5.1. Constantes de disociación ácida.

5.1.1. Constantes de disociación de aminas monoácidas

Se han determinado los valores de pK_a de las aminas estudiadas incluidas en este grupo, 10 derivados tropánicos y una amina simpatomimética, a partir de medidas potenciómetricas. Los valores de pK_a obtenidos mediante la ecuación de Henderson-Hasselbalch a partir de la suma de log C y pH se consugnan en las tablas I a XXXV.

La representación de pH frente a grado de neutralización, a, muestra un único punto de inflexión como se aprecia en las figuras 85-89, cuando se ha añadido un mol de alcalí por mol de ácido valorado; lo que indica la existencia de un solo protón suceptible de disociarse para estas sales de aminas.

La tropina base, única amina en forma básica ensayada, fué valorada con ácido clorhídrico como se muestra en las tablas XXVIII-XXXIII. La representación gráfica de pH frente a a muestra tambien un único protón disociable(figura 89 m), y aparece un punto de inflexión más pronunciado, si bien el valor de pK_a es del mismo orden que en las otras aminas. Este hecho es debido a que se comporta como base fuerte. Las otras aminas, en forma de sales, tales como clorhidrato ó bromhidrato, se comportan como ácidos débiles (a excepción de la escopolamina N-óxido) y por eso su punto de inflexión es menos pronunciado.

Estos resultados experimentales confirman la existencia de un solo valor de pK_a, como podía suponerse de la estructura molecular de estos derivados tropánicos (apendice en pag. 640), siendo por este motivo adcrito al Nitrogeno heterocíclico presente en la molécula. Igualmente ocurre con la amina simpatomimética, efedrina, (figura 89 n) que presenta un único punto de inflexión y por tanto una sola disociación adcrita tambien a su Nitrogéno(130).

Las conclusiones dadas a partir de los datos experimentales confirman las obtenidas por la bibliografía existente acerca de la disociación de algunos de los derivados tropánicos estudiados aquí, como son los casos de atropina, homatropina y escopolamina (131) (132). Esta concordancia es otro hecho que corrobora las afirmaciones anteriormente expuestas.

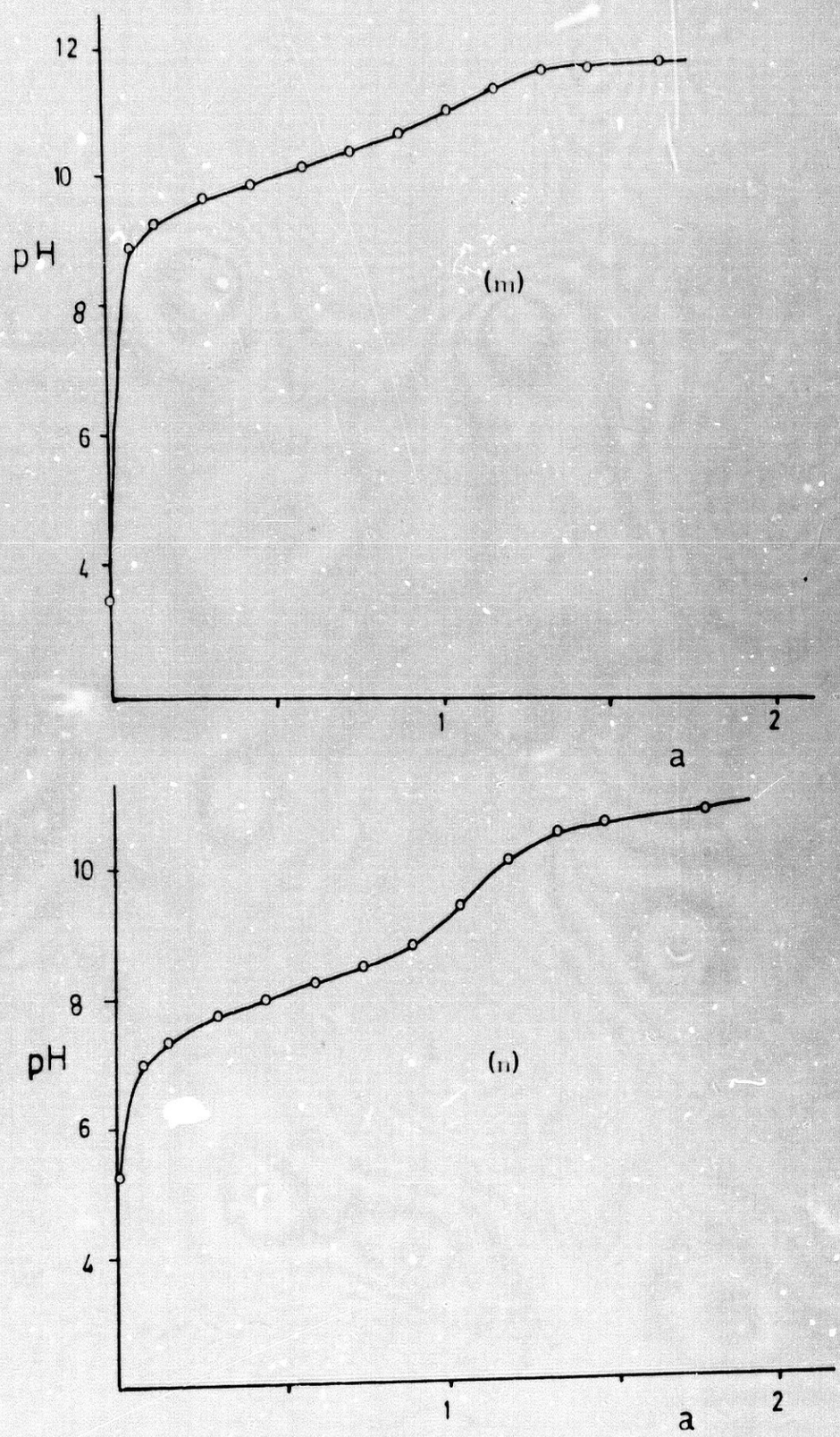


Figura 85. Valores de pH frente a grado de neutralización a en las titulaciones potenciométricas correspondientes al clorhidrato de atropina (m) y bromhidrato de escopolamina(n)

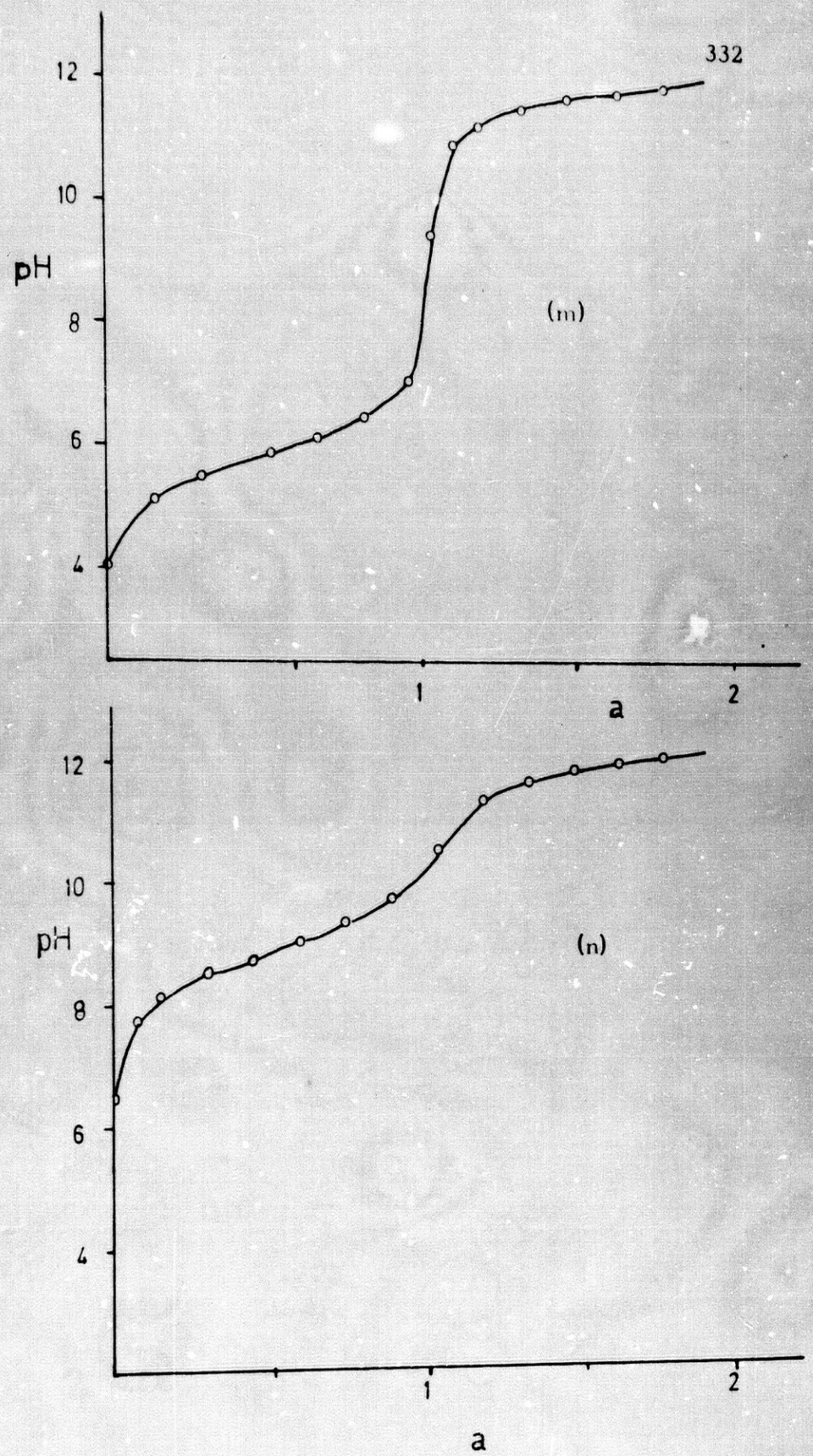


Figura 86. Valores de pH frente a grado de neutralización a en las titulaciones potenciométricas correspondientes al bromhidrato de escopolamina N-óxido (m) y bromhidrato de escopolina (n)

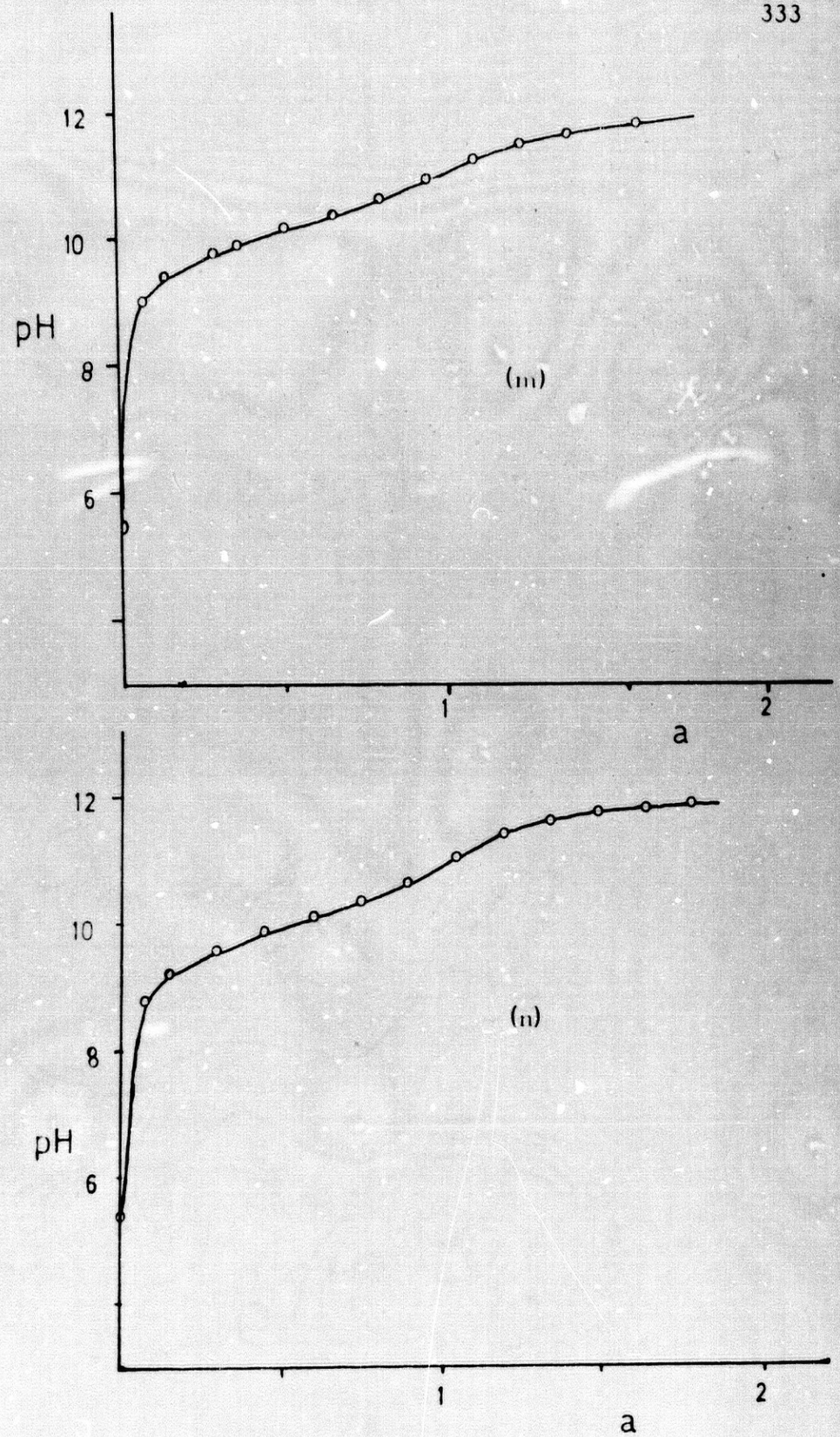


Figura 87. Valores de pH frente a grado de neutralización a en las titulaciones potenciométricas correspondientes a los bromhidratos de hiosciamina(m) y homatropina (n)

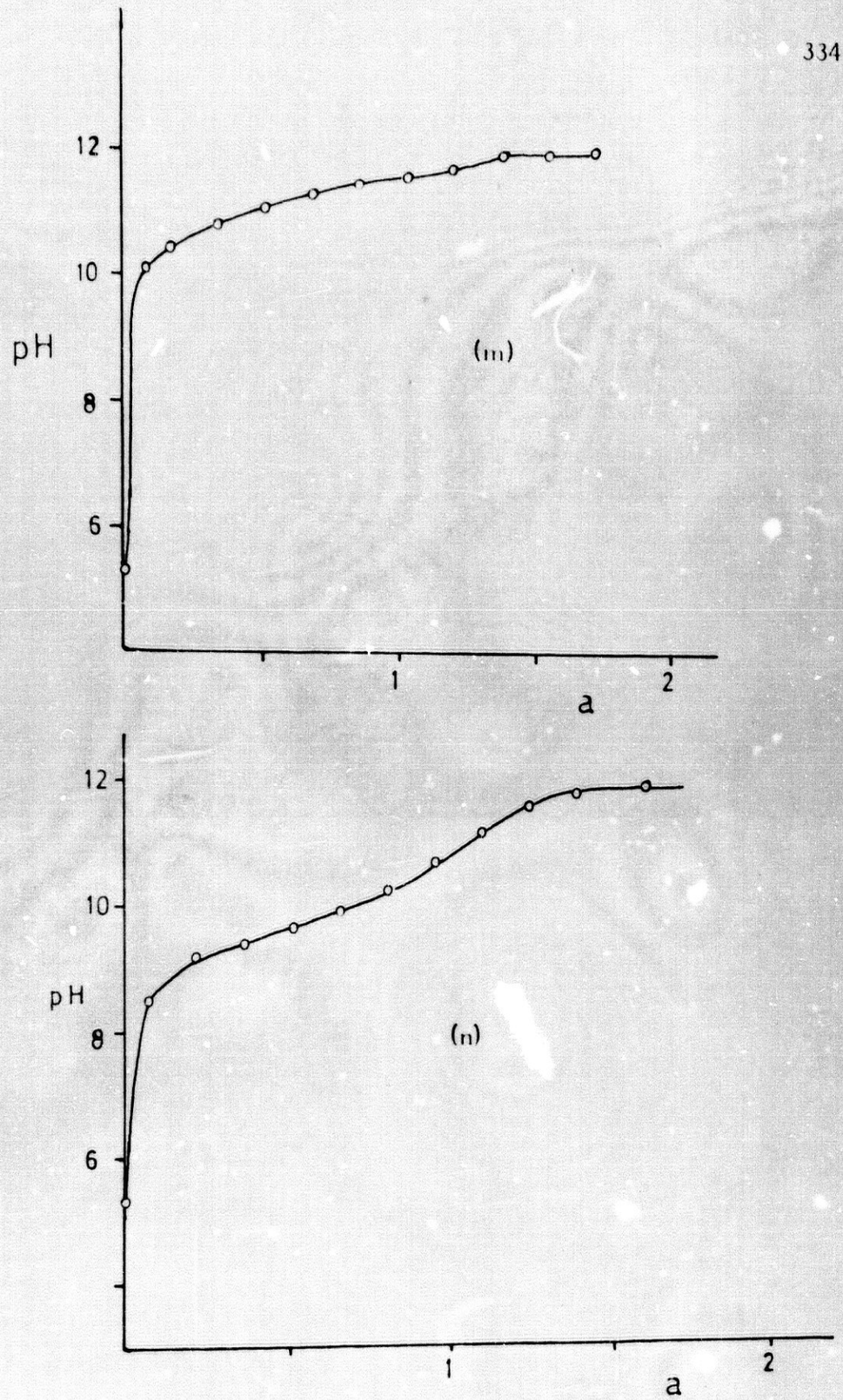


Figura 88. Valores de pH frente a grado de neutralización a en las titulaciones potenciométricas correspondientes al clorhidrato de nortropina (m) y bromhidrato de tigloidina (n).

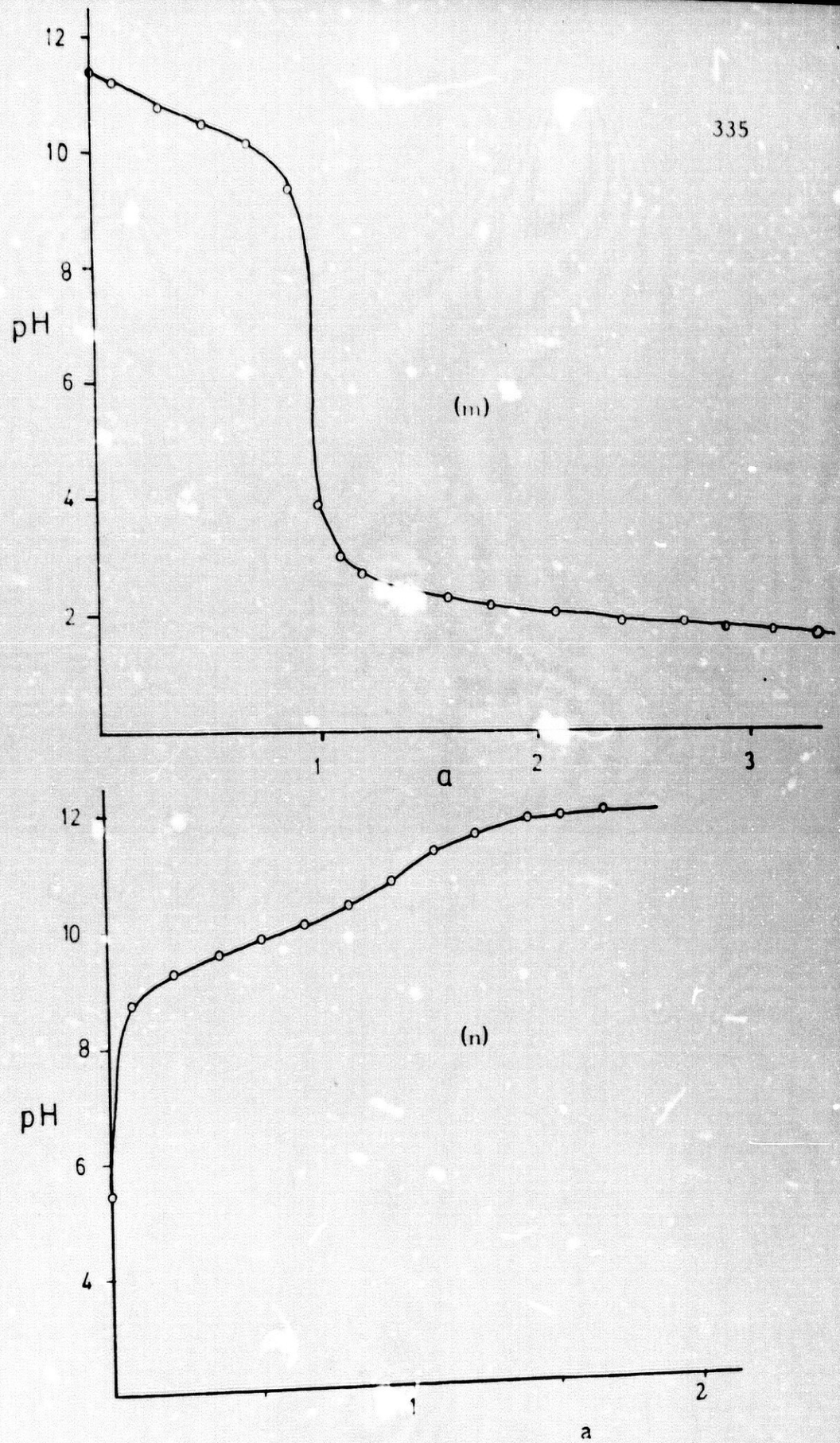


Figura 89. Valores de pH frente a grado de neutralización a en las titulaciones potenciométricas correspondientes a tropina base (m) y clorhidrato de efedrina (n).

Uno de los derivados tropánicos estudiados, atropamina, resultó ser insoluble en agua por lo que no pudo estudiarse la representación de pH frente a $\bar{a}$, no obstante su analogía molecular con otros derivados tropánicos tales como atropina ú homatropina permite hacer extensivas las conclusiones obtenidas para éstos.

Para estudiar el grado de precisión de las determinaciones de pK_a por el método algebraico anteriormente empleado (tablas I a XXXV), han sido escogidas tres sustancias representativas de los derivados tropánicos objeto de estudio: tropina base (valorada con ácido clorhídrico), bromhidrato de escopolina y clorhidrato de atropina (ambas valoradas con KOH), efectuándose determinaciones de pK_a a diferentes fuerzas iónicas ajustadas con disolución de ClK. Posteriormente se ha comprobado la fidelidad con que estas tres aminas siguen la ecuación de Debye-Hückel.

En las tablas III-VIII, XIII-XIX, XXVIII-XXXIII correspondientes a estas tres sustancias, aparecen los valores de $[BH^+]$, [B], logC, y pK_a obtenidos a partir de los datos experimentales de las distintas pruebas potenciométricas efectuadas. El pK_a calculado a partir de la suma algebraica logC y pH, se ha obtenido para cada adición; de estos valores se obtuvo un valor medio despreciando los que más se dispersaban. Los datos que menor dispersión presentaron fueron generalmente, aquéllos en que las concentraciones de BH^+ y B eran comparables, como se puede apreciar en cualquiera de las tablas antes mencionadas. Por eso al final de cada tabla se da el valor definitivo de pK_a, y entre paréntesis se da el número de valores usados en la media. Tal es el criterio utilizado por Serjeant (100).

A partir de una serie de medidas en una valoración potenciométrica, también puede calcularse el pK_a, mediante la representación de pH frente a logC, datos que estan en las columnas 2 y 6 de las tablas antes mencionadas, dichas representaciones se incluyen en las fig. 90-107. De esta forma tambien han sido calculados los pK_a para los tres derivados tropánicos tomados como representativos, a partir de la ordenada en el origen. Para ello se utilizó una programadora Casio fx-502P.

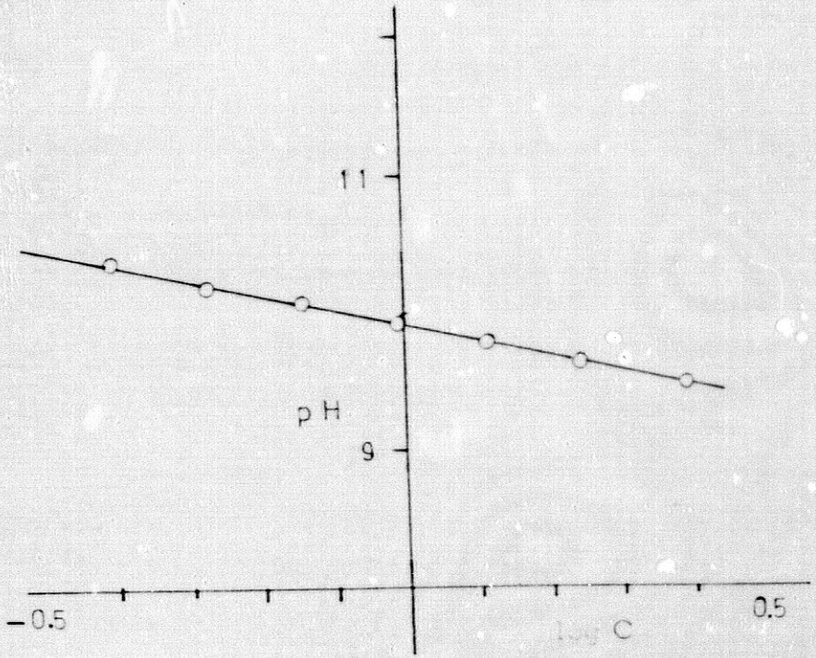


Figura 90. Representación de pH frente a log C en la titulación potenciometrica del clorhidrato de atropina 10^{-2}M sin ajuste de fuerza iónica.

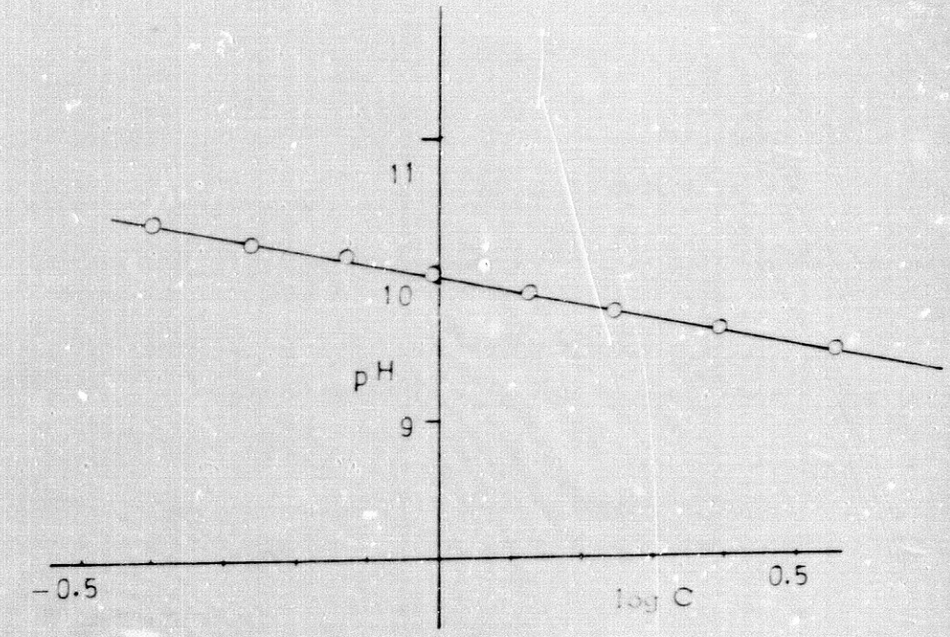


Figura 91. Representación de pH frente a log C en la titulación potenciométrica del clorhidrato de atropina a fuerza iónica 0,02.

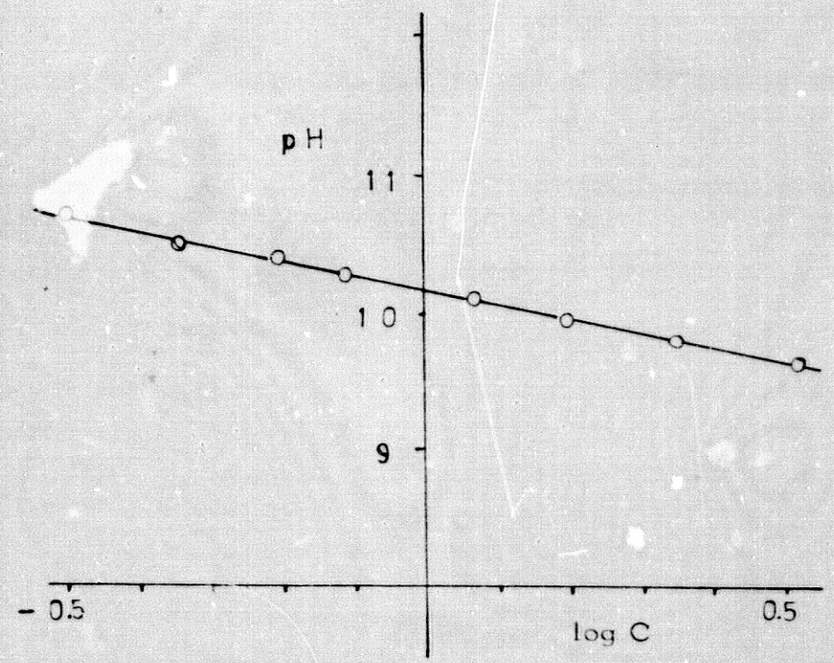


Figura 92. Representación de pH frente a log C en la titulación potenciométrica del clorhidrato de atropina a fuerza iónica 0,05.

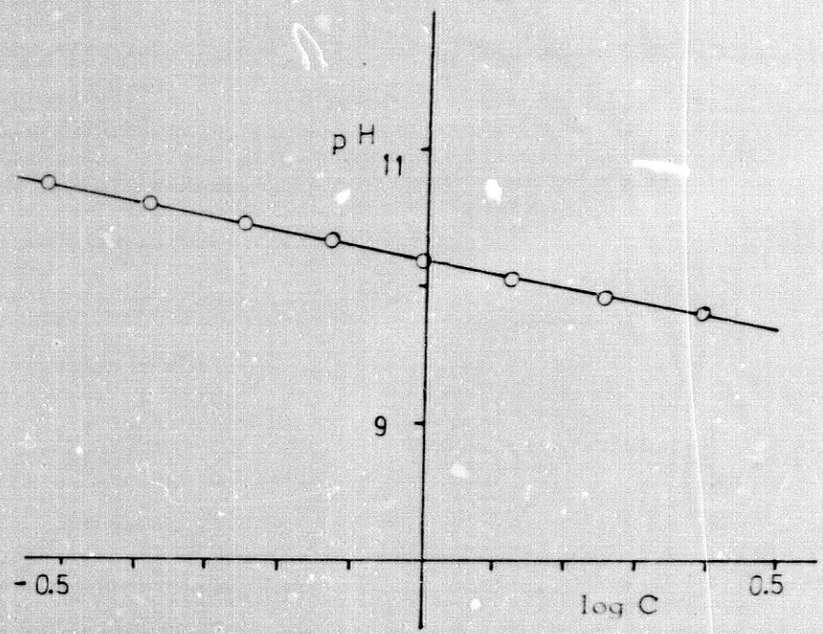


Figura 93. Representación de pH frente a log C en la titulación potenciométrica del clorhidrato de atropina a fuerza iónica 0,08.

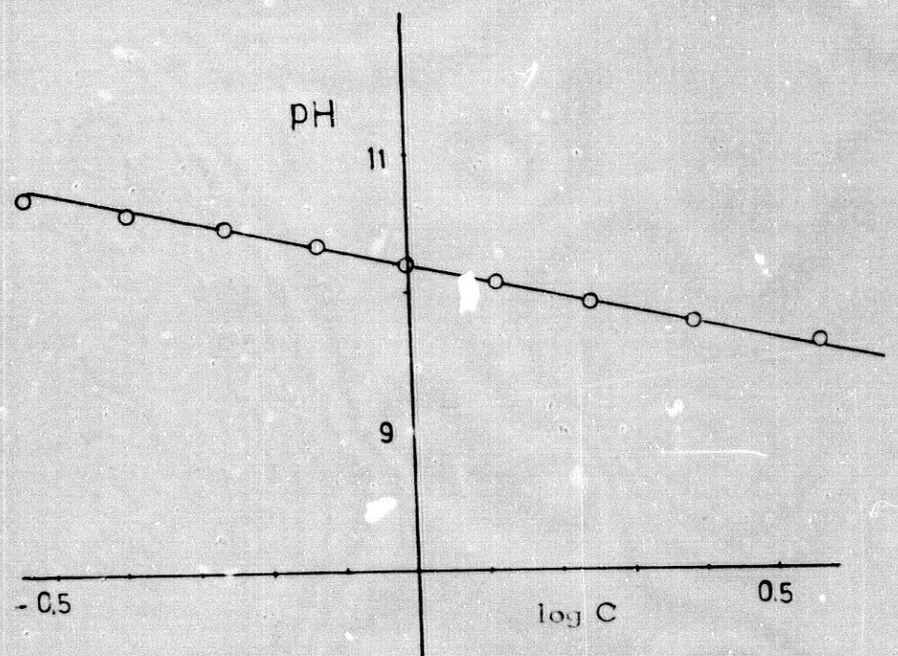


Figura 94. Representación de pH frente a log C en la titulación potenciométrica del clorhidrato de atropina a fuerza iónica 0,15.

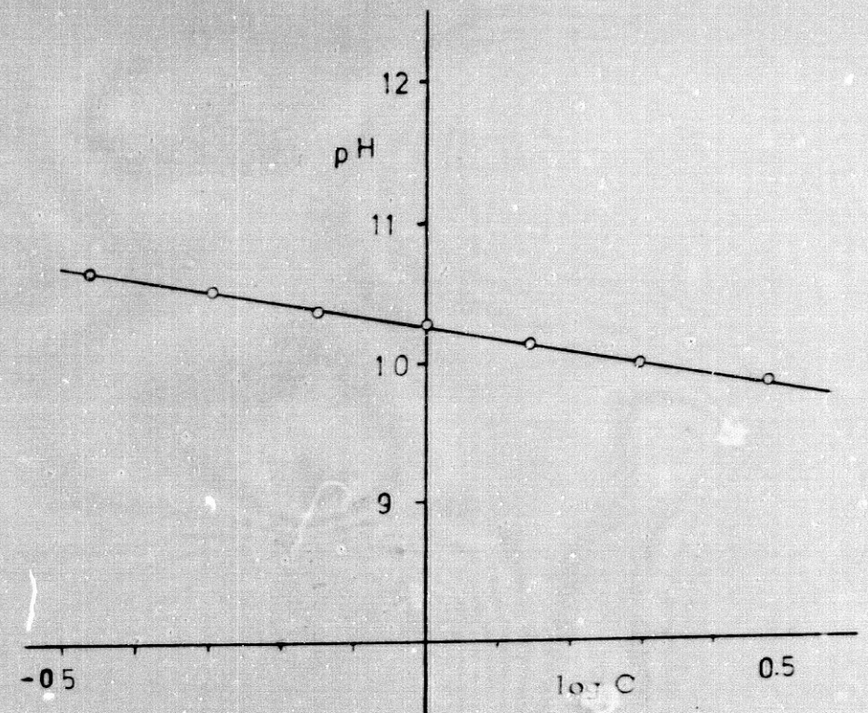


Figura 95. Representación de pH frente a log C en la titulación potenciometrica del clorhidrato de atropina a fuerza iónica 0,50.

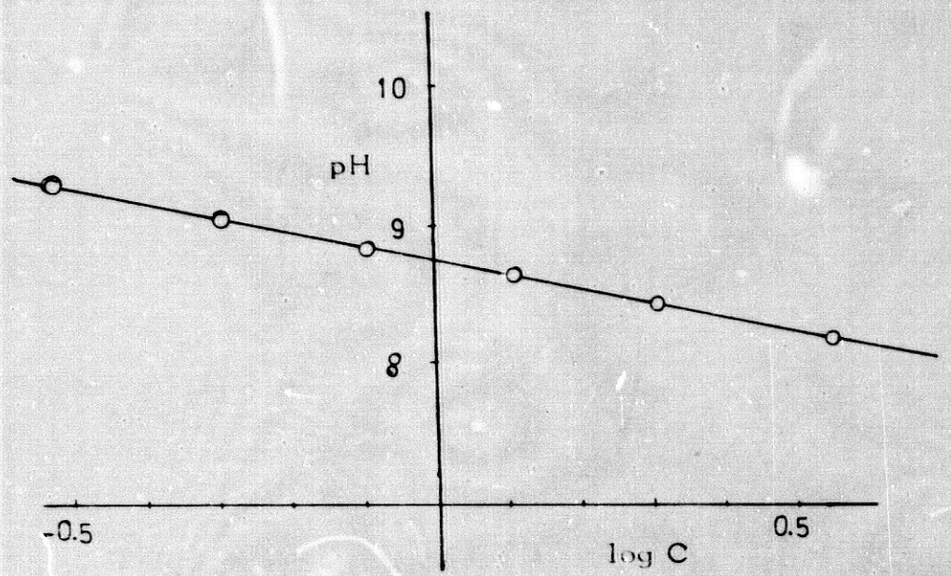


Figura 96. Representación de pH frente a log C en la titulación potenciométrica del bromhidrato de escopolina 10^{-2}M sin ajuste de fuerza iónica.

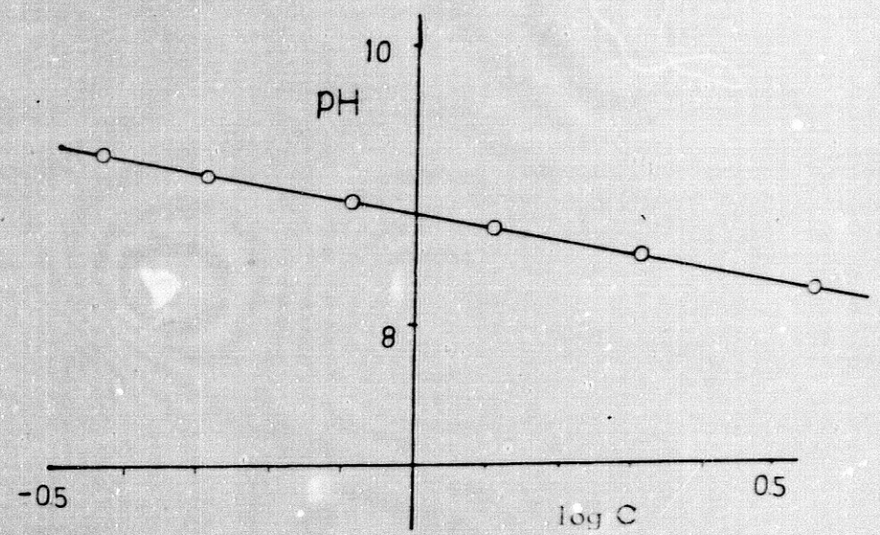


Figura 97. Representación de pH frente a log C en la titulación potenciométrica del bromhidrato de escopolina a fuerza iónica 0,02.

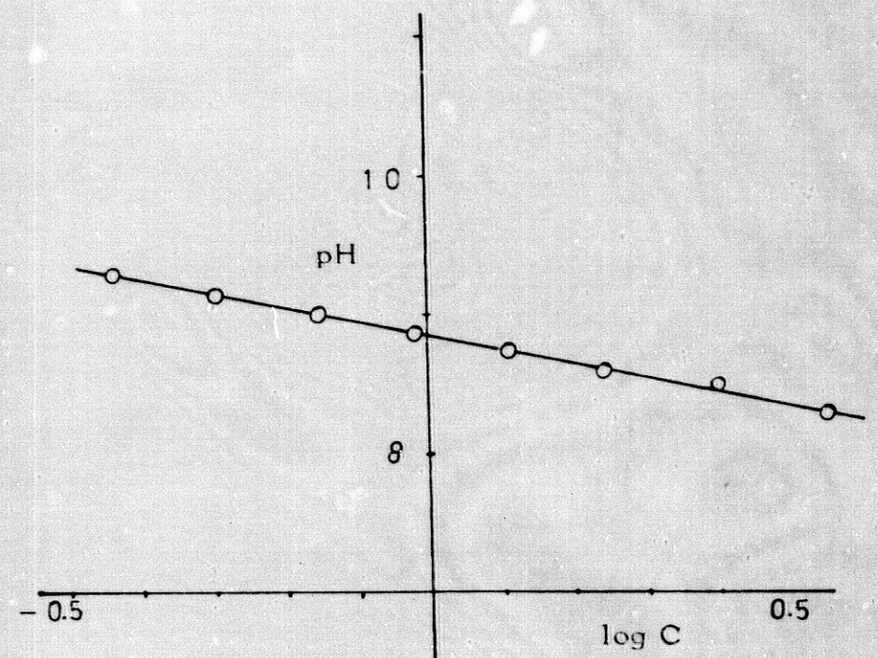


Figura 100. Representación de pH frente a log C en la titulación potenciométrica del bromhidrato de escopolina a fuerza iónica 0,08.

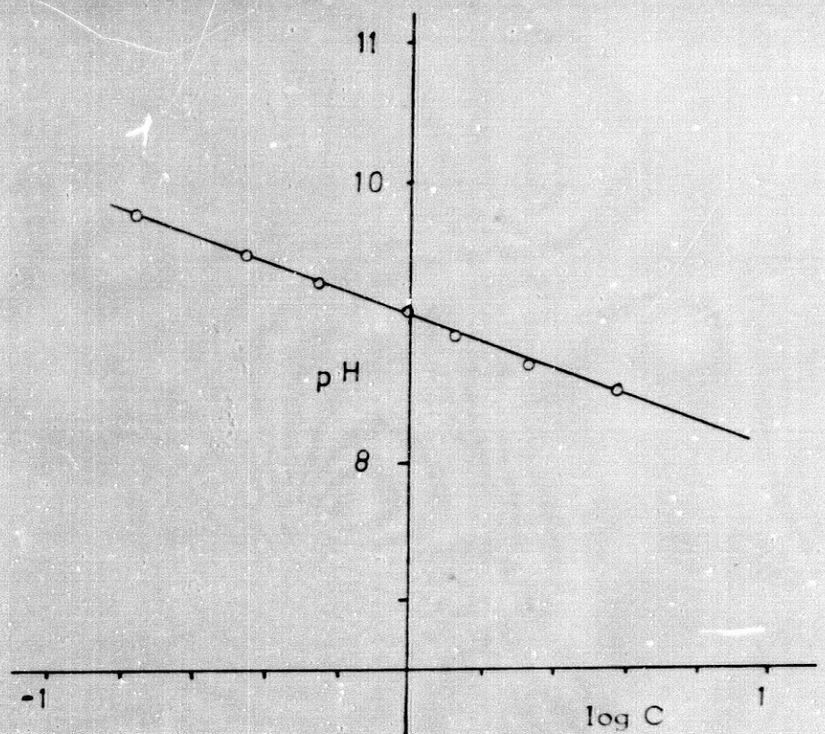


Figura 101. Representación de pH frente a log C en la titulación potenciométrica del bromhidrato de escopolina a fuerza iónica 0, 15.

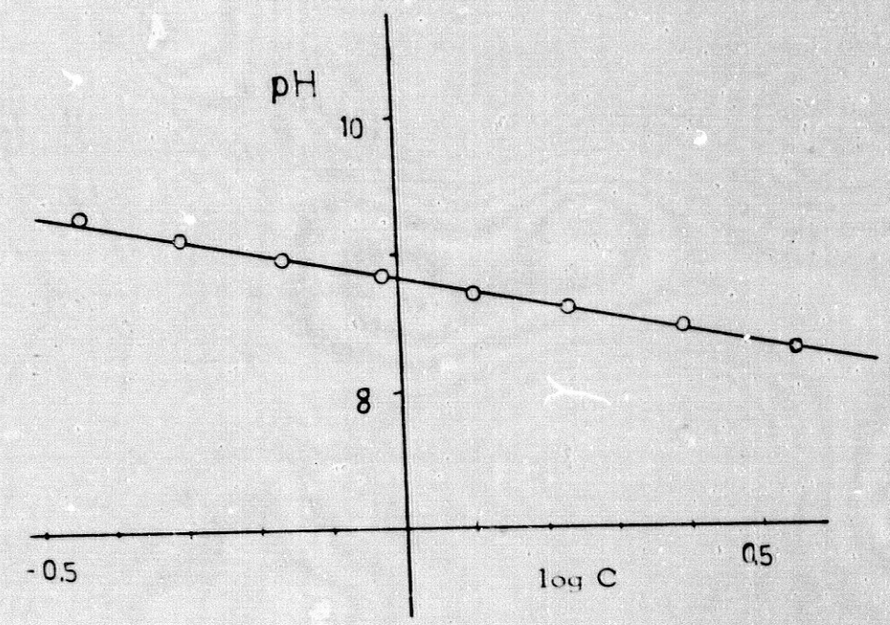


Figura 98. Representación de pH frente a log C en la titulación potenciométrica del bromhidrato de escopolina a fuerza iónica 0,04.

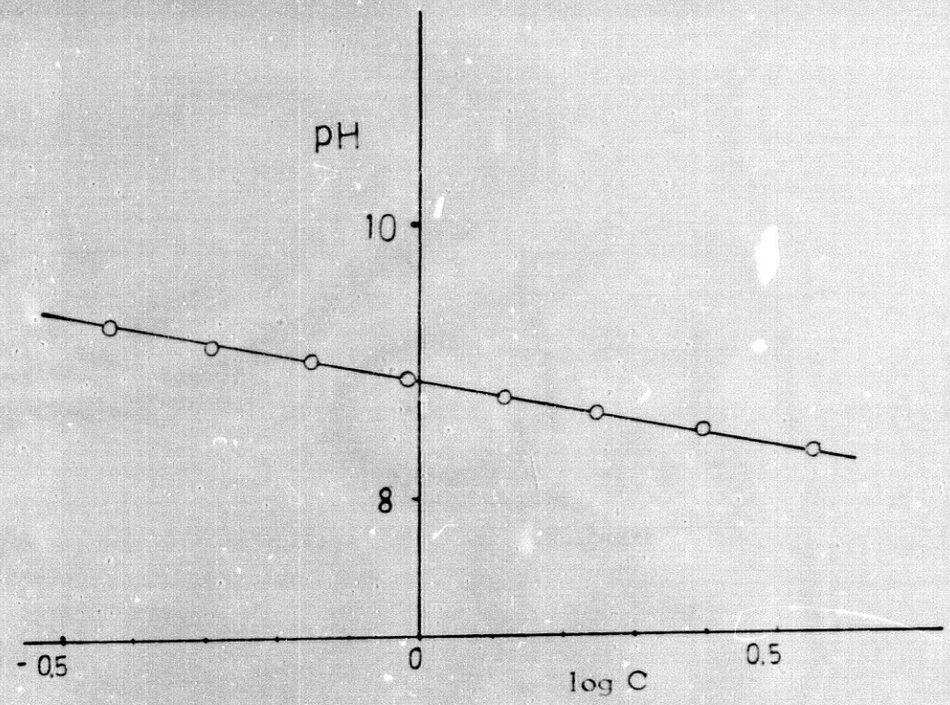


Figura 99. Representación de pH frente a log C en la titulación potenciométrica del bromhidrato de escopolina a fuerza iónica 0,06.

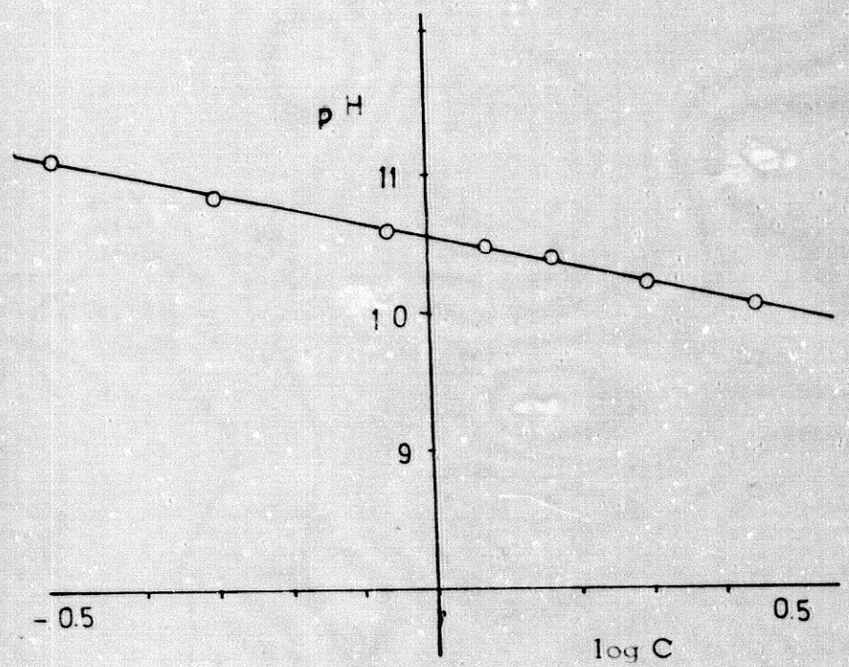


Figura 102. Representación de pH frente a log C er la titulación potenciométrica de la tropina base sin ajuste de fuerza iónica.

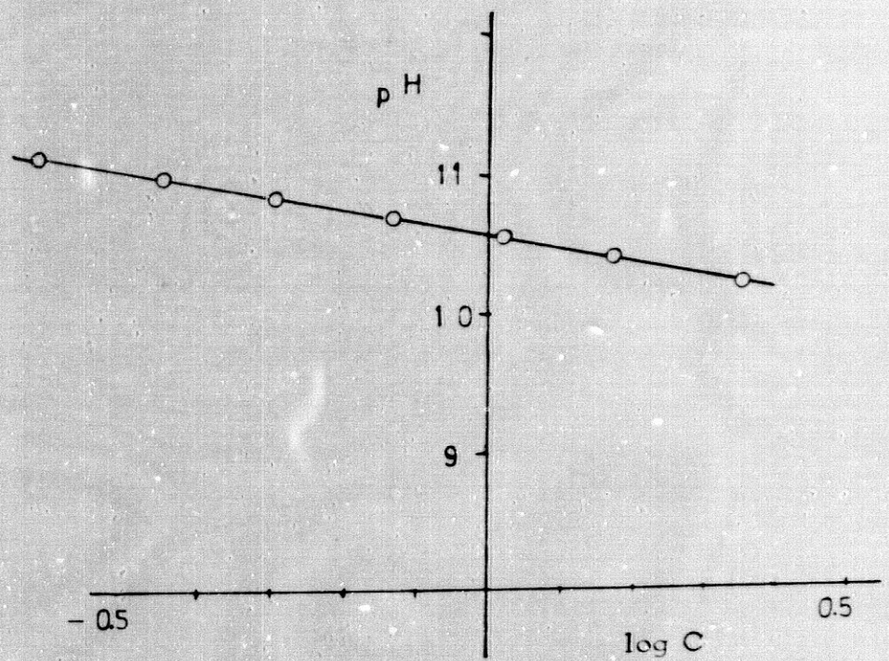


Figura 103. Representación de pH frente a log C en la titulación potenciométrica de la tropina base a fuerza iónica 0,02.

