

## Absorción de Clorhidrato de Metoclopramida. II. Efecto del Colato de Sodio. Modelo *in vitro*.

MARIA G. VOLONTE, CLAUDIA G. MARANO,  
MARIA I. REINOSO y PABLO LUFRANO

*Cátedra de Ensayo y Valoración de Medicamentos, Area Producción y Ensayo  
de Medicamentos, Departamento de Ciencias Biológicas,  
Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata,  
calles 47 y 115, La Plata 1900, Argentina*

**RESUMEN.** Se analiza la gravitación del colato de sodio sobre la absorción intestinal de clorhidrato de metoclopramida empleando un modelo *in vitro* que opera con membranas naturales, utilizándose bloques de ratas sometidas a ayuno durante 16 horas. Se realiza un perfil de velocidad de transferencia en función del tiempo para el clorhidrato de metoclopramida control y en presencia de concentraciones de colato de sodio menores, igual y superiores a la concentración micelar crítica (CMC) de la sal biliar. Los resultados muestran que el colato de sodio aumenta la transferencia de clorhidrato de metoclopramida a concentraciones mayores que la CMC, no incidiendo a concentraciones igual o menores que la CMC.

**SUMMARY.** "Absorption of Metoclopramide Hydrochloride. II. Effect of Sodium Cholate. *In vitro* model". The effect of sodium cholate on intestinal absorption of metoclopramide hydrochloride is analyzed by means of an *in vitro* model that operates with natural membranes, by using groups of rats fasted for 16 hours. The transference rate versus time profile was made both for metoclopramide alone and with the addition of sodium cholate at its critical micellar concentration (CMC) and at higher and lower concentration. As observed, transference of metoclopramide hydrochloride increases at concentrations of sodium cholate higher than CMC, but lower concentrations are ineffective.

### INTRODUCCION

En los últimos años los tensioactivos han adquirido una importante aplicación en la tecnología farmacéutica, ya que gran cantidad de formulaciones incluyen este tipo de sustancias<sup>1</sup>. Las mismas actuarían sobre las membranas donde se realiza la absorción de medicamentos<sup>2-5</sup>, pudiendo en algunos casos aumentarla, en otros disminuirla o simplemente no afectarla, efecto que depende de las características del fármaco, del ten-

sioactivo, de la concentración del mismo y del mecanismo que utiliza para modificar la absorción<sup>2</sup>.

Entre los tensioactivos utilizados podemos citar a las sales biliares, que son sustancias fisiológicas que pueden afectar la absorción gastrointestinal de drogas. Dicho efecto dependerá de que el tensioactivo se encuentre en una concentración inferior o superior a la concentración micelar crítica (CMC)<sup>6,7</sup>.

**PALABRAS CLAVE:** Absorción *in vitro*; Clorhidrato de Metoclopramida; Colato de Sodio; Concentración Micelar Crítica (CMC)

**KEY WORDS:** *In vitro* Absorption; Metoclopramide Hydrochloride; Sodium Cholate; Critical Micellar Concentration (CMC)

Es numerosa la literatura en la cual se reporta la influencia de sales biliares en la transferencia de medicamentos a través del aparato digestivo, tanto en estudios clínicos como preclínicos<sup>8-10</sup>.

En el presente trabajo se comunica la influencia del colato de sodio, una sal biliar, en la absorción intestinal de clorhidrato de metoclopramida, empleando un modelo *in vitro* que utiliza membranas de intestino delgado de rata.

#### PARTE EXPERIMENTAL

En un trabajo anterior fue determinada la CMC del colato de sodio mediante el método de tensión superficial, en las mismas condiciones en que se realiza el ensayo de absorción *in vitro*<sup>11</sup>.

Dicha concentración (0,8 mM) fue tomada como referencia y a partir de ella se emplearon concentraciones superiores, iguales e inferiores para estudiar el efecto de este tensioactivo sobre la absorción del clorhidrato de metoclopramida

La planificación del ensayo fue ajustada siguiendo un diseño de bloques aleatorizados, empleándose tres bloques de siete animales cada uno. Con los mismos se efectuaron siete tratamientos: uno con clorhidrato de metoclopramida control (2 mg/ml) y los restantes utilizando soluciones de la droga en estudio, preparadas en presencia de distintas concentraciones de colato de sodio (0,05 mM, 0,4 mM, 0,8 mM, 15 mM, 30 mM y 50 mM).

