

Determinación de la Concentración Micelar Crítica (CMC) de Sales Biliares por el Método de Tensión Superficial

MARIA GUILLERMINA VOLONTE, CLAUDIA G. MARANO
y MARIA ISABEL REINOSO*

*Cátedra de Ensayo y Valoración 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 determinó la Concentración Micelar Crítica (CMC) de tres sales biliares: colato, desoxicolato y dehidroxicolato de sodio, utilizando el método de tensión superficial. Las condiciones de trabajo fueron seleccionadas en base a las requeridas para ensayos de absorción *in vitro*, es decir a 37 °C y en solución Krebs a pH fisiológicos. Los resultados obtenidos nos permiten afirmar que el método utilizado para determinar la CMC es rápido y preciso.

SUMMARY. "Determination of Critical Micelar Concentration (CMC) of Biliary Salts by the Surface Tension Method". The CMC of the three biliary salts: sodium cholate, sodium desoxycholate, and sodium dehydrocholate was determined using the surface tension method. The experimental conditions was selected according to *in vitro* gastrointestinal absorption (37 °C and Krebs buffer at physiological pH). The results show clearly that the procedure adopted is quick and accurate.

INTRODUCCION

Las sales biliares, tensioactivos fisiológicos que juegan un importante rol en la absorción de sustancias liposolubles, son esteroides derivados de triterpenos tetracíclicos, compuestos por ciclopentano fenantrenos saturados, con grupos hidroxilos y que pueden conjugarse con aminoácidos como la glicina o taurina ¹⁻².

Los tensioactivos, a su vez, constituyen uno de los más importantes grupos de adyuvantes en las preparaciones farmacéuticas, pudiendo influir sobre la absorción de las sustancias activas, efecto que debe ser

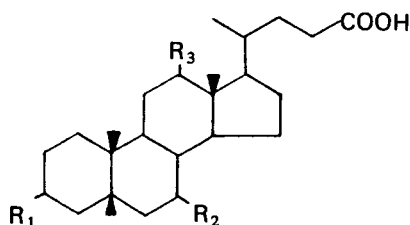
previamente conocido pues pueden ocurrir fenómenos inesperados por inclusión de los mismos en la formulación; aunque también hay que considerar que se los suele utilizar deliberadamente para modificar la adsorción.

En una extensa revisión, Gibaldi y Feldman ³ señalan algunos de los efectos de los tensioactivos, como ser su interacción con las membranas biológicas, modificación de la permeabilidad de las mismas, interacciones con las drogas, variaciones en la velocidad de disolución de ésta y en el vaciamiento gástrico.

* Becaria de Iniciación del Departamento Científico del Colegio de Farmacéuticos de la Provincia de Buenos Aires.

PALABRAS CLAVE: Concentración Micelar Crítica; Colato de Sodio; Desoxicolato de Sodio; Dehidroxicolato de Sodio; Método de tensión superficial.

KEY WORDS: Critical Micelar Concentration; Sodium Cholate; Sodium Desoxycholate; Sodium Dehydrocholate; Surface Tension Method.



Sustituyente	Acido biliar
$R_1 = R_2 = R_3 = OH$	Acido cólico (Acido 3,7,12-Trihidroxicolanoico)
$R_1 = R_3 = OH; R_2 = H$	Acido desoxicólico (Acido 3,12-dihidroxicolanoico)
$R_1 = R_2 = R_3 = O$	Acido dehidrocólico (Acido 3,7,12-tricetocolanoico)

Tabla 1. Sustituyentes y Nomenclatura de los ácidos biliares.

Diversos investigadores han coincidido en señalar que el comportamiento de las sales biliares frente al proceso de absorción es distinto según la concentración de la solución del tensoactivo⁴⁻⁶. A baja concentración las sales biliares existen en solución en forma monomérica, pero al aumentarla se forman dímeros, tetrámeros o grandes estructuras, llamadas micelas, cuando se alcanza la concentración crítica micelar (CMC). Al incrementarse la concentración de sales biliares por encima de este nivel se aumenta la concentración de las micelas, mientras que la de monómeros permanece casi fija a un valor semejante o igual a la CMC¹.

