

Influenza del succo di pompelmo liofilizzato sulla somministrazione orale di tramadolo in cani Beagle

RIASSUNTO

Introduzione - Il tramadolo è un analgesico ad azione centrale estesamente metabolizzato negli animali. La sua azione analgesica deriva principalmente dal metabolita M1, che si ritrova solo in modeste quantità nei cani. Il succo di pompelmo è in grado di influenzare la farmacocinetica di numerosi farmaci sia nell'animale che nell'uomo.

Obiettivo - Valutare la farmacocinetica del tramadolo e dei suoi principali metaboliti, dopo singola somministrazione orale di tramadolo e dopo co-somministrazione di tramadolo e succo di pompelmo liofilizzato.

Materiali e metodi - In uno studio cross-over sono stati utilizzati 6 cani Beagle trattati con tramadolo (5 mg/kg) e successivamente con tramadolo (5 mg/kg) più succo di pompelmo liofilizzato (10 g).

Risultati - Le curve di concentrazione plasmatica vs tempo, relative al tramadolo mostrano differenze significative nelle prime quattro ore dalla somministrazione dei due diversi trattamenti. La C_{max} viene raggiunta a 1,33 ore, in seguito alla somministrazione di tramadolo, ed a 1,70 ore in seguito alla co-somministrazione con succo di pompelmo liofilizzato. M1 raggiunge la C_{max} rispettivamente dopo 1,36 e 0,86 ore a seguito del trattamento con tramadolo e tramadolo più succo di pompelmo liofilizzato. M2 e M5 non mostrano differenze significative in seguito alle due diverse somministrazioni.

Discussione - Il succo di pompelmo liofilizzato ha influenzato le concentrazioni plasmatiche di M1, che sono però rimaste notevolmente inferiori a quelle riportate nell'uomo.

INTRODUZIONE

Il tramadolo (T) è un analgesico oppioide ad azione centrale utilizzato da oltre venti anni nella terapia del dolore in medicina umana.¹ Questo farmaco è caratterizzato sia da una buona azione analgesica che dalla mancanza degli effetti collaterali tipici dei farmaci oppioidi. Possiede un duplice meccanismo d'azione con il coinvolgimento di una componente oppioide e una non oppioide:² mostra una debole affinità per i recettori degli oppioidi mu (responsabili dell'analgesia sovraspinale, depressione respiratoria, diminuzione attività gastro-intestinale, euforia e miosi) e delta (responsabili della diminuzione del transito intestinale e depressione del sistema immunitario) e una debolissima affinità per il sottotipo kappa (responsabili dell'analgesia a livello spinale, miosi, depressione respiratoria e disforia). Inoltre interferisce con il rilascio neuronale e il re-uptake di serotonina e noradrenalina, neurotrasmettitori coinvolti nell'effetto antinocicettivo a livello delle vie inibitorie discendenti.² Il farmaco ha un basso potenziale d'abuso e non possiede rilevanti effetti avversi a livello respiratorio o cardiovascolare e crea scarsa dipendenza;³ ha un'azione antitussiva e una leggera attività sulla motilità gastrointestinale.⁴ Tutte queste caratteristiche lo rendono un farmaco ben tollerato con bassa incidenza di effetti collaterali nell'uomo.^{5,6,7}

Negli ultimi anni il trattamento del dolore cronico sta acquistando una rilevante importanza in medicina veterinaria. Grazie alla sua bassa tossicità il T potrebbe rappresentare una molecola potenzialmente utile per terapie prolungate negli animali, e costituire un'alternativa all'uso dei farmaci antiinfiammatori non steroidei, ormai noti per i loro rilevanti effetti collaterali, specialmente a livello gastrico.

La farmacocinetica del T è stata ampiamente studiata nell'uomo⁸ ed in numerose specie animali come la capra,⁹ il coniglio,¹⁰ il cammello,¹¹ l'asino,¹² il cavallo,^{13,14} il gatto¹⁵ ed il cane.^{16,17,18,19,20} In particolare per il cane, sono state somministrate numerose formulazioni farmaceutiche attraverso differenti vie. Quella iniettiva endovenosa¹⁷ ed epidurale²¹, quella orale con compresse a rilascio immediato¹⁶ e sostenuto¹⁹, capsule a rilascio immediato²⁰ e supposte rettali.¹⁸ Nonostante studi recenti dimostrino che il tramadolo possa essere efficace sia da solo²² che in combinazione con altri farmaci,²³ la sua efficacia è stata messa in dubbio in quelle formulazioni che permettono al farmaco di essere metabolizzato a metaboliti inattivi. Questo suggerisce che, nel cane, tali formulazioni possano non essere efficaci nel trattamento antidolorifico come lo sono nell'uomo.^{17,18,19,20,21} Dai dati ottenuti emerge una va-

Sara Del Carlo^a, Michela Maccheroni^b,
Giuseppe Saccomanni^a, Marco Paoletti^c,
Mario Giorgi^b

^aDipartimento di Scienze Farmaceutiche,
Via Bonanno 6, 56126 Pisa

^bDipartimento di Clinica Veterinaria, Via Livornese
(lato monte) 1, San Piero a Grado, 56010 Pisa

^cAmbulatorio Veterinario Paoletti Via Beretta,
San Lorenzo alle Corti, 56123 Pisa

Il lavoro è stato presentato al congresso EAVP&T 2009 Lipsia (Germania).

"Articolo ricevuto dal Comitato di Redazione l'11/02/2010 ed accettato per la pubblicazione dopo revisione il 28/06/2010".

