

FARMACOCINÉTICA DEL ÁCIDO CLAVULÁNICO INTRAVENOSO EN CABRA A DOSIS ÚNICA

Pharmacokinetics of intravenous clavulanic acid at single dose in goats

Cárceles, C.*; Sanjuán, M. A.*; Hita, J.; Ordóñez, D.*

* Departamento de Ciencias Socio-sanitarias. Universidad de Murcia.

Recibido: 7 septiembre
Aceptado: 30 noviembre

RESUMEN

Se ha estudiado la cinética del clavulanato potásico, tras su administración endovenosa, en la cabra. Los resultados obtenidos indican que el clavulanato se distribuye en la cabra siguiendo un modelo bicompartimental abierto cuya expresión es la siguiente:

$$C_t = 61'5078 e^{-0,1453t} + 28'5500 e^{-0,0133t} \text{ mg/l.}$$

Igualmente se han deducido diversos parámetros farmacocinéticos y se ha estudiado la evolución de las concentraciones de clavulanato en los diferentes compartimentos. Por último se realizó la unión del producto a las proteínas plasmáticas, resultando un porcentaje medio de unión de 16'30%.

Palabras clave: farmacocinética, ácido clavulánico, cabra.

SUMMARY

A kinetic survey of potassium clavulanate has been carried after intravenous administration in goats. Results show that clavulanate is spread in goats according to an open pattern with two compartments whose expression is as follows:

$$C_t = 61'5078 e^{-0,1453t} + 28'5500 e^{-0,0133t} \text{ mg/l.}$$

Several pharmacokinetic parameters have been studied as well as the evolution of clavulanate concentrations in the different compartments.

Finally, the binding of clavulanate to plasmatic proteins of goat has been studied, resulting an average union percentage of 16.30%.

Key words: pharmacokinetics, clavulanic acid, goat.

INTRODUCCIÓN

El ácido clavulánico es una sustancia natural, producida por una cepa de *Streptomyces clavuligerus* (ROLNISON, 1982) que posee un anillo

beta-lactámico. La importancia de esta molécula radica en que se comporta como un inhibidor de numerosas beta-lactamasas, como las producidas por *Stafilococcus aureus* y las beta-lactamasas de microorganismos gram-negativos

de las clases II a IV de Richmond (FARMER y READING, 1982; READING, 1982; READING et al. 1983).

La inactivación de las beta-lactamasas que ocasiona el ácido clavulánico protege a cualquier penicilina presente y permite que ejerza su actividad normal bactericida (BROGDEN et al., 1981; WEBER et al., 1986). Se ha comprobado la sinergia entre este compuesto y la amoxicilina (COMBER et al., 1983; MARTÍN y GONZÁLEZ, 1988), asociada en proporción 4:1 en forma de sal potásica, por ser ésta soluble en agua y estable a pH neutro.

Si bien esta combinación se está utilizando desde hace algún tiempo en medicina humana, en medicina veterinaria está introduciéndose ahora su uso (COOPER, 1985; SENIOR et al., 1985).

A la hora de ajustar los regímenes correctos de dosificación de los fármacos cobra especial importancia el conocimiento de la evolución temporal de los mismos en la especie que va a recibirlos. Dicho conocimiento nos lo proporciona los estudios farmacocinéticos, que comienzan siempre con una administración única del producto por vía intravenosa. Lo que se debe a que de esta forma podemos obtener los parámetros farmacocinéticos más interesantes, que nos servirán de referencia para saber la biodisponibilidad del fármaco.

Por todo ello, en la presente comunicación aportamos los datos farmacocinéticos del clavulanato potásico, tras su administración intravenosa, que es la forma en que se utiliza clínicamente el ácido clavulánico, en cabras de la raza Murciano-Granadina.

También se ha realizado el estudio de la unión del clavulanato potásico a las proteínas plasmáticas de la cabra.

MATERIAL Y MÉTODOS

Animales

Se han utilizado 10 cabras hembras sanas de raza Murciano-Granadina, con un peso comprendido entre 38 y 43 kg. Todos los animales se encontraban en fase de lactación y no recibieron ningún producto medicamentoso desde un mes antes del desarrollo de la experiencia.