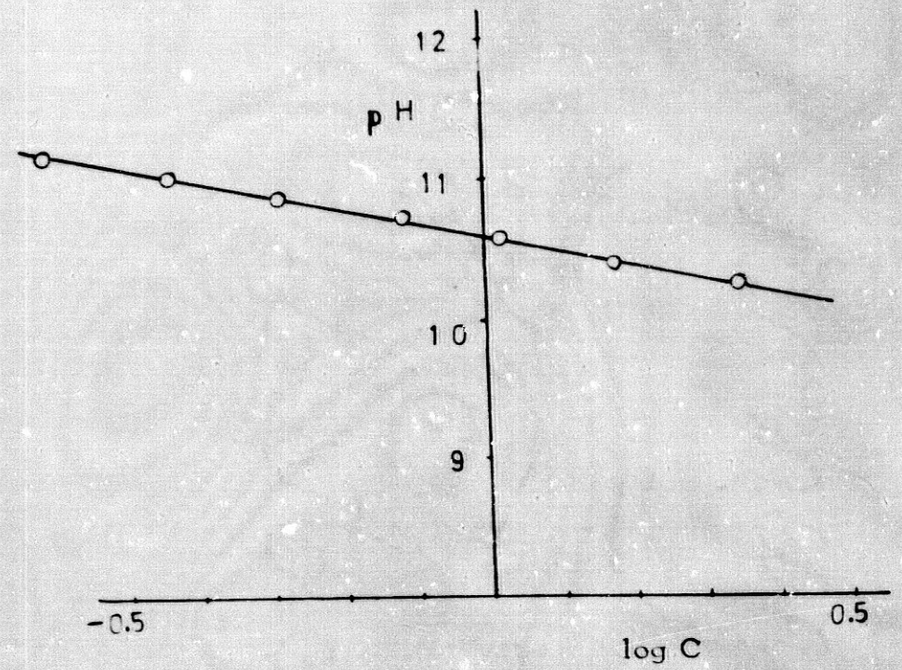


Figura 104. Representación de pH frente a log C en la titulación potenciométrica de la tropina base a fuerza ionica 0,04.

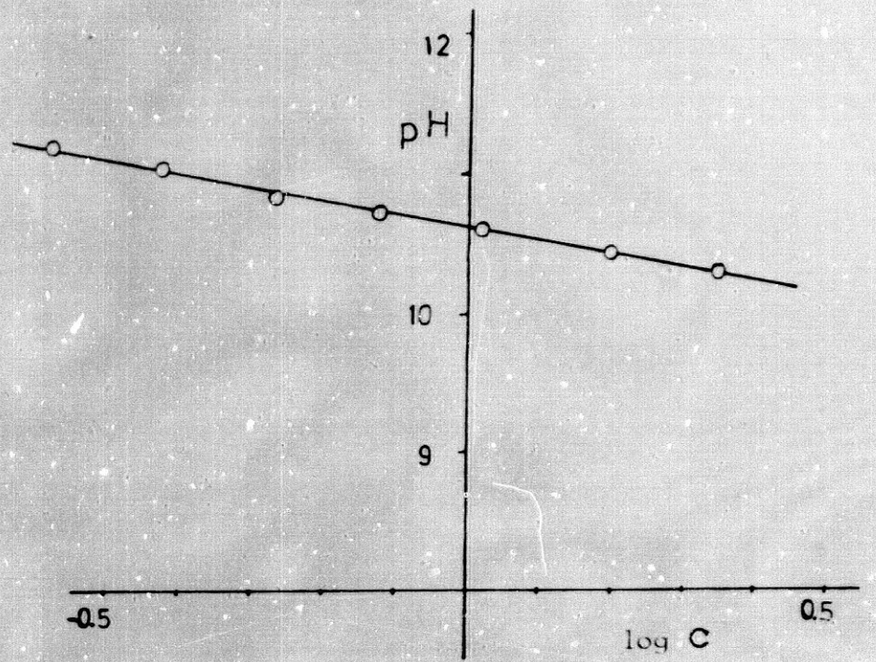


Figura 105. Representación de pH frente a log C en la titulación potenciométrica de la tropina base a fuerza iónica 0,06.

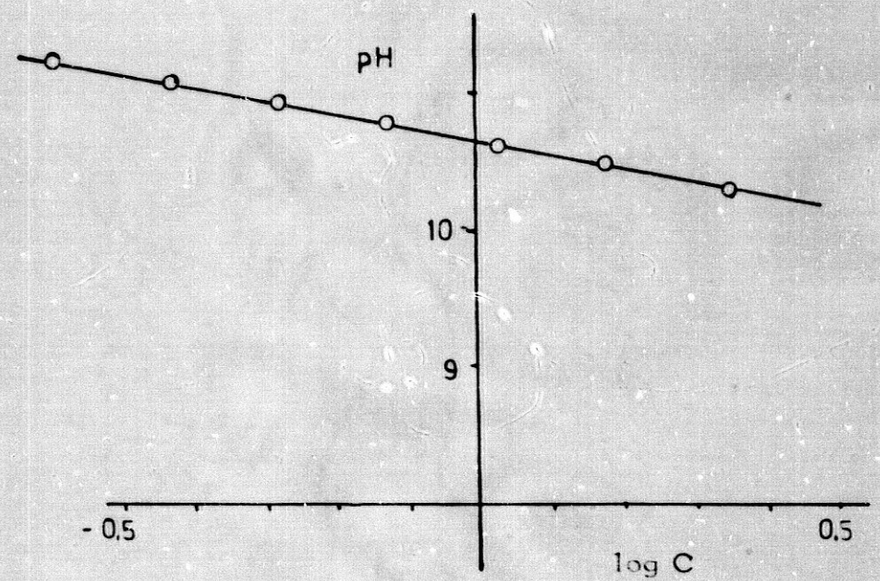


Figura 106. Representación de pH frente a log C en la titulación potenciométrica de la tropina base a fuerza iónica 0,08.

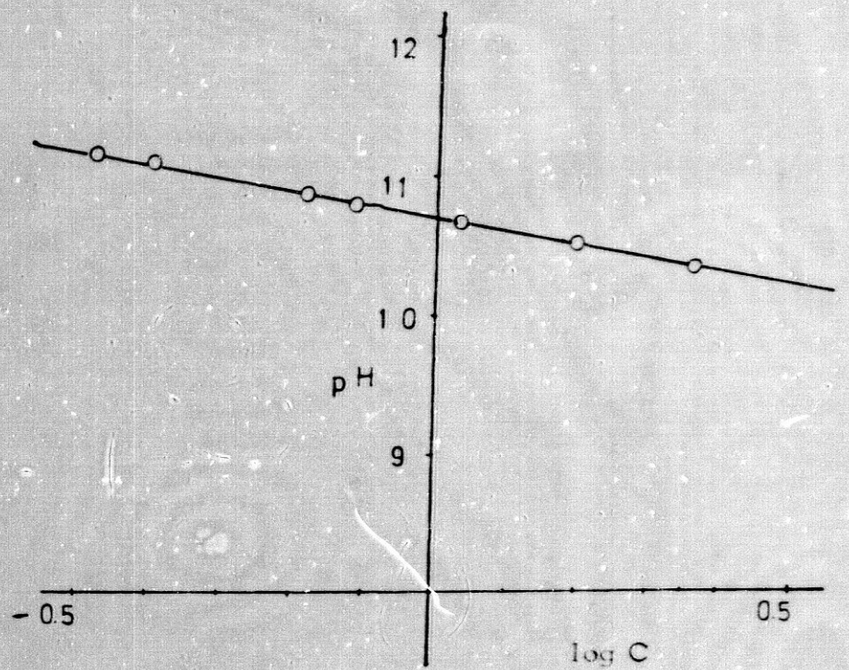


Figura 107. Representación de pH frente a log C en la titulación potenciométrica de la tropina base a a fuerza iónica 0,15.

Las ordenadas en el origen, pendientes, y coeficientes de determinación de las rectas ajustadas, así como el valor de las fuerzas iónicas a que fueron efectuados los ensayos de la tropina base, bromhidrato de escopolina y clorhidrato de atropina se muestran en las tablas CLXXXI, CLXXXII, y CLXXXIII

TABLA CLXXXI

Valores de las pendientes (m), ordenada en el origen (pK_a^T) y coeficientes de determinación (r^2) de las rectas ajustadas correspondientes a las titulaciones potenciométricas del clorhidrato de atropina

I	m	ord	r^2	pK_a^T
0,005*	-1,12	10,05	0,999	10,02
0,02	-1,00	10,05	0,999	9,99
0,05	-1,02	10,17	0,999	10,08
0,08	-1,04	10,19	0,999	10,09
0,15	-1,02	10,21	0,999	10,07
0,50	-0,94	10,28	0,999	10,07

* Este valor corresponde a la fuerza iónica media durante la valoración dado que no se hizo ajuste de la misma

pK_a^T = 10,04 (media de los cuatro primeros valores)

TABLA CLXXXII

Valores de las pendientes (m), ordenadas en el origen (pK_a) y coeficientes de determinación (r^2) de las rectas ajustadas correspondientes a las titulaciones potenciométricas de la tropina base a diferentes fuerzas iónicas.

I	m	ord	r^2	pK_a^T
0,005*	-1,05	10,54	0,998	10,51
0,02	-1,00	10,56	0,998	10,50
0,04	-0,99	10,60	0,998	10,51
0,06	-1,02	10,66	0,999	10,56
0,08	-1,01	10,63	0,998	10,54
0,15	-1,01	10,73	0,999	10,59

pK_a^T = 10,52 (media de 5 valores)

TABLA CLXXXIII

Valores de las pendientes (m), ordenadas en el origen (pK_a) y coeficientes de determinación (r^2) de las rectas ajustadas correspondientes a las titulaciones potenciométricas del bromhidrato de escopolina

I	m	ord	r^2	pK_a^T
0,005*	-1,00	8,75	0,999	8,72
0,02	-1,01	8,82	0,999	8,76
0,04	-0,99	8,83	0,999	8,74

I	m	ord	r^2	pK_a^T
0,06	-1,00	8,86	0,999	8,76
0,08	-1,02	8,86	0,999	8,75
0,15	-1,03	8,97	0,999	8,83
0,30	-1,00	9,03	0,999	8,85

$pK_a^T = 8,75$ (media de 4 valores)

(*) este valor corresponde a la fuerza iónica media durante la valoración, dado que no se hizo ajuste de la misma.

Como se aprecia en las anteriores tablas en la última columna se da el valor de la constante de disociación termodinámica calculada a cada fuerza iónica.

Para el cálculo de dicha constante termodinámica deben utilizarse actividades y no concentraciones; por lo tanto, si se admite que la especie no disociada, B, tiene un coeficiente de actividad aproximadamente igual a uno, se puede escribir:

$$K_a^T = \frac{|B| . a_{H^+}}{|BH^+|} \cdot \frac{1}{\gamma_{BH^+}} \qquad -65-$$

o en forma logarítmica

$$pK_a^T = pK_a + \log \gamma_{BH^+} \qquad -66-$$

Hemos de aclarar que la constante de disociación, pK_a, corresponde a un valor mixto de dicha constante, debido a que las medidas de pH realizadas con el equipo potenciométrico, conducen directamente al valor de actividad protónica, a_{H^+}, y no de concentración de hidrogeniones, $|H^+|$. El cálculo de γ_{BH^+} implica la utilización de la ecuación de Debye-Hückel

la cual adopta, según los casos diferente expresión matemática; así se tiene que

$$-\log \gamma_{BH^+} = A.z^2.\sqrt{I} \qquad -67-$$

$$-\log \gamma_{BH^+} = \frac{A.z^2.\sqrt{I}}{1 + B.a_i.\sqrt{I}} \qquad -68-$$

La segunda ecuación -68- puede ser utilizada para el cálculo del coeficiente de actividad, de disoluciones de 0,01 a 0,1M, cuando la concentración de H^+ ó OH^- es del mismo orden que la concentración estequiométrica de la especie ionizada. En esta indicación hecha por Albert y Serjeant (100) no se alude a las características de las especies, haciendo solo referencia a la concentración de las mismas

Otros autores, entre ellos Martin (31),señalan que la ecuación -67- es válida para el cálculo del coeficiente de actividad cuando la fuerza ionica es alrededor de 0,02 y la expresión -68- debe utilizarse cuando la fuerza ionica de la disolución no sea superior a 0,2. Además, este autor da otra ecuación para fuerzas iónicas superiores.

$$-\log \gamma_{BH^+} = \frac{A.z^2.\sqrt{I}}{1 + B.a_i.\sqrt{I}} + c \qquad -69-$$

En donde c es un término empírico.

Por otra parte Barrow(133) da como limite de utilización de la expresión -67- una concentración del orden de 0,01M y en el margen entre 0,01 y 0,1M recomienda la aplicación de la ecuación -68-. Glasstone (111) aclara que a partir de concentración 0,01M es necesario emplear la expresión -68-.

De lo expuesto hasta aquí se concluye que en nuestro caso es conveniente la utilización de la expresión -68-, para el cálculo del coeficiente de actividad, ya que la fuerza ionica de las disoluciones utilizadas oscila entre 0,01 y 0,1.

Respecto al valor de la constante A a 20ºC, temperatura en que se efectuaron todas las experiencias, se ha tomado el dato por Albert y Serjeant (100) igual a 0,5115 que es aceptado por otros autores en sus cálculos (134). Por otra parte, se ha tomado el valor de B dado por ambos autores: $0,3281.10^8$.

El valor de a_i, parámetro indicativo del tamaño iónico, tal como distancia interiónica media, se considera que pueda variar de unas moléculas a otras (134).

De acuerdo con la ecuación -66- y sustituyendo el valor de $\log\gamma_{BH}$ segun la ecuación -68- se tiene que

$$pK_a^T = pK_a - \frac{A.z^2.\sqrt{I}}{1 + B.a_i.\sqrt{I}} \qquad -70-$$

El último término de esta ecuación puede ser calculado independientemente, de forma que restado a los valores de pK_a encontrados experimentalmente, proporcione los valores de pK_a^T

En las tablas CLXXXIV, CLXXXV, y CLXXXVI se recogen los valores de pK_a^T obtenidos mediante la aplicación de la ecuación -70-, y diferenciados por un paréntesis se incluyen los valores de a_i utilizados en cada caso.

En las tablas CLXXXIV-CLXXXVI se observa una dispersión menor en dicha constante termodinámica cuando en los cálculos se introduce un valor de parámetro iónico, a_i, de 3Å. Por esta razón los valores de pK_a^T así obtenidos se hicieron constar en las tablas CLXXXI, CLXXXII, y CLXXXIII.

En dichas tablas se observa concordancia en los valores de pK_a^T obtenidos; no obstante existen pequeñas desviaciones a valores de fuerza iónica inferiores a 0,01 y superiores a 0,1. La discrepancia de los pK_a^T en estas últimas condiciones se debe a la no aplicabilidad de la ecuación de Debye-Hückel en dichas condiciones de fuerza iónica, y en consecuencia no se puede hablar de discrepancia en estos casos. Por este motivo al final de

las tablas se da un valor medio de pK_a^T en el que se incluyen solo las constantes obtenidas a fuerza iónica inferior a 0,1. Las pequeñas desviaciones obtenidas a fuerza iónica 0,005 pueden ser debidas a que dicho valor corresponde a una fuerza iónica media durante la valoración, dado que no se hizo ajuste de la misma con disolución de cloruro potásico, a diferencia de todos los demás casos.

TABLA CLXXXIV

Valores de pK_a^T a partir de los pK_a encontrados mediante titulación potenciométrica del clorhidrato de atropina a diferentes fuerzas iónicas y para diferentes parámetros iónicos medios (Å)

I	pK_a^T	pK_a^T(3Å)	pK_a^T(4Å)	pK_a^T(5Å)	pK_a^T(6Å)
0,005*	10,05	10,02	10,02	10,02	10,02
0,02	10,05	9,99	9,99	9,99	9,99
0,05	10,17	10,08	10,09	10,10	10,10
0,08	10,19	10,09	10,10	10,10	10,09
0,15	10,21	10,07	10,08	10,09	10,10
0,50	10,28	10,07	10,09	10,11	10,13

(*) este valor corresponde a fuerza iónica media durante la valoración, dado que no se hizo ajuste de la misma.

TABLA CLXXXV

Valores de pK_a^T calculados a partir de los pK_a encontrados mediante la titulación potenciométrica de la tropina base a diferentes fuerzas iónicas y para diferentes parámetros iónicos medios (Å)

I	pK_a	pK_a^T(3Å)	pK_a^T(4Å)	pK_a^T(5Å)	pK_a^T(6Å)
0,005	10,54	10,51	10,51	10,51	10,51
0,02	10,56	10,50	10,50	10,50	10,50
0,04	10,60	10,51	10,50	10,52	10,53
0,06	10,66	10,56	10,52	10,56	10,58
0,08	10,65	10,54	10,56	10,55	10,56
0,15	10,73	10,59	10,60	10,61	10,62

TABLA CLXXXVI

Valores de pK_a^T calculados a partir de los pK_a mediante titulación potenciométrica del bromhidrato de escopolina a diferentes fuerzas iónicas y para diferentes parámetros iónicos medios (Å)

I	pK_a	pK_a^T(3A)	pK_a^T(4A)	pK_a^T(5A)	pK_a^T(6Å)
0,005	8,75	8,72	8,72	8,72	8,72
0,02	8,82	8,76	8,76	8,76	8,76
0,04	8,83	8,74	8,75	8,75	8,76
0,06	8,86	8,76	8,77	8,77	8,78
0,08	8,86	8,75	8,76	8,76	8,77
0,15	8,97	8,83	8,84	8,85	8,86
0,30	9.03	8,85	8,87	8,88	8,90

A partir de las tablas anteriormente expuestas, se puede apreciar que la fiabilidad de las determinaciones de pK_a^T es francamente buena para la tropina base y bromhidrato de escopolina, siendo menor para el clorhidrato de atropina, que aparentemente se ajusta peor a este modelo, quizás debido a la mayor complejidad de su estructura molecular.

Otra conclusión que se obtiene a partir del análisis de las tablas anteriores es que el pK_a^T calculado no difiere en una cantidad apreciable del pK_a obtenido a una concentración 10^{-2} M de amina sin ajuste de la fuerza iónica (en esta valoración se considera un valor medio de I = 0,005). Así, a esta misma concentración la tropina base da pK_a = 10,54 y pK_a^T = 10,52; el bromhidrato de escopolina pK_a = 8,75 y pK_a^T = 8,75; y el clorhidrato de atropina pK_a = 10,05 y pK_a^T = 10,04. De estos resultados se puede concluir que el valor de pK_a obtenido a concentración de amina 10^{-2}M y el valor de pK_a^T difieren como máximo 0,02 unidades; desviación ésta que está dentro del error del método y equipo potenciométrico utilizado en las experiencias. En efecto, recordemos que las medidas de pH del potenciometro utilizado arrojan un error de $\pm$ 0,01 supuesto este absolutamente fiel; los tampones Radiometer contrastados con que se ajustó el potenciómetro llevan tambien el mismo error. Suposiciones análogas hace la bibliografía estudiada (100) que menciona expresamente que el pK_a a 10^{-2}M es un valor próximo al pK_a^T y lo denomina pK_a "standard".

Los valores requeridos de pK_a en otras partes de la presente Memoria, son los correspondientes a fuerza iónica oscilando entre 0,1 y 0,15; que fué la usual de los tampones acuosos en que se realizaron las experiencias de reparto de las aminas, constantes de extracción de pares iónicos de las mismas con azul de bromotimol, grado de extracción etc.; no requiriéndose en ninguno de estos cálculos un valor de pK_a^T ni aproximado ni exacto.

Por otra parte, en todas estas experiencias hay presente una fase orgánica constituída por cloroformo; una parte de esta última es soluble en 200 partes de la fase acuosa (33), modificando así aunque en una magnitud muy pequeña las carac-

teristicas del medio acuoso. En consecuencia, puesto que hay dos fases, la segunda cifra del pK_a sin duda es aproximada para las tres aminas representativas, dado que la fase acuosa no es rigurosamente medio acuoso, siendo despreciable la variación de pK_a entre fuerza iónica 0,1-0,15. De hecho la bibliografía para este tipo de cálculos en muchas ocasiones sólo incluye la primera cifra del pK_a (2) (11).

Por todo ello, para todas las aminas ensayadas, se han realizado dos determinaciones de pK_a, una a concentración 10^{-2}M, sin ajuste de fuerza iónica, que conduce al valor "standard" útil para la caracterización de estas aminas (derivados tropánicos); y otra determinación a idéntica concentración a fuerza iónica 0,15 (ajustada con ClK). Esta última ha sido usada sistemáticamente en nuestros cálculos permitiendo el estudio de los complejos formados entre los derivados tropánicos y el azul de bromotimol objeto de la presente Memoria.

La concentración utilizada en las valoraciones potenciométricas como ya se ha mencionado, fué 10^{-2}M que es la concentración óptima para el cálculo de los pK_a a partir de medidas de pH, según Albert y Serjeant (100). A esta concentración los errores experimentales son mínimos.

El inconveniente del uso de estas concentraciones en las valoraciones potenciométricas es el enorme gasto de sustancias activas, que son caras y en muchas ocasiones difíciles de obtener (se envían del extranjero); siendo esta otra razón que nos indujo a hacer sólamente dos determinaciones de pK_a para cada amina, una a fuerza iónica sin ajustar y otra a fuerza iónica 0,15.

5.1.2. Constantes de disociación de aminas di y triácidas

Las constantes de disociación de estas aminas se han determinado por el método descrito por Niebergall (106) (109) a partir de medidas potenciométricas. Las aminas ensayadas pertenecientes a este apartado fueron las aminas simpatomiméticas sulfato de bamethan, clorhidrato de etilfenilefrina, clorhidrato de fenilefrina y sulfato de metaproterenol.

Estas cuatro aminas fueron estudiadas exclusivamente a fuerza iónica 0,15 y a 20ºC, por ser las condiciones en que se trabaja con ellas en otras partes de la Memoria. En las tablas XXXVI-XXXIX aparecen los resultados obtenidos para ellas mediante el sistema de cálculo dado por Niebergall. Las constantes de disociación ácida se determinaron a partir de los resultados de una titulación potenciométrica mediante el cálculo de una variable P, que fué definida como el número medio de protones disociados por mol de ácido valorado (apartado 3.1.2. ecuación -25-).

La representación de pH frente a P da lugar a las gráficas de la fig 108-110 para los derivados monohidroxilados y la fig.111para el derivado dihidroxilado (metaproterenol). En los primeros casos los valores de pH para P = 0,5 y P= 1,5 dan los valores de pK_{a_1} y pK_{a_2} de estos derivados monohidroxilados. En el segundo caso, la lectura en la fig. 111 de los valores de pH a P = 0,5 , 1,5 y 2,5 da pK_{a_1} , pK_{a_2} , y pK_{a_3} respectivamente.

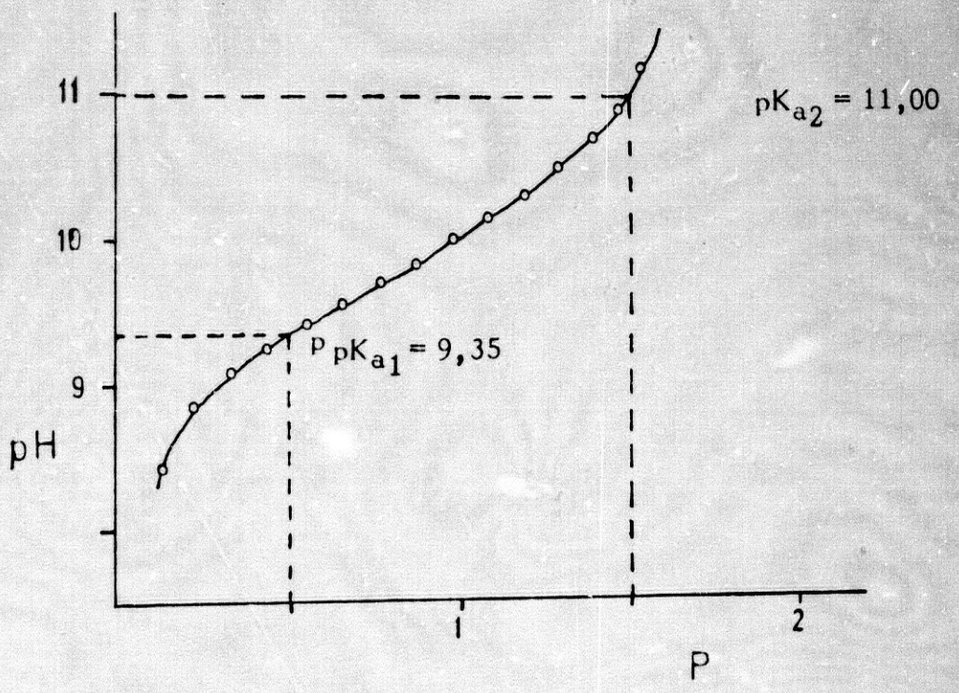


Figura 108. Determinación de las constantes de disociación ácida de sulfato de bamethan por el método de Niebergall a partir de los resultados de la tabla XXXVI. T = 20ºC y fuerza iónica 0,15.

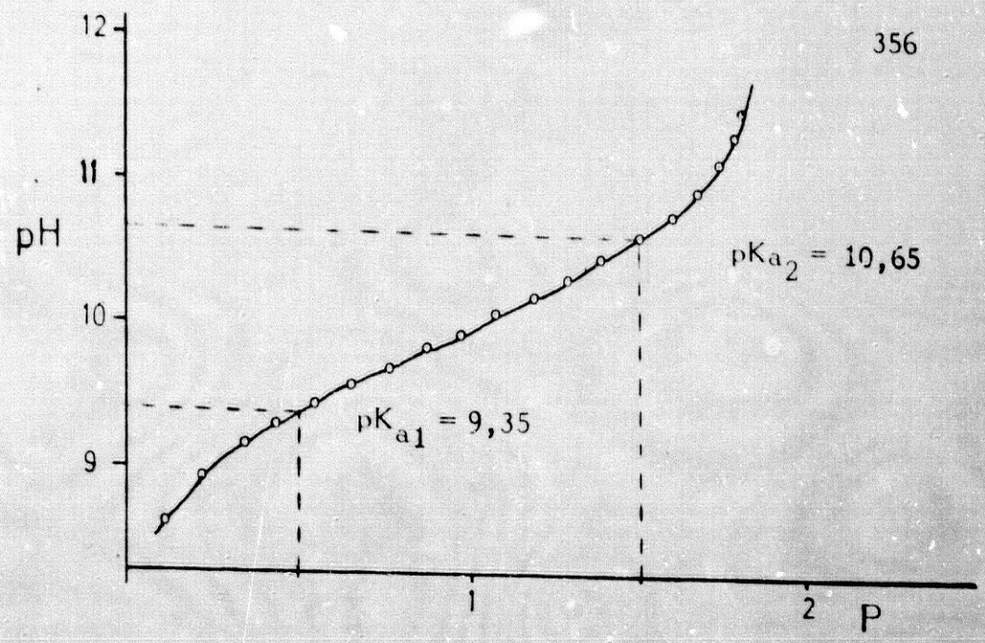


Figura 109. Determinación de las constantes de disociación ácida de clorhidrato de etilfenilefrina por el método de Niebergall a partir de los resultados de la tabla XXXVII. T = 20ºC y fuerza iónica 0,15.

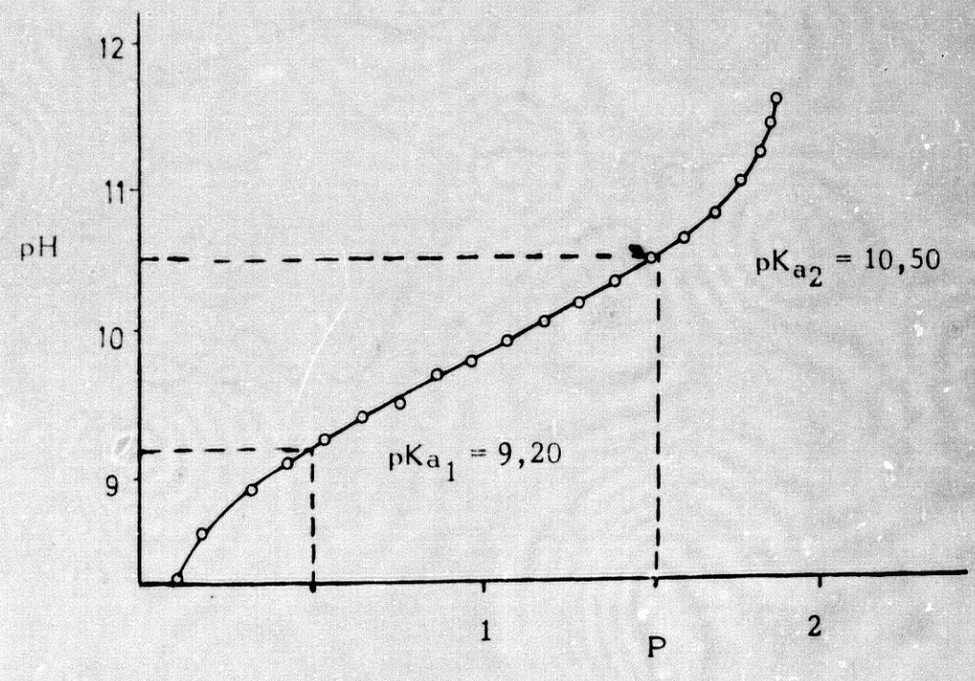


Figura 110. Determinación de la constante de disociación ácida de clorhidrato de fenilefrina por el método de Niebergall a partir de los resultados de la tabla XXXVIII.

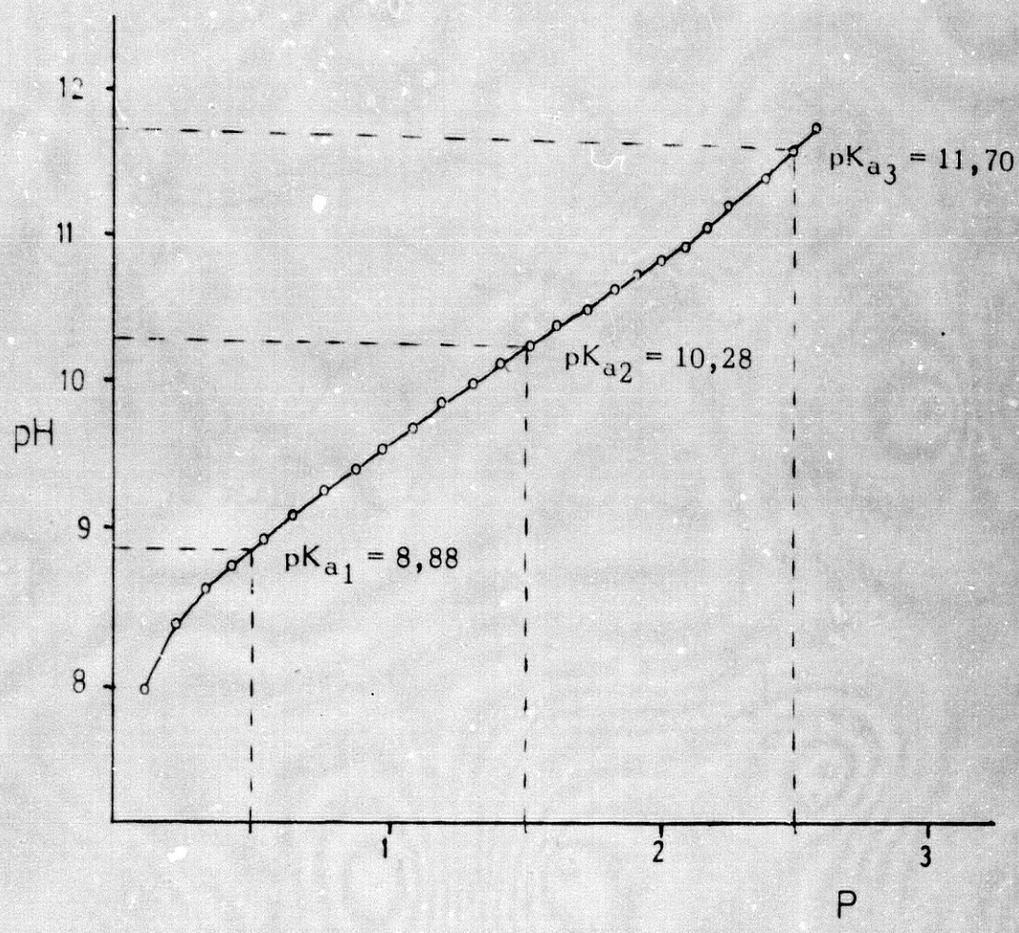


Figura 111. Determinación de las constantes de disociación ácida del sulfato de metaproterenol por el método de Niebergall a partir de los resultados de la tabla XXXIX.

Los valores de pK_a encontrados para los derivados monohidroxilados sulfato de bamethan, clorhidrato de etilfenilefrina, y clorhidrato de fenilefrina difieren ligeramente respecto de los dados por la bibliografía (103) (105) (135). Estas diferencias han sido atribuídas a la más alta fuerza iónica en que se efectúan las determinaciones, así como a la inferior temperatura de las mismas (20ºC en vez de 25ºC) para las tres aminas diácidas.

La influencia de la fuerza iónica no fué estudiada por no ser necesario conocer el valor de pK_a^T; ni siquiera el pK_a exacto en las condiciones de fuerza iónica antes mencionadas Sin embargo fué útil tener una idea de sus valores aproximados, así como la adscripción de los grupos: probablemente para las aminas diácidas el pK_{a_1} corresponde a la disociación del grupo fenólico y el pK_{a_2} a la disociación del protón unido al grupo amino. Otro tanto quizas pueda suponerse para la amina triácida con dos grupos fenólicos (102) (103) (104) (105).

El alto valor del pK_a correspondiente al grupo amino próximo a 10 ó incluso más alto, hace suponer que a pH 7,50 en que se realizan las experiencias de formación de pares iónicos (apartado 5.6.) toda la amina se encuentra con el grupo nitrógeno protonado, lo cual permite suponer que $\alpha_{BH^+} = 1,00$ (ecuación -137-). Esto justifica que no sea necesario obtener valores exactos y contrastados de pK_a . Los valores de pK_a para estas 4 aminas permiten realizar la anterior aproximación con total garantía. Como prueba de ello más adelante, en el apartado 5.6.6.3., podrá verse la fidelidad de los cálculos efectuados bajo esta aproximación para estas cuatro aminas.

5.1.3. Estudio comparativo de las constantes de disociación de los derivados tropánicos.

En el apartado 5.1.1. se han determinado las constantes de disociación de las aminas monoácidas (derivados tropánicos) en distintas condiciones experimentales. Todas estas sustancias tienen en común un nitrógeno heterociclico, al que en todas las ocasiones se adcribe la protonación (a excepción de la escopolamina N-óxido) y diferentes radicales sustituyentes que pueden justificar las diferencias obtenidas en las constantes de disociación calculadas.

Al objeto de comparar las constantes de disociación ácida de los derivados tropanicos, a continuación se recogen los valores de pK_a "standard" de éstos, ordenados de mayor a menor. Estos valores de pK_a como se mencionó anteriormente corresponden a los calculados en aquellas valoraciones a concentración de amina 10^{-2}M y sin ajuste de la fuerza iónica.

Sustancia	pK_a
Clorhidrato de nortropina	10,92
Tropina base	10,54
Clorhidrato de atropamina	10,12
Clorhidrato de atropina	10,06
Clorhidrato de hiosciamina	10,02
Bromhidrato de homatropina	9,99
Bromhidrato de tigloidina	9,65
Bromhidrato de escopolina	8,75
Bromhidrato de escopolamina	7,81
Bromhidrato de escopolamina N-óxido	5,73

El más alto valor de pK_a corresponde al clorhidrato de nortropina; lo cual encuentra su justificación al ser la única amina secundaria ensayada puesto que todas otras son aminas terciarias. La explicación de este hecho no es del todo cono-

cida (136) (100), sin embargo, es una realidad aceptada por la bibliografía que las aminas secundarias tienen valores de pK_a más altos que las primarias dentro de una serie homóloga.

Las sustancias que se estudian en este apartado son todas aminas terciarias derivadas también del tropano. La justificación de la secuencia de valores de pK_a es compleja de justificar sin remitirse a modelos moleculares ó explicaciones empíricas que serían discutibles. Experimentalmente los datos obtenidos parecen indicar que existe un descenso en el valor de pK_a cuando la amina pierde el radical bencénico como ocurre en el bromhidrato de tigloidina ó cuando existe un puente de oxígeno en el anillo heterociclíco del nitrógeno, como por ejemplo sucede en el los bromhidratos de escopolina y escopolamina.

El derivado tropánico que presentó más bajo valor de pK_a fué el bromhidrato de escopolamina N-óxido, único óxido de amina ensayado. Este hecho puede atribuirse a la entrada del protón al oxígeno en vez de al nitrógeno como ocurre en todos los demás, lo que explica el gran distanciamiento de su constante de disociación con respecto a los otros derivados tropánicos.

5.2. Coeficientes de reparto de aminas entre disolventes inmiscibles.

5.2.1. Coeficientes de reparto de aminas con máximo de absorción UV.

De acuerdo con el método descrito en el apdo.3.2.3.2.1. es posible el cálculo de $k_{d(B)}$ dado por la ecuación -29- a partir de las medidas de absorbancia en la fase acuosa después de extraer con el disolvente orgánico.

5.2.1.1. Coeficientes de reparto de aminas monovalentes.

El grupo de sustancias estudiadas en este apartado son: clorhidrato de atropamina, clorhidrato de atropina, clorhidrato de efedrina, bromhidrato de escopolamina, bromhidrato de escopolamina N-óxido, bromhidrato de hiosciamina, bromhidrato de homatropina y medazepan base.

Hemos incluído en este grupo todas las aminas que teniendo un máximo de absorción UV tienen una única posibilidad de disociación adscrita siempre al nitrógeno existente en la molécula; poseen por tanto un solo valor de pK. Para estas el equilibrio de disociación es el siguiente

$$BH^+ \rightleftharpoons B + H^+ \qquad -71-$$

$$K_{BH^+} = \frac{|B| \cdot |H^+|}{|BH^+|} \qquad -72-$$

siendo $|BH^+|$ la concentración de la forma protonada de la amina y $|B|$ la de su forma no cargada. De aquí

$$pK_{BH^+} = \log \frac{|BH^+|}{|B|} + pH \qquad -73-$$

Es conveniente, para los cálculos posteriores, expresar el valor de $|BH^+|$. A partir de la ecuación -73- se puede escribir

$$10^{pK_{BH^+}} - pH = |BH^+| / |B| \qquad -74-$$

ó

$$|BH^+| = |B| . 10^{pK_{BH^+} - pH} \qquad -75-$$

De acuerdo con esta ecuación se puede conocer la proporción de las dos posibles especies existentes en la fase acuosa, conocido el pH y la constante de disociación de la amina. La concentración total de amina existente en la fase acuosa Cac, es la suma de las dos especies, y por tanto de acuerdo con la ecuación -75-

$$Cac = |B| + |BH^+| = |B|(1+10^{pK_{BH^+} - pH}) \qquad -76-$$

luego

$$|B| = Cac / 1 + 10^{pK_{BH^+} - pH} \qquad -77-$$

ecuación que permite el cálculo de la concentración de la especie B conocidas la concentración total de amina en la fase acuosa, el pH, y el pK_{BH^+}.

De acuerdo con la definición dada anteriormente en la ecuación -25-, y haciendo uso de la -77-, se tiene

$$k_{d(B)} = |B|org / |B| = \frac{Corg}{Cac} (1 + 10^{pK_{BH^+} - pH}) \qquad -78-$$

puesto que se supone que B es la única especie existente en la fase orgánica (76) (14) (60). Otra suposición implicada es que B en la fase orgánica existe solo como monómero, circustancia que se consigue utilizando una concentración convenientemente baja de la amina. Por tanto, el cálculo de $k_{d(B)}$ se reduce al de Corg y Cac, puesto

que el pH es conocido. Estas concentraciones se han medido siempre por espectrofotometría puesto que son aminas que, a concentración inferior a 5.10^{-3} M, presentan un máximo de absorción definido entre 230 y 300 nm para el que satisface la ley de Lambert-Beer al pH en que se realiza la experiencia.

En todos los casos se ha procedido a medir la absorbancia de la disolución tamponada de amina, A^o, a la longitud de onda elegida, usando como blanco tampón y agitando posteriormente con cloroformo hasta alcanzar el equilibrio. La fase acuosa se separa y su absorbancia, A, se mide a esa misma longitud de onda, usando como blanco tampón sometido a identico tratamiento que la solución de amina. La diferencia de absorbancia de la disolución antes y después de alcanzar el equilibrio, $A^o - A$, proporciona la cantidad total de amina presente en la fase orgánica que, de acuerdo con la suposición hecha anteriormente, corresponde a la especie básica de la amina B_{org} que existe únicamente como monómero. Por tanto la cantidad total de amina en la fase acuosa es proporcional a la absorbancia después de alcanzar el equilibrio y se puede escribir:

$$C_{org}/C_{ac} = (A^o - A)/A \qquad -79-$$

de donde la ecuación -78- queda

$$k_{d(B)} = \frac{A^o - A}{A} (1 + 10^{pK_{BH^+} - pH}) \qquad -80-$$

ecuación que permite obtener $k_{d(B)}$ a partir de medidas experimentales de A^o, A, y pH.

Los coeficientes de reparto obtenidos a partir de esta ecuación se recogen en las tablas CLXXXVII-CXCIV

donde tambien se recogen el producto $k_{d(B)} \cdot K_{BH^+}$, por ser un dato que se utilizará posteriormente en el estudio de la distribución de los pares iónicos de estas aminas

con azul de bromotimol(apdo. 5.6). Los logaritmos de las anteriores constantes tambien se recogen por ser cifras más fáciles de manejar.

TABLA CLXXXVII

Determinación del coeficiente de reparto del clorhidrato de atropamina a partir de la tabla XL $pK_{BH^+} = 10,39$

Corg/Cac	$k_{d(B)}10^5$	log $k_{d(B)}$	$k_{d(B)}.K_{BH^+}$	(log)
1,57	1,53	5,18	$6,23.10^{-6}$	-5,20
1,61	1,57	5,19	$6,39.10^{-6}$	-5,19
1,52	1,48	5,17	$6,02.10^{-6}$	-5,22

$k_{d(B)} = 1,53.10^5$ (media de 3 valores)

TABLA CLXXXVIII

Determinación del coeficiente de reparto del clorhidrato de atropina a partir de la tabla XLI $pK_{BH^+} = 10,21$

Corg/Cac	$k_{d(B)}$	log $k_{d(B)}$	$k_{d(B)}.K_{BH^+}$	(log)
1,52	504,8	2,70	$3,11.10^{-8}$	-7,50
1,44	478,3	2,68	$2,94.10^{-8}$	-7,53
1,48	491,5	2,69	$3,02.10^{-8}$	-7,52

$k_{d(B)} = 491,5$ (media de 3 valores)

TABLA CLXXXIX

Determinación del coeficiente de reparto del bromhidrato de escopolamina a partir de la tabla XLIII $pK_{BH^+} = 8,05$.

Corg/Cac	$k_{d(B)}$	$\log k_{d(B)}$	$k_{d(B)} \cdot K_{BH^+}$	$\lvert\log\rvert$
0,90	114,2	2,05	$1,02.10^{-6}$	-5,99
0,86	109,1	2,04	$9,72.10^{-7}$	-6,01
0,86	109,1	2,04	$9,72.10^{-7}$	-6,01

$k_{d(B)} = 111$ (media de 3 valores)

TABLA CXC

Determinación del coeficiente de reparto del bromhidrato de escopolamina-N-óxido a partir de la tabla XLIV: $pK_{BH^+}=5,88$.

Corg/Cac	$k_{d(B)}$	$\log k_{d(B)}$	$k_{d(B)} \cdot K_{BH^+}$	$\lvert\log\rvert$
0,02	0,02	-1,70	$2,64.10^{-8}$	-7,58
0,02	0,02	-1,70	$2,64.10^{-8}$	-7,58
0,02	0,02	-1,70	$2,64.10^{-8}$	-7,58

$k_{d(B)} = 0,02$ (media de 3 valores)

TABLA CXCI

Determinación del coeficiente de reparto del bromhidrato de hiosciamina a partir de la tabla XLV $pK_{BH^+} = 10,16$

Corg/Cac	$k_{d(B)}$	$\log k_{d(B)}$	$k_{d(B)} \cdot K_{BH^+}$	(log)
2	383	2,58	$2,65.10^{-8}$	-7,57
2	401	2,58	$2,77.10^{-8}$	-7,56
2	401	2,60	$2,77.10^{-8}$	-7,56

$k_{d(B)} = 395$ (media de 3 valores)

TABLA CXCII

Determinación del coeficiente de reparto del bromhidrato de homatropina a partir de la tabla XLVI $pK_{BH^+} = 10,10$.

Corg/Cac	$k_{d(B)}$	$\log k_{d(B)}$	$k_{d(B)} \cdot K_{BH^+}$	(log)
1,65	301,9	2,48	$2,40.10^{-8}$	-7,62
1,68	307,4	2,49	$2,44.10^{-8}$	-7,61
1,58	289,1	2,46	$2,29.10^{-8}$	-7,64

$k_{d(B)} = 299,5$ (media de 3 valores)

TABLA CXCIII

Determinación del coeficiente de reparto del medazepan base a partir de la tabla LIII $pK_{BH^+} = 6,19$

Corg/Cac	$k_{d(B)}10^{-3}$	log $k_{d(B)}$	$k_{d(B)} \cdot K_{BH^+}$	(log)
13,67	59,68	4,77	0,038	-1,42
13,67	59,68	4,77	0,038	-1,42
15,00	65,49	4,82	0,042	-1,37

$k_{d(B)} = 61,62.10^{3}$ (media de 3 valores)

TABLA CXCIV

Determinación del coeficiente de reparto del clorhidrato de racefedrina a partir de la tabla L $pK_{BH^+} = 9,99$.

Corg/Cac	$k_{d(B)}$	log $k_{d(B)}$	$k_{d(B)} \cdot K_{BH^+}$	(log)
0,36	20,14	1,30	$2,05.10^{-9}$	-8,68
0,36	20,14	1,30	$2,05.10^{-9}$	-8,68
0,36	20,14	1,30	$2,05.10^{-9}$	-8,68

$k_{d(B)} = 20,14$ (media de 3 valores)

5.2.1.2. Coeficiente de reparto de aminas diva-- lentes.

Son aquellas aminas que tienen dos posibilidades de disociación adscritas a dos nitrógenos presentes en la molécula y consiguientemente presentan dos valores de pK_a. Entre las sustancias estudiadas pertenecen a este grupo: disulfato ácido de belladonina, monoclohidrato de flurazepan, estricnina base, quinina base y medazepan base. La primera posibilidad de disociación es

$$BH_2^{++} \rightleftharpoons BH^{+} + H^{+} \qquad -81-$$

de donde

$$K_{BH_2^{++}} = \frac{|BH^{+}|\,|H^{+}|}{|BH_2^{++}|} \qquad -82-$$

siendo BH_2^{++} la amina con sus dos protones retenidos. De aquí resulta

$$pK_{BH_2^{++}} = \log \frac{|BH_2^{++}|}{|BH^{+}|} + pH \qquad -83-$$

de donde

$$|BH_2^{++}| = |BH^{+}|\,10^{pK_{BH_2^{++}} - pH} \qquad -84-$$

ecuación análoga a la -75- para aminas divalentes.

Teniendo en cuenta que la cantidad de amina en la fase acuosa, Cac, es la suma de las especies existentes

$$Cac = |BH_2^{++}| + |BH^{+}| + |B| \qquad -85-$$

y haciendo uso de las ecuaciones -75- y -84-, se puede poner $|BH_2^{++}|$ y $|BH^{+}|$ en función de $|B|$ de acuerdo con la siguiente ecuación

$$Cac = |B| (1+10^{pK_{BH^+} - pH} + 10^{pK_{BH^+} + pK_{BH_2^{++}} - 2pH}) \quad -86-$$

De conformidad con la ley de reparto -25- se ha de cumplir, teniendo en cuenta la ecuación -86-, que

$$k_{d(B)} = \frac{Corg}{Cac} (1+10^{pK_{BH^+} - pH} + 10^{pK_{BH^+} + pK_{BH_2^{++}} - 2pH}) \quad -87-$$

ya que Borg es la única especie existente en la fase orgánica, es decir Borg = Corg.

Las determinaciones de Corg y Cac se obtuvieron a partir de las medidas de absorbancia de la disolución tamponada de amina antes y después del equilibrio de reparto, de igual forma a como se describió para las aminas monovalentes. Análogamente a ellas la ecuación -87- toma la forma

$$k_{d(B)} = \frac{A^o - A}{A} (1+10^{pK_{BH^+} - pH} + 10^{pK_{BH^+} + pK_{BH_2^{++}} - 2pH}) \quad -88-$$

siendo A^o la absorbancia inicial de la disolución de amina y A la absorbancia después del equilibrio de fases. Los blancos se han preparado de igual forma que se describió para las aminas monovalentes: tampón original y tampón sometido a idéntica extracción que la disolución de amina (especialmente si las medidas se hicieron a longitudes de onda inferiores a 245 nm).

A partir de la ecuación -88- se puede hallar el coeficiente de reparto por medidas experimentales. Los coeficientes de reparto calculados aparecen en las tablas CXCV-CXCVIII

en donde se incluye tambien el producto $k_{d(B)} \cdot K_{BH^+}$ por ser de interés para cálculos que se efectuarán más adelante, como quedó indicado ya en el apartado anterior. En estas tablas no se incluye la belladonina por no ser conocidos sus valores de $pK_{BH_2^{++}}$ y pK_{BH^+}.

