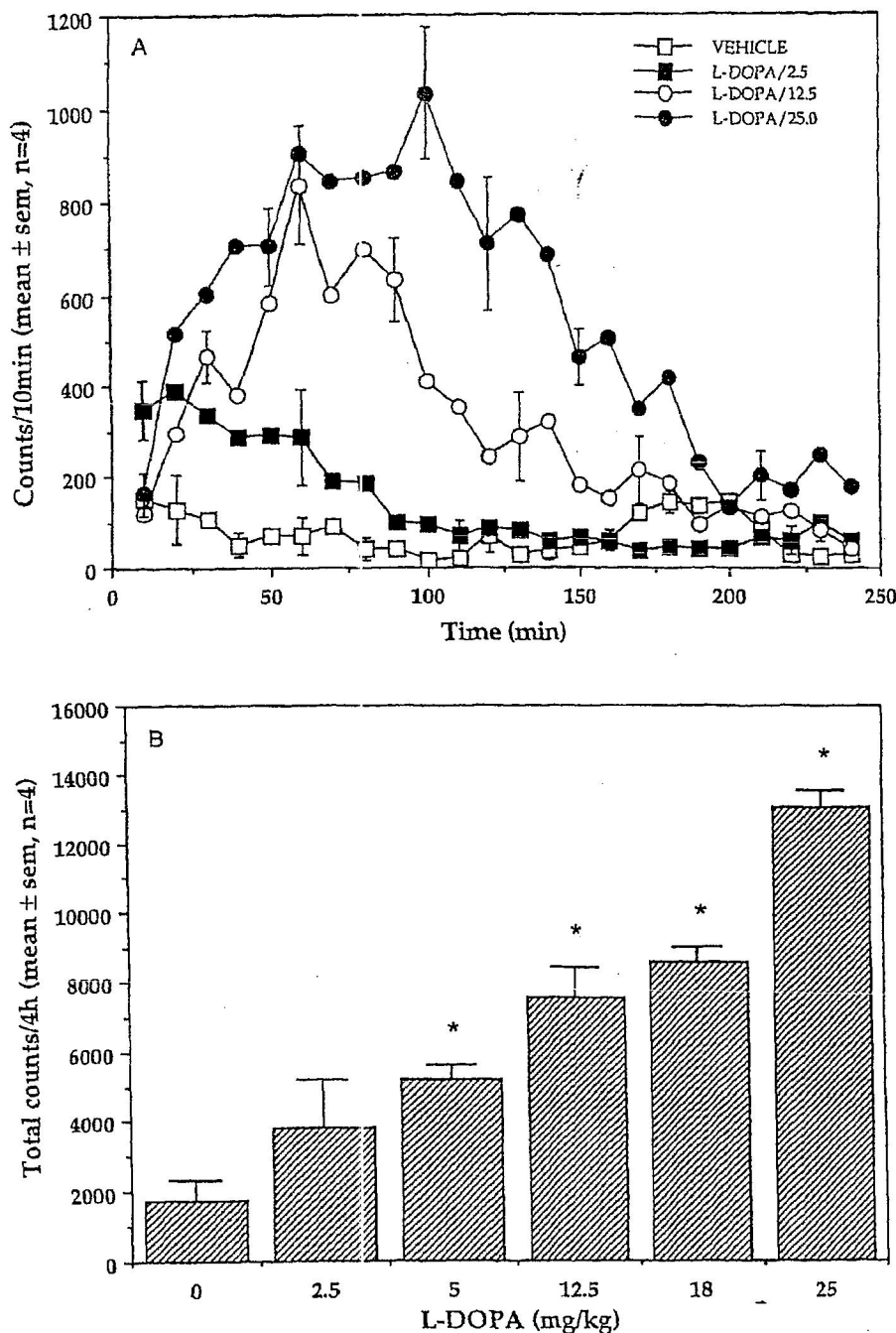


FIG. 1. The effect of vehicle or levodopa (L-dopa) (2.5–25.0 mg/kg p.o.) plus carbidopa (12.5 mg/kg p.o.) on locomotor activity in MPTP-treated common marmosets. A: Mean cumulative locomotor counts accumulated in 10-min intervals over 4 h ($\pm$ SEM). B: Mean total locomotor counts over 4 h ($\pm$ SEM). There was a dose-dependent increase in locomotor activity with increasing doses of L-dopa (Kruskal-Wallis, $H = 18.92$, $df = 5$, $p < 0.05$) [$*p < 0.05$ compared to vehicle treatment (Mann-Whitney test)].

Effect of a Range of Doses of Entacapone on the Actions of Levodopa Plus Carbidopa

Pretreatment with a range of doses of entacapone (5.0–25.0 mg/kg p.o.) tended to increase locomotor activity further and decrease disability scores produced by L-

dopa (12.5 mg/kg p.o.) plus carbidopa (12.5 mg/kg p.o.) in doses of up to 12.5 mg/kg of entacapone (Fig. 3). At higher doses (18.0 and 25.0 mg/kg), the mild enhancing effect of entacapone pretreatment on L-dopa plus carbidopa-induced changes in locomotor activity and disability scores diminished.

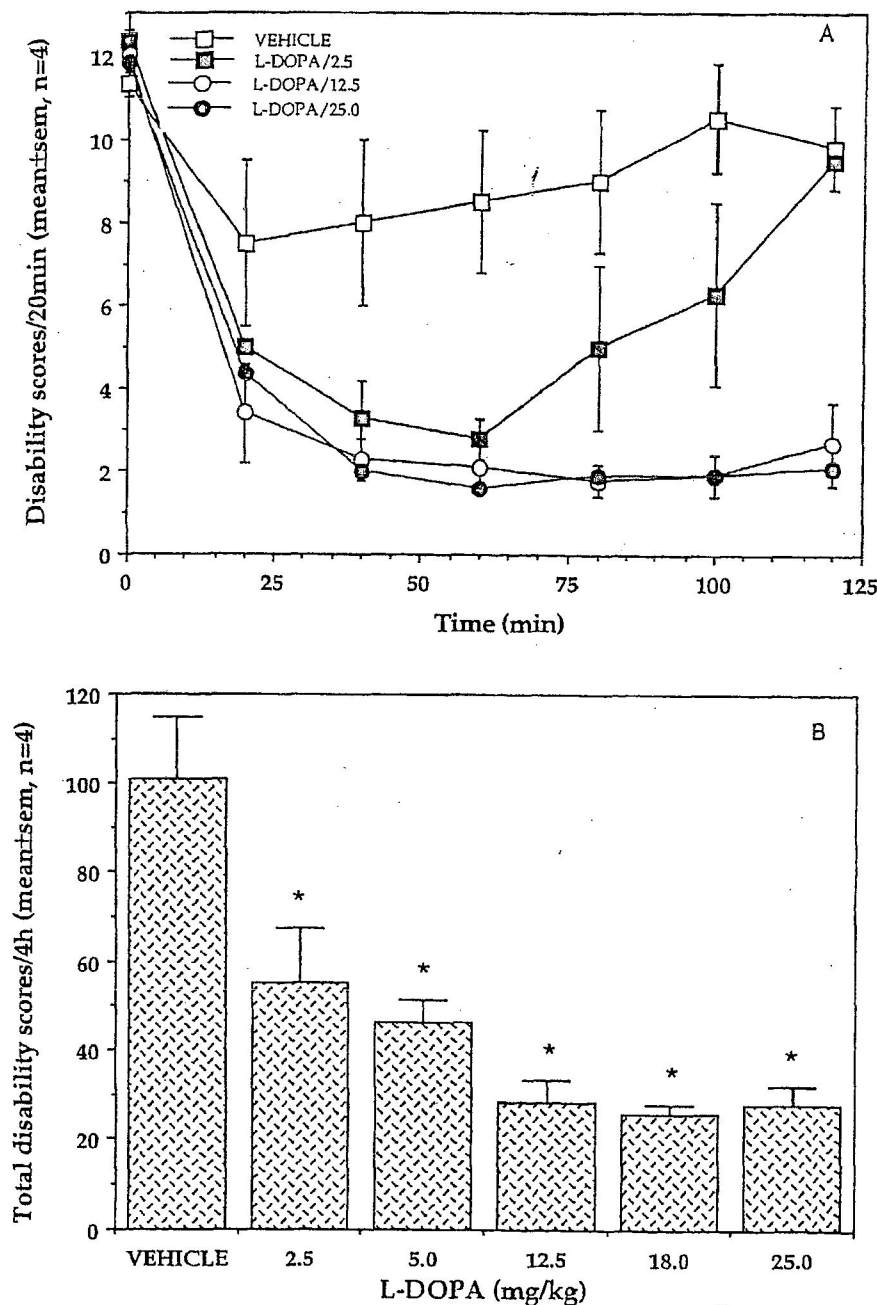


FIG. 2. The effect of vehicle or levodopa (L-dopa) (2.5–25.0 mg/kg p.o.) plus carbidopa (12.5 mg/kg p.o.) on motor disability scores in MPTP-treated common marmosets. A: Mean cumulative disability scores in 10-min intervals over 2 h ($\pm$ SEM). B: Mean total disability scores over 2 h ($\pm$ SEM). There was a dose-dependent decrease in disability scores with increasing doses of L-dopa (Kruskal-Wallis, $H = 16.4$, $df = 5$, $p < 0.05$) [$*p < 0.05$ compared to vehicle (Mann-Whitney test)].

Effect of Entacapone Pretreatment on the Actions of a Near-Maximal Dose of Levodopa

Pretreatment with entacapone (12.5 mg/kg p.o.) caused a moderate increase in locomotor activity and reversal of disability scores induced by L-dopa (12.5 mg/kg p.o.) plus carbidopa (12.5 mg/kg p.o.) (Table 1). The

onset of locomotor activity and reversal of disability and the time course in entacapone-pretreated marmosets was similar to that produced by L-dopa plus carbidopa without entacapone. The effects of L-dopa plus carbidopa without entacapone or L-dopa plus carbidopa with entacapone on total locomotor counts and disability scores were not statistically different from each other,

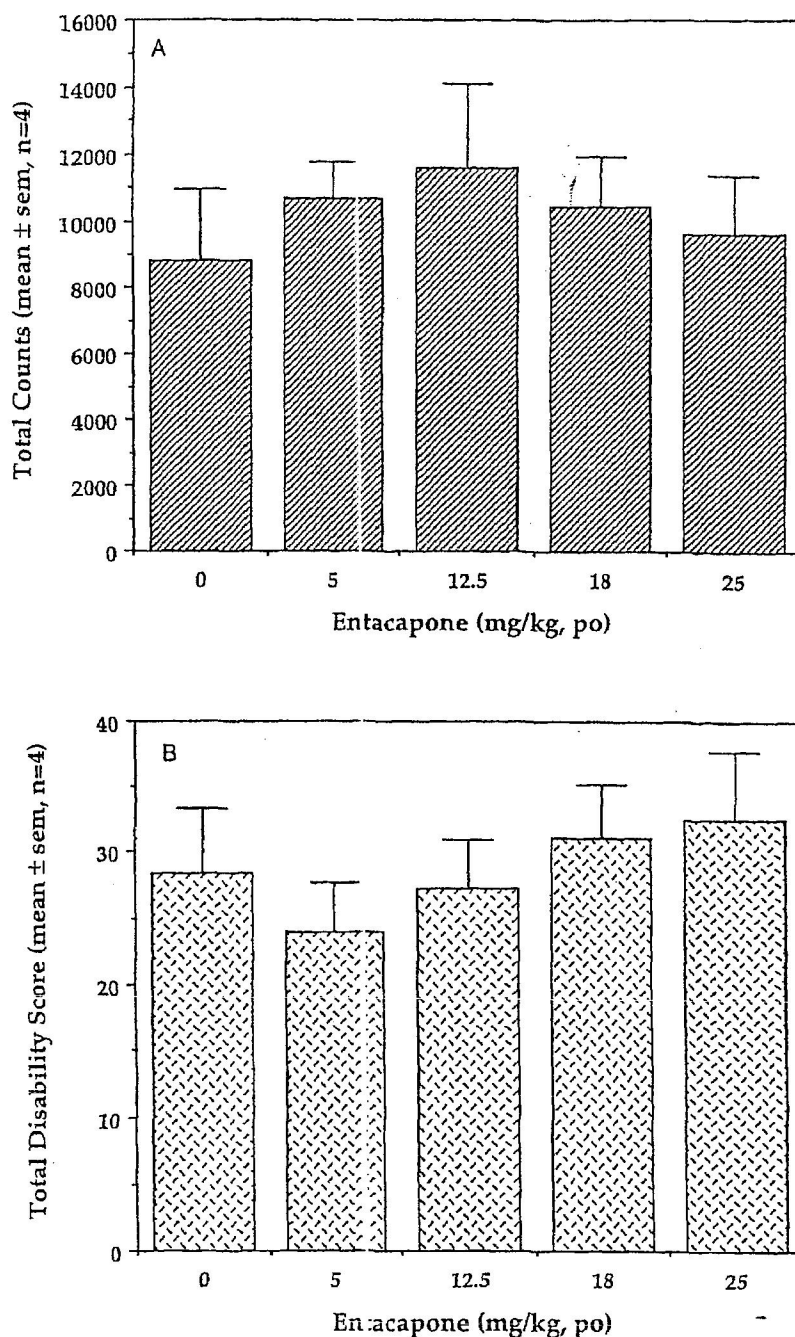


FIG. 3. Effect of vehicle or entacapone (5.0–25.0 mg/kg p.o.) pretreatment on locomotor activity and motor disability scores in MPTP-treated common marmosets, produced by a near-maximal dose of levodopa (L-dopa) (12.5 mg/kg p.o.) plus carbidopa (12.5 mg/kg p.o.). A: Mean total locomotor counts over 4 h ($\pm$ SEM). B: Mean total disability scores over 2 h ($\pm$ SEM). There were no significant differences in total locomotor counts or total disability scores between pretreatments.

but both were statistically different from vehicle treatment (Table 1).

Effect of Entacapone Pretreatment on the Actions of a Threshold Dose of Levodopa Plus Carbidopa

Pretreatment with entacapone (12.5 mg/kg p.o.) enhanced the ability of a threshold dose of L-dopa (2.5

mg/kg p.o.) plus carbidopa (12.5 mg/kg p.o.) to increase locomotor activity (Fig. 4A). The increase in locomotor activity was more prolonged (lasting for up to 200 min), and peak activity was increased and occurred between 80 and 100 min, when compared to L-dopa plus carbidopa without entacapone. The marked enhancement was apparent in the cumulative locomotor counts, which were

TABLE 1. Effect of entacapone (12.5 mg/kg p.o.) pretreatment on locomotor activity and motor disability scores in MPTP-treated common marmosets produced by a near-maximal dose of L-DOPA (12.5 mg/kg) plus carbidopa (12.5 mg/kg)

Treatment and pretreatments	Total locomotor counts/5 h (mean $\pm$ SEM)	Total disability scores/4 h (mean $\pm$ SEM)
L-Dopa vehicle + carbidopa + entacapone vehicle	3,575 $\pm$ 431	316 $\pm$ 16
L-Dopa + entacapone vehicle + carbidopa	12,401 $\pm$ 2,617 ^a	173 $\pm$ 5 ^b
L-Dopa + entacapone + carbidopa	15,408 $\pm$ 2,658 ^a	140 $\pm$ 13 ^b

Mean total locomotor counts in 5 h ($\pm$ SEM) and disability scores in 4 h ($\pm$ SEM) are shown (^a $p < 0.05$ locomotor counts; ^b $p < 0.05$ disability scores, Mann Whitney test; all comparisons with vehicle treatment).

significantly different from those obtained with L-dopa plus carbidopa without entacapone (Fig. 4B).

Pretreatment with entacapone (12.5 mg/kg p.o.) also enhanced the reduction in disability scores produced by L-dopa (2.5 mg/kg p.o.) plus carbidopa (12.5 mg/kg p.o.) (Fig. 5A). The maximum decrease in disability scores was not greatly altered by entacapone pretreatment, but the duration of the reduction was markedly prolonged compared to that produced by L-dopa plus carbidopa without entacapone. With the combined carbidopa plus entacapone pretreatments, the marmosets remained alert and active well beyond the time at which there was a return to predrug conditions following L-dopa plus carbidopa without entacapone. Total disability scores following entacapone pretreatment were significantly different from those produced by L-dopa vehicle or L-dopa plus carbidopa without entacapone (Fig. 5B; Kruskal-Wallis, $H = 7.73$, $df = 2$, $p < 0.05$).

Effects of Two Different Doses of Entacapone Pretreatment on the Actions of a Threshold Dose of Levodopa Plus Carbidopa

There was no statistical difference in the cumulative total locomotor activity counts or disability scores produced by a threshold dose of L-dopa (2.5 mg/kg p.o.) plus carbidopa (12.5 mg/kg p.o.) in marmosets pretreated with 12.5 mg/kg compared to pretreatment with 25.0 mg/kg p.o. entacapone, although the higher dose tended to have fewer effects on both locomotor activity and disability scores (Table 2). Pretreatment with both doses of entacapone produced increases in total locomotor counts and decreases in disability scores that were greater than those for L-dopa plus carbidopa without entacapone and significantly greater than the counts produced by vehicle treatment.

Effect of Carbidopa or Entacapone Pretreatment Alone and in Combination on Reversal of Motor Deficits by a Near-Maximal Dose of Levodopa Plus Carbidopa

Administration of L-dopa (12.5 mg/kg p.o.) in the presence of pretreatment with carbidopa vehicle or enta-

capone vehicle alone produced little or no change in locomotor activity or motor disability. Pretreatment with entacapone (12.5 mg/kg) plus carbidopa vehicle enhanced the effects produced by L-dopa when compared with L-dopa plus carbidopa vehicle pretreatment, as shown by an increase in locomotor activity or decrease in disability scores (Table 3). Pretreatment with carbidopa (12.5 mg/kg p.o.) plus entacapone vehicle produced the expected marked increase in locomotor activity and reduction of disability scores following L-dopa administration (Table 3). Following pretreatment with carbidopa plus entacapone vehicle, the duration of action of L-dopa was greater than that produced by L-dopa plus entacapone without carbidopa. Similarly, total locomotor counts were greater and disability scores lower after pretreatment with carbidopa without entacapone than after pretreatment with entacapone without carbidopa, although not significantly so (Table 3). Pretreatment with both carbidopa and entacapone further enhanced the increase in locomotor activity and the decrease in disability scores produced by L-dopa compared to pretreatment with carbidopa without entacapone or entacapone alone (Table 3). Two-way ANOVA showed a statistically significant effect of varying pretreatments for total locomotor counts ($F = 24.48$, $p = < 0.05$) and for total disability scores ($F = 20.03$, $p < 0.05$).

