

- 3) BLAXTER, K.L.; GRAHAM, N. McC. y WAINMAN, F.W. (1956). Some observations on the digestibility of food by sheep and on related problems. *Br. J. Nutr.*, 10, 69-91.
- 4) BULL, L.S.; RUMPLER, M.V.; SWEENEY, T.F. y ZINN, R.A. (1979). Influence of ruminal turnover on site and extent of digestion. *Fedn. Proc.*, 38, 2713-2719.
- 5) CAMPLING, R.C. y FREER, M. (1962). The effect of specific gravity and size on the mean time of retention of inert particles in the alimentary tract of the cow. *Br. J. Nutr.*, 16, 507-518.
- 6) ELLIS, W.C.; WYLIE, M.J. y MATIS, J.H. (1988). Dietary digestive interactions determining the feeding value of forages and roughages. En ORSKOV, E.R.: *Feed Science*, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 177-229.
- 7) GOERING, M.K. y VAN SOEST, P.J. (1970). Forage fiber analysis (apparatus, reagents, procedures and some applications). *Agr. Handb., n.º 379*, Agric. Res. Serv., USDA. Washington. U.S.A.
- 8) GROVUM, W.L. y WILLIAMS, V.J. (1973). Rate of passage of digesta in sheep. 4.- Passage of marker through the alimentary tract and the biological relevance of rate constants derived from the changes in concentration of marker in faeces. *Br. J. Nutr.*, 30, 313-329.
- 9) GROVUM, W.L. y WILLIAMS, V.J. (1977). Rate of passage of digesta in sheep. 6.- The effect of level of food intake on mathematical predictions of the kinetics of digesta in the reticulorumen and intestines. *Br. J. Nutr.*, 38, 425-436.
- 10) KENNEDY, P.M. y MURPHY, M.R. (1988). The nutritional implications of differential passage of particles through the ruminant alimentary tract. *Nutrition research Reviews*, 1, 189-208.
- 11) NORTON, B.W. (1982). Differences between species in forage quality. En HACKER, J.B.: *Nutritional limits to animal production from pastures*, C.A.B., London, 89-110.
- 12) OWENS, F.N. y GOETSCH, A.L. (1985). Digesta passage and microbial protein synthesis. En MILLIGAN, L.P.; GROVUM, W.L. y DOBSON, A.: *Control of Digestion and Metabolism in Ruminants*. New Jersey. U.S.A., 196-223.
- 13) SCALES, G.H. y HARRISON, A.D. (1920). Boric acid modification of the Kjeldahl method for crop and soil analysis. *J. Ind. Eng. Chem.*, 12, 350-354.
- 14) SCHNEIDER, B.H. y FLATT, W.P. (1975). *The Evaluation of Feeds through Digestibility Experiments*. The University of Georgia Press. Athens.
- 15) STEEL, R.G.D. y TORRIE, J.H. (1981). *Principles and Procedures of Statistics*. Mc Graw Hill Book Company. Inc. New York.
- 16) THIAGO, L.R.L. (1988). *Voluntary intake of forages by ruminants: factors related to eating behaviour and rumen fill*. Ph.D. Thesis. University of Reading. England.
- 17) THORTON, R.F. y MINSON, D.J. (1973). The relationship between apparent retention time in the rumen, voluntary intake and apparent digestibility of legume and grass diets in sheep. *Aust. J. agric. Res.*, 24, 889-898.
- 18) UDEN, P.; COLUCCI, P.E. y VAN SOEST, P.J. (1980). Investigación of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rates of passage studies. *J. Sci. Food Agric.*, 31, 625-632.
- 19) VAN SOEST, P.J. (1975). Physico-chemical aspects of fibre digestion. En Mc DONALD, I.W. y WARNER, A.C.I.: *Digestion and Metabolism in the Ruminant*. C.S.I.R.O., Sydney, Australia, 351-365.
- 20) VAN SOEST, P.J. (1982). *Nutritional Ecology of the Ruminant*. O and B. Books Inc. Oregon. U.S.A.
- 21) VARGA, G.A. y PRIGGE, E.C. (1982). Influence of forage species and level of intake on ruminal turnover rates. *J. Anim. Sci.*, 55, 1498-1504.
- 22) WARNER, A.C.I. (1981). Rate of passage of digesta through the gut of mammals and birds. *Nutr. Abstr. Rev., Series B*, 51, 789-820.
- 23) WILLIAMS, C.H.; DAVID, D.J. y IISMA, O. (1962). The determination of chromic oxide in faeces samples by atomic absorption spectrophotometry. *J. Agric. Sci.*, 59, 381-385.

