

M. Oukessou^{1*}P.L. Toutain^{2*}P. Galtier³M. Alvinerie³

Étude pharmacocinétique comparée du triclabendazole chez le mouton et le dromadaire

OUKESSOU (M.), TOUTAIN (P.L.), GALTIER (P.), ALVINERIE (M.). Étude pharmacocinétique comparée du triclabendazole chez le mouton et le dromadaire. *Revue Élev. Méd. vét. Pays trop.*, 1991, **44** (4) : 447-452

Les auteurs décrivent la pharmacocinétique comparée du triclabendazole chez trois dromadaires et quatre moutons qui ont reçu une dose orale unique de 10 mg de triclabendazole par kg de poids vif. Les concentrations plasmatiques de triclabendazole et des métabolites sont déterminées par chromatographie liquide haute performance. L'absence du principe parental chez les deux espèces étudiées correspond à un effet de premier passage hépatique. Il apparaît une différence majeure pour le triclabendazole sulfoxyde entre les deux espèces, avec des concentrations deux à trois fois plus faibles chez le dromadaire que chez le mouton. *Mots clés* : Dromadaire - Ovin - Pharmacocinétique - Anthelminthique - Triclabendazole - *Fasciola hepatica*.

INTRODUCTION

Le triclabendazole [6-chloro-5-(2,3 dichlorophenoxy)-2 méthylthiobenzimidazole] est un fasciolicide de la famille des benzimidazoles ; il est doué d'une excellente efficacité sur toutes les formes (immatures et adultes) de *Fasciola hepatica* (5, 14). Plus récemment, son activité vis-à-vis de *Fasciola magna* a été démontrée chez la vache (4).

Pour plusieurs espèces comprenant le mouton (10), le cheval (11), la chèvre et le porc (3, 13), il a été démontré que le triclabendazole, après administration par voie orale, subissait une métabolisation complète en raison d'un effet de premier passage au niveau du foie. Cette métabolisation conduit à la formation de deux métabolites oxydés : un sulfoxyde et une sulfone (fig. 1). Le point important à noter est que seul, le sulfoxyde est pharmaco-

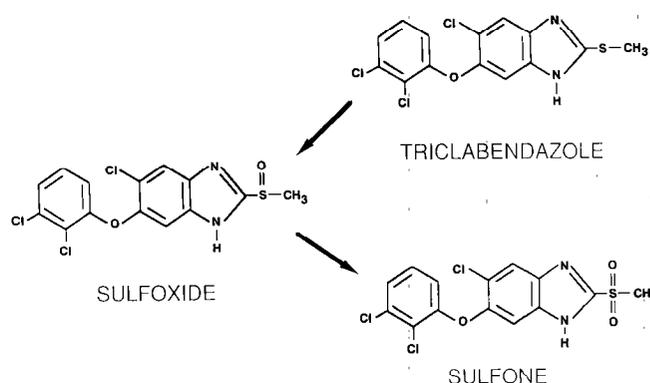


Fig. 1 : Voie de la métabolisation du triclabendazole.

logiquement actif ; le triclabendazole est donc une pro-drogue dont l'efficacité thérapeutique dépendra de l'efficacité des mono-oxygénases hépatiques.

Pour de nombreux médicaments, il a été rapporté des variations interspécifiques importantes dans le métabolisme hépatique ; à ce titre, il importe de connaître, pour chaque espèce cible, la disposition hépatique du triclabendazole. Le dromadaire est justiciable d'un traitement fasciolicide. En effet, *Fasciola hepatica* est un des trématodes les plus fréquemment rencontrés chez les camélidés (5). D'autre part, aucune donnée pharmacocinétique du triclabendazole chez le dromadaire n'existe à ce jour ; le but de ce travail consiste donc à préciser les profils cinétiques du principe parental et de ses métabolites chez cette espèce et de les comparer à ceux du mouton.