Protocolo experimental

Los animales fueron sometidos a un ayuno de 24 horas, tras el cual cada individuo recibió por vía intravenosa una solución acuosa de clavula-

nato potásico. El producto se administró a la dosis de 5 mg/kg de peso vivo.

Las extracciones de muestras de sangre, requeridas para la valoración en plasma de las concentraciones de este compuesto, se realizaron en la vena yugular derecha a los 3, 6, 9, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 180, 240 y 300 min de la administración en la vena yugular izquierda de clavulanato potásico. Para realizar las mencionadas extracciones se utilizó el sistema vacutainer, con agujas de 0'9 x 25 mm, por lo que se les infligía un daño mínimo a los animales. Por otro lado, el volumen total de sangre extraído (65 ml) supone menos del 1 % de la volemia del animal por lo que no existen cambios importantes de la misma que pudieran influir en el estudio realizado.

La sangre se recogía en tubos heparinizados y posteriormente se sometía a una centrifugación para obtener el plasma. Estos eran almacenados a -20 °C hasta el momento de la determinación de las concentraciones de clavulanato en ellos.

Análisis farmacocinético

Los cálculos se han efectuado en un ordenador INVES PC 640OX TURBO HD20MD, utilizando un programa iterativo de ajuste mediante regresión no lineal (MULTI) propuesto por YAMAOKA et al. (1981). Con él se han hallado las ecuaciones mono y biexponencial que describen los procesos de desaparición de clavulánico del plasma tras su administración por vía intravenosa. Los datos han sido ponderados considerando el inverso de las observaciones, y ajustados mediante el algoritmo de MARDQUART.

Para estos ajustes, los parámetros iniciales se han obtenido por regresión lineal mediante el método de los residuales (GIBALDI y PERRIER, 1982).

La selección de la ecuación que mejor se ajusta a los datos experimentales (mono y biexponencial) se ha realizado atendiendo al criterio de información de AKAIKE (AIC) (YAMAOKA, et al., 1978).

Técnicas analíticas

La determinación del clavulanato potásico en plasma se realizó mediante un sistema cromatográfico líquido de alta presión Water, compuesto de un controlador programable mod. 721, un módulo de datos mod. 730, un detector Lambda-Max LS mod. 481, dos bombas mod.

510 y un inyector mod. U6K, según el modelo de FOULSTONE y READING (1982).

Unión a proteínas plasmáticas

Para el estudio de la unión del clavulanato a las proteínas plasmáticas se ha utilizado el método de diálisis en el equilibrio, utilizando bolsas de celofán para diálisis Wisking Dialysis Tubing 8/32, de 6 mm de diámetro y 50 µm de anchura de pared Serva.

Se realizaron 8 series con sus respectivos blancos sin clavulanato a las siguientes concentraciones: 33'180, 26'070, 18'960, 11'850, 4'740, 3'555, 2'370 y 1'185 mg/l, a un pH de 7.4. Con tres de ellas obtuvimos la recta de calibrado, y las restantes se utilizaron para el estudio de la unión del clavulanato a las proteínas plasmáticas, introduciendo en cada tubo una bolsa de diálisis que contenía 1 ml de plasma.

Las bolsas de diálisis se prepararon según el método de RUDMAN y KENDALL (1957), modificado por SERRANO et al. (1984). El proceso de diálisis lo mantuvimos durante 24 h, en oscuridad y a temperatura ambiente.

Las concentraciones de clavulanato se determinaron en el interior de las bolsas de plasma y en los tampones externos de todas las series, según el método ya mencionado.

RESULTADOS

Administración intravenosa de clavulanato

A partir de las áreas de los picos cromatográficos obtenidos para las distintas muestras se calculan los valores de concentración plasmática del producto (cuadro 1). Con ellos hemos obtenido las ecuaciones del modelo cinético correspondiente a cada animal. La ecuación media hallada es la siguiente:

$$Ct = 61'5078 e^{-0.1453t} + 28'5500 e^{-0.0133t} \text{ mg/l.}$$

De esta ecuación hemos deducido los parámetros farmacocinéticos más importantes, que reflejamos en el cuadro 2. Igualmente hemos deducido la evolución de las concentraciones teóricas de clavulanato en el compartimento periférico (figura 1), y la evolución de las cantidades totales del producto en el organismo y de la cantidad excretada (figs. 2 y 3).