Se emplearon ratas Sprague Dowley de  $200 \pm 20$  g de peso sometidas a un ayuno de 16 horas con agua a voluntad. El modelo *in vitro* empleado para el estudio de transferencia fue descrito en una publicación anterior<sup>12</sup>, utilizándose por cada animal los dos segmentos intestinales, proximal y distal, ya que la cantidad acumulativa de clorhidrato de metoclopramida transferi-

da desde ambos no arroja diferencias significativas.

Para el seguimiento de la cinética de transferencia se retiran muestras de 5 ml del compartimento serosal a los 10, 20, 40, 60, 80, 100 y 120 minutos, reponiendo el volumen extraído con solución Krebs a 37 °C.

Las muestras fueron analizadas mediante el método de diazocopulación con diclorhidrato de N-(1-naftil)etilendiamina, selectivo para el clorhidrato de metoclopramida en las condiciones de trabajo<sup>13,14</sup>.

#### RESULTADOS Y DISCUSION

Con los valores de cantidad acumulativa de clorhidrato de metoclopramida registrados a cada tiempo y para cada tratamiento se calcula la velocidad de transferencia. En la Tabla 1 se ordenan los valores de velocidad de transferencia en función del tiempo para los siete tratamientos; en la Figura 1 se representan los mismos para el clorhidrato de metoclopramida control y los tratamientos a concentraciones inferiores e igual a la CMC, mientras que en la Figura 2 se muestran los datos correspondientes al control y a los tratamientos con concentraciones superiores a la CMC.

Podemos observar que para concentraciones inferiores a la CMC el tiempo en el cual se inicia el estado estacionario es de 60 minutos, igual al registrado en el ensayo control, mientras que para los valores de concentración igual y superiores a la CMC este tiempo es de 80 minutos.

En la Tabla 2 y en las Figuras 3 y 4 se expresan las cantidades acumulativas de clorhidrato de metoclopramida transferido en función del tiempo; las pendientes se obtienen mediante la ecuación calculada por ajuste lineal de cuadrados mínimos, tomando solamente los valores correspondientes al estado estacionario.

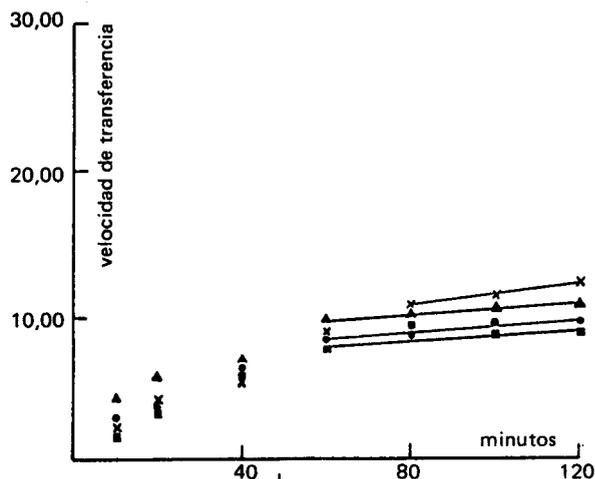


Figura 1. Velocidades de transferencia en función del tiempo de Clorhidrato de Metoclopramida calculadas con los valores medios de las cantidades acumulativas registradas en las experiencias. (●) control; (▲) con colato sódico 0,05 mM; (■) con colato sódico 0,4 mM; (x) con colato sódico 0,8 mM.