DISCUSSION

These investigations were aimed at determining the effects of peripheral COMT inhibition by using entacapone on the actions of L-dopa plus carbidopa. The administration of entacapone itself had no effect on basal motor disability. In combination with a near-maximal dose of L-dopa plus carbidopa, entacapone produced some further increase in locomotor activity and reversal of disability. However, these results suggest that, in combination with high doses of L-dopa that are producing a maximal reversal of parkinsonism, the further addition of entacapone would not provide additional benefit in terms of the extent to which disability was reversed. The ad-

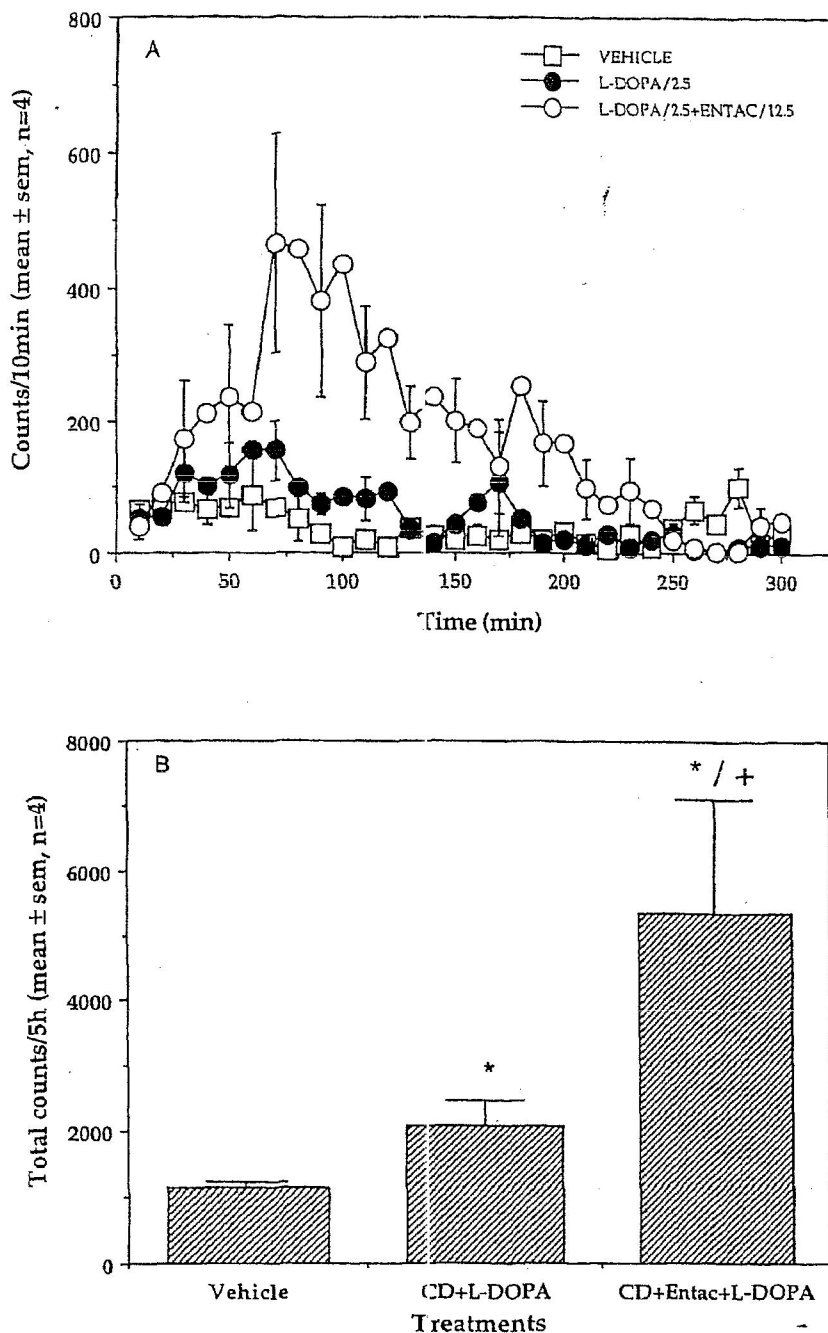


FIG. 4. Effect of entacapone (12.5 mg/kg p.o.) pretreatment on locomotor activity in MPTP-treated common marmosets, induced by a threshold dose of levodopa (L-dopa) (2.5 mg/kg p.o.) plus carbidopa (12.5 mg/kg). A: Mean cumulative locomotor counts accumulated in 10-min intervals over 5 h ($\pm$ SEM). B: Mean total locomotor counts over 5 h ($\pm$ SEM). Entacapone greatly enhanced the effects of L-dopa plus carbidopa in both magnitude and duration of locomotor activity (Kruskal-Wallis, $H = 8.35$, $df = 2$, $p < 0.05$) [$*p < 0.05$ compared to L-dopa and carbidopa (Mann-Whitney test); and $*p < 0.05$ compared to vehicle treatment (Mann-Whitney test)].

dition of entacapone to L-dopa plus carbidopa did not evoke any increase in adverse effects in the marmosets (for example, nausea, vomiting, or dyskinesias). So, at high L-dopa dosage levels, the prevention of peripheral 3-OMD formation and subsequent increase in L-dopa and hence DA bioavailability to the brain is not a means by

which the extent of L-dopa's activity can be readily enhanced. At the threshold dose of L-dopa, entacapone markedly enhanced its duration of action. This suggests that entacapone should be used with low doses of L-dopa to increase maximal effects and especially its duration of action. As such, the drug may exert an L-dopa-sparing

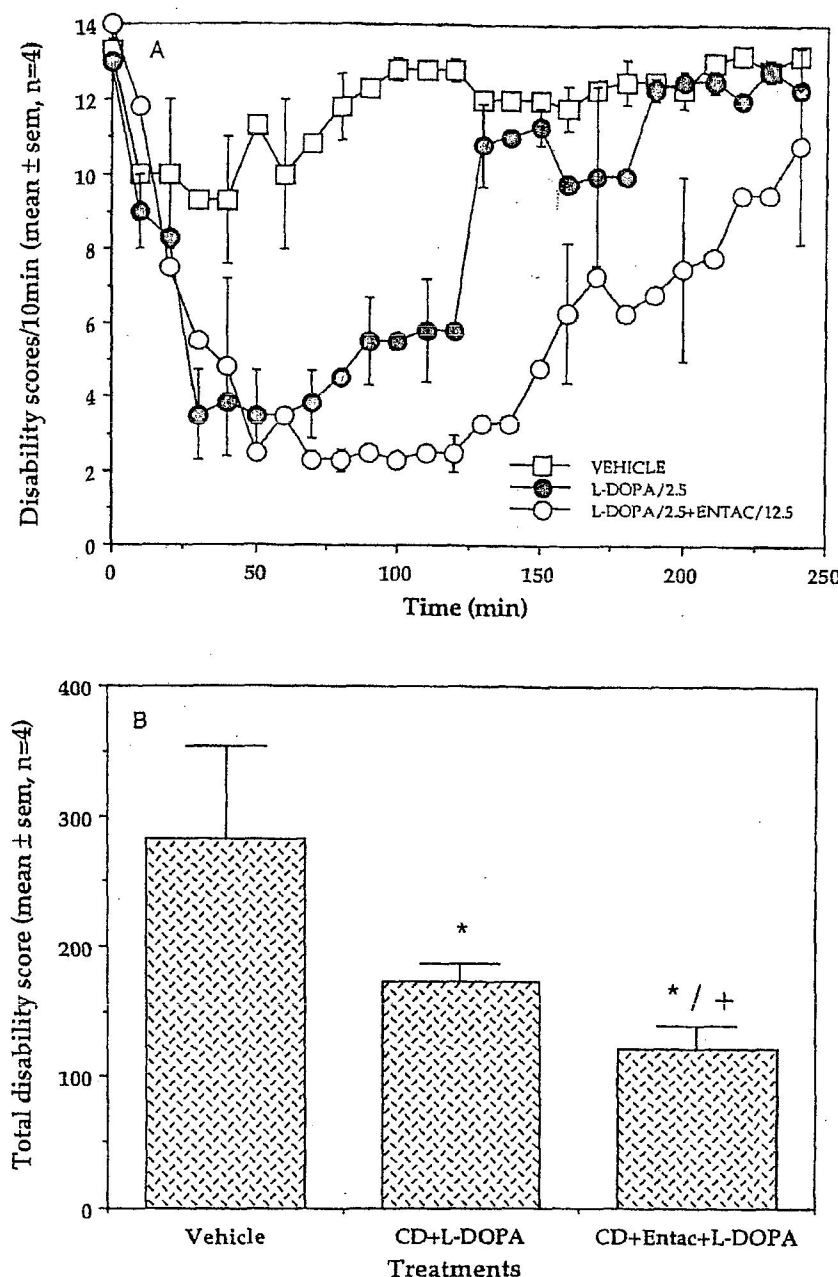


FIG. 5. Effect of entacapone (12.5 mg/kg) pretreatment on motor disability scores in MPTP-treated common marmosets, induced by a threshold dose of levodopa (L-dopa) (2.5 mg/kg p.o.) plus carbidopa (12.5 mg/kg). A: Mean cumulative disability scores accumulated in 10-min intervals over 4 h ($\pm$ SEM). B: Mean total disability scores in 4 h ($\pm$ SEM). Entacapone enhanced the effects of L-dopa plus carbidopa in the overall magnitude and duration of reduction of disability scores (Kruskal-Wallis, $H = 7.73$, $df = 2$, $p < 0.05$) [$*p < 0.05$ compared to L-dopa plus carbidopa (Mann-Whitney test); and $*p < 0.05$ compared to vehicle treatment (Mann-Whitney test)].

action as well as potentiating the period of benefit after each L-dopa dose. The ability of entacapone to potentiate the duration of action of L-dopa in these experiments is in full agreement with its ability to prolong L-dopa plasma half-life in rats, monkeys, and humans as a result of peripheral COMT inhibition (11,12,19-21).

Interestingly, entacapone had a bell-shaped dose-

response curve in potentiating L-dopa's actions, with doses of entacapone of >12.5 mg/kg producing a lesser effect. The bell-shaped dose-response curve has also been observed in rats receiving L-dopa in combination with entacapone (unpublished data). In addition, a similar bell-shaped curve with increasing entacapone doses has been reported in patients with Parkinson's disease

TABLE 2. Effect of entacapone (12.5 or 25.0 mg/kg p.o.) pretreatment on locomotor activity and motor disability scores in MPTP-treated common marmosets produced by a threshold dose of L-DOPA (2.5 mg/kg) plus carbidopa (12.5 mg/kg)

Treatment and pretreatments	Total locomotor counts/5 h (mean $\pm$ SEM)	Total disability scores/4 h (mean $\pm$ SEM)
L-Dopa vehicle + carbidopa + entacapone vehicle	3,575 $\pm$ 431	316 $\pm$ 16
L-Dopa + entacapone vehicle + carbidopa	5,310 $\pm$ 1,542	204 $\pm$ 17.5 ^b
L-Dopa + entacapone (12.5) + carbidopa	8,375 $\pm$ 1,944 ^a	182 $\pm$ 13 ^b
L-Dopa + entacapone (25.0) + carbidopa	7,564 $\pm$ 2,191 ^a	117 $\pm$ 26 ^b

Mean total locomotor counts in 5 h ($\pm$ SEM) and disability scores in 4 h ($\pm$ SEM) are shown.

^a $p < 0.05$ locomotor counts; ^b $p < 0.05$ disability scores, Mann-Whitney test; all comparisons with vehicle treatment.

receiving entacapone as an adjuvant to L-dopa therapy (21). Recent findings suggest that, at high doses, entacapone interferes with carbidopa absorption, decreasing inhibition of decarboxylase activity (22,23). This leads to greater metabolism of L-dopa in the periphery, decreasing the overall effect of the drug on motor function. These results indicate that careful consideration must be given to the therapeutic dose of entacapone to be used for inhibiting peripheral COMT in therapeutic practice.

Lastly, the effects on carbidopa alone, entacapone alone, and entacapone plus carbidopa on the actions of L-dopa were investigated to establish which drug combination was likely to be the most effective in potentiating L-dopa's actions in clinical practice. Carbidopa produced the expected potentiation of L-dopa's actions, whereas entacapone alone had relatively little effect. The combination of entacapone and carbidopa produced the

greatest potentiation of the reversal of motor deficits and appeared to be superior to either drug alone.

In conclusion, inhibition of peripheral COMT by entacapone leads to a potentiation of the actions of L-dopa plus carbidopa in MPTP-treated common marmosets. These results are in full agreement with studies in rodents and humans (10,12,13,19–21). The effect is far more marked when using a low-threshold dose of L-dopa rather than at higher maximally effective dose levels. This is not surprising in view of the mechanism of action of entacapone, but has implications for the manner in which the drug is used in clinical practice. The ability of entacapone to potentiate the effects of L-dopa should translate into increased mobility in those patients with Parkinson's disease with "wearing off" and "on-off" phenomena as is borne out by studies in nonhuman primates, healthy human volunteers, and in recent clinical trials with parkinsonian patients (11–14,24).

TABLE 3. Comparison of pretreatment with carbidopa vehicle plus entacapone vehicle, entacapone (12.5 mg/kg) plus carbidopa vehicle, carbidopa (12.5 mg/kg) plus entacapone vehicle or combined carbidopa plus entacapone on locomotor activity or disability scores in MPTP-treated common marmosets after L-DOPA (12.5 mg/kg p.o.)

Pretreatments	Total locomotor counts/4 h (mean $\pm$ SEM)	Total disability scores/2 h (mean $\pm$ SEM)
Carbidopa vehicle + entacapone vehicle	1,175 $\pm$ 624	126.5 $\pm$ 20
Carbidopa vehicle + entacapone	2,279 $\pm$ 693	81.5 $\pm$ 15
Carbidopa + entacapone vehicle	4,161 $\pm$ 895 ^a	47.8 $\pm$ 7 ^c
Carbidopa + entacapone	5,735 $\pm$ 249 ^{a,b}	42 $\pm$ 2.6 ^c

Mean cumulative locomotor counts accumulated in 10 min intervals over 4 h ($\pm$ SEM) and disability scores over 2 h ($\pm$ SEM) are shown. Two-way ANOVA showed a statistically significant effect of varying pretreatments on 1) locomotor activity ($F = 24.48$, $p < 0.05$) ^a $p < 0.05$, carbidopa without entacapone or combined carbidopa plus entacapone pretreatment versus carbidopa/entacapone vehicle or entacapone without carbidopa pretreatments; ^b $p < 0.05$, combined carbidopa plus entacapone versus carbidopa without entacapone, Mann-Whitney test. 2) disability scores ($F = 20.03$, $P < 0.05$). ^c $p < 0.05$, carbidopa without entacapone or combined carbidopa plus entacapone pretreatments versus carbidopa/entacapone vehicle or entacapone without carbidopa, Mann-Whitney test.

Acknowledgment: This study was supported by the National Parkinson Foundation, Miami, Florida; the Parkinson's Disease Society; and the Medical Research Council. We thank Dr. S. Salvage for advice on statistical analysis and Mr. Michael Jackson for technical expertise.

REFERENCES

1. Quinn N, Parkes JD, Marsden CD. Control of on/off phenomenon by continuous intravenous infusion of levodopa. *Neurology* 1984; 34:1131-1136.
2. Cedarbaum JM. Clinical pharmacokinetics of antiparkinsonian drugs. *Clin Pharmacokinet* 1987;13:141-178.
3. Männistö PT, Ulanen I, Lundström K. Characteristics of catechol-O-methyltransferase (COMT) and properties of selective COMT inhibitors. *Prog Drug Res* 1992;39:291-350.
4. Männistö PT, Kaakkola S. New selective COMT inhibitors as useful adjuncts for Parkinson's disease? *Trends Pharmacol Sci* 1989;10:54-56.
5. Sharples NS, Tyce GM, Owen CA. Effect of chronic administration of L-dopa on catechol-O-methyltransferase in rat tissues. *Life Sci* 1973;12:97-106.
6. Nissinen E, Tuominen R, Perhoniemi V, Kaakkola S. Catechol-O-methyltransferase activity in human and rat small intestines. *Life Sci* 1988;42:2609-2614.
7. Guldeberg HC, Marsden CA. Catechol-O-methyl transferase: pharmacological aspects and physiological role. *Pharmacol Rev* 1975; 27:135-206.
8. Männistö PT, Kaakkola S. Rationale for selective COMT inhibitors as adjuncts in the drug treatment of Parkinson's disease. *Pharmacol Toxicol* 1990;66:317-323.
9. Nissinen E, Lindén IB, Shultz E, Pohjo P. Biochemical and pharmacological properties of a peripherally acting catechol-O-methyltransferase inhibitor entacapone. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1992;346:262-266.
10. Kaakkola S, Gordin A, Männistö PT. General properties and clinical possibilities of new selective inhibitors of catechol-O-methyltransferase. *Gen Pharmacol* 1994;25:813-824.
11. Guttman M, Leger G, Reches A, et al. Administration of the new COMT inhibitor OR-611 increases striatal uptake of fluorodopa. *Mov Disord* 1993;8:298-304.
12. Cedarbaum JM, Leger G, Guttman M. Reduction of circulating 3-O-methyldopa by inhibition of catechol-O-methyldopa with OR-611 and OR-642 in cynomolgus monkeys: implications for the treatment of Parkinson's disease. *Clin Neuropharmacol* 1991;14: 330-342.
13. Merello M, Lees A, Webster R, et al. Effect of entacapone, a peripherally acting catechol-O-methyltransferase inhibitor, on the motor response to acute treatment with levodopa in patients with Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994;57:186-189.
14. Nutt JG, Woodward WR, Beckner RM, et al. Effect of peripheral catechol-O-methyltransferase inhibition on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of levodopa in parkinsonian patients. *Neurology* 1994;44:913-919.
15. Törnwall M, Männistö PT. Effects of three types of catechol-methylation inhibitors on L-3,4-dihydroxyphenylalanine-induced behaviour in rats. *Eur J Pharmacol* 1993;250:77-84.
16. Nomoto M, Jenner P, Marsden CD. The D-1 agonist SKF 38393 inhibits the antiparkinsonian activity of the D-2 agonist LY 171555 in the MPTP-treated marmoset. *Neurosci Lett* 1988;93:275-280.
17. Kebabian JW, Britton DR, De Ninno MP, et al. A77636: a potent and selective dopamine D-1 receptor agonist with antiparkinsonian activity in marmosets. *Eur J Pharmacol* 1992;229:203-209.
18. Löschmann P, Smith LA, Lange KW, et al. Motor activity following administration of selective D-1 and D-2 dopaminergic drugs to MPTP-treated common marmosets. *Psychopharmacology (Berlin)* 1992;109:49-56.
19. Männistö PT. Clinical potential of catechol-O-methyltransferase (COMT) inhibitors as adjuvants in Parkinson's disease. *CNS Drugs* 1994;1:172-179.
20. Kaakkola S, Wurtman RJ. Effects of catechol-O-methyltransferase inhibitors and L-3,4-dihydroxyphenylalanine with or without carbidopa on extracellular dopamine in rat striatum. *J Neurochem* 1993;60:137-144.
21. Ruottinen HM, Rinne UK. A double-blind pharmacokinetic and clinical dose-response study of entacapone as an adjuvant to levodopa therapy in advanced Parkinson's disease. *Clin Neuropharmacol* 1996;19:283-296.
22. Ahtila S, Kaakkola S, Gordin A, et al. Effect of entacapone, a COMT inhibitor, on the pharmacokinetics and metabolism of levodopa after administration of controlled-release levodopa-carbidopa in volunteers. *Clin Neuropharmacol* 1995;18:46-57.
23. Kaakkola S, Treiiväinen H, Ahtila S, et al. Entacapone in combination with standard or controlled-release levodopa/carbidopa: a clinical and pharmacokinetic study in patients with Parkinson's disease. *Eur J Pharmacol* 1995;2:1-7.
24. Keränen T, Gordin A, Harjola V-P, et al. The effect of catechol-O-methyl transferase inhibition by entacapone on the pharmacokinetics and metabolism of levodopa in healthy human volunteers. *Clin Neuropharmacol* 1993;16:145-156.

121
127

FORO DE DISCUSIÓN

Entacapona: ¿Es útil como tratamiento complementario a la levodopa?

Juan Andrés Burguera Hospital La Fe, Valencia	Rosario Luquin Clínica Universitaria de Navarra, Pamplona
Francisco Grandas Hospital Gregorio Marañón, Madrid	Fina Martí Hospital Clínic, Barcelona
José Francisco Horga de la Parte Universidad Miguel Hernández, Alicante	Jordi Matias-Cuín Hospital General Universitario, Alicante
José Ángel Obeso Hospital Bellevue, Puerto de la Cruz, Tenerife	

MODERADOR:

Jaume Kulisevsky

Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona

ENTACAPONE: IS IT USEFUL AS COMPLEMENTARY TREATMENT WITH LEVODOPA?

