

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO			
RAD: 10-2343- -17	FECHA: 2014-02-25 17:25:27		
DEP: 2020 DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES	EVE: 378 FASE NACIONAL INCLUIDO CAPITULO I		
TRA: 11 PCT-PATENTE DE INVENCION CAPITULOS I Y II	FOLIOS: 6		
ACT: 519 PRESENTACION			

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

2020
Bogotá, D.C.,

Abogado(a)/Señor(a)
CARLOS REINALDO OLARTE GARCIA

Asunto: Radicación: 10-2343- -17
 Trámite: 11
 Evento: 378
 Actuación: 519
 Oficio: 2429
 Folios: 6

Patente de Invención	X			Patente de Modelo de Utilidad	
Vía Nacional					
Vía PCT (Fase Nacional)	X	Capítulo I	X	Capítulo II	
No. Solicitud Internacional	PCT/EP2008/059016				
Fecha de Presentación Internacional	10/07/2008				

Como resultado del examen de fondo realizado, con fundamento en el Artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se comunica:

1. Documentos estudiados

Descripción:	Radicado No. 10-002343-00000-0000	12/enero/2010
Reivindicaciones:	Radicado No. 10-002343-00000-0000	12/enero/2010
	Radicado No. 10-002343-00003-0000	28/mayo/2010
	Radicado No. 10-002343-00010-0000	6/marzo/2013
	Radicado No. 10-002343-00014-0000	28/junio/2013
Oposiciones:	Radicado No. 10-002343-00004-0000	Synthesis S.A.S 19/julio/2011
Respuesta del solicitante:	Radicado No. 10-002343-00006-0000	28/noviembre/2011
	Radicado No. 10-002343-00010-0000	5/marzo/2013
	Radicado No. 10-002343-00014-0000	28/junio/2013
Prioridad:	EP 07112381.4	12/julio/2007

2. Análisis de la Prioridad

Se acepta la reivindicación de prioridad porque ésta solicitud fue presentada dentro del plazo establecido (Art. 9 D 486) y su contenido técnico corresponde con el de la prioridad reivindicada.

3. Objeto de la invención

De acuerdo con lo establecido en el numeral 1.2.2.2 del capítulo primero del Título 10 de la Circular Única para efectos del examen de patentabilidad, se tendrá en cuenta la tasa pagada por el solicitante al momento de comenzar el examen para las reivindicaciones adicionales; esto es que cuando la solicitud contenga más de diez (10) reivindicaciones y no se haya pagado la tasa complementaria, sólo se estudiarán las cubiertas por la tasa pagada. En el presente caso, se tiene en cuenta la totalidad del nuevo capítulo reivindicatorio (Radicado No. 10-002343-00014-0000) para el examen de patentabilidad.

Título de la solicitud: "SOLUCIONES FARMACÉUTICAS ORALES QUE CONTIENEN TELBUVIDINA".

El problema planteado en esta solicitud consiste en la necesidad de suministrar soluciones farmacéuticas para administración oral que comprendan telbivudina que permita un sabor agradable, estabilidad y crecimiento microbiano retardado.

Para resolver este problema técnico la solicitud en estudio proporciona una composición que comprende telbivudina, sacarina de sodio, un saborizante soluble, ácido benzoico o metil parabeno sódico y propil parabeno sódico y regulador de citrato.

El objeto de la presente solicitud se relaciona con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP): A61K31/513; A61K9/08.

4. De la solicitud de patente

Reivindicaciones (Art 30 D 486, Art 22 PCT)

La reivindicación 1 carece de concisión, toda vez que reclama un número indeterminado de soluciones, puesto que no se establecen los porcentajes de los excipientes presente en la misma y las cualidades de estos, igualmente, la solicitud carece de información que permita evidenciar que a partir de cualquiera de las combinaciones reivindicadas se resuelvan los problemas de sabor, estabilidad y crecimiento microbiano planteados por la solicitante, más aun teniendo en cuenta que la solicitante en la descripción evidencia en la prueba de eficacia de conservación (Pág. 9), que no cualquier tipo de solución satisface los criterios de eficiencia de conservación (conservación de la solución de los microbios). Por otra parte, esta reivindicación no especifica las concentraciones de ácido benzoico y condiciones en que este es eficaz, lo cual según la descripción es esencial para solucionar el problema técnico ya que como lo indica la solicitante con los datos de prueba del límite microbiano, se demuestra un crecimiento microbiano en las formas orales de telbivudina conservadas con ácido benzoico a un pH mayor de 5, es importante tener en cuenta que dicho pH es logrado mediante el buffer de citrato, lo cual debe considerarse como una característica esencial de la solicitud. Por consiguiente, el ácido benzoico conservador en una solución oral de telbivudina es más eficiente a un pH de 4, en especial con respecto al crecimiento de hongos. Se sugiere a la solicitante realizar una generalización racional del alcance de la materia reclamada, con fundamento en la materia ejemplificada y ensayada que incluya todos los aspectos esenciales y parámetros que en realidad son los que permiten dar solución al problema técnico con fundamento en los resultados de los ensayos proporcionados en la solicitud.