Unión del clavulanato a las proteínas plasmáticas

Los resultados del estudio de la unión del clavulanato a las proteínas plasmáticas de cabra se muestran en el cuadro 3. En él se observan los valores medios de concentración de clavulanato libre, total y unido, así como los por-

CUADRO 1
COMPARACIÓN ENTRE LOS VALORES MEDIOS EXPERIMENTALES DE CONCENTRACIÓN DE CLAVULANATO, EN mg/l, A LOS DISTINTOS TIEMPOS DE EXTRACCIÓN Y LOS QUE SE OBTIENEN DE LA ECUACIÓN DE AJUSTE

TIEMPOS DE EXTRACCIÓN (min)	VALORES MEDIOS	COEFICIENTE DE VARIACIÓN	VALORES TEÓRICOS	(X-Xest) ²
3	66'30	8'3871	67'21	0'8301
6	53'31	13'6580	52'08	1'4925
9	41'59	15'3896	41'97	0'1455
15	23'68	20'5834	30'35	44'4900
30	19'20	25'9778	19'96	0'5835
45	16'09	34'6933	15'81	0'0806
60	13'79	39'7478	12'89	0'8074
75	11'77	44'8321	10'56	1'4680
90	8'62	57'6332	8'65	0'0011
120	4'47	62'5442	5'81	1'8007
180	2'37	73'2581	2'62	0'0636
240	1'39	71'4223	1'18	0'0428
300	0'53	78'9114	0'53	1'45 10 ⁻⁵

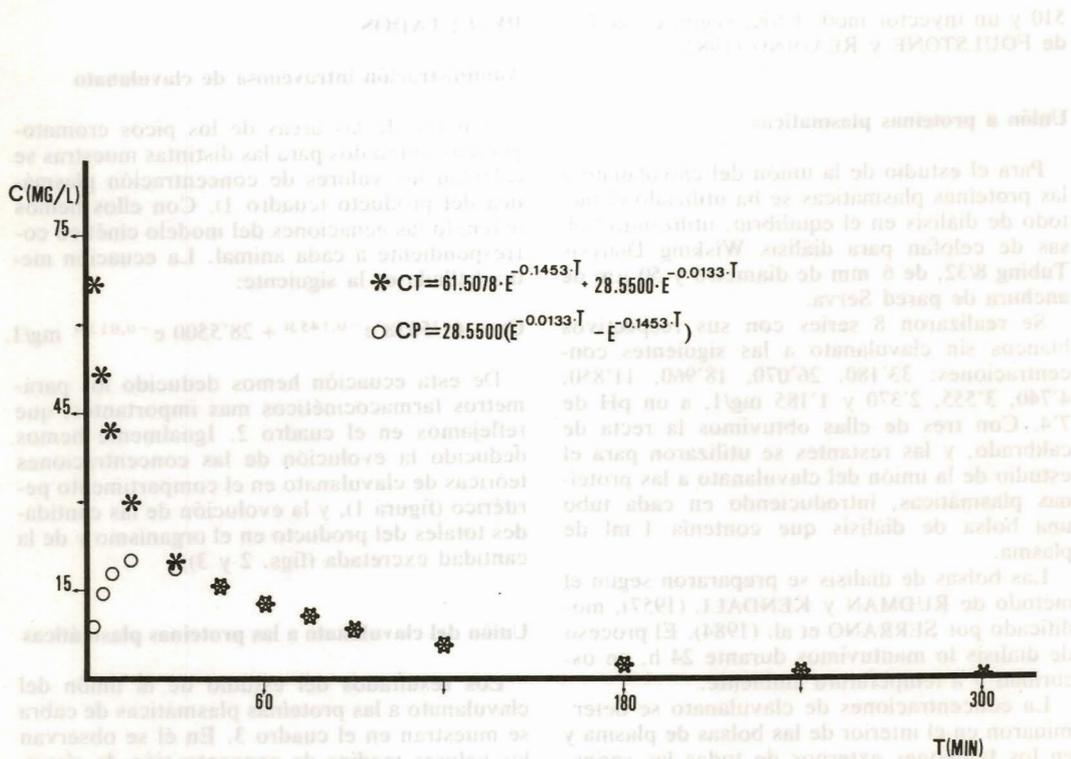


FIGURA 1. Representación gráfica de la evolución de las concentraciones teóricas de clavulanato en los compartimentos central y periférico, en mg/l

