



Sveriges lantbruksuniversitet
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för Biomedicin och Folkhälsovetenskap

Butorfanol till get

Farmakokinetik efter subkutan injektion

Helena Gustafsson

Uppsala

2012

Examensarbete inom veterinärprogrammet

*ISSN 1652-8697
Examensarbete 2012:29*

Butorfanol till get

Farmakokinetik efter subkutan injektion

Helena Gustafsson

Handledare: Carina Ingvast Larsson, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, sektionen för farmakologi och toxikologi

Examinator: Pia Larsson, Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap, sektionen för farmakologi och toxikologi

*Examensarbete inom veterinärprogrammet, Uppsala 2012
Fakulteten för Veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och folkhälsovetenskap
Kurskod: EX0234, Nivå X, 30hp*

Nyckelord: butorfanol, get, farmakokinetik, subkutan administrering

*Online publication of this work: <http://epsilon.slu.se>
ISSN 1652-8697
Examensarbete 2012:29*

INNEHÅLL

Summary	6
Sammanfattning	7
Inledning.....	8
Syfte	8
Litteraturstudie	9
Nociception	9
Smärta.....	9
Smärtlindring.....	9
Opioider.....	9
Butorfanol.....	10
Farmakokinetik och effekter av butorfanol på get	10
Material och metoder	12
Djurmaterial	12
Studiedesign	12
Kemisk analys	13
Farmakokinetisk analys.....	14
Resultat.....	15
Kemisk analys	15
Farmakokinetik.....	15
Beteende	16
Diskussion	17
Farmakokinetik.....	17
Förväntad analgesi.....	18
Beteende	18
Slutsats	19
Tack.....	20
Litteraturförteckning	21

SUMMARY

Today there are no analgesic drugs approved to be used in goats. Drugs approved for use in other species are consequently being used without knowing the pharmacokinetics of these drugs in goats. The purpose of this study was to investigate the pharmacokinetics of the opioid butorphanol when given subcutaneously in goats. Subcutaneous administration might extend the half-life compared to intravenous or intramuscular administration. Eight clinically healthy, non-pregnant 6 months old female goats were used. Butorphanol, 0.2 mg/kg, or saline was given subcutaneously with a crossover design. Blood samples were taken 10 min before and 5, 15, 30, 60, 120, 240, 360, 480, 660 and 1320 min after the injection. Plasma concentrations of butorphanol were analysed with a liquid chromatography–electrospray ionization–tandem mass spectroscopy and the limit of quantification was 0.5 ng butorphanol/ml plasma. The results showed a terminal half-life of 78.6 ± 21.7 min. After 10 ± 5.3 min (T_{max}) post administration mean and median C_{max} was 199 ± 265.6 ng/ml and 56.1 ng/ml, respectively. C_{max} varied between the different goats, with a range between 30.5 and 770 ng/ml. Plasma concentrations higher than 30 ng/ml were achieved in all of the goats within 15 min. The mean plasma concentration after 60 min was 20.2 ng/ml with a range between 9.3 – 42.3 ng/ml which is in accordance with analgesic plasma levels in other species, assuming 0.2 mg/kg of butorphanol given subcutaneously would maintain analgesia in goats for about 30-60 min. If long term analgesia is required, the short half-life of butorphanol makes it less appropriate because of the short dose interval required. The wide range in plasma concentrations between different goats makes subcutaneously administration of butorphanol to goats inappropriate especially as the half-life did not increase in comparison with after intravenous or intramuscular administration. In our study, the goats showed behavioral changes such as agitation, chewing on the interior and increased bleating frequency. Studies that further investigate analgesic efficacy and behavioral changes in goats are needed.

SAMMANFATTNING

Det finns idag inget läkemedel för smärtlindring godkänt för get i Sverige. Det betyder att läkemedel utprovade för andra djurslag används utan att man vet något om farmakokinetiken hos dessa läkemedel för just get. Syftet med denna studie var att undersöka farmakokinetiken för opioiden buprenorfin vid subkutan administrering till get. Subkutan administrering kan förlänga halveringstiden jämfört med intravenös eller intramuskulär administration. I studien användes 8 kliniskt friska, icke-dräktiga getter på 6 månader. Alla 8 getter fick 0,2 mg butorfanol/kg subkutant enligt en så kallad "crossover design". Blodprov togs 10 min före samt 5, 15, 30, 60, 120, 240, 360, 480, 660 and 1320 min efter injektion av läkemedlet. Plasmakoncentrationen av butorfanol analyserades med *liquid chromatography–electrospray ionization–tandem mass spectroscopy* och lägsta nivå för kvantifiering var 0,5 ng butorfanol/ml plasma. Resultaten visade på en halveringstid på $78,6 \pm 21,7$ min. C_{max} varierade mycket mellan getterna, 30,5 ng/ml som lägst och 770 ng/ml som högst. Medelvärdet var $199 \pm 265,6$ ng/ml och medianvärdet 56,1 ng/ml, efter $10 \pm 5,3$ min (T_{max}). I studien kom alla getter upp i plasmakoncentrationer över 30 ng/ml inom 15 min. Medelplasmakoncentrationen efter 60 min var 20,2 ng/ml och låg mellan 9,3 och 42,3 ng/ml hos de olika getterna. Dessa plasmakoncentrationer har visat sig ge smärtlindring hos andra arter, vilket antyder att 0,2 mg/kg butorfanol administrerat subkutant ger smärtlindring på get i ca 30-60 min. Vid behov av längre tids smärtlindring gör den korta halveringstiden på get butorfanol olämpligt då det ger mycket kort dosintervall. Den stora variationen i plasmakoncentrationerna hos de olika getterna gör subkutan administration av butorfanol till get olämplig, speciellt eftersom halveringstiden inte ökade jämfört med intravenös eller intramuskulär administration. Getterna i vår studie visade på beteendeförändringar såsom ökad aktivitet, tuggande på inredning och ökad mängd bräkningar. Fler studier på butorfanols smärtlindrande effekt samt eventuella beteendeförändringar behövs dock.

