



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : [http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints ID : 18075](http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints/18075)

To cite this version :

Lallemand, Elodie. *Pharmacocinétique de la moxidectine chez le chien*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2007, 63 p.

Any correspondence concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

PHARMACOCINETIQUE DE LA MOXIDECTINE CHEZ LE CHIEN

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement en 2007
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

Elodie LALLEMAND

Née, le 07 Décembre 1982 à VITRY SUR SEINE

Directeur de thèse : **M. le Professeur Pierre-Louis TOUTAIN**

JURY

PRESIDENT :

M. Jean-Louis MONTASTRUC

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSESEUR :

M. Pierre-Louis TOUTAIN

M. Alain BOUSQUET-MELOU

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MINISTERE DE L'AGRICULTURE ET DE LA PECHE
ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur	: M.	A. MILON
Directeurs honoraires	M.	G. VAN HAVERBEKE
	M.	J. FERNEY
	M.	P. DESNOYERS
Professeurs honoraires	M.	L. FALIU
	M.	C. LABIE
	M.	C. PAVAU
	M.	F. LESCURE
	M.	A. RICO
	M.	D. GRIESS
	M.	A. CAZIEUX
	Mme	V. BURGAT
	M.	J. CHANTAL
	M.	J.-F. GUEIFI
	M.	M. ECKHOUTTE

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **BRAUN Jean-Pierre**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
- M. **CABANIE Paul**, *Histologie, Anatomie pathologique*
- M. **DARRE Roland**, *Productions animales*
- M. **DORCHIES Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **TOUTAIN Pierre-Louis**, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 1^{ère} CLASSE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **BODIN ROZAT DE MANDRES NEGRE Guy**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les industries agro-alimentaires*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **HENROTEAUX Marc**, *Médecine des carnivores*
- M. **MARTINEAU Guy-Pierre**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

PROFESSEURS 2^e CLASSE

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootecnie*
- M. **DUCOS de LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
- Mme **KOLF-CLAUW Martine**, *Pharmacie -Toxicologie*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
- Mlle. **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des équidés et des carnivores domestiques*

INGENIEUR DE RECHERCHES

- M. **TAMZALI Youssef**, *Responsable Clinique équine*

PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAÎTRE DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour*

MAÎTRES DE CONFERENCES CLASSE NORMALE

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
Mme **BENNIS-BRET, Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
Mme **BOUCLAINVILLE –CAMUS, Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mme **BOUCRAUT-BARALON Corine**, *Pathologie infectieuse*
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale*
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
Mme **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie du bétail*
Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé Avicoles et Cunicoles*
M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologie, Histologie*
Mme **LETRON –RAYMOND, Isabelle**, *Anatomie pathologique*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie chirurgicale*
M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminant*
M. **MONNEREAU Laurent**, *Anatomie, Embryologie*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*
M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
Mme **TROEGELER –MEYNADIER, Annabelle**, *Alimentation*
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*

MAÎTRES DE CONFERENCES CONTRACTUELS

- M. **CASSARD Hervé**, *Pathologie du bétail*
M. **NOUVEL Laurent-Xavier**, *Pathologie de la reproduction*
M. **PADHILA MATHIAS Goncalo**, *Maladies contagieuses*
M. **REYNOLDS Brice**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*
M. **VOLMER Romain**, *Infectiologie*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mlle **BIBBAL Delphine**, *H.I.D.A.O.A Sciences de l'Alimentation*
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales*

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur Jean-Louis MONTASTRUC

Professeur des Universités
Praticien hospitalier
Pharmacologie médicale et clinique

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommages respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur Pierre-Louis TOUTAIN

Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Physiologie et Thérapeutique

*Pour l'intérêt qu'il a porté à notre travail et la confiance qu'il nous a accordée.
Vous nous avez appris l'autonomie et permis d'acquérir une plus grande maturité.*

Nous vous témoignons notre profonde gratitude.

Monsieur le Docteur Alain BOUSQUET-MELOU

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Physiologie et Thérapeutique

Qui nous a fait l'amitié de prendre en considération ce travail et qui nous a éclairé de ses conseils précieux.

Sincères remerciements.

Aux chiens de l'étude
Qui ont si gentiment collaboré à sa réalisation.

A l'ensemble du service de physiologie
Qui m'a si souvent apporté son aide et toujours avec le sourire.

A toute l'équipe du laboratoire de l'INRA
Qui a grandement collaboré à cette étude, en particulier à Michel Alvinerie qui m'a accueilli dans son laboratoire et à Anne Lespine qui m'a guidée tout au long de cette étude.

A mes amis
Qui ont rendu ces années d'école formidables et m'ont aidé pour la réalisation de cette thèse.

A mes parents
Qui m'ont soutenue et supportée tout au long de ma vie. Tout mon amour.

Table des matières

<i>Introduction</i>	12
<i>Partie 1 : Etude Bibliographique</i>	14
<i>1. Caractéristiques générales de la moxidectine</i>	14
<i>2. Pharmacocinétique de la moxidectine : données existantes</i>	15
2.1) Définition des principaux paramètres pharmacocinétiques	16
2.1.1) Clairance plasmatique	16
2.1.2) Volume de distribution	16
2.1.3) Temps de demi-vie	16
2.1.4) Temps moyen de résidence.....	17
2.1.5) Aire sous la courbe.....	17
2.1.6) Concentration maximale	17
2.1.7) Temps d'occurrence du pic des concentrations plasmatiques.....	17
2.1.8) Biodisponibilité.....	17
2.2) Données disponibles sur la pharmacocinétique de la moxidectine 18	
2.2.1) Devenir de la moxidectine dans l'organisme de mammifères.....	18
2.2.2) Influence de l'espèce sur la pharmacocinétique de la moxidectine	19
2.2.3) Comparaison des paramètres pharmacocinétiques de la moxidectine avec d'autres lactones macrocycliques	20
2.2.4) Influence de l'absorption par voie lymphatique sur les médicaments.....	22
2.2.5) Autres facteurs influençant la pharmacocinétique de la moxidectine	22
<i>3. Pharmacodynamie de la moxidectine</i>	24
3.1) Mécanisme d'action : modalités de l'activité antiparasitaire	24
3.2) Indications thérapeutiques de la moxidectine chez le chien	25
3.3) Toxicité de la moxidectine	26

4. Conclusion et perspectives	28
 Partie 2 : Données expérimentales	31
1. Matériel et méthode	31
1.1) Formulation de la moxidectine	31
1.2) Animaux et conditions d'expérimentation	31
1.3) Protocole expérimental et réalisation pratique	33
1.3.1) Phase expérimentale sans lipides.....	33
1.3.1.1) Administration orale de moxidectine sans lipides	33
1.3.1.2) Administration intraveineuse de moxidectine	33
1.3.1.3) Prélèvements de sang et traitement des échantillons	33
1.3.2) Phase expérimentale avec lipides.....	34
1.3.2.1) Administration orale de moxidectine avec lipides.....	34
1.3.2.2) Administration intraveineuse de moxidectine	34
1.3.2.3) Prélèvements de sang et traitement des échantillons	34
1.4) Analyse des échantillons	35
1.4.1) Dosage de la moxidectine par HPLC	35
1.4.2) Dosage des triglycérides	38
1.5) Analyse des données.....	39
2. Résultats.....	41
2.1) Administration et effets secondaires	41
2.2) Chromatogramme	42
2.3) Dosage de la moxidectine.....	42
2.4) Pharmacocinétique.....	44
2.5) Dosage des triglycérides.....	49
3. Discussion.....	49
 Conclusion	53

Bibliographie..... 54

Annexes

Annexe 1 :

Figure 4 : Chromatogramme du dosage de la moxidectine dans le plasma du chien 1 au temps 4h de l'administration par voie intraveineuse.....60

Annexe 2 :

Tableau. 5 : Concentration plasmatique en moxidectine en ng/ml chez le chien Beagle (M=male, F=femelle) après administration orale puis intraveineuse de moxidectine à la dose de 200 µg/kg sans co-administration de lipides (n=5).....61

Annexe 3 :

Tableau 6 : Concentration plasmatique en moxidectine en ng/ml chez le chien Beagle (M=male, F=femelle) après administration orale puis intraveineuse de moxidectine à la dose de 200 µg/kg avec co-administration de lipides lors de l'administration orale (n=5).....62

Table des illustrations

Figures :

Figure 1 : Structure chimique de la moxidectine.....	14
Figure 2 : Structure de la moxidectine (A) et de son dérivé fluorescent (B).....	37
Figure 3 : Schéma du modèle tricompartimental utilisé pour analyser les concentrations en moxidectine obtenues chez le chien.....	40
Figure 4 : Chromatogramme du dosage de la moxidectine dans le plasma du chien 1 au temps 4h de l'administration par voie intraveineuse.....	en annexe 1
Figure 5 : Concentration plasmatique observée en moxidectine en fonction du temps chez 10 chiens sur les premières 72 h après une administration de 200 µg/kg de moxidectine <i>per os</i> sans (●, n=5) ou avec (□, n=5) une co-administration de lipides.....	43
Figure 6 : Concentration plasmatique en moxidectine en fonction du temps observée sur 480 h après une administration de 200 µg/kg de moxidectine <i>per os</i> chez des chiens femelles (●, n=5) ou chez des chiens males (□, n=5).....	43
Figure 7 : Taux d'entrée de la moxidectine après administration orale obtenu grâce à une déconvolution chez un chien représentatif sans (A) ou avec (B) co-administration de lipides.....	45
Figure 8 : Concentration plasmatique en moxidectine observée (●) et prédite (—) après une administration orale puis intraveineuse de moxidectine chez un chien représentatif.....	46
Figure 9 : Relation entre le volume de distribution (Vss) et le poids corporel des chiens des deux groupes.....	48

Tableaux :

Tableau 1 : Paramètres pharmacocinétiques de la moxidectine chez différentes espèces.....	19
Tableau 2 : Paramètres pharmacocinétiques de la moxidectine, de l'ivermectine et de la doramectine chez différentes espèces.....	21
Tableau 3 : Description des chiens inclus dans la première phase expérimentale.....	32
Tableau 4 : Description des chiens inclus dans la seconde phase expérimentale.....	32
Tableau 5 : Concentration plasmatique en moxidectine en ng/ml chez le chien Beagle (M=male, F=femelle) après administration orale puis intraveineuse de moxidectine à la dose de 200 µg/kg sans co-administration de lipides (n=5).....	en annexe 2

Tableau 6 : Concentration plasmatique en moxidectine en ng/ml chez le chien Beagle (M=male, F=femelle) après administration orale puis intraveineuse de moxidectine à la dose de 200 µg/kg avec co-administration de lipides lors de l'administration orale (n=5).....en annexe 3

Tableau 7 : Paramètres pharmacocinétiques de la moxidectine chez des chiens Beagle (M=male; F=femelle) après une administration orale puis intraveineuse de moxidectine à une dose de 200 µg/kg sans (n=5) ou avec (n=5) co-administration de lipides lors de la phase orale.....47

Tableau 8 : Concentration plasmatique en triglycérides en mM chez les chiens 6 à 10 (M=male, F=femelle) après administration orale d'huile de maïs à la dose de 2.5 ml/kg puis 30 mn après administration orale de moxidectine à la dose de 200 µg/kg (n=5).....49

Introduction

Les antiparasitaires constituent la classe de médicaments la plus utilisée en dermatologie canine, compte tenu de la fréquence dans cette espèce des ectoparasites et de leurs dermatoses associées. Ils visent à tuer les parasites responsables, essentiellement des acariens et des insectes, mais aussi à prévenir l'infestation des chiens.

Depuis 15 ans, on a assisté au développement de molécules de plus en plus efficaces qui agissent en surface ou par voie systémique. Par ailleurs, la recherche pharmaceutique s'est orientée vers des molécules de plus en plus rémanentes et de moins en moins toxiques pour les mammifères dont l'homme.

Les lactones macrocycliques répondent à ces impératifs. Elles sont les antiparasitaires les plus utilisés au monde pour le traitement des parasites externes et internes des animaux (McKellar 1996).

Elles sont composées de deux familles chimiques distinctes :

- les avermectines, dont l'ivermectine, l'éprinomectine et la doramectine,
- et les milbémycines, dont la moxidectine.

Ces deux familles, proches structurellement, sont obtenues par des fermentations de *Streptomyces* et elles ont une activité biologique similaire. La différence majeure entre ces deux familles est la présence d'une chaîne disaccharidique en C13 du noyau lactone chez les avermectines alors que les milbémycines en sont dépourvues (Shoop 1995).

Les propriétés acaricide et insecticide des milbémycines ont été découvertes en 1973 mais on ne réalisa leur potentiel nématocide qu'en 1975 par analogie avec ce qui venait d'être découvert avec l'utilisation des avermectines. Les lactones macrocycliques furent alors appelées endectocides car elles associent une action sur les parasites internes (endocides) et externes (ectocides).

L'activité anthelminthique des antiparasitaires est reliée à la fois aux propriétés pharmacodynamiques intrinsèques du médicament sur le parasite cible mais également à la présence de concentrations significatives en terme de niveau et de durée du pharmacophore sur le site d'action. Cette seconde notion relève des propriétés pharmacocinétiques du

médicament et il est primordial de les maîtriser pour obtenir une efficacité optimale des médicaments.

Les données concernant la pharmacocinétique de la moxidectine chez le chien sont peu nombreuses et l'objet de notre travail de thèse a été d'évaluer les principaux paramètres pharmacocinétiques de la moxidectine chez le chien avec une attention particulière quant à la biodisponibilité par voie orale et l'influence de la richesse en lipides de la ration alimentaire sur ce paramètre.

Dans une première partie de ce travail, nous rappellerons les principales propriétés de la moxidectine; la seconde partie, expérimentale, a consisté à étudier la disposition de la moxidectine chez le chien à la fois par voie intraveineuse (pour obtenir les paramètres pharmacocinétiques de base) et par voie orale pour documenter la biodisponibilité de la moxidectine en fonction de la richesse de la ration alimentaire en lipides.

La partie expérimentale de ce travail a été réalisée à l'UMR 181 Physiopathologie et Toxicologie Expérimentales INRA, ENVT et à l'INRA-UR66, Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie pour la partie analytique.

Les milbémycines ont été, comme les avermectines, séparées en deux groupes A et B en fonction du substituant en C5 : méthoxy ou hydroxy. La moxidectine possède un substituant hydroxy en C5 et de nombreuses recherches ont montré que cet hydroxy est essentiel pour obtenir une efficacité élevée et garantir un large spectre (Mrozik 1982), (Naito 1994).

Elle possède de plus un substituant méthoxy en C23 et un isopropyl en C25, ce qui la rend 100 fois plus lipophile que l'ivermectine. Cette lipophilie est caractérisée par un coefficient de partition n-octanol/eau élevé avec un $\log_p=6.0$ et par une faible solubilité dans l'eau de 4.3 mg/L (McKellar 1996).

Cette liposolubilité explique *in vivo* que la moxidectine est majoritairement stockée dans le tissu adipeux (Hennessy 2002). Cela pourrait être l'explication d'un temps de résidence élevé dans l'organisme.

La moxidectine possède plus de similitudes avec l'abamectine qu'avec l'ivermectine, elle est donc plus puissante en tant qu'anthelminthique et acaricide qu'en tant qu'insecticide. A l'inverse de l'ivermectine, elle n'a pas d'activité à 0.2 mg/kg contre *Dermatobia* ou *Damalinea* qui sont des insectes ; en revanche, elle a un spectre anthelminthique plus important et à une moindre dose que l'ivermectine (Shoop 1995).

2. Pharmacocinétique de la moxidectine : données existantes

L'activité anthelminthique des antiparasitaires est reliée à la fois à la puissance de l'action intrinsèque du médicament sur le parasite cible, et à la présence de concentrations significatives en terme de niveau et de durée du pharmacophore sur le site d'action. Dès lors, si le premier aspect relève de la pharmacodynamie, la seconde notion relève de la pharmacocinétique, qui est primordiale pour obtenir une efficacité optimale des médicaments. De plus, la connaissance de la pharmacocinétique permet d'adapter le schéma posologique à chaque espèce et donc d'utiliser au mieux les principes actifs actuels ; cela permet d'éviter l'apparition de résistances, un objectif primordial lorsqu'on sait que des résistances sont rapportées chez la chèvre et que la découverte de nouveaux antiparasitaires auxquels les parasites seraient sensibles semble compromise dans un proche avenir.