TABLA CXCV

Determinación del coeficiente de reparto del bromazepan base a partir de la tabla LI

$$pK_{BH_2^{++}} = 2,9 \qquad pK_{BH^+} = 11$$

Corg/Cag	$k_{d(B)}.10^{-9}$	log $k_{d(B)}$	$\frac{k_{d(B)}.K_{BH_2^{++}}}{K_{BH^+}}$	(log)
3,67	4,24	9,62	$5,34.10^{-5}$	-4,27
3,67	4,24	9,62	$5,34.10^{-5}$	-4,27
3,67	4,24	9,62	$5,34.10^{-5}$	-4,27

$k_{d(A)} = 4,24.10^{9}$ (media de 3 valores)

TABLA CXCVI

Determinación del coeficiente de reparto del clorhidrato de flurazepan a partir de la tabla LII

$$pK_{BH_2^{++}} = 1,90 \qquad pK_{BH^+} = 8,16$$

Corg/Cac	$k_{d(B)}.10^{-6}$	log $k_{d(B)}$	$\frac{k_{d(B)}.K_{BH_2^{++}}}{.K_{BH^+}}$	(log)
- --	- --	- --	- -- --	- --
1,28	4,82	6,68	$4,20.10^{-4}$	-3,37
1,28	4,82	6,68	$4,20.10^{-4}$	-3,37

$k_{d(B)} = 4,82.10^{6}$ (media de 2 valores)

TABLA CXCVII

Determinación del coeficiente de reparto de la estricnina base a partir de la tabla LIV

$pK_{BH_2}^{++} = 2,3$ $\qquad$ $pK_{BH}^{+} = 8,1$

Corg/Cac	$k_{d(B)}10^{-2}$	$\log k_{d(B)}$	$\frac{k_{d(B)} \cdot K_{BH_2}^{++}}{K_{BH}^{+}}$	(log)
7,75	13,24	3,12	$5,26.10^{-8}$	-7,28
7,40	12,64	3,10	$5,03.10^{-8}$	-7,30
7,40	12,64	3,10	$5,03.10^{-8}$	-7,30

$k_{d(B)} = 12,84.10^{2}$ (media de 3 valores)

TABLA CXCVIII

Determinación del coeficiente de reparto de la quinina base a partir de la tabla LVI

$pK_{BH_2}^{++} = 4,4$ $\qquad$ $pK_{BH}^{+} = 8,8$

Corg/Cac	$k_{d(B)}10^{-2}$	$\log k_{d(B)}$	$\frac{k_{d(B)} \cdot K_{BH_2}^{++}}{K_{BH}^{+}}$	(log)
3,49	8,103	2,90	$5,09.10^{-11}$	-10,29
3,49	8,103	2,90	$5,09.10^{-11}$	-10,29
3,49	8,103	2,90	$5,09.10^{-11}$	-10,20

$k_{d(B)} = 8,103.10^{2}$ (media de 3 valores)

5.2.1.3. Coeficientes de reparto de aminas con grupos fenólicos y constantes de disociación solapadas.

Estas sustancias constituyen, como es sabido, entre otras las aminas simpatomiméticas. Todas las estudiadas, a excepción de una poseen un nitrógeno suceptible de tomar o ceder un protón y un grupo fenólico que también tiene posibilidad de disociación. En estudios sistemáticos realizados en este Departamento (102) (103) (104) (105) se ha confirmado que la primera disociación corresponde al grupo fenólico, y la segunda ha de ser adscrita al grupo amino. Es por ello, que este grupo de aminas, no ha podido ser estudiado mediante ecuaciones semejantes a las correspondientes monovalentes y divalentes.

Todas ellas tienen la característica de poseer un valor muy bajo de $k_{d(B)}$, considerando en estos casos la especie B aquella en que el grupo amino no está cargado y el grupo fenólico no disociado, es decir, la especie que es neutra eléctricamente y, de acuerdo con las suposiciones formuladas, la única capaz de ser extraída por la fase apolar.

El bajo valor de $k_{d(B)}$ es sin duda debido al reducido peso molecular y a la presencia del grupo fenólico. Los valores de las constantes de disociación oscilan entre 9 y 11 lo que determina que a los pH usuales en que se ha trabajado con ellas en apartados posteriores puede considerarse despreciable su extracción por la fase orgánica.

A pesar de no ser necesario el conocimiento del coeficiente de reparto de estas aminas para los cálculos emprendidos en otras partes del trabajo, por ser despreciables las correcciones de éstos, se han hecho las determinaciones para demostrar las afirmaciones anteriormente dichas y para incluir estos resultados con las demás aminas.

Solo dos aminas se han estudiado en este grupo, sulfato de bamethan y clorhidrato de etilfenilefrina, dado que en las restantes $k_{d(B)}$ era tan bajo que fué imposible su determinación (fenilefrina y metaproterenol).

Las determinaciones,como en los casos anteriores, han sido hechas por medidas espectrofotométricas de la fase acuosa; se ha medido la absorbancia inicial de la disolución de amina tamponada a la longitud de onda elegida frente a tampón, A^o y después de extraída con un volumen igual de la fase orgánica. La fase acuosa se ha separado y se ha medido su absorbancia a idéntica longitud de onda utilizando como blanco solución tampón sometido a idéntico tratamiento para total precisión. La diferencia entre la absorbancia antes y después de la agitación, $A^o - A$, representa la concentración de amina en la fase orgánica, Corg, que corresponde a la especie neutra de la amina. La concentración total de la amina en la fase acuosa, Cac, es proporcional a la absorbancia A.

La dificultad estriba en conocer la concentración de la especie B en la fase acuosa. Para su cálculo se han utilizado los resultados de trabajos anteriores realizados en este Departamento (104) en los cuales se hallan determinados las constantes de macro y microdisociación. A partir de éstas se han calculado los porcentajes para las diferentes especies de la amina simpatomimética en función del pH. Mediante las correspondientes figuras (104) ha podido conocerse por interpolación la concentración|B| presente en la fase acuosa mediante empleo del porcentaje de las distintas especies al pH en que se hicieron las experiencias de reparto. De esta forma la concentración de especie B es

$$|B| = Cac. \; \% |B| \qquad -89-$$

Así la ley de reparto -25- queda

$$k_{d(B)} = \frac{|B|org}{|B|} = \frac{A^o - A/\ell}{Cac. \; \% |B|} \qquad -90-$$

ecuación que permite el cálculo de $k_{d(B)}$ a partir de resultados experimentales.

Los valores de $k_{d(B)}$ del bamethan y etilfenilefrina aparecen consignados en las tablas CXCIX y CC donde puede apreciarse su reducido valor.

TABLA CXCIX

Determinación del coeficiente de reparto del clorhidrato de 1-(3-hidroxifenil)-2-(N-etilamino) etanol a partir de la tabla LXVIII

$\|B\|_{org}$	$\|B\|$	$k_{d(B)}$	$\log k_{d(B)}$
$1,71.10^{-5}$	$5,76.10^{-5}$	0,297	-0,52
$1,71.10^{-5}$	$5,76.10^{-5}$	0,297	-0,52
$1,71.10^{-5}$	$5,76.10^{-5}$	0,297	-0,52

$k_{d(B)} = 0,297$ (media de 3 valores)

TABLA CC

Determinación del coeficiente de reparto del sulfato de 1-(4-hidroxifenil)-2-(N-butilamino)etanol a partir de la tabla LXVII

$\|B\|_{org}$	$\|B\|$	$k_{d(B)}$	$\log k_{d(B)}$
$1,39.10^{-5}$	$1,52.10^{-5}$	0,91	-0,03
$1,39.10^{-5}$	$1,52.10^{-5}$	0,91	-0,03
$1,39.10^{-5}$	$1,52.10^{-5}$	0,91	-0,03

$k_{d(B)} = 0,91$ (media de 3 valores a 278 nm).

$9,6.10^{-6}$	$1,52.10^{-5}$	0,63	-0,20
$9,6.10^{-6}$	$1,52.10^{-5}$	0,63	-0,20
$9,6.10^{-6}$	$1,52.10^{-5}$	0,63	-0,20

$k_{d(B)} = 0,63$ (media de 3 valores a 242 nm)

5.2.1.4. Coeficientes de reparto de aminas mono y divalentes con constantes de disociación desconocidas.

Para algunas aminas estudiadas no son conocidos sus valores de pK_a. No se han hallado en la bibliografía consultada (33) (34) (35) (36) y su determinación no ha sido posible debido a la completa insolubilidad en agua de la forma B. La insolubilidad es de tal orden que no se ha descrito procedimiento alguno directo o indirecto para la medida de B en medio acuoso. Tales son el disulfato ácido de belladonina y el clorhidrato de lobelina.

El desconocimiento de las constantes de disociación de estas dos sustancias dificulta el estudio cuantitativo de los complejos formados por ellas y el azul de bromotimol. Esta dificultad se puede resolver mediante aproximaciones, en las ecuaciones dadas anteriormente, para los cálculos del coeficiente de reparto de aminas monovalentes y divalentes. Las aproximaciones que a continuación hagamos, si bien han sido utilizadas para estas dos sustancias son válidas para todas aquéllas que cumplan las condiciones que a continuación se reseñan.

-Aminas monovalentes

El equilibrio de reparto de estas aminas, como se dijo anteriormente, viene regido por la ecuación -78-.

Para aquellas sustancias en que la experiencia de reparto se realiza en unas condiciones tales que $pK_{BH^+} \gg pH$, el término 1 de la ecuación puede ser despreciado y la expresión -78- adopta la siguiente forma

$$k_{d(B)} = \frac{Corg}{Cac} \cdot 10^{pK_{BH^+} - pH} \qquad -91-$$

suprimiendo exponentes resulta

$$k_{d(B)} \cdot K_{BH^+} = \frac{Corg}{Cac} \cdot |H^+| \qquad -92-$$

ecuación que permite el cálculo del producto $k_{d(B)} \cdot K_{BH^+}$ a partir de resultados experimentales (13).

Este producto puede ser utilizado para la determinación cuantitativa de los complejos de estas aminas con azul de bromotimol como se verá más adelante, a pesar de no ser conocidas sus constantes de disociación. Entre las aminas estudiadas cumplen las condiciones anteriores la lobelina y atropamina.

En la tabla CCI se incluyen los cálculos efectuados con la lobelina mediante la anterior aproximación, puesto que no se conoce la constante de disociación de esta sustancia.

TABLA CCI

Determinación del producto del coeficiente de reparto por la constante de disociación del clorhidrato de lobelina a partir de la tabla LV

Corg/Cac	$k_{d(B)} \cdot K_{BH^+}$	$\log\left(k_{d(B)} \cdot K_{BH^+}\right)$
6,07	$5,93.10^{-5}$	-4,23
6,36	$6,21.10^{-5}$	-4,21
6,07	$5,93.10^{-5}$	-4,23

$K_{d(B)} \cdot K_{BH^+} = 6,02.10^{-5}$ (media de 3 valores)

- Aminas divalentes.

Para estas aminas el equilibrio de reparto viene regido por la ecuación -87- . Si en esta ecuación, se supone que el primer sumando es despreciable frente a la suma de los otros dos, resulta

$$k_{d(B)} = \frac{Corg}{Cac} \cdot (10^{pK_{BH^+} - pH} + 10^{pK_{BH^+} - pK_{BH_2^{++}} - 2pH}) \qquad -93-$$

Seguidamente dos tipos de aproximaciones pueden hacerse. Si pK_{BH^+} es $\gg$ $pK_{BH_2^{++}}$, entonces el segundo sumando puede despreciarse frente al primero y la ecuación -93- se transforma en la -92-; es decir, la amina se comporta como si fuera monovalente y se puede calcular el producto del coeficiente de reparto por la segunda constante de disociación. Entre las aminas divalentes estudiadas las que mejor cumplen esta aproximación son el flurazepan y el bromazepan. En el caso de que pK_{BH^+} y $pK_{BH_2^{++}} \gg$ pH, la ecuación -93- puede transformarse en la siguiente

$$k_{d(B)} \cdot K_{BH^+} \cdot K_{BH_2^{++}} = \frac{Corg}{Cac} \cdot (H^+)^2 \qquad -94-$$

La sustancia que se ajusta a esta aproximación, y para la cual sería posible el cálculo del producto de las tres constantes, es la belladonina que posee dos valores de pK_a desconocidos y presumiblemente altos.

Si bien, los anteriores razonamientos pueden considerarse válidos en las condiciones de ensayo antes mencionadas, no permiten el cálculo simultáneo del triple producto $k_{d(B)} \cdot K_{BH_2^{++}} \cdot K_{BH^+}$ y del doble producto $k_{d(B)} \cdot K_{BH^+}$ que son los valores necesarios para el cálculo de las condiciones de extracción (apartado 3.6.3.3.). Cuando ambos factores son requeridos pueden obtenerse teniendo en cuenta la ecuación -93- En ella, al ser Corg/Cac = D, resulta:

$$\frac{1}{D.|H^+|} = \frac{1}{k_{d(B)} \cdot K_{BH^+}} + \frac{|H^+|}{k_{d(B)} \cdot K_{BH^+} \cdot K_{BH_2^{++}}} \quad -95-$$

Ecuación que es válida siempre que el valor de $k_{d(B)}$ sea muy alto y por tanto la concentración de la especie B en la fase acuosa sea despreciable (15)

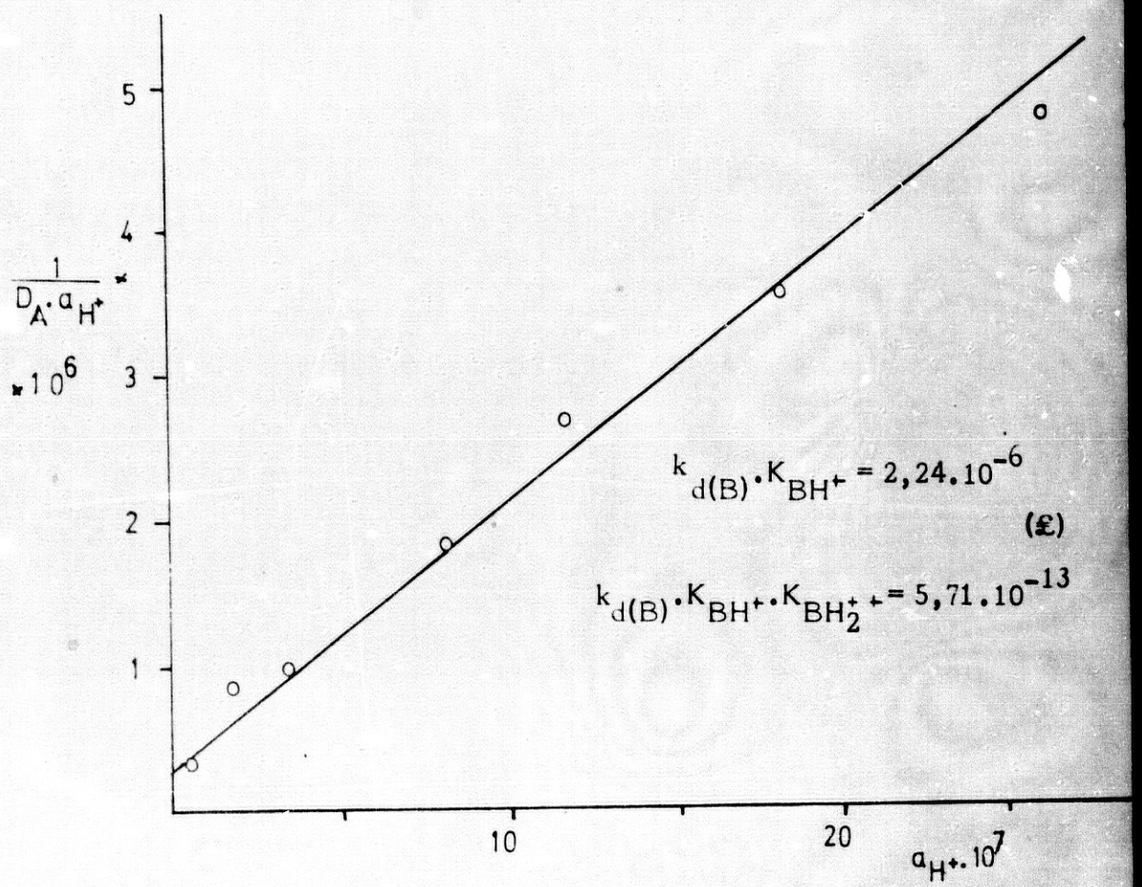
Dicha ecuación -95- permite la representación gráfica de $1/D.|H^+|$ frente a la concentración protonica, $|H^+|$. Dicho proceso ha sido aplicado a la belladonina , y a partir de los datos de la tabla CCI se calculan los valores de $1/D.|H^+|$ y de $|H^+|$

TABLA CCI

Valores de $|H^+|$ y $1/D.|H^+|$ para el disulfato ácido de Belladonina obtenidos a partir de los datos de la tabla XLII

$\frac{Corg}{Cac}$	X^7 $\|H^+\|$	$D.\|H^+\|$	Y^6 $\frac{1}{D.\|H^+\|}$
0,077	$2,63.10^{-6}$	$2,02.10^{-7}$	$4,94.10^{6}$
0,151	$1,82.10^{-6}$	$2,74.10^{-7}$	$3,65.10^{6}$
0,312	$1,17.10^{-6}$	$3,67.10^{-7}$	$2,72.10^{6}$
0,680	$7,94.10^{-7}$	$5,40.10^{-7}$	$1,85.10^{6}$
2,907	$3,39.10^{-7}$	$9,85.10^{-7}$	$1,01.10^{6}$
7,000	$1,69.10^{-7}$	$1,19.10^{-6}$	$8,41.10^{5}$
61,500	$5,01.10^{-3}$	$3,08.10^{-6}$	$3,24.10^{5}$

que se representan en la figura 112.



$b = 4,46.10^5$; $m = 1,75.10^{12}$; $r^2 = 0,993$.

Figura 112. Determinación de las constantes $k_{d(B)} \cdot K_{BH^+}$ y $k_{d(B)} \cdot K_{BH^+} \cdot K_{BH_2^{++}}$ a partir de los resultados de las experiencias de reparto entre fase acuosa tamponada y cloroformo de la tabla CCI.

(£) Dividiendo ambos valores se obtiene la primera constante de disociación ácida, $K_{BH_2^{++}}$, que resulta ser $2,55.10^{-7}$; por tanto $pK_{BH_2^{++}} = 6,59$.

Puede apreciarse en dicha figura una buena linealidad (R^2=0,993) lo que permite el cálculo de $k_{d(B)} \cdot K_{BH^+}$ y $k_{d(B)} \cdot K_{BH^+} \cdot K_{BH_2^{++}}$ a partir de la ordenada en el origen b y la pendiente m . Ambos valores aparecen en la fig.112 .

La linealidad de esta representación asegura la validez de las aproximaciones hechas a partir de la ecuación general -87- de las aminas divalentes. Es tambien éste un resultado que reafirma la validez dela hipótesis de partida en este estudio de reparto, según la cual a las concentraciones usadas no hay asociación de aminas en fase acuosa u orgánica, hipótesis implicada en la ecuación -87- anteriormente mencionada.

5.2.1.5. Condiciones óptimas de ensayo

Los valores de coeficiente de reparto obtenidos a partir de las ecuaciones -78- y -87- son magnitudes fisicoquímicas invariables para el sistema agua-cloroformo a la temperatura de 20ºC . En los rangos de concentración usados puede aceptarse que no hay asociación de aminas en fase acuosa u orgánica, situaciones para las cuales son válidas las ecuaciones utilizadas.

Las aminas monovalentes y divalentes que fueron estudiadas a partir de medidas de absorbancia en la fase acuosa, en sus cálculos, no incluyen otros errores que los de las medidas espectrofotométricas y de pH; es decir, que los valores obtenidos de A^o, A, y pH son exclusivamente los que determinan la precisión de las medidas, con total independencia de otros factores de preparación de disoluciones etc. Esta afirmación se basa en que Corg/Cac = A^o - A/A; como se ha demostrado anteriormente, lo cual nos indica que ese cociente no lleva errores de pesada, dilución , o grado de pureza de las aminas . La precisión de las medidas de A^o y A depende únicamente de que se efectúen en la zona de óptima resolución del espectrofotómetro, lo cual se consigue partiendo de un valor inicial de absorbancia A^o entre 0,500 y 1,00 ; y ajustando el pH de la fase acuosa de tal forma que después de la extracción el valor de A sea superior a 0,1 y no se acerque excesivamente al de A^o, dado que en este caso la diferencia A^o - A sería muy pequeña.

Estas condiciones óptimas de ensayo se dan cuando en la experiencia de reparto, aproximadamente, es extraida la mitad de la concentración inicial de la amina en la fase orgánica. Por el contrario, se dan las peores condiciones de ensayo cuando la totalidad de la amina permanece en la fase acuosa después de la estracción, o bien prácticamente es extraída en la fase orgánica; circunstancias a las que se llega cuando el pH de la fase acuosa no es el adecuado. En estos casos la medida de A es menor que 0,1 , ó bien, es próxima a A^o .

El pH óptimo de ensayo no puede conocerse inicialmente con exactitud, pero se puede tener una idea aproximada conocida la solubilidad de la forma básica de la amina en agua y en cloroformo y conociendo la constante de disociación de la amina.

Cuando no es posible seguir esta pauta por el desconocimiento de alguno de los factores antes indicados y la amina se disuelve excesivamente en alguna de las fases, se repite la experiencia modificando el pH, hasta alcanzar el idóneo para una distribución equitativa entre las fases. Así, por tanteo, se puede llegar a obtener el pH óptimo para efectuar la experiencia de distribución de la amina. Como ejemplos de aminas cuyo ensayo hubo de efectuarse fuera del pH previsto tenemos: flurazepan, en el que con unos valores de $pK_{BH_2}^{++}$ y pK_{BH^+} igual a 1,90 y 8,16 la experiencia hubo de realizarse a pH = 1,8, pues a pH más alto se extraía totalmente a la fase orgánica (Tabla LII); bromazepan con $pK_{BH_2}^{++}$= 2,9 y pK_{BH^+} = 11 requirió un pH = 2,49 para la realización de su ensayo; atropamina con un valor de pK_{BH^+} = 10,39 se realizó a pH = 5,40; tigloidina que con un pK_{BH^+} = 9,81 se extrajo a pH = 6,19; (véase tablas LI, XL y LIX).

En otras sustancias sucedió al contrario, pues el valor de pH tuvo que ser muy alto en comparación con el pK_a, para que en la fase orgánica se extrajeran cantidades medibles de aminas. Tales situaciones se observaron con la escopolamina N-óxido, tropina base, y nortropina (veanse tablas XLIV; LX; LVIII).

5.2.2. Coeficientes de reparto de aminas sin máximo de absorción U.V.

Hemos incluído en este grupo, aminas que a concentración inferior a 5.10^{-3}M, no presentan un máximo de absorción definido entre 230 y 300nm que satisfaga la ley de Lambert-Beer. En estos casos el equilibrio de reparto no puede estudiarse mediante medidas espectrofotométricas en la fase acuosa.

Corresponden, entre las aminas estudiadas, a este grupo: bromhidrato de escopolina, clorhidrato de nortropina, bromhidrato de tigloidina y tropina base. Todas estas sustancias han sido estudiadas mediante valoración en la fase orgánica.

No se ha utilizado el procedimiento habitualmente seguido en la bibliografía (13) (137) (60). Las medidas se han hecho mediante una técnica puesta a punto por nosotros descrita en otro apartado de esta Memoria (apartado 5.4.). Aquí se describe seguidamente la aplicación de dicha técnica al estudio, también original, de los coeficientes de reparto.

Como se ha mencionado en los anteriores apartados en una experiencia de reparto, la amina presente en la fase orgánica es únicamente la especie básica designada por B. Según hemos demostrado en el apartado 5.4., dicha especie B puede ser valorada mediante la formación de un par iónico con azul de bromotimol en medio orgánico.

De esta manera, la determinación puede hacerse preparando una disolución acuosa tamponada que posea una concentración exacta y conocida de amina. Se añade cloroformo y, una vez alcanzada la situación de equilibrio, la fase orgánica se separa y se valora con exceso de azul de bromotimol disuelto en cloroformo. El par iónico formado se mide a 410nm, longitud de onda de su máxima absorción, frente a cloroformo puro. A esta longitud de onda el coeficiente de extinción molar es conocido (apartados 5.4.2.1.; 5.4.2.2. y 5.5.2.), siendo 19.174 $mol^{-1}.litro.cm^{-1}$ de acuerdo con el apartado 5.5.2.

La concentración total de sustancia presente en la fase acuosa Cac, se estima por diferencia entre el valor experimental, Corg, y la concentración inicial de la amina C_B^o, de esta forma

$$\frac{Corg}{Cac} = \frac{A_{410} / \varepsilon_{410}}{C_B^o - A_{410} / \varepsilon_{410}} \qquad -96-$$

En consecuencia la ecuación -78- adopta la expresión

$$k_{d(B)} = \frac{A_{410} / \varepsilon_{410}}{C_B^o - A_{410} / \varepsilon_{410}} (1 + 10^{pK_{BH^+} - pH}) \qquad -97-$$

permitiendo el cálculo de $k_{d(B)}$ a partir de datos experimentales.

Los cálculos de $k_{d(B)}$ para las cuatro aminas estudiadas aparecen en las tablas CCII; CCIII; CCIV; y CCV. haciendo uso de la ecuación -97- . En dichas tablas se da el valor de $k_{d(B)}$ calculado así como el de su logaritmo, por ser este un número de más fácil manejo en las discusiones que más adelante se harán. También se incluyen los productos $k_{d(B)} \cdot K_{BH^+}$, así como el logaritmo de este último. Al final de cada tabla se da el valor de $k_{d(B)}$ obtenido de la media de tres experiencias.

TABLA CCII

Determinación del coeficiente de reparto del bromhidrato de escopolina a partir de la tabla LVII $pK_{BH^+} = 8,97$.

Corg/Cac	$k_{d(B)}$	log $k_{d(B)}$	$k_{d(B)} \cdot K_{BH^+}$	(log)
4,33	4,58	0,66	$4,9.10^{-9}$	-8,31
4,33	4,58	0,66	$4,9.10^{-9}$	-8,31
4,33	4,58	0,66	$4,9.10^{-9}$	-8,31

$k_{d(B)} = 4,58$ (media de 3 valores)

TABLA CCIII

Determinación del coeficiente de reparto del clorhidrato de nortropina a partir de la tabla LVIII $pK_{BH^+} = 11,18$.

Corg/Cac	$k_{d(B)}$	log $k_{d(B)}$	$k_{d(B)} \cdot K_{BH^+}$	(log)
0,14	0,14	-0,85	$9,24.10^{-13}$	-12,03
0,12	0,12	-0,92	$7,92.10^{-13}$	-12,10
0,13	0,13	-0,88	$8,58.10^{-13}$	-12,07

$k_{d(B)} = 0,13$ (media de 3 valores)

TABLA CCIV

Determinación del coeficiente de reparto del bromhidrato de tigloidina a partir de la tabla LIX $pK_{BH^+} = 9,81$

Corg/Cac	$k_{d(B)}10^{3}$	log $k_{d(B)}$	$k_{d(B)} \cdot K_{BH^+}$	(log)
2,55	10,633	4,02	$1,65.10^{-6}$	-5,78
2,72	11,342	4,05	$1,76.10^{-6}$	-5,75
2,72	11,342	4,05	$1,76.10^{-6}$	-5,75

$k_{d(B)} = 11,105.10^{3}$ (media de 3 valores)

TABLA CCV

Determinación del coeficiente de reparto de la tropina base a partir de la tabla LX $pK_{BH^+} = 10,73.$

Corg/Cac	$k_{d(B)}$	log $k_{d(B)}$	$k_{d(B)} \cdot K_{BH^+}$	(log)
0,12	0,54	-0,26	1.10^{-11}	-11
0,12	0,54	-0,26	1.10^{-11}	-11
0,12	0,54	-0,26	1.10^{-11}	-11

$k_{d(B)} = 0,54$ (media de 3 valores)

5.2.2.1. Condiciones óptimas de ensayo

Cuando las aminas no poseían máximo de absorción definida entre 230-300nm, a concentraciones inferiores a 5.10^{-3}M, fueron valoradas como se dijo anteriormente, por una técnica original puesta a punto por nosotros, mediante titulación en la fase orgánica.

Esta técnica consiste en hacer reaccionar a las aminas con azul de bromotimol y valoración cuantitativa del par iónico formado para estimar la concentración total de amina.

El pH idóneo se busca de igual manera que se hizo para las otras aminas. En todos los casos, la concentración inicial de amina, C^o_B, han de ser del orden de 10^{-4}M; dado el alto coeficiente de extinción molar del complejo, que permite detectar concentraciones comprendidas entre 5.10^{-6} y 5.10^{-5}M de amina en la fase orgánica.

Estas posibilidades de detección de cantidades tan pequeñas de amina en la fase orgánica representa, sin duda, una ventaja frente a la tradicional acidimetría (137). La precisión de las medidas de absorbancia del par iónico es adecuada, dado que sigue rigurosamente la ley de Lambert-Beer (véase apartado 5.4.2.1.); sin embargo, y a diferencia de las otras determinaciones en las que se valoraba la amina en la fase acuosa, aquí sí influyen los errores cometidos al preparar las disoluciones (errores de pesada y de dilución), puesto que la concentración de amina presente en la fase acuosa se obtiene de la diferencia entre $C^o_B - |B|_{org}$ y C^o_B es la concentración inicial de la amina que se obtuvo por pesada y dilución en tampón. Influye tambien el posible grado de impureza de la amina.

Si bien la reacción de la amina presente en la fase orgánica con la disolución clorofórmica de azul de bromotimol es completamente cuantitativa (apartado 5.4.2.1.), es preciso tener en cuenta una serie de precauciones que se desarrollan en el apartado 5.4.7. El azul de bromotimol ha de ser muy puro (hemos utilizado el de marca Merck para análisis). Por otro lado el cloroformo ha de ser muy puro (fué destilado), de

tal forma que, cuando se prepara la disolución de colorante en exceso (10^{-3}M), ha de estar perfectamente transparente y no ligeramente amarillenta (lo cual indica impurezas que tambien dan color con el azul de bromotimol). El error máximo permitido medido en valor de absorbancia a 410nm de la disolución de colorante 10^{-3}M fué de 0,010 unidades de absorbancia. Dicho valor constituye el límite de error de la valoración espectrofotométrica.

Otra circunstancia que debe tenerse en cuenta, además, es que el cloroformo no debe contener ningún tipo de impurezas ácidas dado que estas como se ha demostrado en el apartado 5.4.7. bloquean el mecanismo de formación del complejo en la fase orgánica, lo cual induce a errores muy grandes en la estimación de la amina.

5.2.3. El coeficiente de reparto y la constitución de la amina

El estudio de reparto realizado permite el cálculo del coeficiente de distribución, $k_{d(B)}$, de las aminas estudiadas entre medio acuoso tamponado y cloroformo. La constante $k_{d(B)}$ fué definida con todo rigor en la ecuación -32- como el cociente de las actividades de la especie B en ambas fases.

Teniendo en cuenta que la especie B no tiene carga y por tanto el coeficiente de actividad, γ_B, puede considerarse muy próximo a la unidad. Dicha ecuación puede escribirse de forma apróximada en función de las concentraciones de B en ambas fases, lo cual se expresa en la ecuación -29-.

Si se considera que ambas fases líquidas (fase acuosa y cloroformo) están en contacto con el soluto B sólido, en la situación de equilibrio ambas disoluciones estarán saturadas de B sólido; si las solubilidades de saturación de B son S_{Borg} y S_B la ley de reparto de la mencionada ecuación -32- dará (111)

$$k_{d(B)} = \frac{|B|org}{|B|} = \frac{S_{Borg}}{S_B} \qquad \text{-98-}$$

De modo que el coeficiente de distribución es igual a la relación de las solubilidades de saturación de las dos capas. La ecuación -98- es una extensión de la citada ley de reparto útil para fines prácticos.

A partir de la aproximación dada por la ecuación -98- es posible razonar los diferentes valores del coeficiente de reparto obtenido con las aminas estudiadas en función de sus solubilidades en ambas fases, que lógicamente deben estar relacionadas con su estructura molecular.

La solubilidad de una sustancia en un disolvente polar es función de las siguientes propiedades (31):

- De la constante dieléctrica del disolvente, especialmente si la sustancia es de carácter iónico, debido a que las moléculas de disolvente reducen la fuerza de atracción de los iones de carga opuesta en el cristal permitiendo su solubilidad.
- De la capacidad de la sustancia para formar puentes de hidrógeno. Por ejemplo así se explica la solubilidad de los alcoholes, azúcares y otros compuestos polihidroxilados en agua.
- De su capacidad para interaccionar con el disolvente en reacción ácido-base. Como ejemplo la solubilización del ácido clorhídrico en agua.
- De la capacidad del agua para solvatar iones ó moléculas mediante fuerzas de interacción dipolar. Así,ciertas sustancias para solubilizarse en agua tienen que competir con los enlaces de las moléculas del agua previamente asociadas para alcanzar un lugar en la estructura de asociación.

La solubilidad de una sustancia en un disolvente apolar como el cloroformo (constante dieléctrica 4,9) depende fundamentalmente del carácter no polar de éste ó lo que es lo mismo de la razón entre los grupos no polares y polares de la molécula del medicamento. Es necesario que sea favorable a estos últimos. En estos casos las moléculas de la sustancia se mantienen en solución debido a débiles fuerzas de Van der Waals-London que aparecen cuando soluto y disolvente tienen presiones internas similares (138)

Consecuentemente con lo dicho anteriormente,cuando en una amina haya muchos grupos polares, será soluble en agua e inso-

luble en disolventes orgánicos como cloroformo. Como el carácter polar o no polar deriva de la estructura molecular del medicamento, depende de la longitud de la cadena polar, grupos OH, NH, etc. Por tanto, se puede establecer una relación entre coeficientes de reparto calculados y la estructura molecular de la amina.

Al objeto de estudiar esta relación los valores de $k_{d(B)}$ obtenidos en las tablas CLXXXVII-CCV se han reunido agrupados farmacológica y estructuralmente en las tablas CCVI, CCVII y CCVIII.

La tabla CCVI muestra los valores calculados de $k_{d(B)}$ de los compuestos tropánicos estudiados, ordenados de mayor a menor coeficiente de reparto.

TABLA CCVI

Coeficientes de reparto de los derivados tropánicos estudiados entre fases acuosas tamponadas y cloroformo. También se incluye el número de atomos de carbono (nº C) y número de grupos alcohólicos (nº OH) de las aminas estudiadas.

	nºC	nºOH	$k_{d(B)}$	log.
Atropamina	17	0	$1,53.10^5$	5,18
Tigloidina	13	0	$1,11.10^4$	4,04
Atropina	17	1	491	2,69
Hiosciamina	17	1	395	2,59
Homatropina	16	1	299	2,48
Escopolamina	17	1	111	2,04
Escopolina	8	1	4,58	0,66
Tropina	8	1	0,54	-0,26
Nortropina	7	1	0,13	-0,88
Escopolamina N-óxido	17	1	0,02	-1,70

El valor más alto de $k_{d(B)}$ corresponde a la atropamina con 17 átomos de carbono. Su alto valor se justifica debido a la gran cadena apolar que la permite solubilizarse en cloroformo y la ausencia total de grupos polares que la hacen totalmente insoluble en agua. El derivado tropánico tigloidina, tiene un valor de $k_{d(B)}$ aproximadamente 10 veces menor, lo que puede justificarse en virtud del descenso de la cadena apolar, no obstante, el alto coeficiente de reparto se justifica también por la ausencia total de grupos polares. En atropina e hiosciamina (isómeros) su descenso queda justificado por la presencia del OH proveniente del ácido trópico; este OH aumenta la polaridad de la amina y aumenta la solubilidad en agua, probablemente, por formación de puentes de hidrógeno. En la escopolamina existe, además, del anterior OH un puente de oxígeno proveniente de los carbonos 6 y 7 del 3-αtropanol. La escopolina y la atropina, tienen tan sólo 8 átomos de carbono y un grupo OH; lo que las hace muy solubles en agua por la pequeña cadena apolar y la posibilidad de formación de puentes de hidrógeno. La nortropina tiene también un grupo OH y solo 7 átomos de carbono, lo que justifica el ya muy bajo valor de $k_{d(B)}$. El espectacular descenso experimentado por la escopolamina N-óxido, a pesar de tener 17 átomos de carbono y un sólo OH alcohólico, se debe a la alta polaridad del enlace entre el oxígeno y nitrógeno de este óxido de amina.

En la tabla CCVII aparecen los valores de $k_{d(B)}$ de las benzodiazepinas estudiadas, con idéntico criterio decreciente.

TABLA CCVII

Coeficientes de reparto de benzodiazepinas entre fase acuosa tamponada y cloroformo.

	$k_{d(B)}$	$\log k_{d(B)}$
Bromazepan	$4{,}24.10^{9}$	9,63
Flurazepan	$4{,}82.10^{6}$	6,68
Medazepan	$6{,}16.10^{4}$	4,79

El valor más alto de $k_{d(B)}$ corresponde al bromazepan, a pesar de tener menos números de átomos de carbono que los demás, lo cual puede justificarse por ser una piridil-benzodiazepina; el flurazepan y medazepan estan ordenados según su número de átomos de carbono.

El alto valor de $k_{d(B)}$ de bromazepan es una de las razones por las que en su uso como tranquilizante requiere menor dosis que las otras benzodiazepinas para ajercer la misma acción farmacológica (141).

Las aminas simpatomiméticas estudiadas figuran en la tabla CCVIII ordenadas de mayor a menor valor de $k_{d(B)}$

TABLA CCVIII

Coeficientes de reparto de aminas simpatomiméticas entre fase acuosa tamponada y cloroformo. Se incluyen también, número de carbonos (nºC), número de grupos alcohólicos (nº OH) y número de grupos fenólicos (nº OH_f)

	nºC	nºOH	nºOH_f	$k_{d(B)}$	log $k_{d(B)}$
Efedrina	10	1	0	20,14	1,30
Bamethan	12	1	1	0,91	-0,040
Etilfenilefrina	10	1	1	0,30	-0,53
Fenilefrina	9	1	1	- --	- --
Metaproterenol	11	1	2	- --	- --

Puede apreciarse que el valor más alto de $k_{d(B)}$ corresponde a la efedrina con 10 átomos de carbono que no posee ni OH alcohólico ni OH fenólico. El bamethan tiene dos átomos de carbono más pero sin embargo tiene un OH fenólico que disminuye enormemente $k_{d(B)}$. El orden decreciente de la etilfenilefrina y la fenilefrina con respecto a la anterior se explica por el descenso en el número de átomos de carbono dado que estas tres sustancias tienen un OH alcohólico y otro fenólico. El valor de $k_{d(B)}$ de la fenilefrina fué tan bajo que ya no pudo medirse; igualmente sucedió con el metaproterenol que presenta dos grupos fenólicos y por tanto, sería logicamente la última amina de la tabla.

5.3. Propiedades fisicoquimicas del azul de bromotimol.

5.3.1 Espectrofotometría visible y ultravioleta del azul de bromotimol.

Los espectros de absorción del azul de bromotimol en medio acuoso, a diferentes valores de pH, aparecen en las fig. 1 y 2 dadas en el apartado 4.3.1. de la parte experimental.

El azul de bromotimol es un colorante diácido con un primer valor de pK muy bajo (114) (115), correspondiente a un grupo ácido sulfónico presente en la molécula (113). El segundo valor de pK aparece también en la bibliografía (115) (116), siendo del orden de 7.

El colorante, de acuerdo con sus valores de pK en medio acuoso, tiene tres especies según el pH del medio acuoso: XH_2 (especie del colorante sin disociar), XH^- (especie monodisociada), y $X^=$ (anión divalente del colorante).

El espectro de absorción de la especie XH_2 en medio acuoso es difícil de obtener, debido a la completa insolubilidad en agua de ésta. Esta dificultad, se puede solventar mediante la preparación de la disolución acuosa del colorante, tal como se describe en la metodología (apdo. 3.3.4.1.) partiendo de una mezcla hidroalcohólica de colorante y diluyendo con ácido clorhídrico concentrado al 37 % (densidad 1,19 gramos/cm^3). Las bandas del colorante en disolución concentrada de ácido clorhídrico corresponden a las longitudes de onda de 560 nm (banda de máxima intensidad), 420 nm, y 230 nm.

El espectro correspondiente al anión monovalente, XH^-, ha sido estudiado en medio acuoso no tamponado a baja concentración del ión sodio (0,01M), pues esta especie se ha descrito que forma dímeros y tetrámeros a alta concentración de Na^+ (115). Las bandas de esta especie corresponden a las longitudes de onda de 430 nm (banda de mayor intensidad), 278 nm y 220 nm.

El espectro del anión divalente del azul de bromotimol ha sido estudiado en disolución de hidróxido sódico 0,1M (pH = 12,50). Las bandas características aparecen a las longitudes de onda de 615 nm (banda de máxima intensidad),

380 nm, 300 nm, y 220 nm.

De lo anteriormente expuesto se deduce que puede asignarse a cada especie una banda de absorción característica (139) (140) que diferencia una especies de otras. Así la especie no disociada, XH_2 (fig. 1 n) presenta una banda de absorción característica cuyo máximo está situado a 560 nm. La especie XH^- tiene su banda característica a 430 nm. Y la especie $X^=$ tiene su máximo característico a 615 nm (fig 2).

Otro resultado que se deduce de la observación de los espectros es que,dada la separación de bandas,cada especie puede medirse espectrofotométricamente sin interferencia de las otras. Así, la especie no disociaciada XH_2 puede ser determinada cuantitativamente en presencia de la especie XH^-, puesto que las dos bandas no presentan interferencias. De forma análoga puede medirse la concentración de la especie XH^- en presencia de la especie $X^=$, puesto que a la longitud de onda de máxima absorción de esta última (615 nm), la especie XH^- no presenta absorción.

La estructura molecular del azul de bromotimol ha sido descrita en la bibliografía (113) y aparece recogida en el apdo. 3.3. . Cuando el colorante pierde su primer protón da lugar a una estructuctura asimétrica. La disociación del segundo protón conduce de nuevo a una estructura simétrica. Tras la cesión del primer protón, aparece un grupo oxígeno cargado, que por ser mejor dador de electrones para el átomo de carbono central que el otro hidroxilo que queda sin disociar,da lugar a un sistema quinoídico, en vez del bifenolato que resultaría de la cesión de los electrones por el grupo OH fenólico. A este sistema quinoídico se debe el color amarillo de la especie XH^-. La segunda disociación, que corresponde al otro grupo fenólico, da lugar al bifenolato, que posee dos sistemas de anillos quinoídicos alternativos responsables del color azul de la especie $X^=$ (113).

El color de todas las especies del azul de bromotimol en disolución se debe a la estructura con anillos quinoídicos.

El desplazamiento de las bandas visibles de las especies XH_2, XH^- y $X^=$ que caracterizan a estas especies, se debe a la mayor o menor simetría de la molécula del colorante, que la confiere un carácter más estable. Cuando la molécula es asimétrica, como sucede en la especie XH^-, la banda de absorción visible tiene su máximo a 410 nm. En cambio, cuando la molécula es simétrica, la banda se desplaza a longitud de onda mayor como ocurre en la especie $X^=$ que absorbe a 615 nm. La banda a 560 nm de la especie sin disociar, XH_2, se debe a la formación de un hidrato de quinona simétrico.

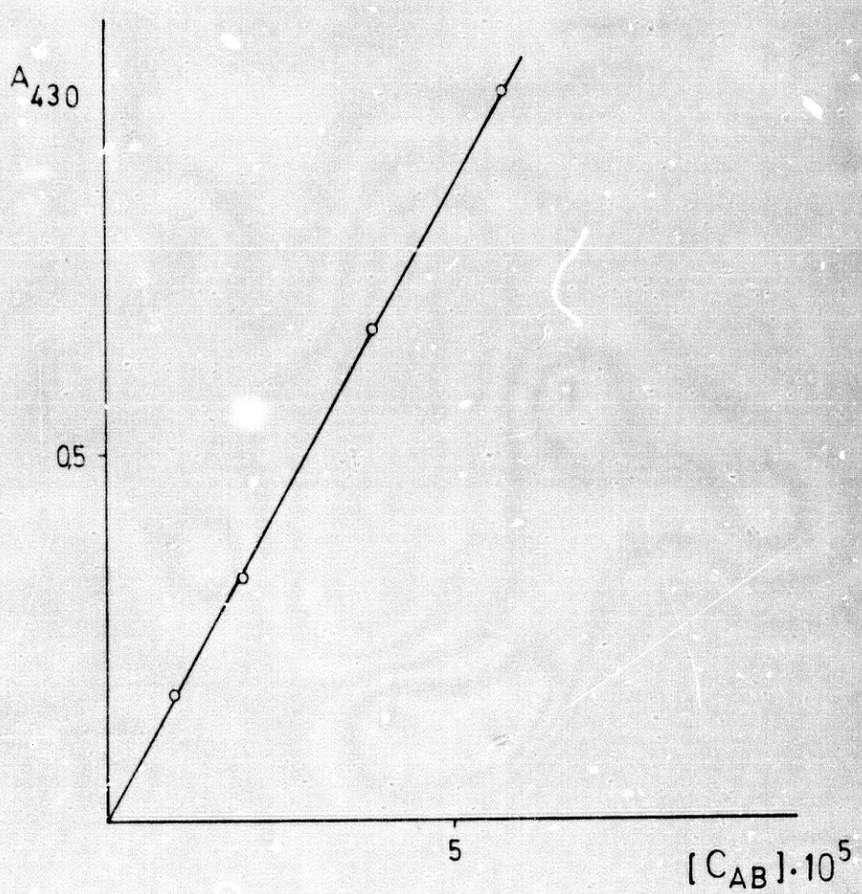
En todo los casos la absorción en el visible se asigna a la transición $n \longrightarrow \pi^*$ (127) (113) de los grupos carbonílicos de los anillos quinoídicos.

Los coeficientes de extinción molar de las especies XH^- y $X^=$ pueden calcularse a partir de los resultados experimentales recogidos en la tabla LXI . Mediante la representación de los valores de absorbancias a 430 y 615 nm frente a la concentración de colorante, se obtienen las fig. 113 y 114 , en cuyo pie se muestran las pendientes m (coeficientes de extinción molar), las ordenadas en el origen b y el coeficiente de determinación r^2 de cada una de las rectas.

La especie XH^- a 430 nm (longitud de onda de máxima absorción) muestra un coeficiente de extinción molar de 18129 $l.cm^{-1}.mol^{-1}$. En la fig. 113 aparece una buena linealidad, lo cual demuestra que en este rango de concentraciones no existe asociación de la especie XH^- a concentración $Na^+ = 0,01M$. Las disoluciones acuosas en que se efectuaron estas experiencias se ajustaron a pH 4 con hidróxido sódico diluído, evitándose el uso de tampones puesto que concentración $Na^+ > 0,01M$ da lugar a asociaciones de esta especie XH^- (115).

La especie $X^=$ tiene un coeficiente de extinción molar de 40625 $l/mol^{-1}.cm^{-1}$ en disolución de hidróxido sódico 0,1M (fig. 114). La linealidad apreciada en la representación de la fig. 114 demuestra que no existen asociaciones

de la misma en este rango de concentración .



b = -0,05; m = 18129 ; r^2 = 0,994

Figura 113. Curva de calibrado del azul de bromotimol en disolución acuosa a pH 4,0 y concentración de ión sodio, Na^+, 0,01 M.

b = 0,001 ; m = 40625 ; r^2 = 0,999

Figura 114. Curva de calibrado del azul de bromotimol en disolución de hidróxido sodico 0,1M (pH = 12 ,5).

Los valores de los coeficientes de extinción obtenidos están en buen acuerdo con los resultados dados por la bibliografía (115) (3) (140). Estos fueron calculados porque son utilizados más adelante en la presente investigación y se ha optado por su determinación experimental en condiciones análogas a las consideradas en las determinaciones de los complejos del azul de bromotimol con las aminas estudiadas en el apartado 5.5.6.

5.3.2. Primera constante de disociación del azul de bromotimol.

En el capítulo de resultados de la parte experimental, apartado 4.3.2.1., se obtuvieron medidas de absorbancia a 558 y 470 nm de disoluciones de azul de bromotimol 0,001 % en ácido clorhídrico de diferentes concentraciones. Las medidas de absorbancia se efectuaron a esas longitudes de onda porque los espectros de las especies no disociada y disociada del colorante, XH_2 y XH^-, (figura 1) presenta máxima diferencia de absorción optica (114).

Las disoluciones de ácido clorhídrico en que se efectuaron las medidas de absorbancia fueron todas ellas de alta concentración y por eso no es posible efectuar en las mismas medidas de pH con los potenciómetros convencionales, por lo cual el pH de dichas disoluciones se calculó a partir de $-\log|H^+|$, puesto que la concentración protónica se conoce a partir de la valoración del ácido clorhídrico frente a óxido rojo de mercurio (su patrón primario más típico).

La representación gráfica de $-\log|H^+|$ frente a absorbancia, a 470 y 558 nm, da lugar a las curvas de las fig. 115 y 116 . En cada una de éstas puede observarse que las medidas de absorbancia tienen un límite a los valores de pH extremos -1,08 y 0,50. Así, a partir de estos valores de pH, puesto que la absorbancia permanece constante, se pueden trazar dos líneas horizontales. La línea horizontal, correspondiente al valor de pH límite inferior -1,080, representa el valor de absorbancia de la especie XH_2 del colorante y la línea horizontal, a pH = 0,50, representa la absorbancia de la especie XH^- del colorante.

En el punto medio de cada una de estas curvas a cada longitud de onda (fig. 115 y 116), expresa la igualdad de concentraciones entre las especies XH_2 y XH^- del colorante (125) (126). Gráficamente el valor de pH correspondiente a dicho punto medio, de acuerdo con la ecuación de Hendersson, resulta ser el primer valor de pK_{XH_2} (véase apartado 3.3.1.).

A partir de las figuras 115 y 116 , la razón XH^-/XH_2 a diversos valores de pH, se puede calcular por medida de la distancia relativa de los puntos a las líneas horizontales antes referidas. Por representación de log XH^-/XH_2 frente a los valores de pH se obtienen las fig. 117 y 118. El punto de intersección de dichas rectas con el eje de abscisas da el valor de pK_{XH_2} del azul de bromotimol, puesto que en dicho punto se verifica que log $XH^-/XH_2 = 0$ y $XH^- = XH_2$. Así, se han efectuado un total de cuatro determinaciónes de pK_{XH_2}, dos determinaciones a cada longitud de onda. Los valores de pK_{XH_2} obtenidos se recogen en la tabla CCIX en cuyo final se expresa el valor medio $pK_{XH_2} = -0,61$

Este valor es muy próximo al dado por Gupta (114) puesto que se ha seguido el procedimiento por él descrito. Sin embargo, dicho valor no es comparable con el dado por Schill (de 1 a 1,48) a partir de medidas de solubilidad.

Dadas las altas concentraciones de ácido clorhídrico utilizadas no ha sido posible tener en cuenta los coeficientes de actividad, si bien ésto no debe ser causa de error en la determinación de pK_{XH_2} (114) (126).