INLEDNING

Det finns idag inga läkemedel för smärtlindring som är godkända för användning till get i Sverige. Det innebär att vid ingrepp som kräver smärtlindring samt vid smärtsamma tillstånd hos get används läkemedel godkända till andra djurslag eller till människa i enlighet med den så kallade kaskadprincipen (SJVFS 2009:84, saknr: D9). Läkemedel godkända till andra djurslag är inte utprovade till get och deras påverkan och biverkningar på get är därför oklar.

En tidigare studie av opioiden buprenorfin till get visade på en kort halveringstid ($65,9 \pm 17,4$ min) samt att getterna blev oroliga, hyperaktiva och slutade idissla (Ingvast-Larsson *et al.*, 2007). Utebliven idissling kan leda till att djuren blir tympaniska vilket är ett livshotande tillstånd för en idisslare. Därför kan buprenorfin inte anses vara ett bra val av läkemedel för smärtlindring till get under en längre tid. Buprenorfin är en opioid som är partiell agonist på μ -receptorn och antagonist på κ -receptorn (Rang *et al.*, 2007). μ -receptorn anses vara den opioidreceptor med störst analgesisk effekt men även den med störst risk för biverkningar såsom andningsdepression, eufori och excitation (Rang *et al.*, 2007, Kukanich *et Papich*, 2009). Aktivering av μ -receptorn sänker även mage-tarmmotoriken.

Butorfanol är en annan opioid som används inom veterinärmedicinen och anses framförallt vara en κ - och δ -agonist, men även en μ -antagonist (Katzung, 2001, Plumb, 2011). Aktivering av κ -receptorn anses inte ha lika stor påverkan på mage-tarmmotoriken eller orsaka eufori och excitation i samma utsträckning som aktivering av μ -receptorn. Även aktivering av δ -receptorn anses ge viss andningsdepression och nedsatt mage-tarmmotorik, men inte i lika hög grad som rena μ -agonister. Butorfanol skulle därför kunna vara ett alternativ vid behov av smärtlindring på get.

Vid behov av längre tids smärtlindring är läkemedel med kort halveringstid olämpliga då detta ger korta dosintervall. Subkutan administrering kan förlänga halveringstiden genom att absorptionen av läkemedlet tar längre tid än elimineringen (Riviere, 2009). Tidigare studier på metadon till hund har visat att subkutan giva förlänger halveringstiden från ca 4 h till ca 10 h (Ingvast-Larsson *et al.*, 2010)

Syfte

Mitt examensarbete är en del av en större studie vars syfte är att undersöka farmakokinetiken och effekter inklusive påverkan på beteendet efter subkutan administrering av butorfanol till get. Min del är att studera farmakokinetiken som ligger till grund för att fastställa dos och dosintervall.

LITTERATURSTUDIE

Nociception

Nociception innebär att skadlig perifer stimuli överförs till centrala nervsystemet (Rang *et al.*, 2007). Nociceptiv smärta orsakas av impulser i sensoriska nervfibrer med speciella receptorer, nociceptorer. Dessa aktiveras vid olika stimuli i perifer vävnad så som mekaniska, termala och mekaniska. Nociceptorer skiljer sig från andra sensoriska receptorer genom att de har högre tröskelvärde och på så sätt normalt endast aktiveras vid stimuli som kan ge vävnadsskador. De nociceptiva nervfibrerna bildar i det dorsala hornet av ryggmärgen synapser ihop med neuron som mynnar antingen i hjärnstammen eller i thalamus. Från thalamus fortsätter sedan nervimpulser via synapser till specifika delar av cortex. Opioid-peptider spelar en viktig roll för att modifiera den nociceptiva överföringen. Opioider verkar genom de olika receptorerna för dessa peptider på perifer, spinal eller supraspinal nivå.

Smärta

Smärta är en subjektiv upplevelse som inte alltid är kopplad till nociception och är svår att mäta på djur (Sjaastad *et al.*, 2003). Det är inte klarlagt hur olika arter upplever smärta. Det är också svårt att skilja beteenden som beror på smärta, från beteenden relaterade till rädsla och ilska eftersom dessa känslor, precis som smärta, utgår från det limbiska systemet i hjärnan. Smärta hos djur observeras i huvudsak med tre olika metoder: beteendeobservationer, mätning av fysiologiska parametrar såsom hjärtfrekvens, blodtryck, kroppstemperatur och andningsfrekvens, samt mätning av plasmakoncentration av faktorer som indikerar påslag av sympatiska nervsystemet som till exempel kortisol, adrenalin, noradrenalin och fria fettsyror (Radostits *et al.*, 2007). Det enklaste, billigaste och mest pålitliga av dessa är att mäta plasmakoncentrationen av kortisol. Smärta hos djur har förutom den djurskyddsmässiga aspekten flera negativa effekter som till exempel: försenad läkning orsakad av stress, ökad katabolism och nedsatt foderintag, förlängd återhämtning och viloperiod med ökad risk för postoperativa komplikationer, självskadebeteende, risk för kronisk smärta och otillräcklig respiratorisk ventilation som kan leda till respiratorisk acidosis.

Smärtlindring

Inom veterinärmedicin används vid kortvarig analgesi vanligen lokalanestetika, α_2 -agonister och opioider medan vid långtidsanalgesi är *non-steroid antiinflammatoriska läkemedel* (NSAID) vanligare (Radostits *et al.*, 2007).

