

**DETERMINACION DE LOS DESCENSOS CRIOSCOPICOS,
EQUIVALENTES DE CLORURO DE SODIO Y CONCENTRACIONES
ISOTONICAS DE ALGUNOS MEDICAMENTOS EN SOLUCION
ACUOSA CON VERIFICACION BIOLOGICA EN CELULAS
VEGETALES Y ANIMALES**

Resumen del trabajo de tesis presentado por MARIO
CÁCERES CORDERO, ADOLFO FRANCO L. y ALVARO QUIJANO
PONCE DE LEÓN, para optar al título de Químico-
Farmacéutico.

Presidente de Tesis: Dr. EMIRO A. FÁBREGAS A.

I

INTRODUCCION

El objeto del presente trabajo es el estudio de los efectos osmóticos de las soluciones de un grupo de drogas, no estudiadas hasta ahora, sobre los glóbulos rojos y las células vegetales, y la determinación de los equivalentes de cloruro de sodio y las concentraciones isotónicas, mediante la determinación de descensos crioscópicos, comprobación espectrofotométrica y microscópica de sus efectos hemolíticos.

Con los resultados obtenidos creemos ampliar las tablas de valores de constantes fisicoquímicas ya existentes, utilizadas en Farmacia para la dosificación de sueros, vehículos de soluciones parenterales y de uso tópico sobre mucosas.

La investigación se realizó sobre las siguientes drogas: Cloruro de sodio, clorhidrato de tiamina, riboflavina-5-fosfato sódico, polisorbato 80 (Tween 80), glicocola, clorhidrato de isotipendil y glicerofosfato de sodio pentahidrato, en los laboratorios de Tesis y de Microbiología del Departamento de Farmacia de la Facultad de Ciencias.

PARTE EXPERIMENTAL CRIOSCOPICA

Método fisicoquímico. En esta primera parte del trabajo procedimos a determinar los descensos crioscópicos del suero sanguíneo humano y de soluciones de concentraciones variables de cloruro de sodio y de las siguientes drogas:

Polisorbato 80
Clorhidrato de isotipendil
Clorhidrato de tiamina
Glicocola
Riboflavina 5- Fosfato sódico
Glicerofosfato de sodio.

El objeto de estas determinaciones fue el de calcular a partir de los descensos crioscópicos de las soluciones de las drogas antes mencionadas, y en su orden, el valor de la constante crioscópica molal corregido para soluciones de electrolitos a concentraciones isosmóticas con el suero sanguíneo (L iso), el valor del equivalente de cloruro de sodio (E) de cada una de las drogas y la concentración isosmótica (C iso) respectiva, y comparar estos valores con los obtenidos teóricamente.

Procedimiento. El aparato usado es un criómetro, el cual consta de un recipiente de doble pared adiabática, rellena de lana. En su interior se coloca un baño frigorífico de hielo y sal con el cual se pueden obtener descensos hasta de -16°C . En su parte central, sostenido por un puente metálico, va un compartimiento del mismo metal destinado a alojar el tubo con la solución problema. Y, dentro de este van introducidos un termómetro diferencial de Beckman que aproxima a 0.01°C y un agitador de varilla de vidrio.

Antes de iniciar la determinación de los descensos crioscópicos de las soluciones de interés, calibramos el termómetro de Beckman de la siguiente manera:

Hicimos cuatro determinaciones del punto de congelación del agua destilada de conductividad 0.1 a 0.5 p. p. m. procurando que estas lecturas se encontraran en la parte superior de la escala. Este proceso fue necesario repetirlo dos veces más por descalibraciones accidentales del aparato.

Luego de calibrar el termómetro, se tomaron alícuotas de 25 ml. de las soluciones de las sustancias a estudiar y, se obtuvo la curva de enfriamiento de cada una de ellas, graficando los pares de valores temperatura-tiempo a intervalos de 10 segundos. Es de tener en cuenta que para muchas de dichas concentraciones fue necesario hacer varias determinaciones para obtener un valor estadísticamente aceptable.

Para el suero, obtuvimos sangre fresca recientemente extraída de un paciente sano (de hematocrito normal). Esta sangre fue colocada en tubos de centrifuga y una vez retraído el coágulo, procedimos a centrifugar a 20.000 RPM durante 45 minutos. El suero obtenido fue decantado y llevado al criómetro para la determinación de su descenso crioscópico.

Las tablas de datos y las gráficas correspondientes a las calibraciones, descensos crioscópicos del suero y soluciones de drogas aparecen a

continuación con todos los datos adicionales necesarios para fijar las condiciones de experimentación.

PARTE FISICOQUIMICA EXPERIMENTAL

Se determinaron los descensos crioscópicos de soluciones acuosas de NaCl a concentraciones variables desde 0.1% hasta 1% en las siguientes condiciones:

Temperatura media del laboratorio: 18°C.

Presión atmosférica: 564.5 mmHg.

Agua destilada de conductividad equivalente a : 0.45 ppm. de NaCl.

Termómetro Beckman.

Criómetro tipo Beckman.

Los datos fueron los siguientes:

T A B L A I

Concentración de NaCl en % P/V	Descenso crioscópico (°C)
0.1	0.07
0.2	0.14
0.3	0.21
0.4	0.28
0.5	0.32
0.6	0.40
0.7	0.45
0.8	0.51
0.9	0.57
1.0	0.71

De igual manera se determinó el descenso crioscópico de soluciones acuosas de drogas a concentraciones variables, desde 1 hasta 4% en las condiciones anteriormente especificadas. Para cada droga aparecen tabulados los descensos crioscópicos de las distintas soluciones acuosas.

T A B L A II

DESCENSOS CRIOSCOPIICOS EN °C EN LAS DISTINTAS CONCENTRACIONES

Nº	Droga	1%	2%	3%	4%
2.	Clorhidrato de tiamina .. .	0.12	0.28	0.40	0.54
3.	5-Fosfato de riboflavina .. .	0.04	—	0.14	—
4.	Polisorbato 80 (Tween 80) ..	0.-	—	0.	—
5.	Glicina	0.27	0.55	0.78	—
6.	Isotipendil	0.12	0.19	0.25	—
7.	Glicerofosfato de sodio	0.23	0.35	0.50	—

Los descensos crioscópicos de dos muestras de suero sanguíneo (figuras 1 y 2) dieron en promedio un valor de 0.57°C).