La pharmacocinétique décrit le sort des médicaments dans l'organisme : elle précise de façon qualitative et quantitative les processus d'absorption, de distribution, de métabolisation et d'élimination du principe actif.

2.1) Définition des principaux paramètres pharmacocinétiques

2.1.1) Clairance plasmatique

La clairance plasmatique (Cl), exprimée en mL/kg/min, est un paramètre pharmacocinétique majeur. Elle mesure la capacité d'un organisme ou d'un organe à éliminer un médicament. Elle doit être connue pour toute nouvelle molécule et sa détermination requiert une administration intraveineuse. Les clairances sont additives et la clairance plasmatique est la somme des différentes clairances (clairance hépatique, rénale...).

2.1.2) Volume de distribution

Le volume de distribution (Vd), exprimé en L/kg, exprime le rapport entre la quantité totale de médicament dans l'organisme et les concentrations plasmatiques. Son interprétation physiologique permet de discuter de la répartition d'un médicament dans l'organisme. Chez l'homme, on considère qu'une substance dont le volume de distribution est inférieur à 4 litres est uniquement distribuée au niveau plasmatique, et un composé dont le volume de distribution approche les 42 litres doit être considéré comme se distribuant à l'ensemble des secteurs hydriques.

2.1.3) Temps de demi-vie

Le temps de demi-vie plasmatique ($t_{1/2}$), exprimé en min ou h, se définit comme étant le temps nécessaire pour que les concentrations plasmatiques soient divisées par deux lorsque l'équilibre de pseudo-distribution est atteint ; le temps de demi-vie ne peut donc se calculer que sur la phase terminale de la courbe des concentrations plasmatiques. Il s'agit d'un paramètre hybride contrôlé par la clairance et le volume de distribution avec :

$$t_{1/2} = \frac{0.693 \times V_d}{Cl}.$$

2.1.4) Temps moyen de résidence

Le temps moyen de résidence (MRT), exprimé en min ou en h, se définit comme étant le temps passé, en moyenne, par une molécule de médicament dans l'organisme. Contrairement au temps de demi-vie, le MRT prend en compte la totalité des processus de disposition (absorption, distribution et élimination).

2.1.5) Aire sous la courbe

L'aire sous la courbe (ou Area Under the Curve, AUC), exprimé en ng.h.mL^{-1} est la surface sous tendue par la courbe des concentrations plasmatiques en fonction du temps. Elle exprime le niveau d'exposition de l'organisme au médicament et est contrôlée par la biodisponibilité et la clairance du médicament.

2.1.6) Concentration maximale

La concentration maximale (C_{max}) est la concentration plasmatique maximale relevée durant le processus cinétique.

2.1.7) Temps d'occurrence du pic des concentrations plasmatiques

Le temps d'occurrence du pic des concentrations plasmatiques (T_{max}) est le temps nécessaire pour atteindre la concentration maximale (C_{max}).

2.1.8) Biodisponibilité

La biodisponibilité (F) mesure le pourcentage du médicament qui atteint la circulation systémique après son absorption.

La biodisponibilité orale (F_{orale}) est calculée selon la formule : $F_{\text{orale}} = \frac{AUC_{\text{orale}}}{AUC_{\text{IV}}} \times 100$

où l' AUC_{orale} est obtenue après l'administration d'une dose identique à la voie intraveineuse de médicament par voie orale. Ce calcul postule l'égalité des clairances par voie IV et orale.

Ces facteurs, et donc l'efficacité thérapeutique, peuvent être influencés par la formulation du principe actif, la voie d'administration et l'espèce animale cible et la physiologie de l'hôte.

2.2) Données disponibles sur la pharmacocinétique de la moxidectine

2.2.1) Devenir de la moxidectine dans l'organisme de mammifères

L'administration de moxidectine marquée au C_{14} chez le cheval (Afzal 1997), le mouton (Afzal 1994) et la vache (Zulalian 1994) a donné des résultats similaires : la moxidectine est largement distribuée dans tous les tissus, sa lipophilie permettant sans doute une large distribution de cette molécule dans l'organisme à partir du compartiment sanguin.

Des travaux ont démontré que les concentrations plasmatiques et les concentrations observées au niveau des sites d'action, comme la muqueuse digestive et la peau, sont étroitement corrélées dans le cas des lactones macrocycliques et de la moxidectine en particulier (Lifschitz 1999).

Elle est ainsi retrouvée à d'importantes concentrations dans le tissu adipeux abdominal et dorsal, cette localisation dans le tissu adipeux favorisant sa longue rémanence dans l'organisme. Elle est ensuite retrouvée à de plus faibles concentrations dans le foie, les reins puis les muscles.

L'excrétion de la moxidectine dans le lait de vache est très importante en période de lactation ; elle représente 5% de la dose administrée chez la vache (Alvinerie 1996).

Dans le compartiment central, la moxidectine n'est pas liée aux cellules (hématies, leucocytes et plaquettes) et se retrouve exclusivement dans le sérum.

L'élimination se fait principalement par voie biliaire (Lanusse 1997) et on retrouve la majeure partie de la molécule dans les fèces. La moxidectine n'est présente qu'en très faible quantité dans les urines. C'est la forme non modifiée qui est retrouvée en majeure partie, la minorité étant constituée de métabolites issus de l'hydroxylation de la moxidectine.

Cette métabolisation en C_{29} et C_{14} monohydroxyméthyl métabolites a lieu dans le foie et fait intervenir de façon prédominante un métabolisme de phase I par la voie d'un cytochrome de type P450 3A.

2.2.2) Influence de l'espèce sur la pharmacocinétique de la moxidectine

Tabl. 1 : Paramètres pharmacocinétiques de la moxidectine chez différentes espèces.

Paramètre	Espèce	Chien	Mouton	Vache	Chèvre	Cheval	Homme
	Dose ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	250	200	200	200	200	250
	Voie	Orale	Orale	Sous-cutanée	Orale	Orale	Orale
Cl/F (L/h/kg)		0.021		0.039			0.045
Vss/F (L/kg)		9.96		13.60			34.84
$t_{1/2}$ (h)		409.2	504.9	348.0	288.0	544.6	528.0
MRT (h)			301.2	350.4	247.2	442.1	
AUC (ng.h/mL)		13200	2373	5208	881	8726	5856
C _{max} (ng/mL)		253.0	28.1	39.4	17.5	70.4	141.0
T _{max} (h)		2.4	5.3	7.7	8.9	8.9	2.0
Référence		1	2	3	4	5	6

Cl: clairance plasmatique; Vss: volume de distribution; F: biodisponibilité, inconnue dans ces études; $t_{1/2}$: temps de demi-vie terminal; MRT: temps de residence moyen; AUC: aire sous la courbe, C_{max}: concentration plasmatique en moxidectine maximale au temps T_{max}.

Références : 1 (Vanapalli 2002), 2 (Alvinerie 1998), 3 (Lanusse 1997), 4 (Escudero 1999), 5 (Perez 1999), 6 (Cotreau 2003)

Le tableau 1 présente les paramètres pharmacocinétiques de la moxidectine chez différentes espèces. Le $t_{1/2}$ de la moxidectine chez le chien est de 17j (Vanapalli 2002), il est comparable à celui du mouton qui est de 21j (Alvinerie 1998) et à celui de la vache qui est de 14.5j (Lanusse 1997) ainsi qu'aux autres espèces étudiées. Il en est de même pour le MRT.

En ce qui concerne l'AUC, elle est proportionnellement plus élevée chez le chien que dans les autres espèces, bien que cette différence soit moins marquée avec le cheval.

La concentration maximale en moxidectine par voie orale est atteinte plus rapidement chez le chien (T_{max} de 2.4h (Vanapalli 2002)) et l'homme que chez la chèvre, le cheval, la vache et le mouton (T_{max} allant de 5 à 9h). Cela est probablement dû au fait que le chien est un monogastrique. La C_{max} apparaît proportionnellement plus importante chez le chien que dans les autres espèces.

On peut ajouter à ces données la biodisponibilité orale de la moxidectine chez le cheval qui est estimée à 40% (Afzal 1997).

2.2.3) Comparaison des paramètres pharmacocinétiques de la moxidectine avec d'autres lactones macrocycliques

Le tableau 2 indique les paramètres pharmacocinétiques de la moxidectine, de l'ivermectine et de la doramectine chez différentes espèces.

Comparée à l'ivermectine, une autre lactone macrocyclique couramment utilisée, la moxidectine a un volume de distribution plus élevé et un temps de demi-vie augmenté chez le chien. En effet, les volumes de distribution sont respectivement de 2.40 L/kg et de 9.96 L/kg et les $t_{1/2}$ sont de 1.8 j et de 17.0 j pour l'ivermectine et la moxidectine (Lo 1985), (Vanapalli 2002).

Cette tendance se retrouve chez les autres espèces. On peut observer (cf. tableau 2) que le $t_{1/2}$ de la moxidectine est plus long que celui de l'ivermectine ou de la doramectine (Alvinerie 1998, Cotreau 2003, Lanusse 1997), ce qui fait d'elle une des lactones macrocycliques les plus rémanentes. Cette tendance est également observable pour le MRT.

Tabl. 2 : Paramètres pharmacocinétiques de la moxidectine, de l'ivermectine et de la doramectine chez différentes espèces.

Entre parenthèses figurent la dose, la voie d'administration et la référence de chaque donnée.

Paramètre	Espèce	Moxidectine	Ivermectine	Doramectine
Cl (mL/kg/j)	Vache	636 (70 µg/kg IV, 1)	347 (70 µg/kg IV, 1)	185 (70 µg/kg IV, 1)
Vd/F (L/kg)	Chien	9.96 (250 µg/kg PO, 2)	2.40 (200 µg/kg IV, 3)	
Vd (L/kg)	Vache	14.94 (70 µg/kg IV, 1)	2.72 (70 µg/kg IV, 1)	3.26 (70 µg/kg IV, 1)
T ½ (h)	Chien	409.2 (250 µg/kg PO, 2)	43.2 (200 µg/kg IV, 3)	
	Homme	528.0 (250 µg/kg PO, 4)	15.0 (430 µg/kg PO, 5)	
	Mouton	504.9 (200 µg/kg PO, 6)	61.1 (200 µg/kg PO, 7)	
	Vache	516.0 (70 µg/kg IV, 1)	187.2 (70 µg/kg IV, 1)	340.8 (70 µg/kg IV, 1)
MRT (h)	Mouton	301.2 (200 µg/kg PO, 6)	187.2 (200 µg/kg PO, 6)	
	Vache	350.4 (200 µg/kg SC, 8)	176.4 (200 µg/kg SC, 8)	218.2 (200 µg/kg SC, 8)
	Cheval	420.0 (200 µg/kg PO, 9)	55.2 (200 µg/kg PO, 9)	72.0 (200 µg/kg PO, 9)
AUC (ng.j/mL)	Vache	217 (200 µg/kg SC, 8)	459 (200 µg/kg SC, 8)	627 (200 µg/kg SC, 8)
	Cheval	92.8 (200 µg/kg PO, 9)	46.1 (200 µg/kg PO, 9)	53.3 (200 µg/kg PO, 9)
	Chameau	73.3 (200 µg/kg SC, 10)	66.3 (200 µg/kg SC, 10)	

Cl : clairance plasmatique, Vd : volume de distribution ; F : biodisponibilité, inconnue dans cette étude ;

t½ : temps de demi-vie terminal ; MRT : temps de résidence moyen ; AUC : aire sous la courbe.

Références : 1(Bousquet-Melou 2004), 2 (Vanapalli 2002), 3 (Lo 1985), 4 (Cotreau 2003), 5 (Guzzo 2002), 6 (Alvinerie 1998), 7 (Marriner 1987), 8 (Lanusse 1997), 9 (Gokbulut 2001), 10 (Alvinerie 1997).

2.2.4) Influence de l'absorption par voie lymphatique sur les médicaments

Le système lymphatique est un réseau vasculaire qui a pour rôle primaire de drainer l'eau capillaire dans la circulation systémique. Mais le système lymphatique intestinal possède un rôle supplémentaire : celui du drainage des lipides alimentaires et des vitamines liposolubles dans la circulation systémique.

La majorité des substances administrées *per os* gagnent la circulation générale par le sang portal. Mais pour les composés très lipophiles, le transport *via* la voie lymphatique est un moyen complémentaire d'accéder à la circulation systémique. Ils sont généralement transportés en association avec des lipoprotéines intestinales. Il est donc fréquent de réaliser une co-administration de lipides afin de favoriser la formation des lipoprotéines et donc d'augmenter la part des médicaments absorbée par voie lymphatique.

Le transport des médicaments par voie lymphatique peut avoir plusieurs avantages : il permet de supprimer un éventuel effet de premier passage au niveau du foie, il peut permettre de prolonger la délivrance du médicament et enfin il peut permettre une augmentation de la biodisponibilité (Edwards 2001).

Beaucoup de médicaments et autres composés chimiques sont connus comme atteignant la circulation centrale par la voie lymphatique ; on peut citer la cyclosporine, la naftifine, l'halofantrine et le DDT (Porter 1997).

Les lactones macrocycliques sont des substances très lipophiles qui circulent dans le sang associées aux lipoprotéines (Bassissi 2004a), et nous avons déjà vu que la moxidectine est une des lactones macrocycliques les plus lipophiles. De plus, la co-administration d'huile chez l'homme et le lapin augmente la biodisponibilité de la moxidectine (Cotreau 2003), (Bassissi 2004b).

Ces différentes informations semblent indiquer que la moxidectine est un candidat potentiel au transport lymphatique intestinal.

2.2.5) Autres facteurs influençant la pharmacocinétique de la moxidectine

De multiples facteurs influencent la pharmacocinétique de la moxidectine.

Le sexe semble avoir une influence. Chez les chiennes, la moxidectine a un $t_{1/2}$ vie supérieur aux mâles (Vanapalli 2002).

Le poids des animaux a une influence sur le volume de distribution de la moxidectine administrée par voie orale chez le chien (Vanapalli 2002) et chez les porcs plus gras, la persistance de la moxidectine administrée par voie sous-cutanée est plus importante (Craven 2002).

La race a aussi une influence sur la pharmacocinétique de cette molécule, comme cela a été démontré chez la vache (Sallovitz 2002). L'AUC et la Cmax sont significativement plus faibles chez la vache Angus que chez la Prim'Holstein lors d'administration de moxidectine en pour-on à une dose de 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$, alors que le $T_{1/2}$ et le MRT sont similaires chez les 2 races.

Le parasitisme a également une influence sur la pharmacocinétique de la moxidectine. On peut observer une diminution de l'AUC et du MRT et une augmentation de la clairance chez l'agneau parasité par des nématodes (Lespine 2004). Le parasitisme diminue ainsi la quantité de molécules qui pourront agir sur les parasites.

Par contre, la pharmacocinétique est identique entre la vache et son veau, il n'y a pas, du moins dans cette espèce, d'influence de l'âge (Alvinerie 1996).

La pharmacocinétique varie en fonction de la quantité et du type de nourriture administrée. Chez l'homme, la co-administration d'un repas riche en graisse retarde et augmente la biodisponibilité de la moxidectine (Cotreau 2003). Chez le lapin, on observe un doublement de l'exposition à la moxidectine quand elle est co-administrée avec des lipides (Bassissi 2004b).

La mise à jeun des chevaux 24h avant l'administration de moxidectine permet d'augmenter l'AUC et la biodisponibilité de la moxidectine (Alvinerie 2000). Des résultats similaires ont été obtenus chez le mouton et la vache. Un ralentissement du transit intestinal entraîné par la mise à jeun y tient probablement un grand rôle.

Des essais ont été conduits pour étudier l'influence de la co-administration par voie orale de certaines substances. L'administration de l'opéramide, qui inhibe la motilité

intestinale, permet d'augmenter l'absorption de la moxidectine. Par contre, l'administration 3 fois à 12h d'intervalle de 3mg/kg de vérapamil, substrat de la glycoprotéine G, qui est une protéine de transport qui participe à l'excrétion active de molécules, dont les endectocides, du courant sanguin vers le système digestif, est efficace pour l'ivermectine mais n'a pas d'effet sur la pharmacocinétique de la moxidectine (Molento 2004).

3. Pharmacodynamie de la moxidectine

3.1) Mécanisme d'action : modalités de l'activité antiparasitaire

La moxidectine paralyse puis tue les parasites en interférant au niveau de la transmission des signaux nerveux.