Opioider

En opioid är en substans, endogen eller syntetisk, med en morfinliknande effekt som blockeras av opioid-antagonister som till exempel naloxon (Rang *et al.*, 2007). Opium utvinns ur saften från vallmoväxten *Papaver somniferum* och innehåller bland annat morfin och morfinliknande alkaloider. Människan har använt opium i årtusenden som medicin och berusningsmedel för smärtlindring, sömn och för att förhindra diarré samt för att få eufori. En

vanlig bieffekt av opioider är andningsdepression som inträffar redan vid terapeutiska doser men anses inte ha någon klinisk betydelse på friska djur (Kukanich *et Papich*, 2009).

Opioider verkar genom att binda till någon av de tre opioidreceptorerna μ , δ eller κ (Rang *et al.*, 2007). Opioidreceptorer finns i hjärnan, i dorsala hornet i ryggmärgen samt i nociceptoriska perifera nervändar. Olika opioider binder inte bara till olika receptorer utan kan också variera i sin förmåga att aktiverade olika receptorerna. Man delar in opioiderna i fyra olika kategorier med avseende på deras inverkan på receptorerna: strikta agonister, partiella agonister, både agonist-antagonister och strikta antagonister. Detta gör farmakologin för opioider komplicerad. De olika receptorerna ger analgesi på olika nivåer. Aktivering av μ -receptorn ger mycket god supraspinal analgesi, god spinal och perifer analgesi, δ -receptorn ger framförallt god spinal analgesi medan κ -receptorn ger god perifer analgesi och viss spinal analgesi. Aktiveringen av de olika receptorerna anses ge olika effekter och μ -receptorn anses ha störst analgesisk effekt.

Butorfanol

Butorfanol är en syntetisk opioid som används till flera olika djurarter inom veterinärmedicin (Schnellbacher, 2010). Den har visat sig ha analgesisk effekt hos katt, hund och häst och är i Sverige godkänd för användning till dessa tre djurslag (FASS, 2011). Butorfanol är en blandad agonist/antagonist med antagonistisk effekt på μ -receptorer och agonistisk effekt på κ - och δ -receptorer (Plumb, 2011). Butorfanol anses vara 4-7 ggr så potent som morfin, men har lägre effekt och används för mild till måttlig smärta (Kukanich *et Papich*, 2009). Vid kraftig smärta anses rena μ -agonister, som till exempel morfin, vara mest effektiva. Butorfanol kan orsaka bradykardi och en lindrig sänkning av arteriellt blodtryck, men anses inte ha betydande effekt på cirkulationen vid rekommenderade doser. Butorfanol kan också minska tarmmotoriken. Butorfanol metaboliseras i levern och dess metaboliter är inaktiva (Pachter *et Evens*, 1985). Butorfanol och dess metaboliter utsöndras framförallt i urinen, men en del utsöndras via galla i faeces.

En undersökning från 1996 visade att i USA var buprenorfin och butorfanol vanligaste smärtlindringen vid djurförsök (Hubbel, *et al.*, 1996). De försöksdjursansvariga som man intervjuade ansåg att dessa substanser gav färre oönskade bieffekter än andra opioider. I undersökningen framkom även att opioider ansågs vara den mest praktiska och effektiva metoden för smärtlindring vid djurförsök.

Farmakokinetik och effekter av butorfanol på get

Det finns endast en studie publicerad avseende butorfanol och farmakokinetik hos get. I studien undersöktes farmakokinetiken på sex getter både efter intramuskulär och efter intravenös giva (0,1 mg/kg) (Carroll *et al.*, 2001). Koncentrationen av butorfanol analyserades med *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) vilket innebar att både butorfanol och dess metaboliter mättes. Redan inom 5 minuter efter läkemedelsgivan visade getterna beteendeförändringar som varade i upp till 90 minuter efter intravenös giva och upp till 2 h efter intramuskulär giva. Medelvärdet av maximala plasmaconcentrationen (C_{\max}) uppmättes

till $55,0 \pm 14,6$ ng/ml och tiden för maximala plasmakoncentrationen (T_{\max}) var $16,2 \pm 5,2$ min vid intramuskulär giva och efter 15 min var plasmakoncentrationen $74,0 \pm 20,3$ ng/ml vid intravenös giva. Clearance var $0,0096 \pm 0,0024$ l/kg min och distributionsvolym vid steady state var $1,27 \pm 0,73$ l/kg. Getterna visade ökad uppmärksamhet på sin omgivning och ökad aktivitet. Ingen av getterna blev sederad.

Butorfanol har en kraftigt sederande effekt på många andra djurslag (Kukanich *et Papich*, 2009). Att getter inte blir sederade av butorfanol har även kunnat påvisas i andra studier. En studie visade att premedicinering inför narkos med acepromazine och midazolam var för sig till get var kraftigt sederande, men kombinerat med butorfanol gav varken acepromazine eller midazolam någon sedering (Dzikiti, *et al.*, 2009). Inte heller administrering av endast butorfanol gav någon sederande effekt.

Det har även gjorts studier på om premedicinering med butorfanol skulle kunna minska åtgången av mängden narkosmedel för get under narkos. Premedicinering med endast butorfanol sänkte inte mängden propofol som krävdes för narkos i studien av Dzikiti *et al.* (2009). Narkosen inducerades med propofol till dess att käktonus sänkts så att getterna gick att intubera. Inget ytterligare ingrepp utfördes och efter intuberingen fick getterna vakna upp. I studien användes 0,1 mg butorfanol/kg. I ett försök på getter där man mätte isoflurans minimum alveolär koncentration (MAC) gav premedicinering med butorfanol, 0,05 och 0,1 mg/kg, varierande och oförutsägbara effekter på MAC (Doherty *et al.*, 2002). Det har även visats att 0,1 mg butorfanol/kg, intravenöst, inte minskar behovet av tiletamine i kombination med zolazepam vid anestesi av getter vid laparotomi (Carroll *et al.*, 1997).