MATÉRIEL ET MÉTHODE

Animaux

Trois dromadaires (*Camelus dromedarius*) pesant de 180 à 250 kg et quatre agneaux de race Lacaune pesant 25-30 kg ont été utilisés. Pendant les essais, les dromadaires ont été entretenus en stabulation à l'Institut Agro-vétérinaire Hassan II (Rabat, Maroc). Ils ont été nourris avec une ration à base d'orge et du foin a été distribué à volonté. L'eau est fournie *ad libitum*. Les moutons ont été entretenus dans des cages à métabolisme à la station de

1. Institut Agro-vétérinaire Hassan II, Rabat, Maroc.

2. École nationale vétérinaire, Département de Physiopathologie, Toulouse, France.

3. Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie, INRA, BP 3, 31931 Toulouse, cedex.

* Correspondance : M. ALVINERIE, Laboratoire de Pharmacologie, INRA, BP 3, 31931 Toulouse, France.

Reçu le 5.3.1991, accepté le 3.12.1991

pharmacologie de l'INRA (Toulouse). Ils ont été nourris avec une ration comprenant un granulé complet ; le foin a été distribué *ad libitum*.

Administration et prélèvements

Pour les deux espèces, le triclabendazole (Fascinex[®], Ciba Geigy) a été administré par voie orale à la dose de 10 mg/kg à l'aide d'une seringue adaptée.

Des prélèvements sanguins ont été effectués par ponction jugulaire et recueillis dans des tubes héparinés aux temps suivants : 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24 h et 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10 jours après l'administration. Le plasma a été immédiatement séparé par centrifugation et stocké à -18 °C jusqu'au moment du dosage.

Technique analytique

Les échantillons plasmatiques ont été dosés par une technique de chromatographie liquide haute performance (1). Le plasma (100 µl) est extrait par acétate d'éthyle (1 ml) en présence d'un standard interne (oxfendazole 100 ng). Après centrifugation la phase organique est évaporée. L'extrait sec est repris par 100 µl de phase mobile, puis chromatographié dans le système comprenant une colonne partisol 5 µm (Whatman SA, Paris, France) et un solvant d'éluion constitué d'hexane, éthanol et acide acétique (500, 50, 0,6 ; v/v/v) ; le débit étant de 1 ml/min et la longueur d'onde de détection a été fixée à 215 nm. Les temps de rétention des différents composés sont de 5,5 min pour le triclabendazole, de 6,8 min pour le triclabendazole sulfone, de 9,9 min pour le triclabendazole sulfoxyde et de 13,0 min pour l'oxfendazole. Le coefficient de variation intra-essai (répétabilité) pour une concentration moyenne de 1 µg/ml est de 6,3 p. 100 pour le triclabendazole, 3,2 p. 100 pour la sulfone et 4,6 p. 100 pour le sulfoxyde.

Le seuil de quantification de la technique analytique a été fixé à 50 ng/ml de plasma pour chacun des composés.

Détermination des paramètres pharmacocinétiques

Chaque série de données a été analysée individuellement. Les données ont été ajustées avec une équation de la forme :

$$(Eq1) : C(t) = \frac{FD Ka}{V (Ka - K_{10})} [\exp(-K_{10}(t - t/ag)) - \exp(-Ka(t - t/ag))]$$

Dans l'équation 1, C(t) est la concentration de l'analyse au temps t ; FD/V (µg/ml) est une constante préexponentielle ; Ka (h⁻¹) est la constante d'apparition, K₁₀ (h⁻¹) est la constante d'élimination et t/ag est le délai à l'apparition de l'analyse dans le plasma. L'équation 1 correspond à un

modèle monocompartmental avec une phase d'invasion. L'estimation initiale des paramètres a été obtenue par régression linéaire (8). Ensuite, les paramètres ont été optimisés par régression non-linéaire avec un programme adapté de Multi (15). Le temps de demi-vie formation d'un métabolite a été calculé avec l'équation 2 :

$$(Eq2) : t_{1/2} Ka = 0,693/ka$$

Le temps de demi-vie plasmatique a été calculé avec l'équation 3 :