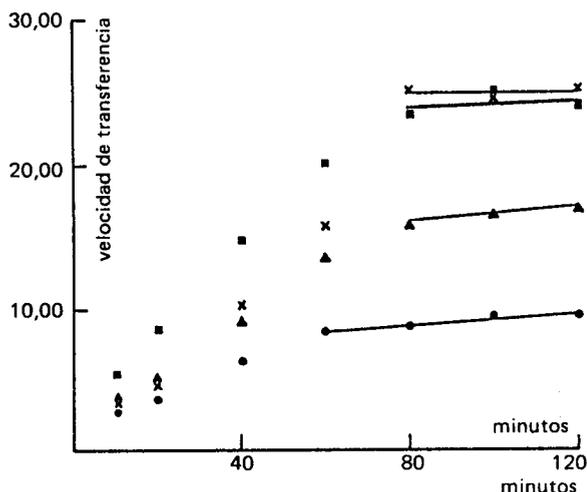


Figura 2. Velocidades de transferencia en función del tiempo de Clorhidrato de Metoclopramida calculadas con los valores medios de las cantidades acumulativas registradas en las experiencias. (●) control; (▲) con colato sódico 15 mM; (■) con colato sódico 30 mM; (x) con colato sódico 50 mM.

Tiempo (min)	Velocidad de transferencia intestinal (γ / min)						
	1	2	3	4	5	6	7
10	2,69	3,46	1,83	2,28	3,41	5,20	3,34
20	3,50	5,47	3,47	3,61	4,96	8,40	4,20
40	6,01	6,93	5,91	5,49	9,01	14,95	10,14
60	8,33	9,61	7,69	8,96	13,76	20,72	15,89
80	8,94	10,44	9,01	10,87	16,12	23,72	25,33
100	9,54	10,76	8,74	11,63	16,84	25,13	24,96
120	9,66	10,93	8,82	12,30	17,16	24,13	25,49

Tabla 1. Velocidad de transferencia intestinal de clorhidrato de metoclopramida en función del tiempo. 1) clorhidrato de metoclopramida sin colato de sodio (control); 2) a 7) clorhidrato de metoclopramida preparado en soluciones de colato de sodio 0,05 mM, 0,4 mM, 0,8 mM, 15 mM, 30 mM y 50 mM, respectivamente. Los valores tabulados corresponden a valores medios de n = 6.

En la Tabla 3 se muestran los valores de velocidad de transferencia calculados en cada experiencia para los siete tratamientos. Con estos datos se realiza un análisis de varianza <sup>15</sup>, el cual nos permite observar lo siguiente:

1. Los bloques no inciden en el error experimental.
2. Existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos.
3. No existen diferencias significativas entre los tratamientos llevados a cabo con la

Tiempo (min)	Cantidad acumulativa transferida desde intestino ( $\gamma$ /100 ml)						
	1	2	3	4	5	6	7
10	25,01 ± 4,14	37,07 ± 12,03	17,10 ± 2,30	22,61 ± 8,80	33,58 ± 2,09	49,15 ± 9,97	33,43 ± 7,65
20	68,52 ± 4,46	115,48 ± 27,05	67,53 ± 3,46	76,16 ± 21,03	97,84 ± 8,07	160,36 ± 32,50	86,08 ± 16,14
40	228,62 ± 23,74	291,89 ± 35,67	236,51 ± 27,33	225,50 ± 22,33	360,79 ± 60,60	579,40 ± 100,04	397,08 ± 62,48
60	489,17 ± 28,25	610,35 ± 82,58	461,30 ± 40,44	532,85 ± 35,18	756,20 ± 152,30	1239,90 ± 193,50	963,70 ± 104,60
80	719,47 ± 30,90	879,46 ± 84,86	697,06 ± 85,82	845,35 ± 49,74	1239,60 ± 147,10	1886,91 ± 244,90	2099,08 ± 249,00
100	957,00 ± 54,72	1104,49 ± 75,56	874,22 ± 85,91	1121,19 ± 79,50	1684,60 ± 198,80	2491,40 ± 229,30	2496,33 ± 178,00
120	1176,56 ± 100,55	1348,41 ± 97,51	1058,69 ± 104,64	1425,20 ± 88,90	2144,01 ± 256,80	2898,80 ± 157,80	3070,31 ± 178,00

Tabla 2. Cantidad acumulativa transferida de clorhidrato de metoclopramida desde intestino de rata. 1) clorhidrato de metoclopramida sin colato de sodio (control); 2) a 7) clorhidrato de metoclopramida preparado en soluciones de colato de sodio 0,05 mM, 0,4 mM, 0,8 mM, 1,5 mM, 3,0 mM y 5,0 mM, respectivamente. Los valores tabulados corresponden a valores medios  $\pm$  la desviación típica de la media.

