

PRÁCTICA I.4

SIMULAÇÃO DO PROCESSO DE ABSORÇÃO DO CETOCONAZOL: A IMPORTÂNCIA DA SOLUBILIZAÇÃO NO MEIO BIOLÓGICO

SIMULATION OF THE ABSORPTION PROCESS OF KETOCONAZOLE: THE IMPORTANCE OF DISSOLUTION IN BIOLOGICAL FLUIDS

Ricardo José Alves

Laboratório de Química Farmacêutica, Departamento de Produtos

Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de

Minas Gerais, Av. Olegário Maciel, 2360-30180-112, Belo Horizonte,

Minas gerais, Brasil

E-mail: rickydylan@ig.com.br

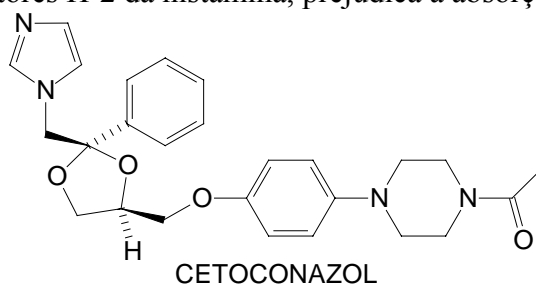
INTRODUÇÃO

A solubilização no meio biológico é uma etapa importante para a absorção de fármacos a partir do trato gastrointestinal. De fato, para que um fármaco tenha uma boa absorção, é conveniente que tenha um coeficiente de participação óleo/água adequado para que possa ser dispersado no meio biológico e suas moléculas, na forma não ionizada, possam atravessar as membranas biológicas para atingir o sítio de ação.

O cetoconazol é um importante fármaco antifúngico de natureza imidazólica, utilizado no tratamento de uma série de micoses superficiais e profundas. Sua natureza imidazólica lhe confere caráter básico, sendo, portanto, solúvel em meio ácido. Esta característica é importante no processo de absorção do cetoconazol, já que ele é pouco solúvel no meio biológico, em sua forma neutra. Quando administrado por via oral, assim que chega no estômago (pH 1), o cetoconazol é protonado, resultando daí sua solubilização. Obviamente, a absorção neste ponto é desprezível, já que o fármaco encontra-se em sua forma ionizada.

Com a elevação gradativa do pH do meio biológico no trajeto do fármaco em direção ao duodeno (pH 4 a 6) e intestino (pH 6 a 8), as formas não ionizadas deste vão sendo produzidas em concentrações crescentes (o que pode ser demonstrado pela utilização da equação de Henderson-Hasselbalch), favorecendo sua absorção. Conclui-se, daí, que o

pH fisiológico do estômago é importante para o processo de absorção do cetoconazol. Portanto, a elevação do pH, provocada, por exemplo, pelo uso de antiácidos e antagonistas dos receptores H-2 da histamina, prejudica a absorção do cetoconazol.



OBJETIVOS

Objetiva-se com este experimento simulado demonstrar que a solubilização do cetoconazol no estômago é etapa importante do seu processo de absorção. Esse raciocínio pode ser estendido a outros fármacos.

PROCEDIMENTO

Pese três amostras de 3 mg de cetoconazol e transfira para três tubos de ensaio (160 mm comprimento, 18 mm diâmetro externo), providos de tampa com rosca. Numere os tubos de 1 a 3. Prossiga da seguinte forma:

- no tubo nº. 1, adicione, com o auxílio de pipeta graduada de 5 mL, 3 mL de água destilada. Em seguida, com o auxílio de uma pipeta graduada de 5 mL munida de uma pêra, adicione 3 mL de éter etílico.
- no tubo nº. 2, adicione 3 mL de solução de ácido clorídrico 1 mol/L, e 3 mL de éter etílico.
- no tubo nº.3, adicione 1mL de solução de ácido clorídrico e, após a dissolução da amostra, adicione 3 mL de éter etílico. Finalmente, adicione 2 mL de solução de hidróxido de sódio 1 mol/L.

Feche os três tubos e agite por cerca de trinta segundos. Coloque os três tubos em um porta-tubos e desenrosque as tampas, lentamente (cuidado!), liberando a pressão provocada pelo vapor do éter.

Em seguida, com o auxílio de uma pipeta de 1 mL munida de uma pêra, transfira 1 mL da solução etérea de cada um dos tubos para balão de 100 mL e complete o volume com éter etílico. Rotule os três balões com o número correspondente do tubo de onde foi retirada a amostra (n^{os}. 1, 2, e 3). Faça a leitura das absorvâncias correspondentes em espectrofotômetro ultravioleta, em 246 nm. Lembre-se de zerar a absorvância com éter etílico. Anote os valores de absorvância (A). Compare. Os valores relativos de absorvância (A) são: $A_3 > A_1 > A_2$.

