

## ESTUDIO FARMACOCINÉTICO COMPARATIVO DE TRICLABENDAZOLE EN BOVINOS Y OVINOS

FORMENTINI, E. A.<sup>1,9</sup>, MESTORINO, N.<sup>2,10</sup>, PESOA, J. M.<sup>3,10</sup>,

LUCAS, M.<sup>4,10</sup>, REGGIARDO, E.<sup>5,9</sup>, MARTI DIAZ, M.<sup>6,9</sup>,

REUTEMANN, S. H.<sup>7,9</sup> & ERRECALDE, J. O.<sup>8,10</sup>

### RESUMEN

Se llevó a cabo un estudio farmacocinético comparativo de triclabendazole (TCBZ) administrado por vía oral en bovinos y ovinos a la dosis de 10 mg/kg. Para la realización de este experimento se utilizó una formulación comercial de TCBZ en forma de suspensión (Biofasiolex® Biogénesis S.A. Argentina). El orden y la velocidad a la que se produce la aparición del triclabendazole sulfóxido (TCBZSO) en la circulación sistémica fueron discriminados mediante la construcción de curvas individuales de fracción remanente del fármaco en el sitio de absorción en función del tiempo según el método de Wagner-Nelson. Los perfiles de concentraciones plasmáticas de sus metabolitos; TCBZSO y triclabendazole sulfona (TCBZSO<sub>2</sub>) fueron analizados mediante el método no compartimental. El orden del proceso cinético que rige la aparición del TCBZSO en plasma puede asimilarse a un proceso de orden cero, lo que se explica por el efecto reservorio del rumen que actúa a su vez como un sistema de liberación sostenida del TCBZ hacia el tracto digestivo posterior donde es absorbido. La evaluación de los parámetros farmacocinéticos pone de manifiesto un comportamiento farmacocinético diferente de TCBZSO y TCBZSO<sub>2</sub> en bovinos y ovinos.

*Palabras clave:* triclabendazole, farmacocinética, absorción, bovinos, ovinos.

---

1.- Profesor Adjunto. Cátedra de Farmacología.

2.- Profesora Adjunta. Cátedra de Farmacología, Farmacotécnica y Terapéutica.

3, 4.- Auxiliares Diplomados. Cátedra de Farmacología, Farmacotécnica y Terapéutica.

5, 6, 7.- Alumnos de la Carrera de Medicina Veterinaria. Pasantes de asignatura. Farmacología.

8.- Profesor Titular. Cátedra de Farmacología, Farmacotécnica y Terapéutica.

9.- Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Litoral, Argentina.

10.- Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Manuscrito recibido el 17 de diciembre de 2004 y aceptado para su publicación el 11 de abril de 2005.

## SUMMARY

### Comparative pharmacokinetic study of triclabendazole in cattle and sheep.

A comparative pharmacokinetic study of triclabendazole (TCBZ) administered to cattle and sheep by oral route at the dose rate of 10 mg/kg was carried out. In the present experiment a commercial suspension of TCBZ (Biofasiolex ® Biogénesis S.A. Argentina) was employed. The order and the rate of appearance of triclabendazole sulfoxide (TCBZSO) in the systemic circulation were discriminated by construction of individual curves of fraction of unabsorbed drug versus time according to Wagner-Nelson method. The plasma concentration profiles of their metabolites; TCBZSO and triclabendazole sulfone (TCBZSO<sub>2</sub>) were analyzed by means of the non-compartmental method. The order of the kinetic process that governs the appearance of the TCBZSO in plasma was better explained as zero order process, which is explained by the reservoir effect of the rumen which acts as a biologic slow release system of TCBZ to the posterior digestive tract where it is absorbed. The evaluation of the pharmacokinetic parameters shows a different pharmacokinetic behaviour of TCBZSO and TCBZSO<sub>2</sub> between calves and sheep.

*Key words:* triclabendazole, pharmacokinetics, absorption, cattle, sheep.

## INTRODUCCIÓN

Triclabendazole (TCBZ; 6-cloro-5-(2, 3-diclorofenoxi)-2-metil-tiobenzimidazole) es un fármaco perteneciente al grupo de los benzoimidazólicos (BZDs) altamente efectivo para el tratamiento de las formas maduras e inmaduras de *Fasciola hepatica* y *Fasciola gigantica* en todas las especies rumiantes (Boray, 1983; Wolft *et al.*, 1983; Turner *et al.*, 1984; Kinabo & Bogan, 1988).

Al igual que otros compuestos BZDs, tras su administración por vía oral o intrarruminal en bovinos y ovinos TCBZ se oxida extensamente a sus correspondientes metabolitos; triclabendazole sulfóxido (TCBZSO) y triclabendazole sulfona (TCBZSO<sub>2</sub>) por acción de las enzimas hepáticas (Bogan *et al.*, 1985), por lo que no es posible detectar el TCBZ en la circulación general. Sin embargo, su metabolito, TCBZSO es activo, siendo este el responsable de la actividad fasciolicida (Hennessy *et al.*, 1987).

A diferencia de otros compuestos BZDs que solamente ejercen su acción uniéndose a la  $\beta$ -tubulina de los parásitos, TCBZ

y TCBZSO también actúan interfiriendo reacciones enzimáticas que involucran núcleos purina produciendo la disrupción de la síntesis de adenosín trifosfato (ATP) dando como resultado la muerte del parásito (Behm & Bryant, 1979; 1985).

Este mecanismo de acción determina que la actividad de TCBZ y TCBZSO esté condicionada por el tiempo durante el cual los parásitos están expuestos a los principios activos (Prichard *et al.*, 1978), por lo que el éxito de la terapéutica radica en el mantenimiento de concentraciones efectivas de TCBZ y TCBZSO en el sitio de localización de la *Fasciola hepatica* por tanto tiempo como sea posible. En este sentido juega un importante papel el rumen que actúa como un sistema biológico de liberación sostenida del TCBZ hacia el tracto digestivo posterior en donde es absorbido.

El TCBZSO se une en un 90-95% a la albúmina plasmática (Hennessy *et al.*, 1987) por la que presenta una afinidad específica y mayor que la reportada para otros agentes BZDs cuyo porcentaje de unión a proteínas plasmáticas no supera el 50% (Hennessy

*et al.*, 1985).

Este elevado porcentaje de unión a la albúmina plasmática probablemente contribuya a proteger la molécula de su biotransformación/eliminación determinando su prolongada vida media de eliminación.

