

ESTUDIO CINETICO DE LA DEGRADACION DEL ITOBARBITAL EN BUFER DE TRIS (β - Hidroximetilaminometano).

Por D. Ordóñez Escudero

La descomposición del Itobarbital (ácido 5-alil-5-isobutilbarbitúrico) en disolución acuosa ha sido seguida por H. MAULDING y M. A. ZOCLIO (1), en el intervalo de pH 6,7-13 a varias temperaturas, encontrando que la velocidad de solvolisis no fue notablemente afectada por los ingredientes de los buferes empleados en las condiciones de trabajo. Dada la creciente importancia del empleo de buferes orgánicos en las formulaciones farmacéuticas de barbitales, se hace preciso un estudio cuantitativo de la cinética de descomposición de estos productos en presencia de los mismos. El objeto del presente trabajo, es pues aportar un estudio cinético de la degradación en fase homogénea del Itobarbital por uno de los buferes orgánicos de empleo más frecuente, el β -Hidroxi-metilaminometano (TRIS), a varias temperaturas.

PARTE EXPERIMENTAL

Material y aparatos

El Itobarbital, grado U. S. P., se recrystalizó dos veces antes de su empleo (P. F. 138-139°C), y el resto de los reactivos utilizados han sido de grado analítico.

Las disoluciones fueron analizadas periódicamente en un espectrofotómetro Beckman Modelo DK-2. Los valores del pH de las disoluciones se determinaron con un pH-metro Beckman Modelo Expandomatic estandarizado con bufer de ftalato a la temperatura pertinente (2).

E Trabajo presentado en la XVI Reunión Bienal de la Real Sociedad de Física y Química. Oviedo. Septiembre, 1973.

CONCENTRACION DE ITUBARBITAL COMO UNA FUNCION DEL TIEMPO

Se preparó una disolución «stock» de Itobarbital sódico conteniendo 270 mg. (0,0011 moles) por 100 ml. de agua destilada. Se extrajeron alícuotas de 4 ml. de dicha disolución, colocándolas en matraces volumétricos de 200 ml. que contenían 196 ml. de la apropiada disolución reguladora (pH 8,2-8,6-9,0). La fuerza iónica total fue ajustada a 0,3 con cloruro sódico en cada caso. Las muestras cerradas en ampollas de 20 ml. se mantienen en un baño de agua a temperatura constante (50, 60, 70 \pm 0,2°) siendo la concentración final de barbiturato de 2,2 \cdot 10⁻⁴ M. Los valores del pK₁, a la temperatura del experimento particular, y μ = 0,3 fueron determinados por valoración electrométrica de 0,005 moles de ácido 5-alil-5-isobutylbarbitúrico con 5 ml. de KOH 0,1 N. Los valores aproximados de pK₂ han sido tomados del mejor ajuste de la representación gráfica de log. K frente al pH del trabajo de MAULDING y ZOGLIO.¹

RESULTADOS Y DISCUSION

La descomposición del Itobarbital en el intervalo de pH 8,2-9,0, sigue una cinética de pseudo primer orden bajo las condiciones experimentales señaladas. La reacción se ha seguido por la pérdida de absorbancia del cromóforo en el espectro U. V. como una función del tiempo. La λ_{max} se localizó entre 230 y 250 nm. manteniéndose una pequeña absorbancia residual a $t \rightarrow \infty$ no habiéndose, por otra parte, observado cambio alguno en la localización de la banda de absorción a las distintas temperaturas y pH estudiados. En la figura 1 puede verse un ejemplo típico de la disminución de la absorción con el tiempo.

La representación gráfica del log. de la absorbancia frente al tiempo, empleando la expresión:

$$\log (A - A_{\infty}) = \log (A_0 - A_{\infty}) - \frac{K t}{2,303}$$

donde A_0 es la absorbancia inicial; A_{∞} la absorbancia residual y A la absorbancia a un tiempo t , nos da una línea recta de pendiente k (constante de velocidad aparente de primer orden) que confirma, a su vez, la bondad del método analítico. La tabla I recoge las constantes de velocidad de pseudo primer orden para las diferentes muestras en las distintas condiciones de trabajo.

