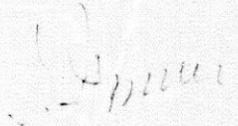


DEPARTAMENTO DE FISICOQUIMICA FARMACEUTICA

Director Prof. Dr. D. Jesus Thomas Gomez

El presente trabajo ha sido realizado por el Ldo. Alberto Hernández Gáñza, con mi dirección y la de la Prof. Dra. D^a M^a del Pilar Gutierrez Navarro, en los Laboratorios del Departamento de Fisicoquímica Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de Granada.

Granada, 30 de Marzo de 1982


El Catedrático

742601

UNIVERSIDAD DE GRANADA

ACTA DEL GRADO DE DOCTOR EN FARMACIA

Curso de 19 81 a 19 82

Folio _____

Número _____

Reunido en el día de la fecha el Tribunal nombrado para el Grado de Doctor de D. Alberto
Julio Hernández Jansa, el aspirante leyó un discurso sobre el siguiente
tema, que libremente había elegido: "PARES IONICOS DE AMINAS DE INTERES
FARMACEUTICO Y UN DERIVADO SULFONILICO. ESTUDIO FISICO -
QUIMICO DE LOS COMPUESTOS EN DISOLUCION Y AL ESTADO SOLIDO"

Terminada la lectura y contestadas las objeciones formuladas por los Jueces del Tribunal, éste le
calificó de Notable cum laude

Granada, 21 de Nov de 19 82

EL PRESIDENTE,

El Secretario del Tribunal,

El Vocal,

El Vocal,

El Vocal,

Firma del Graduado,

INVESTIDURA . . .

En el día de la fecha se ha conferido a D. _____
_____ el Grado de Doctor en la Facultad de _____,
conforme a lo prevenido en las disposiciones vigentes.

Granada, _____ de _____ de 19 _____

EL DECANO,

CERTIFICO: Que el Acta que antecede concuerda con la del expediente del interesado remitida a la
Secretaría de la Universidad.

Granada, _____ de _____ de 19 _____

El Catedrático Secretario,

V.º B.º
EL DECANO,

Desco expresar mi agradecimiento al prof. Dr. D. Jesus Thomas Gómez, por la propuesta del tema, dirección, y por su orientación y dedicación constante.

A la prof. Dra. M^a del Pilar Gutiérrez Navarro, mi especial gratitud por su dirección, apoyo, y colaboración a lo largo de todo el trabajo.

Al C.S.I.C., especialmente al prof. Dr. D. Francisco Girela Vilchez por la realización de los ensayos de Analisis Térmico Diferencial.

Al Departamento de Química Analítica de la Facultad de Ciencias de Granada, especialmente al Prof. Dr. D. Enrique Alonso Hernández por la realización de los espectros infrarrojos.

A D^a Adela Molero, D^a Mercedes Gimenez y a los compañeros de la Cátedra por su desinteresada ayuda.

INDICE

3.2.3.2.1. Aminas con máximo de absorción UV	47
3.2.3.2.2. Aminas sin máximo de absorción UV	48
3.3. Estudio del azul de bromotimol	50
3.3.1. Constantes de disociación ácida	52
3.3.2. Reparto del azul de bromotimol entre fases acuosa y orgánica	53
3.3.2.1. Coeficiente de reparto aparente	54
3.3.2.2. Coeficiente de reparto verdadero	57
3.3.3. Material empleado	58
3.3.3.1. Reactivos	58
3.3.3.2. Instrumentación	58
3.3.4. Método operatorio	59
3.3.4.1. Espectros UV y V y coeficientes de extinción molar	59
3.3.4.2. Primera constante de disociación	60
3.3.4.3. Segunda constante de disociación	61
3.3.4.4. Coeficiente de reparto del azul de bromotimol entre fase acuosa tamporada y cloroformo	61
3.4. Interacción de las aminas con azul de bromotimol en fase orgánica	63
3.4.1. Base teórica de la metodología	63
3.4.2. Material empleado	64
3.4.2.1. Reactivos	64
3.4.2.2. Aminas ensayadas	64
3.4.2.3. Instrumentación	65
3.4.3. Modo operatorio	65
3.4.3.1. Disolución clorofórmica de azul de bromotimol	65
3.4.3.2. Disolución clorofórmica de amina en su forma básica	65
3.4.3.3. Disolución clorofórmicas de aminas en forma de sales	65

3.4.3.4.	Espectros UV-V del par iónico amina-azul de bromotimol	66
3.4.3.5.	Influencia de la concentración de reactivos en la formación del complejo	66
3.4.3.6.	Influencia de la concentración de las aminas. Curvas de calibrado	67
3.4.3.7.	Influencia de la concentración de colorante. Curvas de calibrado	67
3.4.3.8.	Razón estequiométrica y constantes de estabilidad	67
3.4.3.9.	Reactividad de la amina en forma básica y en forma de sal	68
3.4.3.10.	Efecto de la temperatura en la estabilidad de los compuestos amina-azul de bromotimol	69
3.4.3.11.	Reacción amina-colorante en cloroformo de diferentes grados de pureza	69
3.5.	Solubilidad de pares iónicos aminas-azul de bromotimol. Obtención de los sólidos	70
3.5.1.	Material empleado	70
3.5.1.1.	Reactivos	70
3.5.1.2.	Iones de amonio cuaternario y aminas	70
3.5.1.3.	Instrumentación	71
3.5.2.	Método operatorio	71
3.5.2.1.	Preparación de las disoluciones	71
3.5.2.2.	Obtención de los precipitados	71
3.5.2.3.	Espectros UV-V de los compuestos sólidos	73
3.5.2.4.	Espectros IR de los compuestos sólidos	73
3.5.2.5.	Análisis térmico diferencial	74
3.6.	Estudio de la distribución de pares iónicos de azul de bromotimol-amina ó iones de amonio cuaternario en dos fases	75
3.6.1.	Distribución de pares iónicos entre disolventes inmiscibles	75

3.6.2. Material empleado	78
3.6.2.1. Reactivos	78
3.6.2.2. Aminas y bases de amonio cuaternario	78
3.6.2.3. Instrumentación	79
3.6.3. Método operatorio	79
3.6.3.1. Operaciones previas	79
- Ajuste del potenciómetro	79
- Preparación de tampones	79
- Preparación de disoluciones	80
3.6.3.2. Obtención en disolución y curva de calibrado	80
- Tiempo y sistema de agitación	81
- Separación de fases	82
- Reacciones laterales	82
- Efectos del tiempo y temperatura en la estabilidad de los complejos	83
3.6.3.3. Constantes de extracción	83
- Preparación de los tampones	84
- Preparación de disoluciones	84
- Determinación de las constantes de extracción a distintas concen- traciones de reactivo	85
- Determinación de las constantes de extracción a distintos valores de pH	86
3.6.3.4. Influencia del pH en el equilibrio de formación-extracción de los complejos	87
4. RESULTADOS	89
4.1. Constantes de disociación ácida	90
4.1.1. Valoración de las disoluciones de KOH y ClH... ..	90
4.1.2. Valoración de aminas monoácidas	90
4.1.3. Valoración de aminas di- y triácidas	126

4.2. Reparto de las aminas	132
4.2.1. Aminas con máximo de absorción UV	132
4.2.2. Aminas sin máximo de absorción UV	141
4.3. Estudio del azul de bromotimol	143
4.3.1. Espectros de absorción y coeficientes de extinción molar	143
4.3.2. Constantes de disociación ácida	146
4.3.2.1. Primera constante de disociación.....	146
4.3.2.2. Segunda constante de disociación.....	147
4.3.3. Reparto del azul de bromotimol entre fases acuosa y clorofórmica	148
4.4. Interacción de las aminas con azul de bromotimol en fase orgánica	149
4.4.1. Espectroscopía UV-V	149
4.4.2. Influencia de la concentración de reactivos	166
4.4.2.1. Influencia de la concentración de amina	166
4.4.2.2. Influencia de la concentración de azul de bromotimol	175
4.4.3. Estequiometría del complejo amina-colorante...	184
4.4.4. Reactividad de las aminas en forma de base y de sal	195
4.4.5. Efecto de la temperatura sobre la estabilidad de los complejos	199
4.4.6. Reacción amina-colorante en cloroformo de diferentes grados de pureza	200
4.5. Pares iónicos al estado sólido. Solubilidades	201
4.5.1. Espectros UV-V de los compuestos sólidos en disolución clorofórmica	201
4.5.2. Coeficientes de extinción molar de los compuestos sólidos en cloroformo	211

4.5.3. Espectros IR	215
4.5.4. Análisis térmico diferencial	233
4.6. Distribución de pares iónicos en dos fases	240
4.6.1. Espectros UV-V de los complejos en disolución	240
4.6.2. Curvas de calibrado en dos fases	254
4.6.3. Tiempo de agitación	280
4.6.4. Separación de las fases	281
4.6.5. Reacciones laterales	282
4.6.6. Efectos del tiempo y la temperatura sobre la estabilidad de los complejos obtenidos	284
4.6.7. Constantes de extracción de pares iónicos	285
4.6.8. Efecto del pH en la extracción de pares iónicos	311
5. DISCUSION	329
5.1. Constantes de disociación ácida	330
5.1.1. Constantes de disociación de aminas monoácidas	330
5.1.2. Constantes de disociación de aminas di- y triácidas	354
5.1.3. Estudio comparativo de las constantes de disociación de los derivados tropánicos	359
5.2. Coeficientes de reparto de aminas entre disolventes inmiscibles	361
5.2.1. Coeficientes de reparto de aminas con máximo de absorción UV	361
5.2.1.1. Coeficientes de reparto de aminas monovalentes	361

5.2.1.2.	Coeficientes de reparto de aminas divalentes	368
5.2.1.3.	Coeficientes de reparto de aminas con grupos fenólicos y constantes de disociación solapadas....	372
5.2.1.4.	Coeficientes de reparto de aminas mono y divalentes con constante de disociación desconocida ..	375
	-aminas monovalentes	375
	-aminas divalentes	377
5.2.1.5.	Condiciones óptimas de ensayo	380
5.2.2.	Coeficientes de reparto de aminas sin máximo de absorción UV	382
5.2.2.1.	Condiciones óptimas de ensayo	386
5.2.3.	Relación entre el coeficiente de reparto y constitución de la amina	387
5.3.	Propiedades fisicoquímicas del azul de bromotimol	393
5.3.1.	Espectrofotometría V-UV del azul de bromotimol	393
5.3.2.	Primera constante de disociación del azul de bromotimol	398
5.3.3.	Segunda constante de disociación ácida del azul de bromotimol	402
5.3.4.	Coeficiente de reparto del azul de bromotimol entre las fases acuosa y orgánica	404
5.3.4.1.	Coeficiente de reparto aparente	404
5.3.4.2.	Coeficiente de reparto verdadero	406
5.4.	Interacción de las aminas con azul de bromotimol en fase orgánica	410
5.4.1.	Espectroscopía V-UV	410
5.4.2.	Influencia de la concentración de reactivos	413
5.4.2.1.	Curva de calibrado de las aminas	413
5.4.2.2.	Curva de calibrado del colorante	421
5.4.3.	Estequiometría de la reacción de formación del par iónico	427

5.4.4. Reactividades de la amina en forma de base y en forma de sal	435
5.4.5. Constantes de estabilidad de los complejos amina-colorante	436
5.4.6. Efecto de la temperatura en la estabilidad de los complejos	450
5.4.7. Interferencias de la reacción amina-azul de bromotimol	451
5.5. Pares iónicos al estado sólido	454
5.5.1. Espectroscopía V-UV	454
5.5.2. Coeficientes de extinción molar de los sólidos	456
5.5.3. Espectros IR	463
5.5.3.1. Espectros IR de las aminas y de azul de bromotimol.....	463
5.5.3.2. Espectros IR de los complejos amina-azul de bromotimol.....	467
5.5.4. Análisis térmico diferencial	472
5.6. Distribución de pares iónicos entre dos fases	473
5.6.1. Espectroscopía V-UV	473
5.6.2. Curvas de titulación en dos fases	474
5.6.2.1. Coeficiente de extinción molar de la especie XH^+ del azul de bromotimol en cloroformo	493
5.6.2.2. Técnica analítica	494
5.6.3. Tiempo de agitación	497
5.6.4. Separación de fases	499
5.6.5. Reacciones laterales	501
5.6.6. Efectos del tiempo y la temperatura en la estabilidad de los complejos formados	504
5.6.7. Extracción de pares iónicos	504
5.6.7.1. Determinación de las constantes de extracción de pares iónicos	507
5.6.7.2. Constantes de extracción de aminas e iones de amonio cuaternario que forman pares iónicos 1:1	511

5.6.7.3. Constantes de extracción de aminas que forman complejos 2:1 con azul de bromotimol	547
5.6.7.4. Determinación del grado de extracción de las aminas estudiadas como pares iónicos con azul de bromotimol	557
5.6.7.5. Grado de extracción de iones de amonio cuaternario y aminas que forman complejos 1:1 con el anión monovalente del azul de bromotimol	563
5.6.7.6. Grado de extracción de aminas que forman complejos 2:1 con el anión monovalente del azul de bromotimol	580
5.6.7.7. Estudio comparativo de las diversas modalidades de cálculo de grados de extracción.....	583
5.6.7.8. Relación entre la constante de extracción y el coeficiente de reparto de la amina	590
5.6.8. Efectos del pH en la extracción de los complejos	600
5.6.8.1. Efecto del pH en la extracción de complejos 1:1 de azul de bromotimol	603
5.6.8.2. Efecto del pH sobre la reacción lateral	638
5.6.8.3. Efecto del pH en la extracción de complejo 2:1	639
6. APENDICE	640
7. RESUMEN Y CONCLUSIONES.....	649
8. BIBLIOGRAFIA.....	662

I. INTRODUCCION

Los iones presentes en una disolución acuosa, de acuerdo con la teoría de Bjerrum (1), pueden asociarse dando lugar a la formación de pares iónicos, como asociaciones de entidades de distinto signo.

Cuando los iones son de considerable tamaño el producto de la asociación (par iónico) puede ser insoluble en agua y fácilmente soluble en disolventes orgánicos. Cuando esto sucede así el par iónico formado en medio acuoso puede aislarse mediante la extracción en un disolvente inmiscible.

En el estudio aquí emprendido se han asociado al anión monovalente del azul de bromotimol los cationes constituidos por iones de amonio cuaternario o aminas protonadas de interés farmacéutico. Como estos iones son de gran tamaño sus productos de asociación cumplen la propiedad antes referida de ser insolubles en agua y fácilmente solubles en disolventes orgánicos, con lo cual pueden ser obtenidos mediante la extracción desde una fase acuosa con un disolvente inmiscible y, posteriormente, caracterizados espectroscópicamente. Por otra parte, al ser extraído el par iónico de forma cuantitativa desde la fase acuosa a la orgánica, la obtención de los pares iónicos del azul de bromotimol con cationes de interés farmacéutico puede ser utilizado como un método de valoración de éstos (2) (3) (4) (5).

La formación de pares iónicos entre colorantes ácidos y sustancias de naturaleza nitrogenada extraíbles por disolventes orgánicos es conocida desde hace cierto tiempo, si bien no se tenía seguridad de la naturaleza del producto formado.

Hummel (9) y Thomis (6-8) describen ciertos métodos de valoración de sustancias orgánicas básicas con colorantes ácidos, entre ellos el azul de bromotimol, basados en la distribución del color entre la fase acuosa y la orgánica a ciertos valo-

res de pH. Las sustancias orgánicas utilizadas por Thomis eran generalmente alcaloides; la reacción entre el alcaloide y el colorante es catalogada como una reacción ácido-base que da lugar a la formación de compuestos de adición denominados sal de colorante-alcaloide.

La denominación de sales a los compuestos originados con la reacción de un colorante ácido y una base alcaloídica es aceptada en la bibliografía en otros trabajos como los de Divatia y Biles (10-11) ó los de Gupta (3) (12).

Schill y Marsh (2) indican que los compuestos formados entre el azul de bromotimol y aminas o iones de amonio cuaternario deben considerarse complejos; conclusión que obtienen del estudio espectroscópico de los mismos, del cual dedujeron que los complejos están formados por el anión monovalente del azul de bromotimol y el ión de amonio cuaternario ó amina protonada. En un trabajo posterior (13) denominan a estos complejos como pares iónicos ó complejos de asociación iónica. A partir de estos momentos los sucesivos trabajos publicados por esta escuela adoptan estas dos últimas denominaciones que hacen extensivas a los productos extraídos por la asociación de iones de naturaleza inorgánica con bases orgánicas protonadas (14) (15) (16) (17). La naturaleza compleja de estos productos es aceptada por otros autores (18) (19) (20).

En 1.971 Gupta (21) reafirma la naturaleza compleja de estos tipos de productos de adición mediante los cálculos de constante de estabilidad en el seno de un disolvente orgánico. La consideración de complejos a este tipo de compuestos es aceptada en la actualidad como se observa en los trabajos de Dubost (22) y de M. Puttenans (23) y Mohammed (24).

Clásicamente este tipo de interacciones han intentado aplicarse al análisis cuantitativo, aspecto de gran interés farmacéutico, ya que cada vez se están sintetizando más principios activos de los que no se conocen técnicas de valoración por formación de complejos.

Es obvio que el conocimiento de técnicas de valoración e identificación de aminas e iones de amonio cuaternario es de gran interés farmacéutico, dado que la mayor parte de las sustancias utilizadas actualmente como medicamentos son aminas o al menos contienen átomos de nitrógeno en su molécula.

Se han descrito muchos métodos de valoración de las mismas; sin embargo no existe procedimiento ideal y todos ellos presentan desventajas. Así, las determinaciones UV son métodos sensibles y rápidos, pero cuando la valoración se hace en presencia de otros componentes o sustancias de naturaleza parecida aparecen interferencias. La mayor parte de los métodos volumétricos y gravimétricos requieren gran cantidad de sustancias determinadas y no pueden ser aplicados a los problemas farmacéuticos. Como es sabido, para la resolución de este tipo de problemas suelen describirse dos clases de métodos, los químicos y los biológicos. Generalmente suelen preferirse los métodos químicos, pues éstos son rápidos y más económicos y pueden ser realizados de una forma rutinaria.

La valoración por formación de pares iónicos es a veces una forma de resolver los problemas antes mencionados. Reactivos en su forma iónica, tanto orgánicos como inorgánicos, se asocian con iones de amonio cuaternario y aminas, en su forma protonada, dando complejos de asociación iónica (pares iónicos) que pueden ser extraídos con disolventes orgánicos y valorados espectrofotométricamente. Se trata pues de una titulación por formación de complejos en equilibrio entre dos fases.

Las publicaciones en revistas científicas utilizando estos métodos son numerosas. De todos los autores, Shill y col. son quienes mayor número de trabajos han publicado referentes a la titulación de productos farmacéuticos mediante la formación de pares de iones. En la numerosa bibliografía dada a conocer por estos autores son muchos los reactivos

utilizados como contraiones para valorar medicamentos: aniones orgánicos como el azul de bromotimol (2), antraceno-II-sulfonato (25), ácido pícrico (26); aniones inorgánicos tales como Cl^- , Br^- , I^- , ClO_4^- , NO_3^- , y SCN^- (14) entre otros. Todos estos autores han dado una serie de principios que se aplican a sustancias ionizables permitiendo la titulación fotométrica en dos fases por formación de pares iónicos, que han sido utilizados por nosotros como punto de partida en el montaje de las técnicas experimentales puestas a punto en esta memoria. Una totalidad de 23 aminas y 3 iones de amonio cuaternario, pertenecientes a varias familias farmacológicas, se han hecho reaccionar con azul de bromotimol y el complejo formado ha sido extraído en cloroformo y valorado espectrofotométricamente.

La mayor parte de los complejos obtenidos son inéditos, y permiten el montaje de la técnica analítica a que nos referimos. Dicha técnica ha sido aplicada a todos los complejos obtenidos y ofrece una alternativa interesante respecto a las técnicas de titulación usualmente descritas para estas sustancias. Estas determinaciones analíticas tienen interés además en la caracterización de los complejos.

Si bien existen numerosos trabajos acerca de las aplicaciones de los complejos-amina colorante en dos fases, la información relativa a la naturaleza de la reacción, la estequiometría de la misma y la estabilidad de los compuestos es muy reducida. Igual puede decirse del conocimiento de parámetros termodinámicos relativos a la reacción amina-colorante tales como entalpía de reacción, ΔH , cambio de entropía ΔS , y energía libre de reacción, ΔG .

Dado que el estudio de la interacción de aminas con azul de bromotimol en la fase clorofórmica permite conocer las características que se acaban de mencionar, en este trabajo se ha realizado un estudio de dicho proceso en el seno del disolvente orgánico comúnmente empleado. Se determina experimentalmente la razón estequiométrica, constante de formación, influencia de la concentración de reactivos y otros

datos de interés fisicoquímico . A partir de estas experiencias se obtiene información acerca de la naturaleza de la reacción.

El estudio experimental realizado permite, por otra parte esclarecer cuestiones planteadas acerca de la naturaleza y estequiometría de la reacción y, de otra, conduce a la puesta a punto de un método de determinación cuantitativa de aminas en fase orgánica.

El aislamiento de los pares iónicos ofrece dificultades por lo que en muchas ocasiones solo han sido estudiados en disolución. Sin embargo, cuando los iones son de gran tamaño, como corresponde a las especies iónicas de sustancias orgánicas, los productos de asociación iónica, debido a su gran peso molecular y a no tener carga suelen ser insolubles en agua y generalmente solubles en disolventes apolares, lo que facilita la obtención de los productos sólidos.

En la presente investigación, como antes se mencionó, se pretenden obtener pares iónicos de un colorante de gran peso molecular, azul de bromotimol, y aminas o iones de amonio cuaternario. Puesto que el azul de bromotimol es un protolito que posee bandas de absorción de gran intensidad, la interacción de éste con aminas o iones de amonio cuaternario en disolución puede ser estudiada por espectrofotometría. En la bibliografía consultada existen bastantes trabajos desde los realizados por Ballard(27) y Thomis(6-8). Sin embargo, no existe ningún trabajo conocido por nosotros en que estos complejos se aislen y se obtengan al estado sólido. Las ventajas de la obtención de un complejo al estado sólido son evidentes. Por una parte permiten el conocimiento completo de la estructura del complejo y se demuestra la existencia del mismo. Además, su aislamiento facilita un estudio completo de las constantes físicas y fisicoquímicas, tales como punto de fusión, solubilidad, peso molecular y estequiometría del sólido. El compuesto sólido puede también ser caracterizado espectroscópicamente mediante la adscripción de bandas y determinación de coeficientes de extinción de las mismas. Estos hechos han motivado que en la presente Memoria se obtengan los pares iónicos amina-azul de bromotimol al estado sólido.

El único antecedente bibliográfico en el que se da un procedimiento de obtención de pares iónicos sólidos de azul de bromotimol con cationes orgánicos es el sugerido por Schill en 1964 (28) que obtiene por precipitación directa, a pH 5, el par iónico formado por la asociación del anión monovalente del azul de bromotimol y el catión de una base de amonio cuaternario: tetrabutilamonio. Este complejo azul de bromotimol-tetrabutilamonio se obtiene por precipitación y posteriormente se caracteriza, y se determinan sus coeficientes de extinción molar a las longitudes de onda de sus máximos de absorción en el visible y ultravioleta.

Sobre esta base bibliográfica, y dado que en la presente investigación pretendemos estudiar los pares iónicos del azul de bromotimol con 26 sustancias de interés farmacéutico, nos ha parecido de señalada importancia obtener estos al estado sólido puesto que ello va a clarificar el mecanismo de la interacción de los dos iones en el medio acuoso, la estructura del complejo, peso molecular, etc.

El colorante empleado en esta Memoria es, como se ha dicho precedentemente, el azul de bromotimol. Esta sustancia es un colorante que se sintetizó a principios de este siglo (120) y del que, dados sus múltiples usos se han descrito y se conocen muchas de sus constantes fisicoquímicas generales, tales como constantes de disociación, coeficiente de reparto, bandas de absorción etc.

Dada la complejidad de las correspondientes técnicas utilizadas es conveniente hacer una revisión de las principales constantes del colorante ya que no se ha dispuesto de información específica completa acerca de varias de las constantes fisicoquímicas en las condiciones de ensayo en que va a ser utilizado.

En relación a las aminas que dan lugar a los complejos aquí considerados, puede afirmarse que son dos los aspectos más importantes a considerar desde el punto de vista fisicoquímico : sus coeficientes de reparto entre disol-

ventes inmiscibles y los valores de sus constantes de disociación ácida.

El conocimiento de los coeficientes de reparto de aminas con interés farmacéutico es incompleto, a pesar de ser constantes fisicoquímicas necesarias para la solución de problemas galénicos, analíticos y farmacocinéticos. La mayor parte de las determinaciones han sido descritas desde hace mucho tiempo, en condiciones no del todo conocidas; estando además dispersas en la bibliografía. Dado el alto número de disolventes orgánicos (benceno, cloroformo, tetracloruro de carbono, tolueno etc.), no existe un estudio sistemático para cada disolvente; por ello, cuando se elige un disolvente como fase orgánica nunca se encuentra un estudio definido general, sino experiencias sueltas.

La falta de información es debida también a la gran dificultad que ofrecen estas determinaciones, tales como asociación de aminas en disolución, evaporación de la fase orgánica durante el ensayo, adsorción de sustancias en la interfase y paredes del vidrio, desconocimiento del pH adecuado para llevar a cabo la experiencia, formación de emulsiones que dificultan las medidas de concentración, cambios de volumen de las fases, toxicidad de los disolventes orgánicos etc. Todos estos factores dificultan la interpretación de los datos experimentales, exigiendo operar con gran finura y delicadeza y en condiciones completamente exactas y conocidas.

Las constantes de reparto de aminas farmacéuticas son necesarias para los cálculos de las condiciones de extracción cuando se les hace reaccionar con colorantes ácidos y se extrae el compuesto formado por un disolvente orgánico (29). Permiten así conocer las constantes de extracción con buena precisión, así como el grado de extracción de cada amina (2). Su conocimiento facilita la puesta a punto de una técnica de análisis cuantitativo de aminas como se describirá en el correspondiente apartado.

Puesto que en la obtención de los pares iónicos se utilizó cloroformo como disolvente extractor, las determinaciones de coeficientes de reparto de las aminas, $k_{d(B)}$, se efectuaron

entre fases acuosas tamponadas y cloroformo como disolvente orgánico. Los datos obtenidos son utilizados en ciertos apartados para el cálculo de las condiciones de extracción con azul de bromotimol, así como la puesta a punto de una fina técnica de análisis cuantitativo por titulación en equilibrio entre dos fases.

Ha de señalarse que, además de su necesidad para el correcto desarrollo de los restantes apartados de esta Memoria, estas determinaciones tienen interés fisico-químico intrínseco, pues fijadas las condiciones experimentales son constantes fisico-químicas invariables.

Por otra parte son de gran interés desde el punto de vista farmacocinético, siendo numerosas las implicaciones biológicas de esta magnitud fisicoquímica. Así, en los modelos compartimentales que utiliza la Biofarmacia interviene en muchos de ellos el coeficiente de reparto agua-fase orgánica. Por ejemplo, en el modelo bicompartimental contenido gastrointestinal-sangre, la velocidad de absorción del medicamento resulta regida por su constante específica de absorción, k_a , lo que determina que el nivel en sangre del medicamento absorbido por la referida vía sea $a = a_0 (1 - e^{-k_a t})$. También aquí la magnitud k_a depende del coeficiente de reparto agua-lípido, dada que la penetración de una sustancia a través de la pared gastrointestinal implica un proceso de reparto o distribución entre el contenido acuoso gastrointestinal y referida pared celular. Al considerar simultáneamente los procesos de absorción y distribución se llega a un modelo compartimental que en su forma más simplificada viene regido por la ecuación de Dost (30)

$$b = (a_0 \cdot k_a / k_a - k_d) \cdot (e^{-k_d \cdot t} - e^{-k_a \cdot t})$$

cuya representación analítica corresponde a la conocida curva de nivel en sangre de un medicamento administrado por vía oral. La forma de la curva depende de los valores de k_a y k_d (constantes de absorción y desaparición) y por ello determina que el nivel de sangre del medicamento resulte más o menos por encima de la concentración mínima efectiva. Gran parte de la investigación fisicoquímica farmacéutica viene orientada hacia la conveniente modificación de k_a y k_d (por ejemplo complejación de medica-

mentos, modificaciones estructurales etc.) con el fundamental objetivo de que los niveles en sangre regidos por la ecuación de Dost, resulten adecuados desde el punto de vista terapéutico.

La incidencia de $k_{d(B)}$ sobre parámetros farmacocinéticos es especialmente evidente en la absorción gastrointestinal, así como en la difusión del medicamento de la sangre a los tejidos, pues estos compartimentos se suponen separados por barrera lipídica. En algunas ocasiones el alto valor de $k_{d(B)}$ de un medicamento es un parámetro que de forma decisiva determinará el tejido en el que se fija, como es el caso, por ejemplo, de muchos psicofármacos (31) (32).

Con independencia de las razones que, análogamente, se puedan aludir acerca de la importancia farmacocinética de las constantes de disociación de medicamentos, también en el presente trabajo se establece una evaluación de las mismas para el cálculo de una serie de constantes que se realizan en varios capítulos. Estas son las constantes de extracción amina-azul de bromotimol por un disolvente orgánico, pH óptimo para el cual la extracción del par iónico es máxima y el grado de extracción de cada amina como par iónico. Todas estas determinaciones requieren el conocimiento de las constantes de disociación de las aminas ensayadas y permiten el estudio cuantitativo de los complejos amina-azul de bromotimol, facilitando al mismo tiempo caracterizarlos y conocer sus propiedades. Además, conocidas las constantes de disociación de aminas, se conoce su comportamiento en medio acuoso a un determinado pH y, consecuentemente, se pueden formular hipótesis acerca del mecanismo de reacción amina-azul de bromotimol en medio acuoso, es decir, acerca de la formación del complejo.

Sin embargo, a pesar del gran interés del conocimiento de las constantes de disociación de las aminas, la información existente sobre las mismas es incompleta. La mayor parte de las determinaciones fueron también realizadas hace mucho tiempo y en condiciones no del todo conocidas, estando además, para mayor dificultad, dispersadas en la bibliografía. El desconocimiento es debido también al gran número de aminas existentes, a la variedad de condiciones

en que pueden ser calculadas (como temperatura y/o fuerza iónica), a su insolubilidad en agua al alto valor de las constantes así como al solapamiento de los procesos de disociación de los protones activos dentro de la molecula.

Por todas las razones mencionadas anteriormente, además de su correspondiente búsqueda en revistas científicas, hemos consultado conocidos manuales que recopilan información de medicamentos. Así, hemos comprobado que muchas de las constantes de disociación de las sustancias estudiadas por nosotros no aparecen en la bibliografía, tales como atropamina, ligloidina, metaproterenol ó nortropina (33) (34) (35) (36). En otros se dan valores aproximados como para la escopolamina N-óxido, escopolina y tropina (37). Y en fin, en otras se dan los valores en condiciones de temperatura y/o fuerza iónica no convenientes a nuestros cálculos.

Todas estas razones nos han llevado a abordar el cálculo de las constantes de disociación ácida de las aminas farmaceuticas ensayadas.

2. ANTECEDENTES

2.1. Antecedentes bibliográficos de los pares iónicos de interés farmacéutico.

En el capítulo de introducción de esta memoria se ha hecho alusión a los objetivos planteados a lo largo de la misma, así como a los aspectos técnicos y de aplicación en que se fundamentan. Cada uno de los referidos aspectos posee numerosos antecedentes bibliográficos, de los que aquí pretendemos hacer un resumen con alusión particular a las investigaciones más significativas y de las que disponemos de separatas adecuadas. No ignoramos que existen otras muchas más referencias pero hemos preferido omitirlas por no hacer excesivamente amplio este capítulo y llevarlo fuera de los límites que le corresponden. Seguidamente se ha hecho una descripción de los temas abordados agrupando por materias y con una aclaración cronológica.

En 1961 Divatia y Biles (10) aislaron diferentes sales de amina-tropeolina 00 con determinación de las constantes de distribución entre varios disolventes; observaron que referidas constantes están determinadas por el peso molecular de la amina y por la constante dieléctrica de la fase orgánica. Demostraron, por otra parte, a partir del estudio de los equilibrios por determinaciones espectrofotométricas que las sales existen como pares ión-ión en la fase no polar. Las observaciones cuantitativas de los valores de la constante de extracción revelaron una relación directa entre el logaritmo de esta constante y el peso molecular de la amina. Las constantes de extracción aparentes indicaron

la complejidad que debe poseer una amina de interés farmacéutico para poderse valorar colorimétricamente por extracción como par iónico con un adecuado disolvente inmisible. Estos autores determinaron también la auténtica constante de extracción para las sales de tropeolina.

Con anterioridad habíaisido descritos métodos colorimétricos de análisis para determinados compuestos orgánicos de carácter iónico mediante la formación de sales con colorantes adecuados (38) (39) (40) (41). Mukerjee (42) observó los factores que influyen sobre la máxima formación de la sal de colorante, así como su extracción por la fase orgánica.

Patel y Miller establecieron que la máxima formación de sal ocurre cuando el sistema se mantiene dos unidades por encima y por debajo respectivamente de los pK de la sustancia orgánica y del colorante usado. Helgreen y Col. (39) emplearon el método de Mukerjee para la determinación analítica del metil-sulfato de hexocyclio.

Schill y Marsh (2) describieron en 1963 un método para la determinación de aminas y compuestos de amonio cuaternario por formación de complejos de asociación iónica (pares iónicos) con el azul de bromotimol. Los complejos se extraen desde una fase acuosa con cloruro de metileno y se determinan espectrofotométricamente en la fase orgánica después de la adición de hidróxido de tetrabutilamonio. El método fue comprobado para la determinación de cuarenta alcaloides y compuestos de amonio cuaternario de diferentes estructura y de interés farmacéutico.

Las sustancias utilizadas como reactivos para la formación de pares iónicos con compuestos de interés farmacéutico son protolitos con una fuerte absorción de radiación visible; compuestos mitroderivados tales como el ácido pícrico y la dipicrílamina; sulfoftaleínas tales como el azul de bromotimol, púrpura de bromocresol, verde de bromocresol, y azul de bromofenol; compuestos azo con carácter anfolítico, tales como la tropeolina OO y el naranja de metilo.

Ballard y col. (27) han efectuado una revisión en este campo hasta 1954. Axelrod (43) ha resumido las aplicaciones que se han hecho de estos métodos sobre muestras biológicas. Higuchi y

Bodin (44) han hecho extensivo este estudio bibliográfico a productos farmacéuticos.

La aplicabilidad de tales reactivos está determinada por sus constantes de disociación ácida y por sus coeficientes de reparto, así como por la estabilidad y coeficiente de reparto de los complejos formados. Así resulta que los métodos que emplean ácido pícrico son aplicables a las aminas de elevado peso molecular (45), al tanto que la dipicrilamina se puede emplear solamente para compuestos de amonio cuaternario. Las sulfotaleínas y los compuestos azo (46) se pueden utilizar tanto con aminas como con compuestos de amonio cuaternario. Horioka (47) ha observado que la presencia de varios grupos hidroxílicos en la amina disminuyen la solubilidad de los complejos con las sulfotaleínas por lo que los aminofenoles, los aminos Alcoholes y las aminas alifáticas de bajo peso molecular no se pueden determinar con el azul de bromotimol y el verde de bromocresol. Ballard (27) ha observado que determinados compuestos monovalentes y divalentes de amonio cuaternario de bajo peso molecular no se pueden determinar con azul de bromotimol. La morfina, compuesto de carácter aminoalcohólico y ciertas aminas clorosustituídas no se pueden determinar con naranja de metilo (48), ni con púrpura de bromocresol (49). Los compuestos originados se encuentran en la relación molar 1:1 en la mayoría de los casos. Mukerjee (38) aisló dos productos diferentes a partir de la reacción entre la amina y el azul de bromotimol; en disoluciones ácidas se forman compuestos de monoamónio y en disoluciones básicas de diamónio. Se han descrito compuestos que resultan de la reacción entre dos moles de tropeolina y un mol de amina, así como de un mol de tropeolina y dos moles de amina (50).

Como fase orgánica se han empleado hidrocarburos halogenados del tipo cloroformo, cloruro de metileno y dicloroetano, así como benceno.