El propósito del presente trabajo fue realizar un estudio farmacocinético comparativo entre bovinos y ovinos de los perfiles plasmáticos de TCBZSO y TCBZSO<sub>2</sub> obtenidos tras la administración oral de una suspensión comercial de TCBZ.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Animales experimentales y tratamiento*

Para llevar a cabo este estudio se utilizaron seis terneros de raza Holstein hembra con un peso promedio de  $150 \pm 5$  kg y seis ovinos de raza Corriedale hembra con un peso promedio de  $40 \pm 3$  kg. Al momento de la experiencia todos los animales se hallaban libres de parásitos y en perfecto estado de salud. Antes y durante la experiencia los animales se alojaron en una pradera a base de alfalfa teniendo libre acceso al agua.

Los animales recibieron un tratamiento oral con una formulación comercial de TCBZ suspensión lista para usar al 5% en ovinos y al 10% en bovinos (Biofasiolox® Biogénesis, Argentina S.A.) a la dosis de 10 mg/kg.

Las muestras de sangre en ambas especies experimentales fueron obtenidas por punción directa de la vena yugular derecha a los siguientes tiempos: pre administración de los formulados (muestra cero o control) y a las, 2, 4, 8, 12, 18, 24, 36, 48, 72, 96 y 120 h post administración en bovinos y a las 2, 4, 8, 12, 18, 24, 36, 48, 72 y 120 h post administración en ovinos. Posteriormente la sangre se colocó en tubos heparinizados. El plasma fue separado por centrifugación

y posteriormente fue almacenado a  $-20$  °C hasta el momento de su análisis.

### *Procedimiento analítico*

Triclabendazole sulfóxido y su metabolito TCBZSO<sub>2</sub> fueron extraídos del plasma y posteriormente cuantificados mediante una modificación del método reportado por Sanyal (1994), el cual consistió en la extracción de los analitos del plasma utilizando columnas de extracción de fase sólida (SPE) Strata C18 (Phenomenex) según el siguiente procedimiento: Un ml de plasma se fortificó con 0.5 µg de mebendazole (MBZ) como estándar interno. Posteriormente, las proteínas se precipitaron con acetona. Luego de centrifugar, el sobrenadante se diluyó con agua y se colocó en un equipo automatizado de extracción en fase sólida (SPE) (ASPEC, Gilson). El cartucho SPE fue acondicionado con 5 mL de metanol y 5 mL de agua. Luego de adicionar el plasma diluido, el cartucho se lavó con 10 mL de agua y posteriormente se eluyó con 2.5 mL de metanol.

El eluato se evaporó en atmósfera de nitrógeno a un volumen de aproximadamente 300 µl y luego se inyectó en el equipo de HPLC. Las condiciones operativas bajo las cuales se realizó la detección de los analitos fueron las siguientes: detector ultravioleta (Wilson) fijado en 292 nm, fase móvil compuesta por 50% acetonitrilo en 0.025M de acetato de sodio. Las condiciones de análisis fueron isocráticas.

La separación de los analitos se realizó con una columna Radial-pak C18 4 µm. El porcentaje de recuperación fue del orden del 90.94 % para TCBZO-SO y 79.87 % para TCBZ-SO<sub>2</sub> con un coeficiente de variación (CV) de 4.12 % y 5.89 % respectivamente.

La mínima concentración detectada pero no cuantificada fue de 0.015 µg/mL para TCBZSO y 0.023 µg/mL para TCBZSO<sub>2</sub>. El límite de cuantificación fue de 0.03 µg/

mL para TCBZSO y TCBZSO2 con una exactitud de 90.13% y 95.57% y con un CV de 14.39% y 9.96% respectivamente.

## ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO DE TCBZSO

### Discriminación del orden del proceso de absorción

El TCBZSO es formado por oxidación de su molécula madre el TCBZ durante su primer pasaje por hígado. Por lo tanto, no podemos referirnos a un proceso de absorción sino a un proceso de aparición de TCBZSO en la circulación general. No obstante la complejidad de este proceso y por fines didácticos utilizaremos el término absorción aparente.

El estudio del comportamiento farmacocinético de TCBZSO y TCBZSO2 se realizó asumiendo que la cinética de las dos moléculas es lineal, es decir que en cada caso el valor del clearance total ( $Cl_B$ ) de cada metabolito es independiente de la concentración plasmática ( $C_p$ ) y el valor del área bajo la curva de concentración plasmática versus tiempo ( $ABC$ ) es proporcional a la cantidad de medicamento presente en el organismo.

Para estudiar el efecto que el rumen ejerce sobre el orden y la velocidad a la que TCBZSO ingresa a la circulación general se procedió a la construcción de curvas individuales de fracción remanente de TCBZSO en el sitio de absorción en función del tiempo según el método reportado por Wagner-Nelson (1963) de la siguiente manera:

$$f_{rem\ 0-t} = 1 - f_{abs\ 0-t}$$

donde  $f_{rem\ 0-t}$  es la fracción remanente de fármaco en el sitio de absorción en función del tiempo y donde  $f_{abs\ 0-t}$  es la fracción acumulativa del fármaco ingresada al organismo en función del tiempo que fuera estimada como:

$$f_{abs\ 0-t} = \frac{X_{a\ 0-t}}{X_{a\ 0-\infty}}$$

donde  $X_{a\ 0-t}$  es la cantidad de fármaco ingresada al organismo desde tiempo cero a un tiempo determinado calculada como:

$$X_{a\ 0-\infty} = C_{p(t)} + (\lambda_z ABC_{0-t})$$

donde  $C_{p(t)}$  es la concentración plasmática a un tiempo dado,  $\lambda_z$  es la constante de primer orden aparente estimada a partir de la fase terminal,  $ABC_{0-t}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática versus tiempo acumulativa desde tiempo cero a un tiempo determinado estimada por el método trapezoidal y  $X_{a\ 0-\infty}$  es la cantidad de fármaco ingresada al organismo desde tiempo cero a infinito calculada como:

$$X_{a\ 0-\infty} = \lambda_z ABC_{0-\infty}$$

donde  $ABC_{0-\infty}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática versus tiempo desde tiempo cero a infinito calculado por el método trapezoidal. Posteriormente los valores promedios de las fracciones de fármaco remanentes en el sitio de absorción en función del tiempo estimados para bovinos y ovinos pudieron ser ajustados mediante la siguiente ecuación de primer grado:

$$C = A - B \cdot x$$

Esta ecuación puede asociarse a un proceso de orden cero, en donde  $C$  es la fracción remanente de fármaco en el sitio de absorción a un tiempo determinado,  $A$  es la cantidad total de fármaco presente en el sitio de absorción a tiempo cero expresada como unidad,  $B$  es análogo de la constante de orden cero o  $k_0$  y  $x$  es el tiempo.