Experiencia	Tratamiento						
	1	2	3	4	5	6	7
1	14,94	14,36	6,45	18,57	15,09	28,66	26,14
2	9,99	11,47	11,73	12,85	26,41	26,96	28,60
3	8,29	10,09	7,68	14,29	19,11	29,68	25,62

Tabla 3. Velocidad de transferencia calculada en cada experiencia para los siguientes tratamientos: 1) clorhidrato de metoclopramida sin colato de sodio (control); 2) a 7) clorhidrato de metoclopramida preparado en soluciones de colato de sodio 0,05 mM, 0,4 mM, 0,8 mM, 1,5 mM, 3,0 mM y 5,0 mM, respectivamente.

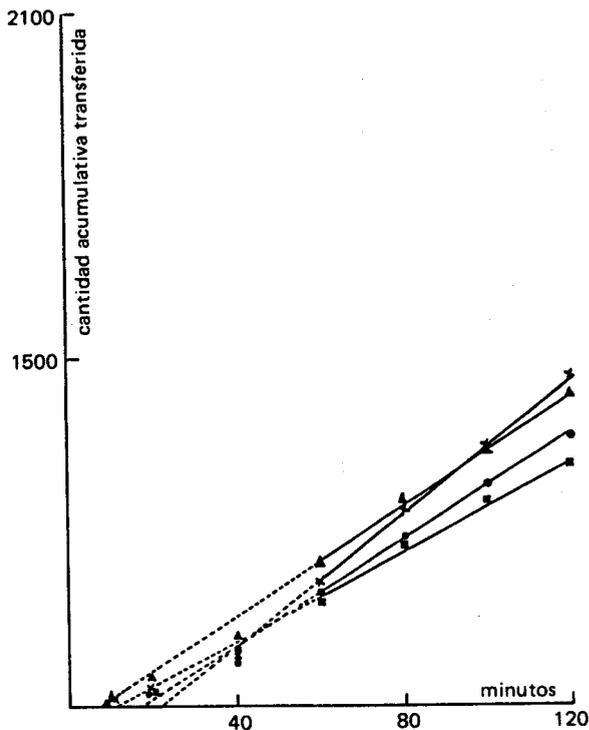


Figura 3. Valores medios de la cantidad acumulativa en función del tiempo de clorhidrato de metoclopramida: (●) control,  $Y = -119,31 + 11,50 X$ ,  $r = 0,9999$ ; (▲) con colato sódico 0,05 mM,  $Y = -111,97 \pm 12,20$ ,  $r = 0,9994$ ; (■) con colato sódico 0,4 mM,  $Y = -113,38 + 9,95 X$ ,  $r = 0,9977$ ; (x) con colato sódico 0,8 mM,  $Y = -319,04 + 14,5 X$ ,  $r = 0,9996$ .