Se ha encontrado que la presencia de determinadas sustancias en la fase acuosa producen interferencias, tal es el caso de los iones Na^+ y K^+ en las determinaciones con dipicrilamina (46). El método del azul de bromotimol puede ser interferido por la presencia de sustancias anión-activas y proteínas que reaccionan con los compuestos de amonio cuaternario; así como por sustancias catión-activas, albúminas y polivinil pirrolidona que reac-

cionan con el colorante (27). Los polietilénicos dan complejos solubles en cloroformo con el azul de bromotimol (51). Los iones cloruro y stalato forman complejos con los derivados de las fenotiazinas disminuyendo su extractibilidad (52).

Lee y Byles (11) han realizado un estudio físicoquímico de las sales de algunas aminas entre disolventes inmiscibles. Los colorantes empleados son del tipo ácido sulfónico, como naranja de metilo, tropeolina C y tropeolina 00, así como azobenceno sulfonato sódico. Estos autores determinan la estequiometría y la constante de estabilidad en cada caso, encontrando que la fuerza ácida del agente complejante y las fuerzas de van der Waals de atracción son de consideración en los estudios de reparto. Higuchi ha sugerido que la complejación de la sal con el disolvente es un factor más importante que el relativo a la constante dieléctrica del disolvente.

Schill en un amplio trabajo (13) investiga la extracción de los compuestos formados entre el azul de bromotimol y cincuenta y una aminas y bases de amonio cuaternario con especificación de las constantes de extracción de sus complejos de asociación iónica. Discute las influencias de las constantes de extracción, concentración de azul de bromotimol, pH, coeficientes de reparto y constantes de disociación de las aminas sobre el reparto del complejo (par iónico). Ha establecido también un método matemático que permite el cálculo del grado de extracción de diferentes clases de aminas e iones de amonio cuaternario y ha especificado las condiciones para la determinación por el método del azul de bromotimol; demostrando que las constantes de extracción se incrementan al aumentar el número de átomos de carbono en el complejo. Observa así mismo, que el cociente entre el logaritmo de la constante de extracción y coeficiente de reparto de las distintas aminas ensayadas es constante. Por último en éste trabajo se concluye que no se pueden determinar aminas con bajo carácter hidrofóbico, ni tampoco altamente hidrofóbicas, con bajos valores de pK, por el método del azul de bromotimol.

Los pares iónicos pueden formarse también a expensas de reactivos tipo aniones inorgánicos. Así, Schill y col. (14) observan que la codeína, lidocaína, promazina y estriocina forman pares iónicos con los iones Cl^- , Br^- , I^- , ClO_4^- , NO_3^- y sulfo-

cianuro SCN^- considerando las condiciones de extracción y las respectivas constantes advierten que hay lugar a procesos de polimerización en la fase orgánica y de asociación en la fase acuosa. Aplican la cromatografía de partición a tal clase de complejos.

De hecho la formación de sales de los referidos aniones se había empleado con anterioridad en la extracción de aminas; tal es el caso de la atropina en forma de cloruro (53), el cetilpiridinio y otros cationes de cadena larga como ioduros(54), la estrienina como cloruro (55) y la codeína como nitrato (56). En algunos casos se ha empleado el proceso inverso como la extracción de ácido nítrico con tri-laurilamina (57), de sulfato con aminas de cadena larga (58) y ClO_4^- , NO_3^- y Cl^- y otros aniones con el ión tetraetilamonio (59).

Persson y Schill (15) extraen monoaminas y diaminas como complejos con aniones inorgánicos del tipo Cl^- , Br^- , I^- , NO_3^- , ClO_4^- , SCN^- y $\text{SO}_4^{=}$ mediante el reparto entre cloroformo y fase acuosa. Estudian las constantes de extracción, disociación y polimerización del complejo y el coeficiente de reparto de las aminas estableciendo las condiciones que permiten el cálculo de las constantes. Hacen breves consideraciones sobre la relación entre la extracción y la constitución del complejo, así como el efecto de la disociación y polimerización en el empleo analítico de los complejos.

Gustavii (60) determina aminas e iones de amonio cuaternario como complejos con ácido pícrico. En una primera comunicación describe las constantes de extracción de los complejos de picrato de series homólogas de aminas alifáticas primarias, secundarias, terciarias, y bases de amonio cuaternario, así como los coeficientes de partición de las mismas aminas, las constantes de extracción de los complejos entre el tetrabutilamonio e iones inorgánicos y las constantes de asociación de los complejos en la fase orgánica. Las constantes de extracción aumentan al incrementar el número de grupos metileno en el catión. En los complejos entre el ácido pícrico y las aminas aumentan las constantes de extrac

ción al incrementar el grado de sustitución del nitrógeno, al tanto que los coeficientes de partición de las mismas aminas disminuyen. El estudio comparativo entre cloruro de metileno, cloroformo, tetracloruro de carbono, y benceno como fase orgánica demuestra que las constantes de extracción disminuyen al incrementar la constante dieléctrica del disolvente, al tanto que se incrementa la tendencia a la asociación de los complejos.

Higuchi y col. (18) se ocupan ampliamente del papel de los agentes dipolares en la extracción de pares iónicos de aminas de interés farmacéutico. Estudian los cambios de entalpía, energía libre y entropía asociados a la transferencia de la forma catiónica del dextrometorfan desde una fase acuosa a otra orgánica; la amina en forma catiónica constituye con aniones orgánicos e inorgánicos diferentes pares iónicos, cuyo comportamiento compara con los solutos neutros.

Gupta y col. (3) emplean un método preciso, y simple basado en la formación de una sal de tiamina con el azul de bromotimol, sin que se presenten interferencias debidas a la presencia de vitaminas, hormonas ni excipientes. Consideran en esta primera comunicación que la naturaleza de la sal obedece a una simple reacción ácido-base cuya estequiometría analizan al mismo tiempo. En una segunda comunicación (12) este autor establece la ecuación que expresa la dependencia de la sal tiamina-colorante con el pH y con la concentración de colorante y logra demostrar su validez al comparar los datos teóricos con los experimentales. En las condiciones establecidas por ellos demuestran que la extracción de la sal es óptima en el rango de pH 5,2-6,6.

Modin y Schill (16) se ocupan de los pares iónicos de los aniones de los ácidos sulfónicos y fenoles con iones de amonio cuaternario. Entre las primeras sustancias consideran los ácidos p-toluensulfónico, β -naftalensulfónico, trinitrobencensulfónico, naranja de metilo, naftolamarillo, azul de bromotimol, dinitro α -naftol, ácido pícrico y dipicrilamina. De todas las sustancias estudian las constantes de disociación ácida, de reparto, dimerización del anión y formación del par iónico en la fase acuosa, así como la asociación

de los pares iónicos en la fase orgánica. Expresan los coeficientes de extinción molar y demuestran que los pares iónicos del azul de bromotimol, azobenceno y trinitrobenceno se pueden determinar a concentraciones inferiores de $10^{-5}M$. Calculan los adecuados márgenes de pH y las concentraciones recomendables para los correspondientes aniones en cada caso particular de sustancia catiónica. Los iones de amonio - cuaternario y las aminas alifáticas en la forma protonada pueden suministrar complejos de asociación iónica ó pares iónicos tanto con aniones orgánicos como inorgánicos que son extraídos con disolventes orgánicos del tipo de hidrocarburos halogenados y alcoholes de alto peso molecular.

Borg y Schill (61) determinan cuantitativamente iones de amonio cuaternario con barbituratos disustituídos, el amobarbital, hexobarbital, y fenobarbital, los cuales forman complejos con iones simétricos de alquilamonio. Determinan las primeras y segundas constantes de disociación y los coeficientes de reparto de los barbituratos y las constantes de extracción de los pares iónicos empleando cloroformo como fase orgánica. En el mismo trabajo emplearon también como catión protriptilina cuaternaria, cuyo par iónico determinan fluorimétricamente con una sensibilidad mil veces superior que por espectrofotometría.

Michaelis y Higuchi en una serie de comunicaciones (18) (62) (19) estudian pares iónicos de aminas de interés farmacéutico con consideración de la influencia del anión sobre los cambios de energía libre, entalpía y entropía en la transferencia de fases. En un primer apartado consideran la influencia de la temperatura sobre el reparto de diversas aminas complejadas por formación de pares iónicos con varios aniones entre fases acuosas y orgánicas. El proceso, por ejemplo, del desplazamiento de los haluros de dextrometorfano desde el agua al cloroformo implica un incremento en la ordenación.

Como consecuencia de las numerosas investigaciones realizadas en este campo por Schill y col. (63) establecen un método para el control de grado de purificación de los reactivos basado en la determinación del grado de extracción y constante de extracción aparente en la repetida asociación con adecuados contraiones.

Modin y col. (17) estudian el reparto de los pares iónicos formados por los ácidos carboxílicos y el fenol con base de amonio cuaternario. Determinan las constantes de extracción para los pares iónicos formados entre iones de alquilamonio cuaternario simétricos y ácido acético, fenilacético, benzoico, salicílico, 3-hidroxibenzoico, trinitrobenzoico y fenol. Las constantes las establecen teniendo en cuenta la disociación de los ácidos y las reacciones laterales en la fase orgánica, tales como dimerización de los ácidos, dimerización y disociación de los pares iónicos, así como formación de aductos. Discuten la relación entre las constantes de extracción de los pares iónicos y la estructura del anión y da ejemplos de la influencia de las estructuras aromática y alifática, así como de la facilidad de los sustituyentes para afectar la solvatación del par iónico. También discuten la relación entre las constantes de extracción y los coeficientes de reparto de los ácidos. Ya se había indicado anteriormente que Higuchi y col (18) estudiaban la influencia de agentes de solvatación en la extracción del dextrometorfan. Person (64) ha demostrado la solvatación de pares iónicos entre aminas e iones inorgánicos por parte de alcoholes de elevado peso molecular. Observaciones semejantes se habían hecho por Gustavii (60) en sus estudios de la asociación entre aminas y picratos amónicos en cloruro de metileno.

Michaelis y Higuchi (19) estudian la influencia de la temperatura en el coeficiente de reparto de varias sustancias farmacéuticas, iones de amonio cuaternario, que forman pares con diversos aniones como continuación de estudios anteriores ya consignados (18) En una primera fase observan el efecto de la concentración del agente solvatante en la fase orgánica sobre el equilibrio, a través de la observación de las magnitudes termodinámicas correspondientes a diversos pares iónicos. En una segunda fase observan la influencia de la naturaleza del anión y, finalmente, investigan el comportamiento en cuanto a la extracción de los sistemas de pares iónicos con respecto a los datos obtenidos con sustancias orgánicas neutras bajo las mismas condiciones.

Borg (65) determina diversos aniones por extracción del par iónico formado por un catión fluorescente (el ión amónico de dimetilprotriptilina) que permite la determinación en el rango de los nanogramos. Operando a bajas concentraciones observa los efectos de la disociación de los pares iónicos en la fase orgánica, la extracción de los pares iónicos que contienen PO_4H^- , OH^- , Na^+ ; así como determinan cuantitativamente los efectos de solvatación de los alcoholes. También observan la formación de una tercera fase en la extracción del par iónico perclorato-dimetilprotriptilina.

Westerlund y Borg (20) realizan una determinación fluorimétrica del antraceno-2-sulfonato en forma de par iónico. Las constantes de extracción han sido determinadas con iones orgánicos en forma de bases de amonio empleando cloruro de metileno, cloroformo, y 1-pentanol como fase orgánica. También han observado la extracción cuantitativa y la determinación fluorimétrica de amitriptilina con antraceno-2-sulfonato en forma de par iónico. En un trabajo posterior Westerlund (66) realiza pruebas en blanco con el 9,10-dimetoxiantraceno-2-sulfonato para establecer el reparto de esta sustancia, empleando como fase orgánica cloruro de metileno con 1-pentanol con adición a la fase acuosa de sustancias tales como ácido ClH , NO_3H , y ClO_4H . La relación entre el coeficiente de reparto y la concentración de 1-pentanol en la fase orgánica indica que el derivado del antraceno se solvata mediante 2 ó 3 moléculas de 1-pentanol.

Persson (67) realiza una investigación paralela con protriptilina en el rango 10^{-7} - 10^{-8}M . Determina las constantes de extracción y disociación para pares iónicos con aniones Cl^- , ClO_4^- y PO_4H^- ; como fase orgánica emplea cloroformo y 1,2-diclorooctano con adición de 1-pentanol.

Además del azul de bromotimol tan ampliamente utilizado en la determinación de aminas por formación de pares iónicos, se han empleado otros colorantes tales como el naranja de metilo. Así Nyberg (68) describe métodos para la determinación selectiva de iones de amonio cuaternario con dife-

rente grado de sustitución. Las bases de amonio cuaternario se aislan por extracción a pH 12 y las aminas se extraen como pares iónicos a pH 4,6. También realiza determinaciones selectivas de aminas primarias, secundarias y terciarias.

Modin (29) discute los métodos para la determinación de constantes de extracción de pares iónicos desde un punto de vista teórico sobre la base de diagramas que ilustran los equilibrios para pares iónicos 1:1, 1:2.

Watson y col (69) emplean púrpura de bromocresol para la obtención de un par iónico con trifluperazina, cuyo reparto establece entre un medio acuoso a pH 6 y benceno con alcohol isoamílico.

Persson (70) realiza una discusión sobre las investigaciones efectuadas previamente en la escuela de Schill que ya han sido reseñada, por nosotros.

Matsui y French (71) realizan el análisis de ciertas mezclas binarias de aminas farmacéuticas sin separación previa empleando benceno con pequeñas cantidades de alcohol isoamílico para extraer selectivamente el par iónico formado entre la amina y un colorante. La amina menos polar de la mezcla binaria se determina con púrpura de bromocresol y la cantidad total de amina (polar y no polar) con azul de bromotimol. El método posee algunas limitaciones en cuanto a su exactitud para mezclas binarias que contengan gran cantidad de la amina menos polar, pero resulta aplicable en la determinación de mezclas comerciales.

Borg (72) hace extensivas las investigaciones de los colaborados de Schill a las determinaciones analíticas en muestras biológicas, especialmente en lo que se refiere a determinaciones fluorimétricas de pares iónicos de un catión amónico y anión fluorescente.

Bäck y Modin (26) extraen los iones colina, trimetilamonio, Na^+ , K^+ , Li^+ , al formar pares iónicos con el ión picrato en disolventes orgánicos polares; observan el efecto de la polaridad del disolvente sobre las constantes de

extracción y disociación y discuten las relaciones existentes entre las magnitudes de referidas constantes en la naturaleza del disolvente orgánico.

Gupta (21) determina la estequiometría y las constantes de estabilidad absoluta de algunas aminas y azul de bromotimol insistiendo en la naturaleza tipo complejo de los compuestos formados, poniendo especial énfasis en este aspecto para diferenciarlos de los compuestos salinos.

Werterlund y col. (73) emplean un anión fuertemente fluorescente, descrito anteriormente, el ácido antraceno-2-sulfonato para la formación de pares iónicos con aminas mono y divalentes. La extracción la efectúan en un rango de bajas concentraciones en cloruro de metileno como fase orgánica. Los resultados permiten determinar las constantes de extracción y disociación de los pares iónicos del antraceno-2-sulfonato.

Garret y Tsau (74) siguen una metodología análoga para la determinación de biguanidinas en agua y orina por extracción con azul de bromotimol, formando un par iónico extraíble en cloruro de metileno. Observan asimismo los efectos de ciertas sustancias tales como nicotina en individuos fumadores.

Shenoy y Gupta (75) investigan fenilefrina y fenilpropranolamina en mezclas mediante la técnica del colorante ácido en un margen de pH 5,8-6,4.

Gupta y German (76) describen las condiciones protónicas adecuadas para la extracción de complejos amina-azul de bromotimol con cloroformo para un conjunto de ocho sustancias.

Okamura (4) emplea asimismo la técnica de partición para estimar cuantitativamente algunos compuesto de amonio cuaternario de interés farmacéutico. Los colorantes empleados por ellos son el naranja de metilo y el azul de bromotimol entre otros.

Elmasri y Khalil (77) establecen una microdeterminación en mezclas, sin separación previa, de hiosciamina

y escopolamina empleando púrpura de bromocresol para la determinación de hiosciamina a pH 6,6 y azul de bromotimol a pH 5,6 para la valoración de alcaloides totales. El método resulta aplicable al estudio de la tintura de belladona. En un trabajo posterior (78) los mismos autores determinan el contenido de hiosciamina de cuatro mezclas con observación de los efectos del pH del medio original.

Girgis y col. (79) determinan etambutol, sustancia empleada en el tratamiento de la tuberculosis, utilizando azul de bromotimol como agente formador del complejo utilizando cloroformo, cloruro de metileno y dicloroetileno como disolventes extractores.

Tilli (80) determina experimentalmente las constantes de reparto y de extracción de aminas antidepressivas tricíclicas empleando como contraión el ión fosfato diácido y como fases orgánicas 1-pentanol-ciclohexano.

Modin (81) observa los efectos de diversos agentes hidrófobos que originan aductos en la fase orgánica y demuestra que la selectividad de extracción disminuye al incrementar el contenido del agente complejante en el aducto; observa asimismo la influencia del carácter del enlace por puente de hidrógeno del contraión y el disolvente orgánico.

Cho y Schnabel (82) determinan la energía libre de la transferencia de pares iónicos desde el agua al cloroformo en el proceso de extracción. Ebert (83) determina clorhidrato de meclizina mediante naranja de metilo a pH 2,8 y posterior extracción con cloroformo. El par iónico formado es de estequiometría 1:1 y obedece la ley de Beer para un margen amplio de concentraciones.

Chang y Papendick (5) analizan una amina con núcleo benzopiránico con azul de bromotimol a pH 8,5 y consiguen la extracción con cloroformo.

Mayer (84) realiza un amplio estudio de los efectos del disolvente sobre los equilibrios de formación de pares iónicos; establece modelos puramente electrostáticos que pueden ser aplicados sólo en el caso de iones de coordinación tales como tetraalquilamonio ó tetraalquilboro ó que muestran propiedades dador ó aceptor débiles como los iones perclorato.

Lowri (85) ensaya cuantitativamente cloruro de benzoalconio, cloruro de bencetonio y gluconato de clorhexidina con azul de bromotimol a pH 7,50 en presencia de epinefrina, fenilefrina y pilocarpina en medio acuoso. Los anteriores conservantes de colirios pudieron analizarse sin interferencia de los

Dubost y col. (22) emplean ácido pícrico para extraer una serie de aminas de actividad β adrenolítica utilizando como disolventes extractores cloroformo y benceno. En estos disolventes los pares iónicos se disocian parcialmente; los autores determinan las constantes de extracción y disociación estableciendo relaciones entre las mismas.

Puttemans y col. (23) utilizan tri-n-octilamina para la extracción de colorantes ácidos solubles en fase acuosa y formación del par iónico soluble en cloroformo o n-octano. La recuperación del colorante a la fase acuosa es posible con iones perclorato. Los colorantes ácidos pueden ser valorados por este procedimiento.

Mohammed y Cantwell (24) realizan medidas continuas de la absorbancia en fase orgánica de pares iónicos en los que intervienen iones picrato o azul de metileno. Describen cuantitativamente las curvas de titulación en dos fases y discuten sus resultados con ecuaciones teóricas.

2.2. Pares iónicos.

El concepto de par iónico surgió de la comparación de las medidas de conductividad de los electrolitos en diferentes medios.

Se denominan electrolitos fuertes aquellas sustancias formadas por iones ó moléculas no neutras que en medio acuoso están completamente disociados en iones libres conduciendo la corriente eléctrica por este motivo.

Krauss y Fouss (86) estudian la conductividad de un electrolito fuerte, el cloruro sódico disuelto en amoníaco líquido, comprobando que la conductividad de estas disoluciones es inferior a la esperada. De esta experiencia se dedujo que en amoníaco líquido una sola fracción de sal está disociada en iones libres; en consecuencia, el cloruro sódico se comporta como un electrolito débil cuando está disuelto en este líquido.

Bjerrum (1), al introducir el concepto de par iónico en 1.926, supuso que, en amoníaco líquido y otros disolventes no acuosos, los iones de distinto signo están asociados en pares iónicos neutros que no contribuyen a la conductividad eléctrica.

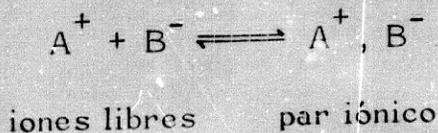
La teoría de Bjerrum aborda también la diferencia entre pares iónicos e iones libres en la disolución; así, si se supone que la unión de los iones en el par iónico es debida sólo a la atracción electrostática, aplicando el factor de Boltzmann la función de distribución radial $f(r)$ (que da la concentración de ión contrario que rodea a uno de referencia) tiene un mínimo. En consecuencia, esta teoría concluye que dos iones separados por una distancia mayor que la distancia crítica (dada por el mínimo de la función de distribución) están libres y contribuyen a la conductividad eléctrica de la disolución. Mientras que los iones separados por una distancia menor que la crítica forman pares iónicos que no conducen la electricidad.

La aproximación de Bjerrum fue confirmada sucesivamente en numerosos experimentos por otros investigadores. Sin embargo, a pesar de su elegancia y originalidad, no es del todo satisfactoria, puesto que no hay razón a priori para asociar el mínimo de la función de distribución con la distancia crítica que diferencia iones libres de pares de iones.

Además, el concepto de una distancia crítica priva al par iónico de un estado molecular, el cual ha quedado demostrado en sucesivos trabajos (87) (88) (89) (90) (91) en los que se observan que los pares iónicos son especies químicas caracterizadas por propiedades químicas y físicas específicas que les distinguen de los iones libres. En estos trabajos se establece un equilibrio entre iones libres y pares de iones en disolución que han sido tratados por métodos convencionales termodinámicos, en vez de por técnicas basadas en las funciones de distribución.

La principal energía de unión de los pares iónicos procede de la interacción coulombiana, aunque también otras fuerzas pueden contribuir sustancialmente a la estabilidad de los mismos. La contribución de las fuerzas de dispersión que une los iones fueron puestas de manifiesto por Grunwald (92) Posteriormente Noyes (93) presentó un tratamiento que explica la contribución de dichas fuerzas en la energía libre de hidratación de iones inorgánicos. Por último, la destrucción de la estructura del disolvente causada por la presencia de iones libres también puede contribuir a la estabilización de los pares iónicos (94). Probablemente un efecto de este tipo sea la explicación de la mayor asociación de iones en agua deuterada que en agua normal (95).

De acuerdo con los planteamientos anteriormente expuestos los pares iónicos son entidades termodinámicamente distintas que coexisten en equilibrio con los iones libres



El enlace químico de los dos fragmentos A y B será polar, si la polaridad de los dos fragmentos es alta; en cambio, será covalente si es baja.

En principio las moléculas gaseosas existen enteramente en una u otra forma, covalente o iónica, y no se observan casi nunca ambas formas a la vez en cualquier sistema. Un ejemplo de este hecho es del cloruro de hidrógeno gaseoso, ClH, que sus átomos se consideran unidos exclusivamente por enlace covalente, puesto que la diferencia de energía entre las formas covalente e iónica es grande, la proporción de H^+, Cl^- sería demasiado baja para permitir su observación a cualquier temperatura razonable, y por lo tanto su presencia sería fugaz, ya que la energía de la forma iónica es mucho más alta.

En disolución, es posible en cambio la existencia del par iónico A^+, B^- puesto que está estabilizado por la solvatación, siendo su energía generalmente más baja que la de la forma covalente AB.

En muchos disolventes polares la reacción $A^+ + B^- \rightleftharpoons A^+, B^-$ es exotérmica y ocurre con la disminución de la entropía del sistema, dado que las moléculas del disolvente llegan a inmovilizarse alrededor del par iónico (96).

Un fenómeno similar a este sucede en la condensación de las uniones covalentes del N_2O_5 , que da lugar a cristales iónicos NO_2^+, NO_3^- (97) en los que la forma iónica de la fase sólida es estabilizada por la energía reticular.

Fuoss (98) y Winstein (99) en 1.954 sugieren que los pares iónicos pueden ser débiles o rígidos, según que los iones estén separados por una o más capas de solvatación de disolvente o que esta última no se presente entre los iones.

Según estos autores la asociación de los iones se produce en dos etapas. Una primera en que ambos se aproximan cada uno con su capa de solvatación hasta que entran en contacto. Después, si tanto uno como otro mantiene su estructura de disolvente separado, se tiene el par iónico débil, y si la capa de solvatación es desplazada por el acercamiento de los iones se forma el par iónico rígido.

Este modelo implica que la posibilidad de aparición de pares iónicos débiles solo es posible cuando al menos uno de los iones en su estado libre es solvatado. En cambio, cuando ambos iones libres no están solvatados (son desnudos) los procesos de asociación producen solamente pares iónicos rígidos.

De acuerdo con Szwarc (96) el concepto de pares iónicos como muchos otros conceptos de Química está justificado y es aplicable solamente dentro de un rango de temperatura y concentración.

La mayor contribución a la energía de enlace de un par iónico proviene de fuerzas coulombianas, de donde el concepto de par iónico sólo es válido a temperaturas más bajas que $z_1 \cdot z_2 \cdot e^2 / a \cdot D \cdot k$, siendo z_1 y z_2 las cargas de los iones que forman el par iónico, e la carga del electrón, a la distancia interiónica, D la constante dieléctrica del medio, y k la constante de Boltzmann. La razón de este hecho se explica al igual que ocurre con otros conceptos de Química. Así, el concepto de molécula es solamente válido a temperaturas para las que el término $k \cdot T$ es más pequeño que su energía de enlace. A temperaturas más bajas la vida de las moléculas se hace comparable al tiempo que se invierte en las colisiones moleculares y, en estas condiciones, se pierde el concepto de molécula.

Así, al aplicar la anterior ecuación que limita el concepto de par iónico con la temperatura, a iones volátiles separados a una distancia de 10 \AA inmersos en un medio de constante dieléctrica 80, los pares iónicos pierden su significado a 200°K . Por consiguiente a esta temperatura, empieza a no tener significado discutir este sistema en términos de pares iónicos, porque tales especies no son distintas termodinámicamente que los iones libres.

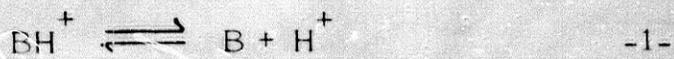
Análogamente tampoco es aplicable el concepto de pares iónicos cuando las concentraciones de los iones son demasiado altas. Así por ejemplo, sería imposible distinguir entre iones libres y pares iónicos en cloruro sódico fundido; aunque cada ión sodio está rodeado de iones cloro y viceversa, no es aplicable considerar que cada ión está asociado con su pareja formando un par permanente. Tal sistema es mejor descrito por una función de distribución adecuada y no por equilibrio entre iones libres y pares de iones.

METODOLOGIA

3.1. Constantes de disociación ácida de aminas

3.1.1. Aminas monoácidas.

Si se representan las aminas en su forma protonada por BH^+ , el proceso de disociación se puede escribir como



$$K_a^T = \frac{a_{H^+} \cdot a_B}{a_{BH^+}} \quad -2-$$

Donde K_a^T , a una temperatura dada, expresa la constante termodinámica de disociación. Esta constante es independiente de la concentración, porque todos los términos implicados corresponden a actividades.

También, como en el caso de cualquier otra clase de sustancia, se usa otro tipo de constante, la llamada constante de disociación de concentración, K_a^C , la cual es definida como

$$K_a^C = \frac{[B] \cdot [H^+]}{[BH^+]} \quad -3-$$

ó escrita de otra forma

$$pK_a^C = pH + \log \frac{[BH^+]}{[B]} \quad -4-$$

donde $[BH^+]$ y $[B]$ representan concentraciones molares estequiométricas de las correspondientes especies.

Como es sabido, la diferencia entre constantes de concentración y termodinámicas está en el uso de actividades para esta última. Estas actividades dependen de la interacción de las especies implicadas en el equilibrio, al tanto que las

concentraciones molares estequiométricas no lo están. A pequeñas concentraciones la interacción disminuye hasta que, a dilución infinita, las actividades se hacen iguales a las concentraciones, y la constante de disociación llega a hacerse numéricamente igual a la termodinámica. Sin embargo la ecuación -3- puede usarse con objeto de simplificar (100) en los siguientes casos: cuando las constantes se determinan en disoluciones menos concentradas de 0,01 M y cuando hay presentes solamente iones monovalentes. También debe tenerse en cuenta que la actividad de las moléculas neutras no difieren de forma apreciable de su concentración; y que el pH es función de la actividad del ión hidrógeno, y no de la concentración de dicho ión; sin embargo, ambos términos, actividad y concentración, no difieren de forma apreciable entre pH 2 y 10.

Cuando una amina se disuelve en agua ésta se disocia según la ecuación -1-. Si a este sistema en equilibrio se le adicionan iones hidroxilo que reaccionan con los iones hidrógeno procedentes de la disociación de la base, la razón entre las especies de BH^+ y B se alteran. De esta forma, de acuerdo con la ecuación -4- es posible calcular el valor de pK_a , bajo las condiciones de neutralización parcial, porque la razón $[BH^+]/[B]$ puede conocerse teniendo en cuenta los equivalentes de álcali añadido por mol de amina (grado de neutralización). Así, cuando se ha añadido un equivalente de álcali por mol de ácido, grado de neutralización igual a la unidad, la ecuación -4- puede escribirse como $pK_a = pH$.

A veces, en la determinación de las constantes de disociación se incluyen simultáneamente, para los cálculos de dichas constantes, términos de actividad y de concentración, obteniéndose valores de constantes llamadas constantes de disociación mixtas. Serjeant (100) denota estas constantes mixtas por K_a^M , las cuales son constantes sólo para la concentración de especies ionizadas para las que fué medido el pH.

A partir de valoraciones potenciométricas podemos conocer K_a^T realizando una corrección en la concentración

de las especies ionizadas. La actividad de BH^+ está relacionada con su concentración mediante la siguiente ecuación (101):

$$a_{BH^+} = |BH^+| \cdot \gamma_{BH^+} \quad -5-$$

donde γ_{BH^+} es el coeficiente de actividad de la especie iónica BH^+ . De acuerdo con la teoría de Debye-Hückel, el coeficiente de actividad γ_i de un ión de valencia z está relacionado por la fuerza iónica con la siguiente ecuación

$$-\log \gamma_i = \frac{A \cdot z^2 \cdot \sqrt{I}}{1 + B \cdot a_i \cdot \sqrt{I}} \quad -6-$$

donde el término I es la fuerza iónica definida como

$$I = 0,5 \cdot \sum c_i \cdot z^2 \quad -7-$$

c_i es la concentración molal de un ión y z es su valencia.

En la ecuación -6- los términos A y B son constantes; dependen en todo caso de la constante dieléctrica y temperatura del disolvente. Los valores de A y B , en agua a $20^\circ C$, son $0,5070 \text{ mol}^{-1/2} \cdot l^{1/2}$ y $0,3282 \cdot 10^8 \text{ cm}^{-1} \cdot \text{mol}^{1/2} \cdot l^{1/2}$ respectivamente (100). El término a_i es un parámetro de la medida iónica, por ejemplo la distancia media de aproximación de los iones, que puede tomarse como $5 \cdot 10^{-8} \text{ cm}$ como valor medio. De acuerdo con estos valores la ecuación -6- a $20^\circ C$ se transforma en $-\log \gamma_i = 0,507 \sqrt{I} / 1 + 1,6 \sqrt{I}$. La constante de disociación termodinámica definida por la ecuación -2- se puede escribir ahora como

$$K_a^T = \frac{a_{H^+} \cdot a_B}{|BH^+|} \cdot \frac{1}{\gamma_{BH^+}} \quad -8-$$

donde γ_{BH^+} representa el coeficiente de actividad de BH^+

calculado por medio de la ecuación -6-. De aquí que a 20°C

$$pK_a^T = pH + \log \frac{|BH^+|}{|B|} = \frac{0,507 \cdot \sqrt{I}}{1 + 1,6 \sqrt{I}} \quad \text{ó} \quad -9-$$

$$pK_a^T = pK_a^M - \frac{0,507 \cdot \sqrt{I}}{1 + 1,6 \sqrt{I}} \quad -10-$$

El cálculo de pK_a^M requiere conocer las concentraciones molares de BH^+ , B , y pH después de cada adición de álcali. Las ecuaciones que nos suministran los valores de $|BH^+|$ y $|B|$ se pueden obtener fácilmente teniendo en cuenta que se debe cumplir la condición de electroneutralidad después de cada adición de álcali (100). Así, de acuerdo con el anterior principio se ha de cumplir que:

$$|A^-| + |OH^-| = |K^+| + |H^+| + |BH^+| \quad -11-$$

donde $|A^-|$ es la concentración de anión precedente de la disociación de la sal de amina (por ejemplo, si es un clorhidrato, el ión Cl^- , si es un bromhidrato, Br^- , etc.) y $|OH^-|$ la concentración de iones hidroxilo y $|K^+|$ de iones potasio (dado que se utiliza KOH). De la ecuación -11- se puede escribir

$$|BH^+| = |A^-| + |OH^-| - |K^+| - |H^+| \quad -12-$$

Como la concentración de anión es igual a la concentración total de ácido C_a y $|K^+|$ igual a la de álcali añadido, KOH, la ecuación anterior queda

$$|BH^+| = C_a - |KOH| + |OH^-| - |H^+| \quad -13-$$

Donde $|KOH|$ es la concentración de álcali añadido y $|OH^-|$ y $|H^+|$ las concentraciones de iones hidroxilo e hidrógeno respectivamente.

La concentración de B , razonando de forma análoga como se hizo para la concentración de BH^+ , resulta igual

$$|B| = |KOH| - |OH^-| \quad -14-$$

Cuando los valores de pH en la valoración potenciométrica están comprendidos entre 4 y 10, las concentraciones de OH^- y H^+ son despreciables y las ecuaciones -13- y -14- quedan simplificadas así

$$|BH^+| = C_a - |KOH| \quad -15-$$

$$|B| = |KOH| \quad -16-$$

3.1.2. Aminas diácidas y triácidas.

Las aminas simpatomiméticas ensayadas en esta Memoria son derivadas de feniletanolaminas, poseen más de un valor de pK_a , ya que tienen más de un grupo capaz de ionizarse. De las cuatro aminas simpatomiméticas ensayadas, tres son derivados monohidroxilados, bamethan, etilfenilefrina y fenilefrina; y otra es dihidroxilado, metraproterenol.

Los tres derivados monohidroxilados poseen dos protones disociables, uno correspondiente a la forma cargada de la amina (ya que se han valorado sus sales) y otro asociado a la ionización del grupo fenólico. De aquí, estas aminas se comportan como ácidos y bases, son anfóteros. La amina capta un protón en disolución acuosa que implica comportamiento básico, y el grupo fenólico puede perder un protón comportándose como un ácido.

El pK_a del grupo amino puede ser valorado con ácido partiendo de la amina básica; el segundo protón correspondiente al grupo fenólico, puede valorarse con un álcali para encontrar su pK_a . Esta forma de valoración, por la que se determinan los valores de pK independientemente, es útil realmente cuando los procesos de ionización de ambos grupos están suficientemente separados. En este caso el cálculo de los valores de pK se haría independiente para ambos, exactamente como si se tratase de un ácido o base con un solo valor de pK (100).

El procedimiento anterior, como se ha especificado, implica la valoración de amina base con un ácido para la determinación del pK básico (amina). La valoración de la amina, también como base, con un álcali conduce a la determinación del grupo ácido (fenólico).

Si en lugar de la base, se valora su correspondiente sal, la amina tiene captado un protón que puede ceder al medio y en este caso ambos protones pueden valorarse con un álcali.

El cálculo del pK de los derivados monohidroxilados se ha efectuado a partir de los datos de una valoración potenciométrica de sus sales. El derivado dihidroxilado también se valoró en forma de sal, por lo tanto posee tres protones capaces de disociarse. En consecuencia, para esta amina se han determinado tres valores de pK, que corresponden a los grupos fenólicos y a la forma cargada de la amina.

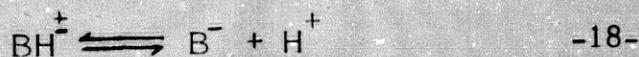
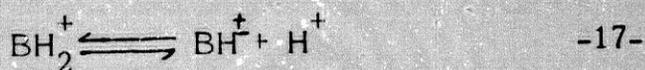
Por otra parte, tanto las aminas con dos protones disociables como las que poseen tres protones, tienen valores de pK muy próximos entre sí puesto que los procesos de ionización, como se deduce de las curvas de valoración potenciométrica, ocurren de forma solapada (102) (103) (104) (105). En la valoración de esta clase de compuestos se observa que los valores de pK son de poca precisión, siendo estos de esperar debido a que, el punto final de la valoración del primer protón no está bien definido a causa de que empieza a valorarse el segundo protón antes de que acabe la valoración del primero. De igual forma la segunda constante de disociación, en el caso del derivado dihidroxilado, tiene un valor muy próximo al de la tercera, empezándose a valorar el tercer protón antes de que se acabe la valoración del segundo.

