



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**

Determinación espectrofotométrica (UV-VIS) de la(s) constante(s)  
de acidez del compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo  
y estudio de su estabilidad química.

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN QUÍMICA

PRESENTA:

MARÍA EMMA MONTIEL AYALA

ASESORA: DRA. ANA MARÍA VELÁZQUEZ SÁNCHEZ.

COASESORA: DRA. MARÍA DEL ROSARIO MOYA HERNÁNDEZ.



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**

**ATN: M. EN A. ISMAEL HERNÁNDEZ MAURICIO  
Jefe del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.**

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Tesis y Examen Profesional**

**Determinación espectrofotométrica (UV-VIS) de la(s) constante(s) de acidez del compuesto (4-clorofenil) carbamato de etilo y estudio de su estabilidad química.**

Que presenta la pasante: **María Emma Montiel Ayala**  
Con número de cuenta: **411007063** para obtener el Título de la carrera: **Licenciatura de Química**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**  
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 27 de Junio de 2016.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	Dra. Ana María Velázquez Sánchez	
<b>VOCAL</b>	M. en Ed. Victoria Oralia Hernández Palacios	
<b>SECRETARIO</b>	Dra. Adriana Morales Pérez	
<b>1er. SUPLENTE</b>	M. en C. Luis Ignacio Reyes García	
<b>2do. SUPLENTE</b>	Dra. Berenice Gómez Zaleta	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Investigación Nave 3000 de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, gracias al proyecto **DGAPA-PAPIIT IT202015**.

## Agradecimientos

En primer lugar agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México, por brindarme la oportunidad de formar parte de ésta gran comunidad, poner a mi alcance las herramientas necesarias para continuar con mi formación académica y abrir mi panorama de vida.

A la Dra. Ana María Velázquez Sánchez por todas sus enseñanzas dentro y fuera del aula, por toda la confianza que depositó en mí. Por ser ese faro de luz que, en muchas ocasiones, me ayudó a llegar a la orilla y por enseñarme que la verdadera ayuda es desinteresada e incondicional. Infinitas gracias.

Al Dr. Enrique Ángeles Anguiano, por permitirme ser “aprendiz de brujo” por un tiempo y, de ésta forma, conocer gente maravillosa, de la que siempre se lleva en el corazón. Un honor.

A la Dra. Ma. del Rosario Moya Hernández y al Dr. Julio César Botello Pozos, por todo el tiempo e interés vertido en el presente trabajo, así como su invaluable conocimiento compartido, aún sin conocerme. Porque en poco tiempo, surgió una alta estimación y cariño. Mil gracias.

A la Dra. Adriana Morales, a la M. Victoria O. Hernández, a la Dra. Berenice Gómez y al M. Luis I. Reyes quienes, con observaciones objetivas y asertivas, contribuyeron a la mejora de éste escrito.

Al M. Víctor Hugo Ábrego Reyes, por el apoyo recibido y los conocimientos compartidos al inicio de éste proyecto.

A la M. Brígida Camacho, quien me enseñó que la química no tiene apellido y despertó en mí el gusto por la Química Orgánica y los Productos Naturales.

Mención especial a todos los profesores que, de alguna forma, dejaron impreso en mí el amor por la Química a lo largo del camino: M. Marina Morales, Dr. Arturo Rojo y la Profra. Edith Ortiz.

A nivel personal:

A Gabriel, por brindarme tu amor e infinito apoyo a lo largo del camino, por estar siempre al pendiente de mí y ser mi fortaleza... por impulsarme y alentarme a seguir adelante. Porque siempre das el "máximo esfuerzo". Te amo, siempre.

A mi madre, por su apoyo incondicional e infinito amor, porque siempre me ha guiado por el camino de la honestidad, el trabajo y el respeto. Por siempre creer en mí y hacerme sentir especial. Te amo, mamita.

Al Jefe Diego, por tu invaluable amistad... por todo el apoyo que me brindaste y los conocimientos que compartiste conmigo, así como los múltiples consejos y las vivencias todas, mi querido hermano de vida. Compartimos el mismo deseo de seguir trabajando juntos, algún día. Te quiero, carnalito.

A Selenuro, por todos los días compartidos y las innumerables canciones que conformaron el soundtrack de nuestro trabajo de laboratorio. Por la linda amistad que comenzó y que deseo de corazón, se mantenga a lo largo de los años.

A Mary, Lucy, Caro, Luisa, Cuca e Irma quienes, con su ejemplo, me han demostrado que no hay nada más importante que el amor hacia los padres y a Dios. Por alimentar en mí el deseo de superación y de adquirir conocimientos. Las quiero, muchísimo.

A Paco y al Profr. Gabriel Rodríguez, quienes me animaron a continuar con mis estudios: gracias a ustedes, concreté un sueño de toda la vida.

A mis ahijados: Jesús, Ximena, Rodrigo y Juan. Deseando que en ellos despierte el arrojo de emprender el viaje maravilloso del conocimiento, esperando que la vida me permita presenciar su éxito personal y profesional.

*Soy de quienes piensan que la ciencia tiene una gran belleza.  
Un científico en su laboratorio no es sólo un técnico, es también  
un niño colocado ante fenómenos naturales que le impresionan  
como un cuento de hadas.*

*María Salomea Skłodowska-Curie*

## Contenido

Introducción .....	i
Justificación.....	iv
Objetivos.....	vi
Objetivo General.....	vi
Objetivos Específicos.....	vi
Capítulo I. Antecedentes.....	1
Carbamatos.....	1
a) Usos de los carbamatos.....	2
b) Carbamatos de la serie LQM 900 (Laboratorio de Química Medicinal, LQM).....	4
c) Generalidades del compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo (LQM 996).....	5
Espectrofotometría UV-VIS.....	6
a) Fundamentos.....	7
b) Ley de Lambert-Beer.....	8
c) Ley de aditividad de absorbancias.....	11
Equilibrio Químico .....	12
a) La constante de equilibrio.....	13
b) Constante de acidez.....	14
c) Relación entre $K_a$ , $pK_a$ y $\log\beta$ .....	15
Especiación química.....	17
Recursos computacionales auxiliares en la especiación química.....	18
a) Cálculos a partir de bases de datos: ACD/pKa DB (ACD/Labs).....	18
b) Refinamiento de constantes a partir de resultados experimentales.....	19

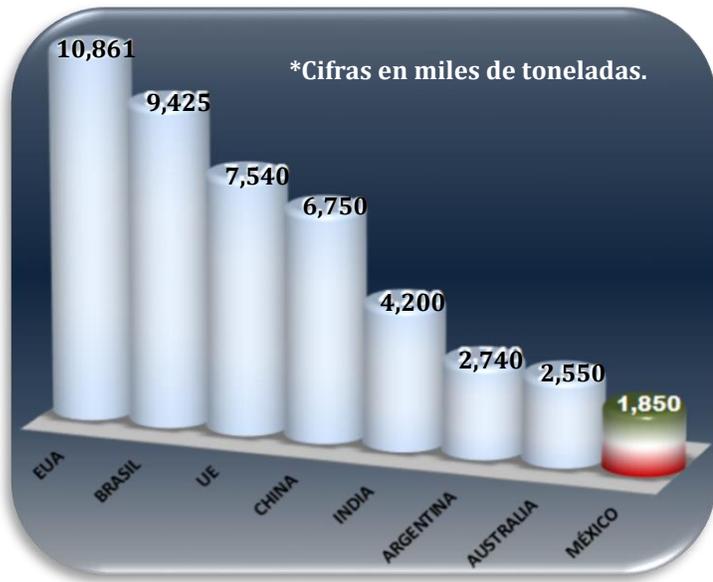
SQUAD.....	20
TRIANG.....	22
Capítulo II. Metodología Experimental.....	23
Instrumentos, materiales, y reactivos.....	23
Pruebas de solubilidad del compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo.....	23
Concentración de las soluciones de trabajo.....	24
Preparación de las disoluciones de trabajo.....	25
a) Preparación de la disolución stock.....	25
b) Preparación de la disolución de trabajo (pH neutro).....	25
c) Preparación de la disolución de trabajo (ácida y básica).....	25
Estudio de la estabilidad del compuesto de estudio.....	26
Valoración sin dilución del (4-clorofenil)carbamato de etilo.....	27
Capítulo III. Resultados y Discusión.....	28
Pruebas de solubilidad.....	28
Concentración de las soluciones de trabajo.....	29
Estabilidad del compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo en disolución.....	32
a) Medio ácido.....	32
b) Medio neutro.....	33
c) Medio básico.....	34
Especiación química del (4-clorofenil)carbamato de etilo.....	38
a) Análisis gráfico.....	38
b) Cantidad de especies que absorben en el sistema.....	42
c) Determinación de la(s) constantes(s) de acidez del (4-clorofenil)carbamato de etilo... 43	
Conclusiones.....	58

Anexos.....	59
A.    Ejemplo del monitoreo de estabilidad para el compuesto LQM 996.....	60
B.    Espectros de absorción correspondientes a la especiación química ácido-base del compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo.....	61
C.    Modelo “tres especies y dos equilibrios ácido-base”, resultados SQUAD.....	64
D.    Reportes de cálculo correspondientes a valores de pKa probables para el compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo. ....	66
E.    Información auxiliar. ....	67
Índice de Gráficos .....	68
Índice de Imágenes .....	70
Índice de Tablas .....	72
Bibliografía.....	74

## Introducción

El sector pecuario es uno de los más significativos en nuestro país, en cuanto a economía (exportación - venta nacional) y consumo se refiere. El ganado bovino es uno de los más prolíferos, pues su desarrollo se ha visto favorecido debido a las condiciones de la geografía mexicana - clima, relieves, suelos -, y su crianza se realiza en un 65% del territorio mexicano (Delgado de Cantú, 2003).

Según resultados preliminares de 2015 (Imagen 1) proporcionados por el Consejo Mexicano de la Carne (2016), México está considerado como uno de los principales países productores de carne bovina a nivel mundial, ocupando el octavo lugar en dicha lista, al haber producido alrededor de 1850 miles de toneladas del mencionado producto cárnico.



**Imagen 1. Principales países productores de carne de bovino 2015 (Consejo Mexicano de la Carne, 2016).**

Sin embargo, el desarrollo del ganado bovino, suele verse amenazado por la infestación de garrapatas, ectoparásitos hematófagos portadores de varias enfermedades que afectan al ser humano, tales como la babesiosis<sup>1</sup> y la anaplasmosis<sup>2</sup> (Desquesnes, 1987).

---

<sup>1</sup> Enfermedad potencialmente grave (mortal en ocasiones), causada por la infección con *Babesia bigemina*, que parasita los eritrocitos, causando fiebre, escalofríos, mialgias, fatiga y anemia hemolítica (Chin, 2001).

<sup>2</sup> La anaplasmosis humana es una enfermedad febril aguda, provocada por diferentes especies del género *Anaplasma* (*Anaplasmataceae*). La anaplasmosis humana granulocítica, provocada por *anaplasma phagocytophilum*, guarda paralelismo con la borreliosis de Lyme (Oteo & Brouqui, 2005).



**Imagen 2. Infestación masiva por garrapatas en el ganado bovino (tomado de [albertair.portalveterinaria.com](http://albertair.portalveterinaria.com)).**

En nuestro país, las especies que predominan son aquellas que pertenecen a la familia *ixodidae*<sup>3</sup>, entre las que destacan *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* y *Rhipicephalus annulatus*. Estos parásitos son causantes de anemia en el huésped, ocasionada por una baja en el consumo de alimentos y la formación de

abscesos cutáneos, ocasionando la disminución en la producción de leche por daños en las ubres, así como la inutilización de las pieles (Iturbe, 2014). En ocasiones, el deterioro corporal, la pérdida de sangre y el estrés pueden provocar la muerte en el animal y, a gran escala, el problema representa pérdidas económicas severas (García, 2010).

Cuando un bovino presenta un grado elevado de infestación las garrapatas pueden encontrarse en todo el cuerpo (Imagen 2), en casos moderados y ligeros, se encuentra focalizada en cuello, orejas, pecho, base de la cola, abdomen, entrepierna, base de la ubre y testículos (García, 2010).

El principal control químico utilizado para la erradicación de la garrapata, consiste en la aplicación de ixodicidas<sup>4</sup>; sin embargo, se ha registrado la aparición de fracciones de garrapatas resistentes a estos productos (Alonso, Rodríguez, Fragoso, & R., 2006). En México, se ha documentado resistencia de *R. microplus* hacia ixodicidas organoclorados y

---

<sup>3</sup> Las garrapatas de interés veterinario se dividen en dos familias: *Argasidae* (garrapatas blandas) e *Ixodidae* (garrapatas duras), esto en función de las diferencias en el exoesqueleto (Cruz, 2016).

<sup>4</sup> Los ixodicidas son productos químicos que pertenecen al grupo de los plaguicidas (NOM-006-ZOO-1993), utilizados en la erradicación de garrapatas duras, tales como *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

organofosforados, desde 1981 y a piretroides, desde 1993. Recientemente, se han utilizado algunos carbamatos que comparten el mismo mecanismo de acción con los compuestos organofosforados (inhibición de AChE<sup>5</sup>), presentando resistencia cruzada (Iturbe, 2014). Este hecho es alarmante, debido a que la disponibilidad de antiparasitarios efectivos es cada vez más escasa, por lo que resulta de gran importancia la síntesis de nuevos ixodicidas con una efectividad alta, así como una toxicidad baja para garantizar el bienestar del ganado y de los consumidores.

En el Laboratorio de Química Medicinal, perteneciente a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, ha sido sintetizada la serie de compuestos derivados del ácido carbámico, denominada como LQM 900, de la cual, algunos de ellos han mostrado actividad ixodicida (Iturbe, 2014).

La caracterización fisicoquímica de dichos compuestos contribuirá de manera fundamental en diversas actividades, tales como: la predicción de su comportamiento químico en diversos sistemas, la elucidación de nuevas rutas de síntesis de los mismos compuestos, así como de sus derivados y, en trabajos futuros, coadyuvar en el desarrollo de una forma farmacéutica viable para su aplicación.

---

<sup>5</sup> Acetilcolinesterasa.

## Justificación

A partir del trabajo realizado por el Laboratorio de Química Medicinal de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, en colaboración con otras áreas, ha sido evaluada la actividad ixodida de los compuestos (4-bromofenil)carbamato de etilo y (4-clorofenil)carbamato de etilo, identificados por las claves LQM 919 y LQM 996, respectivamente, mostrando una efectividad de 98-99% *in vivo* en el control de *R. microplus* (Iturbe, 2014); además, se demostró *in vitro* que los carbamatos de la serie LQM no deben su actividad ixodida a la inhibición de la AChE, hecho de gran importancia, considerando la resistencia cruzada que presentan los compuestos utilizados a nivel comercial y que refieren su actividad ixodida a la inhibición de dicha enzima. De manera adicional, ambos compuestos reportan una baja toxicidad (Prado, y otros, 2014), lo cual hace aún más viable su utilización a nivel farmacológico.

Pese a la gran importancia de los compuestos antes citados, poco se conoce respecto a su comportamiento fisicoquímico, es por ello que el presente trabajo tiene como finalidad el coadyuvar en la caracterización fisicoquímica del compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo, mediante la utilización de la espectrofotometría UV-VIS.

De manera general, se pretende:

- Estudiar la estabilidad química del compuesto en disolución acuosa, a partir del análisis de su comportamiento espectral respecto al tiempo, así como en función del pH de disolución.
- Realizar la especiación química del mismo en función del pH a partir de un seguimiento espectrofotométrico exhaustivo, con ayuda de los programas computacionales TRIANG y SQUAD y, de esta forma, determinar la(s) constante(s) de acidez del compuesto de estudio.

- Proponer el o los equilibrios ácido-base que tienen lugar en el intervalo de pH de estudio, con la asignación de los valores de  $pK_a$  correspondientes.
- Elaborar un Diagrama de distribución de especies a partir de los valores de  $pK_a$  asignados para determinar las especies predominantes en disolución a lo largo de la escala de pH.

Al conocer la estabilidad del compuesto, así como del valor de las constantes de acidez, se provee de fundamentos fisicoquímicos útiles en el desarrollo de trabajos de investigación futuros, encaminados a diversos propósitos, tales como:

- Elucidación de probables rutas de síntesis de compuestos derivados del (4-clorofenil)carbamato de etilo, debido a la necesidad de contar con una diversa gama de sustancias con actividad ixodocida, dada la resistencia que el ectoparásito ha desarrollado hacia los productos de uso comercial.
- Desarrollo de la formulación farmacéutica más adecuada del compuesto de estudio y que, a mediano plazo, sea aprobada para su uso a nivel clínico.

Es de suma importante destacar la implementación actual de programas computacionales en el terreno científico. En el caso particular de SQUAD, no solo implica la facilitación de cálculos o la considerable disminución de tiempo experimental, sino también brinda la posibilidad de analizar el sistema tomando en cuenta diversos modelos químicos de equilibrio y, de esta forma, elegir el que mejor describa el sistema de estudio.

Por otro lado, SQUAD proporciona un tratamiento estadístico muy completo, además de proveer resultados más precisos respecto a los obtenidos con métodos convencionales.

## Objetivos

### Objetivo General

Determinar experimentalmente el valor de la(s) constante(s) de acidez del compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo en medio acuoso a 25°C, empleando la técnica espectrofotométrica UV-Vis y con la ayuda del programa computacional SQUAD, para contribuir a la caracterización fisicoquímica de dicho compuesto.

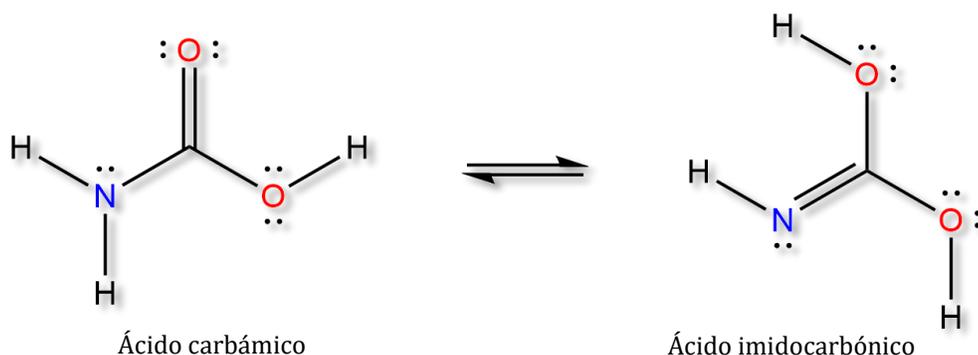
### Objetivos Específicos

- Estudiar la estabilidad del compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo en disolución en función del tiempo, en medio ácido, neutro y básico.
- Proponer el número de especies probables que absorben energía electromagnética UV-Vis de forma diferente en el sistema a lo largo de la especiación química del compuesto de interés, utilizando el programa computacional TRIANG.
- Llevar a cabo la determinación del valor de la(s) constante(s) de acidez para el compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo, utilizando el programa computacional SQUAD.

## Capítulo I. Antecedentes.

### Carbamatos

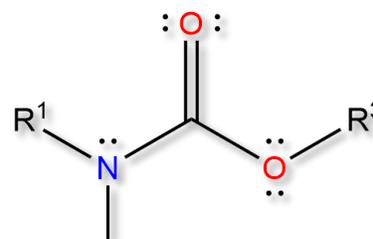
Los carbamatos son compuestos derivados del ácido carbámico, también conocido como ácido carbamínico que, al ser monoamida del ácido carbónico, presenta tautomería en su estructura, tal como se muestra en la Imagen 3, por lo que también puede presentarse en su forma amídica, el ácido imidocarbónico (Klages, 2005).



**Imagen 3. Formas tautómeras del ácido carbámico, precursor de los carbamatos (Klages, 2005).**

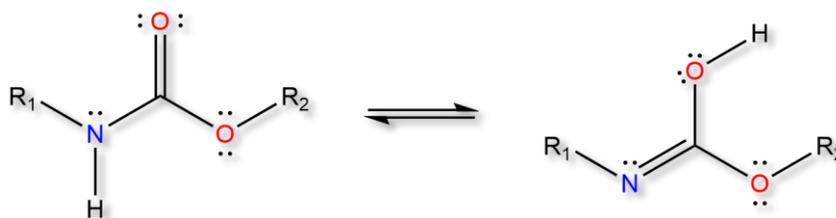
El ácido carbámico no es conocido en su estado libre pues, al intentar su aislamiento, éste se descompone en amoníaco y dióxido de carbono. Por el contrario, los carbamatos (llamados comúnmente uretanos) son termodinámicamente estables (Beyer & Walter, 1987).

En la Imagen 4, se presenta la fórmula estructural general de dichos compuestos, donde los sustituyentes  $R_1$  y  $R_2$  pueden ser desde un grupo alquilo o hidrógeno, hasta un grupo orgánico de mayor complejidad estructural; sin embargo,  $R_3 \neq H$  (Baird, 2001).



**Imagen 4. Fórmula estructural general de los carbamatos (Baird, 2001).**

Dada su naturaleza amídica, los carbamatos presentan dos formas tautómeras (Imagen 5); una de ellas, un éster neutro que recuerda al ácido carbámico monobásico y un hemiéster, análogo al ácido imidocarbónico. (Klages, 2005).



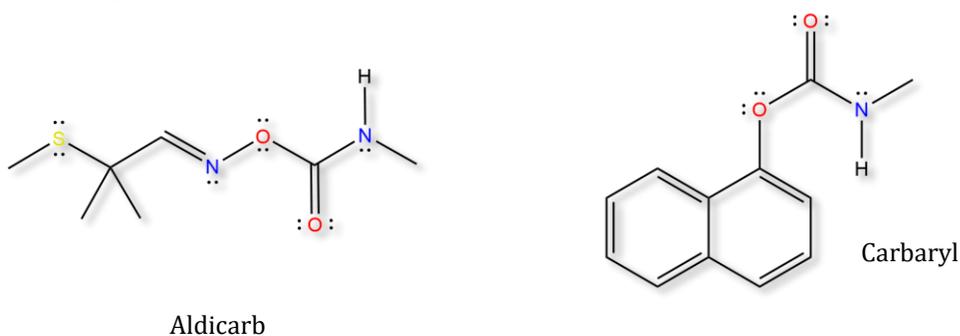
**Imagen 5. Formas tautómeras generales de un carbamato.**

### a) Usos de los carbamatos.

La síntesis de nuevos carbamatos ha presentado un auge considerable en las últimas cuatro décadas, debido a la creciente aplicabilidad de dichos compuestos a nivel industrial, así como medicinal.

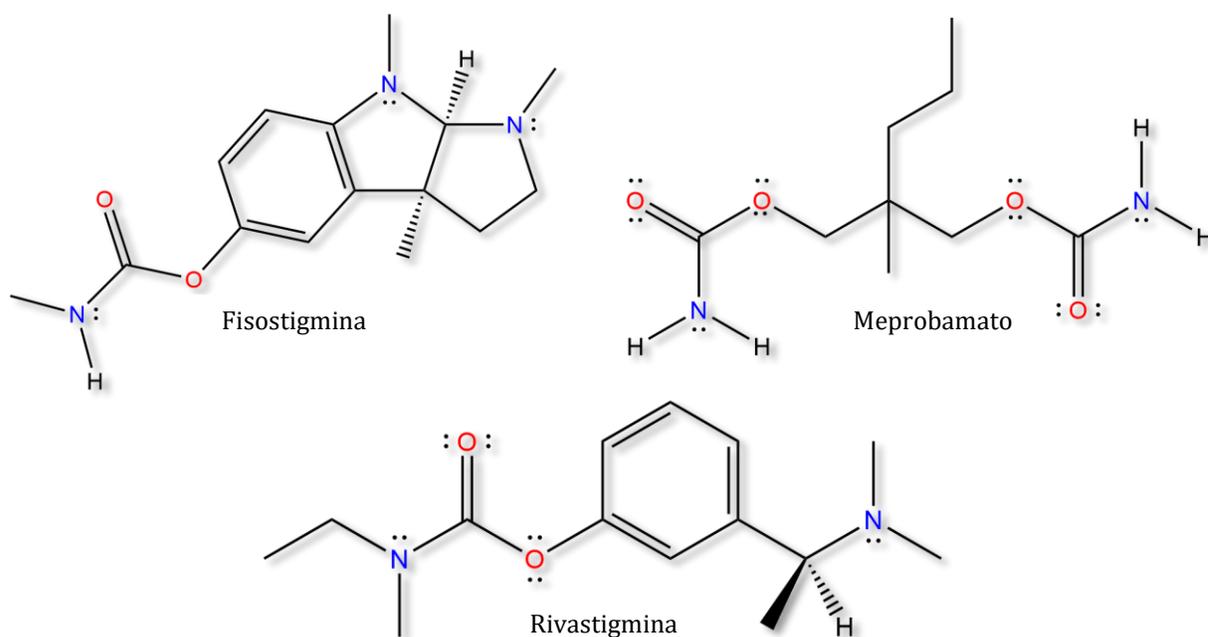
A nivel industrial, son utilizados como aditivos para combustibles, plastificantes, acondicionadores para cabello y como agentes antiarrugas a nivel textil (Sandler & Karo, 1986).

El empleo de algunos carbamatos como pesticidas en la agricultura y jardinería es alto, por ser considerados de menor toxicidad que los compuestos organofosforados usados para dicho fin. Entre los comúnmente utilizados, se encuentra el aldicarb y carbaryl, mostrados en la Imagen 6 (Gupta, 2006).



**Imagen 6. Pesticidas de uso comercial.**

En el ámbito farmacéutico, los carbamatos también juegan un papel importante como tranquilizantes (meprobamato), así como en medicamentos coadyuvantes en el tratamiento de diversas enfermedades, tales como Alzheimer, Parkinson (rivastigmina) y glaucoma (fisostigmina o eserina), entre otras [Guitart (2014); Gupta (2006); Sandler & Karo (1986)]. Estos compuestos son mostrados en la Imagen 7.



**Imagen 7. Algunos carbamatos de uso farmacéutico.**

En veterinaria son utilizados en el control y erradicación de la ectoparasitosis (carbaryl, propoxur), siendo administrados de forma tópica, debido a su baja absorción a través de la piel del animal hospedero, además de ser metabolizados rápidamente y eliminados vía orina (Botana, Landoni, & Martín, 2002). De esta forma, la mayor parte del plaguicida actúa sobre el animal huésped sin afectar al ganado.

Los compuestos que han sido mencionados previamente, actúan como inhibidores reversibles de la acetilcolinesterasa (AChE), hecho que les confiere sus propiedades.

## **b) Carbamatos de la serie LQM 900 (Laboratorio de Química Medicinal, LQM).**

En términos generales, el Laboratorio de Química Medicinal (LQM) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, se dedica al diseño computacional de compuestos con potencial actividad farmacológica, así como a la síntesis y caracterización de los mismos. Gracias a diversas colaboraciones interdisciplinarias, es posible la determinación de su actividad y efectividad biológica, toxicidad, etc. Hoy día, se cuenta con diversas series de compuestos que destacan por su actividad biológica; tal es el caso de la serie LQM300, compuestos derivados del fenol con actividad antiarrítmica/antihipertensiva (Pérez, 2010), la serie LQM 700, derivados del ácido cafeico, con propiedades antimicrobianas y anticancerígenas (Ruíz, 2012) y la serie LQM 900, derivados del ácido carbámico, con actividad ixodicida (Iturbe, 2014), antibiótica (Bernal, 2000; Reyes, 2007), antiparasitaria (Bernabé, 2007) y antimicóticas (Reyes, 2007).

De forma particular, los compuestos (4-bromofenil)carbamato de etilo (LQM 919) y (4-clorofenil)carbamato de etilo (LQM 996) fueron objeto de estudio para determinar la supervivencia, oviposición y la viabilidad de una cepa de garrapatas *R. microplus* resistentes a ixodicidas, en sus diferentes estadios de desarrollo: larvas, ninfas y adultas (Iturbe, 2014). La eficacia ixodicida total *in vivo* calculada para estos compuestos, se encuentra por arriba del 98%; sin embargo, se requiere llevar a cabo estudios complementarios para ser considerados como sustancias activas viables en la formulación farmacéutica respectiva, encaminada al control de garrapatas. Por otro lado, ambos compuestos presentan una baja toxicidad oral<sup>6</sup> (DL<sub>50</sub> 300-2000 mg/kg), así como una baja toxicidad dérmica (DL<sub>50</sub> > 5000 mg/kg), de acuerdo con el *Globally Harmonized System (GHS) of Classification and Labeling of Chemical Substances* (Prado, y otros, 2014).

---

<sup>6</sup> Las siglas DL<sub>50</sub>, hacen referencia a la *dosis letal* (oral o tópica), dosis de una sustancia que pudiera causar la muerte de la mitad de un grupo de ratas albinas en determinado tiempo, expresada en términos de masa de la sustancia suministrada por peso del animal sometido al ensayo (mg/kg) (Naciones Unidas, 2007).