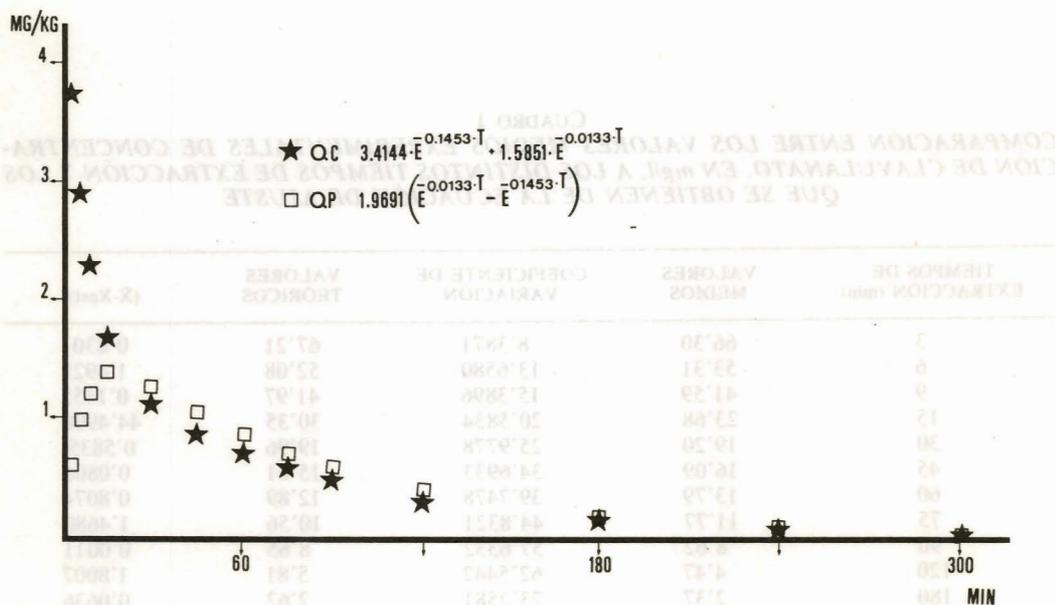


FIGURA 2. Representación gráfica de las cantidades totales de clavulanato en los compartimentos central y periférico en mg/kg de peso vivo

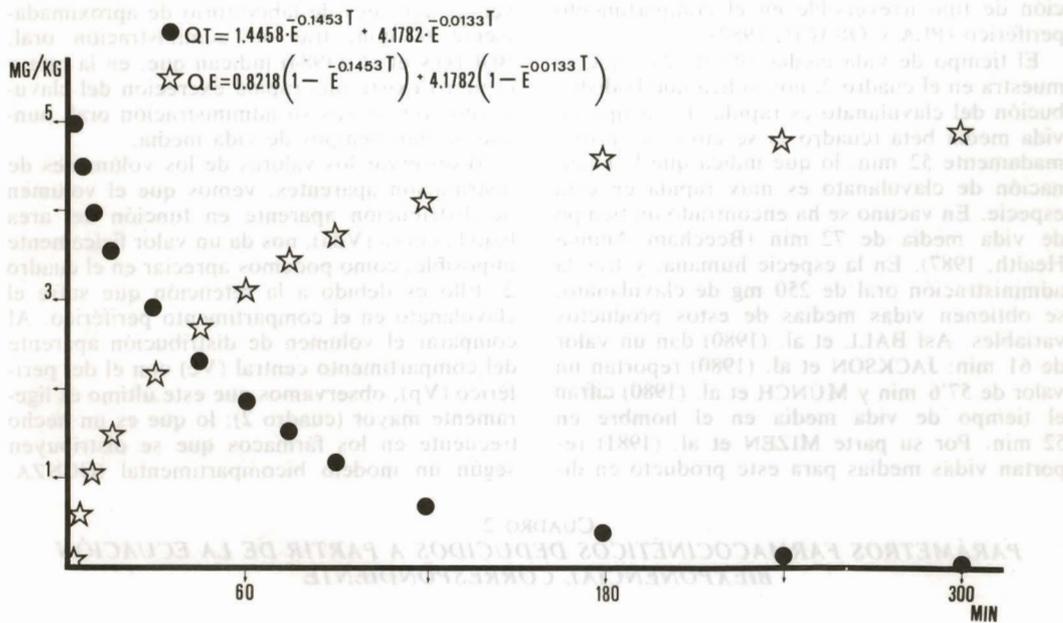


FIGURA 3. Representación gráfica de la evolución de la cantidad total de clavulanato en el organismo y de la cantidad eliminada, en mg/kg de peso vivo

centajes de recuperación de las series de ensayo.