La determinación de las constantes de disociación termodinámicas de sustancias con dos ó tres valores de pK resulta bastante complicada, sobre todo, si la razón de las sucesivas constantes de disociación es menor que 1000 (106). Asimismo, existe dificultad en la estimación de los coeficientes de actividad individuales (106) y ésta es la razón por la que la mayor parte de los datos que aparece en la bibliografía han

sido obtenidos por extrapolación a dilución infinita de constantes de disociación obtenidas en medios de fuerza iónica conocida. Este procedimiento, sin embargo, puede conducir a resultados erróneos para las sucesivas constantes de disociación a partir de la segunda (107).

En muchos casos, las constantes de disociación termodinámica debenser corregidas para la fuerza iónica y temperatura antes de ser utilizadas en los cálculos; debido a la incertidumbre de estas correcciones se ha preferido obtener una constantes de disociación aparente, bajo las condiciones exactas de nuestros cálculos. Los valores de pK_a para este grupo integrado por cuatro aminas simpatomiméticas, se han determinado a fuerza iónica 0,15 y 20°C; que son las condiciones bajo las que se realizaron las experiencias de extracción de pares iónicos de éstas con azul de bromotimol (apartado 3.6.3.3.).

Las aminas con dos valores de pK (derivados monohidroxilados) sufren dos procesos de ionización. Si representamos la sal de amina como BH_2^+ considerando las cargas, ambos procesos pueden esquematizarse de la siguiente forma



Las constantes de disociación aparente de estos procesos vienen dada por

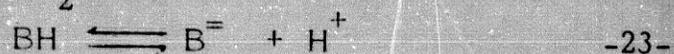
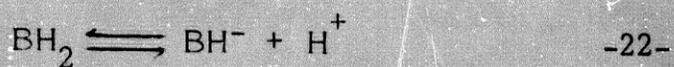
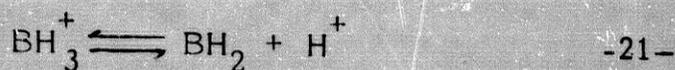
$$K_{BH_2^+} = \frac{|BH^+| \cdot |H^+|}{|BH_2^+|} \quad -19-$$

$$K_{BH^+} = \frac{|B^-| \cdot |H^+|}{|BH^+|} \quad -20-$$

donde $K_{BH_2^+}$ y K_{BH^+} representa las constantes de disociación

del grupo fenólico y del protón captado por la amina respectivamente (104) (105) (108)

Para el compuesto con tres protones disociables (derivado dihidroxilado), pueden escribirse tres procesos de disociación de la siguiente forma:



Las tres constantes de disociación que corresponden, la primera a uno de los OH fenólicos (102), y las dos restantes a los otros dos grupos (el otro OH y grupo amino)

$$K_{\text{BH}_3^+} = \frac{|\text{BH}_2| |\text{H}^+|}{|\text{BH}_3^+|} ; K_{\text{BH}_2} = \frac{|\text{BH}^-| |\text{H}^+|}{|\text{BH}_2|} ; K_{\text{BH}^-} = \frac{|\text{B}^{=}| |\text{H}^+|}{|\text{BH}^-|} \quad -24-$$

Siendo $|\text{BH}_2|$, $|\text{BH}^-|$ y $|\text{B}^{=}|$ las concentraciones de las especies que han perdido 1, 2 y 3 protones respectivamente. Se ha prescindido de hacer notar la carga de las moléculas como consecuencia de la disociación de los OH fenólicos para simplificar las notaciones.

Las constantes de disociación ácida pueden determinarse a partir de los resultados de una titulación potenciométrica y de una variable P, definida en el número medio de protones disociados (109)

$$P = \frac{\sum_{j=1}^n j (\text{H}_{n-j} \cdot \text{B}^{-j})}{C_a} \quad -25-$$

en la cual n representa el número total de protones disociables, j es el número de protones disociados y C_a es la concentración estequiométrica de ácido.

Así, para una sustancia con dos protones disociables la anterior ecuación adopta la siguiente forma

$$P = \frac{K_1 [H^+] + 2 \cdot K_1 \cdot K_2}{[H^+]^2 + K_1 [H^+] + K_1 \cdot K_2} \quad -26-$$

que se puede escribir también como sigue

$$\frac{[H^+]^2}{2 - P} = K_1 \cdot K_2 + \frac{K_1 [H^+] (1 - P)}{2 - P} \quad -27-$$

Esta última ecuación puede ser analizada por un método de regresión lineal hallándose de esta forma K_1 y K_2 (106).

Si tenemos en cuenta la definición de P , número medio de protones disociados por mol de ácido valorado, cuando se disocian 0,5 protones por mol de ácido ($P = 0,5$), la mitad de concentración de ácido habrá perdido su primer protón y la otra mitad estará sin disociar. Cuando esto ocurra el valor de pH coincide con el pK_1 del primer proceso de disociación, de acuerdo con la ecuación -24-. De forma análoga el valor de pH para $P = 1,5$ y $P = 2,5$ dan los valores de pK_2 y pK_3 respectivamente. Conforme a ello, de una representación de P frente a pH pueden obtenerse valores muy aproximados de la constante de disociación pK_1 , pK_2 y pK_3 que corresponden a los valores de pH a los cuales P toma valores de 0,5, 1,5 y 2,5 respectivamente.

3.1.3. Material empleado.

3.1.3.1. Reactivos.

Agua recién destilada, ftalato ácido de potasio, óxido rojo de mercurio Probus; ácido clorhídrico Merck; fenoltleina, -- cloruro potásico, hidróxido potásico Merck, disoluciones tampón Radiometer contrastados de pH 7,43 y $4,00 \pm 0,01$ a 20°C .

3.1.3.2. Aminas estudiadas.

Aminas monoácidas.- Clorhidrato de atropamina, clorhidrato de atropina, clorhidrato de efedrina, bromhidrato de escopolamina, bromhidrato de escopolamina N-óxido, bromhidrato de escopolina, bromhidrato de hiosciamina, bromhidrato de homatropina, clorhidrato de nortropina, bromhidrato de tigloidina y tropina base.

Aminas diácidas.- Sulfato de bamethan, clorhidrato de --- etilfenilefrina, clorhidrato de fenilefrina.

Amina triácida.- Sulfato de metaproterenol.

Todas las aminas utilizadas en los apartados anteriores se ensayaron sin purificación previa, tal y como fueron suministradas por Boehringer y fueron conservadas según sus instrucciones.

3.1.3.3 Instrumentación.

Termostato Selecta ($\pm 0,1^{\circ}\text{C}$)

Potenciómetro Radiometer pHM26 ($\pm 0,01$ unidades de pH)

Autobureta Radiometer ABU-12

Electrodo de vidrio G202C

Electrodo de calomelanos K401

3.1.4. Método operatorio.

3.1.4.1. Ajuste del potenciómetro.

Antes de efectuar las titulaciones potenciométricas se procedió al ajuste del potenciómetro mediante dos tampones Radiometer contrastados de valores de pH 4,00 y 7,43 a 20°C. Este ajuste se hizo de acuerdo con el manual de instrucciones del aparato.

3.1.4.2. Valoración de las disoluciones.

Para conocer la concentración exacta de la disolución de hidróxido potásico utilizada en la valoración de las aminas se tituló frente a su patrón, ftalato ácido de potasio (110). Para ello, se pesó la cantidad necesaria de ftalato ácido de potasio y disolvió en agua destilada para preparar una disolución $5 \cdot 10^{-2}$ M del mismo. A 20 ml de esta disolución se adicionaron volúmenes crecientes de disolución de hidróxido potásico cuya normalidad se quería conocer, desde una autobureta, y después de cada adición se midió el pH de la disolución.

La disolución de ácido clorhídrico usado en la valoración de la única amina ensayada en forma de base, tropina base, se tituló con un patrón primario, óxido rojo de mercurio, en presencia de exceso de ioduro potásico (110). La valoración se efectuó añadiendo desde una autobureta volúmenes crecientes de ácido clorhídrico a una disolución de óxido rojo de mercurio y ioduro potásico. Después de cada adición se midió el pH de la disolución resultante.

3.1.4.3. Valoración de aminas monoácidas

Las aminas investigadas se disolvieron en agua destilada libre de anhídrido carbónico, para lo cual se sometió a ebullición durante unos 30 min. Para todas ellas se preparó una disolución concentrada, generalmente $4 \cdot 10^{-2}$ M, por disolución directa de una cantidad de amina exactamente pesada. De esta disolución, se obtuvieron mediante dilución soluciones 10^{-2} M, a las que se adicionaron volúmenes variables de disolución concentrada de

cloruro potásico para obtener los valores de fuerza iónica requeridos. Una muestra exactamente medida mediante una pipeta aforada, se introdujo en una vasija termostataada a 20°C, y desde una autobureta se adicionaron volúmenes crecientes de disolución de KOH de normalidad conocida. Después de cada adición de álcali se agitó la disolución, mediante agitación magnética, midiéndose a continuación el pH de la misma con una precisión de $\pm 0,01$ unidades de pH. Durante la valoración se hizo burbujear una corriente de nitrógeno puro, libre de oxígeno, a través de la disolución.

Las aminas ensayadas mediante esta metodología fueron utilizadas en forma de sales, tales como, clorhidratos ó bromhidratos. Solamente la tropina base, fué valorada como tal, mediante disolución de ácido clorhídrico de normalidad conocida por método en todo análogo al descrito para las aminas valoradas con álcali.

3.1.4.4. Valoración de aminas diácidas y triácidas.

El procedimiento seguido para las aminas con 2 y 3 valores de pK no difiere nada del utilizado para las aminas monoácidas descrito en el apartado anterior. Por pesada de las mismas y posterior disolución se prepararon disoluciones 10^{-2} M. A continuación un volumen exacto de estas fué valorado con disolución de KOH de normalidad conocida, midiéndose el pH después de cada adición.

3.2. Reparto de aminas entre disolventes inmiscibles.

3.2.1. Proceso de reparto.

Es sabido que cuando una sustancia se incorpora a un sistema formado por dos disolventes inmiscibles y se agita adecuadamente, se llega a una situación de equilibrio en que las concentraciones totales de sustancia en ambas fases son constantes. El soluto se ha distribuido entre las fases en razón de su solubilidad en cada disolvente. Si se conoce la concentración soluto en cualquier fase, una vez alcanzado el equilibrio, se define la razón de reparto, D , (2) mediante la expresión siguiente:

$$D = \frac{C_{org}}{C_{ac}}$$

-28-

siendo C_{org} la concentración total de soluto en la fase orgánica y C_{ac} la concentración total en la fase acuosa.

La razón de reparto D , para el sistema utilizado en la presente memoria, formado por agua y cloroformo, es una constante característica de cada amina empleada como soluto, independiente de la cantidad de ella, a un pH determinado y a temperatura constante.

Todas las sustancias investigadas tienen posibilidad de captar y ceder protones en la fase acuosa, es decir que adoptan distintas formas según el pH en que se encuentran. Precisamente por este motivo D varía con el pH, dado que la solubilidad de las distintas formas que recibe la amina es diferente para cada fase. Por ello D es una constante de muy poco uso pues no especifica el reparto de una especie de la amina, sino de todas ellas en conjunto y, además, depende del pH.

Cuando se expresa la distribución de una forma de la amina entre dos disolventes inmiscibles la razón anterior se denomina coeficiente de reparto $k_{d(B)}$ definido como (14)

$$k_{d(B)} = \frac{|B|_{org}}{|B|}$$

-29-

siendo $|B|_{org}$ la concentración de una especie de la amina en la fase orgánica y $|B|$ la concentración de amina en esa misma forma en la fase acuosa, una vez alcanzado el equilibrio a temperatura constante.

El coeficiente de reparto, $k_{d(B)}$, es independiente de la cantidad de sustancia presente y del pH. Cuando se cumplen estas condiciones se dice que la amina sigue la ley de distribución o reparto. Esta ley expresada así es muy útil para fines prácticos, siendo

además, de aplicación relativamente sencilla como se verá más adelante.

La deducción con todo rigor de la ley de reparto se hace a partir de la condición de equilibrio termodinámico. En dicho equilibrio el potencial químico para el soluto es el mismo en las dos fases una vez alcanzado el equilibrio de reparto (11). En la capa orgánica el potencial químico del soluto se puede escribir de la forma:

$$\mu_{\text{org}} = \mu_{\text{org}}^{\circ} + RT \ln a_{\text{B org}} \quad -30-$$

y en la capa acuosa:

$$\mu_{\text{ac}} = \mu_{\text{ac}}^{\circ} + RT \ln a_{\text{B ac}} \quad -31-$$

donde $a_{\text{B org}}$ y $a_{\text{B ac}}$ son las actividades de la especie B en las dos capas. En el equilibrio los dos valores de potencial serán iguales, y como μ_{org}° y μ_{ac}° son constantes a una temperatura y presión definidas, se deduce que la

$$\frac{a_{\text{B org}}}{a_{\text{B ac}}} = \text{constante.} \quad -32-$$

Esta es la expresión exacta de la ley de distribución, si bien para fines prácticos se utiliza haciendo algunas aproximaciones. Si las disoluciones se comportan idealmente, las actividades de la ecuación -32- se podrán reemplazar por las fracciones molares

$$\frac{X_{\text{B org}}}{X_{\text{B ac}}} = \text{constante} \quad -33-$$

Además, si las disoluciones son diluidas la relación de las fracciones molares será casi la misma que la de las concentraciones, y a temperatura constante se puede escribir:

$$\frac{[B]_{\text{org}}}{[B]_{\text{ac}}} = \text{constante} \quad -34-$$

Esta deducción de la ley demuestra que la ecuación -29- es una aproximación basada en la hipótesis de las disoluciones diluidas y del comportamiento ideal. Otra hipótesis implicada es

que el soluto no afecta a la miscibilidad de las dos capas (111) (112).

A pesar de las limitaciones teóricas se han encontrado muchas sustancias que cumplen la ley de distribución de una forma satisfactoria; las aminas estudiadas la siguen cuando se estudia el reparto de una única especie (60) (76) (14).

En todos los casos se ha considerado que la única forma de la amina que se reparte entre las dos fases es la especie no cargada (76), dado que es la única soluble en la fase orgánica. De esta forma se ha supuesto que la proporción de las formas cargadas en el disolvente apolar es despreciable frente a la de la forma neutra.

En las determinaciones experimentales se han usado volúmenes iguales de fases acuosas tamponadas y cloroformo como fase orgánica. Ambos disolventes se consideran totalmente inmiscibles y el volumen de cada fase no se afecta al mezclarse debido a su total insolubilidad (37)

3.2.2. Material empleado.

3.2.2.1. Reactivos.

Agua destilada, cloroformo Doesder purificado por destilación, fosfato monosódico Probus, hidróxido sódico Probus, ácido clorhídrico Probus, y ácido bórico Probus.

3.2.2.2. Aminas estudiadas.

Alcaloides tropánicos:

Clorhidrato de atropamina, clorhidrato de atropina, clorhidrato de efedrina, bromhidrato de escopolamina, bromhidrato de escopolamina N-óxido, bromhidrato de escopolina, bromhidrato de hiosciamina, bromhidrato de homatropina, clorhidrato de nortropina

bromhidrato de tigloidina, tropina base, disulfato ácido de bella-donida.

Aminas simpatomiméticas: Sulfato de bamethan, clorhidrato de etilfenilefrina, fenilefrina, y efedrina; y sulfato de metaprenol.

Derivados de benzodiazepina :

Bromazepan y medazepan (en forma de bases) y clorhidrato de flurazepan

Alcaloides: Estricnina y quinina (en forma de bases) y clorhidrato de lobelina.

Todas ellas se usaron sin purificación previa tal y como nos las proporcionaron Boehringer y Roche, y fueron conservadas según sus instrucciones. Se consideraron totalmente puras.

3.2.2.3. Instrumentación

Termostato Selecta ($\pm 0,1^{\circ}\text{C}$)

Potenciómetro Radiometer pHM26 ($\pm 0,01$ unidades de pH)

Espectrofotómetro Beckman DB-GT, dotado de registro UV-V

Espectrofotómetro Beckman DU-2, modelo NCS (V-UV).

3.2.3 Método operatorio

3.2.3.1 Preparación de tampones.

El tampón comúnmente usado en todas las experiencias de reparto fue el tampón de fosfato sódico 0,05M. Este se obtuvo a partir de disoluciones de fosfato monosódico 0,1M e hidróxido sódico 0,1M mezclados en cantidad conveniente hasta el pH deseado. La zona de pH que se consigue con estas disoluciones oscila aproximadamente entre 4,5 y 12,5. En principio puede ser utilizado para este margen; sin embargo la zona de buena capacidad amortiguadora está entre pH 5,8 y 8. Por encima y debajo de estos límites su capacidad de amortiguación es muy reducida y por ello cuando se utilizó fuera de esta zona óptima se comprobó el pH de las disoluciones. Normalmente se usó en la zona de máxima capacidad amortiguadora. La fuerza iónica osciló entre 0,1 y 0,15

Cuando se requirió pH alto se utilizó tampón de borato sódico 0,05M. Este se prepara por mezcla de disoluciones de borato sódico 0,1M e hidróxido sódico 0,1M en cantidad conveniente para obtener el pH deseado. Este tampón proporciona máxima capacidad de amortiguación en la zona comprendida entre pH 8 y 10.

3.2.3.2. Obtención de los coeficientes de reparto.

3.2.3.2.1. Aminas con máximo de absorción UV.

En este grupo se incluyen las aminas monovalentes y divalentes con máximo de absorción diferenciado en la región de 230 a 300 nm que, a concentración inferior a $5 \cdot 10^{-3}$ M en disolución tampón, siguen la ley de Lambert-Beer.

En este grupo se incluyen la mayor parte de las sustancias estudiadas, incluidas las aminas simpatomiméticas. Se han estudiado una totalidad de 16 aminas: clorhidrato de atropamina, -- clorhidrato de atropina, disulfato ácido de belladonina, clorhidrato de eiedrina, bromhidrato de escopolamina, bromhidrato de escopolamina N-óxido, bromhidrato de hiosciamina, bromhidrato de homatropina, bromazepan base, clorhidrato de flurazepan, medazepan base, sulfato de bamethan, clorhidrato de etilfenilefrina, clorhidrato de fenilefrina, estricnina base, clorhidrato de lobelina, y quinina base.

Para todas estas sustancias se ha seguido un método común que permite el cálculo de C_{org} , C_{ac} , y pH y por aplicación de las ecuaciones adecuadas; para cada una se ha obtenido el valor de $k_{d(B)}$. El procedimiento seguido consiste en pesada de cantidad conveniente de sustancia y su disolución en un volumen elegido de solución tampón, con dilución posterior cuando se requirió concentración más baja de amina que la que permite la pesada directa en la balanza utilizada. La dilución se efectuó con el mismo tampón utilizado al preparar la primera disolución. La concentración idónea de amina se calcula mediante la caracterización UV de la misma y la absorbancia medida puntualmente en su máximo de absorción. Esta debe estar comprendida aproximadamente entre 0,500 y 1,00 usando como blanco la misma disolución tampón.

Estos valores son convenientes como valores de absorbancia inicial en relación a los tratamientos posteriores.

La disolución tamponada se introduce en una vasija termostatada a 20°C, mediante una pipeta aforada y, posteriormente, se añade idéntico volumen de cloroformo al interior de la vasija, convenientemente tapada para evitar la evaporación del cloroformo. Ambas fases se agitan vigorosamente, mediante dispositivo magnético, durante al menos 30min, tiempo que experimentos preliminares demostraron que era necesario para alcanzar el equilibrio.

Las dos fases se dejan reposar durante el tiempo necesario para su completa separación (que fué de 1 a 3 horas). En esta situación de equilibrio con ambas fases separadas, se midió el pH de la fase acuosa introduciendo en ella el bulbo del electrodo combinado del potenciómetro. A continuación se toma una porción de la fase acuosa sobrenadante con una jeringa y, se introduce en una cubeta de cuarzo de 1cm de espesor; se mide la absorbancia a la longitud de onda escogida utilizando como blanco solución tampón sometida a idéntico tratamiento que la de amina.

3.2.3.2.2. Aminas sin máximo de absorción UV

Se incluyen aquí las aminas que no poseen máximo diferenciado entre 230-300nm a concentración inferior a $5 \cdot 10^{-3}$ M. Las aminas ensayadas son: bromhidrato de escopolina, clorhidrato de nortropina, bromhidrato de tigloidina y tropina base.

En estas ocasiones la única forma de estudiar el reparto ha sido midiendo la concentración de amina presente en la fase orgánica. El método usualmente descrito por la bibliografía (13) consiste en la valoración con ácido perclórico en medio anhidro. Sin embargo, para realizar esta valoración hemos sugerido un procedimiento original puesto a punto por nosotros, cuyo fundamento y aplicación aparece en el apartado 3.4. Dicho método consiste en la valoración total de amina presente en la fase orgánica por reacción con azul de bromotimol que da lugar a un complejo coloreado (par iónico) que puede ser valorado cuantitativamente por espectrofotometría.

Inicialmente se procede de forma análoga a la descrita para aminas monovalentes y divalentes. Se prepara una disolución tamponada de amina, a concentración del orden de $1,6 \cdot 10^{-4}$ M; se introduce un volumen exacto de esta disolución, medido por pipeta aforada, en

vasija termostatada a $20 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ y, posteriormente, desde una bureta se añade idéntico volumen de cloroformo en la vasija, siendo después convenientemente tapada. Ambas fases se agitan durante 30 minutos y, después de reposar durante dos horas, se mide el pH de la disolución acuosa sobrenadante. Después se recoge una porción de la fase orgánica mediante una jeringa provista de una aguja de teflón. La disolución así separada se toma en una cantidad exacta con una pipeta aforada y se diluye con una solución de azul de bromotimol 10^{-3}M en cloroformo.

El par iónico formado se mide a 410 nm, longitud de onda en que presenta máxima absorción, utilizando como blanco cloroformo puro. A partir de esta medida de absorbancia se estima la concentración de amina en la fase orgánica, dado que se conoce el coeficiente de extinción del complejo y la estequiometría de la reacción (como se describirá posteriormente en referido apartado 3.4.).

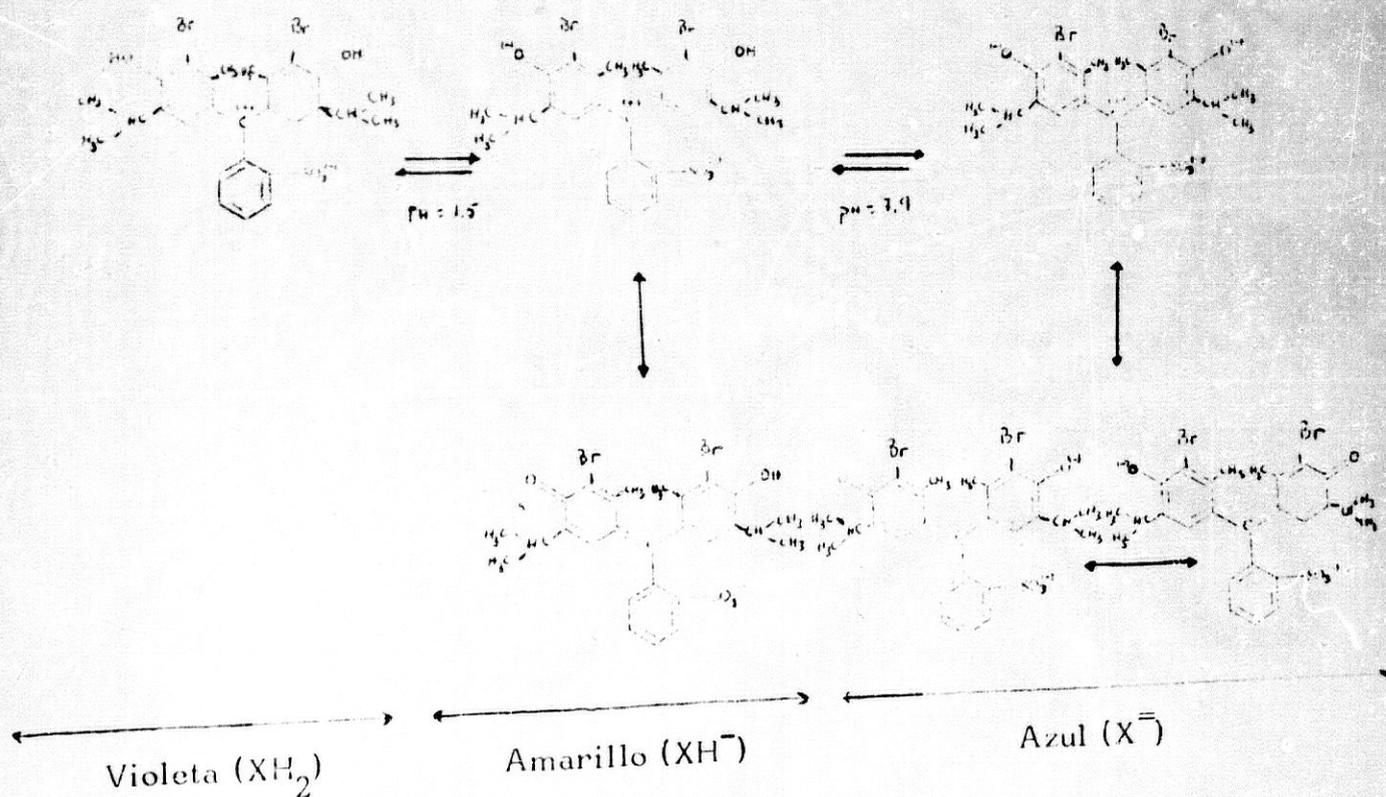
La concentración inicial de amina fue siempre del orden de $1,6 \cdot 10^{-4}\text{M}$, debido al alto valor del coeficiente de extinción del complejo, determinante de que la concentración inicial sea más baja que para las correspondientes aminas monovalentes y divalentes con máximo de absorción UV descritas en el procedimiento metodológico anterior.

3.3. Estudio del azul de bromotimol

El azul de bromotimol es un colorante ácido que pertenece al grupo de las sulfotaleínas, tiene de fórmula empírica $C_{27}H_{18}O_5Br_2S$ y su peso molecular es 624,4g/mol.

En los preparados comerciales se presenta en forma de polvo cristalino de color rosado, insoluble en agua y fácilmente soluble en alcohol y soluciones acuosas alcalinas. Soluble en éter, cloroformo y metanol. Menos soluble en benceno y xileno. Prácticamente insoluble en éter de petróleo (37).

La estructura molecular a diferentes valores de pH es la siguiente:



La forma violeta XH_2 corresponde al hidrato quinoidico que se forma en agua antes de la primera disociación. La especie XH^- es amarilla apareciendo tras la primera disociación, la cual ha sido adscrita al grupo ácido sulfónico (113). Dada la alta acidez de este grupo, esta disociación sucede a muy bajos valores de pH. El color amarillo se mantiene desde pH muy ácido hasta las proximidades de pH 6,0 en que la disolución se torna a verde debido a la aparición de la especie X^- . Por encima de pH 7 la disolución de este colorante toma color azul que se mantiene en toda la zona alcalina. Por estos motivos se considera que el intervalo de viraje oscila entre pH 6 y 7,6.

Los valores de la constante de disociación ácida han ocupado a diversos investigadores. El primer valor de pK ha sido descrito por Gupta y Schill (114) (115). El segundo valor de pK ha sido abordado por muchos investigadores en una gran variedad de condiciones, desde diferentes fuerzas iónicas, a mezclas de agua y disolventes no acuosos en diferentes proporciones (116) (117) (118) (119).

Las aplicaciones de este colorante son numerosas desde que se sintetiza por Orndorff y Cornwell a principios de este siglo (120). Así ha sido descrito en la titulación de bases débiles en soluciones acuosas de sales neutras (118). Kolthoff (121) expresa la conveniencia de usar azul de bromotimol en la titulación de p-hidroxibenzoico con un ácido monobásico. También ha sido usado en la estandarización de hidróxido bórico con ácido sulfónico (122), y en la neutralización de bases con difenilfosfato en mezcla benceno metanol (123) Kemble y Macpherson (124) lo utiliza en forma de spray en la determinación cuantitativa de aminoácidos por cromatografía en papel.

Existen también otro grupo de publicaciones en las cuales el azul de bromotimol es usado para titulaciones en dos fases de aminas o bases de amonio cuaternario que han sido descritas ya en el apartado 2.1.; y que son el punto de partida de la presente Memoria.

3.3.1. Constantes de disociación ácida

Las constantes de disociación del azul de bromotimol han sido descritas en la bibliografía (114) (115)

El azul de bromotimol es un colorante diácido cuya primera constante ha sido adscrita al grupo sulfónico presente en su molécula. La segunda constante de disociación ha sido adscrita a uno de los OH fenólicos.

La primera constante de disociación, pK_{XH_2} , de este colorante de acuerdo con Gupta (114) puede determinarse por espectrofotometría.

El fundamento está basado en el equilibrio entre el colorante no disociado XH_2 y el colorante monodisociado XH^- , el cual puede escribirse de la siguiente manera $XH_2 \rightleftharpoons XH^- + H^+$. La cesión de este primer protón sucede a valores muy bajos de pH. Puesto que las dos especies XH_2 y XH^- tienen diferentes espectros de absorción, la constante de disociación puede determinarse por espectrofotometría (125) (126) (127). Gupta (114) recomienda para esta determinación longitudes de onda de 558 y 470 nm, puesto que en estas condiciones la diferencia de absorbancia de ambas especies es máxima.

El fundamento del método aplicado por este autor consiste en la obtención de valores de absorbancia a 558 y 470 nm a una concentración determinada de colorante y diferentes valores de pH (entre -1,080 y 1,50), ya que entre estos valores límites está comprendida la primera constante de disociación.

La absorbancia correspondiente a pH teórico -1,080 corresponde a la especie no disociada del colorante y la

absorbancia a pH 1,50 corresponde tan solo a la especie monodisociada. El valor de pH al cual la absorbancia es el valor medio entre las absorbancias de XH^- y XH_2^- , son iguales las concentraciones de ambas especies. De acuerdo con la ecuación de Henderson-Hasselbach $pK_{XH_2^-} = pH + \log |XH_2^-|/|XH^-|$; si $|XH_2^-| = |XH^-|$ se cumple que $pK_{XH_2^-} = pH$.

La segunda constante de disociación del azul de bromotimol pK_{XH^-} - fué calculada por Schill (115), también por métodos espectrofotométricos dada la gran separación que tiene con el primer valor de $pK_{XH_2^-}$.

El fundamento de dicha determinación, está basada análogamente, en el equilibrio entre la especie monodisociada XH^- y el anión divalente $X^{=}$ el cual puede escribirse de la siguiente forma: $XH^- \rightleftharpoons X^{=} + H^+$.

La especie $X^{=}$ tiene su máximo de absorción a longitud de onda de 615 nm, al tanto que la especie XH^- lo posee a 430 nm, con la particularidad de que esta última no presenta absorción alguna a 615 nm.

El cálculo de la constante de disociación se efectúa en tampones cuyo pH es próximo a pK_{XH^-} a partir de medidas de absorbancia a 615 nm. Esta medida suministra la concentración de la especie $X^{=}$, ya que la especie XH^- no absorbe a esa longitud de onda. Por diferencia de la concentración total de colorante y la concentración de la especie $X^{=}$ se obtiene la concentración XH^- .

Conocidas las concentraciones de ambas especies a un pH determinado se puede hallar la constante de disociación del azul de bromotimol por aplicación de la ecuación de Henderson $pK_{XH^-} = pH + \log |XH^-|/|X^{=}|$.

3.3.2. Reparto del azul de bromotimol entre fases acuosa y orgánica.

Las constantes de reparto del azul de bromotimol también aparecen descritas en la bibliografía con diferen

tes disolventes orgánicos (2) (114). Se trata de una sustancia altamente liposoluble, con dos valores de constante de disociación, como se ha indicado anteriormente. Por estos dos motivos, las constantes de reparto son relativamente complicadas de calcular. La bibliografía consultada da dos modalidades diferentes de cálculo que a continuación se van a describir.

3.3.2.1. Coeficiente de reparto aparente

Schill (2) determina un coeficiente de reparto aparente, $k'_d(XH_2)$, entre agua y cloruro de metileno. Parte de disoluciones acuosas cuya concentración es del orden de $5 \cdot 10^{-5} M$, ya que cuando la concentración de colorante no excede de ese valor puede considerarse que no ocurren asociaciones (128).

Puesto que la fase orgánica en contacto con la hídrica está saturada de agua, puede considerarse que en dicha fase se extrae, además de la forma libre del colorante XH_2 , la especie ionizada del mismo representada por XH^- , H_3O^+ , aunque en una pequeña extensión. La concentración de colorante en la fase orgánica, C_{ABorg} es

$$C_{ABorg} = [XH_2]_{org} + [XH^-, H_3O^+]_{org} \quad -35-$$

Puesto que en agua existe protólisis de varios grados, la concentración total de colorante en la fase acuosa, C_{ABac} , es

$$C_{ABac} = [XH_2]_{ac} + [XH^-] + [X^-] \quad -36-$$

Considerando que la primera constante es igual a

$$K_{XH_2} = \frac{a_{H^+} \cdot |XH^-|_{ac}}{|XH_2|_{ac}} \quad -37-$$

La segunda es

$$K_{XH^-} = \frac{a_{H^+} \cdot |X^-|}{|XH^-|_{ac}} \quad -38-$$

El coeficiente de reparto verdadero es

$$k_{d(XH_2)} = \frac{|XH_2|_{org}}{|XH_2|_{ac}} \quad -39-$$

La constante de ionización en la fase orgánica saturada de agua vale

$$k_{i(H_2O)} = \frac{|XH^-H_3O^+|}{|XH_2|_{org} \cdot |H_2O|_{org}} \quad -40-$$

La razón de reparto viene dada por

$$D_{AB} = \frac{C_{ABorg}}{C_{ABac}} \quad -41-$$

Referida razón, D_{AB} , expresa el cociente de concentraciones totales de colorante en ambas fases; a diferencia del coeficiente de reparto, $k_{d(XH_2)}$, que expresa cociente de concentraciones de una única especie del colorante. Combinando las ecuaciones -35- y -41- resulta

$$D_{AB} = \frac{k'_{d(XH_2)} [1 + k_{i(H_2O)} \cdot |H_2O|_{org}]}{1 + \frac{K_{XH_2}}{a_{H^+}} + \frac{K_{XH_2} \cdot K_{XH^-}}{a_{H^+}^2}} \quad -42-$$

En el equilibrio, la concentración de agua presente en la fase orgánica es constante $|H_2O|_{org} = c$ constante y, por tanto, $1 + k_{i(H_2O)} \cdot |H_2O|_{org} = \text{constante}$. Como en la región de pH 5 a 8, en que se efectúan las experiencias de reparto, el sumando 1 es despreciable frente a los otros que figuran en el denominador; la ecuación -42- se puede escribir

$$D_{AB} = \frac{k'_{d(XH_2)} \cdot S \cdot a_{H^+}^2}{K_{XH_2} (a_{H^+} + k_{XH^-})} \quad -43-$$

En las condiciones de ensayo dadas anteriormente, no es necesario el cálculo del coeficiente de reparto verdadero $k_{d(XH_2)}$, siendo suficiente la determinación del coeficiente de reparto aparente, $k'_{d(XH_2)}$, definido por Schill (2) y que viene dado por

$$k'_{d(XH_2)} = \frac{k_{d(XH_2)} \cdot S}{K_{XH^-}} = \frac{D_{(AB)} \cdot (a_{H^+} + K_{XH^-})}{a_{H^+}{}^2} \quad -44-$$

Mediante esta ecuación puede calcularse $k'_{d(XH_2)}$ a partir de datos experimentales.

3.3.2.2. Coeficiente de reparto verdadero

La determinación del coeficiente de reparto verdadero entre fase acuosa y cloroformo, $k_{d(XH_2)}$, fue llevada a cabo por Gupta (114).