Lo mencionado anteriormente, posiciona a ambos compuestos como potenciales candidatos para su uso como agentes ixodicidas. Sin embargo, al tratarse de compuestos de nueva síntesis, se conoce poco de los mismos en cuanto a sus propiedades químicas se refiere. Es por ello que el presente trabajo tiene por objetivo el contribuir a la caracterización fisicoquímica del (4-clorofenil)carbamato de etilo.

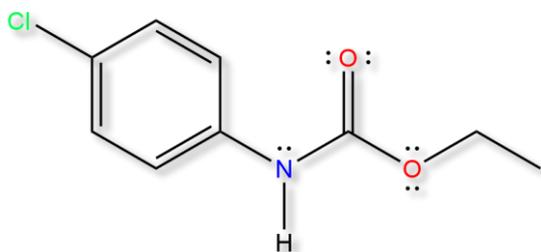
### c) Generalidades del compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo (LQM 996).

En su estado puro, el compuesto de estudio (4-clorofenil)carbamato de etilo (LQM 996), consta de cristales en forma de aguja de color blanco, tal como se aprecia en la Imagen 8.

Su masa molecular es de 199.63 g/mol y tiene un punto de fusión de 67.68°C.



**Imagen 8. Apariencia del compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo (LQM 996).**



**Imagen 9. Estructura química del LQM 996.**

Es soluble en diversos disolventes orgánicos, tales como acetona, etanol, acetato de etilo y DMSO<sup>7</sup>; sin embargo, éste es insoluble en agua. Su estructura química (Imagen 9) fue elucidada mediante técnicas espectroscópicas

en trabajos anteriores (Muñoz, 2012).

Como se observa, el compuesto presenta centros ionizables en la parte carbámica de la estructura, cercanos al fenilo -que también actúa como grupo cromóforo, por lo que el espectro de absorción de su forma ionizada y neutra son diferenciables entre sí; por tal

---

<sup>7</sup> Dimetilsulfóxido.

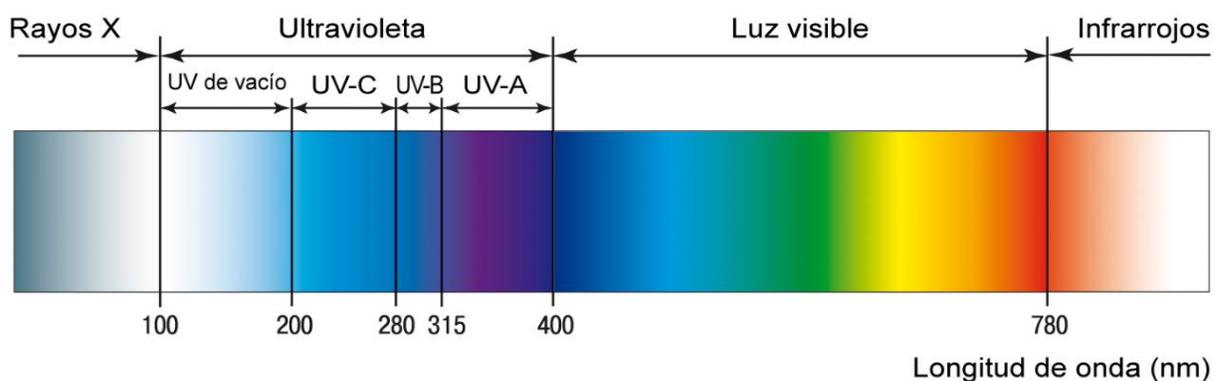
razón, la espectrofotometría UV-Vis es un método adecuado para el estudio ácido-base del LQM 996. Cabe mencionar, que este método es ideal cuando la solubilidad de la sustancia en agua es muy baja o cuando los valores esperados de  $pK_a$  se encuentran fuera del rango  $2 < pK_a < 11$  (Ögretir, Demirayak, & Duran, 2010).

### Espectrofotometría UV-VIS

La espectroscopia molecular basada en la radiación ultravioleta (UV), visible (VIS) e infrarroja (IR) se emplea en la identificación y determinación de muchas especies orgánicas e inorgánicas.

En el caso particular de la espectrofotometría UV-VIS, es usada principalmente en el análisis cuantitativo, siendo una de las técnicas analíticas más utilizadas en el quehacer químico. Mediante ésta, existe la posibilidad de realizar estudios cualitativos -de carácter estructural y/o cuantitativos concentración, fracción molar de la(s) especie(s) absorbente(s) presente en un sistema determinado.

La región UV-VIS está comprendida en el intervalo  $200 \text{ nm} < \lambda < 800 \text{ nm}$  del espectro electromagnético. En la Imagen 10 se muestra la representación de un fragmento del espectro electromagnético, que comprende la región UV-VIS.



**Imagen 10. Espectro de absorción UV-VIS, correspondiente al intervalo de  $200\text{nm} < \lambda < 800\text{nm}$ .**

### a) Fundamentos.

Ésta técnica analítica, se basa en hacer incidir una cantidad conocida de energía electromagnética al sistema de estudio y cuantificar la energía absorbida por dicho sistema; con base en dicha medición, la energía absorbida por el sistema, corresponde a la energía necesaria para que las moléculas presentes sufran una transición electrónica, pasando de su estado basal a uno excitado y su magnitud dependerá del tipo de transición -o transiciones- electrónica ocurrida, pues cada molécula tiene numerosos niveles de energía, por lo que cada especie química abarca una banda de absorción característica.

Desde el punto de vista energético, es conveniente considerar que la radiación electromagnética está constituida por partículas llamadas fotones. Cada una de ellas, tiene una energía  $E$ , la cual queda descrita por la relación:

$$E = h\nu$$

Donde  $h$  es la constante de Planck. De esta forma, es posible expresar la energía como:

$$E = \frac{hc}{\lambda} = hc\nu$$

Así, puede asumirse que la energía necesaria para efectuar la transición electrónica en una especie absorbente es inversamente proporcional a la longitud de onda en que se registra el fenómeno de absorción.

La **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** muestra dicha proporcionalidad, donde **A** representa los cambios rotacionales (IR lejano); **B**, los cambios rotacionales y vibracionales (IR cercano); **C**, transiciones rotacionales, vibracionales y electrónicas (UV-VIS).  $E_0$  es el estado electrónico basal y  $E_1$  es el primer estado electrónico excitado

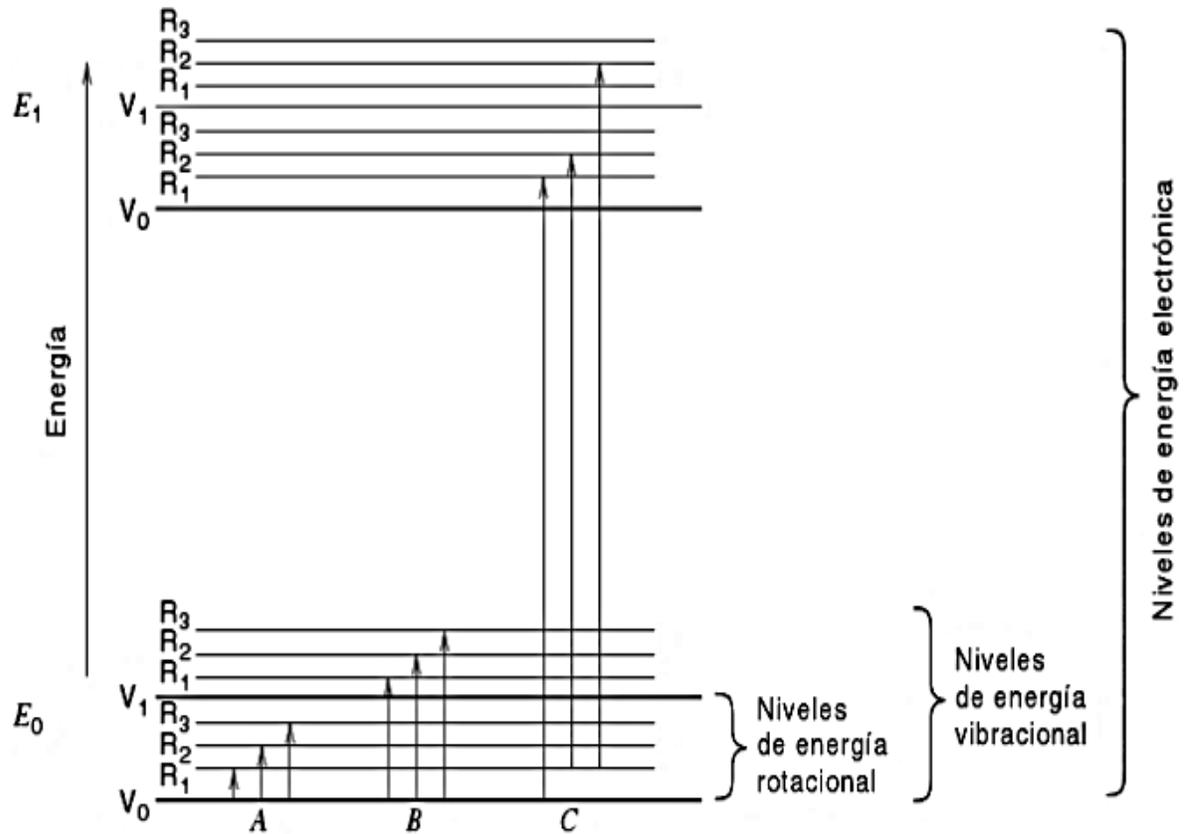
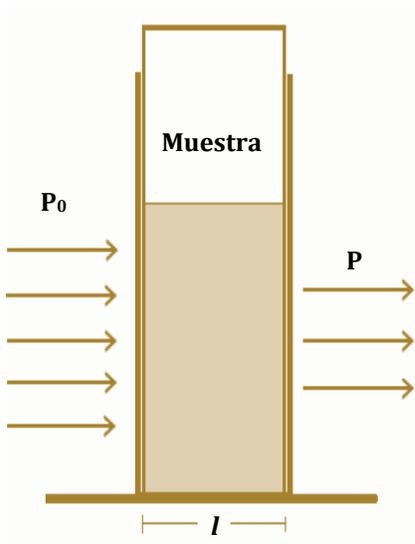


Imagen 11. Diagrama de los cambios de energía relacionados con la absorción de radiación electromagnética. (Christian, 2009).

**b) Ley de Lambert-Beer.**

La ley de absorción, mejor conocida como ley de Lambert-Beer, indica cuantitativamente la forma en que el grado de atenuación de un haz de luz incidente de potencia radiante  $P_0$  depende de la concentración de las moléculas absorbentes ( $c$ ) y de la longitud del trayecto en el que ocurre la absorción ( $l$ ), correspondiente a la longitud de celda que contiene la muestra (Skoog, West, Holler, & Crouch, 2010); de esta forma, la radiación que no es absorbida por la muestra, es conocida como la radiación emergente, de potencial radiante  $P$ , que es medida por el detector espectrofotométrico. La relación entre  $P_0$  y  $P$ , es llamada transmitancia.



**Imagen 12. Representación del paso de radiación a través de una celda espectrofotométrica.**

La imagen 12, describe gráficamente el paso de radiación electromagnética a través de una muestra, donde el valor de  $P$  disminuye en su recorrido a través de la celda (Christian, 2009); dicha disminución está relacionada con la concentración en la disolución, de tal forma que:

$$T = \frac{P}{P_0} = 10^{-kl} = 10^{-k'c}$$

Tras combinar las constantes  $k$  y  $k'$  se obtiene la constante  $\mathcal{E}$  (coeficiente de absortividad molar). Así, se obtiene que:

$$\log T = -\mathcal{E}lc$$

Tras un reacomodo en la expresión, se tiene que:

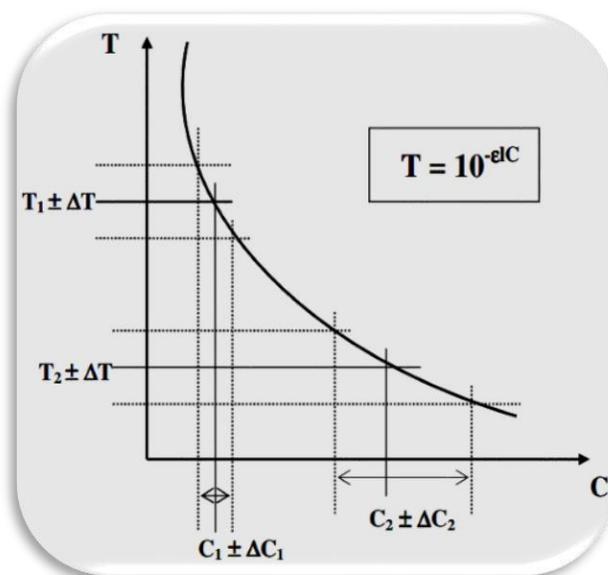
$$-\log T = \log \frac{1}{T} = \log \frac{P_0}{P} = \mathcal{E}lc$$

Así, se define el cologaritmo de la transmitancia como la absorbancia ( $A$ ), llegando de ese modo a la expresión simplificada de la ley de absorción:

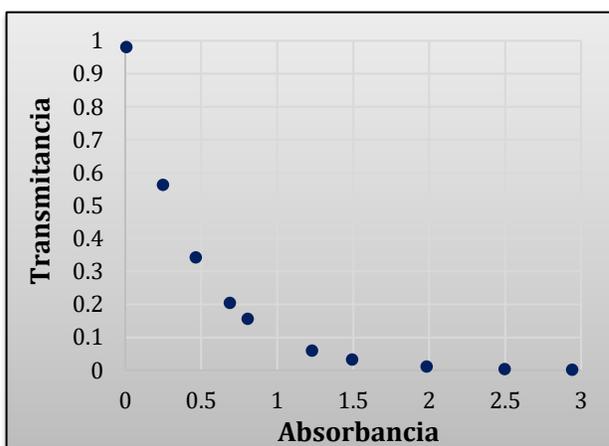
$$A = \mathcal{E}lc$$

Como puede observarse, la absorbancia ( $A$ ) es directamente proporcional a la concentración de la sustancia absorbente al mantener la longitud del paso óptico con un valor constante ( $l$ ), donde el valor de  $\mathcal{E}$  es particular para cada compuesto. Esta relación lineal es mayormente utilizada, dada su simplicidad.

La medición de T (al igual que A) tiene una incertidumbre asociada directamente al instrumento de medición. Sin embargo, la incertidumbre de la concentración no es constante, dada su relación exponencial con la transmitancia, de tal manera que, a concentraciones muy altas, el error en la medición será considerablemente mayor en comparación con las esperadas para concentraciones más bajas, tal como se muestra en la Imagen 13 (Baeza, 2006)



**Imagen 13.** Relación exponencial entre la transmitancia y la concentración, así como la incertidumbre asociada a cada una de ellas.



**Gráfico 1.** Relación cologarítmica entre la absorbancia y la transmitancia.

Otra manera de comprender lo anteriormente descrito es graficando los valores de absorbancia contra los de transmitancia (Gráfico 1). Como puede observarse, a valores  $A > 2$ , T tiende a cero, haciendo poco diferenciable dicho valor a concentraciones cada vez mayores, viéndose reflejado en un sesgo mayor en la relación lineal entre A y concentración.

Por otro lado, debe considerarse que la ley de Beer describe el comportamiento de absorción en disoluciones diluidas, pues se trata de una ley límite: a concentraciones mayores de 0.01 M, la interacción electrostática entre las partículas que conforman a la especie absorbente aumenta, causando desviaciones a dicha ley.

Sin embargo, es importante considerar que la concentración del sistema también estará determinada en función a la magnitud del coeficiente de absorptividad molar: a valores bajos de  $\epsilon$ , la concentración deberá ser mayor que la utilizada para sustancias con valores altos del mismo.

### c) Ley de aditividad de absorbancias.

Esta ley establece que, en un sistema compuesto por más de dos sustancias absorbentes, todas ellas contribuirán en la absorbancia total de dicho sistema, siempre y cuando dichas sustancias no reaccionen entre sí (Skoog y otros, 2010). De este modo, la absorbancia total ( $A_T$ ) registrada en una longitud de onda específica, será expresada como la suma de las absorbancias de todas las especies absorbentes, de tal manera que:

$$A_T = \sum_{i=1}^n A_i^\lambda = A_1 + A_2 + \dots + A_n \quad \text{ó} \quad A_T = b(\epsilon_1 c_1 + \epsilon_2 c_2 + \dots + \epsilon_n c_n)$$

Donde los subíndices hacen referencia a los componentes absorbentes 1, 2, ...,  $n$ . La contribución de cada especie estará determinada por su concentración en el sistema. En la Imagen 14, se ejemplifica gráficamente lo antes descrito.

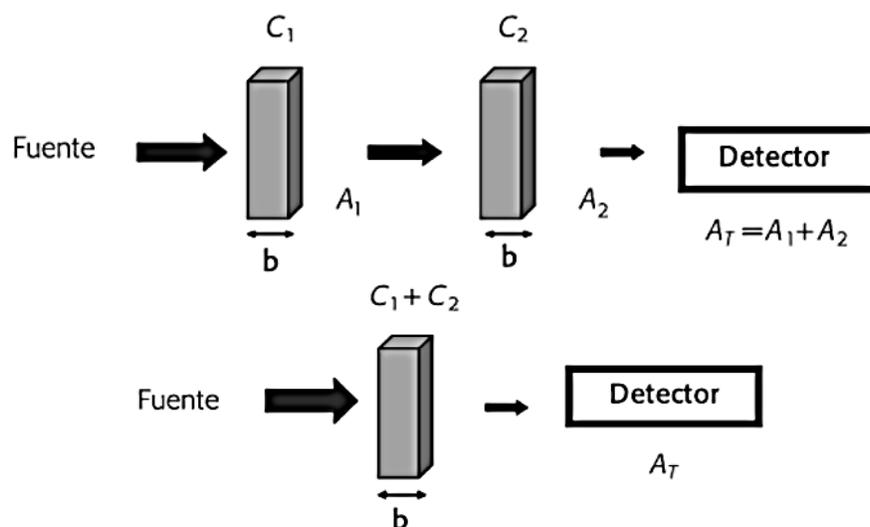


Imagen 14. Ley de aditividad de absorbancias (Sierra, Pérez, Gómez, & Morante, 2010).

## Equilibrio Químico

Todas las reacciones químicas transcurren progresivamente hasta llegar a un punto en que la cantidad de reactivos y productos es constante. Este punto es llamado estado de equilibrio o equilibrio químico y éste es alcanzado, independientemente del camino por el cual se alcance dicho equilibrio (Skoog y otros, 2010).

Cuando un sistema llega al equilibrio no se aparta de esa condición de manera espontánea, a menos de que exista una perturbación en cualquiera de los factores que condicionan la situación de equilibrio; sin embargo, la reacción química se desplazará en la dirección que contrarreste el efecto de dicha perturbación, tendiendo al equilibrio nuevamente. Este fenómeno es conocido como el *Principio de Le Châtelier* (Harris, 1992). Los factores que influyen en el equilibrio, pueden o no modificar el valor de la constante de equilibrio.

En los casos en los cuales hay un cambio de concentración, ya sea en reactivos o productos (por ejemplo, el efecto de ion común), el valor de la constante de equilibrio no cambia; sin embargo, el equilibrio se desplazará en el sentido aquel que atenúe el cambio en dichas concentraciones.

La presión, la temperatura y la fuerza iónica son factores determinantes para el valor de la constante de equilibrio. Al cambiar dichos parámetros, el equilibrio también se desplazará en el sentido que compense el cambio en las condiciones de equilibrio iniciales, aunque dicha compensación no es suficiente para evitar el cambio del valor de la constante de equilibrio.

En el caso específico de las disoluciones, los cambios en la presión no ejercen un efecto dramático bajo condiciones normales. En cuanto a la temperatura, se tiene una implicación más evidente: si la reacción es endotérmica, un aumento de temperatura favorecerá la reacción, desplazando el equilibrio de izquierda a derecha, por lo que el valor de la constante de equilibrio aumenta; sin embargo, en una reacción exotérmica, se observa un

efecto contrario, el desplazamiento del equilibrio es de derecha a izquierda (disminuyendo el valor de la constante de equilibrio). Otro aspecto a considerar, es el efecto interiónico (repulsión y/o atracción) existente entre las partículas en disolución, denominado como fuerza iónica, que depende de la concentración y de la magnitud de las cargas de cada uno de los iones participantes, modificando el valor de la actividad de cada una de las especies. El efecto de la fuerza iónica es pequeño cuando se trabaja con bajas concentraciones (Burriel, Lucena, Arribas, & Hernández, 2008).

### a) La constante de equilibrio.

La constante de equilibrio es la expresión algebraica que describe la relación entre la cantidad de reactivos y productos cuando dicha reacción se encuentra en equilibrio, hecho que convierte a ésta en un parámetro estadístico de gran importancia (Skoog y otros, 2010).

Supóngase la reacción hipotética  $aA + bB \rightleftharpoons cC + dD$  se encuentra en estado de equilibrio. En ese momento, la velocidad de formación -conversión de reactivos a productos- es igual a la velocidad de descomposición -conversión de productos a reactivos-, connotadas como  $K_f$  y  $K_d$ , respectivamente (Cañizares & Duarte, 2012). De acuerdo a la *Ley de Acción de Masas* y tras considerar el efecto de la fuerza iónica en el sistema, se tiene que:

$$K_f[A]^a\gamma_A^a[B]^b\gamma_B^b = K_d[C]^c\gamma_C^c[D]^d\gamma_D^d \quad ^8$$

Sin embargo, tras suponer que en el sistema hipotético se tienen concentraciones muy bajas de todos los componentes, los coeficientes de actividad tienden a uno ( $\gamma \rightarrow 1$ ), por lo que pueden obviarse en la expresión algebraica.

---

<sup>8</sup> Donde  $[A]$ ,  $[B]$ ,  $[C]$ ,  $[D]$  representan la concentración de cada una de las especies que intervienen en la reacción;  $a$ ,  $b$ ,  $c$ ,  $d$  son los coeficientes estequiométricos de las especies químicas A, B, C y D, respectivamente;  $\gamma_A$ ,  $\gamma_B$ ,  $\gamma_C$ ,  $\gamma_D$  son los valores de los coeficientes de actividad de cada una de las especies en disolución.

De esta forma, se llega a la expresión:

$$K_{eq} = \frac{K_f}{K_d} = \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$$

Por último, se toma en consideración que la deducción termodinámica de la constante de equilibrio expresa cada cantidad como el cociente de la concentración de cada especie entre la concentración en condiciones estándar<sup>9</sup>, por lo que la expresión de la constante de equilibrio es adimensional (Harris, 1992).

### b) Constante de acidez.

La constante de acidez ( $K_a$ ) es la constante de equilibrio de la reacción de disociación de un ácido cualquiera en agua. Partiendo de la ecuación general:



Donde la constante de equilibrio de la reacción<sup>10</sup>, es:

$$K_{eq} = \frac{[H_3O^+][A^-]}{[HA][H_2O]}$$

Debido a que la concentración del agua permanece constante en el sistema, la constante puede expresarse de la siguiente forma:

$$K_a = K_{eq}[H_2O] = \frac{[H_3O^+][A^-]}{[HA]}$$

---

<sup>9</sup> En el caso de compuestos en disolución, la concentración es manejada en  $\frac{mol}{L} = M$ , para gases se manejan presiones parciales (*atm*). En el caso de sólidos, será dividido sobre su peso, por lo que es igual a 1 y suele omitirse en la expresión de la constante (Harris, 1992).

<sup>10</sup> Tras considerar que  $\mathcal{A}_X = \left(\frac{[X]}{X_{std}}\right)^x \gamma_x^X$ , donde  $\mathcal{A}$  es actividad y  $X_{std}$  es la concentración de  $X$  en el sistema en condiciones estándar (Harris, 1992).

Mediante el valor de la constante de acidez, es posible conocer hacia donde está desplazado el equilibrio y, de esta forma, puede saberse qué tanto se disocia en agua el ácido en cuestión. Así, cuando  $K_a > 1$ , el equilibrio estará desplazado a los productos, hablando de que la reacción de disociación es cuantitativa, tratándose de un ácido fuerte; cuando  $K_a < 1$ , se trata de una reacción poco cuantitativa, donde el equilibrio está desplazado hacia reactivos, por lo que se trata de un ácido débil (Cañizares & Duarte, 2012).

### c) Relación entre $K_a$ , $pK_a$ y $\log\beta$ .

Un sistema ácido-base, puede describirse como la disociación de un ácido -asociado a una constante de acidez- o como la hidrólisis de la base conjugada, asociada a una constante de basicidad, pues  $HA + H_2O \rightleftharpoons H_3O^+ + A^-$  y  $A^- + H_2O \rightleftharpoons HA + OH^-$ . Así, las constantes de dichos equilibrios serían las siguientes:

$$K_a = \frac{[H_3O^+][A^-]}{[HA]} \quad K_b = \frac{[HA][OH^-]}{[A^-]}$$

De tal forma que el valor de  $pK_w$  se encuentra dado por la contribución de ambas especies:

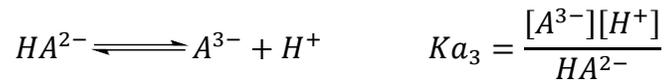
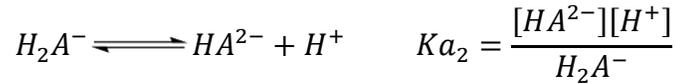
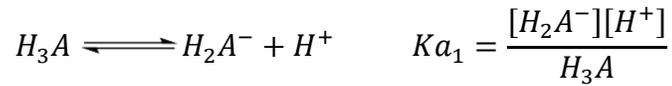
$$K_a \cdot K_b = \frac{[H_3O^+][A^-]}{[HA]} \cdot \frac{[HA][OH^-]}{[A^-][H_2O]} = \frac{[H_3O^+][OH^-]}{[H_2O]}$$

$$K_w = K_a \cdot K_b [H_2O] = [H_3O^+][OH^-] = 10^{-14}$$

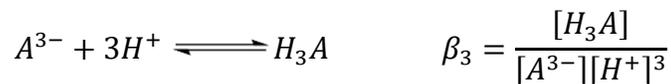
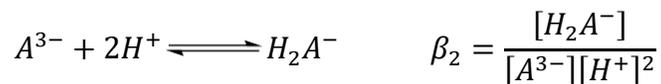
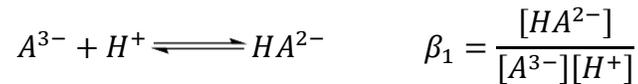
$$\Rightarrow pK_w = pK_a + pK_b = 14$$

Para establecer la relación entre  $K_a$  y  $\log\beta$ , es preciso pensar en una especie protonada que, al aumentar el pH, se disocia de manera progresiva; para cada equilibrio de disociación, se tendría asociada una constante de acidez sucesiva  $K_a$ .

Por ejemplo, para una especie triprotonada, se tendrían los siguientes equilibrios parciales de disociación:



Por otro lado, los equilibrios globales de protonación para el mismo ejemplo, son los siguientes:



Dado que hablamos de equilibrios, las constantes correspondientes a los equilibrios parciales de disociación también pueden ser expresadas como constantes de formación sucesivas (Skoog y otros, 2010), tal que  $K_f = \frac{1}{K_a}$ .

Entonces, al considerar una especie que puede protonarse  $n$  veces, se obtienen las siguientes expresiones matemáticas, que relacionan directamente las constantes de disociación con las constantes globales de formación respectivas:

$$\beta_1 = K_{f1} = \frac{1}{K_{a1}}$$

$$\beta_2 = K_{f1}K_{f2} = \beta_1 \left( \frac{1}{K_{a2}} \right)$$

...

$$\beta_n = K_{f1}K_{f2} \dots K_{fn} = \beta_{n-1} \left( \frac{1}{K_n} \right)$$

Por último, al despejar y aplicar la función *log* en ambos lados de las ecuaciones, se tiene que:

$$\log \beta_1 = pK_{a1}$$

$$\log \frac{\beta_2}{\beta_1} = pK_{a2}$$

...

$$\log \frac{\beta_n}{\beta_{n-1}} = pK_{an}$$

### **Especiación química.**

La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), define la especiación química como una actividad analítica de identificación y/o determinación de la cantidad de uno o más especies químicas contenidas en una muestra o sistema; las especies químicas tienen una conformación o característica específica, un elemento diferenciable, etc., tales como su composición isotópica, estado electrónico o de oxidación, complejos o estructura molecular. En el caso específico de un elemento químico, implica determinar la distribución del mismo en todas las especies definidas en el sistema de estudio (Adamu, Luter, Musa, & Adamu, 2013).

## **Recursos computacionales auxiliares en la especiación química.**

En la década de los setentas, surge el interés por desarrollar diversas herramientas computacionales que sirvieran como auxiliares en el refinamiento de constantes de equilibrio en sistemas multirreaccionantes y multicomponentes (Morales, 1993). El desarrollo de éstas, obedece directamente a la necesidad de estudiar sistemas cada vez más complejos (Sabatini & Vacca, 1992).

