

PRÁCTICA I.3

VERIFICAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO pH E DO pK_a NA IONIZAÇÃO DE FÁRMACOS

INFLUENCE OF pH AND pK_a ON IONIZATION AND SOLUBILITY OF DRUGS

Maria Auxiliadôra Fontes Prado

Laboratório de Química Farmacêutica, Departamento de Produtos

Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de

Minas Gerais, Av. Olegário Maciel, 2360-31180-112, Belo Horizonte,

Brasil

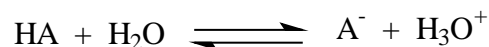
E-mail: doraprad@dedalus.lcc.ufmg.br

INTRODUÇÃO

Como os fármacos, em sua maioria, são ácidos ou bases fracas, no meio biológico estarão mais ou menos ionizados, dependendo da constante de acidez (K_a) e do pH do meio em que se encontram. Considerando-se que a forma não ionizada de um fármaco é mais lipossolúvel que a forma ionizada, o K_a da substância e o pH do meio são dois parâmetros que influem diretamente na passagem dos fármacos através das membranas biológicas e, portanto, estes dois parâmetros são determinantes dos processos de absorção, transporte e excreção dos fármacos

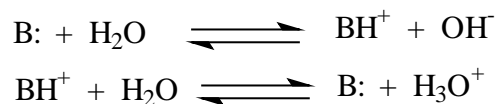
É possível prever qualitativamente, apenas com base na reação do fármaco com a água, em que pH a relação das concentrações de formas não ionizadas e ionizadas será maior e dessa forma avaliar, por exemplo, em que parte do trato gastro-intestinal a absorção será mais efetiva.

Assim, para um fármaco de caráter ácido (HA),



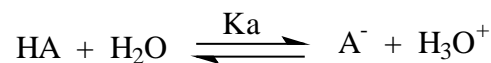
quanto menor o pH, maior a concentração de H_3O^+ , portanto o equilíbrio da reação é deslocado para a esquerda com o aumento da concentração da forma não ionizada. Ao contrário, em pH maior, maior é a concentração de íons OH^- , maior é o consumo de H_3O^+ e o equilíbrio da reação se desloca para a direita com o conseqüente aumento da concentração da forma ionizada do fármaco. Já para um fármaco de caráter básico, que

recebe próton da água,



há aumento da concentração de forma ionizada em pH menor e de forma não ionizada em pH maior.

Se são conhecidos os valores de K_a (ou pK_a) e do pH do meio é possível calcular a relação das concentrações de formas ionizadas e não ionizadas de um fármaco:



$$K_a = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

$$K_a/[\text{H}_3\text{O}^+] = [\text{A}^-]/[\text{HA}]$$

$$-\log (K_a/[\text{H}_3\text{O}^+]) = -\log ([\text{A}^-]/[\text{HA}])$$

$$-\log K_a - (-\log [\text{H}_3\text{O}^+]) = -\log ([\text{A}^-]/[\text{HA}])$$

$$pK_a - \text{pH} = -\log ([\text{A}^-]/[\text{HA}])$$

$$[\text{A}^-]/[\text{HA}] = 10^{-(pK_a - \text{pH})}$$

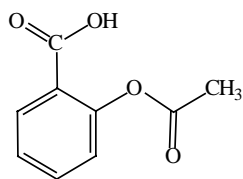
$$[\text{A}^-]/[\text{HA}] = 10^{\text{pH} - pK_a}$$

De maneira idêntica, considerando-se a equação da reação do ácido conjugado BH^+ com a água, pode-se deduzir que para fármacos de caráter básico:

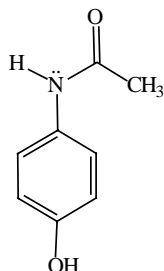
$$[\text{B:}]/[\text{BH}^+] = 10^{\text{pH} - pK_a}$$

OBJETIVO

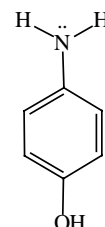
Será observada a influência do pH nas relações das concentrações de formas ionizadas e não ionizadas de três fármacos, o ácido acetilsalicílico de caráter ácido ($pK_a = 5$), o paracetamol, ácido muito fraco, considerado de caráter neutro ($pK_a = 10$) e o *p*-aminofenol de caráter básico (pK_a do ácido conjugado = 6).