La concentración a la cual comienza la agregación de monómeros, así como el número de moléculas presente en la micela, es distinto para cada sal biliar, dependiendo de factores tales como temperatura, pH, fuerza iónica, etc.^{7,8}.

En una publicación anterior⁹ hemos informado sobre la gravitación del ayuno en la absorción de clorhidrato de metoclopra-

mida; para poder determinar el efecto de las sales biliares sobre este mismo proceso debemos conocer su CMC en las mismas condiciones en las cuales se realiza el ensayo de absorción, es decir a 37 °C y en solución Krebs a pH fisiológico.

En la literatura científica aparecen diversas técnicas para la determinación de la CMC, como por ejemplo a través de la medición de la conductividad de la solución¹⁰, cambios espectrales de colorantes¹¹, presión osmótica¹², fluorimetría¹³ y tensión superficial^{2,14,15}, entre otros.

El presente trabajo tiene por objetivo determinar la CMC de tres sales biliares: desoxicolato, dehidrocolato y colato de sodio (Tabla 1), mediante el método de tensión superficial; los dos primeros a pH 7,4 y el colato a pH 6,5. Estos valores de pH nos permitieron preparar soluciones en un amplio rango de concentración, con las cuales se determinaron los respectivos valores de CMC; a pH inferiores la solubilidad de las sales disminuye.

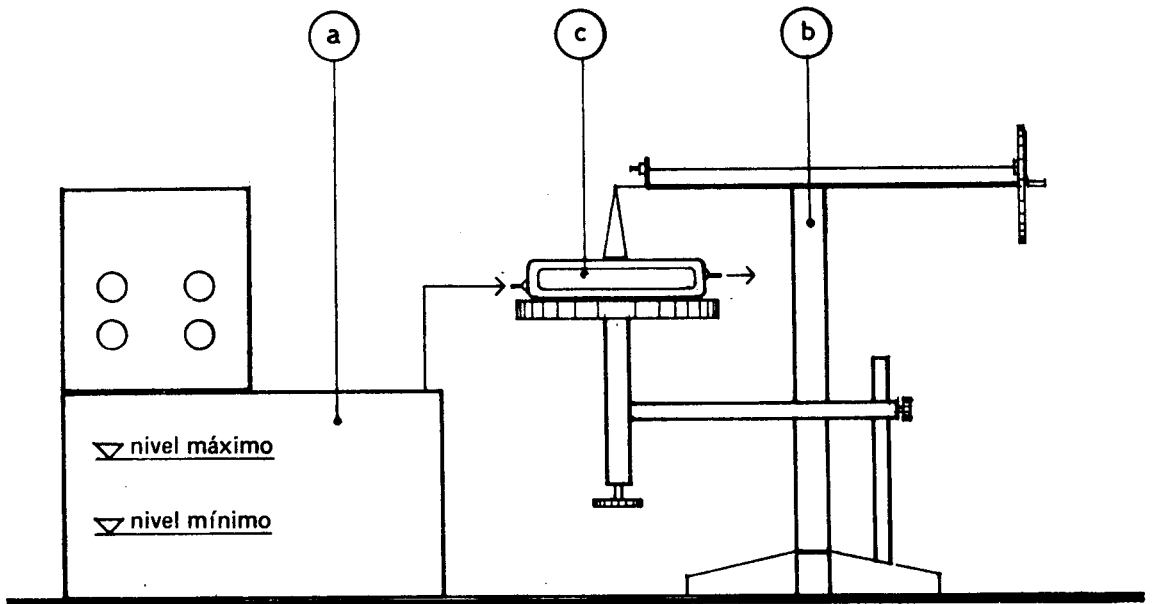


Figura 1. Diagrama del equipo utilizado. a: baño de circulación de agua a 37 °C; b: tensiómetro de Du Nouy; c: cuba de doble camisa.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales

Las soluciones de las sales biliares fueron preparadas a partir de los respectivos ácidos, en solución Krebs sin cloruro de sodio, por agregado de hidróxido de sodio. Con solución de ácido clorhídrico 1 N se ajustaron los valores de pH: para el desoxicolato y el dehidrocolato a 7,4 y para el colato de sodio a 6,5. Añadiendo solución de cloruro de sodio al 20% se obtuvo la concentración iónica correspondiente a la solución Krebs.