En orden a separar los diferentes factores que influyen en la degradación, es necesario tener en cuenta las distintas formas en que puede presentarse el Itobarbital en disolución acuosa. Escribiendo los posibles equilibrios que tienen lugar en disolución y empleando el principio de electroneutralidad, se pueden obtener tres ecuaciones en las tres formas del barbiturato, que, relacionándolas entre sí, nos dan para la fracción de la segunda forma iónica:

$$B = \frac{K_1 K_2}{K_1 K_2 + [H^+] + 2 K_1 [H^+]}$$

y utilizando el valor aproximado de K_2 (1), se calcula la fracción de la segunda forma iónica que resultó ser inferior al 2 % a pH 8,2.

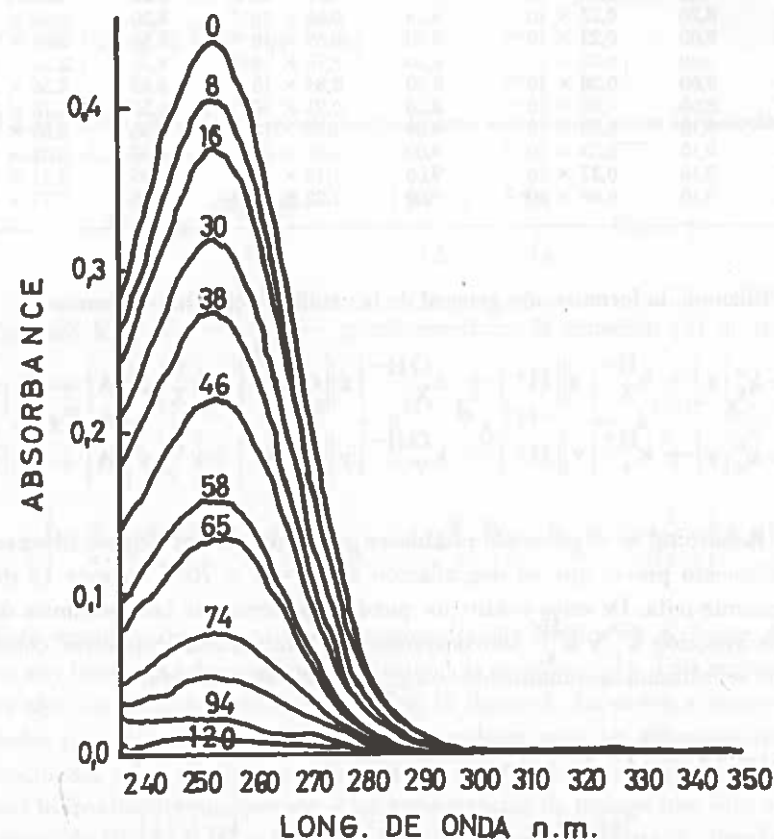


Fig. 1.—Representación gráfica de la absorbancia frente a la longitud de onda a distintos tiempos.

La velocidad de degradación del barbiturato depende de la concentración de la forma no dissociada y de la primera forma iónica, según las consideraciones anteriores; de las cantidades de ácido y base presentes como agentes catalíticos específicos y, finalmente, de la concentración del bufer si éste fuera especie catalítica en la catálisis general de aniones.

TABLA I
Constantes de velocidad de pseudo-primer orden a distintas temperaturas y pH

[TRIS ⁺] M	60°C		70°C		80°C	
	pH 25°C	K días ⁻¹	pH 25°C	K días ⁻¹	pH 30°C	K días ⁻¹
0,027	8,20	0,17 × 10 ⁻²	8,15	0,53 × 10 ⁻²	8,20	1,49 × 10 ⁻²
0,054	8,20	0,18 × 10 ⁻²	8,15	0,55 × 10 ⁻²	8,20	1,69 × 10 ⁻²
0,081	8,20	0,20 × 10 ⁻²	8,15	0,61 × 10 ⁻²	8,20	1,81 × 10 ⁻²
0,108	8,20	0,22 × 10 ⁻²	8,15	0,66 × 10 ⁻²	8,20	2,00 × 10 ⁻²
0,038	8,60	0,23 × 10 ⁻²	8,50	0,69 × 10 ⁻²	8,55	2,06 × 10 ⁻²
0,076	8,60	0,26 × 10 ⁻²	8,50	0,78 × 10 ⁻²	8,55	2,23 × 10 ⁻²
0,104	8,60	0,28 × 10 ⁻²	8,50	0,84 × 10 ⁻²	8,55	2,56 × 10 ⁻²
0,152	8,60	0,30 × 10 ⁻²	8,50	0,91 × 10 ⁻²	8,55	2,78 × 10 ⁻²
0,045	9,10	0,29 × 10 ⁻²	9,00	0,88 × 10 ⁻²	8,95	2,69 × 10 ⁻²
0,090	9,10	0,33 × 10 ⁻²	9,00	1,00 × 10 ⁻²	8,95	3,02 × 10 ⁻²
0,135	9,10	0,37 × 10 ⁻²	9,00	1,13 × 10 ⁻²	8,95	3,31 × 10 ⁻²
0,180	9,10	0,40 × 10 ⁻²	9,00	1,22 × 10 ⁻²	8,95	3,71 × 10 ⁻²