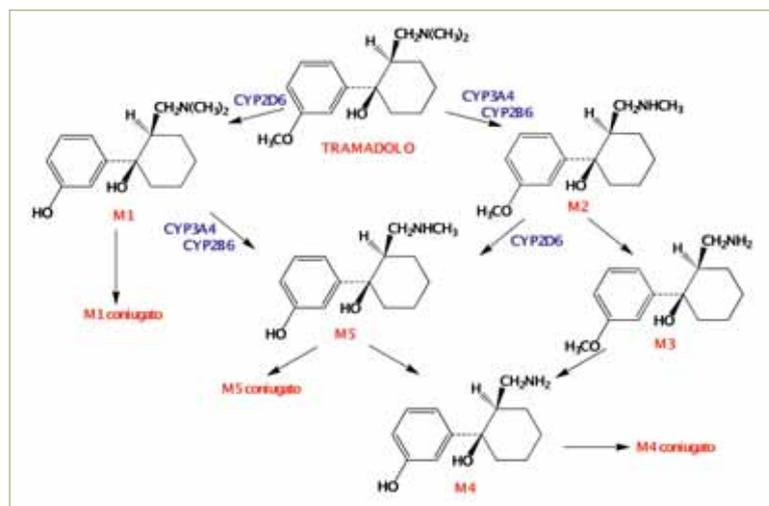


FIGURA 1 - Principale percorso metabolico del T nell'uomo.²⁵

riabilità tra le diverse specie nel metabolismo del farmaco. Il metabolismo di fase I trasforma il T in O-desmetiltramadolo (M1) e N-desmetiltramadolo (M2), che possono essere ulteriormente metabolizzati in N,N-didesmetiltramadolo (M3), N,N,O-tridesmetiltramadolo (M4), e N,O-didesmetiltramadolo (M5). M1 e M5 mostrano affinità per i recettori mu degli oppioidi superiore a T,² tuttavia, è stato osservato che la somministrazione endovenosa di M1, ma non di M5, produce un forte effetto antinocicettivo, suggerendo che M5 non penetra facilmente la barriera emato-encefalica.²⁴ Nell'uomo la metabolizzazione avviene principalmente ad opera dell'isoenzima 2D6 del citocromo P450 (CYP) portando alla formazione di M1, e ad opera delle isoforme 3A4 e 2B6 con formazione di M2 (Fig. 1). Gli stessi enzimi sono direttamente coinvolti anche nella formazione di M5.²⁵ Recentemente è stato riportato che il T è metabolizzato più velocemente a metaboliti inattivi, nella capra,⁹ nel cane^{16,17,18,19,20} e nel cavallo^{13,14} rispetto al gatto¹⁵ e all'uomo.³ In particolare il T è eliminato più velocemente nel cane rispetto all'uomo e la concentrazione plasmatica di M1 assume valori notevolmente ridotti.^{16, 17, 18, 19, 20} Il rapporto concentrazioni plasmatiche T/M1 passa da circa 1 nell'uomo a > 10 nel cane.^{16,17,18,19,20}

Il succo di pompelmo è in grado di incrementare la biodisponibilità di alcuni farmaci somministrati per via orale nell'uomo.²⁶ Numerosi studi *in vivo* ed *in vitro* hanno dimostrato che i composti furanocumarinici, costituenti del succo di pompelmo, sono responsabili dell'inibizione del CYP3A4 nel piccolo intestino dell'uomo ed animali.^{27,28,29,30,31} Altri studi hanno dimostrato che il succo di pompelmo può anche inibire la p-glicoproteina³² e interagire con il trasportatore degli anioni organici³³ influenzando rispettivamente l'efflusso e l'influsso di xenobiotici. Il succo di pompelmo è stato utilizzato anche nel cane per aumentare la bio-

disponibilità di alcuni farmaci.^{34,35,36,37} Il preciso meccanismo d'azione è ancora lontano dall'essere pienamente chiarito, come anche i singoli componenti responsabili degli effetti inibitori.³⁸ Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare se la co-somministrazione di T e succo di pompelmo liofilizzato (SPL) possa portare ad un incremento della concentrazione plasmatica di M1 (metabolita attivo).

MATERIALI E METODI

Reagenti impiegati

Il T e il sotalolo cloridrato (standard interno [SI]) puri sono stati acquistati presso la Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), mentre gli standard puri di M1, M2 e M5 sono stati acquistati presso LGC Promochem (Milano, Italy). L'acetonitrile, il metanolo, il dietilere, il diclorometano, l'1-butanolo ed il sodio dodecil solfato (SDS), il sodio diidrogeno fosfato e il tetraetilammonibromuro (TEA), tutti di grado HPLC, sono stati acquistati da Merck (Darmstadt, Germany) e da BDH (Poole, UK). L'acqua deionizzata è stata prodotta con un sistema Milli-Q Millipore Water (Millipore, MA, USA). I pompelmi gialli freschi sono stati acquistati presso un negozio locale.

Liofilizzato di succo di pompelmo (SPL)

Cinque pompelmi sono stati spremuti e il succo, travasato in un becker, è stato immediatamente addizionato con 10 g di acido ascorbico e messo in ghiaccio. Il processo di liofilizzazione è iniziato immediatamente dopo la preparazione del succo. A partire da 400 ml di spremuta di succo di pompelmo, sono state ottenute 4 compresse da 10 g, corrispondenti ciascuna a 100 ml di succo di pompelmo [la dose da somministrare è stata calcolata in rapporto alla dose somministrata nell'uomo (250 ml) nella pratica clinica].³⁹ Il liofilizzato così ottenuto è stato conservato sottovuoto e congelato a -20°C fino al suo utilizzo. Il liofilizzatore utilizzato è stato un Epsilon 2-6 D della Chris (Berlino, Germania).