$$(Eq3) : t_{1/2} K_{10} = 0,693/k_{10}$$

avec K₁₀, la constante d'élimination. La concentration maximale (C_{max}) a été calculée en remplaçant t par T_{max} dans l'équation 1. T_{max}, le temps d'occurrence de C_{max}, a été calculé avec l'équation 4, avec Ka, K₁₀ et t/ag définis précédemment. Ln indique le logarithme népérien :

$$(Eq4) : T_{max} = \frac{(\ln Ka - \ln K_{10})}{(Ka - K_{10})} + t/ag$$

Le temps moyen de résidence (TMR), c'est-à-dire le temps passé, en moyenne, par la molécule dans le système, a été calculé par la méthode des trapèzes arithmétiques avec une extrapolation à l'infini (9) ; l'aire sous la courbe des concentrations plasmatiques (AUC) également. La partie extrapolée a été obtenue avec l'équation 5 avec, C* dernière concentration mesurée, et K₁₀ constante d'élimination évaluée par l'analyse compartimentale :

$$(Eq5) : AUC (C^* - \text{inf}) = C^*/K_{10}$$

Pour chaque paramètre, on a calculé la moyenne arithmétique assortie de l'erreur standard (SD). Les comparaisons des valeurs des paramètres obtenus chez les deux espèces ont été réalisées selon une approche non paramétrique avec le test de Mann-Whitney. Compte tenu de la taille des échantillons (3 et 4), la différence est considérée comme significative (p = 0,05) si les trois valeurs obtenues chez le dromadaire sont plus petites ou plus grandes que les quatre valeurs obtenues chez le mouton.

RÉSULTATS

Le principe parental (triclabendazole) n'a jamais été détecté dans le plasma ni pour le dromadaire, ni pour le mouton. En revanche, les deux métabolites (triclabendazole sulfoxyde et triclabendazole sulfone) ont été identifiés pendant une dizaine de jours chez les deux espèces étudiées. Les figures 2 et 3 montrent l'évolution des concentrations plasmatiques (µg/ml) en fonction du temps (h) du sulfoxyde et de la sulfone respectivement pour le dromadaire et le mouton.

Le tableau I donne les valeurs individuelles des différents paramètres pour le sulfoxyde et le sulfone.

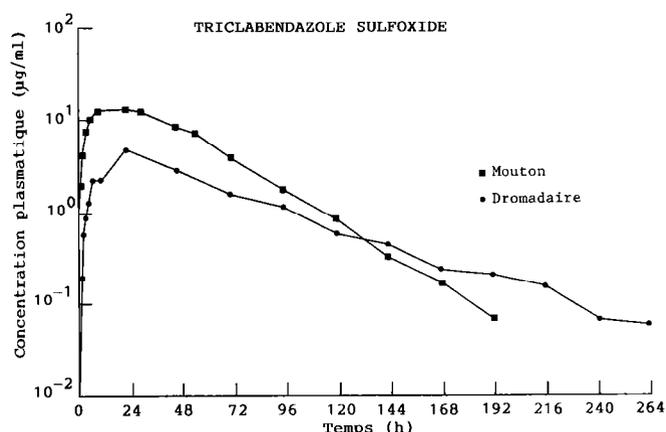


Fig. 2 : Évolution en fonction du temps (h) des concentrations plasmatiques (µg/ml) de sulfoxyde de triclabendazole chez le mouton et le dromadaire après administration orale de triclabendazole à la dose de 10 mg/kg.

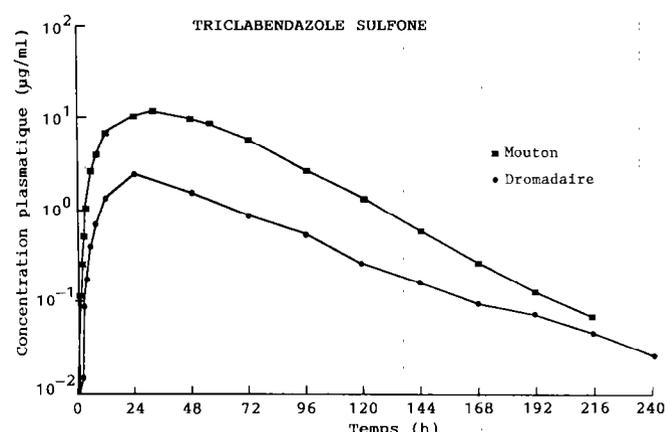


Fig. 3 : Évolution en fonction du temps (h) des concentrations plasmatiques (µg/ml) de sulfone de triclabendazole chez le mouton et le dromadaire après une administration orale de triclabendazole à la dose de 10 mg/kg.