La reivindicación 1 carece de claridad porque utiliza la expresión “cuando menos un sabor soluble”, sin embargo, no se especifica en qué tipo de solvente es soluble el sabor, por otra parte, la descripción habla de agentes mejoradores/enmascaradores de sabor (Págs. 5 y 6), en lo que tiene que ver con el sabor soluble la solicitud tan solo divulga 3 agentes que corresponden a fruta de la pasión, fresa y cereza. Por otra parte, la solicitud carece de información que permita establecer las ventajas o el efecto de combinar más de dos agentes mejoradores de sabor o un sabor soluble ya que las composiciones ensayadas de la Tabla 1 tan solo comprenden los edulcorantes aspartame y sacarina de sodio. Por otra parte, tampoco es claro el efecto del saborizante fruta de la pasión de la reivindicación 11 ya que no se encuentra comprendido en ninguno de los ejemplos ensayados.

Las reivindicaciones 2, 3 y 11 se encuentran comprendidas dentro del alcance de la reivindicación 1 ya que se refieren a características particulares de algún elemento de la reivindicación 1, o a modalidades preferidas de la composición reclamada en la reivindicación 1 y por lo tanto se requiere a la solicitante para que genere dependencia de las reivindicaciones 2, 3 y 11 a la reivindicación 1.

La reivindicación 4 utiliza la expresión “aproximadamente” la cual es imprecisa, por lo cual no permite distinguir la invención del estado de la técnica. Se sugiere sustituirlo por un término preciso o un rango concreto.

La reivindicación 5 hace referencia a “las reivindicaciones anteriores”, sin embargo, la reivindicación 4 que es anterior no hace referencia a sacarina de sodio, la cual es el objeto de la reivindicación 5, por lo tanto se sugiere a la solicitante ajustar las dependencias. Lo mismo para las reivindicaciones 6 y 9 que dependen de reivindicaciones que no tratan de manera puntual sobre el objeto de estas.

5. Análisis de la Oposición

Argumentaciones de Laboratorio Synthesis S.A.S

Dice la opositora que la presente solicitud carece de novedad y nivel inventivo con base en lo divulgado en el documento US 2004087541 (D1), el cual revela composiciones líquidas para administración oral que contienen telbivudina en forma de jarabe con edulcorantes, preservativos y saborizantes.

Respuestas del Solicitante

Frente a las observaciones y el documento presentado con la oposición la solicitante argumenta que las composiciones contenidas en el documento D1 no revelan todas y cada una de las características técnicas esenciales de las composiciones reivindicadas y por lo tanto, dicho documento no afecta la novedad de la presente solicitud y que al incluir la combinación específica de componentes, tampoco afecta el nivel inventivo de la presente solicitud.

Respuesta del Examinador Técnico

En lo referente a los argumentos de la sociedad Synthesis se puede apreciar que el documento D1 enseña composiciones que comprenden telbivudina en forma de jarabe que contiene agente endulzante y ciertos preservativos, colorantes y saborizante, las cuales sugieren ciertos aspectos de la materia que se pretende proteger.

En cuanto a la respuesta del solicitante, queda claro que las composiciones reclamadas presentan diferencias con respecto a lo divulgado en el documento D1,

sin embargo, los argumentos de la solicitante no evidencian las razones que alejan el objeto de la materia reivindicada de lo divulgado en D1.

En conclusión, esta Superintendencia encuentra que el documento entregado por la sociedad Synthesis es relevante y afecta el nivel inventivo de la presente solicitud.

6. Determinación del Estado de la Técnica

El estado de la técnica se determinó con base en la fecha de presentación de la solicitud de prioridad: marzo 15 de 2001 y se encontraron los siguientes documentos que anticipan el objeto de esta solicitud:

Ítem	Documento	Título	Fecha de Publicación
D1	US2004/0087541	"CRYSTALLINE AND AMORPHOUS FORMS OF BETA-L-2'-DEOXYTHYMIDINE"	6/mayo/2004
D2	J. Soc. Cosmet. Chem.,23, 495-506 (Sept. 1974)	"KINETICS OF DEGRADATION OF THE PARABENS"	1974

El documento D1¹ divulga una composición farmacéutica que comprende 2'-deoxi-L-timidina. La composición es útil para administración oral en forma líquida (Pág. 9, col. 1, Párr. [0139]).

Por su parte, el documento D2² enseña el efecto del pH en la estabilidad del propil y metil parabeno (Resumen).

7. Examen de Patentabilidad (Art 14 D486)

Nivel inventivo (Art18 D486)

La reivindicación 1 consiste en una solución oral que comprende telbivudina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D1	D2
Una solución oral que comprende:	Una solución para administración oral que comprende: (Pág. 9, Párr. [0139])	No lo divulga.
20 a 50 miligramos/ mililitro de telbivudina	Telbivudina	No lo divulga
Sacarina de sodio	Sacarosa (Párr. [0146])	No lo divulga
Cuando menos un sabor soluble	Saborizantes (Párr. [0146])	No lo divulga
Ácido benzoico o metil-parabeno sódico y propil-parabeno sódico	Conservante (Párr. [0146])	Establece el efecto del incremento del pH en la degradación de los parabenos. (Págs. 499 y 500)
Regulador de citrato	No lo divulga.	