El cálculo efectuado por este autor, se hace de forma análoga a como se efectuó anteriormente, a partir de las concentraciones totales de azul de bromotimol en fase acuosa y orgánica C_{ABac} y C_{ABorg} . La concentración de colorante no disociado en la fase acuosa, $|XH_2|_{ac}$, se calcula mediante la ecuación dada por Gupta

$$|XH_2|_{ac} = \frac{a_{H^+}{}^2}{a_{H^+}{}^2 + K_{XH_2} \cdot a_{H^+} + K_{XH_2} \cdot K_{XH^-}} \cdot C_{ABac} \quad -45-$$

Las determinaciones de concentración de azul bromotimol fueron efectuadas por Gupta a partir de medidas de absorbancia a 503 nm longitud de onda del punto isobiéstico del azul de bromotimol.

El coeficiente de reparto verdadero, $k_{d(XH_2)}$, se obtiene sin más que aplicar la ley de reparto (ecuación -29-) a la especie no disociada del colorante

$$k_d(\text{XH}_2) = \frac{C_{\text{ABorg}}}{[\text{XH}_2]_{\text{ac}}} \quad -46-$$

Puesto que Gupta supone que en la fase orgánica, existe sólo el colorante sin disociar $C_{\text{ABorg}} = [\text{XH}_2]_{\text{org}}$.

3.3.3. Material empleado

3.3.3.1. Reactivos

- Azul de bromotimol Merck para análisis; fué utilizado sin purificación previa.
- Fosfato monosódico, hidróxido sódico Probus
- Agua destilada, ácido clorhídrico Merck, y óxido rojo de mercurio Probus
- Cloroformo Doesder rectificado hasta temperatura constante, recogido con una precisión de $0,2^\circ\text{C}$.

3.3.3.2. Instrumentación

- Espectrofotómetro Beckman DBGT, dotado de registro UV-V.
- Espectrofotómetro Beckman DU-2, modelo NGS (UV - V)
- pHmetro Radiometer pH M64
- Termostato Selecta
- Células de cuarzo de 1 cm de espesor

3.3.4. Método operatorio

3.3.4.1. Espectros UV y V y coeficientes de extinción molar

Se partió de una disolución acuosa de azul de bromotimol $2,4 \cdot 10^{-3} M$, que se preparó disolviendo 0,15g de colorante en cantidad equivalente de hidróxido sódico, por suave calentamiento y agitación magnética hasta la total disolución del mismo. Posteriormente, la disolución resultante se enrasa hasta un volumen final de 100 ml con disoluciones de diferentes valores de pH.

A partir de la disolución así preparada, por dilución del ácido clorhídrico concentrado 11,61 M, una disolución $4,8 \cdot 10^{-5} M$ de colorante en medio fuertemente ácido, cuyo espectro se registra entre 700 y 200 nm utilizando como blanco disolución de ácido clorhídrico concentrado. De esta forma se estima el espectro correspondiente al colorante sin disociar XH_2 .

No se efectuaron determinaciones de los coeficientes de extinción molar de estas bandas correspondientes al colorante no disociado, porque no son necesarios para los cálculos que posteriormente vamos a emprender.

El espectro de absorción del anión monovalente del azul de bromotimol XH^- y el cálculo del coeficiente de extinción molar se obtienen a partir de la disolución primitiva de azul de bromotimol que es diluida con agua destilada hasta $3,84 \cdot 10^{-5} M$, ajustándose su pH a 4,0 mediante la adición de hidróxido sódico diluido. A continuación se registra el espectro entre 200 y 700 nm utilizando como blanco agua destilada.

Una vez fijado el máximo de absorción a 430 nm, al objeto de determinar el coeficiente de extinción molar, se preparan disoluciones de azul de bromotimol a pH 4,0 de concentraciones $9,6 \cdot 10^{-6} M$; $1,92 \cdot 10^{-5} M$; $3,84 \cdot 10^{-5} M$; y $5,76 \cdot 10^{-5} M$. Posteriormente, se mide la absorbancia de estas disoluciones a 430 nm en células de cuarzo de 1 cm de espesor. En todos los casos se utilizó como blanco agua destilada.

El espectro de absorción del anión divalente del azul de bromotimol, $X^{=}$, se puede determinar utilizando las disoluciones iniciales de colorante, que se diluyen hasta obtener disolución alcalina de concentración $2,4 \cdot 10^{-5} M$ ($pH = 12$). El espectro se registra en células de 1 cm de espesor entre longitudes de onda de 200 y 700 nm, utilizando hidróxido sódico 0,1 M como blanco.

Una vez fijado el máximo de absorción a 615 nm, al objeto de determinar el coeficiente de extinción molar, se preparan disoluciones de azul de bromotimol en hidróxido sódico 0,1M, para obtener concentraciones desde $4,8 \cdot 10^{-6} M$ a $2,88 \cdot 10^{-5} M$. A continuación se mide la absorbancia de las disoluciones alcalinas de colorante en células de cuarzo de 1 cm de espesor a 615 nm, frente a disolución de hidróxido sódico 0,1M.

3.3.4.2. Primera constante de disociación

La disolución acuosa de azul de bromotimol se prepara disolviendo 100 mg de colorante en 10 ml de alcohol etílico en un matraz aforado de 50 ml. A continuación se enrasa con agua destilada hasta ese volumen, constituyendo la disolución madre de azul de bromotimol $3,20 \cdot 10^{-3} M$, que se usa en este ensayo.

Todas las disoluciones de ácido clorhídrico utilizadas se obtienen por dilución con agua destilada de ácido clorhídrico concentrado 12,02 M. Las disoluciones resultantes de este ácido, se valoran frente óxido rojo de mercurio para conocer la concentración exacta antes de utilizarlas en los ensayos.

En once matraces aforados de 100 ml, se coloca en cada uno de ellos 0,5 ml de disolución madre de colorante y se completa con ácido clorhídrico de diferentes concentraciones. A continuación se mide la absorbancia de las disoluciones resultantes a 558 y 470 nm en células de cuarzo de 1 cm de espesor. En todas las experiencias se utilizó agua destilada como blanco.

3.3.4.3. Segunda constante de disociación

El ajuste del potenciómetro para las medidas de acidez de las disoluciones se ha efectuado mediante tampones contrastados Radiometer de pH 4,00 y 7,43 a 20°C.

En todas las experiencias se ha utilizado tampón de fosfato sódico. Las disoluciones tampón se han preparado por mezcla de disolución de fosfato sódico 0,1M e hidróxido sódico 0,1 M hasta el pH deseado. La fuerza iónica resultante osciló en todos los casos entre 0,1 y 0,15.

A partir de una solución acuosa de azul de bromotimol $2,4 \cdot 10^{-3}M$ se preparan, por dilución en tampones 7,40 y 7,70, dos disoluciones $1,92 \cdot 10^{-5}M$ y $2,88 \cdot 10^{-5}M$ y seguidamente se procedió a la lectura del pH a 20°C apreciando la segunda cifra decimal del mismo. Posteriormente se mide la absorbancia de ambas disoluciones a 615 nm, utilizando como blanco el mismo tampón.

Para evitar una posible imprecisión de pesada al preparar las disoluciones de azul de bromotimol $1,92 \cdot 10^{-5}M$ y $2,88 \cdot 10^{-5}M$, se partió de la disolución madre $2,4 \cdot 10^{-3}M$ diluyendo con hidróxido sódico 0,1M, midiéndose posteriormente su absorbancia a 615 nm frente a hidróxido sódico 0,1 M. Estos valores de absorbancia, se usaron en los cálculos en vez de los de concentración, para eliminar los errores en la preparación de disoluciones.

3.3.4.4. Coeficientes de reparto del azul de bromotimol entre fase acuosa tamponada y cloroformo

Para la determinación del coeficiente de reparto se empleó disolución clorofórmica de azul de bromotimol $5 \cdot 10^{-5}M$, que se prepara disolviendo 0,0312 g de colorante en 100 ml de cloroformo. Posteriormente 10 ml de la anterior disolución son diluidos a 100 ml con cloroformo puro, obteniéndose disolución clorofórmica de colorante $5 \cdot 10^{-5}M$, que es la concentración usada en to-

das las experiencias de reparto del colorante.

La preparación de tampones se efectúa con fosfato sódico 0,1 M siguiendo las directrices del apartado anterior. El pH final de la disolución tampón se midió con un potenciómetro a la temperatura de 20°C. La fuerza iónica del tampón osciló entre 0,1-0,15.

Se agitan 10, 20, y 30 ml de disolución clorofórmica de azul de bromotimol $5 \cdot 10^{-5}$ M con volúmenes iguales de disolución de tampón de fosfato de diferentes valores de pH, dentro de vasijas termostataadas a 20°C, convenientemente tapadas para evitar la evaporación de la fase orgánica. La agitación magnética se prolonga durante 35 minutos, tiempo que en experimentos preliminares se demostró era suficiente para alcanzar el equilibrio.

Ambas fases se decantaron en cada una de las experiencias, durante al menos dos horas y una porción de la fase acuosa se tomó y diluyó convenientemente con hidróxido sódico 0,1 M. A continuación se midió la absorbancia a 615nm de cada experiencia en una célula de cuarzo (1cm de espesor) utilizando como blanco disolución de hidróxido sódico 0,1 M.

La titulación de la disolución clorofórmica de azul de bromotimol se efectúa tratando la fase orgánica con un volumen igual de disolución acuosa de hidróxido sódico 0,1M y seguidamente se mide la absorbancia de la fase acuosa a 615 nm frente a hidróxido sódico 0,1M. Los valores de absorbancia, se usaron en los cálculos en vez de los de concentración, para eliminar los errores de pesada como antes se ha dicho. La fuerza iónica de la fase acuosa osciló en todas las experiencias entre 0,1 y 0,15.

3.4. Interacción de las aminas con azul de bromotimol en fase orgánica.

3.4.1. Base teórica de la metodología

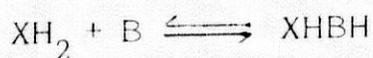
En el presente apartado se pretende estudiar la formación del par iónico azul de bromotimol-amina en el seno de un disolvente apolar (cloroformo). La base teórica en que se sustenta tiene su origen fundamentalmente en los métodos clásicos de estudio de complejos en disolución.

Como el azul de bromotimol es un protolito de alta banda de absorción, la estequiometría de la reacción puede estudiarse por medidas espectrofotométricas. La primera hipótesis planteada consiste en investigar la validez del método de Job (129), al existir la posibilidad de aplicarlo al estudio de la estequiometría de un par iónico.

El único antecedente bibliográfico disponible en este sentido, es el realizado en el año 1.973 por Gupta (21) quien determina la estequiometría de la reacción entre una serie de aminas farmacéuticas y azul de bromotimol en el seno de un disolvente orgánico. En este mismo trabajo se describe un método de cálculo de las constantes de estabilidad de los complejos formados.

En el presente trabajo se pretende demostrar la aplicabilidad del método clásico de Job al estudio de los complejos obtenidos. También se calculan las constantes de estabilidad de los complejos haciendo la suposición de la existencia de un equilibrio dinámico entre los reactivos y el par iónico formado, mediante la aplicación de la ley de equilibrio a la reacción.

Si el azul de bromotimol presente en el disolvente apolar se representa por XH_2 , y la amina por B, la reacción transcurre de la siguiente forma cuando el complejo es de estequiometría 1:1

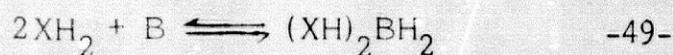


Siendo XHBH el complejo (par iónico) formado por los reactivos. Aplicando la ley de equilibrio se obtiene

$$K_f = \frac{|XHBH|}{|XH_2| \cdot |B|} \quad -48-$$

ecuación que permite el cálculo de la constante de formación del par iónico en el seno de un disolvente orgánico.

Si el par iónico formado es de estequiometría 2:1 (azul de bromotimol:amina) el equilibrio es



siendo $(XH)_2BH_2$ el par iónico 2:1. La constante de formación será en este caso

$$K_f = \frac{|(XH)_2BH_2|}{|XH_2|^2 \cdot |B|} \quad -50-$$

3.4.2. Material empleado

3.4.2.1. Reactivos

Cloroformo recientemente destilado recogido con una precisión de 2 décimas de grado, azul de bromotimol Merck, y agua destilada.

3.4.2.2. Aminas ensayadas

-Derivados tropánicos: Atropina base, disulfato ácido de belladonina, bromhidrato de escopolamina, homatropina base, bromhidrato de homatropina y tropina base.

- Benzodiazepinas: Clorhidrato de flurazepan y medazepan base.

- Aminas simpatomiméticas: Bamethan base, etilfenilefrina.

-Otras aminas: Estrienina base, quinina base, cinchonidina, perfenazina, cinarazina, y ajmalina base.

3.4.2.3. Instrumentación

Espectrofotómetro Beckman DBG T (UV-V)

Espectrofotómetro Beckman DU, dotado de registro UV-V.

Buretas graduadas con llave de teflon ($\pm 0,05$ ml).

3.4.5. Método operatorio

3.4.3.1. Disolución clorofórmica de azul de bromotimol.

La disolución clorofórmica de colorante se prepara disolviendo 0,6244 g en cloroformo recién rectificado hasta un volumen final de 100 ml, obteniéndose una disolución 10^{-3} M, la cual ha sido utilizada en algunos ensayos. Por dilución de esta en cloroformo se obtuvieron disoluciones 10^{-4} y $2 \cdot 10^{-4}$ M, que se utilizaron en la mayor parte de las experiencias de este capítulo.

3.4.3.2. Disolución clorofórmica de aminas en su forma básica.

Las disoluciones clorofórmicas de aminas se prepararon disolviendo la cantidad necesaria en cada caso para obtener una concentración 10^{-3} M que es la correspondiente a algunas experiencias. Por dilución de ésta se obtuvieron disoluciones clorofórmicas 10^{-4} y $2 \cdot 10^{-4}$ M, que se utilizan en la mayor parte de las operaciones.

3.4.3.3. Disoluciones clorofórmicas de aminas en forma de sales.

Las disoluciones clorofórmicas de sales de aminas solubles en cloroformo se han preparado análogamente a como se ha descrito en el apartado anterior, obteniéndose disolu-

ciones 10^{-3} y 10^{-4} M. Estas disoluciones se emplearon para estudiar la influencia de la forma de la amina en su reactividad.

En los casos en que no se dispuso de la forma básica de la amina (flurazepan y belladonina); la disolución clorofórmica se preparó a partir de una disolución acuosa de su sal, que se agitó con un volumen igual de cloroformo recién rectificado. Dado el alto coeficiente de reparto de estas dos aminas, en ambos casos, se extraen totalmente en forma de base alcalinizando ligeramente la fase acuosa. La concentración de la disolución de las mismas en la fase orgánica coincide con la de la acuosa inicial.

3.4.3.4. Espectros UV-V del par iónico amina-azul de bromotimol.

La interacción de las aminas estudiadas con el azul de bromotimol se puso de manifiesto por espectrofotometría. Se registraron los espectros de absorción UV-V de disoluciones clorofórmicas de aminas, de azul de bromotimol, y disoluciones mezcla de ambos compuestos. Para cada amina ensayada se registró el espectro de absorción entre 700 y 200 nm de una disolución clorofórmica 10^{-4} M. De igual forma se registró el espectro del azul de bromotimol en cloroformo a una concentración de 10^{-4} M. A continuación se recogió el espectro del complejo presente en la disolución mezcla de la amina y del colorante. En todos los casos se utilizó como blanco cloroformo puro.

3.4.3.5. Influencia de la concentración de reactivos en la formación del complejo.

Las aminas ensayadas reaccionan con el azul de bromotimol en medio clorofórmico como se evidencia por la aparición de un color amarillo estable. Todos los complejos amina-azul de bromotimol presentan un máximo de absorción a 410 nm, sin excepción.

El estudio de la influencia de la concentración de los reactivos en la extensión de la reacción se ha efectuado a

partir de medidas de absorbancia a 410 nm de disoluciones de diferente concentración del reactivo cuya influencia se quiere estudiar, en presencia de exceso del otro. De esta forma la concentración de reactivo en exceso se pudo considerar constante en las experiencias realizadas.

3.4.3.6. Influencia de la concentración de las aminas. Curvas de calibrado.

Las disoluciones clorofórmicas de aminas 10^{-4} M se colocaron desde una bureta (provista de llaves de teflón) en volúmenes crecientes al interior de cinco tubos de centrífuga de 25 ml, provistos de tapón. Posteriormente, desde otra bureta se adicionó disolución clorofórmica de azul de bromotimol hasta un volumen total de 12 ml en cada tubo. La absorbancia de cada una de las disoluciones resultantes se midió a 410 nm, utilizando como blanco cloroformo puro. Las disoluciones originales de reactivos son completamente transparentes e incoloras, lo que hace innecesario la preparación de un blanco especial.

3.4.3.7. Influencia de la concentración de colorante. Curvas de calibrado.

La disolución clorofórmica de azul de bromotimol 10^{-4} M se adiciona desde una bureta, en volúmenes crecientes, al interior de 5 tubos de centrífuga de 25 ml, provistos de tapón. Posteriormente, desde otra bureta se adicionó disolución clorofórmica de aminas básicas 10^{-3} M, hasta un volumen total de 12 ml. La absorbancia de cada una de las disoluciones resultantes se midió a 410 nm, utilizando como blanco cloroformo puro.

3.4.3.8. Razón estequiométrica y constantes de estabilidad.

La relación estequiométrica de la reacción de azul de bromotimol y amina básica en cloroformo se ha determinado por el método de las variaciones continuas de Job (129). En siete tubos de centrífuga se adicionaron, desde

una bureta, 10, 8, 7, 6, 5, 4, y 2 ml de disolución de azul de bromotimol $10^{-4}M$; posteriormente, desde otra bureta, se añadió disolución clorofórmica de amina $10^{-4}M$ hasta un volumen total de 12 ml. De esta forma, se obtienen disoluciones de amina-colorante de diferentes razones molares, que oscilan entre 5:1 y 1:5 (azul de bromotimol : amina); la absorbancia de las disoluciones resultantes se midió a 410 nm en cloroformo puro.

3.4.3.9. Reactividad de las aminas en forma básica y en forma de sales.

Se efectuaron experiencias en todo análogas al apartado anterior con tres aminas (hiosciamina, homatropina y flurazepan). A partir de éstas se prepararon disoluciones clorofórmicas de su base y de su sal, puesto que en estos casos ambas formas son solubles en cloroformo. En los tres casos se estudió la estequiometría mediante la metodología dada en el apartado anterior. Una vez efectuada la reacción de estas tres aminas con azul de bromotimol, se comprobó que en los casos en que se operó con las disoluciones de las aminas en su forma básica, se obtuvo complejo (lo cual se evidencia por la aparición de un color amarillo estable). En cambio, cuando se operó con las disoluciones clorofórmicas de las sales de aminas no se obtuvo color alguno. Todas las medidas de absorbancia se midieron a 410 nm frente a cloroformo puro.

A continuación, en todos los casos, se añadieron a los tubos de centrífuga 2 ml de agua destilada, agitando ambas fases durante 2 minutos y posteriormente centrifugando hasta su completa separación. Una porción de la fase orgánica fué tomada con una jeringa provista de una aguja de teflón, y se midió su absorbancia a 410 nm utilizando como blanco cloroformo puro. En las experiencias en que se partió de disolución clorofórmica de la amina básica no se produjo modificación en la absorbancia. En cambio, cuando se partió de las sales, tras la adición de agua, aparece color amarillo en la fase orgánica; lo que evidencia que el agua facilita la reacción.

3.4.3.10. Efecto de la temperatura en la estabilidad de los compuestos amina-azul de bromotimol

Con objeto de calcular algunos parámetros termodinámicos de interés fisicoquímico de la reacción amina-azul de bromotimol en cloroformo, tales como energía libre de formación, entalpía de formación, entropía de formación; se ha investigado la dependencia de la constante de estabilidad con la temperatura. Con este fin se realizaron experiencias a 10, 20, y 30°C.

Aplicando el método descrito en el apartado 3.4.3.8. se efectuaron las experiencias a las tres temperaturas antes indicadas.

3.4.3.11. Reacción amina-colorante en cloroformo de diferentes grados de pureza.

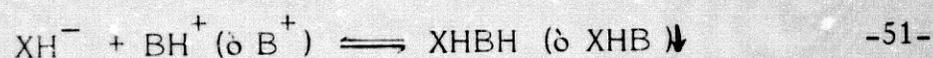
La reacción amina-colorante se ha estudiado mediante el método descrito en el apartado 3.4.3.8. en cloroformo de diferente grado de pureza. Se efectuaron varias series de experiencias en la reacción amina-colorante con cloroformo comercial estabilizado con etanol, con cloroformo recién destilado, con cloroformo destilado y almacenado durante cierto tiempo, y con este último después de agitarlo varias veces con agua destilada.

3.5. Solubilidad de pares iónicos aminas-azul de bromotimol. Obtención de los sólidos.

La base del método que a continuación se describe consiste en la precipitación del sólido, una vez rebasada la concentración en medio acuoso a temperatura ambiente.

Los productos de asociación iónica (pares iónicos) del azul de bromotimol y aminas ó bases de amonio cuaternario son compuestos sin carga y de alto peso molecular, por lo que su solubilidad en agua es muy reducida. Por ello, no son necesarias altas concentraciones de reactivos para que la precipitación tenga lugar.

En medio acuoso la reacción es análoga a la dada por Schill (28) en la obtención del sólido azul de bromotimol-tetrabutilammonio; la reacción puede escribirse:



El catión que reacciona con el anión monovalente del azul de bromotimol puede simbolizarse por B^+ , si es un ion de amonio cuaternario ó por BH^+ si es una amina.

3.5.1. Material empleado

3.5.1.1. Reactivos.

Azul de bromotimol Merck, utilizado sin purificación previa y agua destilada.

3.5.1.2. Iones de amonio cuaternario y aminas.

-Derivados tropánicos: Clorhidrato de atropina, clorhidrato de atropamina, disulfato ácido de belladonina, bromhidrato de escopolamina, bromhidrato de escopolamina N-óxido, bromhidrato de hiosciamina, bromhidrato de homatropina, bromuro de metilatropina - bromuro de metilescopolamina, bromuro de metilhomatropina, clorhidrato de nortropina, bromhidrato de tigloidina, y tropina base.

- Aminas simpatomiméticas: sulfato de bamethan, clorhidrato de efedrina, clorhidrato de etilfeniletrina, y clorhidrato de fenilefrina.

- Otras aminas: Estrienina base, clorhidrato de flurazepan, clorhidrato de lobelina, quinina base, y clorhidrato de ajmalina.

3.5.1.3. Instrumentación

Espectrofotómetro Beckman DB-CT, dotado de registro V-UV
Espectrofotómetro Beckman DU (V-UV)

3.5.2. Método operatorio

3.5.2.1. Preparación de las disoluciones

Las disoluciones de reactivos utilizadas en este apartado se prepararon como se indica a continuación:

La disolución acuosa de colorante 10^{-2} M, concentración en que se utilizó en todos los ensayos de precipitación, se preparó por disolución de 6,244g de azul de bromotimol en 100 ml de hidróxido sodico 0,1M por calentamiento y agitación magnética. Una vez disueltos se completó hasta un volumen final de 1 litro con agua destilada y se ajustó el pH a un valor comprendido entre 4 y 5 con hidróxido sodico diluido. El color final de la disolución es rojo anaranjado.

Las disoluciones acuosas de aminas ó iones de amonio cuaternario se prepararon sin dificultad por simple disolución, dado que la mayor parte de las sustancias investigadas se utilizaron en forma de sales, tales como clorhidratos, bromhidratos, sulfatos, etc., por lo general bastantes solubles en agua. Las concentraciones usuales fueron 10^{-2} M, ó más elevadas cuando el rendimiento de la precipitación resultó bajo.

Algunas de las sustancias investigadas se disolvieron en presencia de cantidad equivalente de ácido clorhídrico debido a la no disposición de la misma al estado de sal, cual es el caso de la quinina.

3.5.2.2. Obtención de los precipitados

Aproximadamente 150 ml de disolución acuosa de azul de bromotimol 10^{-2} M, previamente filtrada y ajustada a pH entre 4 y 5, se mezclaron con un volumen igual de disolución de amina ó base de amonio cuaternario también previamente filtrada.

En muchos de los casos se produce un precipitado de color naranja-rojizo que puede recogerse mediante filtración por papel Watman, con ayuda de una bomba de agua conectada a un kitasato provisto de buchner para recoger el precipitado. Este se lava con agua destilada repetidas veces, ya que es insoluble en agua, al tanto que los reactivos que lo originan son solubles

Algunos de los precipitados obtenidos fueron muy finos, de tal suerte que atraviesan el papel de filtro ó se depositan en el poro del mismo, impidiendo en paso del agua a su través, en cuyos casos los precipitados forman disoluciones coloidales, resultando difícil de separar los solutos y disolventes por filtración simple. El tamaño de precipitado se puede aumentar calentando alrededor de 70°C y enfriando bruscamente, ó adicionando cloruro sódico hasta precipitación.

Sin embargo, no se tiene seguridad de que estas dos formas de proceder sean de utilización correcta en nuestro caso, puesto que el calentamiento puede afectar ó modificar la estructura del complejo ó los reactivos, aunque éste sea muy suave. En cuanto a la adición de solución de cloruro sódico, si ésta se añade en exceso, puede dar lugar a la precipitación de la sal sódica del colorante, obteniéndose el complejo impuro, aunque el par iónico es menos soluble en agua a causa, fundamentalmente, de su tamaño molecular.

Todas estas manipulaciones se pueden solventar cuando la precipitación es de rendimiento bajo, en cuyo caso se aumentan las concentraciones de las sustancias a complejar con el colorante. Siguiendo este último criterio, para un grupo de sustancias que presentan baja reactividad y que además forman sistemas coloidales, se aumentó la concentración de las mismas por encima de 10^{-2} M, llegando hasta 10^{-1} M para algunas de ellas. Las sustancias poco reactivas para las que se incrementó la concentración por encima de 10^{-2} M fueron las aminas simpatomiméticas investigadas: bambetan, efedrina, etilfenilefrina, fenilefrina; Las bases de amonio cuaternario: metilatropina, metilescopolanina, metilhomatropina; y los derivados tropánicos: atropina, escopolamina, escopolamina N-óxido, escopolina, hiosciamina, homatropina, y tropina.

La nortropina fué muy difícil de precipitar, por lo que se incrementó su concentración hasta un valor de 10^{-1} M, y además se calentó a 60°C, enfriando bruscamente a continuación.

El resto de las sustancias investigadas, belladonina, atropamina, tigloidina, quinina, lobelina, y flurazepan precipitan en gran proporción a concentración idéntica a la del azul de bromotimol $10^{-2}M$, separándose el precipitado sin dificultad por simple filtración.

Los precipitados obtenidos se lavan con agua destilada y se dejan secar al aire y finalmente en desecador con pentóxido de fósforo y baja presión. El pentóxido de fósforo se renovó diariamente hasta que permaneció seco, aproximadamente a los tres días.

3.5.2.3. Espectros UV-V de los compuestos sólidos

Los complejos sólidos se disolvieron en cloroformo Merck, para su caracterización posterior. El espectro de estas disoluciones se registró entre 200 y 700 nm, mediante un espectrofotómetro Beckman DB-GT.

Todos los espectros se obtuvieron a partir de disoluciones clorofórmicas de los sólidos, utilizando como blanco cloroformo puro.

Una vez obtenidas las bandas de los complejos sólidos se comprobó que todos ellos tienen un máximo de absorción perfectamente diferenciado a 410 nm, motivo por el que se procede a la medida del coeficiente de extinción molar para gran parte de los sólidos en cloroformo a esa longitud de onda. Se prepara una disolución clorofórmica concentrada aproximadamente $2 \cdot 10^{-4}M$, por simple dilución del sólido en cloroformo. Posteriormente, y desde una bureta de precisión provista de llaves de teflón se adicionaron volúmenes variables de la anterior disolución en matraces aforados de 25 ml, y se enrasan con cloroformo hasta ese volumen midiéndose su absorción a 410 nm frente a cloroformo.

3.5.2.4. Espectros IR de los compuestos sólidos obtenidos

Se mezclaron 1 mg de producto sólido y 300 mg de bromuro potásico anhidro. El polvo resultante se homogeneizó

y se pulverizó en un mortero de ágata, con el que se obtuvo un comprimido por aplicación de una presión de 8 atmósferas. A continuación se registró el espectro del comprimido entre 600 y 3000 cm^{-1} a temperatura ambiente.

3.5.2.5. Analisis Termico Diferencial

Los registros gráficos de Analisis Termico Diferencial (A.T.D.) se efectuaron con un equipo microcalorimetrico Metter TA 2.000. En este aparato el portamuestras es de aluminio, y los termopares son de Au-Ni.

La sustancia utilizada en el calibrado del equipo calorimetrico es el Indio, en razón de que el equipo TA-2.000 presenta una mayor constancia de sensibilidad y precisión con ella. Esto permite establecer la curva de calibrado a partir de un solo punto experimental (sensibilidad calorimetrica del Indio).

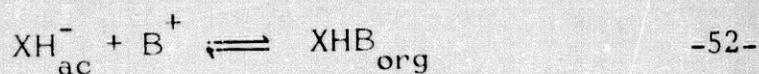
Una cantidad de complejo sólido problema y de material de referencia se colocan cada una en un porta muestras. A continuación se introducen en el horno y se calienta gradualmente a una velocidad de 5°C por minuto, registrando de esta forma el diagrama de A.T.D. entre 30 y 500°C .

Las muestras de los complejos solidos ensayados mediante esta tecnica, previamente se sometieron al vacío producido por una bomba en el interior de un cristizador a temperatura ambiente en presencia de pentóxido de fosforo para eliminar la humedad tal como se discutió en el apartado 3.5.2.2.

3.6. Estudio de la distribución de pares iónicos de azul de bromotimol-amina ó iones de amonio cuaternario en dos fases.

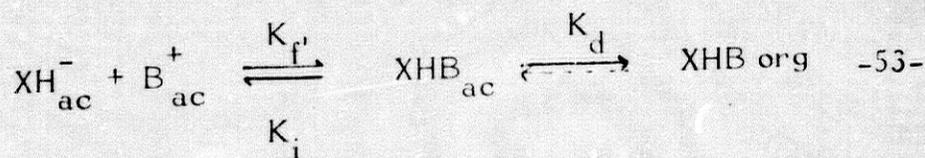
3.6.1. Distribución de pares iónicos entre disolventes inmiscibles.

La formación de pares iónicos entre colorantes y medicamentos ionizables puede explicarse como la asociación entre dos iones de cargas opuestas, teniendo el producto de asociación una alta liposolubilidad, lo cual puede ser aprovechado para extraerlo desde una fase acuosa con un disolvente inmiscible. El colorante utilizado por nosotros es el azul de bromotimol, que en solución acuosa puede estar o puede aparecer en forma de anión monovalente, XH^- , el cual puede asociarse con cationes B^+ (iones de amonio cuaternario o aminas protonadas) dando lugar a un complejo de asociación iónica (par iónico) que puede ser extraído en cloroformo. La reacción puede ilustrarse de la siguiente manera



Este equilibrio es el más sencillo caso que puede presentarse en la extracción de complejos con azul de bromotimol.

Si el par iónico presente en medio acuoso contiene el colorante y el catión en proporción 1:1, la reacción puede suponerse que transcurre de acuerdo con el siguiente esquema (10)



donde XH_{ac}^- es la especie monodisociada del colorante en la fase acuosa y, B_{ac}^+ el catión monovalente, XHB_{ac} el par iónico presente en la fase acuosa y XHB_{org} el par iónico presente en la fase orgánica. Las constantes que rigen estos equi-

librios son: k_f , constante de asociación de los iones en la fase acuosa, k_d , constante de disociación del par iónico y $k_d(XHB)$ el coeficiente de reparto del mismo entre los dos disolventes inmiscibles.

Si se supone que todo el par iónico formado es extraído por el disolvente orgánico, puede asumirse que XHB está completamente ionizado como XH^- y B^+ en la fase acuosa; suponiendo también que el complejo XHB existe en la fase orgánica solamente como monómero, la ecuación -53- puede simplificarse de la forma en que se puso la ecuación -52- .

Puesto que en el equilibrio dado por la ecuación -52- el peso molecular del soluto en la fase orgánica XHB es igual a la suma de los pesos moleculares de los solutos XH^- y B^+ , se cumple la condición dada por Nerst (111) y puede aplicarse la ley de distribución ó reparto al par iónico asociado en la fase orgánica y a los dos iones presentes en la fase acuosa sin asociar.

Aplicando la ley de equilibrio en relación al potencial químico, se ha de cumplir que la suma del potencial químico de los dos iones presentes en la fase acuosa, μ_w , es igual al potencial químico del soluto no disociado XHB en el disolvente orgánico, μ_s . En el disolvente orgánico

$$\mu_s = \mu_s^0 + RT \ln |XHB|_{org} \cdot \chi_{XHB} \quad -54-$$

y en la capa acuosa

$$\mu_w = \mu_{B^+}^0 + RT \ln |B^+| \cdot \delta_{B^+} + \mu_{XH^-}^0 - RT \ln |XH^-| \cdot \delta_{XH^-} \quad -55-$$

en el equilibrio $\mu_s = \mu_w$ y

$$\begin{aligned} \mu_s^0 + RT \ln |XHB| \cdot \chi_{XHB} = \mu_{B^+}^0 + RT \ln |B^+| \cdot \delta_{B^+} + \mu_{XH^-}^0 + \\ + RT \ln |XH^-| \cdot \delta_{XH^-} \end{aligned} \quad -56-$$

ó

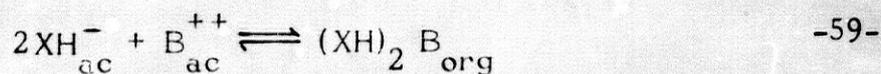
$$\frac{|XHB|_{org} \cdot \gamma_{XHB\ org}}{|B^+| \cdot \gamma_{B^+} |XH^-| \cdot \gamma_{XH^-}} = e^{-\frac{\mu_s^o - \mu_{B^+}^o - \mu_{XH^-}^o}{R.T}} = E_{XHB} \quad -57-$$

Si las soluciones son muy diluídas los coeficientes de actividad de las distintas especies son aproximadamente la unidad y por tanto la ecuación -57- queda simplificada

$$E_{XHB} = \frac{|XHB|_{org}}{|XH^-| |B^+|} \quad -58-$$

E_{XHB} se denomina coeficiente de partición aparente ó constante de extracción del par iónico. La ecuación -58- es muy útil para fines prácticos y va a ser aplicada en este capítulo. Esta ecuación es válida tan solo en las suposiciones antes indicadas (10): el par iónico en la fase acuosa está completamente disociado, el par iónico presente en la fase orgánica no está disociado (existiendo únicamente como monómero) y por último, las disoluciones son diluídas.

Cuando el catión que reacciona con el anión monovalente del colorante es divalente, éste puede asociarse con dos moléculas del colorante aniónico mediante la siguiente ecuación



y

$$E_{(XH)_2 B} = \frac{|(XH)_2 B|_{org}}{|XH^-| |B^{++}|} \quad -60-$$

ecuación análoga a la -58- , también muy útil para los fines prácticos realizados en este apartado. Esta ecuación lleva

también implícitas las mismas suposiciones que la ecuación -58-, y puede deducirse también a partir de la igualdad del potencial químico en ambas fases, de forma análoga a como se dedujo a la anterior ecuación.

En las deducciones de las ecuaciones -58- y -60-, se ha supuesto B^+ y B^{++} como cationes cualesquiera por ser este el caso más general. En nuestra metodología los cationes utilizados son iones de amonio monocuaternario que se simbolizarán en lo sucesivo como B^+ y aminas en forma de cationes que se simbolizarán como BH^+ y BH_2^{++} , según tengan una o dos posibilidades de protonación. En cuanto a la especie XH^- nos referimos siempre al anión monovalente del azul de bromotimol. Las ecuaciones deducidas de acuerdo con el planteamiento general antes establecido son aplicables a las sustancias investigadas aquí. Otros autores las utilizaron para otros complejos que se originaban de forma semejante (2) (13) (76) (22) (23).

3.6.2. Material empleado

3.6.2.1. Reactivos

Azul de bromotimol Merck, usado sin previa purificación.

Cloroformo Doesder, fué purificado por destilación hasta temperatura constante.

Fosfato monosódico, hidróxido sódico Probus.

3.6.2.2. Aminas y bases de amonio cuaternario

Derivados tropánicos:

Clorhidrato de atropamina, clorhidrato de atropina, disulfato ácido de belladonina, clorhidrato de escopolamina, bromhidrato de escopolamina-N-óxido, bromhidrato de escopolina, bromhidrato de hiosciamina, bromhidrato de homatropina, bromuro de metilatropina, bromuro de metilescopolamina, bromuro de metilhomatropina, clorhidrato de nortropina, bromhidrato de tigloidina, y tropina base.