Actualmente, existen varios recursos computacionales creados para la determinación de constantes de equilibrio, mismos que pueden clasificarse en dos grupos, tal como se muestra a continuación (Sierra A. , 2002):

- Aquellos que realizan el cálculo de constantes de equilibrio probable para la estructura del compuesto problema, a partir de una base de datos experimentales compilados.
- Métodos computacionales que, mediante la utilización de complejos algoritmos matemáticos, refinan el valor de constantes de equilibrio para un modelo químico propuesto, diferenciándose entre sí en cuanto al tipo de señal analítica y al algoritmo de cálculo que utilizan.

### **a) Cálculos a partir de bases de datos: ACD/pKa DB (ACD/Labs).**

Esta herramienta computacional semiempírica es provista para su uso en línea por ACD/Labs® I-Lab 2.0 (versión: v12.1.0.50374), así como en la versión comercial completa.

En general, el proceso de cálculo se realiza en corto tiempo. Su algoritmo se fundamenta en correlacionar el compuesto de interés con diversos segmentos estructurales de carácter ácido-base, que obtiene de su base de datos, implementando un factor de

corrección, mismo que depende de los grupos funcionales vecinos del centro ionizable. Este proceso lo realiza suponiendo una temperatura de 25°C y fuerza iónica igual a cero.

La exactitud promedio que brinda el programa es del orden de  $\pm 0.50$  unidades, aunque puede variar, dependiendo de la complejidad de la estructura sujeta a cálculos. Dispone de una base de datos constituida por 8000 estructuras y de 23000 valores de pKa experimentales (ACD/Labs, 2007-2008).

Entre otros recursos en línea, se encuentra el desarrollado por ChemAxon®, que se basa en un algoritmo similar al previamente descrito; sin embargo, éste último no reporta intervalos de confianza para sus predicciones teóricas. Adicionalmente, propone diagramas de distribución de especies basados en las constantes calculadas.

#### **b) Refinamiento de constantes a partir de resultados experimentales.**

Actualmente, se cuenta con un gran número de programas encaminados al refinamiento de constantes de equilibrio, como resultado de diversas consideraciones matemáticas realizadas. La utilización de dichos recursos computacionales depende no solo del algoritmo de cálculo empleado, sino también de la técnica instrumental usada para la obtención de la información experimental -potenciometría, resonancia magnética nuclear, espectrofotometría- (Sierra A. , 2002).

Adicionalmente, algunos programas ofrecen información estadística de los resultados obtenidos, lo cual representa una ventaja para su posterior análisis, además de la posibilidad de determinar la calidad de dichos resultados (Leggett & McBryde, 1975).

En la Tabla 1, se muestra un listado de los programas más utilizados en el refinamiento de constantes de equilibrio, a partir de datos espectrofotométricos y/o potenciométricos.

**Tabla 1. Programas computacionales comúnmente utilizados para el refinamiento de constantes de equilibrio, a partir de datos espectrofotométricos (Sierra A. , 2002).**

Método instrumental	Recurso computacional	Señal analítica
<b>Espectrofotometría</b>	SQUAD	Absorbancias
<b>Potenciometría y Espectrofotometría</b>	HYPERQUAD	Absorbancias F.E.M.

Los programas, antes citados, están basados en el método de mínimos cuadrados, el cual se describirá brevemente de manera introductoria:

Para cada valor experimental provisto al programa, éste calcula un valor teórico a partir del modelo químico considerado y en función de la variable independiente, además de un conjunto de parámetros introducidos por el programa utilizado para la minimización de la sumatoria de mínimos cuadrados ( $U$ ). La expresión matemática de  $U$ , es conocida como función objetivo. Debido a que, en los sistemas de equilibrio los modelos son no lineales, debe utilizarse un algoritmo matemático para obtener aproximaciones adecuadas, hasta encontrar una expresión matemática que emule los resultados experimentales, sirviéndose de ciclos iterativos para su comparación (Sabatini & Vacca, 1992). Los programas referidos en la Tabla 1, están basados en el algoritmo de Newton-Raphson, a partir del cual, llegan a la ecuación normal del método Gauss-Newton.

### **SQUAD.**

El programa computacional SQUAD (Stability Quotients from Absorbance Data) fue desarrollado y probado por D. J. Leggett y A. E. McBryde para hacer posible la evaluación de los mejores valores de constantes de estabilidad (refinamiento), a partir de valores de absorbancia (obtenidas a diferentes longitudes de onda), además de un modelo químico propuesto, que puede ser o no dependiente del pH (Leggett & McBryde, 1975).

Éste programa, escrito en lenguaje FORTRAN, puede ser utilizado en la determinación de constantes de acidez, constantes de hidrólisis de metal-ion, así como para el estudio de equilibrios multicomponentes, en sistemas acuosos o no acuosos.

SQUAD refina los valores de las constantes de formación globales mediante la minimización de la sumatoria de los mínimos cuadrados de absorbancia ( $U$ ), empleando el algoritmo de Gauss-Newton (Gómez, 2006).

$$U = \sum_{k=1}^q \sum_{\lambda}^m (A_k^{\lambda \text{ exp}} - A_k^{\lambda \text{ calc}})^2$$

Donde  $A_k^{\lambda \text{ exp}}$  son las absorbancias experimentales,  $A_k^{\lambda \text{ calc}}$  las calculadas (ambas para la  $k$ -ésima disolución y  $m$  longitudes de onda), para las  $q$  especies presentes en la disolución (Rodríguez, Reyes, Moya, Rojas, & Gómez, 2016).

El cálculo de las absorbancias es realizado a partir de la resolución de la ecuación de Lambert-Beer, proponiendo los coeficientes de absortividad molar de cada especie para, de esta forma, determinar la concentración teórica de cada una de ellas. La convergencia se da si la diferencia en la minimización de un ciclo iterativo a otro difiere 0.001 unidades como máximo (Gómez, 2006).

Para determinar si el modelo químico propuesto reproduce de manera adecuada la información experimental, SQUAD usa los siguientes parámetros estadísticos: desviación estándar de los datos de absorbancia ( $\sigma_{\text{datos}}$ ), desviación estándar de las constantes de equilibrio ( $\sigma_{\text{cons}}$ ), la desviación estándar de cada uno de los espectros ( $\sigma_{\text{esp}}$ ) y la desviación estándar de los coeficientes de absortividad molar calculados ( $\sigma_{\text{coef}}$ ). El análisis estadístico depende enormemente de la exactitud del equipo utilizado, la cantidad de datos alimentados y de la complejidad del sistema (Rodríguez y otros, 2016).

## TRIANG.

Es un programa computacional escrito en lenguaje FORTRAN, que estima el número de especies que absorben radiación electromagnética en el sistema de estudio, a partir de los datos de absorbancia obtenidos a diferentes longitudes de onda para distintas soluciones, considerando el error en la lectura de transmitancia, connotado como  $\Delta T$  (Rodríguez y otros, 2016).

Dicha estimación, la realiza a partir de la comparación entre los valores de absorbancia que le son alimentados con los errores asociados a las mismas, suponiendo el cumplimiento de la Ley de Lambert-Beer y la Ley de aditividad de absorbancias.

La comparación la realiza tras calcular la matriz de error, tomando en consideración el valor del error en la lectura de absorbancia, así como la Teoría de propagación del error (Morales, 1993).

Posteriormente, se busca la diagonalización a cero de dicha matriz, comparando los elementos de la diagonal con la matriz de absorbancia; si el elemento diagonal de la matriz de error  $E_{jj}$  multiplicado por tres es menor que el elemento  $P_{jj}$ , entonces se considera  $P_{jj} \neq 0$ . La sumatoria de los elementos  $P_{jj} \neq 0$ , será interpretada como el número de especies que absorben en el sistema (Gómez, 2006).

## Capítulo II. Metodología Experimental.

### Instrumentos, materiales, y reactivos.

Instrumentos	Materiales	Reactivos y soluciones
✓ Espectrofotómetro UV-Vis Beckman Coulter, Mod. DU800.	✓ Agitador magnético.	✓ Agua desionizada y hervida.
✓ Potenciómetro Beckman (electrodo combinado), Mod. $\phi$ 350 ( $\pm 0.01$ ).	✓ Celda de doble camisa de tres bocas.	✓ Agua destilada.
✓ Baño de Temperatura Constante Cole-Parmer, Mod. BT-15 ( $\pm 0.1^\circ\text{C}$ ).	✓ Matraces volumétricos, distinta capacidad.	✓ (4-clorofenil)carbamato de etilo. Sintetizado en LQM.
✓ Sonicador Cole-Parmer. Mod. 08849-00.	✓ Bureta de 10 mL.	✓ Etanol. <ul style="list-style-type: none"><li>• Pureza: 95-96%.</li><li>• Marca PROLABO (grado HPLC).</li></ul>
	✓ Micropipeta (1-100, 100-1000 $\mu\text{L}$ ).	✓ Nitrógeno ( $\text{N}_2$ ). <ul style="list-style-type: none"><li>• Pureza: 99.5-100%.</li><li>• Marca PRAXAIR.</li></ul>
	✓ Tubos de ensaye.	✓ NaOH 0.1M.
	✓ Vasos de precipitado, distinta capacidad.	✓ HCl 0.1M.
	✓ Celdas de cuarzo ( $l=1\text{cm}$ ).	

### Pruebas de solubilidad del compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo.

1. Se elaboraron diez mezclas etanol-agua a distintas proporciones ( $V_{\text{Sistema}}=5\text{ mL}$ ), tal como se muestra en la Tabla 2.

**Tabla 2. Proporción EtOH-H<sub>2</sub>O de las mezclas utilizadas para las pruebas de solubilidad del compuesto LQM 996.**

Mezcla	Proporción EtOH-H <sub>2</sub> O (%)
1	5-95
2	10-90
3	15-85
4	20-80
5	25-75
6	30-70
7	35-65
8	40-60
9	45-55
10	50-50

2. En diez tubos de ensayo debidamente etiquetados, se colocó una pequeña cantidad del compuesto de estudio.
3. A cada tubo, le fueron agregados 2 mL de la mezcla correspondiente.
4. Posteriormente, todas las mezclas se colocaron en un sonicador durante 60 min; esto con la finalidad de favorecer la disolución del compuesto, de manera homogénea.
5. Tras suspender la sonicación, se realizaron las observaciones correspondientes para determinar la proporción mínima de etanol necesaria para favorecer la disolución del compuesto.

### Concentración de las soluciones de trabajo

1. Se prepararon siete sistemas (Tabla 3), cuyas concentraciones del compuesto de interés se encuentran contenidas en el intervalo  $1.0 \times 10^{-6} \text{ M} \leq [\text{LQM 996}] \leq 1.2 \times 10^{-4} \text{ M}$ .

**Tabla 3. Concentración de los sistemas preparados, comprendidos en el intervalo de trabajo.**

Sistema	[LQM996]/M
1	$1.1220 \times 10^{-6}$
2	$1.4979 \times 10^{-5}$
3	$2.9052 \times 10^{-5}$
4	$4.2076 \times 10^{-5}$
5	$7.0126 \times 10^{-5}$
6	$8.4151 \times 10^{-5}$
7	$1.1020 \times 10^{-4}$

2. Con el espectro de absorción del Sistema 5 se determinó la longitud de onda en que se registraba el valor máximo de absorbancia ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) en el intervalo en que se obtiene mayor información espectral del sistema ( $220 \text{ nm} \leq \lambda \leq 320 \text{ nm}$ ).
3. Se midió la absorbancia de los sistemas restantes a  $\lambda_{\text{máx}}$ .
4. Mediante el análisis gráfico de los datos obtenidos, se determinó el intervalo en que la relación entre la absorbancia y la concentración, guarda un comportamiento lineal.
5. Se eligió la concentración adecuada para la preparación de las disoluciones de trabajo.

## Preparación de las disoluciones de trabajo

### a) Preparación de la disolución stock.

1. Se pesó la cantidad de 0.0250g de (4-clorofenil)carbamato de etilo.
2. Se llevó al aforo con una mezcla EtOH-H<sub>2</sub>O (45-55 %), a un volumen de 25mL.

### b) Preparación de la disolución de trabajo (pH neutro).

1. Se midió la cantidad de 300μL de disolución stock.
2. Se aforó la disolución con agua desionizada, a un volumen de 25 mL.

### c) Preparación de la disolución de trabajo (ácida y básica).

1. Se midió la cantidad de 300μL de disolución stock.
2. Se llevó al aforo (25 mL) con disolución [HCl]=0.1M o [NaOH]=0.1M, según el caso.

A continuación, se presenta el cálculo de la concentración de LQM 996 en dichas disoluciones, de acuerdo a su preparación:

$$\left(\frac{0.0250g \text{ LQM996}}{25 \text{ mL de soln.}}\right) \left(\frac{1000mmol \text{ LQM996}}{199.64g \text{ LQM996}^{R.P.}}\right) = 5.0090 \times 10^{-3} M \quad \textit{Disolución stock}$$

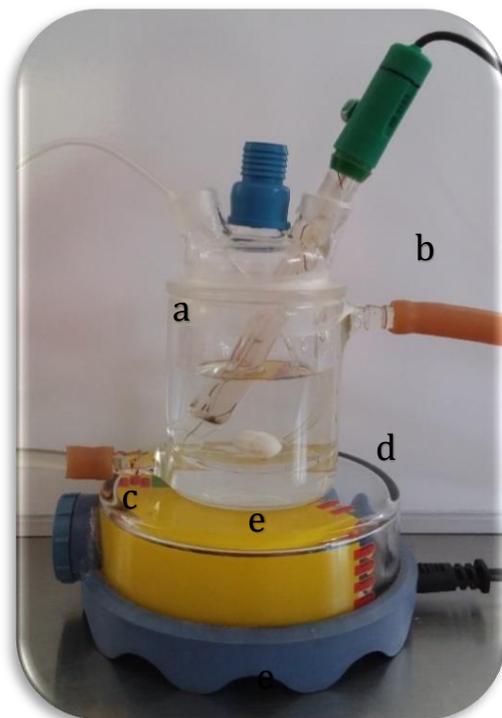
$$\left(\frac{300\mu L \text{ Soln. Stock}}{25 \text{ mL de soln.}}\right) \left(\frac{1 \text{ mL Soln. Stock}}{1000 \mu L \text{ Soln. Stock}}\right) \left(\frac{5.0090 \times 10^{-3} mmol \text{ LQM996}}{1 \text{ mL Soln. Stock}}\right)$$

$$= 6.0108 \times 10^{-5} M \quad \textit{Disolución de trabajo.}$$

## Estudio de la estabilidad del compuesto de estudio

El estudio de la estabilidad del compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo, fue realizado por triplicado en tres medios distintos: ácido, básico y a pH impuesto por el compuesto de estudio en disolución. A continuación, se muestra el procedimiento seguido en cada ensayo:

1. Se realizó el montaje del sistema de trabajo (Imagen 15), acoplando una celda de doble camisa a un baño de temperatura constante a  $(25.0 \pm 0.1) ^\circ\text{C}$ .
2. Se preparó la disolución de estudio, (ácida, básica o neutra), según lo establecido en el apartado "Preparación de las soluciones de trabajo".
3. La disolución se colocó dentro de la celda bajo agitación constante y se comenzó el burbujeo de nitrógeno para evitar la carbonatación de la alícuota. Acto seguido, se colocó en una de las bocas restantes un electrodo combinado, conectado al potenciómetro y debidamente calibrado.
4. Se midió el pH inicial de la disolución y se realizó la lectura del espectro de absorción a 3.5 mL de la alícuota. Posteriormente, la muestra se regresó al sistema.
5. Tres minutos después, se midió nuevamente el pH y se llevó a cabo la lectura del espectro de absorción correspondiente.
6. Las mediciones subsecuentes, se realizaron a diferentes intervalos de tiempo durante 4510 min totales, tal como se reporta en el Anexo A.



**Imagen 15. Montaje experimental para llevar a cabo el estudio de estabilidad.**

- a) Burbujeo de  $N_2$ .*
- b) Electrodo combinado.*
- c) Entrada del flujo de agua recirculada.*
- d) Salida del flujo de agua recirculada.*
- e) Agitador magnético.*

## Valoración sin dilución del (4-clorofenil)carbamato de etilo

El seguimiento espectrofotométrico correspondiente, se realizó por triplicado, tal como se muestra a continuación:

1. Veinticuatro horas previas a la experimentación, se preparó una disolución ácida de LQM 996, de concentración  $6.01 \times 10^{-5}$  M, así como la cantidad necesaria de una disolución básica de la misma concentración del compuesto de interés.
2. Se acopló la celda de doble camisa a un baño de temperatura constante a  $(25.0 \pm 0.1)$  °C.
3. La disolución ácida se colocó dentro de la celda con agitación constante y se burbujeó nitrógeno durante 30 min (Imagen 16).
4. Se adaptó una bureta de 10 mL a una de las bocas de la celda, empacada con la disolución básica descrita anteriormente.
5. En la boca restante, se introdujo el electrodo combinado (conectado al potenciómetro y debidamente calibrado).
6. Se midió el pH inicial de la alícuota ácida y se tomó la lectura del espectro de absorción correspondiente a una muestra de 3.5 mL. Tras la medición, la muestra se regresó al sistema.
7. Con el uso de la bureta se adicionaron diferentes volúmenes de disolución básica, incrementando así el pH de la alícuota en intervalos no mayores a 0.3 unidades; cada medición se realizó hasta que el valor de pH presentó variaciones menores a 0.05, para procurar que el sistema se encontrara en equilibrio. A cada incremento, se realizó la lectura del espectro de absorción correspondiente, operando así hasta llegar a  $\text{pH} \approx 13$ .



**Imagen 16. Montaje experimental de la valoración espectrofotométrica.**

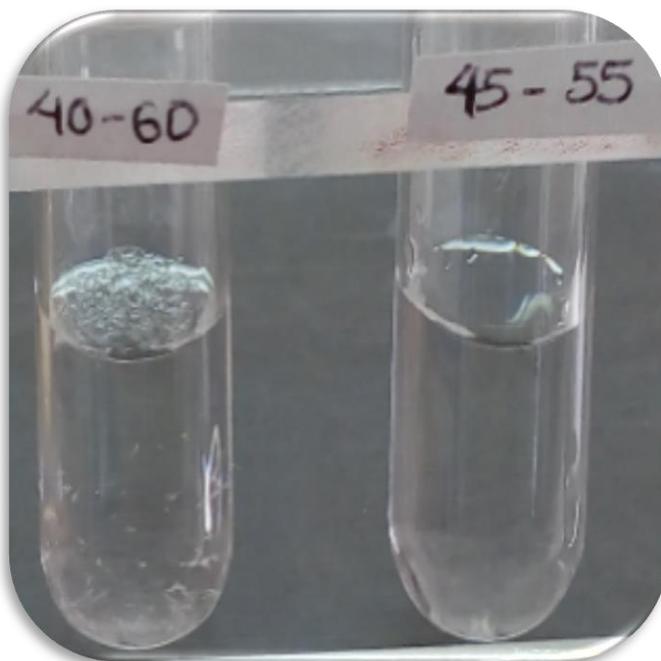
## Capítulo III. Resultados y Discusión.

### Pruebas de solubilidad.

Uno de los requisitos más importantes para llevar a cabo el estudio espectrofotométrico de una sustancia química, es que ésta se encuentre en disolución, sin ningún tipo de precipitado. Por ello, se eligió un disolvente que aumentara la solubilidad de dicho compuesto en agua; mismo que debía ser miscible en ella y no absorber en el intervalo de longitudes de onda de trabajo (en este caso,  $220nm \leq \lambda \leq 320nm$ ). Por lo anterior, se eligió etanol<sup>11</sup> para la elaboración de varias mezclas con agua a distintas proporciones, con la intención de determinar la adecuada para la preparación de la *disolución stock*, aquella en la cual, la cantidad de etanol sea mínima. A partir de dicha disolución, serían preparadas todas las soluciones de trabajo.

En el estudio realizado, el compuesto presentó insolubilidad en aquellas muestras con porcentaje etanólico inferior a 45%.

En la Imagen 17, se presenta un ejemplo de dichos sistemas, donde se aprecia cierta cantidad de sobrenadante en soluciones con un porcentaje de EtOH menor a 45% (a). A proporciones iguales o mayores a dicho valor (b), la sustancia de estudio es soluble.



**Imagen 17. Pruebas de solubilidad realizadas al compuesto LQM 996, en sistemas EtOH-H<sub>2</sub>O a proporciones: a) 40%/60% y b) 45%/55%.**

<sup>11</sup> Se utilizó etanol (EtOH), debido a que su límite inferior de transparencia en la región UV tiene un valor de 205nm, siendo uno de los más bajos respecto a otros disolventes (Christian, 2009).

### Concentración de las soluciones de trabajo.

Con la finalidad de conocer la concentración adecuada de (4-clorofenil)carbamato de etilo en las soluciones de trabajo, se llevó a cabo un estudio gráfico para determinar el intervalo en que la absorbancia (A) mantiene una relación lineal respecto a la concentración de compuesto en el sistema, de acuerdo con la Ley de Lambert-Beer.

Inicialmente, se determinó la longitud de onda en que el compuesto registra valores máximos de absorbancia ( $\lambda_{m\acute{a}x}$ ), a partir del espectro de absorción de una disolución de concentración  $5.61 \times 10^{-5} M$  (Gráfico 2); así, se observan dos máximos de absorbancia:  $\lambda_{m\acute{a}x 1} = 239 nm$  y  $\lambda_{m\acute{a}x 2} = 274 nm$ . Posteriormente, se elaboraron siete sistemas a distintas concentraciones, contenidas en el intervalo  $1.0 \times 10^{-6} M \leq [LQM996] \leq 1.1 \times 10^{-4} M$  y, acto seguido, se midió la absorbancia de los mismos a  $\lambda_{m\acute{a}x 1}$ , pues es a la que corresponde una banda más definida y de mayor magnitud. Estos valores, se encuentran concentrados en la Tabla 4.

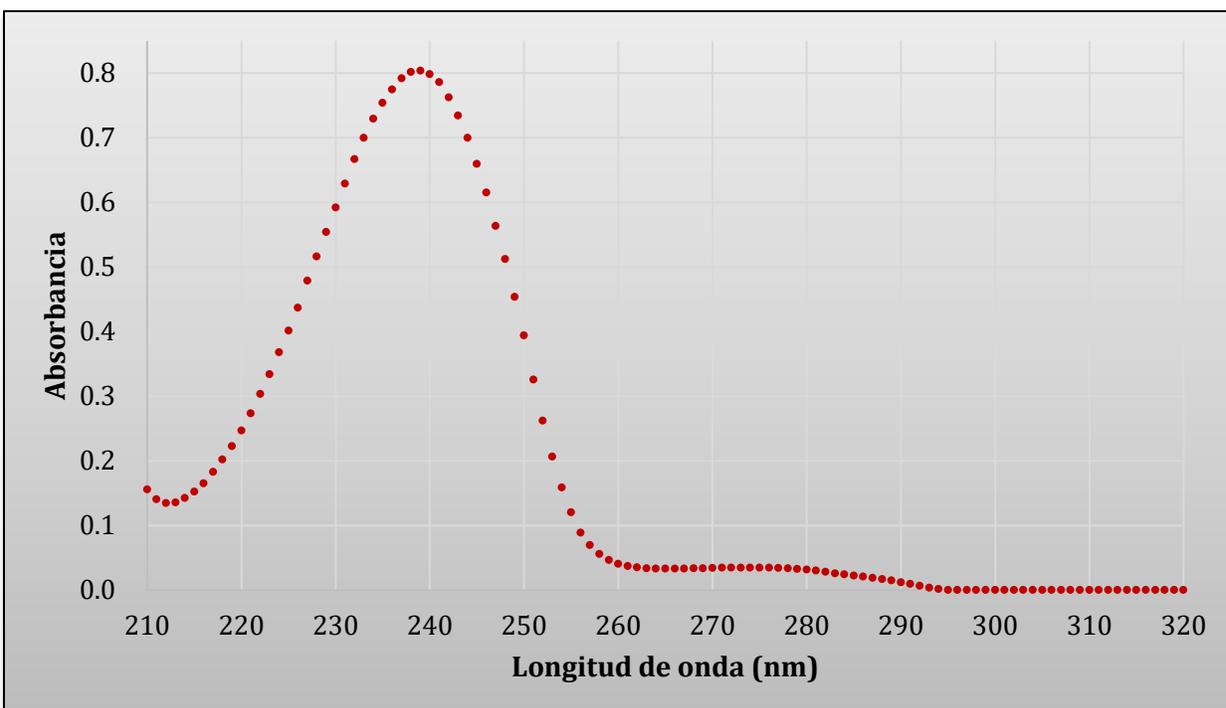
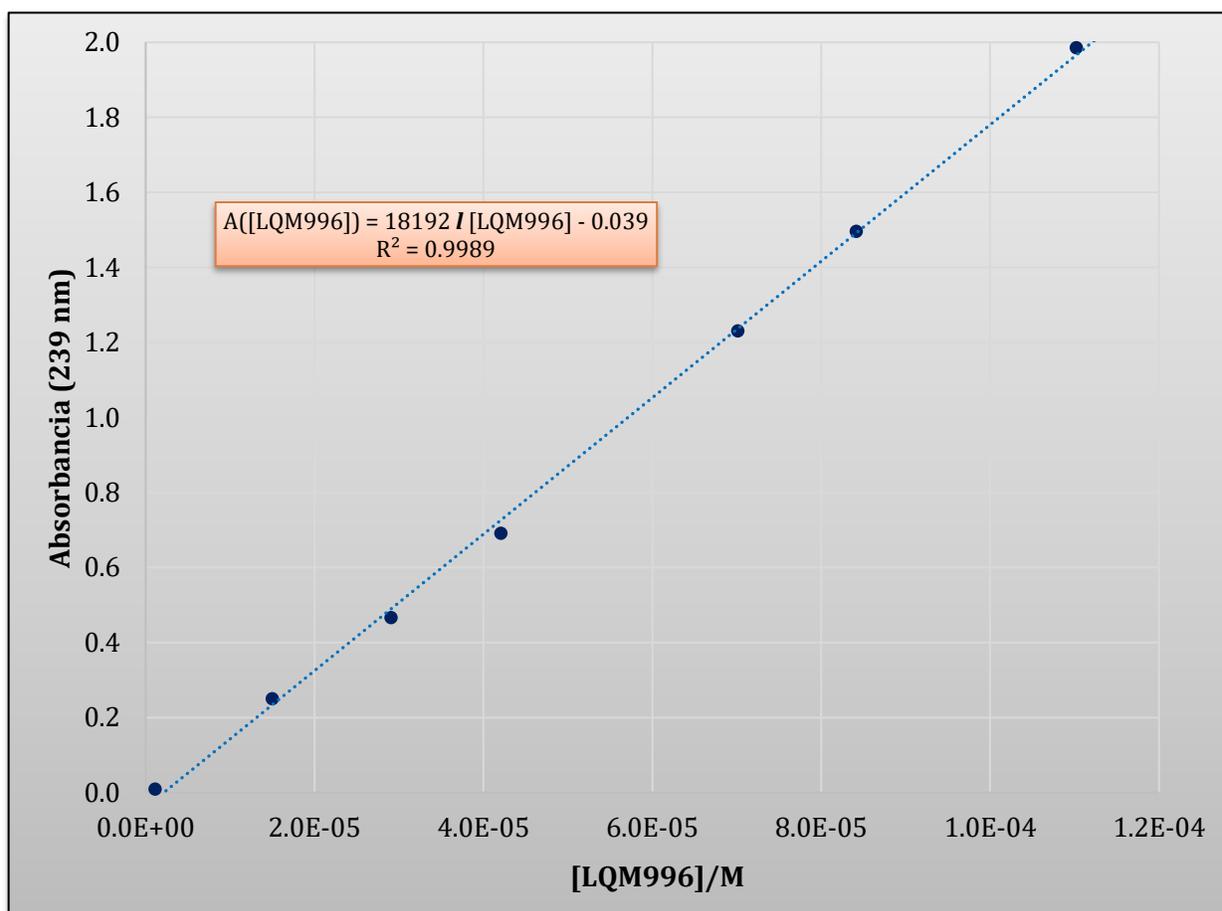


Gráfico 2. Espectro de absorción de una disolución  $[LQM996]=5.61 \times 10^{-5} M$ .

**Tabla 4. Concentración en los diferentes sistemas empleados y su valor de absorbancia a una  $\lambda_{m\acute{a}x}=239$  nm.**

Sistema	[LQM996]/M	A ( $\lambda_{m\acute{a}x} = 239$ nm)
1	$1.1220 \times 10^{-6}$	0.0088
2	$1.4979 \times 10^{-5}$	0.2500
3	$2.9052 \times 10^{-5}$	0.4658
4	$4.2076 \times 10^{-5}$	0.6904
5	$7.0126 \times 10^{-5}$	1.2299
6	$8.4151 \times 10^{-5}$	1.4955
7	$1.1020 \times 10^{-4}$	1.9849

Con los valores obtenidos, se realizó el Gráfico 3, mismo que se muestra a continuación:



**Gráfico 3. Valores de absorbancia con respecto a la concentración de (4-clorofenil)carbamato de etilo, a una  $\lambda_{m\acute{a}x}=239$  nm, para los sistemas preparados.**

Mediante la regresión lineal por mínimos cuadrados de los resultados, se obtuvo la ecuación que describe la dependencia de la absorbancia respecto a la concentración del compuesto de interés:

$$A = 18192 l [LQM996] - 0.039$$

Donde:

$$\varepsilon^{239} = 18192 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

$$l = 1 \text{ cm}$$

$$b = -0.039$$

De esta forma, los valores de absorbancia guardan un grado de correlación lineal alto respecto a las distintas concentraciones trabajadas ( $R=0.9994$ ). Para garantizar que el sistema de trabajo obedece la ley de Lambert-Beer, es necesario elegir un valor medio de concentración: en este caso,  $[LQM996] \approx 6.0E-5 \text{ M}$ .

