



Unidad 8. Determinación experimental del coeficiente de reparto de barbitúricos.

Marco Teórico

El paso a través de las membranas biológicas y la distribución en el organismo, son dos factores determinantes en la capacidad de un fármaco para alcanzar la diana biológica con la cual va interaccionar para producir un efecto biológico determinado.

El coeficiente de reparto o coeficiente de partición (**P**) es un parámetro fisicoquímico que permite determinar de modo cuantitativo, el grado de lipofilia (también denominada hidrofobicidad) de una molécula, permitiendo inferir cómo se comportará en el entorno de los fluidos biológicos del organismo y como será su paso mediante difusión pasiva a través de membranas biológicas. Un ejemplo de fármacos cuya actividad biológica depende de su hidrofobicidad son los barbitúricos, sustancias con propiedades hipnóticas y sedantes que actúan a nivel del sistema nervioso central (SNC). Es importante mencionar que para que una sustancia pueda ejercer su efecto sobre el SNC debe atravesar la barrera hematoencefálica (BHE), la cual es una barrera de naturaleza lipofílica que existe entre los vasos sanguíneos y el sistema nervioso central. Dicha barrera impide que muchas sustancias tóxicas la atraviesen permitiendo el paso de nutrientes y oxígeno al cerebro. De no existir esta barrera muchas sustancias nocivas llegarían al cerebro afectando su funcionamiento y tornando inviable al organismo. En el caso de los barbitúricos se ha podido determinar que su actividad sedante e hipnótica depende de su lipofilia presentándose el efecto sedante con moléculas menos lipofílicas y el efecto hipnótico con moléculas más lipofílicas, que por ende, tienen mayor facilidad de atravesar BHE para ejercer su efecto terapéutico al interactuar como agonistas de los receptores del GABA.

Como se mencionó, el coeficiente de reparto es un parámetro cuantitativo que representa la solubilidad relativa de una sustancia determinada en un sistema compuesto por dos fases inmiscibles entre sí, a una temperatura específica. Dado



que generalmente una de las fases está constituida por un disolvente orgánico, se le denomina fase **O**, que es de baja polaridad, mientras que la otra generalmente acuosa, constituida por agua o buffers, se le denomina fase **W** cuya polaridad es alta. Es por esto que **P** representa el grado de lipofilia de una sustancia.

La expresión matemática de **P** es:

$$P = C_o/C_w$$

Donde:

C_o = Concentración (Molar o mg/L) de la sustancia en la fase orgánica

C_w = Concentración de la sustancia (Molar o mg/L) en la fase acuosa

Por convención y con fines prácticos, se ha adoptado el uso del logaritmo base 10 de **P** conocido como **Log P** dado que el rango de valores que puede tomar **P** es muy amplio. Por lo tanto, a un mayor valor de **P** o **Log P**, se puede afirmar que la sustancia presenta mayor afinidad por la fase orgánica y por consiguiente su carácter lipofílico es mayor.

Teniendo en cuenta que muchos fármacos presentan propiedades ácido-base, éstos pueden sufrir ionización dependiendo del pH del medio en el que se encuentren. Dado que los iones son mucho más polares que los compuestos neutros, la ionización complica la medida del valor de log **P** dado que subestimaría este valor de la especie neutra en sustancias donde la forma ionizable sea la predominante de tal forma que habrá que corregirlo teniendo en cuenta el pKa y el pH. En el caso de sustancias ionizables no se habla de **P** si no de **D** o *coeficiente de distribución* el cual corresponde a un coeficiente de reparto aparente que toma en cuenta la forma ionizada y no ionizada de la sustancia. Su expresión matemática para ácidos y bases, respectivamente es:

$$\text{Log } D = \log (P_n \cdot 10^{\text{pKa}} + P_i \cdot 10^{\text{pH}}) - \log (10^{\text{pKa}} + 10^{\text{pH}})$$

$$\text{Log } D = \log (P_n \cdot 10^{\text{pH}} + P_i \cdot 10^{\text{pKa}}) - \log (10^{\text{pKa}} + 10^{\text{pH}})$$

Dado que la concentración de las especies iónicas en el disolvente orgánico puede despreciarse en compuestos poco lipófilos, pues con frecuencia es de 30 a 50 veces menor que P_n , las ecuaciones pueden simplificarse para la mayor parte de los ácidos y bases a valores de pH no muy alejados de los valores de pKa.

$$\text{Log } D = \log P_n - \log (1 + 10^{\text{pH}-\text{pKa}})$$



$$\text{Log D} = \log P_n - \log (1 + 10^{\text{pKa}-\text{pH}})$$

El coeficiente de reparto, se ve afectado por factores como:

1. Naturaleza química del producto: Porque el tipo y número de grupos funcionales polares y no polares que una molécula presenta determinan su carácter lipofílico o hidrofóbico.
2. pH: Sustancias de naturaleza ácida cuyo valor de pKa es bajo y sustancias básicas cuyo valor de pKa es alto, el pH va a influenciar el valor del coeficiente de reparto dado que permite determinar la proporción de fármaco que se encuentra ionizada y que las especies ionizadas son insolubles en la fase orgánica.
3. La temperatura: dado que la temperatura afecta la solubilidad de las sustancias en los diferentes sistemas solventes, determina en qué proporción el fármaco va a estar disuelto en la fase orgánica y en la fase acuosa.
4. El sistema disolvente: Dado que la solubilidad depende del disolvente utilizado, existen diferencias en el valor de **Log P** determinado entre diferentes sistemas disolventes.

Los disolventes empleados en la determinación del coeficiente de reparto deben cumplir con las siguientes características:

1. Simular lo mejor posible las condiciones de la interfase entre la membrana celular y el medio extracelular.
2. Baja volatilidad
3. Ser económico
4. Baja Toxicidad

Los disolventes más empleados son el *n*-octanol y el agua que cumple con las características anteriormente indicadas.

Los métodos experimentales más comunes para determinar el valor de LogP son:

Método de agitación en matraz (shake flask):



En este método se disuelve una cantidad de un soluto o sustancia de interés (por ej. fármaco) en un volumen de *n*-octanol saturado con agua, al cual se le hace una partición en un embudo de separación, con agua saturada con *n*-octanol. Es necesario tener presaturadas ambas fases para evitar la transferencia de disolventes durante el proceso de partición pues se requiere solamente que el fármaco se distribuya entre ambas fases. Una vez concluida la separación de fases, se determina la concentración del soluto en cada fase mediante un método adecuado por ejemplo, espectrofotometría UV/VIS.

Método cromatográfico:

Mediante cromatografía líquida de alta eficiencia puede determinarse el Log P por correlación del tiempo de retención del fármaco con el tiempo de retención de compuestos de referencia de estructura química similar con un valor de **Log P** conocido.

De manera teórica se puede calcular el valor de logP a partir de la constante de hidrofobicidad (π), para cada sustituyente en una molécula.