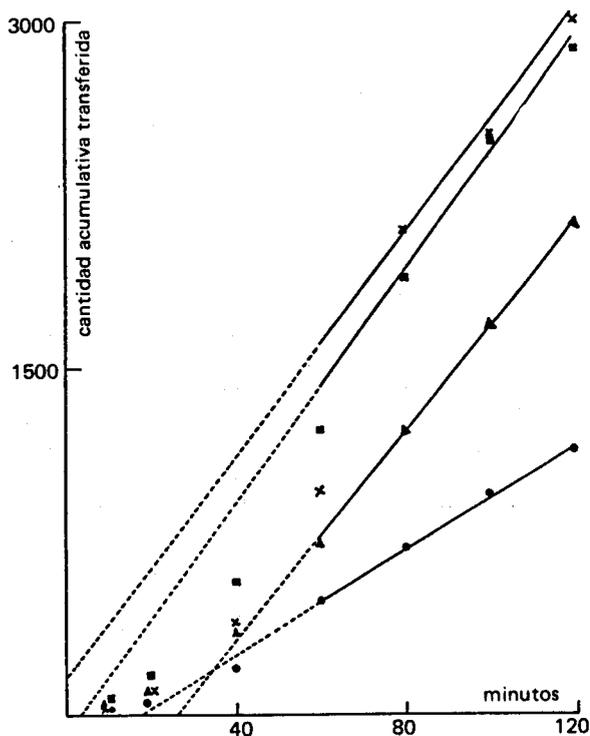


Figura 4. Valores medios de la cantidad acumulativa en función del tiempo de clorhidrato de metoclopramida: (●) control,  $Y = -119,31 + 11,50 X$ ,  $r = 0,9999$ ; (▲) con colato sódico 15 mM,  $Y = -571,6 + 22,61 X$ ,  $r = 0,9999$ ; (■) con colato sódico 30 mM,  $Y = -104,06 + 25,3 X$ ;  $r = 0,9937$ ; (x) con colato sódico 50 mM,  $Y = -127,16 + 24,28 X$ ,  $r = 0,9945$ .

metoclopramida control y con colato de sodio en concentraciones igual y menor a la CMC.

4. Existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos realizados con concentraciones de colato de sodio 15, 30 y 50 mM.
5. Existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos efectuados con concentraciones de colato de sodio 15, 30 y 50 mM, respecto al logrado con la CMC.
6. Existen diferencias significativas entre los tratamientos obtenidos con concentraciones de colato de sodio 30 y 50 mM

en relación con la concentración 15 mM.

De acuerdo a la discusión de los resultados, podemos concluir que el colato de sodio aumenta la transferencia del clorhidrato de metoclopramida en concentraciones superiores a la CMC, dependiendo probablemente del número de agregación de las micelas.

**AGRADECIMIENTOS.** Al Colegio de Farmacéuticos de la Provincia de Buenos Aires y a COFARQUIL por financiar en parte el presente trabajo; al Laboratorio de Botánica Aplicada por facilitarnos el uso del espectrofotómetro Beckman M26 y a Laboratorios Bagó, Planta City Bell, por el suministro de los animales de experimentación utilizados.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Arancibia, A. (1981) "Introducción a la Biofarmacia y la Farmacocinética" en "Farmacotecnia teórica y práctica" (Helman, J., ed.), Ed. CECSA, México, tomo VIII, págs. 2524-7
2. Nook, T., E. Doelker y P. Buri (1987) *Pharm. Acta Helv.* 62: 274-81
3. Sanchez Navarro, A., J. Martínez Lanao y A. Dominguez-Gil Hurlle (1986) *Ciencia e Industria Farmacéutica* 5 (2da. época): 354-8
4. Collado, E.F., S. Fabra-Campos, J.E. Peris Ribera, V.G. Casabo, J.M. Pla-Delfina y A. Martin-Villodre (1987) *Proc.-Eur. Congr. Biopharm. Pharmacok.* 3rd. 1: 502-10
5. Perez-Buendia, M.D., T.M. Garrigues, V.G. Casabo, J.E. Peris Ribera, A. Martin-Villodre y J.M. Pla-Delfina (1987) *Proc.-Eur. Congr. Biopharm. Pharmacok.* 3rd. 1: 492-501
6. Kimura, T., S. Hitoshi y K. Kakemi (1972) *Chem. Pharm. Bull.* 20: 1656-62
7. Feldman, S. y M. Gibaldi (1969) *J. Pharm. Sci.* 58: 425-8
8. Silva Carvalho, L. (1978) *Rev. Port. Farm.* 28: 39-78
9. Silva Carvalho, L. (1978) *Rev. Port. Farm.* 28: 127-48
10. Silva Carvalho, L. (1978) *Rev. Port. Farm.* 28: 204-36
11. Volonté, M.G., C.G. Marano y M.I. Reinoso (1989) *Acta Farm. Bonaerense* 8: 31-5
12. Volonté, M.G., S.A. Taylor, C.G. Marano, M.I. Reinoso y P. Lufrano (1988) *Acta Farm. Bonaerense* 7: 169-74
13. Kamalapurkar, O.S., Priolkar y R.S. Sanjay (1982) *Indian Drugs* 20: 108-10
14. Shingbal, D.M. y K.V. Sawant (1982) *Indian Drugs* 19: 239-41
15. Sokal, R.R. y F.J. Rohlf (1984) "Introducción a la Bioestadística", Ed. Reverté, Barcelona, págs. 182-94