Summary. Entacapone (Comtan®) is a potent, selective inhibitor of peripheral catechol-O-methyltransferase (COMT) with therapeutic potential as an adjuvant to levodopa therapy in patients with Parkinson's disease. Entacapone decreases peripheral conversion of levodopa to 3-O-methyldopa increasing central extracellular levodopa and consequently striatal dopamine concentrations. At doses of 200 mg 2 to 10 times daily coadministered with levodopa/carbidopa or levodopa/benserazide entacapone may increase the duration of clinical response both after the first single dose and after repeated dosing in patients with end-of-dose fluctuations. At this dosage, it has a time to peak-plasma concentration of 1.2 hours and an elimination half life of 3.4 hours. In two multicentric, long-term (approximately 6 month), randomized and placebo-controlled studies, the duration of 'on' time was increased and the duration of 'off time' was decreased in patients who received adjunctive entacapone therapy. Moreover, patients randomized to entacapone reduced their levodopa requirements. In these and other phase III studies, entacapone was generally well tolerated, with few reported adverse events, mainly dyskinesias and gastrointestinal disorders. The dyskinesias were generally well controlled by decreasing the mean daily levodopa dose. Entacapone appears as a clinically significant and beneficial adjunct to levodopa therapy in Parkinson's disease patients with end-of-dose fluctuations [REV NEUROL 1999; 28: 817-34].

Key words. Catechol-O-methyltransferase. Entacapone. Parkinson's disease.

J. Kulisevsky. Bienvenidos a este FORO DE DISCUSIÓN de REVISTA DE NEUROLOGÍA. El tema elegido para el debate es la aparición en el mercado de un nuevo fármaco—esperamos tenerlo en abril—perteneciente a una nueva familia de fármacos antiparkinsonianos, la de los inhibidores de la COMT. Este fármaco, entacapona, ya ha experimentado una etapa larga de desarrollo; hay bastante experiencia a nivel clínico en estudios de fase III, y de lo que se trata es de ir desglosando un poco cuáles son las características y cuál puede ser el papel que desempeñe dentro del 'armamento' que tenemos para tratar al enfermo parkinsoniano. Como todos sabéis, el tratamiento de la enfermedad de Parkinson (EP) al principio es bastante agradecido. La droga fundamental sigue siendo la levodopa, pero no está exenta de problemas a largo plazo. No sabemos muy bien por qué; probablemente por factores asociados al propio desarrollo de la enfermedad, a la evolución de la muerte

neuronal y también a cambios farmacodinámicos. Al cabo de unos años aparecen una serie de complicaciones conocidas básicamente como 'deterioro de final de dosis'; es decir, la levodopa ya no cubre un período suficiente de tiempo para que el paciente funcione de una manera adecuada con dos o tres dosis al día—que es la dosis requerida inicialmente—y se manifiestan fenómenos nuevos como las discinesias o las complicaciones de tipo psiquiátrico. Muchas de estas complicaciones, y sobre todo el fenómeno 'deterioro de final de dosis', aparecen asociadas a las oscilaciones en los niveles plasmáticos de la levodopa. Como sabéis, la levodopa tiene una vida media bastante corta. Y con el descenso de los niveles plasmáticos el enfermo comienza a presentar deterioro en sus síntomas motores. A partir de aquí se han desarrollado estrategias para poder mantener al enfermo en una situación motora más adecuada; una de estas estrategias, quizá una de las más razonables, es la prolongación de la vida media de la levodopa o la mejora de la biodisponibilidad. En este sentido, se han desarrollado fármacos como son las formas retardadas de la levodopa, que prolongan los niveles plasmáticos, pero que no alcanzan a ofrecer una solución total al problema de las

Barcelona, 15 de enero de 1999.

© 1999, REVISTA DE NEUROLOGÍA

REV NEUROL 1999; 28 (8): 817-834

fluctuaciones motoras. Dentro de esa expectativa, sabemos que pueden desarrollarse otro tipo de estrategias como la inhibición de una enzima denominada COMT (catecol-*O*-metiltransferasa). Cuando la levodopa se administra asociada a los inhibidores de la DOPA decarboxilasa, que es la manera común que tenemos de dar la levodopa —pienso que en nuestro país nadie administra levodopa sin inhibidor— gran parte de la misma se metaboliza luego por la enzima COMT aumentando un metabolito, la 3-*O*-metildopa, el cual se va acumulando en el plasma y puede competir con la propia levodopa para absorberse en el sistema nervioso central (SNC). Así pues, una de las estrategias que se han pensado y que ahora vamos a tratar es la de inhibir esta enzima con el objetivo de mejorar la biodisponibilidad de la levodopa. Finalmente, quiero comentar la existencia de una nueva generación de fármacos inhibidores de la COMT. Uno es y ha sido tolcapona, un fármaco que se ha comercializado en nuestro país; otro es entacapona, y por último tenemos el nitecapone, aunque en nuestro país no se ha desarrollado todavía. Todos ellos pertenecen a una generación nueva de inhibidores porque los primeros que había eran muy tóxicos. Como sabéis, tolcapona ha sido retirado del mercado por un problema de toxicidad hepática, por tanto discutiremos a continuación las características de este otro fármaco que es entacapona. La primera cuestión que quiero plantear es qué podemos mejorar, cuál es la racionalidad de inhibir una enzima periférica —porque entacapona tiene una acción principalmente periférica—, en qué medida entacapona modifica la dinámica periférica de la levodopa y cómo eso actúa sobre la dinámica central.

J.F. Horga. La exposición ha sido muy interesante porque nos lleva muy directamente al núcleo de la cuestión que, en el fondo, es si entacapona aporta algo diferente respecto a los productos anteriores y si esa aportación se centra en el aspecto de la eficacia, de la toxicidad o en ambos aspectos. La pregunta que has planteado está orientada a la primera cuestión: ¿aporta o puede aportar algo en términos de eficacia diferente a los productos anteriores? Entacapona es, dentro de los derivados de los dinitrofenoles a partir de los cuales se están desarrollando los inhibidores de COMT, el producto menos liposoluble. Ello genera, en primer lugar, una diferencia importante: la inhibición de la COMT es preferentemente periférica porque si el producto es poco liposoluble y atraviesa mal la barrera hematoencefálica no va a alcanzar concentraciones suficientes para inhibir eficazmente la COMT en el SNC. El resultado es que se va a inhibir de una manera diferente el metabolismo de levodopa que se absorbe o que está circulante, de la levodopa que ha entrado en el SNC. Una diferencia teórica en cuanto a las ventajas que ello podría tener es que el metabolito 3-*O*-metildopa que puede competir con el transporte nos interesa mucho que no compita con el transporte desde la sangre hasta el SNC, y no a la inversa.

MECANISMO DE ACCIÓN DE ENTACAPONA

J. Kulisevsky. Me gustaría ahondar sobre el mecanismo de acción de la COMT, cuánta levodopa es capaz de mejorar en el plasma. Podrías explicar, para la gente que no conoce bien el esquema de funcionamiento, cómo se cataboliza en él la levodopa, cuáles son los pasos.

J.F. Horga. La levodopa es un precursor de catecolaminas. No es el precursor fisiológico; el precursor fisiológico es la tirosina, que en las terminaciones nerviosas se capta por transporte activo y se convierte por tirosina hidroxilasa, en levodopa. La administración de levodopa lo que hace es saltarse este paso metabólico que es muy importante porque es el paso limitante de la síntesis de catecolami-

nas. Así pues, una vez que en una terminación nerviosa entra levodopa, hay una capacidad muy elevada para convertir este producto en dopamina, en noradrenalina o, incluso, en adrenalina. Ése es el interés de administrar levodopa como tal. Pero la levodopa administrada por vía oral se metaboliza por DOPA decarboxilasa periférica (intestinal y en escasa proporción neuronal), y, en menor proporción, por otras enzimas como COMT, de tal modo que menos del 1% de la levodopa administrada puede llegar al SNC. Por este motivo, la administración de levodopa junto con un inhibidor de DOPA decarboxilasa periférico (que no entra en el SNC) consigue, por una parte, disminuir la dosis de levodopa necesaria para que se alcancen niveles plasmáticos eficaces, y, por otro lado, mantener estos niveles durante más tiempo. Una ventaja añadida es que, al administrar una dosis menos de levodopa, se reducen los efectos adversos periféricos que conlleva la administración de este producto, ya que periféricamente esta levodopa también se iba a convertir en dopamina y, fundamentalmente, en noradrenalina. Una vez que se sintetiza una catecolamina, sea dopamina, noradrenalina o adrenalina, y se libera a la circulación, el sistema adrenérgico posee un mecanismo muy rápido para evitar que ese neurotransmisor siga en la sinapsis dando señales a la neurona postsináptica. Este eficaz mecanismo es el de la recaptación y metabolismo. Se trata de un sistema de captación presináptica selectivo, rápido pero saturable, que incorpora la catecolamina a la terminación nerviosa. Una vez incorporada esta catecolamina se metaboliza por monoaminooxidasa, enzima ligada a la membrana mitocondrial, o se almacena en las vesículas y puede volver a utilizarse. En el caso de la dopamina, se metaboliza preferente por una isoenzima monoaminooxidasa llamada de tipo B. Cuando este sistema se satura o cuando hay demasiada cantidad de catecolaminas en el espacio sináptico, se pone en funcionamiento otro sistema de captación denominado [U2], que es postsináptico, menos rápido y menos selectivo, pero que no es saturable. Este sistema está asociado a una enzima postsináptica, la COMT, capaz también de metabolizar la catecolamina capturada, con lo cual en la hendidura sináptica se elimina el neurotransmisor y, por tanto, la célula postsináptica puede reconocer el siguiente estímulo nervioso como una señal diferente de la anterior. El organismo tiene también monoaminooxidasa y COMT en el hígado, riñón y en numerosos tejidos. Posee una función evolutiva consistente en evitar que muchas sustancias ingeridas con la alimentación sean capaces de producir cambios en la actividad del sistema nervioso. Estas enzimas son muy eficaces; por su amplia distribución y por la cantidad de ellas que hay, son capaces de eliminar la mayor parte de fármaco o de sustancia administrada o ingerida con la comida o por otros medios. En pacientes tratados con inhibidores de DOPA decarboxilasa, la COMT es la enzima metabolizante de levodopa más activa. Así pues, la administración de un inhibidor de COMT va a permitir que una mayor cantidad de fármaco administrado periféricamente esté disponible para el paso de la barrera hematoencefálica y, por tanto, la persistencia de las concentraciones plasmáticas capaces de pasar al SNC y ejercer efectos será mucho mayor.

J. Kulisevsky. Algunos estudios preclínicos han señalado que los inhibidores de la COMT poseen la característica de aumentar el área bajo la curva sin aumentar la concentración máxima de levodopa. ¿Cómo se explica esto? En principio lo previsible sería que aumentarían la T_{max} y la C_{max}, es decir, la concentración. En el caso de la EP esto es muy importante porque muchos fenómenos, básicamente las discinesias, van muy ligados a los picos de niveles plasmáticos. ¿Alguien tiene alguna explicación para este fenómeno? ¿Esto sucede realmente así?

J.F. Horga. Los cambios en la C_{max} —en términos farmacocinéticos la concentración máxima alcanzada tras la administración de una dosis determinada de un fármaco— y el área bajo la curva, que indica la relación entre las concentraciones plasmáticas y el tiempo, pueden producirse de una manera diferente en el sentido de que la C_{max} está muy afectada por la velocidad de absorción mientras que el área bajo la curva para una determinada cantidad de absorción está más determinada por la constante de eliminación, por la actividad enzimática. Como he comentado, la COMT en muchos lugares está ligada a un sistema de captación lenta y, por tanto, el fármaco administrado no accede tan rápidamente al sistema de metabolización por COMT como a otros lugares de metabolización. Ello indica que durante el período de absorción hay otros factores como el pH ácido del estómago o la velocidad de vaciamiento gástrico que pueden influir de una manera mucho más notable en la velocidad de absorción que el metabolismo por COMT, mientras que una vez que el fármaco ya está en la sangre a unas concentraciones determinadas la caída de las concentraciones plasmáticas depende fundamentalmente de la velocidad de eliminación. Si en este momento modulamos uno de esos factores, como puede ser la inhibición de la COMT, sí puede verse afectada la velocidad de caída y por tanto el área bajo la curva. No es que no se altere la C_{max} , sino que evidentemente la modificación de este factor influye más sobre el área bajo la curva que sobre la C_{max} , de manera un poco diferencial.

J.A. Obeso. Estoy completamente de acuerdo con la exposición. Además, éste es un hecho ya demostrado por el grupo de Portland. Lo que cambia realmente es que prolonga la parte temporal del área bajo la curva, la alarga moderadamente. De todas maneras ello no evita del todo el problema de los movimientos involuntarios, de las discinesias, como después discutiremos. De hecho, aunque la concentración máxima no se eleve, el problema clínico del aumento de discinesias a igualdad de dosis de levodopa existe.

F. Grandas. Básicamente estoy de acuerdo con todo lo que se ha comentado hasta ahora, aunque creo que deberíamos hacer hincapié en que la aparición en la clínica de los inhibidores de la COMT supone un paso farmacológico racional, tiene un fundamento claro y, después de la inhibición de descarboxilasa de aminoácidos aromáticos, es el segundo bloqueo enzimático que permite mejorar la biodisponibilidad plasmática de la levodopa. Por tanto, es interesante porque se trata de la aparición de fármacos que tienen una fase farmacológica definida y cuyo desarrollo sigue aparentemente una línea lógica de pensamiento. Se ha mencionado que la inhibición de la COMT produce una marcada disminución del metabolito 3-O-metildopa y que éste puede ser uno de los factores capaces de mejorar la biodisponibilidad central de la dopamina y eventualmente su acción farmacológica. Los datos que existen en la literatura sugieren, sin embargo, que la concentración periférica de la 3-O-metildopa, a pesar de que en principio es un sustrato activo del mecanismo transportador de aminoácidos a través de la barrera hematoencefálica, es poco relevante, al menos desde el punto de vista clínico y en estudios de captación de fluorodopa con tomografía por emisión de positrones (PET).

J.A. Obeso. Grandas me ha recordado el planteamiento general, con el que concuerdo totalmente, en el sentido de que obviamente se trata de una familia de fármacos interesante. Es fácil predecir que en un futuro no lejano, igual que nadie receta en los países desarrollados levodopa sin inhibidor de la DOPA descarboxilasa, nadie



J.A. Burguera

recetará sin uno de estos fármacos: o sea que se convertirá en una tricombinación a corto plazo. Y además se convertirá en un hábito, con lo cual ahora tenemos el privilegio de discutir sobre un asunto que en poco tiempo nadie se cuestionará —ello, claro está, si no aparecen otros factores que lo condicionen—. En cuanto a la 3-O-metildopa, Horga ha mencionado un punto que puede ser interesante discutir: puesto que se va a reducir la síntesis de 3-O-metildopa plasmática y se va a seguir manteniendo centralmente, puede resultar que se produzca un fenómeno inverso de paso desde dentro del sistema nervioso hacia fuera. Yo sospecho que el sistema de transporte es el mismo en un sentido que en el otro, con lo cual quizá sí que se produce teóricamente aunque en la práctica siga siendo negligible. Quería formularle una pregunta a Horga. En plasma, si se inhiben los dos sistemas fundamentales de metabolismo de levodopa a dopamina ¿no se forma ninguna dopamina? ¿Ya no hay dopamina plasmática en esta situación? Es decir, un paciente parkinsoniano que ahora recibe levodopa inhibidor de la descarboxilasa, inhibidor de la COMT ¿está a cero de dopamina en plasma?

J.F. Horga. No, en absoluto. La cantidad de DOPA descarboxilasa que se asocia a la levodopa es una cantidad que ensayos clínicos de hace ya muchos años determinaron que podía ser útil para bloquear los efectos indeseables y, sobre todo, el metabolismo en lugares donde la concentración de estas enzimas es muy elevada pero sin llegar a bloquear totalmente la actividad fisiológica, en especial del sistema nervioso autónomo simpático. Es decir, se establece una competición a un nivel que es suficiente para reducir el metabolismo de tal modo que se traduzca en una mayor disponibilidad, pero nunca se reduce el metabolismo totalmente. Esa inhibición sería —de alguna manera— suicida para el organismo porque la DOPA descarboxilasa no sólo metaboliza levodopa a dopamina, sino que está implicada en el metabolismo fisiológico desde tirosina a dopamina, y a noradrenalina, y también es la misma enzima implicada en la síntesis de serotonina, que es muy importante en el organismo. Es decir, el bloquear totalmente la DOPA descarboxilasa sería dejarnos sin mecanismos noradrenérgicos y sin mecanismos serotoninérgicos. Así que este bloqueo con dosis terapéuticas de inhibidores de

DOPA decarboxilasa es un bloqueo parcial. En segundo lugar, respecto a la 3-oximetildopa, es cierto que clínicamente no tiene importancia significativa *per se* porque el sistema de transporte de aminoácidos es un sistema de transporte activo y habitualmente no se alcanzan unas concentraciones plasmáticas de ninguno de los productos que son utilizados por este transporte activo suficientes para establecer una competencia tal que uno antagonice al otro.

J. Kulisevsky. ¿Qué interés y qué ventaja podría tener un fármaco como entacapona que sólo tiene una actividad periférica? Porque hay una gran diferencia entre entacapona y tolcapona en cuanto a mecanismo de acción: entacapona es preferentemente periférico y tolcapona tiene una acción periférica y central.

J.F. Horga. Entacapona se diferencia quizá de tolcapona en la menor liposolubilidad del producto, que dificulta su paso a través de la barrera hematoencefálica ya que son sustancias que pasan desde la circulación plasmática al SNC por difusión y, por tanto, su menor liposolubilidad le dificulta este paso. ¿Qué se consigue con esto? En primer lugar, la COMT del SNC se inhibe proporcionalmente de un modo muy inferior a la periférica. Las ventajas que ello pueda tener no me atrevo a enumerarlas como elementos de trascendencia clínica. Pero sí creo que al estar lo menos posible la fisiología de un órgano manteniendo el interés que tenemos, esto es, que periféricamente no se consuma dopamina, es un modo mucho más selectivo de actuar. Al menos teóricamente va a traer consigo menos alteración del funcionamiento del SNC y, por tanto, *a priori* es deseable.

J. Kulisevsky. ¿Conocemos alguna acción de entacapona, o incluso de tolcapona, *per se*, que tenga algún efecto clínico cuando se administra sin levodopa?

F. Grandas. Tolcapona, que sería el único fármaco que tendría cierto fundamento para su administración sin levodopa, ya que posee una acción central, desde luego no. La respuesta creo que es no, no produce ningún efecto mensurable desde el punto de vista clínico o en los modelos experimentales.

J. Kulisevsky. La pregunta se formulaba un poco en el sentido de que si no conocemos una acción central, y lo que buscamos es una acción periférica, quizá la ventaja de entacapona en este sentido sea que tiene un efecto más previsible respecto a los efectos centrales. Aunque se ha mencionado que el hecho de inhibir la COMT —ya que es una enzima implicada en la destrucción de serotonina— puede tener un efecto antidepresivo.