De acuerdo a la preparación de las disoluciones de trabajo, detallada en la Metodología Experimental, la concentración de LQM 996 es de  $6.01E-5 \text{ M}$ , donde el porcentaje etanólico presente en disolución es de 0.52%, por lo que pueden considerarse como sistemas acuosos en lo sucesivo. Al calce, se incluye el cálculo de dicho porcentaje:

$$\frac{300 \mu\text{L Soln. Stock}}{25 \text{ mL Soln. de trabajo}} \left( \frac{4.5 \mu\text{L EtOH}}{10 \mu\text{L Soln. Stock}} \right) \left( \frac{1 \text{ mL EtOH}^{R.A.}}{1000 \mu\text{L EtOH}} \right) \left( \frac{95.5 \text{ mL EtOH}^{R.P.}}{100 \text{ mL EtOH}^{R.A.}} \right) \times 100$$

$$= \mathbf{0.52\% EtOH}$$

### Estabilidad del compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo en disolución.

Se realizó el estudio de la estabilidad del compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo en disolución en tres medios distintos: ácido ( $\overline{pH}=0.91 \pm 0.05$ ), básico ( $\overline{pH}=13.33 \pm 0.05$ ) y a pH del compuesto en disolución ( $\overline{pH}=6.27 \pm 0.26$ ). El estudio se basó en el monitoreo sistemático de la variación en los valores de absorbancia y pH en cada sistema respecto al tiempo, realizado en un período de 4510 min (distribuidos a lo largo de cuatro días a partir de su preparación) y por triplicado, para comprobar la reproducibilidad de los resultados).

#### a) Medio ácido.

Se distinguen dos bandas que registran valores máximos de absorbancia en 239 nm ( $\lambda_{\text{máx1}}$ ) y 274nm ( $\lambda_{\text{máx2}}$ ), siendo la primera de mayor intensidad. En el Gráfico 4, se muestran los espectros de absorción, obtenidos a distintos tiempos a lo largo del estudio.

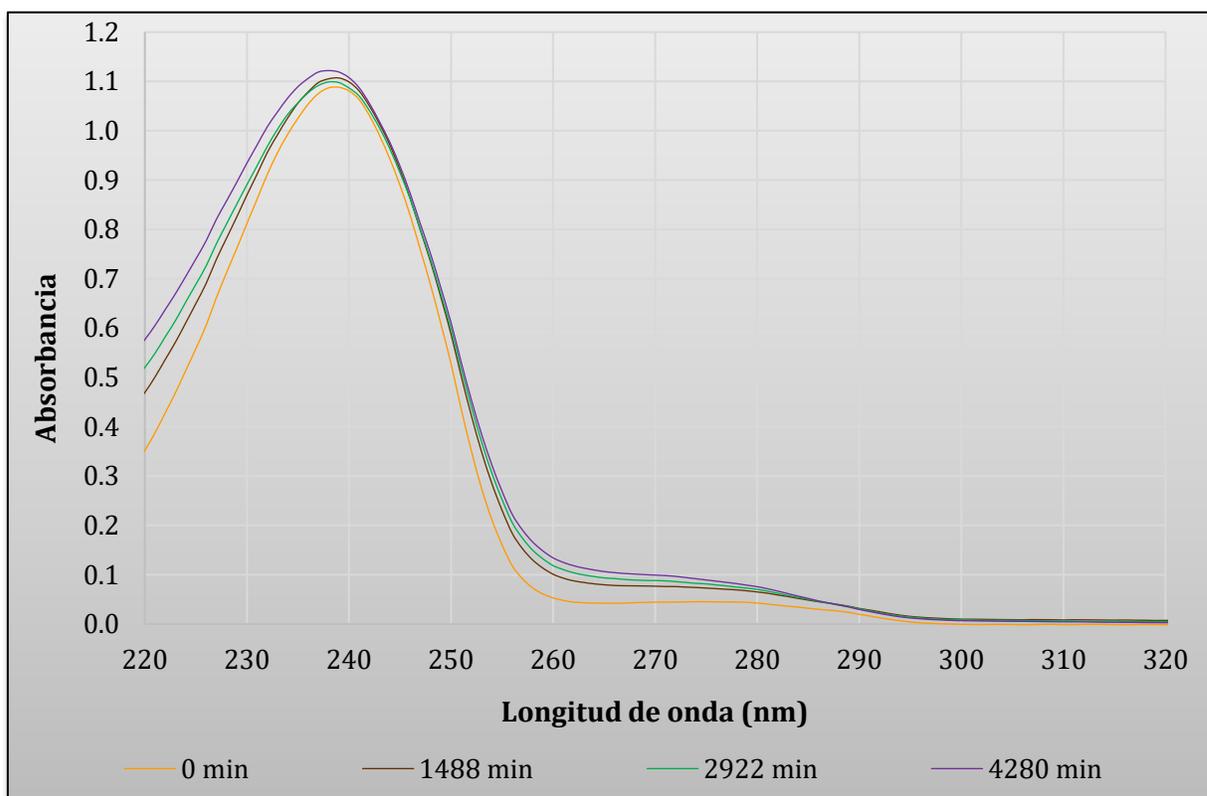


Gráfico 4. Comportamiento espectral de una disolución  $[LQM996]=6.01 \times 10^{-5}$  M respecto al tiempo, en medio ácido ( $\overline{pH}=0.91 \pm 0.05$ ).

## b) Medio neutro.

El sistema de pH cercano a la neutralidad, es posible apreciar también valores máximos de absorbancia en  $\lambda_{\text{máx } 1}=239\text{nm}$  y  $\lambda_{\text{máx } 2}=274\text{nm}$ ; sin embargo, el valor de la absorbancia en ambos máximos es menor respecto a los obtenidos en medio ácido. En el Gráfico 5, se muestran los espectros de absorción, obtenidos a distintos tiempos a lo largo del estudio.

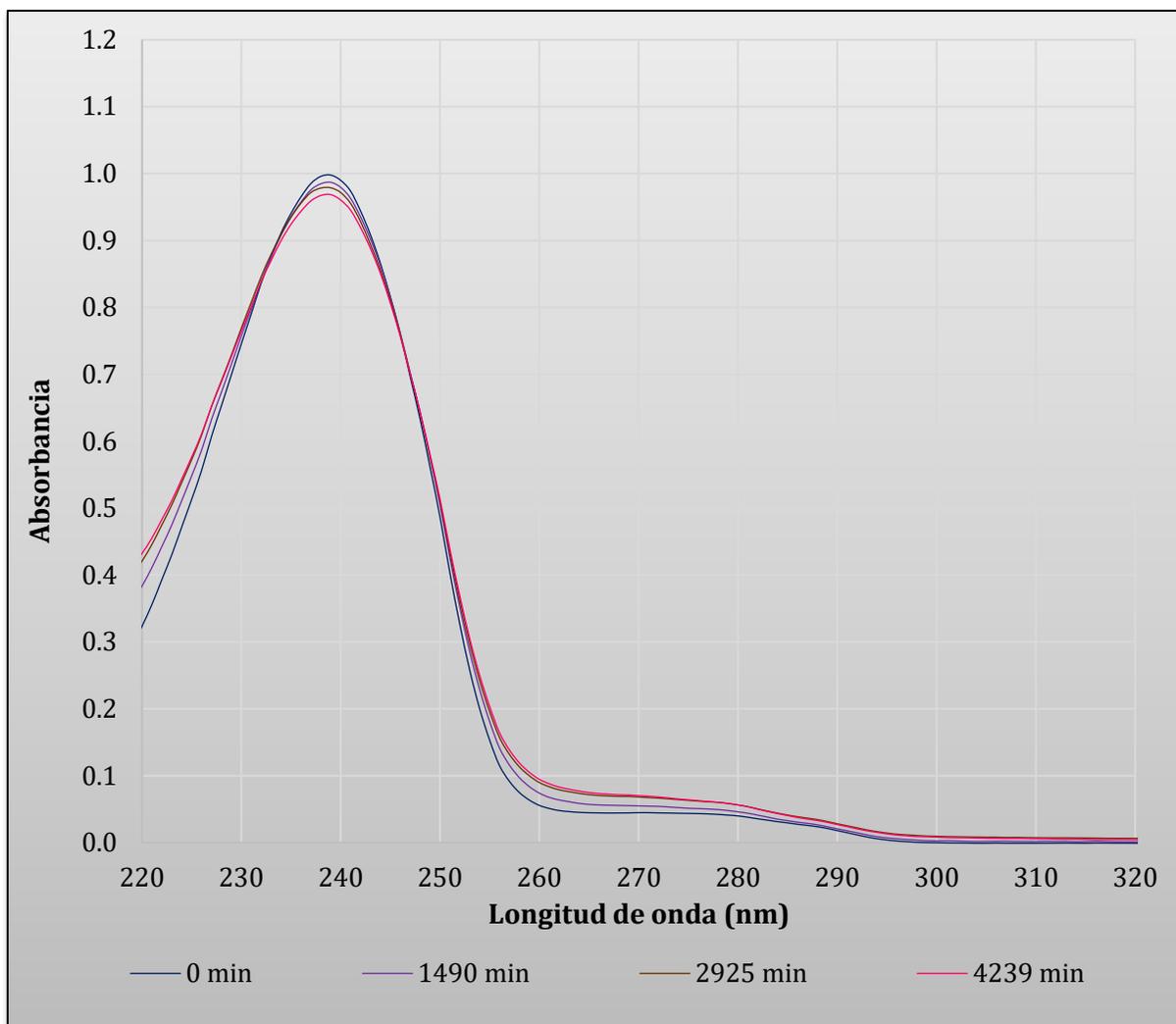


Gráfico 5. Comportamiento espectral de una disolución  $[\text{LQM996}] = 6.01 \times 10^{-5} \text{ M}$  respecto al tiempo, en un medio cercano a la neutralidad ( $\text{pH} = 6.27 \pm 0.26$ ).

### c) Medio básico.

El comportamiento espectral muestra un ligero aumento en el ancho de la banda correspondiente a  $\lambda_{\text{máx1}}$ , a partir de 1370 min; por otro lado, la banda observada en los sistemas anteriores a una  $\lambda=274$  nm, ya no es distinguible de  $\lambda_{\text{máx1}}$ , dando la apariencia de un sesgo en la banda principal. En este sistema, se tienen valores de absorbancia ligeramente mayores a los observados en medio neutro, pero menores que en medio ácido. En el Gráfico 6, se presenta algunos espectros obtenidos a lo largo del estudio.

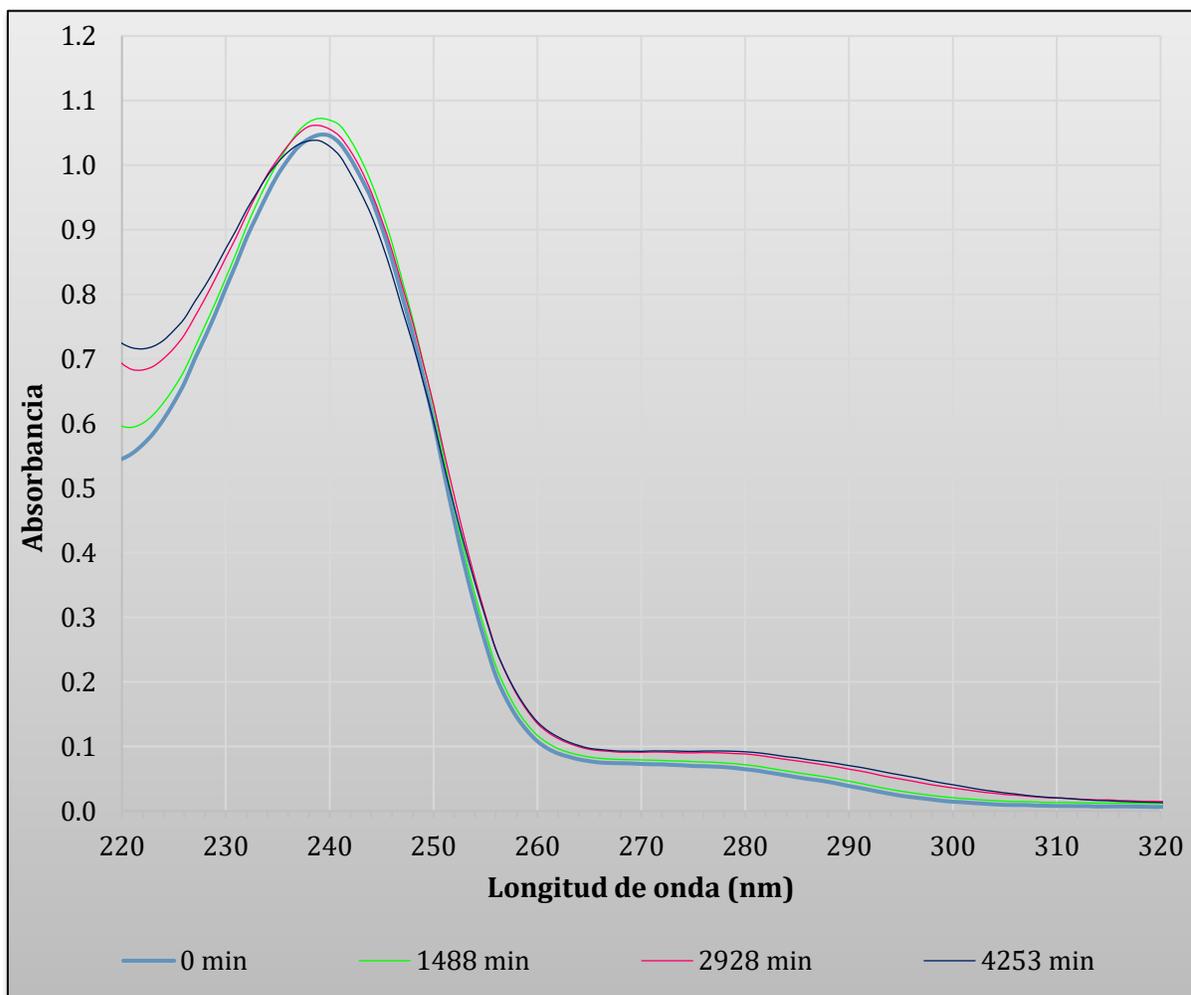


Gráfico 6. Comportamiento espectral de una disolución  $[LQM996]=6.01 \times 10^{-5}$  M respecto al tiempo, en medio básico ( $pH=13.33 \pm 0.05$ ).

Para los sistemas ácido, neutro y básico, los espectros muestran ligeras variaciones entre sí con el paso del tiempo. Este comportamiento puede deberse al cambio en el pH de la disolución, pues no fue utilizado ningún tipo de amortiguamiento en el sistema.

Con la finalidad de analizar detenidamente los resultados concernientes al cambio del pH respecto al tiempo en cada sistema, así como de los valores de absorbancia  $A$ , se realizó el cálculo del valor promedio de dichas propiedades (connotadas como  $\overline{pH}$  y  $\overline{A}$ , respectivamente) y su desviación estándar, así como su porcentaje de variación a lo largo de la experimentación para  $\lambda_{\text{máx1}}=239\text{nm}$ , por ser la banda de mayor intensidad.

En las Tablas 5 y 6, se presenta la información obtenida:

**Tabla 5. Valores promedio de pH y porcentaje de variación a lo largo del monitoreo de dicha propiedad respecto al tiempo.**

Sistema	$\overline{pH} \pm \sigma$	% Variación
Ácido	$0.91 \pm 0.05$	5.65
Neutro	$6.27 \pm 0.26$	4.16
Básico	$13.33 \pm 0.05$	0.36

**Tabla 6. Valores promedio de Absorbancia y porcentaje de variación a lo largo del monitoreo de dicha propiedad respecto al tiempo.**

Sistema	$\overline{A} \pm \sigma$	% Variación
Ácido	$1.1138 \pm 0.0275$	2.47
Neutro	$0.9958 \pm 0.0149$	1.50
Básico	$1.0585 \pm 0.0162$	1.53

A partir de los datos anteriores, se aprecia que el compuesto de estudio muestra mayor estabilidad en medio básico, seguido por el sistema a pH impuesto por la disolución y menos estable en medio ácido; sin embargo, en todos los casos se registran porcentajes de

variación pequeños ( $V_{pH} \leq 5.65\%$  y  $V_A \leq 2.47\%$ ), por lo que todos los sistemas pueden considerarse estables a lo largo del estudio realizado.

Por último, se elaboró un estudio gráfico de dicho comportamiento, donde se observa que la fluctuación del valor de pH respecto al tiempo (**¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**) es mayor en las primeras horas del estudio en los tres sistemas, tendiendo a estabilizarse a veinticuatro horas de su preparación, tiempo a partir del cual, los cambios de pH son aun menores.

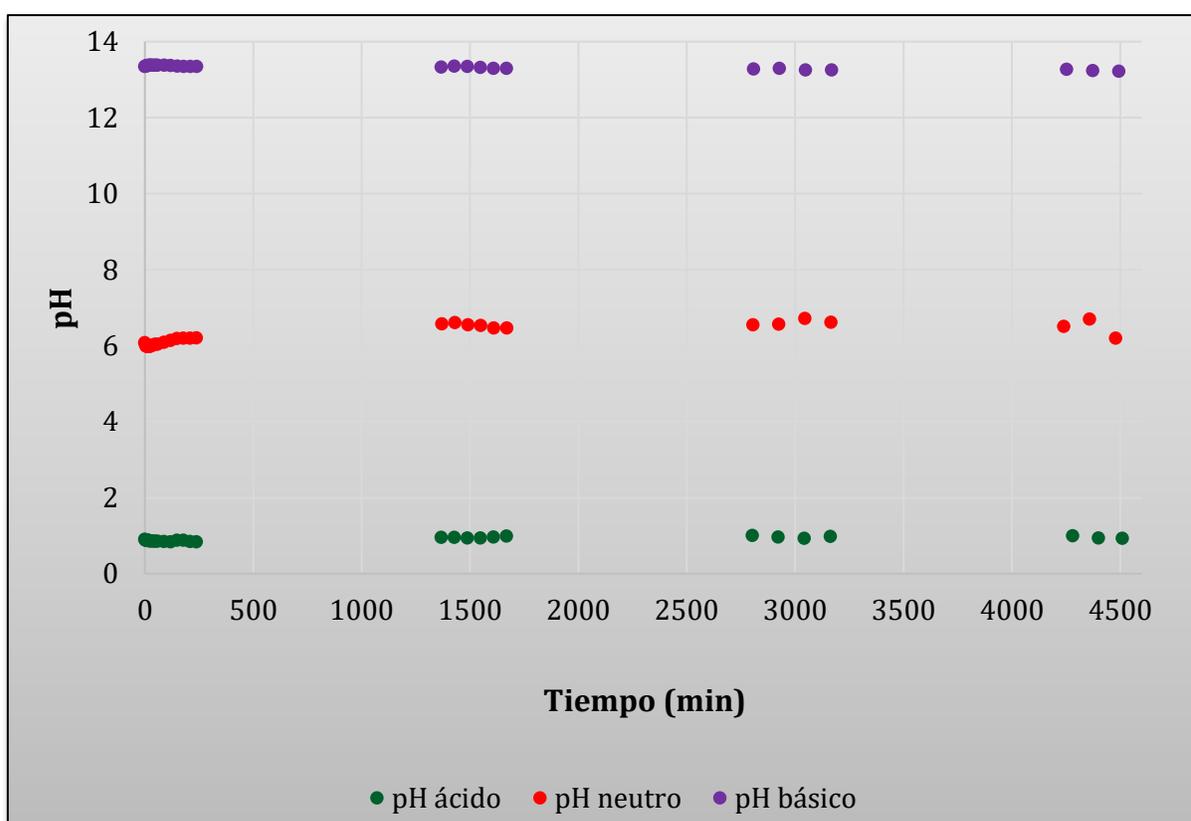
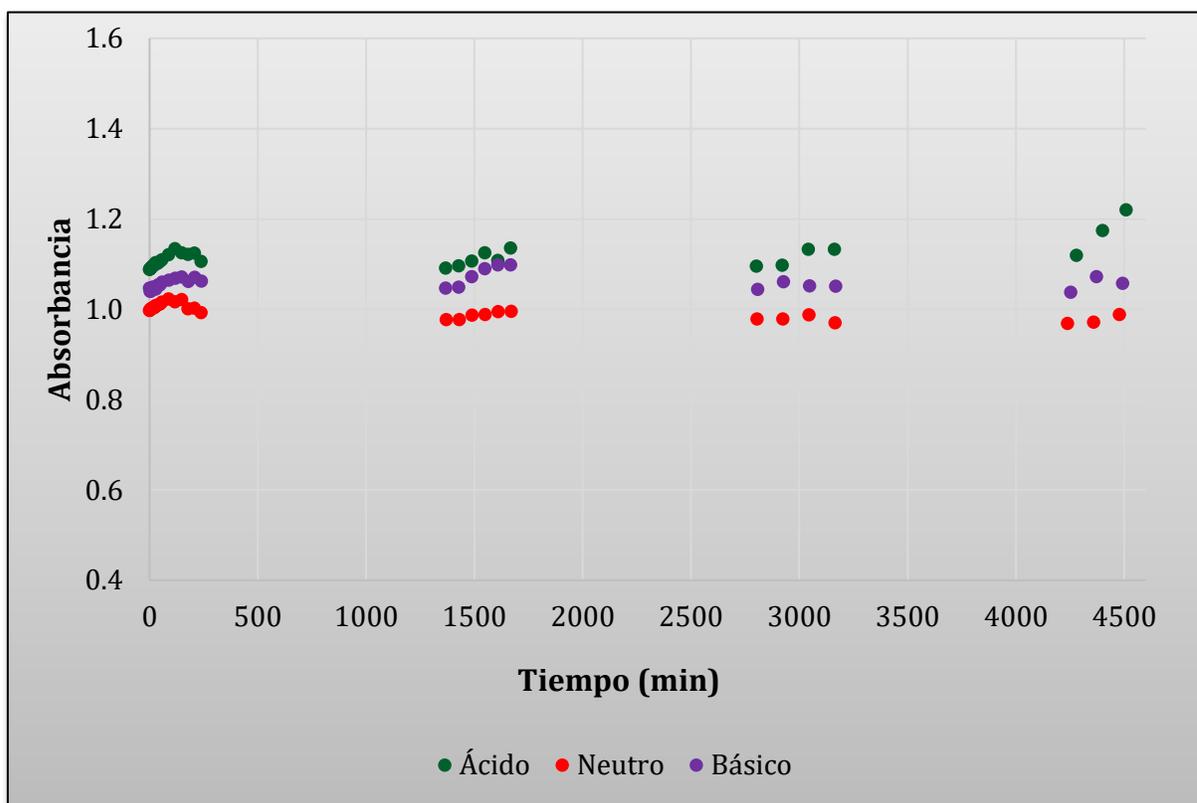


Gráfico 7. Valor de pH respecto al tiempo, en una disolución [LQM996]=6.01x10<sup>-5</sup> M en medio ácido, básico y neutro.

En el caso de la absorbancia (Gráfico 8), las variaciones más significativas también se dan en las horas iniciales del estudio, tendiendo a la estabilidad tras el paso de veinticuatro horas.



**Gráfico 8. Valor de la Absorbancia a 239nm respecto al tiempo, registrado en los sistemas ácido, básico y neutro a una  $[LQM996]=6.01 \times 10^{-5}$  M.**

Con lo analizado anteriormente, se muestra que el (4-clorofenil)carbamato de etilo es estable en el intervalo de tiempo del estudio, así como en el intervalo de pH en que se realizará el trabajo experimental subsecuente.

Para mejores resultados, se estableció que las soluciones de trabajo a utilizar en la determinación de constante(s) de acidez se prepararan veinticuatro horas previas al trabajo experimental.

### Especiación química del (4-clorofenil)carbamato de etilo.

Se realizó el estudio de especiación química del (4-clorofenil)carbamato de etilo en disolución, siguiendo lo descrito en la Metodología Experimental. Dicho estudio se realizó por triplicado, para asegurar la reproducibilidad de resultados.

#### a) Análisis gráfico.

A partir de los espectros de absorción obtenidos, se construyó el correspondiente espectrograma (Gráfico 9), con la finalidad de realizar su análisis.

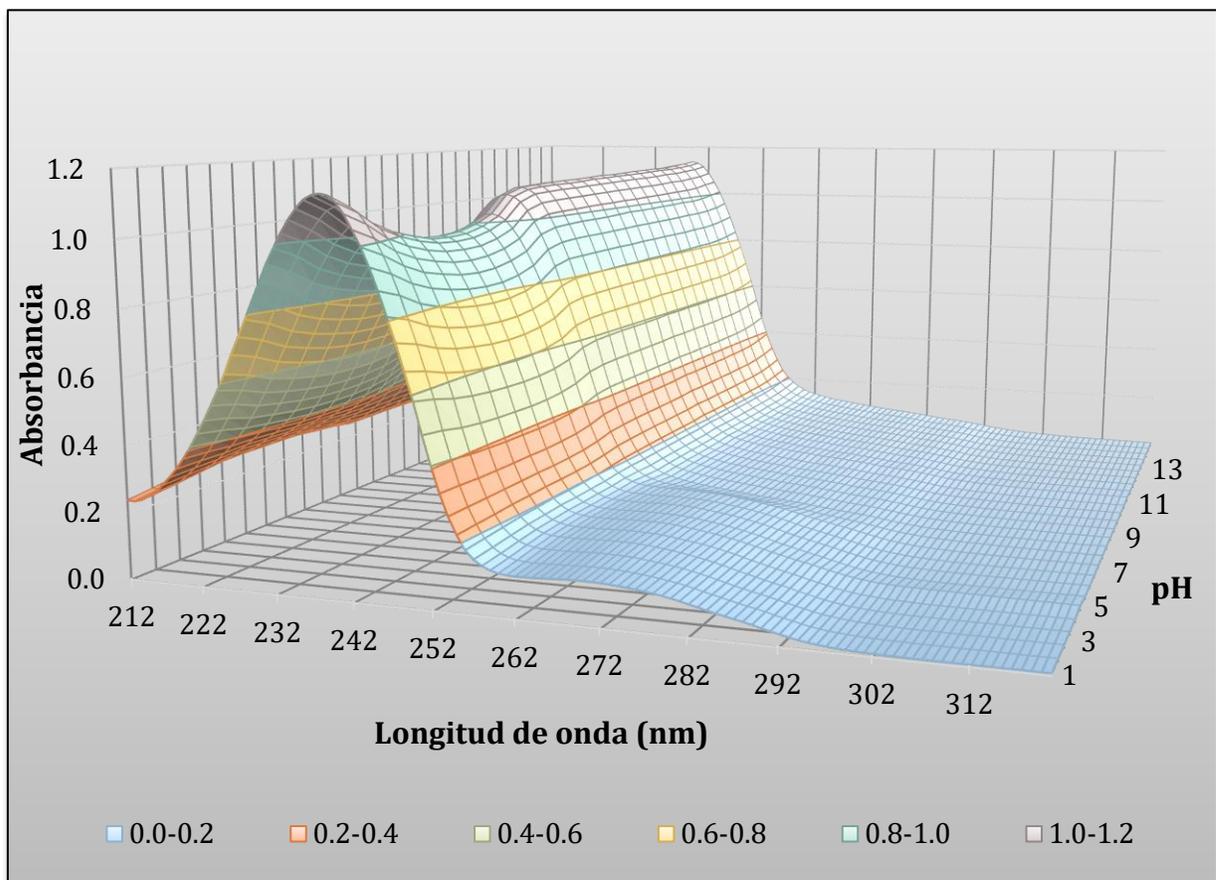
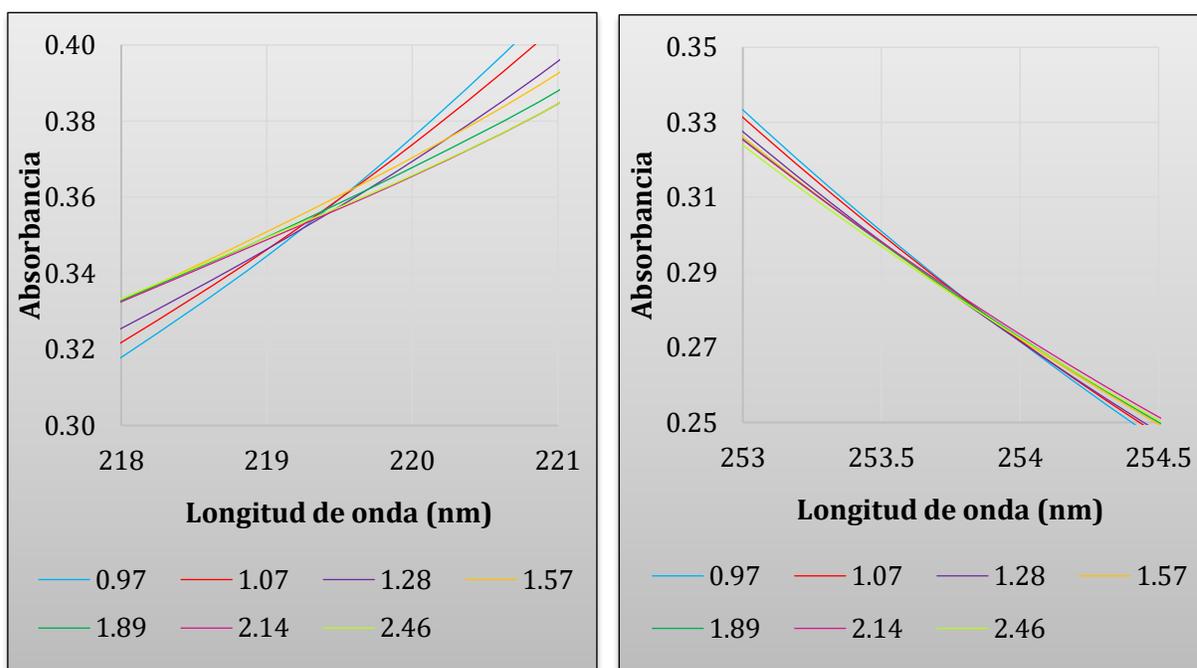


Gráfico 9. Espectrograma obtenido a partir del estudio espectrofotométrico sin dilución de un sistema  $[LQM996]=6.01 \times 10^{-5}M$ , a  $25^{\circ}C$  y fuerza iónica variable. La leyenda corresponde a intervalos de valores de absorbancia, para facilitar la comprensión del gráfico.