### Análisis no compartimental

En una segunda instancia, el estudio farmacocinético del TCBZSO se realizó analizando los datos de concentración plasmática

mediante el método no compartimental. Los parámetros farmacocinéticos fueron calculados de manera individual y expresados como su valor promedio y desvío estándar (*DE*). El valor del *ABC* fue calculado mediante el método trapezoidal reportado por Baggot (1977) y extrapolado al infinito dividiendo la última concentración plasmática medida por el valor de  $\lambda_z$ . El tiempo medio de residencia (TMR) fue estimado de la siguiente manera:

$$\text{TMR} = \frac{ABMC_{(0-\infty)}}{ABC_{(0-\infty)}}$$

donde  $ABC_{(0-\infty)}$  es el área bajo el momento de la curva calculada mediante la metodología descrita por Baggot (1977). Considerando que la velocidad y el orden al que las concentraciones plasmáticas de TCBZSO se incrementan son asimilables a un proceso de orden cero, el tiempo medio de absorción (TMA) fue estimado como:

$$\text{TMA} = \frac{t_{\text{abs}}}{2}$$

siendo  $t_{\text{abs}}$  el tiempo observado correspondiente a la finalización del proceso de absorción y que precede al comienzo de la fase de disposición. Los valores de la máxima concentración plasmática alcanzada ( $C_{\text{max}}$ ) y  $t_{\text{abs}}$  corresponden a los observados en los datos experimentales. La semivida de disposición  $t_{1/2(d)}$  se calculó mediante la siguiente relación:

$$t_{1/2(d)} = \frac{\ln 2}{\lambda_z}$$

donde  $\ln 2$  es el logaritmo natural de dos.

El resto de los parámetros farmacocinéticos fueron calculados mediante metodología clásica siguiendo el método no compartimental.

### *Análisis farmacocinético del TCBZSO2*

El estudio farmacocinético se realizó mediante análisis no compartimental de los datos de concentración plasmática de TCBZSO2 tal como fuera descrito para TCBZSO. La relación de los valores de las *ABC* de TCBZSO2 y TCBZSO (*SO2/SO*) se realizó mediante el siguiente procedimiento:

$$\text{SO2/SO} = \frac{ABC_{0-\infty} \text{ TCBZSO2}}{ABC_{0-\infty} \text{ TCBZSO}}$$

donde los símbolos fueron explicados anteriormente.

### *Análisis estadístico*

Con el objeto de realizar el estudio estadístico mediante la aplicación de un test paramétrico, previa comparación de los valores de  $V_d/F$ ,  $Cl_B/F$ ,  $C_{\text{max}}$ , *ABC*, *ABMC*, TMR y TMA, estos fueron transformados logarítmicamente. En el caso de los datos transformados la homocedasticidad de la varianza entre los grupos fue verificada por el test de *F*.

Cuando las diferencias entre las varianzas no fueron significativas la comparación de las diferencias entre las medias de cada tratamiento se realizó empleando el test de *t* de comparación de medias o de Student de dos colas para muestras no pareadas. Los valores de  $t_{\text{abs}}$ ,  $\lambda_z$ , y  $t_{1/2(d)}$  fueron comparados sin transformación por medio del test no paramétrico de Kruskal-Wallis. Para ambos procedimientos el límite de significación (*p*) fue fijado en 0.05.

## **RESULTADOS**

Los perfiles de concentración plasmática de TCBZSO y TCBZSO2 expresados como valores promedio y *DE* obtenidos tras la ad

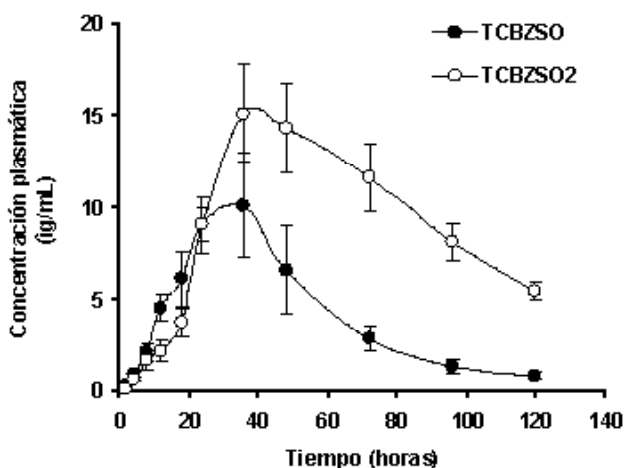


Fig. 1: Perfiles de concentración plasmática de triclabendazole sulfóxido (TCBZSO) y triclabendazole sulfona (TCBZSO2) obtenidos tras la administración de triclabendazole (TCBZ) a terneros como suspensión comercial al 10% (Biofasiolex ® Biogénesis S.A. Argentina) por vía oral a la dosis de 10 mg/kg. Las concentraciones plasmáticas están expresadas como valores promedio y desvío estándar.

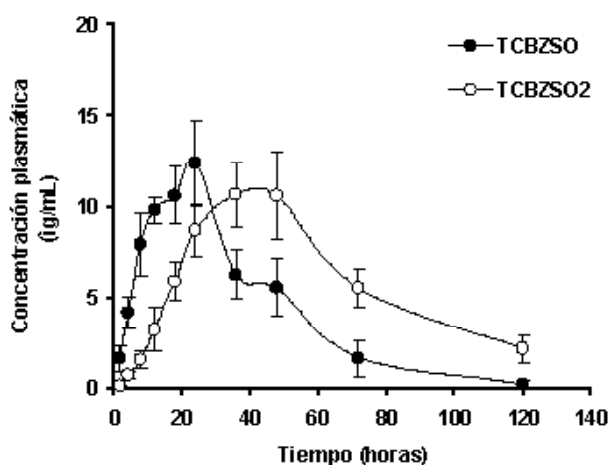


Fig. 2: Perfiles de concentración plasmática de triclabendazole sulfóxido (TCBZSO) y triclabendazole sulfona (TCBZSO2) obtenidos tras la administración de triclabendazole (TCBZ) a ovejas como suspensión comercial al 5% (Biofasiolex ® Biogénesis S. A. Argentina) por vía oral a la dosis de 10 mg/kg. Las concentraciones plasmáticas están expresadas como valores promedio y desvío estándar.

ministración de TCBZ en bovinos y ovinos se presentan en las fig. 1 y 2.