J.A. Obeso. Querría señalar dos cosas con respecto al planteamiento y de ahí pasar al aspecto práctico del paciente con EP. Quizá tendríamos que distinguir dos situaciones extremas entre el gran grado de matices posible: el paciente en un estadio precoz frente al paciente en un estadio muy avanzado. De una forma muy esquemática podríamos decir que el paciente precoz es un paciente al que todavía le queda un porcentaje de actividad de innervación nigroestriatal con un cierto grado de regulación sináptica y que en el paciente muy avanzado esa situación está casi perdida por completo. Esa segunda situación es la de un paciente que está prácticamente dependiente y que guarda una relación casi del 100% entre los niveles plasmáticos de levodopa y la disponibilidad central; y en la otra situación, en la del paciente precoz, hay una cierta dissociación. En el segundo caso, quizá sí que tendría un cierto interés teórico. Puesto que esta-

rías actuando casi en el único nivel de mecanismo posible que queda en la innervación de ese sistema. Obviamente sigue habiendo descarboxilación en la glía y en otras neuronas, pero digamos que *in situ*, sobre donde pretendes que actúe la dopamina, esa acción central podría ser interesante. En cualquier caso, quisiera poner sobre la mesa un tema nuevo que me parece el centro de la discusión no práctica de estos productos. En mi opinión, en ninguno de los dos inhibidores de la COMT de que disponemos se ha demostrado experimentalmente cómo modifican el perfil metabólico de la dopamina central y, si queremos ser más específicos, estriatal, suponiendo que ahí sea donde actúe la levodopa. En mi opinión ese dato sencillamente no existe. Existen datos parciales, pero realmente no sabemos si la administración de estos fármacos cambia completamente la cinética central de la levodopa-dopamina que presumiblemente es el mecanismo de acción deseado. Por tanto, éste me parece un tema clave porque en la medida que tengamos o no tengamos ese dato vamos a tener una discusión más o menos práctica.

J. Kulisevsky. Te agradezco que hayas introducido este tema, pero lo dejaremos para más tarde. Un aspecto que también tiene interés teórico y práctico es el de la interacción entre entacapona y los inhibidores de la DOPA decarboxilasa, porque parece ser que la acción no es exactamente igual con carbidopa y con benseracida, aunque en la práctica estos productos se han utilizado con ambos inhibidores. ¿Hay algún problema en usar entacapona con carbidopa o con benseracida? ¿Tenemos que recomendar el uso de uno u otro? ¿Disponemos de información al respecto? La respuesta es que en la práctica no. Es importante saber que se puede usar entacapona al menos con los dos productos comercializados en nuestro país, benseracida y carbidopa. Al parecer, con benseracida los niveles de levodopa y el área bajo la curva, como la interacción es menor, aumentan un 5% más de promedio según los estudios, hecho que puede también hacer aumentar los efectos dopaminérgicos, si bien en la práctica esta diferencia es negligible y creo que no hay ningún problema en usar estos fármacos tanto con carbidopa como con benseracida. El tema crucial es saber qué está pasando con la farmacocinética central de la levodopa cuando modificas la COMT en la periferia. Quizá sí que en este sentido hay algunos datos de farmacocinética central de levodopa en estudios realizados con PET.

R. Luquin. Según lo que he podido revisar en relación con los inhibidores de la COMT y la modificación de la cinética central de la DOPA parece claro, al menos para tolcapona, que como mínimo en animales sí puede aumentar los niveles estriatales de dopamina. Pero no se ha comprobado que ninguno de los dos fármacos modifiquen, al menos en humanos, la concentración de dopamina estriatal. Como ha señalado Grandas, hay algún estudio realizado en voluntarios sanos comparados con pacientes con EP no fluctuantes a los que se les administró entacapona y parece que no se modificó tampoco la cinética central de dopamina. En dicho estudio se incluye a muy pocos pacientes. Se trata de voluntarios sanos y de un grupo formado por pacientes parkinsonianos no muy amplio, que además son parkinsonianos no fluctuantes, aunque tampoco está muy bien definida la gravedad de la enfermedad. Es un grupo un poco heterogéneo. Aunque no en relación con la cinética central de la dopamina, me gustaría hacer una puntualización respecto a la utilización de los inhibidores de la COMT con DOPA estándar. Quizá se podría pensar que con la utilización de estos inhibidores de la COMT con preparados estándar podríamos conseguir establecer una estimulación dopaminérgica mucho más continua que si utilizáramos preparado estándares. Porque vamos a conseguir un alargamiento debajo

de la curva y probablemente va a haber un solapamiento en los niveles plasmáticos de una dosis de DOPA con la dosis siguiente. No sé si realmente sería comparable la utilización de DOPA estándar con inhibidores de la COMT en relación con preparados de liberación retardada de levodopa en cuanto a cinética.

J.A. Obeso. Insisto en que no hay ningún estudio—salvo que alguien tenga datos no publicados—que demuestre cómo son las concentraciones de dopamina de forma continuada en la línea de lo que decía la Dra. Luquin. Es decir, todos los estudios son con dosis simple: te dan una dosis y hacen una curva dosis-respuesta con diferentes dosis, pero miden el perfil plasmático estriatal en el tiempo a una dosis única. Sin embargo, nadie ha demostrado qué ocurre con la administración continuada crónica para ver si efectivamente se produce una tendencia a estabilizar la biodisponibilidad central de levodopa-dopamina, que es el punto clave. En cuanto al estudio con PET—el que yo conozco es del grupo de Hammersmith, aunque probablemente hay alguno más—mostraba cierto aumento en la captación de fluorodopa. Daba la impresión de que había más cantidad disponible a nivel estriatal, pero quizá era el mismo al que se refería la Dra. Luquin porque los resultados eran preliminares.

J. Kulisevsky. Un estudio muy reciente del grupo de Rinne muestra que la captación de fluorodopa aumenta de manera significativa incluso en estriado de sujetos sanos cuando administras entacapona. Es curioso que no se produzca un aumento significativo en la captación en los pacientes y que cuanto más avanzada está la enfermedad menor sea el aumento. Ello posiblemente pueda explicarse por el propio avance de la enfermedad, por la disminución del almacenamiento o por ambas causas. Este hecho nos hace reflexionar también en el sentido de que cuanto más avanzada esté la enfermedad menor expectativa tendremos de mejorar al paciente con estos productos. Pero, en cambio, en los estudios clínicos se observa que las ganancias en cuanto a tiempo *on* son mayores en los enfermos que menos tiempo *on* tienen. Aunque evidentemente sería muy interesante saber si la dinámica y los niveles no fluctúan y se mantienen estables a largo plazo, lo que hay que extraer de los estudios con PET es que se aprecian aumentos significativos de captación de 18-fluorodopa y ello implica que la dopamina aumenta básicamente en el putamen.

F. Martí. Hay otro aspecto farmacológico que no hemos comentado todavía, que es la diferencia entre tolcapona y entacapona en cuanto a vida media. Esto tiene un efecto práctico: mientras que uno no es necesario darlo cada vez que administras levodopa, el otro sí lo es.

J. Kulisevsky. Sobre esto yo creo que, como con casi todo, hay quien encuentra ventajas y quien encuentra inconvenientes. En cierto modo, la ventaja que tenías con tolcapona es que con tres dosis al día era suficiente porque tiene una vida media plasmática más larga que la de entacapona: la de entacapona es muy similar a la vida media de la levodopa, que no llega a las dos horas, es de hora y media más o menos. En cambio, tolcapona tiene una vida media más larga, con tres dosis puedes cubrir todo el espectro de dosis de levodopa que pueda tomar el paciente, mientras que con entacapona se recomienda que cada dosis de levodopa, hasta diez al día, sea seguida de una dosis de entacapona para que la acción pueda cubrir la inhibición de la COMT. Quizá la defensa de tomar entacapona con cada dosis de levodopa se apoya en que la acción es más previsible y que los niveles que consigues serán más previsibles al tomarlo junto con las dosis de levodopa.



F. Grandas

J.A. Burguera. Entacapona, como inhibidor reversible de la COMT, ¿hasta qué punto es selectivo para la dopamina y no para otro tipo de neurotransmisores? Y por tanto, ¿qué complicaciones podemos encontrar con otros fármacos o con otros sistemas a nivel periférico? Por otra parte, si la vida media es corta me gustaría que comentáramos si existen diferencias con los tratamientos a largo plazo con entacapona y con las dosis únicas, que son con las que se han realizado estudios cinéticos. Y si va a haber alguna diferencia periféricamente, es decir, la administración continuada de entacapona o la administración, con respecto a los estudios que tenemos, en dosis únicas.

J.F. Horga. En primer lugar, respecto a si la COMT es selectiva para un neurotransmisor o es global, hasta lo que yo sé no hay ninguna isoenzima de COMT que se inhiba de un modo selectivo y que sea selectiva a su vez para un tipo de amina simpático-mimética o amina biógena. Por tanto, en principio los datos que tenemos no permiten sugerir que con ninguno de estos inhibidores pueda haber una selectividad mayor que con otros. El avance que han aportado es que estos inhibidores de COMT son relativamente selectivos para COMT, porque se conocen inhibidores de COMT desde hace muchos años pero eran inhibidores de COMT y además de otras enzimas. En segundo lugar, no tengo ninguna referencia que me permita trasladar a la clínica la idea de que una mayor duración de concentraciones plasmáticas del inhibidor de COMT genera una mayor duración del efecto ahorrador de levodopa, que es para lo que se está administrando. Excepto en algún tipo de pacientes en los que parece que sí que hay una relación entre la curva temporal de concentraciones plasmáticas de levodopa y la curva temporal de la respuesta, tampoco tengo ninguna referencia que permita deducir que los cambios en el área bajo la curva generados por inhibidores de COMT lleven a un cambio paralelo de las respuestas terapéuticas, que haya

un paralelismo entre el cambio en el área bajo la curva y un cambio en la respuesta. Parece lógico que sea así, si recogemos los datos de ciertos estudios podemos suponer que es así, pero no que hay una relación lineal, al menos con los datos que yo conozco.

J. Kulisevsky. ¿Lo que esperamos en cuanto a modificación de la vida media plasmática, de la biodisponibilidad, es diferente de lo que esperábamos con la introducción de los preparados retardados de levodopa? ¿Hay alguna diferencial fundamental? Creo que no existe ningún estudio comparativo a nivel clínico, pero ¿y a nivel de la farmacocinética, es decir, periférica de la levodopa?

J.A. Obeso. Creo que no. Como objetivo, no como concepto de mecanismo de acción, no es el mismo, de ahí la importancia de que contáramos con el dato previo de que efectivamente estabiliza los niveles plasmáticos y cerebrales. Con tocapona hay un dato preliminar en un número relativamente reducido de pacientes estudiados por Stochi en Roma según el cual estabiliza los niveles plasmáticos de levodopa. Pero, en definitiva, el objetivo de estos tratamientos es conseguir proporcionar un estímulo dopaminérgico más continuo, recuperar el concepto de estimulación dopaminérgica continua que en la práctica no fue posible llevar a cabo con las infusiones. La clave para estar realmente entusiasmados con estos tratamientos sería conocer el dato, no sólo sospecharlo o preverlo, como decía Horga.

J. Kulisevsky. Una cuestión muy importante es si se modifica el inicio de la acción de la levodopa cuando agregamos inhibidores de COMT, en este caso entacapona. Porque hay muchos enfermos, y eso lo sabemos sobre todo por el paciente fluctuante, para los que el inicio de la acción es muy importante. Quizá estás modificando toda la curva de vida media, alargando la T_{max}, alargando el tiempo de eliminación, pero quizá hay una modificación sobre el inicio de la acción.

F. Grandas. Creo que no. Desde el punto de vista teórico desconozco ese dato, pero, si me dejáis especular, en principio en pacientes fluctuantes, estudiando la respuesta a una dosis única de levodopa y viendo la correlación entre el perfil cinético plasmático y la respuesta motora, existe una clara relación entre el inicio de la acción motora y la C_{max}. Analizando de forma global el conjunto de los pacientes, en muchos de ellos el pico máximo de la respuesta está bastante relacionado con la C_{max}: hay un retraso de unos 5-10 minutos aproximadamente. Si no se modifica la C_{max}, probablemente no se modifique el inicio de la acción de la levodopa porque, al fin y al cabo, con los inhibidores de la COMT la absorción desde el tracto digestivo al plasma no se altera.

J. Kulisevsky. Según los datos no se modifica el inicio de la acción, no hay ningún retraso. Yo creo que es muy importante a la hora de planificar una terapéutica para el paciente.

J.A. Burguera. Respecto a la 3-O-metildopa, cuya vida media parece ser de unas quince horas, el introducir un inhibidor de la COMT va a variar mucho si es de forma aguda o de forma continuada y, por tanto, vamos a facilitar también el paso de la barrera hematoencefálica de la levodopa. ¿Podemos tener repuestas distintas a la hora de plantearnos empezar un tratamiento? ¿Esperamos modificar las pautas a un plazo más largo con respecto a la 3-O-metildopa?

J. Kulisevsky. Según los estudios clínicos no existe una correlación

entre el beneficio clínico y la disminución de los niveles de 3-O-metildopa. Al menos en los dos estudios importantes realizados a largo plazo, el del *Parkinson Study Group* y el de Rinne, a pesar de que se conoce cuál es el mecanismo de acción del fármaco y de que teóricamente estás facilitando una acción de no competencia—porque teóricamente la levodopa ya no competirá con la 3-O-metildopa para atravesar la barrera hematoencefálica—no había una correlación en ningún sentido, ni positiva ni negativa respecto a beneficio clínico. Asimismo, es importante destacar que la absorción de entacapona es muy variable de un individuo a otro, incluso el metabolismo. Por tanto no sé si este dato sería fácil de analizar.

R. Luquin. Nosotros hicimos un estudio con Obeso en el que medimos los niveles de 3-O-metildopa en pacientes *de novo* y fluctuantes, y sí se apreciaba una tendencia en todos estos pacientes a tener un incremento muy importante de los niveles de 3-O-metildopa a lo largo del día; pero no había una correlación directa entre si fluctuaban o no y si tenían niveles más o menos elevados. Es decir, era un dato que se observaba en todos los pacientes pero no existía una correlación entre un nivel alto de 3-O-metildopa y fluctuaciones o períodos *off*.

J. Kulisevsky. En cuanto a la dosis, ¿cuál sería la adecuada? Apparentemente se ha llegado a una dosis de 200 mg. ¿Qué significa o por qué se elige esta dosificación? ¿Qué indican los estudios preclínicos al respecto?

J.A. Obeso. Creo que ésta es la dosis que produce un bloqueo completo de la enzima a nivel periférico desde el punto de vista práctico, supongo que no de bioactividad pero sí en sentido de farmacología clínica.

J. Kulisevsky. Desde el punto de vista práctico no hay que olvidar que ya tenemos experiencia con un fármaco previo de la misma familia. Entonces se decía que cuando no se produce un efecto lo suficientemente significativo desde el punto de vista clínico con tocapona en dosis de 100 mg, conviene doblar a 200 mg. Respecto a la farmacocinética de entacapona, ¿es cierto o con 200 ya se ha bloqueado toda la necesaria? Es decir, la pregunta es si tiene una farmacocinética lineal o si la farmacocinética es diferente.

J.F. Horga. Generalmente esos datos sólo se pueden responder basándonos en estudios de fase II de búsqueda de dosis y de pauta de dosificación. Es muy difícil, a veces casi imposible, realizar búsquedas bibliográficas de estudios en fase II porque la mayoría de los datos de este tipo de estudios no salen a la luz, y habitualmente se publican tras haber seleccionado ya el laboratorio la dosis del producto para la fase III. Se utiliza la dosis que mayor respuesta proporciona sin que aparentemente los pacientes puedan empezar a tener problemas. Es posible que las dosis de 400 y 800 mg, que se ha demostrado que inhiben la COMT en hematíes más intensamente que las dosis de 100 o 200 mg, produzcan en el paciente otros efectos tales que en la práctica los niveles de levodopa con dosis elevadas no sean más altos o mantenidos que con dosis inferiores. Por ejemplo, que con dosis elevadas interfieran en el efecto o la absorción del inhibidor de DOPA decarboxilasa.

ESTUDIOS PRECLÍNICOS

J. Kulisevsky. Según los estudios preclínicos, aparentemente 200 mg es la dosis con la cual se consigue el máximo de bloqueo

124
~~130~~ 4

de la COMT con el mínimo riesgo de efectos secundarios. Seguramente habrá más datos, pero creo que el mensaje de los estudios preclínicos es que no vale la pena aumentar más de 200 mg por dosis de levodopa. Otro tema que habíamos enunciado sin acabar de tratarlo es si conceptualmente existe algún problema en bloquear dos vías, o si, por el contrario, hay alguna ventaja. No sólo —como decía antes Obeso— que racionalmente estos fármacos se usarán con los inhibidores de la DOPA decarboxilasa más el inhibidor de la COMT, y ¿hay algún problema o alguna ventaja en bloquear también la vía de la MAO-B?

J.A. Obeso. Ventaja, desde el punto de vista del manejo clínico, creo que no. Tampoco considero que exista ninguna razón en contra para utilizarlo conjuntamente. Si por otra razón, que no sea la de obtener niveles plasmáticos más constantes, se prefiere utilizar selegilina —que es el inhibidor de la MAO-B que existe— no parece que haya ninguna contraindicación. Pero ventaja añadida en el sentido de un mecanismo sinérgico tampoco creo que exista. Si existe el dato, este estudio lo tendría que haber hecho Rinne en Finlandia.

J. Kulisevsky. Hay un estudio, aunque se trata de un estudio abierto —con todos los problemas que ello conlleva— según el cual en principio no aumentan las complicaciones y tampoco se modifica demasiado el efecto de entacapona; en cambio, en estudios de dosis únicas, los enfermos mejoran algo más su puntuación en la UDPRS (*Unified Parkinson's Disease Rating Scale*) cuando reciben selegilina más entacapona contra entacapona más placebo —junto con levodopa, evidentemente—. Ello significa que probablemente haya algún efecto sintomático. O quizá no, pero el mensaje es que, en principio, no hay problemas en administrarlo junto con el inhibidor de la MAO-B. De hecho, en los dos estudios realizados a largo plazo, más del 60% de los pacientes están tratados con selegilina, lo cual también nos da una idea de la amplia utilización, tanto en América como en Europa del norte, de la selegilina. Para concretar este punto, entacapona puede utilizarse con la amplia gama de fármacos antiparkinsonianos existente. Aunque sobre esto también deberíamos poner un punto de precaución, en el sentido de que hay muchas interacciones que no se han analizado. Por ejemplo, se ha estudiado a fondo, como consta en la ficha técnica, la interacción con carbidopa, pero no la interacción con benseracida; tampoco se ha estudiado la toxicidad cuando se utiliza asociado a múltiples fármacos. Asimismo, debemos tener en cuenta que los problemas que hubo con tolcapona fueron todos con pacientes polimedicados y que, por tanto, es una información de la que todavía no disponemos.

J.A. Burguera. Respecto a las interacciones, se han realizado algunos estudios con antidepresivos tricíclicos y parece ser que no hay interacción con algunos de ellos. ¿Conocéis estudios sobre los inhibidores de la recaptación de la serotonina u otro tipo de antidepresivos?

J. Kulisevsky. Como anteriormente se ha mencionado, la COMT influye en estos fármacos y al menos la ficha técnica del producto acepta que se pueda usar con antidepresivos inhibidores de recaptación, pero no así con los que tienen un efecto noradrenérgico. Es decir, no se han realizado estudios por ejemplo con venlafaxina, uno de los fármacos pertenecientes a la última generación que ahora se utilizan: esto está anotado expresamente en la ficha técnica, por tanto hay que saberlo. No porque hayan demostrado riesgos del uso, sino precisamente porque no se conocen. ¿Qué sabemos en las fases de los estudios preliminares respecto al efecto sobre las discinesias? Porque cuando se desarrollan estos fármacos, un punto muy intere-



J.F. Horga de la Parte

sante es saber si el fármaco no aumenta la T_{max}. En principio el pico de nivel plasmático de levodopa está muy relacionado con el tipo más frecuente de discinesia que padecen los pacientes, que son las del pico de dosis. Por tanto, como concepto, era muy interesante decir 'vamos a tener un fármaco que va a prolongar la vida media de la levodopa sin aumentar el pico y, por tanto, sin aumentar las discinesias'. Pero en la práctica ¿esto sucede así?