Trattamento degli animali

Il protocollo sperimentale, approvato dall'Università di Pisa in accordo al DL 116/92 sul benessere animale, prevedeva il trattamento di 6 cani Beagle maschi di età compresa tra i 4 ed i 7 anni, aventi peso corporeo medio di 16 kg (range 13-19 kg). Prima del trattamento, tutti i cani sono stati sottoposti ad analisi biochimico-cliniche e visita veterinaria per accertarne il buono stato di salute. Il protocollo di sperimentazione utilizzato è stato a cross-over in 2 fasi, con singola dose di farmaco e due trattamenti. Le due fasi sono state intervallate da un periodo di wash-out di 10 giorni. Ogni

soggetto ha ricevuto una dose singola di 5 mg/kg di T (Contramal®, Grüenthal, Germania) per via orale (capsule preparate manualmente per ogni singolo cane) al mattino, dopo 12 ore di digiuno notturno, nel primo trattamento e una co-somministrazione di capsule di T (5 mg/kg), e 10 g di succo di pompelmo liofilizzato, nel secondo trattamento. Per valutare la possibile insorgenza di effetti collaterali, i cani sono stati monitorati durante tutto il periodo della sperimentazione.

Il prelievo ematico è stato eseguito mediante catetere inserito nella vena giugulare destra fissato con due punti di sutura. I campioni di sangue sono stati raccolti a 0, 5, 15, 30, 45 minuti, e 1, 1,5, 2, 4, 6, 8, 10, 12 e 24 ore. Ogni singolo campione è stato immediatamente posto all'interno di provette contenenti litio eparina, centrifugato per 30 minuti ed il plasma ottenuto è stato conservato ad una temperatura di -20°C per non più di trenta giorni prima della determinazione degli analiti.

Condizioni cromatografiche

Le concentrazioni di T, M1, M2 e M5 nel plasma sono state determinate tramite una metodica HPLC.¹³ In breve, l'apparecchio HPLC utilizzato è stato un LC Workstation Prostar (Varian, Walnut Creek, CA, USA) costituito da un sistema di pompaggio a camera di miscelazione ad alta pressione (ProStar, modello 230), detector fluorimetrico (ProStar, modello 363) e iniettore manuale Rheodyne® (modello 7725i) con loop da 20 µl. I dati sono stati processati tramite il programma LC Star Workstation (Varian Corporation). La separazione cromatografica è stata effettuata con una colonna analitica Luna C18 (150 mm x 2,1 mm, 3 µm) mantenuta ad una temperatura di 25°C. La fase mobile era costituita da acetonitrile:tampone (sodio diidrogeno fosfato 20 mM, SDS 30 mM, e TEA 15 mM portato a pH 3,9 con acido fosforico) (40:60, v/v) ad un flusso di 0,8 ml/min. Le lunghezze d'onda di eccitazione e di emissione sono state rispettivamente di 275 e 300 nm. La validazione del metodo è stata precedentemente riportata.¹³

Preparazione dei campioni

I campioni sono stati preparati ponendo in provette di polipropilene da 15 ml (Sarsedt, Verona, Italia) 1,0 ml di plasma, 100 µl di soluzione di SI (8 µg/ml) e 0,5 ml di tampone borato 0,2 M (pH 9,3). Dopo agitazione tramite vortex sono stati aggiunti 7,0 ml della miscela di estrazione costituita da dietilere:diclorometano:1-butanol (5:3:2 v/v/v). Successivamente le provette sono state agitate per 20 minuti e centrifugate per 10 minuti a 3400 rpm. La fase organica è stata trasferita in provette coniche da 15 ml in cui sono stati aggiunti 200 µl di "miscela di ritorno" (H₂SO₄ 0,01 M:acetonitrile 9:1 v/v) rendendo gli analiti nuovamente solubili in soluzione acquosa. La soluzione così ottenuta è

stata sottoposta ad agitazione per 20 minuti e successivamente centrifugata per 10 min a 3400 rpm. Infine 20 µl di fase acquosa sono stati iniettati in HPLC.

Valutazioni farmacocinetiche e statistiche

I parametri farmacocinetici relativi alle concentrazioni plasmatiche di T, M1, M2 e M5, quali la costante di velocità della fase terminale (λ_z), il tempo di emivita della fase terminale ($HI \lambda_z$), la concentrazione plasmatica massima (C_{max}), il tempo necessario al raggiungimento della C_{max} (T_{max}), l'area sotto la curva di concentrazione plasmatica (AUC), il volume di distribuzione della fase terminale (VZF), la clearance della fase terminale (CIF), l'area sotto il primo momento di curva di concentrazione plasmatica (AUMC) ed il tempo di residenza medio (MRT), sono stati ottenuti con il programma WinNonLin v. 5.2 (Pharsight Corp., Cary, NC, USA) utilizzando un modello non-compartimentale.⁴⁰ L'analisi statistica è stata sviluppata attraverso l'uso del Kruskal-Wallis test. I risultati sono presentati come media (\pm deviazione standard). Tutte le analisi sono state condotte usando il programma GraphPad InStat (GraphPad Software, Inc, La Jolla CA, USA). Negli esperimenti, le differenze sono state considerate significative se associate a livelli di probabilità più bassi di 0,05.