CALCULOS TEORICOS

Con base en el conocimiento de la fórmula estructural, peso molecular y especie iónica aproximada de cada una de las drogas (siete) estudiadas, los autores les asignaron valores L iso (1), (2), los cuales aparecen en la siguiente tabla:

T A B L A III

Nº	Drogas	Peso molecular (M) (grs./mol.)	Especie iónica aproximada	Valor L iso aproximado
1.	Cloruro de sodio	58.5	uni-univalente	3.4 ± 0.5
2.	Clorhidrato de tiamina . . .	337.3	uni-univalente	3.4 ± 0.5
3.	Riboflavina 5-fosfato sódico.	514.4	electrolito débil . . .	2.0 ± 0.5
4.	Polisorbato 80 (Tween 80).	619.0	no - iónico	1.9 ± 0.5
5.	Glicocola	75.1	electrolito débil . . .	2.0 ± 0.5
6.	Clorhidrato de isotipendil .	321.9	uni-univalente	3.4 ± 0.5
7.	Glicerofosfato de sodio 5 H2O	216.1	uni-univalente	4.3 ± 0.5

Conocido el valor L iso de cada una de las sustancias aplicamos la fórmula (3):

$$I \quad \Delta T_f(1\%) = 10 \frac{L \text{ iso}}{M}$$

para el cálculo del descenso crioscópico teórico de una solución al 1% P/V de droga así:

T A B L A IV

Droga Nº	$\Delta T_f(1\%)$ (°C)
1	$(3.4 \times 10) / 58.5 = 0.585$
2	$(3.4 \times 10) / 337.3 = 0.101$
3	$(2.0 \times 10) / 514.4 = 0.039$
4	$(1.9 \times 10) / 619.0 \approx 0.031$
5	$(2.0 \times 10) / 71.5 = 0.265$
6	$(3.4 \times 10) / 321.9 = 0.106$
7	$(4.3 \times 10) / 216.1 = 0.199$

Para el cálculo del equivalente teórico de cloruro de sodio de la droga (E) a partir del descenso crioscópico de su solución 1% P/V aplicamos la fórmula (3):

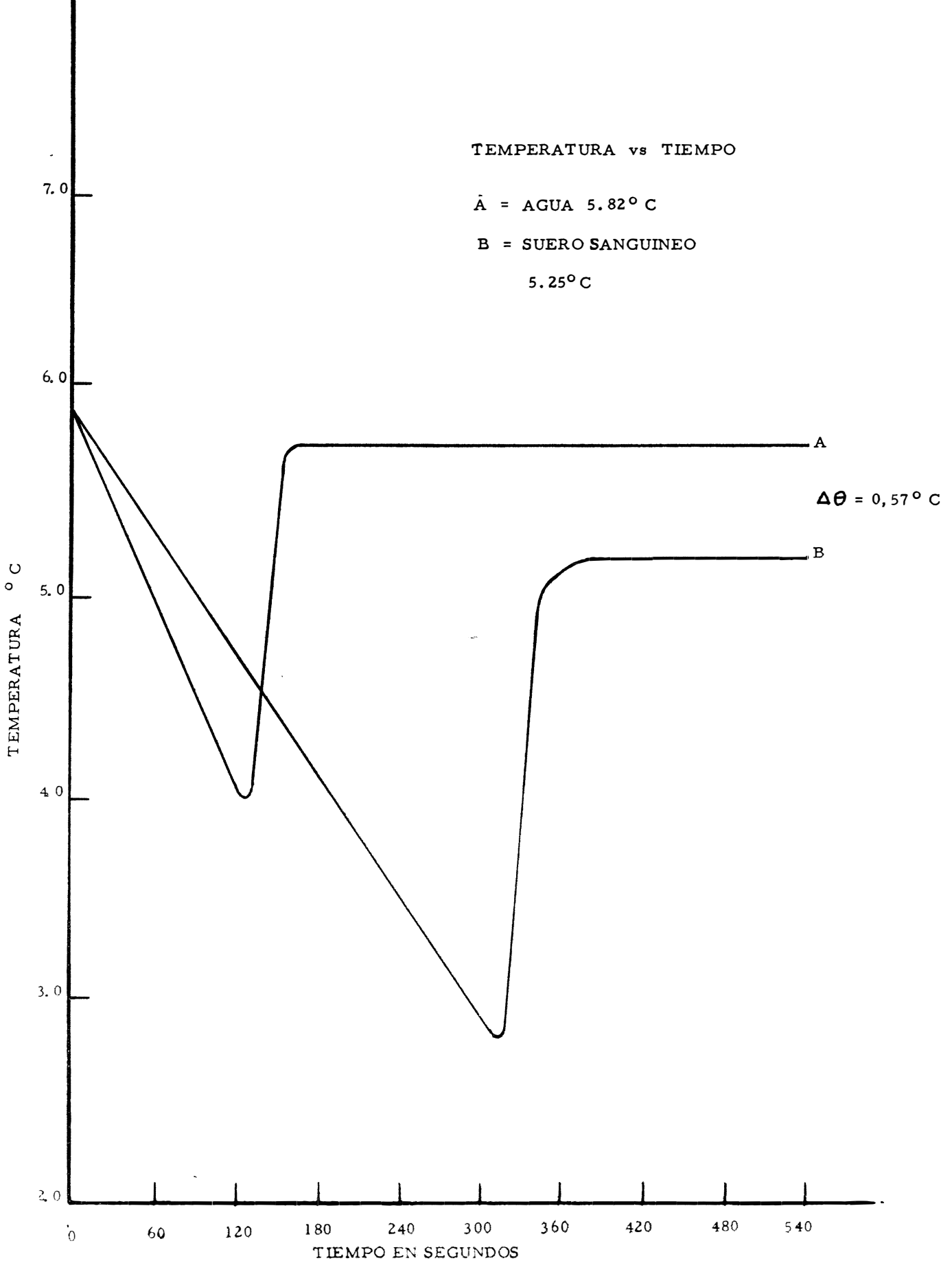
$$II \quad E \approx 1.7 \Delta T_f(1\%)$$