Aminas simpatomiméticas:

Sulfato de bamethan, clorhidrato de efedrina, clorhidrato de etilfenilefrina, clorhidrato de fenilefrina, y sulfato de metaproterenol.

Derivados benzodiazepínicos:

Bromazepán base, medazepán base, y clorhidrato de flurazepán.

Otras aminas:

Estricnina base, clorhidrato de lobelina y quinina base:

Todas ellas se utilizaron sin purificación previa, tal y como las suministraron Boehringer y Roche, siendo conservadas según sus instrucciones. Fueron consideradas totalmente puras.

3.6.2.3. Instrumentación

Espectrofotómetro Bekman DB-GT, dotado de registro UV-V
 Espectrofotómetro Bekman DU-2, modelo NGS (UV-V)
 Potenciómetro digital Radiometer PHM64
 Termostato Selecta a $20 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$
 Células de cuarzo de 1cm de espesor

3.6.3. Método operatorio

3.6.3.1. Operaciones previas

- Ajuste del potenciómetro

El ajuste del potenciómetro fué efectuado mediante dos tampones contrastados Radiómetro de pH 4,00 y 7,43 a 20°C estando el electrodo combinado recién regenerado.

- Preparación de tampones

El tampón empleado ha sido el de fosfato de pH 7,50. 500ml de disolución de fosfato monosódico 0,1M se mezclaron con 403ml de disolución de hidróxido sódico 0,1M y diluído con agua destilada hasta un volumen total de 1 litro. El pH final de la disolu-

ción debe ser 7,50; cuando dicho pH no resultó exacto se adicionaron pequeños volúmenes de la disolución de partida hasta el pH requerido. La fuerza iónica operando en estas condiciones oscila como máximo entre 0,1 y 0,15.

- Preparación de disoluciones

La disolución de azul de bromotimol 10^{-3} M se preparó por disolución de 0,15g en cantidad equivalente de hidróxido sódico 0,01 M mediante suave calentamiento y agitación magnética hasta su total disolución. Posteriormente se diluyó con tampón de fosfato sódico pH 7,50 hasta un volumen final de 100ml.

Las disoluciones de la mayor parte de las aminas estudiadas requirieron para este estudio una concentración de origen de $1,6 \cdot 10^{-4}$ M en medio acuoso tamponado. Esta solución se ha obtenido generalmente, a partir de una disolución concentrada de la misma de $1,6-3,2 \cdot 10^{-3}$ M, por dilución en cantidad conveniente de tampón de fosfato pH 7,50. Prácticamente todas las aminas ensayadas se usaron en forma de sales ácidas, tales como clorhidrato, bromhidrato ó bisulfato y todas ellas se solubilizaron sin dificultad. De algunas de ellas sólo se dispuso de su forma básica, a veces insoluble en agua; pudiendo este inconveniente eliminarse mediante agitaciones de la misma con cantidad conveniente de ácido clorhídrico, formando así el clorhidrato ya soluble en agua. Una vez solubilizada la amina se diluye en tampón de fosfato 0,05M hasta alcanzar la concentración deseada.

3.6.3.2. Obtención en disolución y curvas de calibrado.

0,5, 1, 2, 3, y 4 ml de disolución tamponada de aminas $1,6 \cdot 10^{-4}$ M, pH 7,50, se colocan en tubos de centrifuga de 25 ml junto con $\frac{1}{2}$ ml de disolución tamponada de azul de bromotimol $2,4 \cdot 10^{-3}$ M, completándose con tampón 7,50 hasta un volumen final de 5 ml. Posteriormente, se adicionan 10 ml de cloroformo a cada tubo, desde una bureta provista con llaves teflón. Las dos fases se agitan durante dos minutos introduciendo los tubos de centrifuga (colocados en una gradilla) en el interior de un

bano termostático a $20 \pm 0,1$ °C. Las dos fases se separaron posteriormente mediante centrifugación y por medio de una jeringa provista de una aguja de teflón se recogió una porción de la fase orgánica de cada experiencia y se introdujo en una cubeta de cuarzo de 1 cm de espesor, midiéndose su absorbancia a 410 nm, longitud de onda donde todos estos complejos presentaron máxima absorción óptica. Se preparó un blanco de la misma forma sustituyendo la disolución de amina por tampón 7,50. Utilizando la metodología expuesta, el colorante está presente en la fase acuosa inicialmente a una concentración, $C_{AB}^0 = 4,8 \cdot 10^{-4}$ M y las concentraciones iniciales de la amina son $1,6 \cdot 10^{-5}$, $3,2 \cdot 10^{-5}$; $6,4 \cdot 10^{-5}$; $9,6 \cdot 10^{-5}$; $12,8 \cdot 10^{-5}$ M. La proporción colorante:amina osciló entre 30:1 y 4:1, lo que equivale a decir, que el azul de bromotimol estuvo siempre en exceso frente a la amina o ión de amonio cuaternario.

Algunas aminas ensayadas se mostraron muy poco reactivas, lo cual obligó a aumentar el exceso de colorante, y en algún caso también el de la amina para poder estudiar la interacción.

- Tiempo y sistema de agitación

Las dos fases conteniendo la amina y el colorante se agitan en el interior de un tubo de centrífuga al que se introdujo un espárrago de teflón terminado en un aspa, que gira a velocidad controlable por medio de un motor eléctrico. El cálculo del tiempo necesario para alcanzar la situación de equilibrio entre las fases se determinó a partir de los valores de absorbancia de la fase orgánica, en la que se extrae la amina o ión de amonio cuaternario asociado como par iónico con el anión monovalente del azul de bromotimol XH^- . Este ensayo ha sido efectuado en la extracción del complejo metilatropina-azul de bromotimol.

Dentro de un tubo de centrífuga se colocaron dos ml de disolución de bromuro de metilatropina $1,6 \cdot 10^{-4}$ M, 1 ml de disolución de azul de bromotimol $2,4 \cdot 10^{-3}$ M completándose hasta 5 ml con tampón de fosfato pH 7,50. Posteriormente, se

se adicionaron 10 ml de cloroformo. Las dos fases fueron agitadas durante el tiempo exacto de 0,5 min. medido con un cronómetro. Después se separaron por centrifugación y con una jeringa provista de una aguja de teflón, se tomó una porción de la fase orgánica a la que se midió su absorbancia a 410 nm, donde el complejo presentó su máxima absorción. Idénticas experiencias fueron efectuadas a 1, 2, 3, 4, 6, y 10 min de agitación midiéndose en todos los casos la absorbancia de dicha fase orgánica a 410 nm frente a un blanco preparado de la misma manera sustituyendo la disolución de ión de amonio por tampón de fosfato.

- Separación de fases

En todas las extracciones efectuadas con los complejos de aminas o bases de amonio cuaternario-azul de bromotimol, siempre se forma mayor o menor emulsión tras la agitación. La emulsión formada depende de varios factores tales como concentración del colorante, concentración y carácter tensioactivo de la amina, tiempo de agitación, reacciones laterales etc. Sin embargo, para que las medidas de absorbancia sean reproductibles, la fase orgánica ha de estar totalmente transparente y libre de agua; lo cual puede favorecerse mediante centrifugación (2). El efecto de la centrifugación en las medidas de absorción de la fase orgánica se estudió en el complejo atropamina-azul de bromotimol. El estudio se realizó efectuando experiencias a distintas concentraciones de amina desde 0,16 a $1,28 \cdot 10^{-4} M$ en exceso de azul de bromotimol. Se efectuaron dos series de experiencias, una con centrifugación y otra en la cual se sustituyó la centrifugación por el reposo de las dos fases durante unas tres horas.

- Reacciones laterales

Cuando el anión monovalente del azul de bromotimol reacciona con bases de amonio cuaternario o aminas en su forma catiónica, es posible que a la vez que se produce esta interacción, se produzca otra con otros cationes presentes en la fase acuosa. En las condiciones experimentales en que se realiza la obtención de los complejos de azul de bromotimol, únicamente el ión sodio

puede reaccionar con el anión monovalente del colorante y ser extraído como sal sódica por la fase orgánica (28), constituyendo ésta la única reacción lateral posible puesto que es éste el único catión presente en la fase acuosa.

El estudio de esta reacción lateral se efectúa realizando la extracción de 5ml de disolución de azul de bromotimol en tampones de diferentes valores de pH, con 10 ml de cloroformo. Los valores de absorbancia de la fase orgánica a 410 nm, longitud de onda en que la sal sódica del colorante presenta su máxima absorción, fueron medidos frente a cloroformo puro.

Otra posible reacción lateral, la constituye la posible extracción de colorante libre, proceso que puede considerarse más que una reacción lateral en sí, una consecuencia del tipo de técnica que se opera (dos fases), dada la alta solubilidad del colorante libre (en su forma no disociada) en la fase orgánica. Este estudio ha sido realizado ya en el apdo. 3.3.2.

- Efectos del tiempo y temperatura en la estabilidad de los complejos.

El efecto de estos dos factores en la estabilidad de los complejos se ha estudiado a partir de 50ml de disolución de amina $6,4 \cdot 10^{-5} M$ en tampón de fosfato de pH 7,50, los cuales se hicieron reaccionar con azul de bromotimol en exceso ($4,8 \cdot 10^{-4} M$) y el complejo formado fué extraído con 100ml de cloroformo. Ambas fases fueron agitadas mediante un agitador magnético y después se separaron por centrifugación y se recogió una porción de unos 50ml de la fase orgánica, que se dividió en dos porciones de 25 ml, y se introdujeron en dos baños termostatados a las temperaturas de 20 y 40 °C. Finalmente, se efectuaron medidas de absorbancia de las disoluciones a 410nm a diferentes intervalos de tiempo.

3.6.3.3. Constantes de extracción

Se han seguido los principios metodológicos dados en el apartado 3.6.3.2., que se irán resumiendo brevemente junto con las particularidades que ofrece una metodología encaminada

a esclarecer los equilibrios dados por las ecuaciones -58- y -60-.

- Preparación de los tampones

Las disoluciones tampones utilizadas han de cubrir márgenes de pH entre 7,5 y 10 y, como los tampones utilizados han de contener ión sodio como único catión a concentración límite de 0,1M, se utilizó el tampón constituido por fosfato monosódico e hidróxido sódico 0,1M, mezclados en cantidad convenientemente adecuada hasta el pH deseado y teniendo en cuenta que la capacidad de amortiguación es aceptable entre pH 5,8 y 8.

Cuando se requirió pH más alto con buena capacidad amortiguadora se utilizó la disolución tampón constituida por borato sódico 0,1M e hidróxido sódico 0,1M, mezclados en cantidad conveniente hasta el pH deseado que proporciona buena capacidad amortiguadora entre pH 8 y 10. El pH final de todas las disoluciones fué medido mediante un potenciómetro.

- Preparación de disoluciones

Por lo general todas las disoluciones se prepararon por simple solución, puesto que las sustancias estudiadas fueron generalmente solubles en los disolventes empleados.

Las disoluciones de azul de bromotimol se prepararon a partir de una solución madre de colorante en agua 10^{-2} M. Esta fué preparada disolviendo 0,6244 g de colorante en cantidad equivalente de hidróxido sódico 0,1M, mediante calentamiento y agitación magnética. A partir de esta disolución concentrada, diluyendo convenientemente en tampones de pH deseado en cada ensayo se obtuvieron las disoluciones tamponadas de colorante válidas para efectuar las experiencias.

Para la preparación de las disoluciones clorofórmicas de azul de bromotimol se partió de una disolución concentrada 10^{-2} M disolviendo 0,6244 g de colorante en 100ml de cloroformo. Todas las disoluciones clorofórmicas empleadas se obtuvieron por dilución de esta en cloroformo puro.

- Determinación de constantes de extracción

Por lo general, como se dijo anteriormente, son válidos los principios de método dados en el apartado 3.6.3.2., si bien las concentraciones de amina y colorante han de ser comparables al objeto de calcular finamente las constantes de extracción. Por otra parte, el pH de la fase acuosa debe ser 7,50 o más alto para minimizar las reacciones laterales del colorante.

- Determinación de las constantes de reacción a distintas concentraciones de reactivo

Todas las experiencias que a continuación vamos a exponer tienen por objeto determinar las constantes del equilibrio de reparto de los pares iónicos constituidos por el anión monovalente del azul de bromotimol, XH^- , y los medicamentos ensayados en su forma catiónica. Todas las determinaciones se efectuaron a pH 7,50 o más alto, usando tampones de fosfato o borato, cuya fuerza iónica osciló entre 0,1 y 0,15. Se utilizaron fases acuosas tamponadas que contenían casi siempre la amina y colorante en una razón de concentraciones próxima a la estequiométrica, en ligero exceso de uno y otro reactivo (amina o ión de amonio cuaternario y azul de bromotimol).

Las experiencias han sido efectuadas en tubos de centrifuga que contenían, prácticamente siempre, idénticos volúmenes de fase acuosa tamponada y cloroformo. Ambas fases se agitaron dos min. en el interior de dichos tubos de centrifuga introducidos en un baño termostatado a $20 \pm 0,1^\circ C$. Tras la agitación, ambas fases se separaron mediante centrifugación, y se tomó una porción de la fase orgánica, con una jeringa provista de una aguja de teflón, y se depositó en una cubeta de cuarzo de 1cm de espesor, midiéndose su absorbancia a 410 nm, longitud de onda donde los 25 complejos amina o base de amonio cuaternario-azul de bromotimol presentan su máxima absorción óptica. Se utilizó como blanco cloroformo puro.

En muchos casos también se tomó una porción de la fase acuosa, normalmente de 2 a 5ml, la cual fué diluída convenientemente con hidróxido sódico 0,1M. A este pH el azul de

bromotimol presenta su máxima absorción a 615nm, que corresponde al anión divalente X^{2-} .

Seguidamente se midió el pH de la fase acuosa en cada experiencia de reparto de los complejos, después de la separación de las fases, introduciendo el bulbo del electrodo combinado en el interior de la fase acuosa estando presente la fase orgánica.

Por lo general todas estas experiencias se hicieron a un mismo pH y diferentes concentraciones de medicamentos y azul de bromotimol.

- Determinación de las constantes de extracción a distintos valores de pH

La metodología aquí desarrollada puede simplificarse mucho utilizando en la fase acuosa disoluciones tamponadas de amina, todas ellas de idéntica concentración pero diferente pH, y en la fase orgánica idéntico volumen de disolución clorofórmica de azul de bromotimol de concentración igual ó comparable a la del medicamento.

Las disoluciones de amina se preparan a partir de una solución concentrada por dilución de la misma en tampones de diferentes valores de pH entre 7,5 y 10. La disolución clorofórmica de colorante también se prepara a partir de una solución concentrada del mismo en cloroformo.

Por lo demás la metodología difiere poco de la descrita en el apartado anterior. Análogamente, las concentraciones de amina en la fase acuosa y de colorante en la orgánica son comparables ó próximas a la estequiométrica.

Las experiencias se realizan también en tubos de centrifuga, donde ambas fases con amina ó ión de amonio cuaternario y azul de bromotimol se agitaron durante dos min. en el interior del tubo a 20°C y se separaron posteriormente mediante centrifugación. Se recogió una porción de la fase orgánica, mediante una jeringa con la aguja de teflón, que se introduce en una cubeta

de cuarzo para medir su absorbancia a 410 nm frente a cloroformo puro. El pH exacto de la fase acuosa se midió siempre después de la extracción de los complejos de igual forma que en el apartado anterior.

3.6.3.4. Influencia del pH en el equilibrio de formación-extracción de los complejos

La realización de estas experiencias se efectúa de acuerdo con los principios de método dados anteriormente (preparación de disoluciones, tiempo de agitación, separación de las fases, etc.); si bien el procedimiento se modifica convenientemente para abordar el estudio del efecto del pH en la extracción de los complejos medicamento-azul de bromotimol objeto de estudio en la presente memoria.

Las disoluciones tampón se preparan utilizando siempre como disolución de partida fosfato monosódico 0,1M. La zona alcalina se consigue mezclando convenientemente dicha disolución con hidróxido sódico 0,1M, lo que proporciona pH variable desde 4,5 a 10. Sin embargo, la zona de amortiguación abarca sólo desde 5,5 a 8, como es sabido, lo cual ha de tenerse en cuenta. La zona ácida se consigue mezclando fosfato monosódico 0,1M con cantidad conveniente de ácido clorhídrico 0,1M para obtener pH entre 2 y 4,5, si bien no toda esta zona de pH proporciona buena capacidad de amortiguación. La fuerza iónica de los tampones así preparados no es la misma a todos los pH, si bien aproximadamente puede considerarse que oscila entre 0,1 y 0,15. Operando de esta forma se consiguen pH comprendidos entre 2 y 10.

El método aquí empleado se simplifica enormemente preparando en primer lugar, los tampones anteriores en volumen de medio litro cada uno. Después se dispone una disolución de medicamento 5 veces más concentrada que la que se va a utilizar en los ensayos y se diluye, tomando 5ml y enrasando con tampón de cada pH en un matraz aforado de 25ml. La concentración final obtenida para los principios activos ensayados osciló entre $0,5-1,5 \cdot 10^{-4}M$. Se utilizó para cada medicamento idéntica concentración y diferentes valores de pH. El azul de bromotimol se adiciona disuelto en cloroformo con concentración de $0,5 \cdot 10^{-4}M$.

Las disoluciones de medicamento, a cada pH, se mezclaron con las de colorante en cloroformo en idénticos volúmenes de 10 ml en tubos de centrífuga de 25ml, donde se agitaron durante 2min. mediante un espárrago de teflón terminado en un aspa que gira a velocidad controlable mediante un motor eléctrico. Los tubos de centrífuga se introdujeron en un baño termostatado a $20 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$, antes y durante la agitación. Después de la agitación las dos fases se separan mediante centrifugación. Se midió el pH exacto de cada experiencia introduciendo el electrodo en la fase acuosa en presencia de la fase orgánica. A continuación, se tomó una porción de la fase orgánica, mediante una jeringa provista de aguja de teflón, y se introdujo en una célula de cuarzo de 1cm de espesor midiéndose su absorbancia a 410 nm, longitud de onda donde todos estos complejos presentan su máxima absorción. En todos los casos se utilizó como blanco cloroformo puro.

Mediante este proceder puede estudiarse el efecto del pH en la extracción de los complejos a través de medidas de absorbancia en la fase orgánica.



4. RESULTADOS

4.1. Constantes de disociación ácida

4.1.1. Valoración de las disoluciones de KOH y ClH

A partir de los resultados de la valoración de la disolución de KOH usada en la titulación de sales de aminas y del ácido clorhídrico en la valoración de la tropina base, se obtuvo la representación de pH leído frente a ml de disolución de KOH ó ClH. Del punto de inflexión de estas curvas de valoración se dedujo la concentración de estas disoluciones, las cuales se hacen constar en cabeza de las tablas I a XXXIX

4.1.2. Valoración de aminas monoácidas

En las tablas I a XXXV se incluyen los resultados experimentales de estas titulaciones, junto con los cálculos parciales que conducen a la obtención de la constante de disociación ácida, pKa, que se da al final de las tablas.

Para los cálculos de pKa de las aminas, después de cada adición de álcali, se corrigió la concentración de ácido C_a , para el volumen total, que viene dado por la siguiente ecuación

$$C_a = \frac{C_a^0 \cdot V_{\text{inicial}}}{V_{\text{inicial}} + V_{\text{KOH}}} \quad -61-$$

donde C_a^0 es la concentración inicial de amina, V_{inicial} el volumen de disolución de amina a valorar y V_{KOH} el volumen de álcali añadido.

La concentración estequiométrica de la amina en su forma básica B (concentración de amina neutralizada, en el supuesto que todo el álcali añadido reaccione para neutralizar la sal de amina) se ha calculado a partir de los ml de álcali añadidos de acuerdo con la ecuación -16-

La concentración estequiométrica de la especie BH^+

se calculó por diferencia entre la concentración de ácido C y la de la especie B de acuerdo con la ecuación -15-.

En aquellas valoraciones en que los valores de pH no estuvieron comprendidos entre 4 y 10, las concentraciones de las especies B y BH^+ no coinciden con las estequiométricas de las mismas, y por ello se han obtenido de estas últimas mediante una corrección en la que se ha tenido en cuenta la actividad de los iones hidroxilo en cada punto de la valoración, de acuerdo con las ecuaciones -13- y -14-. Las actividades de los iones hidroxilo, a_{OH^-} , después de cada adición de álcali, se calcularon a partir del valor del pH y el producto iónico del agua a la temperatura de la experiencia ($pK_w = 14,17$ a $20^\circ C$). Conocida esta se obtuvo la concentración de la especie B mediante la siguiente ecuación

$$[B]_{\text{corregida}} = [B] - a_{OH^-} \quad -62-$$

De igual forma la concentración de $[BH^+]$, se obtuvo de la siguiente ecuación

$$[BH^+]_{\text{corregida}} = [BH^+] + a_{OH^-} \quad -63-$$

Cuando la actividad de iones hidroxilo fué muy pequeña, como sucede a valores de pH comprendidos entre 4 y 10, no se efectuaron dichas correcciones por ser despreciables.

Conocidas las concentraciones de B y BH^+ se calcularon los valores de pK_a a partir de la ecuación de Henderson-Hasselbalch mediante la suma de pH y log C ($\log [BH^+] + a_{OH^-} / [B] - a_{OH^-}$).

En las tablas I a XXXV se resumen los cálculos efectuados para las determinaciones de pK_a de las aminas monoácidas ensayadas. Al final de las mismas se pone el valor medio del pK_a obtenido por dicho método algebraico.

Determinación de la constante de disociación ácida del clorhidrato de atropamina. Peso molecular 307,85. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 40 ml. T = 20°C. Fuerza iónica sin ajustar. KOH = 0,86 M.

ml KOH	pH	IBI 10^3	IBH ⁺ 10^3	$a_{OH^-} 10^5$	C	log C	pK _a
0,00	5,36	0,00	10,00	---	---	---	---
0,04	9,08	0,86	9,13	---	10,72	1,03	10,11
0,08	9,45	1,72	8,26	1,90	4,86	0,69	10,13
0,12	precipita						

$$pK_a = 10,12 \pm 0,01 \text{ (media de 2 valores)}$$

TABLA II

Determinación de la constante de disociación ácida del clorhidrato de atropamina. Peso molecular 307,85. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 40 ml. T = 20°C. Fuerza iónica 0,15 (ajustada con disolución de ClK). KOH = 0,87 M.

ml KOH	pH	IBI 10^3	IBH ⁺ 10^3	$a_{OH^-} 10^5$	C	log C	pK _a
0,00	5,38	0,00	10,00	---	---	---	---
0,02	8,76	0,43	9,56	---	21,98	1,34	10,10
0,04	9,35	0,87	9,12	1,51	10,69	1,03	10,37
0,06	9,57	1,30	8,68	2,51	6,83	0,83	10,40
0,08	9,71	1,74	8,24	3,47	4,87	0,69	10,39
0,10	precipita						

$$pK_a = 10,39 \pm 0,02 \text{ (media de 3 valores)}$$

TABLA III

Determinación de la constante de disociación ácida del clorhidrato de atropina. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial: 40 ml. T = 20°C. Fuerza iónica sin ajustar. KOH 0,86M.

ml KOH	pH	$[BH^+]_a$	$[B]_a$	α_{BH^+} $\times 10^5$	C	log C	pK_a
0,00	5,59	10,00	0,00	--	---	---	---
0,04	9,03	9,13	0,83	--	10,61	1,02	10,05
0,08	9,37	8,26	1,72	1,5	4,86	0,68	10,05
0,12	9,61	7,40	2,57	2,7	2,92	0,46	10,07
0,16	9,80	6,53	3,43	4,2	1,94	0,28	10,08
0,20	9,96	5,67	4,28	6,1	1,36	0,13	10,08
0,24	10,14	4,81	5,13	9,3	0,97	-0,01	10,12
0,28	10,32	3,95	5,98	14,1	0,70	-0,15	10,16
0,32	10,52	3,10	6,82	22,4	0,50	-0,29	10,23
0,36	10,74	2,24	7,67	37,1	0,35	-0,44	10,29
0,40	11,00	1,39	8,51	67,6			

$$pK_a = 10,06 \pm 0,02 \text{ (media de 5 valores)}$$

* $\times 10^3$

TABLA IV

Determinación de la constante de disociación ácida del clorhidrato de atropina. Peso molecular 325,84. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial: 75 ml. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica 0,02 (ajustada con disolución de ClK). $\text{KOH} = 0,55\text{M}$.

ml KOH	pH	$ \text{B} \cdot 10^3$	$ \text{BH}^+ \cdot 10^3$	$a_{\text{OH}^-} \cdot 10^5$	C	log C	pK_a
0,00	5,50	0,00	10,00	---	---	---	---
0,10	8,90	0,73	9,25	--	12,67	1,10	10,00
0,20	9,27	1,46	8,51	1,26	5,89	0,74	10,04
0,30	9,49	2,19	7,77	2,09	3,59	0,55	10,04
0,40	9,66	2,91	7,03	3,09	2,45	0,39	10,05
0,50	9,80	3,64	6,29	4,26	1,76	0,24	10,04
0,60	9,93	4,36	5,56	5,75	1,30	0,12	10,05
0,70	10,07	5,08	4,82	7,94	0,98	-0,01	10,06
0,80	10,19	5,80	4,09	10,50	0,74	-0,13	10,06
0,90	10,32	6,52	3,36	14,10	0,55	-0,26	10,06
1,00	10,45	7,23	2,64	19,10	0,40	-0,40	10,05
1,10	10,59	7,95	1,91	26,30	0,28	-0,55	10,04
1,20	10,75	8,66	1,18	38,00	0,18	-0,74	10,05
1,30	10,92	9,37	0,46	56,20	0,12	-0,93	9,98
1,40	11,14						

$$\text{pK}_a = 10,05 \pm 0,01 \text{ (media de 11 valores)}$$

TABLA V

Determinación de la constante de disociación ácida del clorhidrato de atropina. Peso molecular 325,84. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial: 35 ml. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica 0,05 (ajustada con disolución de ClK). KOH = 0,55 M.

ml KOH	pH	$ B 10^3$	$ BH^+ 10^3$	$a_{\text{OH}^-}10^5$	C	log C	pK_a
0,00	5,75	0,00	10,00	- - -	- - -	- - -	- - -
0,05	9,07	0,78	9,21	- - -	11,80	1,07	10,14
0,10	9,41	1,57	8,40	1,74	5,42	0,73	10,14
0,15	9,63	2,35	7,61	2,88	3,29	0,52	10,15
0,20	9,81	3,13	6,81	4,37	2,22	0,35	10,17
0,25	9,95	3,90	6,03	6,03	1,59	0,20	10,15
0,30	10,11	4,67	5,25	8,70	1,16	0,07	10,18
0,36	10,27	5,60	4,30	1,26	0,77	-0,11	10,16
0,40	10,37	6,21	3,68	15,80	0,63	-0,20	10,17
0,45	10,51	6,98	2,89	21,90	0,46	-0,34	10,17
0,50	10,67	7,75	2,11	31,60	0,33	-0,49	10,18
0,55	10,84	8,51	1,34	46,80	0,23	-0,65	10,19
0,60	11,05	9,27	0,56	75,90	0,15	-0,81	10,24
0,70	11,41						

$$pK_a = 10,17 \pm 0,02 \text{ (media de 8 valores)}$$

TABLA VI

Determinación de la constante de disociación ácida del clorhidrato de atropina. Peso molecular 325,84. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 75 ml. T = 20°C. Fuerza iónica 0,08 (ajustada con disolución de ClK). KOH = 0,55 M.

ml KOH	pH	$IB \cdot 10^3$	$IBH^+ \cdot 10^3$	$a_w \cdot 10^5$	C	log C	pK_a
0,00	5,56	0,00	10,00	---	---	---	---
0,10	9,05	0,73	9,25	--	12,67	1,10	10,15
0,20	9,44	1,46	8,51	1,86	5,91	0,77	10,21
0,30	9,61	2,19	7,77	2,75	3,60	0,56	10,17
0,40	9,78	2,91	7,03	4,07	2,46	0,39	10,17
0,50	9,93	3,64	6,29	5,75	1,77	0,25	10,18
0,60	10,07	4,36	5,56	7,94	1,31	0,12	10,19
0,70	10,20	5,08	4,82	10,70	0,99	0,00	10,20
0,80	10,32	5,80	4,09	14,10	0,75	-0,13	10,19
0,90	10,45	6,52	3,36	19,00	0,56	-0,25	10,20
1,00	10,59	7,23	2,64	26,30	0,42	-0,38	10,21
1,10	10,73	7,95	1,91	36,30	0,30	-0,52	10,21
1,20	10,90	8,66	1,18	53,70	0,21	-0,67	10,22
1,30	11,09	9,37	0,46	83,10	0,15	-0,82	10,27
1,40	11,27						

$$pK_a = 10,19 \pm 0,02 \text{ (media de 10 valores)}$$

TABLA VII

Determinación de la constante de disociación ácida del clorhidrato de de atropina. Peso molecular 325,84. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial: 75 ml. T = 20°C. Fuerza iónica 0,15 (ajustada con disolución de ClK). KOH = 0,55 M.

ml KOH	pH	$IBI \cdot 10^3$	$IBH^+ \cdot 10^3$	$a_{OH} \cdot 10^5$	C	log C	pK_a
0,00	5,60	0,00	10,00	---	---	---	---
0,10	9,06	0,73	9,25	--	12,67	1,10	10,16
0,20	9,41	1,46	8,51	1,73	5,91	0,77	10,18
0,30	9,64	2,19	2,77	2,95	3,61	0,56	10,20
0,40	9,80	2,91	7,03	4,26	2,47	0,39	10,19
0,50	9,95	3,64	6,29	6,02	1,77	0,25	10,20
0,60	10,10	4,36	5,56	8,51	1,32	0,12	10,22
0,70	10,22	5,08	4,82	11,20	0,99	0,00	10,22
0,80	10,34	5,80	4,09	14,80	0,75	-0,12	10,21
0,90	10,47	6,52	3,36	20,00	0,56	-0,25	10,22
1,00	10,60	7,23	2,64	26,90	0,42	-0,38	10,22
1,10	10,73	7,95	1,91	36,30	0,30	-0,52	10,21
1,20	10,88	8,66	1,18	51,30	0,21	-0,68	10,20
1,30	11,06	9,37	0,46	77,60	0,14	-0,84	10,21
1,40	11,23						

$$pK_a = 10,21 \pm 0,01 \text{ (media de 11 valores)}$$

TABLA VIII

Determinación de la constante de disociación ácida del clorhidrato de atropina. Peso molecular 325,84. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 40 ml. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica 0,50 (ajustada con disolución de cloruro potásico). $K_{OH} = 0,86$.

ml KOH	pH	$ B 10^3$	$ BH^+ 10^3$	$a_{OH}10^5$	C	log C	pK_a
0,00	5,85	0,00	10,00	---	---	---	---
0,04	9,32	0,86	9,13	1,41	10,80	1,03	10,35
0,08	9,63	1,72	8,26	2,88	4,90	0,69	10,32
0,12	9,84	2,57	7,40	4,68	2,95	0,47	10,31
0,16	10,02	3,43	6,53	7,08	1,96	0,29	10,31
0,20	10,16	4,28	5,67	9,77	1,38	0,14	10,30
0,24	10,29	5,13	4,81	13,20	0,99	0,00	10,29
0,28	10,42	5,98	3,95	17,80	0,71	-0,15	10,27
0,32	10,55	6,82	3,10	24,00	0,51	-0,29	10,26
0,36	10,69	7,67	2,24	33,10	0,35	-0,46	10,23
0,40	10,83	8,51	1,39	45,70	0,23	-0,64	10,19
0,44	11,00						

$$pK_a = 10,28 \pm 0,03 \text{ (media de 6 valores)}$$

TABLA IX

Determinación de la constante de disociación ácida del bromhidrato de escopolamina. Peso molecular 438, 34. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 75 ml. T = 20°C. Fuerza iónica sin ajustar. KOH = 0,55M.

ml KOH	pH	$ B 10^3$	$ BH^+ 10^3$	C	log C	pK_a
0,00	4,81	0,00	10,00	- - -	- - -	- - -
0,10	6,60	0,73	9,25	12,67	1,10	7,70
0,20	7,00	1,46	8,51	5,83	0,77	7,77
0,30	7,21	2,19	7,77	3,55	0,55	7,76
0,40	7,40	2,91	7,03	2,41	0,38	7,78
0,50	7,56	3,64	6,29	1,73	0,24	7,80
0,60	7,70	4,36	5,56	1,28	0,11	7,81
0,70	7,84	5,08	4,82	0,95	-0,02	7,82
0,80	7,98	5,80	4,09	0,71	-0,15	7,83
0,90	8,13	6,52	3,36	0,52	-0,29	7,84
1,00	8,28	7,23	2,64	0,37	-0,44	7,84
1,05	8,45	7,95	1,91	0,24	-0,62	7,83
1,20	8,64	8,66	1,18	0,14	-0,87	7,77
1,30	8,92	9,37	0,46	0,05	-1,31	7,61
1,40	9,45					

$$pK_a = 7,81 \pm 0,04 \text{ (media de 10 valores)}$$

TABLA X

Determinación de la constante de disociación ácida del bromhidrato de escopolamina. Peso molecular 438,34. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 75 ml. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica 0,15 (ajustada con disolución de ClK. KOH = 0,55 M.

ml KOH	pH	$ \text{B} 10^3$	$ \text{BH}^+ 10^3$	C	log C	pK_a
0,00	5,21	0,00	10,00	---	---	---
0,10	6,95	0,73	9,25	12,67	1,10	8,05
0,20	7,28	1,46	8,51	5,83	0,77	8,05
0,30	7,51	2,19	7,77	3,55	0,55	8,06
0,40	7,67	2,91	7,03	2,41	0,38	8,05
0,50	7,81	3,64	6,29	1,73	0,24	8,05
0,60	7,94	4,36	5,56	1,28	0,11	8,05
0,70	8,07	5,08	4,82	0,95	-0,02	8,05
0,80	8,20	5,80	4,09	0,71	-0,15	8,05
0,90	8,32	6,52	3,36	0,52	-0,29	8,03
1,00	8,45	7,23	2,64	0,37	-0,04	8,01
1,10	8,59	7,95	1,91	0,24	-0,62	7,97
1,20	8,77	8,76	1,18	0,14	-0,87	7,90
1,30	9,01	9,37	0,46	0,05	-1,31	7,70
1,40	9,42					

$$\text{pK}_a = 8,05 \pm 0,02 \text{ (media de 9 valores)}$$

TABLA XI

Determinación de la constante de disociación ácida del bromhidrato de escopolamina -N-óxido. Peso molecular 418,26. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 75 ml. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica sin ajustar. $\text{KOH} = 0,55$ M.

ml KOH	pH	$ \text{B} 10^3$	$ \text{BH}^+ 10^3$	C	log C	pK_a
0,00	3,90	0,00	10,00	---	---	---
0,10	4,61	0,73	9,25	12,67	1,10	5,71
0,20	4,95	1,46	8,51	5,83	0,77	5,72
0,30	5,18	2,19	7,77	3,55	0,55	5,73
0,40	5,35	2,91	7,03	2,41	0,38	5,73
0,50	5,49	3,64	6,29	1,73	0,24	5,73
0,60	5,62	4,36	5,56	1,28	0,11	5,73
0,70	5,75	5,08	4,82	0,95	-0,02	5,73
0,80	5,88	5,80	4,09	0,71	-0,15	5,73
0,90	6,04	6,52	3,36	0,52	-0,29	5,75
1,00	6,19	7,23	2,64	0,37	-0,44	5,75
1,10	6,39	7,95	1,91	0,24	-0,62	5,77
1,20	6,65	8,66	1,18	0,14	-0,87	5,78
1,30	7,21	9,37	0,46	0,05	-1,31	5,90
1,40	10,47					

$$\text{pK}_a = 5,73 \pm 0,02 \text{ (media de 9 valores)}$$

TABLA XII

Determinación de la constante de disociación ácida del bromhidrato de escopolamina-N-óxido. Peso molecular 418,26. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 75 ml. T = 20°C. Fuerza iónica 0,15 (ajustada con disolución de ClK). KOH = 0,55 M.