J.A. Obeso. Creo que ya está bien establecido que aumentan las discinesias. Cheryl Waters, la neuróloga que puede tener más experiencia clínica con el uso de entacapona, lo dice gráficamente: *Nunca se os ocurra iniciar el tratamiento un viernes porque seguro que tendrás que ir al hospital en fin de semana a atender al paciente en una tormenta discinética.* Se trata de un hecho clínico bien establecido. Sin embargo desconozco, porque esta observación en Norteamérica tiene un sesgo de observación fenomenológica, si efectivamente lo que aumenta de una manera tan notable serían las discinesias relacionadas con el pico de dosis o se trata de un cambio en la fenomenología de la situación, porque la previsión aquí —como hicimos en su día con la levodopa *retard*— es que aquellos pacientes que tengan una mínima tendencia a tener discinesias bifásicas las demuestren de una manera más ostensible y puedan llegar a convertirse en un fenómeno violento. La historia con el Simenet y los colegas norteamericanos es que empezaron a hablar del 'fenómeno dinamita' de las cinco de la tarde, de las ocho de la tarde, fenómeno que para ellos era desconocido entre otras cosas por aspectos prácticos (los neurólogos norteamericanos no ven discinesias bifásicas casi nunca porque los pacientes no se hospitalizan, sólo se les atiende brevemente).

te por las mañanas y se pierden la expresión temporal de este fenómeno). Previsiblemente, en la medida en que los niveles plasmáticos tiendan a estabilizarse pero no sean estables del todo, a mí me parece que no es impensable que se queden en una situación intermedia. Y esa situación intermedia es obviamente la perfecta para generar discinesias bifásicas que, salvo que uno tenga una sensibilidad fenomenológica muy intensa, como tenemos todos los que estamos aquí, probablemente las confundas y las llames discinesias sin más.

F. Martí. Probablemente no se sabe exactamente qué tipo de discinesias se producen o no se ha estudiado bien este aspecto. Lo que sí parece claro es que aumenta la duración de las discinesias en relación con el tiempo *on*. Y en cuanto a la magnitud, hay un estudio que afirma que aumenta y otro que dice que no. Otra cuestión es cómo se han evaluado estas discinesias. Creo que siempre se ha aplicado la escala unificada, que quizá no es exactamente la manera más adecuada para definir el tipo o la intensidad en que puedan aumentar.

J. Kulisevsky. Antes deberíamos mencionar que el hecho de que aumenten las discinesias nos está indicando que el fármaco es eficaz en el sentido en que queríamos obtener un aumento dopaminérgico. Quizá la principal complicación en cuanto al aumento dopaminérgico es que aumentarás el tiempo *on*, disminuirás el tiempo *off*, pero el riesgo será que aumentan las discinesias. He planteado la pregunta en el sentido de que teóricamente se trata de un efecto que no se esperaba porque no aumenta el pico de nivel plasmático. Sin embargo, esto sucede así, y significa quizá que no seleccionamos a los pacientes en función de qué tipo de discinesias aumentan. Si sólo tuviéramos en cuenta a los pacientes que padecen exclusivamente discinesias de pico de dosis, a esos pacientes no les aumentarían las discinesias y si aumentan, en cambio, en los pacientes que tienen una respuesta del tipo todo o nada. Es decir, cuando se consigue un *on* es un *on* con discinesia. No sé si existe un subestudio de los estudios realizados respecto al tipo de discinesias.

J.A. Obeso. Es muy difícil, con estudios con farmacología clínica y discinesias, llegar a conclusiones, porque habría que tener pacientes muy colaboradores y una situación de organización clínica que no se da en casi ningún sitio. El problema es que son observaciones muy parciales, salvo que sean efectos radicales: pasa del 10 al 90%, o pasa del 90 a 0%, con lo cual es casi un fenómeno de todo o nada. Pero todos estos estudios de un aumento moderado del 40 o 60% — y ya no digo en el patrón fenomenológico — son francamente difíciles y creo que casi no se pueden plantear salvo con un objetivo muy específico por un único investigador o grupo investigador.

J. Kulisevsky. Debo añadir que en estudios a largo plazo el aumento de discinesias no va más allá de un porcentaje del 20% de los enfermos; la mayoría de los estudios señalan que esto sucede en las primeras semanas de tratamiento y que cuando se modulan a la baja las dosis de levodopa las discinesias se controlan o vuelven a una situación basal. Por tanto, es importante señalar que si bien las discinesias son un efecto previsible, al parecer son un efecto controlable. También hay que tener la precaución de decir —yo no sé cuál es vuestra experiencia con tolcapona— que estamos hablando siempre de una situación de estudios controlados en los cuales la selección de pacientes siempre es un sesgo. Los pacientes con muchas complicaciones, y que probablemente estarán ávidos de que este fármaco les sea administrado, suelen ser pacientes con muchas complicaciones en los cuales las discinesias pueden llevarles a ese

efecto caótico que nombraba Obeso. Sobre todo con fármacos que tienen una titulación muy sencilla, puede ocurrir que lo administres un viernes y esperes un aumento dopaminérgico. Creo que entacapona es un fármaco de titulación sencilla y que, por tanto, al segundo día ya puedes esperar un efecto; si se produce un efecto dopaminérgico eficaz, aumentan las discinesias. Mientras que con otro fármaco del tipo de los agonistas dopaminérgicos, como la tolerancia suele ser menor y hay más problemas de efectos adversos, vas haciendo un escalado más lento y probablemente tienes más oportunidad de ver el problema a más largo plazo. En los estudios no suele ser un problema el abandono de pacientes por un aumento de discinesias. Respecto a la modificación del tiempo *on* y del tiempo *off*, quizá sea interesante hablar sobre qué podemos aportar al respecto o sobre qué aporta entacapona.

F. Grandas. En los dos estudios realizados a seis meses, si no recuerdo mal los más prolongados que recoge la literatura, con un número razonable de pacientes, estudios doble-ciego, controlados con placebo y utilizando como medida de eficacia el diario subjetivo de los pacientes de duración de los períodos *off*, se observa una reducción moderada de dichos períodos, de aproximadamente una hora al día. No cabe duda de que es un dato significativo. Es prácticamente similar en ambos estudios: en uno es una hora y en el otro es 1,2 horas. Volviendo de nuevo a la farmacocinética central: los estudios con PET han puesto de manifiesto —como ya se ha comentado— que tras el uso combinado de dosis únicas de entacapona y levodopa el incremento en la capacidad de captación de fluorodopa en pacientes gravemente denervados es muy bajo. Me parece que era de un 14% en el caudado y solamente de un 2% en el putamen, si bien es cierto que estos estudios con PET también son difíciles de interpretar porque no son estudios dinámicos temporales, sino la acumulación de cuentas radioactivas durante un período de tiempo; es decir, no podemos hablar de perfiles de áreas por debajo de la curva, sino de estudios acumulativos durante un tiempo limitado. No obstante, probablemente este moderado incremento del tiempo *on* esté relacionado con los cambios farmacocinéticos centrales observados con entacapona.

J. Kulisevsky. Hay un punto que a mí me ha llamado la atención: en los estudios, al menos en el estudio del grupo americano del *Parkinson Study Group*, se observa un aumento individual de la duración de la dosis y luego, en conjunto, por los diarios de los pacientes, se produce una ganancia respecto a placebo que la sitúan en cinco puntos o en una hora y pico. Estos investigadores realizan un subanálisis respecto a cuáles son los momentos de mayor mejora, y los dividen entre la mañana, la tarde y la noche. Curiosamente la mejora obtenida es más prolongada o más efectiva por la tarde y por la noche, precisamente en los momentos en que el enfermo parkinsoniano en general está peor. ¿Esto cómo lo veis?

R. Luquin. Es muy complicado de analizar y de entender. Pero se podría pensar que en estos pacientes que están muy mal por la tarde los momentos de bloqueo sean un problema puramente cinético y que de alguna forma la asociación de levodopa con un inhibidor de la COMT aumente la cantidad de levodopa que se absorbe, es decir que favorezca la absorción. Ésta podría ser una explicación. También sorprende de esos trabajos el hecho de que sean los pacientes más complicados, los que tienen períodos *off* más intensos y más número de horas *off* al día, los que más se benefician. Y eso sí que también es muy difícil de entender. Porque en principio serían aquellos pacientes que tienen también menor capacidad para almacenar

la levodopa que les llega: aunque les llegue más cantidad tienen una mayor dificultad para almacenarla. Éstos son dos aspectos muy llamativos de los estudios publicados. Por un lado, que sean los pacientes más complicados los que más se benefician, en los que haya una reducción del número de horas *off* más significativa y, por otro, que sean los períodos resistentes a la modificación—se supone que por tratarse de un problema cinético— los más beneficiados. Podría pensarse que quizá la asociación con entacapona, al permitir que haya niveles más mantenidos sobre el estriado, favorezca que no se produzcan fenómenos dinámicos de oscilaciones bruscas y que garantice una segunda respuesta a una dosis de levodopa mejor que si damos una dosis normal de levodopa, caso en el que las concentraciones periféricas y centrales de DOPA van a experimentar cambios muy bruscos, y van a producir cambios muy importantes a nivel de la respuesta del receptor dopaminérgico. Podría interpretarse, entonces, que quizá al proporcionar un nivel más estable de estimulación dopaminérgica, se consiga una mayor eficacia en la respuesta de las siguientes dosis de la medicación.

J.F. Horga. He revisado algunos estudios publicados tanto de entacapona como de tolcapona y me ha llamado la atención la frecuencia con que se basan estos estudios en observaciones de subgrupos. No quiero decir con ello que lo que acabas de decir no sea totalmente cierto, pero desde un punto de vista práctico quiero recordar la cantidad de veces que ha habido errores absolutos de interpretación o generalización de los datos en subgrupos. En este sentido, como farmacólogo clínico, querría destacar que la generalización de los datos de los ensayos clínicos siempre ha de hacerse sobre la base de objetivos primarios, o al menos secundarios, del estudio, y que los pacientes analizados sean, como mínimo, homogéneos respecto al grupo de control seleccionado en el estudio. Si analizamos la discusión de los trabajos, es muy interesante esta observación y posiblemente sea cierta, pero yo sugeriría que se tomase sólo como una recomendación de los expertos y que sólo éstos lo aplicasen en la práctica, no de una forma generalizada. Porque lo que suceda en la realidad puede ser exactamente lo contrario, como nos ha enseñado la experiencia de otros tratamientos. Y en este sentido, al menos hasta lo que yo sé, no hay estudios suficientes que nos permitan dar una respuesta a una alternativa que hasta ahora no se está considerando: si otros fármacos disponibles agonistas dopaminérgicos en estas mismas condiciones generan el mismo beneficio o incluso más. Hace poco la revista *Prescrire* señalaba que se tenía a disposición de los lectores, pero no se había publicado, una *systematic review* de los datos comparativos de tolcapona con bromocriptina, la cual mostraba que no había diferencias significativas en la mejoría de estos pacientes, aunque hay que tomarlo simplemente como una *systematic review* porque casi no era ni un metanálisis. No obstante, son necesarios estudios diseñados específicamente para responder a esta pregunta, en tanto no se hagan generalizaciones conceptuales.

J.A. Obeso. Estoy totalmente de acuerdo con Horga. Realmente hay muchas razones, como sospechaba la Dra. Luquin, para pensar que este último dato de que un fármaco va mejor en los pacientes más graves sea un sesgo metodológico. Yo creo que hay muchas razones para pensarlo. Estaría totalmente de acuerdo en ser más cauto e incluso sería erróneo que este mensaje se entendiera como un mensaje-tipo porque hay tantas razones en contra de que eso sea un dato fiable que casi no merece la pena ni enumerarlas. Por otra parte, si fuera verdad sería genial. Pero sería tan genial que es difícil de creer. En cuanto a que sean más eficaces las dosis vespertinas, ahí sí que puede haber una forma más fácil de enten-



J. Kulisevsky

derlo con respecto a la cinética. Parece que es la parte final de la curva la que aumenta en plasma y los expertos sugieren que la acumulación de dosis va produciendo una especie de cola que cada vez es un poco más prolongada y que, por tanto, eleva moderadamente los niveles. Quizá ésta sea la diferencia de que en una situación de absorción reducida por efectos farmacocinéticos mejore la biodisponibilidad en último término.

J.F. Horga. Si me permites, voy a dar otra posible explicación. La captación de catecolaminas por el sistema [U2] postsináptico, que es el que en el SNC está más ligado al metabolismo por COMT, es inhibido por glucocorticoides y tenemos unas oscilaciones diurnas en las cuales el nivel de glucocorticoides por la tarde es el más bajo de todo el ritmo circadiano. Éste es un dato que tiene una ligazón teórica y que lo único que sugiere es que puede haber explicaciones alternativas porque el metabolismo adrenérgico del SNC está sometido a muchos controles, a inhibiciones o facilitaciones hormonales, etc. Los datos que tenemos no siempre responden a la explicación más aparentemente lógica y es posible que haya otras explicaciones alternativas. Por tanto, seguir como cierta la más lógica puede llevar a cometer errores.

R. Luquin. La explicación de Obeso tal vez podría utilizarse para las discinesias. Cuando administramos dosis repetidas sería interesante ver si se producen discinesias sólo con las últimas dosis de la tarde o con las primeras. Quizá los inhibidores de la COMT no aumentan el pico plasmático de dosis individuales, pero como estamos par-

tiendo de una base más alta, es probable que estemos en niveles muy superiores a los que tenía el paciente antes con dosis normales de medicación. Por tanto también puede ser una explicación para la producción de discinesias, sobre todo de pico de dosis.

UTILIDAD CLÍNICA DE ENTACAPONA

J. Kulisevsky. Retomando el hilo de lo que comentaba Horga, sería interesante diferenciar entre objetivos primarios y objetivos secundarios de los estudios. Evidentemente el objetivo primario de los estudios debe ser comprobar cuál es el aumento o la posibilidad de aumento de tiempo *on*, o de disminución de tiempo *off*, y los subanálisis son objetivos secundarios. Cuando se analiza críticamente un trabajo, los subanálisis deben tomarse con cautela, aunque también pueden ser indicadores de nuevas ideas, de futuros trabajos... Los trabajos preliminares, mayoritariamente del grupo finlandés, que eran estudios abiertos, a veces de dosis única, en ocasiones hasta de dos meses de duración, indicaban que entacapona era un fármaco eficaz en el sentido de que prolongaba el tiempo *on* de los pacientes, disminuía el tiempo *off*, y ello tenía una correspondencia con la variación de los niveles plasmáticos de la levodopa y la disminución de la 3-O-metildopa a expensas de pocos efectos secundarios y de un aumento tolerable de las discinesias. En este sentido quería conducir la discusión hacia qué nos pueden aportar clínicamente estos fármacos y en qué sentido pueden ser diferentes de otros grupos farmacológicos, abundando un poco más en los estudios a largo plazo; si realmente se ha confirmado con los estudios a seis meses, que son los estudios a más largo plazo de que disponemos, los datos de los estudios de dosis única o muy corto plazo que muestran que hay una eficacia de entacapona para lo que se está buscando. ¿Realmente estos estudios son impresionantes? ¿Nos demuestran que pueden aportar algo significativo y diferente a otros fármacos? Ésta es la cuestión, más que entrar en aspectos interesantísimos respecto al ritmo circadiano de los pacientes. Pero insisto en que es curioso que se produzca mayor beneficio, al menos en un estudio, en los pacientes más 'deteriorados' y precisamente por la tarde.

R. Luquin. Los estudios publicados con entacapona demuestran que existe un aumento del tiempo *on*. Es decir, que hay una prolongación del efecto, la cual, aunque es significativa, no es muy importante. Como decía Grandas, creo que era de una hora aproximadamente. El problema con estos estudios es que la mayoría de los pacientes también están tomando agonistas dopaminérgicos: muchos están tomando pergolida, otros están tomando bromocriptina... No hay, sin embargo, un estudio comparativo de pacientes que estén tomando sólo levodopa y pacientes que estén tomando levodopa con inhibidores—con entacapona en este caso—gracias al cual podríamos determinar el número de horas *on* al día. Porque es muy probable que los resultados que tenemos estén enmascarados por la utilización de agonistas dopaminérgicos, que tienen una vida media muy larga. Es posible que la acción de un inhibidor de la COMT con levodopa prolongue mucho más la acción de lo que se objetiva en estos estudios.

J. Kulisevsky. A veces lo que se dice para argumentar, y un poco para quitarle hierro al asunto, es hacer de la necesidad, virtud. Pero un argumento es que a pesar de que estos pacientes están tratados con agonistas dopaminérgicos, con selegilina, con amantadina, con anticolinérgicos, todavía pueden dar un beneficio, todavía se observa un aumento de tiempo *on*. Es decir, que queda un espacio para la utilización de estos fármacos.

F. Martí. Aunque el aumento de tiempo *on* se ha definido como de un 20-30%, probablemente para los enfermos es muy importante. Además es significativo funcionalmente.

J.A. Obeso. Opino que para una proporción de pacientes es claramente importante. Y lo sabemos ahora con la retirada de tolcapona.

J. Kulisevsky. A la luz de los estudios realizados, tanto preliminares como los estudios a más largo plazo, sería interesante plantearnos si existe un perfil de paciente que sea el más idóneo para beneficiarse del tratamiento con estos fármacos. Es decir, la mayoría de los estudios se han realizado con pacientes fluctuantes y en principio no hay—que yo conozca—una experiencia con entacapona en los pacientes denominados estables o estables entre comillas, como había con el otro inhibidor de la COMT. Pero en función de la farmacocinética, de la modificación de los niveles de levodopa, del aumento de tiempo *on* y también de los problemas que pueden acarrear estos fármacos ¿cuál sería el perfil ideal o la selección de paciente que haríamos para tratar con entacapona?

F. Martí. Los estudios existentes tampoco están definidos exactamente. Se habla de pacientes fluctuantes y de pacientes con deterioro de fin de dosis, especialmente. Y éstos son los pacientes que han presentado una mejoría en el tiempo *on*, que ya hemos dicho que era leve pero significativa. Tras mi experiencia con tolcapona, yo diría que los pacientes que mejoraban más y los que han tenido más problemas al retirarles el fármaco han sido los pacientes con fluctuaciones leves. Sin embargo, con pacientes complicados con muchas discinesias, con períodos *off* erráticos, mi experiencia no fue demasiado buena.

J.A. Obeso. Creo que la respuesta a la inhibición de la COMT es relativamente previsible, o uno puede hacer sólo una suposición semiteórica—semipráctica-teórica— a partir de los resultados muy bien conocidos con las infusiones continuas, situación más controlada en el sentido de la toma de datos y que es ya un tema muy congruente. Es decir, todos los estudios realizados con infusiones continuas, sean de levodopa o de un agonista dopaminérgico—y quizá Grandas pueda dar más detalles porque él participó muy activamente en alguno de estos estudios, no sólo en los nuestros, sino en los llevados a cabo por otros grupos—, siempre han demostrado lo mismo: los pacientes fluctuantes altamente predecibles, con una respuesta de corta duración, pero muy predecible, responden magníficamente a la administración continua de un fármaco o de un estímulo dopaminérgico continuo; mientras que los pacientes con una respuesta muy compleja, caracterizada como muy breve, con una gran magnitud entre el período *on* y el *off* y con un umbral discínético muy bajo, a pesar de mantener niveles plasmáticos constantes, sea de levodopa, de apomorfina o de PHNO, continuaban bloqueándose y continuaban teniendo períodos *off* y discinesias bifásicas, etc. Así pues, en mi opinión es fácil predecir—y además la experiencia clínica siempre lo demuestra—que los pacientes fluctuantes simples mejoran con casi todo y los pacientes fluctuantes complejos no mejoran con nada, es decir, mejoran pero no se les resuelve el problema prácticamente con nada. Éste es un aspecto fácil de predecir en grandes grupos. Después habrá el individuo muy complejo que mejora tremendamente y el paciente leve que no mejora, pero eso ocurrirá en un porcentaje bajo, de esto podemos estar casi seguros; y sería erróneo pensar que los pacientes que primero van a recibir el fármaco van a ser los que van a dar el perfil terapéutico porque habrá un porcentaje muy amplio de malos resultados.