RISULTATI

In seguito alla somministrazione di entrambi i trattamenti nessuno dei sei cani ha mostrato l'insorgenza di effetti collaterali significativi. I profili plasmatici di T, M1, M2 e M5 vs tempo, ottenuti dopo somministrazione orale di una dose di 5 mg/kg di T e dopo la co-somministrazione orale di una dose di 5 mg/kg di T e 10 g di SPL sono mostrati in figura 2 e sono stati descritti utilizzando un modello non-compartimentale.

Le curve di concentrazione plasmatica relative al T (Fig. 2A) mostrano differenze significative nelle prime quattro ore successive alla somministrazione dei due diversi trattamenti. Il picco di concentrazione plasmatica viene raggiunto dopo circa un'ora, in seguito alla somministrazione di solo T, e dopo circa due ore, in seguito alla co-somministrazione con SPL. In corrispondenza delle dieci ore le concentrazioni raggiungono valori prossimi al limite di quantificazione del metodo (5 ng/ml), mentre sono al di sotto del limite di determinazione (0,5 ng/ml) alle 12 e 24 ore.

Maggiori differenze si osservano confrontando le curve di concentrazione plasmatica relative al metabolita M1 (Fig. 2B). Dopo co-somministrazione di T e SPL il picco di concentrazione plasmatica viene raggiunto approssimativamente dopo mezz'ora ed è caratterizzato da un valore di concen-

trazione significativamente maggiore rispetto a quello che si ottiene in seguito all'altro trattamento. Nella fase di eliminazione i valori di concentrazione tendono a diminuire rapidamente fino a non essere più quantificabili in corrispondenza delle dieci ore. Al contrario, dopo la somministrazione di solo T la concentrazione di M1 raggiunge il massimo valore ad un'ora e assume valori al di sotto del limite di quantificazione in corrispondenza delle dodici ore.

In figura 2C e 2D sono riportati i profili plasmatici rispettivamente di M2 e M5. Per entrambi i metaboliti le curve di concentrazione plasmatica, ottenute in seguito alle due diverse somministrazioni, sono all'incirca sovrapponibili.

I dati farmacocinetici del T e di M1, M2 e M5 sono riportati rispettivamente in tabella 1 e 2 e sono espressi come media \pm DS. Per quanto riguarda il T (Tab. 1), alcuni parametri subiscono delle variazioni significative ($p < 0,05$). Infatti, il T_{max} passa da un valore di $1,33 \pm 0,58$ (h), dopo somministrazione di

solo T, ad un valore di $1,70 \pm 0,45$ (h) dopo co-somministrazione con SPL; analogamente il valore di C_{max} passa da $0,49 \pm 0,26$ ($\mu\text{g/ml}$) a $0,27 \pm 0,21$ ($\mu\text{g/ml}$). Infine, l'AUC diminuisce da $2,06 \pm 1,63$ a $1,30 \pm 0,46$ ($\text{h} \cdot \mu\text{g/ml}$).

Analizzando M1 (Tab. 2) emerge una variazione significativa in tutti i parametri farmacocinetici a seguito dei due trattamenti. Infine non si osservano variazioni significative dei parametri farmacocinetici relativi ad M2 e M5 (Tab. 2).

DISCUSSIONE

Negli ultimi anni è in crescente aumento lo studio volto a delineare il profilo farmacocinetico del T negli animali^{9,10,11,13,14,15,16,17,18,19,20,21,41} poiché tale farmaco è frequentemente utilizzato nella pratica clinica veterinaria. Dai dati ottenuti emerge che in numerose specie animali il T viene metabolizzato molto rapidamente, come evidenziato dai valori