Chez les nématodes, les lactones macrocycliques interagissent stéréosélectivement et avec une grande affinité avec un récepteur au glutamate au niveau des canaux chlore de la membrane des cellules nerveuses. Le flux négatif d'ions chlorures entrant dans le neurone hyperpolarise son potentiel de repos et diminue ainsi la fréquence des potentiels d'action. Cela aboutit à une inhibition des neurones et donc à une paralysie flasque des parasites (Shoop 1995). De plus, la libération de GABA est augmentée au niveau des neurones pré-synaptiques. Le GABA agit en neurotransmetteur inhibiteur et bloque les stimulations post-synaptiques du neurone adjacent chez les nématodes ou de la fibre musculaire chez les arthropodes (Plumb 1999).

Ce sont ces mécanismes qui sont à l'origine de l'action endectocide de la moxidectine.

La moxidectine peut aussi interagir faiblement avec un récepteur au GABA (acide amino- γ -butyrique) situé lui aussi au niveau des canaux chlore. Ce récepteur est présent chez les vertébrés, et c'est ce qui explique la possibilité d'une toxicité des endectocides chez les animaux traités.

3.2) Indications thérapeutiques de la moxidectine chez le chien

La moxidectine est une molécule à large spectre : elle est efficace à une concentration relativement basse contre une grande variété de nématodes et d'arthropodes chez les bovins et les ovins (Shoop 1995) où elle possède une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM).

Actuellement, la moxidectine ne dispose pas d'AMM en France pour l'espèce canine mais de nombreuses études attestent de son efficacité sur des parasites spécifiques à l'espèce canine.

La Démodécie est une des maladies les plus courantes en dermatologie canine. Elle est due à *Demodex canis* et se manifeste sous une forme localisée avec de l'érythème et des ronds alopéciques ou sous forme généralisée avec des comédons, de la furonculose et de la furunculite, parfois avec des infections secondaires. La moxidectine possède une très bonne efficacité contre *Demodex canis* à une dose de 400µg/kg par administration orale journalière (Wagner, R. 2000). Le traitement doit être poursuivi jusqu'à l'obtention de deux séries de raclages cutanés négatifs à un mois d'intervalle.

La moxidectine peut également être utilisée dans le traitement de la gale sarcoptique due aux *Sarcoptes spp.* On peut l'utiliser à une dose de 400µg/kg en administration sous-cutanée, 2 fois à 10 jours d'intervalle (Guaguere 2002) ou bien à 250µg/kg *per os* ou sous cutané, mais il faut alors renouveler le traitement jusqu'à 6 fois (Wagner, R. 2000).

La moxidectine est efficace dans le traitement de la gale otodectique à la dose de 400µg/kg en injection sous-cutanée, 2 fois à 10 jours d'intervalle (Guaguere 2002) et également dans le traitement de la cheyletiellose (Guaguere 2002).

De part son activité endectocide, la moxidectine possède également un intérêt dans la lutte contre les parasites internes du chien. Elle est très efficace contre *Toxocara canis*, parasites internes les plus fréquemment rencontrés dans l'espèce canine, à la dose de 200 µg/kg par voie sous cutanée, et cela même sur les chiens très infestés et avec une longue durée d'action, permettant ainsi une prévention des réinfestations (Martinez Labat 1996).

Ancylostoma caninum est un parasite intestinal qui se transmet de la femelle porteuse aux chiots lors de l'allaitement et qui crée un risque non seulement pour les chiots mais aussi pour l'homme. L'injection sous-cutanée de moxidectine chez la femelle 5 à 8 jours avant la

parturition à raison de 1000 µg/kg (Epe 1999) permet de prévenir complètement l'infection sans signe local ou systémique pour la femelle.

La thelaziose est une maladie parasitaire affectant l'œil du chien qui est due à des nématodes : *Thelazia callipaeda*. Ce parasite est responsable de nombreux problèmes oculaires, comme de l'épiphora, des conjonctivites, des kératites et des ulcères cornéens. La moxidectine en solution aqueuse injectable à 1% est efficace à une dose approximative de 6µg en instillation dans l'œil (Lia 2004).

La moxidectine a aussi une efficacité démontrée dans le traitement de la dirofilariose, qu'elle soit due à *Dirofilaria immitis* (atteinte cardio-pulmonaire) ou à *D. repens* (atteinte sous-cutanée). Ces parasites, transmis par des moustiques, sont également responsables de zoonoses. Pour prévenir cette pathologie dans les zones endémiques, l'administration mensuelle de 3 µg/kg de moxidectine per os est efficace contre *D. repens* (Rossi 2002) et *D. immitis* (Genchi 2001). L'utilisation d'une formulation sous-cutanée à libération prolongée à raison de 170 µg/kg confère une protection de plus de 180 jours contre *D. immitis* (Lok 2001) et contre *D. repens* (Rossi 2004), ce qui permet protéger un chien pendant toute la saison à risque avec une seule injection.

La moxidectine est donc efficace contre de nombreux parasites mais étant donné qu'elle ne possède pas d'AMM en France à l'heure actuelle, il semble judicieux de prendre des précautions lors de son utilisation, notamment chez les races prédisposées à l'idiosyncrasie et chez des animaux maigres ou débilités comme nous l'expliquerons plus loin.

3.3) Toxicité de la moxidectine

La toxicité des endectocides vis-à-vis des animaux est faible (DL50 ivermectine PO= 25-40 mg/kg chez la souris), il existe une large marge de sécurité. Ces molécules ne présentent pas de propriétés génotoxiques ou carcinogènes, mais des études ont révélé un potentiel tératogène (Marrs 1999). Cependant, des études réalisées pour l'obtention de l'AMM américaine du ProHeart, médicament constitué de moxidectine à usage sous-cutané chez le chien, ont démontré l'absence de risque sur la reproduction (FoodandDrugAdministration 1997).

Quelques incidents relatifs à une neurotoxicité ont été relatés.

Le ProHeart®6, qui contient de la moxidectine à libération prolongée destinée à prévenir les chiens d'une infestation par *Dirofilaria immitis* et dont la posologie est de 0,17 mg/kg par mois, a été retiré du marché américain par la FDA. En effet, plus de 5000 rapports concernant des effets secondaires, comme de l'anaphylaxie, des convulsions, des troubles hématopoïétiques, des pathologies hépatiques et même quelques cas mortels, ont été enregistrés (Sundlof 2004). Il est cependant très probable que ces réactions secondaires soient dues à une libération massive d'antigènes parasitaires plus qu'à une toxicité intrinsèque de la moxidectine.

Lors d'intoxication dose-dépendante par les lactones macrocycliques, les signes cliniques sont majoritairement d'ordre neurologique et digestifs. Ils vont du changement de comportement, de l'ataxie, de l'hyper-salivation et de la léthargie à des trémulations musculaires focales ou généralisées, des vomissements, des convulsions de l'extrême léthargie mentale et du coma. Ces intoxications peuvent parfois être fatales (Beal 1999).

L'activité endectocide et les intoxications des mammifères dues aux avermectines et milbémycines sont attribuables, en partie, à l'agonisme dans l'inhibition du neurotransmetteur GABA. Chez les vertébrés, les avermectines augmentent *in vitro* la libération de GABA par les neurones du cerveau et augmentent sa fixation post-synaptique par une augmentation du nombre de récepteurs. Cette augmentation de GABA entraîne une ouverture des récepteurs aux ions chlorures par fixation du GABA, et donc à une hyperpolarisation des neurones par entrée d'ions chlorures.

Plusieurs hypothèses ont été suggérées pour expliquer la différence de sensibilité entre les espèces cibles et les mammifères. Premièrement, à l'inverse des nématodes, les mammifères n'ont pas de récepteur glutamate avec des sites à forte affinité pour les avermectines. Deuxièmement, dans les espèces cibles, le GABA est un neurotransmetteur présent dans le système nerveux périphérique alors que chez les mammifères, il est majoritairement présent dans le système nerveux central. Et chez la plupart des mammifères, il existe un efflux approprié des lactones macrocycliques hors du système nerveux central au niveau de la barrière hémato-méningée grâce à la glycoprotéine G, sauf en cas d'intoxication. C'est ce qui explique la faible toxicité des endectocides (Beal 1999).

Cependant, des études ont révélées que certains chiens sont plus sensibles à l'ivermectine, notamment les Colleys et des chiens de berger comme le Shetland, le Bearded

Colley, le Bobtail ou le Berger Australien. Cette idiosyncrasie, qui doit être distinguée d'une intoxication dose-dépendante, s'explique par la déficience congénitale d'expression au niveau de la barrière hémato-méningée de la P-glycoprotéine (Roulet 2003). Cette déficience d'expression est due à la délétion d'un exon dans le gène MDR1 (MultiDrugResistant1). Chez un chien homozygote pour cette mutation, ce qui est relativement fréquent chez les Colleys, la P-glycoprotéine est absente. Sans quantité adéquate de P-glycoprotéine, l'ivermectine se retrouve à une concentration importante dans l'encéphale même si elle est administrée à dose thérapeutique. On a observé le même phénomène avec de la milbémycine D (Sasaki 1988).

Une étude a démontré que la moxidectine a un index thérapeutique plus large et une marge de sécurité plus importante que l'ivermectine et que la milbémycine oxime (Paul 2000). Utilisée à la posologie de 850 µg/kg chez 5 Colleys sensibles à l'ivermectine, aucun signe de réaction secondaire n'a été détecté pendant vingt jours (FDA).

4. Conclusion et perspectives

L'activité antiparasitaire des lactones macrocycliques est liée à l'obtention d'une concentration efficace pendant un certain temps dans la circulation systémique. On doit donc s'efforcer d'améliorer l'exposition aux médicaments pour optimiser l'efficacité des lactones macrocycliques.

Dans ce but, l'étude de la pharmacocinétique de la moxidectine chez le chien permet le développement de nouvelles thérapeutiques chez le chien comme chez l'homme dont le chien est un modèle expérimental.

Très peu de données sont disponibles et la seule étude sur le sujet a été réalisée chez des chiens parasités par des filaires *Brugia pahangi*, or nous avons vu que le parasitisme peut avoir une influence sur les paramètres pharmacocinétiques.

Le développement de formulations orales reste un enjeu qui nécessite une meilleure connaissance des mécanismes d'absorption intestinale des médicaments. Comme nous avons pu le voir, la voie lymphatique intestinale contribue pour une part à l'absorption des

xénobiotiques lipophiles et de nombreuses informations indiquent que la moxidectine est un bon candidat potentiel au transport lymphatique intestinal.

On voit donc bien l'intérêt d'étudier la pharmacocinétique de la moxidectine administrée par voie orale chez le chien, mais également l'intérêt d'étudier l'influence d'une co-administration de lipides sur l'absorption de la moxidectine.

Les objectifs de notre travail expérimental ont été :

- de déterminer les paramètres pharmacocinétiques de base de la moxidectine chez le chien, après une administration de moxidectine par voie IV (calcul de la clairance plasmatique, du volume de distribution et du temps de demi-vie)
- d'évaluer la biodisponibilité orale de la moxidectine chez le chien à jeun
- d'évaluer l'influence de la co-administration orale de lipides sur la pharmacocinétique de la moxidectine.

A cette fin, nous avons utilisé une méthode d'administration semi-simultanée qui consiste à administrer la dose extravasculaire puis la dose IV dans un intervalle de temps relativement court. Cette méthode permet de diminuer la variabilité intra-individuelle et permet également un gain de temps sur la durée de la phase animale en évitant une période dite de « washout » très longue dans le cas de la moxidectine (environ 170 jours).

Partie 2 : Données expérimentales

1. Matériel et méthode

L'expérimentation a été réalisée du 28 novembre 2003 au 27 mai 2004 à l'UMR 181 Physiopathologie et Toxicologie Expérimentales INRA, ENVT et à l'INRA-UR66, Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie pour la partie analytique.

Ce travail expérimental fera l'objet d'une publication intitulée :

Estimation of absolute oral bioavailability of moxidectin in dogs using a semisimultaneous method: influence of lipid co-administration. Lallemand E., Lespine A., Alvinerie M., Bousquet-Melou A., Toutain P.-L. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, In Press.

1.1) Formulation de la moxidectine

Les doses orales ont été préparées par dilution au ¼ d'une solution orale de moxidectine (Cydectine® 0.1%, solution orale pour ovins, Fort Dodge) dans de l'eau distillée et les doses intraveineuses ont été préparées par dilution au 1/3 d'une solution injectable de moxidectine (Cydectine® 1%, solution sous-cutanée pour ovins, Fort Dodge) dans du sérum physiologique.

1.2) Animaux et conditions d'expérimentation

Deux groupes de cinq chiens ont été utilisés au cours de la phase expérimentale.

Cinq chiens Beagle (tab. 3), 2 femelles et 3 mâles de 8 à 12 kg, ont été inclus dans la phase expérimentale sans lipides.

Tabl. 3 : Description des chiens inclus dans la première phase expérimentale.

Ces chiens ont reçu 200 µg/kg de moxidectine par voie orale sans co-administration de lipides puis 18j plus tard, la même dose de moxidectine par voie intraveineuse.

N° de Tatouage	Code	Sexe	Poids (kg)
2CGP608	1	Femelle	8.28
2CRL286	2	Mâle	10.90
2CCV021	3	Mâle	11.54
2CRL298	4	Femelle	9.34
2CCV099	5	Mâle	11.18

Cinq autres chiens Beagle, 3 femelles et 2 mâles de 10 à 14 kg, ont été inclus dans la phase expérimentale avec lipides.

Tabl. 4 : Description des chiens inclus dans la seconde phase expérimentale.

Ces chiens ont reçu 200 µg/kg de moxidectine par voie orale avec co-administration de lipides puis 21j plus tard, la même dose de moxidectine par voie intraveineuse.

N° de Tatouage	Code	Sexe	Poids (kg)
2CRL338	6	Femelle	12.22
2CRL330	7	Femelle	11.60
2CRL297	8	Femelle	10.64
2CRL281	9	Mâle	13.86
2CRL269	10	Mâle	11.98

Durant la durée de l'expérimentation, les animaux ont été maintenus selon les bonnes pratiques du laboratoire de l'UMR 181 de l'ENVT. Les chiens avaient chacun une cage individuelle au chenil, ils disposaient d'eau à volonté, étaient nourris avec des croquettes pour chien (Aliment complet pour chiens adultes de races moyennes, Royal Canin, France) contenant 14% de matières grasses brutes et sortaient une fois par jour.

1.3) Protocole expérimental et réalisation pratique

1.3.1) Phase expérimentale sans lipides

Les chiens du premier groupe ont reçu, à jeun, de la moxidectine à raison de 200 µg/kg par voie orale et, 18 jours après l'administration *per os*, la même dose par voie intraveineuse.

1.3.1.1) Administration orale de moxidectine sans lipides

Les chiens ont été pesés et mis à jeun la veille de l'expérimentation.

L'administration intragastrique de moxidectine préparée comme indiqué ci-dessus à une dose de 200 µg/kg a été réalisée par gavage des chiens à l'aide d'une sonde gastroduodénale de type Lévin (Vygon, France). En fin d'administration, la sonde a été rincée avec 10mL d'eau.

Le premier repas a été donné 7h après l'administration de moxidectine.

1.3.1.2) Administration intraveineuse de moxidectine

Les chiens ont été pesés 4j avant l'administration et ont été mis à jeun la veille de l'administration IV, qui a eu lieu 18 jours après l'administration *per os*.

Un cathéter a été placé dans la veine céphalique droite juste avant l'administration. L'administration de la solution de moxidectine préparée comme indiqué ci-dessus à la dose de 200µg/kg a été réalisée. Le cathéter a été rincé à l'aide de 5mL d'une solution de NaCl à 0.9%.

1.3.1.3) Prélèvements de sang et traitement des échantillons

Le sang a été collecté à la veine jugulaire sur tubes héparinés (Héparinate de Lithium, Vygon, France). Les échantillons de sang (3 mL) ont été collectés avant l'administration puis à 0.5, 1, 2, 4, 8, 12h, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 17 jours après administration *per os* et à : 2, 5, 15, 30mn, 1, 2, 4, 8, 12h, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 14, 17, 24, 30 jours après l'administration intraveineuse.

Le plasma est obtenu par centrifugation à 1500g, 10mn à 4°C dans l'heure qui suit le prélèvement puis 2 fractions aliquotes de 500 µL de plasma par échantillon ont été prélevées. Tous les échantillons de plasma ont été conservés à -20°C jusqu'aux dosages.