De esta forma, es posible detectar tres cambios en el comportamiento espectral a lo largo del intervalo de pH estudiado, por lo que se decidió dividir los espectros de absorción en intervalos de pH de manera conveniente, de acuerdo a dichas observaciones y realizar gráficos en dos dimensiones para cada uno de ellos, con la intención de detectar probables puntos isobéuticos; estos gráficos pueden consultarse en el Anexo C (Gráficos B 1 – B 3).

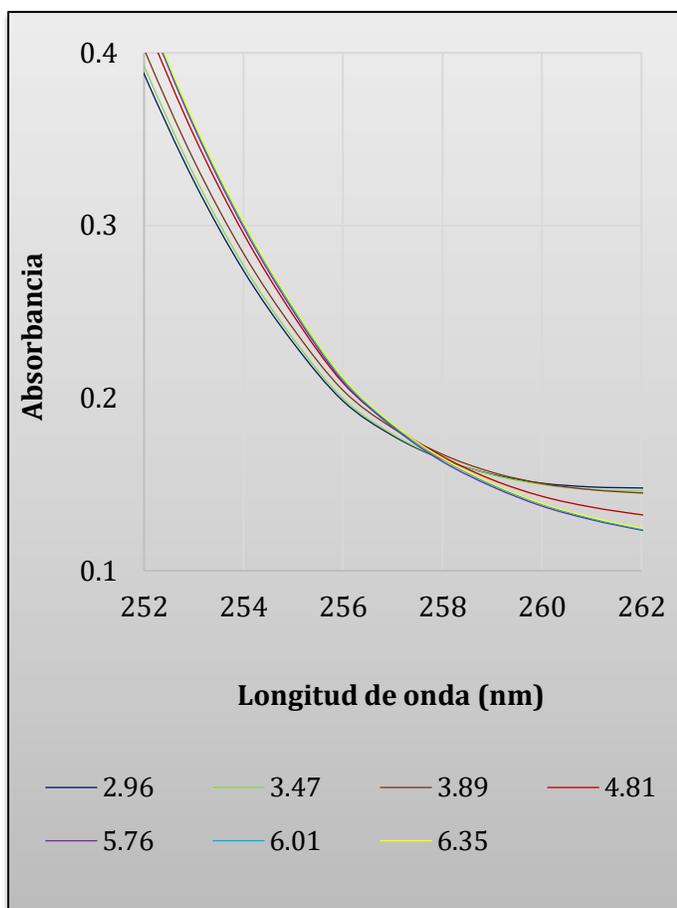
Como puede apreciarse en el Gráfico 9, la banda de mayor importancia a lo largo del estudio, es aquella que presenta un máximo de absorbancia en 239nm ( $\lambda_{\text{máx1}}$ ), seguida de una banda de menor intensidad, con un máximo de absorción a 274nm ( $\lambda_{\text{máx2}}$ ).

En el intervalo  $0.97 \leq \text{pH} \leq 2.50$ , se observa un efecto hipocrómico en la banda de  $\lambda_{\text{máx1}}$  conforme aumenta el pH, así como un efecto hipercrómico en la banda observada a  $\lambda_{\text{máx2}}$ ; lo anterior, aunado a la presencia de dos puntos isobéuticos en  $\lambda_1=219$  nm y  $\lambda_2=254$  nm, mismos que se muestran a continuación (Gráfico 10).



**Gráfico 10. Puntos isobéuticos observados en el intervalo  $0.97 \leq \text{pH} \leq 2.50$  en la valoración sin dilución realizada al sistema  $[\text{LQM } 996]=6.01 \times 10^{-5} \text{M}$ .**

En el caso del intervalo  $2.51 \leq \text{pH} \leq 6.50$ , existe un efecto hipercrómico en la banda correspondiente a  $\lambda_{\text{máx1}}$  al aumentar el pH, con un subsecuente efecto hipocrómico en la banda de absorción de  $\lambda_{\text{máx2}}$ , tendiendo a desaparecer. Por otro lado, se observa un punto isobéstico en  $\lambda_3 = 258 \text{nm}$  (Gráfico 11).



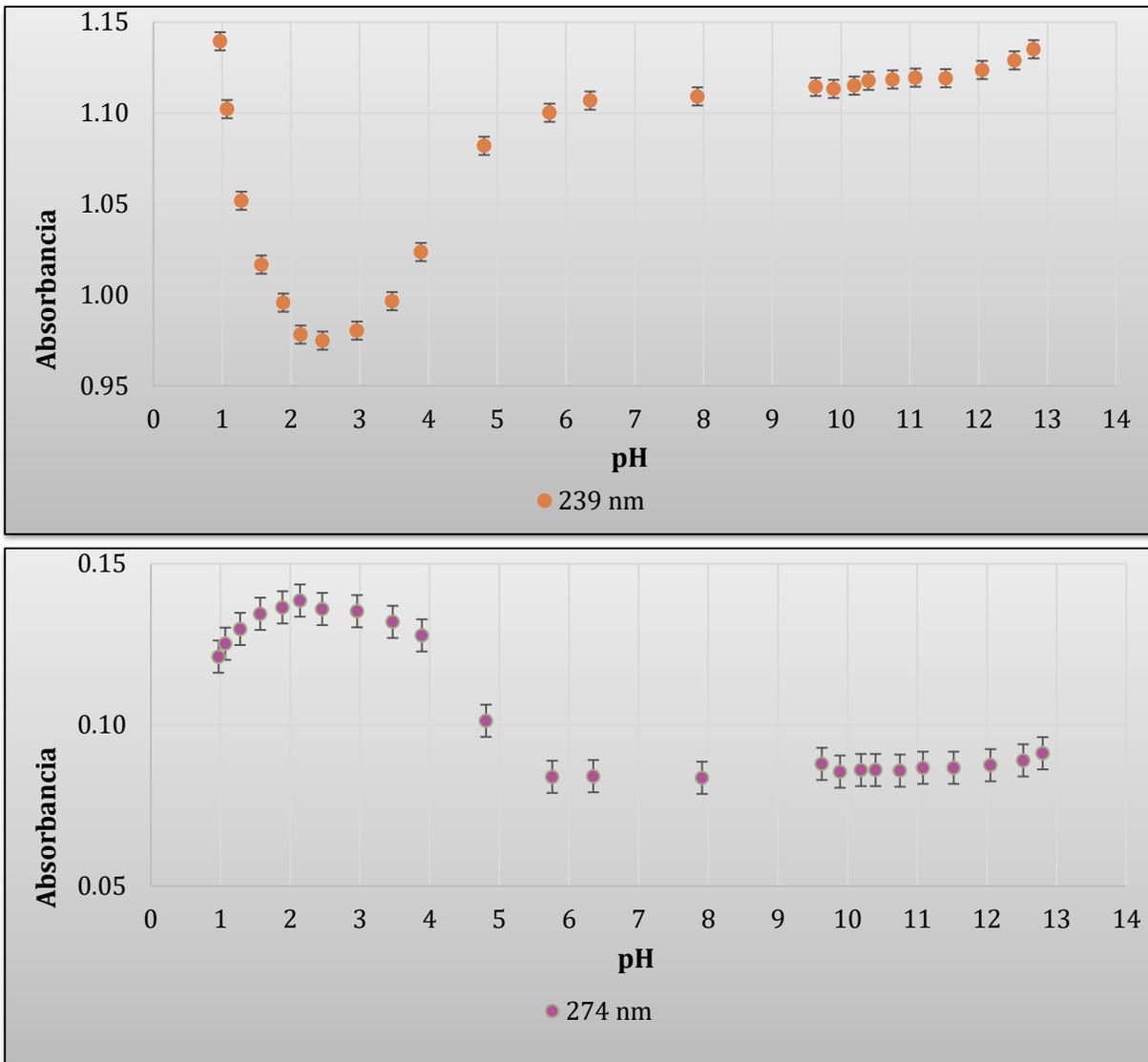
**Gráfico 11. Punto isobéstico observado en el intervalo  $2.51 \leq \text{pH} \leq 6.50$  en la valoración sin dilución realizada al sistema  $[\text{LQM996}] = 6.01 \times 10^{-5} \text{M}$ .**

Por último, en el intervalo de  $6.51 \leq \text{pH} \leq 12.80$ , la banda de menor intensidad presente a  $\text{pH} < 6.50$  ( $\lambda_{\text{máx2}}$ ) prácticamente no se observa, no presentándose cambios significativos en esa región del espectro (Gráfico B 3).

Cabe mencionar que, en este intervalo de pH, se registra la ausencia de puntos isobésticos.

Con base en dichas observaciones, es posible afirmar que existe evidencia al menos de dos equilibrios químicos en el intervalo de pH en que se trabajó experimentalmente.

A continuación (Gráfico 12), se presenta gráficamente el cambio de la absorbancia respecto al pH para las longitudes de onda máxima ( $\lambda_{\text{máx1}} = 239 \text{nm}$  y  $\lambda_{\text{máx2}} = 274 \text{nm}$ ).



**Gráfico 12. Cambio de la Absorbancia respecto al pH para el sistema [LQM 996]=6.01x10<sup>-5</sup> M, en dos longitudes de onda distintas, así como el error instrumental en absorbancia (±0.005).**

En el gráfico anterior, los valores de absorbancia en ambas longitudes de onda describen un comportamiento sigmoideal a pH≈4, siendo más marcado en λ<sub>máx1</sub>; dicho cambio, sugiere la existencia de un equilibrio químico en esa zona de pH. Por otro lado, se observan cambios a valores de pH≈1 en ambas longitudes de onda, así como un ligero aumento en la absorbancia en λ<sub>máx1</sub> a pH≈13. Sin embargo, la falta de datos en dichas zonas de la escala, limita la posibilidad de realizar la inferencia de equilibrios probables.

## b) Cantidad de especies que absorben en el sistema.

Para conocer el número probable de especies absorbentes en disolución para la hidrólisis del (4-clorofenil)carbamato de etilo, se utilizó el programa computacional TRIANG, construyendo una matriz de absorbancias a partir de veinticuatro espectros de absorción comprendidos en el intervalo de pH trabajado, a treinta y cuatro longitudes de onda, seleccionadas en el intervalo  $221nm \leq \lambda \leq 320nm$  ( $\Delta\lambda = 3 nm$ ).

La matriz construida se evaluó para distintos valores de error (connotado como  $\Delta A$ ); sin embargo, se sabe que el error asociado a la medición de la absorbancia para cada uno de los sistemas, está dada por el espectrofotómetro utilizado. En este caso, la precisión del instrumento es de  $\Delta A = \pm 0.005$ .

En la Tabla 7 se presentan los cálculos generados por TRIANG para cada una de las réplicas, con la finalidad de asegurar la reproducibilidad en los datos, en un intervalo de error de  $0.004 \leq \Delta A \leq 0.007$ .

Los resultados obtenidos, sugieren la existencia de tres especies absorbentes en el sistema y, por ende, dos equilibrios químicos.

**Tabla 7. Número de especies probables en el sistema respecto al valor de error ( $\Delta A$ ) considerado en los datos experimentales, obtenido con la ayuda del programa computacional TRIANG.**

$\Delta A$	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
0.004	3	3	3
<b>0.005</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>3</b>
0.006	3	3	3
0.007	3	3	3

### c) Determinación de la(s) constantes(s) de acidez del (4-clorofenil)carbamato de etilo.

Tras realizar la revisión bibliográfica correspondiente, no se encontraron valores de constantes de acidez para el (4-clorofenil)carbamato de etilo reportados en la literatura; por ello, se decidió realizar el cálculo de los mismos mediante las herramientas computacionales I-Lab 2.0 (versión: v12.1.0.50374) y Chemicalize, provistos para su uso en línea por ACD/Labs® y ChemAxon®, respectivamente.

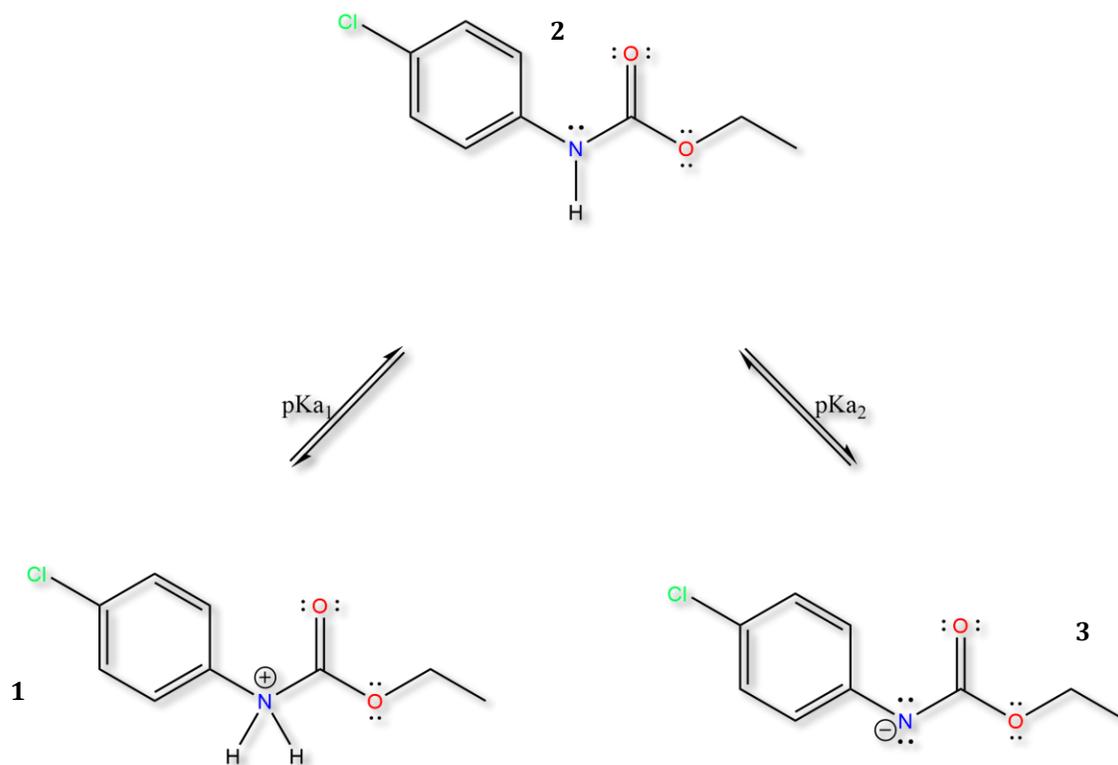
En la Tabla 8, se muestran los valores calculados con cada uno de los recursos mencionados. Solo en el caso de I-Lab 2.0, se proporciona la desviación estándar de los valores de pKa.

**Tabla 8. Valores de pKa calculados mediante el uso de I-Lab 2.0 (versión: v12.1.0.50374) y Chemicalize.**

Herramienta computacional	pKa <sub>1</sub>	pKa <sub>2</sub>
I-Lab (ACD/Labs)	-0.40±0.50	12.99±0.70
Chemicalize (ChemAxon)	-0.99	13.03

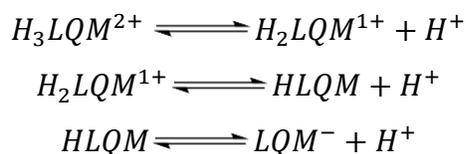
En ambos reportes de cálculo (ver Anexo D), los valores de  $pK_{a1}$  y  $pK_{a2}$  le son atribuidos al nitrógeno presente en la estructura; sin embargo, ninguno de los citados programas elucida el equilibrio químico a  $pH \approx 4$ , observado experimentalmente.

En la Imagen 18, se presentan los equilibrios ácido-base sugeridos por ambos programas.



**Imagen 18.** Equilibrios ácido-base propuestos por las herramientas computacionales de ACD/Labs® y ChemAxon®.

Por lo anterior, se realizó un primer ensayo para la determinación de las constantes de acidez del compuesto de interés, considerando los equilibrios planteados en la Imagen 18, así como la probable protonación del oxígeno carbonílico, dando como resultado un modelo de tres equilibrios y cuatro especies, como se describe a continuación:



El archivo de entrada para SQUAD, se construyó a partir de la selección de veinticuatro espectros de absorción, en el intervalo de longitudes de onda  $221 \text{ nm} \leq \lambda \leq 320 \text{ nm}$  a un  $\Delta\lambda = 3 \text{ nm}$ ; de esta forma, para cada espectro de absorción se trabajó con treinta y cuatro absorbancias.

Cabe mencionar que los valores de  $pKa$  utilizados, se ingresaron al archivo de entrada como  $\log\beta$ , por requerimientos del programa. Así, se obtuvieron los datos mostrados en la Tabla 9.

**Tabla 9. Valores de  $\log\beta$  obtenidos por el programa SQUAD, considerando un modelo de tres equilibrios y cuatro especies, en el intervalo  $1.00 \leq pH \leq 12.80$ , en el intervalo  $221 \leq \lambda \leq 320$  nm.**

Réplica	$\log\beta \pm \sigma$	$\sigma_{datos}$	U	pKa
1	$11.2084 \pm 0.0805$	$4.5501 \times 10^{-3}$	$1.4016 \times 10^{-2}$	$11.21 \pm 0.08$ <sup>3</sup>
	$15.9232 \pm 0.1095$			$4.71 \pm 0.14$ <sup>2</sup>
	$16.1952 \pm 0.1186$			$0.27 \pm 0.16$ <sup>1</sup>
2	$12.1789 \pm 0.0546$	$2.7521 \times 10^{-3}$	$5.1277 \times 10^{-3}$	$12.18 \pm 0.05$ <sup>3</sup>
	$16.3715 \pm 0.0567$			$4.19 \pm 0.08$ <sup>2</sup>
	$16.6170 \pm 0.0637$			$0.25 \pm 0.09$ <sup>1</sup>
3	$13.2890 \pm 0.2152$	$7.9599 \times 10^{-3}$	$4.2894 \times 10^{-2}$	$13.29 \pm 0.22$ <sup>3</sup>
	$17.3450 \pm 0.2167$			$4.06 \pm 0.31$ <sup>2</sup>
	$17.5850 \pm 0.2379$			$0.24 \pm 0.32$ <sup>1</sup>

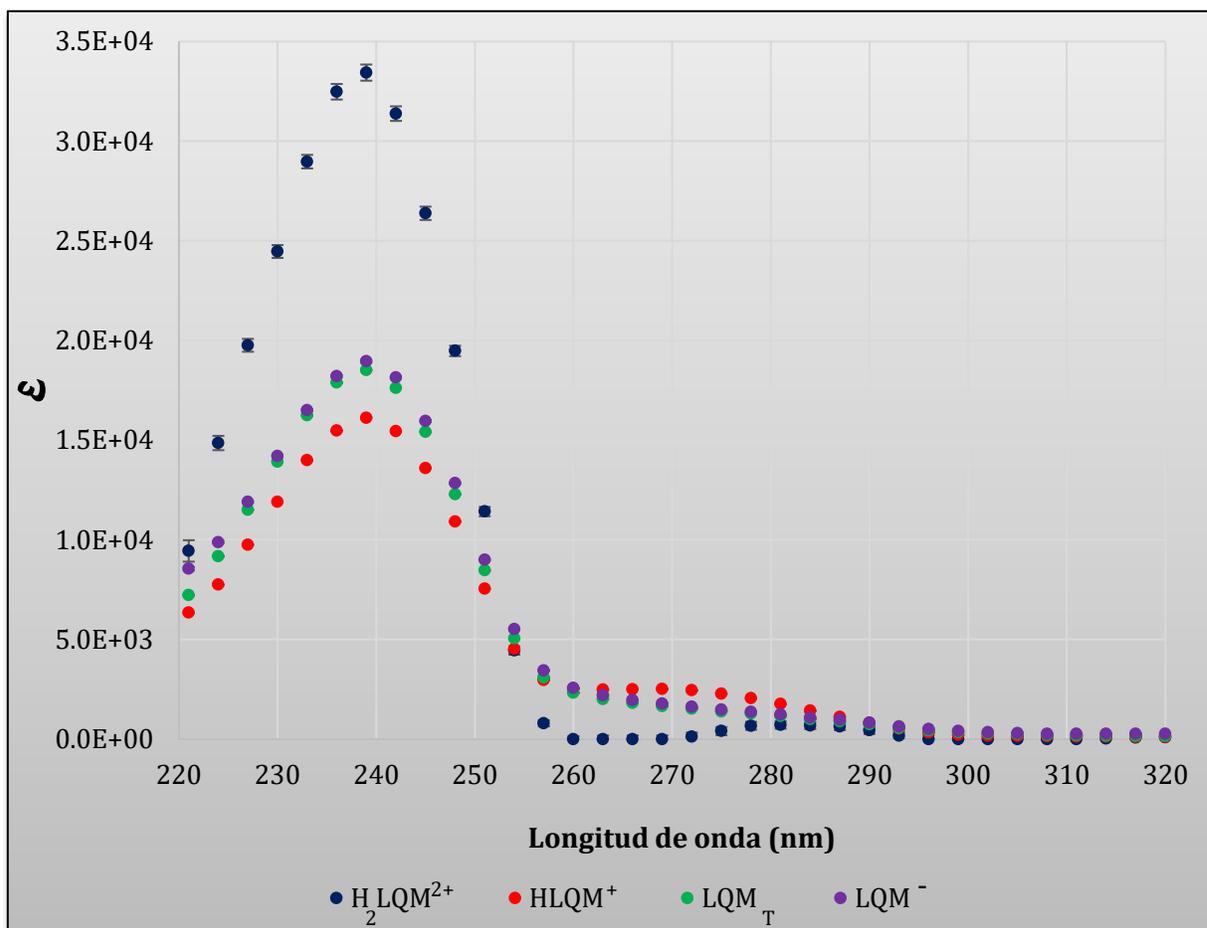
<sup>1</sup> Valores de  $pKa_1$ ; <sup>2</sup> Valores de  $pKa_2$ ; <sup>3</sup> Valores de  $pKa_3$ .

Los valores de  $pKa$  se obtuvieron como la diferencia de los valores de  $\log\beta$  sucesivos; la incertidumbre asociada a cada valor, se estimó de la manera habitual: al tratarse de una resta, el valor de la incertidumbre se calcula mediante la expresión:

$$\sigma_{pKa_{i-1}} = \sqrt{\sigma_{\beta_i}^2 + \sigma_{\beta_{i-1}}^2}$$

Para cada una de las réplicas, el valor de la suma de los mínimos cuadrados ( $U$ ) es de orden pequeño ( $<10^{-2}$ ), hecho que puede llevar a suponer un buen ajuste a lo obtenido experimentalmente. De la misma forma, la desviación estándar de todos los datos, observa valores del orden de  $10^{-3}$ . Los valores referentes al  $pKa_1$  y  $pKa_2$  son similares en todas las réplicas, lo cual sugiere reproducibilidad en los resultados para ambas constantes. Sin embargo, en el caso del  $pKa_3$ , los valores son distintos entre sí; este hecho es aún más claro

al graficar el coeficiente de absorptividad molar de cada especie (Gráfico 13), donde se observa que dichos valores son muy similares para las especies  $LQM_T$  y  $LQM^-$ , hecho poco probable pues, al considerar la alta conjugación electrónica del anión, se esperarían valores significativamente distintos respecto a la especie neutra.



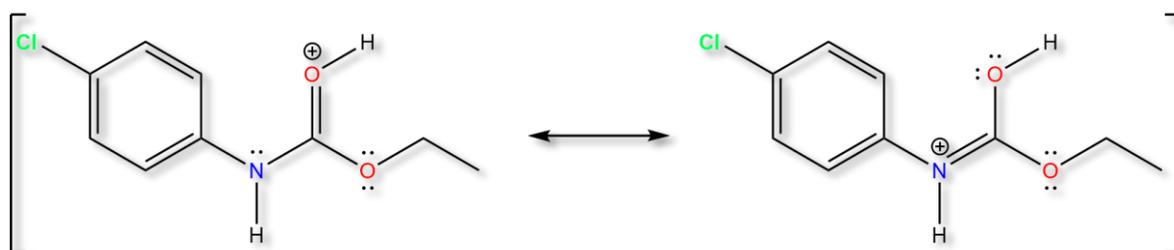
**Gráfico 13. Coeficientes de absorptividad molar para un modelo de tres equilibrios y cuatro especies, calculados por el programa SQUAD, en el intervalo  $1.00 \leq pH \leq 12.80$ , en el intervalo  $221 \leq \lambda \leq 320$  nm.**

Otro punto a considerar es el comportamiento espectral observado en esa zona de pH, el cual no sugiere la existencia de otro equilibrio ácido-base, además de la falta de información del sistema a valores de  $pH > 12.8$  y que el programa TRIANG detecta tres especies a lo largo de la especiación.

Lo antes expuesto, indica que el modelo planteado no es adecuado para describir el sistema de estudio. Con la información conocida hasta este punto fue preciso realizar un análisis estructural del (4-clorofenil)carbamato de etilo para plantear un grupo de especies de existencia probable durante la especiación química y de esta manera, asignar las constantes por calcular a los equilibrios respectivos.

Según lo reportado en la Tabla 8, tanto ACD/Labs® como ChemAxon consideran la existencia de una especie ácida, generada a partir de la protonación del nitrógeno con un  $pK_a \approx (-0.40 \pm 0.05)$ . Sin embargo, existe evidencia obtenida a partir de resonancia magnética nuclear de que, en soluciones fuertemente ácidas ( $pH < 1$ ), el centro carbámico presenta protonación en el oxígeno, no así en el nitrógeno (Weininger & Stermitz, 1988).

De esta manera, tendría lugar la formación de un híbrido de resonancia<sup>12</sup> ( $HLQM^+$ ), conformado por dos especies contribuyentes, (Geissman, 1974), confiriendo a dicha especie un mayor grado de estabilidad (Imagen 19).



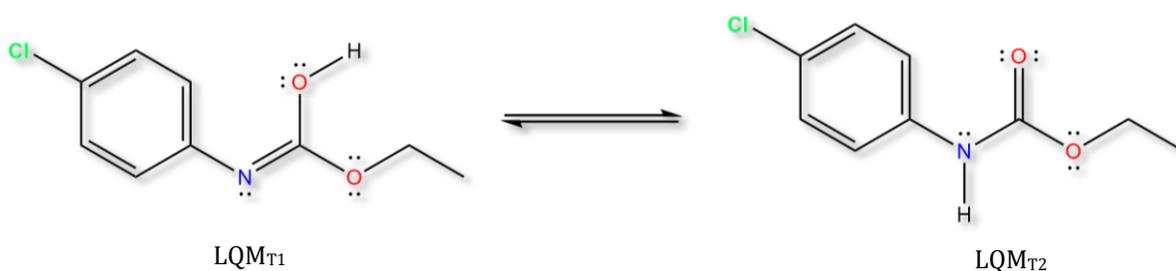
**Imagen 19. Híbrido de resonancia correspondiente a la especie ácida en disolución ( $HLQM^+$ ).**

Al aumentar el pH en el sistema, se favorece la desprotonación de la especie  $HLQM^+$ , originándose así el primer equilibrio ácido-base ( $pK_{a1}$ ).