ml KOH	pH	$ B 10^3$	$ BH^+ 10^3$	C	log C	pK_a
0,00	4,03	0,00	10,00	---	---	---
0,10	4,79	0,73	9,25	12,67	1,10	5,89
0,20	5,12	1,46	8,51	5,83	0,77	5,89
0,30	5,33	2,19	7,77	3,55	0,55	5,89
0,40	5,49	2,91	7,03	2,41	0,38	5,87
0,50	5,64	3,64	6,29	1,73	0,24	5,88
0,60	5,77	4,36	5,56	1,28	0,11	5,88
0,70	5,89	5,08	4,82	0,95	-0,02	5,87
0,80	6,02	5,80	4,09	0,71	-0,15	5,87
0,90	6,16	6,52	3,36	0,52	-0,29	5,87
1,00	6,31	7,23	2,64	0,37	-0,44	5,87
1,10	6,48	7,95	1,91	0,24	-0,92	5,86
1,20	6,69	8,66	1,18	0,14	-0,87	5,82
1,30	7,10	9,37	0,46	0,05	-1,31	5,79
1,40	9,46					

$$pK_a = 5,88 \pm 0,01 \text{ (media de 10 valores)}$$

TABLA XIII

Determinación de la constante de disociación ácida del bromhidrato de escopolina. Peso molecular 236,11. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 50 ml. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica sin ajustar. $\text{KOH} = 0,55$ M.

ml KOH	pH	$ \text{B} \cdot 10^3$	$ \text{BH}^+ \cdot 10^3$	$a_{\text{OH}^-} \cdot 10^5$	C	log C	pK_a
0,00	5,26	0,00	10,00	---	---	---	---
0,10	7,81	1,10	8,88	---	8,07	0,91	8,72
0,20	8,20	2,19	7,77	---	3,52	0,55	8,75
0,30	8,44	3,28	6,66	---	2,03	0,31	8,75
0,40	8,64	4,36	5,56	---	1,27	0,11	8,75
0,50	8,84	5,44	4,46	---	0,82	-0,09	8,75
0,60	9,06	6,52	3,36	---	0,51	-0,29	8,77
0,70	9,28	7,59	2,27	1,29	0,30	-0,52	8,76
0,80	9,60	8,66	1,18	2,69	0,14	-0,85	8,74
0,90	10,21	9,72	0,10	11,00	0,02	-1,66	8,55
1,00	11,07						

$$\text{pK}_a = 8,75 \pm 0,01 \text{ (media de 6 valores)}$$

TABLA XIV

Determinación de la constante de disociación ácida del bromhidrato de escopolina. Peso molecular 236,11. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 75 ml. T = 20°C. Fuerza iónica 0,02 (ajustada con disolución de ClK). KOH = 0,55 M.

ml KOH	pH	$ B 10^3$	$ BH^+ 10^3$	$a_{OH^-} \cdot 10^5$	C	log C	pK_a
0,00	5,38	0,00	10,00	- - -	- - -	-----	- - - -
0,20	8,05	1,46	8,51	- - -	5,83	0,77	8,82
0,30	8,26	2,19	7,77	- - -	3,55	0,55	8,81
0,45	8,51	3,28	6,66	- - -	2,03	0,31	8,82
0,60	8,71	4,36	5,56	- - -	1,28	0,11	8,82
0,75	8,90	5,44	4,46	- - -	0,82	-0,09	8,81
0,90	9,11	6,52	3,36	- - -	0,52	-0,29	8,82
1,00	9,26	7,23	2,64	1,23	0,37	-0,43	8,82
1,10	9,44	7,95	1,91	1,86	0,24	-0,61	8,83
1,20	9,68	8,66	1,18	3,23	0,14	-0,85	8,83
1,30	10,06	9,37	0,46	7,76	0,06	-1,24	8,82
1,40	10,69						

$$pK_a = 8,82 \pm 0,01 \text{ (media de 10 valores)}$$

TABLA XV

Determinación de la constante de disociación ácida del bromhidrato de escopolina. Peso molecular 236,11. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 75 ml. T = 20°C. Fuerza iónica 0,04 (ajustada con disolución de ClK). KOH=0,55M.

ml KOH	pH	$[B]10^3$	$[BH^+]10^3$	$a_{\text{H}^+}10^5$	C	log C	pK_a
0,00	5,39	0,00	10,00	- - -	- - -	- - -	- - -
0,10	7,69	0,73	9,25	- - -	12,67	1,10	8,79
0,20	8,06	1,46	8,51	- - -	5,82	0,76	8,82
0,30	8,29	2,19	7,77	- - -	3,55	0,55	8,84
0,40	8,45	2,91	7,03	- - -	2,51	0,40	8,85
0,50	8,60	3,64	6,29	- - -	1,73	0,24	8,84
0,60	8,72	4,36	5,56	- - -	1,27	0,11	8,83
0,70	8,85	5,08	4,82	- - -	0,95	-0,02	8,83
0,80	8,98	5,80	4,09	- - -	0,70	-0,15	8,83
0,90	9,13	6,52	3,36	- - -	0,51	-0,29	8,84
1,00	9,27	7,23	2,64	1,26	0,36	-0,43	8,83
1,10	9,44	7,95	1,91	1,86	0,24	-0,61	8,83
1,20	9,66	8,66	1,18	3,09	0,14	-0,85	8,81
1,30	9,98	9,37	0,46	6,46	0,06	-1,22	8,76
1,40	10,57						

$$pK_a = 8,83 \pm 0,01 \text{ (media de 8 valores)}$$

TABLA XVI

Determinación de la constante de disociación ácida del bromhidrato de escopolina. Peso molecular 236,11. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 75 ml. T = 20°C. Fuerza iónica 0,06 (ajustada con disolución de ClK). KOH = 0,55 M.

ml KOH	pH	$ B \cdot 10^3$	$ BH^+ \cdot 10^3$	$a_{\text{OH}^-} \cdot 10^5$	C	log C	pK_a
0,00	5,39	0,00	10,00	---	---	---	---
0,10	7,71	0,73	9,25	--	12,67	1,10	8,81
0,20	8,08	1,46	8,51	--	5,82	0,76	8,84
0,30	8,30	2,19	7,77	--	3,55	0,55	8,85
0,40	8,48	2,91	7,03	--	2,51	0,40	8,88
0,50	8,62	3,64	6,29	--	1,73	0,24	8,86
0,60	8,75	4,36	5,56	--	1,27	0,11	8,86
0,70	8,88	5,08	4,82	--	0,95	-0,02	8,86
0,80	9,03	5,80	4,09	--	0,70	-0,15	8,88
0,90	9,16	6,52	3,36	--	0,51	-0,29	8,87
1,00	9,31	7,23	2,64	1,38	0,37	-0,43	8,88
1,10	9,48	7,95	1,91	2,04	0,24	-0,62	8,86
1,20	9,71	8,66	1,18	3,47	0,14	-0,85	8,86
1,30	10,06	9,37	0,46	7,76	0,06	-1,24	8,82
1,40	10,64						

$$pK_a = 8,86 \pm 0,02 \text{ (media de 11 valores)}$$

TABLA XVII

Determinación de la constante de disociación ácida del bromhidrato de escopolina. Peso molecular 236,11. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 75 ml. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica 0,08 (ajustada con disolución de ClK). $\text{KOH} = 0,55$ M.

ml KOH	pH	$ \text{B} 10^3$	$ \text{BH}^+ 10^3$	$a_{\text{Cl}^-}10^5$	C	log C	pK_a
0,00	5,45	0,00	10,00	---	---	---	---
0,10	7,67	0,73	9,25	---	12,67	1,10	8,77
0,20	8,06	1,46	8,51	---	5,82	0,76	8,82
0,30	8,29	2,19	7,77	---	3,55	0,55	8,84
0,40	8,47	2,91	7,03	---	2,51	0,40	8,87
0,50	8,61	3,64	6,29	---	1,73	0,24	8,85
0,60	8,75	4,36	5,56	---	1,27	0,11	8,86
0,70	8,88	5,08	4,82	---	0,95	-0,02	8,86
0,80	9,02	5,80	4,09	---	0,70	-0,15	8,87
0,90	9,15	6,52	3,36	---	0,51	-0,29	8,86
1,00	9,30	7,23	2,64	1,35	0,37	-0,43	8,87
1,10	9,47	7,95	1,91	1,99	0,24	-0,61	8,86
1,20	9,68	8,66	1,18	3,24	0,14	-0,85	8,82
1,30	9,99	9,37	0,46	6,61	0,06	-1,25	8,74
1,40	10,53						

$$\text{pK}_a = 8,86 \pm 0,01 \text{ (media de 8 valores)}$$

TABLA XVIII

Determinación de la constante de disociación ácida del bromhidrato de escopolina. Peso molecular 236,11. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 75 ml. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica 0,15 (ajustada con disolución de ClK). KOH 0,55 M.

ml KOH	pH	$ \text{B} \cdot 10^3$	$ \text{BH}^+ \cdot 10^3$	$a_{\text{H}^+} \cdot 10^5$	C	log C	pK_a
0,00	5,49	0,00	10,00	- - -	- - -	- - -	- - -
0,10	7,80	0,73	9,25	- - -	12,67	1,10	8,90
0,20	8,17	1,46	8,51	- - -	5,82	0,76	8,93
0,30	8,39	2,19	7,77	- - -	3,55	0,55	8,94
0,40	8,57	2,91	7,03	- - -	2,51	0,40	8,97
0,50	8,71	3,64	6,29	- - -	1,73	0,24	8,95
0,60	8,85	4,36	5,56	- - -	1,27	0,11	8,96
0,70	8,98	5,08	4,82	- - -	0,95	-0,02	8,96
0,80	9,13	5,80	4,09	- - -	0,70	-0,15	8,98
0,90	9,26	6,52	3,36	- - -	0,51	-0,29	8,97
1,00	9,41	7,23	2,64	1,74	0,37	-0,43	8,98
1,10	9,59	7,95	1,91	2,63	0,24	-0,61	8,98
1,20	9,81	8,66	1,18	4,36	0,14	-0,85	8,96
1,30	10,17	9,37	0,46	10,00	0,06	-1,22	8,95
1,40	10,72						

$$\text{pK}_a = 8,97 \pm 0,02 \text{ (media de 10 valores)}$$

TABLA XIX

Determinación de la constante de disociación ácida del bromhidrato de escopolina. Peso molecular 236,11. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 40 ml. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica 0,30 (ajustada con disolución de cloruro potásico) KOH = 0,86 M.

ml KOH	pH	$[\text{B}]10^3$	$[\text{BH}^+]10^3$	$a_{\text{H}^+} \cdot 10^5$	C	log C	pK_a
0,00	5,34	0,00	10,00	- - -	- - -	- - -	- - -
0,05	8,14	1,07	8,92	- - -	8,33	0,92	9,06
0,10	8,48	2,14	7,83	- - -	3,66	0,56	9,04
0,15	8,71	3,21	6,75	- - -	2,10	0,32	9,03
0,20	8,90	4,28	5,68	- - -	1,32	0,12	8,99
0,25	9,10	5,34	4,60	0,85	0,86	-0,06	9,03
0,30	9,29	6,40	3,52	1,32	0,55	-0,26	9,03
0,35	9,51	7,46	2,45	2,19	0,33	-0,47	9,03
0,40	9,80	8,51	1,39	4,26	0,17	-0,77	9,03
0,45	10,30	9,57	0,32	13,50	0,048	-1,31	8,98
0,50	11,04						

$$\text{pK}_a = 9,03 \pm 0,1 \text{ (media de 6 valores)}$$

TABLA XX

Determinación de la constante de disociación ácida del bromhidrato de hiosciamina. Peso molecular 370,29. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial: 75 ml. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica sin ajustar. $\text{KOH} = 0,55$ M.

ml KOH	pH	$[\text{B}]10^3$	$[\text{BH}^+]10^3$	$a_{\text{OH}^-}10^5$	C	log C	pK_a
0,00	5,37	0,00	10,00	---	---	---	---
0,10	8,86	0,73	9,25	--	12,67	1,10	9,96
0,20	9,23	1,46	8,51	1,15	5,88	0,77	10,00
0,30	9,45	2,19	7,77	1,90	3,58	0,55	10,00
0,40	9,62	2,91	7,03	2,82	2,45	0,39	10,00
0,50	9,78	3,64	6,29	4,07	1,76	0,24	10,02
0,60	9,90	4,36	5,56	5,37	1,30	0,11	10,01
0,70	10,05	5,08	4,82	7,59	0,98	-0,01	10,04
0,80	10,18	5,80	4,09	10,20	0,74	-0,13	10,05
0,90	10,29	6,52	3,36	13,20	0,55	-0,26	10,03
1,00	10,44	7,23	2,64	18,60	0,40	-0,40	10,04
1,10	10,59	7,95	1,91	26,30	0,28	-0,55	10,04
1,20	10,75	8,66	1,18	38,00	0,19	-0,72	10,02
1,30	10,94	9,37	0,46	58,90	0,12	-0,92	10,01
1,40	11,16						

$$\text{pK}_a = 10,02 \pm 0,02 \text{ (media de 11 valores)}$$

TABLA XXI

Determinación de la constante de disociación ácida del bromhidrato de hiosciamina. Peso molecular 370,29. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial: 75 ml. T = 20°C. Fuerza iónica 0,15 (ajustada con disolución de ClK). KOH = 0,55.

ml KOH	pH	$[B] \cdot 10^3$	$[BH^+] \cdot 10^3$	$a_{B^+} \cdot 10^5$	C	log C	pK_a
0,00	5,46	0,00	10,00	---	---	---	---
0,10	8,99	0,73	9,25	--	12,66	1,10	10,09
0,20	9,37	1,46	8,51	1,58	5,90	0,77	10,14
0,30	9,60	2,19	7,77	2,69	3,65	0,56	10,16
0,40	9,77	2,91	7,03	3,98	2,46	0,39	10,16
0,50	9,92	3,64	6,29	5,62	1,77	0,25	10,17
0,60	10,06	4,36	5,56	7,76	1,31	0,12	10,18
0,70	10,19	5,08	4,82	10,50	0,99	0,00	10,19
0,80	10,31	5,80	4,09	13,80	0,75	-0,13	10,18
0,90	10,43	6,52	3,36	18,20	0,56	-0,25	10,18
1,00	10,56	7,23	2,64	24,50	0,41	-0,38	10,17
1,10	10,69	7,95	1,91	31,10	0,29	-0,53	10,16
1,20	10,84	8,66	1,18	46,80	0,20	-0,70	10,14
1,30	11,02	9,37	0,46	70,80	0,13	-0,87	10,15
1,40	11,19						

$$pK_a = 10,16 \pm 0,02 \text{ (media de 11 valores)}$$

TABLA XXII

Determinación de la constante de disociación ácida del bromhidrato de homatropina. Peso molecular 356,28. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 75 ml. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica sin ajustar. $\text{KOH} = 0,55$ M.

ml KOH	pH	$ \text{B} \cdot 10^3$	$ \text{BH}^+ \cdot 10^3$	$a_{\text{OH}^-} \cdot 10^5$	C	log C	pK_a
0,00	5,37	0,00	10,00	---	---	---	---
0,10	8,83	0,73	9,25	---	12,67	1,10	9,93
0,20	9,20	1,46	8,51	1,07	5,88	0,77	9,97
0,30	9,42	2,19	7,77	1,78	3,58	0,55	9,97
0,40	9,60	2,91	7,03	2,69	2,45	0,39	9,99
0,51	9,75	3,64	6,29	3,80	1,76	0,24	9,99
0,60	9,88	4,36	5,56	5,13	1,30	0,11	9,99
0,70	10,01	5,08	4,82	6,91	0,97	-0,02	9,99
0,80	10,14	5,80	4,09	9,33	0,73	-0,14	10,00
0,90	10,27	6,52	3,36	12,50	0,54	-0,27	10,00
1,00	10,40	7,23	2,64	16,90	0,40	-0,40	10,00
1,10	10,55	7,95	1,91	23,90	0,28	-0,55	10,00
1,20	10,71	8,66	1,18	34,0	0,18	-0,73	9,97
1,30	10,91	9,37	0,46	54,90	0,23	-0,64	9,97
1,40	11,12						

$$\text{pK}_a = 9,99 \pm 0,02 \text{ (media de 12 valores)}$$

TABLA XIII

Determinación de la constante de disociación ácida del bromhidrato de homatropina. Peso molecular 356,8. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 75 ml. T = 20°C. Fuerza iónica 0,15 (ajustada con disolución de ClK). KOH = 0,55 M.

ml KOH	pH	$ \text{B} \cdot 10^3$	$ \text{BH}^+ \cdot 10^3$	$a_{\text{OH}^-} \cdot 10^5$	C	log C	pK_a
0,00	5,54	0,00	10,00	---	---	---	---
0,10	8,95	0,73	9,25	---	12,65	1,10	10,05
0,20	9,32	1,46	8,51	1,41	5,89	0,77	10,09
0,30	9,54	2,19	7,77	2,34	3,59	0,56	10,09
0,40	9,71	2,91	7,03	3,46	2,45	0,39	10,10
0,50	9,85	3,64	6,29	4,79	1,76	0,25	10,10
0,60	9,98	4,36	5,56	6,46	1,31	0,12	10,10
0,70	10,11	5,03	4,82	8,71	0,98	-0,01	10,10
0,80	10,23	5,80	4,09	11,50	0,74	-0,13	10,10
0,90	10,35	6,52	3,36	15,10	0,55	-0,26	10,09
1,00	10,48	7,23	2,64	20,40	0,40	-0,39	10,09
1,10	10,61	7,95	1,91	27,50	0,28	-0,55	10,06
1,20	10,75	8,66	1,18	38,00	0,19	-0,72	10,03
1,30	10,91	9,37	0,46	54,95	0,11	-0,96	9,95
1,40	11,09						

$$\text{pK}_a = 10,10 \pm 0,01 \text{ (media de 9 valores)}$$

TABLA XXIV

Determinación de la constante de disociación ácida del clorhidrato de nortropina. Peso molecular 163,5. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial: 40 ml. T = 20°C. Fuerza iónica sin ajustar. KOH = 0,86M.

ml KOH	pH	$[B] \cdot 10^3$	$[BH^+] \cdot 10^3$	$a_{OH} \cdot 10^4$	C	log C	pK_a
0,00	5,86	0,00	10,00	---	---	---	---
0,04	10,04	0,86	9,13	1,48	11,03	1,11	11,15
0,12	10,47	2,57	7,40	1,99	3,20	0,50	10,97
0,16	10,62	3,43	6,53	2,82	2,16	0,33	10,95
0,20	10,75	4,28	5,67	3,80	1,55	0,19	10,94
0,24	10,87	5,13	4,81	4,68	1,13	0,05	10,92
0,28	10,98	5,98	3,95	6,45	0,86	-0,06	10,91
0,32	11,10	6,82	3,10	8,51	0,66	-0,18	10,92
0,36	11,19	7,67	2,24	10,50	0,49	-0,30	10,88
0,40	11,28	8,51	1,39	12,90	0,37	-0,43	10,85
0,44	11,36	9,36	0,53	15,50	0,27	-0,57	10,78
0,48	11,43						

$$pK_a = 10,92 \pm 0,04 \text{ (medie de 6 valores)}$$

TABLA XXV

Determinación de la constante de disociación ácida del clorhidrato de nortropina. Peso molecular 163,5. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 40 ml. T = 20°C. Fuerza iónica 0,1 (ajustada con disolución de ClK). KOH = 0,86M.

ml KOH	pH	$ B \cdot 10^3$	$ BH^+ \cdot 10^3$	$a_{\text{H}^+} \cdot 10^4$	C	log C	pK_a
0,00	5,27	0,00	---	---	---	---	---
0,04	10,13	0,86	9,13	0,91	11,99	1,07	11,20
0,08	10,44	1,72	8,26	1,86	5,50	0,70	11,18
0,12	10,64	2,57	7,40	2,95	3,38	0,53	11,17
0,16	10,80	3,43	6,53	4,26	2,31	0,36	11,16
0,20	10,94	4,28	5,67	5,89	1,69	0,23	11,16
0,24	11,08	5,13	4,81	8,13	1,30	0,11	11,19
0,28	11,20	5,98	3,95	10,70	1,02	0,01	11,21
0,32	11,30	6,82	3,10	13,50	0,81	-0,09	11,21
0,36	11,40	7,67	2,24	17,00	0,66	-0,18	11,22
0,40	11,49	8,51	1,39	20,90	0,54	-0,26	11,22
0,44	11,57						

$$pK_a = 11,18 \pm 0,03 \text{ (media de 7 valores)}$$

TABLA XXVI

Determinación de la constante de disociación ácida del bromhidrato de tigloidina. Peso molecular 304,2. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 75 ml. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica sin ajustar. $\text{KOH} = 0,55$ M.

ml KOH	pH	$[\text{BH}^+] \cdot 10^3$	$[\text{B}] \cdot 10^3$	$a_{\text{OH}^-} \cdot 10^5$	C	log C	pK_a
0,00	5,29	10,00	0,00	---	---	---	---
0,10	8,47	9,25	0,73	---	12,67	1,10	9,57
0,20	8,84	8,51	1,46	---	5,82	0,76	9,60
0,30	9,19	7,77	2,19	1,05	3,57	0,55	9,74
0,40	9,26	7,03	2,91	1,23	2,43	0,38	9,64
0,50	9,41	6,29	3,64	1,74	1,74	0,24	9,65
0,60	9,54	5,56	4,36	2,34	1,28	0,11	9,65
0,70	9,66	4,82	5,08	3,09	0,96	-0,02	9,64
0,80	9,80	4,09	5,80	4,26	0,71	-0,15	9,65
0,90	9,93	3,36	6,52	5,75	0,53	-0,27	9,65
1,00	10,08	2,64	7,23	8,12	0,38	-0,42	9,66
1,10	10,24	1,91	7,95	11,70	0,26	-0,58	9,65
1,20	10,43	1,18	8,66	18,10	0,16	-0,79	9,64
1,30	10,67	0,46	9,37	31,60	0,08	-1,06	9,60
1,40	10,95						

$$\text{pK}_a = 9,65 \pm 0,01 \text{ (media de 9 valores)}$$

TABLA XXVII

Determinación de la constante de determinación ácida del bronhidrato de tigloidina. Peso molecular 304,2. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial: 75 ml. T = 20°C. Fuerza iónica 0,15 (ajustada con disolución de ClK). KOH 0,55M.

ml KOH	pH	$ B 10^3$	$ BH^+ 10^3$	$a_{H^+} \cdot 10^5$	C	log C	pK_a
0,00	5,43	0,00	10,00	---	---	---	---
0,10	8,65	0,73	9,25	---	12,67	1,10	9,75
0,20	9,03	1,46	8,51	---	5,83	0,77	9,80
0,30	9,25	2,19	7,77	1,20	3,57	0,55	9,80
0,40	9,43	2,91	7,03	1,82	2,43	0,39	9,81
0,50	9,57	3,64	6,29	2,51	1,74	0,24	9,81
0,60	9,70	4,36	5,56	3,39	1,29	0,11	9,81
0,70	9,83	5,08	4,82	4,57	1,97	-0,01	9,81
0,80	9,95	5,80	4,09	6,02	0,72	-0,14	9,81
0,90	10,09	6,52	3,36	8,31	0,53	-0,27	9,81
1,00	10,22	7,23	2,64	11,20	0,38	-0,41	9,81
1,10	10,37	7,95	1,91	15,80	0,26	-0,58	9,79
1,20	10,55	8,66	1,18	24,00	0,17	-0,67	9,78
1,30	10,75	9,37	0,46	38,00	0,09	-1,05	9,70
1,40	10,99						

$$pK_a = 9,81 \pm 0,01 \text{ (media de 9 valores)}$$

TABLA XXVIII

Determinación de la constante de disociación ácida de la tropina base. Peso molecular 141,21. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 50 ml. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica: sin ajustar. CIH 0,73 M.

ml							
CIH	pH	$ \text{BH}^+ 10^3$	$ \text{B} 10^3$	$a_{\text{H}^+} 10^4$	C	log C	pK_a
0,00	11,33	0,00	10,00	---	---	---	---
0,10	11,12	1,46	8,52	8,90	0,30	-0,51	10,61
0,20	10,84	2,91	7,05	4,60	0,51	-0,29	10,55
0,30	10,	4,35	5,59	2,60	0,87	-0,06	10,54
0,36	10,48	5,22	4,71	2,00	1,20	0,08	10,56
0,40	10,37	5,79	4,13	1,50	1,50	0,17	10,54
0,45	10,22	6,51	3,40	1,10	2,01	0,30	10,52
0,50	10,07	7,23	2,67	0,79	2,82	0,45	10,52
0,55	9,85	7,94	1,95	0,47	4,20	0,62	10,47
0,60	9,58	8,66	1,22	0,25	7,27	0,86	10,44
0,70	3,38						

$$\text{pK}_a = 10,54 \pm 0,02 \text{ (media de 6 valores)}$$

TABLA XXIX

Determinación de la constante de disociación ácida de la tropina base. Peso molecular 141,21. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial: 75 ml. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica 0,02 (ajustada con disolución de ClK). $\text{ClH} = 0,73 \text{ N}$.

ml ClH	pH	$ \text{BH}^+ \cdot 10^3$	$ \text{B} \cdot 10^3$	$a_{\text{H}^+} \cdot 10^5$	C	log C	pK_a
0,00	11,36	0,00	10,00	---	---	---	---
0,10	11,17	0,97	9,02	-- --	0,24	-0,61	10,56
0,20	11,01	1,94	8,03	69,20	0,36	-0,44	10,56
0,30	10,84	2,91	7,05	46,80	0,51	-0,29	10,55
0,40	10,71	3,87	6,08	34,70	0,73	-0,13	10,58
0,50	10,55	4,83	5,10	24,00	1,04	0,02	10,57
0,60	10,38	5,79	4,13	16,20	1,50	0,17	10,56
0,70	10,18	6,75	3,16	10,20	2,24	0,35	10,53
0,80	9,90	7,70	2,19	5,37	3,63	0,56	10,46
0,90	9,44	8,66	1,22	1,86	---	---	---

$$\text{pK}_a = 10,56 \pm 0,02 \text{ (media de seis valores)}$$

TABLA XXX

Determinación de la constante de disociación ácida de la tropina base. Peso molecular 141,21. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial: 75 ml. T = 20°C. Fuerza iónica: 0,04 (ajustada con disolución de ClK). ClH = 0,73 N.

ml ClH	pH	$[\text{BH}^+] \cdot 10^3$	$[\text{B}]/10^3$	$\alpha_{\text{BH}^+} \cdot 10^5$	C	log C	pK_a
0,00	11,35	0,00	10,00	---	---	---	---
0,10	11,19	0,97	9,02	---	0,25	-0,60	10,59
0,20	11,04	1,94	8,03	74,0	0,37	-0,43	10,60
0,30	10,89	2,91	7,05	52,0	0,53	-0,28	10,61
0,40	10,74	3,87	6,08	43,0	0,76	-0,11	10,62
0,50	10,59	4,83	5,10	26,0	1,05	0,02	10,61
0,60	10,43	5,79	4,13	18,0	1,51	0,18	10,61
0,70	10,24	6,75	3,16	11,7	2,25	0,35	10,59
0,80	10,00	7,70	2,19	6,7	3,66	0,56	10,56
0,90	9,58	8,66	1,22	2,5	---	---	---

$$\text{pK}_a = 10,60 \pm 0,02 \text{ (media de 8 valores)}$$

TABLA XXXI

Determinación de la constante de disociación ácida de la tropina base. Peso molecular 141,21. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial: 75 ml. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica 0,06 (ajustada con disolución de ClK). $\text{ClH} = 0,73 \text{ N}$.

ml ClH	pH	$[\text{BH}^+] \cdot 10^3$	$[\text{B}] \cdot 10^3$	$a_{\text{H}^+} \cdot 10^5$	C	log C	pK_a
0,00	11,37	0,00	10,00	---	---	---	---
0,10	11,23	0,97	9,02	---	0,27	-0,57	10,66
0,20	11,08	1,94	8,03	81,0	0,38	-0,42	10,66
0,30	10,93	2,91	7,05	57,0	0,54	-0,27	10,66
0,40	10,78	3,87	6,08	40,0	0,75	-0,12	10,66
0,50	10,63	4,83	5,10	28,0	1,06	0,02	10,66
0,60	10,47	5,79	4,13	23,0	1,54	0,19	10,66
0,70	10,28	6,75	3,16	12,0	2,27	0,35	10,63
0,80	10,04	7,70	2,19	7,4	3,67	0,56	10,60
0,90	9,62	8,66	1,22	2,8	---	---	---

$$\text{pK}_a = 10,66 \pm 0,00 \text{ (media de 6 valores)}$$

TABLA XXXII

Determinación de la constante de determinación ácida de la tropina base. Peso molecular 141,21. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 75 ml. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica, 0,08 (ajustada con disolución de ClK). ClH = 0,73 M.

ml ClH	pH	$[\text{BH}^+] \cdot 10^3$	$[\text{B}] \cdot 10^3$	$a_{\text{H}^+} \cdot 10^5$	C	log C	pK_a
0,00	11,38	0,00	10,00	---	---	---	---
0,10	11,22	0,97	9,02	---	0,26	-0,58	10,64
0,20	11,08	1,94	8,03	81,0	0,38	-0,42	10,66
0,30	10,93	2,91	7,05	57,0	0,53	-0,27	10,66
0,40	10,78	3,87	6,08	40,0	0,75	-0,12	10,65
0,50	10,63	4,83	5,10	28,0	1,06	0,03	10,66
0,60	10,47	5,79	4,13	19,0	1,52	0,18	10,65
0,70	10,28	6,75	3,16	12,0	2,27	0,35	10,63
0,80	10,02	7,70	2,19	7,0	3,67	0,56	10,58
0,90	9,57	8,66	1,22	2,5	7,27	0,86	10,43
1,00	4,58						

$$\text{pK}_a = 10,65 - C,02 \text{ (media de 7 valores)}$$

TABLA XXXIII

Determinación de la constante de disociación ácida de la tropina base. Peso molecular 141,21. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 75 ml. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica 0,15 (ajustada con disolución de ClK). ClH = 0,73 N.

ml							
ClH	pH	$[\text{BH}^+] \cdot 10^3$	$[\text{B}] \cdot 10^3$	$a_{\text{OH}^-} \cdot 10^4$	C	log C	pK_a
0,00	11,40	0,00	10,00	-- --	-- --	-- --	-- --
0,15	11,20	1,45	8,53	-- --	0,33	-0,47	10,73
0,20	11,13	1,94	8,03	9,10	0,40	-0,39	10,73
0,35	10,91	3,39	6,56	5,40	0,65	-0,18	10,72
0,40	10,85	3,87	6,07	4,70	0,78	-0,11	10,74
0,50	10,70	4,83	5,10	3,30	1,08	0,03	10,73
0,60	10,54	5,79	4,13	2,30	1,54	0,19	10,73
0,70	10,36	6,75	3,16	1,50	2,30	0,36	10,72
0,80	10,12	7,70	2,19	0,89	3,70	0,57	10,69
0,90	9,72	8,66	1,22	0,35	7,34	0,86	10,58
0,95	9,35						

$$\text{pK}_a = 10,73 \pm 0,01 \text{ (media de 7 valores)}$$

TABLA XXXIV

Determinación de la constante de disociación ácida del clorhidrato de racefedrina. Peso molecular 201,7. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 75 ml. Fuerza iónica sin ajustar. KOH = 0,55 M. T = 20°C.

ml KOH	pH	$ B 10^3$	$ BH^+ 10^3$	$a_{OH^-}10^5$	C	log C	pK_a
0,00	5,43	0,00	10,00	---	---	---	---
0,10	8,69	0,73	9,25	--	12,67	1,10	9,79
0,20	9,03	1,46	8,51	--	5,82	0,76	9,79
0,30	9,25	2,19	7,77	1,20	3,57	0,55	9,80
0,40	9,40	2,91	7,03	1,70	2,44	0,39	9,79
0,50	9,55	3,64	6,29	2,40	1,74	0,24	9,79
0,60	9,69	4,36	5,56	3,31	1,29	0,11	9,79
0,70	9,80	5,08	4,82	4,26	0,96	-0,01	9,79
0,80	9,92	5,80	4,09	5,62	0,72	-0,14	9,78
0,90	10,06	6,52	3,36	7,76	0,53	-0,27	9,79
1,00	10,21	7,23	2,64	11,00	0,39	-0,41	9,80
1,10	10,36	7,95	1,91	15,50	0,26	-0,58	9,78
1,20	10,54	8,66	1,18	23,40	0,16	-0,77	9,76
1,30	10,76	9,37	0,46	38,90	0,09	-1,02	9,74
1,40	11,13						

$$pK_a = 9,79 \pm 0,01 \text{ (media de 11 valores)}$$

TABLA XXXV

Determinación de la constante de disociación ácida del clorhidrato de racfedrina. Peso molecular 201,7. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 75 ml. Fuerza iónica 0,15 (ajustada con disolución de ClK). KOH = 0,55 M. T = 20°C

ml KOH	pH	$ B 10^3$	$ BH^+ 10^3$	$a_{\text{OH}^-}10^5$	C	log C	pK_a
0,00	5,58	0,00	10,00	---	---	---	---
0,10	8,84	0,73	9,25	--	12,67	1,10	9,94
0,20	9,20	1,46	8,51	1,07	5,88	0,77	9,97
0,30	9,43	2,19	7,77	1,81	3,59	0,55	9,98
0,40	9,60	2,91	7,03	2,69	2,44	0,39	9,99
0,50	9,74	3,64	6,29	3,71	1,76	0,24	9,98
0,60	9,87	4,36	5,56	5,01	1,30	0,11	9,98
0,70	10,01	5,08	4,82	6,92	0,97	-0,01	10,00
0,80	10,14	5,80	4,09	9,33	0,73	-0,13	10,01
0,90	10,27	6,52	3,36	12,50	0,54	-0,26	10,01
1,00	10,41	7,23	2,64	17,40	0,40	-0,40	10,01
1,10	10,55	7,95	1,91	24,00	0,28	-0,55	10,00
1,20	10,73	8,66	1,18	36,30	0,18	-0,73	10,00
1,30	10,93	9,37	0,46	57,50	0,12	-0,93	10,10
1,40	11,15						

$$pK_a = 9,99 \pm 0,02 \text{ (media de 11 valores)}$$

4.1.2. Valoración de aminas di y triácidas

Los resultados de las valoraciones potenciométricas de estas aminas se incluyen en las tablas XXXIV a XXXVII junto con los valores de B, C_a y el parámetro P (número medio de protones disociados^a por mol de ácido valorado)

Los cálculos se efectuaron teniendo en cuenta las mismas particularidades que con las aminas monoácidas. Así la concentración de la especie B se obtuvo de la siguiente ecuación

$$|B| = V_{\text{KOH}} \cdot N_{\text{KOH}} / V_t \quad -64-$$

siendo V_t el volumen total de disolución después de cada adición de álcali. El término C_a concentración de ácido tras cada adición, fué corregido para el volumen total por la ecuación -61-. El parámetro P se calculó haciendo uso de la ecuación -25-

TABLA XXXVI

Determinación de la constante de disociación ácida del sulfato de 1-(4-hidroxifenil)-2-(N-butilamino)etanol (*). Peso molecular 516,6. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 40 ml. T = 20°C. Fuerza iónica 0,15. KOH = 0,87.

ml KOH	pH	a_{OH^-}	$ B 10^3$	$C_a 10^3$	P
0,00	5,60	---	0,00	10,00	---
0,05	8,42	$1,78 \cdot 10^{-6}$	1,09	9,99	0,11
0,10	8,84	$4,68 \cdot 10^{-6}$	2,17	9,98	0,22
0,15	9,08	$8,13 \cdot 10^{-6}$	3,25	9,96	0,32
0,20	9,26	$1,23 \cdot 10^{-5}$	4,33	9,95	0,43
0,25	9,42	$1,78 \cdot 10^{-5}$	5,40	9,94	0,54
0,30	9,56	$2,45 \cdot 10^{-5}$	6,48	9,93	0,65
0,35	9,70	$3,39 \cdot 10^{-5}$	7,55	9,92	0,76
0,40	9,83	$4,57 \cdot 10^{-5}$	8,61	9,91	0,86
0,45	10,01	$6,92 \cdot 10^{-5}$	9,68	9,90	0,97
0,50	10,15	$9,55 \cdot 10^{-5}$	10,70	9,89	1,0
0,55	10,28	$1,29 \cdot 10^{-4}$	11,80	9,88	1,18
0,60	10,50	$2,14 \cdot 10^{-4}$	12,85	9,87	1,28
0,65	10,70	$3,39 \cdot 10^{-4}$	13,91	9,86	1,38
0,70	10,91	$5,50 \cdot 10^{-4}$	14,96	9,85	1,46
0,75	11,18	$1,02 \cdot 10^{-3}$	16,01	9,84	1,52

(*) En otras partes de la memoria aparece con el nombre de bamethan.

