

Enfoque Estratégico para la Realización de Pruebas de Coeficiente de Reparto en el Desarrollo de Suplementos Dietéticos

*Christian H. Cruz Cruz
Maestría en Ingeniería en Ingeniería de Manufactura
Edgar Torres, Ph.D.
Departamento de Ingeniería Industrial
Universidad Politécnica de Puerto Rico*

Resumen — *El aumento en sobrepeso de la población es una situación que ha estado arrojando gran parte de la población mundial en especial a los países latinoamericanos. Esto acarrea consigo múltiples factores de riesgo y puede provocar complicaciones adicionales a los pacientes diabéticos y las personas con problemas cardiacos. En respuesta a esta problemática, la comunidad científica ha estado desarrollando continuamente tratamientos para esta enfermedad. El enfoque de esta propuesta va dirigido a parte del desarrollo de un producto dietético con ingredientes activo en su forma natural, que ayude a contrarrestar el problema del sobrepeso en la población. Mediante la prueba del coeficiente de reparto se determinará el método más apropiado para administrar el medicamento. En este artículo se sentará las bases para realizar esta prueba de una manera efectiva y en caso de que este valor de coeficiente de reparto sea desconocido, se pueda certificar su valor.*

Términos Claves — *Coeficiente de Reparto, Espectrofotometría UV-VIS, Método de frasco de agitación.*

EXPOSICIÓN DEL PROBLEMA

El sobrepeso es un problema que ha ido en incremento durante las últimas décadas. El mismo ha sido vinculado como causantes o agravantes de varias enfermedades. Por esta razón se ha estado desarrollando continuamente alternativas para combatir esta condición.

Descripción de la Investigación

Durante los pasados 30 años ha habido un incremento en las tasas de sobrepeso y obesidad. Según los datos y cifras suministrados por la Organización Mundial de la Salud, para el año

2017, el 39% de los adultos mayores de 18 años estaban sobrepeso y alrededor del 13% estaban sufriendo de obesidad [1]. Existen varios factores que abonan al desarrollo a este fenómeno, entre los cuales se destacan problemas hormonales, alto consumo de calorías, falta de actividad física entre otros. El sobrepeso y la obesidad traen consigo varias complicaciones de salud tales como la diabetes tipo 2, problemas cardiacos, hipertensión, y en algunos casos extremos, dificultad para moverse de un lugar a otro [2]. Además, la obesidad se ha convertido en un riesgo de mortalidad al igual que las enfermedades coronarias, diabetes, ataques cardiacos y ciertos tipos de cáncer [3]. Es por eso que durante los pasados años se han desarrollado un sinnúmero de investigaciones y desarrollo de productos para atender este problema.

Objetivos de la Investigación

Actualmente existen tratamientos invasivos y no invasivos para suprimir el apetito, y por consecuente la ingesta de calorías. Los tratamientos invasivos, como la cirugía bariátrica, son efectivos y son recomendados en casos extremos de obesidad. Muchas personas temen someterse a este tipo de tratamiento por temor a los factores de riesgo que los mismos envuelven. Por esta razón, el desarrollo de diferentes suplementos dietéticos y tratamientos no invasivos ha ido en aumento. Esto ha motivado a la industria a desarrollar diferentes ingredientes que redunden en la reducción de peso.

Como parte de la propuesta del proyecto se establece el proceso para el cribado de varios ingredientes en vías de establecer la formulación del ingrediente y determinar el método de administración adecuado del medicamento.

Contribuciones de la Investigación

La principal contribución de este proyecto es el bienestar y salud de las personas que padecen de esta enfermedad o de aquellos que están propensos a padecerla. La reducción de peso en las personas acarrea consigo otros beneficios tales como reducción en las dosis de medicamentos, y en algunos casos la eliminación de los mismos, permitiendo una mejor calidad de vida. En el caso de los pacientes diabéticos puede significar desde la reducción de la dosis diaria de insulina, hasta la eliminación de su uso por completo. Otra contribución importante como consecuencia de la reducción de peso en las personas es el impacto económico en las finanzas de los pacientes y; la reducción visitas al médico, solo a las visitas regulares.