Los documentos D1 y D2 se consideran el estado de la técnica cercano a la invención definida en la reivindicación 1 porque:

1[]URL:http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?bcId=0&locale=en_EP&return=true&FT=E&CC=US&NR=2004087541&KC=
2[]URL:http://journal.scconline.org/abstracts/cc1974/cc025n09/p00495-p00506.html

El documento D1 enseña que la telbivudina puede ser administrada oralmente en forma líquida como mediante un elixir, suspensión o jarabe. Dicho jarabe puede contener sacarosa como edulcorante, ciertos preservantes, colorantes y saborizantes (Pág. 11, línea 23 a Pág. 12, línea 26).

La diferencia entre la invención, definida en la reivindicación 1 y la composición divulgada en D1, consiste en que la anterioridad no establece la presencia del regulador de citrato en un pH entre 4 y 5.

Esta diferencia permite obtener una solución más eficiente en el control de crecimiento de microorganismos, particularmente hongos como se evidencia en la prueba de eficacia de conservación.

El problema técnico objetivo de esta solicitud consiste en la necesidad de una formulación alternativa con mejor actividad antimicrobiana.

Sin embargo, el documento D2 enseña que los parabenos pueden hidrolizarse más rápidamente al incrementarse el pH del medio en que se encuentran, lo que de manera evidente se reflejaría en una disminución en la capacidad inhibitoria del crecimiento de microorganismos de estos agentes (Págs. 499 y 500). De acuerdo con lo establecido en el documento D2 cuando el parabeno se encuentra en un pH entre 2.75 y 5.49, la concentración de estos agentes en la solución se mantiene estable, mientras que a pH superiores se evidencia un incremento en la velocidad de hidrólisis de este agente. Por lo tanto, es evidente que se requiere la presencia de un buffer que controle el pH de la solución que comprende parabenos en un valor inferior a 5 con la finalidad de retardar la hidrólisis de este agente y prolongar la capacidad inhibitoria del crecimiento de microorganismos que poseen los mismos.

En consecuencia, la persona del oficio normalmente versada en la materia, incluiría un buffer que mantenga el pH en un valor inferior a 5 como lo indica el documento D2 en la composición divulgada en el documento D1 para así lograr incrementar la estabilidad de los parabenos y retardar el crecimiento microbiano. Por lo cual la invención de la reivindicación 1 se considera obvia.

De manera que la solución propuesta por esta solicitud en la reivindicación 1 y en las reivindicaciones 2 a 11 es obvia y no tiene nivel inventivo.

8. Conclusión

Los requisitos de Patentabilidad de la presente solicitud están afectados así:

Ítem	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	US2004/0087541	1 – 11	Nivel inventivo
D2	J. Soc. Cosmet. Chem.,23, 495-506 (Sept. 1974)	1 – 11	Nivel inventivo

En cumplimiento del artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le indica que debe dar respuesta dentro del término de sesenta (60) días contados a partir del día siguiente de la fecha de notificación de la presente comunicación. En caso de no dar respuesta al presente requerimiento, o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, se denegará la patente.

Se invita al solicitante se sirva indicar, si así lo considera, su renuncia al término faltante de sesenta (60) días para dar respuesta a este requerimiento y presentarla por escrito.

Finalmente, se le recuerda al solicitante que si como respuesta a este requerimiento llegara a modificar el capítulo reivindicatorio y éste contenga más de diez (10) reivindicaciones, no pagará la tasa de modificación voluntaria pero sí la correspondiente al pago por reivindicación adicional.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No. 10 de 2001.



JOSÉ LUIS SALAZAR LÓPEZ
Director de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista, de fecha 2014-03-04

Elaboró: Moncaleano Prado Juan David

Revisó: Consuelo Leguizamon Leguizamon

Kinetics of Degradation of the Parabens

SEYMOUR M. BLAUG, Ph.D.,* and DONALD E. GRANT, Ph.D.†

Synopsis—The effect of pH and TEMPERATURE on the HYDROLYSIS of methyl, ethyl, propyl, and *n*-butyl PARABEN was studied at 70°C in 0.1M phosphate buffer solutions at ionic strength 0.3 from pH 2.75 to 9.16 and at 40° and 50°C at pH 9.16. The REACTION was first order with respect to paraben. ENERGIES OF ACTIVATION were determined from Arrhenius plots. RATE CONSTANTS and HALF-LIVES of each paraben at 25°C were obtained by extrapolation of the Arrhenius plots.

The half-life of each paraben at 70°C and pH 8.24 was essentially independent of the initial concentration of paraben. Increasing ionic strength resulted in a slight increase in the rate of hydrolysis of each paraben. Increasing the phosphate concentration in buffer solutions at pH 8.24 at 70°C produced an increase in the rate of hydrolysis of each paraben. This indicated that the parabens undergo general base catalysis and that hydroxyl ion is not the only species that can catalyze their hydrolysis.

INTRODUCTION

The parabens have been reported to be stable, and to show no hydrolysis under conditions of heat sterilization (2 hours at 100°C or 0.5 hour at 120°C) at a pH range of 3–8 (1). Pekkarinen and Tommila (2) studied the alkaline hydrolysis of ethyl esters of para and meta hydroxybenzoates in potassium hydroxide solution, and in various organic solvents. They concluded that the hydrolysis takes place solely as a reaction between the ester ion and the hydroxide ion. Other authors found that the methyl ester of *p*-hydroxybenzoic acid is hydrolyzed at high temperature and in strongly acid solution (3). Ravel and Parrott (4) studied the hydrolysis of methyl paraben in aqueous solutions at temperatures of 70–85°C in a pH range of 6–9.