---

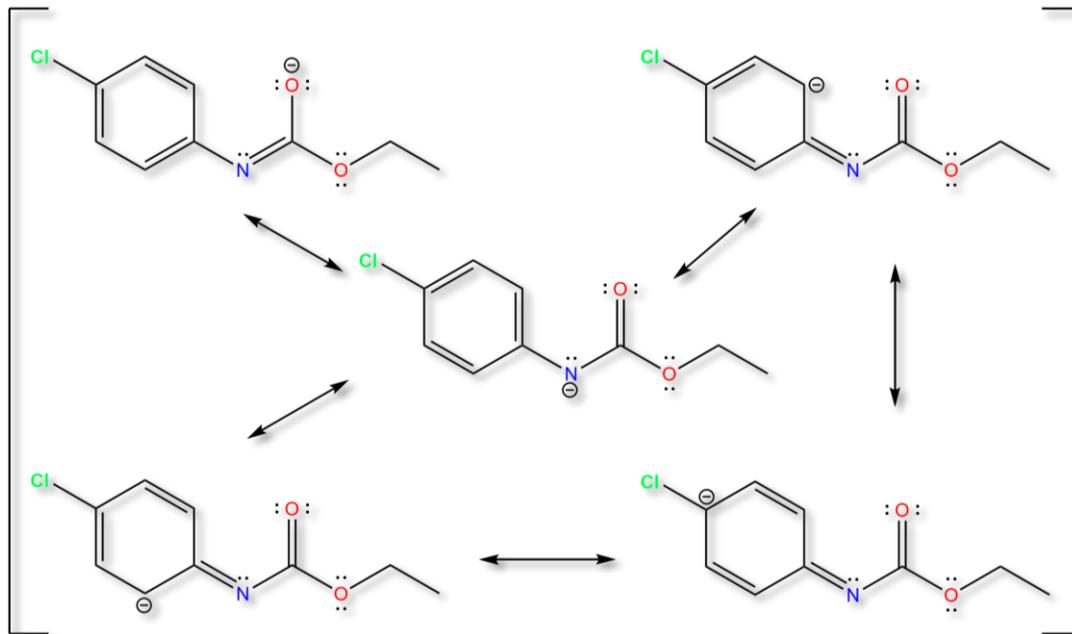
<sup>12</sup> Un híbrido de resonancia es la combinación de las distintas estructuras resonantes que lo componen, por lo que dichas estructuras resonantes no tienen una existencia real, solo son auxiliares en la comprensión de la deslocalización electrónica y es el responsable de las propiedades al compuesto (Luis, Burguete, & Altava, 1997).

Dada la naturaleza del (4-clorofenil)carbamato de etilo, éste puede presentar en disolución un equilibrio de tautomerización prototrópica (Klages, 2005), coexistiendo en el medio dos especies de carácter neutro, connotadas como  $LQM_{T1}$  y  $LQM_{T2}$  (Imagen 20).



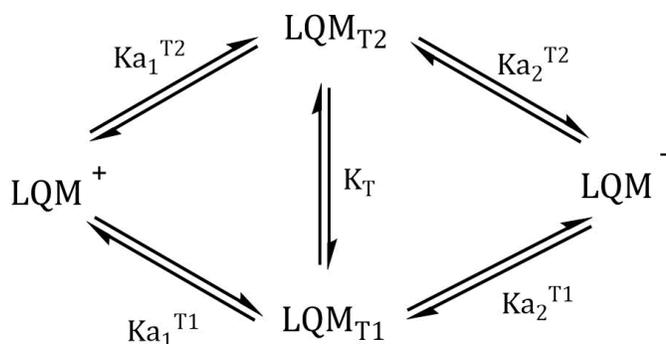
**Imagen 20. Equilibrio prototrópico entre las especies tautoméricas del compuesto LQM996.**

Así, al incrementarse el valor de pH en el sistema, ambas especies tautoméricas tienen la probabilidad de presentar una desprotonación, dando origen a un ion común: un híbrido de resonancia  $LQM^-$ , conformado por cinco especies resonantes (Imagen 21), correspondiente al segundo equilibrio ácido-base ( $pK_{a2}$ ).



**Imagen 21. Híbrido de resonancia correspondiente a la especie básica en disolución.**

Al contar con un equilibrio tautomérico en el estudio de especiación química, debe tomarse en consideración que la protonación y desprotonación de las especies neutras  $LQM_{T1}$  y  $LQM_{T2}$  contribuyen en los equilibrios ácido-base presentes en el sistema, como se expresa en la Imagen 22.



**Imagen 22. Equilibrios ácido-base relacionados con cada especie tautomérica.**

Es por lo anterior, que las constantes observadas experimentalmente, se consideran como constantes aparentes, es decir: las constantes  $K_{a1}^{T1}$  y  $K_{a1}^{T2}$  están directamente relacionadas con la constante  $K_{a1}$ , en tanto que  $K_{a2}^{T1}$  y  $K_{a2}^{T2}$  lo están con  $K_{a2}$ . Al no conocer el valor de la constante de tautomerización ( $K_T$ ), no es posible conocer ninguna de las constantes individuales; sin embargo, las constantes de acidez aparentes sí pueden ser determinadas de manera experimental (Bunting & Kanter, 1993).

Por lo anterior, se estructuró un ensayo en que se trabajó con espectros de absorción correspondientes al intervalo  $1.00 \leq pH \leq 10.00$  con treinta y cuatro absorbancias cada uno, considerando un modelo de dos equilibrios y tres especies:  $HLQM^+$ ,  $LQM_T$  y  $LQM^-$ , denotando como  $LQM_T$  al conjunto de especies tautoméricas  $LQM_{T1}$  y  $LQM_{T2}$ , dado que no es posible precisar en qué proporción se encuentra cada una de ellas.

Al disminuir el rango de datos, se pretende conservar solo la información correspondiente a los dos primeros equilibrios y que, de esta forma, SQUAD refine de manera más adecuada el valor de las constantes involucradas en dicho intervalo. Los resultados obtenidos tras tomar las consideraciones mencionadas, se muestran en la Tabla 10.

**Tabla 10. Valores de  $\log \beta$  obtenidos por el programa SQUAD, considerando un modelo de dos equilibrios y tres especies, en el intervalo  $1.00 \leq \text{pH} \leq 10.00$ , en el intervalo  $221 \leq \lambda \leq 320 \text{ nm}$ .**

Réplica	$\log \beta \pm \sigma$	$\sigma_{\text{datos}}$	U	$\text{pKa} \pm \sigma$
1	$4.5789 \pm 0.0878$	$4.2253 \times 10^{-3}$	$6.0344 \times 10^{-3}$	$4.58 \pm 0.09$ <sup>2</sup>
	$4.8612 \pm 0.1029$			$0.28 \pm 0.14$ <sup>1</sup>
2	$4.1610 \pm 0.0129$	$2.6652 \times 10^{-3}$	$2.6424 \times 10^{-3}$	$4.16 \pm 0.01$ <sup>2</sup>
	$4.4359 \pm 0.0374$			$0.27 \pm 0.04$ <sup>1</sup>
3	$4.0454 \pm 0.0292$	$6.4475 \times 10^{-3}$	$1.5464 \times 10^{-2}$	$4.05 \pm 0.02$ <sup>2</sup>
	$4.2916 \pm 0.0673$			$0.25 \pm 0.07$ <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Valores de  $\text{pKa}_1$ ; <sup>2</sup> Valores de  $\text{pKa}_2$ .

La desviación estándar en los datos obtenida ( $\sigma_{\text{datos}}$ ) es menor en las tres réplicas respecto a los obtenidos en el ensayo anterior. Por otro lado, los valores de  $U$  obtenidos en las réplicas 2 y 3, son del orden de  $10^{-3}$ , indicando que lo calculado por SQUAD emula de manera adecuada los datos obtenidos experimentalmente.

En cuanto a la desviación estándar calculada para ambas constantes, presenta una disminución considerable respecto a los obtenidos previamente para todas las réplicas, por lo que éste ensayo ofrece un mejor refinamiento de ambas constantes.

Otro cálculo importante que realiza SQUAD es la determinación del valor de coeficientes de absortividad molar de cada una de las especies existentes a lo largo de la especiación química respecto a la longitud de onda, así como la desviación estándar asociada a dichos coeficientes ( $\sigma_{\epsilon}$ ). El análisis gráfico de los mismos es determinante en la validación del modelo considerado para describir el sistema químico estudiado. En este caso, los valores obtenidos en las tres réplicas son similares, lo que indica una reproducibilidad en los datos. Para efectos prácticos, éstos son analizados a partir de lo obtenido en la Réplica 2. En el Gráfico 14, se muestran dichos resultados, incluyendo su desviación estándar, expresada como barras de error.

En principio, se calculó la desviación relativa ( $\sigma_{\text{rel}}$ ) de cada valor de  $\epsilon$  a partir de lo reportado por el programa, para un análisis sencillo, esto se muestra a continuación:

- Las especies  $LQM_T$  y  $LQM^-$ , refieren valores mínimos de  $\sigma_{rel}^{LQM_T} = 1.5 \times 10^{-3}$  y  $\sigma_{rel}^{LQM^-} = 1.3 \times 10^{-3}$  para longitudes de onda  $\lambda \approx 240 \text{ nm}$  y  $\varepsilon > 10^4$ , así como máximos de  $\sigma_{rel}^{LQM_T} = 1.8 \times 10^{-1}$  y  $\sigma_{rel}^{LQM^-} = 1.3 \times 10^{-1}$  a  $\lambda > 240 \text{ nm}$  y  $\varepsilon < 10^2$ . El orden pequeño de estos valores indica un refinamiento adecuado para la segunda constante de equilibrio ácido-base.
- En el caso de la especie ácida  $HLQM^+$ , el programa refiere valores de  $\varepsilon = 0$  para  $260 \text{ nm} \leq \lambda \leq 266 \text{ nm}$  y  $296 \text{ nm} \leq \lambda \leq 308 \text{ nm}$ , así como valores de  $\sigma_\varepsilon$  de magnitud considerable a longitudes de onda limítrofes a dichos intervalos, con un máximo de  $\sigma_{rel}^{HLQM^+} = 2.0 \times 10^1$ , en tanto que, para  $\lambda \approx 250 \text{ nm}$  y  $\varepsilon > 10^4$ , se obtiene un mínimo  $\sigma_{rel}^{HLQM^+} = 1.2 \times 10^{-2}$ . Lo anterior sugiere que el programa, al no contar con información del sistema a  $\text{pH} < 1$ , refina el valor de la primera constante de acidez de manera menos precisa.

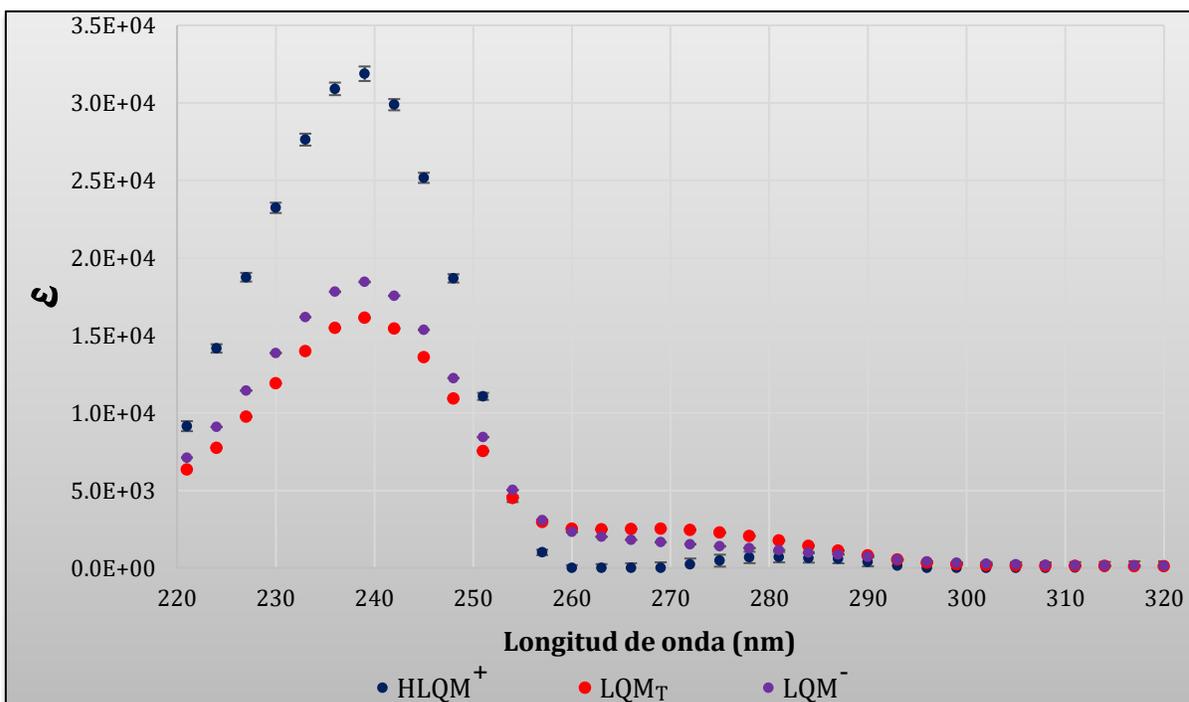
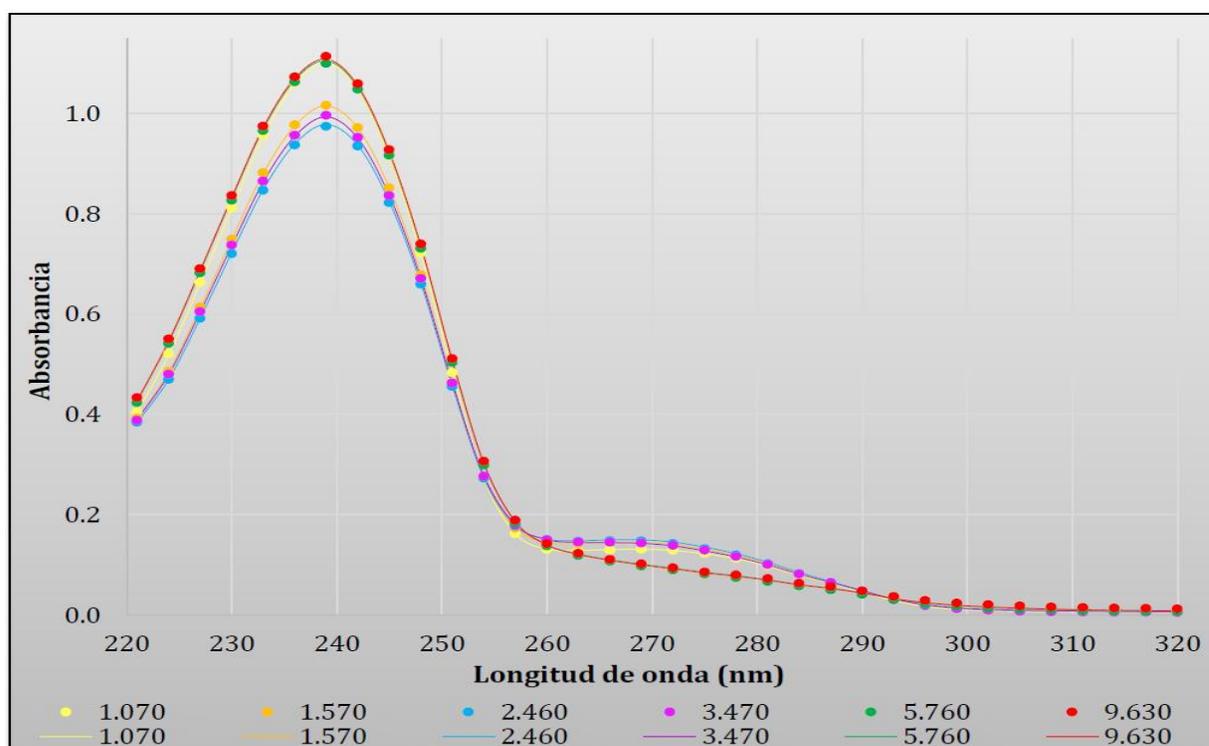


Gráfico 14. Coeficientes de absorptividad molar para un modelo de tres equilibrios y cuatro especies, calculados por el programa SQUAD, en el intervalo  $1.00 \leq \text{pH} \leq 10.00$ , en el intervalo  $221 \leq \lambda \leq 320 \text{ nm}$ .

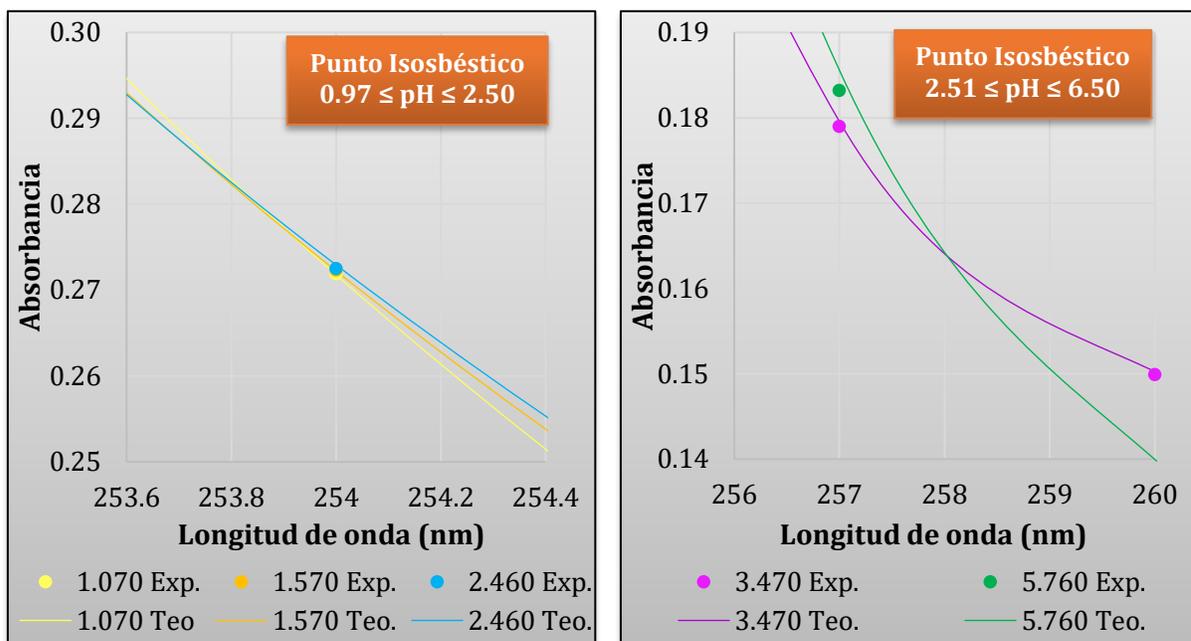
Tras comparar los espectros de absorción experimentales con los obtenidos teóricamente a partir del modelo planteado por SQUAD, este reporta desviaciones estándar del orden de  $10^{-3}$ ; dichos valores, se encuentran reportados en el Anexo C, Tabla C 2.

En el Gráfico 15, se presenta la comparación de seis espectros experimentales representativos del comportamiento ácido-base del compuesto de estudio contra los correspondientes espectros teóricos, obtenidos a partir de la absorbancia calculada con los coeficientes de absorptividad molar proporcionados por el programa, así como de las fracciones molares de las diferentes especies (Anexo C, Tabla C 3). Mediante el análisis de este gráfico es posible comprobar que los espectros teóricos obtenidos a partir de las constantes de equilibrio propuestas por SQUAD, reproducen con un alto grado de congruencia el comportamiento espectral observado experimentalmente.



**Gráfico 15. Comparación de los espectros de absorción calculados teóricamente (líneas) con los espectros de absorción experimentales (puntos) representativos del estudio ácido-base de una disolución [LQM996]= $6.01 \times 10^{-5}$  M.**

Otro aspecto a considerar, es la formación de puntos isobéuticos con los datos teóricos pues, aun cuando son pocos los espectros trazados, es posible confirmar su presencia (Gráfico 16), coincidiendo con las longitudes de onda experimentales, demostrando así la robustez del modelo.



**Gráfico 16. Puntos isobéuticos observados a partir de cálculos teóricos.**

Debido a que el estudio de especiación se realizó mediante tres repeticiones independientes es preciso obtener los valores promedio de  $pK_{a1}$  y  $pK_{a2}$  (Tabla 11).

**Tabla 11. Valores promedio de  $pK_{a1}$  y  $pK_{a2}$  experimentales, determinadas para el compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo.**

Réplica	$pK_{a1}$	$pK_{a2}$
1	0.28 ± 0.14	4.58 ± 0.09
2	0.27 ± 0.04	4.16 ± 0.01
3	0.25 ± 0.07	4.05 ± 0.02
<b>PROMEDIO</b>	<b>0.27 ± 0.16</b>	<b>4.26 ± 0.09</b>

Para dichos valores, se realizó el cálculo de la desviación estándar combinada ( $\sigma_c$ ) de la siguiente forma:

$$\sigma_c = \sqrt{\sigma_{pKa_a}^2 + \sigma_{pKa_b}^2 + \sigma_{pKa_c}^2}$$

Donde  $\sigma_{pKa_a}$ ,  $\sigma_{pKa_b}$  y  $\sigma_{pKa_c}$  representan la desviación estándar del  $pKa$  de todas las repeticiones.

Se hace hincapié en que el valor experimental de  $pKa_1$  debe considerarse como una aproximación, debido a la limitada evidencia espectral para su determinación.

Aun cuando los resultados experimentales se ajustaron a un modelo de tres especies y dos equilibrios ácido-base, es relevante el hecho de que los valores determinados con SQUAD no coinciden con los proporcionados por ACD/pKa DB (I-Lab) y ChemAxon; esto se debe a que estos recursos computacionales consideran equilibrios diferentes, ambos atribuidos a la desprotonación total del nitrógeno, sin incluir el equilibrio de tautomerización; esta omisión puede deberse a que el algoritmo de cálculo contempló fragmentos estructurales amínicos y no carbámicos.

Otro aspecto importante, es que ACD/pKa DB considera fuerza iónica igual a cero, hecho que repercute de manera importante cuando se trata de especies tautoméricas pues, la existencia de una u otra especie, depende directamente de la polaridad del sistema.

A continuación, se incluye la Tabla 12, que resume la información a que se hace referencia:

**Tabla 12. Valores de pKa obtenidos con SQUAD, ACD/Labs y ChemAxon.**

	Experimentales	ACD/pKa DB	ChemAxon
$pKa_1$	0.27 ± 0.16	-0.40 ± 0.50	-0.99
$pKa_2$	4.26 ± 0.09	12.99 ± 0.70	13.03

En el mismo contexto, debe considerarse que los valores de  $pK_a$  obtenidos, se encuentran relacionados con cada una de las especies tautoméricas, por lo que el  $pK_{a2}$  refinado por SQUAD difiere considerablemente respecto al calculado por I-Lab.

Así, el valor de las constantes refinadas por SQUAD proviene directamente de la experimentación, por lo que es mejor descriptor de lo que sucede en el sistema de estudio. En este sentido, brinda una mayor calidad de resultados, con una desviación estándar menor que la obtenida con los recursos computacionales utilizados.

A continuación, se presenta un diagrama de zonas de predominio unidimensional, que sitúa ambos equilibrios en una escala de pH:



En la Imagen 23, se realiza formalmente la asignación de los valores de  $pK_a$  aparentes respecto a los equilibrios ácido-base propuestos.

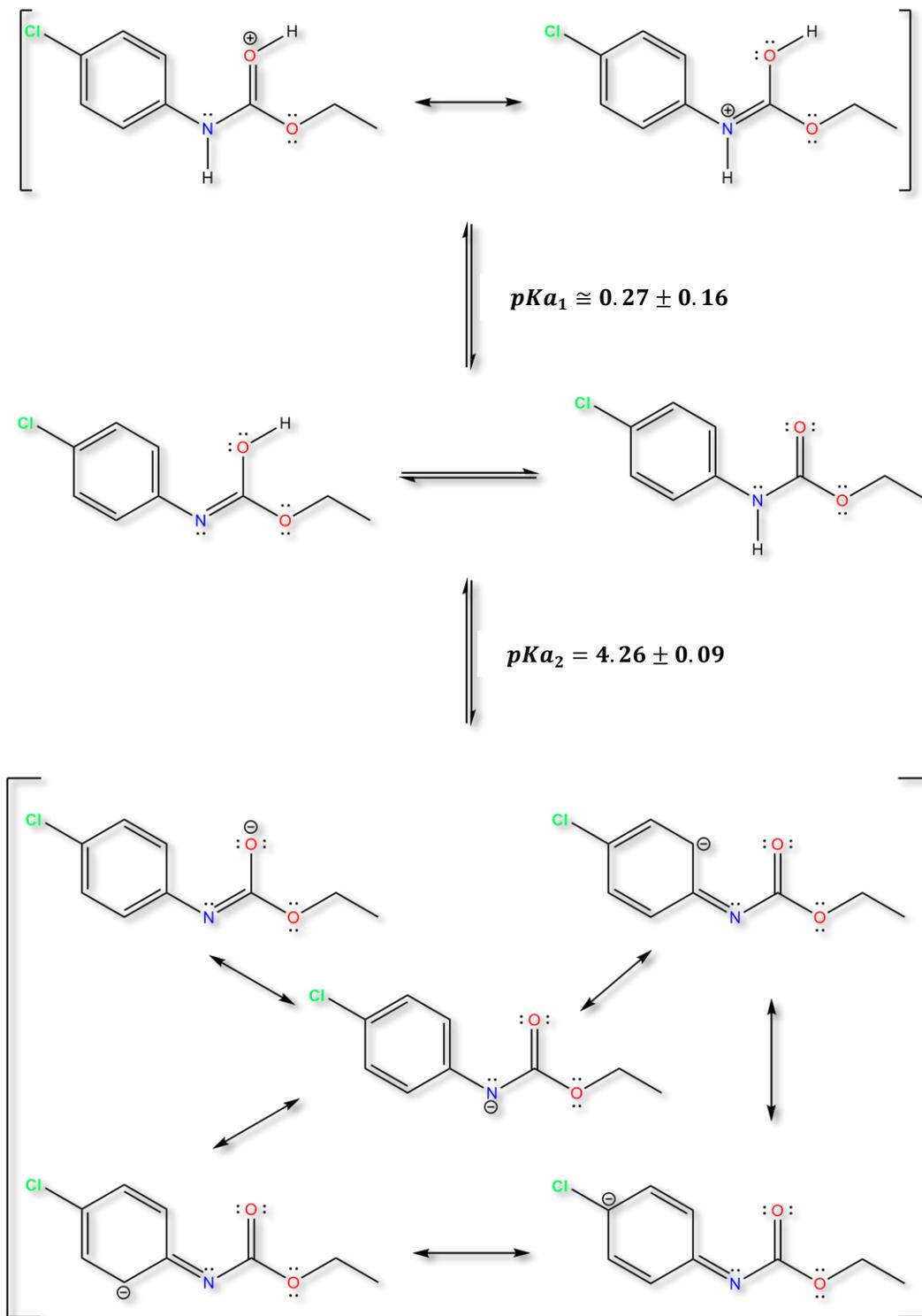
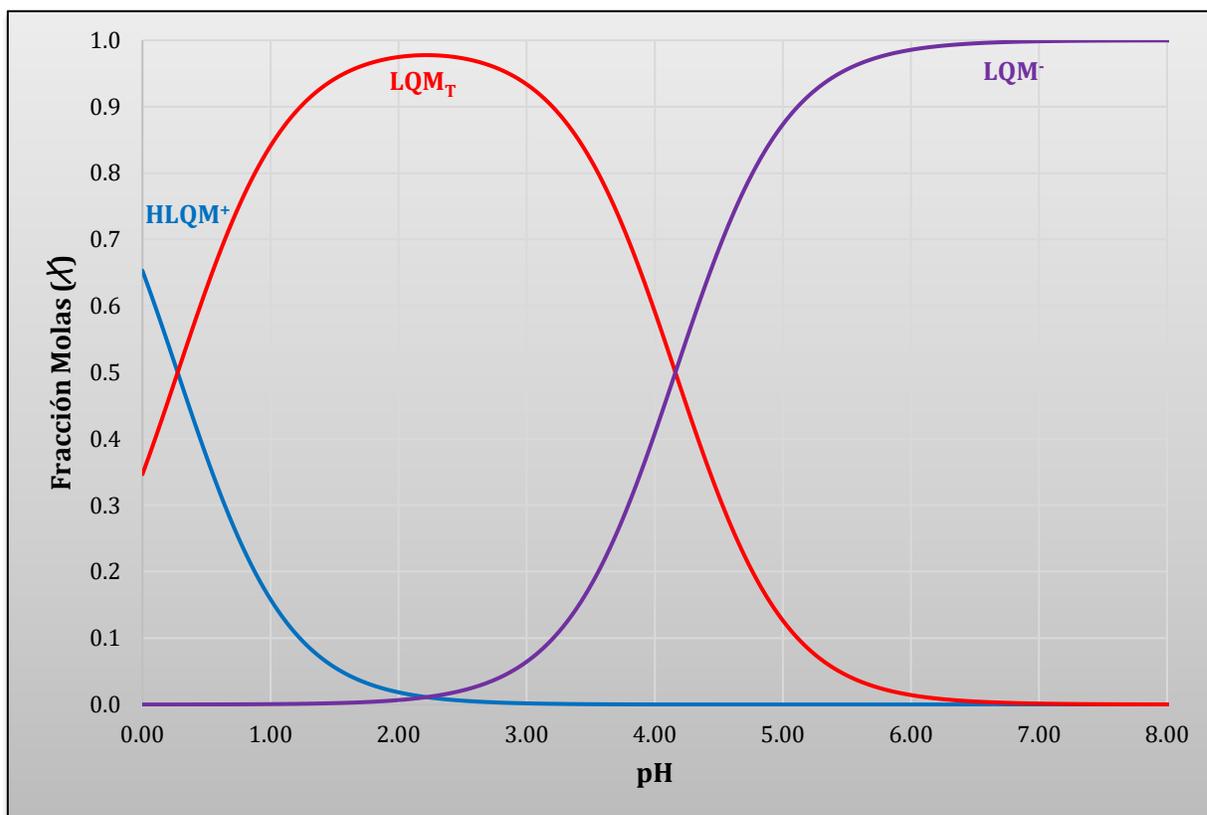


Imagen 23. Equilibrios químicos propuestos, así como la asignación de valores de  $pK_{a1}$ ,  $pK_{a2}$ .