F. Grandas. Gran parte de lo que has comentado son resultados de tus propios trabajos, en algunos de los cuales yo he colaborado contigo y con la Dra. Luquin. Desde luego que en el intento de conseguir una estimulación dopaminérgica continua con cualquiera de los fármacos disponibles, bien con infusiones intravenosas de levodopa, infusiones subcutáneas de lisuride o apomorfina, o infusiones intragástricas o intraduodenales de PHNO, a pesar de que con cualquiera de estas modalidades se consiguen niveles plasmáticos más o menos estables de estos fármacos, existe una heterogeneidad en la respuesta motora. Como Obeso mencionaba, aquellos pacientes que con su terapia convencional tienen simples deterioros de fin de dosis prácticamente pueden conseguir un *on* permanente mientras dura la infusión. Mientras que los pacientes que tienen fluctuaciones al azar, a pesar de que durante la infusión están bastante tiempo en situación *on*, siguen teniendo variabilidad en la respuesta motora y se siguen bloqueando durante períodos variables de tiempo.

J. Kulisevsky. Quizá el paciente que tú planteas puede mejorar, ya sea con otros fármacos, o simplemente aumentando un poco más la dosis de levodopa.

F. Grandas. O no. Habría que analizar, como ya ha mencionado la Dra. Martí, los criterios de inclusión de estos estudios, puesto que son los únicos datos de que disponemos. Se supone que cuando a un paciente se le oferta este tipo de tratamiento es que está en la mejor situación de las posibles con la terapia convencional. Se ha optimizado el tratamiento en la medida de lo posible, de tal forma que aparentemente la complicación que tienen no se puede corregir modificando las dosis o la frecuencia de dosis. Esto es un concepto, en principio, teórico. No sé exactamente cuáles eran los criterios de inclusión de los trabajos, por lo menos de los realizados a largo plazo. Eran pacientes con fluctuaciones motoras, pero ese tema yo creo que no se explicita con claridad.

J. Kulisevsky. Sí, son pacientes—al menos en los dos trabajos a largo plazo— que se seleccionan por el número de tomas de levodopa al día—aunque sean más de cuatro—y que en principio están en una fase de estabilización. Me gustaría que comentáramos qué ventajas prácticas puede aportar el fármaco y el tipo de paciente más fácil de tratar. Partiendo de la experiencia con tolcapona—que por lo que se ha visto y por los estudios publicados con entacapona no es diferente de las expectativas de este último a pesar de que las dosificaciones y el tipo de pauta no coincidan— una de las ventajas que aprecio es que se trata de un fármaco muy fácil de titular, es decir, con pocos efectos adversos. Además, con los enfermos a los que les va bien, que aunque no son absolutamente todos, en general son fármacos—o al menos, tolcapona lo era—con los que consigues un beneficio bastante inmediato y sostenido. Sobre todo hemos tenido la experiencia de que al retirar el medicamento se produce rápidamente un deterioro, que también se ha observado en los estudios. Por ejemplo, tanto en el estudio del grupo americano como en el de los finlandeses, hay un período de lavado del medicamento y en las primeras veinticuatro horas el enfermo ya empieza a mostrar deterioro. Estoy de acuerdo en que el enfermo más fácilmente tratable y más agradecido es el paciente con fluctuaciones simples. En este sentido creo que hay que advertir, sobre todo a los neurólogos sin mucha experiencia en el uso de este tipo de fármacos, que hay que disminuir inicialmente la dosis de levodopa porque son fármacos potentes, que enseguida mostrarán una acción; a veces, cuando ha habido malas experiencias con el uso de estos fármacos ha sido porque no se han modificado las dosis de levodopa.



R. Luquin

J.A. Burguera. La experiencia existe. Cuando introduces un fármaco cuyo efecto lo vas a ver inmediatamente, como son este tipo de inhibidores, una de las preguntas que siempre se plantean es: ¿Qué es más conveniente, disminuir la dosis individual o alargar el intervalo interdosis? No sé cuál será vuestra experiencia.

R. Luquin. Las dos cosas son importantes, pero inicialmente creo que es más eficaz disminuir la dosis individual de cada una de las dosis de levodopa. Simplemente por el hecho de que pueden aparecer discinesias muy importantes.

F. Martí. Los estudios también indican que el paciente tiene que tener una dosis y esta dosis va a tener una respuesta, y lo que no vas a mejorar es la respuesta de esta dosis en cuanto a magnitud o mejoría motora. Por tanto, quizá parecería más lógico espaciar más las dosis para evitar discinesias, porque lo que vas a alargar es el período *on*. Yo creo que hay pacientes que necesitan un umbral de dosis; la necesitan para tener una respuesta, individualmente y a cada dosis. Si lo bajas, dosis por dosis, quizá no la vas a obtener.

J.A. Obeso. De todas maneras, es más fácil estabilizar los niveles plasmáticos administrando dosis repetidas, problemas periféricos de absorción aparte. Pero si tienes dosis eficaces—por ejemplo, vamos a poner un intervalo de cada tres horas, no digo ya cada hora—sospecho que ello va a estabilizar más los niveles plasmáticos que si las alargas mucho, porque por mucho efecto que tenga la inhibición de la COMT creo que no va a ser suficiente para estabilizar realmente los niveles. Es una pena que el fármaco sea capaz de salir al mercado sin datos que son aparentemente de *kindergarten*, como diría mi maestro Marsden, absolutamente básicos.

R. Luquin. De todas formas se ha observado en los pacientes

tratados con tolcapona, al menos en mi experiencia, que si se reducen las dosis individuales de levodopa puede llegar a conseguirse que dosis, que antes no eran eficaces, asociadas a un inhibidor de la COMT sean eficaces, con lo cual en principio estarías asegurando una mejor respuesta motora sin el riesgo de que los pacientes tengan discinesias.

J.A. Obeso. Éste es un dato curioso, bien curioso, porque si es con la primera dosis de la mañana y no cambia ni la T_{max} ni la C_{max}... Realmente este dato no es comprensible.

J. Kulisevsky. No obstante, hay datos que sí se tienen, que no son solamente especulación. Por ejemplo, en los estudios —concretamente en el estudio americano— se apreciaba que hay una disminución de la dosis total de levodopa, que es de unos 102-104 mg al día, pero que no hay una disminución en el número de tomas diarias; por tanto se ha disminuido la cantidad de levodopa de cada toma, al menos en estos estudios, y en ese sentido el fármaco ha sido eficaz. Por otro lado, tenemos la experiencia concreta y hay que adaptarse a cada paciente. Creo que ha habido, hay y habrá muchos pacientes en los cuales espaciando las dosis —sobre todo en pacientes que no son muy complicados— puede obtenerse el mismo efecto que con la disminución de una dosis individual. Mi impresión personal es que esto puede hacerse de las dos maneras, pero que son subestudios por plantear con el fármaco entre otras muchas dudas que hay. ¿Está justificado administrar estos fármacos en enfermos que ya presentan discinesias relativamente importantes?

J.A. Obeso. Si ya lo has intentado todo, no veo razón para no probarlo. Ya hay una gran ventaja, y es que sabemos que tienes que reducir la dosis de levodopa. La opinión de Cheryl Waters es que si se trata de un paciente discinético grave, ella la reduce *a priori*, no espera porque sabe con seguridad que se le va a agravar. Para los pacientes con mínimas discinesias hay quien dice: 'No corro el riesgo de reducir la dosis porque quizá le agravo la enfermedad', que es lo que ha ocurrido con frecuencia con tolcapona; y por eso un grupo de pacientes referían que la tolcapona les bloqueaba, cuando se les reducía la dosis. Si se trata un paciente leve es una táctica mala, pero si es un paciente muy grave tienes un noventa y tantos por ciento de posibilidades de que eso ocurra, pero ya sabes que es un paciente complicado, en cualquier caso, con lo cual te va a dar muchas dificultades.

F. Martí. A veces muchos de estos pacientes que ya tienen fluctuaciones llevan también agonistas dopaminérgicos, o llevan inhibidores de la MAO. ¿Qué haríamos primero: bajar la levodopa o quizá intentar retirar los agonistas?

J. Kulisevsky. Has mencionado un punto crucial que yo también quería tratar: ¿cuál es el fundamento de por qué bajar levodopa y no bajar otros fármacos asociados? Aquí entramos también en un terreno difícil, no resuelto, que es el de si realmente es un objetivo primario disminuir la cantidad de levodopa. Hay quien piensa que la levodopa puede ser tóxica; quizá cada vez son menos y con menor fundamento. Pero desde luego lo es un objetivo primario de ninguno de estos estudios disminuir la dosis de levodopa y, desde luego, no está ni de lejos demostrado que la levodopa sea tóxica en enfermos parkinsonianos. Por tanto opino que puede ser igualmente válido, y a veces más cómodo de manejar para los enfermos, disminuir otro tipo de fármacos sobre todo en los enfer-

mos más complicados o variar el perfil de administración. Estoy totalmente de acuerdo contigo en que no tiene que ser un axioma el hecho de disminuir necesariamente la levodopa.

R. Luquin. Quizá se disminuye la levodopa porque en estos pacientes tan complicados, que están tomando agonistas dopaminérgicos e inhibidores de la MAO, debido a la acción rápida de la levodopa es más fácil llegar a un ajuste reduciendo las dosis individuales de levodopa, asociando inhibidores de la COMT y manteniendo los agonistas dopaminérgicos. No diría que existe una justificación que obligue a reducir la dosis de levodopa, pero en la práctica tal vez es más cómodo y más fácil, al menos según mi experiencia.

J.A. Obeso. Yo diría —sin datos y por tanto todo es pura intuición, experiencia...— que si estamos hablando de un paciente muy complejo, que está politratado, cuanto menos levodopa reciba, menos complejo será. Desde luego para mí sería un objetivo primario reducir la levodopa, porque mi experiencia clínica indica que ése es un paciente al que la levodopa le complica la vida. Lo que ocurre es que en general no es posible prescindir de la acción de la levodopa porque se pierde demasiada eficacia. Pero en la medida en que consigamos reducir las oscilaciones plasmáticas de levodopa y sus efectos acompañantes de los picos, va a mejorar el control global del paciente y para mí ésa sería una razón para intentar reducir las dosis de levodopa. En otra situación, con otro tipo de paciente, sería totalmente diferente. Porque creo que una de las ventajas prácticas que tiene esta terapia es que te permite mantener casi una monoterapia —sobre el cerebro, por lo menos—. Se trata de una politerapia global, pero sobre el sistema nervioso es una monoterapia y en ese sentido puede ser interesante. Aunque en el paciente complicado lo veo casi al revés. Casi.

J. Kulisevsky. El perfil del paciente ideal creo que es el que tiene un deterioro simple de final de dosis, que tal vez no necesita más de cuatro tomas al día de levodopa y que en nuestro medio muy probablemente esté tomando agonistas dopaminérgicos y quizá también un inhibidor de la MAO-B, selegilina. En ese paciente es bastante fácil disminuir un poco la dosis de levodopa al tiempo que se agrega entacapona, y previsiblemente la respuesta será buena. En ese mismo paciente yo no creo que haya un gran problema para decidir disminuir también el agonista o quitar, si es que a uno le parece, el otro fármaco o no. No creo tampoco que el objetivo de agregar entacapona sea el de quitar fármacos inmediatamente. Pero en el paciente complicado muchas veces cuando estás reduciendo la levodopa a niveles casi mínimos, lo que haces es volver al paciente bastante imprevisible y yo a veces prefiero, como hemos hecho con enfermos que están tomando 4 o 5 mg de pergolide, disminuir a niveles más aceptables de 3 mg, sin tocar la dosis de levodopa o tocarla menos. Y son enfermos con los que en general creo que puedes tener una respuesta más previsible. Estoy totalmente de acuerdo en que el enfermo con fluctuaciones simples es el que menos problemas te va a dar. Pero lo que yo quería dejar claro es que tampoco es un objetivo el disminuir la levodopa o el tratar de ponerla al mínimo, sino que en el paciente fluctuante lo que te permite esta terapéutica o el objetivo que deberá buscarse es ampliarle el tiempo *on* con una calidad buena lo máximo posible.

J.A. Burguera. Uno de los síntomas o de las quejas más frecuentes de los pacientes son los fenómenos de congelación y los síntomas axiales. ¿Sería previsible que con el empleo de entacapona mejoráramos estos síntomas en algunos de ellos? Porque muchas veces

el trastorno de la marcha por congelación es el que empeora y el que está marcando un poco la pauta de su fluctuación.

J. Kulisevsky. Creo que generalmente los síntomas axiales no responden a la levodopa. Un mensaje que me gustaría transmitir es que en general, según la experiencia que hay tanto con entacapona como con tolcapona, lo que conseguirás es lo mismo que conseguías con la levodopa pero optimizando la biodisponibilidad de la levodopa. Es decir, no es previsible que vayas a modificar síntomas o signos que la levodopa por sí sola no modificaba. En este sentido ya sabemos que llega un momento en el que los síntomas, los signos axiales, responden muy poco o nada a la levodopa.

J.A. Obeso. Estoy de acuerdo salvo en lo penúltimo que has dicho. Todos los signos motores de la EP responden a la medicación; probablemente responden menos, aunque no te das cuenta de ello hasta que suspendes el fármaco por efectos secundarios, por ejemplo psiquiátricos. Y lo que parecía que no respondía todavía empeora más y cuando le vuelves a dar la medicación, mejora, aunque mucho menos que otros síntomas y signos más appendiculares. Cada vez, sin darnos cuenta y aunque nosotros ya sabemos de lo que hablamos, vamos transmitiendo esta idea que a los pacientes, morbosamente y de forma bastante masoquista, les encanta de que 'como se va a perder el efecto de la medicación...'. Sin darnos cuenta, los médicos vamos diciendo estas cosas y al final se convierte en un concepto generalizado: 'Como la medicación pierde el efecto a los cinco años...' Evidentemente es un concepto erróneo.

TOLERANCIA

J. Kulisevsky. Sí, estamos de acuerdo. Además hay muchos signos que empeoran porque asociados a los otros signos se hacen más evidentes y desde luego los bloqueos aumentan mucho, fenómeno que hemos podido constatar. Pero creo que el concepto fundamental es que la actuación de estos fármacos no es una actuación *per se*, o por lo menos todavía no la conocemos y no es previsible que la tengamos con los datos de que disponemos. Por tanto, no hay que olvidar que lo único que pretendemos es mejorar el mejor fármaco que tenemos, que sigue siendo la levodopa. No podemos mejorar otros síntomas u otros signos aumentando los niveles de levodopa, ya que probablemente traería otras complicaciones. Ya que hablamos de las complicaciones valdría la pena comentar cuáles han sido los efectos indeseables. En general se dice, y se ha señalado en los estudios, que tanto entacapona como tolcapona son fármacos muy bien tolerados (excepto el punto que quizá ya trataremos de la toxicidad de tolcapona que ha obligado a retirarlo del mercado por un problema de algunos casos de toxicidad hepática). El perfil de efectos secundarios de entacapona parece ser un perfil bastante aceptable. ¿Qué opináis?

R. Luquin. Sí, parece que es un fármaco bastante bien tolerado y dentro de los efectos secundarios más importantes destacan, curiosamente, las náuseas y los vómitos. Parece que pocos pacientes desarrollan diarrea, que solía ser el efecto secundario más frecuente de abandono en pacientes con tolcapona. En general, es un fármaco bastante bien tolerado. Muy pocos pacientes suspendieron el tratamiento por efectos adversos, no ya en relación con aumento de discinesias sino en relación propiamente con el fármaco. Parece que náuseas y vómitos son los efectos secundarios referidos en la literatura con más frecuencia.



F. Martí

J. Kulisevsky. También será importante distinguir entre efectos dopaminérgicos y efectos del fármaco. Como señalas, la diarrea no ha sido importante. Desde luego en el estudio americano de los seis meses prácticamente no se menciona, o no la presentan más de un 3% de los pacientes. En el estudio de Rinne sí que se refiere, pero en todo caso la incidencia parece ser mucho menor que la que había con tolcapona, es decir, no constituye un problema importante. Por otro lado están los efectos dopaminérgicos previsibles, que son el aumento de discinesias o la posible presentación de alucinaciones, aunque no ha sido un problema grave en los estudios. En el estudio americano se señala el trastorno de memoria y que la mayoría de enfermos que se quejaban de trastornos de memoria fueron los que luego, en algún momento, presentaron alucinaciones. En todo caso, son efectos previsibles de un aumento del metabolismo dopaminérgico, es decir, no es un efecto del fármaco *per se*, y en la mayoría de los casos se controlaban —como en el caso de las discinesias— disminuyendo o modificando la dosis de levodopa. Pero en general son fármacos que han sido bastante bien tolerados y que hacen que se prevea una administración fácil. Pienso que a lo que todos tenemos miedo o un gran respeto es a qué puede pasar con respecto a la posible hepatotoxicidad del fármaco.

J.A. Obeso. En cuanto a este aspecto tan práctico, quería mencionar dos cosas. Hay un artículo en un ejemplar de *Neurology* de finales del año pasado en el que comparan placebo frente a tolcapona o entacapona, en monoterapia sin dopa. Uno de los puntos más llamativos de ese estudio es que aproximadamente el 60% de las personas que tomaban placebo describieron algún efecto secundario, mientras que las que tomaban cualquiera de los dos inhibidores fueron algunas más: un 70%. Pero es que se describía un 60%, cifra escandalosamente alta en mi opinión, de efectos secundarios. Quizá Horga nos podría ilustrar sobre cuál es la situación general de estos incidentes. El otro aspecto que quiero comentar es totalmente práctico de mi experiencia con tolcapona. No lo sé porque no lo he cuantificado, no he hecho ninguna ficha... pero yo diría que suspendí tolcapona por efectos secundarios leves al menos en un 20% de los

pacientes con quienes lo intenté. Yo traigo a pacientes complejos: politerapias, etc. Pero lo suspendí en muchos, un mínimo del 10%.

J. Kulisevsky. Creo que has dado en el clavo porque tú no eres el neurólogo tipo; ves enfermos, que en general te llegan absolutamente sesgados. Yo bajaría la cifra al menos a un 10% o 15%, pero no más.

R. Luquin. De todas formas, ¿te refieres a efectos secundarios por el fármaco o por discinesias o alucinaciones?

J. Kulisevsky. De todo.

R. Luquin. Entonces, un 20% sí puede ser... Pero por intolerancia al fármaco yo creo que es inferior a un 20%.

J.A. Obeso. Pero ¿qué es intolerancia? Es que el paciente te llama y te dice: 'Me siento mal'. Y le preguntas: '¿Qué le pasa?' 'Me mareo.' 'Bueno, pues intente un poco más', o 'Vuélvalo a intentar'. 'Es que no puedo', etc. Es decir, esto no es nada reglado. Se trata de una pura experiencia práctica. Ésta es la disociación entre los ensayos. Los ensayos aportan un conjunto de circunstancias donde el abandono es mucho menor que en la práctica, y de eso no cabe duda. Y no debemos vernos falsamente conducidos en ese sentido; es más que decir 'Se tolera muy bien, se tolera muy bien'. Bueno, ya veremos.