Las fracciones remanentes de TCBZSO en el sitio de absorción en función del tiempo en ambas especies expresadas como valores promedio y *DE* conjuntamente con los correspondientes valores estimados mediante una ecuación de primer grado se pueden observar en la fig. 3.

Los parámetros farmacocinéticos del TCBZSO y TCBZSO2 expresados como valores promedio y *DE* se presentan en los cuadros 1 y 2.

Para TCBZSO los valores de  $Cl_B/F$ ,  $C_{max}$  y  $ABC_{0-8}$  no presentaron diferencias entre especies mientras que el resto de los parámetros farmacocinéticos presentaron valores mayores en bovinos con excepción de  $\lambda z$  cuyo valor fue mayor en ovinos.

En el caso de TCBZSO2, solo  $t_{max}$  no presentó diferencias entre especies mientras que el resto de los parámetros farmacocinéticos presentaron valores mayores en bovinos, excepto en el caso de  $\lambda z$  en donde su valor

fue mayor en ovinos.

## DISCUSIÓN

El objeto de un estudio farmacocinético es el de lograr conocer el comportamiento de un fármaco en términos de fenómenos de absorción, distribución eliminación y excreción a partir de los datos de concentración plasmática de este y/o sus metabolitos obtenidos luego de su administración a un individuo.

A pesar que para el cálculo de los parámetros farmacocinéticos primarios tales como el  $Cl_B$  o el volumen de distribución al estado de equilibrio estacionario ( $V_{d(ss)}$ ), es absolutamente necesario contar con datos de administración intravascular del fármaco (Chan and Gibaldi, 1985), es posible a partir de estudios extravasculares obtener cierta información no solo acerca del comportamiento del fármaco en estudio sino también establecer diferencias o similitudes farmacocinéticas entre especies diferentes.

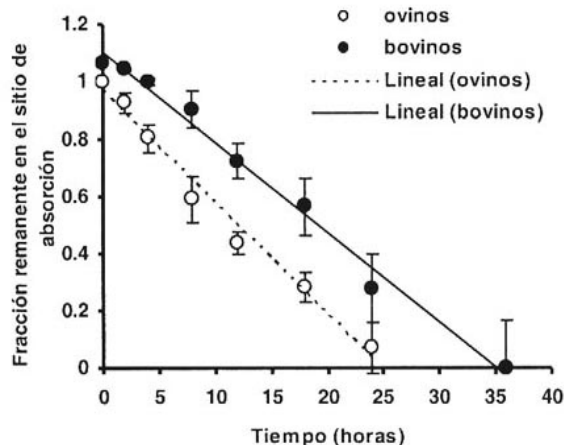


Fig. 3: Curvas de fracciones remanentes de TCBZSO en el sitio de absorción en función del tiempo en terneros (puntos negros) y ovejas (puntos blancos). Las curvas fueron construidas con el método de Wagner-Nelson y los valores se expresan como promedio y desvío estándar. Asimismo se presentan los valores estimados mediante regresión lineal para terneros (línea llena) y ovejas (línea de puntos).

*Cuadro 1: Parámetros farmacocinéticos de triclabendazole sulfóxido (TCBZSO) expresados como valores promedio y desvío estándar obtenidos tras la administración oral de triclabendazole (TCBZ) a terneros y ovejas como suspensión comercial (Biofasiolex® Biogénesis S.A. Argentina) a la dosis de 10 mg/kg.*

Triclabendazole sulfóxido (TCBZSO)		
Parámetros	Bovinos	Ovinos
$V_d/F$ (mL/kg)	678.6 ± 187.3	441.1 ± 52.8
$Cl_B/F$ (mL.kg.h <sup>-1</sup> )	19.5 ± 3.51 <sup>ns</sup>	20.2 ± 4.18 <sup>ns</sup>
$t_{abs}$ (horas)	30.0 ± 6.57	22.0 ± 3.10
$C_{max}$ (µg.mL <sup>-1</sup> )	10.7 ± 2.32 <sup>ns</sup>	12.7 ± 2.16 <sup>ns</sup>
$ABC_{0-∞}$ (µg.horas.mL <sup>-1</sup> )	525.7 ± 100.8 <sup>ns</sup>	512.7 ± 101.5 <sup>ns</sup>
$ABMC_{0-∞}$ (µg.horas <sup>2</sup> .mL <sup>-1</sup> )	26120 ± 4908	17663 ± 5740
$TMR_{0-∞}$ (horas)	49.9 ± 3.88	33.8 ± 4.68
TMA (horas)	15.0 ± 3.29	11.0 ± 1.55
$\lambda_z$ (horas <sup>-1</sup> )	0.030 ± 0.0049	0.046 ± 0.008
$t_{1/2(d)}$ (horas)	23.8 ± 3.85	15.5 ± 2.93

$V_d/F$  es el volumen aparente de distribución sobre la biodisponibilidad;  $Cl_B/F$  es el aclaramiento corporal total sobre la biodisponibilidad;  $t_{abs}$  es el tiempo estimado de absorción asociado a un proceso de absorción de orden cero;  $C_{max}$  es la máxima concentración plasmática observada;  $ABC_{(0-∞)}$  es el área bajo la curva de concentración plasmática versus tiempo extrapolada al infinito;  $ABMC_{(0-∞)}$  es el área bajo el momento de la curva extrapolada al infinito;  $TMR_{(0-∞)}$  es el tiempo medio de residencia extrapolado al infinito; TMA es el tiempo medio de absorción;  $\lambda_z$  es la constante de primer orden aparente de la fase exponencial terminal;  $t_{1/2(d)}$  es la semivida de eliminación global del organismo; (ns) indica valores cuya diferencia no es significativa.