TABLA CCIX

Valores de pK_{XH_2} obtenidos a partir de las figuras 115, 116, 117, y 118.

nº de fig.	pK_{XH_2}	K_{XH_2}
115	-0,70	5,01
116	-0,52	3,35
117	-0,65	4,52
118	-0,55	3,55

$pK_{XH_2} = -0,61$ $K_{XH_2} = 4,11$

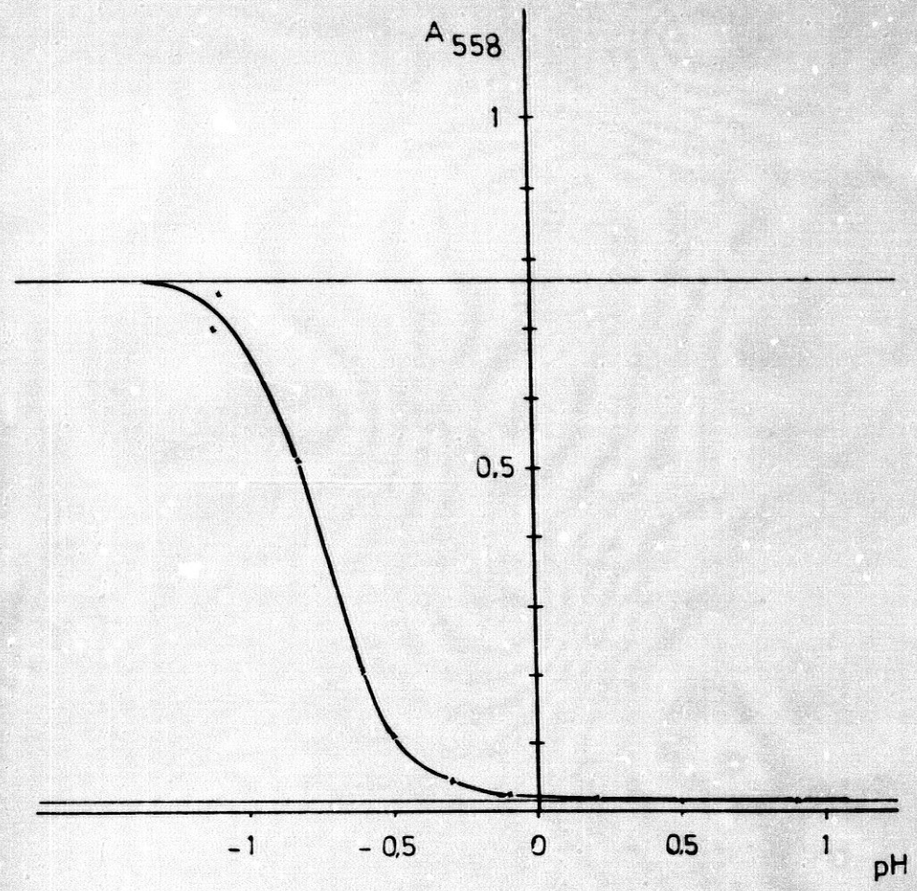


Figura 115. Determinación de la primera constante de disociación del azul de bromotimol, pK_{XH_2}, a partir de los datos de la tabla LXII (absorbancia a 558nm frente a $-\log [H^+]$

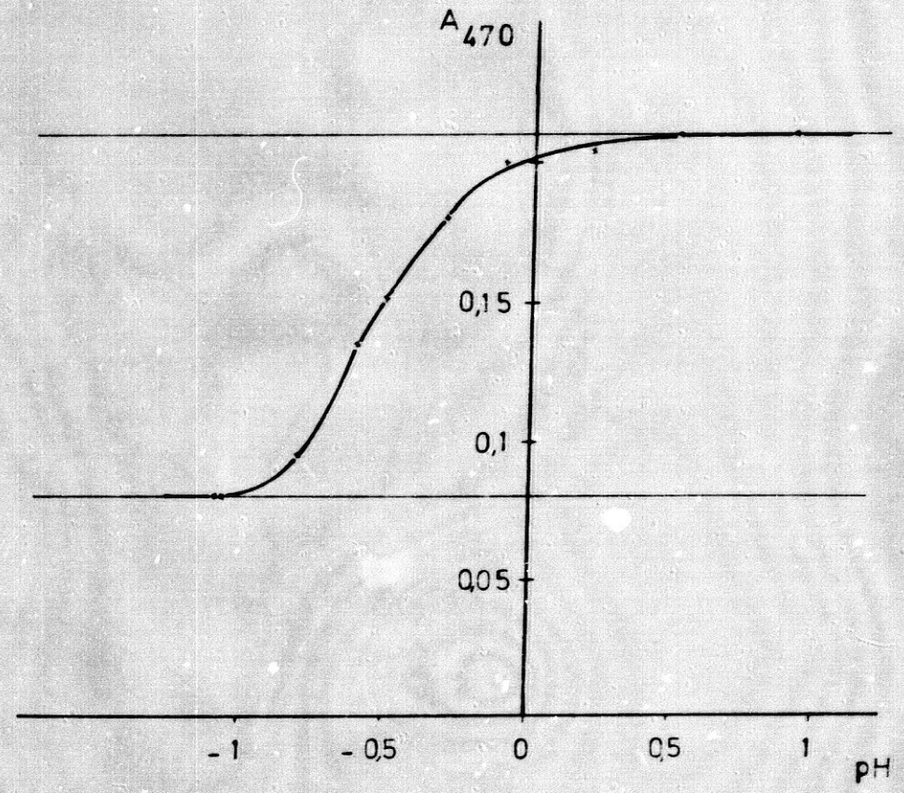


Figura 116. Determinación de la primera constante de disociación del azul de bromotimol, pK_{XH_2}, a partir de los datos de la tabla LXII (absorbancia a 470nm frente a $-\log [H^+]$

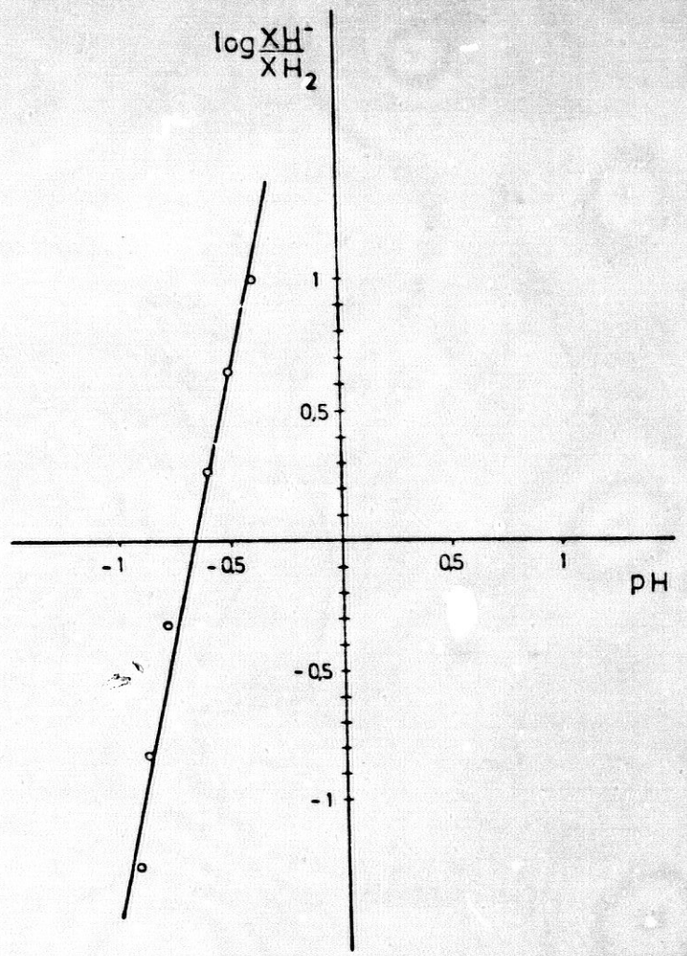


Figura 117. Determinación de pK_{XH_2} del azul de bromotimol a partir de la figura 115.

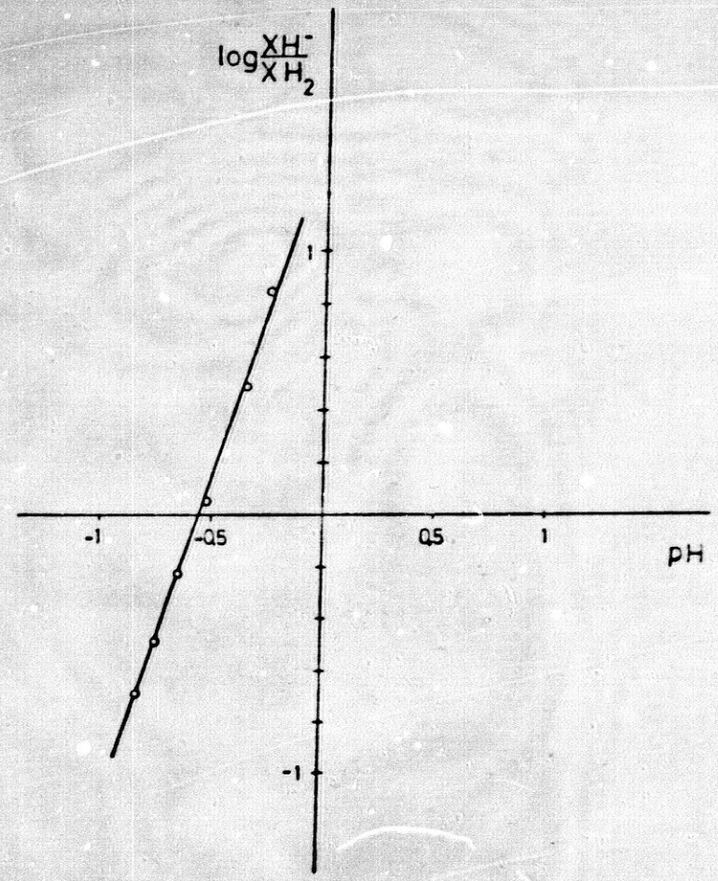


Figura 118. Determinación de pK_{XH_2} del azul de bromotimol a partir de la figura 116.

5.3.3. Segunda constante de disociación ácida del azul de bromotimol

El valor de la segunda constante de disociación pK_{XH^-}, se ha obtenido a partir de los resultados experimentales recogidos en el correspondiente apartado 4.3.2.2.

La determinación espectrofotométrica de la constante de disociación de colorantes con propiedades ácido-base está basada, como es sabido, en los cambios del espectro de absorción con la variación del pH del medio, encontrándose en la bibliografía discusiones de las ecuaciones empleadas (127) (115) (100) .

La ecuación típicamente usada es la de Hendersson que, aplicada a la disociación del anión monovalente del azul de bromotimol, resulta ser $pK_{XH^-} = pH + \log XH^-/X^=$. Mediante esta ecuación midiendo el pH de la disolución y las concentraciones XH^- y $X^=$, se puede calcular algebráicamente el pK_{XH^-} del azul de bromotimol. Las concentraciones de las especies XH^- y $X^=$ se calculan a partir de datos espectrofotométricos puesto que presentan diferente espectro de absorción (figura 1 y 2).

La concentración de la especie XH^- se calcula mediante la diferencia entre la concentración total de colorante y la de la especie $X^=$. Esta última, se determina directamente a partir de la medida de absorbancia a 615nm.

El procedimiento más exacto para minimizar los errores experimentales, consiste en preparar dos disoluciones de azul de bromotimol de idéntica concentración, una de ellas al pH de ensayo y otra en hidróxido sódico 0,1M. Después se procede a medir la absorbancia de ambas a 615nm. La medida de absorbancia en disolución de hidróxido sódico 0,1M, es la absorbancia correspondiente a la concentración total de colorante y la medida de absorbancia al pH de ensayo, corresponde a la concentración de $X^=$. De acuerdo con esto se cumple que:

$$pK_{XH^-} = pH + \log \frac{A_{615}^{NaOH\ 0,1M} - A_{615}^{pH\ ensayo}}{A_{615}^{pH\ ensayo}}$$

-99-

Ecuación esta última que ha sido utilizada para el cálculo de la segunda constante de disociación del azul de bromotimol, a partir de medidas experimentales.

Los valores de pK_{XH^-} obtenidos a partir de los datos experimentales de la tabla LXIII se recogen en la tabla CCX

TABLA CCX

Determinación de pK_{XH^-} del azul de bromotimol en tampón de fosfato sódico saturado de cloroformo. Temperatura 20ºC. Fuerza iónica 0,1-0,15.

pH	A_{615}	A_{615}^{NaOH}	pK_{XH^-}
7,44	0,500	0,780	7,19
7,43	0,740	1,20	7,22
7,71	0,600	0,780	7,19
7,71	0,920	1,20	7,19

$$pK_{XH^-} = 7,20$$

Puede comprobarse que los datos experimentales justifican la ecuación antes indicada. Al final de la tabla CCX se da el

valor medio obtenido.

El valor de $pK_{XH^-} = 7,20$ es prácticamente el mismo que el dado por la bibliografía consultada(115) (28) Dicha determinación, sin embargo, ha sido llevada a cabo de esta manera porque en todas las experiencias de la presente Memoria, el azul de bromotimol está presente en una fase acuosa saturada de cloroformo, y en estas condiciones no se había determinado previamente.

El resultado experimental de $pK_{XH^-} = 7,20$ confirma el valor dado por la bibliografía y demuestra la influencia prácticamente nula de la saturación de la fase acuosa por cloroformo, debido posiblemente a la pequeña solubilidad del mismo en la fase acuosa(1p en 200p) (33).

5.3.4. Coeficiente de reparto del azul de bromotimol entre fases acuosa y orgánica

Todas las determinaciones de reparto de azul de bromotimol se efectuaron en vasijas termostatadas agitando volúmenes iguales de fases acuosas tamponadas conteniendo el colorante a diferentes valores de pH y cloroformo como fase orgánica. Todas las experiencias se llevaron a cabo, como se indicó en 3.3.2. a 20ºC utilizando sistema de agitación magnética. La fuerza iónica de la fase acuosa osciló en todos los casos entre 0,1-0,5.

En los cálculos efectuados para la obtención del coeficiente de reparto a partir de los datos experimentales del apartado 4.3.3., no se ha tenido en cuenta el cambio de volumen de ambas fases por considerarse éste inferior al 1%

5.3.4.1. Coeficiente de reparto aparente.

En los estudios de reparto realizados por Schill con el azul de bromotimol se ha hecho una deducción de una ecuación que tiene en cuenta las distintas especies del colorante que se reparte y que aquí ha sido recogida anteriormente en el apdo.3.3.2.1. Se define así, un coeficiente de reparto que es denominado aparente,

dado por la ecuación

$$k'_{d(XH_2)} = \frac{D_{AB} \cdot (a_{H^+} + K_{XH^-})}{a^2_{H^+}} \qquad -100-$$

En las experiencias realizadas por este autor se emplea cloruro de metileno como fase orgánica, y se encontró constancia en el valor de $k'_{d(XH_2)}$ que resultó ser $2,4.10^5$.

Cuando la ecuación -100- es aplicada a los resultados experimentales obtenidos en el apartado 4.3.3., se obtienen los valores de $k'_{d(XH_2)}$ que se recogen en la tabla CCXI El valor de la razón de partición se obtiene teniendo en cuenta la ecuación -41- y los resultados de absorbancia de la tabla LXIV . Así resulta que la relación entre ambas clases de magnitudes viene dada por la expresión

$$D_{AB} = \frac{C_{AB\ org}}{C_{AB\ ac}} = \frac{A^{NaOH}_{615} - A^{pH\ ensayo}_{615}}{A^{pH\ ensayo}_{615}} \qquad -101-$$

Utilizando las ecuaciones-100- y -101- se obtienen los datos de la tabla CCXI.

TABLA CCXI

Determinación del coeficiente de reparto aparente, $k'_{d(XH_2)}$, del azul de bromotimol entre agua y cloroformo. T = 20ºC Fuerza iónica 0,1-0,15

pH	$D_{AB\ org}$	$k'_{d(XH_2)}$
5,06	2,279	$2,64.10^5$
5,60	0,886	$3,61.10^5$
6,10	0,403	$5,47.10^5$

$$k'_{d(XH_2)} = 3,91.10^5$$

Como se deduce de los resultados de la tabla CCXI el valor de $k'_{d(XH_2)}$ obtenido a diferentes valores de pH, no es constante aunque sí del mismo orden. Ello implica una sensible diferencia respecto a la constancia de los resultados obtenidos por Schill utilizando cloruro de metileno como fase orgánica. La explicación de esta discrepancia puede atribuirse a la baja constante dieléctrica del cloroformo (const. dieléctrica = 4,9) respecto al cloruro de metileno (constante dieléctrica = 9,1), de acuerdo con la observación hecha por Kraus (128), respecto a la relación entre la posibilidad de asociación de sustancias en disolventes orgánicos y la constante dieléctrica de los mismos.

Por este motivo se ha tomado un valor medio de $k'_{d(XH_2)}$ a los tres valores de pH ensayados, el cual figura al final de la tabla CCXI. Esta aproximación resulta aceptable para su empleo posterior en otros apartados de la presente Memoria.

5.3.4.2. Coeficiente de reparto verdadero

Mediante un cálculo algo más extenso, pero partiendo de suposiciones más simplistas que las dadas anteriormente por Schill, Gupta (114) determina el coeficiente de reparto verdadero del azul de bromotimol, utilizando cloroformo como fase orgánica.

Gupta efectúa el cálculo del coeficiente de reparto del colorante considerando que éste se comporta únicamente como un diácido. En la fase orgánica sólo es extraído colorante libre, XH_2, en tanto que en la fase acuosa pueden existir tres especies diferentes, XH_2, XH^-, $X^=$. A través de estas sencillas ideas Gupta aplica la ley de reparto dada por la ecuación -39- al azul de bromotimol, deduciendo una ecuación que permite el cálculo de $|XH_2|_{ac}$ (ecuación -45-) en cada experiencia de reparto. Consecuentemente la ley de reparto aplicada al colorante, teniendo en cuenta las ecuaciones -39- y -45-, adopta la forma

$$k_{d(XH_2)} = \frac{|XH_2|_{org}}{|XH_2|_{ac}} = \frac{D_{AB}}{\dfrac{a^2_{H^+}}{a_{H^+} + k_{XH_2}\, a_{H^+} + k_{XH_2} \cdot k_{XH^-}}}$$

Mediante la anterior ecuación Gupta no obtiene auténtica constancia en el valor del coeficiente de reparto verdadero, tanto al utilizar cloroformo como otros disolventes. El valor del coeficiente de reparto dado por este autor para el sistema agua-cloroformo es el más alto obtenido con los disolventes empleados por Gupta. De ésto se deduce que el azul de bromotimol es más soluble en cloroformo que en la mayor parte de los disolventes orgánicos.

Utilizando la ecuación -102- es posible el cálculo del coeficiente de reparto verdadero a partir de los resultados experimentales expuestos en la tabla LXIV. Los valores de coeficiente de reparto $k_{d(XH_2)}$, obtenidos en el presente trabajo, utilizando cloroformo como fase orgánica aparecen recogidos en la tabla CCXII, en cuyo pie se da el valor medio obtenido.

TABLA CCXII

Determinación del coeficiente de reparto verdadero del azul de bromotimol entre agua y cloroformo a la temperatura de 20ºC. Fuerza iónica entre 0,1 y 0,15. $pK_{XH_2} = -0,61$. $pK_{XH^-} = 7,20$.

pH	$\|XH_2\|_{org}$	$\|XH_2\|_{ac}$	$k_{d(XH_2)}$
5,06	1,39	$1,15.10^{-6}$	$1,21.10^{6}$
5,60	0,94	$5,67.10^{-7}$	$1,65.10^{6}$
6,10	0,57	$2,28.10^{-7}$	$2,52.10^{6}$

$$k_{d(XH_2)} = 1,79.10^{6}$$

Los valores de $k_{d(XH_2)}$ dados en la tabla CCXII son sensiblemente iguales a los dados por Gupta, si bien ligeramente más altos. Esto último puede ser debido a que en la presente Memoria se ha utilizado un método distinto al utilizado por este autor, en lo que se refiere a las medidas de concentración del azul de bromotimol. Las determinaciones de concentración efectuadas en el presente trabajo se han hecho, como se ha explicado, en la fase acuosa, después de diluírla convenientemente con hidróxido sódico 0,2 M, por medida de absorbancia a 615 nm. A esta longitud de onda el coeficiente de extinción molar con hidróxido sódico es de $4{,}06.10^4$ (fig. 114). Los cálculos de concentración dados por Gupta se efectuaron a 503 nm, longitud de onda, a la cual el azul de bromotimol presenta un punto isobiéstico, correspondiendo un coeficiente de extinción molar de 5500 aproximadamente (3).

Si se deduce que la determinación efectuada a 615 nm es más sensible y exacta porque el coeficiente de extinción molar es aproximadamente ocho veces superior que a la longitud de onda de 503 nm, es posible que las determinaciones de $k_{d(XH_2)}$ sean más exactas cuando las concentraciones se calculan a partir de medidas de absorbancia a 615 nm.

Los valores de $k_{d(XH_2)}$ calculados a partir de dichas medidas de absorbancia a 615 nm no son definitivamente constantes, lo cual se puede explicar de forma análoga a como se justificaban las desviaciones obtenidas por el cálculo del coeficiente de reparto aparente $k'_{d(XH_2)}$. Estas desviaciones se atribuyeron a la presencia de asociaciones en la fase orgánica.

De todas las determinaciones de reparto del azul de bromotimol se deduce la alta liposolubilidad de este colorante, siendo máxima en el cloroformo, observándose también que el azul de bromotimol no sigue de forma definitiva las ecuaciones planteadas anteriormente cuando se utiliza cloroformo como fase orgánica. La explicación de este hecho, debe radicar por una parte en la existencia de asociaciones y por otra en la posible adsorción del colorante por la interfase y las

paredes del vidrio en las experiencias de reparto, fenomenos que no han sido tenidos en cuenta.

A pesar de estas limitaciones los cálculos aqui emprendidos son de utilidad en otros apartados de la presente Memoria, como se apreciará más adelante.

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

5.4.1. Espectroscopía ultravioleta-visible

De conformidad con lo expuesto en el apartado 4.4.1. se puede indicar que cuando una disolución clorofórmica de amina se mezcla con otra de azul de bromotimol ambas incoloras, si el cloroformo es suficientemente puro, aparece un color amarillo. La aparición de este color pone de manifiesto la existencia en disolución de un compuesto nuevo debido a que la amina básica ha interaccionado con el azul de bromotimol.

En los espectros de absorción UV-V de las disoluciones cloroformicas mezcla de amina y azul de bromotimol que se recogen en las fig. 3-15 A aparece una banda de absorción nueva, cuyo máximo está situado a una longitud de onda de 410 nm. Esta radiación coincide con la de máxima absorción de la especie XH^- en medio acuoso (vease figura 1 m). Además, esta longitud de onda de máxima absorción para el compuesto formado es independiente de la amina que ha reaccionado con el azul de bromotimol como puede apreciarse en cualquiera de las figuras 3-15 A.

Todo esto indica que la interacción de la amina con el colorante ha originado la especie XH^- de este último, y en consecuencia la reacción ha tenido lugar de forma análoga a como aparece la especie XH^- cuando el azul de bromotimol se trata con una disolución alcalina en medio acuoso. Esto sugiere que la reacción que tiene lugar entre la amina y el colorante es una reacción ácido-base en el sentido más amplio de la palabra (21). La formación del compuesto, de acuerdo con lo anteriormente dicho, se puede explicar mediante la transferencia de un protón entre el colorante y la amina dando lugar a un par iónico estabilizado en el cloroformo. La reacción de acuerdo con lo que precede se puede esquematizar

$$XH_2 + B \rightleftharpoons (XH^-, BH^+) \qquad \text{-103-}$$

siendo XH_2 el colorante en medio clorofórmico con sus dos protones, B, la especie básica de la amina, y (XH^-, BH^+) el par iónico formado a expensas de los otros dos reactivos. En lo sucesivo el par iónico se simbolizará por XHBH.

El hecho de que la longitud de onda de máxima absorción de estos pares iónicos sea independiente de la amina acomplejada, demuestra que la absorción del par iónico a 410nm corresponde a una transición electrónica intramolecular de la especie XH^- del colorante y no a una transición electrónica entre las especies que forman el complejo, como ocurriría en los complejos de transferencia de carga (127) (60).

Por otra parte, se puede suponer que el complejo formado está prácticamente en su totalidad en la forma de par iónico XHBH, entre la amina protonada BH^+ y el colorante en forma de anión monovalente, XH^-, puesto que la intensidad de la banda a410nm es idéntica para todos los pares iónicos amina-azul de bromotimol.

La independencia de la intensidad de las bandas con la amina complejada parece indicar que las fuerzas que mantienen unidas a las dos especies XH^- y BH^+, en el complejo, XHBH, son idénticas para todas las aminas y probablemente de naturaleza electrostática exclusiva o de atracción de los dos iones de distinto signo.

La banda de absorción que caracteriza espectralmente el complejo formado posee un máximo bien diferenciado a 410nm (fig. 3-15), siendo un pico más que una banda, bastante bien definido. Esto sugiere la existencia de pocas configuraciones para el compuesto formado en su estado fundamental o que la mayor parte del compuesto está en una configuración única.

Dos de las aminas investigadas presentaron intensidad de banda doble que todas las demás (fig. 4 y 15): quinina y belladonina. Este hecho se puede atribuir a la presencia de 2 moléculas de XH^- en el complejo, lo que significa que dichos complejos son de estequiometría 2:1 (colorante: amina). Este aspecto del problema se volverá a considerar más adelante.

En los espectros de absorción de disoluciones cloróformicas mixtas de amina y azul de bromotimol (relación molar 1:1 y 2:1)

registrados aparecen, en todos ellos, (fig. 3-15 A) una banda en la región visible, con un máximo situado a 410 nm como se ha discutido anteriormente. Esta banda es característica del compuesto formado, no observándose en los espectros de las disoluciones de amina en cloroformo, ni en el del colorante en el mismo disolvente (espectros B y C de cada fig. 3-15) De acuedo con lo discutido acerca de la banda a 430nm de la especie XH^- del colorante en medio acuoso apdo. 5.5.1, la banda a 410nm del compuesto formado puede atribuirse a la transición $n \longrightarrow \pi^*$ de los grupos carbonílicos (anillo quinoídico a la que se debe el color amarillo de esta especie) (113) (127).

Además de referida banda en el visible, se aprecia para todos los casos en los espectros de disoluciones mixtas de amina-colorante (curvas de las fig. 3-15 A) una banda cuyo máximo está situado en la región 270-280nm. De la comparación de estos espectros con el correspondiente al azul de bromotimol en cloroformo (curva B de las fig. 3 - 15) se deduce que dicha banda aparece también en el colorante, pero con una intensidad dos veces menor. La intensificación de dicha banda del colorante en presencia de la amina pone de manifiesto también la interacción de ésta con aquél, y por lo tanto la formación de un compuesto nuevo.

La banda con máximo entre 270-280, para el colorante y para el compuesto formado, puede adscribirse a una transición electrónica del grupo OH fenólico del colorante. La intensificación de la misma (más de dos veces) puede significar que la interacción con la amina se produce por el grupo fenolato del colorante.

En la región UV se aprecia también una banda de absorción en los espectros de disoluciones mixtas aminas-colorante, (curva A de las fig. 3-15) situada a 250nm. Cuando la amina no presenta absorción a esa longitud de onda a la concentración experimental como ocurre en el caso de atropina, hiosciamina, homatropina, y tropina (curvas C de las fig. 5, 6, y 7), la banda se debe exclusivamente a la absorción del colorante presente en el compuesto formado, que más que una banda es un codo. Sin embargo, cuando la amina presenta absorción alrededor de 250 nm para la

concentración de la experiencia, la banda a 250 nm de las disoluciones mixtas se debe a la absorción conjunta del colorante y de la amina en dicha zona. Tales son los casos de estricnina flurazepan, quinina, y ajmalina que absorben en la región de 250nm (curvas C de las fig. 3-15).

5.4.2. Influencia de la concentración de reactivos.

5.4.2.1. Curvas de calibrado de las aminas

Como se ha expuesto en el apartado 5.4.1., el azul de bromotimol disuelto en cloroformo reacciona con las aminas estudiadas disueltas en este mismo medio, en su forma básica, dando lugar a la formación de un par iónico que torna la disolución de incolora a amarilla y que tiene una banda característica a 410nm.

De los resultados recogidos en la parte experimental, apartado 4.4.2.1., se puede estudiar el efecto de la variación de la concentración de amina básica, cuando hay un exceso de azul de bromotimol, sobre la intensidad de color de la reacción.

A partir de las tablas LXV-LXXIII se obtienen las fig. 119-127 en las que se representan valores de absorbancia a 410nm, A_{410}, frente a concentración de amina en mol/litro.

En todos los casos de dichas representaciones se aprecia buena linealidad, lo que indica que en las experiencias realizadas la amina reacciona totalmente dando lugar al complejo, desplazándose el equilibrio totalmente hacia la formación del mismo.

En estas condiciones experimentales, dado que la concentración de complejo es igual a la concentración inicial de amina (por estar ésta en defecto), la pendiente de la recta es el coeficiente de extinción molar del complejo, el cual por este motivo se pudo calcular así, y aparece en dichas fig. 119-127 (valor de m) junto con los valores de la ordenada en el origen b, y el coeficiente de determinación lineal r^2, de cada recta ajustada mediante un método de regresión lineal.

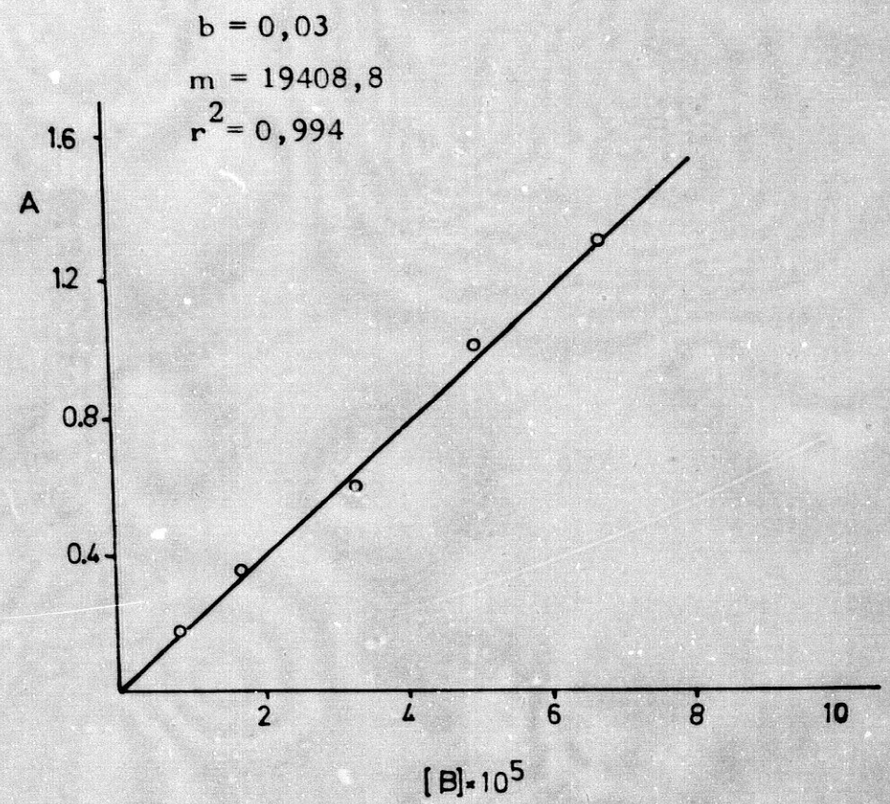


Figura 119. Curva de calibrado de hiosciamina base con exceso de azul de bromotimol en cloroformo a partir de los resultados de la tabla LXV.

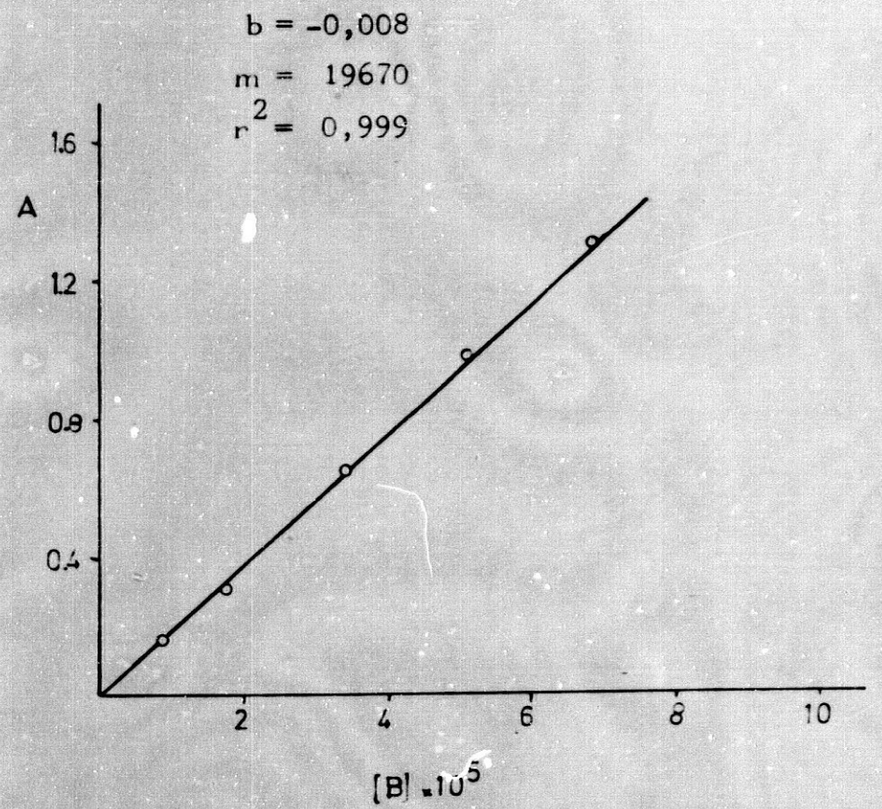


Figura 120. Curva de calibrado de homatropina base con exceso de azul de bromotimol en cloroformo a partir de los resultados de la tabla LXVI.

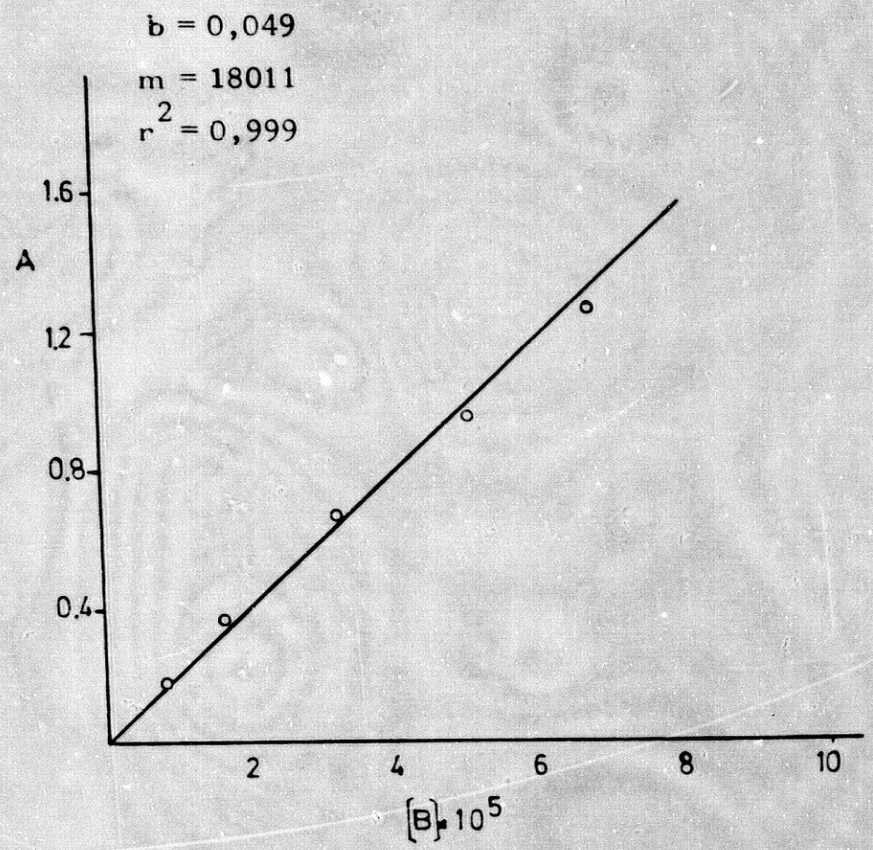


Figura 121. Curva de calibrado de tropina base con con exceso de azul de bromotimol en cloroformo a partir de los resultados de la tabla LXVII.

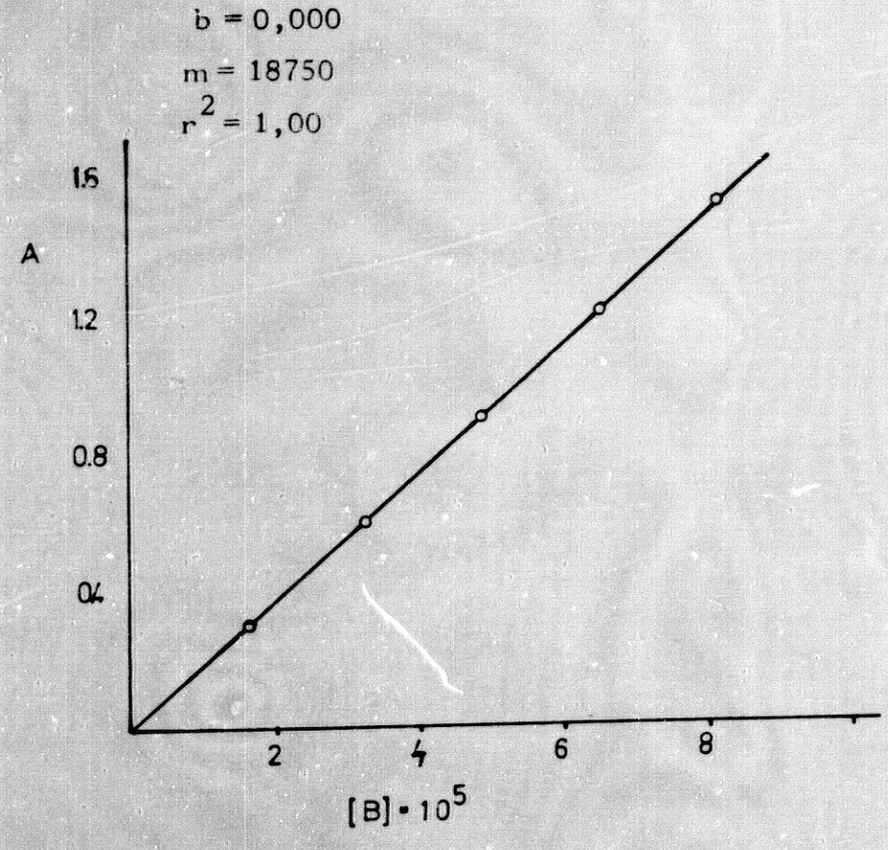


Figura 122. Curva de calibrado de bamethan base con exceso de azul de bromotimol en cloroformo a partir de los resultados de la tabla LXVIII.

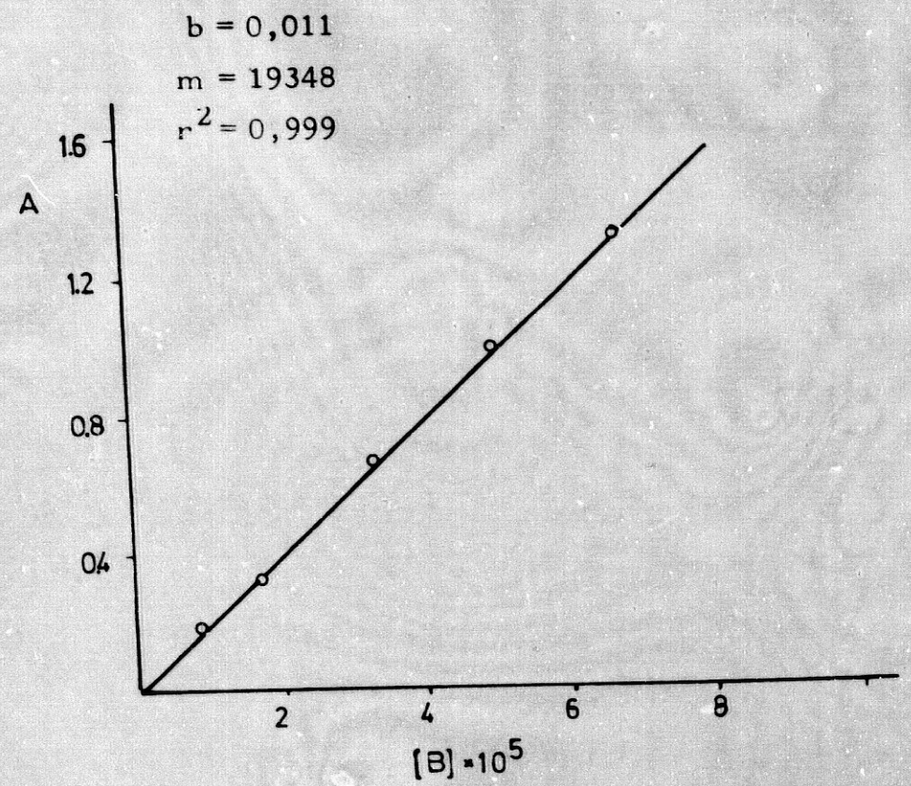


Figura 123. Curva de calibrado de ajmalina base con exceso de azul de bromotimol en clorofor mo a partir de los datos de la tabla LXX.

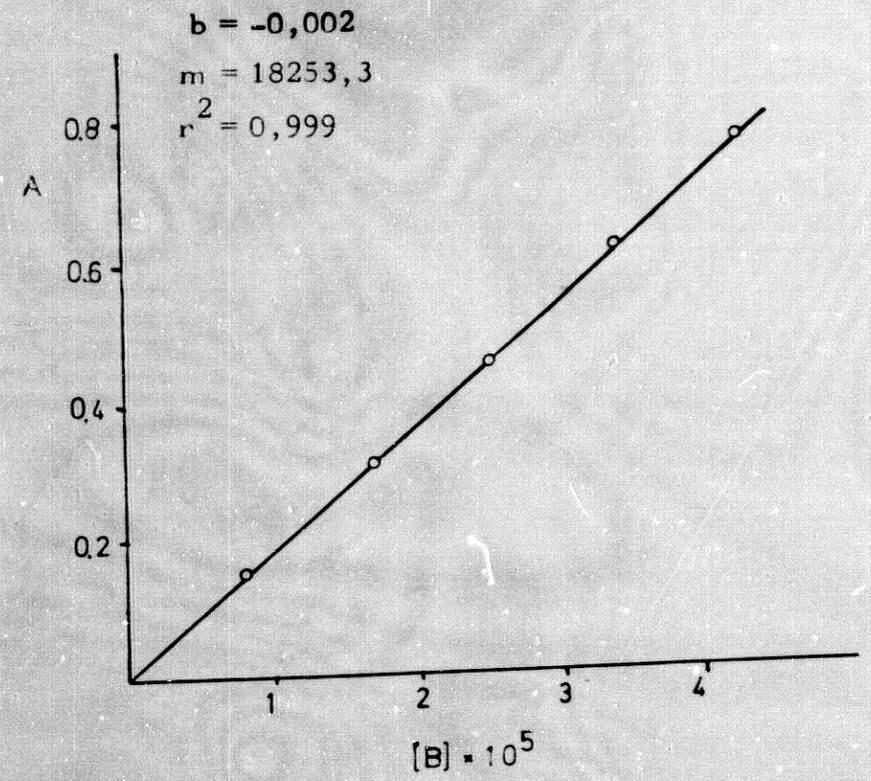


Figura 124. Curva de calibrado de etilfenilefrina base con exceso de azul de bromotimol en cloroformo a partir de los datos de la tabla LXIX.

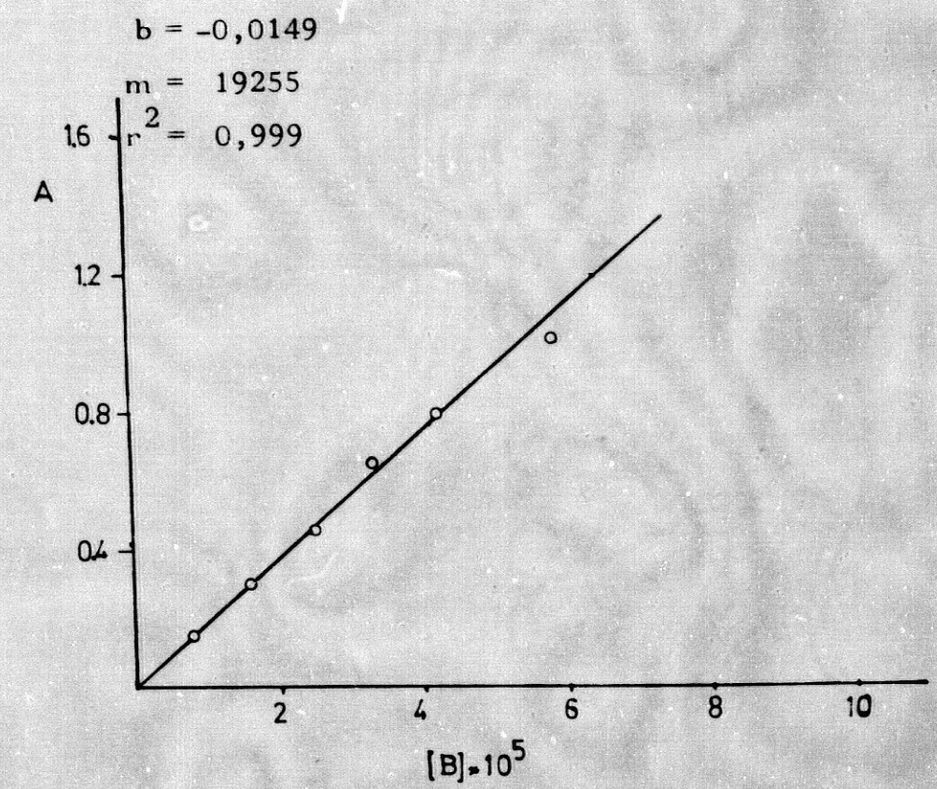


Figura 125. Curva de calibrado de estricnina base con exceso de azul de bromotimol en cloroformo a partir de los resultados de la tabla LXXI

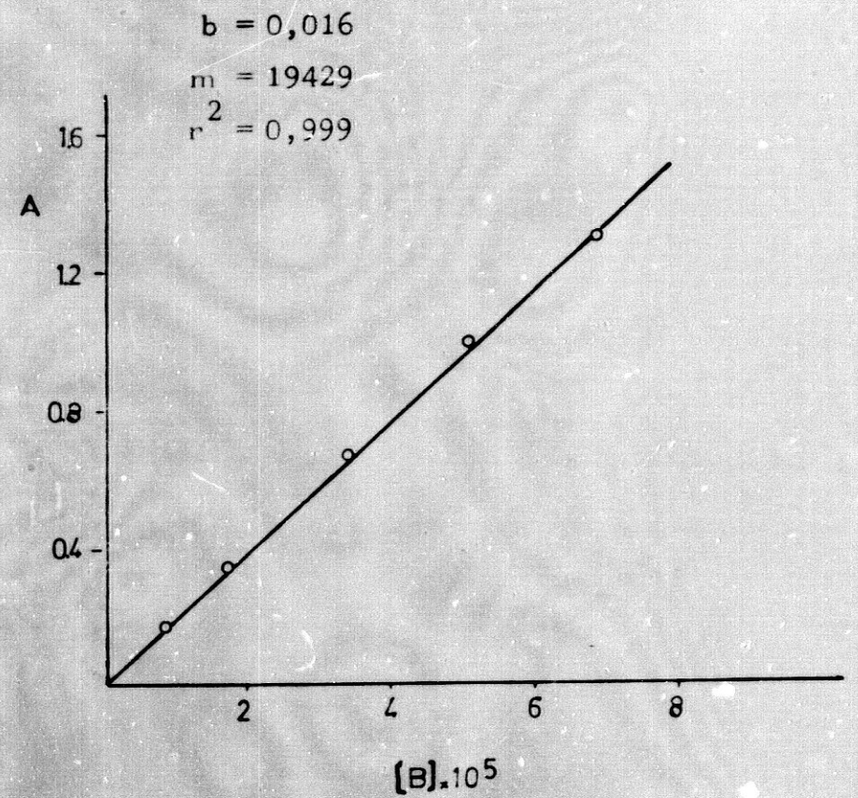


Figura 126. Curva de calibrado de flurazepan base con exceso de azul de bromotimol en cloroformo a partir de los resultados de la tabla LXXII

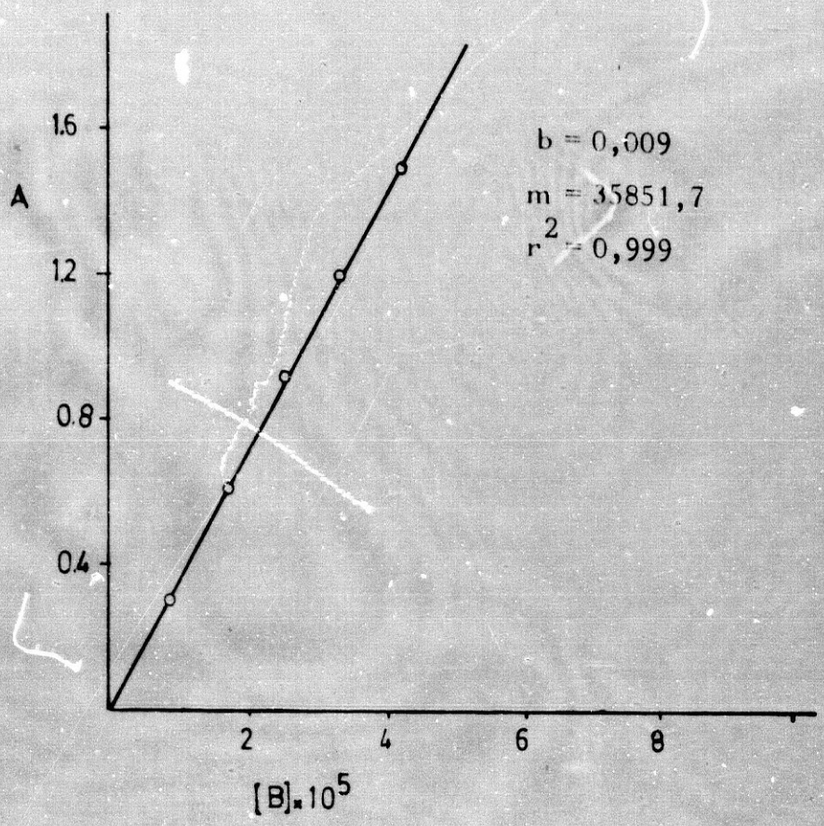


Figura 127. Curva de calibrado de quinina base con exceso de azul de bromotimol en cloroformo a partir de los datos de la tabla LXXIII.

El alto valor de r^2 demuestra linealidad entre la concentración de complejo y la amina inicial en defecto (fig. 119-127) lo cual expresa la no asociación del complejo formado en el seno del clorofoemo en el rango de concentraciones ensayado (desde 2 a 8.10^{-5}M).

En la tabla CCXIII se recogen los valores de b, m, y r^2 de las distintas aminas ensayadas en su titulación con azul de bromotimol en el seno de cloroformo.

TABLA CCXIII

Coeficientes de extinción molar de los distintos complejos colorante-amina junto con los valores de la ordenada en el origen b, y coeficiente de determinación r^2, de las rectas ajustadas. Concentración variable de amina y exceso de colorante.

Amina	ord(b)	$m(\varepsilon_{410})$ *	r^2
Hiosciamina	0,003	19.409	0,994
Homatropina	-0,008	19.671	0,999
Tropina	0,049	18.011	0,999
Bamethan	0,000	18.750	1,000
Etilfenilefrina	-0,002	18.285	0,999
Ajmalina	0,011	19.349	0,999
Estricnina	-0,014	19.255	0,999
Flurazepan	0,016	19.429	0,999
Quinina	0,009	35.852	0,999

$\varepsilon_{410} = 19019$

(*) litro.mol^{-1}.cm^{-1}

La comparación de las pendientes de las rectas (coeficientes de extinción molar a 410nm de los complejos) indica que en todos los casos, a excepción de uno de ellos (el correspondiente al complejo entre quinina y azul de bromotimol), el coeficiente de extinción de los complejos es idéntico, puesto que, de acuerdo con la discusión efectuada en el apartado anterior (5.4.1.), corresponde al coeficiente de extinción molar de la especie XH^- del colorante en cloroformo estabilizada

como par iónico con la amina. Las pequeñas desviaciones del coeficiente de extinción molar de los distintos complejos amina-azul de bromotimol son lo suficientemente bajas como para atribuirlas a errores experimentales al trabajar con las disoluciones clorofórmicas.