J. Kulisevsky. No se ha hecho un metanálisis, pero cuando uno analiza poblaciones ideales, que son las poblaciones incluidas en los estudios clínicos, no hay que olvidarse de que no son las poblaciones reales y que has hecho una selección del enfermo que no tiene trastornos cardíacos, que no tiene asma, que no tiene los lípidos elevados, en fin, que es capaz de llegar a entender las pautas que el neurólogo le marca. Y eso es una población ideal en la cual prevés que habrá menos efectos secundarios que en la población real. Cuando se comparan los estudios —y ahora hay bastantes estudios muy bien hechos con otros fármacos adyuvantes de la levodopa— se observa que el número de abandonos por efectos secundarios quizá sea mayor. Ya digo que este metanálisis no está hecho y quizá valga la pena hacerlo. Hay un estudio recientemente publicado en *Lancet* —también criticable porque es abierto pero es el único que yo conozco—, que compara un inhibidor de la COMT con un agonista dopaminérgico. En este estudio se aprecia que la eficacia quizá sea similar en cuanto a la mejoría del paciente fluctuante y a conseguir un beneficio de aumento del tiempo on: creo que el perfil de efectos secundarios es más alto con un agonista que en general es bastante bien tolerado, como es la bromocriptina y que por otro lado aporta también la ventaja de que el inhibidor de la COMT tiene un efecto más rápido. En el estudio de Rinne sólo se retiraron seis pacientes de doscientos y pico, un 7%, y en el grupo placebo se retiraron un 6%. Por consiguiente son cifras bastante comparables y creo que eso, a pesar de todas las precauciones que uno tiene que poner en el estudio de poblaciones ideales, es bastante aceptable para una población enferma. Asimismo quería mencionar el problema de la toxicidad hepática, porque con tolcapona no apareció hasta la fase de comercialización del fármaco y esto sucede muchas veces: ya se sabe, también son importantes los estudios de fase IV. En este caso, el fármaco entacapona está comercializado en pocos países. Quizá no hay la suficiente experiencia ante un hecho que es relativamente traumático. Al hilo de esto cabría añadir que cuando uno analiza la retirada de un fármaco en fase de comercialización por tres casos de hepatitis tóxica quizá piensa que ha sido una medida un tanto exagerada y de hecho se ha cuestionado; también podría ocurrir con enta-

capona. ¿Existe algún dato en la literatura o en las características de la molécula que sea diferente a tolcapona y que haga de alguna manera prever que no tendremos este problema con entacapona?

J.F. Horga. Antes de responder a esta pregunta, me gustaría incorporar una pequeña sugerencia de reflexión a la anterior. A veces es muy difícil extraer conclusiones de la probabilidad de un efecto adverso a partir de ensayos clínicos, debido a que los investigadores de los ensayos clínicos aceptan recoger la información sobre efectos adversos diciendo que acontecimientos adversos pueden calificarse como debidos al fármaco, es decir, son efectos adversos. Y cada vez más hay pruebas que demuestran que esto es un error que luego se paga, porque el establecimiento de que un acontecimiento adverso es un efecto adverso es realmente muy difícil. Incluso algunos autores señalan que individualmente es casi imposible, que sólo se puede hacer desde una aproximación epidemiológica, y evidentemente si no se tienen los datos numéricos de todos los acontecimientos adversos, *a posteriori* es muy difícil extraer conclusiones epidemiológicas. Hay que observar en los ensayos clínicos si los datos se refieren a acontecimientos adversos o si los datos se refieren a la valoración del investigador de estos acontecimientos, como efectos adversos. En segundo lugar, está el problema de la toxicidad de productos como éstos y la situación con la que uno se encuentra cuando se retira un producto por la aparición de efectos adversos: por la presencia de tres casos de hepatitis tóxica letal con tolcapona. Al analizar esta situación me he encontrado con que me falta el criterio de un riesgo aceptable para este tipo de fármaco; es decir: ¿cuál es el riesgo aceptable para un inhibidor de COMT a la vista de lo que se espera en el tipo de pacientes en los que aquí se ha dicho que este tipo de fármaco puede ser beneficioso? ¿Cómo se define la relación beneficio esperado-riesgo esperable con este fármaco? A mí me falta esta definición epidemiológica, y sería muy ingenuo por mi parte tratar de hacer una definición, pero me hubiera gustado tenerla.

J. Kulisevsky. Para los enfermos con Parkinson, sobre todo para los enfermos avanzados para los cuales la Farmacopea de la que disponemos es muy limitada, aceptaría un riesgo que no es muy alto, o que al menos no se conoce que sea muy alto. Teniendo en cuenta que hay muchísimos medicamentos que pueden producir hepatotoxicidad, yo no creo que sea un riesgo no asumible. Hecha esta salvedad, mi pregunta más directa es si hay algo en la molécula que nos haga prever que esto no va a ocurrir. Lo decía sobre todo porque hay un estudio de Nissinen, publicado en *European Journal of Pharmacology*, que demuestra que entacapona, contrariamente a tolcapona, no altera la producción energética de las mitocondrias hepáticas, o al menos el consumo de oxígeno de las mitocondrias de hígado de rata. ¿Hasta qué punto estos hallazgos permiten alentar o alejar los fantasmas de que pueda volver a producirse un fenómeno similar?

J.F. Horga. Es muy difícil establecer si la presencia de tres casos de muerte conocidos por casi 100.000 pacientes tratados constituye un riesgo aceptable y prever cómo habría que hacer un estudio con entacapona de tal modo que aceptemos que ese riesgo es inferior. Es decir, para mí el primer punto es establecer cuál es la toxicidad aceptable y el segundo establecer el potencial comparado de riesgo. Desgraciadamente no lo tenemos, aunque vemos que en la práctica es muy relevante. Sólo tenemos posibilidades de extrapolar unos datos experimentales como los que tú has señalado para decir: De este producto, *a priori* y haciendo una inferencia lógica no demostrada, tenemos algún dato que sugiere que puede no ser tan negativo. Existe el dato que tú has comentado publicado en *European Journal*

of Pharmacology y que parece que viene determinado porque, al ser un producto menos liposoluble, la capacidad de entacapona para alcanzar una concentración determinada en las mitocondrias es mucho menor que con tolcapona. Y la experiencia, tanto en estudios subcelulares de hígado de rata como en estudios celulares y en estudios de corazón aislado, indican que entacapona genera una inhibición de la fosforilación oxidativa y, por tanto, una interferencia con la producción de ATP y un posible riesgo de lesión celular muy inferior –de varios órdenes de magnitud– a tolcapona. En ese sentido, parece que uno tendería a decir: 'Espero que si la hepatotoxicidad ha sido debida a esta inhibición de la fosforilación oxidativa, la probabilidad de una hepatotoxicidad grave en pacientes es muy inferior. De hecho, en España se ha notificado un caso de infarto asociado a tolcapona; es decir, parece que realmente puede ser un hecho relevante en la práctica la inhibición de la fosforilación oxidativa. La inferencia nos puede hacer pensar que el riesgo va a ser menor, aunque yo no me atrevería a establecer una conclusión. Lo que sí me parece muy relevante es la concienciación de que deben ser notificados todos y cada uno de los efectos adversos de un fármaco nuevo para establecer su perfil de seguridad. Habitualmente no hay posibilidad con los ensayos clínicos de poder deducir si un fármaco tiene efectos adversos, incluso graves, excepto que su frecuencia sea elevada.

J. Matías-Guiu. Muchos tenemos la sensación de que la decisión de suspender el fármaco fue una decisión poco valorada en relación con el paciente; parece que se tuvo en cuenta solamente el efecto adverso y no se pensó en el beneficio del paciente. Porque aparte de la posibilidad de que realmente la incidencia sea baja, la realidad es que existía un fármaco con un mecanismo parecido, posiblemente sustitutorio, que iba a estar a disposición de los pacientes en un plazo relativamente breve. Por tanto, la probabilidad de incidencia de ese efecto adverso en un número determinado de pacientes y en un tiempo relativamente breve puede ser todavía más bajo. ¿No hubiera sido más operativo el tratar de solapar la necesidad de ambos productos con la aparición de un fármaco de mecanismo parecido y tratar de evitar los perjuicios de la retirada para los pacientes? Y por otra parte, ¿en los mecanismos de decisión de ese tipo de cuestiones realmente se valoran aspectos clínicos o solamente se valoran efectos adversos? Porque uno tiene la sensación de que sólo se ha valorado el efecto adverso, pero se ha olvidado un poco lo que representaba realmente para los pacientes la retirada de este producto.

J.F. Horga. Has tocado un aspecto muy importante y muy discutible. Tú sabes tan bien como yo que las Agencias Reguladoras están formadas por personas sometidas a numerosas presiones y que valoran una enorme cantidad de aspectos. Creo que en el curso temporal de los acontecimientos, sí se ha tenido en cuenta un aspecto clínico, pero quizá no exactamente el que tú señalas, que es la eficacia. Lo que ha sucedido es que los dos casos –uno en Suiza y otro en Estados Unidos– de hepatitis fulminante se han dado en el seno de un número de hepatitis graves –hepatotoxicidad grave–, es decir, con una elevación alta de aminotransferasas realmente escaso. Es decir, no ha habido muchos casos de aumento considerable de GOT y GPT y, sin embargo, hubo dos casos de muerte. Entonces se estableció que debería realizarse un seguimiento de estos pacientes, sobre todo en los primeros meses de tratamiento. Pero en una notificación recibida de Canadá, la suspensión del tratamiento no había sido capaz de evitar la muerte, y eso ha sido el elemento que ha desencadenado la suspensión. Es decir, ha habido una preocupación, ya que este hecho sugería que el seguimiento clínico podría no ser suficientemente eficaz para evitar una toxicidad grave. De algu-



J. Matías-Guiu

na manera –contestando a tu pregunta–, sí se ha tenido en cuenta la evolución clínica, aunque ha pesado más la imprevisibilidad de la evolución de la lesión hepática, entendida lesión hepática como trastorno de enzimas, que los otros aspectos de eficacia del paciente. También hay que recordar que en este momento, en Europa, la Agencia Reguladora es una agencia internacional. En contra lo que se ha dicho, no ha sido Francia quien ha retirado el fármaco, como se ha comentado incluso en la prensa, ha sido la Agencia Europea del Medicamento (EMA).

J. Kulisevsky. Ya que has nombrado a la Agencia Europea, yo quería hacer una puntualización: la EMA acaba de autorizar entacapona para su comercialización en Europa. Sin embargo, y esto sucede después de que sea la misma agencia la que ha suspendido tolcapona, ¿se deben realizar controles hepáticos? ¿Obliga la ficha técnica a llevar a cabo controles hepáticos? A mí me parece que no, por tanto, ¿qué se puede inferir de esto?

J.F. Horga. Se puede inferir que esta decisión está basada en los datos obtenidos de los ensayos clínicos, en los cuales sí hay una constancia de análisis de transaminasas; a diferencia de los ensayos clínicos con tolcapona, que establecían que el 3,5% de pacientes evaluados en ensayos clínicos tenían unos incrementos de aminotransferasas de al menos tres veces, el límite superior de la normalidad, en los ensayos clínicos con entacapona la situación no ha sido así, hecho que apoya esta teórica inferencia que mencionábamos antes de los estudios experimentales. Y si no se da este riesgo, en principio, establecer la obligación de la realización de análisis por la semejanza química no es una decisión con cri-

terios racionales. De todos modos, mi opinión es que cualquier clínico mínimamente sensato debería, si no hacer un seguimiento tan exhaustivo durante los primeros meses, no olvidar este riesgo.

J.A. Obeso. Con respecto al concepto que se ha comentado de riesgo asumible o aceptable, riesgo-beneficio quería señalar que si nos ceñimos a una población de pacientes en una situación complicada, sin otro dato concreto más que la realidad de la práctica clínica y haciendo una simplificación extrema, éste sería un subgrupo de pacientes para quienes este fármaco —el que se ha retirado, el que va a venir— puede significar su última posibilidad de lograr una situación ideal, antes de someterse a un tratamiento quirúrgico. Después habrá muchos pacientes que no lleguen a esta situación ideal por otra serie de razones, pero si esamos conceptualizando la evolución terapéutica de la EP, en un medio civilizado y con recursos, el riesgo quirúrgico —de muerte, por ejemplo— es de alrededor del 0,51% y el riesgo de quedar con una secuela grave es al menos del 2-3%. Si comparamos con el 0,03% señalado de este riesgo de muerte, seguramente la diferencia entre uno y otro resulta estadísticamente significativa. Asimismo, podría argumentarse en contra que la expectativa de beneficio puede que sea mayor. Pero el riesgo, que es de lo que se habla, del siguiente ensayo terapéutico ofertable al paciente es aproximadamente mil veces más elevado, en cuyo caso, desde mi punto de vista, parecería razonable aceptar ese riesgo. Después en la realidad las cosas son más complejas; no todos los pacientes a quienes no beneficie entacapona o entacapona se van a operar, pero en sentido conceptual...

J.F. Horga. Tu línea de argumentación me parece correcta, sólo que en este caso no contamos con efectos, con hepatotoxicidad grave real, sino con hepatotoxicidad grave notificada.

J.A. Burguera. Desde un punto de vista práctico del neurólogo, que supongamos va a administrar diez tomas diarias de 200 mg, es decir, aproximadamente 2 gramos, me gustaría saber la experiencia que se tiene o los datos disponibles acerca de las dosis tóxicas en animales. ¿A cuánto equivaldría? Yo he hecho un cálculo y creo que los datos de dosis agudas de 2.000 mg/kg en ratas corresponderían aproximadamente a 700 pastillas en un día por persona. Las dosis habituales de los estudios sobre toxicidad subaguda en animales eran de 80 mg/kg/día y corresponderían a 28 pastillas aproximadamente en humanos. ¿Se tiene algún otro dato al respecto? Porque 10 pastillas, a veces, el paciente psicológicamente no las tolera.

J. Kulisevsky. Es un dato un poco extremo. No hay muchos enfermos que tomen 10 veces al día levodopa; en todo caso, se trataría de un enfermo complicado, y no tendrías muchos de estos. Pero al menos en los dos estudios a largo plazo se aceptaban hasta 10 tomas al día de levodopa y en principio no se ha visto que pacientes que tomaban el mayor número de dosis hayan presentado más complicaciones que los que tomaban menos.

F. Grandas. Desde un punto de vista estrictamente farmacológico, quizá estos pacientes que reciben una gran cantidad de dosis de levodopa no necesiten un número similar de dosis de entacapona. En principio, la reiteración, o sea, el asociar una dosis de entacapona a dosis de levodopa, se fundamenta en que la vida media de ambos productos es más bien corta. Pero es posible que quizás administrando entacapona seis veces, por ejemplo, se consigan unos niveles plasmáticos razonablemente estables al cabo de una semana o incluso antes.



J.A. Obeso.

J. Kulisevsky. Sí, creo que has tocado un punto importante y que quizá valga la pena discutir. No hay obligación de que con cada dosis de levodopa haya que administrar entacapona. Probablemente no. Es decir, se puede elegir con qué dosis sí y con qué dosis no, y que el enfermo que toma 10 veces al día levodopa pueda tener esta opción. Sin embargo, no hay que olvidar que cuantos más fármacos administremos mayor posibilidad de efectos secundarios. Aunque lo que ocurre, si retornamos al problema del fantasma del otro fármaco, es que no se ha producido hepatotoxicidad, al menos en los estudios controlados. Otra cuestión interesante quizá es ver si se puede indicar entacapona tanto a pacientes jóvenes como a pacientes ancianos. Es decir, ¿puede haber más problemas, por ejemplo, de menor tolerancia? Un enfermo de más de 80 años, que hay muchos de ellos, ¿podría tener más problemas? La información, al menos de la literatura, es que este problema no existe, o que los enfermos más ancianos no han tenido grandes problemas.

CONCLUSIONES

J. Kulisevsky. Podemos concluir, a partir de los estudios realizados y de lo que se ha comentado en esta mesa redonda, que entacapona es un fármaco que ha demostrado, a través de la inhibición de una vía metabólica, su capacidad para mejorar la biodisponibilidad de la levodopa, fenómeno que ha podido constatar sobre todo observando los niveles plasmáticos de levodopa. Además, entacapona mejora y aumenta el área bajo la curva e incrementa el tiempo de vida media de la levodopa, lo cual es muy importante porque esa mejora de la biodisponibilidad condiciona un aumento del tiempo *on*, una disminución concomitante del tiempo *off*, sin ocasionar graves problemas. Sí se manifiestan los problemas previsibles de tipo dopaminérgico, básicamente discinesias, si bien son controlables en el sentido que podemos, disminuyendo la

dosis de levodopa o de fármacos asociados, controlar las discinesias que suelen presentarse en las primeras semanas de tratamiento.

Entacapona es fácil de titular. Para conseguir su efecto debe administrarse con cada dosis de levodopa. La suspensión del fármaco en los estudios a largo plazo ha demostrado que los enfermos empeoran casi inmediatamente, lo cual significa que mantiene su efecto a largo plazo, al menos hasta seis meses según los estudios disponibles.

El perfil de efectos adversos no dopaminérgicos es bastante aceptable. Presenta menos complicaciones que otros fármacos similares, en el sentido de que la diarrea no parece ser un efecto importante. También se han referido náuseas, puede haber insomnio y otro tipo de problemas, pero no alcanzan cifras superiores al 6% de los pacientes según se desprende de los estudios controlados.

Se trata de un fármaco cuya utilidad, en principio, está demostrada, o al menos de acuerdo a lo que se acepta que es la medicina basada en la evidencia, esto es, los estudios a doble ciego controlados con placebo con un número suficiente de pacientes, estudios multicéntricos. Es útil en pacientes con enfermedad de Parkinson con fluctuaciones motoras. Todavía no hay, que yo conozca, ningún estudio en pacientes iniciales.

Sería interesante analizar cuáles son las puertas que abre este medicamento. En este sentido, probablemente un aspecto muy importante sea que podamos conseguir niveles más estables de levodopa y que en pacientes no fluctuantes, quizá a largo plazo, puedan evitarse una serie de efectos indeseables relacionados aparentemente con las fluctuaciones plasmáticas, como sería la aparición de fluctuaciones motoras. Lamentablemente había un estudio con tolcapona en ese

sentido, que se ha suspendido. Que yo sepa, todavía no se ha planteado el mismo estudio con entacapona, que quizá sería interesante.

En resumen, se trata de un fármaco de una nueva familia que ha demostrado que puede administrarse con cualquiera de los fármacos que actualmente se utilizan para el tratamiento de la EP: con las preparaciones de liberación estándar de levodopa y también con las preparaciones de liberación retardada o controlada (hay estudios en este sentido). Es eficaz tanto con carbidopa como con benseracida, y también puede administrarse junto con selegilina, y con agonistas dopaminérgicos.

En principio no presenta problemas de titulación y creo que abre un nuevo camino, siempre y cuando la selección del paciente sea adecuada. En esta mesa redonda se ha comentado que el paciente ideal candidato para el tratamiento con entacapona probablemente sea el paciente que comienza a presentar fluctuaciones motoras, deterioros simples de final de dosis, y que en los pacientes más avanzados hay que tener una cierta precaución. Agregaría que deben definirse muy bien las expectativas en cuanto a mejoría para que no ocurra, como otras veces, que el paciente espera el advenimiento de un fármaco nuevo cuyas expectativas, posiblemente desmedidas en los pacientes muy avanzados, no se cumplen.

Quiero agradecer a todos vuestra colaboración, en mi nombre y en el de REVISTA DE NEUROLOGÍA. Estoy convencido de que ha sido una discusión profunda, sin ningún tipo de planteamientos previos, en la que han surgido una serie de ideas que señalan hacia dónde tienen que ir nuevos estudios encaminados a conocer más todo lo que puede aportar todavía esta familia nueva de fármacos. Muchas gracias.

