

## PESQUISA

## Acesso Aberto

# Farmacocinética do fluralaner em cães após uma administração oral ou intravenosa única.

Susanne Kilp<sup>1\*</sup>, Diana Ramirez<sup>2</sup>, Mark J Allan<sup>1</sup>, Rainer KA Roepke<sup>1</sup> e Martin C Nuernberger<sup>1</sup>.

### Resumo

**Retrospecto:** Fluralaner é um novo inseticida e acaricida sistêmico. A finalidade destes estudos foi investigar as propriedades farmacocinéticas do fluralaner em cães Beagle após a administração oral ou intravenosa (i.v.) única.

**Métodos:** Após a administração oral de 12,5, 25 ou 50 mg de fluralaner/kg de peso corporal (PC), formulado em comprimidos mastigáveis, ou a administração i.v. de 12,5 mg de fluralaner/kg PC, formulado em solução i.v., a 24 Beagles, foram coletadas amostras de plasma até 112 dias após o tratamento. As concentrações plasmáticas do fluralaner foram medidas usando HPLC-MS/MS. Os parâmetros farmacocinéticos foram calculados usando métodos não compartimentados.

**Resultados:** Após a administração oral, as concentrações plasmáticas máximas ( $C_{max}$ ) foram alcançadas em 1 dia em média. O fluralaner foi quantificável no plasma por até 112 dias após um único tratamento oral e i.v. A meia-vida aparente do fluralaner foi 12-15 dias e o tempo de permanência médio foi 15-20 dias. O volume de distribuição aparente do fluralaner foi 3,1 L/kg, e a *clearance* foi 0,14 L/kg/dia.

**Conclusões:** O fluralaner é prontamente absorvido após a administração oral de dose única e tem uma longa meia-vida de eliminação, longo tempo médio de permanência, relativamente alto volume de distribuição aparente e baixa *clearance*. Essas características farmacocinéticas ajudam a explicar a prolongada atividade do fluralaner contra pulgas e carrapatos em cães após uma única dose oral.

**Unitermos:** Fluralaner, Farmacocinética, Cão, Oral, Intravenoso.

### Retrospecto

O fluralaner é um novo inseticida e acaricida sistêmico formulado em comprimido oral mastigável que pode ser administrado a cães em intervalos de 12 semanas para extermínio persistente efetivo de inúmeras espécies de pulgas e carrapatos em cães [1,2].

O fluralaner pertence a uma nova classe de produtos químicos com uma estrutura isoxazolina como característica essencial [2,3]. Ele tem peso molecular de 556,29, um  $\log P_{ow}$  (coeficiente de partição octanol/água) de 5,35 e é altamente ligado às proteínas plasmáticas.

O fluralaner é um potente inibidor dos canais de cloreto dependentes de ligando (canais de cloreto dependentes de ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) e L-glutamato) nos neurônios, com mais seletividade significativa para neurônios de artrópodes do que para neurônios de mamíferos [2,3]. Investigações *in vivo* mostraram que após uma única administração oral a cães, o fluralaner fornece atividade persistente de extermínio de pulgas e carrapatos por 12 semanas [1]. O fluralaner é um tratamento ectoparasiticida altamente efetivo e de longa

duração para cães.

### Métodos

Comprimidos mastigáveis contendo 13,64% (p/p) de fluralaner foram formulados para administração oral a cães. O material de teste para administração i.v. foi formulado em solução com 2,5 mg de fluralaner /mL em um veículo de polietilenoglicol (PEG) 200 (90% v/v) contendo água para injeção a 10% v/v.

Cães Beagle machos e fêmeas saudáveis foram mantidos em recinto fechado em baias com pisos vedados e alojados individualmente até 5 ou 6 semanas após a administração de fluralaner (oral ou i.v.) para evitar a contaminação cruzada potencial entre os animais. Depois disso, os cães foram alojados em baias em grupos de 3 do mesmo grupo de tratamento e sexo. O ambiente do recinto era monitorado continuamente, com uma temperatura de 15-21°C, umidade relativa de 40-70%, 10-20 trocas de ar por hora e um ciclo de 12 horas de luz fluorescente/12 horas de escuro.