Det finns inga studier utförda på den smärtlindrande effekten av butorfanol till get. En studie på får (Waterman *et al.*, 1991) visade att intravenös giva av butorfanol (0,05, 0,1 och 0,2 mg/kg) gav god termal smärtlindring, men ingen betydelsefull analgesi vid mekanisk smärta. Inte heller vid högre dos (0,4 mg/kg) uppnåddes klinisk signifikant smärtlindring för mekanisk smärta. Däremot blev fåren vid den höga dosen ataktiska och oroliga. De bräkte mycket och tuggade tvångsmässigt på inredningen även vid doser på 0,1 och 0,2 mg/kg. Ingen allvarlig andningsdepression noterades vid dosen 0,2 mg/kg, som var vid den dos man kontrollerade blodgaser och syresättning. Vid den högre dosen 0,4 mg/kg kontrollerades inga blodgaser eller syresättning.

MATERIAL OCH METODER

Djurmaterial

Först utfördes en pilotstudie på 2 getter. Båda var ca 1 år gamla, kliniskt friska, icke dräktiga getter av lantras. De vägde 27 respektive 34 kg. Under pilotstudien stod getterna i varsin ensambox i samma rum som den stora gemensamma box som de brukar gå i tillsammans med de andra getterna. De kunde under hela försöket se och höra de andra getterna samt se och ha noskontakt med varandra.

Under huvudförsöket användes 8 stycken 6 månader gamla, kliniskt friska, icke dräktiga getter av lantras. De vägde mellan 23 och 35 kg. De åtta försöksgetterna stod under försöket i varsin box bredvid varandra med möjlighet till noskontakt mellan boxarna. I rummet stod även de andra getterna från samma getgrupp i ensamboxar. Både de getter som användes i pilotförsöket och de som användes i huvudförsöket var tränade i situationen för att minska påverkan av stress. Alla djur stod på spån och halm och hade fri tillgång till vatten. De fick hö vid samma tidpunkt varje försöksdag.

Studiedesign

I pilotstudien lottades getterna till olika administrationssätt. Getterna fick butorfanol (Butador vet[®], injektionsvätska 10 mg/ml, Richter Pharma AG) 0,1 mg/kg kroppsvikt subkutant respektive intravenöst. Pilotförsöket visade att plasma koncentrationerna av butorfanol var låga efter subkutan administrering och dosen korrigerades till 0,2 mg butorfanol/kg kroppsvikt subkutant.

I huvudförsöket användes fyra getter per försöksdag. Försöket pågick i sammanlagt fyra dagar. Varje get deltog två gånger med tre veckors mellanrum. Vid de två första försökstillfällena lottades vilka fyra av de åtta getterna som skulle få butorfanol och vilka fyra som fick natriumklorid (Natriumklorid 9 mg/ml, Fresenius Kabi). Vid försöket tre veckor senare fick de getter som erhållit butorfanol vid första tillfället natriumklorid och vice versa.

Dagen innan läkemedelsadministreringen flyttades getterna till ensamboxar och pälsen över jugularvenen klipptes med klippmaskin. På försöksdagen applicerades lokalbedövning (EMLA 25 mg/g + 25mg/g, lidokain/prilokain, Astra Zeneca, SWE) över jugularvenen och efter ca 1h sattes en kateter (Secalon[®]T, Becton-Dickinson, Singapore) i jugularvenen. Läkemedlen injicerades subkutant kl 10.00. Blodprov togs via katetern enligt protokoll (Tabell 1) för analys av butorfanol samt för analys av vasopressin och kortisol. Blodproven överfördes direkt till förkylda rör, ett EDTA-rör utan tillsats (för butorfanolanalys) och ett EDTA-rör med Trasylol (Aprotinin 10.000KIE, Bayer HealthCare AG, Leverkusen, Tyskland) som tillsats (för hormonanalys). Rören stod sedan på is tills centrifugering. De centrifugerades (1500g) i 4°C i 20 minuter. Efter centrifugeringen pipetterades plasman av och förvarades i serumrör i -20°C. Efter alla fyra försöksdagarna flyttades plasman över till -80°C.

Även beteendestudier utfördes på getterna enligt ett särskilt protokoll. Resultaten av beteendestudierna samt hormonanalyserna kommer att redovisas i fristående examensarbeten.

Tabell 1. Protokoll för blodprovstagning under försöksdagarna.

Klockslag	Bloodprov nummer	Tid
09.30	1	30 min före
09.50	2	10 min före
10.05	3	5 min
10.15	4	15 min
10.30	5	30 min
11.00	6	1 h
12.00	7	2 h
14.00	8	4 h
16.00	9	6 h
18.00	10	8 h
21.00	11	11 h
08.00	12	22 h

Kemisk analys

Butorfanoltartrat köptes från Cerilliant Corporation (TX, USA) och $^2\text{H}_6$ -butorfanol köptes från Toronto Research Chemicals (ON, Canada). Vattnet som användes renades i en Milli-Q vattenanläggning (Millipore, Bedford, MA, USA). Alla andra kemikalier och lösningsmedel som användes var minst av analytisk kvalitet och användes utan ytterligare rening.

