

FARMACOCINÉTICA INTRAVENOSA Y UNIÓN A PROTEÍNAS PLASMÁTICAS DE AMOXICILINA Y ÁCIDO CLAVULÁNICO EN OVINOS

Intravenous Pharmacokinetics and binding to plasmatic proteins of Amoxicillin and Clavulanic acid in sheep

Serrano, J. M.*, Hita, J.**, Ponferrada, C. J.*, López, M. C.** y Cárcelos, C. M.**

* Dpto. Farmacología y Toxicología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Córdoba.

** Dpto. Ciencias Sociosanitarias. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.

Recibido: 12 diciembre 1989

Aceptado: 24 de abril 1990

RESUMEN

En el presente trabajo hemos estudiado la cinética intravenosa de la amoxicilina y del ácido clavulánico en la oveja. Después del estudio farmacocinético correspondiente, los resultados han mostrado un mejor ajuste a un modelo de dos compartimentos abiertos cuyas ecuaciones respectivas son las siguientes:

Amoxicilina:

$$Ct = 225,40 e^{(-0,1462 \cdot t)} + 98,97 e^{(-0,0082 \cdot t)} \text{ mg/l}$$

Ácido clavulánico:

$$Ct = 79,27 e^{(-0,1515 \cdot t)} + 34,42 e^{(-0,0099 \cdot t)} \text{ mg/l}$$

La unión de la amoxicilina y del ácido clavulánico a las proteínas plasmáticas de la oveja han mostrado unos porcentajes medios de unión de 16,33 y 17,07 por ciento respectivamente.

Palabras clave: Farmacocinética, ovejas, amoxicilina, ácido clavulánico, unión a proteínas.

SUMMARY

A kinetic survey of amoxicillin and clavulanic acid after intravenous administration in sheep has been studied. After the corresponding pharmacokinetics studies results show a better adjustment to bicompartimental models which numerical expressions are respectively as follows:

Amoxycillin:

$$Ct = 225.40 e^{(-0.1462 \cdot t)} + 98.97 e^{(-0.0082 \cdot t)} \text{ mg/l}$$

Clavulanic acid:

$$Ct = 97.27 e^{(-0.1515 \cdot t)} + 34.42 e^{(-0.0099 \cdot t)} \text{ mg/l}$$

The amoxycillin and clavulanic acid binding to plasma proteins have shown an average union percentage of 16.33% and 17.07% respectively.

Key words: Pharmacokinetic, sheep, amoxycillin, clavulanic acid, protein binding.

INTRODUCCIÓN

La amoxicilina es una penicilina semisintética perteneciente al grupo de las aminopenicilinas. Estructuralmente presenta gran semejanza con la ampicilina de la que difiere en la presencia de un radical oxidrilo en posición para del anillo bencénico (NEU, 1974). Este hecho le confiere una mayor absorción digestiva tras su administración oral y se producen niveles séricos más elevados (WEBER *et al.*, 1986).

El espectro antibacteriano de la amoxicilina es amplio, incluyendo a numerosos gérmenes Gram negativos (NEU, 1979; WEBER *et al.*, 1986; HUBER, 1988), aunque presenta el inconveniente de ser sensible a la acción de las beta-lactamasas que la inactivan (SYKES y MATHEW, 1976; GRIECO, 1982; ROLINSON, 1986; SUBIRON y TORRELLAS, 1988).

Esta limitación en el uso de la amoxicilina, y otros antibióticos beta-lactámicos, ha sido solventada con la introducción de una serie de compuestos que inhiben las beta-lactamasas bacterianas. El ácido clavulánico es una sustancia natural producida por una cepa de *Streptomyces clavurigerus* que presenta esta acción inhibidora de la enzima. Estructuralmente es muy semejante a las penicilinas al poseer igualmente un anillo beta-lactámico con el que interactúan las beta-lactamasas produciéndose su inhibición (BROGDEN *et al.*, 1981; ROLINSON, 1986).

La asociación de ambos antibióticos se viene empleando desde hace algún tiempo en medicina humana y su utilización en las espe-

cies domésticas, como la oveja, puede ser una herramienta útil para el control de algunas enfermedades infecciosas causadas por numerosos gérmenes: *Proteus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *E. coli*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter spp.*, etc. (BROGDEN, et al. 1981). No obstante, para que su empleo sea correcto debemos conocer el comportamiento farmacocinético de estos dos productos, para posteriormente establecer unos regímenes posológicos adecuados.

El presente artículo tiene por objeto conocer la farmacocinética de la asociación amoxicilina/ácido clavulánico en la proporción 4/1 tras su administración intravenosa a dosis única en la oveja, así como la interacción de cada uno de estos productos con las proteínas plasmáticas de esta especie, como primera aportación que permita después abordar estudios farmacocinéticos por otras vías y el establecimiento de pautas posológicas.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Administración intravenosa

1a. *Animales.* Se han utilizado cinco ovejas hembras sanas de raza Segureña, en fase de lactación, cuyos pesos estaban comprendidos entre 36 y 40 Kg. Estos animales no recibieron ninguna medicación desde treinta días antes del inicio de la experiencia.