BIBLIOGRAFÍA

- Ehringer H, Hornykiewicz O. Verteilung von noradrenalin und dopamin (3-hydroxytyramine) in gehirn des menschen und ihr verhalten bei erkrankungen des extrapyramidalen systems. *Klin Wochenschr* 1960; 38: 1236-9.
- Agid Y, Javoy-Agid F, Ruberg M. Biochemistry of neurotransmitters in Parkinson's disease. In Marsden CD, Fahn S, eds. *Movement disorders 2*. London: Butterworths; 1987. p. 166-230.
- Marsden CD. Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994; 57: 672-81.
- Fahn S. Adverse effects of levodopa in Parkinson's disease. In Calne DB, ed. *Drugs for the treatment of Parkinson's disease*. Berlin: Springer-Verlag; 1989. p. 385-409.
- Nutt JG. Levodopa: rational and irrational pharmacology. *Ann Neurol* 1994; 36: 4-5.
- Bravi D, Mouradian MM, Roberts JW, Davis TL, Sohn YH, et al. Wearing-off fluctuations in Parkinson's disease: contribution of postsynaptic mechanisms. *Ann Neurol* 1994; 36: 27-31.
- De Jong GJ, Meer Waldt JD, Schmitz PI. Factors that influence the occurrence of response variations in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 1987; 22: 4-7.
- Chase TN, Mouradian MM, Engber TM. Motor response complications and the function of striatal efferent systems. *Neurology* 1993; 43 (Suppl 6): S23-7. [Review].
- Mouradian MM, Juncos JL, Fabbrini G, Schlegel J, Bartko JJ, et al. Motor fluctuations in Parkinson's disease: central pathophysiological mechanism, part II. *Ann Neurol* 1988; 24: 372-8.
- Verhagen-Metman L, Locatelli ER, Bravi D, Mouradian MM, Chase TN. Apomorphine responses in Parkinson's disease and the pathogenesis of motor complications. *Neurology* 1997; 48: 369-72.
- Nutt JG, Fellman JH. Pharmacokinetics of levodopa. *Clin Neuropharmacol* 1984; 7: 35-49.
- Tissot R, Bartholini G, Pletscher A. Drug-induced changes of extracerebral dopa metabolism in man. *Arch Neurol* 1969; 20: 187-90.
- Männistö PT. Clinical potential of catechol-O-methyltransferase (COMT) inhibitors as adjuvants in Parkinson's disease. *CNS Drugs* 1994; 1: 172-9.
- Le Witt PA. The pharmacology of levodopa in the treatment of Parkinson's disease: an update. In Calne DB, ed. *Handbook of experimental pharmacology. Drugs for the treatment of Parkinson's disease*. Vol. 88. Berlin: Springer-Verlag; 1989. p. 325-84.
- Kuruma I, Bartholini G, Tissot R, Pletscher A. The metabolism of L-3-O-methyl-dopa, a precursor of dopa in man. *Clin Pharmacol Ther* 1971; 12: 678-82.
- Tohgi H, Takahiko A, Takahashi S, et al. The significance of 3-O-methyl-dopa concentrations in the cerebrospinal fluid in the pathogenesis of wearing-off phenomenon in Parkinson's disease. *Neurosci Lett* 1991; 132: 19-22.
- The European agency for the evaluation of medicinal products. Human medicines evaluation unit. London, 23 November 1998.
- Axelrod J, Senoh S, Witkop B. O-methylation of catechol amines. *J Biol Chem* 1958; 233: 697-701.
- Nissinen E, Tuominen R, Perhoniemi V, Kaakkola S. Catechol-O-methyltransferase activity in human and rat small intestine. *Life Sci* 1988; 42: 2609-14.
- Karhunen T, Tilgman C, Julkunen I, Ulmanen I, Panula P. Distribution of catechol-O-methyltransferase enzyme in rat tissues. *J Histochem Cytochem* 1994; 42: 1079-90.
- Kastner A, Anglade P, Bounaix C, Damier P, Javoy-Agid F, Bromet N, et al. Immunohistochemical study of catechol-O-methyltransferase in the human mesostriatal system. *Neuroscience* 1994; 62: 449-57.
- Lundström K, Salminen M, Jalanko A, Savolainen R, Ulmanen I. Cloning and characterization of human placental catechol-O-methyltransferase cDNA. *DNA Cell Biol* 1991; 10: 181-9.
- Roth JA. Membrane-bound catechol-O-methyltransferase: a reevaluation of its role in the O-methylation of the catecholamine neurotransmitters. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1992; 120: 1-29.
- Ruottinen HM, Rinne K. A double-blind pharmacokinetic and clinical dose-response study of entacapone as an adjuvant to levodopa therapy in advanced Parkinson's disease. *Clin Neuropharmacol* 1996; 19: 283-96.
- Athila S, Kaakkola S, Gordin A, Korpela K, Heinävaara S, Karlsson M, et al. Effect of entacapone, a COMT inhibitor, on the pharmacokinetics and metabolism of levodopa after administration of controlled-release levodopa-carbidopa in volunteers. *Clin Neuropharmacol* 1995; 18: 46-57.
- Keränen T, Gordin A, Karlsson M, Korpela K, Pentikäinen PJ, Rita H, et al. Inhibition of soluble catechol-O-methyltransferase and single-dose pharmacokinetics after oral and intravenous administration of entacapone. *Eur J Clin Pharmacol* 1994; 46: 151-7.
- Keränen T, Gordin A, Harjola V-P, Karlsson M, Korpela K, Pentikäinen PJ, et al. The effect of catechol-O-methyltransferase inhibition by entacapone on the pharmacokinetics and metabolism of levodopa in healthy volunteers. *Clin Neuropharmacol* 1993; 16: 145-56.

28. Wikberg T, Vuorela A, Ottoila P, Taskiran J. Identification of major metabolites of the catechol-O-methyltransferase inhibitor entacapone in rats and humans. *Drug Metab Dispos* 1993; 21: 81-92.
29. Ruottinen HM, Rinne UK. COMT inhibition in the treatment of Parkinson's disease. *J Neurol* 1998; 245 (Suppl 3): 25-34.
30. Bäckström R, Honkanen E, Pippuri A, Kairisalo P, Pystynen J, Heinola K, et al. Synthesis of some novel potent and selective catechol-O-methyltransferase inhibitors. *J Med Chem* 1989; 32: 841-6.
31. Boudřková B, Szumlanski C, Maidak B, Weinshilboum R. Human liver catechol-O-methyltransferase pharmacogenetics. *Clin Pharmacol Ther* 1990; 48: 381-9.
32. Weinshilboum RM. Human erythrocyte catechol-O-methyltransferase: correlation with lung and kidney activity. *Life Sci* 1978; 22: 625-30.
33. Lyytinen J, Kaakkola S, Athila S, Tuominen P, Teräväinen H. Simultaneous MAO-B and COMT inhibition in L-dopa-treated patients with Parkinson's disease. *Mov Disord* 1997; 12: 497-505.
34. Ruottinen HM, Rinne UK. Effect of one month's treatment with peripherally acting catechol-O-methyltransferase inhibitor, entacapone, on pharmacokinetics and motor response to levodopa in advanced parkinsonian patients. *Clin Neuropharmacol* 1996; 19: 222-33.
35. Myllylä VV, Sotaniemi KA, Illi A, Suominen K, Keränen T. Effects of entacapone, a COMT inhibitor, on the pharmacokinetics of levodopa and cardiovascular responses in patients with Parkinson's disease. *Eur J Clin Pharmacol* 1993; 45: 419-23.
36. Merello M, Lees AJ, Webster R, Bovin, Gordin A. Effect of entacapone, a peripherally acting catechol-O-methyltransferase inhibitor, on the motor response to acute treatment with levodopa in patients with Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994; 57: 186-9.
37. Nutt JG, Woodward WR, Beckner RM, Stone CK, Berggren K, Carter JH, et al. Effect of peripheral catechol-O-methyltransferase inhibition on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of levodopa in parkinsonian patients. *Neurology* 1994; 44: 913-9.
38. Ruottinen HM, Rinne UK. Entacapone prolongs levodopa response in a one month double blind study in parkinsonian patients with levodopa related fluctuations. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996; 60: 36-40.
39. Kaakkola S, Teräväinen H, Athila S, Rita H, Gordin A. Effect of entacapone, a COMT inhibitor, on clinical disability and levodopa metabolism in parkinsonian patients. *Neurology* 1994; 44: 77-80.
40. Myllylä VV, Sotaniemi KA, Illi A, Suominen K, Keränen T. Effects of entacapone, a COMT inhibitor, on the pharmacokinetics of levodopa and cardiovascular responses in patients with Parkinson's disease. *Eur J Clin Pharmacol* 1993; 45: 419-23.
41. Kaakkola S, Teräväinen H, Athila S, Karlsson M, Naukkarinen T, Rita H, et al. Entacapone in combination with standard or controlled-release levodopa/carbidopa: a clinical and pharmacokinetic study in patients with Parkinson's disease. *Eur J Neurol* 1995; 2: 341-7.
42. Ruottinen HM, Rinne JO, Oikonen VJ, Bergman JR, Haaparanta MT, Solin OH, et al. Striatal 6-[F] fluorodopa accumulation after combined inhibition of peripheral catechol-O-methyltransferase and monoamine oxidase type B: differing response in relation to presynaptic dopaminergic dysfunction. *Synapse* 1997; 27: 336-46.
43. Ishikawa T, Dhawan V, Chaly T, Robeson W, Belachier A, Mandel F, et al. [F]fluorodopa positron emission tomography with an inhibitor of catechol-O-methyltransferase: effect of the plasma 3-O-methyldopa fraction on data analysis. *J Cereb Blood Flow Metab* 1996; 16: 854-63.
44. Ruottinen HM, Rinne JO, Ruotsalainen UH, Bergman JR, Oikonen VJ, Haaparanta MT, et al. Striatal [F]fluorodopa utilization after COMT inhibition with entacapone studied with PET in advanced Parkinson's disease. *J Neural Transm [P-D Sect]* 1995; 10: 91-106.
45. Sawle GV, Burn DJ, Morrish PK, Lammertsma AA, Snow BJ, Luthra S, et al. The effect of entacapone (OR-611) on brain [F]-6-fluorodopa metabolism: implications for levodopa therapy of Parkinson's disease. *Neurology* 1994; 44: 1292-7.
46. Rinne UK, Larsen JP, Siden A, Worm-Petersen J, the Nomecomt Study Group (1998). Entacapone enhances the response to levodopa in Parkinsonian patients with motor fluctuations. *Neurology* 1998; 51: 1309-14.
47. Parkinson Study Group. Entacapone improves motor fluctuation in levodopa-treated Parkinson's disease patients. *Ann Neurol* 1997; 42: 747-55.

ENTACAPONA: ¿ES ÚTIL COMO TRATAMIENTO COMPLEMENTARIO A LA LEVODOPA?

Resumen. Entacapone (Comtan®) es un potente inhibidor selectivo y reversible de la enzima catecol-O-metiltransferasa (COMT) periférica con potencialidad terapéutica como adyuvante a la terapia con levodopa en pacientes con enfermedad de Parkinson. Entacapone disminuye la conversión periférica de levodopa a 3-O-metildopa aumentando las concentraciones centrales y extracelulares de levodopa y, en consecuencia, las concentraciones estriales de dopamina. En dosis de 200 mg de 2 a 10 veces al día y administrado conjuntamente con levodopa/carbidopa o levodopa/benseracida, entacapone puede aumentar la duración de la respuesta clínica en pacientes con enfermedad de Parkinson y fluctuaciones de final de dosis tanto después de la primera y única dosis como después de dosis repetidas. Con estas dosis, el tiempo hasta el pico de concentración plasmática es de 1,2 horas y el tiempo medio de eliminación de 3,4 horas. En pacientes fluctuantes incluidos en dos grandes estudios multicéntricos controlados con placebo de aproximadamente 6 meses de duración, aquellos que tomaron entacapone aumentaron la duración del tiempo 'on' y disminuyeron la duración del tiempo 'off' al tiempo que reducían los requerimientos diarios de levodopa. De éstos y otros estudios controlados de fase III, se desprende que entacapone es un fármaco generalmente bien tolerado, con pocos efectos adversos comunicados de tipo no dopaminérgico (principalmente gastrointestinales) o dopaminérgico (principalmente prolongación de la duración o aumento de la magnitud de las discinesias). Las discinesias suelen controlarse mediante la disminución de la dosis media diaria de levodopa. Entacapone aparece como un adyuvante beneficioso y clínicamente significativo del tratamiento con levodopa en pacientes con enfermedad de Parkinson y fluctuaciones de final de dosis [REV NEUROL 1999; 28: 817-34]. **Palabras clave.** Catecol-O-metiltransferasa. Enfermedad de Parkinson. Entacapone.

ENTACAPONE: QUAL A UTILIDADE COMO TRATAMENTO COMPLEMENTAR DA LEVODOPA?

Resumo. O Entacapone (Comtan®) é um potente inibidor selectivo e reversível da enzima catecol-O-metiltransferase (COMT) periférica. Tem uma potencialidade terapêutica, como adjuvante à terapêutica com levodopa em doentes com doença de Parkinson. O Entacapone diminui a conversão periférica de levodopa em 3-O-metildopa, aumentando as concentrações centrais e extracelulares de levodopa e, como tal, as concentrações de dopamina no estriado. É administrado nas doses de 200 mg, 2 a 10 vezes por dia, conjuntamente com levodopa/carbidopa ou levodopa/benseracida. Nestas doses, o entacapone pode aumentar a duração da resposta clínica em doentes com doença de Parkinson e flutuações de final de dose tanto depois da primeira e única dose como depois de doses repetidas. Com estas doses, o tempo até ao pico de concentração plasmática é de 1,2 horas e o tempo médio de eliminação é de 3,4 horas. Em doentes com flutuações, incluídos nos dois grandes estudos multicéntricos, controlados com placebo, de aproximadamente 6 meses de duração, aqueles que tomaram entacapone tiveram aumento da duração do tempo 'on' e diminuição da duração do tempo 'off'. Simultaneamente, foram reduzidas as necessidades diárias de levodopa. Dos vários estudos controlados de fase III efectuados, se retira a conclusão de que o entacapone é um fármaco geralmente bem tolerado, com poucos efeitos adversos referidos, de tipo não dopaminérgico (sobretudo gastro-intestinais) ou dopaminérgico (sobretudo prolongamento da duração ou aumento da importância das discinesias). As discinesias são habitualmente controladas diminuindo a dose média diária de levodopa. O Entacapone surge como adjuvante benéfico e clinicamente significativo do tratamento com levodopa nos doentes com doença de Parkinson e flutuações de fim de dose [REV NEUROL 1999; 28: 817-34]. **Palavras chave.** Catecol-O-metiltransferasa. Doença de Parkinson. Entacapone.

Lector, participe en el debate de este Foro de Discusión a través del correo electrónico:
editor@neurologia.com en el apartado de Cartas al Director

130
126
375
2006-06-16

P.348

**SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES**

2020/
Bogotá, D.C.,

Doctora
Dilia María Rodríguez
Apoderada

Oficio N°
6508

REFERENCIA	Radicación	00 48944
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	430
	Folios	003

Como resultado del examen de patentabilidad de la solicitud de patente de invención N° 00 48944, realizado según el artículo 45 de la decisión 486 de la comisión de la Comunidad Andina, se notifica:

Documentos estudiados:

- . Descripción: folios 4-20
- . Ejemplos: folios 20-23
- . Capítulo reivindicatorio estudiado: folios 24-26
- . Se reivindica prioridad, presentada en Finlandia el 30.06.99, bajo el número FI991485

Objeto de la invención

Según las reivindicaciones 1 a 13 de la presente solicitud, se refiere a una composición sólida oral que comprende entacapona, levodopa y carbidopa; y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Clasificación internacional de patentes A 61 K 31/195

Determinación del estado de la técnica:

Consultadas las fuentes de información con que cuenta este despacho, se encontraron los siguientes documentos, anteriores a la fecha de prioridad de la presente solicitud - 10.08.99-, relacionados con la materia de la presente solicitud:

Nº	Documento	Título	Fecha de Publicación
1		"Effect of entacapone a COMT inhibitor, on the pharmacokinetics and metabolism of levodopa after administration of controlled-release levodopa-carvidopa in volunteers"	02.95
2		"The effect of carbidopa and entacapone preteatment and L-dopa pharmacokinetics and the metabolism in bloos plasma and skeletal muscle inbeagle dog: an in vivo microdialysis study"	06.95
3		"Entacapone enhances levodopa-induced reversal of motos disability in MPTP-treated common marmosets"	11.97
4		"Entacapone is useful as complimentary treatment with levodopa"	06.99

Evaluación de los requisitos de patentabilidad:

El artículo 14 de la decisión 486 de la comisión de la comunidad andina establece que: *"Los países miembros otorgarán patentes para las invenciones, sean de producto o de procedimiento, en todos los campos de la tecnología, siempre que sean nuevas, tengan nivel inventivo y sean susceptibles de aplicación industrial"*

En cumplimiento del artículo 14 de la decisión 486 de la comisión de la comunidad andina, se procedió a evaluar los requisitos de novedad, nivel inventivo y aplicación industrial con el fin de establecer la patentabilidad de la invención reivindicada en la solicitud en estudio.

Evaluación del NIVEL INVENTIVO

El artículo 18 de la decisión 486 dispone *"Se considerará que una invención tiene nivel inventivo, si para una persona del oficio normalmente versada en la Materia técnica correspondiente, esa invención no hubiese resultado obvia ni se hubiese derivado de manera evidente del estado de la técnica"*

Los artículos "Effect of entacapone a COMT inhibitor, on the pharmacokinetics and metabolism of levodopa after administration of controlled-release levodopa-carvidopa in volunteers", "The effect of carbidopa and entacapone preteatment and L-dopa pharmacokinetics and the metabolism in bloos plasma and skeletal muscle inbeagle dog: an in vivo microdialysis study", "Entacapone enhances levodopa-induced reversal of motos disability in MPTP-treated common marmosets" y "Entacapone is useful as complimentary treatment with levodopa" se relacionan con la administración combinada de entacapona, carbidopa y levodopa.

Teniendo en cuenta el objeto de la solicitud, el cual es proporcionar una composición farmacéutica que contenga entacapona, carbidopa y levodopa, se

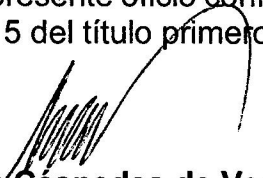
observa que es una derivación del estado de la técnica, ya que los documentos citados revelan combinaciones similares que tienen el mismo propósito con la única diferencia de que se está reivindicando una forma sólida que contenga estos tres compuestos, debido a que una persona versada en la materia tomaría las enseñanzas de los documentos citados y procedería a fabricar una forma farmacéutica que contenga estos tres compuestos.
Lo anterior hace que los documentos citados puedan afectar el nivel inventivo de las reivindicaciones 1-7 de la presente solicitud.

En conclusión los requisitos de patentabilidad de la presente solicitud se encuentran afectados así:

Nº	Documento	Reivindicaciones Afectadas	Requisito que afecta
1	"Effect of entacapone a COMT inhibitor, on the pharmacokinetics and metabolism of levodopa after administration of controlled-release levodopa-carvidopa in volunteers"	1-7	Nivel Inventivo
2	"The effect of carbidopa and entacapone pretreatment and L-dopa pharmacokinetics and the metabolism in blood plasma and skeletal muscle in beagle dog: an in vivo microdialysis study"	1-7	Nivel inventivo
3	"Entacapone enhances levodopa-induced reversal of motor disability in MPTP-treated common marmosets"	1-7	Nivel Inventivo
4	"Entacapone is useful as complementary treatment with levodopa"	1-7	Nivel Inventivo

En cumplimiento del artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le indica que debe dar respuesta dentro del término de sesenta días contados a partir de la fecha de la notificación de la presente comunicación. En caso de no dar respuesta al presente requerimiento, o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, se denegará la patente.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo 5 del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001


Álix Carmenza Céspedes de Vergel
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista, de fecha 15 JUN. 2006

CONCEPTO TÉCNICO Número 0712	EXAMINADOR TÉCNICO Código 202024
---------------------------------	-------------------------------------