TEMPERATURA vs TIEMPO

Ā = AGUA 5.82° C

B = SUERO SANGUINEO

5.25° C



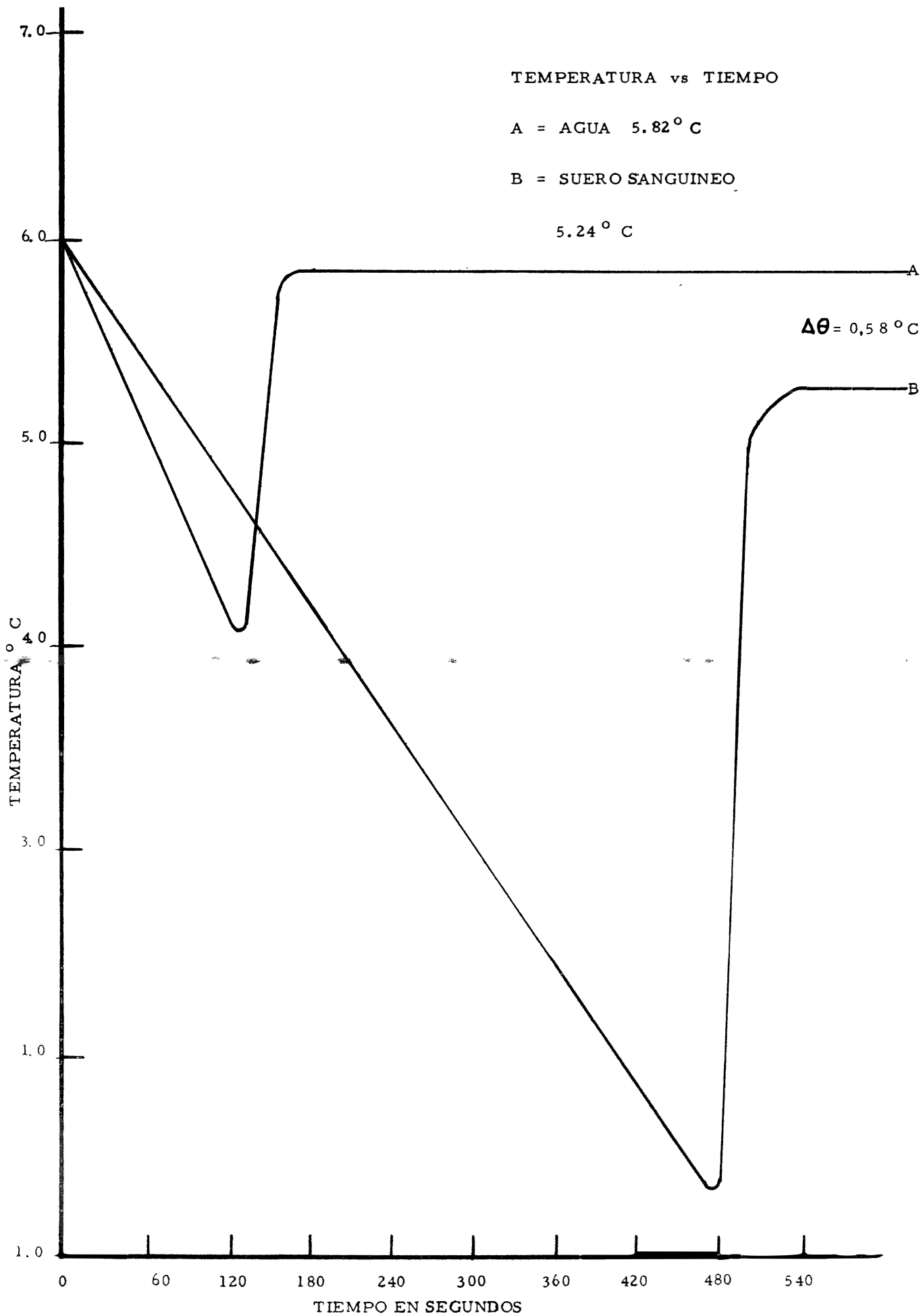
TEMPERATURA vs TIEMPO

A = AGUA 5.82° C

B = SUERO SANGUINEO

5.24° C

$\Delta\theta = 0,58^\circ\text{C}$



T A B L A V

Droga N ^o	Equivalente de cloruro de sodio (E)
1	0.585 x 1.7 ≈ 1.00
2	0.101 x 1.7 = 0.172
3	0.039 x 1.7 = 0.066
4	0.031 x 1.7 ≈ 0.053
5	0.265 x 1.7 = 0.450
6	0.106 x 1.7 = 0.180
7	0.199 x 1.7 = 0.338

Ahora bien, si utilizamos como descenso crioscópico teórico el valor ΔT iso = 0.56°C que corresponde aproximadamente al de una solución 0.9% P/V de cloruro de sodio calculamos los valores teóricos de las concentraciones isosmóticas de droga respecto a la sangre; por la fórmula (3):

$$\text{III} \quad C \text{ iso} = \frac{\Delta T \text{ iso}}{L \text{ iso}} = \frac{0.56}{L \text{ iso}} \text{ (moles/lt.)}$$

T A B L A VI

Droga N ^o	C iso (moles/lt.)	C iso (% P/V)
1	0.56/3.4 = 0.165	0.165 × 5.85 = 0.965
2	0.56/3.4 = 0.165	0.165 × 33.73 = 5.56
3	0.56/2.0 = 0.28	0.28 × 51.44 = 14.4
4	0.56/1.9 = 0.295	0.295 × 61.9 = 18.2
5	0.56/2.0 = 0.28	0.28 × 7.51 = 2.10
6	0.56/3.4 = 0.165	0.165 × 32.19 = 5.3
7	0.56/4.3 = 0.13	0.13 × 21.61 = 2.81

CALCULOS EXPERIMENTALES

Los valores de los descensos crioscópicos del suero, de la solución 0.9% P/V de cloruro de sodio y de las soluciones al 1% de las drogas en estudio, obtenidos experimentalmente, aparecen a continuación.

T A B L A VII

N ^o	Droga	$\Delta T_f(1\%)$ (°C)	$\Delta T_f(0.9\%)$ (°C)
1	Cloruro de sodio	0.71	0.57
2	Clorhidrato de tiamina	0.12	—
3	Riboflavina 5-fosfato sódico	0.04	—
4	Polisorbato 80 (Tween 80)	0.00	—
5	Glicocola	0.27	—
6	Clorhidrato de isotipendil	0.12	—
7	Glicerofosfato de sodio. 5 H ₂ O.	0.23	—
	Suero sanguíneo humano	—	0.57

Los valores L iso experimentales, calculados mediante la ecuación (I) escrita así:

$$\text{IV} \quad L \text{ iso} = \frac{M}{\Delta T_f(1\%)} \quad \text{V}$$

aparecen a continuación, tabulados:

T A B L A VIII

<i>Droga N°</i>	<i>L iso</i>
1	$5.85 \times 0.57 = 3.33$
2	$33.73 \times 0.12 = 4.05$
3	$51.44 \times 0.04 = 2.06$
4	$0.00 = 0.00$
5	$7.51 \times 0.27 = 2.03$
6	$32.19 \times 0.12 = 3.86$
7	$21.61 \times 0.23 = 4.96$

El equivalente de cloruro de sodio obtenido a partir de los descensos crioscópicos experimentales para cada una de las drogas, se calcula según la fórmula (3):

$$\text{V} \quad E \approx 17 L \text{ iso}/M$$

T A B L A IX

<i>Droga N°</i>	<i>Equivalente de Cloruro de Sodio (E)</i>
1	$(17 \times 3.33)/58.5 \approx 1.00$
2	$(17 \times 4.05)/337.30 = 0.205$
3	$(17 \times 2.06)/514.4 = 0.068$
4	$0.000 = 0.000$
5	$(17 \times 2.03)/75.1 = 0.459$
6	$(17 \times 3.86)/321.9 = 0.250$
7	$(17 \times 4.96)/216.1 = 0.391$

y por último, teniendo en cuenta que los descensos crioscópicos de las soluciones al 0.9% de cloruro de sodio y suero sanguíneo coinciden, usaremos como $\Delta T \text{ iso}$ el valor de 0.57°C , y la ecuación III toma la forma

$$\text{VI} \quad C \text{ iso} = \frac{0.57}{L \text{ iso}}$$

Así calculamos las concentraciones isosmóticas de drogas a partir de descensos crioscópicos puramente experimentales. Estas concentraciones aparecen tabuladas a continuación:

T A B L A X

<i>Droga</i> N ^o	<i>C iso (moles/lt.)</i>	<i>C iso (% P/V)</i>
1	0.57/3.33 = 0.1713	0.1713 × 5.85 ≈ 1.00
2	0.57/4.05 = 0.141	0.141 × 33.73 = 4.75
3	0.57/2.06 = 0.276	0.276 × 51.44 = 14.20
4	0.57/0.00 ∞	∞
5	0.57/2.03 = 0.281	0.281 × 7.51 = 2.12
6	0.57/3.86 = 0.148	0.148 × 32.19 = 4.75
7	0.57/4.96 = 0.115	0.115 × 21.61 = 2.48

Desarrollada la parte experimental y los cálculos teóricos y experimentales de la parte crioscópica del trabajo se creyó conveniente hacer una comparación de los valores L iso, E y C iso de las drogas de estudio, obtenidos de manera teórica y experimental. La tabla XI presenta este aspecto comparativo.