1b. *Protocolo experimental.* Cada animal recibió por vía intravenosa (i.v.), mediante in-

yección en la vena yugular izquierda, una solución acuosa de amoxicilina/ácido clavulánico en la proporción 4/1, a la dosis de 25 mg/Kg de peso vivo (20 mg de amoxicilina trihidrato/5 mg de clavulanato potásico, facilitados por los laboratorios Antibióticos S.A.). Las extracciones de 5 ml de sangre se realizaron en la vena yugular derecha a los 3, 6, 9, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 180, 240, 300 y 360 minutos de la administración. Para llevar a cabo las extracciones se utilizaron vacutainers heparinizados con agujas de 0,9 · 25 mm. Las muestras de sangre eran posteriormente centrifugadas a 3000 r.p.m. durante 15 minutos en una centrífuga ALC modelo 4236 para obtener los plasmas sobrenadantes, los cuales eran seguidamente almacenados a -20 °C hasta el momento de proceder a la determinación de los dos productos.

1c. *Técnicas analíticas.* Las determinaciones de amoxicilina y de ácido clavulánico se han realizado por medio de cromatografía líquida de alta presión (HPLC) empleando el método de FOULSTONE y READING (1982). Se ha dispuesto de un sistema HPLC Water compuesto por un controlador programable modelo 721, dos bombas modelo 510, un inyector modelo U6K, un detector lambda-max.LS modelo 481 y un módulo de datos modelo 730. La columna empleada ha sido microbondapak C-18 de water con una precolumna quart-pak con el mismo relleno y la fase móvil fue metanol al 6 por ciento en un tampón de fosfatos de pH 3,2 y un flujo de 2 ml/min. Las longitudes de onda a las que se midieron los dos antibióticos fueron 227 nm para la amoxicilina y 311 nm para el ácido clavulánico tras su derivatización como proponen FOULSTONE y READING (1982) utilizando reactivo de imidazol (8'25 ml de agua y ajustado a pH 6'8 mediante CLH 5 M.

1d. *Análisis farmacocinético.* Una vez obtenidas las concentraciones de ambos antibióticos en plasma se han calculado las ecuaciones mono y biexponenciales mediante regresión lineal con el programa PKCAL (SHUMAKER, 1986) y se

han ajustado definitivamente con el programa MULTI (YAMAOKA *et al.*, 1981) de regresión no lineal empleando el algoritmo Damping Gauss-Newton. Los datos han sido ponderados respecto a la inversa de las concentraciones elevadas a "w", siendo "w" la pendiente de la recta de regresión entre los logaritmos de las concentraciones experimentales medias (variable independiente) y los logaritmos de las varianzas de éstas (variable dependiente). Para la amoxicilina y para el ácido clavulánico, los valores de "w" han sido respectivamente de 1,04 y 1,83.

El cálculo de los tres primeros momentos estadísticos (farmacocinética no compartimental) se ha realizado mediante un programa en basic elaborado por nosotros que emplea el procedimiento logarítmico-trapezoidal.

2. Unión a proteínas plasmáticas

2a. *Protocolo experimental.* Hemos empleado el procedimiento de diálisis en el equilibrio utilizando bolsas de celofán Wisking Dialysis tubing 8/32 de Serva con 6 mm de diámetro y 50 µm de anchura de pared. El acondicionamiento de las bolsas se ha realizado por el método de RUDMAN y KENDALL (1957) modificado por SERRANO *et al.* (1985). El proceso de diálisis se realizó durante 24 horas, en oscuridad y a temperatura ambiente.

Para el estudio de la unión de amoxicilina a las proteínas plasmáticas de la oveja se han utilizado las siguientes concentraciones: 51,17; 40,205; 29,24; 18,275; 7,31; 5,482; 3,655 y 1,827 mg/l, además de un blanco sin amoxicilina. Se han realizado ocho series, tres de las cuales se han utilizado para obtener la recta de calibrado y cinco para el estudio de la unión. Cada serie de calibrado se realizó de la siguiente manera: Se tomó 1 ml de cada una de las soluciones madre (10 veces más concentradas que las concentraciones anteriormente señaladas) y se completó con 9 ml de tampón. Para las series del estudio de la unión se procedió de

manera similar pero añadiendo a 1 ml, de cada una de las soluciones madre, 8 ml del tampón y una bolsa de diálisis que contenía 1 ml de plasma.

Para el estudio de la unión del ácido clavulánico se procedió de idéntica manera pero las concentraciones empleadas fueron: 33,18; 26,07; 18,96; 11,85; 4,47; 3,555; 2,37 y 1,185 mg/l.

Las concentraciones de amoxicilina y de ácido clavulánico en el interior de las bolsas y en los tampones externos se realizó mediante el método de FOULSTONE y READING (1982) antes mencionado.

El plasma utilizado fue una mezcla de plasmas procedentes de los mismos animales que se sometieron a la administración intravenosa de la combinación antibiótica. La proteinemia fue determinada utilizando el reactivo de biuret como indica PLONAIT (1983). Su valor medio fue de $5,87 \pm 0,46$ g/100 ml.

2b. *Cálculo de los porcentajes de unión y de recuperación.* Los porcentajes de unión se han calculado dividiendo la concentración unida (hallada por diferencia entre la concentración del interior de las bolsas y la de los tampones externos) por la concentración total (correspondiente a la del interior de las bolsas) y multiplicando este resultado por 100.

Los porcentajes de recuperación se han calculado multiplicando la concentración en el tampón externo por 0,9 y sumando la concentración del interior de la bolsa multiplicada por 0,1 para, posteriormente, dividir este resultado por la concentración inicial correspondiente y multiplicarlo por 100.