* University of North Carolina, School of Pharmacy, Chapel Hill, N.C. Investigation was conducted at University of Iowa, Iowa City, Iowa 52242.

† Beecham-Massengill Pharmaceuticals, Bristol, Tenn.

Methyl, ethyl, propyl, and butyl paraben are widely used in many types of pharmaceutical preparations such as ophthalmic, oral, and topical dosage forms and in cosmetic creams and lotions. They are used singly or in combination with one another. Mixtures of the parabens have been shown to be more effective as preservatives than the individual parabens (5, 6). Their hydrolysis yields *p*-hydroxybenzoic acid, which possesses little preservative activity. It was the purpose of this investigation to study the stability of the esters of *p*-hydroxybenzoic acid over pH range of 3–9 and various temperatures.

EXPERIMENTAL

Reagents and Apparatus

Reagents used were *p*-hydroxybenzoic acid (mp 213–214°C), methyl paraben (mp 126–128°C), ethyl paraben (mp 116–117°C), propyl paraben (mp 95–97°C), and *n*-butyl paraben (mp 73°C), all recrystallized from hydroalcoholic solution; also, sodium hydroxide, monobasic potassium phosphate, potassium chloride, phosphoric acid, and chloroform, all AR grade.

All pH's were measured using a Beckman model H-2 pH meter* and spectra were obtained with a Beckman DU spectrophotometer* with 1-cm quartz cells. A constant temperature bath with a Haake thermoregulator, series ED,† with a thermometer calibrated to 0.1°C was used for all the studies.

Procedure

Preparation of Buffers

The buffers used in this investigation were prepared from monobasic potassium phosphate solutions of desired molarity which were adjusted to the desired pH with sodium hydroxide pellets and phosphoric acid. Buffers were adjusted to constant ionic strength of either 0.3, 0.6, 0.9, or 1.2 by the addition of potassium chloride. All buffers were prepared at 25°C. Since the studies were conducted at elevated temperatures, the pH of the buffers at those temperatures would be different from the pH determined at 25°C. The pH values of the buffers were calculated using the ion product of water at the various temperatures of the study, 40°, 50°, and 70°C. For example, a buffer of pH 9 at 25°C would have a calculated pH of 8.24 at 70°C. The pK_w of water at 70°C is 12.82 (7, 8).

Calibration Curves for the Parabens

For each of the parabens studied, calibration curves were prepared using chloroform as the solvent. The optical density of each paraben dilution was

*Beckman Instruments, Fullerton, Calif.

†Gebrüder Haake, Berlin, Germany.

determined at 253 nm, the wavelength of maximum absorbance, using chloroform as the blank. A Beer's law relationship was obtained for methyl, ethyl, propyl, and *n*-butyl paraben in chloroform at 253 nm.

Method of Analysis

The following general procedure was developed and used for studying the effects of various factors, i.e., pH, temperature, ionic strength, on the rate of hydrolysis of the parabens.

An accurately weighed quantity of paraben was added to a 100-ml volumetric flask and dissolved in a small volume of appropriate buffer solution with the aid of heat. The solution was diluted to volume with the buffer solution which had been preheated to the temperature at which the particular analysis was made. The flask was placed in a constant temperature circulator bath that had been previously adjusted to the desired temperature ($\pm 0.1^\circ\text{C}$). The solution was allowed to thermally equilibrate for 10 min, then a 5-ml aliquot, representing the zero hour sample, was withdrawn and transferred to a separatory funnel which contained 20 ml of chloroform. At pH 9.0, *p*-hydroxybenzoic acid (pK_a 4.48) exists as a salt which remained in the aqueous phase when the solution was extracted with chloroform. Complete extraction of the undecomposed paraben was accomplished using 3 x 20 ml of chloroform extractions. The combined chloroform extracts were filtered into a 100-ml volumetric flask through filter paper that had been previously wetted with chloroform. The solution was diluted to volume with chloroform, and the absorbance was determined at 253 nm using chloroform as the blank. Samples were removed at definite time intervals and analyzed by this procedure.

Since *p*-hydroxybenzoic acid is the major degradation product of hydrolysis of the parabens (1, 9), mixtures containing known concentrations of methyl, ethyl, propyl, and *n*-butyl paraben and *p*-hydroxybenzoic acid were prepared. The ester concentration in each mixture was determined using the extraction procedure previously described. The per cent recovery of the parabens alone and in combination with varying concentrations of *p*-hydroxybenzoic acid is shown in Table I. The initial concentration of each paraben in all subsequent studies was 5 mg/l.

pH and Temperature Effects

In order to study the effect of pH and temperature on the rate of hydrolysis of methyl, ethyl, propyl, and *n*-butyl paraben, the reactions were carried out at three temperatures in buffer solution as follows: 70°C —pH 2.75, 3.66, 4.58, 5.49, 6.41, 7.33, 8.24, and 9.16; 50°C —pH 9.16; 40°C —pH 9.16. Reactions were carried out for a maximum of 160 hours, and all aliquots were analyzed using the extraction procedure described above.