\* Correspondência: [susanne.kilp@msd.de](mailto:susanne.kilp@msd.de)

<sup>1</sup>MSD Animal Health Innovation GmbH, Zur Propstei, 55270 Schwabenheim, Alemanha.

A lista completa de informações sobre os autores está disponível no final do artigo.

Os cães eram alimentados uma vez ao dia pela manhã com uma dieta canina padrão e tinham acesso *ad libitum* a água. No dia da administração do fluralaner oral, os cães receberam metade de sua ração diária pouco antes do tratamento e o restante imediatamente após o tratamento, pois a administração dos comprimidos mastigáveis de fluralaner com alimento aumenta sua biodisponibilidade [4].

Para determinar a taxa e extensão da exposição sistêmica após a administração oral e a proporcionalidade da dose oral, foi conduzido um estudo de grupos paralelos com 3 grupos de tratamento. Os cães receberam 12,5, 25 ou 50 mg (dose alvo) de fluralaner/kg PC oralmente, com a dose intermediária (25 mg/kg PC) baseada na dose de tratamento mínima recomendada [1]. Parâmetros farmacocinéticos adicionais como a *clearance* total do organismo e o volume de distribuição foram determinados em um estudo separado envolvendo 6 Beagles aos quais foram administrados 12,5 mg de fluralaner/kg OC por infusão i.v. lenta. Todas as taxas de dose nas seções a seguir são expressas em mg de fluralaner por kg PC.

Em ambos os estudos, os cães foram randomizados aos grupos de tratamento (3 cães por sexo por grupo), por sexo e divididos em blocos por peso corporal para assegurar uma distribuição equilibrada. Ambos os estudos foram conduzidos em conformidade com os princípios das Boas Práticas de Laboratório []. O trabalho com os animais foi conduzido em conformidade com a respectiva legislação nacional e aprovado pelo Comitê de Ética para Experimentos com Animais da Harlan Laboratories S.A.

As doses orais individuais foram determinadas com base nos pesos corporais individuais e no conteúdo nominal de fluralaner nos comprimidos. Os cães receberam comprimidos inteiros usando comprimidos de fluralaner de 112,5 mg, 250 mg ou 500 mg, ou uma combinação de comprimidos, para obter uma dose próxima da dose alvo calculada. A administração oral foi facilitada colocando a dose alvo calculada no fundo da língua do cão. Os volumes das doses injetáveis intravenosas foram determinados com base nos pesos corporais individuais e foram administrados em infusão a taxa constante durante 5 minutos usando um sistema de injeção automático (KDS Modelo 200, KD Scientific Inc., Holliston, EUA). A taxa de injeção por hora era aproximadamente 12 vezes o respectivo volume de dose para assegurar a administração em 5 minutos.

Amostras de sangue foram coletadas da veia jugular em tubos contendo citrato de sódio antes e em 2, 4 e 8 horas e 1, 2, 3, 4, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77, 84, 91, 98, 105 e 112 dias após a administração oral, e 15 min, 2, 4 e 8 horas e 1, 2, 3, 4, 7, 14, 21, 28, 35, 49, 63, 77, 91 e 112 dias após a administração i.v. O plasma foi extraído por centrifugação e armazenado congelado em frascos plásticos estéreis até a análise. Os cães eram atentamente observados por 1 h após a administração e uma vez ao dia dali em diante.

As amostras de plasma foram extraídas por precipitação de proteínas com acetonitrila e diluídas com ácido fórmico a 0,1%. A solução resultante foi analisada quantitativamente usando a extração em fase sólida