Interprete esses dados.

INTERPRETAÇÃO

A água e o éter simulam a biofase. O tubo nº. 1(água/éter) corresponde à situação em que o pH do estômago foi elevado por alguma razão (nesse caso é aproximadamente 7). Portanto, espera-se que o cetoconazol não seja bem “absorvido” (passagem para a fase etérea), por ser pouco solúvel no meio biológico. Observe a presença de partículas do fármaco não dissolvido na interface. A absorvância (A_1) será menor do que aquela observada no tubo nº. 3 (A_3) e maior do que aquela observada no tubo 2 (A_2). Continue

a leitura para compreender melhor.

O tubo nº. 2 corresponde à situação em que o fármaco chega ao estômago, onde reage com o HCl presente em condições fisiológicas normais, formando espécies protonadas, essencialmente no anel imidazólico, resultando daí sua solubilização. Por estar ionizado, a quantidade do fármaco que é “absorvido” (passagem para a fase etérea) neste local será mínima, resultando no menor valor de absorvância (A_2).

O tubo nº. 3 corresponde à chegada do fármaco ao estômago (adição inicial de HCl), onde ele é solubilizado, seguindo-se a sua passagem ao duodeno (adição de NaOH), onde as formas ionizadas são desprotonadas, gerando as formas não ionizadas que são, então, “absorvidas” (passagem para a fase etérea). Observa-se, neste caso, o maior valor de absorvância (A_3), reflexo de uma maior “absorção” (passagem para a fase etérea) do fármaco, em função de sua prévia “dissolução no estômago” (adição de HCl), o que não acontece eficientemente quando o pH do mesmo está elevado (representado pelo tubo nº.1).

CONCLUSÃO

Em conclusão, a absorção de um fármaco será tão mais eficiente quanto melhor for sua solubilização na biofase, considerando-se que a forma não ionizada tenha coeficiente de partição óleo/água adequado.

OBSERVAÇÕES

1. Não se pretende neste experimento fazer quantificação do cetoconazol mas sim fazer uma análise comparativa da quantidade de fármaco “absorvida” (que passa para a fase etérea) nas três situações descritas, através da medida de absorvância. Nesse sentido, os alunos devem ser lembrados da lei de Lambert-Beer, que mostra a relação direta entre concentração de uma substância e a absorvância de uma solução que a contém.
2. Na preparação do tubo nº. 3, a sequência de adição de HCl, éter e NaOH é muito importante, pois representa, ainda de que maneira bastante simples, o trajeto de um fármaco no trato gastrointestinal (estômago → duodeno). Portanto, é importante que o éter seja adicionado depois do HCl e antes do NaOH, para que o fármaco possa passar para a fase orgânica à medida em que vai sendo desprotonado.
3. A utilização de uma solução de NaOH 1 mol/L ao invés de um tampão de pH 6, por exemplo, foi para simplificar o experimento, já que o que importa não é a concentração exata de fármaco que passa para a fase orgânica e sim a comparação relativa das concentrações nos três tubos usados no experimento.

Ricardo José Alves

rickydylan@ig.com.br

O trabalho em laboratórios de Química Medicinal requer cuidado e uso de boas práticas de laboratório. O manuseio de instrumentos eletrônicos, a utilização de calor, o uso de vidrarias e de solventes não representam problemas

especiais, desde que sejam seguidas, de forma cuidadosa, as instruções do supervisor.

Este documento foi supervisionado pelo Prof. Ricardo José Alves (rickydylan@ig.com.br) que informou sobre a inexistência de riscos específicos na realização deste exercício (e.g., toxicidade, inflamabilidade, riscos de explosão, etc.), fora aqueles comuns a execução de toda e qualquer prática em laboratórios de Química Medicinal.

Se seu exercício ou prática envolver qualquer risco específico, favor informar ao Editor.