Las concentraciones de las soluciones variaron entre 0,4-10 mM para el colato y el desoxicolato de sodio y entre 1,7-20 mM para el dehidrocolato de sodio.

Medida de la tensión superficial

Los valores de tensión superficial para cada concentración fueron obtenidos utilizando un Tensiómetro interfacial modelo Cenco Du Nouy (Fig. 1) y ajustados mediante el factor de corrección sugerido por Harkins y Jordan¹⁶.

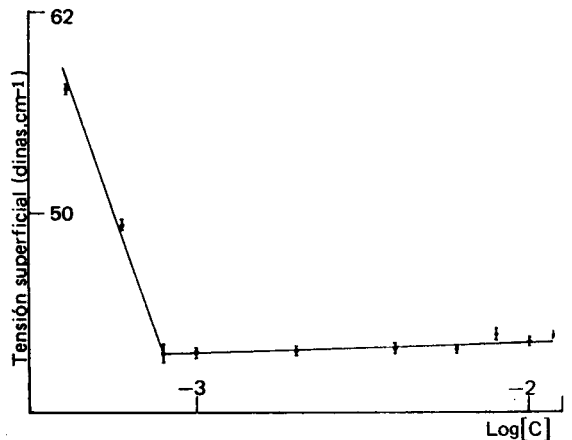


Figura 2. Valores de Tensión Superficial en función del logaritmo de la concentración de *colato de sodio*. Las barras señalan la desviación standard del valor medio. Ecuación de regresión de la recta obtenida con los valores posteriores al punto de inflexión: $Y = 43,97 + 0,789 X$.

Las condiciones de trabajo fueron las siguientes:

- Todas las mediciones fueron hechas a 37 °C.
- Antes de efectuar la medición se dejó en

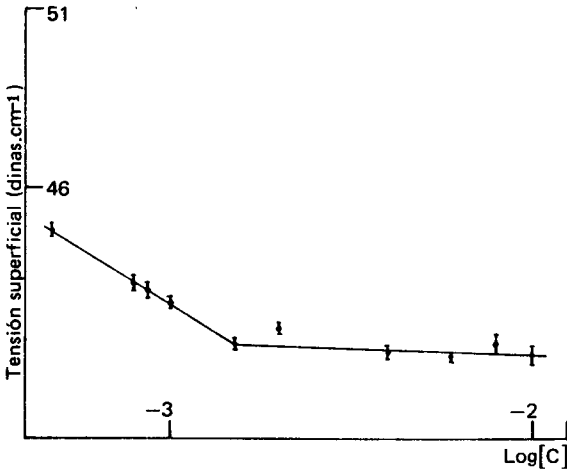


Figura 3. Valores de Tensión Superficial en función del Logaritmo de la concentración de *desoxicolato de sodio*. Las barras señalan la desviación standard del valor medio. Ecuación de regresión de la recta obtenida con los valores posteriores al punto de inflexión: $Y = 40,63 - 0,395 X$.

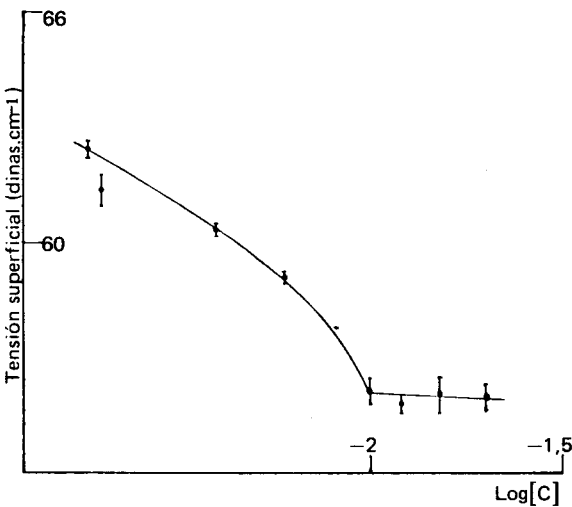


Figura 4. Valores de Tensión Superficial en función del logaritmo de la concentración de *dehidrocolato de sodio*. Las barras señalan la desviación standard del valor medio. Ecuación de regresión de la recta obtenida con los valores posteriores al punto de inflexión: $Y = 55,63 - 0,2024 X$.

reposito la interfase solución-aire durante 3-4 minutos, para lograr el equilibrio entre las moléculas de tensioactivo en el volumen de solución y en la interfase, con el objeto de obtener valores reproducibles de tensión superficial.