automática acoplada a cromatografia líquida com detecção por espectrometria de massa (SPE-HPLC-MS/MS online). A faixa linear do método para determinação do fluralaner foi 10,0 a 2500 ng/ml/ mL, com um limite inferior de quantificação (LIQ) de 10,0 ng/mL. Os parâmetros farmacocinéticos do fluralaner foram calculados usando métodos não compartimentados com o software validado WinNonlin® Professional Versão 5.3 (Pharsight Corporation, Califórnia, EUA). O pico da concentração plasmática ( $C_{max}$ ) e o tempo até o pico da concentração ( $t_{max}$ ) foram os valores observados. A meia-vida de eliminação ( $t_{1/2}$ ) foi calculada por regressão linear usando o declive do segmento terminal da concentração plasmática versus curva do tempo semilogarítmica. A área sob a curva da concentração versus tempo (AUC) do tempo 0 até a última concentração mensurável ( $AUC_{(0 \rightarrow t)}$ ) foi calculada usando a regra trapezoidal linear. A AUC do tempo 0 extrapolada ao infinito ( $AUC_{(0 \rightarrow \infty)}$ ) foi determinada como  $AUC_{(0 \rightarrow t)} + C_t/\lambda_z$ , onde  $C_t$  é a concentração plasmática no tempo  $t$  e  $\lambda_z$  é a constante da taxa de primeira ordem associada à porção terminal (log-linear) da curva. O volume de distribuição aparente ( $V_z$ ) após a administração i.v., baseado na fase terminal, foi calculado como  $Dose/\lambda_z \times AUC$ . A *clearance* total (CI) do organismo após a administração i.v. foi calculada como  $Dose/AUC$ . A biodisponibilidade (F%) através da via oral foi calculada usando a  $AUC_{(0 \rightarrow \infty)}$  média como  $(AUC_{(0 \rightarrow \infty) oral}/AUC_{(0 \rightarrow \infty) iv}) \times (Dose_{iv}/Dose_{oral}) \times 100$ . O tempo médio de permanência (TMP) extrapolado até o infinito foi calculado como a razão de  $AUMC/AUC$ ; onde  $AUMC$  é a área sob a curva do primeiro momento. A proporcionalidade da dose foi testada quanto aos parâmetros de exposição  $C_{max}$  e  $AUC_{(0 \rightarrow t)}$ . Para essa finalidade, os valores normalizados para a dose (dose nominal) foram analisados usando um modelo apropriado de regressão da análise da variância (ANOVA). Os testes eram bilaterais no nível de significância de 0,05. Todos os dados são expressos em médias aritméticas  $\pm$  DP, a menos que indicado em contrário.

## Resultados e discussão

Cada um dos três grupos de seis cães (1-2 anos de idade; peso 7,8-11,4 kg) recebeu fluralaner oralmente em uma das três doses alvo (12,5, 25 ou 50 mg/kg). As doses foram atingidas usando comprimidos inteiros e, portanto, cada cão recebeu uma dose ao redor da dose alvo. Esta foi na faixa de 12,0-14,6 mg/kg para uma dose alvo de 12,5 mg/kg, 25,0-28,8 mg/kg para uma dose alvo de 25 mg/kg, e 42,2-53,2 mg/kg para uma dose alvo de 50 mg/kg.

Nenhum cão mostrou qualquer achado clínico ou evento adverso após a administração oral de fluralaner.

As concentrações plasmáticas do fluralaner alcançaram  $C_{max}$  em média 1 dia após a administração, e declinaram progressivamente ao longo do tempo, com alguns picos secundários mais baixos, o que pode indicar redistribuição ou recirculação, por exemplo, a recirculação entero-hepática. Houve um aumento dose-dependente na média do pico das concentrações plasmáticas. A porção terminal das curvas da

concentração plasmática versus tempo seguiu um curso quase paralelo; nos dois grupos da dose mais baixa na mesma concentração com alta variabilidade inter-individual, e no grupo da dose alta a uma concentração mais alta com menor variabilidade inter-individual. O fluralaner pôde ser quantificado no plasma ( $> 10$  ng/mL) por até 112 dias após o tratamento, demonstrando uma longa persistência sistêmica (Figura 1).

No grupo i.v. (12,5 mg/kg), foi observada eliminação bastante lenta do fluralaner após a infusão de 5 minutos. Em todos os cães, as concentrações plasmáticas do fluralaner declinaram em função do tempo, com alguns picos secundários, o que pode indicar redistribuição ou recirculação, por exemplo, recirculação entero-hepática. O fluralaner pôde ser quantificado no plasma por até 112 dias após a administração, demonstrando uma longa persistência sistêmica após a administração i.v. a cães (Figura 2).