1.3.2) Phase expérimentale avec lipides

Les chiens du second groupe ont reçu, 30 min après administration orale d'huile, de la moxidectine à raison de 200 µg/kg par voie orale et, 21 jours après l'administration *per os*, la même dose par voie intraveineuse.

1.3.2.1) Administration orale de moxidectine avec lipides

Les chiens ont été pesés 4j avant l'administration et mis à jeun la veille de l'expérimentation.

Les chiens ont été gavés par administration intragastrique d'huile de germes de maïs (Lessieur) à l'aide d'une sonde gastroduodénale de type Lévin (Vygon, France) à raison de 25 mL/10 kg.

L'administration intragastrique de moxidectine préparée comme indiqué ci-dessus à une dose de 200 µg/kg a été réalisée par gavage des chiens 30 min après l'administration de l'huile. En fin d'administration, la sonde a été rincée avec 10 mL d'eau.

Le premier repas a été donné 7h après l'administration de moxidectine.

1.3.2.2) Administration intraveineuse de moxidectine

Les chiens ont été pesés 5 jours avant l'administration et ont été mis à jeun la veille de l'administration IV, qui a eu lieu 21 jours après l'administration *per os*.

Un cathéter a été placé dans la veine céphalique droite juste avant l'administration. L'administration de la solution de moxidectine préparée comme indiqué ci-dessus à la dose de 200µg/kg a été réalisée. Le cathéter a été rincé à l'aide de 5mL d'une solution de NaCl à 0.9%.

1.3.2.3) Prélèvements de sang et traitement des échantillons

Le sang a été collecté à la veine jugulaire sur tubes héparinés (Héparinate de Lithium, Vygon, France). Les échantillons de sang (3 mL) ont été collectés avant l'administration puis à 0.5, 1, 2, 4, 8, 12h, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 13, 15, 17, 20j après administration per os et à 2, 5, 15, 30 min, 1, 2, 4, 8, 12 h, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 14, 17, 24 et 29j après l'administration intraveineuse

Le plasma est obtenu par centrifugation à 1500g, 10mn à 4°C dans l'heure qui suit le prélèvement puis 2 fractions aliquotes de 500 µL de plasma par échantillon ont été prélevées. Tous les échantillons de plasma ont été conservés à -20°C jusqu'aux dosages.

1.4) Analyse des échantillons

1.4.1) Dosage de la moxidectine par HPLC

La moxidectine a été dosée par une technique de Chromatographie Liquide à Haute Précision (HPLC) selon une méthode préalablement décrite (Alvinerie 1995).

L'HPLC est une méthodologie applicable à tous les types de chromatographies en colonne avec élution en phase liquide. Ici, une chromatographie de partage à polarité en phases inversées a été utilisée avec une phase stationnaire apolaire et une phase mobile polaire.

- Appareillage

La chaîne chromatographique se compose :

-d'une pompe PU 980 (Jasco, Tokyo, Japon) qui sert à maintenir un débit constant de solvant de 1.5 mL/min dans la colonne,

-d'un injecteur automatique HPLC Autosampler 360 (Kontron, Paris France) qui va injecter 20 µL d'échantillon dans la colonne,

-d'une colonne Supelcosil C18 enfermée dans un cylindre d'acier inoxydable. La phase stationnaire est composée d'un gel de silice (grains réguliers de 5 µm de diamètre, 100 Å° de porosité et surface de 170 m²/g) greffé de chaînes en C18.

-d'un spectrofluorimètre RF 551 (Shimadzu, Kyoto, Japon) qui détecte les molécules fluorescentes sortant de la colonne. Il est réglé aux longueurs d'ondes d'excitation et d'émission de 383 nm et de 447 nm respectivement.

L'ensemble des appareils de la chaîne est géré par un ordinateur possédant le logiciel Kroma 2000 qui retranscrit les signaux provenant du fluorimètre sous forme de chromatogramme.

- Etalonnage : Standards analytiques

La solution de moxidectine utilisée pour calibrer les chromatogrammes est préparée à partir de moxidectine en poudre et d'acétonitrile. Des dilutions progressives sont réalisées jusqu'à obtenir une concentration de 10 ng dans 20 µL.

Trois standards sont passés par cinétique : 2 au début et 1 à la fin. Cela permet de calculer une AUC et un temps de rétention moyens pour les standards.

- Extraction de la moxidectine du plasma

L'objectif est d'extraire les molécules de moxidectine du plasma afin de les doser. Pour cela, on utilise un solvant pour lequel la moxidectine a plus d'affinité que pour le plasma ; la moxidectine étant apolaire, on utilise un solvant organique qui est l'acétonitrile.

Les échantillons sont mis à décongeler dans un réfrigérateur, pour les maintenir au froid et à l'obscurité.

Les échantillons sont agités avec un vortex et 200 µL de plasma est prélevé et transféré dans des eppendorfs. On ajoute ensuite 1mL d'acétonitrile à -20°C dans chaque eppendorf et les échantillons ainsi traités sont soumis à une agitation orbitaire pendant 20 minutes. La moxidectine passe dans l'acétonitrile.

Après l'agitation, les tubes sont repassés au vortex puis centrifugés pendant 4 min à 2000g et à 4°C pour séparer le culot de protéines précipitées par l'acétonitrile du surnageant.

Le maximum de surnageant est récupéré, sans toucher au culot, et est transféré dans des tubes en Pyrex.

Le rendement de cette extraction est de l'ordre de 95%.

Pour les standards, 20 µL de la solution sont déposés directement dans les tubes en pyrex.

- Evaporation

Les tubes en Pyrex sont placés dans un évaporateur (Turbovap LV Evaporator Zymark) au bain marie à 60°C pendant 12 min, sous courant tangentiel d'azote. Ensuite, les tubes sont mis à refroidir pendant 2 min.

Le résidu sec et blanc au fond du tube correspond aux molécules qui n'ont pas précipité après l'ajout d'acétonitrile, c'est-à-dire la moxidectine, ainsi que quelques sels et lipides.

Cette évaporation permet d'obtenir un extrait sec pour pouvoir dériver la moxidectine.

- Dérivatisation

La détection de la moxidectine lors de l'HPLC se fait par fluorimétrie, il faut donc rendre la moxidectine fluorescente par une réaction appelée dérivatisation (fig. 2) qui va conduire à la formation d'un dérivé aromatique.

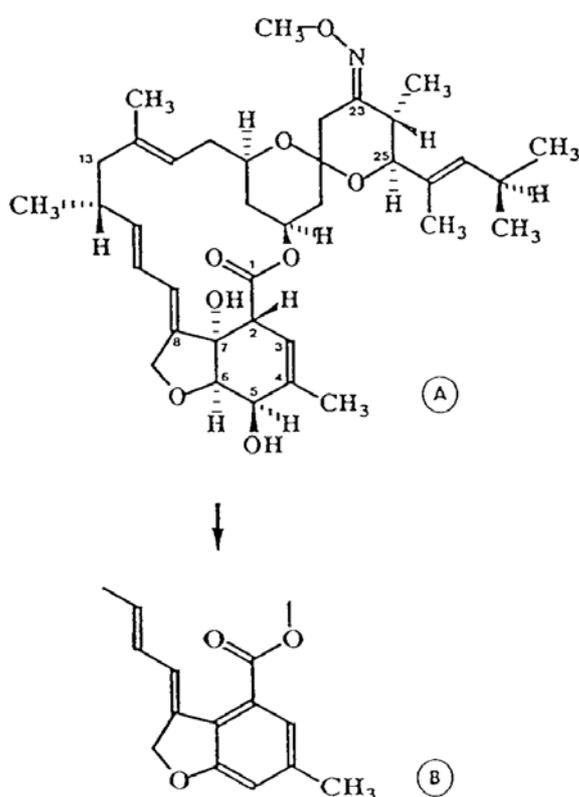


Fig. 2 : Structure de la moxidectine (A) et de son dérivé fluorescent (B)

Figure extraite de (Alvinerie 1995).

La dérivatisation fait intervenir 2 réactifs :

- le réactif A : 1-N-méthylimidazole/acétonitrile v/v, qui catalyse la réaction et
- le réactif B : trifluoroacétique anhydre/acétonitrile v/2v, qui initie la réaction.

L'extrait sec est dissout avec 100 μ L du réactif A, vortexé, 150 μ L de réactif B sont ajoutés et le mélange est vortexé. Pendant l'agitation, un dégagement de chaleur et une fumée blanche sont observés, signe que la réaction a bien lieu.

Les échantillons sont mis à reposer, pour que les particules solides se déposent au fond du tube puis le surnageant est prélevé puis transféré dans des microtubes à fond plat de 200 µL qui sont insérés dans un flacon inactinique filtrant les UV, fermé par un bouchon et une pastille de téflon inerte qui sera percée par l'injecteur de la chaîne HPLC.

- Solvant d'élution

La phase mobile est constituée d'acide acétique (0.2% d'acide acétique glacial dans de l'eau ultra pure), de méthanol et d'acétonitrile dans les proportions 4 : 50 : 71, v/v/v. Ce mélange est filtré et dégazé afin d'éviter le passage d'impuretés ou de bulles d'air dans la colonne qui pourraient fausser les résultats.

- Calculs

Pour calculer la quantité de moxidectine présente dans l'échantillon, on utilise le fait que l'aire du pic est proportionnelle à la quantité d'analyte.

$$[moxidectine] = \frac{AIRE_{pic\ échantillon}}{AIRE_{pic\ standard}} \times [standard] \times (1/Volume_{plasma\ extrait}) \times (1/Rendement_{extraction})$$

Le pic est repéré à l'aide du temps de rétention fourni par les standards.

La chromatographie nous a permis de déterminer la limite de quantification (LOQ) de la moxidectine qui, avec cette méthode, est de 0.02 ng/mL. Le coefficient de variation inter-journalier était de 6.9% et le coefficient de variation intra-journalier était de 1.8%.

L'absence d'interférence dans la séparation garantit une grande spécificité de cette méthode. La linéarité est bonne avec un coefficient de corrélation souvent supérieur à 0.990.

1.4.2) Dosage des triglycérides

Les triglycérides ont été dosés dans le sérum par la méthode de Waco modifiée (Fossati 1982), en utilisant un kit enzymatique commercial (Triglycerides Reagent, ThermoTrace, Australia) où la concentration en triglycérides est proportionnelle à la densité optique.

1.5) Analyse des données

Le taux instantané d'absorption de la moxidectine administrée par voie orale a été étudié chez chaque chien au moyen d'une technique de déconvolution avec le programme WinNonlin v. 5.1. (Pharsight Corporation, Mountain View, CA). Les paramètres de la fonction d'entrée ont été obtenus en analysant les concentrations plasmatiques correspondant à l'administration intraveineuse pour chaque chien séparément. Un modèle tri-exponentiel a été sélectionné dans ce but pour tous les chiens.

L'inspection visuelle du taux d'entrée instantané a montré qu'il ne correspondait pas un processus classique d'absorption de premier ordre, surtout lorsque la moxidectine était administrée avec des lipides. Cela a justifié la modélisation du processus d'entrée avec une constante d'absorption temps dépendante ($K_{a(t)}$) lors de l'ajustement du modèle semisimultané.

Pour évaluer la biodisponibilité de la moxidectine, nous avons été amenés à développer un modèle pour l'ajustement simultané des données obtenues par voie orale et IV selon l'approche décrite par Karlsson et Bredberg (Karlsson 1990) dans le programme WinNonLin. En résumé, un modèle tricompartimental a été sélectionné et les équations de Wagner ont été adaptées (Wagner, J G 1993). A cette occasion, l'erreur typographique de l'équation 128 a été corrigée. En ce qui concerne le signal d'entrée, la constante d'absorption (K_a) a été rendue dépendante du temps au moyen de l'équation suivante :

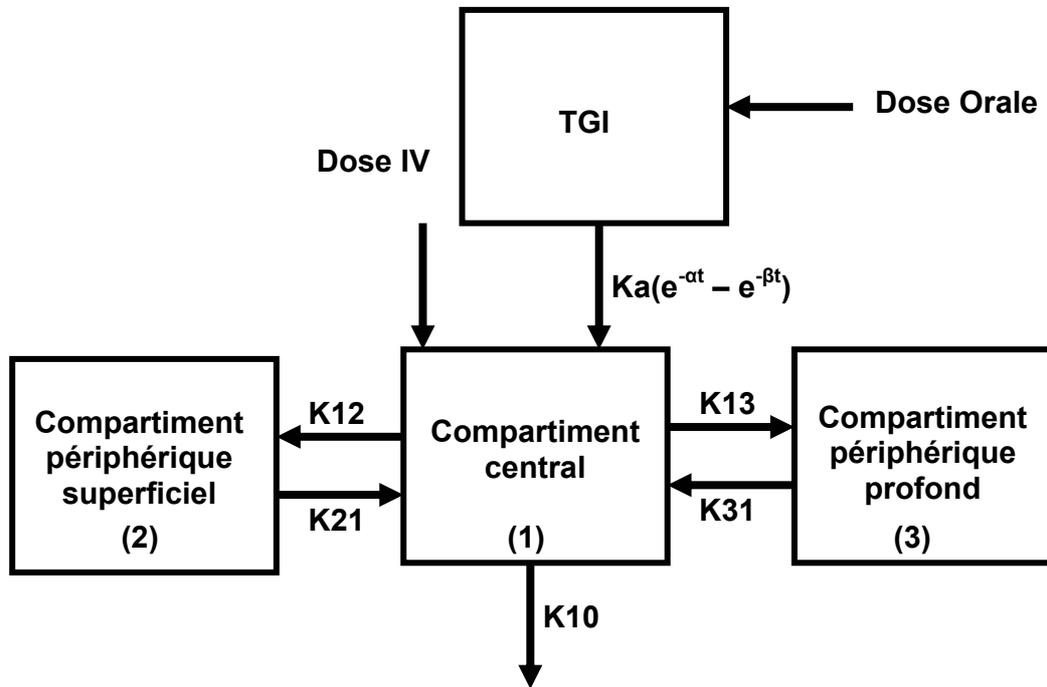
$$K_{a(t)} = k_a \times [e^{(-\alpha t)} - e^{(-\beta t)}] \quad \text{EQ1}$$

où les paramètres k_a , α et β sont exprimés en h^{-1} et t est le temps exprimé en h .

Dans notre modèle complet, qui correspond à un modèle tricompartimental ouvert classique (figure 3), F_{oral} , k_a , α , β , k_{21} , k_{31} , λ_1 , λ_2 , λ_3 et V_c sont estimés simultanément. V_c est le volume du compartiment plasmatique 1, F_{oral} est la biodisponibilité orale absolue de la moxidectine, k_{21} et k_{31} sont, respectivement, les constantes de distribution des compartiments périphériques 2 et 3 avec le compartiment central, λ_1 , λ_2 et λ_3 sont les pentes des différentes phases de décroissance.

Fig. 3 : Schéma du modèle tricompartimental utilisé pour analyser les concentrations en moxidectine obtenues chez le chien.

TGI : tractus gastro-intestinal, K_a : constante d'absorption, K_{ij} : constante de transfert du compartiment i



La justesse de l'ajustement a été estimée par l'examen des résidus. Un facteur de pondération de $1/(\text{concentration observée})^2$ a été appliqué.

Les paramètres pharmacocinétiques secondaires ont été calculés à partir des estimations finales des paramètres du modèle.

La clairance plasmatique totale de la moxidectine, CL_{tot} , a été calculée selon l'équation suivante :

$$CL_{tot} = k_{10} \times V_c$$

dans laquelle k_{10} est la constante d'élimination du premier ordre du compartiment 1 avec :

$$k_{10} = \frac{(\lambda_1 \times \lambda_2 \times \lambda_3)}{(k_{21} \times k_{31})}$$

Le volume de distribution (V_{ss}) a été calculé selon la formule :

$$V_{ss} = V_c \times \left[1 + \left(\frac{k_{12}}{k_{21}} \right) + \left(\frac{k_{13}}{k_{31}} \right) \right]$$

avec k_{12} et k_{13} comme donnés par Wagner (équations 125 and 126, (Wagner, J G 1993)).

Le temps moyen de résidence (MRT) a été calculé comme suit:

$$MRT = \frac{V_{SS}}{CL_{tot}}$$

La concentration plasmatique maximale (C_{max}) et le temps correspondant (T_{max}) sont des paramètres observés et proviennent directement des données.