DISCUSIÓN

El número de extracciones realizadas son suficientes para este estudio ya que en la última extracción se ve reducida la concentración inicial en un 80%.

El análisis cinético de los datos indica que el proceso global de desaparición de clavulanato del plasma se ajusta a una ecuación biexponencial y, por tanto a un modelo bicompartimental abierto.

Al relacionar los valores teóricos de concentración plasmática de clavulanato que obtenemos con esta ecuación y los valores medios experimentales (cuadro 1), obtenemos un coeficiente de correlación lineal de 0'9962, lo que nos confirma el buen ajuste de los datos a un modelo bicompartimental abierto. Igualmente, al realizar una prueba «t» de STUDENT entre los valores teóricos y los experimentales, obtenemos un valor de 0'057 que nos vuelve a confirmar el buen ajuste de los datos a un modelo bicompartimental abierto ($p < 0'001$).

Los parámetros farmacocinéticos más intere-

santes aparecen en el cuadro 2. En él observamos los valores de las constantes híbridas y de las microconstantes. Al relacionar las constantes α y β mediante la razón α/β , obtenemos un valor de 10'95 que nos dice que la distribución del clavulanato es claramente bicompartimental y es que β la que controla principalmente los procesos de distribución y eliminación.

Las constantes K_{12} y K_{21} (cuadro 2) indican que el clavulanato es retenido en algún lugar del compartimento periférico ($K_{12}/K_{21} = 1'242$). Este hecho puede falsear el valor real del volumen aparente de distribución (PLÁ y OBACH, 1982), por lo que «a priori» los niveles plasmáticos de clavulanato en la cabra son un punto de referencia incompleto para evaluar las cantidades reales de dicho fármaco en el organismo, siendo necesario ver la evolución temporal del mismo en el compartimento periférico para poder ajustar con mayor seguridad sus regímenes de dosificación (GIBALDI y PERRIER, 1982; WAGNER, 1983).

La relación K_{12}/K_{13} , que adquiere un valor de 1'958, nos dice que existe un acceso rápido y eficaz del fármaco al compartimento periférico lo que facilita una rápida consecución del equilibrio de concentraciones entre los dos compartimentos. El cociente K_{21}/K_{13} , con un valor de 1'576, nos informa que no existe una acumula-

ción de tipo irreversible en el compartimento periférico (PLÁ y OBACH, 1982).

El tiempo de vida media alfa ($t_{1/2\alpha}$), que se muestra en el cuadro 2, nos indica que la distribución del clavulanato es rápida. El tiempo de vida media beta (cuadro 2) se cifra en aproximadamente 52 min, lo que indica que la eliminación de clavulanato es muy rápida en esta especie. En vacuno se ha encontrado un tiempo de vida media de 72 min (Beecham Animal Health, 1987). En la especie humana, y tras la administración oral de 250 mg de clavulanato, se obtienen vidas medias de estos productos variables. Así BALL et al. (1980) dan un valor de 61 min; JACKSON et al. (1980) reportan un valor de 57.6 min y MÜNCH et al. (1980) cifran el tiempo de vida media en el hombre en 52 min. Por su parte MIZEN et al. (1981) reportan vidas medias para este producto en di-

versos animales de laboratorio de aproximadamente 60 min, tras su administración oral. BOLTON et al. (1984) indican que, en la rata y el perro existe una rápida excreción del clavulanato sódico tras su administración oral, aunque no dan tiempos de vida media.