Os parâmetros farmacocinéticos não compartimentados calculados a partir dos dados da concentração-tempo do fluralaner são mostrados na Tabela 1.

A *clearance* total média do fluralaner do plasma foi 0,14 L/kg/dia e o volume de distribuição aparente médio do fluralaner foi 3,1 L/kg após a infusão i.v.

Os valores médios da meia-vida (15 dias) e do tempo de permanência (20 dias) sugerem um processo de eliminação lenta após a infusão i.v. Esses parâmetros foram similares aos valores determinados após a administração oral em diferentes taxas de dose, indicando que a cinética da eliminação parece ser independente da dose e da via de administração.

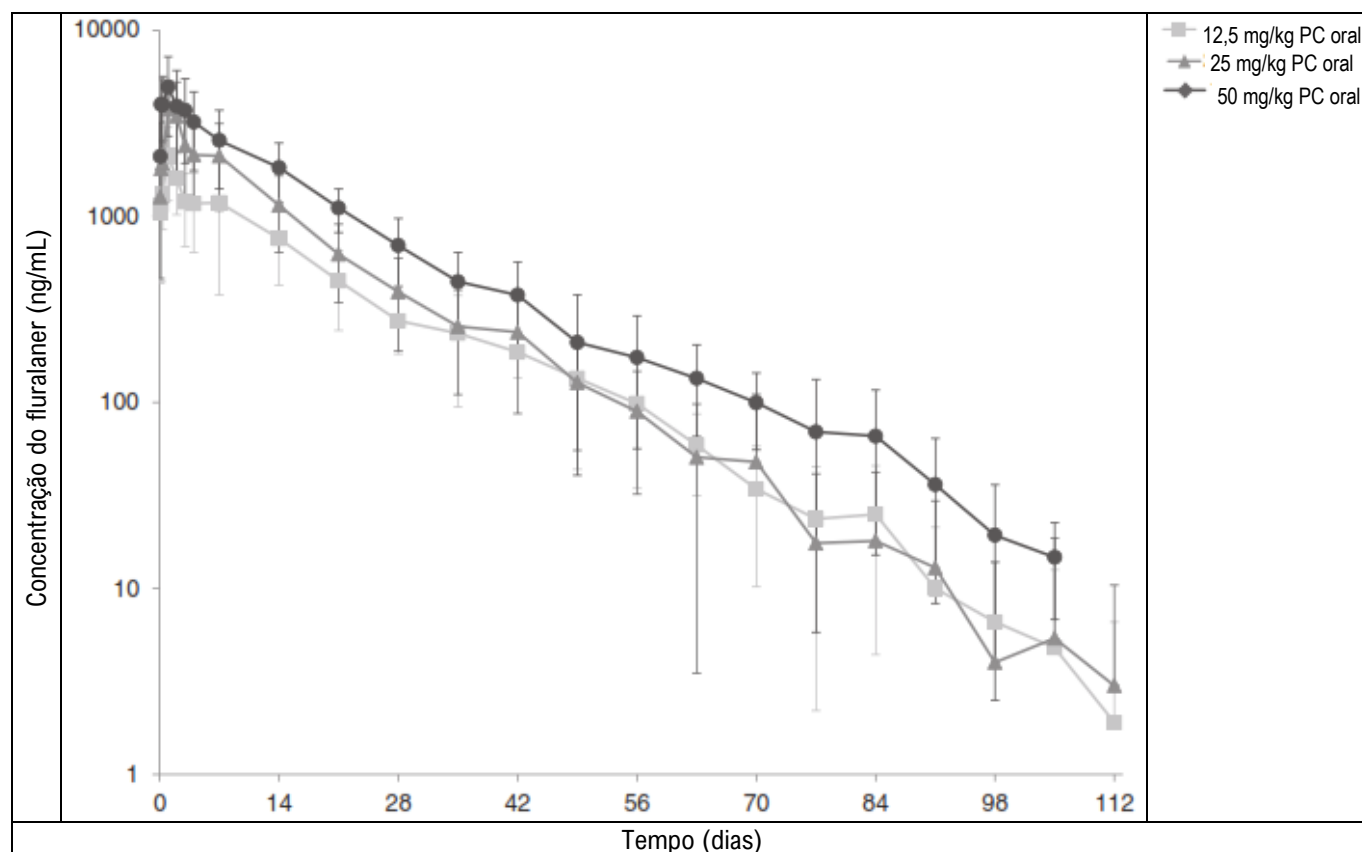
Como apenas medicamentos não ligados no sistema