2c. *Análisis de la interacción.* Hemos empleado las ecuaciones de KRÜGER-THIEMER (1961) y de SERRANO *et al.* (1988) cuyas expresiones respectivas son:

$$(L) = n \frac{(Pt)}{(T)} - Kd \frac{1}{\beta} - 1 \frac{Kd}{n(Pt)} + \frac{1}{n(Pt)} (L) - W$$

en las que (L) es concentración libre de fármaco en mg/l, (T) es concentración total en mg/l, (Pt) es concentración de proteína en g/l, n es capacidad de fijación en mg/g, Kd es la constante de disociación en mg/l, w es la proporción de agua en el plasma y β es la proporción de fármaco unido en tanto por uno.

RESULTADOS

1. Administración intravenosa

Las concentraciones de amoxicilina y de ácido clavulánico obtenidas a los diferentes tiempos de extracción se recogen en los cuadros 1 y 2 respectivamente, en los que se indican además sus estadísticos generales de centralización y dispersión. Observamos que la variabilidad de las concentraciones a cada tiempo de extracción es pequeña para ambos productos, ya que los coeficientes de variación más elevados corresponden a la última de las extracciones, realizada a las seis horas (360 minutos) y cuyos valores son de 36,9 y 15,92 por ciento respectivamente. El ajuste a un modelo bicompartimental abierto se pone claramente de manifiesto en la representación semilogarítmica que se muestra en la figura 1.

El cuadro 3 recoge la relación entre las concentraciones de amoxicilina y de ácido clavulánico en función del tiempo, junto con algunos de sus estadísticos. Vemos que ésta relación permanece constante en todos los animales hasta aproximadamente los 45-60 minutos de la administración, incrementándose a partir de entonces salvo en la oveja número 2 que se mantiene con valores muy similares durante todo el tiempo que controlamos en la experiencia. Los valores medios de la relación permanecen estadísticamente iguales hasta los noventa minutos empezando a mostrar diferencias significativas ($t > 2,306$; $p < 0,05$; G.L.=8) entre los resultados obtenidos en las extracciones realizadas a los 3 y a los 120 minutos.

CUADRO 1
 CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE AMOXICILINA, EN MG/L, OBTENIDAS EN LOS
 DIFERENTES ANIMALES A LOS TIEMPOS DE EXTRACCIÓN, EN MINUTOS, Y SUS ESTA-
 DÍSTICOS MEDIOS

TIEMPOS	CONCENTRACIONES					ESTADÍSTICOS		
	1	2	3	4	5	MEDIAS	S.D.	C.V.
3	243,10	229,76	246,71	237,54	249,35	241,29	7,82	3,24
6	189,73	172,71	190,50	180,15	211,08	188,83	14,44	7,65
9	154,55	130,24	163,68	159,69	172,64	156,16	15,93	10,20
15	115,88	97,95	106,42	112,01	140,70	114,59	16,08	14,03
30	79,47	74,19	77,98	83,30	81,11	79,21	3,43	4,33
45	70,76	62,77	71,17	72,91	67,00	68,92	4,06	3,89
60	64,37	55,14	61,92	63,30	64,83	61,91	3,95	6,38
75	54,79	49,90	55,57	56,41	53,43	54,02	2,55	4,72
90	50,16	37,67	49,26	48,04	48,69	46,76	5,14	11,10
120	38,79	30,51	39,89	37,72	39,90	37,36	3,94	10,54
180	24,14	16,23	23,61	25,32	27,56	23,37	4,27	18,27
240	15,36	10,54	14,35	13,91	17,60	14,35	2,56	17,87
300	9,55	5,48	9,21	10,42	10,12	8,96	2,00	22,34
360	5,40	2,00	5,34	6,07	7,08	5,18	1,91	36,9

CUADRO 2
 CONCENTRACIONES PLASMÁTICAS DE ÁCIDO CLAVULÁNICO, EN MG/L, OBTENIDAS
 EN LOS DIFERENTES ANIMALES A LOS TIEMPOS DE EXTRACCIÓN, EN MINUTOS, Y
 SUS ESTADÍSTICOS MEDIOS

TIEMPOS	CONCENTRACIONES					ESTADÍSTICOS		
	1	2	3	4	5	MEDIA	S.D.	C.V.
3	83,28	84,80	70,72	85,07	91,17	83,01	7,50	9,38
6	65,74	63,54	59,97	64,76	72,40	65,28	4,54	6,96
9	50,06	52,15	47,21	53,56	60,41	52,68	4,94	9,37
15	35,25	39,28	31,44	33,07	43,31	36,47	4,82	13,22
30	27,43	29,02	24,31	26,41	32,72	27,98	3,16	11,28
45	21,97	23,03	19,36	22,47	26,11	22,59	2,42	10,72
60	19,08	21,39	17,66	19,92	20,13	19,63	1,38	7,02
75	16,38	17,76	12,55	16,72	18,10	16,30	2,21	13,59
90	13,95	14,57	10,70	14,12	14,79	13,63	1,67	12,25
120	10,12	9,76	8,80	10,13	12,24	10,21	1,26	12,34
180	5,77	5,43	4,94	5,65	6,76	5,71	0,67	11,67
240	3,22	3,67	2,81	3,34	3,71	3,35	0,37	10,91
300	1,81	1,69	1,47	1,76	1,91	1,73	0,17	9,59
360	1,00	1,12	0,80	1,00	1,21	1,02	0,16	15,92