*Cuadro 2: Parámetros farmacocinéticos de triclabendazole sulfona (TCBZSO2) expresados como valores promedio y desvío estándar obtenidos tras la administración oral de triclabendazole (TCBZ) a terneros y ovejas como suspensión comercial (Biofasiolex® Biogénesis S.A. Argentina) a la dosis de 10 mg/kg.*

Triclabendazole sulfona (TCBZSO2)		
Parámetros	Bovinos	Ovinos
$t_{max}$ (horas <sup>-1</sup> )	42.0 ± 6.6 <sup>ns</sup>	38.0 ± 9.0 <sup>ns</sup>
$C_{max}$ (µg.mL <sup>-1</sup> )	15.6 ± 2.3	11.8 ± 2.1
$ABC_{0-∞}$ (µg.horas.mL <sup>-1</sup> )	1516.7 ± 69.7	812.2 ± 120.7
$ABMC_{0-∞}$ (µg.horas <sup>2</sup> .mL <sup>-1</sup> )	150674 ± 14831	55661 ± 15924
$TMR_{0-∞}$ (horas)	99.5 ± 11.0	67.4 ± 10.7
$\lambda_z$ (horas <sup>-1</sup> )	0.0134 ± 0.0027	0.0217 ± 0.0051
$t_{1/2(d)}$ (horas)	52.9 ± 8.5	33.5 ± 8.1
SO2/SO	2.96 ± 0.48	1.63 ± 0.40

$t_{max}$  es el tiempo observado de máxima concentración plasmática; SO2/SO es la relación entre los valores de las  $ABC$  de TCBZSO y TCBZSO2; los demás símbolos ya fueron explicados al pie del cuadro 1.



### Cinética del proceso de absorción

En una primera instancia se procedió a estudiar el efecto que la vía de administración utilizada ejerció sobre el comportamiento farmacocinético de TCBZSO.

Las curvas de fracción de fármaco remanente en el sitio de absorción aparente en función del tiempo fueron construidas con el método de Wagner-Nelson (1963), el cual es un método modelo independiente.

Estas curvas (fig. 3) pusieron en evidencia dos fenómenos asociados con la administración oral. En primer lugar, los valores de las fracciones remanentes en el sitio de absorción en función del tiempo decrecen en forma proporcional al tiempo transcurrido desde la administración, por lo que en bovinos y ovinos estas curvas pueden ser adecuadamente descritas mediante una ecuación de primer grado. Este hallazgo sugiere que el orden y magnitud del proceso de absorción pueden asimilarse a un proceso de orden cero, es decir que el ingreso del TCBZSO a la circulación sistémica se explicaría como una cantidad constante de fármaco ingresado a la circulación general por intervalo de tiempo transcurrido.

Basándonos en el modelo de un compartimiento abierto con absorción de orden cero y eliminación de orden uno se deduce que el incremento de las concentraciones plasmáticas durante la fase de absorción pueden ser descritas por la siguiente ecuación:

$$C_{p(t)} = \frac{k_0}{V_d \times \lambda_z} (1 - e^{-\lambda_z t_{\text{abs}}})$$

donde  $t_{\text{abs}}$  es el tiempo durante el cual se produce el proceso de absorción,  $k_0$  es la constante de absorción de orden cero,  $V_d$  es el volumen de distribución. Los demás símbolos fueron explicados anteriormente. Tal como se deduce de la ecuación anterior, cuanto el valor de  $t_{\text{abs}}$  tiende a infinito las concentraciones plasmáticas se incrementan

hasta alcanzar un estado de equilibrio estacionario o "plateau". Finalizada la absorción se origina la fase de eliminación exponencial asociada a un proceso de orden uno aparente, por lo que el perfil de concentración plasmática en su totalidad puede ser descrito por la siguiente ecuación:

$$C_{p(t)} = \frac{k_0}{V_d \times \lambda_z} (1 - e^{-\lambda_z t_{\text{abs}}}) e^{-\lambda_z t}$$

En una administración extravascular el valor de  $k_0$  viene dado por la siguiente relación:

$$k_0 = \frac{F \times D}{t_{\text{abs}}}$$

donde  $D$  es la dosis administrada. Sin embargo en desconocimiento del valor de  $F$ , el valor de  $k_0$  viene definido por la siguiente relación:

$$\frac{k_0}{F} = \frac{D}{t_{\text{abs}}}$$

de lo que se deduce que ante la ausencia de un estudio intravascular el valor estimado de  $k_0$  es solamente un valor sobreestimado que no constituye ningún tipo de información acerca de la magnitud de la cantidad de medicamento ingresada por unidad de tiempo.

El proceso de absorción de TCBZSO involucra la disgregación de las partículas de TCBZ, la disolución de las mismas, el pasaje lento y sostenido de estos al sitio de absorción, la oxidación a TCBZSO en el hígado y el pasaje de este a la circulación sistémica. En consecuencia, en lugar de hablar de un estudio de absorción lo más adecuado es hablar de la aplicación de un modelo asociado a un proceso de orden cero para el estudio del perfil de incremento de concentraciones plasmáticas de TCBZSO. Aunque son demasiados procesos para ser explicados simplemente por una constante

de velocidad como  $k_0$ , esta se justifica por el hecho de ser la resultante de la liberación de TCBZ desde rumen en forma de una serie de pulsos que junto con los fenómenos de biotransformación presistémica dan como resultado un perfil de absorción asimilable a un ingreso a débito constante. En este caso, el hecho más importante es la evidencia del rumen como un reservorio de fármaco que actúa como un eficaz sistema fisiológico de liberación sostenida.

De lo expuesto, podemos considerar el tiempo en el cual se producen las concentraciones plasmáticas inmediatas anteriores a la fase de eliminación como el tiempo observado de duración del proceso de absorción o  $t_{abs}$ .

Tal como se presentan en el cuadro 1, este tiempo es diferente en las dos especies siendo mayor en bovinos ( $30 \pm 6.6$  h) que en ovinos ( $22 \pm 3.1$  h).

Siendo el rumen un órgano que se comporta como un sistema de liberación prolongado de los fármacos tipo BZDs, la diferencia observada en los tiempos de permanencia de estos dentro de la cavidad ruminal podrían atribuirse a diferencias en la digestibilidad de la ingesta, las que determinarían a su vez diferencias en la velocidad de pasaje de la misma a través del tubo digestivo modificando el tiempo durante el cual se produce la absorción (Knox & Steel, 1997; Oukessou & Chkounda, 1997).

### **Biodisponibilidad, volumen de distribución y clearance**

Los resultados obtenidos en este estudio permiten realizar una serie de consideraciones acerca del comportamiento farmacocinético de TCBZSO en bovinos y ovinos.