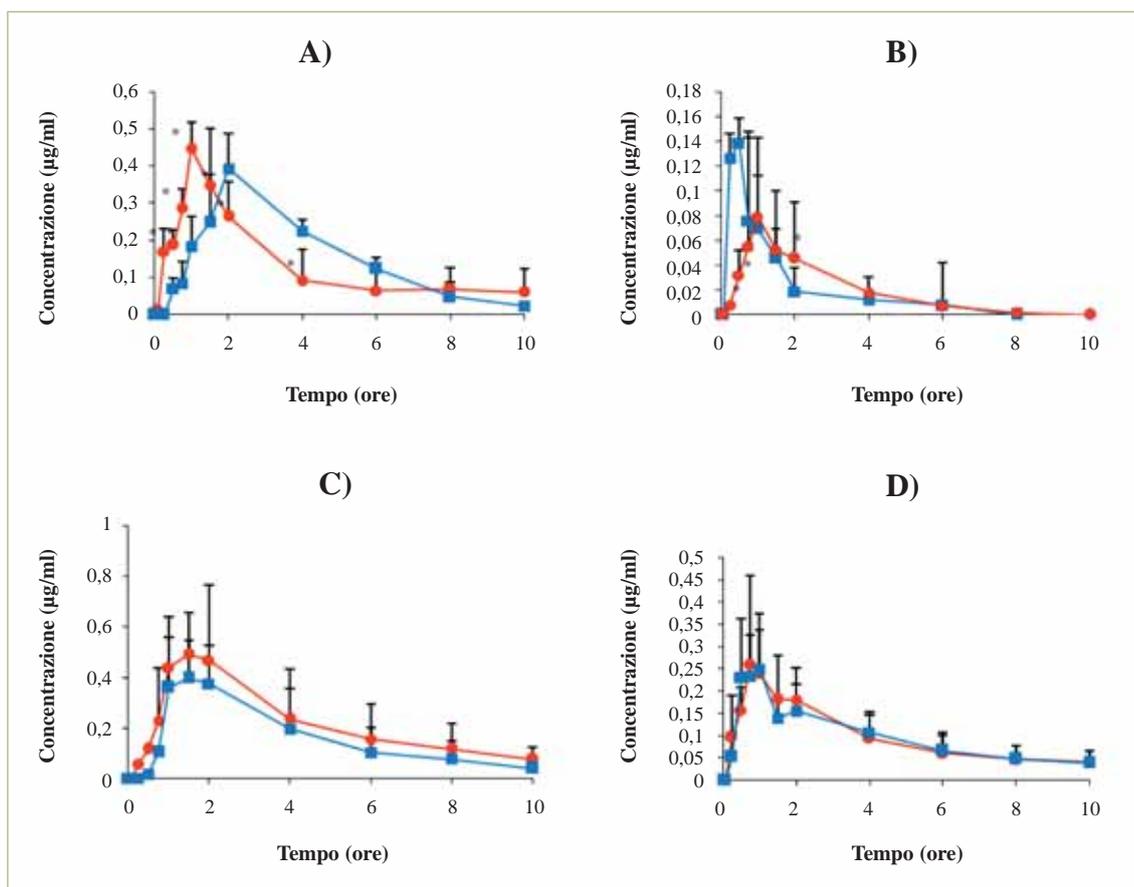


FIGURA 2 - Curve di concentrazione plasmatica vs tempo di T, M1, M2 e M5. A) Andamento della concentrazione plasmatica ($\mu\text{g/ml}$) del T vs tempo (ore), dopo (●) singola somministrazione orale di tramadolo (5 mg/kg), e (■) singola co-somministrazione orale di tramadolo (5 mg/kg) e SPL (10 g); B) andamento della concentrazione plasmatica ($\mu\text{g/ml}$) di M1 vs tempo (ore), dopo (●) singola somministrazione orale di tramadolo (5 mg/kg), e (■) singola co-somministrazione orale di tramadolo (5 mg/kg) e SPL (10 g); C) andamento della concentrazione plasmatica ($\mu\text{g/ml}$) di M2 vs tempo (ore), dopo (●) singola somministrazione orale di tramadolo (5 mg/kg), e (■) singola co-somministrazione orale di tramadolo (5 mg/kg) e SPL (10 g); D) andamento della concentrazione plasmatica ($\mu\text{g/ml}$) di M5 vs tempo (ore), dopo (●) singola somministrazione orale di tramadolo (5 mg/kg), e (■) singola co-somministrazione orale di tramadolo (5 mg/kg) e SPL (10 g), in cani Beagle (n=6).

* Valori significativi con $p < 0,05$.

del tempo di emivita significativamente inferiori rispetto a quelli riportati nell'uomo. Inoltre, anche la concentrazione del metabolita attivo M1 è estremamente bassa.^{9,13,14,17,18,19,20,21} Dal momento che tali differenze vengono rilevate anche nel cane, attualmente non è possibile delineare la reale efficacia analgesica del T in questa specie animale e la dose esatta da somministrare per ottenere l'effetto terapeutico desiderato. Nel presente studio la singola somministrazione orale di capsule di T ha confermato il profilo farmacocinetico del farmaco e dei suoi metaboliti già riportato in letteratura per dosaggi inferiori.²⁰ Ancora una volta le basse concentrazioni plasmatiche del metabolita attivo suggeriscono che l'attività analgesica del farmaco sia principalmente dovuta alla molecola parentale e non ad M1.

Nel cane il succo di pompelmo è risultato efficace nell'aumentare la biodisponibilità di alcuni farmaci sia come liofilizzato^{34,35} che come estratto secco.³⁷ Partendo dal presupposto che nel cane siano presenti le stesse vie metaboliche riscontrate nell'uomo, è stato ipotizzato che una co-somministrazione di T e SPL potesse determinare un aumento della concentrazione plasmatica di M1 mediante l'inibizione del CYP 3A e favorisse la biotrasformazione del farmaco ad opera del CYP 2D (Fig.1). Il succo di pompelmo è dimostrato avere nell'uomo un'attività inibitoria nei confronti del CYP P450 3A intestinale,^{27,28,29,30,31} ma anche di interferire con la p-glicoproteina³² e con il trasportatore degli anioni organici.³³ Nel cane è stato dimostrato interferire con la biodisponibilità della ciclosporina,^{35,37} diazepam³⁶ e praziquantel³⁴ senza che l'esatto meccanismo d'azione sia stato riportato.

Il SPL ha diminuito la biodisponibilità del T, la sua concentrazione massima e ha ritardato l'assorbimento del farmaco. Se da un lato c'è stato un aumento della C_{max} di M1 dopo somministrazione

con SPL (effetto ipotizzato), dall'altro il suo tempo di emivita e l'AUC sono risultati ridotti (effetto imprevisto). Quest'ultimo effetto risulta comunque ancora da chiarire attraverso futuri studi specifici. Nonostante il valore della C_{max} di M1 sia raddoppiato, le concentrazioni di M2 e M5 sono rimaste invariate dopo entrambi i trattamenti.