Table I
Recovery of Paraben from a Mixture of Paraben and *p*-Hydroxybenzoic Acid

Composition of Mixture (mg/l.)		Amount of Paraben Found (mg/l.)	% Recovery
Paraben	Acid		
Methyl Paraben			
503	0.00	4.95	98.4
4.02	1.03	4.05	100.7
3.02	2.06	3.00	99.3
2.01	2.58	2.03	100.9
1.01	5.16	0.98	97.0
Ethyl Paraben			
4.66	0.00	4.70	100.9
3.73	1.03	3.70	99.2
2.80	2.06	2.77	98.9
1.86	2.58	1.85	99.5
0.93	5.16	0.95	102.2
Propyl Paraben			
5.31	0.00	5.40	101.7
4.25	1.03	4.22	99.3
3.19	2.06	3.20	100.3
2.12	2.58	2.10	99.1
1.06	5.16	1.07	100.9
<i>n</i> -Butyl Paraben			
5.29	0.00	5.30	100.2
4.23	1.03	4.12	97.4
3.17	2.06	3.17	100.0
2.12	2.58	2.05	96.7
1.06	5.16	1.10	103.8

Effect of Paraben Concentration

Solutions of methyl, ethyl, propyl, and *n*-butyl paraben were prepared at 70°C in 0.0005–0.20*M* phosphate buffer at pH 8.24 and constant ionic strength of 0.3, and the hydrolysis was followed at 70°C in the manner previously described.

Effect of Ionic Strength

The effect of ionic strength on the hydrolysis of the parabens was investigated by studying the hydrolytic rate, at 70°C, of paraben solutions in 0.1*M* phosphate buffer at pH 8.24. The buffers were adjusted to ionic strengths of 0.3, 0.6, 0.9, and 1.2 by the addition of potassium chloride. The effect of buffer concentration on hydrolytic rate was also studied by following the hydrolysis at 70°C in 0.005–0.20*M* phosphate buffer at pH 8.24 and constant ionic strength of 0.6.

RESULTS AND DISCUSSION

All of the rate constants were calculated from the first-order rate equation. The slopes of the lines were calculated by regression analysis using an electronic calculator.*

The effect of pH and temperature on the hydrolysis of the parabens was studied at 3 temperatures and at pH values ranging from 2.75–9.16. The calculated values of the rate constants and half-lives at different pH values and temperatures are summarized in Tables II and III. Typical plots showing the hydrolysis of ethyl paraben at 70°C and various pH values and at various temperatures at pH 9.16 are shown in Figs. 1 and 2. These plots indicate that the reaction was first order with respect to ethyl paraben since straight lines were obtained when the log of concentration was plotted against time, which was true for each paraben studied. The reaction overall would be pseudo-first order since the concentration of water can be regarded as constant.

As shown in Tables II and III and in Figs. 1 and 2, as the pH and temperature increase, the rate of hydrolysis of the parabens increases. One would expect *n*-butyl paraben to have a lower rate constant than propyl paraben, yet the data shown in Tables II and III show an increase in the rate constants for

*Wang model 360K/362K, Wang Laboratories, Inc., Tewksbury, Mass.

Table II
Specific Rate Constants and Half-life Periods for the Hydrolysis of Parabens at 70°C in 0.1M Phosphate Buffer, Ionic Strength 0.3, at Various pH Values

Paraben	pH	$k \times 10^3$ (hours ⁻¹)	$t^{1/2}$ (hours)
Methyl	9.16	30.63	22.6
	8.24	17.80	38.9
	7.33	10.24	67.6
	6.41	2.710	255.0
	5.49	0.414	1673.0
Ethyl	9.16	8.877	78.1
	8.24	7.667	90.4
	7.33	6.540	106.0
	6.41	1.203	576.0
Propyl	9.16	7.163	96.7
	8.24	5.982	120.0
	7.33	4.238	164.0
	6.41	0.568	1218.0
<i>n</i> -Butyl	9.16	9.391	73.8
	8.24	6.387	109.0
	7.83	4.580	151.0
	6.41	1.153	601.0

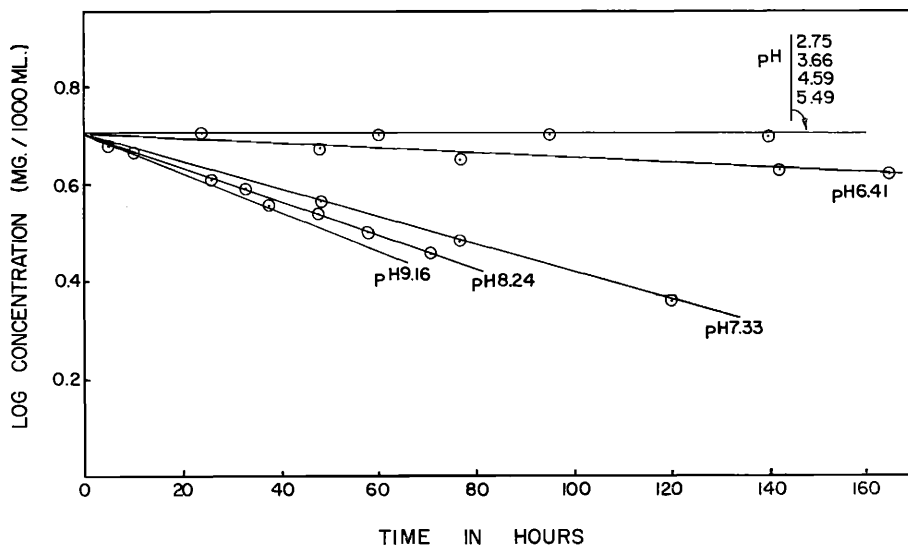


Figure 1. Log of concentration of ethyl paraben against time at 70°C in 0.1M phosphate buffer, ionic strength 0.3, at various pH values