Utilizando la formulación general de la catalisis ácido base tenemos:

$$-v_x = k_x^o [x] + k_x^{H^+} [x][H^+] + k_x^{OH^-} [x][OH^-] + k_x^A [x][A] + k_x^B [x][B] \quad (1)$$

$$-v_y = k_y^o [y] + k_y^{H^+} [y][H^+] + k_y^{OH^-} [y][OH^-] + k_y^A [y][A] + k_y^B [y][B] \quad (2)$$

El Itobarbital es sumamente estable en medio ácido habiéndose observado en un experimento previo que su degradación a pH = 1 y 70°C durante 12 días fue prácticamente nula. De estos resultados puede suponerse que las constantes de velocidad de reacción k_x^o y $k_x^{H^+}$ son despreciables comparadas con otras constantes, pudiendo ser eliminadas juntamente con k_x^A . En términos generales

$$[x] + [y] = [z] \quad y \quad [x] \rightleftharpoons [y] + [H^+]$$

$$K_A = \frac{[H^+][y]}{[x]} = \frac{[H^+][y]}{[z] - [y]} \frac{f_{H^+} [y]}{f_x} \quad (3)$$

y ya que $f_x = 1$, definiendo $f_{H^+} \cdot f_y = f^2$

$$K_A = \frac{[H^+][y]}{[z] - [y]} f^2 \quad \text{despejando } y \quad y = \frac{K_A [z]}{K_A + [H^+] f^2}$$

similarmente $x = \frac{[H^+] f^2 [z]}{K_A + [H^+] f^2}$

poniendo: $-v_x + (-v_y) = -v_z$; haciendo $\alpha = K_A + [H^+] f^2$, y teniendo en cuenta que: $-v_z/[z] = K$ se obtiene:

$$\alpha K = \frac{OH^-}{K_w} K_w f^2 + k_x^B [H^+] [B] f^2 + k_y^o K_A + k_y^{OH^-} K_A [H^+] + \frac{A}{K_Y} K_A [OH^-] + k_y^{OH^-} K_A [A] + k_y^B K_A [B] \quad (4)$$

La ecuación precedente puede simplificarse si consideramos la disociación del bufer por medio de la ecuación:

$$K'_A = \frac{(B)(H^+)}{(A)} = \frac{[B][H^+]}{[A]} \frac{f_{H^+}}{f_A} \quad (f_B = 1)$$

y definiendo $K_{Ao} = \frac{[B][H^+]}{[A]}$ puede escribirse la ecuación (4) de forma:

$$\alpha K = k_y^o K_A + k_x^{OH^-} K_w f^2 + k_y^{H^+} K_A [H^+] + k_y^{OH^-} K_w K_A$$

$$\frac{1}{[H^+]} + \left\{ k_x^B K_A^o f^2 + k_y^A K_A + k_y^B K_A K_A^o \frac{1}{[H^+]} \right\} [A] \quad (9)$$

Esta ecuación demuestra que la representación gráfica de K frente A deberá darnos una línea recta de pendiente m y ordenada en el origen b. Una representación gráfica típica a 60°C y varios pH se da en la figura 2. En orden a interpretar los resultados posteriores es necesario hallar los valores para las diferentes constantes de disociación y los distintos coeficientes de actividad. Las constantes de disociación del hidroximetilaminometano a las temperaturas de trabajo han sido obtenidas del trabajo de BATES, R. G. y PINCHING, G. D. (2). Las constantes de disociación del Itobarbital a 60, 70 y 80°C han sido tomadas del trabajo (1) y la constante de disociación del agua a distintas temperaturas mediante la expresión (3):

$$pK_w = \frac{4470,99}{T} - 6,088 + 0,01706 T$$

Es sabido que la determinación de coeficientes de actividad es una tarea difícil, dado que, las actividades iónicas no están definidas; sin embargo pueden obtenerse valores aproximados con errores poco importantes (4). Los coeficientes de actividad