T A B L A XI

N ^o	<i>Droga</i>	<i>Equivalente de cloruro de sodio (E)</i>		<i>Valor L iso</i>		<i>Concentración isosmótica C iso (% P/V)</i>	
		<i>T</i>	<i>Ex</i>	<i>T</i>	<i>Ex</i>	<i>T</i>	<i>Ex</i>
1.	Cloruro de sodio	1.000	1.000	3.4	3.33	0.96	1.00
2.	Clorhidrato de tiamina .. .	0.172	0.205	3.4	4.05	5.56	4.75
3.	Riboflavina-5-fosfato sódico .	0.066	0.068	2.0	2.06	14.40	14.20
4.	Polisorbato 80 (Tween 80) .	0.053	0.000	1.9	0.00	18.20	∞
5.	Glicocola	0.450	0.459	2.0	2.03	2.10	2.12
6.	Clorhidrato de isotipendil ...	0.180	0.250	3.4	3.86	5.30	4.75
7.	Glicerofosfato de sodio 5 H ₂ O	0.338	0.391	4.3	4.96	2.81	2.48

T = teórico; Ex = experimental.

En general se puede observar que los resultados experimentales difieren muy poco de los teóricos, exceptuado el caso del polisorbato 80, lo cual es explicable por su naturaleza macromolecular orgánica de elevado peso molecular, difícil de determinar con precisión aceptable.

PARTE EXPERIMENTAL BIOLOGICA

METODO HEMOLITICO (4)

El fin principal de la parte hemolítica de este trabajo consiste en comprobar si en realidad las concentraciones isosmóticas determinadas experimentalmente por el método crioscópico, son o no en realidad isotónicas con las células rojas de la sangre.

Para ello se procedió según la técnica de Hunter con la única variación de usar una temperatura de 37°C y no de 25°C (5). Según el autor esta modificación no altera de manera apreciable los resultados.

El método utilizado fue a grandes rasgos el siguiente: se prepararon soluciones de las drogas a las concentraciones isosmóticas calculadas en la sección anterior. Una vez preparadas las soluciones, se tomaron volúmenes de 10 ml. de cada una en un tubo de centrifuga. A cada tubo se adicionó 0.1 ml. de sangre recientemente obtenida de un individuo normal, desfibrinada por agitación, con perlas de vidrio. Se preparó también un blanco usando solución isotónica de cloruro de sodio (0.9%) y además una solución hemolizante de saponina al 0.01%.

El objeto de estas dos soluciones era el de poder apreciar el 0% de hemólisis con la de cloruro de sodio y el 100% de hemólisis con la solución de saponina. Ya preparadas todas las soluciones en sus respectivos tubos fueron colocadas en un baño termostático a $37 \pm 0, 1^\circ\text{C}$ durante 45 minutos. Inmediatamente después se centrifugaron todos los tubos a 10.000 RPM durante 5 minutos. Decantadas las soluciones fueron leídas sus absorbancias en un espectrofotómetro "Beckman DU" a una longitud de onda de 530 m μ . El porcentaje de hemólisis se obtuvo así:

$$\text{VII} \quad \% \text{ H} = \frac{\text{As (Problema)}}{\text{As (Sol. saponina)}}$$

As = absorbancia; %H = porcentaje de hemólisis.

Los resultados de esta experiencia son consignados en la siguiente

T A B L A XII

Nº	Droga	Concentración (%)	Absorbancia (As)	% Hemólisis
1.	Cloruro desodio	0.90	0.013	1.05
2.	Saponina	0.01	1.240	100
3.	Cloruro de sodio	2.00	0.016	1.29
4.	Cloruro de sodio	0.30	1.230	99.00
5.	Tween 80	1.00	1.230	99.00
6.	Tween 80	10.00	1.110	89.50
7.	Glicocola	2.00	0.013	1.05
8.	Glicerofosfato de sodio 5 H ₂ O ...	2.00*	0.038	3.06
9.	Isotipendil clorhidrato	4.75	1.032*	83.00
10.	Tiamina clorhidrato	4.75	0.870	70.00
11.	Riboflavina-5-fosfato disódico ...	3.00	0.050**	21.00

* El valor de absorbancia de la solución de isotipendil clorhidrato corresponde a la diferencia entre la absorbancia de la solución sin sangre y la absorbancia de la solución con sangre debido a que la solución es coloreada.

** Solución coloreada, máxima solubilidad: 3.0 grs. por 100 cc. Fue necesario leer absorbancia a 560 m μ debido a que a esa longitud de onda la absorbancia era máxima. La solución de saponina al 0.01% presentó una absorbancia de 0.240.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

Solución 0.9% de cloruro de sodio.	El porcentaje de hemólisis producido por esta solución se explica por la existencia de proteínas y otras sustancias disueltas en la sangre que no centrifugan pero sí absorben radiaciones en el visible y, por la hemólisis debida al envejecimiento y muerte de los hematíes.
Solución 0.01% de saponina.	La hemólisis total se produce por el gran efecto detergente de la solución, capaz de disgregar y destruir las membranas de los glóbulos rojos.
Solución 2.0% de cloruro de sodio.	El ligero aumento del % de hemólisis se debe probablemente al aumento de absorbancia por incremento en la concentración de cloruro de sodio.
Solución 0.3% de cloruro de sodio.	99.0% es el porcentaje de hemólisis esperado para esta solución de alto grado de hipotonicidad.
Solución 1% de polisorbato 80 (Tween 80).	Solución fuertemente hemolizante.
Solución 10% de polisorbato 80.	La mayor concentración de este agente de superficie disminuye moderadamente el grado de hemólisis. Este resultado aparentemente contradictorio se explica porque tratándose de una gran macromolécula, se deposita en la vecindad de la membrana celular e impide el intercambio libre del solvente a través de ella.
Solución 2.0% de glicocola.	Se comporta como solución isotónica.
Solución 2.0% de glicero-fosfato de sodio 5 H ₂ O.	Solución ligeramente hipotónica.
Solución 4.75% de clorhidrato de isotipendil y solución 4.75% de clorhidrato de tiamina.	Las dos soluciones son de comportamiento tónico similar. Por razón de la gran movilidad del ión H ₃ O ⁺ y de la permeabilidad selectiva de las membranas de los hematíes a ese ión, estas soluciones son fuertemente hemolíticas. Obsérvese la gran semejanza química de estas dos sustancias.
Solución 3.0% de riboflavina 5-fosfato sódico.	No produce el porcentaje de hemólisis esperado para esta solución hipotónica, pues se trata también de una macromolécula de parte hidrofílica que obstruye el paso de las moléculas de agua a través de la membrana del glóbulo rojo.