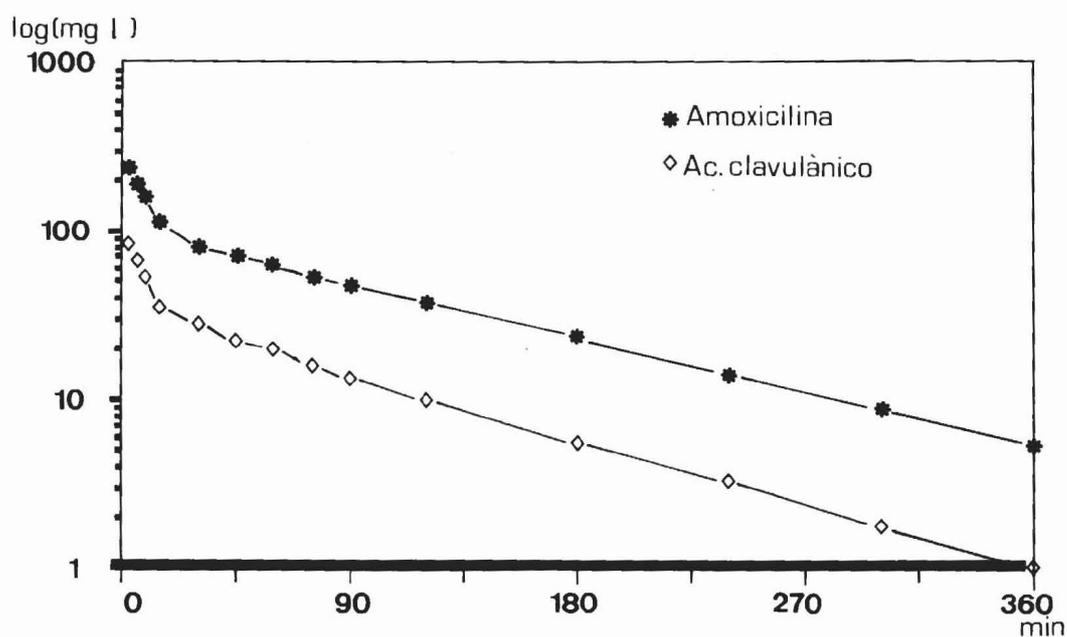


FIGURA 1. Representación semilogarítmica de las concentraciones plasmáticas medias de amoxicilina y ácido clavulánico en la oveja.

CUADRO 3

VALORES DE LA RELACIÓN AMOXICILINA/ÁCIDO CLAVULÁNICO A LOS DIFERENTES TIEMPOS DE EXTRACCIÓN EN OVEJAS Y ESTADÍSTICOS GENERALES

VALORES	INDIVIDUALES					ESTADÍSTICOS		
TIEMPOS	1	2	3	4	5	MEDIA	S.D.	C.V.
3	2,92	2,71	3,49	2,79	2,74	2,93	0,32	11,03
6	2,89	2,72	3,18	2,78	2,92	2,90	0,18	6,08
9	3,09	2,50	3,47	2,98	2,86	2,98	0,35	11,83
15	3,29	2,49	3,38	3,39	3,25	3,16	0,38	11,94
30	2,90	2,56	3,21	3,15	2,48	2,86	0,33	11,69
45	3,22	2,73	3,68	3,25	2,57	3,09	0,45	14,42
60	3,37	2,58	3,51	3,18	3,22	3,17	0,36	11,23
75	3,35	2,81	4,43	3,37	2,95	3,38	0,63	18,75
90	3,60	2,59	4,60	3,40	3,29	3,50	0,73	20,80
120	3,83	3,13	4,53	3,72	3,26	3,70	0,56	15,07
180	4,19	2,99	4,78	4,48	4,08	4,10	0,68	16,55
240	4,77	2,87	5,10	4,16	4,75	4,33	0,88	20,36
300	5,28	3,24	6,28	5,91	5,30	5,20	1,17	22,59
360	5,41	1,78	6,85	6,09	5,85	5,20	1,98	38,13

Los parámetros de las ecuaciones de ajuste al modelo abierto de dos compartimentos (C_1 , C_2 , λ_1 y λ_2) con sus respectivas desviaciones estándar se reflejan en el cuadro 4, tanto para la amoxicilina como para el ácido clavulánico. En este cuadro vemos que las constantes λ_1 y λ_2 son de similar magnitud para los dos productos, no obstante, cuando las comparamos mediante la *t de Student* observamos que la constante híbrida lenta (λ_2) difiere significativamente en todos los casos entre la amoxicilina y el ácido clavulánico, excepto en la oveja número 2 donde no muestra diferencias estadísticamente significativas. Por contra, la constante híbrida rápida (λ_1) no muestra diferencias en ningún caso. Esto es concordante con lo señalado para la relación amoxicilina/ácido clavulánico que hemos comentado anteriormente.

El cuadro 5 recoge los parámetros farmacocinéticos deducidos de las ecuaciones medias. Cuando los comparamos entre sí apreciamos que los valores de $C(0)$ son muy diferentes

debido a la diferencia entre las dosis de cada producto. También los valores de los volúmenes de distribución aparentes (V_c , V_z y V_{ss}) son más elevados para la amoxicilina que para el ácido clavulánico en una proporción de 1,4 veces lo que supone que este último producto ocupa un 30 por ciento menos espacio que la amoxicilina. La constante de transferencia del compartimento central al periférico (k_{12}) toma valores de igual magnitud para los dos productos, mientras que la constante de retorno (k_{21}) y la de eliminación (k_{10}) son más elevadas para el ácido clavulánico. En ambos casos el acceso al compartimento periférico es más fácil que el retorno, aunque este último no actúe como factor limitante de la eliminación. Ello nos indica que existe un cierto grado de retención en el compartimento periférico, aunque fácilmente reversible como se manifiesta al observar los valores de la relación A_2/A_1 , al que acceden unos 2/3 de cada uno de los productos administrados. El aclaramiento corporal es algo más