Por último, se presenta el Gráfico 17, correspondiente al Diagrama de Distribución de especies del compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo, calculado a partir de los valores de  $pK_{a1}$  y  $pK_{a2}$  experimentales, mediante la utilización del programa Alpha (Diagramación analítica mononuclear).



**Gráfico 17. Diagrama de Distribución de especies observadas a lo largo de la especiación química del compuesto en una disolución  $[LQM996]=6.01 \times 10^{-5}$  M, calculado con el programa computacional Alpha, a partir de los valores de  $pK_{a1} \cong 0.27$  y  $pK_{a2} = 4.26$ .**

Con el presente diagrama es posible analizar la variación de la cantidad de cada una de las especies presentes en el sistema con respecto al pH. El diagrama muestra que el conjunto de especies tautoméricas  $LQM_T$  predomina en el intervalo  $0.27 \leq pH \leq 4.26$ , en tanto que la especie desprotonada  $LQM^-$  le sucede a  $pH \geq 4.26$ . En el caso de la especie protonada, muestra indicios de ser la especie predominante a valores de  $pH \leq 0.27$ .

## Conclusiones

Se realizaron pruebas de solubilidad para el compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo en diversos sistemas etanol-agua, mostrándose soluble en proporciones iguales o superiores a 45% EtOH – 55% H<sub>2</sub>O.

Se determinó el intervalo de concentración en que el compuesto de estudio en disolución neutra, sigue la Ley de Lambert-Beer, siendo  $1.0 \times 10^{-6} M \leq [LQM996] \leq 1.1 \times 10^{-4} M$ . De manera complementaria, se obtuvo la expresión matemática que describe el comportamiento de la absorbancia en función a la concentración bajo las condiciones antes descritas:  $A = 18192 l [LQM996] - 0.039$

A partir del estudio de estabilidad del (4-clorofenil)carbamato de etilo realizado en medio acuoso y a una temperatura de 25°C, se obtuvo que su comportamiento en disolución es estable en medio ácido ( $pH \approx 1$ ), neutro y básico ( $pH \approx 13$ ).

Mediante el uso del programa computacional TRIANG se propone la existencia de tres probables especies absorbentes en el sistema como función del pH.

Mediante los resultados espectrofotométricos, se propone un modelo químico de dos equilibrios ácido-base aparentes, refinando los valores de pKa correspondientes por medio del programa computacional SQUAD, obteniendo los valores de  $pKa_1 \cong 0.27 \pm 0.16$  y  $pKa_2 = 4.26 \pm 0.09$ , refinando también los coeficientes de absortividad molar para cada una de las especies químicas que, en términos generales, describen adecuadamente el comportamiento experimental observado.

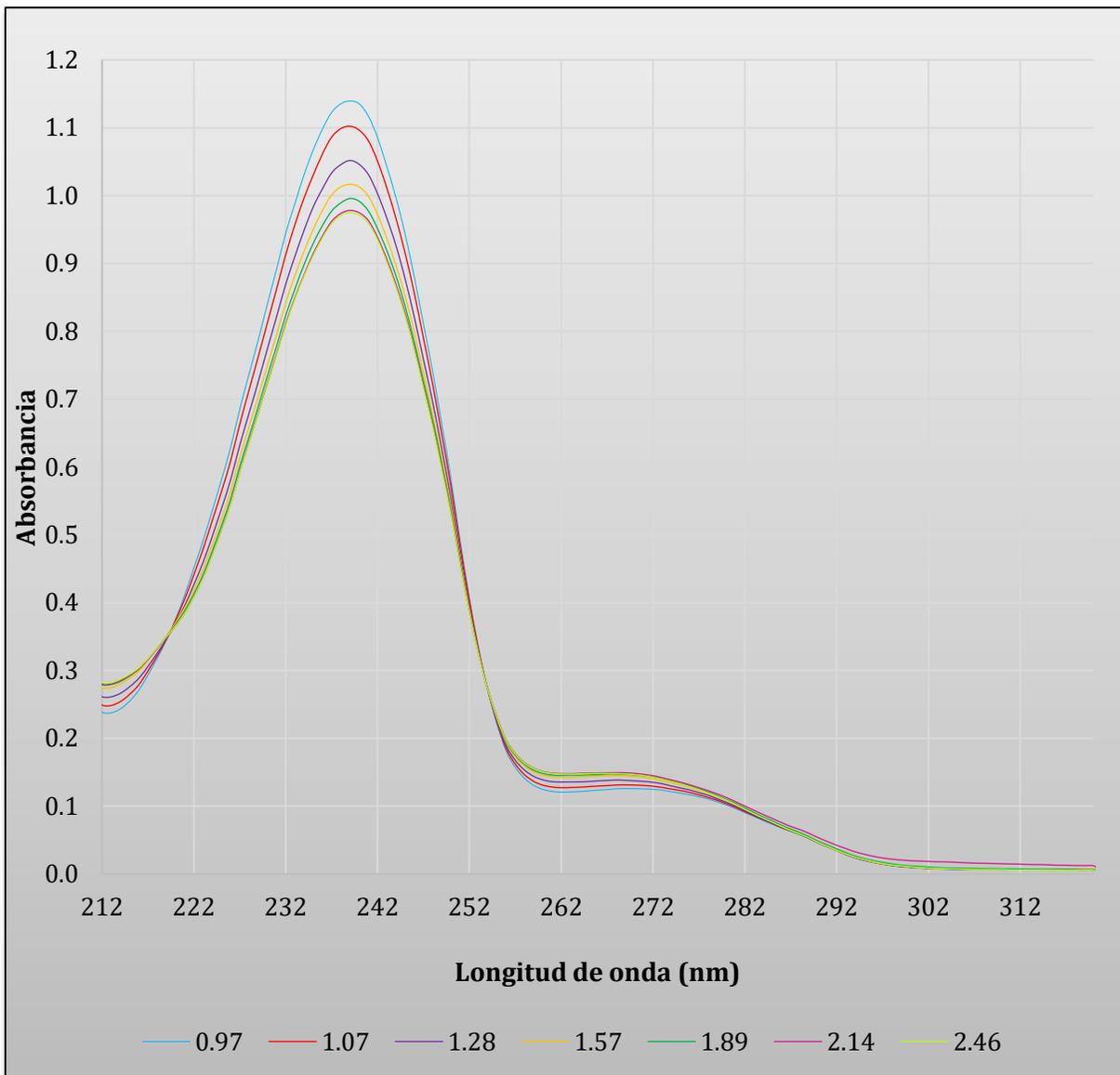
# ANEXOS

**A. Ejemplo del monitoreo de estabilidad para el compuesto LQM 996.**

Día	$t$ (min)	$pH_{sistema}$	$\Delta t_{medición}$ (min)
Día 1 25/8/15	0	0.91	2 min
	2	0.89	
	4	0.88	
	6	0.88	
	8	0.89	
	13	0.89	5 min
	18	0.87	
	23	0.87	
	28	0.87	
	38	0.86	10 min
	48	0.86	
	58	0.86	
	88	0.85	30 min
	118	0.84	
	148	0.88	
	178	0.88	
208	0.85		
238	0.84		
Día 2 26/8/15	1368	0.96	60 min
	1428	0.96	
	1488	0.94	
	1548	0.94	
	1608	0.97	
	1668	0.99	
Día 3 27/8/15	2802	1.01	120 min
	2922	0.97	
	3042	0.93	
	3162	0.98	
Día 4 28/8/15	4280	1.00	180 min
	4400	0.94	
	4510	0.93	

**B. Espectros de absorción correspondientes a la especiación química ácido-base del compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo.**

**Gráfico B 1. Espectros de absorción correspondientes al intervalo  $0.97 \leq \text{pH} \leq 2.50$ , en la valoración espectrofotométrica del sistema  $[\text{LQM996}] = 6.01 \times 10^{-5} \text{ M}$ .**



**Gráfico B 2. Espectros de absorción correspondientes al intervalo  $2.51 \leq \text{pH} \leq 6.50$ , en la valoración espectrofotométrica del sistema  $[\text{LQM996}] = 6.01 \times 10^{-5} \text{ M}$ .**

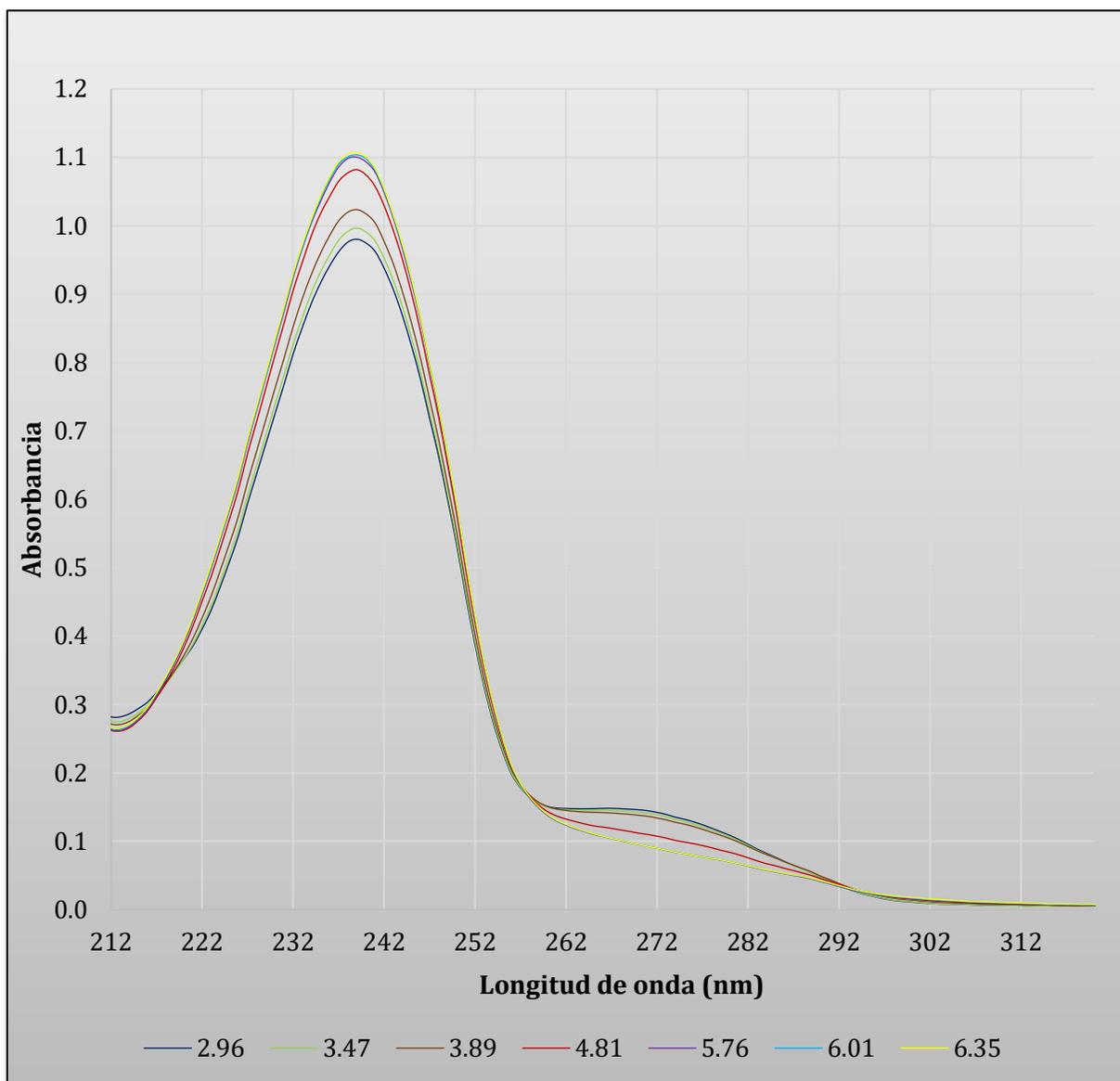
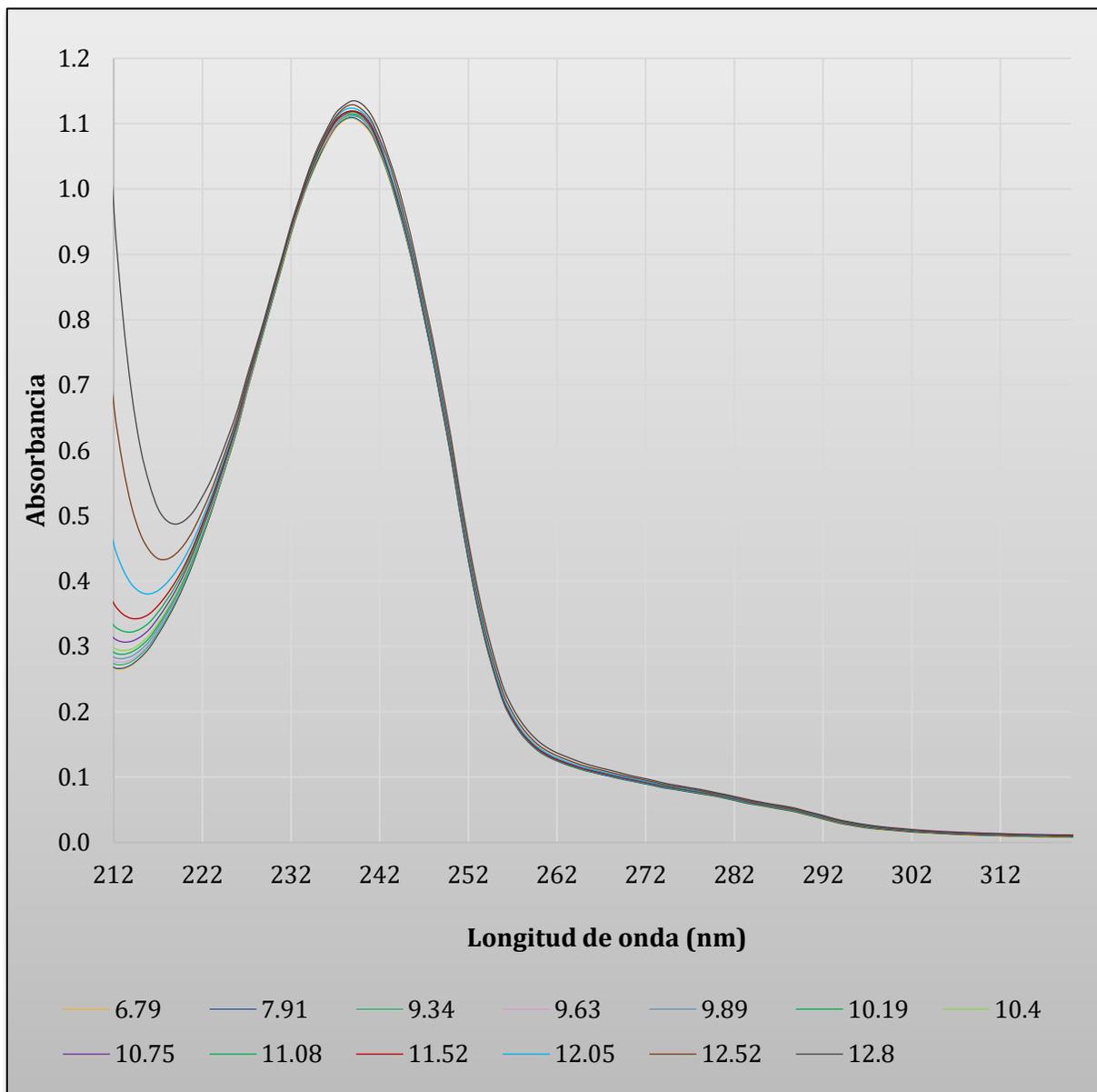


Gráfico B 3. Espectros de absorción correspondientes al intervalo  $6.51 \leq \text{pH} \leq 12.80$ , en la valoración espectrofotométrica del sistema  $[\text{LQM996}] = 6.01 \times 10^{-5} \text{ M}$ .



### C. Modelo “tres especies y dos equilibrios ácido-base”, resultados SQUAD.

Tabla C 1. Coeficientes de absorptividad molar y desviación estándar calculados por SQUAD en el intervalo  $1.00 \leq \text{pH} \leq 9.00$ , así como la desviación relativa para cada una de las especies.

$\lambda$ (nm)	$\epsilon_{HLQM^+}$	$\sigma_{\epsilon}^{HLQM^+}$	$\sigma_{rel}^{HLQM^+}$	$\epsilon_{LQM_T}$	$\sigma_{\epsilon}^{LQM_T}$	$\sigma_{rel}^{LQM_T}$	$\epsilon_{LQM^-}$	$\sigma_{\epsilon}^{LQM^-}$	$\sigma_{rel}^{LQM^-}$
221	9.1475x10 <sup>3</sup>	3.2344x10 <sup>2</sup>	3.5x10 <sup>-2</sup>	6.3572x10 <sup>3</sup>	2.0865x10 <sup>1</sup>	3.3x10 <sup>-3</sup>	7.1195x10 <sup>3</sup>	2.0400x10 <sup>1</sup>	2.9x10 <sup>-3</sup>
224	1.4162x10 <sup>4</sup>	2.7097x10 <sup>2</sup>	1.9x10 <sup>-2</sup>	7.7535x10 <sup>3</sup>	1.7480x10 <sup>1</sup>	2.3x10 <sup>-3</sup>	9.0967x10 <sup>3</sup>	1.7090x10 <sup>1</sup>	1.9x10 <sup>-3</sup>
227	1.8756x10 <sup>4</sup>	2.8180x10 <sup>2</sup>	1.5x10 <sup>-2</sup>	9.7632x10 <sup>3</sup>	1.8179x10 <sup>1</sup>	1.9x10 <sup>-3</sup>	1.1444x10 <sup>4</sup>	1.7773x10 <sup>1</sup>	1.6x10 <sup>-3</sup>
230	2.3232x10 <sup>4</sup>	3.3194x10 <sup>2</sup>	1.4x10 <sup>-2</sup>	1.1912x10 <sup>4</sup>	2.1414x10 <sup>1</sup>	1.8x10 <sup>-3</sup>	1.3867x10 <sup>4</sup>	2.0936x10 <sup>1</sup>	1.5x10 <sup>-3</sup>
233	2.7632x10 <sup>4</sup>	3.8491x10 <sup>2</sup>	1.4x10 <sup>-2</sup>	1.3993x10 <sup>4</sup>	2.4831x10 <sup>1</sup>	1.8x10 <sup>-3</sup>	1.6184x10 <sup>4</sup>	2.4277x10 <sup>1</sup>	1.5x10 <sup>-3</sup>
236	3.0905x10 <sup>4</sup>	4.0475x10 <sup>2</sup>	1.3x10 <sup>-2</sup>	1.5489x10 <sup>4</sup>	2.6110x10 <sup>1</sup>	1.7x10 <sup>-3</sup>	1.7814x10 <sup>4</sup>	2.5528x10 <sup>1</sup>	1.4x10 <sup>-3</sup>
239	3.1882x10 <sup>4</sup>	4.6819x10 <sup>2</sup>	1.5x10 <sup>-2</sup>	1.6132x10 <sup>4</sup>	3.0203x10 <sup>1</sup>	1.9x10 <sup>-3</sup>	1.8450x10 <sup>4</sup>	2.9529x10 <sup>1</sup>	1.6x10 <sup>-3</sup>
242	2.9886x10 <sup>4</sup>	3.6136x10 <sup>2</sup>	1.2x10 <sup>-2</sup>	1.5452x10 <sup>4</sup>	2.3312x10 <sup>1</sup>	1.5x10 <sup>-3</sup>	1.7561x10 <sup>4</sup>	2.2792x10 <sup>1</sup>	1.3x10 <sup>-3</sup>
245	2.5166x10 <sup>4</sup>	3.2474x10 <sup>2</sup>	1.3x10 <sup>-2</sup>	1.3604x10 <sup>4</sup>	2.0949x10 <sup>1</sup>	1.5x10 <sup>-3</sup>	1.5365x10 <sup>4</sup>	2.0482x10 <sup>1</sup>	1.3x10 <sup>-3</sup>
248	1.8682x10 <sup>4</sup>	2.6805x10 <sup>2</sup>	1.4x10 <sup>-2</sup>	1.0921x10 <sup>4</sup>	1.7292x10 <sup>1</sup>	1.6x10 <sup>-3</sup>	1.2250x10 <sup>4</sup>	1.6907x10 <sup>1</sup>	1.4x10 <sup>-3</sup>
251	1.1069x10 <sup>4</sup>	2.2629x10 <sup>2</sup>	2.0x10 <sup>-2</sup>	7.5446x10 <sup>3</sup>	1.4598x10 <sup>1</sup>	1.9x10 <sup>-3</sup>	8.4373x10 <sup>3</sup>	1.4272x10 <sup>1</sup>	1.7x10 <sup>-3</sup>
254	4.4561x10 <sup>3</sup>	2.0142x10 <sup>2</sup>	4.5x10 <sup>-2</sup>	4.5313x10 <sup>3</sup>	1.2994x10 <sup>1</sup>	2.9x10 <sup>-3</sup>	5.0294x10 <sup>3</sup>	1.2704x10 <sup>1</sup>	2.5x10 <sup>-3</sup>
257	1.0045x10 <sup>3</sup>	1.7244x10 <sup>2</sup>	1.7x10 <sup>-2</sup>	2.9679x10 <sup>3</sup>	1.1124x10 <sup>1</sup>	3.7x10 <sup>-3</sup>	3.0905x10 <sup>3</sup>	1.0876x10 <sup>1</sup>	3.5x10 <sup>-3</sup>
260	0.0000x10 <sup>0</sup>	1.8432x10 <sup>2</sup>	-	2.5375x10 <sup>3</sup>	1.1891x10 <sup>1</sup>	4.7x10 <sup>-3</sup>	2.3233x10 <sup>3</sup>	1.1626x10 <sup>1</sup>	5.0x10 <sup>-3</sup>
263	0.0000x10 <sup>0</sup>	2.5009x10 <sup>2</sup>	-	2.4922x10 <sup>3</sup>	1.6133x10 <sup>1</sup>	6.5x10 <sup>-3</sup>	2.0096x10 <sup>3</sup>	1.5773x10 <sup>1</sup>	7.8x10 <sup>-3</sup>
266	0.0000x10 <sup>0</sup>	3.0522x10 <sup>2</sup>	-	2.5210x10 <sup>3</sup>	1.9690x10 <sup>1</sup>	7.8x10 <sup>-3</sup>	1.8152x10 <sup>3</sup>	1.9251x10 <sup>1</sup>	1.1x10 <sup>-2</sup>
269	1.7567x10 <sup>1</sup>	3.4963x10 <sup>2</sup>	2.0x10 <sup>1</sup>	2.5255x10 <sup>3</sup>	2.2555x10 <sup>1</sup>	8.9x10 <sup>-3</sup>	1.6633x10 <sup>3</sup>	2.2052x10 <sup>1</sup>	1.3x10 <sup>-2</sup>
272	2.3210x10 <sup>2</sup>	3.7922x10 <sup>2</sup>	1.6x10 <sup>0</sup>	2.4507x10 <sup>3</sup>	2.4464x10 <sup>1</sup>	1.0x10 <sup>-2</sup>	1.5293x10 <sup>3</sup>	2.3918x10 <sup>1</sup>	1.6x10 <sup>-2</sup>
275	4.7226x10 <sup>2</sup>	3.8530x10 <sup>2</sup>	8.2x10 <sup>-1</sup>	2.2825x10 <sup>3</sup>	2.4856x10 <sup>1</sup>	1.1x10 <sup>-2</sup>	1.3969x10 <sup>3</sup>	2.4301x10 <sup>1</sup>	1.7x10 <sup>-2</sup>
278	6.7762x10 <sup>2</sup>	3.6733x10 <sup>2</sup>	5.4x10 <sup>-1</sup>	2.0593x10 <sup>3</sup>	2.3697x10 <sup>1</sup>	1.2x10 <sup>-2</sup>	1.2848x10 <sup>3</sup>	2.3168x10 <sup>1</sup>	1.8x10 <sup>-2</sup>
281	6.9659x10 <sup>2</sup>	3.3643x10 <sup>2</sup>	4.8x10 <sup>-1</sup>	1.7699x10 <sup>3</sup>	2.1704x10 <sup>1</sup>	1.2x10 <sup>-2</sup>	1.1549x10 <sup>3</sup>	2.1219x10 <sup>1</sup>	1.8x10 <sup>-2</sup>
284	6.4413x10 <sup>2</sup>	2.9972x10 <sup>2</sup>	4.7x10 <sup>-1</sup>	1.4276x10 <sup>3</sup>	1.9335x10 <sup>1</sup>	1.4x10 <sup>-2</sup>	9.9877x10 <sup>2</sup>	1.8904x10 <sup>1</sup>	1.9x10 <sup>-2</sup>
287	5.9471x10 <sup>2</sup>	2.9219x10 <sup>2</sup>	4.9x10 <sup>-1</sup>	1.1180x10 <sup>3</sup>	1.8849x10 <sup>1</sup>	1.7x10 <sup>-2</sup>	8.7734x10 <sup>2</sup>	1.8429x10 <sup>1</sup>	2.1x10 <sup>-2</sup>
290	3.9783x10 <sup>2</sup>	2.9252x10 <sup>2</sup>	7.4x10 <sup>-1</sup>	8.1706x10 <sup>2</sup>	1.8870x10 <sup>1</sup>	2.3x10 <sup>-2</sup>	7.2688x10 <sup>2</sup>	1.8450x10 <sup>1</sup>	2.5x10 <sup>-2</sup>
293	1.5330x10 <sup>2</sup>	3.1194x10 <sup>2</sup>	2.0x10 <sup>0</sup>	5.3180x10 <sup>2</sup>	2.0123x10 <sup>1</sup>	3.8x10 <sup>-2</sup>	5.4626x10 <sup>2</sup>	1.9674x10 <sup>1</sup>	3.6x10 <sup>-2</sup>
296	0.0000x10 <sup>0</sup>	3.2663x10 <sup>2</sup>	-	3.3272x10 <sup>2</sup>	2.1071x10 <sup>1</sup>	6.3x10 <sup>-2</sup>	4.0964x10 <sup>2</sup>	2.0601x10 <sup>1</sup>	5.0x10 <sup>-2</sup>
299	0.0000x10 <sup>0</sup>	3.4617x10 <sup>2</sup>	-	2.2457x10 <sup>2</sup>	2.2332x10 <sup>1</sup>	9.9x10 <sup>-2</sup>	3.2636x10 <sup>2</sup>	2.1834x10 <sup>1</sup>	6.7x10 <sup>-2</sup>
302	0.0000x10 <sup>0</sup>	3.7975x10 <sup>2</sup>	-	1.7486x10 <sup>2</sup>	2.4498x10 <sup>1</sup>	1.4x10 <sup>-1</sup>	2.6895x10 <sup>2</sup>	2.3951x10 <sup>1</sup>	8.9x10 <sup>-2</sup>
305	0.0000x10 <sup>0</sup>	3.7487x10 <sup>2</sup>	-	1.5199x10 <sup>2</sup>	2.4183x10 <sup>1</sup>	1.6x10 <sup>-1</sup>	2.2844x10 <sup>2</sup>	2.3644x10 <sup>1</sup>	1.0x10 <sup>-1</sup>
308	0.0000x10 <sup>0</sup>	3.5987x10 <sup>2</sup>	-	1.3588x10 <sup>2</sup>	2.3216x10 <sup>1</sup>	1.7x10 <sup>-1</sup>	1.9622x10 <sup>2</sup>	2.2698x10 <sup>1</sup>	1.2x10 <sup>-1</sup>
311	3.2506x10 <sup>1</sup>	3.4652x10 <sup>2</sup>	1.1x10 <sup>1</sup>	1.2784x10 <sup>2</sup>	2.2354x10 <sup>1</sup>	1.7x10 <sup>-1</sup>	1.7485x10 <sup>2</sup>	2.1856x10 <sup>1</sup>	1.2x10 <sup>-1</sup>
314	6.7330x10 <sup>1</sup>	3.2221x10 <sup>2</sup>	4.8x10 <sup>0</sup>	1.2071x10 <sup>2</sup>	2.0786x10 <sup>1</sup>	1.7x10 <sup>-1</sup>	1.5814x10 <sup>2</sup>	2.0322x10 <sup>1</sup>	1.3x10 <sup>-1</sup>
317	1.2534x10 <sup>2</sup>	3.0936x10 <sup>2</sup>	2.5x10 <sup>0</sup>	1.1381x10 <sup>2</sup>	1.9957x10 <sup>1</sup>	1.8x10 <sup>-1</sup>	1.4462x10 <sup>2</sup>	1.9512x10 <sup>1</sup>	1.3x10 <sup>-1</sup>
320	1.4734x10 <sup>2</sup>	2.7965x10 <sup>2</sup>	1.9x10 <sup>0</sup>	1.0812x10 <sup>2</sup>	1.8040x10 <sup>1</sup>	1.7x10 <sup>-1</sup>	1.3663x10 <sup>2</sup>	1.7638x10 <sup>1</sup>	1.3x10 <sup>-1</sup>