OBSERVACION MICROSCOPICA

En esta parte de la experiencia se prepararon soluciones de drogas de concentraciones isosmóticas calculadas en la parte experimental crios-

cópica, hipoosmóticas e hiperosmóticas. Cortes finos de tejidos de *Allium Cepa* fueron puestos en contacto con estas soluciones durante un tiempo que consideramos conveniente, terminado el cual procedimos a la observación microscópica correspondiente (6). Utilizamos un microscopio bifocal Zeiss con dispositivo para microfotografías cámara Alpha Reflex Suiza, con juego completo de filtros. También se hicieron montajes análogos con suspensión de glóbulos rojos de sangre humana normal (7). Se tomaron alrededor de unas cuarenta microfotografías de las cuales se seleccionaron las mejores. Sobre ellas se estudiaron e interpretaron los fenómenos y efectos osmóticos observados. A continuación anotamos los resultados obtenidos:

1. En la figura 3 aparecen células normales de cebolla (*Allium cepa*) de forma prismática, núcleos de regular tamaño, centrados y con ligera tendencia hacia la periferia y paredes relativamente delgadas.
2. La figura 4 muestra el tejido celular en contacto con una solución isotónica de cloruro de sodio. No se observa ningún efecto osmótico.
3. Es poco visible el efecto de la solución hipotónica de cloruro de sodio (0.3%) sobre las células vegetales. Sin embargo algunas células presentan una notoria turgescencia y un adelgazamiento relativo de sus paredes debido a la absorción de agua de la solución.
4. Una solución hipertónica de cloruro de sodio (2%) produce la retracción del protoplasma celular (plasmólisis incipiente) por deshidratación.
5. Es evidente la turgescencia en las células de *Allium cepa* con una solución isosmótica de clorhidrato de isotipendil (4.75%). Esta discrepancia obedece a un cierto grado de permeabilidad de la membrana celular al ión hidronio (H_3O^+) de gran movilidad.
6. Con una solución de glicocola al 2.1% no se observa ningún efecto osmótico. El tejido presenta una apariencia normal.
7. Con una solución de tiamina al 4.75% se observa un efecto de turgescencia menos acentuado que en el caso de la solución de clorhidrato de isotipendil.
8. Con una solución de riboflavina al 3% se observa turgescencia débil. Este hecho es explicable por tratarse de una solución de una macromolécula capaz de presentar impedimento estérico al libre intercambio del solvente a través de la membrana celular. La concentración usada está lejos de ser la isosmótica, por insolubilidad de la droga.
9. Con solución de polisorbato 80 al 1% el aumento de volumen celular es bastante pronunciado.
10. Con solución de glicerofosfato de sodio al 2.5% se observa plasmólisis bastante apreciable. La solución es hiperosmótica y produce

retracción del plasma más aparente en las células de la parte inferior derecha. (Figura 5).

11. La preparación de sangre normal desfibrinada presenta una gran estabilidad en solución isotónica de cloruro de sodio (0.9%); no aparecen fenómenos de plasmólisis ni de hemólisis. (Figura 6).
12. Con una solución hipertónica de cloruro de sodio (2%) se observa retracción central del protoplasma de los eritrocitos. No se observa ningún efecto hemolítico. (Figura 7).
13. Una solución hipotónica de cloruro de sodio (0.3%) produce hemólisis total, ruptura de las membranas celulares de los eritrocitos por efecto de un contacto prolongado (10 minutos). Con menor tiempo de contacto la hemólisis es menos acentuada.
14. El clorhidrato de isotipendil en solución isosmótica (4.75%) tiene el mismo efecto turgesciente sobre los eritrocitos de la sangre que sobre las células vegetales de *Allium cepa*. Este hecho aparentemente contradictorio se explica por la permeabilidad acentuada de la membrana celular de los hematíes a los iones hidronio y subsecuente hidratación. (Figura 8).
15. Con solución de glicocola al 2% se observa completa ausencia de efectos de deplasmólisis y de hemólisis. La solución 2.1% de glicocola empleada es isosmótica e isotónica. (Figura 9).
16. Con solución de tiamina al 4.75% se observa una nítida turgescencia explicable por permeabilidad selectiva de la membrana celular a los iones hidronio como en el caso del clorhidrato de isotipendil.
17. Con una solución de riboflavina al 3% se observa una turgescencia algo más visible que en el caso de las células vegetales frente a la misma solución de la droga.
18. Con polisorbato 80 al 1% se presenta una considerable turgescencia después de un tiempo de contacto de dos minutos.
19. Con polisorbato 80 al 10% la hemólisis es total. Se debe tener en cuenta que el polisorbato 80 es una macromolécula no iónica de gran peso molecular y cualquier concentración es siempre hipoosmótica y por consiguiente fuertemente hemolítica.
20. Con una solución de glicerofosfato de sodio al 2.5% se confirma el efecto de plasmólisis producido por la misma solución hipertónica sobre las células vegetales de *Allium cepa*. (Figura 10).

RESUMEN Y CONCLUSIONES

En este trabajo se determinaron los descensos crioscópicos de soluciones 1%, 2% y 3% de siete drogas y del suero sanguíneo y a partir de estos datos experimentales se calcularon sus correspondientes valores