CUADRO 4
VALORES DE LOS PARÁMETROS DE AJUSTE A LAS ECUACIONES BIEXPONENCIALES DE AMOXICILINA Y ÁCIDO CLAVULÁNICO EN OVEJAS \pm DESVIACIÓN ESTANDAR

	C_1	λ_1	λ_2	C_2
<i>Amoxicilina</i>				
1	224,05 \pm 5,36	0,1444 \pm 4,83 \cdot 10 ⁻³	100,37 \pm 1,28	7,91 \cdot 10 ⁻³ \pm 1,07 \cdot 10 ⁻⁴
2	242,34 \pm 16,31	0,1952 \pm 1,56 \cdot 10 ⁻²	99,28 \pm 2,92	9,98 \cdot 10 ⁻³ \pm 2,90 \cdot 10 ⁻⁴
3	240,17 \pm 13,26	0,1511 \pm 1,28 \cdot 10 ⁻²	99,08 \pm 2,96	7,93 \cdot 10 ⁻³ \pm 2,53 \cdot 10 ⁻⁴
4	204,84 \pm 15,58	0,1443 \pm 1,54 \cdot 10 ⁻²	104,92 \pm 3,95	8,12 \cdot 10 ⁻³ \pm 3,26 \cdot 10 ⁻⁴
5	215,64 \pm 9,52	0,0958 \pm 7,57 \cdot 10 ⁻³	91,22 \pm 3,52	7,00 \cdot 10 ⁻³ \pm 2,78 \cdot 10 ⁻⁴
<i>Acido clavulánico</i>				
1	85,04 \pm 4,61	0,1674 \pm 9,79 \cdot 10 ⁻³	34,25 \pm 0,57	9,85 \cdot 10 ⁻³ \pm 1,03 \cdot 10 ⁻⁴
2	74,72 \pm 10,19	0,1501 \pm 2,38 \cdot 10 ⁻²	36,30 \pm 1,48	1,00 \cdot 10 ⁻² \pm 2,55 \cdot 10 ⁻⁴
3	67,02 \pm 8,01	0,1359 \pm 1,95 \cdot 10 ⁻²	29,00 \pm 1,25	9,97 \cdot 10 ⁻³ \pm 2,62 \cdot 10 ⁻⁴
4	92,19 \pm 8,42	0,1803 \pm 1,72 \cdot 10 ⁻²	34,51 \pm 0,94	9,88 \cdot 10 ⁻³ \pm 1,69 \cdot 10 ⁻⁴
5	77,38 \pm 6,77	0,1238 \pm 1,38 \cdot 10 ⁻²	38,02 \pm 1,19	9,75 \cdot 10 ⁻³ \pm 1,87 \cdot 10 ⁻⁴

CUADRO 5
 PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS MEDIOS DE LA AMOXICILINA Y DEL ÁCIDO
 CLAVULÁNICO EN LA OVEJA

PARÁMETRO	UNIDADES	AMOXICILINA	ÁCIDO CLAVULÁNICO
<i>Parámetros compartimentales</i>			
C_1	mg/l	225,40±6,02	79,27±3,71
λ_1	min ⁻¹	0,1462±6,89·10 ⁻³	0,1515±8,32·10 ⁻³
C_z	mg/l	98,97±1,51	34,42±0,66
λ_z	min ⁻¹	8,19·10 ⁻³ ±1,81·10 ⁻⁴	9,89·10 ⁻³ ±9,21·10 ⁻⁵
$C(0)$	mg/l	324,37	113,69
V_c	l/Kg	0,0617	0,0440
V_z	l/Kg	0,1792	0,1263
V_{ss}	l/Kg	0,1601	0,1109
k_{12}	min ⁻¹	0,0803	0,0802
k_{21}	min ⁻¹	0,0503	0,0528
k_{10}	min ⁻¹	0,0238	0,0284
CL	l/Kg/min	0,0015	0,0012
A_2/A_1		1,9066	1,8713
$t_{1/2\lambda_1}$	min	4,74	4,57
$t_{1/2\lambda_z}$	min	84,62	70,07
<i>Parámetros no compartimentales</i>			
AUC	mg·min/l	13890,41±1562,24	3968,56±490,92
MRT	min	109,12±12,65	89,37±0,76
VRT	min ²	14708,82±3628,40	10173,86±107,62

elevado para la amoxicilina que para el ácido clavulánico debido al mayor volumen de distribución de aquella, mientras que la eliminación es más rápida para el ácido clavulánico con un tiempo de vida media biológica ($t_{1/2}$) menor que el de la amoxicilina. Esta circunstancia también se pone de manifiesto al observar los valores del tiempo medio de residencia (MRT) de ambos productos.