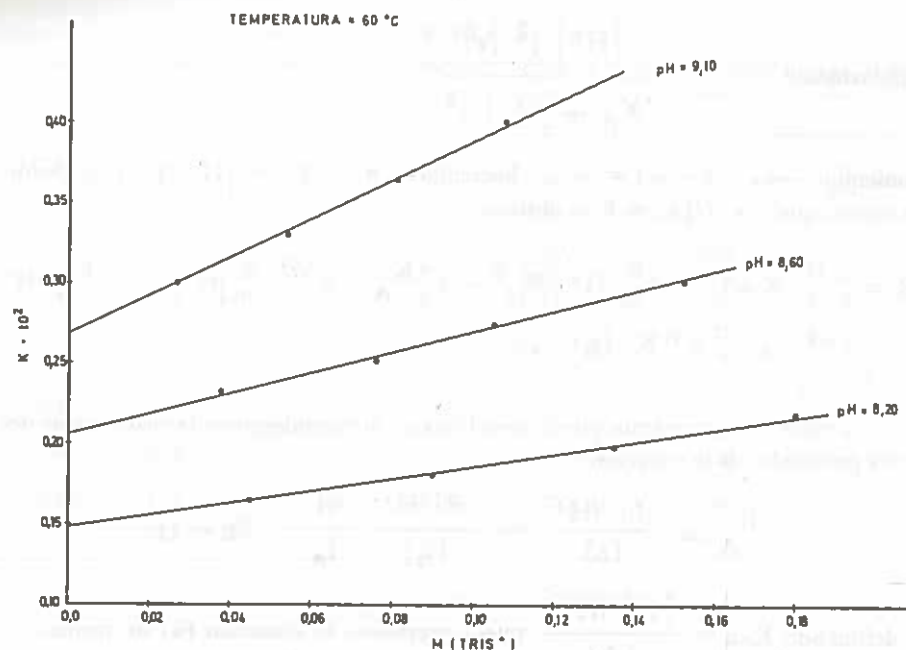


Fig. 2.—Representación de las constantes de velocidad de pseudo-primer orden frente a la concentración molar de TRIS.

para el $|\text{TRIS}^+|$ y $|\text{H}^+|$ se han obtenido de la suposición introducida por MAC INNES (5); y los datos sobre los coeficientes de actividad medios del clorhidrato de TRIS, ClH diluido y H_2O , de la obra de HARNERD, H. S. y OWEN, B. B. (6).

Actuando sobre la ecuación (9) se demuestra que:

$$m = k_x^B K_A o f^2 + k_y^A K_A + k_y^B K_A K_A o \left[\frac{1}{\text{H}^+} \right] \quad (10)$$

$$b = k_y^o K_A + k_x^{\text{OH}^-} K_w f^2 + k_y^{\text{H}^+} K \left[\text{H}^+ \right] + k_y^{\text{OH}^-} K_A K_w \left[\frac{1}{\text{H}^+} \right] \quad (11)$$

La concentración de iones hidrógeno se calcula fácilmente mediante la expresión para la disociación del bufer. En nuestro caso se ha resuelto midiendo un pH a 25°C para, de esta forma, conocer C_B ; entonces, con una C_B conocida, es posible obtener la concentración de ión hidrógeno empleando los valores apropiados de K'_A y los coeficientes de actividad.

La ecuación (11) puede escribirse en la forma

$$Y = k_1 + k_2 \left[\text{H}^+ \right] + k_3 \left[\frac{1}{\text{H}^+} \right] \quad (12)$$

despreciando K_2 a un tiempo con el fin de obtener valores positivos para las otras dos constantes, se obtienen k_1 y k_3 de la ecuación

$$Y = k_1 + k_3 \left[\frac{1}{\text{H}^+} \right] \quad (13)$$

para ello ha sido necesario suponer que $k_y^{\text{H}^+}$ es igual a cero y, por consiguiente, k_y^{A} es también cero; hecho que parece bastante razonable puesto que $k_y^{\text{H}^+}$ y k_y^{A} son cero. La tabla II contiene los valores de k_1 y k_2 . Los valores de $k_x^{\text{OH}^-}$ se calculan también y se dan, así mismo, en dicha tabla. Si bien es cierto que k_1 contiene ambas constantes k_y^o y $k_x^{\text{OH}^-}$, sin embargo dado que $k_x^{\text{OH}^-}$ es mucho mayor que k_y^o , ésta puede ser despreciable. Los valores de $k_x^{\text{OH}^-}$ se dan también en la tabla II.