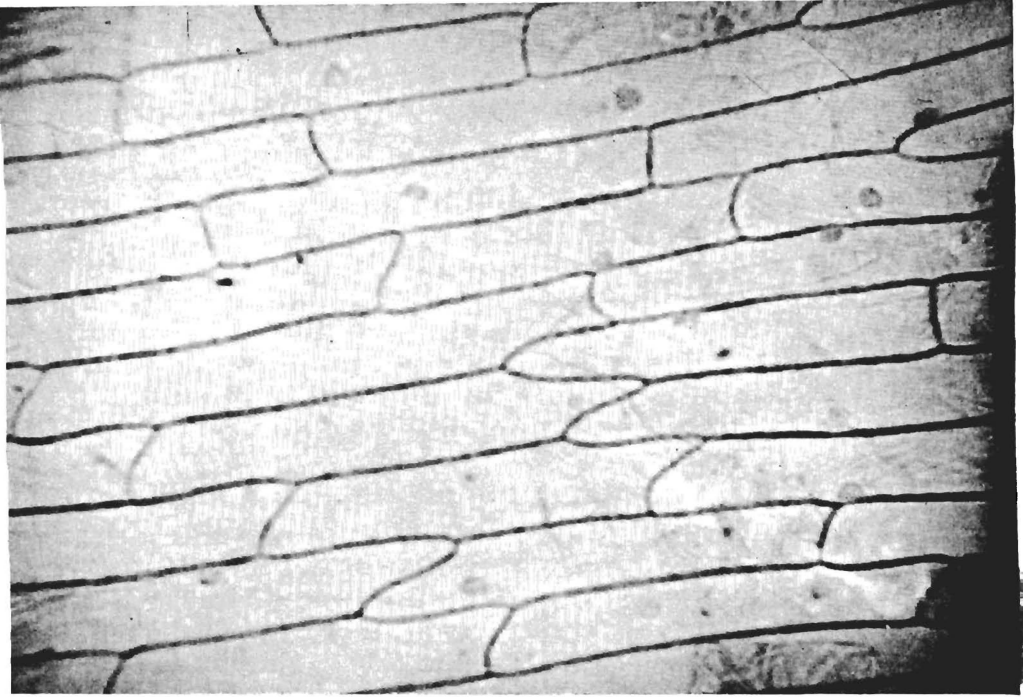


FIGURA 3
Tejido Vegetal *Allium Cepa*,
Objetivo: 0.22
Ocular: 8
Filtros: 13

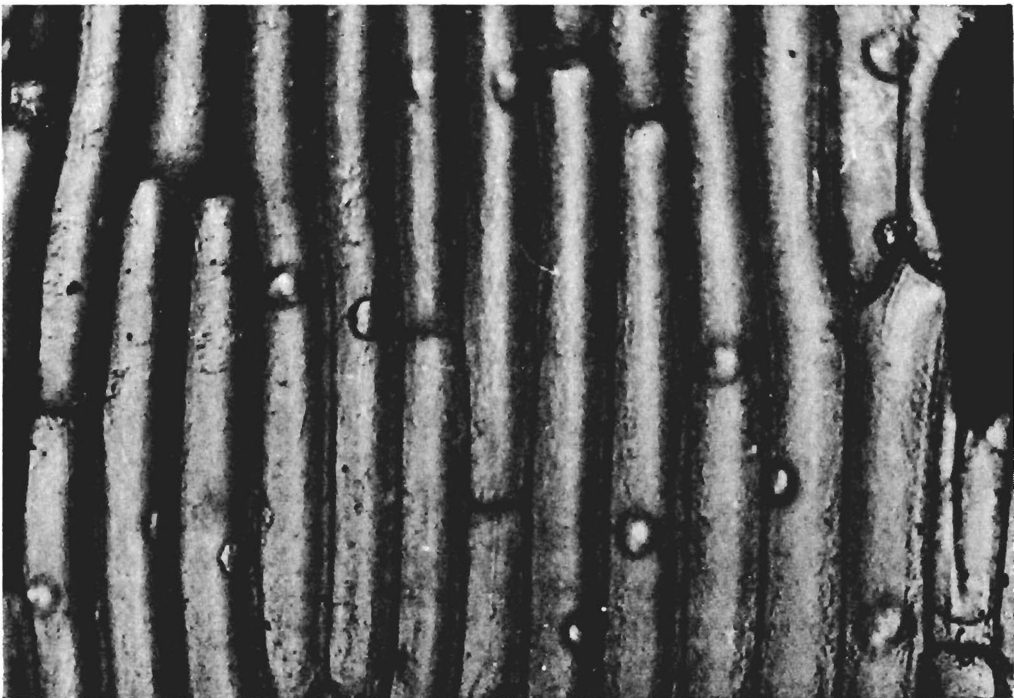


FIGURA 4
Tejido Vegetal *Allium Cepa*, con solución isotónica de NaCl (0.9%).
Objetivo: 0.22

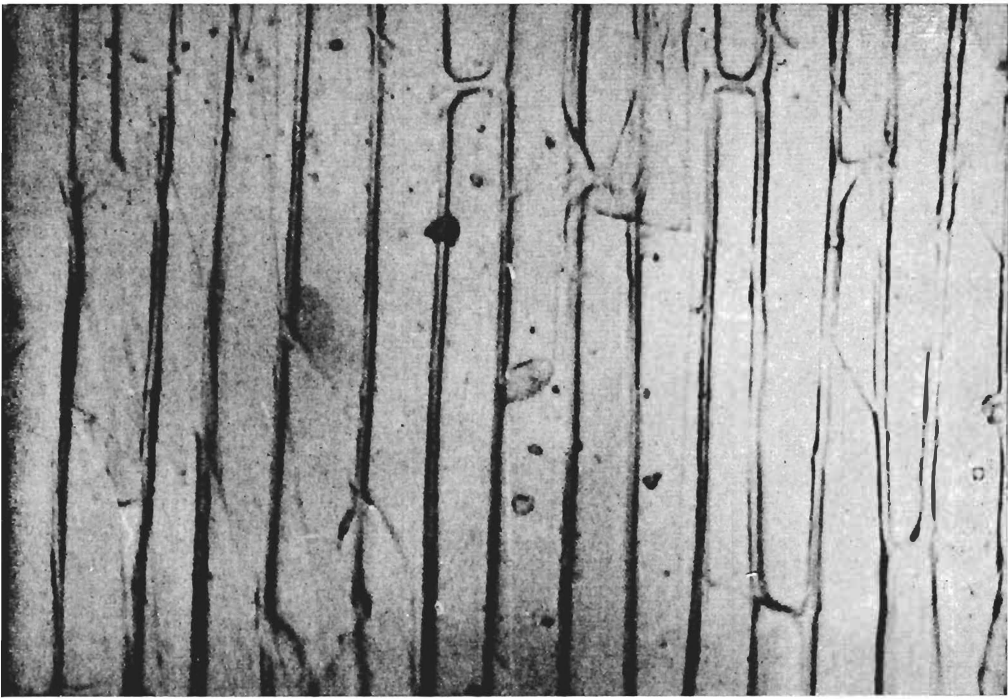


FIGURA 5

Tejido Vegetal *Allium Cepa*, con solución de glicerofosfato de sodio al 2.5%.

Objetivo: 0.25

Filtro: 8

Fuelle: 8, amarillo.

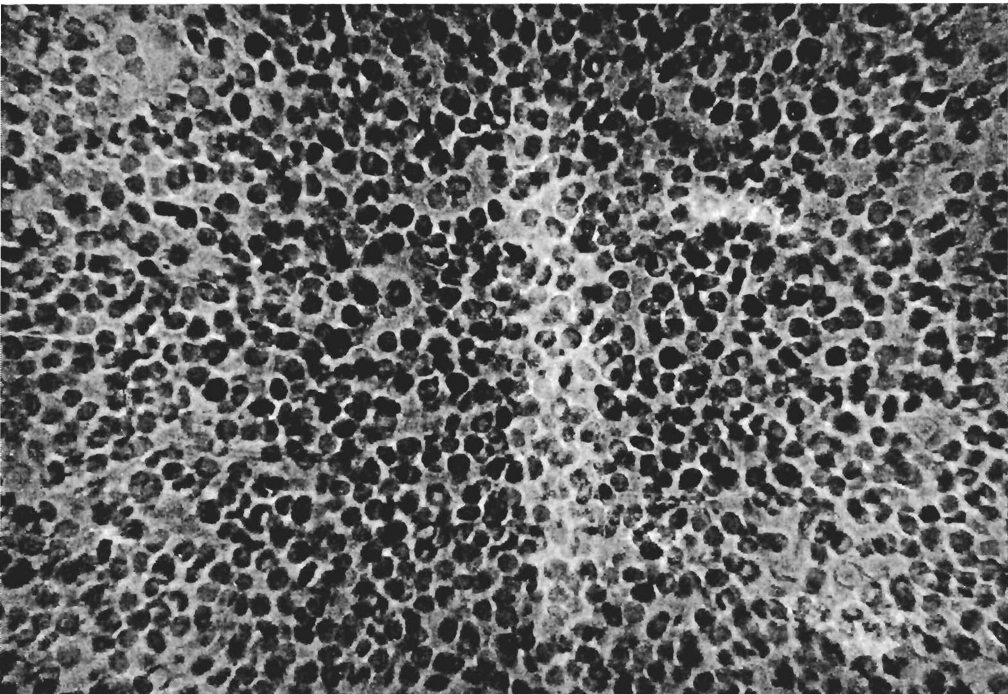


FIGURA 6

Tejido sanguíneo con solución isotónica de NaCl (0.9%).