2. Unión a proteínas plasmáticas

Los valores medios de concentración en el

interior de las bolsas de diálisis (total) y en los tampones externos (libre) con sus respectivas desviaciones típicas, así como los datos de concentración unida y los porcentajes de recuperación y de unión se muestran en los cuadros 6 y 7 respectivamente para la amoxicilina y para el ácido clavulánico. En ambos casos vemos que los porcentajes de unión aumentan desde unos valores próximos al 14 por ciento para las concentraciones más elevadas hasta el 20-22 por ciento para las concentraciones más bajas de la amoxicilina y del ácido clavulánico, siendo, en general, muy similares en ambos casos. Algo parecido ocurre, aunque en sentido con-

CUADRO 6
 CONCENTRACIONES TOTALES, LIBRES Y UNIDAS DE AMOXICILINA A LAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS Y PORCENTAJES DE UNIÓN Y DE RECUPERACIÓN

CONCENTRACIONES (MG/L)			PORCENTAJES	
TOTAL \pm S.D.	LIBRE \pm S.D.	UNIDA	UNIÓN	RECUPERACIÓN
55,40 \pm 3,62	47,86 \pm 3,71	7,55	13,60	93,33
36,29 \pm 3,60	31,11 \pm 3,13	5,18	14,27	92,43
29,44 \pm 2,13	25,14 \pm 2,56	4,30	14,61	87,45
18,10 \pm 1,21	15,40 \pm 2,61	2,70	14,89	85,77
7,18 \pm 0,92	6,07 \pm 2,21	1,11	15,43	84,61
5,30 \pm 0,77	4,34 \pm 1,76	0,96	18,11	80,97
3,60 \pm 0,67	2,90 \pm 0,84	0,70	19,52	81,21
1,78 \pm 0,56	1,42 \pm 0,37	0,36	20,25	79,57

CUADRO 7
 CONCENTRACIONES TOTALES, LIBRES Y UNIDAS DE ÁCIDO CLAVULÁNICO A LAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS Y PORCENTAJES DE UNIÓN Y DE RECUPERACIÓN

CONCENTRACIONES (MG/L)			PORCENTAJES	
TOTAL \pm S.D.	LIBRE \pm S.D.	UNIDA	UNIÓN	RECUPERACIÓN
36,18 \pm 3,76	31,14 \pm 3,65	5,03	13,91	95,38
27,02 \pm 2,89	23,06 \pm 3,71	3,97	14,38	89,96
19,21 \pm 3,96	16,32 \pm 3,12	2,90	15,07	87,96
11,86 \pm 3,14	10,03 \pm 2,76	1,83	15,43	86,21
4,61 \pm 1,32	3,83 \pm 0,87	0,77	16,82	82,46
3,44 \pm 0,96	2,82 \pm 0,51	0,62	17,97	81,18
2,31 \pm 0,37	1,84 \pm 0,33	0,47	20,24	79,82
1,15 \pm 0,42	0,89 \pm 0,18	0,26	22,46	77,59

trario, con los porcentajes de recuperación que oscilan, para los dos productos, entre el 80 por ciento para las concentraciones más bajas hasta el 95 por ciento para las más altas. Las diferencias que existen entre las diversas concentraciones resultaron ser estadísticamente significativas al utilizar una prueba de t de Student.

Los parámetros de la interacción, medidos como capacidad de fijación del antibiótico a las proteínas plasmáticas de la oveja en mg/g (n) y la constante de disociación en mg/l (Kd), se in-

dican en el cuadro 8. Observamos que la amoxicilina nos muestra siempre unos valores más elevados que el ácido clavulánico, para ambos parámetros y por los dos procedimientos empleados. Debido a que el procedimiento de KRÜGER-THIEMER permite obtener directamente la capacidad de fijación, como pendiente de la recta, y la constante de disociación, como ordenada en el origen, es posible determinar los errores estándar de estos parámetros y compararlos estadísticamente. De dicha comparación

CUADRO 8
VALORES DE LOS PARÁMETROS DE LA INTERACCIÓN CON LAS PROTEÍNAS PLASMÁTICAS POR LOS DOS PROCEDIMIENTOS DE LINEALIZACIÓN

PARÁMETRO	AMOXICILINA	ÁCIDO CLAVULÁNICO
<i>Krüger-Tiemer</i>		
n (mg/g)	0,069 ± 0,017	0,045 ± 0,011
Kd (mg/l)	13,23 ± 4,11	8,30 ± 2,41
<i>Serrano et al</i>		
n (mg/g)	0,056	0,036
Kd (mg/l)	14,35	8,64

no se encuentran diferencias significativas entre ambos productos, a pesar de las diferencias absolutas de los parámetros de la interacción de ambos.

DISCUSIÓN

1. Administración intravenosa

La dispersión de las concentraciones de amoxicilina y de ácido clavulánico es pequeña, ya que los coeficientes de variación son prácticamente inferiores al 20% (Cuadro 1) para la amoxicilina (a excepción de los correspondientes a las dos últimas extracciones) y siempre inferiores a este valor para el ácido clavulánico, por lo que asumimos la opinión de WAGNER (1968), quien indica que las concentraciones de fármaco, a cada tiempo de extracción, se distribuyen normalmente y se suelen encontrar coeficientes de variación comprendidos entre el 25 y el 75%, por lo que el número de individuos necesario para un estudio farmacocinético debe ser entre 5 y 20 animales.

El ajuste de los datos de concentración plasmática frente al tiempo a un modelo bicompartimental abierto es el más adecuado, ya que el

AIC (Criterio de información de Aikake) es más bajo que para el modelo monocompartimental abierto (YAMAOKA *et al.*, 1978). Otros autores encuentran también ajustes a modelos bicompartimentales óptimos para la amoxicilina y el ácido clavulánico en diferentes especies de mamífero, como MIZEN *et al.* (1981), BOLTON *et al.* (1984), BEECHAM ANIMAL HEALTH (1987), CÁRCELES *et al.* (1988a; 1988b), y para el hombre como BALL *et al.* (1980), JACKSON *et al.* (1980) y MÜNCH *et al.* (1980).