Al observar los valores de los volúmenes de distribución aparentes, vemos que el volumen de distribución aparente en función del área bajo la curva (Vda), nos da un valor físicamente imposible, como podemos apreciar en el cuadro 2. Ello es debido a la retención que sufre el clavulanato en el compartimento periférico. Al comparar el volumen de distribución aparente del compartimento central (Vc) con el del periférico (Vp), observamos que este último es ligeramente mayor (cuadro 2); lo que es un hecho frecuente en los fármacos que se distribuyen según un modelo bicompartimental (GONZÁ-

CUADRO 2
PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DEDUCIDOS A PARTIR DE LA ECUACIÓN
BIEXPONENCIAL CORRESPONDIENTE

PARÁMETRO	SÍMBOLO	VALOR	UNIDADES
Intersección en ordenadas curva uniexponencial de disposición rápida	A	61'5078	mg/l
Intersección en ordenadas curva uniexponencial de disposición lenta	B	28'5500	mg/l
Constante híbrida de disposición rápida	α	-0'1453	min ⁻¹
Constante híbrida de disposición lenta	β	-0'0133	min ⁻¹
Concentración inicial teórica	Co	90'0578	mg/l
Área bajo la curva	ABC	2575'6611	mg min/l
Constante de eliminación	K ₁₃	0'0350	min ⁻¹
Constante de transferencia	K ₁₂	0'0685	min ⁻¹
Constante de retorno	K ₂₁	0'0551	min ⁻¹
Tiempo de vida media alfa	$t_{1/2\alpha}$	4'7694	min
Tiempo de vida media beta	$t_{1/2\beta}$	52'2443	min
Volumen de distribución aparente en función del área	Vda	0,1463	l/kg
Volumen de distribución aparente del compartimento central	Vc	0'0555	l/kg
Volumen de distribución aparente del compartimento periférico	Vp	0'0908	l/kg
Aclaramiento plasmático	Cl	0'0776	l/min
Tiempo de equilibrio	t*	13'5197	min
Tiempo de concentración periférica máxima	tm	18'1292	min
Concentración periférica máxima	Cmp	20'3982	mg/l
Cantidad periférica máxima	Qmp	1'4069	mg/kg
Fracción de fármaco en el compartimento central	fc	0'3794	min ⁻¹

que Vc, lo que supone alrededor del 62'06% del Vda, y por tanto una buena distribución en el compartimento periférico.

El aclaramiento plasmático, con un valor de 0'0776 l/min, nos indica que este fármaco se elimina rápidamente en la cabra.

En cuanto a la evolución del fármaco en el compartimento periférico, podemos apreciar en la fig. 1 que existe un incremento hasta alcanzar la concentración periférica máxima (24'40 mg/l), que ocurre hacia los 18 min. A partir de entonces tienden a igualarse las concentraciones en ambos compartimentos.

La cantidad de clavulanato en el compartimento central es en principio superior a la del compartimento periférico para, con posterioridad y tras alcanzarse el equilibrio a los 13'52 min, hacerse inferior (fig. 2). Esto era de esperar ya que Vp es mayor que Vc.

En la figura 3 observamos cómo evoluciona la cantidad total del clavulanato en el organismo, junto con la evolución de la cantidad de clavulanato excretada, ajustándose ambas curvas a una ecuación biexponencial.

Unión del clavulanato a las proteínas plasmáticas

Los porcentajes de recuperación obtenidos en los ensayos oscilan entre el 77'80% y el 96'26% ($\bar{X} = 83'86\%$), por lo que tan sólo se pierde aproximadamente una media del 16% del producto al interaccionar con las paredes de la bolsa de diálisis.

En general, la unión de los fármacos a las proteínas plasmáticas suele expresarse como porcentaje de unión (cuadro 3). En él se observa la tendencia general al descenso de los mismos conforme se incrementa la concentración de fármaco. Esto se debe a la progresiva saturación de la capacidad de fijación de la proteína.

El porcentaje de unión medio obtenido es de 16'30, que es un valor inferior al 22 que se da en la especie bovina (BEECHAM ANIMAL HEALTH, 1987), y al reportado por COMBER et al. (1980) en la especie humana (30%). Este valor es un tanto bajo, lo que puede ser debido a varias circunstancias, una de ellas podría ser el hecho de que el clavulanato es suficientemente hidrosoluble no necesitando de la unión a proteínas para «hidrosolubilizarse». Otra circunstancia es el hecho de que posiblemente, al igual que otros betalactámicos, su unión radique de forma casi exclusiva con la fracción albúmina y probablemente, esta unión específica, de un valor mayor que el obtenido globalmente, por todas las proteínas plasmáticas en las que se incluyen algunas cuya unión al producto será posiblemente despreciable o nula.