ácido acetilsalicílico



paracetamol



p-aminofenol

FUNDAMENTO

Considerando-se que as formas não ionizadas de um fármaco são mais solúveis em

solventes orgânicos e menos solúveis em água que as formas ionizadas, a quantidade de fármaco em um solvente orgânico adicionado a uma solução aquosa do fármaco será proporcional à quantidade de fármaco na forma não ionizada. Assim, comparando-se as concentrações de um fármaco nas fases orgânicas separadas de soluções aquosas com diferentes valores de pH, é possível verificar em que pH o fármaco está menos ionizado.

TÉCNICA

Referência bibliográfica básica: R. J. S. Hickman, J. Neill. *J. Chem. Educ.* **74**, 855 (1997).

Em tubos de ensaio, adicionar as amostras de ácido acetilsalicílico (AAS), paracetamol (PC) e *p*-aminofenol (AF), as soluções de pH 1 e 8 e o solvente, seguindo o especificado na tabela.

Tubo	Substância (peso em mg)	Vol. (mL) sol. HCl pH = 1	Vol. (mL) sol. tampão Na ₂ HPO ₄ /NaH ₂ PO ₄ pH = 8*	Vol. (mL) acetato de etila	Resultado (F ou f)
1	AAS (30)	3	-	3	
2	AAS (30)	-	3	3	
3	PC (20)	3	-	3	
4	PC (20)	-	3	3	
5	AF (20)	3	-	3	

*Misturar 1 mL de solução de NaH₂PO₄ 0,2 mol/L e 19 mL de solução de Na₂HPO₄ 0,2 mol/L.

Agitar vigorosamente, deixar em repouso até separação das fases aquosa e orgânica e aplicar, com auxílio de um capilar, volumes aproximadamente iguais de cada uma das fases orgânicas em placa de sílica com indicador de fluorescência. Secar e observar a placa sob luz ultra-violeta. Comparar as manchas relativas ao mesmo fármaco especificando como forte (F) ou fraco (f).

CÁLCULOS

Calcular para os três fármacos em pH 1 e 8 as relações das concentrações de formas ionizadas e não ionizadas e verificar se o resultado do experimento está de acordo com o que pode ser previsto pelos cálculos.

Maria Auxiliadora Fontes Prado

doraprad@dedalus.lcc.ufmg.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. Maria Auxiliadôra Fontes Prado (doraprad@dedalus.lcc.ufmg.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.3

INFLUENCE OF pH AND pK_a ON IONIZATION AND SOLUBILITY OF DRUGS

Maria Auxiliadôra Fontes Prado

Laboratório de Química Farmacêutica, Departamento de Produtos

Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de

Minas Gerais, Av. Olegário Maciel, 2360-31180-112, Belo Horizonte,

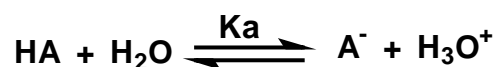
Brasil

E-mail: doraprad@dedalus.lcc.ufmg.br

INTRODUCTION

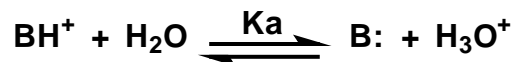
The absorption, distribution, metabolism, and excretion of a drug all involve its passage across cell membranes. Most drugs are weak acids or bases that are present in solution as both the nonionized and ionized species. The nonionized molecules are usually lipid-soluble and can diffuse across the cell membrane. In contrast, the ionized molecules are usually unable to penetrate the lipid membrane because of their low lipid solubility. Therefore, the transmembrane distribution of a drug is determined by its pK_a and the pH gradient across the membrane. Ionization can also play a role in the electrostatic interaction between ionic drugs and ionized protein side chain of drug receptors. In some cases, only the ionic form of a drug is active under biological conditions. Therefore, the pK_a of a drug is important to its pharmacological activity, since it influences both processes: the passage of the drug through cell membranes and the drug–receptor interaction.

The ratio of species HA (acid, unionized specie) and A^- (conjugated base; ionized species) in an aqueous solution of a weak acid, HA, is defined by the equilibrium:



An examination of this equation reveals that the concentration of HA decreases (and concentration of A^- increases) when the pK_a decreases (K_a increases) and/or the pH increases (concentration of H_3O^+ decreases).