A partir de los valores del coeficiente de extinción de los diferentes complejos de la tabla CCXIII , se obtuvo un valor medio resultando ser 19.019*, que corresponde al coeficiente de extinción molar de la especie XH^- en cloroformo, determinado a partir de la reacción en el seno del disolvente orgánico.

El valor de $\varepsilon_{XH^-} = 19.019$* está en concordancia con el coeficiente de extinción del anión monovalente en medio acuoso $\varepsilon_{XH^-} = 18.065$, lo que sugiere que el par iónico estabilizado en cloroformo contiene la amina y el colorante en la razón molar 1:1 .

El complejo quinina-azul de bromotimol muestra un coeficiente de extinción molar doble que el obtenido para las demás aminas por el mismo procedimiento (35.852 litro.mol^{-1}.cm^{-1}); este hecho sugiere la presencia de dos moléculas de XH^- en el complejo en este caso, y en consecuencia la relación colorante amina es 2:1 .

La linealidad entre la A_{410} y concentración de amina en su forma básica, |B|, permite la puesta a punto de un método de análisis cuantitativo para la estimación de aminas básicas cuando éstas sean solubles en cloroformo, puesto que la reacción con azul de bromotimol es prácticamente cuantitativa; y con un ligero exceso de colorante se agota la amina a valorar. Dicho método constituye una alternativa interesante al método general de titulación de aminas por acidimetria en medio anhidro (142), puesto que al ser un método espectrofotométrico es mucho más sensible (fig. 119 - 127).

Si la estequiometría del complejo es 1:1, la sensibilidad de la reacción de la amina con el colorante permite detectar amina a concentraciones de $1,0.10^{-5}$ M; en cambio, si la estequiometría es 2:1, es posible detectar amina en el rango de concentración 5.10^{-6} M.

* litro.mol^{-1}.cm^{-1}

Dicha técnica de estimación de aminas por reacción con azul de bromotimol, en el seno de un disolvente orgánico, resulta válida y tiene la precisión de cualquier método espectrofotométrico. El alto coeficiente de extinción hace mínimos los errores experimentales desde el punto de vista analítico.

5.4.2.2. Curva de calibrado del colorante

También se ha investigado la influencia de la concentración de azul de bromotimol en la reacción de éste con la amina en el disolvente orgánico. La extensión de la reacción se ha seguido por medidas de absorbancia a 410nm, máximo de absorción del complejo formado. Para ello se prepararon disoluciones clorofórmicas con gran exceso de amina, como se describió en la parte experimental correspondiente a este apartado (3.4.3.7). Los resultados de las tablas LXXIV-LXXXII se han representado en las fig.128-136 en donde se han tomado valores de absorbancia a 410nm frente a la concentración de azul de bromotimol.

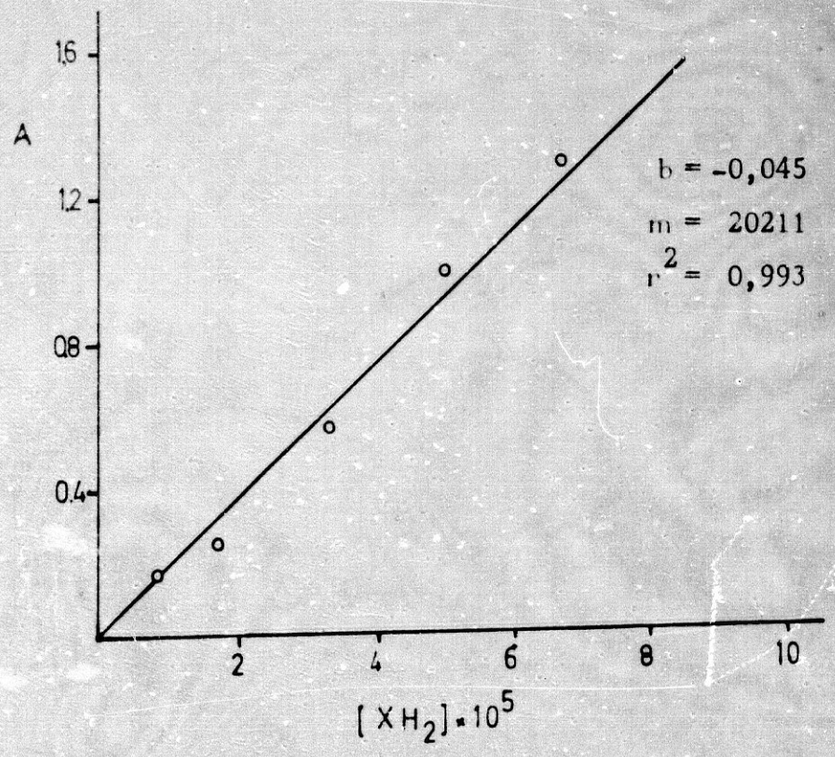


Figura 128. Curva de calibrado de azul de bromotimol con exceso de hiosciamina base en cloroformo a partir de los datos de la tabla LXXIV.

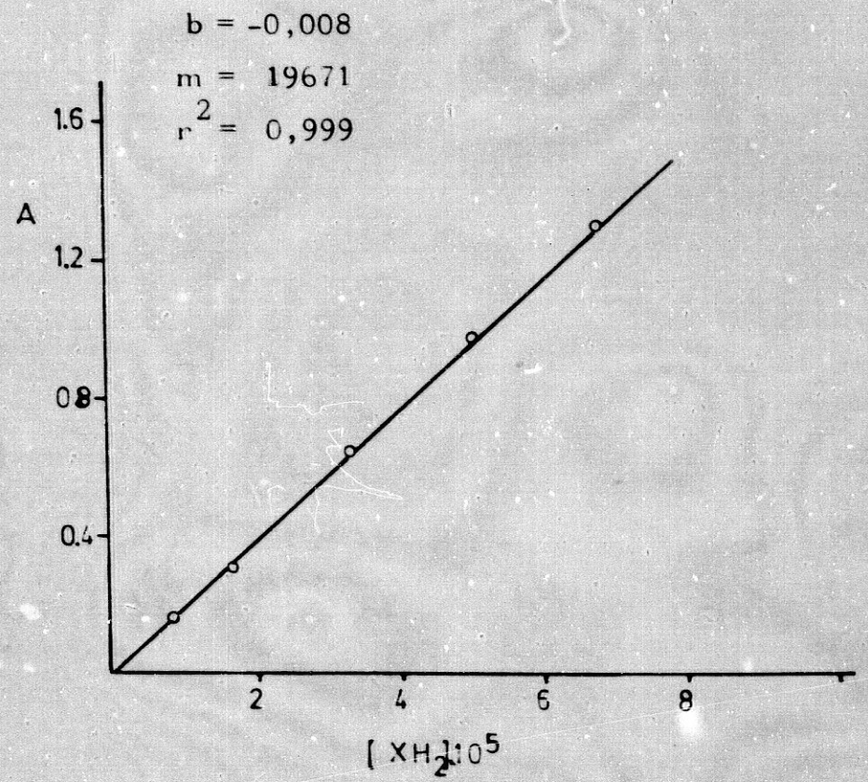


Figura 129. Curva de calibrado de azul de bromotimol con exceso de homatropina base en cloroformo a partir de los datos de la tabla LXXV

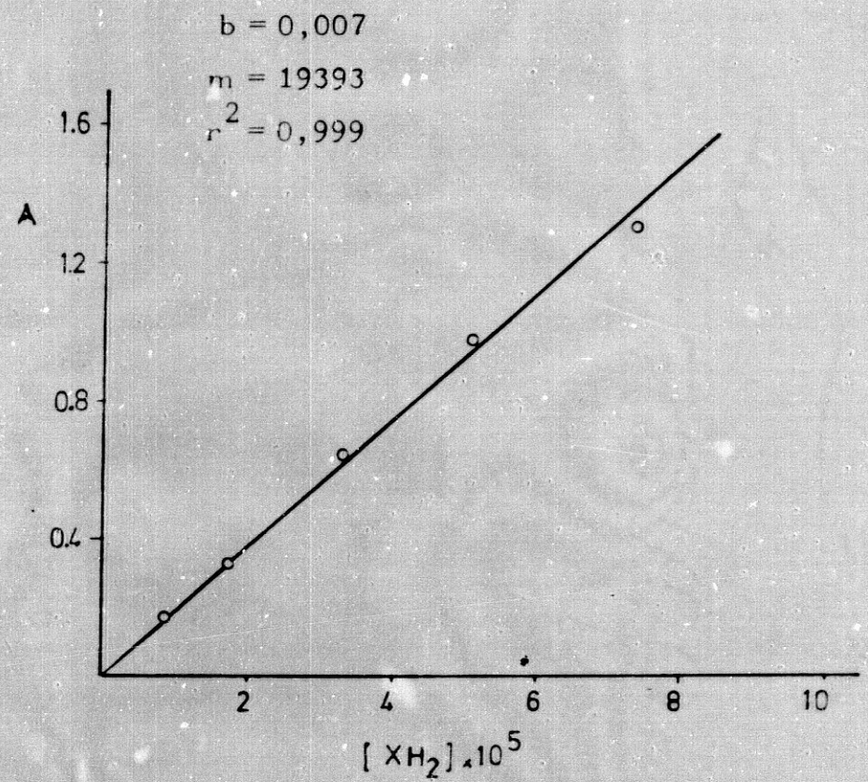


Figura 130. Curva de calibrado de azul de bromotimol con exceso de tropina base en cloroformo a partir de los datos de la tabla LXXVI.

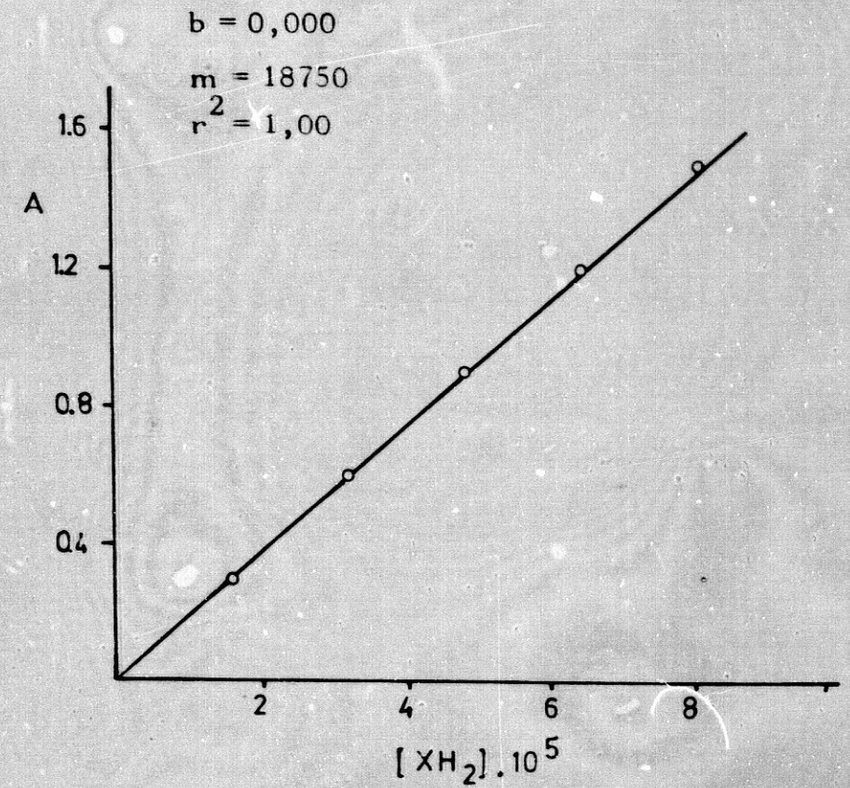


Figura 131. Curva de calibrado de azul de bromotimol con exceso de bamethan base en cloroformo a partir de los datos de la tabla LXXVII.

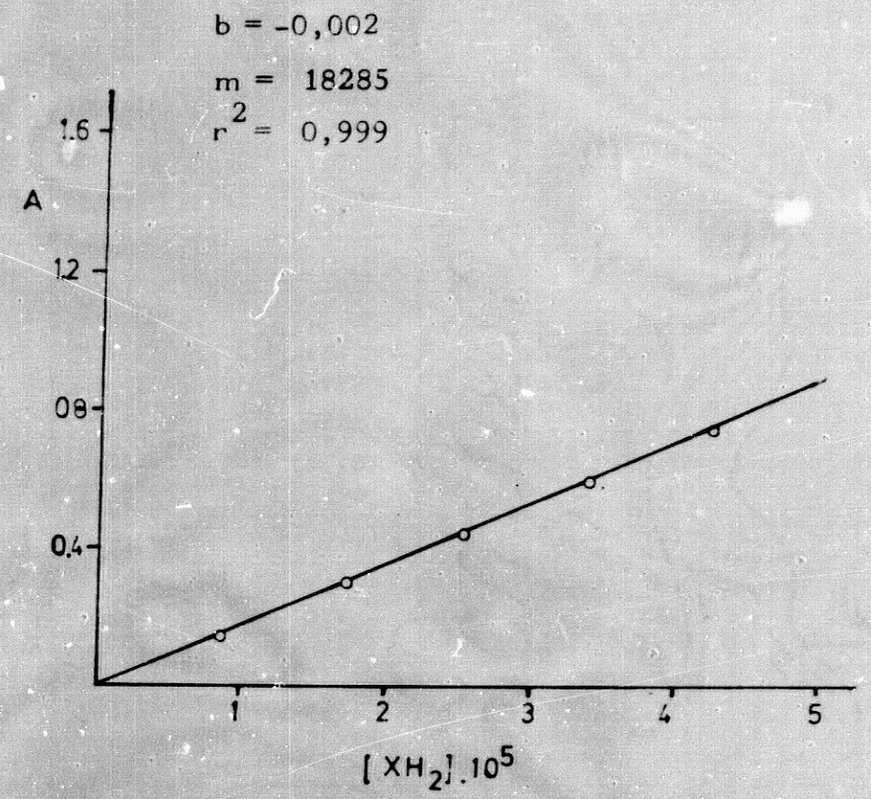


Figura 132. Curva de calibrado de azul de bromotimol con exceso de etilfenilefrina base en cloroformo a partir de los datos de la tabla LXXVIII.

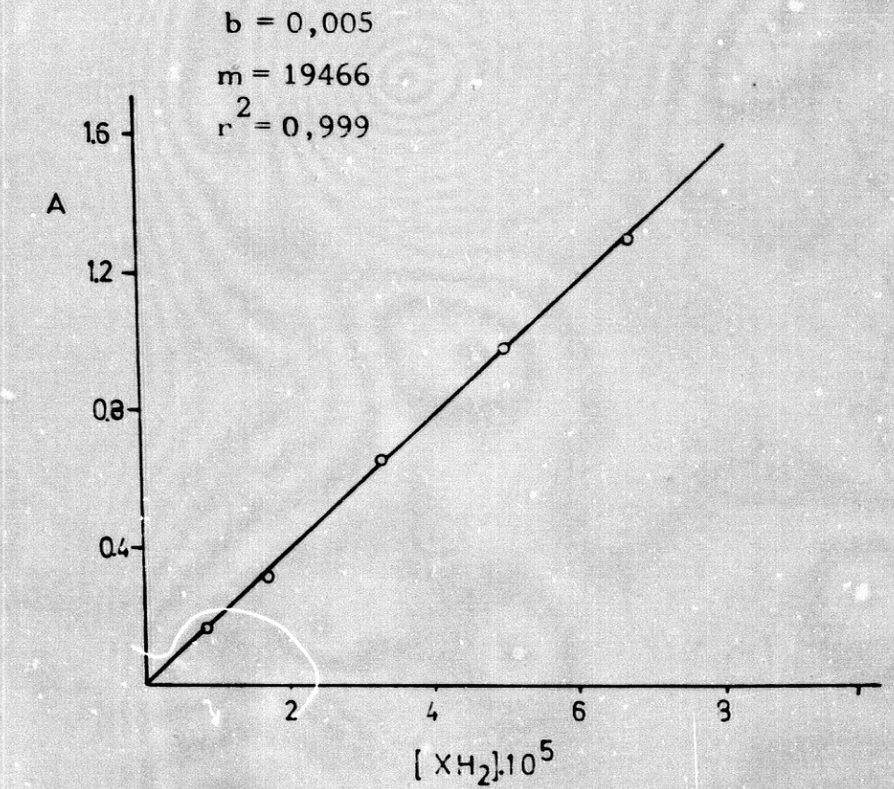


Figura 133. Curva de calibrado de azul de bromotimol con exceso de ajmalina base en cloroformo a partir de los datos de la tabla LXXIX

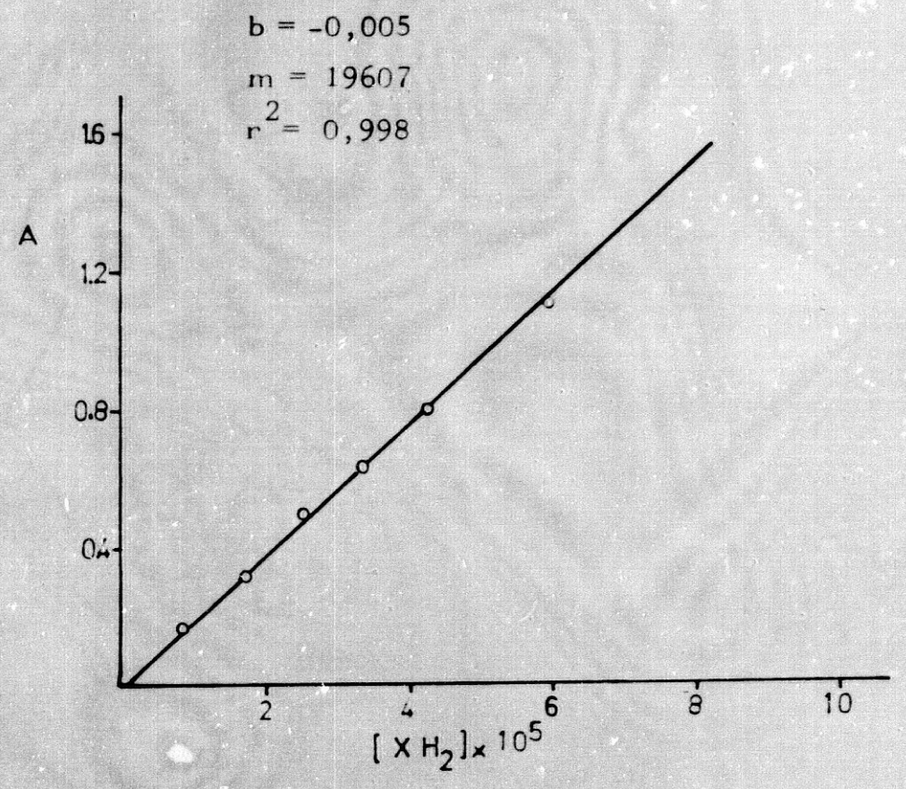


Figura 134. Curva de calibrado de azul de bromotimol con exceso de estricnina base en cloroformo a partir de los datos de la tabla LXXX.

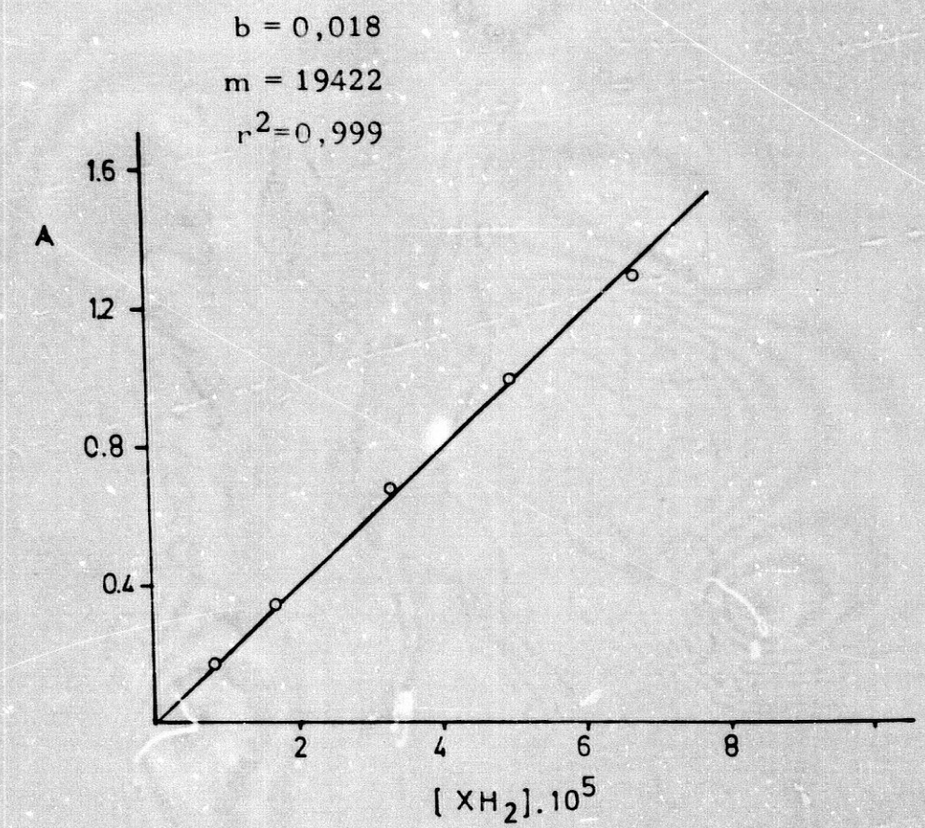


Figura 135. Curva de calibrado de azul de bromotimol con exceso de flurazepan base en clorofor a partir de los datos de la tabla LXXXI.

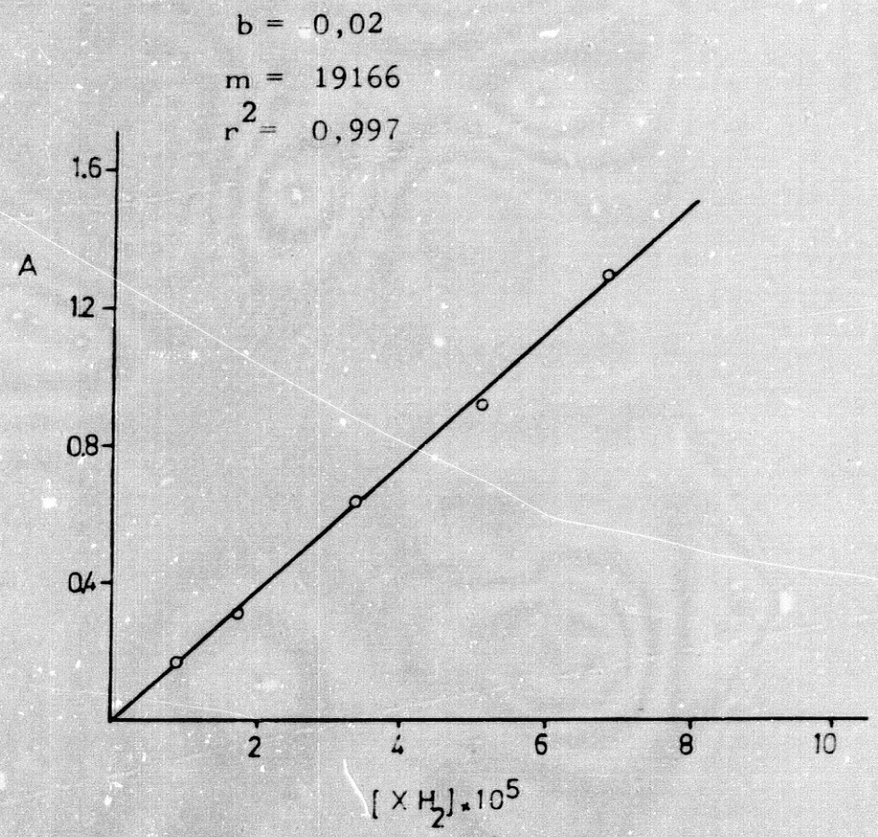


Figura 136. Curva de calibrado de azul de bromotimol con exceso de quinina base en cloroformo a partir de los datos de la tabla LXXXII.

En todas las figuras anteriores se ha obtenido una línea recta sin ordenada en el origen , lo que indica,que la concentración de complejo es proporcional a la concentración inicial de azul de bromotimol. Los valores de b, m y r^2 se dan en las figuras y han sido calculados mediante una programadora - Casio fx502 p.

Los valores del coeficiente de determinación, r^2 , son - muy próximos a la unidad, lo que demuestra la linealidad - de los puntos de la curva de calibrado del colorante. La ordenada en el origen, b , es prácticamente cero , lo cual indica que reacciona la amina únicamente con el colorante, no existiendo reacciones paralelas en las que se consuma el reactivo que está en defecto (azul de bromotimol).

Los valores de b, m y r^2 de todos los casos estudiados se resumen en la tabla CCXXIV.

TABLA CCXIV

Coeficientes de extinción molar de los distintos complejos colorante-amina, junto con los valores de ordenada en el origen ,b , y coeficiente de determinación, r^2 , de las rectas ajustadas.Concentración variable de colorante y exceso de - aminas.

Amina	ord(b)	$m(\varepsilon_{410})^{*}$	r^2
Hiosciamina	-0,045	20.211	0,993
Homatropina	-0,008	19.671	0,999
Tropina	0,007	19.393	0,999
Bamethan	0,000	18.750	1,000
Etilfenilefrina	-0,002	18.285	0,999
Ajmalina	0,005	19.466	0,999
Estricnina	-0,005	19.607	0,998
Flurazepan	0,018	19.422	0,999
Quinina	-0,002	38.332**	0,997

$\varepsilon_{410} = 19330$

(*) litro.mol^{-1}.cm^{-1} (**) $\varepsilon_{410} = 2.m = 38.332$

Análogamente a como se hizo en el apartado 5.4.2.1 , el valor de la pendiente m es el coeficiente de extinción molar del complejo a 410 nm. En la tabla CCXIV puede comprobarse la constancia en los valores de m (coeficiente de extinción molar del complejo) para todas las sustancias estudiadas. Las desviaciones son lo suficientemente bajas como para atribuirlas a errores experimentales.

Los valores del coeficiente de extinción de los complejos así obtenidos, además de ser iguales entre sí, son iguales a los calculados a partir de las experiencias realizadas en exceso de colorante cuando la estequiometría es 1:1 (tabla CCXIII).

En la figura 136 puede observarse para la quinina una pendiente de la recta igual a 19.166 en discordancia con la obtenida en las experiencias realizadas en exceso de colorante (figura 127). Esto es debido a que la estequiometría de la reacción quinina-azul de bromotimol es 2:1 (colorante:amina) y, en consecuencia, en el complejo entran a formar parte dos moléculas de azul de bromotimol . En este caso, el colorante, reactivo en defecto, reacciona en su totalidad y la concentración de complejo es la mitad de la inicial de colorante; de aquí que la absorbancia por mol de complejo sea doble de la calculada, y el coeficiente de extinción molar ha de obtenerse duplicando la pendiente de la recta.

5.4.3. Estequiometría de la reacción de formación del par iónico

La estequiometría de los complejos amina-azul de bromotimol se ha determinado por el método clásicc de Job (129) . El método seguido se ha expuesto en la parte experimental de esta Memoria (apartado 3.4.3.8) . Los resultados se expusieron en las tablas LXXXIII - CXIII.

De las representaciones gráficas de estos datos (absorbancia a 410 nm frente a fracción molar del azul de bromotimol) se obtuvieron las curvas de las fig. 137-147 que presentan un máximo. La fracción molar que corresponde a este valor máximo es la fracción molar del azul de bromotimol en el complejo, ó razón estequiométrica.

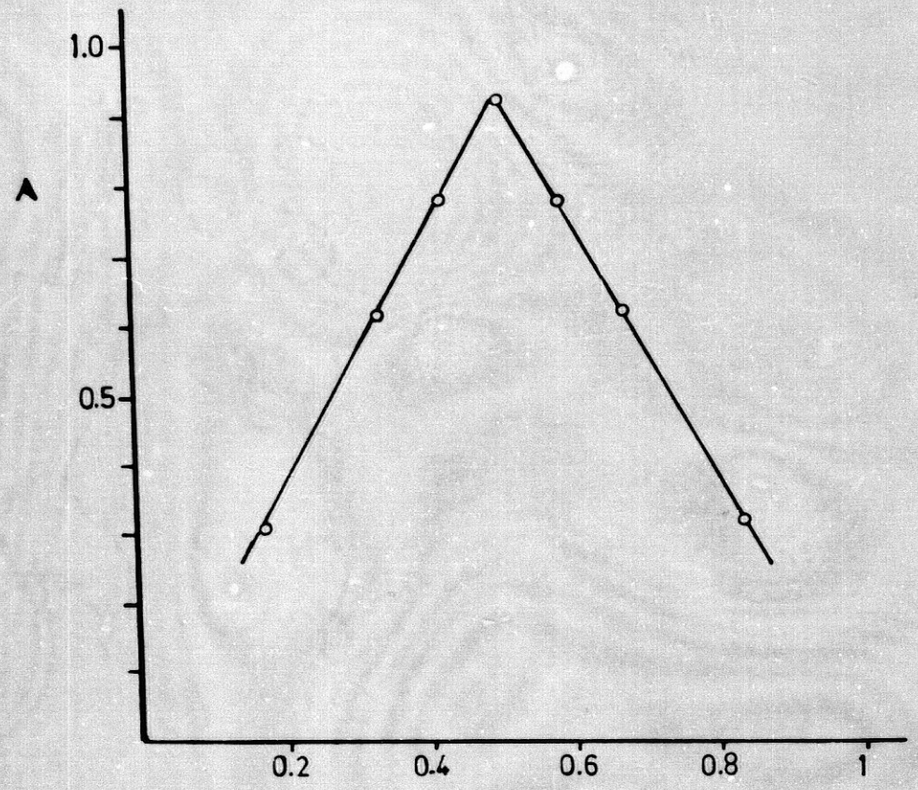


Figura 137. Determinación de la estequiometría del complejo atropina-azul de bromotimol por el método de Job a partir de los resultados de la tabla LXXXIII.

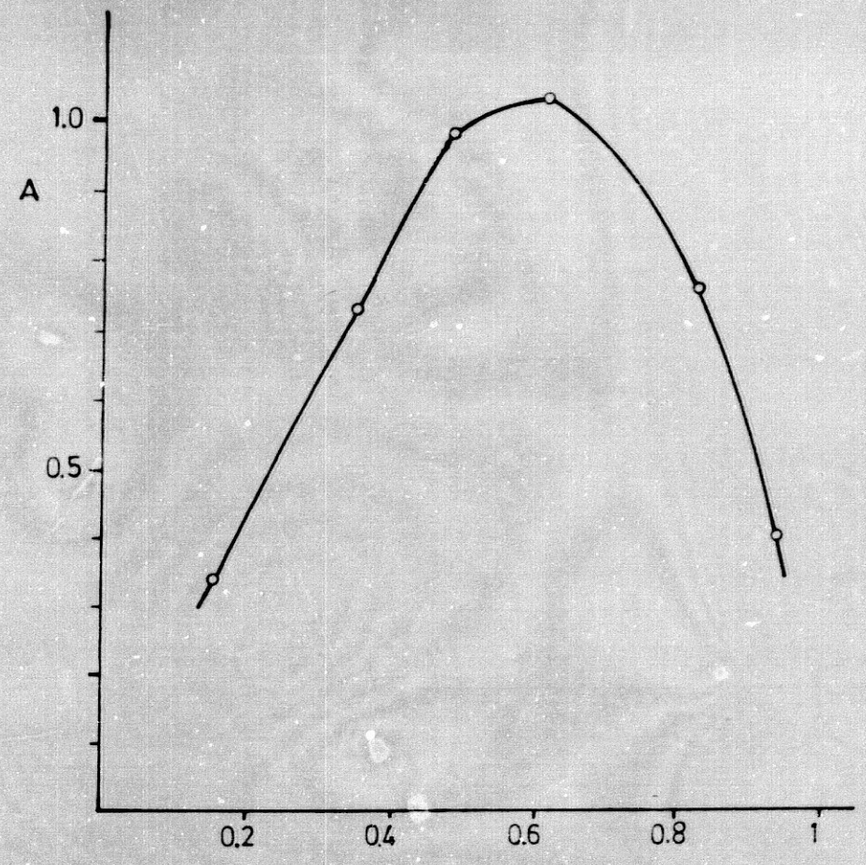


Figura 138. Determinación de la estequiometría del complejo belladonina-azul de bromotimol por el método de Job a partir de los resultados de la tabla LXXXIV.

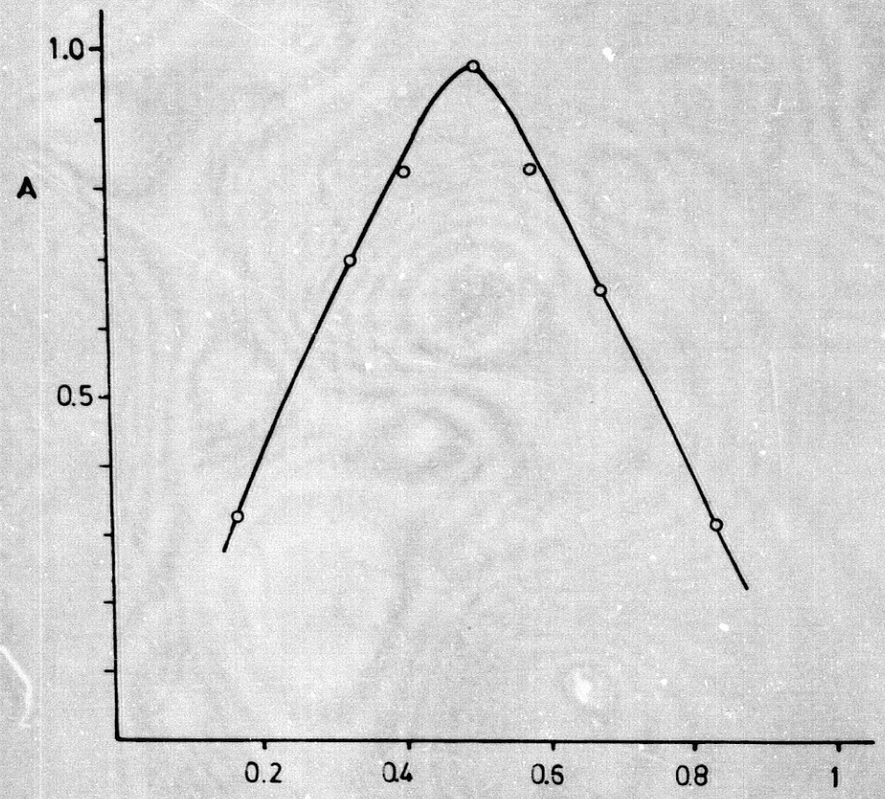


Figura 139. Determinación de la estequiometría del complejo hiosciamina-azul de bromotimol por el método de Job a partir de los resultados de la tabla LXXXV.

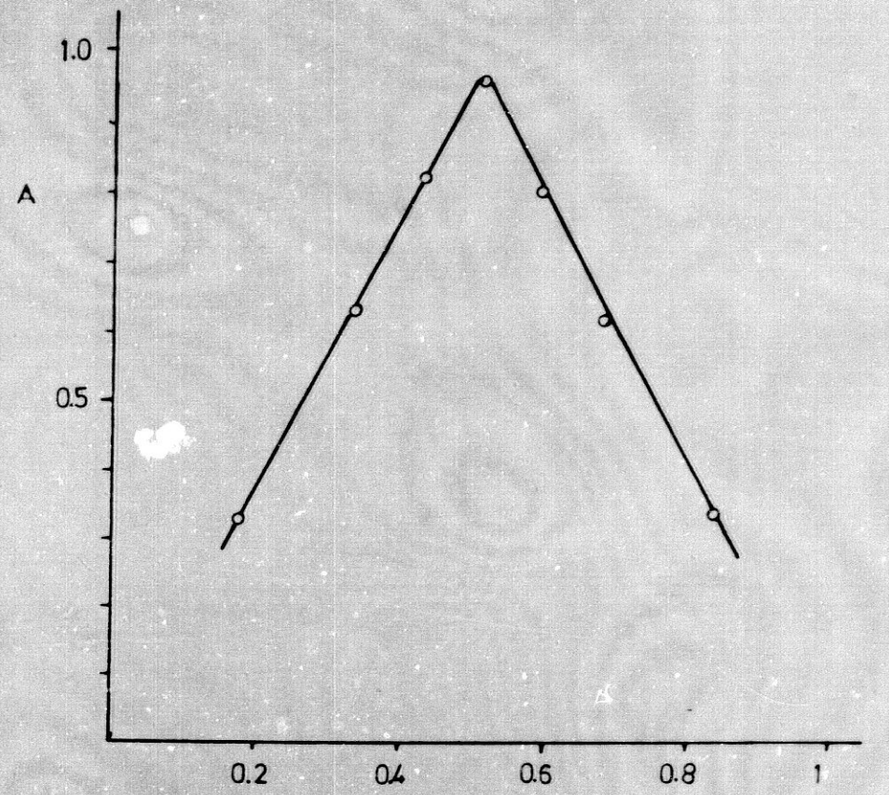


Figura 140. Determinación de la estequiometría del complejo homatropina-azul de bromotimol por el método de Job a partir de los resultados de la tabla LXXXVI.

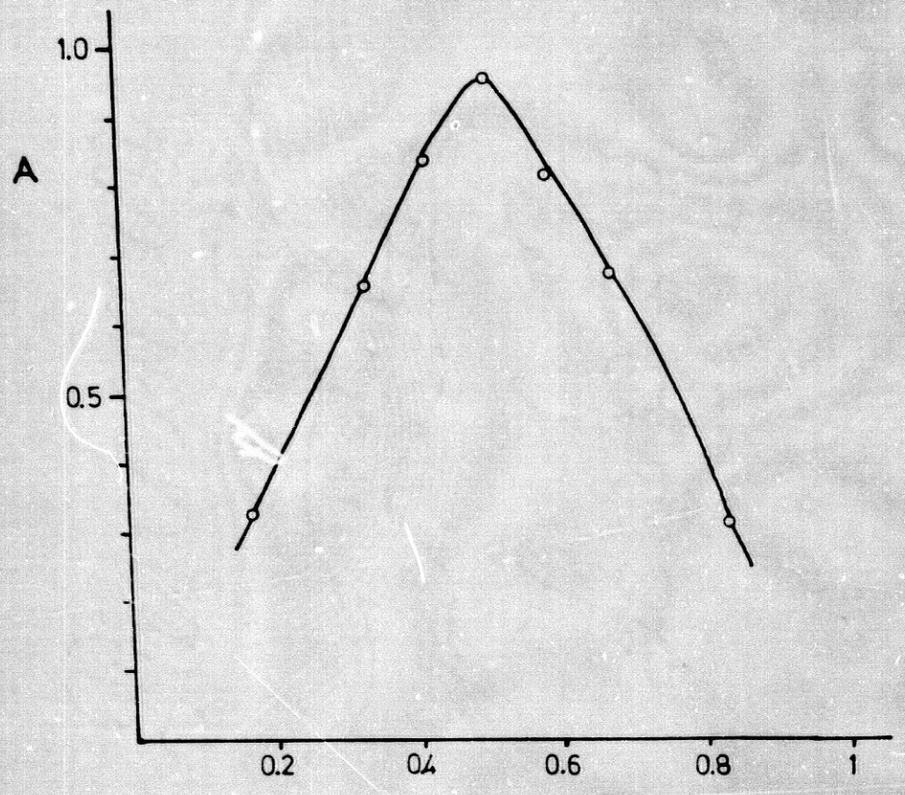


Figura 141. Determinación de la estequiometría del complejo tropina-azul de bromotimol por el método de Job a partir de los resultados de la tabla LXXXVII.

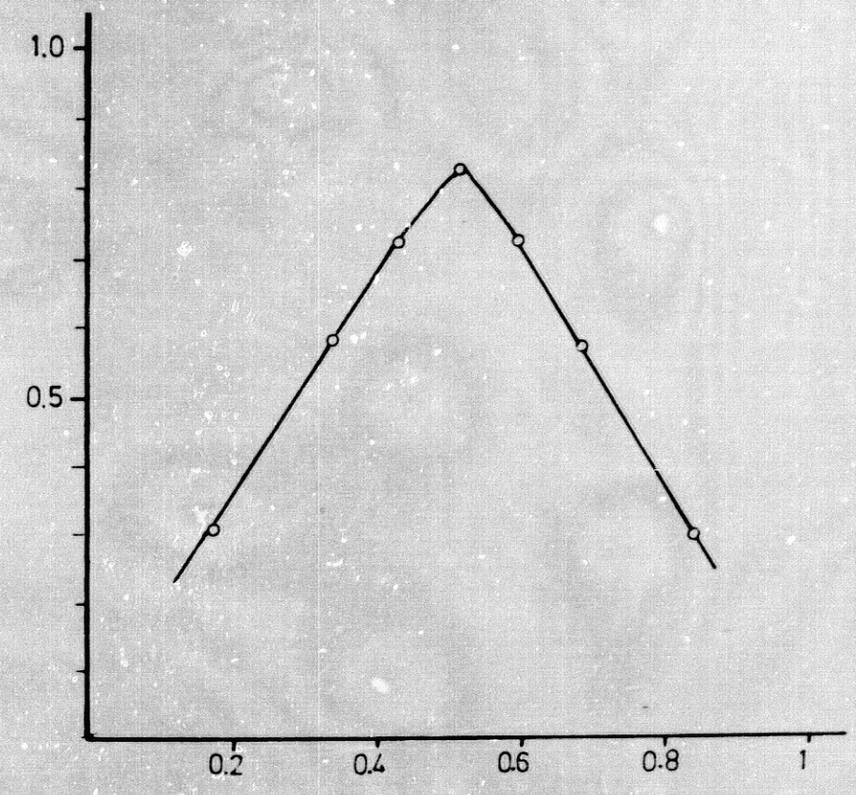


Figura 142. Determinación de la estequiometría del complejo bamethan-azul de bromotimol por el metodo de Job a partir de los resultados de la tabla LXXXVIII.

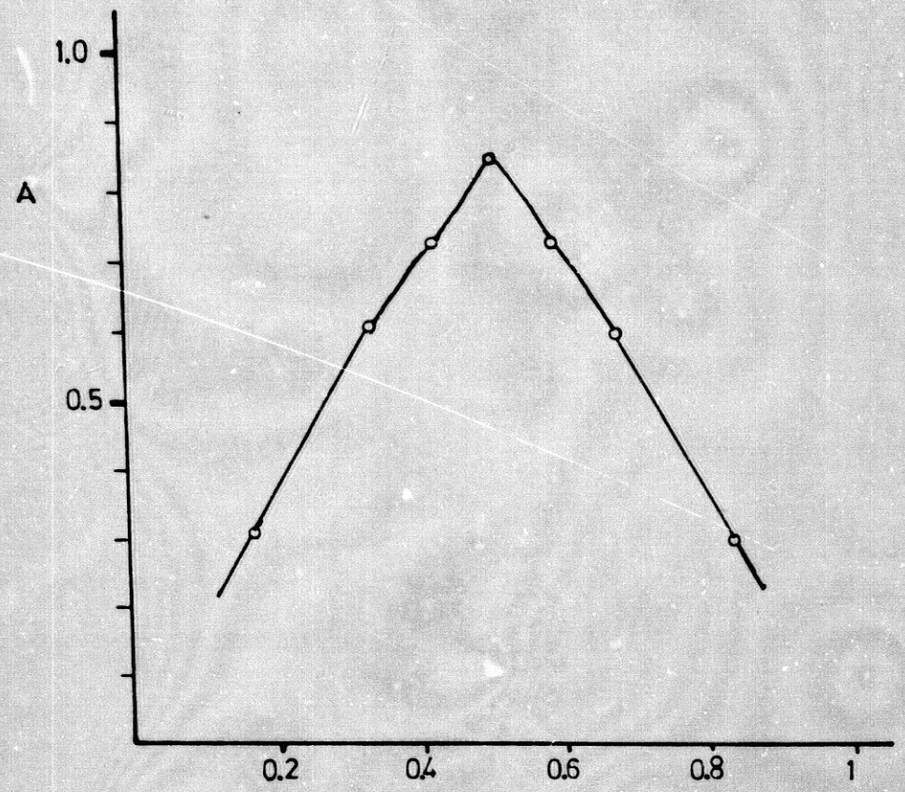


Figura 143. Determinación de la estequiometría del complejo etilfenilefrina-azul de bromotimol por el método de Job a partir de los resultados de la tabla LXXXIX.

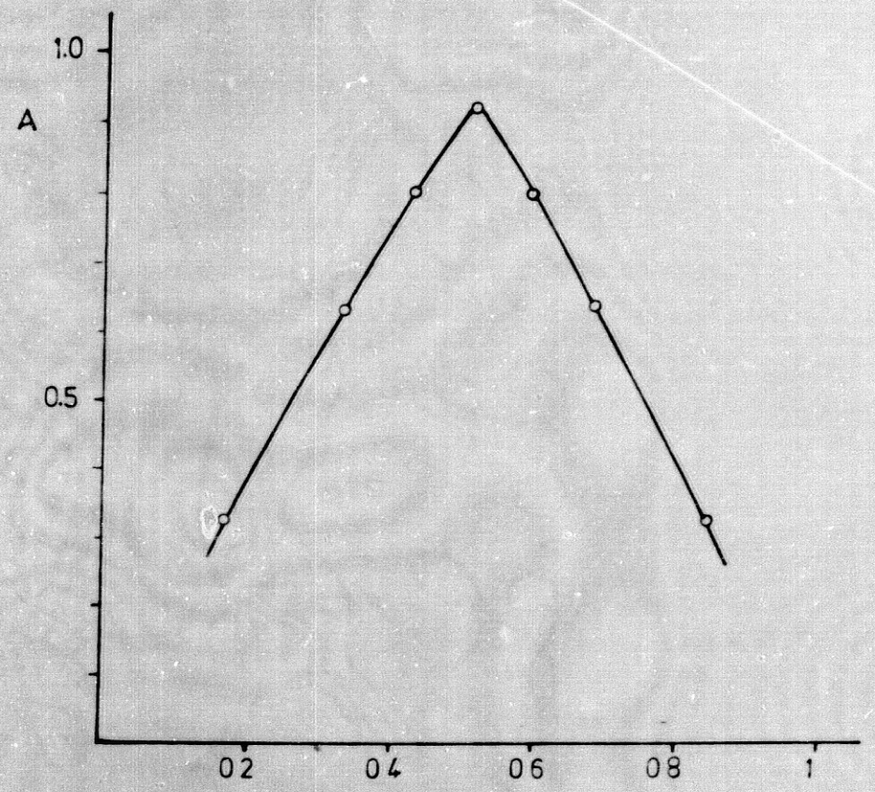


Figura 144. Determinación de la estequiometría del complejo ajmalina-azul de bromotimol por el método de Job a partir de los resultados de la tabla XC.

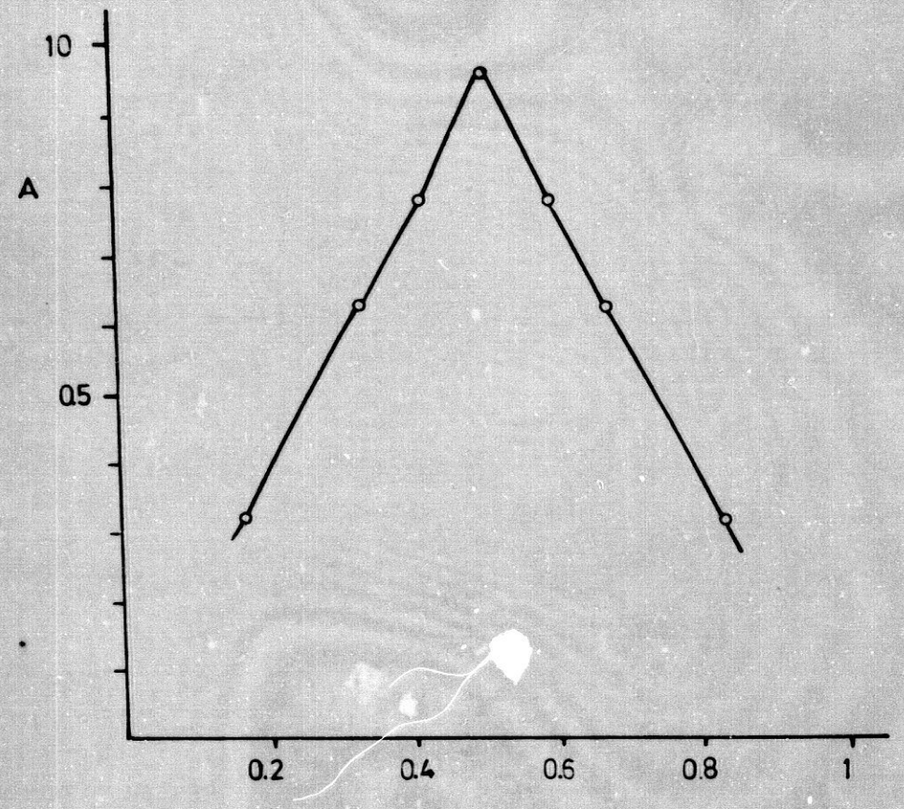


Figura 145. Determinación de la estequiometría del complejo estricnina-azul de bromotimol por el metodo de Job a partir de los resultados de la tabla XCI.

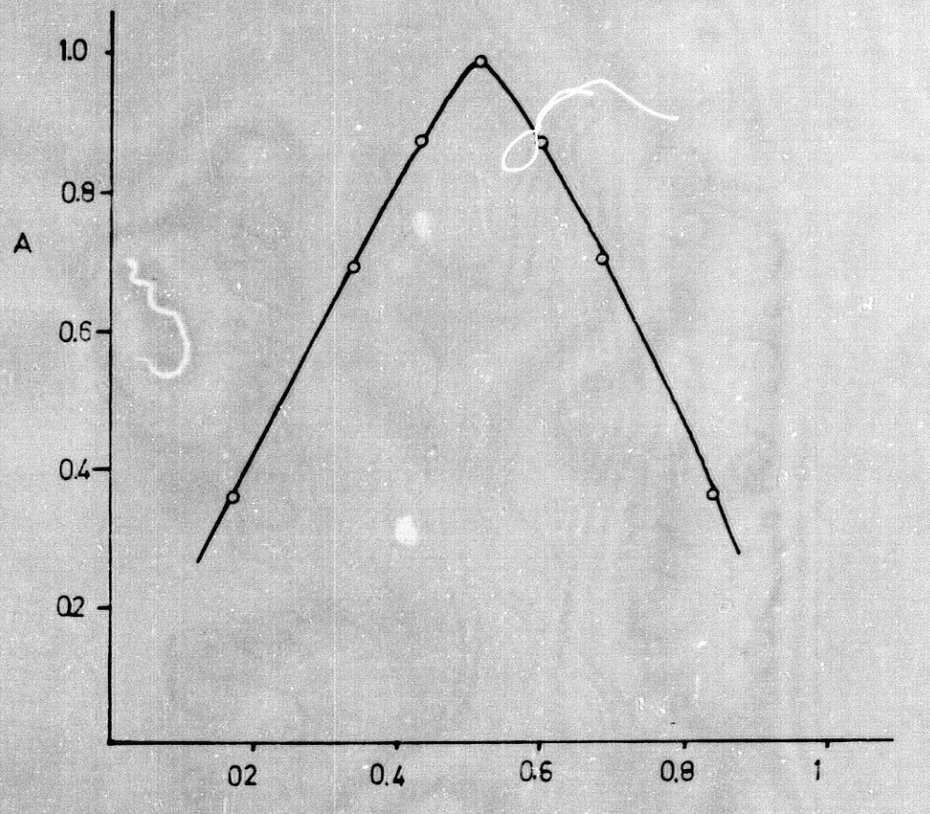


Figura 146. Determinación de la estequiometría del complejo flurazepan-azul de bromotimol por el método de Job a partir de los resultados de la tabla XCII.