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestro sincero agradecimiento a los Laboratorios Antibióticos S.A. que nos han facilitado el clavulanato, y a don Angel Poto y don Antonio Paredes que nos han permitido el uso de animales en nuestra experiencia.

CUADRO 3
VALORES MEDIOS DE CONCENTRACIÓN DE CLAVULANATO LIBRE, TOTAL Y UNIDO Y PORCENTAJES DE UNIÓN A LAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS Y DE RECUPERACIÓN (CONCENTRACIONES EN mg/l)

LIBRE	CONCENTRACIONES			PORCENTAJES	
	TOTAL	UNIDA	DE UNIÓN	DE RECUPERACIÓN	
28'1793	32'8965	4'7172	14'3396	96'2647	
21'4859	25'0073	3'5124	14'0815	83'7670	
15'2600	17'8602	2'6002	14'5585	81'8579	
9'9756	11'7251	1'7495	14'9210	85'6586	
3'9319	4'6887	0'7568	16'1414	84'5476	
2'8260	3'4200	0'5940	17'3693	81'1638	
1'8026	2'2171	0'4145	18'6957	77'8079	
0'8657	1'0865	0'2208	20'3201	79'8548	

BIBLIOGRAFÍA

- BALL, A. P.; FARRELL, I. D.; GEDDES, A. M.; DAVEY, P.; BROOKES, G. R. 1980. Clinical and pharmacokinetics studies with clavulanic acid (abstract 303). En: Abs. 19th Interscien. Conf. Antimic. Ag. Chemother. Boston.
- BEECHAM ANIMAL HEALTH RESEARCH CENTRE, 1987. Synulox, nuevo concepto en la antibioterapia. Cuaderno de divulgación.
- BOLTON, G. C.; ALLEN, G. D.; FILER, C. W.; JEFFREY, D. J., 1984. Absorption, metabolism and excretion studies on clavulanic acid in the rat and dog. *Xenobiotica* 14: 483-490.
- BROGDEN, R. N.; CARMINE, A.; HEEL, R. C.; MORLEY, P. A.; SPEIGHT, T. M.; AVERY, G. S. 1981. Amoxicillin/clavulanic acid: A review of its antibacterial activity, pharmacokinetics and therapeutic use. *Drugs* 22: 337-362.
- COMBER, K. R.; HORTON, R.; LAYTE, S. J.; WHITE, A. R.; SUTHERLAND, R. 1980. Augmentin: Antibacterial activity in vitro and in vivo. En: Proc. 1st Symp. Augmentin. Amsterdam. Exc. Med. 19-38.
- COOPER, J. E. 1985. Safety and efficacy of clavulanate-potentiated amoxicillin in pigeon (*Columba livia*). *Res. Vet. Sci.* 39: 87-89.
- FARMER, T.; READING, C. 1982. Beta-lactamase of *Branhamella catarrhalis* and their inhibition by clavulanic acid. *Antimic. Ag. Chemother.* 21: 506-508.
- FOULSTONE, M.; READING, C. 1982. Assay of amoxicillin and clavulanic acid, the components of Augmentin, in biological fluids with high-performance liquid chromatography. *Antimic. Ag. Chemother.* 22: 753-762.
- GIBALDI, M.; PERRIER, D. 1982. Farmacocinética. Reverté, Barcelona.
- GONZÁLEZ, A.; SANZ, F.; RODRÍGUEZ, D.; MARTÍNEZ, C. 1980. Estudio farmacocinético de la nicobenzida administrada por vía intravenosa. *Arch. Farmacol. Toxicol.* 6: 179-186.
- JACKSON, D.; COOPER, D. L.; LANGLEY, P. F.; HARDY, T. L.; STANFORTH, D. H.; SUTTON, J. D. 1980. Pharmacokinetic, toxicological and metabolic studies with Augmentin. En: ROLINSON, G. N.; WATSON, A., eds. Exc. Med. Int. Congr. Series. 554: 19-38, Amsterdam.
- JANKU, I. 1971. Pharmacokinetics. En: Bacq, Z. M. (ed.). *Fundamentals of Biochemical Pharmacology*. Pergamon Press, Oxford.
- MARTIN, F.; GONZÁLEZ, E. 1988. Amoxicilina/ácido clavulánico frente a estafilococos. *Rev. Esp. Microbiol. Clin.* 3: 45-48.