Till 0,5 ml plasma tillsattes 50 μl internstandardlösning $^2\text{H}_6$ -butorfanol (1,06 $\mu\text{g}/100 \mu\text{l}$ acetonitril), 500 μl mättad natriumkarbonat buffert (pH 9.1) och 4.0 ml etylacetat. Blandningen centrifugerades i 5 min. Efter centrifugering sattes provet i en frys i -70°C i 30 min. Därefter flyttades den organiska fasen över till ett annat glasrör och indunstades vid 50°C under tillförsel av kvävgas. Kvarvarande prov i varje rör upplöstes i 50 μl av 0,1 ml 0,1% myrsyra i vatten: metanol (9:1). De upplösta proverna kvantifierades med *liquid chromatography–electrospray ionization–tandem mass spectroscopy* (LC–ESI–MS/MS). LC/MS/MS analysen utfördes med hjälp av ett Surveyor LC system kopplat till en Finnigan TSQ Quantum Ultra (Thermo Electron Corporation, CA, USA) masspektrometer. Separationen genomfördes i en Zorbex Eclipse XAD-18 (2,1 x 50 mm, 5 μM ; Agilent Technologies, Sweden). Den mobila fasen var 0,1 % myrsyra i vatten (A) och metanol (B). Gradientprogrammet som användes var: 0 till 2,0 min, 15 % B; 2,0 till 5.0 min, 90 % B; 5,1 till 8,0 min, 15% B. Den mobila fasen pumpades med flödet 200 $\mu\text{l}/\text{min}$. Masspektrometern joniserades med *elektrospray* (ESI) för positiv jonisering. Spänningen på elektrosprayjonkällan var satt till 3,5 kV och *sheath* gas-flödet och *auxiliary* gas-gasflödet var 50 respektive 2 godtyckliga enheter. Masspektrometern utfördes med *Selected Reaction Monitoring* (SRM) för övergångarna: m/z 328 \rightarrow 310 (kollisionsenergi 23 eV) och m/z 334 \rightarrow 316 (20 eV) för butorfanol respektive standard. Koncentrationen av butorfanol beräknades med hjälp av standardkurvor. Prover för standardkurva preparerades genom att tillsätta kända mängder standard i ren plasma. För att validera metoden preparerades kvalitetskontroller i tre olika koncentrationer i plasma. Standardproverna och kvalitetskontrollerna hanterades på

samma sätt som plasmaproverna från de getter som fått butorfanol. (Enligt professor Ulf Bondesson, Avdelningen för kemi, miljö och fodersäkerhet, SVA)

Farmakokinetisk analys

Tidsförloppet av butorfanolkoncentrationen i plasma analyserades för varje individ med hjälp av en "non-compartment"-modell (Riviere, 2009). Ett kommersiellt dataprogram (Win Nonlin 5.0.1[®] Pharsight Corporation, Mountain View, CA, USA) användes för den farmakokinetiska analysen. Den terminala fasen beräknades från och med den tidpunkt som minskningen av butorfanolkoncentrationen i plasma följer ett enkelt exponentiellt förlopp och hastighetskonstanten (λ) bestämdes. Antalet datapunkter i den terminala fasen varierar mellan $x - y$ för de olika getterna. Programmet beräknade halveringstiden för den terminala fasen enligt formeln $t_{1/2} = \ln 2 / \lambda$. Areal under kurvan (AUC) extrapolerat till oändlighet (AUC_{inf}) räknades ut med linjära trapetsmetoden och för att extrapolera AUC från tiden noll till evigheten användes λ för den terminala fasen.

Från de individuella diagrammen för varje get fastställdes C_{max} och T_{max} . Medelvärden och standardavvikelser har räknats ut med hjälp av datorprogrammet Microsoft Office Excel.

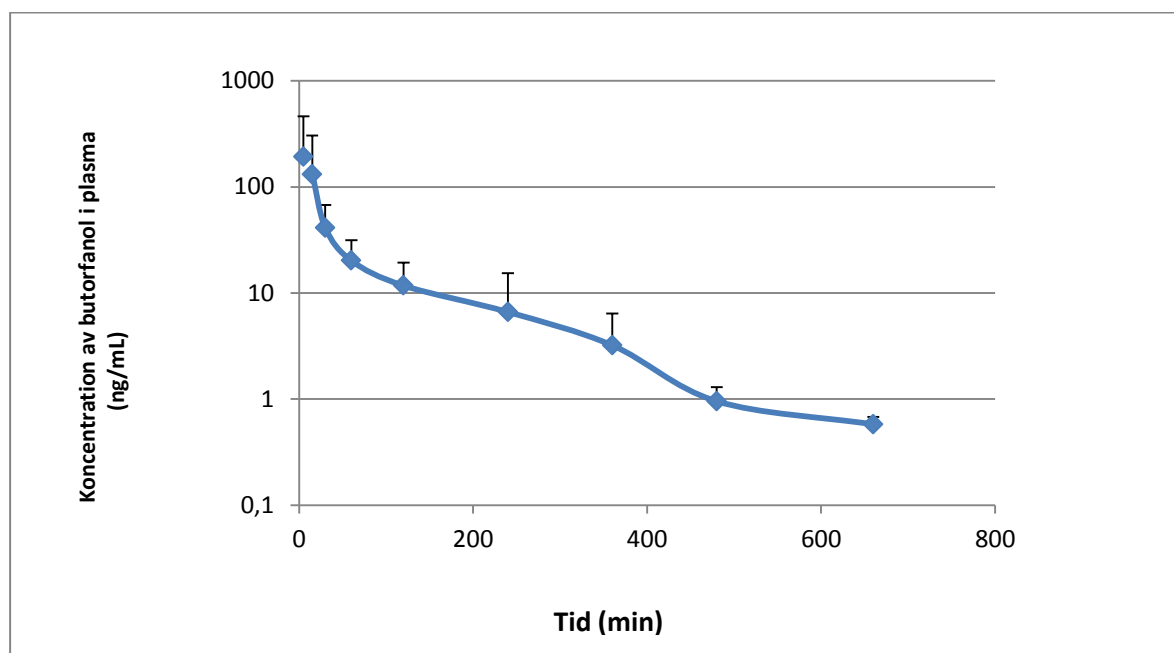
RESULTAT

Kemisk analys

Lägsta nivå för kvantifiering var 0,5 ng butorfanol/ml plasma. Standardkurvan var linjär mellan 0,5 och 800 ng/ml. Kvalitetskontrollprover användes för fyra olika koncentrationer, 1, 5, 24, och 60 ng/ml. Variationskoefficienten för dessa varierade mellan 2,1 – 2,8 % (n = 3).