Un test statistique non-paramétrique de Mann-Whitney (MW) a été réalisé sur la biodisponibilité orale absolue, la clairance plasmatique totale, le volume de distribution, le temps moyen de résidence, le temps de demi-vie final, la concentration plasmatique maximale et son temps correspondant au moyen du logiciel SYSTAT[®] 10.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) entre les groupes avec et sans co-administration de lipides afin d'étudier l'influence des lipides. Une valeur de $P < 0.05$ a été considérée comme significative.

Les résultats sont exprimés en moyenne \pm écart-type.

La relation entre le poids corporel des chiens et le V_{ss} a été étudié par une régression linéaire réalisée à l'aide du logiciel SYSTAT[®] 10.0 (SPSS Inc., Chicago, IL).

2. Résultats

2.1) Administration et effets secondaires

Toutes les administrations de moxidectine et de lipides ont été réalisées avec succès. Nous n'avons observé aucune réaction faisant suite à l'administration de moxidectine par voie orale à la dose de 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$. En revanche, après l'administration intraveineuse de moxidectine à 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$, tous les chiens ont été sujet à une ataxie modérée, de la léthargie, des rougeurs cutanées et un œdème généralisé ; le chien 9 a vomit. Ces manifestations ont toutes cessé en moins de 12 h.

Parallèlement à notre étude, les chiens 1 à 5 ont reçu de l'huile de germe de maïs à raison de 2.5 mL/kg par gavage puis 30 min après, de la moxidectine par voie orale à la dose de 2000 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Les chiens 2 et 5 ont vomi leur repas 7h après administration, mais aucun autre effet secondaire n'a pu être observé.

Le chien 2 a été sujet à des convulsions au temps 30 jours de l'intraveineuse, une épilepsie essentielle a été diagnostiquée, sans rapport avec l'administration de moxidectine.

2.2) Chromatogramme

La figure 4, disponible en annexe 1, représente un chromatogramme du dosage de la moxidectine dans le plasma du chien 1 au temps 4h de l'administration par voie intraveineuse.

Le premier pic correspond au pic de front, il est dû au solvant et à toutes les molécules qui n'ont pas d'affinité pour la colonne et qui sortent donc en premier.

Il existe un deuxième pic à 4.72 minutes, toujours présent et identique, c'est le pic du réactif A.

On peut ensuite identifier le pic de moxidectine grâce à son temps de rétention, fourni par le standard, qui est ici de 6.59 minutes.

2.3) Dosage de la moxidectine

Les résultats des dosages de la moxidectine plasmatique sont disponibles dans le tableau 5 en annexe 2 pour les chiens qui n'ont pas reçu de lipides avec la moxidectine *per os* et dans le tableau 6 en annexe 3 pour les chiens ayant reçu des lipides avec la moxidectine *per os*.

Les concentrations plasmatiques de la moxidectine en fonction du temps sont données dans la figure 5 chez les chiens avec et sans co-administration de lipides pendant les 72h suivant l'administration orale. L'inspection visuelle de cette figure montre qu'il n'y a pas de différence évidente entre les deux groupes de chiens. En revanche, l'observation de la totalité de la cinétique orale (figure 6) révèle que deux chiennes montrent une concentration en moxidectine plasmatique diminuant beaucoup rapidement que les autres chiens.

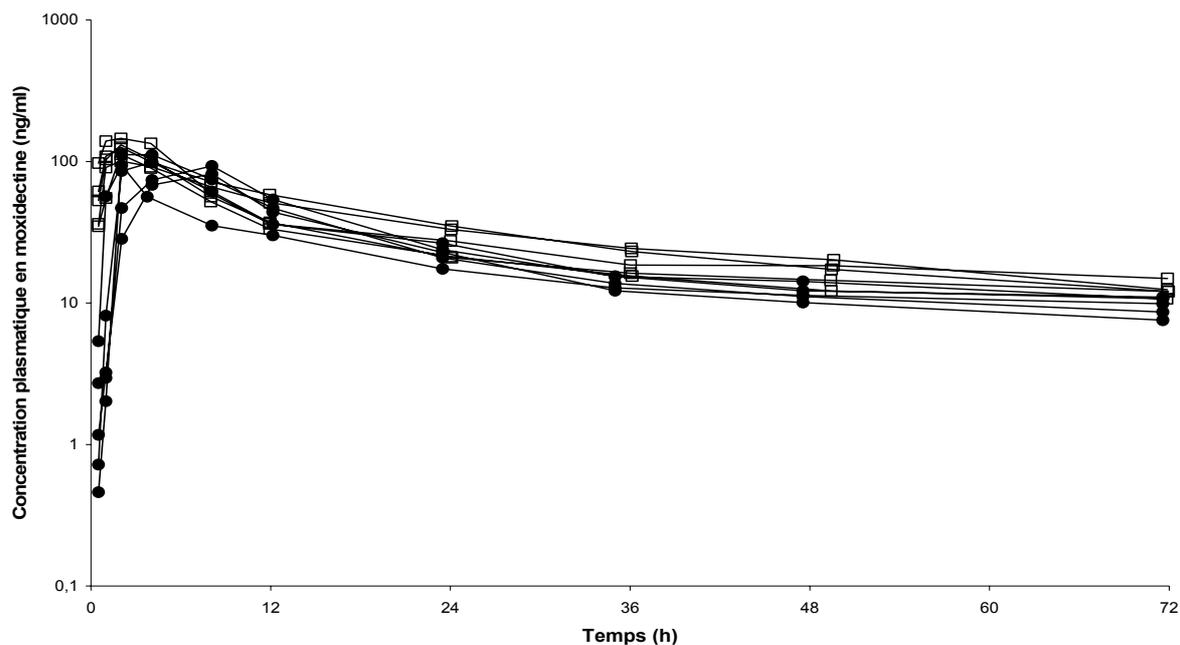


Fig. 5: Concentration plasmatique observée en moxidectine en fonction du temps chez 10 chiens sur les premières 72 h après une administration de 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de moxidectine *per os* sans (\bullet , $n=5$) ou avec (\square , $n=5$) une co-administration de lipides.
L'inspection visuelle des courbes ne montre pas de différence évidente entre les groupes.

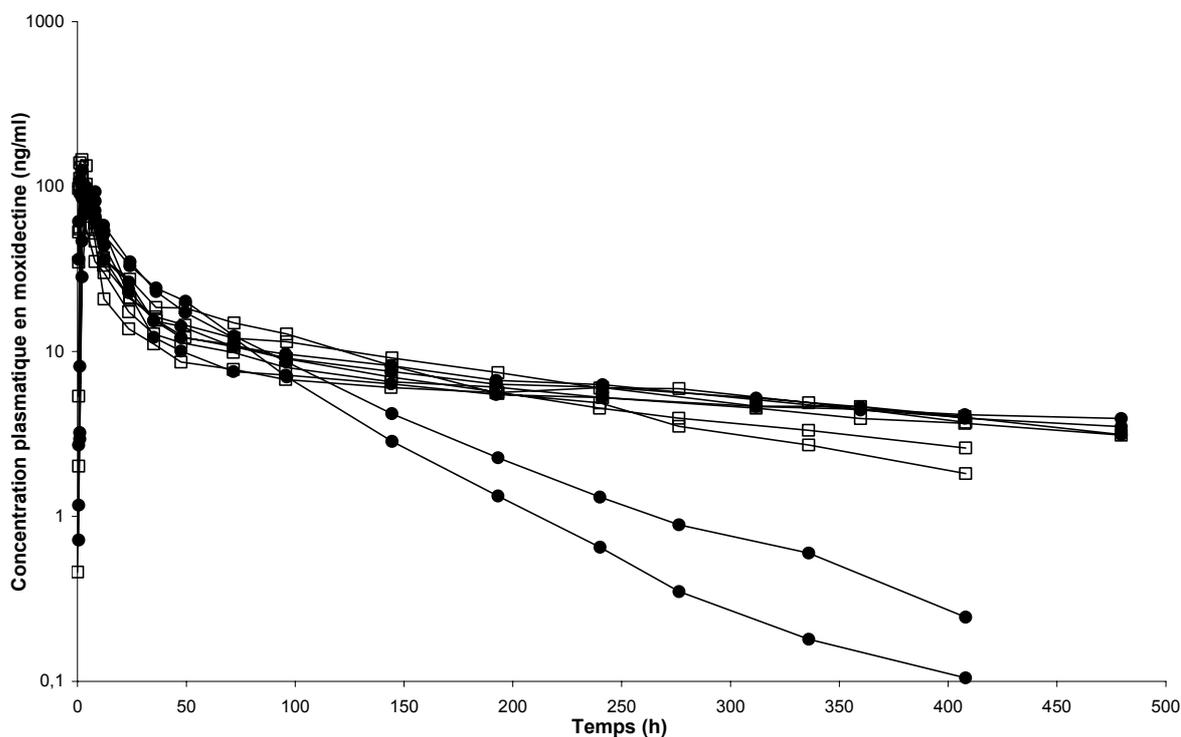


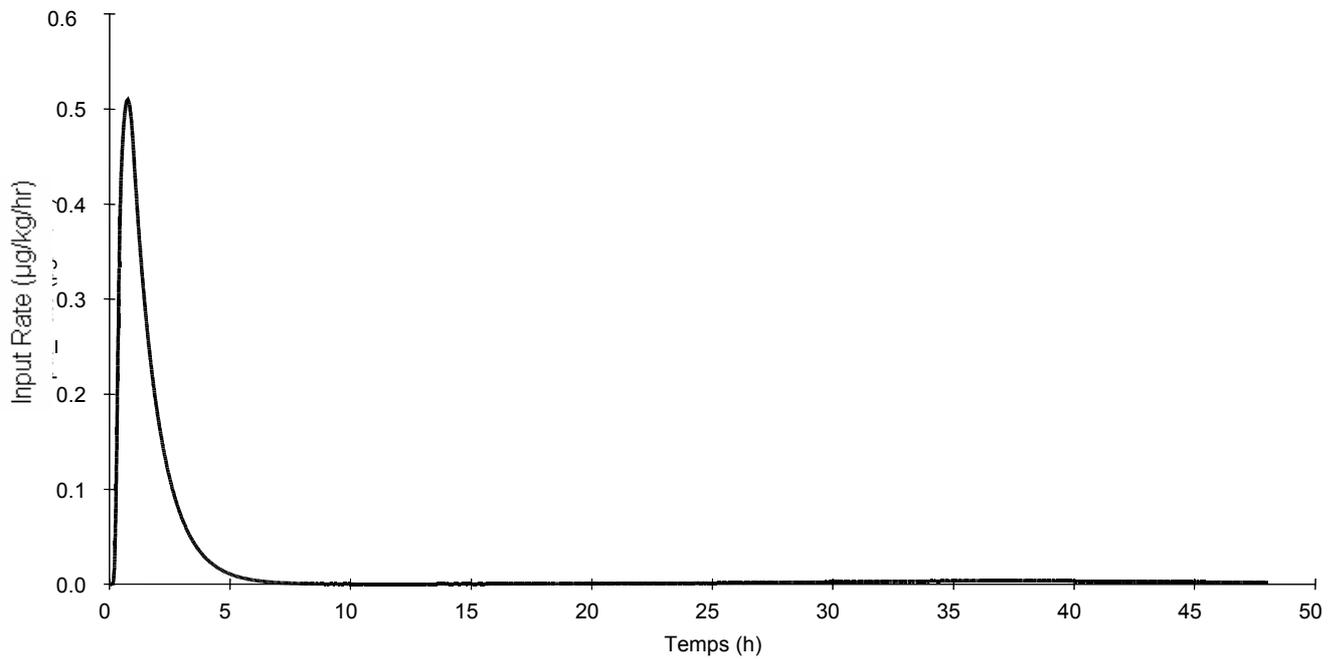
Fig. 6: Concentration plasmatique en moxidectine en fonction du temps observée sur 480 h après une administration de 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de moxidectine *per os* chez des chiens femelles (\bullet , $n=5$) ou chez des chiens mâles (\square , $n=5$).
L'inspection visuelle des courbes révèle un déclin beaucoup plus rapide des concentrations plasmatiques en moxidectine chez 2 chiennes par rapport aux autres chiens.

2.4) Pharmacocinétique

En essayant de modéliser simultanément les administrations IV et orales avec une constante d'absorption conventionnelle de premier ordre (K_a), nous avons systématiquement observé un mauvais ajustement du début des courbes, indiquant qu'une constante d'absorption de premier ordre n'était pas adaptée pour décrire l'absorption initiale de la moxidectine. Nous avons donc recherché quel pouvait être la forme du taux d'entrée de la moxidectine en déconvolant les données. Comme montré pour deux chiens représentatifs avec et sans co-administration de lipides (Fig. 7), l'allure du taux d'entrée en fonction du temps (avec une phase ascendante puis descendante) indique que l'absorption de la moxidectine ne suit pas un processus classique de premier ordre. K_a a donc été rendue temps-dépendante en utilisant l'équation 1 pour faire en sorte que la cinétique commence avec une valeur nulle de K_a , atteigne un maximum et diminue ensuite progressivement.

Il est intéressant de noter que les pics du taux d'entrée sont retardés et plus longs chez les chiens ayant reçu une co-administration de lipides (0.84 h et de 2.31 h dans le groupe sans et avec co-administration de lipides, respectivement). Dans tous les cas, le processus d'absorption était fini en moins de 48 h, c'est-à-dire longtemps avant l'administration intraveineuse.

A



B

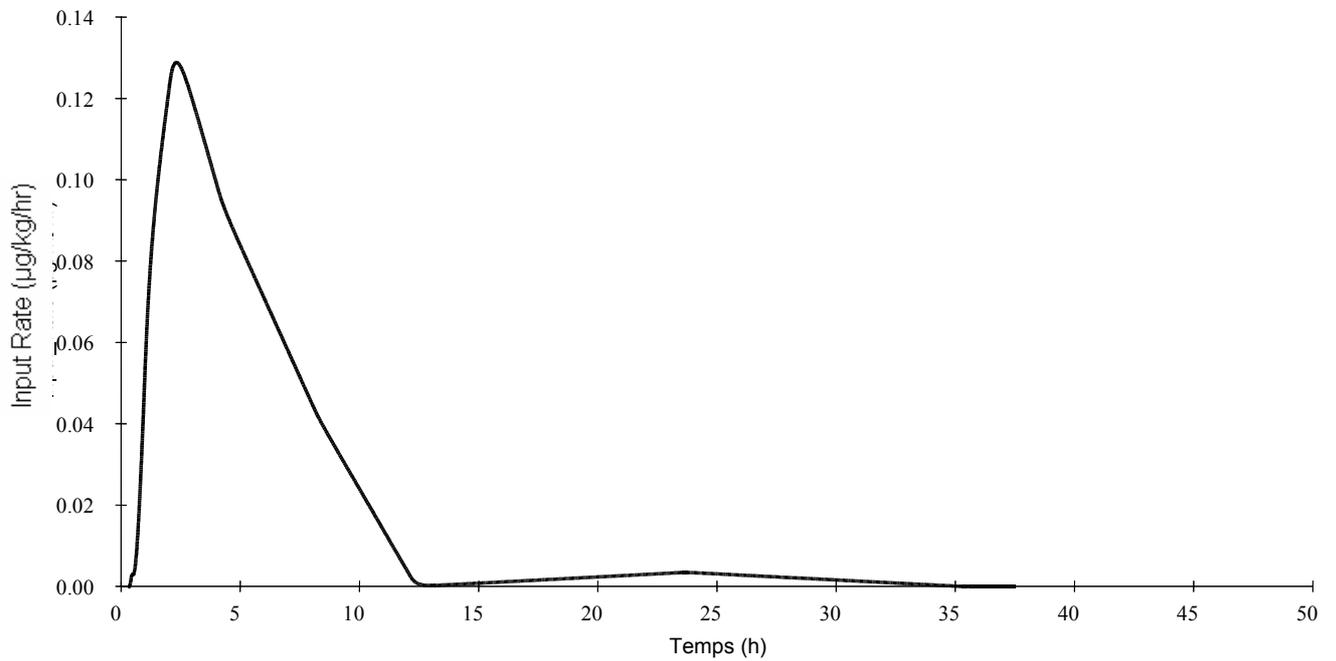


Fig. 7: Taux d'entrée de la moxidectine après administration orale obtenu grâce à une déconvolution chez un chien représentatif sans (A) ou avec (B) co-administration de lipides.

L'inspection visuelle des courbes indique que le taux d'absorption ne peut être décrit par un processus de premier ordre mais par un processus qui augmente progressivement, atteint un maximum puis diminue, justifiant l'utilisation d'une constante d'absorption temps dépendante (voir Eq1 dans le texte).