REVISIÓN DE LITERATURA

Para la formulación de cualquier fármaco es necesario conocer las propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas del ingrediente activo, para luego poder desarrollar un método apropiado para el desarrollo y producción de una forma de dosificación estable y biodisponible. Las características biofarmacéuticas son conocidas a través de la farmacocinética y farmacodinamia. La farmacocinética es el estudio cuantitativo del movimiento del fármaco en el cuerpo [4]. En otras palabras, “estudia la absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME) de los medicamentos, su interrelación con otros fármacos y sus respuestas, farmacológicas, terapéuticas y toxicológicas en los seres humanos” [4].

Por otro lado, la farmacodinamia estudia los efectos de un fármaco en el organismo, su efecto terapéutico, efectos indeseados y secundarios, entre otros. Además, también estudia el impacto de un fármaco al interactuar con otros [4]. El objetivo de estos estudios es asegurarse de que el fármaco tenga su efecto terapéutico deseado sin afectar el organismo. Los elementos que envuelven a la farmacocinética y la farmacodinamia pueden representarse a través de un grafica de

concentración de fármaco en plasma. En la misma se presenta las concentraciones del fármaco en plasma en las que su efecto terapéutico es seguro, niveles toxicológicos, niveles de concentración en los cuales el fármaco no tiene ningún efecto terapéutico y tiempo que le toma en llegar a su máxima concentración. Todos estos elementos afectan la biodisponibilidad del fármaco. Es de suma importancia su conocimiento ya que dependiendo de esos factores es que se va a determinar la vía de administración.

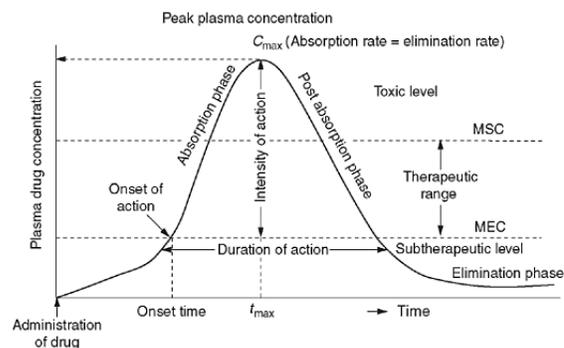


Figura 1
Gráfica de Concentración de Fármaco en Plasma vs Tiempo [4]

Características Fisicoquímicas

El conocimiento de las características fisicoquímicas del principal activo es fundamental para el desarrollo de diferentes aspectos de la formulación incluyendo los procesos de manufacturación del fármaco. Dentro de estas características se encuentran: la cristalinidad y polimorfismo, punto de fusión, fluidez, solubilidad y estabilidad del principal activo.

La solubilidad es un parámetro esencial que se tiene que considerar al momento de la formulación. Hay varios aspectos que afectan la solubilidad de un compuesto tales como: pH, temperatura y coeficiente de reparto. El coeficiente de reparto es una característica primordial ya que el mismo nos da un perfil sobre la capacidad de un ingrediente de atravesar las membranas del cuerpo.

Coefficiente de Reparto

El coeficiente de reparto P_{OW} se define como la proporción entre la concentración de una sustancia

en fase orgánica respecto a la concentración de la sustancia en fase acuosa.

$$P_{OW} = C_O / C_W \quad (1)$$

Donde:

C_O = Concentración de una sustancia en fase orgánica

C_W = Concentración de una sustancia en fase acuosa

El solvente que comúnmente se utiliza para representar la fase acuosa es agua, mientras el utilizado para representar la fase orgánica es el octanol. El procedimiento para realizar esta prueba consta en colocar los dos solventes inmiscibles en un recipiente y añadir el soluto para que se disuelva en ambas fases. Luego se separan las soluciones y se mide la cantidad de soluto existente en cada fase [4].

Espectrofotometría Ultravioleta-Visible (UV-VIS)

La Ley de Lambert-Beer establece que la concentración de una sustancia en una solución es directamente proporcional a la absorbancia de la solución [5]. El descubrimiento de esta relación ha permitido el desarrollo de tecnología para colaborar en la investigación de nuevos fármacos. La espectrofotometría UV-VIS mide la absorbancia de luz en una longitud de onda que se encuentra en el rango ultravioleta y visible. Para esto se utiliza un espectrofotómetro donde se colocan las muestras de las concentraciones del ingrediente en las diferentes fases (Acuosa y Orgánica), para medir la absorbancia y compararla con la absorbancia obtenida de la concentración original. Con el conocimiento de estas concentraciones es posible calcular el coeficiente de reparto.