**Tabla C 2. Valores de desviación estándar ( $\sigma_{T vs E}$ ), resultantes de la comparación de los espectros de absorción experimentales con los obtenidos teóricamente con el modelo planteado por SQUAD, en el intervalo  $1.00 \leq \text{pH} \leq 10.00$  (Réplica 2).**

pH	$\sigma_{T vs E}$
1.070	$1.1874 \times 10^{-3}$
1.280	$1.9474 \times 10^{-3}$
1.570	$9.6326 \times 10^{-4}$
1.890	$1.0884 \times 10^{-3}$
2.140	$4.4255 \times 10^{-3}$
2.460	$1.8919 \times 10^{-3}$
2.960	$1.2277 \times 10^{-3}$
3.470	$1.4847 \times 10^{-3}$
3.890	$3.6003 \times 10^{-3}$
4.810	$2.7949 \times 10^{-3}$
5.760	$3.1198 \times 10^{-3}$
6.350	$1.3040 \times 10^{-3}$
7.910	$1.2029 \times 10^{-3}$
9.630	$3.8381 \times 10^{-3}$

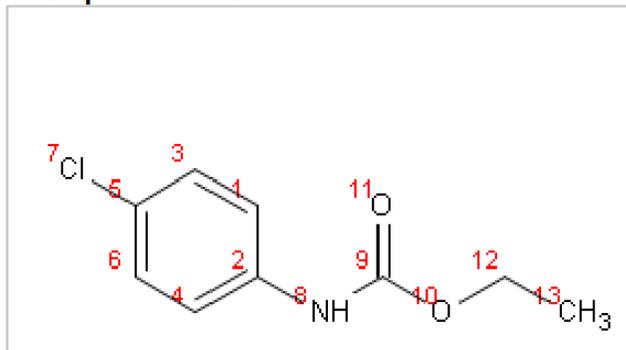
**Tabla C 3. Concentraciones teóricas (SQUAD) de cada especie en disolución, así como las fracciones molares de cada una de ellas, utilizadas en el cálculo de observancias teóricas.**

pH	[HLQM <sup>+</sup> ]	[LQM <sub>T</sub> ]	[LQM <sup>-</sup> ]	X <sub>HLQM+</sub>	X <sub>LQMT</sub>	X <sub>LQM-</sub>
1.07	$8.297 \times 10^{-6}$	$5.177 \times 10^{-5}$	$4.198 \times 10^{-8}$	$1.380 \times 10^{-1}$	$8.613 \times 10^{-1}$	$6.984 \times 10^{-4}$
1.28	$5.399 \times 10^{-6}$	$5.464 \times 10^{-5}$	$7.186 \times 10^{-8}$	$8.982 \times 10^{-2}$	$9.090 \times 10^{-1}$	$1.195 \times 10^{-3}$
1.57	$2.892 \times 10^{-6}$	$5.707 \times 10^{-5}$	$1.464 \times 10^{-7}$	$4.812 \times 10^{-2}$	$9.494 \times 10^{-1}$	$2.435 \times 10^{-3}$
1.89	$1.416 \times 10^{-6}$	$5.838 \times 10^{-5}$	$3.128 \times 10^{-7}$	$2.356 \times 10^{-2}$	$9.712 \times 10^{-1}$	$5.203 \times 10^{-3}$
2.14	$8.014 \times 10^{-7}$	$5.875 \times 10^{-5}$	$5.597 \times 10^{-7}$	$1.333 \times 10^{-2}$	$9.774 \times 10^{-1}$	$9.311 \times 10^{-3}$
2.46	$3.824 \times 10^{-7}$	$5.856 \times 10^{-5}$	$1.166 \times 10^{-6}$	$6.361 \times 10^{-3}$	$9.742 \times 10^{-1}$	$1.939 \times 10^{-2}$
2.96	$1.165 \times 10^{-7}$	$5.644 \times 10^{-5}$	$3.553 \times 10^{-6}$	$1.939 \times 10^{-3}$	$9.390 \times 10^{-1}$	$5.910 \times 10^{-2}$
3.47	$3.185 \times 10^{-8}$	$4.991 \times 10^{-5}$	$1.017 \times 10^{-5}$	$5.298 \times 10^{-4}$	$8.303 \times 10^{-1}$	$1.691 \times 10^{-1}$
3.89	$9.493 \times 10^{-9}$	$3.913 \times 10^{-5}$	$2.097 \times 10^{-5}$	$1.579 \times 10^{-4}$	$6.510 \times 10^{-1}$	$3.488 \times 10^{-1}$
4.81	$3.213 \times 10^{-10}$	$1.102 \times 10^{-5}$	$4.909 \times 10^{-5}$	$5.345 \times 10^{-6}$	$1.833 \times 10^{-1}$	$8.167 \times 10^{-1}$
5.76	$4.831 \times 10^{-12}$	$1.476 \times 10^{-6}$	$5.863 \times 10^{-5}$	$8.037 \times 10^{-8}$	$2.456 \times 10^{-2}$	$9.754 \times 10^{-1}$
6.35	$3.251 \times 10^{-13}$	$3.865 \times 10^{-7}$	$5.972 \times 10^{-5}$	$5.409 \times 10^{-9}$	$6.430 \times 10^{-3}$	$9.936 \times 10^{-1}$
7.91	$2.482 \times 10^{-16}$	$1.071 \times 10^{-8}$	$6.010 \times 10^{-5}$	$4.129 \times 10^{-12}$	$1.782 \times 10^{-4}$	$9.998 \times 10^{-1}$
9.63	$9.012 \times 10^{-20}$	$2.042 \times 10^{-10}$	$6.011 \times 10^{-5}$	$1.499 \times 10^{-15}$	$3.397 \times 10^{-6}$	$1.000 \times 10^0$

**D. Reportes de cálculo correspondientes a valores de pKa probables para el compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo.**

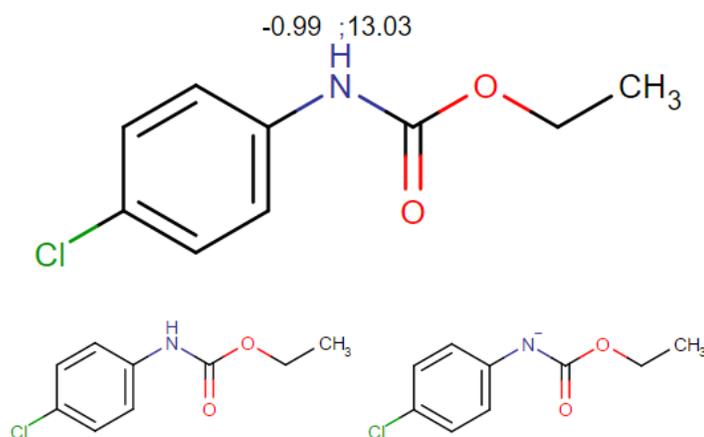
 **ACD/Labs**  
I-Lab 2.0 - ilab.acdlabs.com  
**ACD/Labs** Tuesday 10th of May 2016 05:43:17 PM. Algorithm Version: v12.1.0.50374

**Compound structure**



Ionic form : HL  
 $pK_{a_1}(\text{HL}/\text{H}+\text{L}; 8) = 12.99 \pm 0.70$   
 $pK_{a_2}(\text{H}_2\text{L}/\text{H}+\text{HL}; 8) = -0.40 \pm 0.50$

**Imagen 24.** Reporte de cálculo de valores probables de pKa para el compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo, obtenido mediante la utilización de I-Lab 2.0, versión 12.1.0.50374 (ACD/Labs®).



**Imagen 25.** Reporte de cálculo de valores probables de pKa, así como las estructuras tautómeras probables para el compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo, obtenido mediante la utilización de Chemicalize (ChemAxon®).

## E. Información auxiliar.

Tabla E 1. Límite inferior de transparencia para disolventes en la región UV (Christian, 2009).

Disolvente	Punto de corte (nm)*	Disolvente	Punto de corte (nm)*
Agua	200	Ciclorometano	233
Etanol	205	Éter dibutílico	235
Acetonitrilo	210	Cloroformo	245
Ciclohexano	210	Propionato de etilo	255
Ciclopentano	210	Formato de metilo	260
Heptano	210	Tetracloruro de carbono	265
Hexano	210	N,N-dimetilformamida	270
Metanol	210	Benceno	280
Pentano	210	Tolueno	285
Alcohol isopropílico	210	m-Xileno	290
Isooctano	215	Piridina	305
Dioxano	220	Acetona	330
Éter dietílico	220	Bromoformo	360
Glicerina	220	Disulfuro de carbono	380
1,2-Dicloroetano	230	Nitrometano	380

\*Paso óptico de 1 cm, utilizando agua como referencia.

## Índice de Gráficos

Gráfico 1. Relación cologarítmica entre la absorbancia y la transmitancia. ....	10
Gráfico 2. Espectro de absorción de una disolución [LQM996]= $5.61 \times 10^{-5}$ M.....	29
Gráfico 3. Valores de absorbancia con respecto a la concentración de (4-clorofenil)carbamato de etilo, a una $\lambda_{\text{máx}}=239$ nm, para los sistemas preparados. ....	30
Gráfico 4. Comportamiento espectral de una disolución [LQM996]= $6.01 \times 10^{-5}$ M respecto al tiempo, en medio ácido ( $pH=0.91 \pm 0.05$ ).....	32
Gráfico 5. Comportamiento espectral de una disolución [LQM996]= $6.01 \times 10^{-5}$ M respecto al tiempo, en un medio cercano a la neutralidad ( $pH=6.27 \pm 0.26$ ).....	33
Gráfico 6. Comportamiento espectral de una disolución [LQM996]= $6.01 \times 10^{-5}$ M respecto al tiempo, en medio básico ( $pH=13.33 \pm 0.05$ ).....	34
Gráfico 7. Valor de pH respecto al tiempo, en una disolución [LQM996]= $6.01 \times 10^{-5}$ M en medio ácido, básico y neutro.....	36
Gráfico 8. Valor de la Absorbancia a 239nm respecto al tiempo, registrado en los sistemas ácido, básico y neutro a una [LQM996]= $6.01 \times 10^{-5}$ M.....	37
Gráfico 9. Espectrograma obtenido a partir del estudio espectrofotométrico sin dilución de un sistema [LQM996]= $6.01 \times 10^{-5}$ M, a 25°C y fuerza iónica variable.....	38
Gráfico 10. Puntos isobésticos observados en el intervalo $0.97 \leq pH \leq 2.50$ en la valoración sin dilución realizada al sistema [LQM 996]= $6.01 \times 10^{-5}$ M. ....	39
Gráfico 11. Punto isobéstico observado en el intervalo $2.51 \leq pH \leq 6.50$ en la valoración sin dilución realizada al sistema [LQM996]= $6.01 \times 10^{-5}$ M.....	40

Gráfico 12. Cambio de la Absorbancia respecto al pH para el sistema [LQM 996]= $6.01 \times 10^{-5}$ M, en dos longitudes de onda distintas, así como el error instrumental en absorbancia ( $\pm 0.005$ ).....	41
Gráfico 13. Coeficientes de absortividad molar para un modelo de tres equilibrios y cuatro especies, calculados por el programa SQUAD, en el intervalo $1.00 \leq \text{pH} \leq 12.80$ , en el intervalo $221 \leq \lambda \leq 320$ nm. ....	46
Gráfico 14. Coeficientes de absortividad molar para un modelo de tres equilibrios y cuatro especies, calculados por el programa SQUAD, en el intervalo $1.00 \leq \text{pH} \leq 10.00$ , en el intervalo $221 \leq \lambda \leq 320$ nm. ....	51
Gráfico 15. Comparación de los espectros de absorción calculados teóricamente (líneas) con los espectros de absorción experimentales (puntos) representativos del estudio ácido-base de una disolución [LQM996]= $6.01 \times 10^{-5}$ M.....	52
Gráfico 16. Puntos isobésticos observados a partir de cálculos teóricos. ....	53
Gráfico 17. Diagrama de Distribución de especies observadas a lo largo de la especiación química del compuesto en una disolución [LQM996]= $6.01 \times 10^{-5}$ M, calculado con el programa computacional Alpha, a partir de los valores de $pK_{a1} \cong 0.27$ y $pK_{a2} = 4.26$ . ....	57

## Índice de Imágenes

Imagen 1. Principales países productores de carne de bovino 2015 (Consejo Mexicano de la Carne, 2016).....	i
Imagen 2. Infestación masiva por garrapatas en el ganado bovino (tomado de albertair.portalveterinaria.com).....	ii
Imagen 3. Formas tautómeras del ácido carbámico, precursor de los carbamatos (Klages, 2005). ....	1
Imagen 4. Fórmula estructural general de los carbamatos (Baird, 2001).....	1
Imagen 5. Formas tautómeras generales de un carbamato. ....	2
Imagen 6. Pesticidas de uso comercial. ....	2
Imagen 7. Algunos carbamatos de uso farmacéutico.....	3
Imagen 8. Apariencia del compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo (LQM 996).....	5
Imagen 9. Estructura química del LQM 996. ....	5
Imagen 10. Espectro de absorción UV-VIS, correspondiente al intervalo de $200\text{nm} < \lambda < 800\text{nm}$ . ....	6
Imagen 11. Diagrama de los cambios de energía relacionados con la absorción de radiación electromagnética. (Christian, 2009).....	8
Imagen 12. Representación del paso de radiación a través de una celda espectrofotométrica.....	9
Imagen 13. Relación exponencial entre la transmitancia y la concentración, así como la incertidumbre asociada a cada una de ellas.....	10

Imagen 14. Ley de aditividad de absorbancias (Sierra, Pérez, Gómez, & Morante, 2010). .....	11
Imagen 15. Montaje experimental para llevar a cabo el estudio de estabilidad. ....	26
Imagen 16. Montaje experimental de la valoración espectrofotométrica. ....	27
Imagen 17. Pruebas de solubilidad realizadas al compuesto LQM 996, en sistemas EtOH-H <sub>2</sub> O a proporciones: a) 40%/60% y b) 45%/55%. ....	28
Imagen 18. Equilibrios ácido-base propuestos por las herramientas computacionales de ACD/Labs® y ChemAxon®. ....	44
Imagen 19. Híbrido de resonancia correspondiente a la especie ácida en disolución (HLQM <sup>+</sup> ).....	47
Imagen 20. Equilibrio prototrópico entre las especies tautoméricas del compuesto LQM996. ....	48
Imagen 21. Híbrido de resonancia correspondiente a la especie básica en disolución.....	48
Imagen 22. Equilibrios ácido-base relacionados con cada especie tautomérica. ....	49
Imagen 23. Equilibrios químicos propuestos, así como la asignación de valores de pK <sub>a1</sub> , pK <sub>a2</sub> . ....	56
Imagen 24. Reporte de cálculo de valores probables de pK <sub>a</sub> para el compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo, obtenido mediante la utilización de I-Lab 2.0, versión 12.1.0.50374 (ACD/Labs®).....	66
Imagen 25. Reporte de cálculo de valores probables de pK <sub>a</sub> , así como las estructuras tautómeras probables para el compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo, obtenido mediante la utilización de Chemicalize (ChemAxon®). ....	66

## Índice de Tablas

Tabla 1. Programas computacionales comúnmente utilizados para el refinamiento de constantes de equilibrio, a partir de datos espectrofotométricos (Sierra A. , 2002). .....	20
Tabla 2. Proporción EtOH-H <sub>2</sub> O de las mezclas utilizadas para las pruebas de solubilidad del compuesto LQM 996.....	23
Tabla 3. Concentración de los sistemas preparados, comprendidos en el intervalo de trabajo.....	24
Tabla 4. Concentración en los diferentes sistemas empleados y su valor de absorbancia a una $\lambda_{\text{máx}}=239$ nm.....	30
Tabla 5. Valores promedio de pH y porcentaje de variación a lo largo del monitoreo de dicha propiedad respecto al tiempo.....	35
Tabla 6. Valores promedio de Absorbancia y porcentaje de variación a lo largo del monitoreo de dicha propiedad respecto al tiempo. ....	35
Tabla 7. Número de especies probables en el sistema respecto al valor de error ( $\Delta A$ ) considerado en los datos experimentales, obtenido con la ayuda del programa computacional TRIANG. ....	42
Tabla 8. Valores de pKa calculados mediante el uso de I-Lab 2.0 (versión: v12.1.0.50374) y Chemicalize.....	43
Tabla 9. Valores de $\log \beta$ obtenidos por el programa SQUAD, considerando un modelo de tres equilibrios y cuatro especies, en el intervalo $1.00 \leq \text{pH} \leq 12.80$ , en el intervalo $221 \leq \lambda \leq 320$ nm.....	45

Tabla 10. Valores de $\log \beta$ obtenidos por el programa SQUAD, considerando un modelo de dos equilibrios y tres especies, en el intervalo $1.00 \leq \text{pH} \leq 10.00$ , en el intervalo $221 \leq \lambda \leq 320$ nm. ....	50
Tabla 11. Valores promedio de $\text{pK}_{a1}$ y $\text{pK}_{a2}$ experimentales, determinadas para el compuesto (4-clorofenil)carbamato de etilo. ....	53
Tabla 12. Valores de $\text{pK}_a$ obtenidos con SQUAD, ACD/Labs y ChemAxon. ....	54
Tabla C 1. Coeficientes de absortividad molar y desviación estándar calculados por SQUAD en el intervalo $1.00 \leq \text{pH} \leq 9.00$ , así como la desviación relativa para cada una de las especies. ....	64
Tabla C 2. Valores de desviación estándar ( $\sigma_{T \text{ vs } E}$ ), resultantes de la comparación de los espectros de absorción experimentales con los obtenidos teóricamente con el modelo planteado por SQUAD, en el intervalo $1.00 \leq \text{pH} \leq 10.00$ (Réplica 2). ....	65
Tabla C 3. Concentraciones teóricas (SQUAD) de cada especie en disolución, así como las fracciones molares de cada una de ellas, utilizadas en el cálculo de observancias teóricas. ....	65
Tabla E 1. Límite inferior de transparencia para disolventes en la región UV (Christian, 2009). ....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>

## Bibliografía

- ACD/Labs. (2007-2008). *ACD/Labs Products Catalog: PhysChem*. Advanced Chemistry Development.
- Adamu, H., Luter, L., Musa, M., & Adamu, B. (2013). Chemical speciation: a strategic pathway for insightful risk assessment and decision making for remediation of toxic metal contamination. *Environment and Pollution*, 2(3).
- Albro, P. W., Parker, C. A., O., A. E., Mester, T. C., Hass, J. R., & T., S. (1 de marzo de 1984). Determination of the pKa values of metribuzin and three of its metabolites: a comparison of spectrophotometric and potentiometric methods. *J. Agric. Food Chem.*, 32(2), 212-217.
- Alonso, M. A., Rodríguez, R. I., Fragoso, H., & R., R. (2006). Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas. *Arch. Med. Vet.*, 38(2), 105-113.
- Arreola, I. L. (1999). *Determinación de los pKa's del rojo de cresol en medio acuoso, utilizando los programas computacionales SQUAD y TRIANG. Tesis de Licenciatura*. México: UNAM.
- Baeza, A. (2006). Precisión en espectrofotometría. Documento de apoyo. Facultad de Química. UNAM.
- Baird, C. (2001). *Química Ambiental*. (X. D. Antúnez, Trad.) Barcelona, España: Editorial Reverté.
- Bernabé, A. (2007). *Evaluación antiparasitaria de nueve principios de síntesis derivados del ácido carbámico utilizando como modelo el cestodo Hymenolepis nana var. fraterna*

- en ratones de la cepa CD1 con infestación inducida (Tesis de Licenciatura)*. México: UNAM.
- Bernal, S. (2000). *Evaluación de algunos productos derivados del ácido carbámico como agentes microbianos (Tesis de Licenciatura)*. México: UNAM.
- Beyer, H., & Walter, W. (1987). *Manual de Química Orgánica*. (J. B. Mur, Trad.) Barcelona, España: Editorial Reverté.
- Botana, L. M., Landoni, F., & Martín, T. (2002). *Farmacología y Terapéutica Veterinaria*. Madrid, España: McGraw-Hill Interamericana.
- Bunting, J., & Kanter, J. (1993). Acidity and Tautomerism of  $\beta$ -ceto Esters and Amides in Aqueous Solution. *J. Am. Chem. Soc.*(115), 11705-11715.
- Burriel, F., Lucena, F., Arribas, S., & Hernández, J. (2008). *Química Analítica Cualitativa*. Barcelona, España: Thomson.
- Cañizares, M. d., & Duarte, G. A. (2012). *Fundamentos de Química Analítica. Teoría y Ejercicios* (2° Edición ed.). México: UNAM.
- Chin, J. (Ed.). (2001). El control de las enfermedades transmisibles. *Publicación Científica y Técnica*(581).
- Christian, G. D. (2009). *Química Analítica* (6° Edición ed.). (V. González, & S. Sarmiento, Trads.) México: McGraw Hill.
- Consejo Mexicano de la Carne. (15 de Junio de 2016). *Compendio Estadístico 2015 de la Industria Cárnica en México*. Obtenido de <http://infocarne.comecarne.org/compendio>

- Cruz, D. A. (2016). *Síntesis y Estudio Teórico de Bencilcarbamatos de Etilo con Potencial Actividad Ixodida*. Tesis de Licenciatura. Estado de México: UNAM.
- Delgado de Cantú, G. M. (2003). *México: Estructuras Política, Económica y Social*. (Segunda ed.). México: Pearson, Prentice Hall.
- Desquesnes, M. (1987). *The cattle Tick: Boophilus microplus*. Guyana Francesa.: CIRAD.
- García, Z. (2010). Garrapatas que afectan al ganado bovino y enfermedades que transmiten en México. *1er. Simposium de Salud y Producción de Bovinos de Carne en la Zona Norte-Centro de México 2010.*, (pág. 9). Aguascalientes.
- Geissman, T. A. (1974). *Principios de Química Orgánica* (Segunda edición ed.). (I. S. Bellido, Trad.) Barcelona, España: Editorial Reverté, S. A.
- Gómez, B. (2006). *Determinación de las constantes de acidez de la mangiferina y su interacción con algunos iones metálicos en medio acuoso (Tesis de doctorado)*. Iztapalapa, México: UAM.
- Guitart, R. (2014). *Tóxicos: Los enemigos de la vida*. España: Universidad Autónoma de Barcelona.
- Gupta, R. C. (2006). *Toxicology of organophosphate and carbamate compounds*. Amsterdam: Elsevier.
- Harris, D. C. (1992). *Análisis Químico Cuantitativo*. (A. Quere, Trad.) México: Grupo Editorial Iberoamérica.
- Herrera, N. (2007). *Determinación de constantes de acidez del fármaco anti-inflamatorio isoxicam (Tesis de Licenciatura)*. Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx.

- Iturbe, S. L. (2014). *Evaluación de la eficacia in vivo de dos carbamatos de nueva síntesis sobre rhipicephalus microplus (Tesis de Licenciatura)*. Estado de México: UNAM.
- Klages, F. (2005). *Tratado de Química Orgánica* (Vols. I, 1º Parte. Química Orgánica Sistemática). (V. G. Aranda, Trad.) Barcelona, España: Editorial Reverté.
- Legget, D. (1977). Numerical Analysis of Multicomponent Spectra. *Analytical Chemistry*, 49(2), 6.
- Leggett, D., & McBryde, A. (1975). General computer program for the computation of stability constants from absorbance data. *Analytical Chemistry*, 47(7), 1065.
- López F., H. (2009). *Determinación de las constantes de acidez de la serie de compuestos LQM: 318, 326 y 328 por espectrofotometría UV-VIS (Tesis de Licenciatura)*. Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx.
- Luis, S., Burguete, M. I., & Altava, B. (1997). *Introducción a la Química Orgánica*. Litografía Castellón.
- Morales, P. A. (1993). *Estudio de sistemas químicos multirreaccionantes en soluciones acuosas por métodos espectrofotométricos con el programa SQUAD y otros métodos computacionales (Tesis de Maestría)*. México: UNAM.
- Moya, M. d. (2003). *Estudio de especiación química de los fármacos antiinflamatorios tenoxicam y piroxicam con cationes metálicos de interés biológico. Tesis Doctoral*. México: UAM.
- Muñoz, C. (2012). *Síntesis de derivados del ácido carbámico de la serie LQM-900, los cuales han mostrado actividad ixodocida (Tesis de Licenciatura)*. México: UNAM.

- Naciones Unidas. (2007). *Recomendaciones relativas al transporte de mercancías peligrosas. Reglamentación modelo*. (15° ed., Vol. 1). NY y Ginebra: NU.
- Negrón, M. (2009). *Microbiología Estomatológica: Fundamentos y Guía Práctica*. (Segunda ed.). Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- Ögretir, C., Demirayak, S., & Duran, M. (2010). Spectroscopic Determination and Evaluation of Acidity Constants for Some Drug Precursor 2-amino-4-(3- or 4-substituted phenyl) Thiazole Derivatives. *Journal of Chemistry Engineering Data*, 55, 1137-1142.
- Oteo, J. A., & Brouqui, P. (Junio de 2005). Ehrlichiosis y anaplasmosis humana. *Formación Médica Continuada*, 23(06).
- Pérez, A. L. (2010). *Determinación de las constantes de acidez de los compuestos LQM: 344, 345 y 351 por electroforesis capilar y espectrofotometría de UV-VIS (Tesis de Licenciatura)*. México: UNAM.
- Prado, M. G., Abrego, V. H., Velázquez, A. M., Muñoz, M. A., Ramírez, P., Ángeles, E., & Alba, F. (2014). Subchronic Toxicity Study in Rats of Two New Ethyl-Carbamates with Ixodidicidal Activity. *BioMed Research International*(467105), 12.
- Reyes, R. (2007). *Evaluación de la actividad antibiótica del compuesto LQM 996 en Meriones unguiculatus infectado con Helicobacter pylori (Tesis de Licenciatura)*. México: UNAM.
- Rodríguez, N., Reyes, L. I., Moya, R., Rojas, A., & Gómez, R. (2016). Chemical speciation of the system Cu(II)-Indomethacin in ethanol and water by UV-Vis spectrophotometry. *Journal of Chemistry*, 2016(9804162), 12.

- Ruíz, M. B. (2012). *Evaluación in vitro de la citotoxicidad de compuestos derivados del éster fenético del ácido caféico (CAPE), en diferentes líneas celulares de cáncer (Tesis de Licenciatura)*. México: UNAM.
- Sabatini, A., & Vacca, A. (1992). Mathematical algorithms and computer programs for the determination of equilibrium constants from potentiometric and spectrophotometric measurements. *Coordination Chemistry Reviews.*, 120, 389-405.
- Sandler, S., & Karo, W. (1986). *Organic functional group preparations* (Second edition ed., Vol. II). New York, EUA: Elsevier.
- SENASICA. (23 de Diciembre de 2013). *Garrapata Boophilus: Antecedentes y Situación*. Recuperado el 14 de Marzo de 2015, de <http://www.senasica.gob.mx/?id=4394>
- SENASICA. (28 de Agosto de 2014). *Manual de usuario*. Recuperado el 14 de Marzo de 2015, de SAGARPA.: <http://sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/>
- Sierra, A. (2002). *Determinación de las constantes de acidez del 2-(aminometil)bencimidazol por RMN de <sup>13</sup>C, espectrofotometría y potenciometría (Tesis de Maestría)*. Pachuca de Soto, Hidalgo, México: Universidad Autónoma de Hidalgo.
- Sierra, I., Pérez, D., Gómez, S., & Morante, S. (2010). *Análisis Instrumental*. España: Netbiblo.
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2010). *Fundamentos de Química Analítica* (8° Edición ed.). (J. L. Blanco y Correa, E. Turiel, & R. Zarazagoita, Trads.) México: CENGAGE Learning.
- Valdovines, M. T. (2010). *Guía Básica para Preformulación Farmacéutica*. D.F., México.

Weininger, S. J., & Stermitz, F. (1988). *Química Orgánica*. España: Editorial Reverté, S. A.