- c) Para cada concentración se efectuaron tres mediciones que luego fueron promediadas.
- d) Luego de cada lectura se lavó el anillo de platino con alcohol y se flameó suavemente, evitando el contacto directo con la llama.

RESULTADOS Y DISCUSION

Se graficó el logaritmo de las concentraciones de las soluciones de sales biliares en función de la tensión superficial corregida.

En la Fig. 2 se muestran los resultados obtenidos para el colato de sodio, en la Fig. 3 para el desoxicolato de sodio y en la Fig. 4 para el dehidrocolato de sodio.

El punto de inflexión de las curvas trazadas corresponde al valor de la CMC; en la Tabla 2 se ordenan los respectivos valores obtenidos.

Del análisis de los resultados podemos afirmar que el método utilizado para determinar la CMC de este grupo de sales biliares es rápido y preciso.

No se encontraron en la literatura científica consultada valores de CMC determinados en las mismas condiciones en que se realiza el ensayo de absorción, es decir a 37 °C y en solución Krebs a pH fisiológicos, lo que nos llevó a realizar estas medi-

Sal biliar	pH	CMC (mM.dm ⁻³)
Colato de sodio	6,5	0,8
Desoxicolato de sodio	7,4	1,5
Dehidrocolato de sodio	7,4	10,0

Tabla 2. Valores de CMC de sales biliares.

nes, encontrando diferencias con los datos publicados por otros autores en distintas condiciones ².

Estos resultados nos permitirán estudiar la influencia de estos tensioactivos en la absorción del clorhidrato de metoclopramida, utilizando modelos *in vitro* ⁹, tomando como referencia las respectivas CMC.

AGRADECIMIENTOS. Al Colegio de Farmacéuticos de la Provincia de Buenos Aires y a COFARQUIL por financiar en parte el presente trabajo; al Laboratorio de Fisicoquímica por facilitarnos el uso del Tensiómetro interfacial y a la Arq. Patricia Marano por el diagrama realizado.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Dietschy, J.M. (1968) *J. Lipid. Res.* 9: 297-309
2. O'Connor, Ch.J., B.T. Ch'ng y R.G. Wallace (1983) *J. Colloid Interface Sci.* 95: 410-9
3. Gibaldi, M. y S. Feldman (1970) *J. Pharm. Sci.* 59: 579-89
4. Bhuta, S.I., E.T. Sugita, P.J. Niebergall y R.L. Schnaare (1980) *J. Pharm. Sci.* 69: 923-8
5. Kimura, T., K. Inui y S. Hitoshi (1985) *J. Pharmacobio-Dyn.* 8: 578-85
6. Utsumi, I., K. Kohno y Y. Takeuchi (1974) *J. Pharm. Sci.* 63: 676-81
7. Wan, L.S.C. y P.K.C. Poon (1969) *J. Pharm. Sci.* 58: 1562-7
8. Bloor, J.R., J.C. Morrinson y C.T. Rhodes (1970) *J. Pharm. Sci.* 59: 387-91
9. Volonté, M.G., S.A. Taylor, C.G. Marano, M.I. Reinoso y P. Lufrano (1988) *Acta Farm. Bonaerense* 7: 169-74
10. Williams, E.J. y V.F. Smolen (1972) *J. Pharm. Sci.* 61: 639-41
11. Wood, J.A. (1972) *J. Chem. Educ.* 49: 161-3
12. Hellman, J. (1981) "Farmacotecnia teórica y práctica" Tomo II (Ed. CECSA), México, págs. 473-6
13. Ohyashiki, T. y M. Tetsuro (1983) *Chem. Pharm. Bull.* 31: 1296-300
14. Wan, L.S.C. y P.F.S. Lee (1974) *J. Pharm. Sci.* 63: 136-7
15. Lim, J.K. y C.C. Chen (1974) *J. Pharm. Sci.* 63: 559-62
16. Harkins, W.D. y H.F. Jordan (1930) *J. Amer. Chem. Soc.* 52: 1751-82