Formas de Dosificación

Una vez obtenido el coeficiente de reparto, es posible determinar la forma de dosificación adecuada para el principal activo. Entre las formas de dosificación se encuentran las suspensiones, emulsiones, tabletas, cápsulas, intravenosas entre otras. Por ejemplo, si un ingrediente tiene afinidad

con la fase orgánica sería un buen candidato para emulsiones [6].

METODOLOGÍA Y ESTRATEGIA

Para propósitos del estudio se estarán realizando pruebas de coeficiente de reparto a diez ingredientes para recomendar el método de dosificación. La disolución de los diferentes ingredientes en las fases orgánicas y acuosas, van a ser medidos con un espectrofotómetro UV-VIS. Se medirá la absorbancia para la concentración del ingrediente. Luego de realizado en experimento; se separará la fase orgánica de la acuosa, y se medirá la absorbancia de la concentración disuelta en ambas fases, utilizando el mismo largo de onda que se utilizó para medir la absorbancia de la concentración del ingrediente antes de ser disuelta.

Calibración de Espectrofotómetro

La calibración del equipo de medición va a ser realizada conforme a los parámetros establecidos por el fabricante. Una vez calibrado el equipo se hallará la longitud de onda en la que haya dependencia entre la absorbancia para la concentración del ingrediente bajo estudio. Para esto se realizarán diferentes concentraciones del ingrediente para medir la absorbancia de las concentraciones con diferentes largos de onda.

Absorbancia						
	λ (nm)					
C (mg/L)	200	250	300	350	400	450
0.1						
0.5						
1						
2						
3						

Tabla 1

Tabla de Recolección de Datos para Determinar Largo de Onda

Los valores de las concentraciones y largos de ondas establecidos en la tabla 1, pueden variar para cada ingrediente.

Consideraciones Iniciales

Para establecer el coeficiente de reparto de los diferentes ingredientes se utilizará el método del frasco de agitación. Para ello, se debe contemplar varios parámetros antes de utilizar el método.

Dentro de las consideraciones iniciales se debe estimar el coeficiente de reparto para poder determinar las concentraciones iniciales de los ingredientes y los volúmenes de los solventes; y verificar que este método sea viable. Para poder utilizar el método de frasco de agitación, el valor estimado de $\text{Log } P_{ow}$ debe estar entre -2 y 4. Estas estimaciones pueden llevarse a cabo mediante modelos matemáticos que han sido desarrollados en programas de computadoras para facilitar el proceso. Uno de los programas que es utilizado para estimar el coeficiente de reparto es "Molinspiration". Para poder utilizar este programa se necesita ingresar la especificación de introducción lineal molecular simplificada (SMILES) de la molécula del ingrediente en evaluación. En caso de que se trate de un material tensoactivo, el método de estimación sería hallando la concentración de saturación por separado tanto en la fase orgánica como en la fase acuosa.

Condiciones de la Prueba [7]

Esta prueba debe ser realizada bajo ciertas condiciones según lo establece la ley de reparto de Nernst. La misma debe ser llevada a cabo a temperatura y presión constantes; el pH de los disolventes debe permanecer estable durante todo el proceso. La temperatura recomendada es entre 20 °C - 25 °C con una variación de ± 1 °C. Los ingredientes por evaluarse deberán estar libres de impurezas y la concentración del mismo en cualquiera de las dos fases no puede exceder de 0.01 mol por litro. El n-Octanol a ser utilizado en las pruebas debe ser de grado analítico; y el agua debe ser destilada. Los solventes deben ser mezclados y equilibrados previamente. Este proceso toma alrededor de 24 horas.

Para validar el coeficiente de reparto se sugiere que se realicen tres corridas, con una relación de volumen diferente para cada corrida. Cada una de las corridas se realizarán de forma duplicada; en otras palabras, en cada corrida, se harán dos pruebas simultáneas con la misma relación de volumen. La primera corrida se hará con una relación de volumen de 1:1; la segunda será con

una relación de volumen de 1:2, y la tercera se realizará con una relación de volumen 2:1. Durante el establecimiento de los volúmenes de cada solvente y la concentración del ingrediente bajo estudio, se deben considerar tres parámetros importantes:

1. El estimado preliminar del coeficiente de reparto
2. La concentración mínima del ingrediente bajo estudio requerida para el proceso.
3. La concentración máxima del ingrediente no deberá exceder los 0.01 mol por litro.