vascular estão disponíveis para eliminação pelos órgãos de depuração, o volume de distribuição aparente e a *clearance* são determinantes da meia-vida terminal [7-9]. Levando em consideração o volume total de água do organismo (aproximadamente 0,6 L/kg) de um cão [6], o fluralaner tem uma distribuição aparente relativamente alta ( $V_z = 3,1$  L/kg) nos tecidos após a infusão i.v., apesar de seu alto nível de ligação às proteínas plasmáticas.

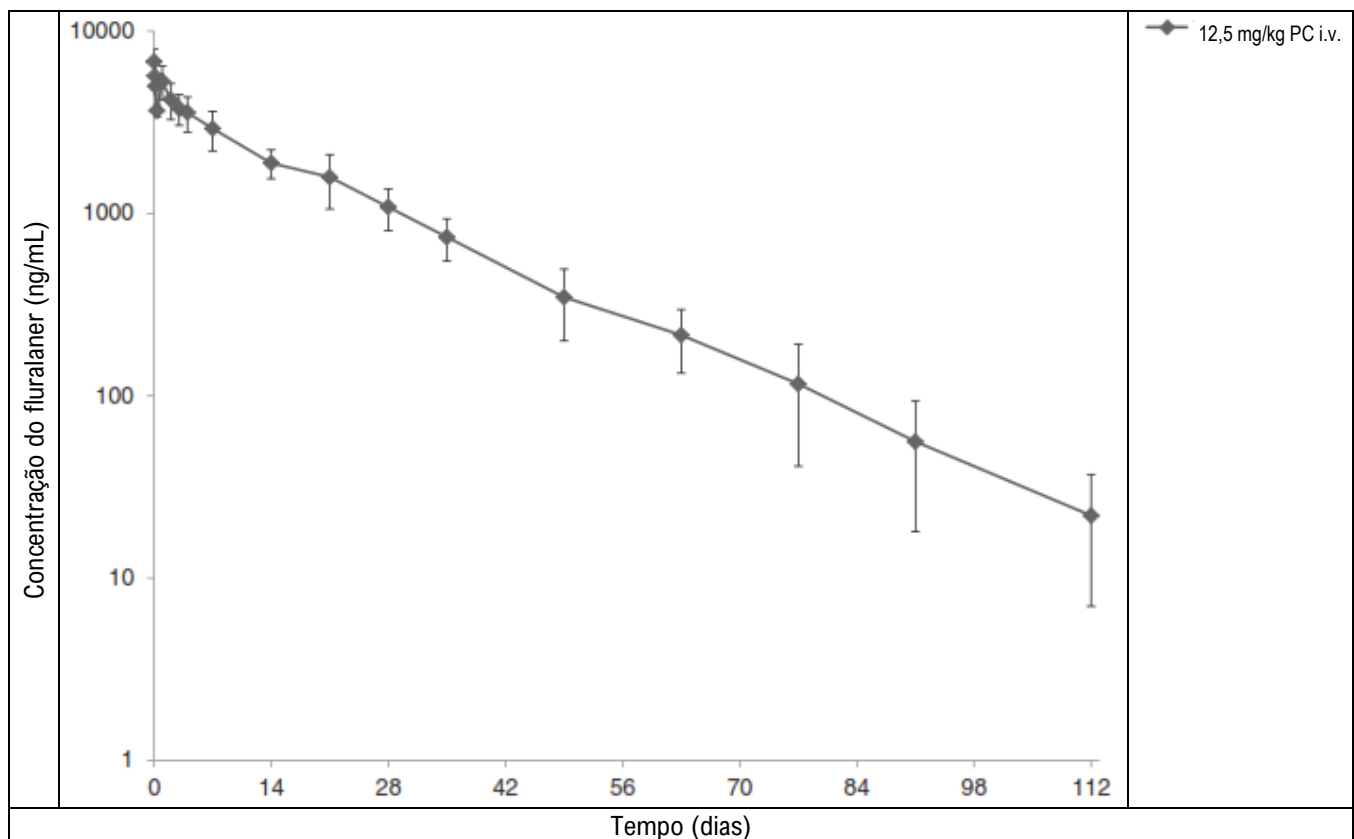
Para o fluralaner, pressupõe-se que a principal via de eliminação seja provavelmente a hepática, pois a alta ligação às proteínas plasmáticas sugere que a eliminação através da filtração renal seja menor; portanto, pode-se supor que a *clearance* plasmática seja equivalente à *clearance* hepática. Considerando um fluxo sanguíneo hepático fisiológico no cão de aproximadamente 44,5 L/kg/dia [6,7] e *clearance* hepática do fluralaner de 0,14 L/kg/dia, estima-se que a razão da extração hepática seja baixa (0,3%). A baixa *clearance*, juntamente com a relativamente alta distribuição para os tecidos, pode explicar a disponibilidade sistêmica de longa duração do fluralaner no cão.