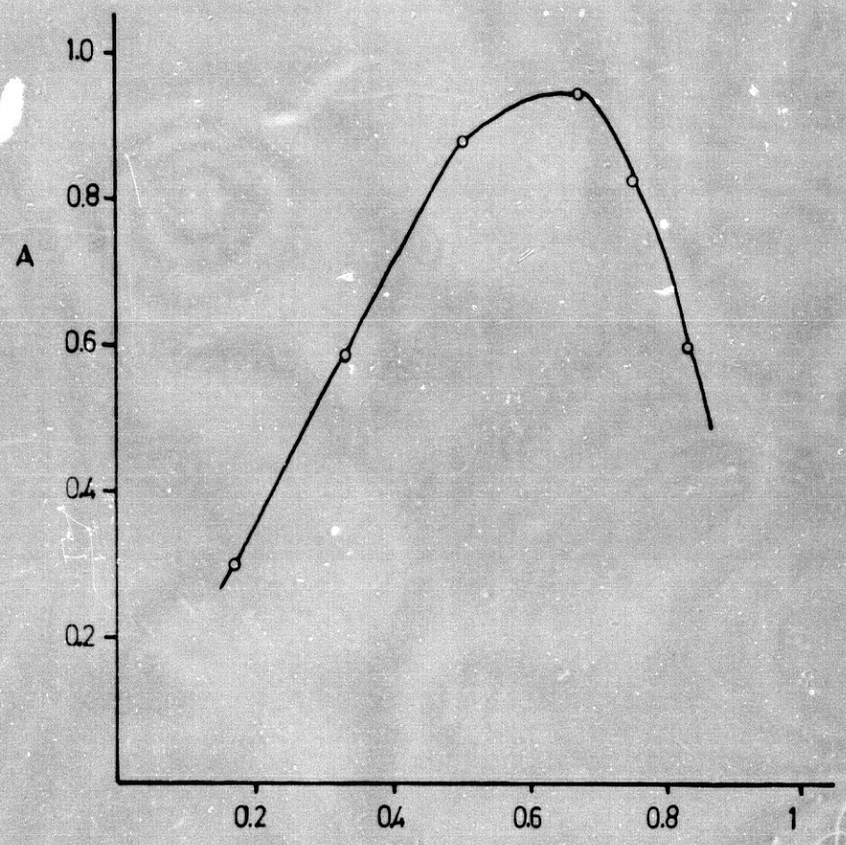


Figura 147. Determinación de la estequiometría del complejo quinina-azul de bromotimol por el método de Job a partir de los resultados de la tabla XCIII.

Esta última se ha deducido a partir del máximo valor de absorbancia en cada caso. En efecto, en la disolución donde el valor de absorbancia es máximo (a la longitud de onda de máxima absorción del complejo), la concentración de complejo formado es también máxima y ésto ocurre en aquella disolución donde los reactivos se encuentran en la misma relación molar a la que están formando parte del complejo. En este caso la reacción no está limitada por aquel reactivo que estuviese en defecto. Así, cuando la relación molar es 5:1 la reacción está limitada por el reactivo en defecto, mientras que cuando la relación molar es 1:1 la reacción no queda limitada, y la concentración de complejo formado, en este caso, es mayor.

En la tabla CCXV se resumen los valores de la razón estequiométrica obtenidos para los complejos de las aminas ensayadas con azul de bromotimol.

TABLA CCXV

Razón estequiométrica de las diferentes aminas ensayadas en su reacción con el azul de bromotimol (colorante:amina).

Amina	Razón estequiométrica
Atropina	1:1
Belladonina	2:1
Hiosciamina	1:1
Homatropina	1:1
Tropina	1:1
Bamethan	1:1
Etilfenilefrina	1:1
Ajmalina	1:1
Estricnina	1:1
Flurazepan	1:1
Quinina	2:1

Como se aprecia en la anterior tabla, todas las aminas estudiadas, a excepción de dos ellas, muestran estequiometría 1:1 (colorante : amina) .La belladonina y quinina, presentan estequiometría 2:1 en la reacción con el azul de bromotimol en cloroformo .

En general las aminas ensayadas, como se observa en la tabla CCXV poseen estequiometría 1:1, y por lo tanto - en la formación del par iónico azul de bromotimol-amina se - comportan como monovalentes, mientras belladonina y quinina lo hacen como divalentes. Ambas aminas divalentes , según se dijo en el capítulo dedicado a la distribución de aminas entre disolventes inmiscibles (apartado 5.2) ,tienen dos valores de pK, por poseer en su estructura dos nitrógenos capaces de captar protones en medio acuoso.Las demás aminas - monovalentes, excepto flurazepan, que se discutirá a continuación, poseen un solo valor de pK, que corresponde a la disociación del protón captado por el grupo amino.

El flurazepan posee dos valores de pK ($pK_{BH_2}^{++} = 1,8$ y $pK_{BH^+} = 8,16$) , y sin embargo, el complejo formado posee una razón estequiométrica 1:1 (fig. 146); ésto hace pensar que aquellos nitrógenos cuyo valor de pK sea muy bajo no son suficientemente reactivos como para interaccionar con el azul de bromotimol. En general se puede concluir que para que una amina reaccione con el azul de bromotimol hace falta que posea un determinado carácter básico.

Otra conclusión que se obtiene de lo que se ha expuesto es que los grupos implicados en la reacción con el azul de bromotimol en cloroformo son los nitrógenos de las aminas los cuales en disolución acuosa pueden captar protones y por lo tanto tienen carácter básico ó en,el sentido más amplio, - son susceptibles de ceder electrones.

5.4.4. Reactividades de la aminas en forma de base y en forma de sal

En las tablas XCIV-XCVI se muestran los resultados correspondientes a las experiencias realizadas con objeto de comparar la reactividad de las aminas en estado de base ó estado de sal (clorhidrato ó bromhidrato).

De la observación de estas tablas se deduce que las sales de aminas bromhidrato de hiosciamina clorhidrato de flurazepan

y bromhidrato de homatropina no reaccionan con azul de bromotimol en medio clorofórmico, y en consecuencia, no hay formación de complejo, puesto que la absorbancia a 410nm es despreciable.

Este hecho puede ser debido a que tanto el bromhidrato de hiosciamina , bromhidrato de homatropina como el clorhidrato de flurazepan poseen un solo nitrógeno capaz de reaccionar con el colorante y ese se encuentra ocupado por el grupo ácido BrH ó por el grupo ClH .

Cuando las disoluciones clorofórmicas de las sales de amina-colorante de los casos anteriores, que no han reaccionado - (absorbancia a 410nm nula) se agitan con agua destilada,aparece un color amarillo en la fase orgánica cuyos valores de absorbancia a 410nm pueden observarse en la tablas XCIV-XCVI. Estos valores de absorbancia (a distintas razones molares) revelan la formación de un complejo 1:1 , tras la adición de agua,lo cual - confirma la aseveración anterior, de que el grupo reactivo de - la amina es el nitrógeno.

La razón de la reactividad tras la adición de agua puede explicarse admitiendo que el grupo nitrogenado de la amina queda libre para reaccionar con el azul de bromotimol dando lugar al complejo de estequiometría 1:1, puesto que el agua favorece la separación de las cargas del clorhidrato ó bromhidrato de la amina (21).

Sólamente se estudiaron estas tres aminas, porque fueron las únicas sustancias disponibles simultáneamente en estado de base y sal.

5.4.5. Constante de estabilidad de los complejos amina-colorante

Se han determinado los valores de las constantes de estabilidad para once compuestos amina-azul de bromotimol en cloroformo. El método utilizado se ha descrito en la parte experimental (apartado 4.4.3.).

El cálculo de las constantes de estabilidad, K_f , de los complejos se ha efectuado a partir delas medidas de absorbancia, a 410nm (longitud de onda de máxima absorción de todos los com

plejos estudiados), de disoluciones clorofórmicas de amina y azul de bromotimol a distintas relaciones molares, comprendidas entre 5:1 y 1:5. Estos datos se han hecho constar en las tablas LXXXIII-XCIIIdonde también se expresó la relación estequiométrica de los complejos. Las medidas de absorbancia se efectuaron a 410nm, longitud de onda característica del complejo y puesto que la amina y el colorante no absorben a esa longitud onda no fué necesaria la corrección con un blanco especial,sino que se usó cloroformo puro .

Las constantes de estabilidad K_f quedaron definidas por las ecuaciones -48- y -50- para complejos 1:1 y 2:1 colorante:amina, respectivamente . Estas ecuaciones permiten el cálculo de las constantes de estabilidad en función de la concentración de complejo formado y la de reactivos libres en el equilibrio.

La concentración de complejo formado en cada disolución clorofórmica se calculó a partir de su valor de absorbancia a 410nm y la absorbancia de la disolución de razón molar 5:1 ó 1:5. Para ello, se ha supuesto que cuando amina y colorante están en la relación molar 5:1 y 1:5 , la concentración de complejo coincide con la concentración del reactivo que se encuentra en defecto, puesto que éste se ha agotado. Este hecho ha sido demostrado en los apartados correspondientes al estudio de la influencia de la concentración de los reactivos (5.4.2.1 y 5.4.2.2) .

Por otra parte el valor de absorbancia de las disoluciones de razón molar 1:5 y 5:1 es muy próximo, y además, coincide con el valor esperado considerando el coeficiente de extinción molar del complejo calculado en los apartados antes mencionados. A efectos de estos cálculos se consideró el coeficiente de extinción molar del complejo el que proporcionaron las experiencias a relación molar 1:5, 5:1. De esta manera se ha calculado la concentración de complejo formado a distintas relaciones molares,y por diferencia con las concentraciones iniciales de amina y colorante se conocieron las concentraciones de reactivos libres. La concentración de complejo cuando la estequiometría es 2:1 se calcula bajo la misma suposición anterior, teniendo en cuenta que en la relación molar 1:5 (colorante:amina) la concentración de complejo formado es igual a la mitad de la de colorante ($0,8.10^{-5}$M) como se deduce de la consi

deración de que por cada molécula de complejo entra a formar parte dos de azul de bromotimol.

El cálculo que acabamos de describir al utilizar los valores de absorbancia de las experiencias 1:5 y 5:1 permite el cálculo del coeficiente de extinción molar para cada reacción amina - colorante, y reduce errores debidos a las pérdidas de disolvente, preparación de disoluciones etc.

En las tablas CCXVI-CCXXVI figuran las concentraciones de complejo en equilibrio y concentraciones de azul de bromotimol y amina libre, así como los valores de las constantes de estabilidad calculados por sustitución de los valores anteriores en las ecuaciones -48- y -50-, para cada disolución. De esta forma la constante de estabilidad para el complejo formado por cada amina se ha obtenido a partir de varios valores, normalmente 5, cuya media se dá al final de cada tabla.

TABLA CCXVI

Determinacion de la constante de estabilidad del complejo atropina-azul de bromotimol, a partir de los datos de la tabla LXXXIII.

$C^{\circ}_{XH_2}\,10^5$	$C^{\circ}_{B}10^5$	$\lvert XHBH\rvert\,10^5$	$\lvert XH_2\rvert\,10^5$	$\lvert Bi\,10^5$	$K_f\,10^{-6}$	$\log K_f$
8,33	1,66	1,66	- --	- --	- --	- --
6,66	3,33	3,28	3,38	0,05	1,94	6,29
5,83	4,17	4,13	1,70	0,04	6,07	6,78
5,00	5,00	4,87	0,13	0,13	28,81	7,46
4,17	5,83	4,13	0,04	1,70	6,07	6,78
3,33	6,66	3,25	0,08	3,41	1,19	6,07
1,66	8,33	1,64	- --	- --	- --	- --

$$\bar{K}_f = 6{,}02.10^6$$

$$\log \bar{K}_f = 6{,}78$$

TABLA CCXVII

Determinación de la constante de estabilidad del complejo belladonina-azul de bromotimol, a partir de los datos de la tabla LXXXIV.

$C^{\circ}_{XH_2} \cdot 10^5$	$C^{\circ}_{B} 10^5$	$\lvert(XH)_2BH_2\rvert 10^5$	$\lvert XH_2\rvert 10^5$	$\lvert B\rvert 10^5$	$K_f \cdot 10^{-10}$	$\log K_f$
1,66	9,5	---	---	---	---	---
3,75	7,1	1,82	0,11	5,28	28,48	11,45
5,00	5,7	2,45	0,10	3,25	75,38	11,87
6,25	4,3	3,12	0,01	1,18	26.440	14,40
8,33	1,9	---	---	---	---	---

$\overline{K}_f = 51,94.10^{10}$ (media de dos valores)

$\log \overline{K}_f = 11,66$ (media de dos valores)

TABLA CCXVIII

Determinación de la constante de estabilidad del complejo hiosciamina-azul de bromotimol, a partir de los datos de la tabla LXXXV.

$C^{\circ}_{XH_2}\,10^5$	$C^{\circ}_{B}\,10^5$	$\lvert XHBH\rvert\,10^5$	$\lvert XH_2\rvert\,10^5$	$\lvert B\rvert\,10^5$	$K_f\,10^{-7}$	$\log K_f$
8,33	1,66	1.66	- --	- --	- --	- --
6,66	3,33	3,28	3,38	0,05	0,19	6,29
5,83	4,17	4,14	1,69	0,03	0,81	6,91
5,00	5,00	4,95	0,05	0,05	1,98	8,30
4,17	5,83	4,14	0,03	1,69	0,81	6,91
3,33	6,66	6,66	- --	- --	- --	- --
1,66	8,33	1,63	- --	- --	- --	- --

$$\bar{K} = 1{,}25\ 10^7$$

$$\log \bar{K}_f = 7{,}10$$

TABLA CCXIX

Determinación de la constante de estabilidad del complejo homatropina-azul de bromotimol, a partir de los datos de la tabla LXXXVI.

$C^{\circ}_{XH_2}\,10^5$	$C^{\circ}_{B}10^5$	$\lvert XHBH\rvert\,10^5$	$\lvert XH_2\rvert.10^6$	$\lvert B\rvert\,10^5$	$K_f.10^{-6}$	$\log K_f$
8,33	1,66	1,66	- --	- --	- --	- --
6,66	3,33	3,13	3,53	0,20	0,44	5,65
5,83	4,17	4,04	1,79	0,13	1,73	6,24
5,00	5,00	4,85	0,15	0,15	21,55	7,33
4,17	5,83	4,14	0,03	1,69	8,16	6,91
3,33	6,66	3,18	0,15	3,48	6,09	5,78
1,66	8,33	1,64	- --	- --	- --	- --

$$\bar{K} = 2,39\ 10^6$$

$$\log \bar{K}_f = 6,38$$

TABLA CCXX

Determinación de la constante de estabilidad del complejo tropina-azul de bromotimol, a partir de los datos de la tabla LXXXVII.

$C^{\circ}_{XH_2}\ 10^5$	$C^{\circ}_{B}10^5$	$\lvert XHBH\rvert\ 10^5$	$\lvert XH_2\rvert\ 10^5$	$\lvert B\rvert\ 10^5$	$K_f\ 10^{-6}$	$\log K_f$
8,33	1,66	1,66	- --	- --	- --	- --
6,66	3,33	3,28	3,38	0,05	1,94	6,29
5,83	4,17	4,14	1,69	0,03	8,16	6,91
5,00	5,00	4,85	0,15	0,15	21,55	7,33
4,17	5,83	4,14	0,03	1,69	8,16	6,91
3,33	6,66	3,28	0,05	3,38	1,94	6,29
1,66	8,33	1,62	- --	- --	- --	- --

$$\bar{K}_f = 8,35\ 10^6$$

$$\log \bar{K}_f = 6,92$$

TABLA CCXXI

Determinación de la constante de estabilidad del complejo bamethan-azul de bromotimol a partir de los datos de la tabla LXXXVIII.

$C^{\circ}_{XH_2}\,10^5$	$C^{\circ}_{B}10^5$	$\|XHBH\|\,10^5$	$\|XH_2\|\,10^5$	$\|B\|\,10^5$	$K_f\,10^{-5}$	$\log K_f$
1,6	8	---	---	---	---	---
3,2	6,4	3,04	0,17	3,36	5,32	5,73
4,0	5,6	3,77	0,23	1,83	8,96	5,95
4,8	4,8	4,30	0,50	0,50	17,20	6,23
5,6	4,0	3,77	1,83	0,23	8,96	5,95
6,4	3,2	2,99	3,41	0,21	4,18	5,62
8,0	1,6	---	---	---	---	---

$$\bar{K}_f = 8{,}92.10^5$$

$$\log \bar{K}_f = 5{,}95$$

TABLA CCXXII

Determinación de la constante de estabilidad del complejo etilfenilefrina-azul de bromotimol a partir de los datos tos de la tabla LXXXIX.

$C^{\circ}_{XH_2}\ 10^5$	$C^{\circ}_{B}\ 10^5$	$(XHBH)\ 10^5$	$\lvert XH_2\rvert\ 10^5$	$\lvert B\rvert\ 10^5$	$K_f\ 10^{-6}$	$\log K_f$
1,66	8	- --	- --	- --	- --	- --
3,2	6,4	3,15	0,05	3,25	1,94	6,29
4,0	5,6	3,81	0,19	1,79	1,12	6,05
4,8	4,8	4,39	0,41	0,41	2,60	6,41
5,6	4,0	3,81	1,79	0,19	1,12	6,05
6,4	3,2	3,07	3,33	0,13	0,71	5,85
8,0	1,6	- --	- --	- --	- --	- --

$$\overline{K}_f = 1{,}50.10^6$$

$$\log\overline{K}_f = 6{,}18$$

TABLA CCXXIII

Determinación de la constante de estabilidad del complejo ajmalina-azul de bromotimol a partir de los datos de la tabla XC.

$C^{\circ}_{XH_2}\ 10^5$	$C^{\circ}_{B}10^5$	$\|XHBH\|\ 10^5$	$\|XH_2\|\ 10^5$	$\|B\|\ 10^5$	$K_f\ 10^{-6}$	$\log K_f$
8,33	1,66	1,66	- --	- --	- --	- --
6,66	3,33	3,18	3,48	0,15	0,61	5,78
5,83	4,17	4,04	1,79	0,13	1,74	6,24
5,00	5,00	4,65	0,35	0,35	3,80	6,58
4,17	5,83	4,04	0,13	1,79	1,74	6,24
3,33	6,66	3,23	0,10	3,43	0,94	5,97
1,66	8,33	1,65	- --	- --	- --	- --

$$\bar{K} = 1,77\ 10^6$$

$$\log \bar{K} = 6,25$$

TABLA CCXXIV

Determinación de la constante de estabilidad del complejo estricnica-azul de bromotimol, a partir de los datos de la tabla XCI.

$C^{\circ}_{XH_2}\,10^5$	$C^{\circ}_{B}\,10^5$	$\|XHBH\|\,10^5$	$\|XH_2\|\,10^5$	$\|B\|\,10^5$	$K_f\,10^{-6}$	$\log K_f$
8,33	1,66	1,66	- --	- --	- --	- --
6,66	3,33	3,28	3,38	0,05	1,94	6,29
5,83	4,17	4,06	1,77	0,11	2,08	6,32
5,00	5,00	5,00	- --	- --	- --	- --
4,17	5,83	4,06	0,11	1,77	1,94	6,29
3,33	6,66	3,28	0,05	3,38	2,08	6,32
1,66	8,33	1,66	- --	- --	- --	- --

$$\bar{K} = 1,99\ 10^6$$

$$\log \bar{K}_f = 6,30$$

TABLA CCXXV

Determinación de la constante de estabilidad del complejo flurazepan-azul de bromotimol, a partir de los datos de la tabla XCII.

$C^{\circ}_{XH_2}\ 10^5$	$C^{\circ}_{B} 10^5$	$\|XHBH\|\ 10^5$	$\|XH_2\|\ 10^5$	$\|B\|\ 10^5$	$K_f\ 10^{-6}$	Log K_f
9,16	1,83	1,83	- --	- --	- --	- --
7,33	3,67	3,51	3,82	0,16	0,57	5,76
6,42	4,58	4,38	2,04	0,20	1,07	6,03
5,50	5,50	4,99	0,51	0,51	1,91	6,28
4,58	6,42	4,38	0,20	2,04	1.07	6.03
3,67	7,33	3,56	0,11	3,77	0,86	5,93
1,83	9,17	1,78	- --	- --	- --	- --

$$\bar{K}_f = 10^6$$

$$\log \bar{K}_f = 6,00$$

TABLA CCXXVI

Determinación de la constante de estabilidad del complejo quinina-azul de bromotimol, a partir de los - datos de la tabla XCIII.

$C^{\circ}_{XH_2} 10^5$	$C^{\circ}_{B} 10^5$	$\|(XH)_2BH_2\| 10^5$	$\|XH_2\| 10^5$	$\|B\| 10^5$	$K_f 10^{-10}$	$\log K_f$
8,33	1,66	---	---	---	---	---
7,50	2,50	2,29	2,92	0,21	1,28	10,11
6,66	3,33	2,62	1,42	0,71	1,83	10,26
5,00	5,00	2,43	0,41	2,57	48,00	11,68
3,33	6,66	1,61	0,11	5,05	26,35	11,42
1,66	8,33	0,30	---	---	---	---

$$\overline{K}_f = 19,36.10^{10}$$

$$\log \overline{K}_f = 11,28$$

De la observación de las anteriores tablas se deduce una ligera variación de la constante de estabilidad K_f a distintas razones molares, lo que se puede atribuir a errores del esquema de cálculo . En efecto, en aquellas mezclas donde los reactivos no se encuentran en la relación estequiométrica, si bien no se agota el reactivo en defecto, la concentración de éste es muy pequeña y casi todo se encuentra en la forma de complejo ; por esta razón en las experiencias correspondientes a dichas mezclas los errores de cálculo son mayores lo que permite explicar las desviaciones aparecidas en los valores de K_f investigados .

De lo que precede se puede deducir que la constantes de estabilidad calculada para la mezcla de reactivos, cuya razón molar es 1:1 ó 2:1 (colorante:amina) para complejos 1:1 y 2:1, respectivamente, es el valor más probable por estar sometido a menores errores operatorios . Sin embargo se han utilizado todos los valores de los resultados de las experiencias para el cálculo de K_f , debido a la no disponibilidad de reactivos en cantidad suficiente para repetir las experiencias en la relación 1:1.

Ha de hacerse notar que los valores obtenidos para las constantes de estabilidad de los complejos pueden ser considerados valores de constantes de estabilidad absolutos. Es así ya que las experiencias se han llevado a término a concentraciones muy pequeñas del orden de 10^{-5} M, y en medio cloroformico por lo cual el coeficiente de actividad de cada especie resulta igual a la unidad. También debe decirse que dados los altos valores de K_f y las limitaciones de la técnica experimental los valores de la constante de estabilidad deben considerarse aproximados.

Las constantes de estabilidad de los complejos estudidados se exponen en la tabla CCXXV'I . Como se ha mencionado precedentemente,el valor de dicha constante para cada amina es media de cinco valores.

TABLA CCXXVII

Valores de las constantes de estabilidad de los complejos amina-azul de bromotimol en cloroformo.

Amina	Constante de Formación
Atropina	60.10^5
Belladonina	52.10^{10} (2:1)
Hiosciamina	12.10^6
Homatropina	24.10^5
Tropina	83.10^5
Bamethan	89.10^4
Etilfenilefrina	15.10^5
Ajmalina	18.10^5
Estricnina	20.10^5
Flurazepan	10.10^5
Quinina	19.10^{10} (2:1)

Los complejos ensayados, como se aprecia en esta tabla, presentan valores de constante de estabilidad comprendidos entre 10^6 y 10^{12}. Estos valores son relativamente altos y de ello se deduce que el compuesto formado entre la amina y el colorante es un complejo y no una sal de amina-colorante (21)

5.4.6. Efecto de la temperatura en la estabilidad de los complejos.

Para estudiar el efecto de la tempere ura en la estabilidad de los complejos se han realizado experiencias a distintas temperaturas. En la tabla XCVII expuesta en el apartado 4.4.5. se muestran los valores de absorbancia a 410nm de disoluciones de amina y azul de bromotimol de diferentes relaciones molares, a tres

valores de temperatura (10, 20, y 30ºC).

Como se aprecia en la tabla antes mencionada en el rango de temperaturas observado no hubo cambio en la absorbancia a 410 nm. Esto indica que la concentración de complejo formado para cada relación molar, a las temperaturas ensayadas, fué la misma y, en consecuencia, las constantes de estabilidad ó formación aparentan ser independientes de la temperatura entre 10 y 30ºC. Así se sugiere un cambio de la constante de formación del complejo con la temperatura muy pequeño y por lo tanto un calor de formación para el par iónico ΔH demasiado pequeño como para apreciar cambios en la constante de formación del complejo cuando la temperatura se modifica en 20ºC, de acuerdo con la ecuación de Van't Hoff (112).

Hay que añadir a lo dicho que dado el pequeño valor de ΔH de la reacción de formación del par iónico amina-colorante, para obtener cambios de la constante de formación K_f con la temperatura es necesario investigar la influencia de la misma en un rango de temperaturas mucho mayor que el estudiado en este apartado.

5.4.7. Interferencias en la reacción amina-azul de bromotimol

Aparentemente las únicas interferencias observadas en la reacción fueron a causa de las impurezas del disolvente. El cloroformo, medio en que se efectuó la reacción entre las aminas y el colorante, se utilizó en diferentes grados de pureza y condiciones en una serie de experiencias descritas en el apartado 4.4.6. cuyos resultados se muestran en la tabla XCVIII.

En dicha tabla se dan valores de absorbancia a 410nm de disoluciones mezcla de hiosciamina y colorante a diferentes razones molares en cloroformo de diferentes grados de pureza. La primera columna da los valores de absorbancia, $A^{1ª}_{410}$, cuando el cloroformo utilizado contenía alcohol absoluto en proporción superior al 1%; estos valores de absorbancia son anormalmente altos, especialmente cuando la razón molar es favorable al colorante, lo cual indica que algún componente del disolvente reacciona con el colorante absorbiendo a la misma frecuencia que el complejo amina-colorante.

Experimentalmente hemos comprobado que las disoluciones clorofórmicas de azul de bromotimol, cuando el cloroformo contiene alcohol, aunque sea en baja proporción, presentan color amarillo y por tanto absorción a 410nm. En cambio, cuando a dicho cloroformo se le elimina el alcohol (por destilación ó agitación con agua) la disolución clorofórmica es completamente incolora.

En consecuencia, todo parece indicar que la interferencia es debida al alcohol, el cual en las experiencias en exceso de colorante, debido al cambio de polaridad que confiere al medio, produce un fenómeno semejante a la disociación del primer protón ($pK_{XH_2} = -0,608$) que colorea la disolución produciendo la interferencia antes aludida.

La segunda columna ofrece los valores de absorbancia, $A^{2ª}_{410}$, con cloroformo recién destilado. Dichos valores de absorbancia son coherentes con los principios de equilibrio supuestos y por tanto se puede considerar la validez de los mismos, puesto que en estas ocasiones no existe ningún tipo de interferencia.

En la tercera columna de la tabla se dan los valores, $A^{3ª}_{410}$, que se obtuvieron en cloroformo destilado almacenado durante cierto tiempo. Los valores de $A^{3ª}_{410}$ son anormalmente bajos, lo que indica que en este medio ha disminuído la intensidad de la interacción. La explicación propuesta aquí para este hecho reside en la oxidación del cloroformo (143) que da lugar a fosgeno y ácido clorhídrico, productos que pueden interferir la reacción amina-colorante.

Tal como se indicó en el apartado 5.4.4. la reacción amina-colorante en fase orgánica no se da cuando la amina presente en el medio orgánico está en forma de sal. Este hecho puede significar que el ácido clorhídrico proveniente de la descomposición del cloroformo da lugar a la sal de amina, impidiendo la reacción con el colorante, quizás por ser un ácido más fuerte que éste.

Una prueba del esquema propuesto reside en que si el cloroformo descompuesto se agita con agua los valores de absorbancia obtenidos son los esperados, como se muestra en la columna

de A^{4a}_{410} , en la cual el cloroformo oxidado fué agitado varias veces con agua antes de ser utilizado.

De todo lo dicho anteriormente se deduce que el cloroformo utilizado en este tipo de experiencias debe estar exento de impurezas ácidas y además no debe contener alcohol.

Puesto que el cloroformo comercial contiene alcohol por lo menos al 1%, éste debe ser eliminado, y el cloroformo puro utilizado inmediatamente; porque si su uso se retrasa aparecen las impurezas ácidas que bloquean la reacción .

5.5. Pares iónicos al estado sólido.

5.5.1. Espectroscopía visible y ultravioleta.

Los compuestos sólidos se han obtenido de acuerdo con el procedimiento descrito en el apartado 3.5.2.2. por precipitación en disolución acuosa a pH aproximadamente 4. Los productos sólidos correspondientes a la reacción entre las 26 sustancias ensayadas en la presente Memoria y el azul de bromotimol tienen la característica común de ser insolubles en agua y solubles en disolventes orgánicos, tales como cloroformo, benceno, tetracloruro de carbono, acetato de etilo, cloruro de metileno, etc.

Puesto que el disolvente comúnmente usado en la presente investigación es cloroformo, se han estudiado las características espectrales de estos compuestos sólidos disueltos en este disolvente.

Los espectros de absorción UV-V de los compuestos sólidos en cloroformo aparecen en el apartado 4.5.1. (fig. 19-36). Todos ellos tienen la común característica de presentar una banda de absorción intensa cuyo máximo está situado a 410 nm. Dicha banda es similar a la banda correspondiente a la especie XH^- del azul de bromotimol en medio acuoso (vease figura 1 m), tanto en el valor de la longitud de onda correspondiente al máximo (430 nm), como en la intensidad de la misma.

La similitud entre la banda de compuesto sólido a 410 nm disuelto en cloroformo, y la correspondiente al anión monovalente del colorante en medio acuoso a 430 nm, indica que el producto sólido contiene la especie XH^- estabilizada como par iónico con las sustancias investigadas (aminas e iones de amonio cuaternario). La única diferencia entre la banda del colorante en su especie XH^-, en medio acuoso, y la correspondiente a la misma especie en medio orgánico, consiste en un desplazamiento del máximo de absorción hacia longitud de onda menores, desde 430 nm en medio acuoso a 410 nm en medio orgánico. Este desplazamiento hipsocrómico puede atribuirse al cambio de polaridad del disolvente orgánico, así como el hecho de que el anión está estabilizado como par iónico.

De acuerdo con el estudio realizado con el anión monovalente del azul de bromotimol, XH^-, en medio acuoso, apdo. 5.3.1., el producto sólido en disolución clorofórmica debe su color amarillo al sistema quinoídico de la especie XH^-. Este sistema permite una transición $n \rightarrow \pi^*$ a la que se debe la banda a 410 nm (113) (127).

Además de la banda en la zona del visible antes discutida, todos los compuestos sólidos presentan también una banda característica en el UV (fig. 19-36), cuyo máximo de absorción esta situado en la región 270-280nm. Esta banda también aparece en el correspondiente espectro de la especie XH^- en medio acuoso, lo cual es otra prueba de la presencia de XH^- en el producto sólido, si bien aquí no existe un desplazamiento tan claro del máximo de absorción de la banda, la cual, a diferencia de la de 410nm, es de mayor intensidad que la correspondiente al anión monovalente XH^-, en medio acuoso. Esto puede significar que la interación entre amina y colorante tiene lugar a través del grupo fenolato de este último, puesto que la banda a 270-280 se debe a los grupos OH fenólicos del colorante.

Cuando el sólido contiene una amina que posee algún OH fenólico, debido a la absorción en este rango de longitudes de onda, la banda a 270-280 del correspondiente producto sólido aparece aumentada por al absorción de la amina.

Algunos de los compuestos sólidos investigados presentan otras bandas en la zona del UV, las cuales pueden atribuirse cuando son intensas, fundamentalmente, a la absorción de la amina presente en el producto sólido como par iónico, aunque debe advertirse que el colorante presenta tambien absorbancia residual en otras zonas del UV, como se ha demostrado en el apartado 5.4.1. y como se aprecia en los espectros de las fig. 19-36 . Así, el producto sólido formado por el flurazapan y el azul de bromotimol (fig. 35) presenta una banda cuyo máximo está situado a 250 nm , debido a la presencia del flurazepan, apareciendo solapada con esta la banda de 270-280nm. Estas mismas circunstancias aparecen en los sólidos lobelina y quinina-azul de bromotimol donde el solapamiento es menor. En el espectro del sólido atropamina-azul de bromotimol (fig. 19).

en cloroformo se observa una amplia banda de absorción entre 250-275nm., la cual puede atribuirse al solapamiento entre las bandas 250; 270-280nm., que corresponden a la amina y colorante respectivamente.

5.5.2. Coeficientes de extinción molar de los productos sólidos.

Dado que todos los sólidos obtenidos presentan un máximo de absorción a 410nm, como antes se ha discutido, debido a la presencia de XH^- en el sólido estabilizado como par iónico, se han determinado los coeficientes de extinción molar de una serie de sólidos correspondiente a la precipitación de las aminas ensayadas más típicas: atropamina, belladonina, tropina, homatropina, metilhomatropina, etilfenilefrina, flurazepan, lobelina y quinina.

Las concentraciones de las disoluciones clorofórmicas de los sólidos se obtuvieron considerando el peso molecular del producto sólido como la suma de los pesos moleculares de la sustancia investigada y el azul de bromotimol de acuerdo con el mecanismo propuesto para este tipo de reacción (10) (29) (76) (85) (22) (23). Puesto que, de acuerdo con los datos de espectroscopía anteriormente discutidos, el producto sólido contiene el colorante en la especie XH^- y la amina en la forma BH^+ (o B^+ para iónes de amonio cuaternario) estabilizados como par iónico, el esquema de la reacción puede ser el siguiente:

$$XH^- + BH^+ \text{ (ó } B^+\text{)} \rightleftharpoons XHBH\downarrow \text{ (ó } XHB\text{)} \qquad -104-$$

Esquema que explica que el peso molecular del sólido sea la suma de los pesos moleculares.

En las figuras 148-151se han representado concentraciones de los productos sólidos en disolución clorofórmica en abcisas, y en ordenadas valores de absorbancia a 410nm de dicha disolución. Al pié de las mismas se dan los valores de la ordenada en el origen $\underline{b}$, la pendiente $\underline{m}$, y el coeficiente de determinación $\underline{r^2}$ de las rectas ajustadas.

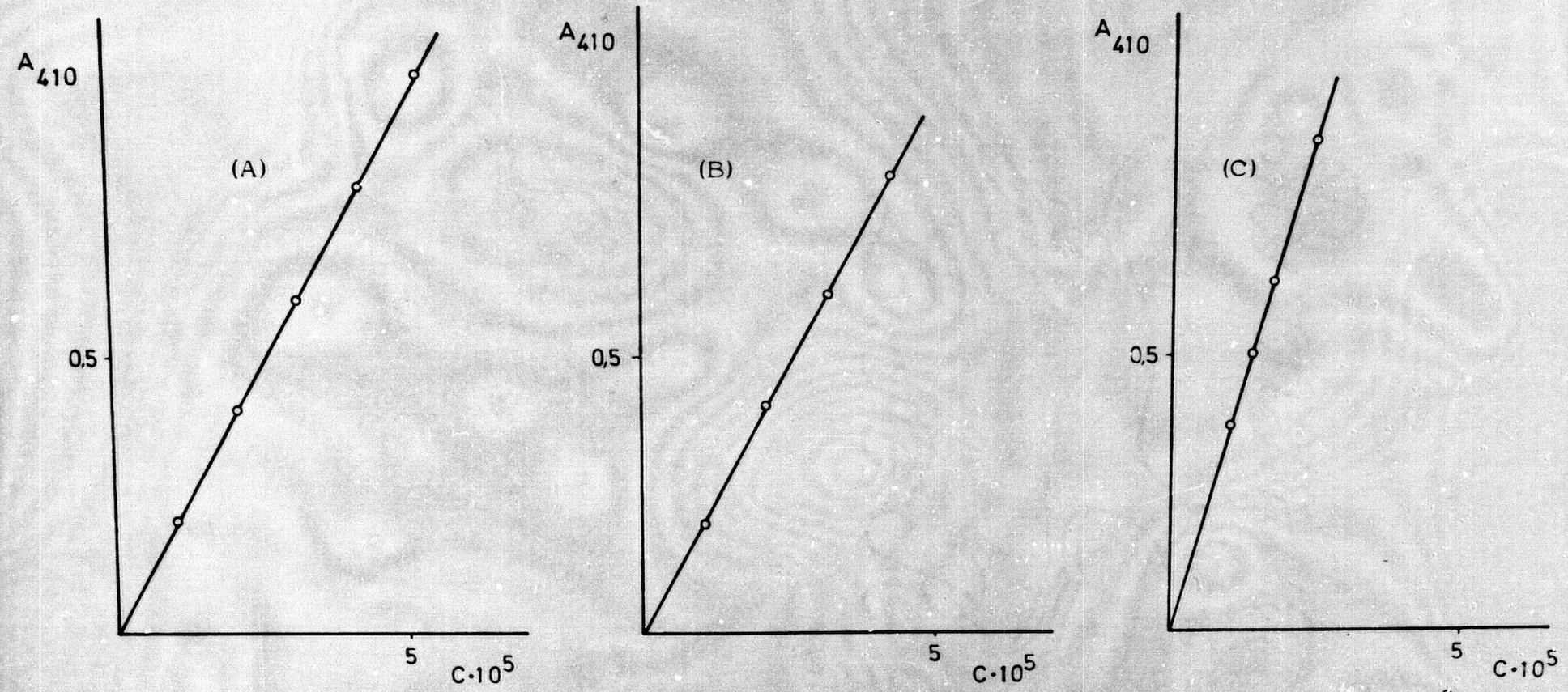
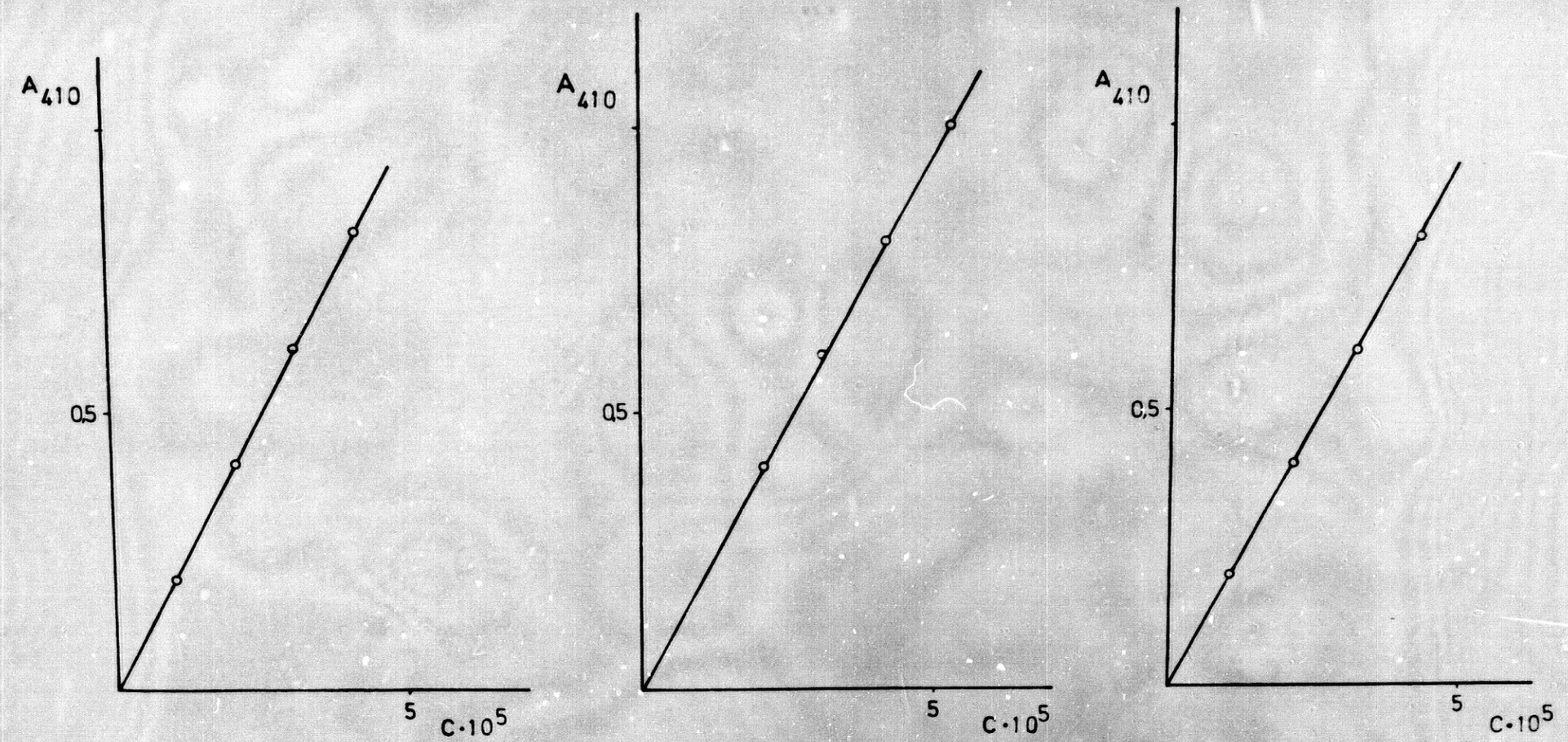


Figura 148. Determinación de los coeficientes de extinción molar de los productos sólidos lobelina-azul de bromotimol (A); atropamina-azul de bromotimol (B); y belladonina-azul de bromotimol (C).

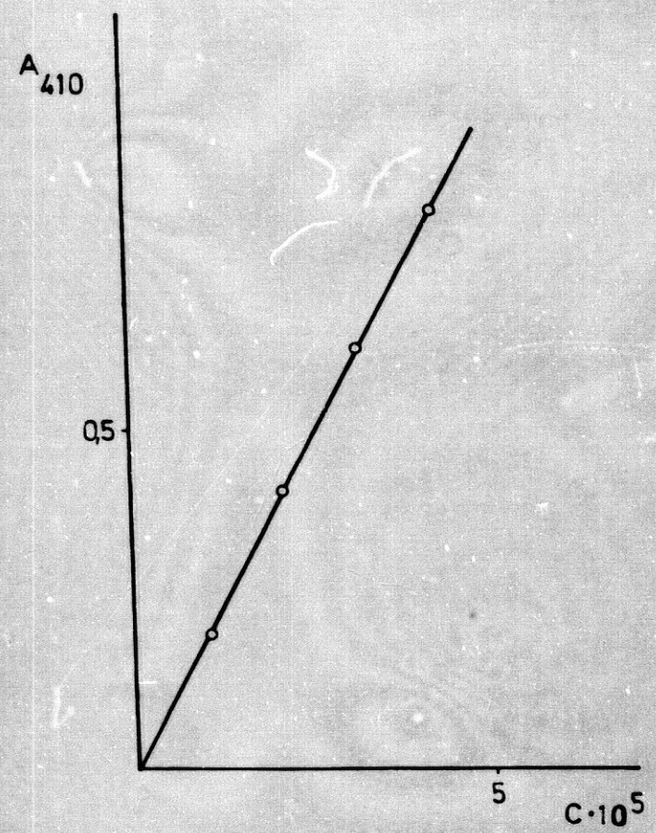


b = 0,000; m = 19402; r^2 = 0,999

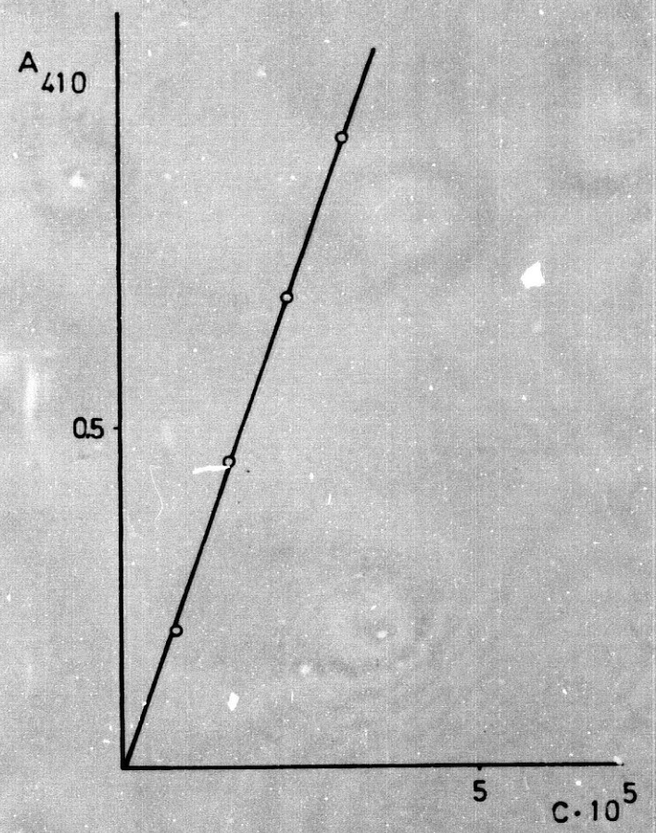
b = 0,000; m = 19048; r^2 = 1

b = 0,001; m = 18975; r^2 = 1

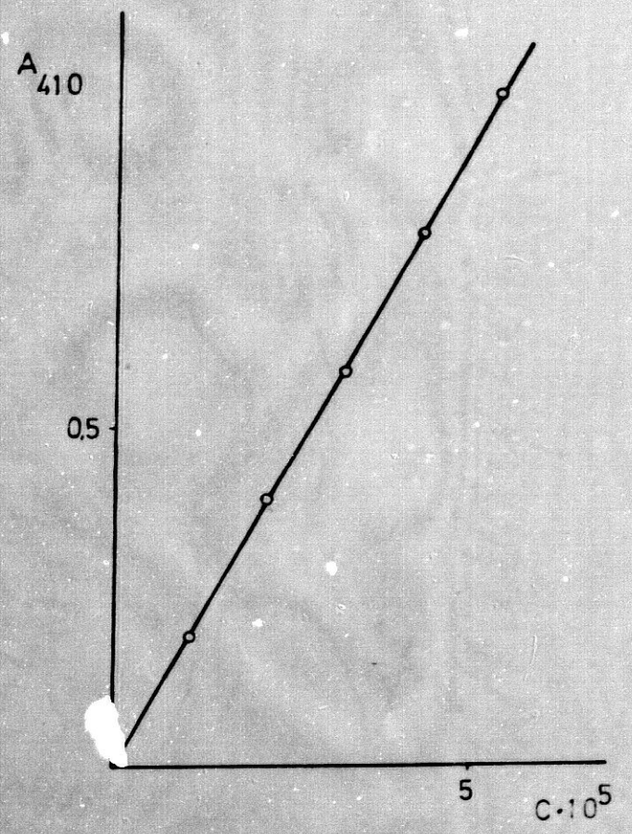
Figura 149. Determinación de los coeficientes de extinción molar de los productos sólidos homatropina-azul de bromotimol (A); metilhomatropina-azul de bromotimol (B); y tropina-azul de bromotimol (C).



b = 0,001; m = 19497; r^2 = 1



b = 0,02 ; m = 30865; r^2 = 1



b = 0,000; m = 18619; r^2 = 0,999

Figura 150. Determinación de los coeficientes de extinción molar de los productos sólidos etilfenilefrina-azul de bromotimol (A); quinina-azul de bromotimol (B); y flurazepan-azul de bromotimol (C).

En las anteriores figuras se aprecia linealidad entre la absorbancia y concentraciones empleadas, lo cual demuestra la aplicabilidad de la ecuación de Lamber-Beer a la longitud de onda ensayada, para este rango de concentraciones de compuestos sólidos entre $1-5,5.10^{-5}$ M, así como la no asociación de los productos sólidos disueltos en el disolvente orgánico.

A partir de los valores de la pendiente, m, de las rectas ajustadas de las fig. 148-150, se obtiene el valor del coeficiente de extinción molar a 410nm de las disoluciones clorofórmicas de los sólidos obtenidos. En la tabla CCXXVIII aparecen recogidos los coeficientes de extinción molar a 410nm de dichos sólidos, en donde se aprecia que el valor de éste es prácticamente el mismo para todos los compuestos obtenidos a excepción de dos de éstos, correspondientes a los sólidos de la belladonina y quinina

TABLA CCXXVIII

Valores de los coeficientes de extinción molar a 410 nm de los productos sólidos amina ó base de amonio cuaternario-azul de bromotimol en disolución clorofórmica.

	p.m. supuesto	ε_{410}
Atropamina	895,75	19669
Belladonina	1791,68	37479
Homatropina	899,75	19402
Metilhomatropina	913,77	19048
Tropina	756,61	18975
Etilfenilefrina	805,60	19497
Flurazepan	1012,23	18619
Lobelina	961,80	18999
Quinina	1573,30	30865

$$\varepsilon_{410} = 19173 \text{ litro.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$$

La constancia en el coeficiente de extinción de los sólidos indica que la banda a 410nm depende únicamente del anión monovalente del azul de bromotimol, XH^-, presente en el producto sólido, y no de la amina ó base de amonio cuaternario contenida en el mismo. Las desviaciones del coeficiente de extinción molar de los sólidos investigados son lo suficientemente bajas como para atribuirlas a errores experimentales en la preparación de las disoluciones clorofórmicas, puesto que la cantidad pesada fué normalmente muy pequeña al objeto de economizar disolvente de alto grado de pureza.

A partir de los valores del coeficiente de extinción molar de los distintos sólidos obtenidos se calculó un valor medio de $\varepsilon_{XH^-} = 19.173$, que se expresa al final de la tabla CCXXVIII Este valor está en concordancia con el correspondiente al anión monovalente del azul de bromotimol en medio acuoso calculado en la fig. 113 (18.129 litro.mol^{-1}. cm^{-1}), lo que indica la presencia del anión del colorante, XH^-, en el producto sólido y que la reacción sigue el esquema anteriormente dado por la ecuación -104- , lo cual supone que los reactivos que forman el sólido estan en la razón molar 1:1 (colorante:amina).