La figure 8 représente les concentrations observées et prédites par le modèle pour toute la cinétique (administration orale puis intraveineuse) chez un chien représentatif. L'inspection de cette figure montre un ajustement satisfaisant des données expérimentales par le modèle sélectionné, comme ce fut également le cas pour tous les autres chiens.

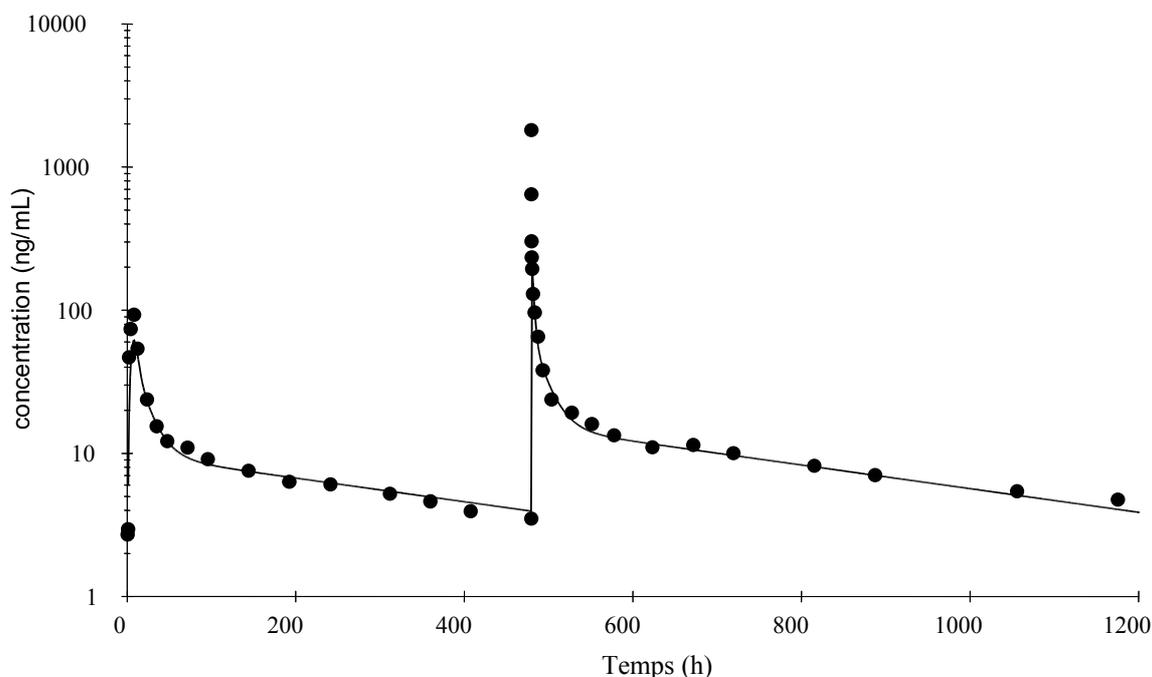


Fig. 8: Concentration plasmatique en moxidectine observée (●) et prédite (—) après une administration orale puis intraveineuse de moxidectine chez un chien représentatif.

Le tableau 7 donne les paramètres cinétiques individuels.

La biodisponibilité absolue de la moxidectine administrée par voie orale a été élevée et pratiquement identique avec et sans co-administration de lipides ($86.0 \pm 5.5 \%$ et $90.2 \pm 7.4 \%$ respectivement) et il n'y a pas eu de différence statistique entre les 2 groupes (test de MW, $P=0.347$). Cependant, il y a eu une différence très significative entre les 2 groupes en ce qui concerne les valeurs du T_{max} observées (2.0 ± 0.0 et 4.9 ± 3.0 h sans ou avec co-administration de lipides, respectivement; test de MW, $P=0.005$) et les valeurs de C_{max} observées (123 ± 17 et 96 ± 11 ng/ml sans ou avec co-administration de lipides, respectivement; test de MW, $P=0.016$), en accord avec ce qui a été observé pour le taux d'entrée.

Tabl. 7: Paramètres pharmacocinétiques de la moxidectine chez des chiens Beagle (M=mâle; F=femelle) après une administration orale puis intraveineuse de moxidectine à une dose de 200 µg/kg sans (n=5) ou avec (n=5) co-administration de lipides lors de la phase orale.

	Chien 1 (F)	Chien 2 (M)	Chien 3 (M)	Chien 4 (F)	Chien 5 (M)	Moyenne	Ecart type
Phase orale sans lipides							
C _{max} obs (ng/mL)	126	145	131	100	112	123	17
T _{max} obs (h)	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	0.0
Forale (%)	80.2	96.9	87.5	98.2	88.0	90.2	7.4
Phase IV sans lipides							
CL _{tot} (mL/kg/min)	0.8326	0.6806	0.5233	0.9060	0.7107	0.7306	0.1475
V _{ss} (L/kg)	2.38	6.82	6.71	3.85	8.51	5.65	2.48
MRT (h)	47.6	166.9	213.6	70.8	199.5	139.7	75.8
t _½ (h)	219.4	593.9	266.7	393.4	196.7	334.0	164.0
α (h ⁻¹)	0.000286	0.000002	0.000497	0.000051	0.000001	0.000167	0.000219
β (h ⁻¹)	0.068	0.129	0.128	0.079	0.069	0.095	0.031
k _a (h ⁻¹)	9.162	4.842	5.159	5.455	5.074	5.938	1.815
	Chien 6 (F)	Chien 7 (F)	Chien 8 (F)	Chien 9 (M)	Chien 10 (M)	Moyenne	Ecart type
Phase orale avec lipides							
C _{max} obs (ng/mL)	82	93	99	112	94	96	11
T _{max} obs (h)	8.1	8.1	4.1	2.1	2.1	4.9	3.0
Forale (%)	92.8	86.8	77.4	85.9	87.2	86.0	5.5
Phase IV avec lipides							
CL _{tot} (mL/kg/min)	0.4261	0.4600	0.4752	0.3965	0.6356	0.4787	0.0929
V _{ss} (L/kg)	17.46	11.68	8.96	15.04	11.53	12.93	3.33
MRT (h)	682.7	423.0	314.3	632.3	302.2	470.9	177.6
t _½ (h)	566.2	364.3	259.7	522.4	245.6	391.7	147.5
α (h ⁻¹)	0.000008	0.000450	0.000109	0.000012	0.000028	0.000121	0.000188
β (h ⁻¹)	0.009	0.014	0.003	0.007	0.038	0.014	0.014
k _a (h ⁻¹)	1.507	1.455	4.664	1.558	3.717	2.580	1.508

De l'huile de maïs a été donnée aux chiens 6 à 10 le jour de l'administration orale; les chiens des deux groupes ont reçu une nourriture identique pendant tout le reste de l'expérimentation.

C_{max} obs: maximum de la concentration plasmatique observée en moxidectine au temps T_{max} obs; Foral: biodisponibilité orale absolue; CL_{tot}: clairance plasmatique; V_{ss}: volume de distribution; MRT: temps moyen de résidence après administration IV; t_½: temps de demi-vie terminal, α, β et k_a sont les valeurs des paramètres de l'équation 1.

Le temps de demi-vie terminal de la moxidectine a été très long dans les 2 groupes (334.0 ± 164.0 et 391.7 ± 147.5 h respectivement dans le groupe sans et avec lipides) et la différence entre les deux n'a pas été pas significative (test de MW, $P=0.602$).

Le MRT a lui aussi été long dans les 2 groupes (139.7 ± 75.8 et 470.9 ± 177.6 h respectivement dans le groupe sans et avec lipides) et la différence entre les deux a été statistiquement significative (test de MW, $P=0.009$).

La clairance plasmatique de la moxidectine, CL_{tot} , est apparue plutôt basse et il y a eu une différence statistiquement significative entre les groupes sans et avec lipides (0.73 ± 0.15 et 0.48 ± 0.09 mL/kg/min respectivement; test de MW, $P=0.016$).

Le V_{ss} a été plutôt élevé et il a été significativement plus important dans le groupe ayant reçu une co-administration de lipides (12.93 ± 3.33 L/kg) que dans le groupe sans (5.65 ± 2.48 L/kg, test de MW, $P=0.009$).

Des différences à propos de paramètres pharmacocinétiques de base (CL_{tot} , V_{ss} , MRT) ont été observées entre les deux groupes. La figure 9 montre que les valeurs du volume de distribution ont été proportionnelles au poids corporel des chiens, ce qui explique les différences interindividuelles observées concernant le V_{ss} et le MRT.

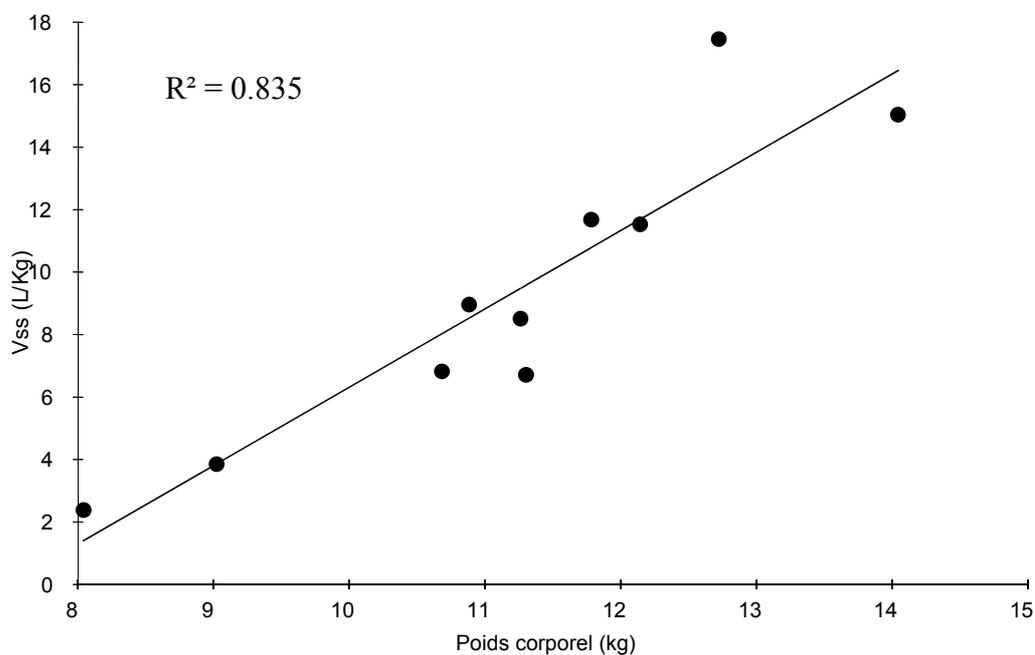


Fig. 9 : Relation entre le volume de distribution (V_{ss}) et le poids corporel des chiens des deux groupes.

2.5) Dosage des triglycérides

Les dosages plasmatiques en triglycérides des chiens 6 à 10 après administration orale de lipides puis de moxidectine sont reportés dans le tableau 8.

Tabl. 8 : Concentration plasmatique en triglycérides en mM chez les chiens 6 à 10 (M=mâle, F=femelle) après administration orale d'huile de maïs à la dose de 2.5 ml/kg puis 30 min après administration orale de moxidectine à la dose de 200 µg/kg (n=5).

T0 correspond à l'administration de moxidectine.

Temps (h)	Concentration en triglycérides (mM)					Moyenne	Ecart type
	Chien 6 (F)	Chien 7 (F)	Chien 8 (F)	Chien 9 (M)	Chien 10 (M)		
0	0.42	0.43	0.32	0.32	0.15	0.33	0.11
0.5	0.99	0.87	0.35	0.71	0.45	0.67	0.27
1	1.46	1.14	0.53	0.99	0.44	0.91	0.42
2	0.84	0.81	0.41	0.89	0.30	0.65	0.27
4	0.82	0.31	0.35	0.31	0.16	0.39	0.25
8	0.57	0.57	0.33	0.43	0.15	0.41	0.18
12	0.92	1.13	0.46	0.44	0.32	0.66	0.35
24	0.71	0.66	0.52	0.62	0.24	0.55	0.19
36	0.79	0.43	0.57	0.85	0.35	0.60	0.22
48	0.42	0.42	0.37	0.33	0.26	0.36	0.07
72	0.34	0.51	0.36	0.26	0.23	0.34	0.11

La concentration plasmatique en triglycérides dosée sur les chiens 6 à 10 à jeun a été de 0.33 ± 0.11 mM, et elle a été significativement augmentée 1h30 après l'administration orale de lipides (0.91 ± 0.42 mM, $p=0.009$, $n=5$), moment où elle a atteint un pic. Elle a ensuite retrouvé une concentration similaire à la concentration à jeun dès 4h30 post administration de lipides (0.39 ± 0.25 mM). Ensuite, les variations observables dans la concentration en triglycérides ont été dues aux différents repas donnés aux chiens.

3. Discussion

La moxidectine est largement utilisée en tant qu'anthelminthique chez les espèces domestiques mais on sait peu de choses à propos de son comportement pharmacocinétique chez le chien. La disposition orale de la moxidectine a été étudiée chez des chiens parasités (Vanapalli 2002) mais la biodisponibilité absolue de la moxidectine n'a pas été déterminée.

A notre connaissance, la biodisponibilité absolue d'un endectocide administré *per os* n'a jamais été reportée chez le chien. Cela s'explique probablement par la difficulté de réaliser une étude selon un plan expérimental avec crossover avec un temps de rinçage (« washout ») d'environ 170 jours entre deux administrations ; afin de s'assurer de l'élimination de toutes les molécules issues de la première administration lors de la seconde période de l'étude.

Pour pallier à cette difficulté, nous avons eu recours à une méthode d'administration dite « semisimultanée » proposée par Karlsson et Bredberg (Karlsson 1990). Selon cette approche, il n'y a pas de période de washout entre les deux administrations mais une succession de deux cinétiques plasmatiques dont on déterminera par modélisation les paramètres. La biodisponibilité est estimée par une approche utilisant un modèle compartimental où les courbes correspondant aux cinétiques orale et intraveineuse sont ajustées simultanément. Cette approche modélisatrice est attractive car elle permet d'administrer aux mêmes chiens les deux doses dans un intervalle de temps relativement court (17 ou 21 jours). Les avantages principaux d'une étude en crossover sont ainsi conservés, car les mêmes chiens reçoivent les administrations intraveineuse et orale, et on supprime l'influence de la variabilité interindividuelle sur la biodisponibilité exprimée qui serait observée avec un plan expérimental en parallèle.

Il est reconnu que le processus d'absorption est spécialement difficile à modéliser avec cette approche (Karlsson 1990) et, dans notre expérience, il était impossible d'ajuster correctement le début de la phase suivant l'absorption orale en utilisant une constante d'absorption conventionnelle de premier ordre.

Nous avons donc réalisé une déconvolution pour qualifier le taux d'entrée. A cette fin, nous avons supposé que les données concernant la phase intraveineuse avaient été obtenues assez longtemps après l'administration orale pour représenter principalement la disposition cinétique intraveineuse.

L'inspection du taux d'entrée instantané a montré que le taux d'absorption ne pouvait pas être décrit comme un processus classique de premier ordre. Cela a justifié de modéliser le processus d'entrée par une variable dépendante du temps ($K_{a(t)}$) capable d'augmenter puis de diminuer. L'explication physiologique de cette option de modélisation n'est pas que la perméabilité intestinale concernant la moxidectine varie en fonction du temps, mais plutôt que le taux de vidange de l'estomac est le facteur limitant dans l'absorption de la moxidectine; et que dans le groupe avec co-administration de lipides, la vidange gastrique est un processus

lent qui délivre progressivement la moxidectine de l'estomac vers son site d'absorption dans l'intestin grêle (Charman 1997).

La biodisponibilité absolue de la moxidectine administrée par voie orale est très élevée, que le chien soit à jeun ou non. Nos données diffèrent des résultats obtenus chez l'homme et le lapin, qui ont montré que l'administration orale de moxidectine associée à un repas riche en graisse chez l'homme (Cotreau 2003) ou dans une formulation lipidique chez le lapin (Bassissi 2004b) augmente substantiellement l'exposition au médicament.

Pourtant, une étude démontre que le transport lymphatique contribue à l'absorption post-prandiale de moxidectine chez le chien (22% de la dose administrée (Lespine 2006)).