I valori delle concentrazioni plasmatica minima efficace (CME) nell'uomo di T e M1 sono risultati ri-

TABELLA 1
Valori dei parametri farmacocinetici medi \pm DS relativi al T ottenuti dopo somministrazione di tramadolo (5 mg/kg) e dopo co-somministrazione di tramadolo (5 mg/kg) e SPL (10 g) in cani Beagle (n=6)

	T	T + SPL
Parametri		
R ²	0,90 \pm 0,07	0,97 \pm 0,02
λz (1/h)	0,43 \pm 0,22	0,52 \pm 0,19
HI λz (h)	1,90 \pm 1,00	1,45 \pm 0,42
T _{max} (h)	1,33 \pm 0,58*	1,70 \pm 0,45
C _{max} (μ g/ml)	0,49 \pm 0,26*	0,27 \pm 0,21
AUC (h- μ g/ml)	2,06 \pm 1,63*	1,30 \pm 0,46
VZF (ml/kg)	10757 \pm 8809	9235 \pm 2495
CIF (ml-kg/h)	6134 \pm 3326	4473 \pm 1418
AUMC (h-h- μ g/ml)	11,61 \pm 8,73	5,89 \pm 1,42
MRT (h)	3,76 \pm 0,98	3,35 \pm 1,42

R² = coefficiente di correlazione; λz (1/h) = costante di velocità della fase terminale; HI λz (h) = tempo di emivita della fase terminale; T_{max} (h) = tempo necessario al raggiungimento della C_{max}; C_{max} (μ g/ml) = concentrazione plasmatica massima; AUC (h- μ g/ml) = area sotto la curva di concentrazione plasmatica; VZF (ml/kg) = volume di distribuzione della fase terminale; CIF (ml-kg/h) = clearance della fase terminale; AUMC (h-h- μ g/ml) = area sotto il primo momento di curva di concentrazione plasmatica; MRT (h) = tempo di residenza medio.
*Valori significativi con p < 0,05 tra i due trattamenti.

TABELLA 2
Valori dei parametri farmacocinetici medi \pm DS relativi a M1, M2 e M5 ottenuti dopo somministrazione di tramadolo (5 mg/kg) e dopo co-somministrazione di tramadolo (5 mg/kg) e SPL (10 g) in cani Beagle (n=6)

Parametri	T			T + SPL		
	M1	M2	M5	M1	M2	M5
R ²	0,95 \pm 0,06	0,99 \pm 0,01	0,94 \pm 0,06	0,98 \pm 0,02	0,93 \pm 0,09	0,95 \pm 0,06
λz (1/h)	0,41 \pm 0,08*	0,40 \pm 0,11	0,15 \pm 0,04	0,83 \pm 0,31	0,35 \pm 0,14	0,16 \pm 0,06
HI λz (h)	1,74 \pm 0,31*	1,90 \pm 0,72	4,91 \pm 1,77	0,90 \pm 0,33	2,39 \pm 1,39	5,41 \pm 3,24
T _{max} (h)	1,36 \pm 0,88*	1,45 \pm 0,45	1,00 \pm 0,35	0,86 \pm 0,18	2,60 \pm 1,29	1,75 \pm 1,35
C _{max} (μ g/ml)	0,08 \pm 0,07*	0,52 \pm 0,35	0,25 \pm 0,10	0,13 \pm 0,08	0,34 \pm 0,18	0,23 \pm 0,12
AUC (h- μ g/ml)	0,34 \pm 0,17*	2,01 \pm 1,04	0,91 \pm 0,20	0,16 \pm 0,14	1,42 \pm 0,67	0,87 \pm 0,31

R² = coefficiente di correlazione; λz (1/h) = costante di velocità della fase terminale; HI λz (h) = tempo di emivita della fase terminale; T_{max} (h) = tempo necessario al raggiungimento della C_{max}; C_{max} (μ g/ml) = concentrazione plasmatica massima; AUC (h- μ g/ml) = area sotto la curva di concentrazione plasmatica. *Valori significativi con p < 0,05 tra i due trattamenti.

spettivamente di 100 ng/ml⁴² e 40±30 ng/ml.⁴³ Il parametro terapeutico più appropriato per stimare la durata d'azione del farmaco è il t_e (intervallo di tempo durante il quale il farmaco raggiunge concentrazioni maggiori della CME). Il trattamento con SPL ha incrementato il t_e del T da 0,16-4 a 0,75-7 ore, e ha spostato il t_e di M1 da 0,66-2,35 a 0,1-1,75 ore. Ulteriori studi dinamici sono comunque necessari per valutare se tale spostamento possa avere un effetto clinico.

In conclusione, sebbene il SPL abbia influenzato le concentrazioni di M1, queste rimangono notevolmente inferiori a quelle riportate nell'uomo³ e nel gatto.¹⁵ Questo è in accordo con l'ipotesi dell'effetto flip-flop in base al quale la velocità di conversione del T in M1 è minore rispetto alla velocità di eliminazione/biotrasformazione di M1.¹⁶ Inoltre un recente studio riporta che M1 viene ritrovato in alte concentrazioni a livello urinario prevalentemente come coniugato con acido glucuronico confermando l'ipotesi della sua rapida eliminazione.²⁰ I risultati ottenuti dal presente studio non consentono di ipotizzare una co-somministrazione di T e SPL come mezzo per raggiungere concentrazioni plasmatiche di M1 simili a quelle considerate efficaci nell'uomo.

Parole chiave

Tramadol, metaboliti, succo di pompelmo liofilizzato.