FARMACOCINETICA CLINICA DEL LEVAMISOL EN EL CONEJO. I: ADMINISTRACION ORAL

(CLINICAL PHARMACOKINETICS OF LEVAMISOLE IN RABBIT. I: ORAL ADMINISTRATION)

Por M.J. Díez Liébana, *
J.J. García Vieitez, *
M. Sierra Vega, *
y M.T. Terán Somaza *

Palabras clave: levamisol, l-tetramisol, farmacocinética, conejos, administración oral.
Key words: levamisole, l-tetramisole, pharmacokinetics, rabbit, oral administration.

SUMMARY

The absorption of levamisole was studied in fifteen New Zealand white rabbits after oral administration of 12.5; 16 and 20 mg/kg.

The plasma levels of unaltered levamisole were determined by high pressure liquid chromatography and fitted according to a two-compartment model.

Peak plasma experimental levels of levamisole, 0.68, 1.12 and 1.50 µg/ml, were observed at 30, 60 and 60 minutes respectively after dosing. This fact indicates a moderate absorption rate of orally administered levamisole.

RESUMEN

En el presente trabajo estudiamos la absorción oral del levamisol en el conejo. Para ello utilizamos quince conejos New Zealand blancos y se les administró levamisol a razón de 12,5; 16 y 20 mg/kg.

* Dpto. de Fisiología, Farmacología y Toxicología, Universidad de León.

Las concentraciones plasmáticas del levamisol se determinaron por cromatografía líquida de alta eficacia y el tratamiento de los datos experimentales se hizo de acuerdo a un modelo bicompartimental abierto con un proceso de absorción de primer orden.

La velocidad del proceso de absorción fue moderada como indican los tiempos en que se alcanzaron las concentraciones máximas: 30 minutos para la dosis de 12,5 mg/kg y 60 minutos para las dosis de 16 y 20 mg/kg. Asimismo las concentraciones máximas observadas fueron 0,68; 1,12 y 1,50 µg/ml respectivamente.

INTRODUCCION

El levamisol, 1-(2,3,5,6-tetrahidro-6-fenil-imidazo- [2,1-b] -tiazol), isómero levógiro del tetramisol, es un antihelmíntico con un amplio espectro de actividad frente a nematodos (Thienpont *et al.* 12).

Este compuesto se utiliza mucho como antiparasitario en el ganado vacuno, ovejas, cerdos, cabras, pollos y conejos y, ocasionalmente, en caballos, perros y gatos. Por otra parte, en medicina humana se emplea, además, por sus propiedades inmunoestimulantes (Renoux 10).

Debido a la amplitud de su uso, se hace necesario conocer el comportamiento farmacocinético en las distintas especies de destino. En este sentido, hemos abordado su estudio en el conejo tras su administración oral, vía que junto con la subcutánea constituyen las de elección para la administración del levamisol en esta especie.

MATERIAL Y METODOS

Para la realización de este trabajo utilizamos quince conejos machos, de raza New Zealand blancos, cuyos pesos oscilaban entre 2,100 y 3,600 kg.

Los conejos se dividieron al azar en tres lotes de cinco animales cada uno y recibieron clorhidrato de levamisol en solución acuosa a una dosis de 12,5, 16 y 20 mg/kg, respectivamente, tras mantenerlos diez horas en ayunas.