Farmakokinetik

Tidsförloppet av medelkoncentrationen av butorfanol i plasma visas i figur 1. Koncentrationen ökade snabbt de första 5-15 minuterna efter administrering. Hos alla 8 getter uppnåddes C_{max} inom 15 minuter och därefter minskade plasmakoncentrationen av butorfanol exponentiellt hos alla getter utom get 8 där butorfanolkoncentrationen ökade igen efter 2h och nådde en andra topp efter 4 h. Halveringstiden på denna get är därför uträknad efter denna andra topp i plasmakoncentration. Halveringstiden var $78,6 \pm 21,7$ min C_{max} var $199 \pm 265,6$ ng/ml efter $10 \pm 5,3$ min (T_{max}) och AUC blev $7191,6 \pm 5387,5$ ng/ml/ml (tabell 2),.



Figur 1. Medelkoncentrationen (+ SD) av butorfanol i plasma efter subkutan giva, 0,2 mg/kg till get (n=8).

Tabell 2. Farmakokinetiska data efter subkutan giva av 0,2 mg/kg butorfanol till get.

Get	T1/2 min	Tmax min	Cmax ng/ml	AUC ng/min/ml
1	107,8	5	410	9351,3
2	61,0	5	770	17081,5
3	74,4	15	199	11479,7
4	64,2	5	30,5	1973,7
5	105,7	15	31	2651,3
6	64,9	15	39,7	2813,2
7	97,3	5	68,1	3553,0
8	53,1	15	44,1	8629,1
medel	78,6	10	199,0	7191,6
SD	21,7	5,3	265,6	5387,5
median	69,7	10	56,1	6091,0
lägsta	53,1	5	30,5	1973,7
högsta	107,8	15	770	17081,5

Beteende

Getterna blev redan 5 min efter butorfanolgivan oroliga, mer aktiva samt bräkte mycket (opublicerade resultat av Josefine Amnsten som kommer att redovisas i ett examensarbete i husdjursvetenskap, 30hp). De tuggade på inredningen och klättrade på galler-väggarna. Alla getter visade inte alla beteendeförändringar och intensiteten i beteendeförändringarna varierade också mellan de olika getterna. Vissa av getterna började också hässa. Getterna som fick butorfanol låg mindre än kontrollgruppen i ca 144 minuter efter injektion. Övriga beteendeförändringar höll i medel i sig lite mindre än 1 h.

DISKUSSION

Farmakokinetik

I denna studie sågs en mycket stor individuell variation av C_{\max} hos getterna. I studien av Carroll *et al.*, (2001) uppmättes medelvärdet av C_{\max} till $55,0 \pm 14,6$ ng/ml vid intramuskulär giva och efter 15 min var plasmakoncentrationen $74,0 \pm 20,3$ ng/ml vid intravenös giva (0,01 mg/kg för respektive administrationsätt). I vår studie uppmättes medelvärdet av C_{\max} till $199 \pm 265,6$ ng/ml och medianvärdet till 56,1 ng/ml. Vårt höga medelvärde beror på att två getter fick väldigt höga värden i jämförelse med resterande 6 getter (770 och 410 ng/ml) och medelvärdet kan därför vara vilseledande. Medianvärdet på 56,1 ng/ml är troligtvis ett sannare värde. Vårt medianvärde ligger trots subkutan giva något högre än det Carroll *et al.* fick för intramuskulär giva. Det beror troligtvis på att vi gav en högre dos (0,2 mg/kg) samt att absorptionen var snabb även vid SC giva ($T_{\max}=10$ min). Den stora individuella variationen av C_{\max} beror förmodligen på oavsiktlig administration av läkemedlet i exempelvis kärl, intramuskulärt, i huden eller i subkutan fett vilket leder till att biotillgängligheten varierar. De höga initiala plasmakoncentrationer som noterades hos 2 av getterna har samma storleksordning som efter intravenös giva (Carroll *et al.*, 2001) vilket stöder teorin på delvis oavsiktlig intravaskulär administration. Den stora variationen i plasmakoncentrationer visar på begränsningar med att administrera läkemedel subkutan. Man kan få mycket varierande koncentrationer och därmed effekter beroende på om och hur mycket läkemedel som hamnar av misstag. I denna studie var T_{\max} kort, $10 \pm 5,3$ och hos en get (nr 8) påvisades en andra topp efter fyra timmar. Den senare toppen tyder på att en viss del av läkemedlet hamnade i fettvävnad/intrakutan och hade en fördröjd absorption.