Los cuadros 3 y 4 nos muestran que la distribución de estos dos productos es muy rápida y de similar magnitud, ya que tanto la proporción amoxicilina/ácido clavulánico, en los momentos iniciales, como las constantes híbridas de disposición rápida (λ_1) son iguales, desde el punto de vista estadístico. Por el contrario, la eliminación es más rápida para el ácido clavulánico ya que la proporción entre estos dos antibióticos tiende a aumentar, en función del tiempo, a partir de los 60 minutos aproximadamente y la comparación entre las constantes de disposición lenta (λ_2) muestra diferencias significativas, tanto para los valores medios como para cada animal, individualmente, salvo la oveja número 2. Podemos afirmar pues, que el tiempo

de vida media del ácido clavulánico (70,07 minutos) es significativamente inferior al de la amoxicilina (84,62 minutos) como se ve en el cuadro 5. Estos valores de t son, no obstante, muy próximos y similares a los señalados en diferentes especies animales y en el hombre (BALL *et al.*, 1980; MIZEN *et al.*, 1981; SÁNCHEZ de la CUESTA, 1982; JACKSON *et al.*, 1984; BEECHAM ANIMAL HEALTH, 1987; CÁRCELES *et al.*, 1988a,b; etc.).

Los valores de los volúmenes de distribución son similares a los que se obtienen en la cabra (CÁRCELES *et al.*, 1988a,b), e igualmente de poca magnitud. No obstante, su penetración en los líquidos tisulares parece ser buena (WEBER *et al.*, 1986) aunque con alguna diferencia entre ambos productos. En efecto, el ácido clavulánico parece ser que accede al líquido pleural en mayor proporción que la amoxicilina (CROYDON y SUTHERLAND, 1982), mientras que este hecho parece ser contrario en el líquido peritoneal (WISE *et al.*, 1983).

La relación entre las diferentes microconstantes entre sí, da valores muy próximos para los dos productos, dada la similitud entre las mismas. Es de destacar el hecho de que las constantes de transferencia del compartimento central al periférico son las más elevadas, lo que confirma que la penetración de los dos productos al compartimento periférico es buena, mejor que el retorno, lo que implica un cierto grado de retención en este último compartimento, aunque de forma fácilmente reversible ya que las constantes de retorno son siempre más elevadas que las de eliminación, por lo que dicha retención no es factor limitante de la eliminación.

2. Unión a las proteínas plasmáticas

Observamos en el cuadro 8 que los dos procedimientos de linealización empleados, KRÜGER-THIEMER (1961) y SERRANO *et al.* (1988) respectivamente, aportan valores de "n"

y de "Kd" muy parecidos, siendo más elevados los valores de "n" por el procedimiento de KRÜGER-THIEMER (1961) que por el de SERRANO *et al.* (1988), siendo contraria la situación en lo referente a los valores de "Kd".

En general, la unión de los fármacos a las proteínas plasmáticas suele expresarse como porcentajes de unión. En los cuadros 6 y 7 observamos estos valores en los que vemos un descenso de los mismos conforme aumentan las concentraciones de antibiótico, debido a la progresiva saturación de la proteína. Para la amoxicilina podemos cifrar su porcentaje de unión medio en 16,33 por ciento, similar al encontrado en la cabra (CÁRCELES *et al.*, 1988b) y en la vaca (BEECHAM ANIMAL HEALTH, 1987). Esta situación es muy similar a la que se produce con el ácido clavulánico, cuyo porcentaje de unión medio es de 17,07 por ciento, también similar al encontrado en la cabra por CÁRCELES *et al.* (1988a) y en el vacuno (BEECHAM ANIMAL HEALTH, 1987).

En conclusión podemos indicar que la asociación 4/1 de amoxicilina y ácido clavulánico es adecuada, desde el punto de vista farmacocinético, en la oveja como ocurre con otras especies, ya que el comportamiento cinético de los dos antibióticos es similar.

BIBLIOGRAFÍA

- BALL, A. P., FARREL, I. D., GEDDES, A. M., DAVEY, P. and BROOKES, G. R. 1980: Clinical and pharmacokinetics studies with clavulanic acid. (abstract 303). En: Abs 19 th Intersci. Lonf. Antimicrob. Ag. Chemother, Boston.
336. BEECHAM ANIMAL HEALTH RESEARCH CENTRE 1987: Synulox, nuevo concepto en la antibioterapia. Cuaderno de divulgación. Madrid.
- BOLTON, G. C., ALLEN, G. D., FILLER, C.W. and JEFFERY, D. J. 1984: Absorption, metabolism and excretion studies on clavulanic acid in the rat and dog. *Xenobiotica* 14:483-490.
- BRODGEN, R. N., CARMINE, A., HEEL, R. C., MORLEY, P. A., SPEIGHT, T. M. and AVERY,