Los animales se anestesiaron con pentobarbital sódico a razón de 30 mg/kg por vía intraperitoneal, y a continuación se canuló la arteria carótida. La administración del levamisol se realizó una vez que los animales se habían recuperado de la anestesia, procediéndose a la extracción de sangre a los 5, 10, 20, 30 y 60 minutos y a las 2, 3, 4, 6, 8, 24 y 48 horas tras su administración. Las muestras de sangre fueron centrifugadas y el plasma obtenido congelado a -20°C hasta su procesamiento.

La identificación y cuantificación del levamisol en plasma se realizó por cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) con detección UV (García *et al.* 4).

Para llevar a cabo el tratamiento de los datos y realizar los cálculos pertinentes, se utilizaron los programas PCNONLIN 9 y STATGRAPHICS 11 y se usó un ordenador AT (modelo BW-39-40).

RESULTADOS

En la tabla 1 están reflejados los valores medios de las concentraciones plasmáticas experimentales obtenidos para las tres dosis estudiadas, así como su desviación típica. En la figura 1 se representan conjuntamente las curvas concentración plasmática/tiempo correspondientes.

TABLA 1
Concentraciones plasmáticas medias del levamisol obtenidas tras la administración de 12,5, 16 y 20 mg/kg por vía oral

| Tiempo (minutos) | 12,5 mg/kg $\bar{x} \pm S$ | 16 mg/kg $\bar{x} \pm S$ | 20 mg/kg $\bar{x} \pm S$ |
|------------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 5 | 0,234 ± 0,047 | 0,384 ± 0,093 | 0,400 ± 0,136 |
| 10 | 0,408 ± 0,163 | 0,536 ± 0,120 | 0,562 ± 0,133 |
| 20 | 0,574 ± 0,156 | 0,757 ± 0,159 | 0,773 ± 0,253 |
| 30 | 0,676 ± 0,200 | 0,753 ± 0,221 | 0,878 ± 0,370 |
| 60 | 0,578 ± 0,205 | 1,118 ± 0,447 | 1,500 ± 0,718 |
| 120 | 9,425 ± 0,051 | 1,040 ± 0,306 | 1,372 ± 0,679 |
| 180 | 0,236 ± 0,097 | 0,586 ± 0,319 | 1,245 ± 0,558 |
| 240 | 0,210 ± 0,000 | 0,306 ± 0,168 | 0,640 ± 0,317 |
| 360 | 0,140 ± 0,014 | 0,163 ± 0,043 | 0,330 ± 0,075 |
| 480 | | 0,160 ± 0,000 | 0,205 ± 0,064 |
| 1440 | | | 0,110 ± 0,000 |

\bar{x} : valor medio; S: desviación típica.

TABLA 2
Parámetros cinéticos calculados tras la administración oral de levamisol

| Parámetro cinético | Dosis | | |
|--|------------|----------|----------|
| | 12,5 mg/kg | 16 mg/kg | 20 mg/kg |
| Ka ^a (min ⁻¹) | 0,0653 | 0,0247 | 0,0149 |
| t _{1/2} K _a ^a (min) | 10,62 | 28,01 | 46,54 |
| C _{max} (µg/ml) | 0,68 | 1,12 | 1,5 |
| t _{max} (min) | 30 | 60 | 60 |

a. Parámetros ajustados con el PCNONLIN.

El ajuste de los datos experimentales se hizo de acuerdo a un modelo bicompartimental abierto, con un proceso de absorción de primer orden, utilizando el programa PCNONLIN 9 y el método de los residuales (Gibaldi and Perrier 5) para la obtención de los estimados iniciales.

En la Tabla 2 se recogen los valores de la constante de absorción aparente (Ka) y de la vida media de absorción (t_{1/2} K_a), calculados por el PCNONLIN 9, así como los valores correspondientes a la concentración plasmática máxima (C_{max}) y el tiempo en que se alcanzan dichas concentraciones (t_{max}) obtenidos directamente de los datos experimentales medios.