A biodisponibilidade da formulação oral é discretamente mais alta nas doses orais mais baixas ( $34 \pm 16\%$ ,  $26 \pm 11\%$  e  $20 \pm 8\%$ , para 12,5, 25 e 50 mg/kg, respectivamente).

Entretanto, não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de dose nos parâmetros de exposição normalizados para a dose  $AUC_{(0 \rightarrow t)}$  e  $C_{max}$  (ANOVA,  $p = 0,165$  para  $AUC_{(0 \rightarrow t)}$  e  $p = 0,206$  para  $C_{max}$ ), indicando não haver evidência contra a hipótese nula da proporcionalidade da dose do fluralaner ao longo da faixa de 12,5 mg/kg a 50 mg/kg.



**Figura 1. Concentrações plasmáticas do fluralaner (Média  $\pm$  Desvio Padrão) nos cães após a administração oral única. Os valores abaixo do LIQ (10 ng/mL) foram estabelecidos em zero para o cálculo das médias.**



**Figura 2. Concentrações plasmáticas do fluralaner (Média ± Desvio Padrão) nos cães após a administração i.v. única.** Os valores abaixo do LIQ (10 ng/mL) foram estabelecidos em zero para o cálculo das médias.

**Tabela 1.** Parâmetros farmacocinéticos plasmáticos do fluralaner em cães após a administração única oral ou i.v.

Parâmetros	Oral 12,5 mg/kg n = 6	Oral 25,0 mg/kg n = 6	Oral 50,0 mg/kg n = 6	Intravenoso 12,5 mg/kg n = 6
C <sub>max</sub> (ng/mL)	2144 ± 860	3948 ± 1734	5419 ± 2086	7109 ± 908
t <sub>max</sub> <sup>a</sup> (dia)	1 (faixa 0,08-2)	1 (faixa 1-2)	1 (faixa 0,17-3)	n/a
AUC <sub>(0-d112)</sub> (dia*ng/mL)	29665 ± 13858	46115 ± 18932	70171 ± 26412	87198 ± 11835
AUC <sub>(0→∞)</sub> (dia*ng/mL)	29922 ± 13808	46416 ± 18929	70531 ± 26529	87779 ± 12004
t <sub>1/2</sub> (dia)	13 ± 1	12 ± 3	14 ± 1	15 ± 2
TMP (dia)	19 ± 2	15 ± 4	17 ± 3	20 ± 3
Cl (L/kg/dia)	n/a	n/a	n/a	0,14 ± 0,02
V <sub>z</sub> (L/kg)	n/a	n/a	n/a	3,1 ± 0,5

<sup>a</sup>Mediana, os outros valores são a média ± desvio padrão.  
N/A não aplicável.