- G. S. 1981: Amoxicillin/clavulanic acid: A review of its antibacterial activity, pharmacokinetics and therapeutic use. *Drugs* 22: 337-362.
- CÁRCELES, C. M., SANJUÁN, M. A., HITTA, J. y ORDÓÑEZ, D. 1988a: Farmacocinética de la amoxicilina tras la administración intravenosa de una dosis única a cabras. *An. Vet (Murcia)*, 4: 47-54.
- CÁRCELES, C., SANJUÁN, M. A., HITTA, J. y ORDÓÑEZ, D. 1988b: Farmacocinética del ácido clavulánico intravenoso en cabra a dosis única. *An. Vet. (Murcia)*, 4: 55-62.
- CROYDON, E. A. P. and SUTHERLAND A. 1982: Tissue penetration of amoxicillin and clavulanic acid following oral Augmentin. In: Program and abstract of 22th Intersci. Conf. on Antimic. Ag. and Chemother. Chicago.
- FOULSTONE, M., and READING, C. 1982: Assay of amoxicillin and clavulanic acid, the component of Augmentin, in biological fluids with high-performance liquid chromatography. *Antimicrob. Ag. Chemother.* 22: 753-762.
- GRIECO, M. H. 1982: Antibiotic Resistance. *Medical Clinics of North America* 61: 25-38.
- HUBER, W.G. 1988: Penicillins. (in: Booth and McDonald eds. *Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 6th ed.) Iowa State University Press. Iowa, pp. 796-812.
- JACKSON, D., COOPER, D. L., LANGLEY, P. F., HARDY, T. L., STANFORTH, D. H. AND SUTTON, J. D. 1980: Pharmacokinetic, toxicological and metabolic studies with Augmentin. En: Exc. Med. Int. Congr. Series. 554: 19-38, ROLINSON, G. N.; WATSON, A. (eds.), Amsterdam.
- JACKSON, D., COOPER, D.L., FILER, C.W. and LANGLEY, P.F. 1984: Augmentin: Absorption, excretion and pharmacokinetic studies in man. (in: Progress and perspectives on beta-lactamase inhibition: A review of Augmentin). Postgraduate Medicine. Custom Communications, New York. McGraw-Hill. 51-70.
- KRÜGER-THIEMER, E. 1961: Theorie der Wirkung bakteriostatischer Chemotherapeutika. *Jahresh. Borstel, B.* 5: 316-400.
- MIZEN, L., BHANDARI, K. and CATHERRALL, E. 1981: Pharmacokinetic and distribution of Augmentin (amoxicillin/clavulanic acid) in laboratory animals. *Drugs Exp. Clin. Res.* 7: 263-267.
- MÜNCH, R., LÜTHY, R., BLASER, J. and SIEGENTHALER, W. 1980: Clavulanic acid: Human pharmacokinetics and penetration into cerebrospinal fluid (abstract 307). En: Abs 19th Intersci. Gaf. Antimicrob. Ag. Chemother., Boston. (in: Nelson and Grassi eds. *Proceeding of the 11th International Congress of Chemotherapy and the 19th Interscience Conference on antimicrobial agents on current Chemotherapy and Infectious Diseases.* October, 1-5, 1979). American Society for Microbiology. Washington, pp 345-347.
- NEU, H. C. 1974: Antimicrobial activity and human pharmacology of Amoxicillin. *J. Infect. Dis.* 129: 123-131.
- NEU, H. C. 1979: Amoxicillin. *Ann. Int. Med.*, 90: 356-360.
- PLONAIT, H. 1983: Elementos de análisis clínico veterinario. Acribia. Zaragoza, pp. 41-42.
- ROLINSON, G.N. 1986: Inhibidores de las beta-lactamasas. *Rev. Esp. Microbiol. Clin.* 1: 13-20.
- RUDMAND, D. and KENDALL, F. E. 1957: Bile acid content of human serum. II. The binding of cholanolic acids by human plasma proteins. *J. Clin. Invest.* 36: 538-542.
- SÁNCHEZ DE LA CUESTA, F. 1982: Penicilinas. (en: Belmonte dir. *Terapéutica antibiótica*). Antibióticos S.A. Madrid, pp 22-46.
- 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.
- SERRANO, J. M., PONFERRADA, C. J., SANJUÁN, M. A., HITTA, J. y CÁRCELES, C. M. 1988: Farmacocinética intravenosa y unión a proteínas plasmáticas de oxitetraciclina en palomas. *An. Vet. (Murcia)* 4: 77-82
- SHUMAKER, R.C. 1986: PKCALC: A basic interactive computer program for statistical and pharmacokinetic analysis of data. *Drug Metabol. Rev.* 17: 331-348.
- SUBIRON, J. y TORRELLAS, A. 1986: Historia y mecanismo de acción de amoxicilina/ácido clavulánico. *Rev. Esp. Microbiol. Clin.* 3: 20-30.
- SYKES, R.B. and MATTHEW, M. 1976: The beta-lactamases of Gram negative bacteria and their role in resistance to beta lactam antibiotics. *J. Antimicrob. Chemother.* 2: 115-157.

- WAGNER, J. G. 1968: Pharmacokinetics. *Ann. Rev. Pharmacol.* 8: 67-94.
- WEBER, D. J., TOLKOFF-RUBIN, N. E. y 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.
- WISE, R., DONOVAN, I. A., DRUMM, J., ANDREWS, J. M. and STEPHENSON, P. 1983: The penetration of amoxycillin/clavulanate acid into peritoneal fluid. *J. Antimicrob. Chemother.* 11: 57-60.
- YAMAOKA, K., NAKAGAWA, T. and UNO, T. 1978: Application of Akaike's Information Criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetics equations. *J. Pharmacol. Biopharm.* 6: 165-175.
- YAMAOKA, K., TANIGAWARA, Y., NAKAGAWA, T and UNO, T. 1981: A pharmacokinetics analysis program (MULTI) for microcomputer. *J. Pharm. Dyn.* 4: 879-885.