En las Figuras 2, 3 y 4 se representan la mejores curvas ajustadas con el PCNONLIN 9, junto con los valores experimentales medios y su desviación típica para cada una de las dosis administradas.

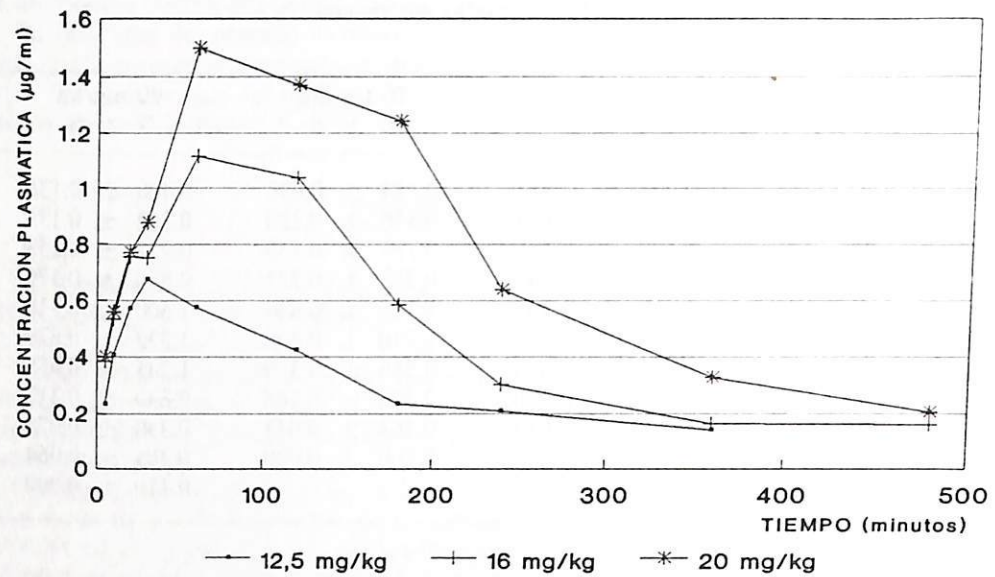


Fig. 1.- Niveles plasmáticos medios del Levamisol tras la administración de 12,5; 16 y 20 mg/kg por vía oral.

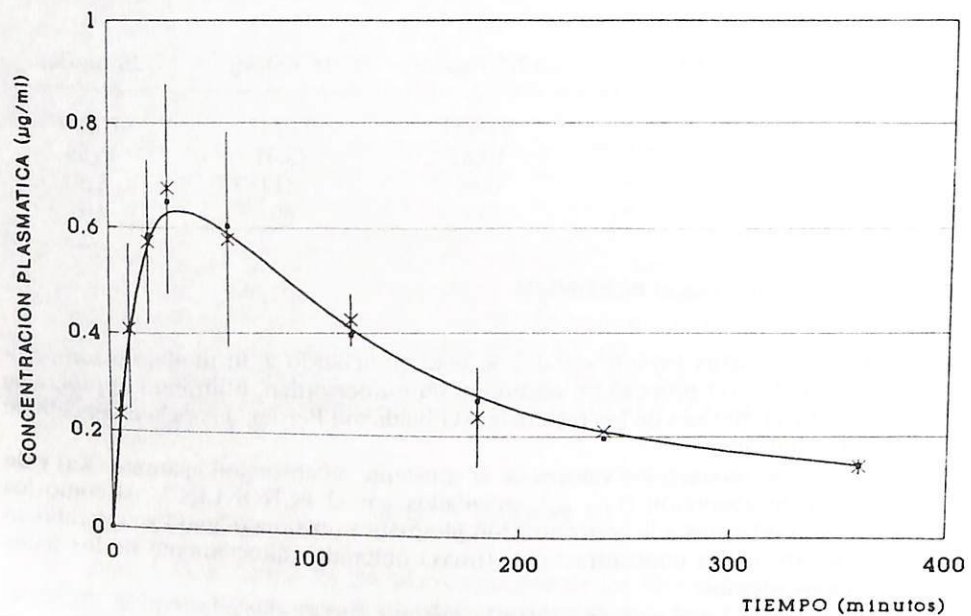


Fig. 2.- Curva de niveles plasmáticos ajustada con el PCNONLIN para la dosis de 12,5 mg/kg por vía oral. ♦{ Concentraciones experimentales medias \pm desviación típica.