TABLA II
(Datos procesados con b)

t°C	K_A	K_w	$K_A K_w$	K_1	k_3	r^2
60	$1,78 \times 10^{-8}$	$9,61 \times 10^{-14}$	$1,71 \times 10^{-21}$	$2,28 \times 10^{-11}$	$7,21 \times 10^{-21}$	0,43
70	$2,00 \times 10^{-8}$	$2,41 \times 10^{-13}$	$4,82 \times 10^{-21}$	$11,10 \times 10^{-11}$	$4,33 \times 10^{-20}$	0,42
80	$2,52 \times 10^{-8}$	$2,52 \times 10^{-13}$	$7,81 \times 10^{-21}$	$20,52 \times 10^{-11}$	$9,08 \times 10^{-20}$	0,41

t°C	$k_y^{\text{OH}^-}$ mol ⁻¹ l. día ⁻¹
60	4,21
70	9,98
80	11,62

t°C	K_w r^2	$k_x^{\text{OH}^-}$ mol ⁻¹ l. día ⁻¹
60	$0,41 \times 10^{-13}$	$5,5 \times 10^{-2}$
80	$1,27 \times 10^{-13}$	$20,7 \times 10^2$

Constantes de velocidad de degradación de las formas indisociada e iónica del Itobarbital por iones OH^- .

La ecuación (10) es, despreciando k_y^{A} del tipo

$$Y = k_4 + k_5 \left[\frac{1}{\text{H}^+} \right] \quad (14)$$

los valores de dichas constantes se obtienen por el método de mínimos cuadrados y los valores de k_y^B y k_x^B se calculan a partir de los de dichas constantes. Los valores para las cuatro constantes se dan simultáneamente en la tabla III.

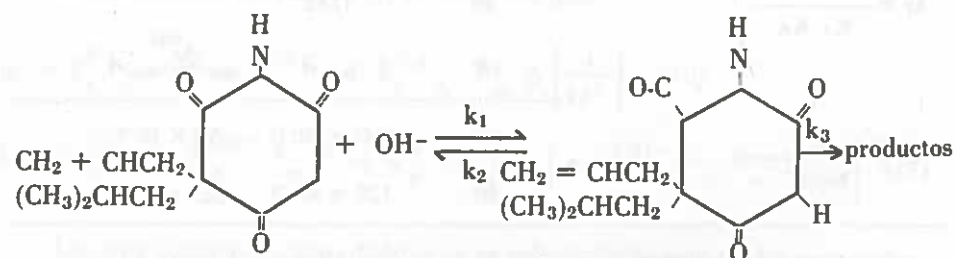
TABLA III
(Datos procesados con m)

t°C	K _A	K ⁰	k ₄	k ₅	f ²
60	1,78 × 10 ⁻⁸	2,28 × 10 ⁻¹⁰	1,61 × 10 ⁻¹²	4,82 × 10 ⁻²¹	0,43
70	2,00 × 10 ⁻⁸	6,19 × 10 ⁻¹⁰	1,12 × 10 ⁻¹¹	2,26 × 10 ⁻²⁰	0,42
80	2,52 × 10 ⁻⁸	6,72 × 10 ⁻¹⁰	2,26 × 10 ⁻¹¹	6,68 × 10 ⁻²⁰	0,41

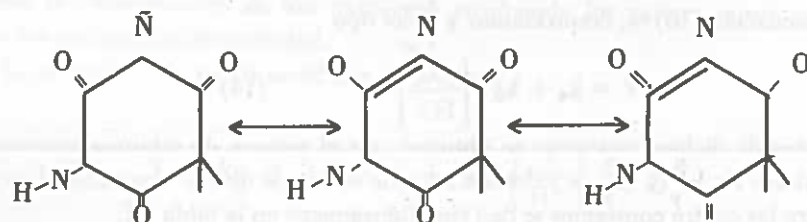
		k_y^B		k_x^B	
		mol ⁻¹ L día ⁻¹		mol ⁻¹ L día ⁻¹	
t°C					
60	$k_y^B = \frac{k_5}{K_A K_A^0}$	1,51 × 10 ⁻³	1,64 × 10 ⁻²		
70	$k_x^B = \frac{k_4}{K_A^0 f^2}$	0,21 × 10 ⁻²	0,43 × 10 ⁻¹		
80		0,46 × 10 ⁻²	0,82 × 10 ⁻¹		

Constantes de velocidad de degradación de las formas indisociada e iónica del Itobarbital por el bufer de TRIS (β-hidroximetilaminometano).