TABLA XXXVII

Determinación de las constantes de disociación ácida del clorhidrato del 1-(3-hidroxifenil)-2-(N-etilamino)etanol (*)
 Peso molecular 217,7. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 40 ml. T = 20°C. Fuerza iónica 0,15 (ajustada con disolución de ClK). KOH = 0,87 M.

ml KOH	pH	a_{OH^-}	$ B 10^3$	$C_a 10^3$	P
0,00	7,71	$3,47 \cdot 10^{-7}$	0,00	10,00	- - -
0,05	8,61	$2,75 \cdot 10^{-6}$	1,09	9,99	0,11
0,10	8,92	$5,62 \cdot 10^{-6}$	2,17	9,98	0,22
0,20	9,29	$1,32 \cdot 10^{-5}$	4,33	9,95	0,43
0,25	9,44	$1,85 \cdot 10^{-5}$	5,40	9,94	0,54
0,30	9,57	$2,51 \cdot 10^{-5}$	6,48	9,93	0,65
0,35	9,70	$3,39 \cdot 10^{-5}$	7,55	9,91	0,76
0,40	9,84	$4,68 \cdot 10^{-5}$	8,61	9,90	0,86
0,45	9,96	$6,17 \cdot 10^{-5}$	9,68	9,89	0,97
0,50	10,01	$8,51 \cdot 10^{-5}$	10,70	9,88	1,07
0,55	10,23	$1,15 \cdot 10^{-4}$	11,80	9,86	1,18
0,60	10,35	$1,51 \cdot 10^{-4}$	12,85	9,85	1,29
0,65	10,49	$2,09 \cdot 10^{-4}$	13,91	9,84	1,39
0,70	10,64	$2,95 \cdot 10^{-4}$	14,96	9,83	1,49
0,75	10,81	$4,37 \cdot 10^{-4}$	16,01	9,82	1,59
0,80	10,99	$6,61 \cdot 10^{-4}$	17,06	9,80	1,67
0,85	11,20	$1,07 \cdot 10^{-3}$	18,10	9,79	1,74

(*) En otras partes de la memoria aparece con el nombre de etilfenilefrina.

TABLA XXXVIII

Determinación de las constantes de disociación ácida del clorhidrato de 1-(3-hidroxifenil)-2-(N-metilamino)etanol (*)
 Peso molecular 203,7. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 40 ml. T = 20°C. Fuerza iónica 0,15 (ajustada con disolución de ClK). KOH = 0,87 M.

ml KOH	pH	a_{OH^-}	$ B 10^3$	$C_a 10^3$	P
0,00	5,52	$2,24 \cdot 10^{-9}$	0,00	10,00	0,00
0,05	8,30	$1,35 \cdot 10^{-6}$	1,09	9,99	0,11
0,10	8,62	$2,82 \cdot 10^{-6}$	2,17	9,98	0,22
0,15	8,92	$5,62 \cdot 10^{-6}$	3,25	9,96	0,33
0,20	9,11	$8,71 \cdot 10^{-6}$	4,33	9,95	0,43
0,25	9,26	$1,23 \cdot 10^{-5}$	5,40	9,94	0,54
0,30	9,41	$1,74 \cdot 10^{-5}$	6,48	9,93	0,65
0,35	9,51	$2,19 \cdot 10^{-5}$	7,55	9,92	0,76
0,40	9,68	$3,24 \cdot 10^{-5}$	8,61	9,91	0,87
0,45	9,81	$4,37 \cdot 10^{-5}$	9,68	9,90	0,97
0,50	9,93	$5,75 \cdot 10^{-5}$	10,70	9,89	1,08
0,55	10,08	$8,13 \cdot 10^{-5}$	11,80	9,88	1,19
0,60	10,21	$1,10 \cdot 10^{-4}$	12,85	9,87	1,29
0,65	10,35	$1,51 \cdot 10^{-4}$	13,91	9,86	1,39
0,70	10,50	$2,14 \cdot 10^{-4}$	14,96	9,85	1,50
0,75	10,65	$3,02 \cdot 10^{-4}$	16,01	9,84	1,60
0,80	10,83	$4,57 \cdot 10^{-4}$	17,06	9,83	1,69
0,85	11,05	$7,59 \cdot 10^{-4}$	18,10	9,82	1,76

(*) En otra partes de la memoria aparece con el nombre de fenilefrina.

TABLA XXXIX

Determinación de las constantes de disociación ácida del sulfato de 1-(3,5-dihidroxifenil)-2-(N-isopropilamino)etanol (*). Peso molecular 520,6. Concentración 10^{-2} M. Volumen inicial 40 ml. T = 20°C. Fuerza iónica 0,15 (ajustada con disolución de ClK). KOH = 0,87 M.

ml KOH	pH	a_{OH^-}	$ B 10^3$	$C_a 10^3$	P
0,00	5,47	$2,00 \cdot 10^{-9}$	0,00	10,00	--
0,05	7,91	$5,50 \cdot 10^{-7}$	1,09	9,99	0,11
0,10	8,34	$1,48 \cdot 10^{-6}$	2,17	9,98	0,22
0,15	8,58	$2,57 \cdot 10^{-6}$	3,25	9,96	0,33
0,20	8,76	$3,89 \cdot 10^{-6}$	4,33	9,95	0,43
0,25	8,93	$5,75 \cdot 10^{-6}$	5,40	9,94	0,54
0,30	9,11	$8,71 \cdot 10^{-6}$	6,48	9,93	0,65
0,35	9,28	$1,29 \cdot 10^{-5}$	7,55	9,91	0,76
0,40	9,43	$1,82 \cdot 10^{-5}$	8,61	9,90	0,87
0,45	9,57	$2,51 \cdot 10^{-5}$	9,68	9,89	0,98

(*) En otras partes de la memoria aparece con el nombre de metaproterenol

TABLA XXXIX (continuación)

ml KOH	pH	a_{OH^-}	$ B 10^3$	$C_a 10^3$	P
0,50	9,72	$3,55 \cdot 10^{-5}$	10,70	9,88	1,08
0,55	9,89	$5,25 \cdot 10^{-5}$	11,8	9,86	1,19
0,60	10,03	$7,24 \cdot 10^{-5}$	12,86	9,85	1,30
0,65	10,18	$1,02 \cdot 10^{-4}$	13,91	9,84	1,40
0,70	10,30	$1,35 \cdot 10^{-4}$	14,96	9,83	1,51
0,75	10,44	$1,86 \cdot 10^{-4}$	16,01	9,82	1,61
0,80	10,56	$2,45 \cdot 10^{-4}$	17,06	9,80	1,72
0,85	10,69	$3,31 \cdot 10^{-4}$	18,10	9,79	1,82
0,90	10,81	$4,37 \cdot 10^{-4}$	19,14	9,78	1,91
1,00	10,95	$6,03 \cdot 10^{-4}$	21,22	9,76	2,11
1,05	11,08	$8,13 \cdot 10^{-4}$	22,25	9,74	2,20
1,10	11,30	$1,35 \cdot 10^{-3}$	23,28	9,73	2,25
1,15	11,41	$1,74 \cdot 10^{-3}$	24,31	9,72	2,32
1,20	11,51	$2,19 \cdot 10^{-3}$	25,34	9,70	2,39
1,30	11,69	$3,31 \cdot 10^{-3}$	27,38	9,69	2,48
1,41	11,84	$4,68 \cdot 10^{-3}$	29,62	9,66	2,58

4.2. Reparto de aminas

4.2.1. Aminas con máximo de absorción UV.

Para la determinación de los coeficientes de reparto se ha seguido el método descrito en el apartado 3.2.3.2.1. Los resultados se han recogido en las tablas XL - LVI

TABLA XL

Resultados obtenidos en el reparto del clorhidrato de atropamina (Peso molecular 307,85) entre fase acuosa tamponada y cloroformo. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica 0,1-0,15.

<u>ml amina</u> <u>$2 \cdot 10^{-4}$ (*)</u>	<u>pH</u>	<u>ml</u> <u>cloroformo</u>	<u>A_{246}°</u>	<u>A_{246}</u>
10	5,40	10	0,770	0,300
20	5,40	20	0,770	0,295
30	5,40	30	0,770	0,304

(*) Obtenida a partir de solución concentrada 0,308g/l.

TABLA XLI

Resultados obtenidos en el reparto del clorhidrato de atropina entre fase acuosa tamponada y cloroformo. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica 0,1-0,15.

<u>ml amina</u> <u>$4 \cdot 10^{-3}$ (*)</u>	<u>pH</u>	<u>ml</u> <u>cloroformo</u>	<u>A_{257}°</u>	<u>A_{257}</u>
10	7,69	10	0,770	0,305
20	7,69	20	0,770	0,315
30	7,69	30	0,770	0,310

(*) Obtenida por disolución de 0,1303g en 100 ml de tampon.

TABLA XLII

Resultados obtenidos en el reparto del disulfato ácido de belladonina (peso molecular 738,88) entre fase acuosa tamponada y cloroformo. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica de 0,1 - 0,15.

ml amina $2 \cdot 10^{-3} \text{ M} (*)$	pH	ml cloroformo	A_{260}°	A_{260}
20	5,58	20	0,840	0,780
20	5,74	20	0,840	0,730
20	5,93	20	0,840	0,640
20	6,10	20	0,840	0,500
20	6,47	20	0,840	0,215
20	6,77	20	0,840	0,105
30(⊙)	7,30	30	1,25	0,020

(*) obtenidas por dilución de solución concentrada 10^{-2} M en tampones de pH deseado.

(⊙) En este caso la concentración inicial de amina fue $3 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

TABLA XLIII

Resultados obtenidos en el reparto del bromhidrato de escopolamina (Peso molecular 438,34) entre fase acuosa tamponada y cloroformo. T = 20°C. Fuerza iónica 0,1-0,15.

ml amina $4 \cdot 10^{-3}$ M(✓)	pH	ml cloroformo	A_{257}°	A_{257}
10	5,95	10	0,820	0,430
20	5,95	20	0,820	0,440
30	5,95	30	0,820	0,440

(✓) Obtenida por disolución de 0,1753g en 100 ml de tampón.

TABLA XLIV

Resultados obtenidos en el reparto del bromhidrato de escopolamina-N-oxido (Peso molecular 418,26) entre fase acuosa tamponada y cloroformo. T = 20°C. Fuerza iónica 0,1-0,15.

ml amina $5 \cdot 10^{-3}$ M(✓)	pH	ml cloroformo	A_{258}°	A_{258}
10	9,46	10	0,960	0,940
20	9,46	20	0,960	0,940
10	10,23	10	0,980	0,960

(✓) Obtenida por disolución de 0,209 g en 100 ml de tampón.

TABLA XLV

Resultados obtenidos en el reparto del bromhidrato de hiosciamina (Peso molecular 370,29) entre fase acuosa tamponada y cloroformo. T = 20°C. Fuerza iónica 0,1-0,15.

ml amina $4 \cdot 10^{-3}$ M(v)	pH	ml cloroformo	A_{257}^0	A_{257}
10	7,88	10	0,780	0,260
20	7,86	20	0,780	0,280
30	7,86	30	0,780	0,280

(v) Obtenida por disolución de 0,148g en 100 ml de tampón.

TABLA XLVI

Resultados obtenidos en el reparto del bromhidrato de homatropina (Peso molecular 356,28) entre fase acuosa tamponada y cloroformo. T = 20°C. Fuerza iónica 0,1-0,15.

ml amina $5 \cdot 10^{-3}$ M(v)	pH	ml cloroformo	A_{258}^0	A_{258}
10	7,84	10	0,980	0,370
20	7,84	20	0,980	0,365
30	7,84	30	0,980	0,380

(v) Obtenida por disolución de 0,1784 g en 100 ml de tampón.

TABLA XLVII

Resultados obtenidos en el reparto del sulfato de 1-(4-hidroxifenil)-2-(N-butilamino)etanol (Peso molecular 516,6) entre fase acuosa tamponada y cloroformo. T = 20°C. Fuerza iónica 0,1-0,15.

ml amina $0,8 \cdot 10^{-4}$ M(*)	pH	ml cloroformo	A_{242}^0	A_{242}	A_{278}^0	A_{278}
10	9,96	10	0,750	0,620	0,125	0,110
20	9,96	20	0,750	0,620	0,125	0,110
30	9,96	30	0,750	0,620	0,125	0,110

(*) Obtenida a partir de solución concentrada 0,827 g/l.

TABLA XLVIII

Resultados obtenidos en el reparto del clorhidrato de 1-(3-hidroxifenil)-2-(N-etilamino)etanol (Peso molecular 217,6) entre fase acuosa tamponada y cloroformo. T = 20°C. Fuerza iónica 0,1-0,15.

ml amina $3,2 \cdot 10^{-4}$ M(*)	pH	ml cloroformo	A_{276}^0	A_{276}
10	9,02	10	0,560	0,530
20	9,02	20	0,560	0,530
30	9,02	30	0,560	0,530

(*) Obtenida a partir de solución concentrada 0,696 g/l.

TABLA LXIX

Resultados obtenidos en el clorhidrato de 1-(3-hidroxifenil)-2-(N-metilamino)etanol (Peso molecular 203,7) entre fase acuosa tamponada y cloroformo. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica 0,1 - 0,15.

ml amina $1,6 \cdot 10^{-4} \text{ M} (*)$	pH	cloroformo	A_{290}°	A_{240}°	A_{290}	A_{240}
10	9,96	10	0,330	0,940	0,325	0,940
20	9,96	20	0,330	0,940	0,325	0,940
30	9,90	30	0,330	0,940	0,325	0,940

(*) Obtenido por dilución a partir de solución concentrada 10^{-2} M

TABLA L

Resultados obtenidos en el reparto del clorhidrato de racefedrina (Peso molecular 201,7) entre fase acuosa tamponada y cloroformo. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica 0,1-0,15.

ml amina $3 \cdot 10^{-3} \text{ M} (*)$	pH	ml cloroformo	A_{257}°	A_{257}
10	8,25	10	0,570	0,420
20	8,25	20	0,570	0,420
30	8,25	30	0,570	0,420

(*) Obtenida por disolución de 0,0605 g en 100 ml de tampón.

TABLA LI

Resultados obtenidos en el reparto del bromazepan base entre fase acuosa tamponada y cloroformo. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica 0,1-0,15.

ml amina $3,2 \cdot 10^{-5}$ (v)	pH	ml cloroformo	A_{238}°	A_{238}
10	2,49	10	0,770	0,165
20	2,49	20	0,770	0,165
30	2,49	30	0,770	0,165

(v) Obtenida a partir de solución concentrada 0,0506g/l.

TABLA LII

Resultados obtenidos en el reparto del clorhidrato de flurazepan (Peso molecular 424,23) entre fase acuosa tamponada y cloroformo. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica de 0,1-0,15.

ml amina $3,65 \cdot 10^{-5}$ (v)	pH	ml cloroformo	A_{230}°	A_{230}
10	4,58	10	0,940	0,000
10	1,89	10	0,640	0,280
20	1,89	10	0,640	0,280

(v) Obtenida a partir de solución concentrada 0,620g/l.

TABLA LIII

Resultados obtenidos en el reparto del medazepan base (Peso molecular 270,76) entre fase acuosa tamponada y cloroformo. T = 20°C. Fuerza iónica 0,1-0,15.

ml amina $4,8 \cdot 10^{-4} M^{(*)}$	pH	ml cloroformo	A_{232}^o	A_{232}
10	2,55	10	0,880	0,060
20	2,55	20	0,880	0,060
30	2,55	30	0,880	0,055

(*) Obtenida a partir de disolución concentrada 0,433 g/l.

TABLA LIV

Resultados obtenidos en el reparto de la estriocina base (Peso molecular 334,4) entre fase acuosa tamponada y cloroformo. T = 20°C. Fuerza iónica 0,1-0,15.

ml amina $0,8 \cdot 10^{-4} M^{(*)}$	pH	ml cloroformo	A_{254}^o	A_{254}
10	5,87	10	1,05	0,120
20	5,87	20	1,05	0,125
30	5,87	30	1,05	0,125

(*) Obtenida a partir de solución concentrada 0,535 g/l.

TABLA LV

Resultados obtenidos en el reparto del clorhidrato de lobelina (Peso molecular 373,9) entre fase acuosa tamponada y cloroformo. T = 20°C. Fuerza iónica 0,1-0,15.

ml amina $1,6 \cdot 10^{-4} M(\times)$	pH	cloroformo	A_{250}^o	A_{250}
10	5,01	10	0,920	0,130
20	5,01	20	0,920	0,125
30	5,01	30	0,920	0,130

(\times) Obtenida a partir de solución concentrada 0,598 g/l.

TABLA LVI

Resultados obtenidos en el reparto de la quinina base (Peso molecular 378,5) entre fase acuosa tamponada y cloroformo. T = 20°C. Fuerza iónica 0,1-0,15.

ml amina $3,2 \cdot 10^{-5} M(\times)$	pH	ml cloroformo	A_{234}^o	A_{234}
10	6,44	10	1,10	0,245
20	6,44	20	1,10	0,245
30	6,44	30	1,10	0,245

(\times) obtenida a partir de solución concentrada 0,303 g/l.

4.2.2. Aminas sin máximo de absorción UV.

En estos casos para la determinación del coeficiente de reparto se ha seguido el método original puesto a punto en la presente Memoria para la valoración de aminas en fase orgánica mediante reacción con azul de bromotimol (véase apartado 3.2.3.2.2.). Los resultados obtenidos se consignan en las tablas LVII-LX. El factor f que aparece en las tablas indica la dilución efectuada con la disolución cloroformica de azul de bromotimol.

TABLA LVII

Resultados obtenidos en el reparto del bromhidrato de escopolina (Peso molecular 236,11) entre fase acuosa tamponada y cloroformo. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica 0,1 - 0,15.

ml amina $1,6 \cdot 10^{-4} \text{ M}(\ddagger)$	pH	ml cloroformo	A_{410}	f
10	10,21	10	1,25	2,0
20	10,21	20	1,00	2,5
30	10,21	30	1,00	2,5

(\ddagger) Obtenida a partir de solución concentrada 0,755 g/l.

TABLA LVIII

Resultados obtenidos en el reparto del clorhidrato de nortropina (Peso molecular 163,5) entre fase acuosa tamponada y cloroformo. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica 0,1 - 0,15.

ml amina $1,6 \cdot 10^{-4} \text{ M}(\ddagger)$	pH	ml cloroformo	A_{410}	f
20	12,79	20	0,190	2,0
20	12,52	20	0,130	2,5
30	12,52	30	0,140	2,5

(\ddagger) Obtenida a partir de solución concentrada 0,5232 g/l.

TABLA LVIX

Resultados obtenidos en el reparto del bromhidrato de tigloidina (Peso molecular 304,2) entre fase acuosa tamponada y cloroformo. T = 20°C. Fuerza iónica 0,1-0,15.

ml amina $1,6 \cdot 10^{-4} M^{(*)}$	pH	ml cloroformo	A_{410}	f
20	6,19	20	0,440	5
25	6,19	25	0,450	5
30	6,19	30	0,450	5

(*) Obtenida a partir de solución concentrada 0,973 g/l.

TABLA LX

Resultados obtenidos en el reparto de la tropina base (Peso molecular 141,21) entre fase acuosa tamponada y cloroformo. T = 20°C. Fuerza iónica 0,1-0,15.

ml amina $1,6 \cdot 10^{-4} M^{(*)}$	pH	ml cloroformo	A_{410}	f
40	10,19	40	0,130	2,5
20	10,19	20	0,130	2,5
30	10,20	30	0,130	2,5

(*) Obtenida a partir de solución concentrada 0,452 g/l.

4.3. Estudio del azul de bromotimol

4.3.1. Espectros de absorción del azul de bromotimol y coeficientes de extinción molar.

En 3.3.4.1. se describió el método seguido para la obtención de los espectros de absorción del azul de bromotimol a pH -1,065; 4,0; y 12,5; los mismos aparecen en las fig 1 y 2 y en la tabla LXI se dan los valores de absorbancia de a 410nm de disoluciones de colorante de diferente concentración a pH 4,0; y a la longitud de onda de 615nm y pH 12,5.

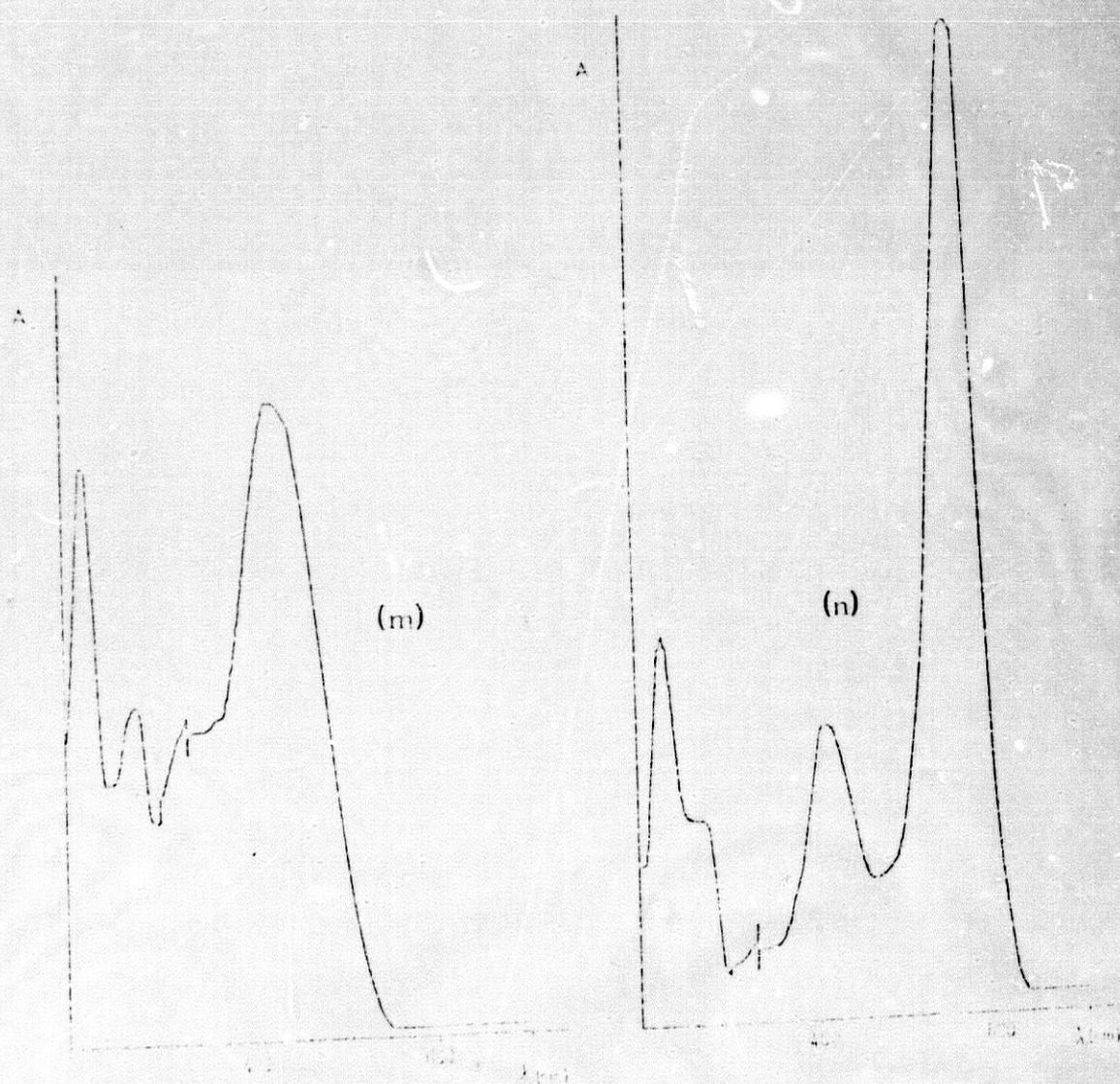


Figura 1. Espectro de absorción de disoluciones acuosas de azul de bromotimol a pH = 4,0 y concentración $3,84 \cdot 10^{-5} \text{M}$ (m) y a pH = -1,0 y concentración $4,8 \cdot 10^{-5} \text{M}$ (n)

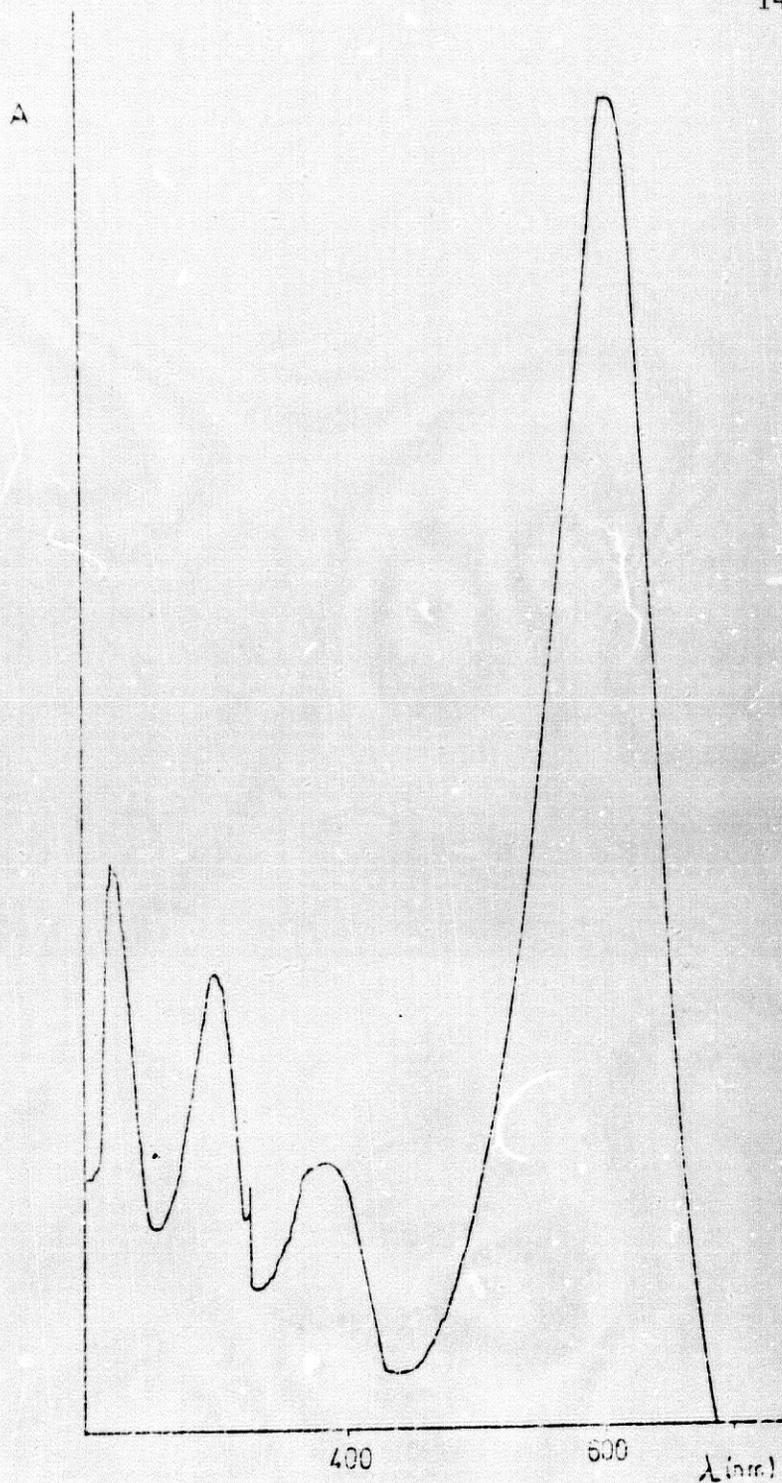


Figura 2. Espectro de absorción de azul de bromotimol $2,4 \cdot 10^{-5}$ M en disolución de hidróxido sódico 0,1M.

TABLA LXI

Valores de absorbancia de disoluciones de azul de bromotimol de diferente concentración a pH 4,0 y 12,5.

pH 4,0		pH 12,5	
$C, 10^5 M$	A_{430}	$C \cdot 10^6$	A_{615}
0,96	0,175	4,8	0,200
1,92	0,345	9,6	0,390
3,84	0,670	14,4	0,580
5,76	1,05	19,2	0,780
		24,0	0,980
		28,8	1,20

4.3.2. Constantes de disociación ácida.

4.3.2.1. Primera constante de disociación.

Mediante el método descrito en el apartado 3.3.4.2 se han obtenido las medidas de absorbancia a 558 y 470 nm de disoluciones de azul de bromotimol $1,60 \cdot 10^{-5} M$ a diferentes valores de pH teórico. Los resultados obtenidos aparecen en la tabla LXII en donde los valores de pH consignados no corresponden a medidas experimentales tomadas con un potenciómetro, sino que se calcularon a partir de la concentración de H^+ , cuyo valor fue conocido por valoración de las disoluciones ácidas frente a óxido rojo de mercurio. De esta forma el pH que aparece en la tabla LXII corresponde a $-\log |H^+|$, siendo por tanto un valor de pH teórico.

TABLA LXII

Valores de absorbancia a 558 y 470 nm de disoluciones de azul de bromotimol $1,60 \cdot 10^{-5} M$ a diferentes concentraciones de H^+ .

pH	$ H^+ $	A_{558}	A_{470}
-1,08	12,026	0,700	0,080
-1,06	11,636	0,750	0,080
-0,80	6,300	0,510	0,095
-0,60	3,980	0,205	0,135
-0,50	3,160	0,110	0,152
-0,30	1,990	0,045	0,180
-0,10	1,250	0,025	0,200
0,20	0,630	0,020	0,205
0,50	0,316	0,015	0,210
0,90	0,125	0,015	0,210
1,50	0,031	0,015	0,210

4.3.2.2. Segunda constante de disociación

Los resultados experimentales obtenidos siguiendo el método descrito en el apartado 3.3.4.3. aparecen consignados en la tabla LXIII, donde se dan los valores de absorbancia a 615nm a diferentes valores de concentración y de pH a la temperatura de 20°C.

TABLA LXIII

Valores de absorbancia a 615nm de disoluciones de azul de bromotimol a diferentes valores de pH. T = 20°C. Fuerza iónica comprendida entre 0,1 y 0,15.

Concentración de A.B. ($\cdot 10^5$)	pH	A_{615}
1,92	7,44	0,500
2,88	7,43	0,740
1,92	7,71	0,600
2,88	7,71	0,920
1,92	12,50	0,780
2,88	12,50	1,20

4.3.3. Reparto del azul de bromotimol entre fases acuosa y clorofórmica.

Mediante el método descrito en el apartado 3.3.4.4. se han obtenido las medidas de absorbancia a 615nm de la fase acuosa en cada experiencia de reparto del colorante después de diluir convenientemente una porción de ésta con hidróxido sódico 0,2M.

En la tabla LXIV aparecen pormenorizadas las particularidades del método empleado. La última columna de esta muestra un factor f que representa la dilución efectuada en cada caso con disolución de hidróxido sódico 0,2M. La última línea da la absorbancia a 615nm de la fase acuosa, después de extraer la disolución clorofórmica utilizada en los ensayos con un volumen idéntico de hidróxido sódico 0,1M.

TABLA LXIV

Experiencias de reparto del azul de bromotimol entre fases acuosa y clorofórmica. $T = 20^{\circ}\text{C}$. Fuerza iónica entre 0,1 y 0,15.

ml tampon	ml A.B. $5 \cdot 10^{-5} \text{M}(\text{L})$	pH	A_{615}	f
10	10	5,06	0,305	2
10	10	5,60	0,530	2
10	10	6,10	0,570	2,5
10	10	12,50	1,00	2

(L) Disolución clorofórmica de azul de bromotimol.

4.4. Interacción de las aminas con azul de bromotimol en fase orgánica.

4.4.1. Espectroscopia V-UV.

Con objeto de obtener el espectro de absorción V-UV de los complejos amina-azul de bromotimol se han registrado las bandas características entre 200 y 700 nm de mezclas de disoluciones clorofórmicas de amina y colorante. También se han registrado los espectros de disoluciones clorofórmicas de amina y de azul de bromotimol.

Las curvas de absorción características de reactivos y complejos en medio clorofórmico, frente a un blanco constituido por cloroformo puro se muestran en las figuras 3 - 15. En cada figura se incluyen los espectros del colorante a concentración 10^{-4} M, de la amina a 10^{-4} M, y de mezcla de disolución de ambos (casi siempre a concentración $5 \cdot 10^{-5}$ M de ambos reactivos). Los espectros característicos aparecen dibujados en dichas figuras con diferente trazo.

En las figuras 16 - 18 se han incluido los espectros de los complejos frente a un blanco que contenía el colorante a concentración $5 \cdot 10^{-5}$ M, al objeto de facilitar la interpretación de las bandas. Al pie de cada figura se indica la concentración de cada reactivo, amina y colorante, en la disolución clorofórmica mezcla.

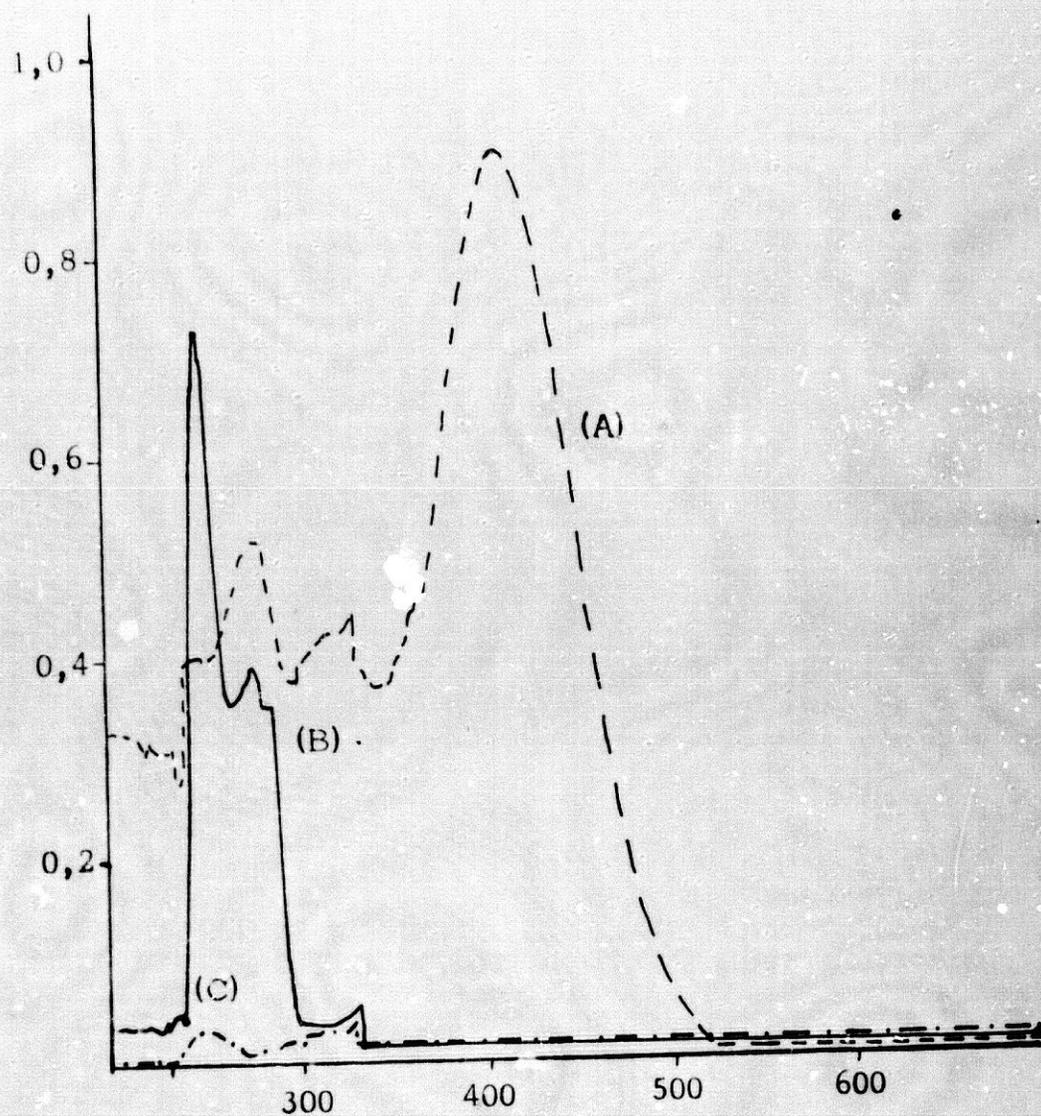


Figura 3. Espectros de absorción UV - V de disoluciones cloroformicas de: (A) atropina base $5 \cdot 10^{-5}M$ y azul de bromotimol $5 \cdot 10^{-5}M$; (B) azul de bromotimol $10^{-4}M$ y (C) atropina base $10^{-4}M$.