Halveringstiden för butorfanol hos nöt var i en studie från 1992 uppmätt till 82 minuter vid intravenös giva (Court *et al.*, 1992). I FASS från 2011 anges halveringstiden för häst vara < 1 h vid intravenös giva och < 2 h för hund vid intramuskulär giva. I en studie av Wells *et al.* (2008) fick man halveringstiden $6,3 \pm 2,8$ h vid intramuskulär giva av butorfanol till katt och i FASS 2011 uppges halveringstiden för katt vara ca 6 h vid subkutan giva. Carroll *et al.*, (2001), fick i sin studie på getter ett medelvärde för $T_{1/2}$ på $112,4 \pm 89,4$ min vid intravenös giva och $165,1 \pm 115,9$ min vid intramuskulär giva. I vår studie uppmättes $T_{1/2}$ till $78 \pm 21,7$ min. Att vi fick kortare halveringstid i vår studie beror troligen på att Carroll *et al.* använde en analysmetod som både mäter butorfanol och dess metaboliter. När butorfanol bryts ner ökar mängden metaboliter i blodet och koncentrationen av både butorfanol och dess metaboliter blir då högre än endast mängden butorfanol vilket leder till högre uppmätta värden. Då man får falskt högre uppmätta värden blir också halveringstiden längre, då det tar längre tid att eliminera både butorfanol och dess metaboliter än bara butorfanol. En anledning till att ge läkemedel subkutan är att man vill få längre halveringstid på grund av fördröjd absorption och därmed längre effekt av läkemedlet. I en studie på metadon till hund kunde man se att halveringstiden ökade från $3,9 \pm 1,0$ h vid intravenös giva till $10,7 \pm 4,3$ h vid subkutan giva (Ingvast- Larsson *et al.*, 2010). Någon sådan effekt kunde inte observeras i vår studie. Trots subkutan giva var absorptionen snabb och därmed påverkas inte halveringstiden utan den var kort. En anledning till denna skillnad mellan djurslag kan vara att mängden subkutan fett

skiljer mellan get och hund . Fettvävnad har mindre blodtillförsel och framför allt fettlösliga läkemedel absorberas därför långsammare vilket ger längre halveringstid.

Förväntad analgesi

Lägsta plasmakoncentration av butorfanol för kutan analgesi har hos hund uppmätts till 9 ng/ml (Troncy *et al.*, 1996). I en studie på katt uppskattades den förväntade lägsta plasmakoncentrationen för analgesi till > 45 ng/ml (Wells *et al.*, 2008) och i en studie på häst beräknades den förväntade lägsta koncentrationen ligga mellan 20 och 30 ng/ml (Sellon *et al.*, 2001). I vår studie kom alla 8 getter upp i C_{max} över 30 ng/ml inom 15 min och efter 60 min var medelplasmakoncentrationen 20,2 ng/ml och låg mellan 9,3 och 42,3 ng/ml hos de olika getterna. Detta skulle innebära smärtlindrande effekt i ca 30-60 min under förutsättning att den terapeutiska plasmakoncentrationen överensstämmer med andra djurslag. Fler studier på butorfanols smärtlindrande effekt hos get behövs dock.

I annan en studie på katt hade butorfanol smärtlindrande effekt upp till 90 minuter och var inte dosberoende (Duncan *et al.*, 2004). Den analgetiska effekten av butorfanol har dock visat sig vara dosberoende både på häst (Kalpravidh *et al.*, 1984a) och på får (Waterman *et al.*, 1991).

Butorfanol har visat ge visceral analgesi upp till en timme på häst vid kolik (Muir *et al.*, 1985). I en studie på 8 ponnyer gav 0,22 mg/kg butorfanol god visceral analgesi men ingen signifikant analgesi vid somatisk smärta (Kalpravidh, *et al.*, 1984b). Butorfanol har även visat ge god visceral analgesi på katt både vid intravenös giva (0,1 mg/kg) och vid subkutan giva (0,4 mg/kg) (Sawyer *et al.*, 1987). Dock uppnåddes inte somatisk smärtlindring vid doser under 0,8 mg/kg intravenöst, vid denna dos sågs biverkningar såsom förhöjd hjärtfrekvens och lindrig oro. På får gav butorfanol analgesi vid termal stimuli men inte smärtlindring vid mekanisk smärta (Waterman *et al.*, 1991). Då butorfanol har visat sig ha bättre effekt på visceral smärta och termal stimuli än på somatisk smärta hos andra djurslag borde den smärtlindrande effekten på get utvärderas i en klinisk studie.

Beteende

Getterna i denna studie visade alla någon form av beteendeförändring (opublicerade resultat av Josefine Amnsten som kommer att redovisas i ett EEF-arbete). De getter med högst koncentrationer i blodet var de getter som visade de största beteendeförändringarna. Biverkningarna som sågs i försöket överensstämmer med dem man har observerat i tidigare studier av butorfanol till get (Carroll *et al.*, 1998, Carroll *et al.*, 2001) och till får (Waterman *et al.*, 1991).

Slutsats

Den stora variationen i plasmakoncentrationerna hos de olika getterna gör subkutan administration av butorfanol till get olämplig, speciellt eftersom halveringstiden inte ökade jämfört med intravenös eller intramuskulär administration. Vid behov av längre tids smärtlindring är butorfanols korta halveringstid hos get en nackdel eftersom det skulle vara nödvändigt med mycket korta dosintervall. Vid kortvariga ingrepp som till exempel avhorning eller kastrering skulle butorfanol kunna användas om man kompletterar med annan smärtlindring för långvarig analgesi efter ingreppet. Data över getternas beteendeförändringar är inte redovisade i detta arbete och måste först utvärderas innan butorfanol kan anses vara ett lämpligt läkemedel till get.

TACK

Jag vill tacka min handledare Carina Ingvast Larsson för sitt stora engagemang och all hjälp som jag har fått under vägen.

Jag vill även tacka Åsa Eriksson på AFB för all hjälp med getterna på försöksdagarna.

LITTERATURFÖRTECKNING

Carroll, G.L., Hartsfield, S.M. & Hambleton, R. 1997. Anesthetic effects of tiletamine-zolazepam, alone or in combination with butorphanol, in goats. *The Journal of the American Veterinary Medical Association*, 211, 593-597.