En primer término, la administración de la misma dosis en ambas especies nos permite realizar algunas inferencias acerca de  $F$  y  $Cl_B$  y  $V_d$ . Tras una administración extravas-

cular el  $Cl_B$  debe ser estimado mediante la siguiente relación:

$$Cl_B = \frac{F \times D}{ABC_{0-\infty}}$$

Esta ecuación no es un modelo sino un método de cálculo en el que la relación entre variables dependientes e independientes no es algebraica. En este caso, el  $Cl_B$  no es una variable dependiente del  $ABC$  sino que por el contrario esta es dependiente del  $Cl_B$  que en el caso de un sistema lineal se comporta como una constante. Por lo tanto el valor de  $Cl_B$  calculado tras una administración extravascular es en realidad  $Cl_B/F$  y este presentará un valor sobredimensionado si la fracción de fármaco ingresada a la circulación sistémica es menor a la unidad. Por lo tanto, si bien los valores de las  $ABC_{0-\infty}$  no presentaron diferencias entre especies y las dosis administradas fueron idénticas, el desconocimiento del valor de  $F$  determina el desconocimiento del valor real del  $Cl_B$  y que la igualdad de los valores de las  $ABC$  no pueda ser considerada como una idéntica cantidad de TCBZSO ingresada a la circulación sistémica.

Idéntica consideración debe hacerse con el valor del  $V_d$ , el cual al ser estimado en un experimento extravascular es homólogo al volumen de área o  $V_{d(área)}$ , si tomamos en consideración el método de cálculo:

$$V_d = \frac{F \times D}{ABC_{0-\infty} \times \lambda_z}$$

En el caso de un estudio extravascular las diferencias halladas entre los valores de  $V_d$  pueden ser debidas tanto a diferencias entre; a) -los valores  $F$ , b)-diferencias entre los volúmenes de líquidos corporales, c)- diferencias en el patrón de distribución del TCBZSO en los líquidos y tejidos corporales de ambas especies y d)- diferencias entre especies de la capacidad de TCBZSO

de difundir a través de las membranas biológicas.

En el caso de un estudio extravascular y en desconocimiento del valor de  $F$ , el valor estimado de  $V_d$  es un valor que se corresponde con la relación;  $V_d/F$ , lo que origina un valor sobredimensionado de  $V_d$  si el valor de  $F$  es menor a la unidad.

Con respecto a la variabilidad del valor de  $F$ , toda administración de un agente BZD en forma de suspensión por vía digestiva permite inferir la pérdida de una fracción de la dosis administrada ya sea por eliminación de partículas sin disolución, por eliminación de moléculas adsorbidas al material particulado de la dieta (Hennessy *et al.*, 1994) y debidas a la formación irreversible de metabolitos inactivos tanto a nivel líquidos digestivos (Lanusse *et al.*, 1991), como del hígado (Hennessy *et al.*, 1987).

A su vez el valor de  $F$  puede ser disminuido por un aumento en la velocidad del pasaje de la ingesta, lo que acorta el tiempo para que las moléculas disponibles puedan ser absorbidas (Knox, and Steel, 1997; Oukessou and Chkounda, 1997).

Con respecto al volumen de los líquidos corporales, el volumen del agua corporal en general y el de los líquidos presentes en el tubo digestivo en particular aumentan en forma casi proporcional al peso corporal, por lo que los mencionados volúmenes son expresados generalmente como porcentaje de peso corporal (Baggot, 1977), de manera que tanto para bovinos como para ovinos estos volúmenes normalizados por el peso corporal no deberían presentar diferencias entre sí.

Aunque se podría suponer la existencia de diferencias en el patrón de distribución del fármaco en los líquidos corporales, en el caso de las especies rumiantes el volumen de los líquidos presentes en las distintas secciones del tubo digestivo representan

alrededor del 19.7% del peso corporal, lo que constituye aproximadamente 30L en un ternero de 150kg y 9L en una oveja de 50kg. Este hecho más el menor valor de pH de los líquidos del tubo digestivo con respecto al pH sanguíneo generan un gradiente de pH que en el caso de las bases débiles como en el caso de los BZDs dan lugar a un fenómeno de atrapamiento iónico (Baggot, 1977), lo que en última instancia determina que una gran fracción del fármaco presente en el organismo se encuentre en el tubo digestivo originando elevados valores de  $V_d$ .

No obstante lo anterior, no se han reportado diferencias significativas entre las especies bovina y ovina en los valores de pH entre plasma y los distintos segmentos del tubo digestivo como para inferir un diferente patrón de distribución de TCBZSO. Igualmente la hipótesis de que TCBZSO presente diferencias en su patrón de difusión a través de membranas biológicas en especies filogenéticamente tan cercanas como en el caso de bovinos y ovinos es poco sustentable. De lo anterior podemos inferir que las diferencias halladas en los valores de  $V_d$  del TCBZSO podrían ser atribuidas a diferencias en los valores de  $F$ .

#### ***Máxima concentración plasmática observada y tiempo estimado de absorción***

Respecto de la máxima concentración plasmática observada ( $C_{max}$ ), cuando la velocidad de absorción es asimilable a un proceso de orden cero, este parámetro no tiene el mismo significado que durante un proceso de absorción de orden uno aparente. En el último caso, el valor de  $C_{max}$  sería proporcional a la cantidad de fármaco ingresado a la circulación general y el valor de su tiempo de aparición o  $t_{max}$  sería inversamente proporcional a la velocidad de absorción.

En un proceso de absorción de orden

cero, el perfil plasmático se caracteriza por describir una parábola hasta el momento en que finaliza la absorción que a los efectos denominamos tiempo de absorción aparente o  $t_{\text{abs}}$ . Como consecuencia, las concentraciones plasmáticas tienden a alcanzar un estado de equilibrio estacionario ( $C_{\text{p(ss)}}$ ), por lo que el valor de  $C_{\text{max}}$  durante un proceso de absorción de orden cero corresponde a un valor extremo mayor dentro de una serie de valores similares, los que determinan la amplitud de la dispersión de la  $C_{\text{p(ss)}}$ . De esta manera el  $t_{\text{max}}$  observado no puede ser relacionado con la velocidad a la que se lleva a cabo la absorción, debido a que aún en un estado de equilibrio estacionario las concentraciones plasmáticas presentan fluctuaciones debidas tanto a errores en la determinación analítica de las concentraciones plasmáticas como de variaciones en la magnitud de los procesos fisiológicos involucrados en la disposición del fármaco, por lo que en este caso el valor de  $t_{\text{max}}$  observado no debe ser considerado como sinónimo de  $t_{\text{abs}}$ . Este último debe corresponder al tiempo en el cual se produce la concentración plasmática inmediata anterior al comienzo de la fase de eliminación de orden uno aparente.