EXERCISE I.4

SIMULATION OF THE ABSORPTION PROCESS OF KETOCONAZOLE: THE IMPORTANCE OF DISSOLUTION IN BIOLOGICAL FLUIDS

Ricardo José Alves

Laboratório de Química Farmacêutica, Departamento de Produtos Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Olegário Maciel, 2360-30180-112, Belo Horizonte, Minas gerais, Brasil

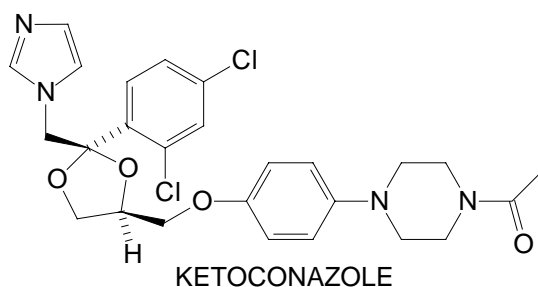
E-mail: rickydylan@ig.com.br

INTRODUCTION

Ketoconazole is a polar, poorly water-soluble drug. Its absorption depends on the pH in the stomach, as it first needs to be protonated at the imidazole ring to dissolve. As the pH in the stomach is raised by any reason (deficiency in HCl production by the stomach or the use of antacids, for instance), the dispersion of the drug in the gastrointestinal tract is incomplete and absorption is hampered.

OBJECTIVE

To demonstrate with a very simple experiment the importance of ketoconazole dispersion in biological fluids to ensure good absorption. In this experiment, water and ethyl ether represent the components of biological fluids, and the HCl and NaOH solutions represent the pH of stomach and small intestine fluids, respectively.



PROCEDURE

Transfer to each of three screw-capped test tubes (160 × 18 mm) 3 mg of ketoconazole. Identify the tubes as 1, 2, 3.

- In tube 1, add 3 mL of distilled water and 3 mL of ethyl ether, in this order.
- In tube 2, add 3 mL of a 1 mol/L HCl solution, shake to dissolve the ketoconazole, and then add 3 mL of ethyl ether.
- In tube 3, add 1.5 mL of a 1 mol/L HCl solution, shake to dissolve the ketoconazole and then add 3 mL of ethyl ether. Finally, add 1.5 mL of a 1 mol/L NaOH solution.

Cap the three tubes and shake each one for about 20 s. Place them on a stand and unscrew the caps, carefully, to release the pressure due to ethyl ether vapor (CAUTION!). Set the tubes aside for a few minutes in order to separate the two layers (observe the presence of undissolved drug in tube 1).

Transfer 1 mL of the ether upper layer of each tube to three separate beakers numbered 1, 2, and 3, respectively. Evaporate the solvent in a steam bath or hot plate. Add to each beaker 2 mL of a 1 mol/L HCl solution and stir with a glass rod to dissolve the residue. Transfer the content of each beaker to 100-mL volumetric flasks, complete to volume with water, and number the flasks 1, 2, and 3, accordingly. Prepare a blank solution using a 1 mol/L HCl solution in the same proportion (2:100 v/v). Measure the corresponding absorbances in an ultraviolet spectrophotometer at 223 nm. Use the blank to adjust the zero reading.

Compare the absorbance values, which order should be $A_3 > A_1 > A_2$.

INTERPRETATION

Tube 1 represents a situation in that the pH in the stomach has been enhanced by the absence of hydrochloric acid. Thus, the absorption of ketoconazole must take place directly from the surface area of the undissolved compound. As it is not very soluble in ether or water, there will be a part of the compound remaining in the interface of the two layers. Yet, a part of it will be dissolved in the ether phase, and this will result in an intermediate value of absorbance.

Tube 2 represents a normal situation in the stomach. The drug will protonate and dissolve. Nevertheless, as it is completely ionized, it will not be absorbed from this compartment. Therefore, a very low amount of ketoconazole will be transferred to the ether phase, resulting in the lowest value of absorbance.

Tube 3 represents the path of ketoconazole throughout the gastrointestinal tract. When the drug dissolves in acid, this step represents its arrival in the stomach, where it will be in the protonated form. At this point, the addition of ethyl ether will simulate the organic lipophylic membranes. Finally, when the alkali is added, representing the arrival of the compound to the small intestine, there will be the deprotonation of ketoconazole and the dispersed nonionized molecules will be absorbed in larger proportion, giving rise to a greater absorbance value.

OBSERVATION

All solutions used in this experiment should be pipetted with the aid of a dispenser.

Ricardo José Alves

rickydylan@ig.com.br

High standards in safety measures should be maintained in all work carried out in Medicinal Chemistry Laboratories. The handling of electrical instruments, heating elements, glass materials, dissolvents and other inflammable materials does not present a problem if the supervisor's instructions are carefully followed.

This document has been supervised by Prof. Ricardo José Alves (rickydylan@ig.com.br) who has informed that no special risk (regarding toxicity, inflammability, explosions), outside of the standard risks pertaining to a Medicinal Chemistry laboratory exist when performing this exercise.

If your exercise involves any "special" risks, please inform the editor.