Objetivo: 0.22

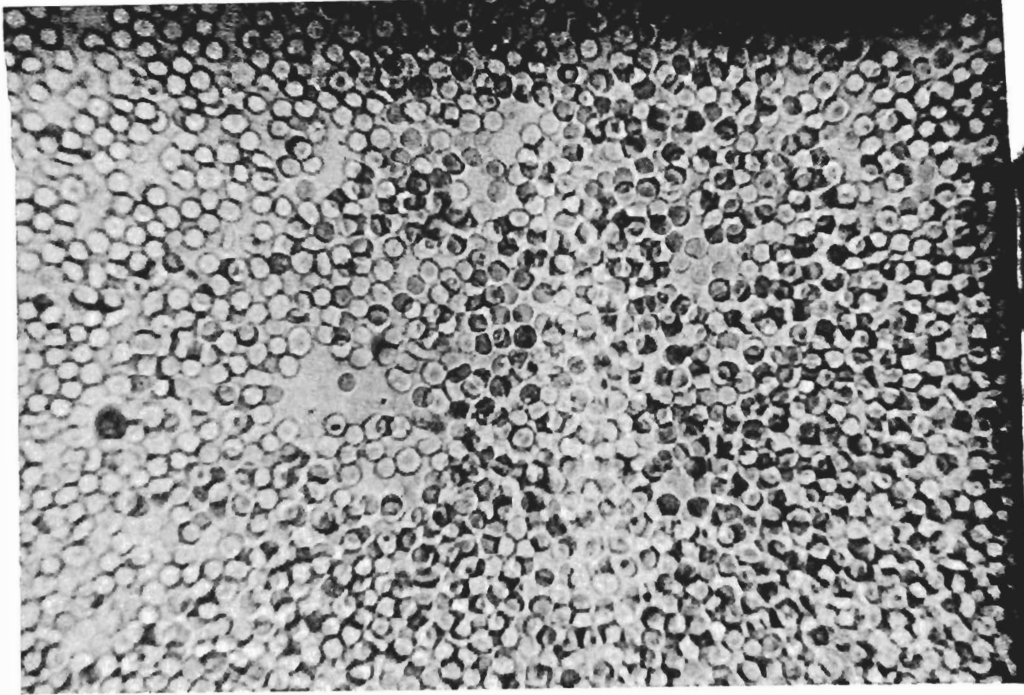


FIGURA 7
Tejido sanguíneo con solución hipertónica de NaCl (2%).
Objetivo: 0.22
Ocular: 8
Filtros: 10

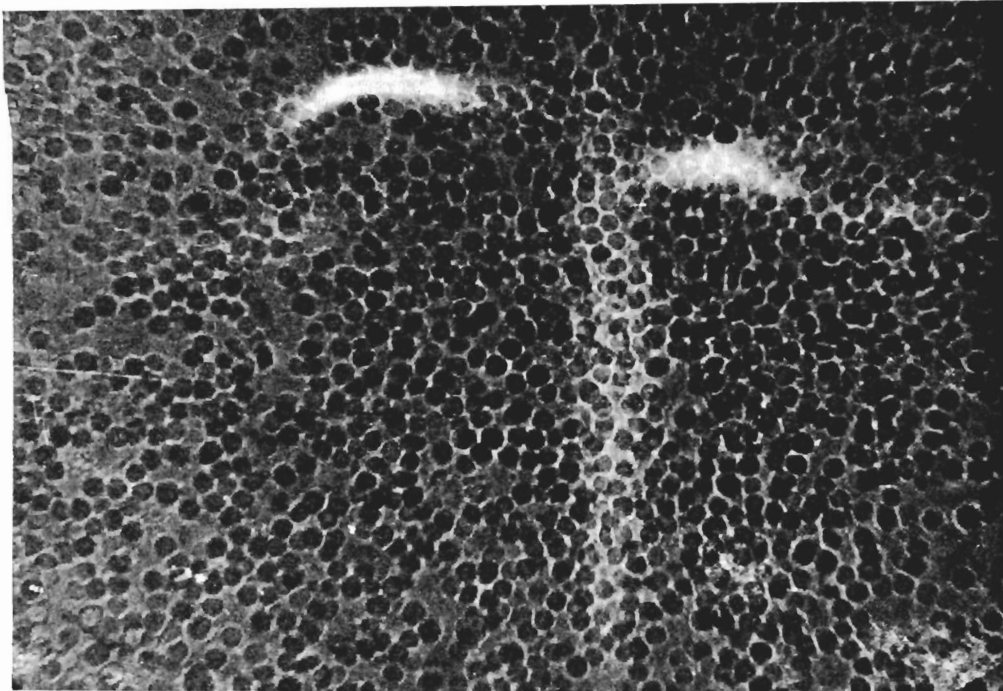
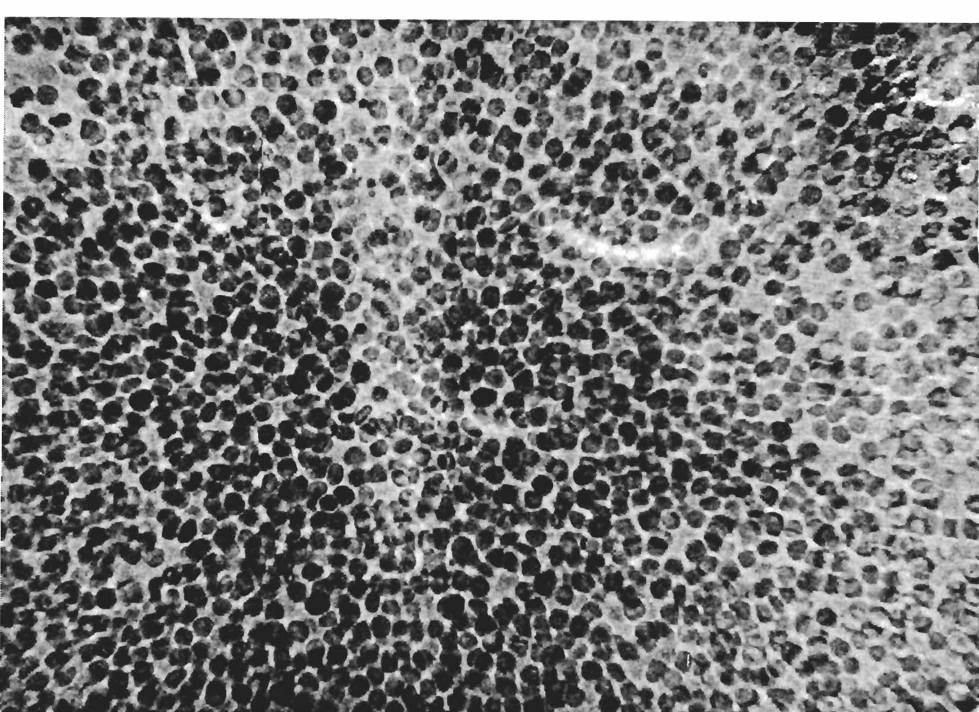


FIGURA 8
Tejido sanguíneo con solución de isotipendil al 4.75%.
Objetivo: 0.22
Ocular: 8