TABLEAU 1 Paramètres pharmacocinétiques décrivant le sort des métabolites du triclabendazole (sulfoxyde et sulfonide) après une administration par voie orale de triclabendazole à la dose de 10 mg · kg⁻¹ chez le dromadaire et le mouton (valeurs individuelles et moyennes ± SD).

Paramètres (unités)	Dromadaires (n = 3)			Moutons (n = 4)										
	Sulfoxyde			Sulfone										
$t_{lag}(h)$	5,62	1,69	2,46	7,35	3,48	2,82	1,45	1,88	6,8	2,25	6,6	4,79	2,20	5,53
$\bar{X} \pm SD$	3,3 ± 2,1			4,55 ± 2,45			3,1 ± 2,5				4,8 ± 1,9			
$t_{1/2} K_a (h)$	7,1	5,8	5,4	10,8	8,0	13,5	8,6	6,3	16,2	5,6	21,2	16,6	12,4	19,2
$\bar{X} \pm SD$	6,1 ± 0,9			10,8 ± 2,75			9,2 ± 4,9				17,3 ± 3,8			
$t_{1/2} K_{10} (h)$	25,4	35,7	29,3	22,3	26,8	13,7	22,1	14,4	18,8	21,3	21,9	16,7	13,0	19,6
$\bar{X} \pm SD$	30,1 ± 5,2			20,9 ± 6,66			19,1 ± 3,5				17,8 ± 3,8			
$MRT (o-inf) (h)$	55,1	67,3	54,1	56,2	63,9	50,4	43,9	35,2	57,0	39,1	63,4	53,1	41,8	57,0
$\bar{X} \pm SD$	58,8 ± 7,35			56,8 ± 6,77			43,8 ± 9,49				53,8 ± 9,07			
$T_{max} (h)$	23,7	19,8	18,6	29,3	23,4	22,5	20,6	15,3	32,0	16,9	37,7	28,8	20,6	33,5
$\bar{X} \pm SD$	20,7 ± 2,7			25,1 ± 3,69			21,2 ± 7,5				30,1 ± 7,3			
$C_{max} (\mu g \cdot ml^{-1})$	7,04	3,37	3,2	4,11	1,56	1,54	17,7	16,5	8,6	15,8	12,0	11,8	12,1	12,5
$\bar{X} \pm SD$	4,54 ± 2,17			2,40 ± 1,48			14,6 ± 4,1				12,1 ± 0,29			
$AUC (o-inf) (\mu gh \cdot ml^{-1})$	429,3	256,3	198,9	259,8	108,6	89,6	1 005,3	688,9	571,9	760,0	968,1	772,7	618,9	892,0
$\bar{X} \pm SD$	294,8 ± 119,9			152,7 ± 93,27			756,5 ± 183,1				812,9 ± 152,3			

Pour le sulfoxide, le délai à l'apparition dans le plasma a été de $3,3 \pm 2,1$ h chez le dromadaire et de $3,1 \pm 2,5$ h chez le mouton ; la différence n'est pas significative ($P > 0,05$). Le pic des concentrations plasmatiques a été obtenu après un délai de $20,7 \pm 2,7$ h chez le dromadaire et $21,2 \pm 7,5$ h chez le mouton ; la différence n'est pas significative ($P > 0,05$). En revanche, la valeur du Cmax a été significativement plus élevée chez le mouton ($14,6 \pm 4,1$ µg/ml) que chez le dromadaire ($4,54 \pm 2,17$ µg/ml) ($P = 0,05$). Le temps de demi-vie plasmatique du sulfoxide a été significativement plus long chez le dromadaire ($30,1 \pm 5,2$ h) que chez le mouton ($19,1 \pm 3,5$ h) ($P = 0,05$). La valeur de l'AUC a été significativement plus élevée chez le mouton (756 ± 183 µg.h ml⁻¹) que chez le dromadaire ($294,8 \pm 119,9$ µg.h ml⁻¹) ($P = 0,05$).