Hay varios aspectos interesantes en la degradación del itobarbital en las condiciones del presente trabajo. El principal de ellos es la falta aparente de catálisis ácida, sorprendente en cierto modo si tenemos en cuenta la hidrólisis ácida de la generalidad de las amidas (7), (8); lo que de una forma general podría explicarse teniendo en cuenta la basicidad extraordinariamente débil del enlace imida. La hidrólisis básica de la forma no ionizada puede formularse a lo largo de las siguientes etapas:



La hidrólisis de la forma ionizada debería ocurrir muy probablemente en la posición 4 (ó 6) debido a la resonancia como se indica en el esquema:



La hidrólisis en esta posición conduciría indudablemente a productos diferentes. Es interesante señalar en relación a estas suposiciones que FRETWERST (9) encuentra que la concentración de diamida como producto de la hidrólisis del barbiturato no ionizado, decrece cuando la concentración de base aumenta. La catálisis por TRIS si no excesivamente importante, es en sí bastante sorprendente, pudiendo explicarse por una reacción similar a la amonolisis de un ester (10). El producto de la reacción sería altamente inestable y el medio de comprobación de su existencia parece en principio difícil de conseguir.

NOMENCLATURA

- x Itobarbital no disociado.
- y Itobarbital disociado.
- z Itobarbital total.
- H⁺ iones hidronio.
- OH⁻ iones hidróxilo.
- A forma ácida del bufer.
- B forma básica del bufer.
- k constantes de velocidad de segundo orden de las distintas reacciones posibles.
- v velocidad de desaparición de las diversas formas.
- K constantes de velocidad de pseudo primer orden.
- f coeficiente de actividad de las distintas formas.
- () notación de concentración.
- | | notación de actividad.

RESUMEN

Se ha estudiado la degradación del Itobarbital (ácido 5-alil-5-isobutilbarbitúrico) en disolución acuosa de bufer de TRIS a varios pH. Las distintas especies que toman parte en las reacciones paralelas que conducen a su descomposición han sido tenidas en cuenta a través de las diferentes constantes de equilibrio; y a partir de ellas se han calculado las correspondientes constantes de velocidad de segundo orden. Finalmente se postula como mecanismo posible de la degradación la reacción correspondiente a la conocida hidrólisis de amida.

RESUME

On a étudié la dégradation de l'Itobarbital (acide 5-alil-5-isobutyl-barbiturique) dans une dissolution aqueuse de buffer de TRIS à plusieurs pH. Les différentes espèces qui participent dans des réactions parallèles qui conduisent à sa décomposition ont été considérées à travers les différentes constantes d'équilibre et

à partir d'elles on a calculé les constantes de vitesse de deuxième ordre correspondantes. Finalement, on postule comme mécanisme possible de la dégradation la réaction correspondante à l'hydrolyse d'amide déjà connue.

SUMMARY

The kinetics of the degradation of Itobarbital in an buffer TRIS have been studied. The various species taking part in the parallel reactions leading to decomposition have been into account by means of equilibrium constants and, from the this, the various second-order rate constants have been calculated. A possible mechanism for the reaction corresponding to known amide hydrolysis mechanisms is postulated.

BIBLIOGRAFIA

1. MAULDING, H. V. y ZOGLIO, M. A. (1971): *J. Pharm. Sci.* Vol. 60, pág. 40.
2. BATES, R. G. y PINCHING, C. D. (1949): *J. Res. nat. Bur. Stand.* Vol. 43, pág. 519.
3. HARNED, H. S. y QWEN, B. B. (1950): «The Physical Chemistry of Electrolytic Solutions». Reinhold Publishing Corp. Pág. 492.
4. BATES, R. G. (1954): «Electrometric pH Determinations» John Wiley Sons, Inc. New York. Pág. 39.
5. KRAHL, M. E. (1940): *J. Phys. Chem.* Vol. 44, pág. 449.
6. HARNED, H. S. y OWEN, B. B. (1950): «The Physical Chemistry of Electrolytic Solutions» Reinhold Publishing Corp. New York. Apéndice.
7. BENDER, M. L. y GINGER, R. D.: *J. Am. Chem. Soc.* (1955), Vol. 77, pág. 348.
8. MARCUS, A. D. y BARON, S.: *J. Am. Pharm. Assoc.* (1959), Vol. 48, pág. 85.
9. FRETWURST, F. (1948): *Arzneimittel-Forsch.* Vol. 8, pág. 44.
10. HINE, J.: «Physical Organic Chemistry», Mac Graw-Hill Co. INC. New York. 1956, pág. 295.