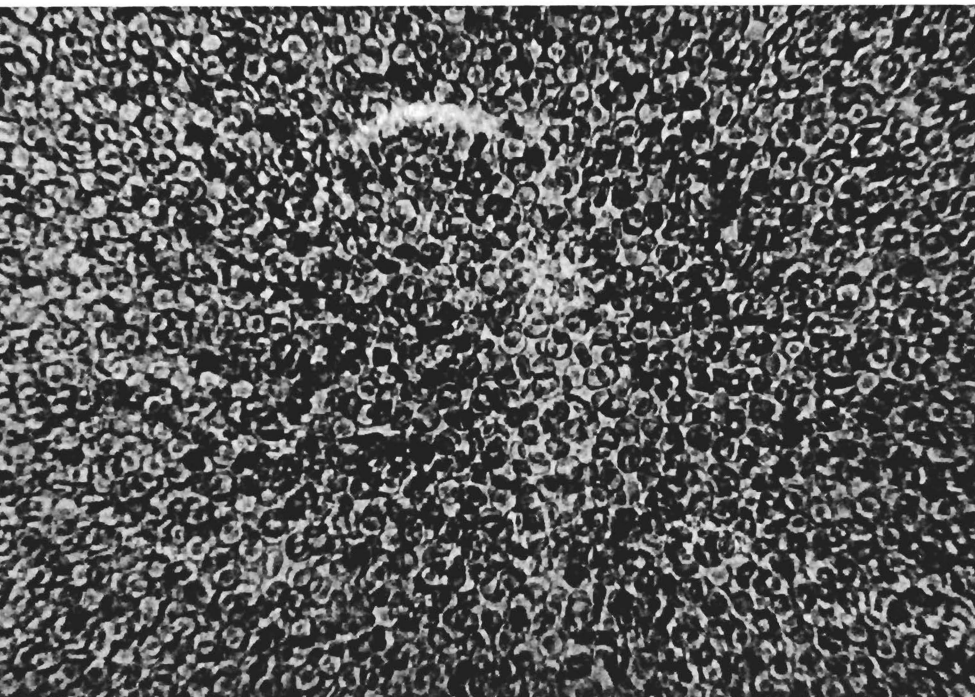
F I G U R A 9

Tejido sanguíneo con solución de glicocola al 2.1%.

Objetivo: 0.22

Ocular: 8

Filtros: 10



F I G U R A 10

Tejido sanguíneo con solución de glicerofosfato de sodio al 2.5%.

Objetivo: 0.22

L iso, E y C iso, parámetros éstos de gran importancia en la tecnología de soluciones parenterales. Comparados estos resultados con los valores teóricos correspondientes de cada una de las sustancias, se observó una gran coincidencia dentro del intervalo de error aceptable en este tipo de estudios biológicos.

Se ensayaron las soluciones de las drogas a las concentraciones isosmóticas (C iso) calculadas y a concentraciones menores y mayores que éstas con el fin de estudiar sus efectos osmóticos sobre células vegetales de bulbos de *Allium cepa* y sobre eritrocitos de sangre humana normal. Después de un tiempo de contacto, escogido convenientemente, las preparaciones sanguíneas fueron examinadas al microscopio y al espectrofotómetro a una $\lambda = 5.300\text{A}$, máxima absorción de la hemoglobina, y las preparaciones vegetales únicamente por vía microscópica.

Además de los resultados básicos de la experiencia que presentamos tabulados, reportamos las siguientes observaciones:

La membrana de la célula vegetal reacciona con menor intensidad a los efectos osmóticos que la del glóbulo rojo. Soluciones hipotónicas producen una franca ruptura de la membrana del hematí y consecuente hemólisis. Soluciones hipertónicas, producen en cambio, retracción protoplasmática en los dos tipos de cuerpos celulares estudiados.

El tiempo de contacto de la solución de la droga y la preparación es factor fundamental en esta clase de verificaciones. La nitidez del efecto de la droga depende principalmente de éste y de la naturaleza de la célula a estudiar. Para células vegetales el tiempo de contacto debe ser mayor que para glóbulos rojos.

Los resultados básicos obtenidos aparecen consignados conjuntamente con las dosis usuales de cada una de las drogas en la tabla siguiente:

<i>Droga</i>	<i>L iso</i>	<i>E</i>	<i>Dosis usual diaria</i>	<i>C iso (%)</i>	<i>% hemólisis</i>	<i>Isotonicidad</i>
1. Cloruro de sodio	3.33	1.000	3 gr.	1.00	1	+
2. Clorhidrato de tiamina	4.05	0.205	0.050	4.75	70	—
3. Riboflavina 5-fosfato sódico.	2.06	0.068	0.020	14.20	21	—
4. Polisorbato 80	0.00	0.000	—	—	99	—
5. Glicocola	2.03	0.459	15.00	2.12	1	+
6. Clorhidrato de isotipendil . .	3.86	0.250	0.008	4.75	83	—
7. Glicerofosfato de sodio 5 H ₂ O	4.96	0.391	0.250	2.48	3	+

L iso = Constante crioscópica molal del solvente, corregida; E = Equivalente de cloruro de sodio; C iso = Concentración isosmótica (gramos por 100 ml. de solución).

La concentración isotónica de cloruro de sodio es 0.9 a 1.0%. La dosis diaria de esta sal se administra por vía oral principalmente.

Los clorhidratos de tiamina e isotipendil a la concentración isosmótica son fuertemente hemolizantes. Esta propiedad se explica por la gran movilidad del ión hidronio (H_3O^+) y porque se trata de solutos que modifican la permeabilidad de la membrana celular. La dosis usual de estas drogas está lejos de ser isotónica, por consiguiente debe ser isotonizada.

En el caso de la riboflavina 5-fosfato sódico y del glicerofosfato sódico la dosis diaria es bastante menor que la concentración isosmótica y exige también isotonización.

El polisorbato 80 se usa como cosolvente. En soluciones parenterales con esta droga se exige también completar isotonicidad.

La glicina puede ser administrada parenteralmente a la dosis isotónica. Para completar el requerimiento usual deben administrarse varias dosis o una dosis fuerte por vía oral.

RESUMEN

La finalidad del presente trabajo es el estudio de los efectos osmóticos sobre los glóbulos rojos y las células vegetales de las soluciones de un grupo de drogas no estudiadas hasta ahora. La determinación de los equivalentes de cloruro de sodio, de las concentraciones isotónicas mediante la determinación de descensos crioscópicos, comprobación espectrofotométrica y microscópica de sus efectos hemolíticos.

SUMMARY

The osmotic effects of some drugs on the red blood cells and vegetable cells and the determination of the sodium chloride equivalents were carried out.

The hemolytic effects were observed by microscopical techniques and by spectrophotometry.

RÉSUMÉ

Il est faite l'étude des effets osmotiques d'un groupe de médicaments en solution et qui n'ont pas été étudiés jusqu'au présent, sur des erythrocytes et des cellules végétales; aussi il a été faite la détermination des équivalentes en chlorure de sodium, celles des concentrations isotoniques au moyen de la descente cryoscopique et la constatation des effets hemolytiques grace à l'espectrophotometrie et à l'observation microscopique.

BIBLIOGRAFIA

1. MARTIN, A. N.: Physical Pharmacy, Lea & Febriger, Phil. 290-292.1960.
2. Ibid., 290.
3. Ibid., 295.
4. HUSA, W. J. and ADAMS, J. R.: J. of Am. Pharm. Assoc. 33, 329. 1964.
5. HUNTER, F. R.: J. of Clinical Investigation, 19, 691. 1940.
6. STRASBURGER: Tratado de Botánica, Manuel Marín & Cía. 5ª ed. Barcelona. 1960.
7. WRIGHT, S.: Fisiología Aplicada, Manuel Marín & Cía. 5ª ed. Barcelona. 1955.