### Capacidad de depuración

La capacidad de un organismo para eliminar un medicamento se expresa a través del valor del  $Cl_{\text{B}}$ , el que debido a su bidimensionalidad (volumen/tiempo) sólo puede ser interpretado a través del valor del coeficiente de extracción general ( $CE$ ) que se define como la fracción del débito cardíaco ( $Q$ ) que es depurada del medicamento por unidad de tiempo.

El  $Cl_{\text{B}}$  es la resultante de la eliminación del medicamento tanto por la vía hepática y renal, asimismo como la biotransformación en diferentes tejidos y fluidos biológicos y

otras formas posibles de eliminación como saliva, lágrimas, sudor entre otras. De manera que el  $Cl_{\text{B}}$  representa la sumatoria de todos los procesos de eliminación parciales.

El valor del  $CE$ , se estima a partir de la relación entre el  $Cl_{\text{B}}$  y el valor de  $Q$  estimado como:  $186 \cdot w^{-0.19}$  donde  $w$  es el peso corporal expresado en kg (Gibbons *et al.*, 1988).

Los valores promedios de los  $CE$  calculados en este estudio fueron de 0.45% y 0.38% para bovinos y ovinos respectivamente, indicando que solamente esos porcentajes del débito cardíaco fueron depurados de TCBZSO por unidad de tiempo (h) en ambas especies.

Si tomamos en consideración que el valor del  $Cl_{\text{B}}$  estimado en este estudio es un valor sobredimensionado por  $F$  ( $Cl_{\text{B}}/F$ ), entonces el valor del  $CE$  también representa un valor sobredimensionado ( $CE/F$ ). Esto nos indica que los verdaderos valores de  $CE$  en ambas especies serían menores a los estimados aquí, lo que nos sugiere una muy baja capacidad del organismo de ambas especies para eliminar TCBZSO.

Dado el desconocimiento del valor de  $F$  no es posible establecer una comparación lineal entre los valores de  $CE$  para poder determinar una diferencia entre especies, pero podemos tomar en consideración la menor velocidad de eliminación desde el organismo o  $\lambda z$  en bovinos ( $0.030 \text{ h}^{-1}$ ) con respecto a ovinos ( $0.046 \text{ h}^{-1}$ ) y las diferencias halladas en los parámetros farmacocinéticos del TCBZSO2 (Cuadro 2), en donde un mayor valor de la relación  $S02/S0$  en bovinos ( $2.96 \pm 0.48$ ) con respecto a ovinos ( $1.63 \pm 0.40$ ) indicaría una mayor capacidad de formación de TCBZSO2 en los primeros, lo que se relacionaría con una más rápida desaparición de TCBZSO de la circulación general en esta especie con respecto a ovinos.

### Comportamiento farmacocinético y eficacia

¿Que relación hay entre comportamiento farmacocinético y eficacia? Esta pregunta surge como una necesidad lógica ante la generalización del uso de la biodisponibilidad relativa como un parámetro robusto para determinar igualdad de comportamiento farmacocinético e igualdad de eficacia entre especies.

Sin embargo, ante el desconocimiento del valor de  $F$ , idénticos valores de  $ABC$  no pueden ser interpretados como igual cantidad de TCBZSO presente en el organismo.

En términos generales, se asume que los niveles de  $C_p$  guardan una relación lineal con la cantidad de fármaco en el organismo y con los niveles de concentración en el sitio de acción del medicamento ( $C$ ), sin embargo estas relaciones raramente son 1:1. No obstante la relación lineal entre  $C_p$  y  $C$  no implica una relación directa entre  $C_p$  y eficacia. En este sentido, la respuesta del medicamento en términos de eficacia es una respuesta no lineal con respecto a  $C$ , tal como lo explica el modelo de Hill o también llamado modelo sigmoideo de efecto máximo:

$$E(t) = \frac{E_{\max} \times C^h(t)}{EC_{50}^h + C^h(t)}$$

En donde  $E(t)$  es el efecto a un tiempo determinado,  $E_{\max}$  es el efecto máximo,  $C(t)$  es la concentración de fármaco en el sitio de acción a un tiempo determinado,  $EC_{50}$  es la concentración plasmática con la cual se logra el 50% del efecto máximo, y  $h$  es el coeficiente de Hill.

Tal como se deduce del modelo, se trata de una función hiperbólica entre  $E$  y  $C$  y solo es lineal cuando  $C$  es inferior a  $EC_{50}$ . Asimismo se deduce que cuando  $C$  es mayor que  $EC_{50}$ , entonces,  $E_{\max}$  tiende a ser constante e independiente de  $C$ .

Un elemento que complica la interpretación entre  $C$  de fármaco y  $E$  es que hasta el

momento no se disponen de datos contundentes acerca de los valores de  $EC_{50}$  y  $E_{\max}$  para el tratamiento de *Fasciola hepatica*.

Esto nos permite inferir en primer término que no se puede extrapolar el comportamiento farmacocinético de TCBZSO de una especie animal a otra aunque como en este caso se trate de especies emparentadas filogenéticamente.

En segundo lugar, ya que la formulación ha demostrado previamente su eficacia en ambas especies, se debe considerar que el disímil comportamiento farmacocinético entre estas no permite realizar una asociación directa entre perfil farmacocinético y eficacia.

Lo anterior nos demuestra que si solamente contáramos con los datos de eficacia en bovinos, el disímil perfil plasmático de TCBZSO en bovinos y ovinos no nos aportaría elementos de juicio suficientes para afirmar la misma eficacia en ovinos.

## CONSIDERACIONES FINALES

Cuando se realiza un estudio farmacocinético comparativo se asumen de antemano ciertos supuestos básicos en base a los cuales se fundamenta el procedimiento a realizar y que constituyen los límites de la teoría de la disciplina que se aplica.