Carroll, G.L., Hartsfield, S.M., Champney, T.H., Slater, M.R. & Newman, Julie.A., 1998. Stress-Related Hormonal and Metabolic Responses to Restraint, with and without Butorphanol Administration, in Pre-Conditioned Goats. *Laboratory Animal Science*, 48; 387-390.

Carroll, G.L., Boothe, D.M., Hartsfield, S.M., Waller, M.K. & Geller S.C. 2001. Pharmacokinetics and selected behavioral responses to butorphanol and its metabolites in goats following intravenous and intramuscular administration. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 28, 188-195.

Court, M.H., Dodman, N.H., Levine, H.D., Richey, M.T., Lee, J.W. & Hustead. D.R. 1992. Pharmacokinetics and milk residues of butorphanol in dairy cows after single intravenous administration, *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 15, 28-35.

Doherty, T.J., Rohrbach, B.W. & Geiser, D.R. 2002. Effect of acepromazine and butorphanol on isoflurane minimum alveolar concentration in goats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 25, 65-67.

Duncan X, B., Robertsson, S.A. 2004. Use of thermal threshold response to evaluate the antinociceptive effects of butorphanol in cats. *American Journal of Veterinary Research*, 69:12, 1085-1089.

Dzikiti, T.B., Stegmann G.F., Hellebrekers, L.L., Auer, R.E.J. & Dzikiti, L.N. 2009. Sedative and cardiopulmonary effects of acepromazine, midazolam, butorphanol, acepromazine-butorphanol and midazolam-butorphanol on propofol anaesthesia in goats. *Journal of the South African Veterinary Association*, 80:1, 10-16.

FASS Vet 2011. LIF, de forskande läkemedelsföretagens branschorganisation. Elanders. Stockholm.

Hubbel, J.A.E. & Muir, W.W. 1996. Evaluation of the diplomates of the American College of Laboratory Animal Medicine on use of analgesic agents in animals used in biomedical research. *The Journal of the American Veterinary Medical Association*, 209:5, 918-921.

Ingvast-Larsson, C., Svartberg K., Hydbring-Sandberg, E., Bondesson U. & Olsson, K., 2007. Clinical pharmacology of buprenorphine in healthy, lactating goats. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, Vol 30:3, 249-256

Ingvast-Larsson, C., Holgersson, A., Bondesson, U., Lagerstedt, A. & Olsson, K., 2010. Clinical pharmacology of methadone in dogs. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, Vol 37, 48-56.

Kalpravidh, M., Lumb, W.V., Wright, M. & Heath, R.B. 1984a. Analgesic effects of butorphanol in horses: Dose-response studies. *American Journal of Veterinary research*, Vol 45:2, 211-216

Kalpravidh, M., Lumb, W.V., Wright, M. & Heath, R.B. 1984b. Effects of butorphanol, flunixin, levorphanol, morphine, and xylazine in ponies. *American Journal of Veterinary research*, Vol 45:2, 217-223.

Katzung, B.G. 2001. *Basic and Clinical Pharmacology*. 8th ed. 527. McGraw-Hill. USA.

Kukanich, B & Papich, M.G. *Veterinary Pharmacology & Therapeutics*. 9th ed. Riviere, J.E & Papich, M.G.301-335. Wiley-Blackwell, Iowa.

Muir, W.W. & Robertsson J.T. 1985. Visceral analgesia: Effects of xylazine, butorphanol, meperidine, and pentazocine in horses. *American Journal of Veterinary research*, Vol 46:2 2081-2084.

Pachter, I.J. och Evens, R.P., 1985. Butorphanol. *Drug and Alcohol Dependence*, Vol 14, 325-338.

Plumb, D.C., 2011. *Veterinary Drug Handbook*. 7th ed. 131-135. Wiley-Blackwell, Iowa.

Radostits, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W. & Constable, P.D. 2007. *Veterinary Medicine. A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats*. 10th ed. 102-107. Elsevier, Philadelphia.

Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter. J.M. & Flower, R.J., 2007. *Pharmacology*. 6th ed. Churchill, Livingstone, Philadelphia.

Riviere, J.E. 2009, *Veterinary Pharmacology & Therapeutics*. 9th ed. Riviere, J.E & Papich, M.G. 53-64. Wiley-Blackwell, Iowa.

Sawyer, D.C: & Rech, R.H. 1987. Analgesia and Behavioral effects of Butorphanol, Nalbuphine, and Pentazocine in the Cat. *The Journal of the American Animal Hospital Association*, Vol 23:4, 438-446.

Schnellbacher, R, 2010. Butorphanol. *Journal of Exotic Pet medicine*, Vol 19:2, 192-195.

Sellon, D.C., Monroe, V.L., Roberts, M.C. & Papich, M.G, 2001. Pharmacokinetics and adverse effects of butorphanol administered by single intravenous injection or continuous intravenous infusion in horses. *American Journal of Veterinary research*, Vol 62:2, 183-189.

SJVFS 2009:84, saknr: D9

Sjaastad, Ø.V., Hove, K. och Sand, O. 2003. *Physiology of Domestic Animals*. Scandinavian Veterinary Press, Oslo.

Troncy, E., Besner, J.-G., Charbonneau, R., Cuvelliez, S.G. & Blais, D. 1996. Pharmacokinetics of epidural butorphanol in isoflurane-anesthetized dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, Vol 19:4, 268-273.

Waterman, A.E., Livingstone, A. & Amin, A. 1991. Analgesic activity and respiratory effects of butorphanol in sheep. *Research in Veterinary Science*. Vol 51, 19-23.

Wells, S.M., Glerum, L.E. & Papich, M.G. 2008, Pharmacokinetics of butorphanol in cats after intramuscular and buccal transmucosal administration. *American Journal of Veterinary research*, Vol 69:12, 1548-1554.