Mediante la aplicación de las anteriores criterios los sólidos correspondientes a quinina y belladonina presentan coeficientes de extinción molar bastante más altos que 19.173, lo cual significa discordancia, En el sólido belladonina-azul de bromotimol (fig. 148 C) el coeficiente de extinción molar a 410nm es 37.309 litro. mol^{-1} cm^{-1} , prácticamente el doble que el obtenido anteriormente. Puesto que la absorción a 410 nm es debida a la presencia de XH^- en el sólido , la duplicidad en el coeficiente de extinción molar es debida a la presencia de dos moléculas de XH^- por cada una de amina en el producto sólido, lo que indica que, en este caso, la estequiometría del sólido es 2:1 (colorante:amina).

Los valores de pK_a de la belladonina no son conocidos en la bibliografía buscada exhaustivamente (33) (34) (35) (36).

Sin embargo a juzgar por su estructura química y por los resultados del apartado 5.2.1.4. son relativamente próximos

(ε)litro.mol^{-1}.cm^{-1}

entre sí y presumiblemente altos, lo cual indica que al pH en que se produce la precipitación (pH≃4), la belladonina está presente en el medio acuoso como catión divalente BH_2^{++}, lo cual explica que el sólido contenga dos moléculas de XH^-. En este caso la reacción puede suponerse que transcurre de la siguiente forma:

$$2XH^- + BH_2^{++} \rightleftharpoons (XH)_2BH_2 \downarrow \qquad -105-$$

siendo $(XH)_2BH_2$ el producto sólido que contiene dos moléculas de XH^- por una de amina. Esto justifica la duplicidad del coeficiente de extinción molar, puesto que se ha calculado considerando el peso molecular del sólido como la suma del doble del colorante más el de la belladonina.

El sólido correspondiente a la quinina muestra un coeficiente de extinción molar de 30.104 litro. $mol^{-1}.cm^{-1}$ cuando de forma similar al caso anterior se considera el peso molecular del sólido como la suma del doble del peso molecular del colorante más el de quinina. En este caso el valor del coeficiente de extinción molar no llega a ser el doble que para los complejos 1:1, lo que parece indicar que no se trata exactamente de un sólido de estequiometría 2:1, ni tampoco 1:1. Esta dificultad puede resolverse mediante la consideración de las constantes de disociación de la quinina ($pK_{BH_2^{++}} = 4,4$ y $pK_{BH^+} = 8,8$) que indican que, al pH de la precipitación (pH ≃ 4) la quinina aparece como cationes BH_2^{++} y BH^+ susceptibles ambos de reaccionar con el anión monovalente del colorante, precipitando simultáneamente complejos 1:1 y 2:1. Así se deduce que el producto sólido obtenido de la precipitación, está compuesto por sólidos 1:1 y 2:1, lo que justifica el coeficiente de extinción obtenido.

El valor del coeficiente de extinción molar de la quinina, es próximo al doble del de los complejos 1:1, lo que demuestra que el sólido precipitado contiene el producto 2:1 mayoritariamente. Esto último, parece confirmar la explicación anteriormente dada, puesto que, a pH = 4 en que se produce la precipitación, la quinina se encuentra en su mayor parte como especie BH_2^{++}.

5.3.3. Espectros IR de los productos sólidos.

Como se ha indicado en los apartados 5.4.1 y 5.4.3 la reacción entre el azul de bromotimol y las aminas tiene lugar a través del nitrógeno del grupo amino de estas últimas y de uno de los OH fenólicos del colorante. Estos resultados corroboran algunos de los datos mostrados por la bibliografía en el estudio de complejos similares en disolución.

Para complementar estos estudios y dado que se han obtenido los complejos amina-colorante al estado sólido, se han registrado los espectros IR de los mismos, así como los de las aminas y el azul de bromotimol, al objeto de comparar las bandas de absorción de estos y la de sus complejos de asociación iónica.

Los espectros IR de las aminas y complejos de estas con el azul de bromotimol aparecen conjuntamente en las figuras 37-53 (en comprimidos de bromuro potásico) dibujados con diferente trazo. No se registró el espectro de las aminas clorhidrato de fenilefrina, clorhidrato de etilfenilefrina, y monoclorhidrato de flurazepan porque aparecen en la bibliografía (35) (103) (105). Por este motivo las figuras 49, 50, y 51 recogen los espectros de los complejos de estas aminas con azul de bromotimol, y el del azul de bromotimol conjuntamente. El espectro de absorción de colorante aparece recogido por separado en la fig. 53.

5.5.3.1. Espectros IR de las aminas y del azul de bromotimol.

Dada la amplitud del estudio realizado y del número de aminas que han reaccionado con el azul de bromotimol, al objeto de esquematizar, se han dividido estas en secundarias terciarias y cuaternarias.

En el estudio espectral infrarrojo se han deducido las frecuencias de las bandas de absorción de estos tipos de aminas, utilizadas en este estudio como reactivos para formar complejos con el azul de bromotimol.

Las frecuencias de absorción características de las aminas terciarias se recogen en la tabla CCXXIX.

TABLA CCXXIX

Frecuencias de absorción características de aminas terciarias en comprimidos de bromuro potásico.

Aminas	nº de ondas cm^{-1}
Clorhidrato de atropamina	2800; 2440-2600; 2380
Clorhidrato de atropina	2805; 2540-2580
Disulfato ácido de belladonina	2780; 2600; 2520
Bromhidrato de escopolamina	2830-2760; 2640
Bromhidrato de hiosciamina	2805; 2700; 2560
Bromhidrato de homatropina	2790; 2700; 2560
Tropina base	2805
Bromhidrato de tigloidina	2805; 2700; 2560
Quinina base	2820
Clorhidrato de lobelina	2800; 2600; 2500
Clorhidrato de flurazepan (35)	2500

A partir de la tabla CCXXIX se deduce que todas las sales de aminas terciarias estudiadas presentan un ancho pico localizado en el rango 2770-2380 cm^{-1}. Este pico puede asignarse a la vibración de alargamiento del grupo NH^+ de la sal. La localización exacta del pico está influencida por la hidratación de la molécula. Este agua de hidratación afecta a la unión entre NH^+ y el anión negativo (anión cloro, anión bromo, etc) (144).

El rango de esta banda, 2770-2380, a pesar de ser grande, es característico debido a la forma e intensidad de la banda, pudiendo usarse incluso en la asignación del grupo NH^+ en un material desconocido(144).

Además de esta banda ya discutida presente en todas las sales de aminas, aparece para casi todas las aminas otra banda en el rango 2780-2805. Esta ultima de acuerdo con la bibliografía (145) puede asignarse a la vibración de alargamiento C-H del grupo CH_3 unido al nitrógeno ($N-CH_3$) de la amina terciaria.

L.J. Bellamy (145) señala que las correlaciones expuestas por la bibliografía para las frecuencias de alargamiento C-H pueden aplicarse directamente solo a compuestos hidrocarbonados en que los grupos implicados están enlazados a

otros átomos de carbono exclusivamente. Con sustituyentes polares las frecuencias observadas en estos casos se trasladan fuera de los rangos usualmente dados por la bibliografía para este grupo. Así en compuestos CH_3X, siendo X un sustituyente electronegativo, la frecuencia se eleva pasando a valores más altos para los haluros de metilo y compuestos tales como acetonitrilo.

Excepciones en el comportamiento general de los grupos polares ocurren con los átomos de oxígeno, nitrógeno y sulfuro cuando tienen un par de electrones libres no deslocalizados. Las interacciones que ocurren entre el par de electrones y la unión C - H en posición trans respecto a estos grupos da lugar a un desplazamiento de la banda a frecuencias más bajas que la que presentan los grupos CH_3 unidos a átomos de carbono .

Estas frecuencias por debajo de los valores normales dados para los grupos CH_3 unidos a átomos de carbono son de utilidad en la identificación de los grupos $O-CH_3$ y $N-CH_3$ y por lo tanto para la identificación de aminas terciarias. El rango de frecuencias dado por Bellamy para la vibración de alargamiento característica del C-H del grupo $N-CH_3$ es de 2805 a 2780 cm^{-1} en concordancia con los valores de nº de ondas obtenidos con las aminas terciarias estudiadas en la tabla CCXXIX, a excepción de la quinina y flurazepan, que no absorben en este rango por no poseer el grupo $N-CH_3$.

En la tabla CCXXX se recogen los números de onda característicos de las aminas secundarias.

TABLA CCXXX

Frecuencias características de aminas secundarias en comprimidos de bromuro potásico.

Aminas	nº de ondas cm^{-1}
Clorhidrato de fenilefrina (35)	2770; 2440
Clorhidrato de etilfenilefrina (103)	2770; 2440
Clorhidrato de nortropina	2780; 2700; 2480; 2440
Clorhidrato de efedrina	2770-2740; 2460; 2410

Todas las sales de las aminas secundarias estudiadas presentan dos bandas de absorción IR características; la primera aparece entre 2770 $\pm$ 10 cm^{-1}; la segunda, entre 2480 y 2440 cm^{-1}. Puesto que este hecho ha sido común a todas las aminas secundarias estudiadas deben correlacionarse a las vibraciones de alargamiento N-H para el grupo NH_2^+.

La bibliografía (35) (144) (145) señala para las sales de aminas secundarias tres bandas en los rangos 28[illegible]-270, 2560-2380, 2090-2040 cm^{-1}. Las dos primeras fueron asignadas al alargamiento N-H del grupo NH_2^+, y la última en la región de 2090-2041 cm^{-1} a combinación de bandas.

Todo esto indica que las frecuencias asignadas aquí para las sales de aminas secundarias confirman la asignación hecha por los distintos autores.

El bromuro de metilatropina, única base de amonio cuaternario estudiada en este apartado (fig. 46), presenta dos bandas de absorción, una a 2800 cm^{-1} y otra a 2730 cm^{-1}. Estas bandas se asignan a la vibración de alargamiento C-H correspondientes al grupo CH_3 unidos al nitrógeno ya discutidos. Los rangos de frecuencia señalados por Bellamy para este grupo de sustancias son 2825-2810 y 2775-2765 cm^{-1}, que están en concordancia con los rangos obtenidos.

En la fig. 53 aparece el espectro IR del azul de bromotimol en comprimidos de bromuro potásico. En la tabla CCXXXI se resumen sus bandas características, así como los grupos a los que se han asignado.

TABLA CCXXXI

Números de onda (cm^{-1}) característicos y asignación de los mismos del azul de bromotimol en comprimidos de bromuro potásico.

nº de onda(cm^{-1})	Asignación efectuada
3440	Alargamiento OH fenólico enlazado
2960	Alargamiento C-H del grupo CH_3
2870	Alargamiento C-H del mismo
1605	Alargamiento C=C aromático
1470	Deformación C-H del $C-CH_3$
1410	Alargamiento C-O del grupo fenólico
1340	Alargamiento C-H del grupo CH
1200,1150	Alargamiento C-O del eter interno

5.5.3.2. Espectros IR de los complejos amina-azul de bromotimol.

Los espectros de los complejos sólidos amina-azul de bromotimol se han recogido en las fig. 37-53 (trazo grueso) en comprimidos de bromuro potásico tal como se indicó en el apartado. 3.5.2.4.

Todos los espectros IR correspondientes a complejos sólidos amina-colorante presentan absorción característica entre los números de onda 2400 -2800 cm^{-1}.

La intensidad y localización exacta de las bandas pertenecientes a este rango de absorción, así como la forma de las mismas, depende de la amina contenida en el complejo considerado (par iónico amina-azul de bromotimol).

En la tabla CCXXXIIse recogen los números de onda de las bandas correspondientes a los complejos de las aminas estudiadas con azul de bromotimol en estado sólido.

TABLA CCXXXII

Frecuencias de las bandas características de los complejos amina-azul de bromotimol al estado sólido en comprimidos de bromuro potásico.

Amina	nº de onda (cm^{-1})
Atropamina-AB	2600; 2720; 3400
Atropina-AB	2600; 2720; 3400
Belladonina-AB	2600; 2725; 3480
Escopolamina-AB	2620; 2760; 3400
Hiosciamina-AB	2600; 2730; 3400
Homotropina-AB	2600; 2730; 3400
Nortropina-AB	2560-2640; 3400
Tropina-AB	2610; 2730; 3400
Tigloidina-AB	2560; 2730; 3400
Metilatropina-AB	-- -- 3400
Etilfenilefrina-AB	2500-2700; 3350
Fenilefrina-AB	2500; 2700; 3330
Quinina -AB	2640-3400
Lobelina-AB	2520;2700; 3400
Flurazepan-AB	2500;2650; 3420

Como se aprecia en la tabla CCXXXII todos los complejose de los derivados tropánicos-azul de bromotimol absorben en la región de 2500-2800 cm^{-1}.

Las bandas de absorción de poca intensidad que aparecen en el rango de frecuencia considerado son constantes en su forma y localización de los picos lo que caracteriza espectralmente a dichos complejos. En todos los casos aparecen dos bandas de absorción dentro del rango de frecuencia considerado. La primera, entre 2700-2800 cm^{-1} presentando

dos picos cuya intensidad relativa varia de unos compuestos a otros. La segunda, se presenta entre 2500 y 2640 cm^{-1} apareciendo también dos picos de intensidad relativa variable según el derivado tropánico complejado. Ambas bandas de absorción aparecen resumidas en la tabla CCXXXII en la que se dan las frecuencias del máximo de cada banda.

En todos los espectros correspondientes a los sólidos de estos derivados tropánicos se observa que desaparecen las bandas entre frecuencias 2400-2800 cm^{-1} que fueron asignadas en el apartado anterior al grupo sal de NH^+, lo que indica que la amina contenida en el complejo no está en esta forma.

El hecho de que la absorción característica del complejo, antes discutida, aparezca en este mismo rango de frecuencia puede significar que la formación del par iónico ha tenido lugar a través del grupo nitrogenado de la amina. Además en todos estos complejos de derivados tropánicos desaparece la banda de absorción localizada a 2805 cm^{-1} correspondiente a la vibración de alargamiento C-H del grupo $N-CH_3$ lo que parece confirmar que la amina reacciona a través de su nitrógeno. Esta confirmación no se da en el caso del complejo nortropina-azul de bromotimol (Fig. 45) porque esta sustancia es una amina secundaria y por tanto no tiene grupo $N-CH_3$.

En el caso del complejo sólido metilatropina-azul de bromotimol desaparecen los picos a 2820 y 2740 asignados a la vibración de alargamiento C-H del grupo $N-(CH_3)_2$, lo que parece indicar que este caso en la formación del complejo esté implicado también el átomo de nitrógeno.

Los espectros IR de los complejos sólidos correspondientes a las aminas simpatomiméticas etilfenilefrina, fenilefrina, y efedrina aparecen en las fig. 50, 51, y 52 (trazo grueso) presentan absorción al igual que los derivados tropánicos en la región comprendida entre 2500 y 2800 cm^{-1}; sin embargo, a diferencia de estos, no hay picos bien definidos. También desaparecen en estos casos la absorción correspondiente a la sal de NH_2^+ a 2440 cm^{-1} lo que indica que la amina no está en esta forma. El hecho de que la absorción del complejo ocurra en esta misma zona puede significar que la reacción

tenga lugar a través del nitrógeno . Las frecuencias correspondientes a estas bandas de absorción características de los complejos de aminas simpaticomiméticas se han recogido también en la tabla CCXXXII junto con las de los demas complejos.

El espectro del sólido correspondiente al complejo flurazepan-azul de bromotimol absorbe en el rango de frecuencias 2400-2800 cm^{-1} presentando dos bandas de intensidad muy baja con máximos a 2500 y 2650 muy poco definidos. Puesto que la absorción del complejo en esta zona es diferente a la del grupo nitrógenado de esta amina significa,como en todos los demás casos,que el grupo implicado en el complejo es el nitrogenado del flurazepan. El espectro de absorción de este complejo se recogió en la figura 49 y la banda de absorción característica tambien aparece en la tabla CCXXXII.

El espectro IR del complejo lobelina-azul de bromotimol (Fig. 47 trazo grueso) no presenta absorción en la región 2400-2810 cm^{-1} en la que aparecen las bandas asignadas a la vibración de alargamiento sal de NH^+ (pico a 2500 cm^{-1}) y C-H del grupo $N-CH_3$(pico a 2800 cm^{-1}) que aparecen en el espectro del clorhidrato de lobelina (Figura 47 trazo fino). La desaparición del pico localizado a 2800 cm^{-1}, relacionado con el grupo amino de la lobelina en el espectro del complejo, indica que la reacción sucede tambien a través del grupo nitrogenado de esta.

El complejo quinina-azul de bromotimol absorbe ligeramente en el rango de frecuencia comprendida entre 2400-2770 cm^{-1} como se aprecia en la figura 48 (trazo grueso). En esta figura se puede apreciar la desaparición de la banda de absorción de intensidad pequeña asignada al grupo $N-CH_3$ (pico a 2820 cm^{-1}), indicando de nuevo la implicación del grupo nitrogenado en la formación del par iónico.

Como consecuencia de todo lo dicho anteriormente en todos los complejos amina-azul de bromotimol ha habido modificación de la absorción con respecto a la característica de los grupos NH^+, NH_2^+, $N-CH_3$ y $N-(CH_3)_2$ (si es un ión de amonio cuaternario) de las aminas complejadas. Estos hechos pueden significar que en todos los casos la reacción ha tenido lugar a través del nitrógeno de la amina.

Otra banda de forma característica de los complejos amina-colorante es la localizada aproximadamente a 3400 cm^{-1} que está presente en todos los complejos estudiados y cuya frecuencia exacta para cada caso aparece en la tabla CCXXXII.

Esta banda se presenta también en el espectro IR del azul de bromotimol (3440 cm^{-1}) con intensidad mucho mayor y más aguda como se indicó en el apartado 5.3.3.1, en la que fue asignada a los OH fenólicos del colorante enlazados por puente de hidrógeno entre moléculas del mismo (tabla CCXXXI)

El cambio experimentado en el complejo en esta banda puede indicar que la amina interacciona a través de uno de los OH fenólicos del colorante. Esta explicación se refuerza por el hecho de la desaparición en el complejo de la banda a 1200 cm^{-1} asignada al éter interno (tabla CCXXXI) lo que indica la existencia de la especie XH^- en el complejo.

Este lugar de reacción en la molécula del colorante y la presencia de XH^- del mismo en el complejo confirman los resultados discutidos mediante espectroscopia UV-V (apartado 5.5.1) así como el lugar posible de reacción dado en la bibliografía (85).

Ya que la reacción parece transcurrir por un grupo OH fenólico del colorante y además la forma presente en el complejo es la XH^-, la banda antes aludida a 3400 puede asignarse a uniones intermoleculares entre el otro OH fenólico del azul de bromotimol no implicado en la reacción, posiblemente formando polímeros dada la frecuencia de localización de la banda (145).

La disminución de la intensidad de la banda a 3400 cm^{-1} en el complejo respecto en el colorante significa que existen en aquel menos OH enlazados lo que también confirma la presencia de XH^- en el complejo.

En los casos en q la amina que entra a formar parte del complejo tiene OH fenólicos en su molécula se observa un aumento de intensidad y amplitud en la banda a 3400 cm^{-1} por la presencia de estos grupos que también dan lugar a uniones intermoleculares por puente de hidrógeno. Tales son los casos de la aminas simpatomiméticas etilfenilefrina y fenilefrina (fig. 50 y 51).

5.5.4. Analisis Termico Diferencial

Las curvas de Analisis Termico Diferencial (A.T.D.) de varios de los complejos sólidos obtenidos se han recogido en las figuras 54 - 59, donde se ha representado diferencia de temperatura entre el complejo sólido y la sustancia inerte térmicamente, frente a temperatura del horno. Los compuestos sólidos estudiados corresponden a los complejos del azul de bromotimol y 6 aminas de diferente estructura (atropamina, belladonina, bamethan, flurazepan, lobelina, y quinina).

Observando las figuras 54 - 59 se aprecia en todos los casos una serie de picos correspondientes a procesos exotérmicos entre 180 y 260ºC. Antes de este margen de temperatura no aparece efecto endotérmico que pueda deberse al proceso de fusión del sólido. Este hecho indica que la descomposición del sólido sucede en todos los casos antes de la fusión del mismo.

Por otra parte la ausencia de efectos endotérmicos entre 150 y 200ºC indica que no entran a formar parte moleculas de agua en la estructura del complejo sólido, lo que confirma los resultados discutidos en los apartados 5.5.1. y 5.5.2.

En los complejos bamethan y lobelina-azul de bromotimol (figuras 56 y 58) se aprecia un pequeño pico endotérmico alrededor de 120ºC que se debe probablemente a pérdida de agua procedente de algún residuo de humedad de la muestra, dada su poca intensidad.

Los efectos endotérmicos que aparecen en las figuras 54-59 por encima de 170ºC indican la gran descomposición de los complejos amina-azul de bromotimol a temperatura más elevada.

5.6. Distribución de pares iónicos en dos fases.

5.6.1. Espectroscopía V-UV

Mediante el método descrito en el apartado 3.6.3.2., se han determinado en primer lugar, los espectros UV-V de los complejos amina ó ión de amonio cuaternario-azul de bromotimol extraídos con cloroformo, los cuales aparecen en las fig. 60-84 Todos ellos tienen en común un máximo de absorción a 410nm , independiente de la amina ó ión de amonio cuaternario complejado, lo cual indica que esta banda se debe al colorante presente en el complejo, puesto que aparece siempre en todos los complejos estudiados aquí con este colorante, así como en los complejos descritos por la bibliografía (2) (76) (79) (5)

La caracterización espectroscópica del azul de bromotimol en medio acuoso ha sido expuesta en el apartado 5.3.1., en donde se indicó la presencia de un máximo de absorción a 430nm, cuando el pH del medio acuoso estaba comprendido entre pH fuertemente ácido y moderadamente ácido; y otro máximo a 615nm para las disoluciones alcalinas. La banda de 430nm ha sido asignada al anión monovalente XH^- y la banda de 615 nm al anión divalente $X^=$ (115).

La semejanza de la banda del colorante a 430nm en medio acuoso y la de los complejos amina ó ión de amonio cuaternario-colorante a 410nm , hace pensar que esta última puede asignarse a la especie XH^- estabilizada con la amina ó ión de amonio cuaternario en cloroformo como un par iónico (28) (85)

La constancia en el máximo a 410nm de los complejos estudiados con el azul de bromotimol indica un mismo tipo de enlace entre el colorante y los principios activos complejados y consecuentemente un tipo común de interacción entre ellos.

Estos resultados nos permiten sugerir que los productos aislados por extracción desde una fase acuosa conteniendo amina ó ión de amonio cuaternario y colorante son los mismos que se obtuvieron en los apartados 5.4 y 5.5.

Así en el apartado 5.4. se efectuó la reacción entre aminas

en forma básica y azul de bromotimol en el seno de cloroformo; los compuestos aislados (pares iónicos) se caracterizaron espectroscópicamente entre 200 y 700nm. Cuando se comparan los espectros de absorción de cada sistema amina-colorante obtenidos por reacción en fase orgánica (fig. 3-15 A) con los compuestos aislados por extracción desde una fase acuosa con disolvente inmiscible obtenidos en este apartado (fig. 60 - 84) se llega a la conclusión de que son iguales; de lo que se deduce que se ha aislado por diferente procedimiento un mismo compuesto.

En el apartado 5.5. se precipitan en agua los productos de la reacción amina ó base de amonio cuaternario-colorante; los compuestos sólidos aislados se disolvieron en cloroformo y se caracterizaron espectrofotométricamente entre 200 y 700nm (véase apartado 5.5.1.).Cuando se comparan los espectros de los productos sólidos aislados (fig. 19 - 36), con los de los compuestos aislados en este apartado por extracción desde una fase acuosa con disolvente inmiscible (fig. 60-84) se llega también a la conclusión de que son exactamente iguales.

De todo lo expuesto se deduce que los compuestos amina ó base de amonio cuaternario-azul de bromotimol aislados en este apartado son los mismos que los aislados por reacción en cloroformo y que los precipitados en agua.

Por tanto, desde el punto de vista espectral, son válidas las discusiones hechas en los apartados 5.4.1. y 5.5.1. para los productos aislados por extracción desde una fase acuosa con cloroformo, objeto de estudio de este apartado.

5.6.2. Curvas de titulación en dos fases.

De acuerdo con lo dicho hasta ahora,queda justificado que en todas las titulaciones fotométricas en dos fases,realizadas de acuerdo con el método dado en el apartado 3.6.3.2., las medidas de absorbancia en la fase orgánica se efectúen a 410nm puesto que todos los complejos obtenidos tienen allí su máximo de absorción.

La representación gráfica de los valores de absorbancia

a 410nm del par iónico en fase orgánica frente a las concentraciones iniciales en fase acuosa de amina condujo a las lineas rectas de las fig. 151-175 en los límites de concentración usados. Esto nos indica que las aminas estudiadas en su extracción como pares iónicos con azul de bromotimol siguen la ley de Beer en el rango de concentración $3,2.10^{-5}$ $1,28.10^{-4}$M de una forma aceptable, ya que la concentración de par iónico en la fase orgánica es paralela a la concentración de la amina en la fase acuosa. En las fig. 151-175 se dan tambien los valores de la ordenada en el origen, b, la pendiente, m, y el coeficiente de determinación, r^2, de cada recta ajustada

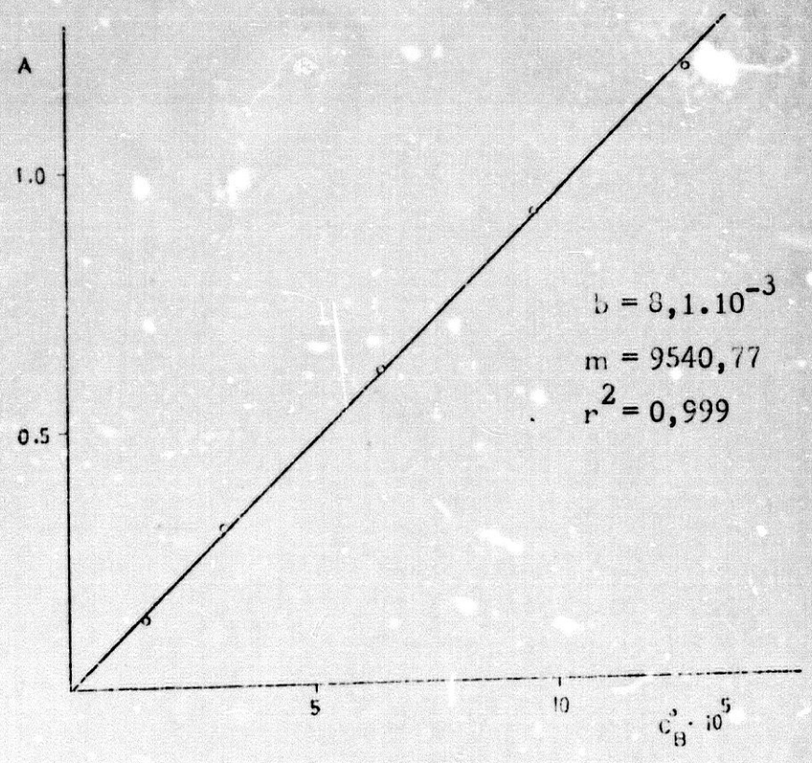


Figura 151. Curva de titulación en dos fases de clorhidrato de atropamina con azul de bromotimol a partir de los datos de la tabla CVIII.

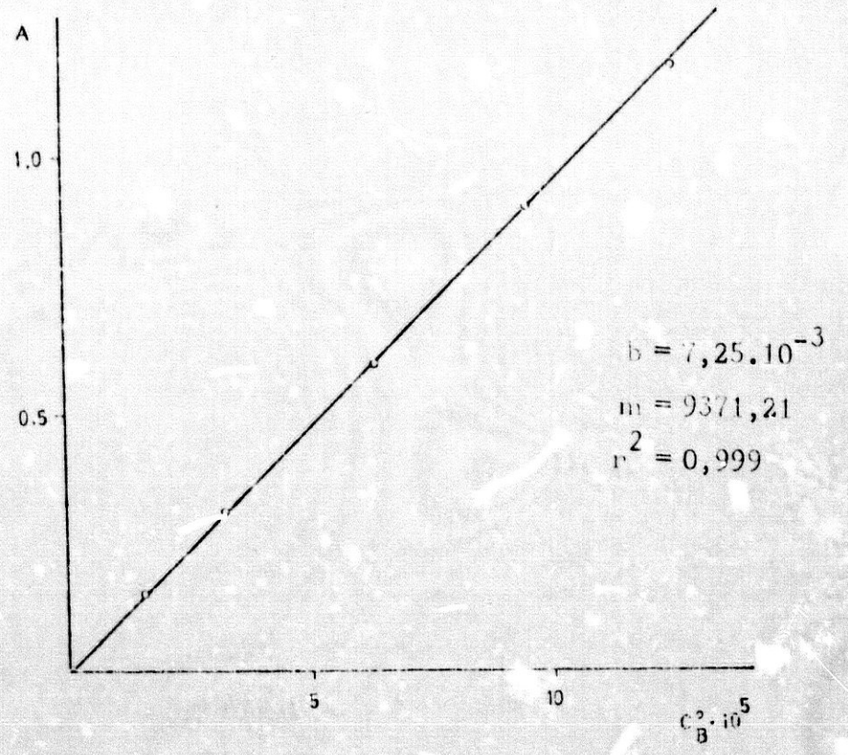


Figura 152. Curva de titulación en dos fases de clorhidrato de atropina con azul de bromotimol a partir de los datos de la tabla CIX.

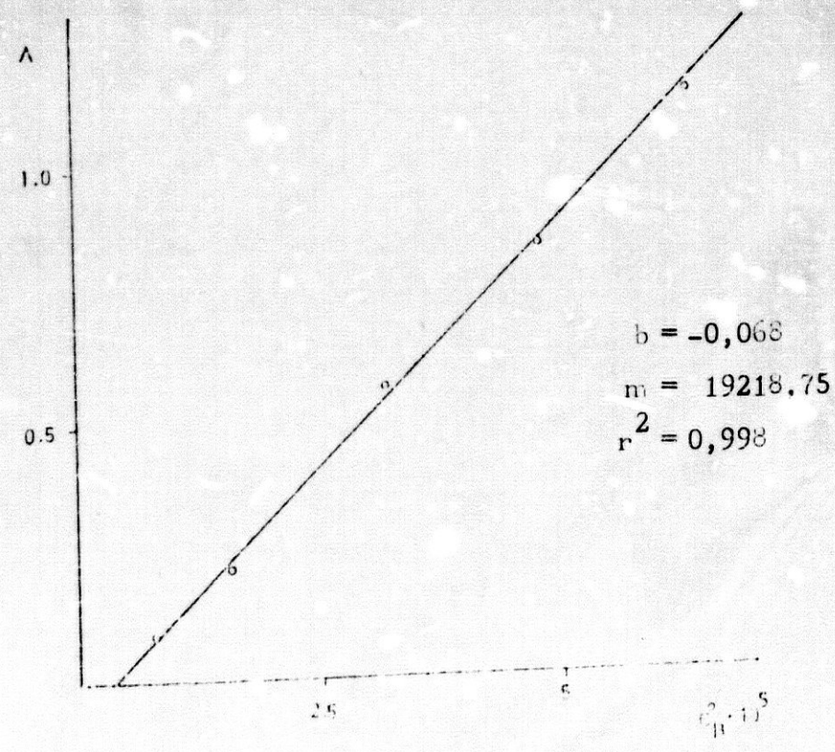


Figura 153. Curva de titulación en dos fases del disulfato ácido de belladonina con azul de bromotimol a partir de los datos de la tabla CX.

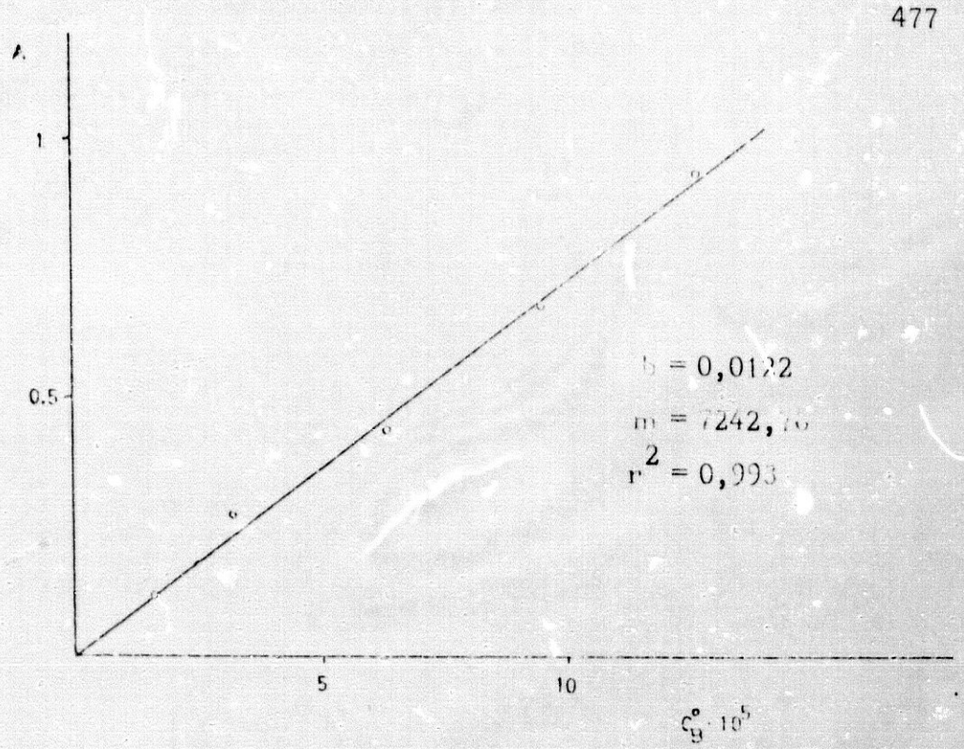


Figura 154. Curva de titulación en dos fases de bromhidrato de escopolamina con azul de bromotimol a partir de los resultados de la tabla CXI.

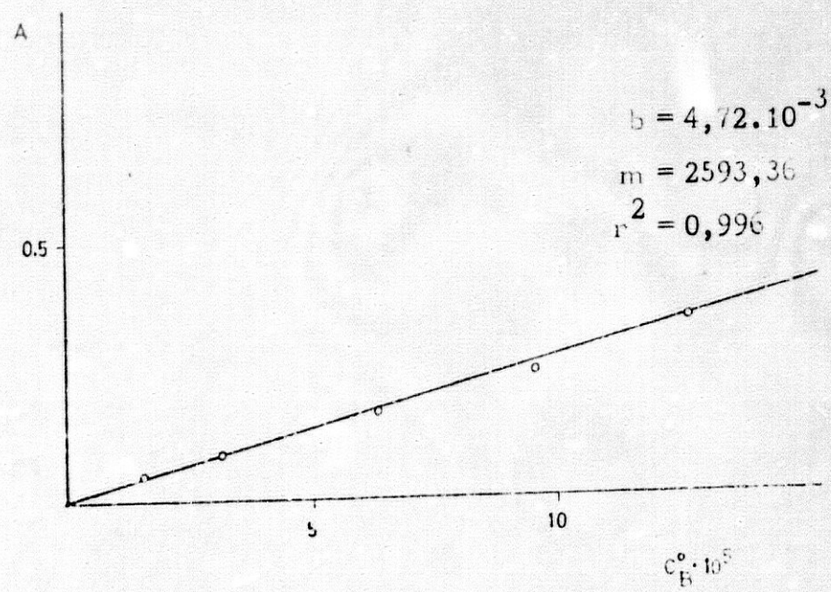


Figura 155. Curva de titulación en dos fases de bromhidrato de escopolamina N-óxido con azul de bromotimol a partir de los resultados de la tabla CXII.

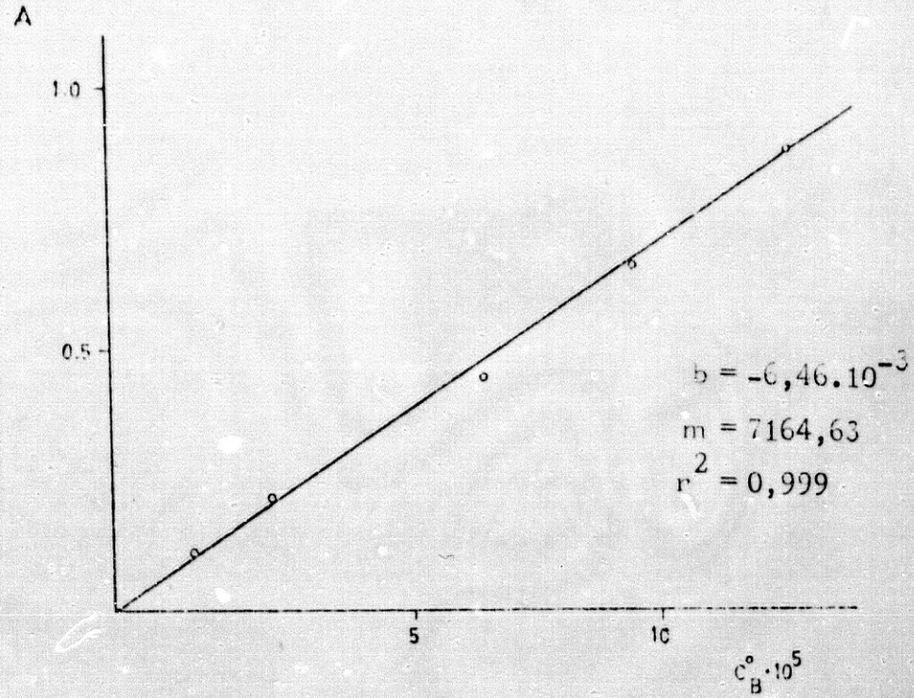


Figura 156. Curva de titulación en dos fases de bromhidrato de escopolina con azul de bromotimol a partir de los resultados de tabla CXIII.

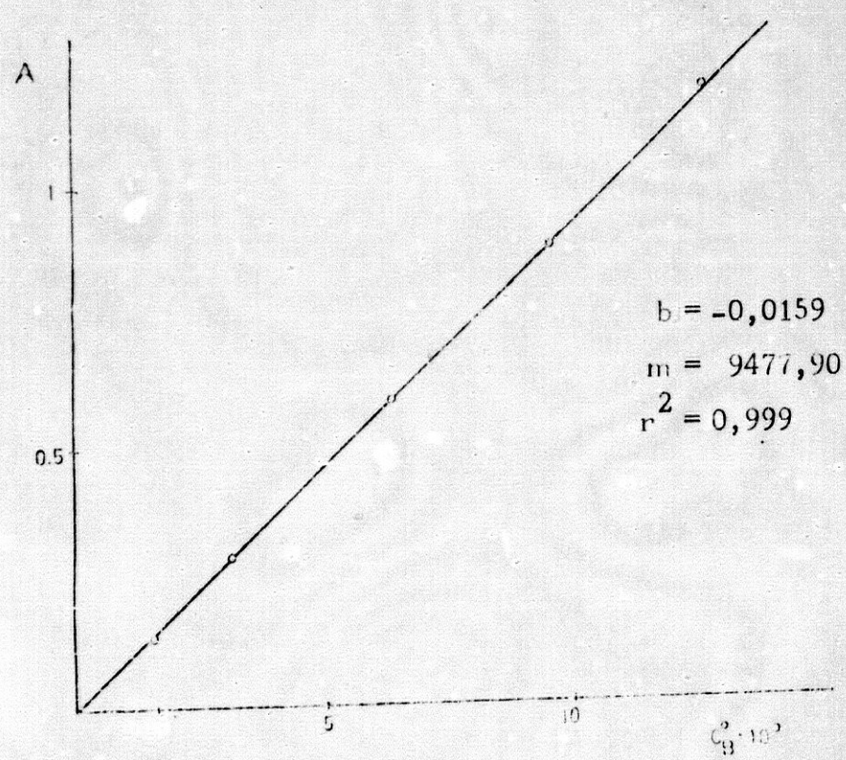


Figura 157. Curva de titulación en dos fases de bromhidrato de hiosciamina con azul de bromotimol a partir de los resultados de la tabla CXIV.

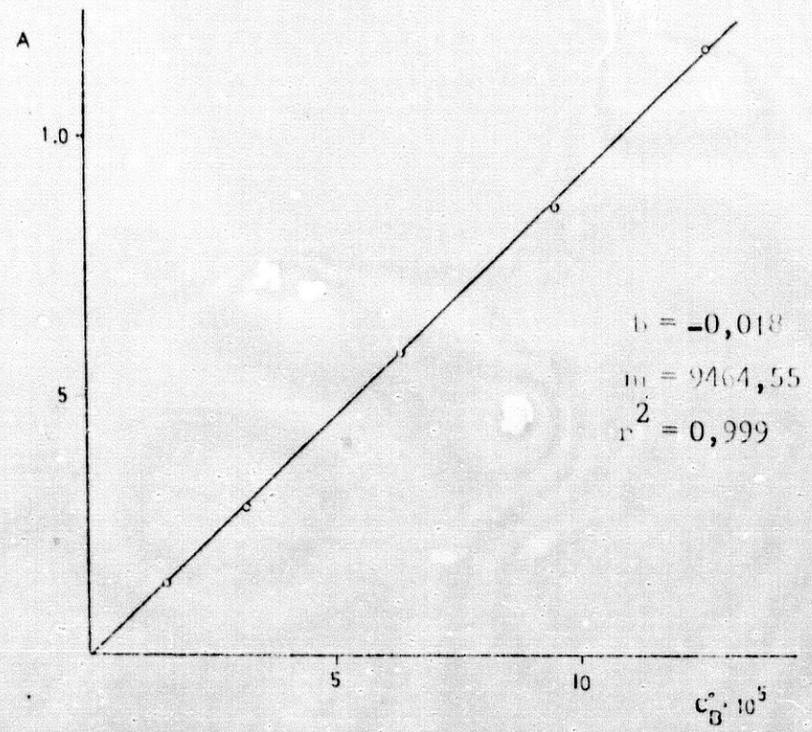


Figura 158. Curva de titulación en dos fases de bromhidrato de homatropina con azul de bromotimol a partir de los resultados de la tabla CXV.

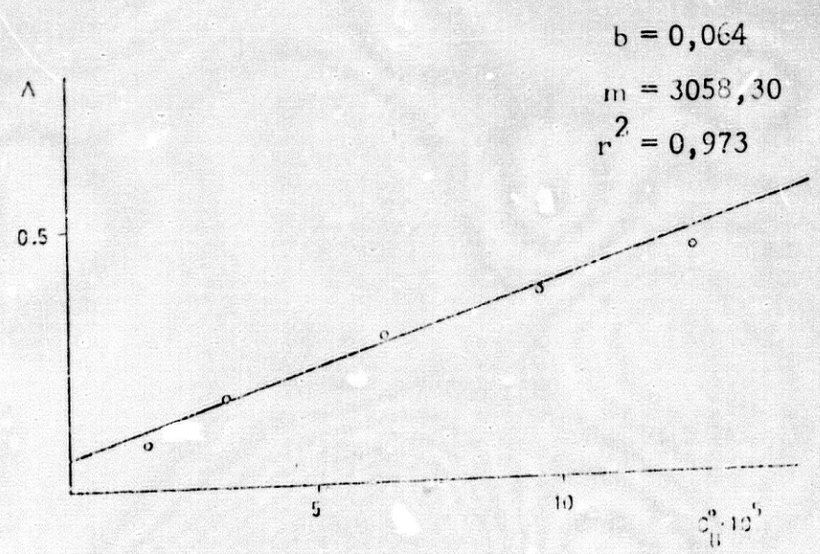


Figura 159. Curva de titulación en dos fases de clorhidrato de nortropina con azul de bromotimol a partir de los resultados de la tabla CXIX.

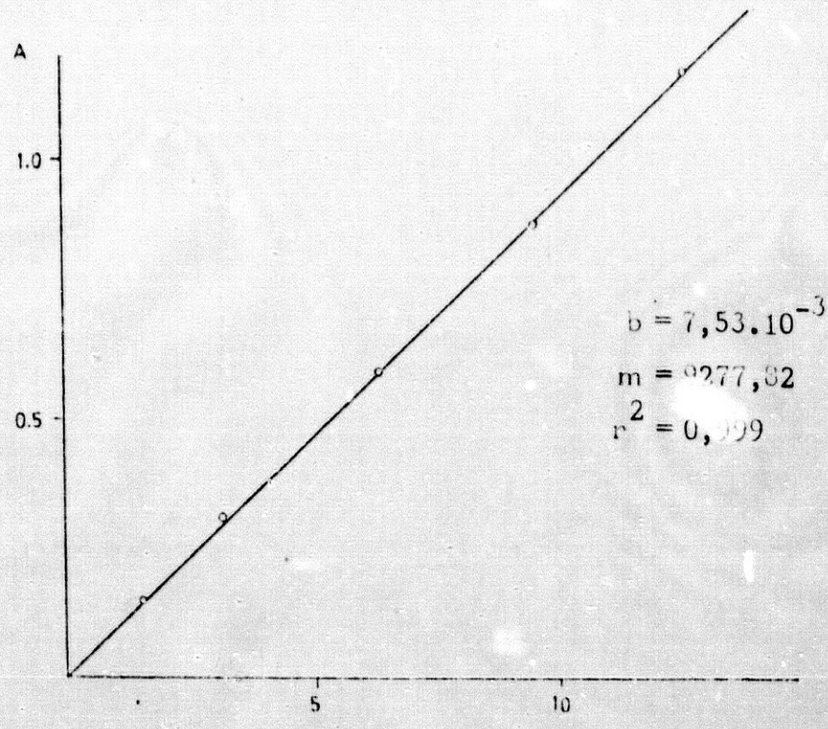


Figura 160. Curva de titulación en dos fases de bromhidrato de tigloidina con azul de bromotimol a partir de los resultados de la tabla CXX.

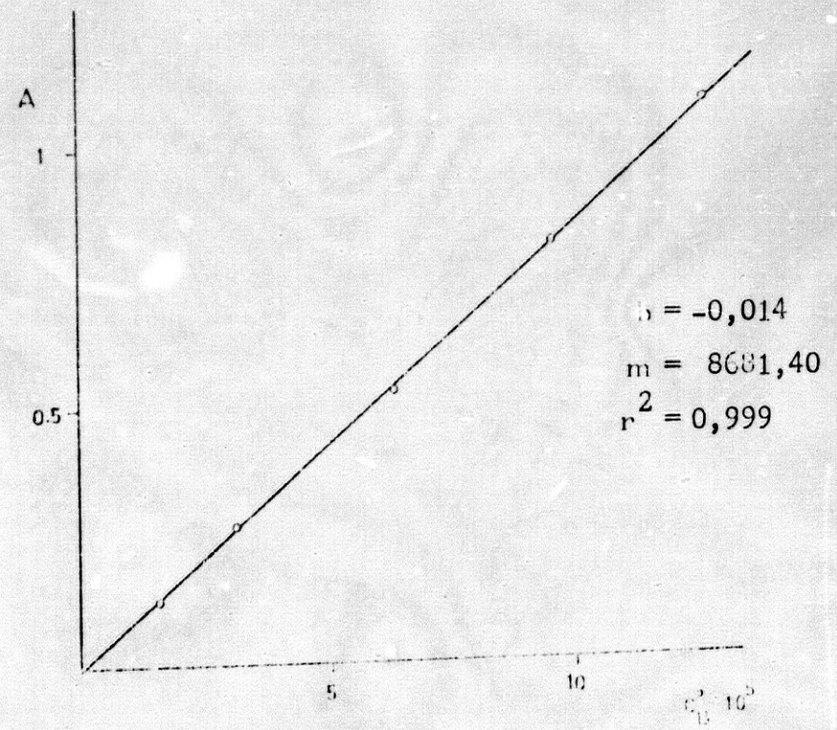


Figura 161. Curva de titulación en dos fases de tropina base con azul de bromotimol a partir de los resultados de la tabla CXXI.

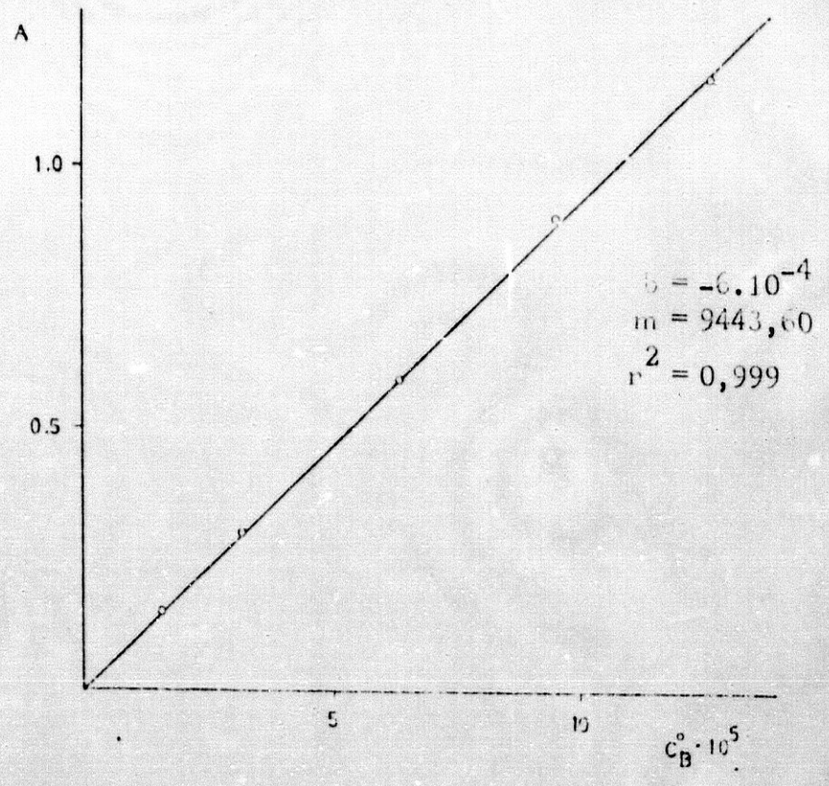


Figura 162. Curva de titulación en dos fases de bromuro de metilatropina con azul de bromotimol a partir de los resultados de la tabla CXVI.

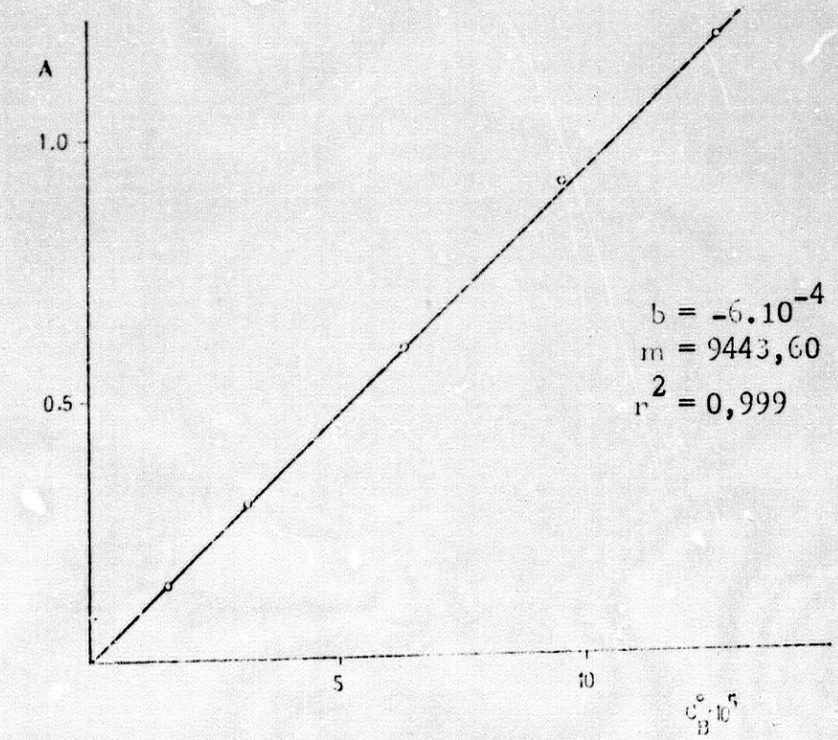


Figura 163. Curva de titulación en dos fases de bromuro de metilescopolamina con azul de bromotimol a partir de los resultados de la tabla CXVIII.