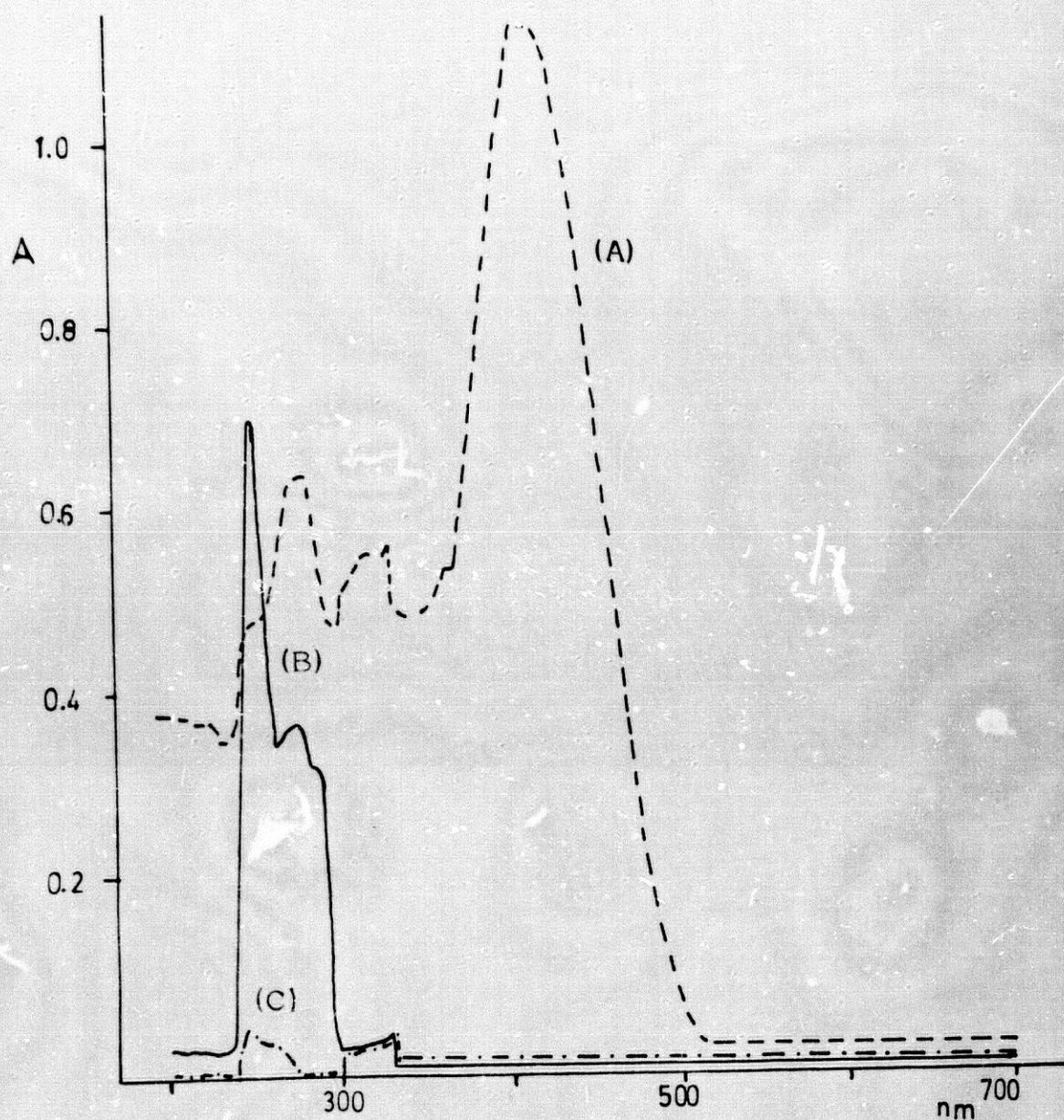


Figura 4. Espectros de absorción UV-V de disoluciones cloroformicas de: (A) belladonna base $5 \cdot 10^{-5}M$ y azul de bromotimol $5 \cdot 10^{-5}M$; (B) azul de bromotimol $10^{-4}M$ y (C) belladonna base $10^{-4}M$.

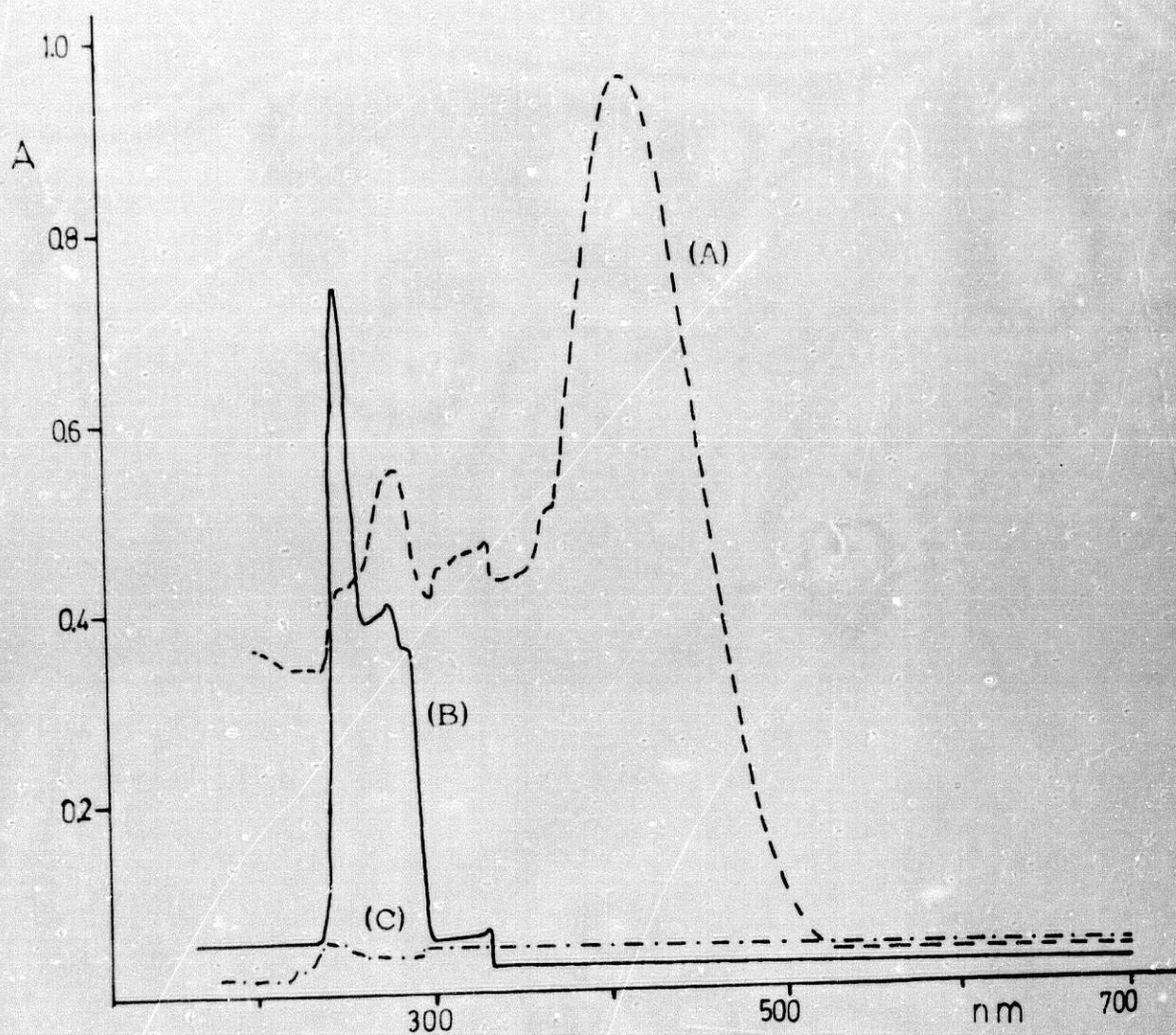


Figura 5. Espectros de absorción UV-V de disoluciones cloroformicas de: (A) hiosciamina base $5 \cdot 10^{-5} \text{M}$ y azul de bromotimol $5 \cdot 10^{-5} \text{M}$; (B) azul de bromotimol 10^{-4}M ; y (C) hiosciamina base 10^{-4}M .

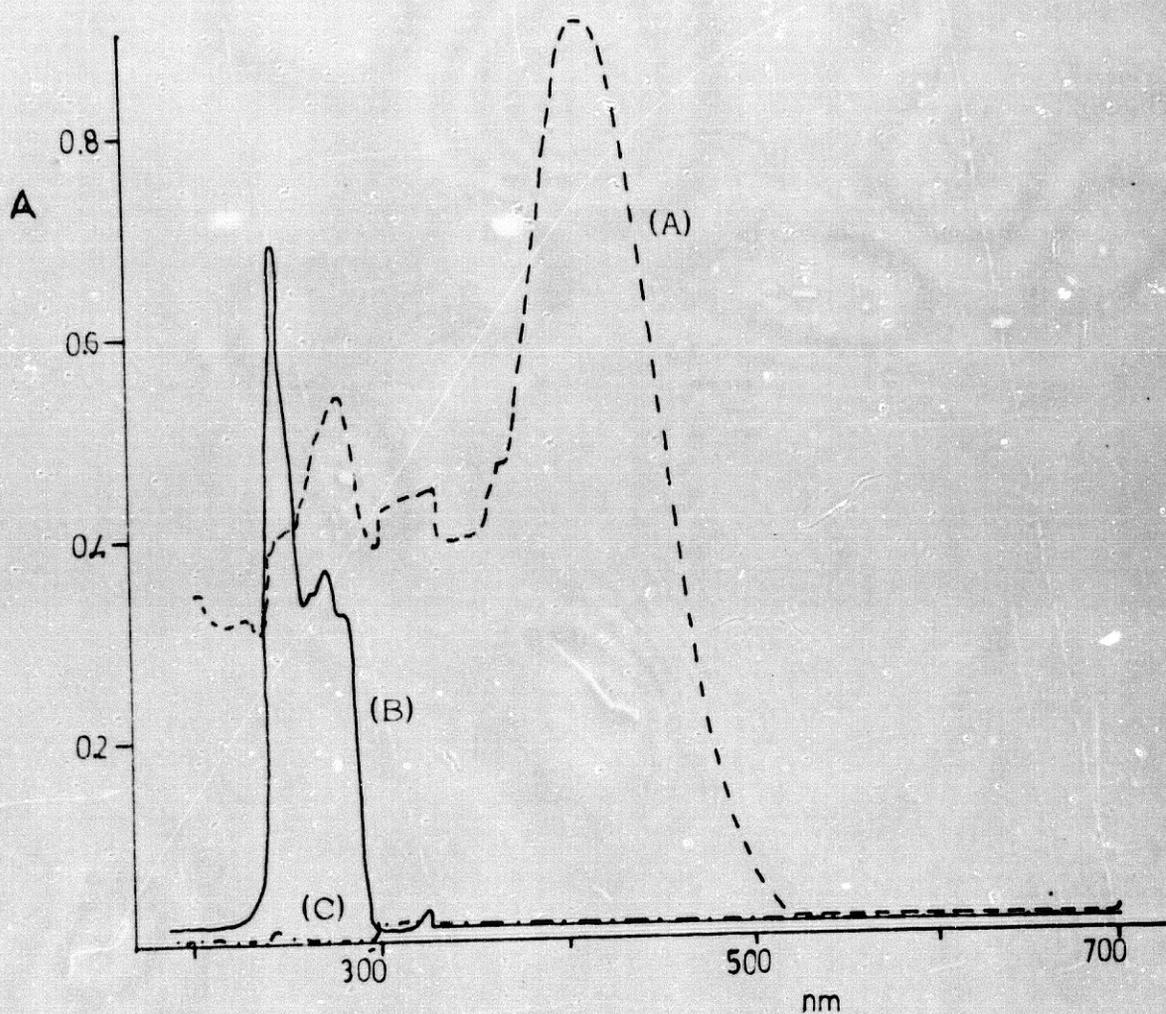


Figura 6. Espectros de absorción UV-V de disoluciones cloro-
fórmicas de: (A) homatropina base $5 \cdot 10^{-5}$ M y azul
de bromotimol $5 \cdot 10^{-5}$ M; (B) azul de bromotimol 10^{-4} M;
y (C) homatropina base 10^{-4} M.

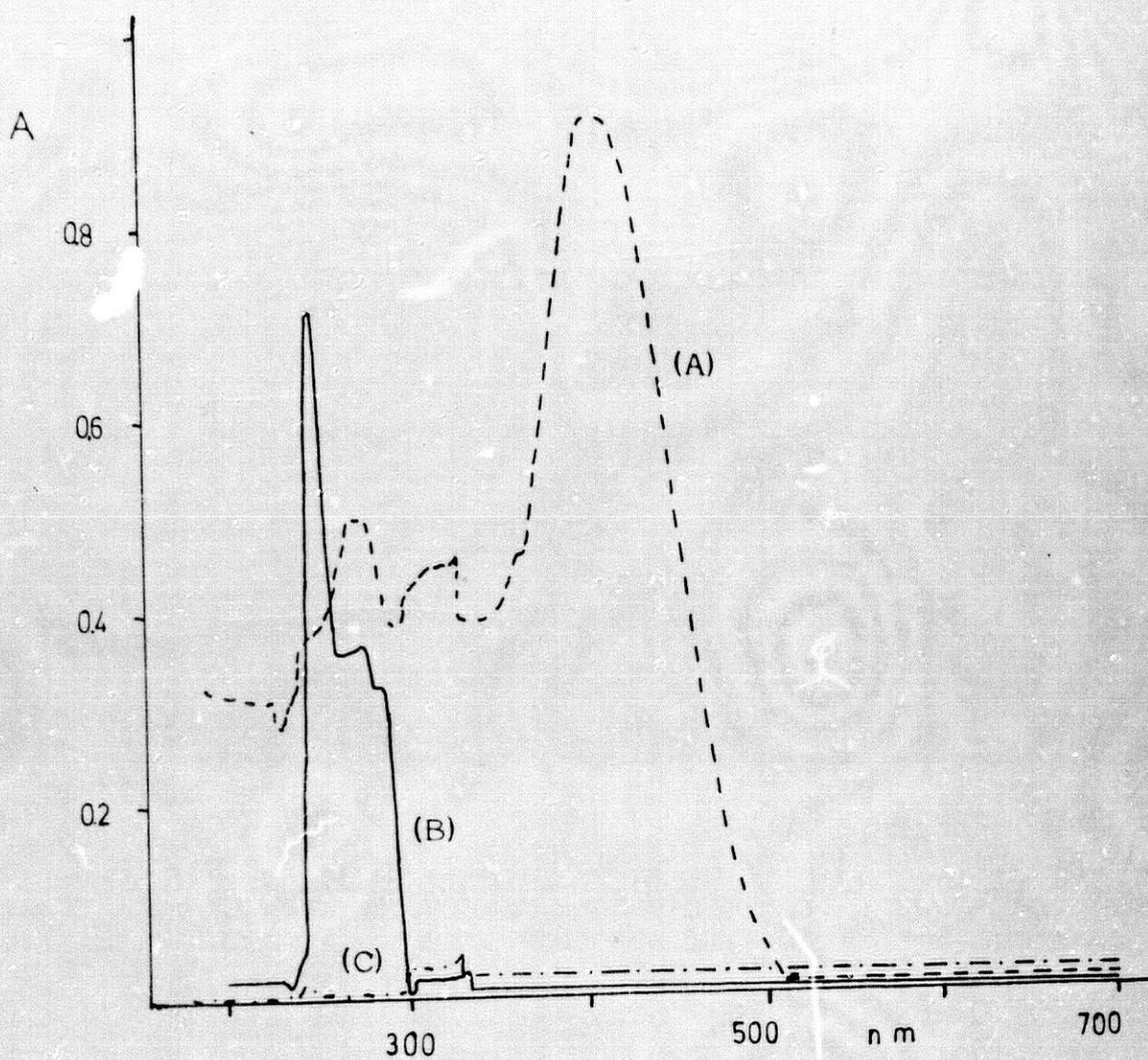


Figura 7. Espectros de absorción UV-V de disoluciones cloro
fórmicas de: (A) tropina base $5 \cdot 10^{-5} M$ y azul de bro
motimol $5 \cdot 10^{-5} M$; (B) azul de bromotimol $10^{-4} M$; y
(C) tropina base $10^{-4} M$.

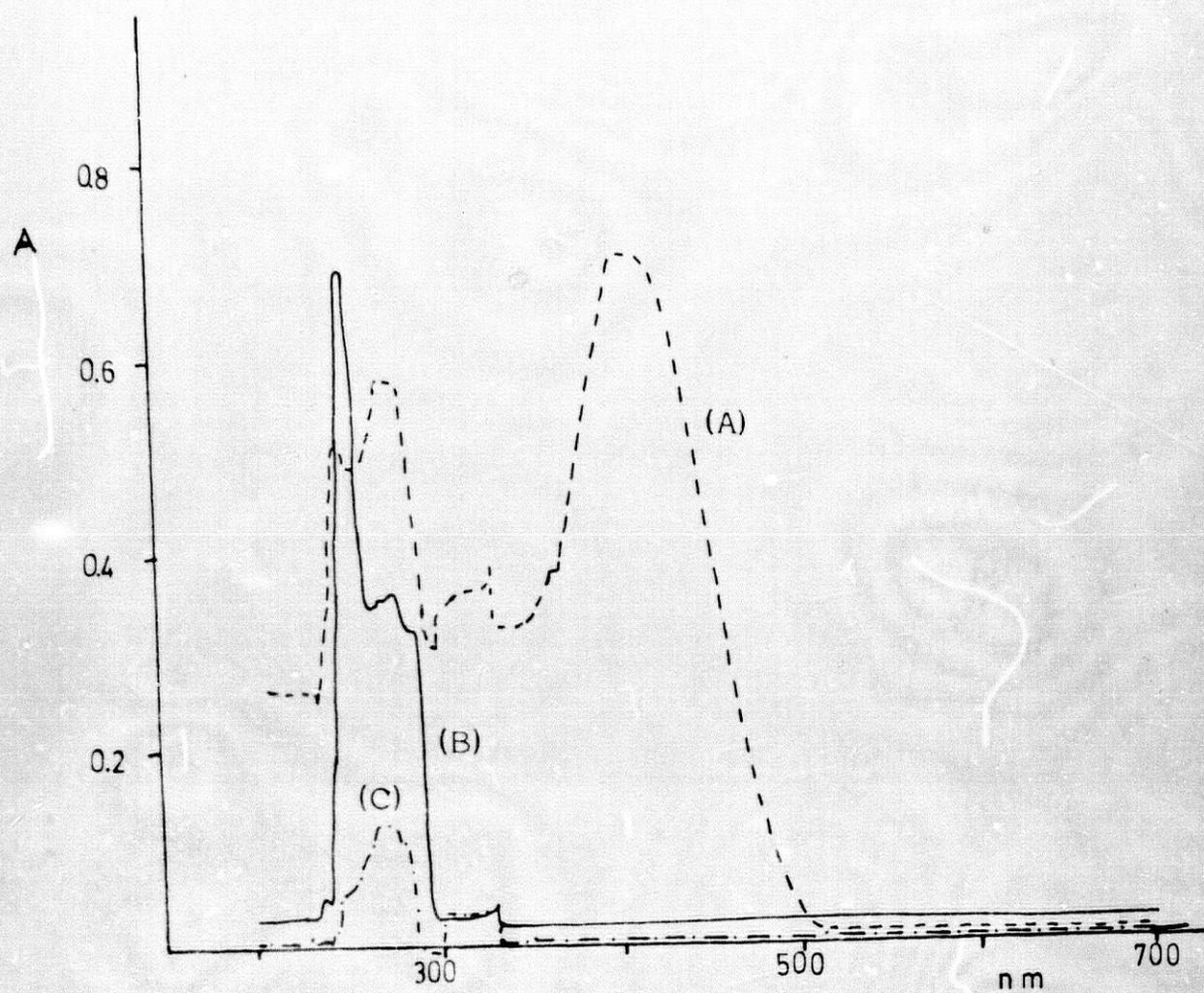


Figura 8. Espectros de absorción UV-V de disoluciones cloro-
fórmicas de: (A) bamethan base $4 \cdot 10^{-5}$ M y azul de bro-
motimol $5,6 \cdot 10^{-5}$ M; (B) azul de bromotimol 10^{-4} M;
y (C) bamethan base 10^{-4} M.

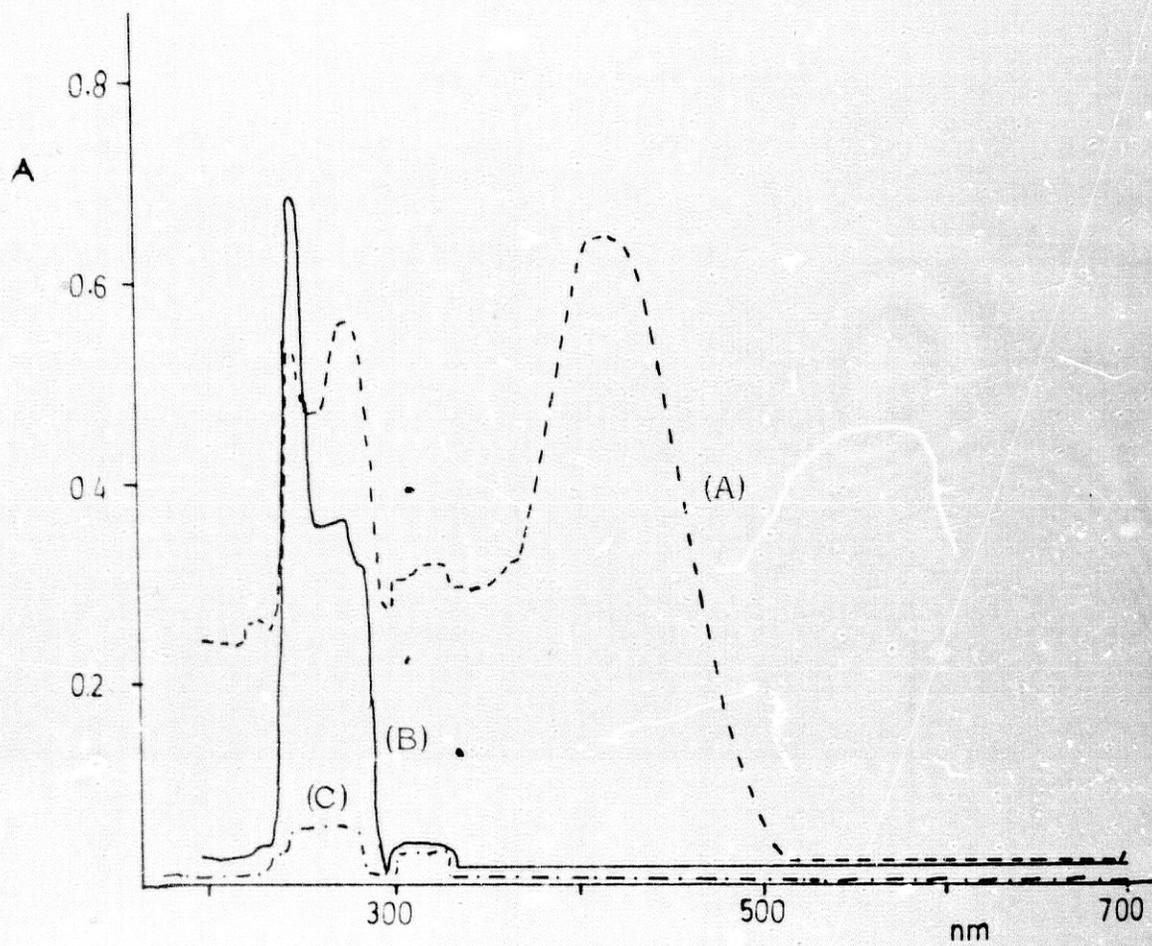


Figura 9. Espectros de absorción UV-V de disoluciones cloro-
fórmicas de: (A) etilfenilefrina base $4 \cdot 10^{-5}$ M y azul de
bromotimol $5,6 \cdot 10^{-5}$ M; (B) azul de bromotimol 10^{-4} M;
y (C) etilfenilefrina base 10^{-4} M.

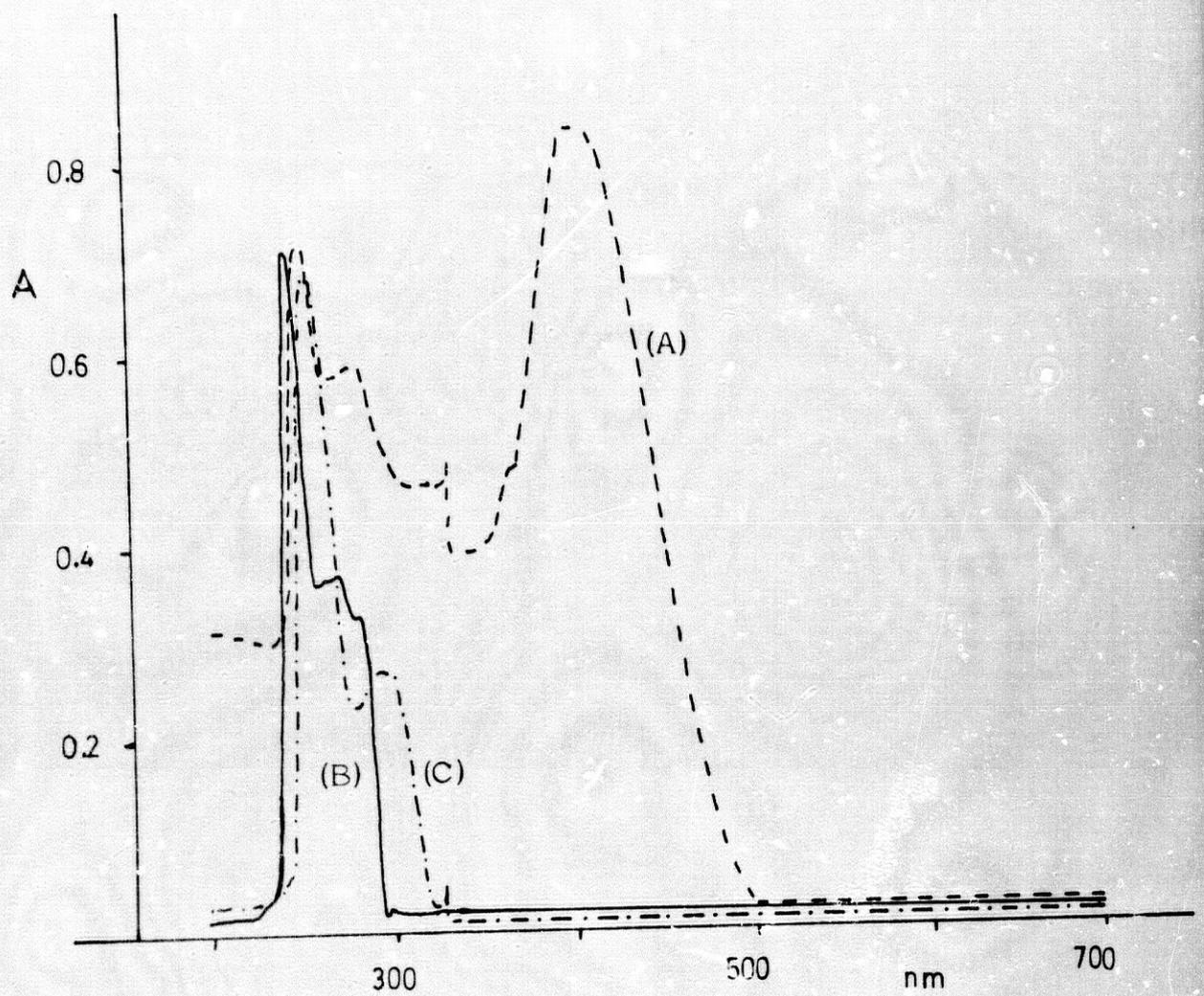


Figura 10. Espectros de absorción UV-V de disoluciones cloro-
fórmicas de: (A) ajmalina base $5 \cdot 10^{-5} \text{M}$ y azul de bro-
motimol $5 \cdot 10^{-5} \text{M}$; (B) azul de bromotimol 10^{-4}M ; y (C)
ajmalina base 10^{-4}M .

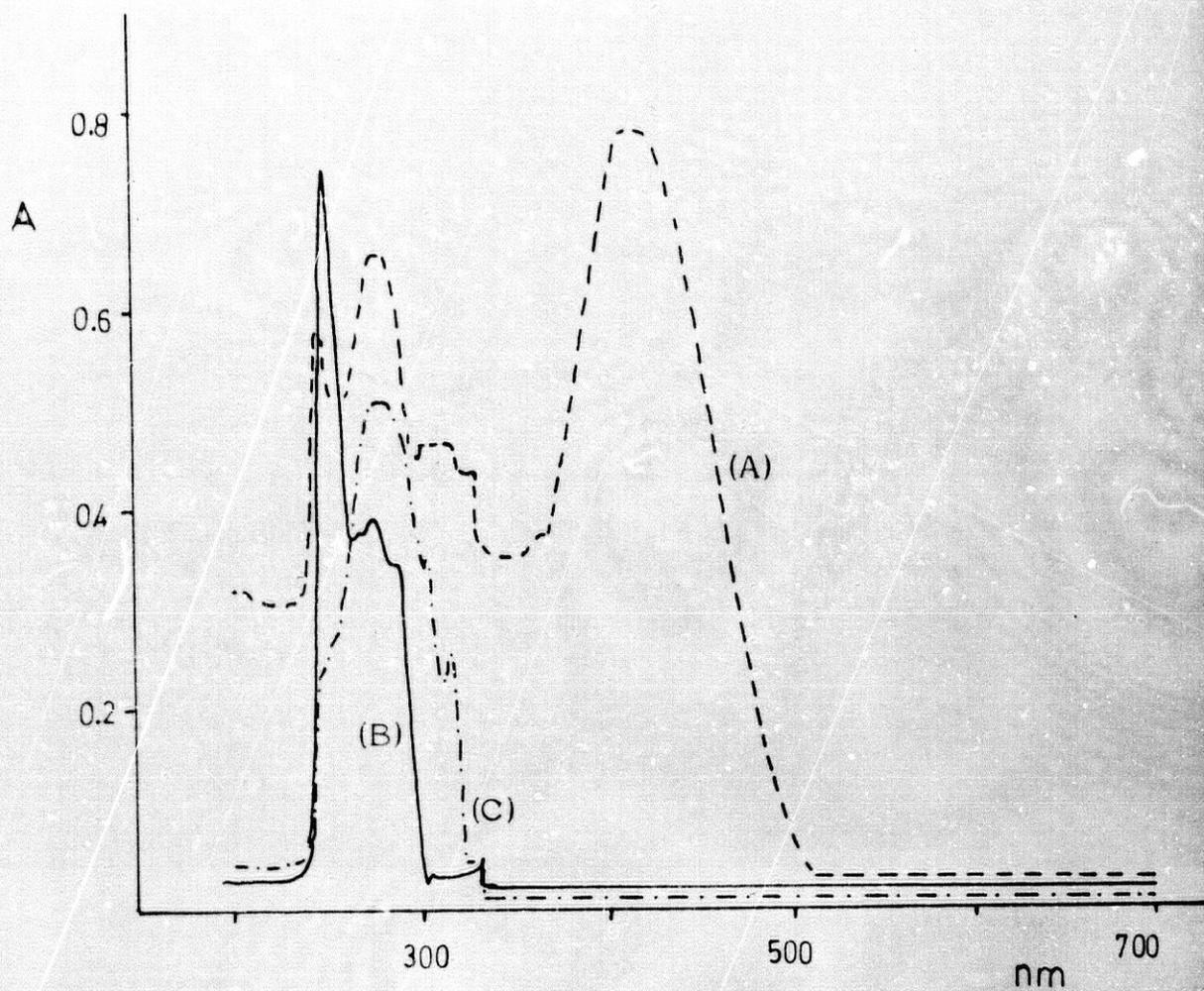


Figura 11. Espectros de absorción UV-V de disoluciones cloro
fórmicas de: (A) cinchonidina base $5 \cdot 10^{-5}M$ y azul
de bromotimol $5 \cdot 10^{-5}M$; (B) azul de bromotimol $10^{-4}M$;
y (C) cinchonidina base $10^{-4}M$.

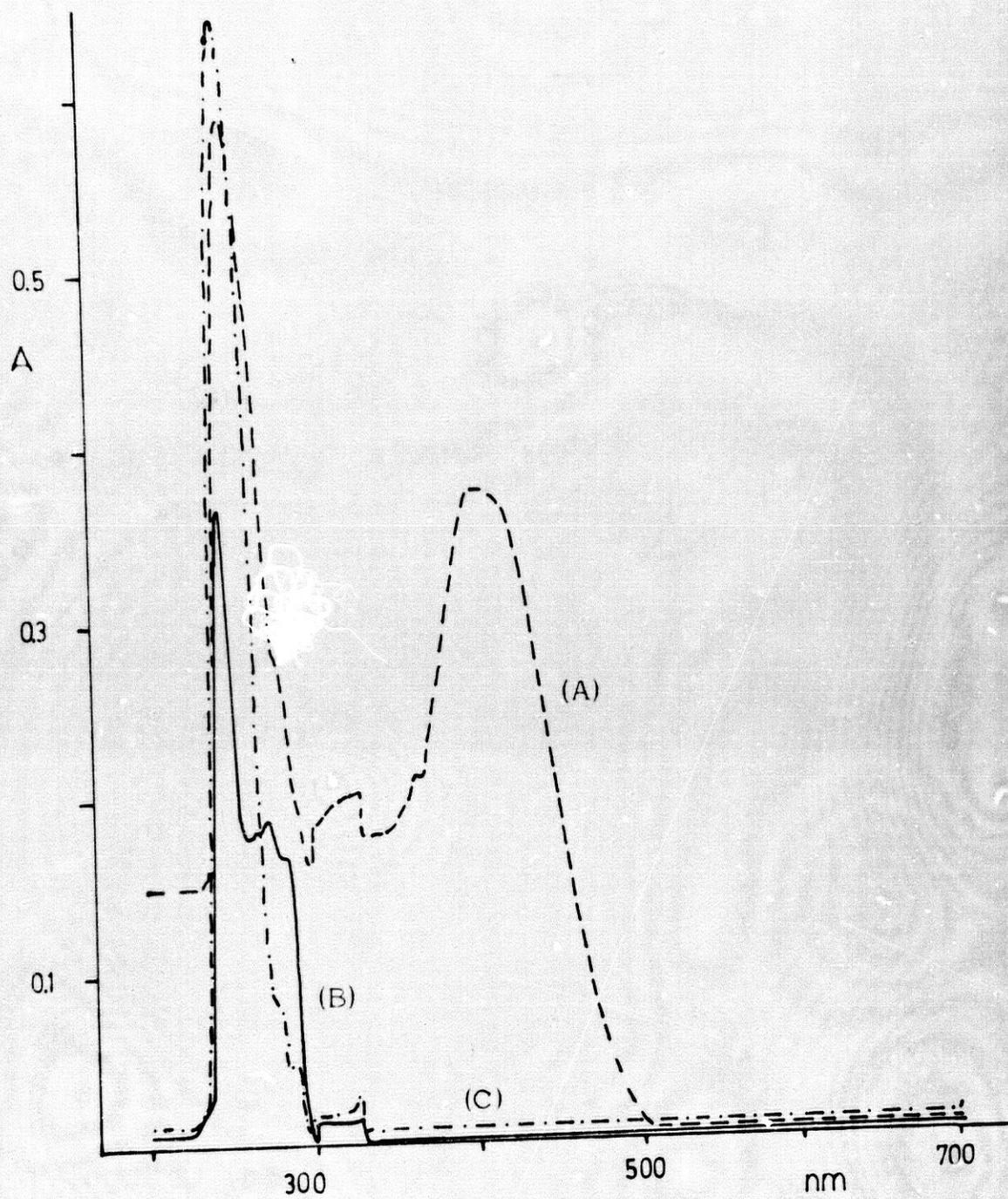


Figura 12. Espectros de absorción UV-V de disoluciones cloro-
fórmicas de: (A) cinnarazina base $5 \cdot 10^{-5} \text{M}$ y azul de
bromotimol 10^{-4}M . (B) y (C) cinnarazina base 10^{-4}M .