■ Effect of frozen-dried grapefruit-juice on the oral administration of tramadol in Beagle dogs

Summary

Introduction - Tramadol is a centrally acting analgesic drug largely metabolized in animal species. Its clinical response is mainly due to the M1 metabolite, poorly produced in dogs. Grapefruit-juice can affect the pharmacokinetics of different drugs in animals and human beings.

Aim - To evaluate the pharmacokinetics of tramadol and its major metabolites after both single oral administration of tramadol and co-administration of tramadol and frozen-dried grapefruit-juice.

Material and methods - A balanced cross-over study was used, involving six male Beagle dogs. They were administered with tramadol alone (5 mg/kg) and with tramadol (5 mg/kg) plus frozen-dried grapefruit-juice (10 g).

Results - The tramadol plasma concentration vs time curves showed significant differences during the first 4 hours following drug administration. C_{max} was reached at 1.33 and 1.70 hours following tramadol and tramadol plus frozen-dried grapefruit-juice treatment, respectively. M1 reached its C_{max} at 1.36 and 0.86 hours following the above mentioned treatments, respectively. M2 and M5 do not show significant differences after both administrations.

Discussion - Frozen-dried grapefruit-juice has shown to affect the plasma concentrations of M1 despite them were well below to those reported in the human.

Key words

Tramadol, metabolites, frozen-dried grapefruit-juice.

BIBLIOGRAFIA

- Shipton EA: Tramadol - present and future. *Anaesth Intensive Care* 28 (4):363-374, 2000.
- Raffa RB, Friderichs E, Reimann W, et al: Opioid and nonopioid components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an 'atypical' opioid analgesic. *J Pharmacol Exp Ther* 260 (1): 275-285, 1992.
- Grond S, Sablotzki A: Clinical pharmacology of tramadol. *Clin Pharmacokinet* 43 (13):879-923, 2004.
- Nosal'ova G, Strapkova A, Korpas J: Relationship between the antitussic and analgesic activity of substances. *Acta Physiol Hung* 77 (2):173-178, 1991.
- Raffa RB, Friderichs E, Reimann W, et al: Complementary and synergistic antinociceptive interaction between the enantiomers of tramadol. *J Pharmacol Exp Ther* 267 (1):331-340, 1993.
- Wilder-Smith CH, Bettiga A: The analgesic tramadol has minimal effect on gastrointestinal motor function. *Br J Clin Pharmacol* 43 (1):71-75, 1997.
- Scott LJ, Perry CM: Tramadol: a review of its use in perioperative pain. *Drugs* 60 (1):139-176, 2000.
- Lintz W, Erlaçin S, Frankus E, Uragg H: Biotransformation of tramadol in man and animal. *Arzneimittelforschung* 31 (11):1932-1943, 1981.
- de Sousa AB, Santos AC, Schramm SG, et al: Pharmacokinetics of tramadol and O-desmethyltramadol in goats after intravenous and oral administration. *J Vet Pharmacol Ther* 31 (1):45-51, 2008.
- Souza MJ, Greenacre CB, Cox SK: Pharmacokinetics of orally administered tramadol in domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Am J Vet Res* 69 (8):979-982, 2008.
- Elghazali M, Barezaik IM, Abdel Hadi AA, et al: The pharmacokinetics, metabolism and urinary detection time of tramadol in camels. *Vet J* 178 (2):272-277, 2008.
- Giorgi M, Del Carlo S, Sgorbini M, Saccomanni G.
- Giorgi M, Soldani G, Manera C, et al: Pharmacokinetics of tramadol and its metabolites M1, M2 and M5 in horses following intravenous, immediate release (fasted/fed) and sustained release single dose administration. *J Equine Vet Sci* 27 (11):481-488, 2007.
- Shilo Y, Britzi M, Eytan B, et al: Pharmacokinetics of tramadol in horses after intravenous, intramuscular and oral administration. *J Vet Pharmacol Ther* 31 (1):60-65, 2008.
- Pypendop BH, Ilkiw JE: Pharmacokinetics of tramadol, and its metabolite O-desmethyl-tramadol, in cats. *J Vet Pharmacol Ther* 31 (1):52-59, 2008.
- KuKanich B, Papich MG: Pharmacokinetics of tramadol and the metabolite O-desmethyltramadol in dogs. *J Vet Pharmacol Ther* 27 (4):239-246, 2004.
- McMillan CJ, Livingston A, Clark CR, et al: Pharmacokinetics of intravenous tramadol in dogs. *Can J Vet Res* 72 (4):325-331, 2008.
- Giorgi M, Del Carlo S, Saccomanni G, et al: Pharmacokinetics of tramadol and its major metabolites following rectal and intravenous administration in dogs. *N Z Vet J* 57 (3):146-152, 2009.
- Giorgi M, Saccomanni G, Lebkowska-Wieruszewska B, Kowalski C: Pharmacokinetic evaluation of tramadol and its major metabolites after single oral sustained tablet administration in the dog: a pilot study. *Vet J* 180 (2):253-255, 2009.
- Giorgi M, Del Carlo S, Saccomanni G, et al: Pharmacokinetic and urine profile of tramadol and its major metabolites following oral immediate release capsules administration in dogs. *Vet Res Commun* 33 (8):875-885, 2009.