On the other hand, if the drug is a basic compound the concentration of unionized form (B) increases when the pK_a decreases and/or the pH increases.



It is possible to calculate the ratio $[\text{A}^-]/[\text{HA}]$ using the Henderson–Hasselbalch equation, for which the deduction is presented:

$$K_a = ([\text{H}_3\text{O}^+][\text{A}^-])/[\text{HA}]$$

$$K_a/[\text{H}_3\text{O}^+] = [\text{A}^-]/[\text{HA}]$$

$$-\log (K_a/[\text{H}_3\text{O}^+]) = -\log ([\text{A}^-]/[\text{HA}])$$

$$-\log K_a - (-\log [\text{H}_3\text{O}^+]) = -\log ([\text{A}^-]/[\text{HA}])$$

$$\text{p}K_a - \text{pH} = -\log ([\text{A}^-]/[\text{HA}])$$

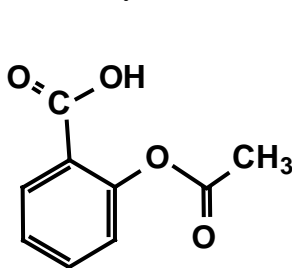
$$[\text{A}^-]/[\text{HA}] = 10^{-(\text{p}K_a - \text{pH})}$$

$$[\text{A}^-]/[\text{HA}] = 10^{\text{pH} - \text{p}K_a}$$

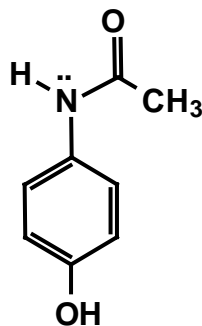
If the drug is a base, the equation is:

$$[\text{B:}]/[\text{BH}^+] = 10^{\text{pH} - \text{p}K_a}$$

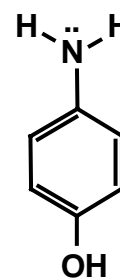
The objective of the practical experiment described here is observing the effect of pH on the ionization of different drugs: acetylsalicylic acid, a weak acid ($\text{p}K_a = 4,5$), *p*-aminophenol, a weak base ($\text{p}K_a = 6,0$), and paracetamol, a very weak acid ($\text{p}K_a = 10$). When a drug is ionized, it has generally high solubility in water and low solubility in ethyl acetate and, usually, it is unable to penetrate lipid membranes because of their low lipid solubility.



acetylsalicylic acid



paracetamol



***p*-aminophenol**

EXPERIMENTAL

Basic reference: R. J. S. Hickman, J. Neill. *J. Chem. Educ.* **74**, 855 (1997).

Transfer the substances (acetylsalicylic acid, *p*-aminophenol, and paracetamol) to the test tubes (1 to 6 in Table), add the aqueous solutions with pH 1 or 8, shake, add the organic solvent, and mix.

Tube	Substance (mg)	HCl sol. pH = 1	Buffer sol. pH = 8*	Ethyl acetate	Result (high or low)
1	Acetylsalicylic acid (30)	3 mL	-	3 mL	
2	Acetylsalicylic acid (30)	-	3 mL	3 mL	
3	Paracetamol (20)	3 mL	-	3 mL	
4	Paracetamol (20)	-	3 mL	3 mL	
5	<i>p</i> -Aminophenol (20)	3 mL	-	3 mL	
6	<i>p</i> -Aminophenol (20)	-	3 mL	3 mL	

*Buffer: mix 1 mL of 0.2 mol/L NaH₂PO₄ and 19 mL of 0.2 mol/L Na₂HPO₄.

Separate the two layers by standing for a few minutes, spot a few portions of the ethyl acetate on a sheet coated with a layer of silica gel HF₂₅₄, dry, and view under ultraviolet light (254 nm). Report the concentration of drug present in the ethyl acetate as high or low according to the intensity of the spot seen (dark spot against a fluorescent background).

CALCULATIONS

Using the Henderson–Hasselbalch equation and the pK_a of the acetylsalicylic acid, 4-aminophenol, and paracetamol, calculate the ratio [ionized form]/[un-ionized form] for the three drugs in pH 1 and 8. Compare these values with the results of the experiment and check if they are compatible.

Maria Auxiliadôra Fontes Prado

doraprad@dedalus.lcc.ufmg.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. Maria Auxiliadôra Fontes Prado) 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.