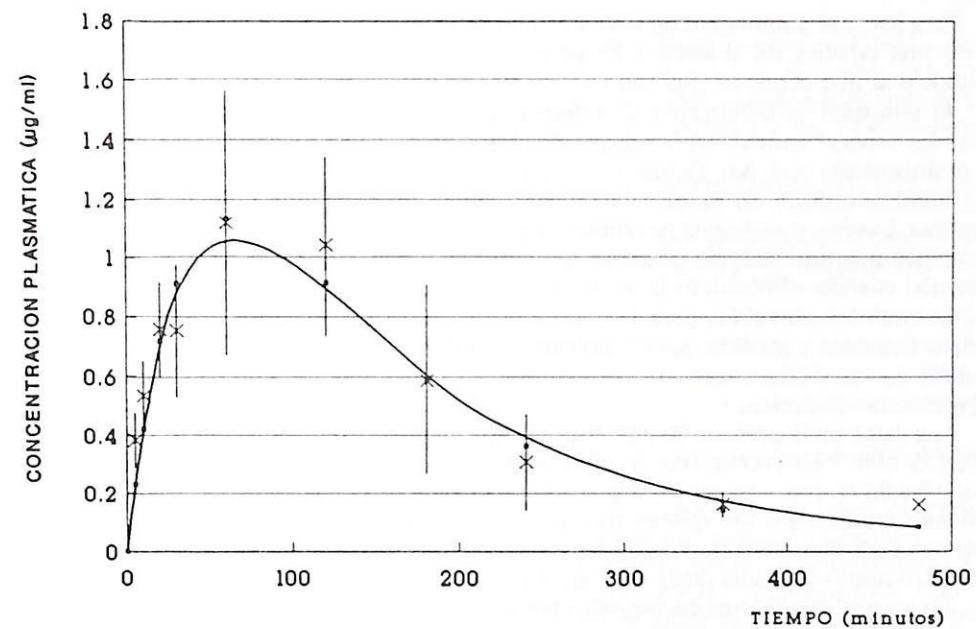


Fig. 3.- Curva de niveles plasmáticos ajustada con el PCNONLIN para la dosis de 16 mg/kg por vía oral. ♦{ Concentraciones experimentales medias \pm desviación típica.