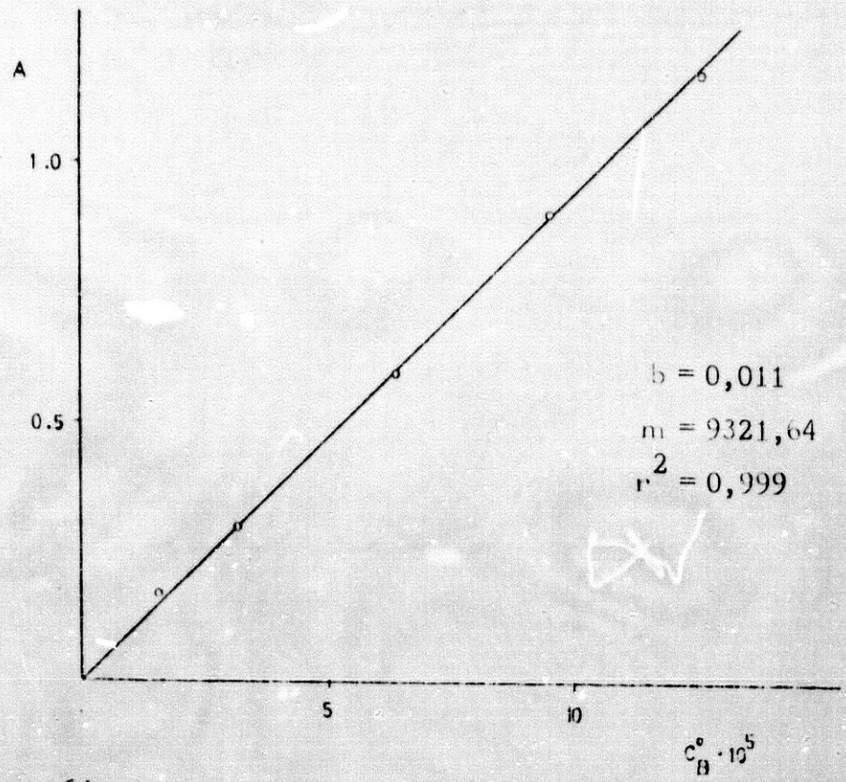


Figura 164. Curva de titulación en dos fases de bromuro de metilhomatropina con azul de bromotimol a partir de los resultados de la tabla CXVII.

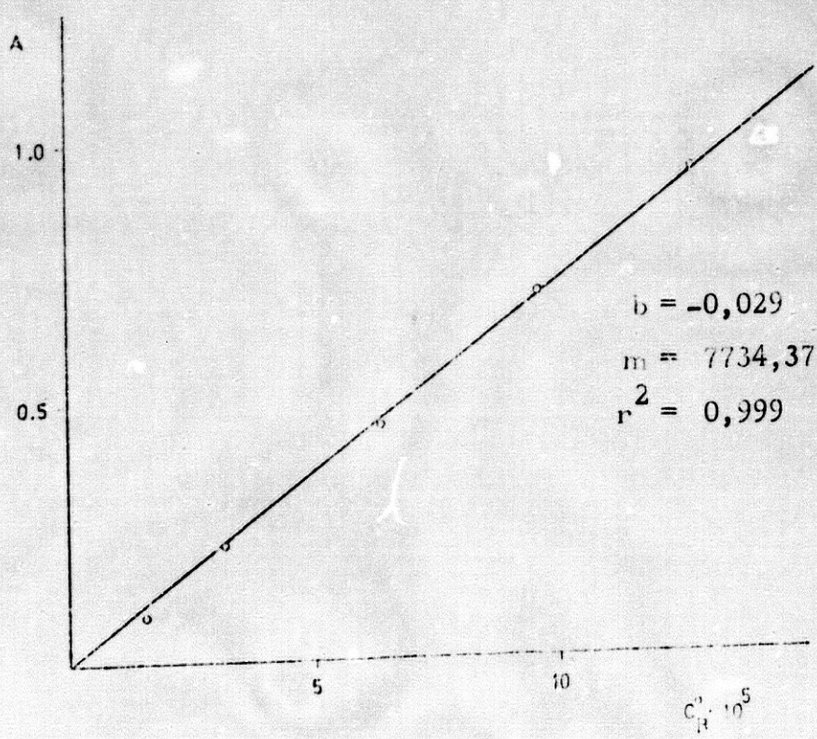


Figura 165. Curva de titulación en dos fases de sulfato de bamethan con azul de bromotimol a partir de los resultados de la tabla CXII.

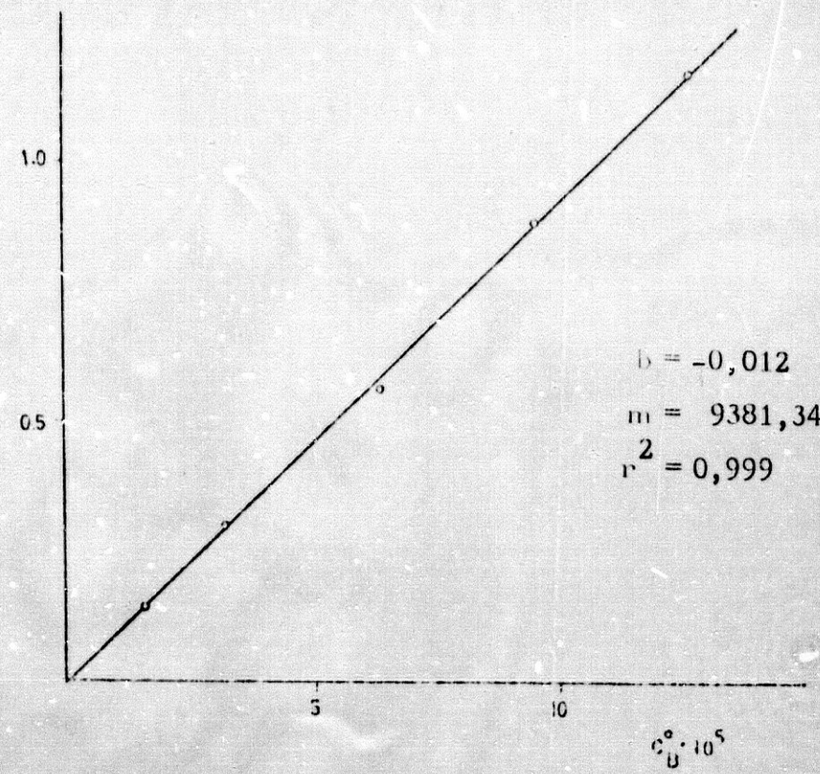


Figura 166. Curva de titulación en dos fases de clorhidrato de efedrina con azul de bromotimol a partir de los resultados de la tabla CXXIII.

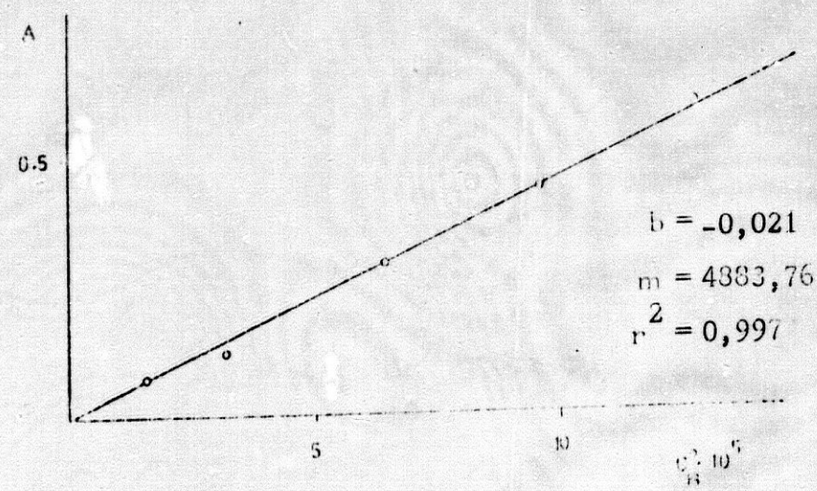


Figura 167. Curva de titulación en dos fases de clorhidrato de etilfenilefrina con azul de bromotimol a partir de los resultados de la tabla CXXIV.

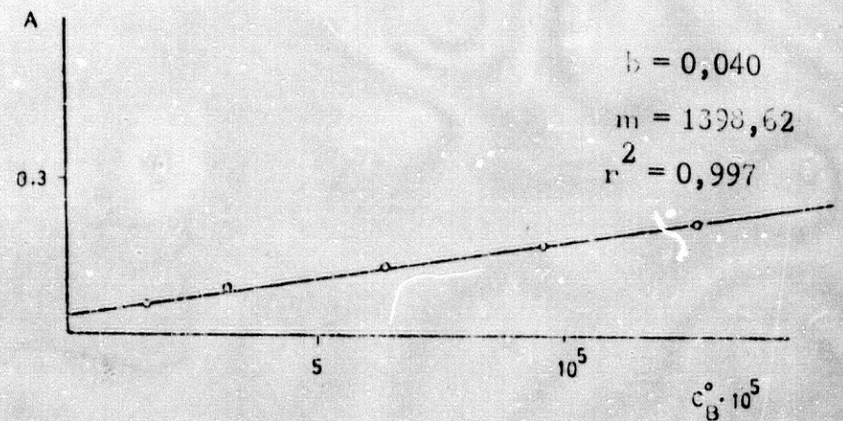


Figura 168. Curva de titulación en dos fases de clorhidrato de fenilefrina con azul de bromotimol a partir de los resultados de la tabla CXXV.

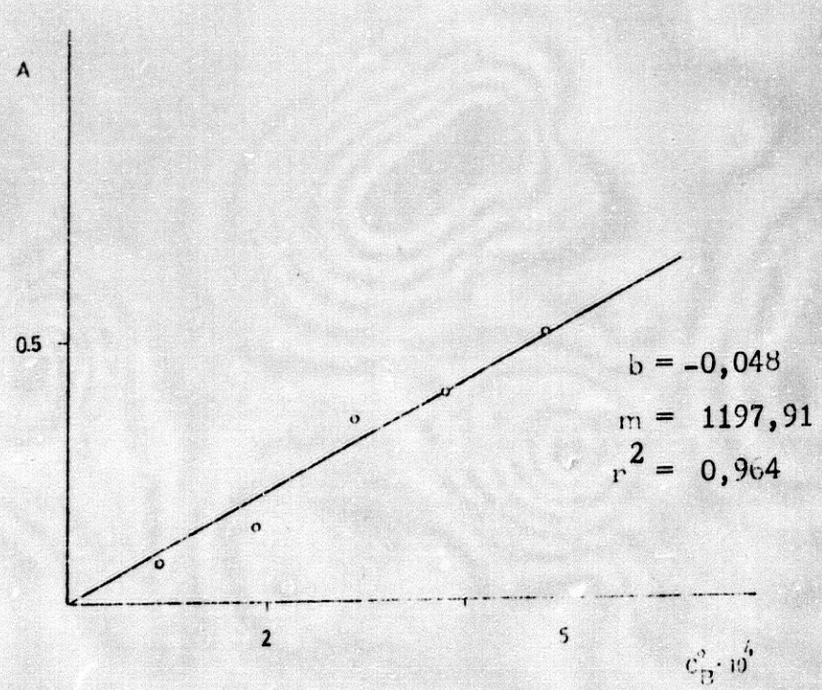


Figura 169. Curva de titulación en dos fases de sulfato de metaproterenol con azul de bromotimol a partir de los resultados de la tabla CXXVI.

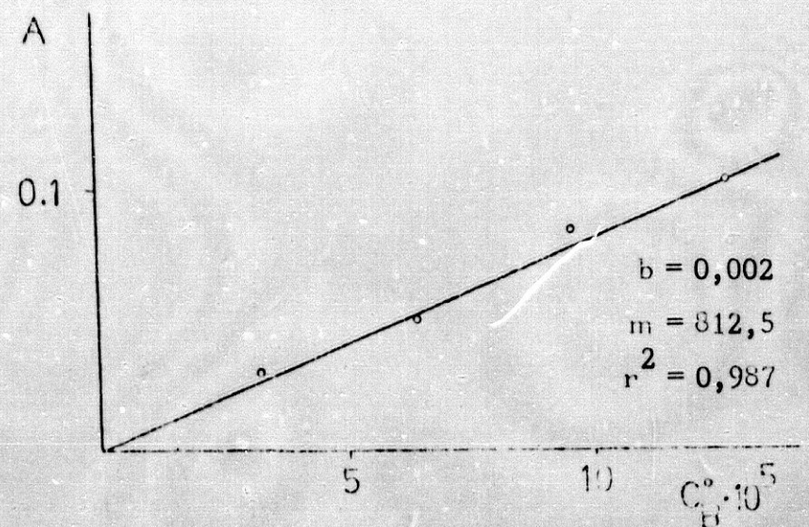


Figura 170. Curva de titulación en dos fases de bromazepan base con azul de bromotimol a partir de los resultados de la tabla CXXVII.

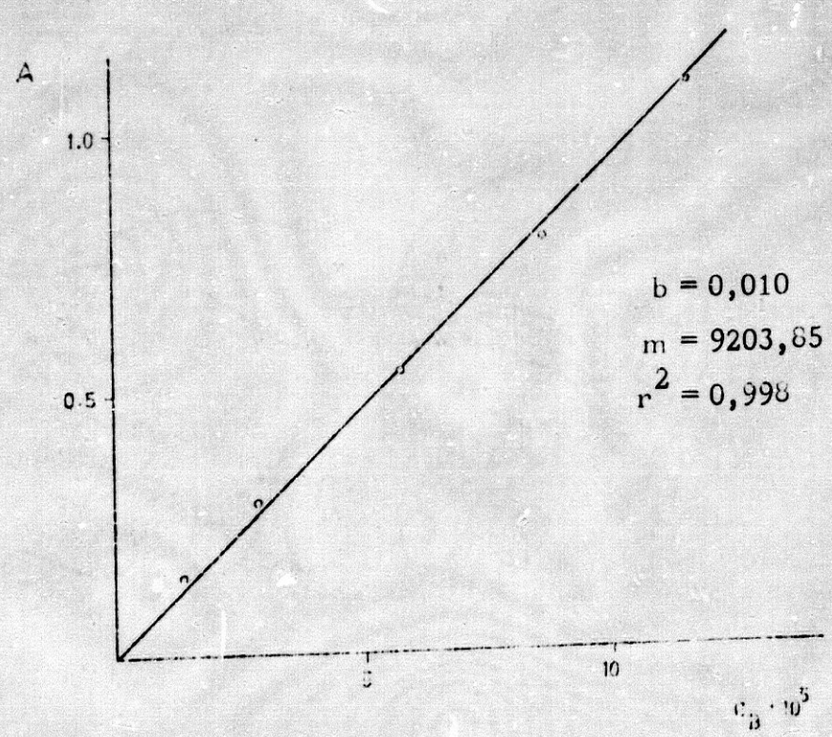


Figura 171. Curva de titulación en dos fases de monoclorhidrato de flurazepan con azul de bromotimol a partir de los resultados de la tabla CXXVIII.

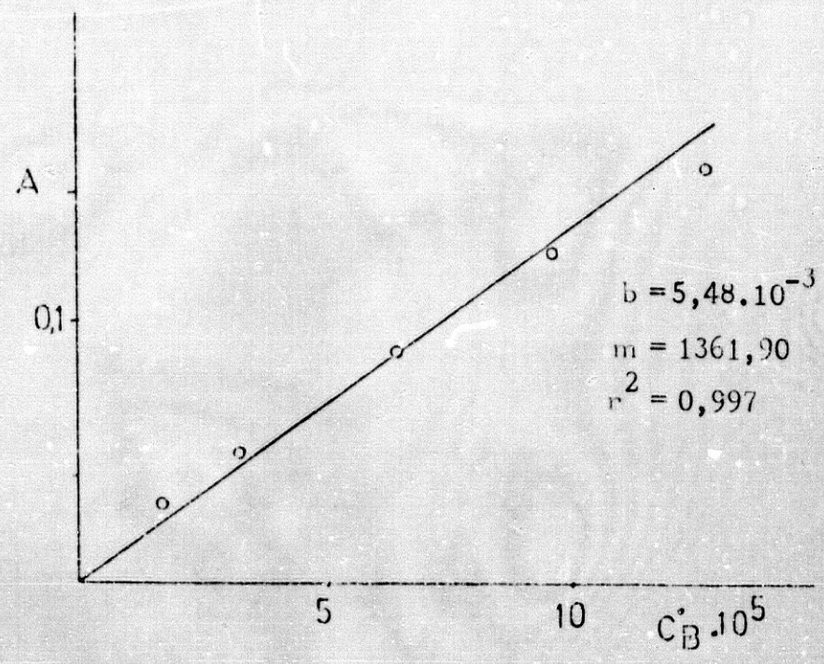


Figura 172. Curva de titulación en dos fases de medazepan base con azul de bromotimol a partir de los resultados de la tabla CXXIX.

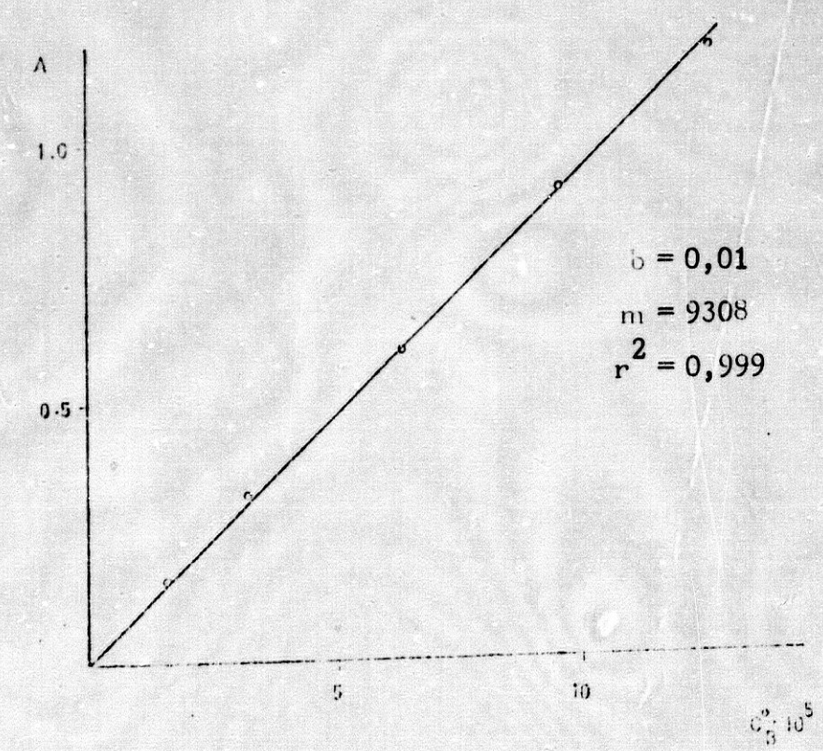


Figura 173. Curva de titulación en dos fases de estricnina base con azul de bromotimol a partir de los resultados de la tabla CXXX.

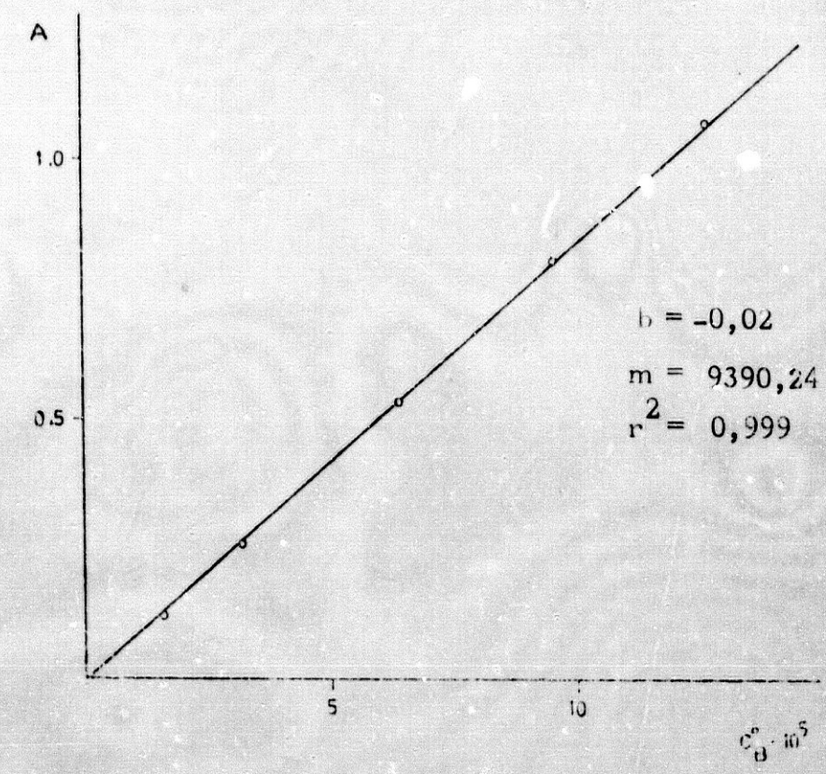


Figura 174. Curva de titulación en dos fases de clorhidrato de lobelina con azul de bromotimol a partir de los resultados de la tabla CXXXI.

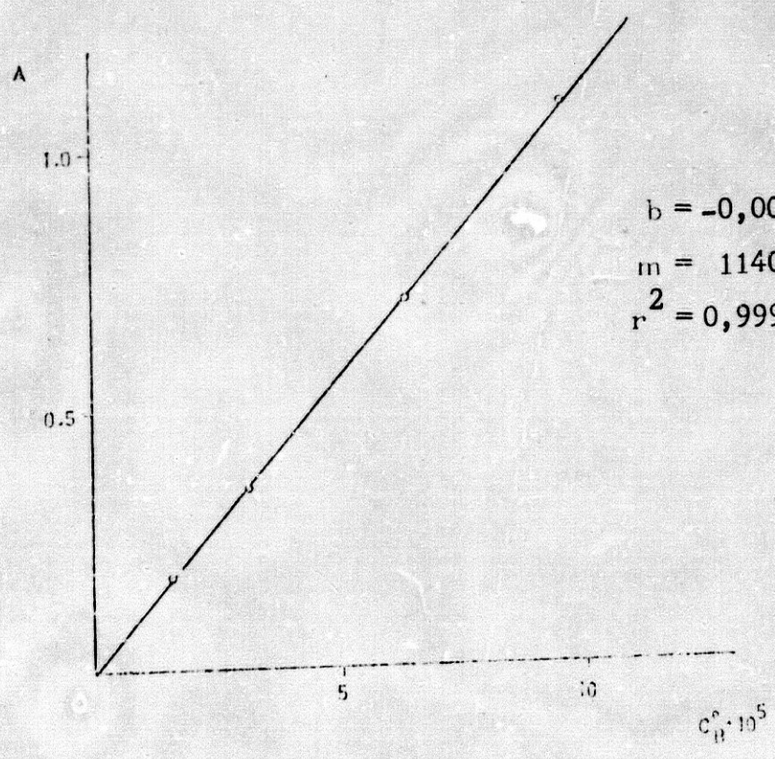


Figura 175. Curva de titulación en dos fases de quinina base con azul de bromotimol a partir de los resultados de la tabla CXXXII.

En prácticamente todas las ocasiones se confirma la linealidad y la aplicabilidad de la ley de Beer (pares iónicos de 25 sustancias y azul de bromotimol). A partir del valor de la pendiente de la recta puede obtenerse, como se expresará más adelante, el coeficiente de extinción molar aparente de los diferentes complejos amina ó ión de amonio cuaternario-azul de bromotimol. Puesto que todas las titulaciones fotométricas en dos fases se realizaron con doble volumen de fase orgánica (Q = 2), para obtener el auténtico valor del coeficiente de extinción aparente ha sido necesario duplicar el valor de la pendiente m. En estas condiciones experimentales $\varepsilon_{aparente} = 2.m$

Los valores de $\varepsilon_{aparente}$ obtenidos a partir de la pendiente, m, de las rectas ajustadas, junto con los valores de b y r^2 aparecen en las tablas CCXXXIII; CCXXXIV; CCXXXV donde también se muestran las constantes de disociación ácida de las aminas estudiadas.

TABLA CCXXXIII

Derivados tropánicos determinados con azul de bromotimol mediante titulación en dos fases T = 20ºC. $C^o_{AB} = 4,8.10^{-4}M$. Q = 2. Fuerza iónica entre 0,1 y 0,15.

Amina	$\varepsilon_{aparente}$	r^2	b	pK_{BH^+}
Atropamina	19081	0,999	-0,008	10,39
Atropina	18742	0,999	0,007	10,21
Escopolamina	14485	0,993	0,012	8,05
Escopolamina N-óxido (*)	4305	0,996	0,004	5,88
Escopolina	14329	0,999	-0,006	8,97
Hiosciamina	18956	0,999	-0,015	10,16
Homatropina	18929	0,999	-0,018	10,10
Nortropina(**)	4373	0,973	0,064	11,18
Tigloidina	18556	0,999	0,007	9,81
Tropina	17363	0,999	-0,014	10,73
Belladonina	38437	0,998	-0,068	--,--

(*) $C^o_{AB} = 8.10^{-4}M$; Q = 1,66 y $\varepsilon_{aparente} = 1,66.m$

(**) $C^o_{AB} = 6,85.10^{-4}M$; Q = 1,43 y $\varepsilon_{aparente} = 1,43.m$

TABLA CCXXXIV

Iones de amonio cuaternario de derivados tropánicos determinados con azul de bromotimol mediante titulación fotométrica en dos fases. T = 20ºC. $C^{o}_{AB} = 4,8.10^{-4}$M. Q = 2. Fuerza iónica entre 0,1-0,15.

Ión de amonio cuaternario.	$\varepsilon_{aparente}$	r^2	b
Metilatropina	18887	0,999	0,000
Metilescopolamina	18887	0,999	0,000
Metilhomatropina	18643	0,999	0,011

TABLA CCXXXV

Aminas simpatomiméticas determinadas con azul de bromotimol mediante titulación fotométrica en dos fases. T = 20ºC $C^{o}_{AB} = 4,8.10^{-4}$M. Q = 2. Fuerza iónica entre 0,1-0,15

Amina	$\varepsilon_{aparente}$	r^2	b	pK_a
Bamethan	15468	0,999	-0,029	9,35 ; 11,10
efedrina	18762	0,999	-0,012	9,99
Etilfenilefrina	9767	0,997	-0,021	9,35 ; 10,65
Fenilefrina	2797	0,997	0,040	9,20 ; 10,50
Metaproterenol(*)	1497	0,964	-0,048	8,88 ; 10,20 11,70

(*) $C^{0}_{AB} = 9.10^{-4}$M ; Q = 1,25; y $\varepsilon_{aparente} = 1,35.m$

TABLA CCXXXVI

Alcaloides y benzodiazepinas determinadas con azul de bromotimol mediante titulación fotométrica en dos fases. T = 20ºC; $C^{o}_{AB} = 4,8.10^{-4}M$; Q = 2 ; Fuerza iónica entre 0,1-0,15.

Sustancia	$\varepsilon_{aparente}$	r^2	b	pK_a
Bromazepan	1625	0,987	0,003	2,9 ; 11,0 (36)
Estricnina	18616	0,999	0,010	2,3 ; 8,1 (131)
Flurazepan	18407	0,998	0,010	1,90; 8,16 (35)
Lobelina	18780	0,999	-0,020	- -- - --
Medazepan	2717	0,995	0,005	6,19 (36)
Quinina	22804	0,999	-0,005	4,4 ; 8,8 (146)

Los valores del coeficiente de extinción molar aparente de los distintos complejos obtenidos corresponden a una única extracción, como quedó especificado en el apartado 3.6.3.2.

A partir de los valores de pK_a de los medicamentos presentes en las anteriores tablas puede apreciarse que las aminas son determinadas a un pH en el cual existen en forma de catión monovalente, en prácticamente todos los casos.

Los coeficientes de extinción aparentes de la mayor parte de los complejos obtenidos oscilan entre 17000 y 19000 litro.mol^{-1}.cm^{-1}, valores que estan en concordancia con el coeficiente de extinción molar del anión monovalente del azul de bromotimol en medio acuoso (fig. 1 m), lo que parece demostrar la presencia de esta misma especie en la fase orgánica estabilizada como par iónico con la amina protonada ó ión de amonio cuaternario como cationes, como ya se ha dicho anteriormente. Esto demuestra, al mismo tiempo, que en el complejo el azul de bromotimol y estos cationes están en la razón molar 1:1. En

estos casos la reacción puede esquematizarse

$$XH^-_{ac} + BH^+_{ac}\ (\text{ó } B^+_{ac}) \rightleftharpoons XHBH_{org}\ (\text{ó } XHB_{org})$$

-106-

según sean los cationes aminas, BH^+, ó iones de amonio cuaternario B

Como antes se dijo, los valores del coeficiente de extinción aparente de las aminas complejadas estaban todos comprendidos entre 17000 y 19000 litros.mol^{-1}. cm^{-1}. Sin embargo en dichas tablas aparecen dos sustancias con valores superiores, correspondientes a los complejos quinina y belladonina-azul de bromotimol.

El complejo de quinina presenta un valor de coeficiente de extinción molar aparente igual a 22804 $\pounds$, ligeramente superior a todos los demás. Este hecho puede explicarse considerando los valores de las constantes de disociación de la quinina ($pK_{BH_2^{++}}$ = 4,4 y pK_{BH^+} = 8,8) que indican que al pH de ensayo, 7,50; una pequeña concentración de quinina está presente como catión divalente, BH_2^{++}, y por tanto se pueden extraer por el disolvente orgánico simultáneamente dos complejos de razón molar 1:1 y 2:1 (colorante:amina). El bajo valor de $pK_{BH_2^{++}}$ indica que, al pH utilizado, la extracción del complejo 2:1 es mincritaria, lo que justifica el pequeño aumento del coeficiente de extinción molar aparente.

En el complejo belladonina-azul de bromotimol el coeficiente de extinción aparente investigado asciende a un valor de 38437 litro.mol^{-1}. cm^{-1}, valor que es alrededor del doble de la mayor parte de los complejos estudiados. Este hecho análogamente puede explicarse considerando los valores de $pK_{BH_2^{++}}$ y pK_{BH^+} de la belladonina, los cuales no son conocidos, si bien por razones estructurales y de acuerdo con la discusión hecha en el apartado 5.2.1.4. sor presumiblemente altos; lo que nos indica que a pH 7,50 la sustancia se encuentra preferentemente como catión divalente. Al mismo tiempo ésto demuestra que, en el complejo, la razón molar colorante:amina es 2:1 y la reacción podría esquematizarse

$$2XH^-_{ac} + BH_2^{++}{}_{ac} \rightleftharpoons (XH)_2BH_{2org} \qquad \text{-107-}$$

($\pounds$) litro.mol^{-1}.cm^{-1}

La presencia de dos moléculas de XH^- en el complejo extraído justifica la duplicidad del coeficiente de extinción molar aparente para este complejo; no obstante debe aclararse que aunque en pequeña proporción también se extrae el complejo 1:1 como se explicará posteriormente.

La linealidad obtenida entre concentraciones iniciales de amina y medidas de absorbancia a 410 nm del par iónico amina-azul de bromotimol en la fase orgánica (fig. 151-175) se justificaran más adelante en el estudio dedicado a los equilibrios dados por las ecuaciones -106- y -107- anteriormente expuestas, y cuyo conocimiento conduce al de las leyes fisicoquímicas que rigen las condiciones de extracción de los pares iónicos estudiados (apartado 5.6.7.). Asimismo se justificarán las pequeñas desviaciones que en algunos casos se han observado en estos complejos en lo que se refiere a la no aplicabilidad de la ecuación de Beer, tal como la relativa a los complejos de escopolamina N-óxido, nortropina, y metaproterenol.

En el estudio sistemático realizado,las aminas : escopolamina N-óxido, nortropina, fenilefrina, metaproterenol, bromazepan, y medazepan, son mal extraídas como complejos de asociación iónica con azul de bromotimol. Al igual que las otras, se comportan también como cationes monovalentes a pH 7,50,como se puede apreciar de los valores de pK_a presentes en dichas tablas. El bajo valor del coeficiente de extinción molar obtenido para estas sustancias indica su poca reactividad en las condiciones de ensayo. Esto significa también, que el complejo amina-azul de bromotimol es extraído, en estos casos, en poca extensión por la fase orgánica, y por tanto una parte importante de la amina permanece en la fase acuosa sin reaccionar. Varias de estas sustancias poco reactivas han requerido un incremento en el exceso de colorante y aparecen señaladas con un asterisco. Al pié de las tablas se indica el incremento en la concentración inicial de azul de bromotimol, C^o_{AB}, en que fueron realizadas las titulaciones fotométricas en dos fases, así como el valor de Q (Vorg/ Vac). A estos complejos debe asignarse coherentemente con lo expuesto anteriormente la estequiometría 1:1.

Las diferencias encontradas entre unas sustancias y otras en su reactividad con el azul de bromotimol en dos fases puede atribuirse a factores tales como un menor grado de interacción entre los reactivos en la fase acuosa, un reparto desfavorable de los complejos, un valor no adecuado de pK_a, así como la extracción de amina como base libre.

Todos estos factores que parecen ser función de la estructura de las aminas ensayadas se estudiarán más adelante en el antes aludido apartado 5.6.7. En éste se demuestra la existencia de los equilibrios químicos sugeridos por las ecuaciones -106- y -107- , así como los factores antes expuestos.

Todos los resultados obtenidos en el presente apartado son coherentes con los obtenidos por Schill (2) en el estudio de aminas de diverso tipo con azul de bromotimol.

5.6.2.1. Coeficientes de extinción molar de la especie XH^- del azul de bromotimol en cloroformo.

Como hemos dicho anteriormente todos los complejos obtenidos con azul de bromotimol y medicamentos, tanto por reacción en cloroformo, precipitación en agua, ó extracción con disolvente inmiscible, presentan un idéntico máximo de absorción a 410nm, el cual puede adscribirse a la especie monovalente XH^- del colorante presente en la fase orgánica asociada con el medicamento como par iónico. Esta banda depende pues de la especie XH^- presente en el cloroformo y no depende de la amina ó ión de amonio cuaternario con el que dicha especie se encuentra asociada como complejo de asociación iónica. Esta afirmación parece aceptada en la bibliografía en los complejos obtenidos en cloruro de metileno (13) y cloroformo (76) y en nuestro trabajo ha quedado demostrada claramente.

Los valores del coeficiente de extinción aparente obtenidos por el método de calculo anterior no permiten conocer el coeficiente de extinción molar verdadero de la especie XH^- del colorante en cloroformo, puesto que no se tiene seguridad de la completa extracción de la amina ó ión de amonio cuaternario como par iónico. Por ello, dado que la extracción del complejo puede no ser

del 100%, los valores obtenidos han sido ligeramente menores al real (de 17000 a 19000 litro.mol^{-1}.cm^{-1}) cuando la amina era bastante reactiva, ó mucho más pequeños si la amina se extrae en poca cuantía como complejo de asociación y por tanto permanece parte de ella sin reaccionar.

El valor del coeficiente de extinción molar de XH^- real en cloroformo, ε_{XH^-}, puede hallarse fácilmente a partir de los resultados de las curvas de titulación en cloroformo de las tablas CCXIII y CCXIV de los apartados 5.4.2.1. y 5.4.2.2. Puesto que la reacción en cloroformo transcurre con una alta constante de formación y se puede agotar un reactivo (amina ó colorante) con un razonable exceso del otro; el valor de ε_{XH^-} verdadero se puede hallar obteniendo la media de los datos dados al final de las anteriores tablas resultando ser 19174 litro.mol^{-1}.cm^{-1}.

La concordancia del valor de ε_{XH^-} real obtenido al aislar esta especie XH^-, como par iónico por reacción en cloroformo y por precipitación en agua (19173 £) y su proximidad al valor de los coeficientes de extinción molar aparentes calculados para los productos aislados por extracción desde disolvente inmiscible, es otra prueba de la validez de las afirmaciones que se vienen haciendo en esta Memoria.

Por otro lado, dado que el valor de ε_{XH^-} real es necesario para los estudios de distribución de pares iónicos amina-colorante realizados en esta memoria, es conveniente ver su valor definitivo a partir de los resultados precedentes. Lo más correcto, desde el punto de vista analítico, es dar como definitivo el valor medio obtenido a partir de los productos sólidos(28) resultando ser 19173 £ (tabla CCXXVIII), valor usado en todos los cálculos de estudio de distribución de pares iónicos . Este valor puede aceptarse que es el coeficiente de extinción molar de la especie XH^- en cloroformo. En el caso de aminas divalentes el coeficiente de extinción molar real calculado es aproximadamente el doble (véase sólido belladonina-azul de bromotimol).

5.6.2.2. Técnica analítica

Las curvas de calibrado consideradas en el apartado 5.6.2. pueden ser utilizadas, como es habitual, en el establecimiento de una técnica analítica para la determinación de una amina. De con-

(£) litro.mol^{-1}.cm^{-1}

formidad con los datos expresados, se puede establecer una valoración de amina que se atenga a los siguientes puntos. Se dispone de una colección de tubos de centrífuga, y en cada uno de ellos se añaden, respectivamente, 0,5; 1; 2; 3; y 4 ml de disolución tamponada de amina $1,6.10^{-4}$M a pH 7,50 , y se completa con disolución tampón, de igual pH, hasta 4ml. En un sexto tubo se colocan 4 ml de disolución tamponada, y en otro adicional 4 ml de la disolución problema de la amina investigada (tubo 7). A todos los tubos se añade 1ml de disolución acuosa tamponada de azul de bromotimol (pH = 7,50) $2,4.10^{-3}$M (0,15%). A continuación , se añaden 10ml de cloroformo, y después de agitación durante 2min., se centrifuga y se separa la fase orgánica. Todas las muestras así obtenidas se llevan al espectrofotómetro y se mide la absorbancia frente al blanco obtenido (tubo 6) y se hace un gráfico de absorbancia a 410nm frente a concentración inicial de la amina en la fase acuosa. La interpolación del dato correspondiente al tubo 7 facilita la concentración buscada de amina.

El grado de precisión y la sensibilidad de la técnica analítica diseñada depende primordialmente de la magnitud del coeficiente de extinción molar aparente calculado en las referidas tablas CCXXXIII - CCXXXV para cada sustancia investigada.

En los complejos 1:1 cuanto más próximo sea el valor de εaparente a 19173, mayor es la precisión y sensibilidad del método, puesto que la extracción de la amina asociada como par iónico sería la cantidad total de amina existente. Si bien, debe señalarse que la linealidad es aceptable siempre cuando el valor de εaparente no sea demasiado bajo como se deduce de la observación de las fig. 151-175. Puesto que en el apdo. 5.6.2.1. se ha discutido que el coeficiente de extinción molar real para todos los complejos de aminas utilizadas es 19173 litros.$mol^{-1}.cm^{-1}$; si la extracción es completa el coeficiente de extinción aparente tendría ese valor. En la práctica se han obtenido valores algo más bajos, ya que nunca se ha llegado a producir un 100% de extracción. Sin embargo, desde el punto de vista práctico ese porcentaje resultó muy próximo a 100, por lo cual el resultado analítico de el derivado se puede estimar como válido en estas determinaciones, tal como se aprecia en las fig. 151-175. A la vista de los datos

de coeficiente de extinción molaraparente de las tablas CCXXXIII-CCXXXVIas siguientes sustancias se puede considerar que se extraen casi en un 100% como pares iónicos con azul de bromotimol: atropamina (19081), atropina (18742), hiosciamina (18956) homatropina (18929), tigloidina (18556), tropina (17363), efedrina (18762), estricnina(18616) flurazepan (18407) lobelina (18780) metilatropina(18887), metilescopolamina (18887), metilhomatropina (18643).

En los casos en que las sustancias presentan un valor de εaparente más bajo,la técnica analítica es igualmente válida, como se deduce de la observación de los coeficientes de correlación de las mencionadas tablas. Tales sustancias,con coeficientes de extinción aparentes claramente inferiores a 19173,se señalan seguidamente: Escopolamina (14485), escopolina (14329), bamethan (15468), fenilefrina(2797), etilfenilefrina (9767), en los que la linealidad es buena en todos los casos.

En los casos de dichas tablas,en que las sustancias aparecen señaladas por asterísco (escopolamina N-óxido, y metaproterenol), fué ya preciso forzar las condiciones de ensayo para obtener una cantidad medible de complejo en la fase orgánica debido a la baja reactividad de las mismas. Lógicamente la fidelidad analítica fué menor y los errores que aparecen pueden multiplicarse.

Por último,en dichas tablas existen dos sustancias para las que se da un valor de ε aparente aproximado,que son bromazepan y medazepan. En estos casos el coeficiente de extinción molar aparente fué tan bajo,aún forzando las condiciones,que no se pudo apreciar con garantía.

En todos estos casos,en que la estequiometría de la reacción es 1:1,la sensibilidad del método aplicado es de tal orden que permite estimar concentraciones de amina problema del orden de $1,6.10^{-5}$M,cuando existe una extracción aceptable.

Si la estequiometría dela reacción es 2:1 la sensibilidad del método se duplica debido a las dos moléculas de XH^- asociadas con el catión divalente, y por tanto se permite estimar cantidades del orden de 8.10^{-5}M, sin dificultad, suponiendo una extracción

aceptable del complejo (complejo belladonina-azul de bromotimol fig. 153).

Más adelante,como se ha indicado ya en el apartado 5.6.7, se estudiarán las constantes fisicoquímicas de estas interacciones y,a partir de éstas,se explicarán ciertos pormenores analíticos de la técnica objeto de estudio en este apartado. Asimismo se establecerán otras formas de plantear los ensayos antes realizados (apartado 3.6.3.2.) para conseguir determinaciones analíticas con metodología más simplificada.

Este método de titulación por formación de pares iónicos y extracción por disolvente inmiscible presenta ciertas ventajas respecto a los métodos usuales de valoración de medicamentos. La interacción con azul de bromotimol se muestra como un método simple y preciso que ha sido usado en alguna ocasión para la valoración de principios activos incorporados a formas farmaceuticas,sin interferencia con otros auxiliares tecnológicos del medicamento, como es demostrado en la bibliografía para el complejo tiamina-azul de bromotimol (3). En diversos trabajos se propone la valoración con azul de bromotimol (2) (79) (5) Confirmación de estas aseveraciones es el hecho de que estos métodos también se han usado en la valoración de medicamentos ó metabolitos en líquidos biológicos.

5.6.3. Tiempo de agitación

La influencia del tiempo de agitación ha sido estudiada a partir de los resultados de la extracción del complejo metilatropina-azul de bromotimol (tabla CXXXIII). El complejo se extrajo desde una fase acuosa tamponada a pH 7,50 con cloroformo. La situación de equilibrio entre ambas fases se ha estudiado a partir de valores de absorbancia en la fase orgánica a 410nm , longitud de onda a la que este complejo presenta su máxima absorción, como se ha discutido anteriormente.

A partir de los resultados experimentales de la tabla CXXXIII se obtiene la fig. 176, en la cual se han representado valores de absorbancia del par iónico extraído frente al tiempo de agitación.

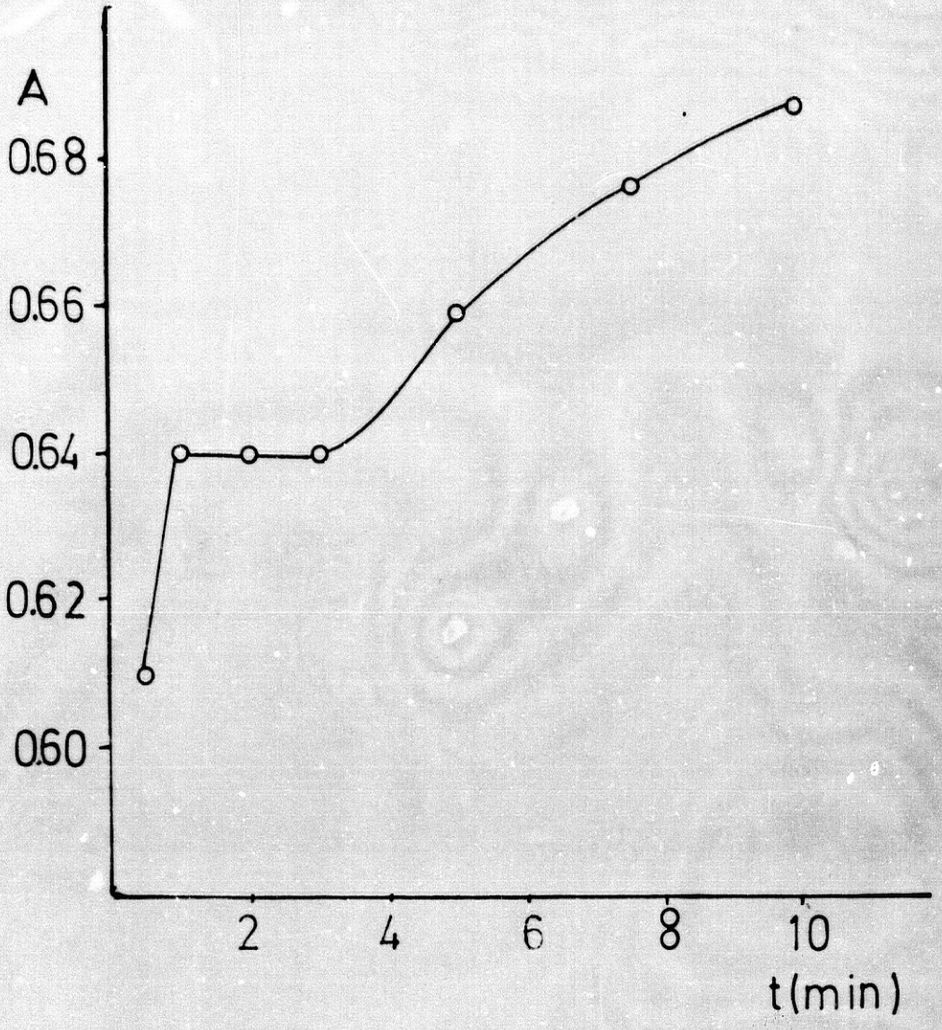


Figura 176. Determinación del tiempo de agitación para alcanzar la situación de equilibrio en la extracción del complejo metilatropina-azul de bromotimol.

En esta figura puede apreciarse que la situación de equilibrio del complejo entre las dos fases se alcanza al minuto de agitación, puesto que a partir de este tiempo se estabiliza la absorbancia en la fase orgánica.

El incremento observado a partir de los cuatro minutos

de agitación debe atribuirse al sistema mecánico empleado que se especifica en la metodología correspondiente a este apartado (3.6.3.2.). Puesto que la agitación se efectuó en tubos de centrífuga que no estaban tapados, y las dos fases se agitaron con un espárrago de teflón, el incremento èn la absorbancia a partir de 4 min. se debe atribuir, sin duda, a la evaporación de la fase orgánica durante la agitación.

Como confirmación de lo expuesto, debe señalarse también, que si no se hubiera alcanzado el equilibrio al minuto de agitación no hubiera aparecido la amplia meseta entre 1 y 4min. que se observa en la figura 176, intervalo de tiempo en que lógicamente el efecto de la evaporación de la fase orgánica es despreciable.

5.6.4. Separación de las fases.

En todas las experiencias realizadas de extracción de complejos de asociación (pares iónicos), entre iones de amonio cuaternario ó aminas con azul de bromotimol, siempre se forma cierta emulsión entre la fase acuosa y la orgánica trás la agitación. Puesto que hay que efectuar medidas de absorbancia en la fase orgánica, es imprescindible purificarla al objeto de que esta quede perfectamente transparente y los resultados obtenidos sean reproductibles.

La mayor parte de los trabajos descritos en la bibliografía, en los que se obtienen complejos en equilibrio entre dos fases, se ofrece especial interés a la purificación de la fase orgánica después de la extracción de los complejos.

Son muchos los métodos descritos para facilitar la obtención de la fase orgánica libre de agua, tales como la filtración con bolas de vidrio ó fibra de vidrio, pero en estos casos siempre hay pérdida de disolvente. También se ha descrito la adición de alcohol a la fase orgánica; aquí el inconveniente es que se adiciona una sustancia extraña. De acuerdo con la bibliografía, el método que proporciona mejores resultados es la centrifugación de las fases (2) (23). Esta es una técnica fácil y sobre todo cómoda , si las experiencias se efectúan en tubos de centrífuga;

así la fase orgánica puede ser extraída totalmente transparente después de la centrifugación, mediante una jeringa provista de aguja de teflón, como se explicó en la metodología.

Además la centrifugación presenta una gran ventaja cuando los complejos son fácilmente adsorbibles en la superficie de separación entre las fases ó en las paredes de vidrio. En estos casos, la centrifugación es la única forma de evitar estos inconvenientes como demuestra Schill en la extracción del complejo azul de bromotimol-metadona (2). Los resultados obtenidos aquí haciéndo uso de esta técnica han sido buenos,como lo demuestra la linealidad obtenida en las titulaciones fotométricas en dos fases con los 25complejos antes descritos en el apartado 5.6.2. (fig. 151-175).

La formación de emulsiones sucede siempre tras la agitación de las fases, siendo en algunos casos más acentuada cuando se están ensayando sustancias tensioactivas. Otro de los factores que favorece la formación de emulsiones son las reacciones laterales con otros cationes presentes en el medio acuoso. También la favorecen la extracción de colorante ó amina libre.

Así,cuando los tampones que mantienen el pH del medio acuoso contienen iones sodio ó potasio, éstos actúan como contra iones del azul de bromotimol y pueden extraerse en la fase orgánica junto con el complejo que se pretende obtener. Si la magnitud de la reacción lateral es grande, se favorece la formación de emulsiones. Más adelante se discutirá la forma de hacer mínimas las reacciones laterales.

Las emulsiones formadas en los complejos aquí obtenidos fueron siempre evitadas mediante la centrifugación, de forma que los resultados se mostraron reproductibles. En la tabla CXXXIV se recogen los diferentes resultados obtenidos,cuando las dos fases son sometidas a centrifugación ó cuando se espera que se separen durante varias horas. La reproductividad de las medidas de absorbancia después de decantar durante tres horas fué baja, como se observa en la curva de calibrado de clorhidrato de atropamina de dicha tabla.En cambio,cuando ambas fases son centrifugadas la reproductividad es total y además los resultados son coherentes.

Como resumen de los anteriormente expuesto se puede indicar