Pour le sulfone, le délai d'apparition dans le plasma a été similaire chez le dromadaire ($4,55 \pm 2,45$ h) et chez le mouton ($4,80 \pm 1,9$ h) ($P > 0,05$). Le temps d'occurrence du Cmax a été similaire chez le dromadaire ($25,1 \pm 3,69$ h) et chez le mouton ($30,1 \pm 7,3$). En revanche, la valeur de Cmax a été significativement plus faible chez le dromadaire ($2,40 \pm 1,48$ µg/ml) que chez le mouton ($12,1 \pm 0,29$ µg/ml) ($P = 0,05$). Le temps de demi-vie a été similaire chez le dromadaire ($20,5 \pm 6,66$ h) et chez le mouton ($17,8 \pm 3,8$ h) ($P > 0,05$). Il en est de même pour le MRT ($56,8 \pm 6,77$ h vs $53,8 \pm 9,07$ h). Enfin, les AUC ont été plus faibles chez le dromadaire ($152,7 \pm 93,3$ µg.h ml⁻¹) que chez le mouton ($812,9 \pm 152,3$ µg.h ml⁻¹) ($P = 0,05$).

DISCUSSION

L'apparition relativement rapide dans le plasma de deux métabolites du triclabendazole (sulfoxide et sulfone) et l'absence de principe parental chez les deux espèces étudiées suggèrent un effet de premier passage hépatique particulièrement intense. Il trouve son origine dans l'existence d'un métabolisme oxydatif, comme cela a été décrit pour d'autres benzimidazoles (6, 7, 13). Ce même phénomène a été rapporté pour le triclabendazole chez d'autres espèces telles que le cheval et l'âne (11).

Pour le sulfoxide, il apparaît une différence majeure entre les deux espèces avec des concentrations plasmatiques moyennes de deux à trois fois plus faibles chez le dromadaire que chez le mouton. Potentiellement, trois facteurs propres au dromadaire peuvent expliquer cette différence : une biodisponibilité réduite du sulfoxide à partir du triclabendazole, un volume de distribution plus grand du sulfoxide et un temps de demi-élimination plus rapide. Ce dernier facteur peut être immédiatement écarté, car l'élimination du sulfoxide

est plus lente chez le dromadaire que chez le mouton. C'est donc au niveau de la biodisponibilité et du volume de distribution que doivent être recherchées les différences. Concernant la biodisponibilité, deux facteurs peuvent intervenir : l'absorption du triclabendazole au niveau intestinal et l'efficacité de sa biotransformation par effet de premier passage hépatique. Cette dernière semble totale puisque le triclabendazole n'a jamais été retrouvé dans le plasma. Il est donc probable que la quantité de triclabendazole absorbée par la muqueuse digestive est moins importante chez le dromadaire que chez le mouton. Ceci ne peut pas être imputée à une éventuelle différence dans la fermeture de la gouttière oesophagienne puisque les délais d'apparition du sulfoxide sont similaires chez les deux espèces (3 h). Cette dernière valeur, relativement grande, suggère que le produit a été essentiellement administré dans le réticulorumen et non dans l'abomasum. De même, les temps de demi-invasion étant identiques chez les deux espèces, il est probable que la vitesse de transit du triclabendazole, depuis le réticulo-rumen jusqu'au duodénum, est similaire. En définitive, on peut suggérer que la réduction de la quantité résorbée de triclabendazole chez le chameau est liée, soit à une moindre efficacité des processus d'absorption, soit à une réduction de la quantité disponible de triclabendazole au niveau du site d'absorption (par dégradation dans le tube digestif).