- MITSUHASHI, S.; NAKAZAWA, H.; INOUE, M.; MATSURA, M.; HASHIMOTO, T. 1982. Antivacterial activity of amoxicillin with clavulanic acid against amoxicillin-resistant strains of clinical isolates. En: Proc. Int. Symp., Montreux. LEIGH, D. A.; ROBINSON, O. P. W., eds. Exc. Med.: 22-33. Amsterdam.
- MIZEN, L.; BHANDARI, K.; CATHERALL, E. 1981. Pharmacokinetics and distribution of Augmentin (amoxicillin/clavulanic acid) in laboratory animals. *Drugs Exp. Clin. Res.* 7/3: 263-267.
- MORISSET, R.; TOMA, E.; PHANEUF, D.; POISSON, M.; VEGA, C. 1983. Amoxicillin/clavulanic acid: Tentative criteria to interpret disc susceptibility (abstract 36). En: Program and Abstracts 23rd Interscien. Conf. Antimic. Ag. Chemother., Las Vegas.
- MUNCH, R.; LUTHY, R.; BLASER, J.; SIEGENTHALER, W. 1980. Clavulanic acid: Human pharmacokinetics and CSF penetration (abstract 307). En: Abs. 19th Interscien. Conf. Antimic. Ag. Chemother., Boston.
- NEU, H. C. 1982. Synergistic activity of mecillinam in combination with the beta-lactamase inhibitors clavulanic acid and sulbactam. *Antimic. Ag. Chemother.* 22: 518-519.
- PLA, J. M.^a; OBACH, R. 1982. Farmacocinética. En: *Perspectivas terapéuticas con su fundamento farmacológico*. J. Esplugues ed. Vol. 7. Saber, Valencia.
- READING, C.; FARMER, T.; COLE, M. 1983. The beta-lactamase stability of amoxicillin with the beta-lactamase inhibitor clavulanic acid. *J. Antimic. Chemother.* 11: 27-32.
- READING, C. 1982. The biochemistry and mode the action of Augmentin. Proc. Int. Symp. Montreux LEIGH, D. A., ROBINSON, O. P. eds. Exc. Med., 5-21. Amsterdam.
- ROLINSON, G. N. 1982. The history and background of Augmentin. *South African Medical. J.* 62: 3A-4A.
- RUDMAN, D.; KENDALL, F. E. 1957. Bile acid content of human serum. II. The binding of cholanic acids by human plasma proteins. *J. Clin. Invest.* 36: 538-542.
- SENIOR, D. F.; GASKIN, J. M.; BUERGELT, C. D.; FRANKS, P. P.; KEEFE, T. J. 1985. Amoxicillin and clavulanic acid combination in the treatment of experimentally induced bacterial cystitis in cats. *Res. Vet. Sci.* 39: 42-46.
- SERRANO, J. M.; CABANAS, L. F. y SANTIAGO, D. 1984. Estudio de la unión de silimarina a proteínas plasmáticas. II. Proteínas de cerdo, ovino, caprino, bovino y hombre. *Arch. Zootec.* 125: 89-95.
- WAGNER, J. G. 1983. Farmacocinética clínica. Reverté, Barcelona.
- WEBER, D. J.; TOLKOFF-RUBIN, R. H.; RUBIN, R. H. 1986. Amoxicilina y clavulanato potásico: una combinación antibiótica. Mecanismo de acción, farmacocinética, espectro antimicrobiano, eficacia clínica y efectos adversos. *Rev. Esp. Microbiol. Clin.* 1: 214-229.
- WEPIERE, J. 1977. *Abrégé de pharmacodynamie générale*. Masson, Paris.
- YAMAOKA, K.; NAKAGAWA, T.; UNO, T. 1978. Application of Akarke's Information Criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equations. *J. Pharmacokin Biopharm.* 6: 165-175.
- YAMAOKA, K.; TANIGAWARA, N.; NAKAGAWA, T.; UNO, T. 1981. A pharmacokinetic analysis program (MULTI) for microcomputer. *J. Pharm. Dyn.* 4: 879-885.