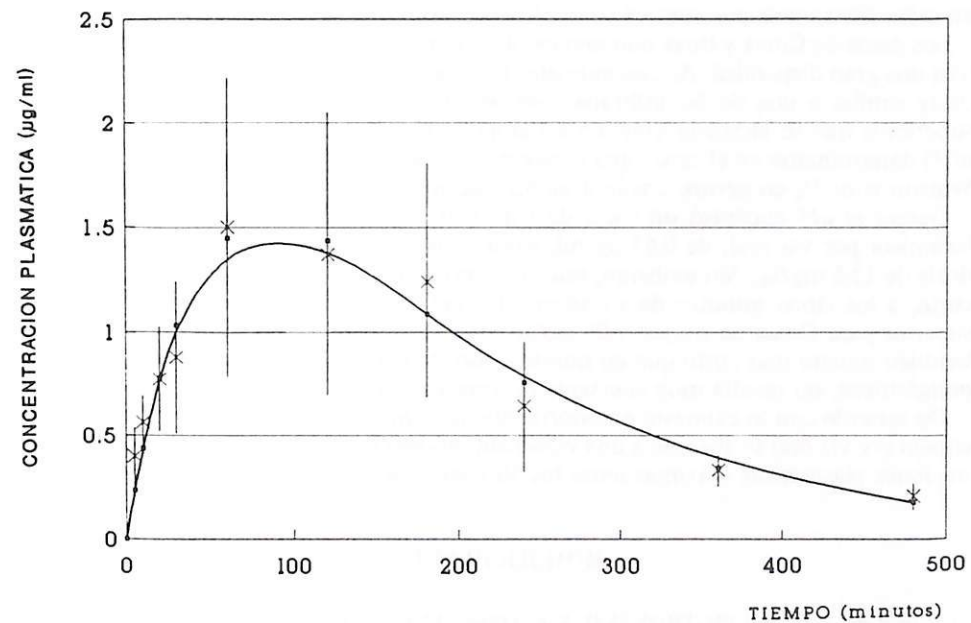


Fig. 4.- Curva de niveles plasmáticos ajustada con el PCNONLIN para la dosis de 20 mg/kg por vía oral. ♦{ Concentraciones experimentales medias \pm desviación típica.

DISCUSION

Para hacer el tratamiento de los datos elegimos un modelo bicompartimental abierto con una cinética de absorción de primer orden, después de comprobar que era el modelo al que mejor se ajustaba.

Al consultar la bibliografía se observa que existen discrepancias, incluso para la misma especie animal, en la asignación del modelo seguido por el levamisol tras la administración oral. Así, Galtier *et al.*² en las ovejas y en las cabras y Kouassi *et al.*⁶ en el hombre utilizan un modelo bicompartimental, mientras que Galtier *et al.*³ en los cerdos, Luyckx *et al.*⁸ en el hombre y Watson *et al.*¹³ en los perros, aplican un modelo monocompartimental. No obstante, Galtier *et al.*³ consideran un modelo bicompartimental cuando administran levamisol por vía intravenosa a los cerdos.

Los valores obtenidos para la constante de absorción aparente (K_a) muestran un claro descenso a medida que se incrementa la dosis, lo que sería indicativo, a nuestro modo de ver, y de acuerdo con otros autores^(1 y 7), de un fenómeno de saturación en el proceso de absorción.

Los datos bibliográficos de que disponemos, en cuanto a valores de K_a , oscilan entre $0,0155 \text{ min}^{-1}$ en perros, tras la administración de 10 mg/kg por vía oral (Watson *et al.*¹³) a $0,171 \text{ min}^{-1}$ en cerdos tras la administración de la misma dosis (Galtier *et al.*³); siendo intermedios los valores aportados para el hombre por Luyckx *et al.*⁸ ($0,0413 \text{ min}^{-1}$ para una dosis de $2,5 \text{ mg/kg}$ y $0,0335 \text{ min}^{-1}$ para 5 mg/kg) y Kouassi *et al.*⁶ ($0,0210 \text{ min}^{-1}$ para una dosis de 2 mg/kg).

En general, los valores encontrados por nosotros son similares a los de otros autores, pero obtenidos a dosis superiores.

Pensamos que los valores de K_a en nuestro caso no son muy representativos del proceso de absorción y que lo son más otros parámetros como la concentración máxima (C_{max}) y el tiempo en que alcanza dicha concentración (t_{max}), hecho señalado en otras situaciones por autores como^(1, 5 y 7), entre otros.

Los datos de C_{max} y t_{max} que hemos observado en la bibliografía consultada muestran una gran disparidad. Así, en animales monogástricos y para una dosis de 10 mg/kg (muy similar a una de las utilizadas por nosotros, $12,5 \text{ mg/kg}$) se obtienen valores superiores que se alcanzan también a tiempos más altos. En este sentido, (Galtier *et al.*³) determinaron en el cerdo una C_{max} de $1,34 \mu\text{g/ml}$ a los 60 minutos, mientras que Watson *et al.*¹³, en perros, encuentran $3,33 \mu\text{g/ml}$ a los 108 minutos.