Le deuxième facteur capable d'expliquer de plus faibles concentrations du sulfoxide chez le dromadaire est le volume de distribution de ce métabolite. Pour argumenter cette possibilité, il faudrait injecter par voie intraveineuse le sulfoxide de triclabendazole afin de déterminer la valeur absolue de son volume de distribution.

Concernant le sulfone, la concentration plasmatique moyenne est 5 fois plus importante chez le mouton. Le principal facteur de cette différence serait probablement la quantité plus réduite de sulfoxide susceptible de se transformer en sulfone dont un plus grand volume de distribution chez le dromadaire pourrait également contribuer à des concentrations circulantes plus faibles. Mais il est aussi probable que le mouton possède une plus grande capacité à éliminer le métabolite terminal, soit par son oxydation, soit par sa conjugaison.

Le but ultime des études de pharmacocinétique est de discuter des schémas posologiques. Ici, la question est de savoir si les plus faibles concentrations obtenues avec le sulfoxide chez le dromadaire peuvent entraîner une réduction de l'activité thérapeutique du triclabendazole, justifiant ainsi une adaptation posologique. Pour y répondre, il convient de prendre en compte les concentrations plasmatiques efficaces du sulfoxide. *In vitro*, il a été montré que des concentrations de 10 à 25 µM ($3,75$ à $9,37$ µg/ml) avaient de puissants effets inhibiteurs sur la mobilité de *Fasciola hepatica*. De plus, ce parasite est plus sensible au sulfoxide qu'au triclabendazole, sous

réserve que l'imprégnation par le sulfoxide soit suffisante, au moins 24 h (2). Cela signifie que la moindre biodisponibilité de sulfoxide chez le dromadaire n'est pas synonyme de moindre efficacité thérapeutique. En effet, le temps de demi-élimination du sulfoxide, plus long chez le dromadaire, peut entraîner une durée d'exposition des parasites hématophages au sulfoxide plus importante que chez le mouton.

A partir des paramètres moyens calculés dans la présente étude, on a calculé que des concentrations plasmatiques en sulfoxide de 3 µg/ml seraient maintenues pendant 49 h chez le dromadaire recevant une dose de

10 mg/kg. Bien que cette valeur soit plus courte que celle qui est calculée chez le mouton (78 h), elle est probablement largement suffisante pour assurer une activité fasciolicide du triclabendazole.

En définitive, la biodisponibilité systémique du sulfoxide de triclabendazole semble plus réduite chez le dromadaire que chez le mouton. Cependant, une élimination plus lente chez le dromadaire permet de maintenir des concentrations sanguines efficaces pendant un temps adéquat pour assurer une bonne efficacité du triclabendazole dans le cadre d'une posologie standard.

OUKESSOU (M.), TOUTAIN (P.L.), GALTIER (P.), ALVINERIE (M.). Comparative pharmacokinetics of triclabendazole in camels and sheep. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1991, **44** (4) : 447-452

The authors describe the compared pharmacokinetics of triclabendazole in three camels and four sheep which were given orally a single dose of 10 mg/kg liveweight. Plasma concentrations of triclabendazole and its main metabolites were determined by high performance liquid chromatography. No parental drug was detected in the blood plasma due to a hepatic first passage effect. It appeared that there was a major difference between the two species, triclabendazole sulfoxide concentrations being two times lower in camels than in sheep. *Key words* : Camel - Sheep - Pharmacokinetics - Anthelmintic - Triclabendazole - *Fasciola hepatica*.

OUKESSOU (M.), TOUTAIN (P.L.), GALTIER (P.), ALVINERIE (M.). Estudio comparativo de la farmacocinética del triclabendazol en el cordero y el dromedario. *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop.*, 1991, **44** (4) : 447-452

Se describe la farmacocinética comparada del triclabendazol en tres dromedarios y cuatro corderos, a los cuales se les administró una dosis oral y única de 10 mg de triclabendazol por kg de peso vivo. Se determinaron las concentraciones plasmáticas de triclabendazol y de metabolitos, mediante una cromatografía líquida de gran precisión. La ausencia del principio parental en las dos especies estudiadas corresponde a un efecto de un primer pasaje hepático. Existe una diferencia importante con el sulfoxido de triclabendazol entre las dos especies, con concentraciones dos a tres veces menores en el dromedario que en el cordero. *Palabras claves* : Dromedario - Cordero - Farmacocinética - Antihelmíntico - Triclabendazol - *Fasciola hepatica*.