En este estudio, asumimos que la cinética de TCBZSO y TCBZSO2 obedecen a una cinética lineal. En nuestro caso, aunque el ingreso de TCBZSO al organismo puede ser explicado por un proceso de orden cero, el  $ABC$  resultante de la fase de absorción guarda relación lineal con la cantidad de TCBZSO ingresada, por lo tanto estamos ante un sistema farmacocinético lineal. Estos supuestos básicos son los que nos permiten aplicar el método no compartimental, a la vez que nos permiten inferir una relación

lineal entre  $C_p$  y  $C$ .

Si consideramos que tanto los volúmenes de líquidos corporales normalizados por el peso corporal y que la capacidad del TCBZSO para difundir a través de membranas biológicas no debería presentar diferencias entre las especies, entonces podríamos inferir que TCBZSO podría presentar en estas volúmenes de distribución similares. En base a lo expuesto y tomando en consideración que el grado de exposición óptima de los parásitos se hallaría a mitad de camino entre la concentración máxima y la concentración media obtenidas (Hennessy, 1994), entonces observando las figs. 1 y 2 podríamos inferir que el período de exposición efectiva sería similar en ambas especies explicando así la idéntica eficacia de la formulación.

En conclusión, se debe tener presente que un estudio farmacocinético comparativo entre dos especies solo puede realizarse de una manera objetiva en presencia de datos de administración intravenosa. No obstante es posible obtener cierta información a partir de una adecuada interpretación de los parámetros farmacocinéticos obtenidos tras administración extravascular del fármaco.

En una primera instancia se puso de manifiesto el efecto de reservorio fisiológico y de sistema biológico de lenta liberación del rumen, lo que determinó un perfil de ingreso al organismo asimilable a un proceso de orden cero.

En segundo lugar se pone de relieve lo inconveniente de realizar la extrapolación del comportamiento farmacocinético de una especie a otra, aunque como en este caso se hallen emparentadas filogenéticamente.

Por último se debe considerar la ausencia de relación lineal entre  $C$  y  $E$  por lo que en ausencia de los valores de  $EC_{50}$  y  $E_{max}$  impide realizar una extrapolación entre la eficacia asociada a un perfil plasmático observado en una especie con respecto a otra.

Lo expresado se evidencia con los resultados obtenidos en el presente estudio en donde tomando solamente como base la eficacia de TCBZSO en bovinos no podría asumirse una idéntica eficacia en ovinos por la mera comparación de los perfiles de concentración plasmática obtenidos, ya que estos son diferentes en las dos especies.

## BIBLIOGRAFIA

- BAGGOT, J.** 1977. *Principles of Drugs Disposition in Domestic Animals*. W.B. Saunders Co. Philadelphia.
- BEHM, C.A. & C. BRYANT.** 1979. Anthelmintic action - a metabolic approach. *Veterinary Parasitology*, 5, 39-49.
- BEHM, C.A. & C. BRYANT.** 1985. The modes of action of some modern anthelmintics. In *Resistance in Nematodes to Anthelmintic Drugs*. Eds Anderson, N. & Waller, P.J. CSIRO Division of Animal Health, Glebe, NSW.
- BOGAN, J. A. MAHAMMED ALI N.A.K. & G. FORMICA.** 1985. Pharmacokinetics studies with triclabendazole/fenbendazole combination in sheep and cattle. *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology*, Rio de Janeiro, Abstracts, 165, 38.
- BORAY, J. C.** 1983. Treatment of immature and mature *Fasciola hepatica* infections in sheep with triclabendazole. *Veterinary Record*, 113, 315-317.
- CHAN, K. K. H. & M. GIBALDI.** 1985. Assessment of drug absorption after oral administration. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 74, 388-393.
- GIBBONS, G.; M. POKRAS & C. SEDWICK.** 1988. Allometric scaling in veterinary medicine. *Australian Veterinary Practitioner*, 18, 160-164.
- HENNESSY, D. R.** 1994. The disposition of anti-

- parasitic drugs in relation to the development of resistance by parasites of livestock. *Acta Tropica*, 56, 125-141.
- HENNESSY, D. R.; E. LACEY; R. K. PRICHARD & J. W. STEEL.** 1985. Potentiation of anthelmintic activity of oxfendazole by parbendazole. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 8, 270-275.
- HENNESSY, D. R.; E. LACEY; J. W. STEEL & R. K. PRICHARD.** 1987. The kinetics of triclabendazole disposition in sheep. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 10, 64-72.
- HENNESSY, D. R.; D. N. ALI & S. TREMAIN.** 1994. The partition and fate of soluble and digesta particulate associated oxfendazole and its metabolites in the gastrointestinal tract of sheep. *International Journal of Parasitology*. 24, 327-333.
- KINABO, L. D. B. & J. A. BOGAN.** 1988. Pharmacokinetics and efficacy of triclabendazole in goats with induced fasciolosis. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 11, 254-259.
- KNOX, M. & J. STEEL.** 1997. Effects of diet and species on the pharmacokinetics of febendazole in cattle. *Veterinary Research Communications*. 21, 37-43.
- LANUSSE, C.; B. NARE; L. GASCON & R. PRICHARD.** 1991. Bioconversion of netobimin pro-drug by gastrointestinal fluids of ruminants. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*. 17, 121-128.
- OUKESSOU, M. & S. CHKOUNDA.** 1997. Effect of diet variations on the kinetic disposition of oxfendazole in sheep. *International Journal for Parasitology*. 27, 1347-1354.
- PRICHARD, R. K.; D. R. HENNESSY & J. W. STEEL.** 1978. Prolonged administration: a new concept for increasing spectrum and effectiveness of anthelmintics. *Veterinary Parasitology*, 4, 309-315.
- SANYAL, P.** 1994. Pharmacokinetic study of triclabendazole in sheep and goat using a HPLC method. *Indian Journal of pharmacology*, 26: 200-203
- TURNER, K.; J. ARMOUR & J. R. RICHARDS.** 1984. Anthelmintic efficacy of triclabendazole against *Fasciola hepatica* in sheep. *Veterinary Record*, 114, 41-42.
- WAGNER, J. & E. NELSON.** 1963. Per cent absorbed versus time from blood levels and urinary excretion. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 52, 610-611.
- WOLFF, K.; J. ECKERT; G. SCNEITER & H. LUTZ.** 1983. Efficacy of triclabendazole against *Fasciola hepatica* in sheep and goat. *Veterinary Parasitology*, 13, 145-150.