Les concentrations en triglycérides observées à jeun sont comparables à celle rapportée dans la littérature (0.33 et 0.42 mM respectivement, (Loeb 1999)) et la concentration maximale observée est supérieure à la concentration rapportée chez des chiens nourris avec un repas riche en graisse (0.91 et 0.71 mM respectivement, (Loeb 1999)). Ce pic post-prandial en triglycéride sérique confirme l'absorption intestinale des triglycérides alimentaires et on ne peut donc invoquer un défaut d'absorption des triglycérides pour expliquer cette absence d'effet des lipides sur la biodisponibilité de la moxidectine.

Cette absence d'effet des lipides dans notre expérience s'explique aisément du fait que la biodisponibilité orale de la moxidectine chez le chien est pratiquement totale, que le chien soit à jeun ou qu'il ait reçu des lipides. Il n'y a donc pas de place pour une augmentation due à un quelconque effet nourriture, contrairement aux autres espèces ou aux autres lactones macrocycliques, pour lesquelles la biodisponibilité est plus faible (40% pour la moxidectine chez le cheval (Afzal 1997), près de 30% avec l'ivermectine chez les bovins (Laffont 2003)) et pour lesquelles on peut donc s'attendre à un effet de l'alimentation.

Le retard significatif du pic de moxidectine lors de co-administration de moxidectine et de lipides par voie orale par rapport à l'administration de moxidectine *per os* seule (T_{max} de 4.9 ± 3.0 et de 2.0 ± 0.0 h respectivement) et les différences observées à propos du taux d'entrée entre les 2 groupes met en lumière une des applications possibles de l'utilisation de la voie lymphatique : la création d'une libération plus prolongée. En effet, le processus de transport lymphatique intestinal d'une substance dure souvent plus longtemps qu'une absorption *via* le sang portal (Porter 1997). En conséquence, il est possible de moduler le taux d'entrée du médicament dans la circulation systémique.

La clairance de la moxidectine (0.73 ± 0.15 et 0.48 ± 0.09 mL/kg/min pour le groupe sans et avec lipides respectivement) est plutôt faible et cohérente avec ce qui a déjà été publié chez le chien (Vanapalli 2002) et les bovins (Bousquet-Melou 2004). Cette clairance est consistante avec les propriétés des lactones macrocycliques, à savoir une lente biotransformation hépatique et avec une élimination urinaire négligeable.

Le volume de distribution et le temps de demi-vie sont similaires à ceux publiés précédemment (Vanapalli 2002). Comparée à l'ivermectine, la moxidectine a un plus grand volume de distribution et un temps de demi-vie allongé (5.7 L/kg contre 2.4 L/kg; 14 jours contre 1.8 jours pour la moxidectine sans co-administration de lipides et l'ivermectine, respectivement). Cela s'explique aisément par la forte lipophilie de la moxidectine et sa grande affinité pour le tissu adipeux.

Des différences inattendues ont été observées entre les deux groupes au niveau de la clairance, du temps de résidence moyen et du volume de distribution. Cela ne peut pas être dû à la co-administration de lipides car elle a été ponctuelle et n'a donc pas pu influencer la cinétique sur plusieurs semaines. Comme les deux chiennes présentant les plus petits Vss étaient aussi les plus légères, nous avons examiné quel pouvait être l'influence du poids corporel sur le Vss. Une régression linéaire a révélé que le volume de distribution est proportionnel au poids corporel, expliquant la variabilité interindividuelle de Vss et donc celle du temps moyen de résidence dans notre expérience.

Conclusion

Nous avons entrepris une étude pharmacocinétique de la moxidectine chez le chien sain, administrée selon deux protocoles :

- une administration semi-simultanée de moxidectine, orale puis intraveineuse -18 j après- à la dose de 200µg/kg
- et une administration semi-semi-simultanée de moxidectine, orale avec co-administration d'huile puis intraveineuse -21 j après- à la dose de 200µg/kg.

Contrairement à ce qui est reporté chez d'autres espèces, notre étude indique que la biodisponibilité orale de la moxidectine chez le chien est bonne (près de 90%), et qu'une co-administration de lipides ne l'augmente pas, mais elle modifie la vitesse d'absorption de la moxidectine.

Les autres paramètres pharmacocinétiques sont similaires à ceux décrits précédemment.

Enfin, notre étude suggère que le poids, par le biais de l'adiposité, est un facteur déterminant dans la cinétique de la moxidectine de par son influence sur le volume de distribution qui contrôle indirectement le temps moyen de résidence de cette molécule.

Il serait souhaitable que d'autres études soient menées chez le chien parasité, afin d'évaluer l'effet de l'infestation sur la biodisponibilité de la moxidectine, comme cela a été montré chez l'agneau.

AGREMENT ADMINISTRATIF

Je soussigné, A. MILON, Directeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, certifie que

Melle LALLEMAND Elodie, Anne, Maud

a été admis(e) sur concours en : 2002

a obtenu son certificat de fin de scolarité le : **29 JUIN 2007**

n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

Je soussigné, Pierre-Louis TOUTAIN, Professeur de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse,

autorise la soutenance de la thèse de :

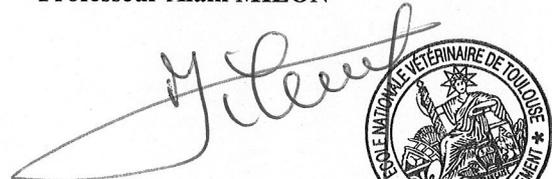
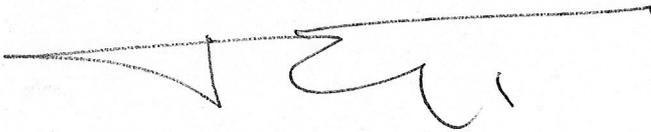
Melle LALLEMAND Elodie, Anne, Maud

intitulée :

«Pharmacocinétique de la moxidectine chez le chien.»

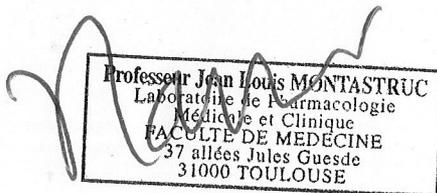
**Le Professeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Pierre-Louis TOUTAIN**

**Vu :
Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse
Professeur Alain MILON**

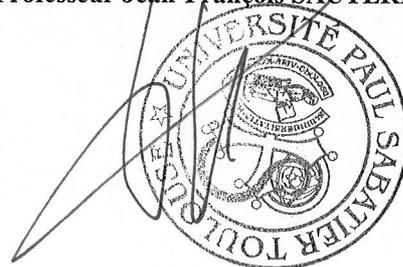


**Vu :
Le Président de la thèse :
Professeur Jean-Louis MONTASTRUC**

**Vu le : 2 - JUIL. 2007
Le Président
de l'Université Paul Sabatier
Professeur Jean-François SAUTEREAU**



Professeur Jean Louis MONTASTRUC
Laboratoire de Pharmacologie
Médecine et Clinique
FACULTE DE MEDECINE
37 allées Jules Guesde
31000 TOULOUSE



Bibliographie

1. Afzal, J., Burke, A.B., Batten, P.L., *et al.* Moxidectin: metabolic fate and blood pharmacokinetics of ¹⁴C-labeled moxidectin in horses. *J Agric Food Chem*, 1997, **45**, **9**, 3627-3633.
2. Afzal, J., Stout, S.J., daCunha, A.R., *et al.* Moxidectin : Absorption, tissue distribution, excretion and biotransformation of ¹⁴C-labeled moxidectin in sheep. *J Agric Food Chem*, 1994, **42**, 1767-1773.
3. Alvinerie, M., Escudero, E., Sutra, J.F., *et al.* The pharmacokinetics of moxidectin after oral and subcutaneous administration to sheep. *Vet Res*, 1998, **29**, **2**, 113-118.
4. Alvinerie, M., Galtier, P. Comparative pharmacokinetic properties of moxidectin and ivermectin in different animal species. *J Vet Pharmacol Ther*, 1997, **20**, 74.
5. Alvinerie, M., Sutra, J.-F., Cabezas, I., *et al.* Enhanced plasma availability of moxidectin in fasted horses. *J Equine Vet Sci*, 2000, **20**, **9**, 575-578.
6. Alvinerie, M., Sutra, J.-F., Lanusse, C., *et al.* Plasma profile study of moxidectin in a cow and its suckling calf. *Vet Res*, 1996, **27**, 545-549.
7. Alvinerie, M., Sutra, J.F., Badri, M., *et al.* Determination of moxidectin in plasma by high-performance liquid chromatography with automated solid-phase extraction and fluorescence detection. *J Chromatogr B*, 1995, **674**, 119-124.
8. Bassissi, M.F., Alvinerie, M., Lespine, A. Macrocyclic lactones: distribution in plasma lipoproteins of several animal species including humans. *Comp Biochem Physiol Part C*, 2004a, **138**, 437-444.
9. Bassissi, M.F., Lespine, A., Alvinerie, M. Enhancement of oral moxidectin bioavailability in rabbits by lipid co-administration. *Parasitol Res*, 2004b, **94**, **3**, 188-192.
10. Beal, M.W., Poppenga, R.H., Birdsall, W.J., *et al.* Respiratory failure attributable to moxidectin intoxication in a dog. *J Am Vet Med Assoc*, 1999, **215**, **12**, 1813-1817.
11. Bousquet-Melou, A., Mercadier, S., Alvinerie, M., *et al.* Endectocide exchanges between grazing cattle after pour-on administration of doramectin, ivermectin and moxidectin. *Int J Parasitol*, 2004, **34**, **11**, 1299-1307.
12. Carter, G.T., Nietsche, J.A., Hertz, M.R. LL-F28249, antibiotic complex : a new family of antiparasitic macrocyclic lactones, isolation, characterisation and structures. *J Antibiot*, 1988, **41**, 519-529.
13. Charman, W.N., Porter, C.J., Mithani, S., *et al.* Physicochemical and physiological mechanisms for the effects of food on drug absorption: the role of lipids and pH. *J Pharm Sci*, 1997, **86**, **3**, 269-282.

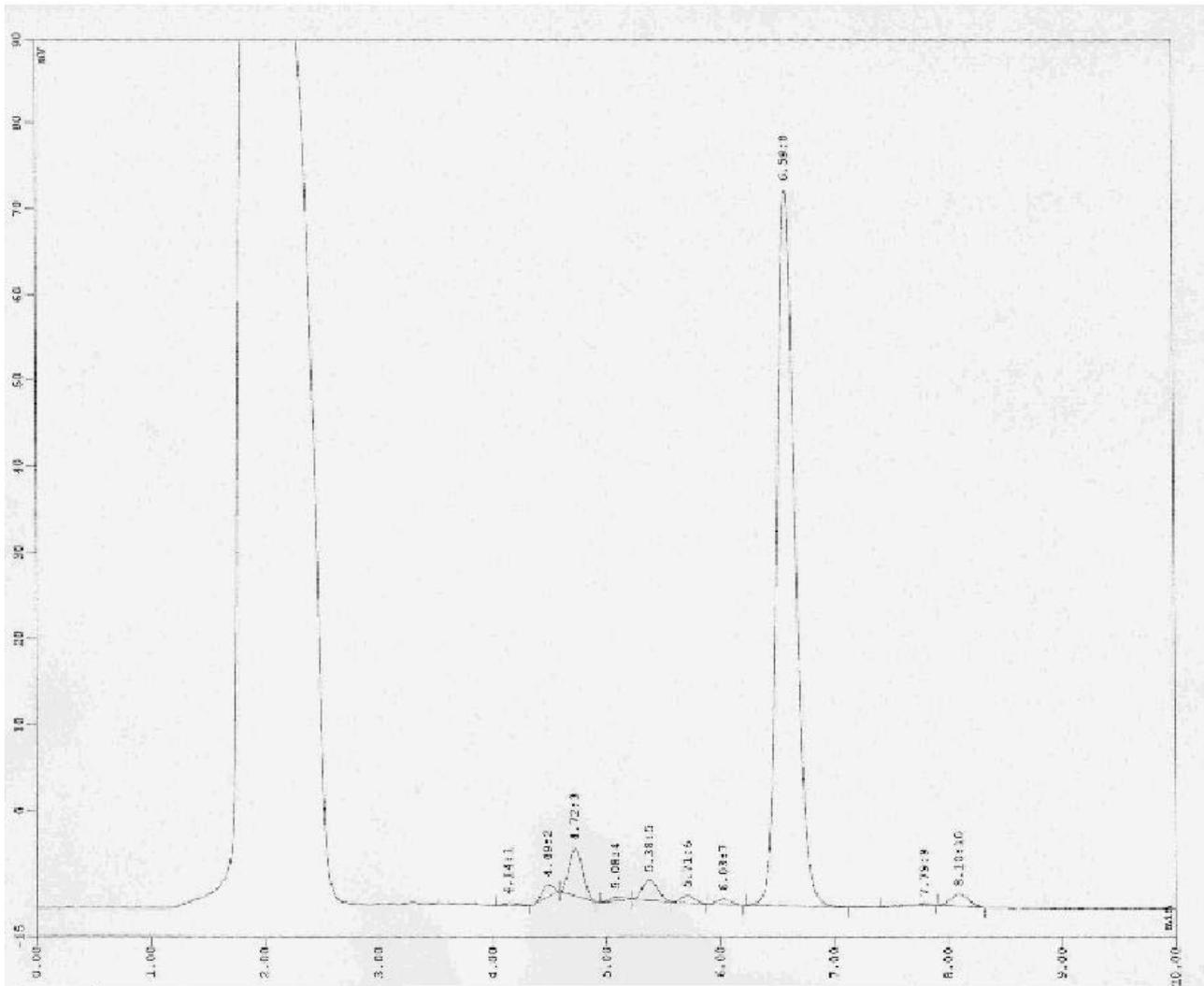
14. Cotreau, M.M., Warren, S., Ryan, J.L., *et al.* The antiparasitic moxidectin: safety, tolerability, and pharmacokinetics in humans. *J Clin Pharmacol*, 2003, **43**, 1108-1115.
15. Craven, J., Hennessy, D.R., Friis, C. Does the rate of fat deposition influence the pharmacokinetic disposition of subcutaneously administered moxidectin and ivermectin in pigs? *J Vet Pharmacol Ther*, 2002, **25**, **5**, 351-357.
16. Edwards, G.A., Porter, C., Caliph, S.M., *et al.* Animal models for the study of intestinal lymphatic drug transport. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, **50**, 45-60.
17. Epe, C., Roesler, K., Schnieder, T., *et al.* Investigations into the prevention of neonatal *Ancylostoma caninum* infections in puppies by application of moxidectin to the bitch *J Vet Med B*, 1999, **46**, 361-367.
18. Escudero, E., Carceles, C.M., Diaz, M.S., *et al.* Pharmacokinetics of moxidectin and doramectin in goats. *Res Vet Sci*, 1999, **67**, 175-179.
19. FDA Freedom of information summary: New Animal Drug Application 141-189. .
20. FoodandDrugAdministration, (Page consultée le 21 mars 2007). Freedom of information summary: New Animal Drug Application 141-051, [en ligne]. Adresse: <http://www.fda.gov/cvm/FOI/1056.htm>.
21. Fossati, P.,Prencipe, L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem*, 1982, **28**, 2077-2080.
22. Genchi, C., Poglayen, G.,Kramer, L.H. Efficacy of moxidectin for the prevention of adult heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs. *Parassitologia*, 2001, **42**, 139-141.
23. Gokbulut, C., Nolan, A.M.,McKellar, Q.A. Plasma pharmacokinetics and faecal excretion of ivermectin, doramectin and moxidectin following oral administration in horses. *Equine Vet J*, 2001, **33**, **5**, 494-498.
24. Guaguere, E.,Bensignor, E. Thérapeutique dermatologique du chien. 1^{ère} édition. Paris: Masson, 2002. 260.
25. Guzzo, C.A., Furtek, C.I., Porras, A.G., *et al.* Safety, tolerability, and pharmacokinetics of escalating high doses of ivermectin in healthy adult subjects. *J Clin Pharmacol*, 2002, **42**, 1122-1133.
26. Hennessy, D.R.,Alvinerie, M.R. Pharmacokinetics of the macrocyclic lactones: conventional wisdom and new paradigms. In: VERCRUYSSSE, J. and REW, R.S. (eds). *Macrocyclic lactones in antiparasitic therapy*. CAB International, 2002. 97-123.
27. Karlsson, M.O.,Bredberg, U. Bioavailability estimation by semisimultaneous drug administration: a monte carlo simulation study. *J Pharmacokinet Biopharm*, 1990, **18**, **2**, 103-120.