Table III
Specific Rate Constants and Half-life Periods for the Hydrolysis of Parabens at Various Temperatures in 0.1M Phosphate Buffer, pH 9.16, and Ionic Strength 0.3

Paraben	Temperature (°C)	$k \times 10^3$ (hours ⁻¹)	$t^{1/2}$ (hours)
Methyl	40	1.941	356.0
Ethyl	40	0.735	943.0
Propyl	40	0.529	1310.0
<i>n</i> -Butyl	40	0.536	1292.0
Methyl	50	5.776	120.0
Ethyl	50	1.752	396.0
Propyl	50	1.205	575.0
<i>n</i> -Butyl	50	1.347	515.0
Methyl	70	30.63	22.6
Ethyl	70	8.877	78.1
Propyl	70	7.163	96.7
<i>n</i> -Butyl	70	9.391	73.8

n-butyl paraben, at the pH's and temperatures used in this study, when compared to the values obtained for propyl paraben. At 70°C in 0.1M phosphate buffer at pH 9.16, *n*-butyl paraben hydrolyzed faster than ethyl and propyl parabens. This phenomenon is difficult to explain since there is little difference between the activation energies of the parabens at pH 9.16, as shown in

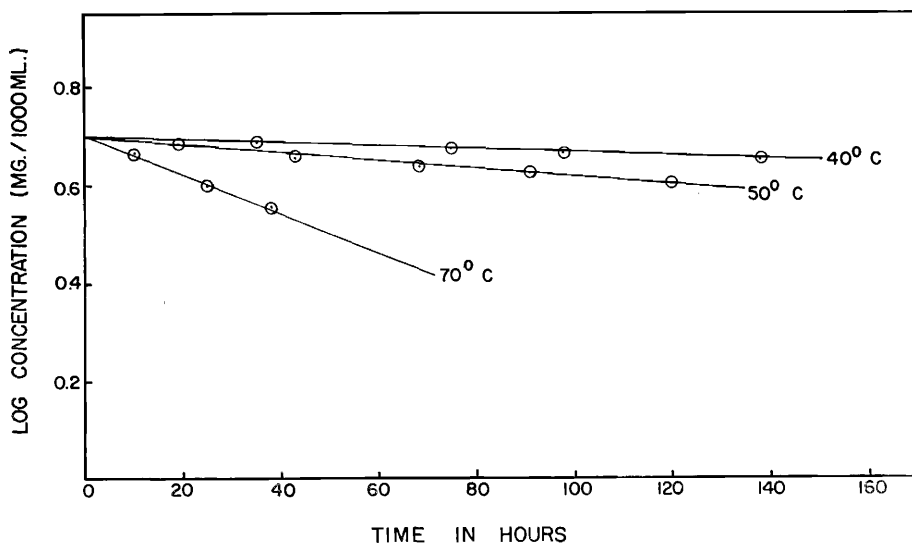


Figure 2. Log of concentration of ethyl paraben against time at various temperatures in 0.1M phosphate buffer, pH 9.16, and ionic strength 0.3

Table IV
Energies of Activation of the Parabens as Determined from the Slopes of the Arrhenius Plots at pH 9.16 in 0.1M Phosphate Buffer and Ionic Strength 0.3

Paraben	Energy of Activation (kcal/mole)
Methyl	20.8
Ethyl	18.7
Propyl	19.3
n-Butyl	21.0

Table IV. It is difficult to rationalize a change in the mechanism of hydrolysis for a simple ester of *p*-hydroxybenzoic acid.

The effect of temperature on the reaction rate can be expressed using the Arrhenius equation (10). Plots of $\log k$ versus $1/T$ yielded a straight-line relationship with a negative slope for each of the parabens studied, as shown in Fig. 3 for ethyl paraben. This indicates that the mechanism for the degradation of the parabens does not change with temperature at pH 9.16. Energies of activation for each paraben are shown in Table IV. These values are in good agreement with literature values for the hydrolysis of simple esters such as methyl acetate and ethyl benzoate as reported by Newling and Hinshelwood (11). By extrapolating the Arrhenius plots of each paraben to 23°C, rate constants and half-lives were predicted, as shown in Table V. It is valid to fol-