BIBLIOGRAPHIE

1. ALVINERIE (M.), GALTIER (P.). Assay of triclabendazole and its main metabolites in plasma by high performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, 1986, **374** : 409-444.
2. BENNET (J.L.), KÖBLER (P.). *Fasciola hepatica* : Action *in vitro* of triclabendazole on immature and adult stages. *Exp. Parasitol.*, 1987, **63** : 49-57.
3. BOGAN (J.A.), KINABO (L.D.B.), STRONG (M.B.), FORMICA (G.), GALTIER (P.), ALVINERIE (M.). Pharmacokinetics of triclabendazole in cattle, sheep, goats, horses, ponies, donkeys, pigs and man. *In* : Veterinary pharmacology, toxicology and therapy in food producing animals. Budapest, 28 august-2 september 1988.
4. CRAIG (T.M.), HUEY (R.L.). Efficacy of triclabendazole against *Fasciola hepatica* and *Fasciola magna* in naturally infected calves. *Am. J. vet. Res.*, 1984, **45** : 1644-1645.
5. DAKKAK (A.), OUHELLI (H.). Helminthes et helminthoses du dromadaire. *Revue Sci. tech. Off. int. Épiz.*, 1987, **6** : 423-445.
6. DELATOUR (P.), BENOIT (E.). Métabolisme, mode d'action et pharmacocinétique des anthelminthiques chez les ruminants. *Revue méd. vét. (Numéro spécial : Journée toulousaine de parasitologie, 5 novembre 1987)*.
7. DELATOUR (P.), OUHSINE (A.), BENOIT (E.). Comparative pharmacokinetics of netobimin and albendazole in the one-humped camel (*Camelus dromedarius*). *Br. vet. J.*, 1989, **145** : 478-482.

8. GALTIER (P.), ALVINERIE (M.), DELATOUR (P.). *In vitro* sulfoxidation of albendazole by ovine liver microsomes. *Am. J. vet. Res.*, 1986, **47** : 447-452.
9. GIBALDI (M.), PERRIER (D.). Pharmacokinetics. In : SWARBRICK (J.) ed. *Drugs in the pharmaceutical sciences*. New York, Marcel Dekker, 1975.
10. GOUYETTE (A.). Pharmacokinetics statistical moment calculation. *Drug. Res.*, 1983, **33** : 173-176.
11. HENESSY (D.A.), LACEY (P.), STEEL (J.W.), PRICHARD (R.K.). The kinetics of triclabendazole disposition in sheep. *J. vet. Pharmacol. Ther.*, 1987, **10** : 61-72.
12. KINABO (L.D.B.), BOGAN (J.A.). Disposition of triclabendazole in horses, ponies and donkeys. *Equine vet. J.*, 1989, **21** : 305-307.
13. KINABO (L.D.B.), BOGAN (J.A.). Pharmacokinetic and efficacy of triclabendazole in goats. *J. vet. Pharmacol. Ther.*, 1988, **11** : 254-259.
14. MARRINER (S.E.), BOGAN (J.A.). Pharmacokinetic of albendazole in sheep. *Am. J. vet. Res.*, 1980, **41** : 1126-1129.
15. WOLF (K.), ECKERT (J.), SCHNEITER (G.), LUTZ (H.). Efficacy of triclabendazole against *Fasciola hepatica* in sheep and goats. *Vet. Parasitol.*, 1983, **13** : 145-150.
16. YAMAOKA (K.), TANIGAWARA (Y.), NAKAGAWA (T.), UNO (T.). A pharmacokinetic analysis program (MULTI) for micro-computer. *J. Pharmacobiodyn.*, 1981, **4** : 879-889.