Procedimiento

Para realizar la prueba se mezclan la concentración del ingrediente en un embudo de decantación para que se disuelva en ambas fases previamente equilibradas. Se deja reposar la mezcla en un soporte universal hasta que se separen la fase orgánica de la fase acuosa. Una vez termina el proceso de separación de las fases, se procede a separar las mismas para poder medir la concentración del ingrediente de cada fase, haciendo uso de un espectrofotómetro ultravioleta-visible, para medir la absorbancia en el largo de onda determinado previamente. Una vez determinado los valores de absorbancia, se procede a realizar el cálculo del coeficiente de reparto para cada una de las tres corridas. Los seis valores de "Log P_{ow} " que se obtengan como resultado del experimento deberán tener una variación de no más de ± 3 [7].

Reporte de Datos [7]

El reporte de datos del experimento deberá contener la siguiente información:

- El reporte de datos debe incluir el nombre del ingrediente que está siendo evaluado con el grado de pureza;
- Los resultados de las estimaciones realizadas en caso de que el método de frasco de agitación no aplique;
- Toda la información requerida para la interpretación de resultados incluyendo

- impureza, estado físico del ingrediente entre otros;
- Condiciones de la prueba tales como: Temperatura, Cantidad de ingrediente utilizada, volúmenes de solventes en cada una de las corridas;
- pH del agua utilizada y de la fase acuosa durante el experimento;
- Procedimientos analíticos;
- Las mediciones de las concentraciones;
- Los valores de “Log POW” y sus promedios para cada corrida y el promedio global;
- La desviación estándar de los resultados alrededor del promedio;
- El promedio global expresado en logaritmo base 10.

Tabla 2
Ejemplo de Hoja De Recolección De Datos

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Ingrediente: _____

Grado de Pureza: _____

Parámetros Iniciales		Observaciones
Log P _{est.} :		
Absorbancia de concentración:		
λ (nm):		
pH (agua):		
Concentracion Ingrediente (mg/L)		
Condiciones de Prueba		
Temp ambiente (C):		
Volumen Fase acuosa (mL):		
Volumen Fase Lípida (mL):		
Resultados		
P:		
Log P:		
Desviación Estándar:		

Tabla 3
Recolección de Medidas de Absorbancia

Proporción	Corrida	Muestra	Absorbancia (%)	P _{ow}	P _{ow} (promedio)
1:1	1	Octanol			
		Agua			
	2	Octanol			
		Agua			
2:1	1	Octanol			
		Agua			
	2	Octanol			
		Agua			
1:2	1	Octanol			
		Agua			
	2	Octanol			
		Agua			

CONCLUSIÓN

Este enfoque estratégico y propuesta fue dirigida a parte del desarrollo de un producto dietético con ingredientes activo en su forma natural, que ayude a contrarrestar el problema del sobrepeso en la población. Mediante la prueba del coeficiente de reparto se puede determinar el método más apropiado para administrar el medicamento de acuerdo afinidad lipofílica o hidrofílica. En este artículo se proveyeron las bases para realizar esta prueba de una manera efectiva y en caso de que este valor de coeficiente de reparto sea desconocido, se pueda certificar su valor.

Sydney, Toronto: The McGraw-Hill Companies, Inc, 2011.

- [5] R. Khandpur, *Handbook of Analytical Instruments*, 2nd ed., New York, Chicago, San Francisco, Athens, London, Madrid, Mexico City, Milan, New Delhi, Singapore, Sydney, Toronto: McGraw-Hill Education Private Limited, 2006.
- [6] S. K. Niazi, *Handbook of Preformulation: Chemical, Biological, and Botanical Drugs*, CRC Press, 2006.
- [7] Organization for Economic Cooperation and Development, "Test No. 107: Partition Coefficient (n-octanol/water): Shake Flask Method," OECD Publishing, Paris, 1995.

REFERENCIAS

- [1] Organización Mundial de la Salud, (2017, Octubre): Obesidad y sobrepeso. [Online]. Available: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>. [Accessed: Diciembre 2017].
- [2] N. Seeman and L. Partick, *XXL: Obesity and the Limits of Shame*, Toronto: University of Toronto Press, 2011.
- [3] J. H. Cawley and K. Bolin, *The Economics of Obesity*, Amsterdam: JAI Press Inc., 2007.
- [4] A. Nag and B. Dey, *Computer-Aided Drug Design and Delivery Systems*, New York, Chicago, San Francisco, Lisbon, London, Madrid, Mexico City, Milan, New Delhi, San Juan, Seoul, Singapore,