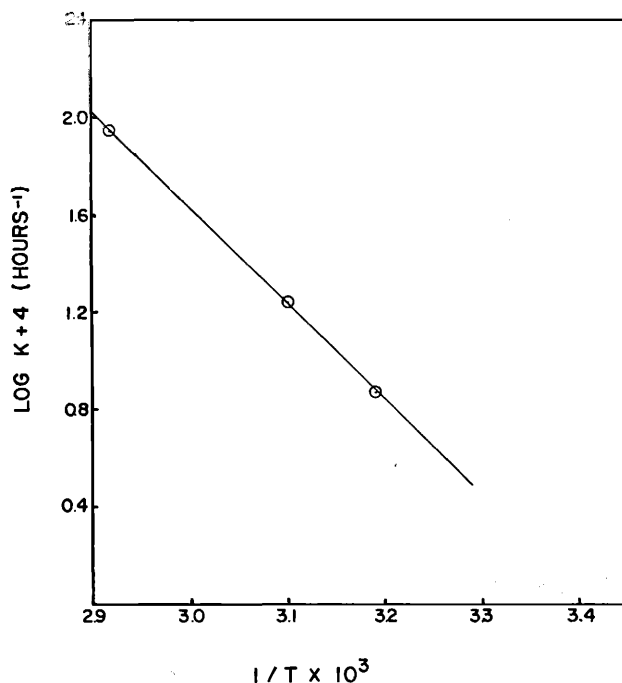


Figure 3. Arrhenius plot showing temperature dependence of the ethyl paraben hydrolysis at pH 9.16 in 0.1M phosphate buffer and ionic strength 0.3

Table V
Specific Rate Constants and Half-life Periods for the Hydrolysis of Parabens at 25°C in 0.1M Phosphate Buffer, pH 9.16 and Ionic Strength 0.3, as Calculated from Arrhenius Plots

Paraben	$k \times 10^4$ (hours ⁻¹)	$t^{1/2}$ (hours)
Methyl	4.015	1726
Ethyl	1.514	4577
Propyl	1.122	6176
<i>n</i> -Butyl	1.096	6323

low the extrapolated value for the rate constant if the experimental activation energy falls within a range of 10–30 kcal/mole (12, 13).

Although data already obtained showed that the reaction of the parabens at constant hydrogen ion concentration was first order with respect to paraben, this first-order dependency was further verified by a study of the effect of initial paraben concentration on the hydrolysis rate. The results shown in Table VI indicate that for each paraben studied between concentrations of 4–7 mg/l, the rate constants were essentially independent of the initial concentration of paraben.

Table VI
Effect of Paraben Concentration on the Specific Rate Constants at 70°C in
0.1M Phosphate Buffer, pH 8.24, and Ionic Strength 0.3

Paraben	Initial Concentration (mg/l.)	Rate $\times 10^3$ (hours ⁻¹)
Methyl	6.90	16.86
	5.00	17.81
	3.62	17.48
Ethyl	7.00	7.946
	5.00	7.667
	4.10	8.096
Propyl	5.95	6.063
	5.00	5.982
	4.00	6.229
<i>n</i> -Butyl	6.96	6.449
	5.00	6.387
	3.77	6.295

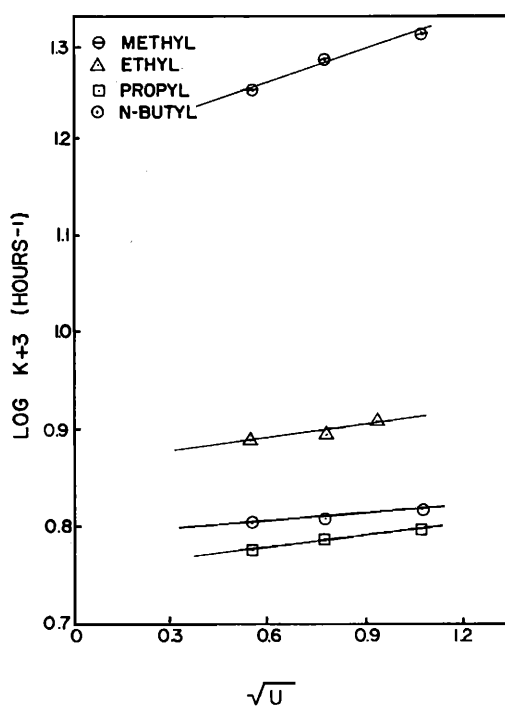


Figure 4. Effect of ionic strength on the hydrolysis of the parabens at 70°C in 0.1M phosphate buffer, pH 8.24

Table VII
Effect of Phosphate Concentration on the Specific Rate Constants for the
Hydrolysis at 70°C, pH 8.24, and Ionic Strength 0.6

Paraben	Moles of Phosphate	$k \times 10^3$ (hours ⁻¹)	$t^{1/2}$ (hours)
Methyl	0.02	11.46	60.3
	0.04	12.84	53.9
	0.08	16.42	42.2
	0.10	19.05	36.4
	0.20	26.87	25.8
Ethyl	0.02	5.175	133.0
	0.08	6.920	100.0
	0.10	7.862	88.1
	0.20	10.45	66.3
Propyl	0.005	2.638	262.0
	0.02	3.470	199.0
	0.04	4.747	146.0
	0.10	6.145	113.0
	0.20	7.947	87.2
<i>n</i> -Butyl	0.005	2.486	278.0
	0.02	3.836	181.0
	0.04	4.759	146.0
	0.08	5.634	123.0
	0.10	6.418	108.0
	0.20	8.008	86.5

Figure 4 shows the effect of ionic strength on the hydrolysis rate of the parabens. A positive slope was obtained for each paraben, which indicates a reaction of ions of like sign, i.e., a reaction between the hydroxyl ion and the negatively charged *p*-hydroxybenzoate. Also, the rate of hydrolysis of each paraben was influenced slightly by the presence of potassium chloride as noted by an increase in the rate constants with an increase in ionic strength.