Galtier *et al.*² encontró un valor de C_{max} en cabras que recibieron 10 mg/kg de levamisol por vía oral, de $0,63 \mu\text{g/ml}$, valor próximo al hallado por nosotros para la dosis de $12,5 \text{ mg/kg}$. Sin embargo, esta concentración la alcanzaron en un tiempo más corto, a los cinco minutos de su administración. Este mismo autor aporta un valor superior para C_{max} en ovejas, $1,06 \mu\text{g/ml}$, que se alcanzó en un tiempo, 10 minutos, también mucho más corto que en nuestro caso. No obstante, y al tratarse de animales poligástricos, no resulta muy adecuada la comparación.

De acuerdo con lo expuesto anteriormente, podemos concluir que el levamisol en el conejo por vía oral se absorbe a una velocidad moderada ya que se alcanzan las concentraciones plasmáticas máximas entre los 30 y 60 minutos de su administración.

BIBLIOGRAFIA

- 1) FIRSOV, A.A. and PIOTROVSKII, V.K. (1986). Methods for estimating drug bioavailability parameters. Part 3: Peculiarities of pharmacokinetic analysis in assessment of bioavailability. *Pharmazie*, 41, 457-465.

- 2) GALTIER, P., ESCOULA, L., CAMGULHEM R. and ALVINERIE, M. (1981). Comparative bioavailability of levamisole in non lactating ewes and goats. *Ann. Rech. Vét.*, 12 (2), 109-115.
- 3) GALTIER, P., ESCOULA, L. and ALVINERIE, M. (1983). Pharmacokinetics of [³H] levamisole in pigs after oral and intramuscular administration. *Am. J. Vet. Res.*, 44(4), 583-587.
- 4) GARCIA, J.J., DIEZ, M.J., SIERRA, M. and TERAN, M.T. Determination of levamisole by HPLC in plasma samples in the presence of heparin and pentobarbital. *J. Liq. Chromatogr.* In press.
- 5) GIBALDI, M. and PERRIER, D. (1982). Pharmacokinetics. Marcel Dekker, Inc, 2.^a ed., New York.
- 6) KOUASSI, E., CAILLE, G., LERY, L., LARIVIERE, L. and VEZINA, M. (1986). Novel assay and Pharmacokinetics of levamisole and p-hydroxy-levamisole in human plasma and urine. *Biopharm. Drug Dispos.*, 7 (1), 71-89.
- 7) LABAUNE, J.P. (1988). *Pharmacocinétique, principes fondamentaux*, Masson, 2.^a ed., Paris.
- 8) LUYCKX, M., ROUSSEAU, F., ACAZIN, M., BRUNET, C., CAZIN, J.C., HAGUENOER, J.M., DEVULDER, B., LESIEUR, I., LESIEUR, D., GOSSELIN, P., ADENIS, L., CAPPELAERE, P., and DEMAILLE, A. (1982). Pharmacokinetics of levamisole in healthy subjects and cancer patients. *Eur. J. Drug Metab. Pharm.*, 7 (4), 247-254.
- 9) METZLER, C.M. and WEINER, D.L. (1986). *PC-NONLIN User's guide*, versión VO2, Statistical Consultants: Lexington, KY.
- 10) RENOUX, G., (1980). The general immunopharmacology of levamisole. *Drugs*, 20, 89-99.
- 11) STATGRAPHICS (1986). *User's Guide*, versión 2.1. Statistical Graphics Corporation.
- 12) THIENPONT, D., VANPARIJS, O.F.J., RAEYMAEKERS, A.H.M., VANDENBERK, J., DEMOEN, P.J.A., ALLEWIJN, F.T.N., MARSBOOM, R.P.H., NIEMEGERES, C.J.E., SCHELLEKENS, K.H.L. and JANSSEN, P.A.J. (1966). Tetramisole (R 8299), a new, potent broad spectrum anthelmintic. *Nature*, 209, 1084-1086.
- 13) WATSON, A.D.J., SANGSTER, N., CHURCH, D.B. and VAN GOGH, H. (1988). Levamisole pharmacokinetics and bioavailability in dogs. *Res. Vet. Sci.*, 45, 411-413.