### Conclusões

O fluralaner é prontamente absorvido após a administração oral de dose única e tem uma longa meia-vida de eliminação, longo tempo médio de permanência, relativamente alto volume de distribuição aparente e baixa *clearance*. Essas características farmacocinéticas ajudam a explicar a prolongada atividade do fluralaner contra pulgas e carrapatos em cães após uma única dose oral.

### Declaração de conformidade

Este estudo foi conduzido na Espanha após a obtenção da autorização das autoridades reguladoras relevantes.

### Conflito de interesses

Todos os autores, exceto DR, são funcionários da Merck/MSD Animal Health.

### Contribuições dos autores

SK, DR, MJA, RKAR e MCN foram os autores do desenho e do protocolo do estudo, monitoraram o estudo e interpretaram os resultados. SK preparou o manuscrito e todos os autores revisaram e aprovaram a versão final.

### Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer a todo o pessoal envolvido na condução do estudo e a Rob Armstrong pela assistência na preparação do manuscrito.

### Detalhes dos autores

<sup>1</sup>MSD Animal Health Innovation GmbH, Zur Propstei, 55270 Schwabenheim, Germany. <sup>2</sup>Harlan Laboratories, Centro Industrial Santiga, c/Argenters, 6, 08130 Santa Perpètua de Mogoda Barcelona, Spain.

Recebido em: 18 de dezembro de 2013, Aceito em: 26 de fevereiro de 2014  
Publicado em: 7 de março de 2014

## Referências

1. Rohdich N, Roepke RKA, Zschiesche E: A randomized, blinded, controlled and multi-centered field study comparing the efficacy and safety of Bravecto™ (fluralaner) against Frontline™ (fipronil) in flea- and tick-infested dogs. *Parasit Vectors* 2014, 7:83.
2. Gassel M, Wolf C, Noack S, Williams H, Ilg T: The novel isoxazoline ectoparasiticide fluralaner: selective inhibition of arthropod  $\gamma$ -aminobutyric acid- and L-glutamate-gated chloride channels and insecticidal/acaricidal activity. *Insect Biochem Mol Biol* 2014, 45:111-124.
3. Ozoe Y, Asahi M, Ozoe F, Nakahira K, Mita T: The antiparasitic isoxazoline A1443 is a potent blocker of insect ligand-gated chloride channels. *Biochem Biophys Res Commun* 2010, 391:744-749.
4. Walther FM, Allan MJ, Roepke RKA, Nuernberger MC: The effect of food on the pharmacokinetics of oral fluralaner in dogs. *Parasit Vectors* 2014, 7:84.
5. OECD: *Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring No. 1. OECD Principles of Good Laboratory Practice (as revised in 1997)*. Paris: OECD Environmental Health and Safety Publications, ENV/MC/ CHEM(98)17; 1998.
6. Davies B, Morris T: Physiological parameters in laboratory animals and humans. *Pharm Res* 1993, 10(7):1093-1095.
7. Toutain PL, Bousquet-Mélou A: Clearance. *J Vet Pharmacol Ther* 2004, 27:415-425.
8. Toutain PL, Bousquet-Mélou A: Plasma terminal half life. *J Vet Pharmacol Ther* 2004, 27:427-439.
9. Toutain PL, Bousquet-Mélou A: Volumes of distribution. *J Vet Pharmacol Ther* 2004, 27:441 -453

doi:10.1186/1756-3305-7-85

**Cite este artigo como:** Kilp et al.: Pharmacokinetics of fluralaner in dogs following a single oral or intravenous administration. *Parasites & Vectors* 2014 7:85.

**Submeta seu próximo manuscrito para BioMed Central e aproveite todas as vantagens de:**

- Conveniente submissão online
- Revisão completa por pares
- Nenhuma restrição de espaço ou despesas de figuras em cores
- Publicação imediata quando da aceitação
- Inclusão no PubMed, CAS, Scopus e Google Scholar
- Pesquisa livremente disponível para redistribuição

Submeta seu manuscrito em:  
[www.biomedcentral.com/submit](http://www.biomedcentral.com/submit)