The effect of buffer concentration on hydrolytic rate is summarized in Table VII. The rate constants were obtained from log concentration *versus* time plots for the parabens at each buffer concentration. Each plot yielded a straight-line relationship indicating that the reaction was first order with respect to paraben at all of the phosphate concentrations. Figure 5 shows the relationship between phosphate concentrations and rate constants for ethyl paraben. A linear relationship was also obtained for methyl paraben but the propyl and butyl esters produced a distinct break in the curve which may have been due to the catalytic effect of other species in the phosphate buffer (mainly monohydrogen phosphate ion at pH 8.24). As shown in Fig. 5 and Table VII, the rate constants and the half-lives decreased with increasing phosphate concentration for all of the parabens. This would indicate that the

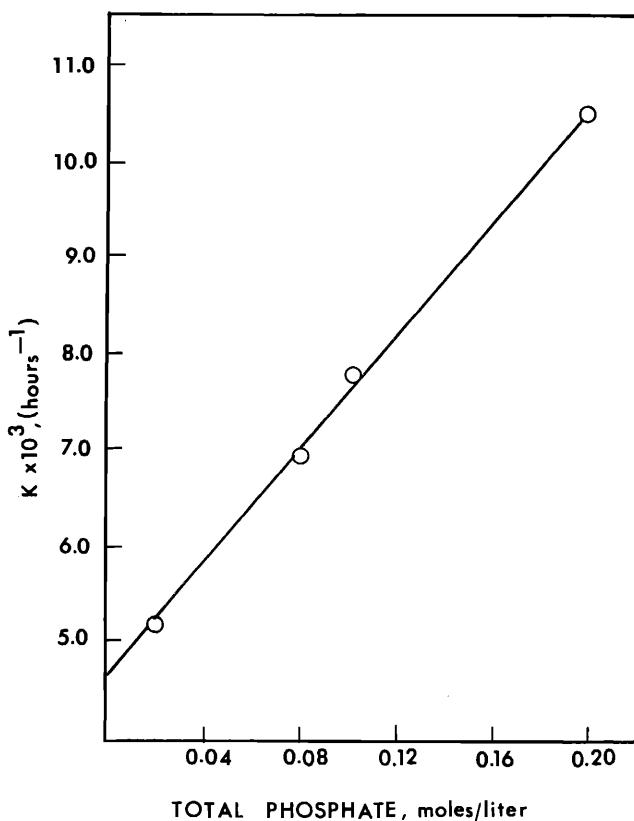


Figure 5. Effect of phosphate concentration on the rate of hydrolysis of ethyl paraben at 70°C, pH 8.24, and ionic strength 0.6

parabens undergo general base catalysis, and that hydroxyl ion is not the only species which can catalyze their hydrolysis.

(Received October 25, 1973)

REFERENCES

- (1) Aalto, T. R., Firman, M. C., and Rigler, N. E., Uses, antibacterial and antifungal studies, properties and determination, *J. Amer. Pharm. Ass., Sci. Ed.*, **42**, 449–57 (1953).
- (2) Pekkarinen, L., and Tommila, E., Hydrolysis of alkyl salicylate in alkaline solutions, *Acta Chem. Scand.*, **13**, 1019–30 (1959).
- (3) Shou, A. S., and Frauch, P., Untersuchungen über die stabilität von p-aminobenzoesäure-methylester bei künstlicher alterung, *Pharm. Acta Helv.*, **34**, 37–52 (1959).
- (4) Ravel, N. N., and Parrott, E. L., Hydrolysis of methyparaben, *J. Pharm. Sci.*, **56**, 274–5 (1967).
- (5) Littlejohn, O. M., and Husa, W. J., The potentizing effect of antimolding agents in syrups, *J. Amer. Pharm. Ass., Sci. Ed.*, **44**, 305–8 (1955).

- (6) Schimmel, J., and Husa, W. J., The effect of various preservations on microorganisms isolated from deteriorated syrups, *Ibid.*, **45**, 204–8 (1956).
- (7) Harned, H. S., and Robinson, R. A., Temperature variation of the ionization constants of weak electrolytes, *Trans. Faraday Soc.*, **36**, 973–8 (1940).
- (8) Martin, A. N., Swarbrick, J., and Cammarata, A., *Physical Pharmacy*, 2nd Ed., Lea and Febiger, Philadelphia, Pa., 1969, p. 196.
- (9) Sokolski W. T., Chidester, C. G., and Honeywell, G. E., The hydrolysis of methyl *p*-hydroxybenzoate by *Cladosporium resinae*, *Develop. Ind. Microbiol.*, **3**, 179–197 (1962).
- (10) Arrhenius, S., Über die Reaktionsgeschwindigkeit bei der inversion von rohrzucker durch säuren, *Z. Physik. Chem.*, **4**, 226–48 (1889).
- (11) Newling, W. B. S., and Hinshelwood, C. N., The kinetics of the acid and the alkaline hydrolysis of esters, *J. Chem. Soc.*, 1357–61 (1936).
- (12) Garrett, Prediction of stability in pharmaceutical preparations. III. Comparison of vitamin stabilities in different multivitamin preparations, *J. Amer. Pharm. Ass., Sci. Ed.*, **45**, 470–3 (1956).
- (13) Martin, A. N., *et al.*, *op cit.*, p. 397.