28. Laffont, C.M., Bousquet-Melou, A., Bralet, D., *et al.* A pharmacokinetic model to document the actual disposition of topical ivermectin in cattle. *Vet Res*, 2003, **34**, 445-460.
29. Lanusse, C., Lifschitz, A., Virkel, G., *et al.* Comparative plasma disposition kinetics of ivermectin, moxidectin and doramectin in cattle. *J Vet Pharmacol Ther*, 1997, **20**, 91-99.
30. Lespine, A., Chanoit, G., Bousquet-Melou, A., *et al.* Contribution of lymphatic transport to the systemic exposure of orally administered moxidectin in conscious lymph duct-cannulated dogs. *Eur J Pharm Sci*, 2006, **27**, 37-43.
31. Lespine, A., Sutra, J.F., Dupuy, J., *et al.* The influence of parasitism on the pharmacokinetics of moxidectin in lambs. *Parasitol Res*, 2004, **93**, 121-126.
32. Lia, R.P., Traversa, D., Agostini, A., *et al.* Field efficacy of moxidectin 1 per cent against *Thelazia callipaeda* in naturally infected dogs. *Vet Rec*, 2004, **154**, **5**, 143-145.
33. Lifschitz, A., Virkel, G., Imperiale, F., *et al.* Moxidectin in cattle: correlation between plasma and target tissues disposition. *J Vet Pharmacol Ther*, 1999, **22**, 266-273.
34. Lo, P.A., Fink, D.W., Williams, J.B., *et al.* Pharmacokinetic studies of ivermectin: effects of formulation. *Vet Res Commun*, 1985, **9**, 251-258.
35. Loeb, W.F., Quimby, F.W. The clinical chemistry of laboratory animals. 2nd edition. Philadelphia: Taylor and Francis, 1999. 753p.
36. Lok, J.B., Knight, D.H., Wang, G.T., *et al.* Activity of an injectable, sustained-release formulation of moxidectin administered prophylactically to mixed-breed dogs to prevent infection with *Dirofilaria immitis*. *Am J Vet Res*, 2001, **62**, **11**, 1721-1726.
37. Marriner, S.E., McKinnon, J., Bogan, J.A., *et al.* The pharmacokinetics of ivermectin after oral and subcutaneous administration to sheep and horses. *J Vet Pharmacol Ther*, 1987, **10**, 175-179.
38. Marrs, T.C., Dewhurst, I. Chapitre 94: Toxicology of Pesticides. In: BALLANTYNE, B., MARRS, T.C. and SYVERSEN, T. (eds). General and Applied Toxicology. New York: Grove's Dictionaries Inc., 1999. 1993-2012.
39. Martinez Labat, P., Garrido Alcala, Y., Vizzuett Resendiz, B. Prueba critica a la moxidectina como antinematodico alternativo en caninos. *Vet Arg*, 1996, **13**, **127**, 520-525.
40. Mc KELLAR, Q.A., BENCHAOUI, H.A. Avermectins and mylbemycins. *J Vet Pharmacol Ther*, 1996 **19**, 331-351.
41. McKellar, Q.A., Benchaoui, H.A. Avermectins and mylbemycins. *J Vet Pharmacol Ther*, 1996 **19**, 331-351.
42. Molento, M.B., Lifschitz, A., Sallovitz, J., *et al.* Influence of verapamil on the pharmacokinetics of the antiparasitic drugs ivermectin and moxidectin in sheep. *Parasitol Res*, 2004, **92**, **2**, 121-127.

43. Mrozik, H., Eskola, P., Fisher, M.H., *et al.* Avermectin acyl derivatives with anthelmintic activity. *J Med Chem*, 1982, **25**, 658-663.
44. Naito, S., Nanba, T., Owatari, Y., *et al.* Milbemycin derivatives : modification at the C-5 position. *J Antibiot*, 1994, **47**, 233-242.
45. Paul, A.J., Tranquilli, W.J., Hutchens, D.E. Safety of moxidectin in avermectin-sensitive Collies. *Am J Vet Res*, 2000, **61**, **5**, 482-483.
46. Perez, R., Cabezas, I., Garcia, M., *et al.* Comparison of the pharmacokinetics of moxidectin (Equest®) and ivermectin (Eqvalan®) in horses. *J Vet Pharmacol Ther*, 1999, **22**, 174-180.
47. Plumb, D.C. *Veterinary Drug Handbook*. 3rd edition. White Bear Lake: Pharma Vet Publishing, 1999. 750p.
48. Porter, C.J., Charman, W.N. Uptake of drugs into the intestinal lymphatics after oral administration. *Adv Drug Deliv Rev*, 1997, **25**, 71-89.
49. Rossi, L., Ferroglio, E., Agostini, A. Use of an injectable, sustained-release formulation of moxidectin to prevent canine subcutaneous dirofilariosis. *Vet Rec*, 2004, **154**, **1**, 26-27.
50. Rossi, L., Ferroglio, E., Agostini, A. Use of moxidectin tablets in the control of canine subcutaneous dirofilariosis. *Vet Rec*, 2002, **150**, 383.
51. Roulet, A., Puel, O., Gesta, S. MDR1-deficient genotype in collie dogs hypersensitive to the P-glycoprotein substrate ivermectin *Eur J Pharmacol*, 2003, **460**, 85-91.
52. Sallovitz, J., Lifschitz, A., Imperiale, F., *et al.* Breed differences on the plasma availability of moxidectin administered pour-on to calves. *Vet J*, 2002, **164**, **1**, 47-53.
53. Sasaki, Y., Kitagawa, H., Ishihara, K., *et al.* Milbemycin D concentrations in tissues after oral administration in Collies, Shelties and Japanese mongrel dogs. *Jpn J Vet Sci*, 1988, **50**, 1177-1183.
54. Shoop, W.L., Mrozik, H., Fisher, M.H. Structure and activity of avermectins and milbemycins in animal health. *Vet Parasitol*, 1995, **59**, **2**, 139-156.
55. Sundlof, S.F., (Page consultée le 21 mars 2007). Important drug information about ProHearth® 6, [en ligne]. Adresse: <http://www.fda.gov/cvm/proheart6091304.html>.
56. Vanapalli, S.R., Hung, Y.P., Fleckenstein, L., *et al.* Pharmacokinetics and dose proportionality of oral moxidectin in beagle dogs. *Biopharm Drug Dispos*, 2002, **23**, 263-272.
57. Wagner, J.G. *Pharmacokinetics for the pharmaceutical scientist*. Lancaster: Technomic Publishing Compagny, 1993. 336.
58. Wagner, R., Wendlberger, U. Field efficacy of moxidectin in dogs and rabbits naturally infested with *Sarcoptes* spp., *Demodex* spp. and *Psoroptes* spp. mites. *Vet Parasitol*, 2000, **93** 149-158.

59. Zulalian, J., Stout, S.J., Dacunha, A.R., *et al.* Absorbtion, tissue distribution, metabolism, and excretion of moxidectin in cattle. *J Agric Food Chem*, 1994, **42**, 381-387.

ANNEXES



Annexe 1

Fig. 4 : Chromatogramme du dosage de la moxidectine dans le plasma du chien 1 au temps 4h de l'administration par voie intraveineuse

Annexe 2

Tabl. 5 : Concentration plasmatique en moxidectine en ng/ml chez le chien Beagle (M=male, F=femelle) après administration orale puis intraveineuse de moxidectine à la dose de 200 µg/kg sans co-administration de lipides (n=5). ND : molécule non détectable.

Concentration en moxidectine (ng/ml)							
Temps phase orale (h)	Chien 1 (F)	Chien 2 (M)	Chien 3 (M)	Chien 4 (F)	Chien 5 (M)	Moyenne	Ecart type
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,50	61,38	97,49	53,03	36,22	34,82	56,59	25,48
1,00	108,76	139,13	103,41	90,68	55,17	99,43	30,47
2,00	125,84	145,42	131,13	100,49	112,38	123,05	17,29
4,00	99,10	133,91	103,33	91,81	89,86	103,60	17,80
8,00	71,53	59,92	56,44	66,26	52,04	61,24	7,75
12,00	58,30	36,20	37,05	51,04	33,31	43,18	10,89
24,00	34,93	27,45	20,89	33,08	21,27	27,52	6,50
36,00	23,06	18,51	16,22	24,25	15,47	19,50	3,98
48,00	17,27	18,33	14,44	20,17	12,15	16,47	3,18
72,00	12,07	14,90	12,03	12,42	10,70	12,42	1,53
96,00	7,02	12,76	11,46	8,66	9,03	9,79	2,30
144,00	2,85	8,19	9,14	4,20	6,98	6,27	2,66
192,00	1,33	5,56	7,45	2,27	5,67	4,46	2,56
240,00	0,65	4,88	4,25	1,31	4,53	3,12	1,98
288,00	0,35	3,52	5,96	0,89	3,94	2,93	2,31
336,00	0,18	2,71	4,89	0,60	3,33	2,34	1,96
408,00	0,11	1,82	3,72	0,25	2,60	1,70	1,55
Temps phase IV (h)							
0,03	1299,77	1386,04	1343,90	851,45	1194,94	1215,22	215,42
0,08	735,96	717,59	623,42	409,71	684,89	634,31	132,66
0,25	296,79	270,11	243,44	217,17	237,36	252,97	30,94
0,50	235,47	199,91	200,29	166,78	196,49	199,79	24,36
1,00	194,73	172,39	175,57	141,75	144,43	165,77	22,42
2,00	147,12	120,52	124,26	113,64	99,37	120,98	17,43
4,00	115,97	88,37	92,54	92,29	74,41	92,72	14,96
8,00	81,68	59,77	58,24	68,39	41,83	61,98	14,61
12,00	67,20	39,60	38,28	58,49	33,67	47,45	14,56
24,00	40,80	29,21	24,39	41,74	20,44	31,32	9,61
48,00	22,33	21,81	19,32	22,98	16,71	20,63	2,59
72,00	11,90	15,95	16,37	12,22	14,04	14,10	2,06
96,00	6,53	12,06	14,64	7,45	11,33	10,40	3,36
144,00	2,23	8,61	12,24	3,02	8,26	6,87	4,19
192,00	1,04	6,52	10,87	1,82	7,73	5,60	4,13
240,00	0,42	4,69	8,79	0,85	6,00	4,15	3,54
336,00	0,15	2,29	6,47	0,24	4,02	2,63	2,68
408,00	0,13	1,32	5,10	0,01	2,97	1,91	2,15
576,00	ND	0,40	2,82	ND	1,59	1,60	1,21
720,00	ND	0,20	1,85	ND	0,81	0,95	0,83

Annexe 3

Tabl. 6 : Concentration plasmatique en moxidectine en ng/ml chez le chien Beagle (M=male, F=femelle) après administration orale puis intraveineuse de moxidectine à la dose de 200 µg/kg avec co-administration de lipides lors de l'administration orale (n=5).

SI : quantité de sérum insuffisante pour réaliser un dosage.

Concentration en moxidectine (ng/ml)							
Temps phase orale (h)	Chien 6 (F)	Chien 7 (F)	Chien 8 (F)	Chien 9 (M)	Chien 10 (M)	Moyenne	Ecart type
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,50	1,17	2,71	0,72	0,46	5,36	2,08	2,03
1	3,22	2,95	8,13	2,02	56,68	14,60	23,64
2	28,35	46,81	85,45	111,92	93,93	73,29	34,59
4	68,17	73,94	98,51	111,43	56,29	81,67	22,67
8	81,51	92,99	61,16	74,55	35,15	69,07	22,19
12	43,90	53,85	35,92	46,73	30,03	42,09	9,31
24	22,71	23,74	26,41	20,83	17,40	22,22	3,36
36	12,19	15,45	15,34	13,73	12,76	13,89	1,48
48	10,07	12,18	14,21	11,11	11,31	11,78	1,55
72	7,55	10,97	10,69	8,63	9,87	9,54	1,44
96	7,20	9,10	9,64	7,79	8,00	8,35	1,00
144	6,37	7,56	8,21	6,76	6,55	7,09	0,77
192	5,48	6,33	6,68	6,05	6,09	6,13	0,44
240	5,26	6,07	6,29	5,63	5,25	5,70	0,47
312	4,64	5,22	5,10	6,04	4,53	5,11	0,60
360	4,47	4,62	4,42	4,65	3,92	4,42	0,29
408	4,14	3,94	3,98	4,64	3,67	4,07	0,36
480	3,92	3,50	3,13	4,03	3,11	3,54	0,43
Temps phase IV (h)							
0,06	1165,00	1814,41	1338,71	1708,44	1249,86	1455,28	288,58
0,10	689,73	645,45	787,31	911,81	468,29	700,52	165,27
0,25	411,67	302,93	354,21	340,81	210,52	324,02	74,50
0,50	304,85	234,04	262,86	237,71	162,43	240,38	51,93
1	205,59	194,55	187,96	187,50	120,52	179,22	33,62
2	123,27	130,05	120,57	135,18	84,52	118,72	19,96
4	89,54	96,50	90,88	99,53	66,46	88,58	13,02
8	48,43	65,41	60,94	64,63	40,95	56,07	10,85
12	30,42	38,03	35,49	35,55	25,74	33,05	4,93
24	19,48	23,74	24,00	21,22	19,64	21,62	2,17
48	13,23	19,22	19,65	16,99	17,41	17,30	2,54
72	12,32	16,02	17,63	14,34	14,48	14,96	1,99
96	12,23	13,36	15,61	12,87	12,22	13,26	1,40
144	10,23	11,02	13,82	11,60	10,20	11,37	1,49
192	10,16	11,43	12,88	9,98	8,37	10,57	1,69
240	8,60	10,03	SI	9,99	8,18	9,20	0,95
336	8,18	8,18	7,71	8,41	6,15	7,73	0,92
408	8,04	7,04	SI	8,12	5,28	7,12	1,32
576	6,60	5,43	4,64	6,73	3,01	5,28	1,54
696	5,78	4,75	3,75	5,77	2,17	4,44	1,52

Toulouse, 2007

NOM : LALLEMAND

Prénom : ELODIE

TITRE : PHARMACOCINETIQUE DE LA MOXIDECTINE CHEZ LE CHIEN

RESUME :

L'objectif de ce travail de thèse a été d'étudier la pharmacocinétique de la moxidectine chez le chien, tout particulièrement sa biodisponibilité par voie orale et l'influence de la co-administration de lipides.

Dans une première partie bibliographique, les caractéristiques de la moxidectine puis les données existantes concernant la pharmacocinétique et la pharmacodynamie de cette molécule ont été rappelées.

Dans une seconde partie expérimentale, le devenir de la moxidectine après une administration semisimultanée orale puis intraveineuse avec ou sans co-administration de lipides lors de la phase orale ont été étudiés. La biodisponibilité orale de la moxidectine chez le chien est bonne ($90.2 \pm 7.4 \%$), et une co-administration de lipides ne l'augmente pas. La clairance, le volume de distribution, le temps moyen de résidence et le temps de demi-vie sont similaires à ceux décrits précédemment. Enfin, notre étude suggère que le poids a une influence sur le volume de distribution.

MOTS-CLES : MOXIDECTINE, PHARMACOCINETIQUE, BIODISPONIBILITE, CHIEN, ADMINISTRATION SEMISIMULTANEE, LIPIDES

ENGLISH TITLE : MOXIDECTIN PHARMACOKINETICS IN DOGS

ABSTRACT :

The aim of this study was to obtain pharmacokinetic data on moxidectin in dogs, and particularly the oral bioavailability and the influence of lipid co-administration.

Based on review of literature, characteristic of moxidectin, pharmacokinetic and pharmacodynamic existing data have been presented.

In an experimental study, the fate of moxidectin after an oral then intravenous semi-simultaneous administration with or without lipid co-administration for the oral treatment was studied. Our study indicates that the bioavailability of orally-given moxidectin in dogs is good ($90.2 \pm 7.4 \%$), and is not enhanced by lipid co-administration. The clearance, the volume of distribution, the mean residence time and the terminal half-life were similar to what was already described. Finally our trial suggests that the body condition is likely a major determinant of moxidectin kinetics in dog due to its modulation of the volume of distribution that indirectly controls the terminal half-life of the drug.

KEYWORDS : MOXIDECTIN, PHARMACOKINETIC, BIOAVAILABILITY, DOG, SEMISIMULTANEOUS ADMINISTRATION, LIPID.