21. Vettorato E, Zonca A, Isola M, et al: Pharmacokinetics and efficacy of intravenous and extradural tramadol in dogs. *Vet. J* 183 (3):310-315, 2010.
22. Yazbek KV, Fantoni DT: Validity of a health-related quality-of-life scale for dogs with signs of pain secondary to cancer. *J Am Vet Med Assoc.* 226 (8):1354-1358, 2005.
23. Monteiro ER, Junior AR, Assis HM, Campagnol D, Quitzan JG: Comparative study on the sedative effects of morphine, methadone, butorphanol or tramadol, in combination with acepromazine, in dogs. *Vet Anaesth Analg.* 36 (1):25-33, 2009.
24. Kögel B, Englberger W, Hennies HH, Friderichs E: Involvement of metabolites in the analgesic action of tramadol. *Proceedings 9th World Congress of Pain, Vienna, Austria, 1999*, p 523.
25. Subrahmanyam V, Renwick AB, Walters DG, et al: Identification of cytochrome P-450 isoforms responsible for cis-tramadol metabolism in human liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 29 (8):1146-1155, 2001.
26. Kane GC, Lipsky JJ: Drug-grapefruit juice interactions. *Mayo Clin Proc* 75 (9):933-942, 2000.
27. Schmiedlin-Ren P, Edwards DJ, Fitzsimmons ME, et al: Mechanisms of enhanced oral availability of CYP3A4 substrates by grapefruit constituents. Decreased enterocyte CYP3A4 concentration and mechanism-based inactivation by furanocoumarins. *Drug Metab Dispos* 25 (11):1228-1233, 1997.
28. He K, Iyer KR, Hayes RN, et al: Inactivation of cytochrome P450 3A4 by bergamottin, a component of grapefruit juice. *Chem Res Toxicol* 11 (4):252-259, 1998.
29. Guo LQ, Fukuda K, Ohta T, Yamazoe Y: Role of furanocoumarin derivatives on grapefruit juice-mediated inhibition of human CYP3A activity. *Drug Metab Dispos* 28 (7): 766-771, 2000.
30. Tassaneeyakul W, Guo LQ, Fukuda K, et al: Inhibition selectivity of grapefruit juice components on human cytochromes P450. *Arch Biochem Biophys* 378 (2):356-363, 2000.
31. Paine MF, Widmer WW, Hart HL, et al: A furanocoumarin-free grapefruit juice establishes furanocoumarins as the mediators of the grapefruit juice-felodipine interaction. *Am J Clin Nutr* 83 (5): 1097-1105, 2006.
32. Honda Y, Ushigome F, Koyabu N, et al: Effects of grapefruit juice and orange juice components on P-glycoprotein and MRP2-mediated drug efflux. *Br J Pharmacol* 143 (7):856-864, 2004.
33. Kamath AV, Yao M, Zhang Y, Chong S: Effect of fruit juices on the oral bioavailability of fexofenadine in rats. *J Pharm Sci* 94 (2):233-239, 2005.
34. Giorgi M, Meucci V, Vaccaro E, et al: Effects of liquid and freeze-dried grapefruit juice on the pharmacokinetics of praziquantel and its metabolite 4'-hydroxy-praziquantel in beagle dogs. *Pharmacol Res* 47 (1):87-92, 2003.
35. Amatori FM, Meucci V, Giusiani M, et al: Effect of grapefruit juice on the pharmacokinetics of cyclosporine in dogs. *Vet Rec* 154 (6):180-181, 2004.
36. Sahi J, Reyner EL, Bauman JN, et al: The effect of bergamottin on diazepam plasma levels and P450 enzymes in beagle dogs. *Drug Metab Dispos* 30 (2):135-140, 2002.
37. Hanley MJ, Cerundolo R, Radwanski N, Court MH: Grapefruit Juice, lyophilized grapefruit juice, and powder whole grapefruit inhibit cytochrome P450-mediated triazolam hydroxylation by beagle dog liver microsomes. *J Vet Pharmacol Ther* 33 (2):189-195, 2010.
38. Uno T, Yasui-Furukori N: Effect of grapefruit juice in relation to human pharmacokinetic study. *Curr Clin Pharmacol* 1 (2):157-161, 2006.
39. Dresser GK, Spence JD, Bailey DG: Pharmacokinetic-pharmacodynamic consequences and clinical relevance of cytochrome P450 3A4 inhibition. *Clin Pharmacokin* 38 (1):41-57, 2000.
40. Gabrielsson J, Weiner D: *Pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis: concepts and applications.* Stockholm, Sweden, Swedish Pharmaceutical Press, 2002.
41. Giorgi M, Saccomanni G, Andreoni V: Pharmacokinetics of tramadol after epidural administration in horses. *J Equine Vet Sci* 30 (1):44-46, 2010.
42. Malonne H, Sonet B, Streeb B, et al: Pharmacokinetic evaluation of a new oral sustained release dosage form of tramadol. *Br J Clin Pharmacol* 57 (3):270-278, 2004.
43. Lehmann KA, Kratzenberg U, Schroeder-Bark B, Horrichs-Haermeyer G: Postoperative patient-controlled analgesia with tramadol: analgesic efficacy and minimum effective concentrations. *Clin J Pain* 6 (3):212-220, 1990.

Janssen Animal Health
presenta:

DEXDOMITOR® 

ANTISEDAN® 

DOMITOR® 

DOMOSEDAN® 

**Questa originale
gamma di sedativi
è ora disponibile dalla
Janssen Animal Health**

 ORION
PHARMA

 JANSSEN
ANIMAL HEALTH
una divisione
Janssen-Cilag Spa

Domitor®, Dexdomitor®, Antisedan® e Domosedan®
sono sviluppati e prodotti da Orion Corporation Finland
e distribuiti da Janssen Animal Health, una divisione di Janssen-Cilag Spa