



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**Determinación de las constantes de disociación
ácida del 2,6-bis(morfolin-4-ilmetil)-4-nitrofenol
y de las constantes de formación de complejos
con Cu (II).**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Q U Í M I C O

P R E S E N T A:

OSCAR EDUARDO CEDILLO FLORES

ASESORA:

DRA. MARÍA DEL ROSARIO MOYA HERNÁNDEZ

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO.

2017





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: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa 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: Trabajo de Tesis

Determinación de las constantes de disociación ácida del 2,6-bis (morfolin-4-ilmetil)-4-nitrofenol y de las constantes de formación de complejos con Cu (II).

Que presenta el pasante: **Oscar Eduardo Cedillo Flores**

Con número de cuenta: 309113681 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.

ATENCIÓN

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 20 de Septiembre de 2016.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. José Franco Pérez Arévalo	
VOCAL	Dr. Enrique Ramón Ángeles Anguiano	
SECRETARIO	Dra. María del Rosario Moya Hernández	
1er. SUPLENTE	Dr. Julio César Botello Pozos	
2do. SUPLENTE	M. en C. Verónica Altamirano Lugo	

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

LMCF/cga

AGRADECIMIENTOS.

Le debo un gran agradecimiento a mis padres: por concebirme y por darme todo lo necesario para mi educación. Gracias por darme la oportunidad de llegar a esta gran meta, concluir mis estudios profesionales.

A mi mamá, que siempre me indico lo que debía hacer: estudiar.

A mi papá, por brindarnos a mí y a mis hermanos su gran apoyo.

A mis hermanos y hermanas: Roberto, Adriana, Karen y Fernando que siempre tuvieron fe en mí.

A cada profesor que fue participe en mi formación:

A la maestra Consuelo Pérez, profesora de Matemáticas III en secundaria, una persona admirable que nos rescató de la grave situación en la que nos encontrábamos en dicha materia. También agradezco sus consejos y anécdotas personales que nos compartió.

A mis profesores que me impartieron clases en la FESC durante 4 años y medio y me indujeron un gran amor hacia la Química: Dra. Berenice G. Zaleta, Dr. Ricardo Baltazar, Dra. Esther Agacino, Dra. Claudia Briones, Dra. Guillermina Rivera, Dr. Guillermo Penieres, Dr. J. Franco Pérez, entre otros.

A mis amigos y compañeros de la generación 39 de Química, con quienes tuve grandes vivencias y retos durante la carrera:

Zeila Carreño, por enseñarme que el trabajo constante es el camino hacia el éxito.

Raúl Aguilar, nuestras pláticas siempre fueron muy enriquecedoras, carnal.

Jessica Alvarado, por su gran amistad y el valioso tiempo que compartimos.

A mis compañeros del laboratorio 10 de la UIM, que siempre estuvieron dispuestos a brindarme su ayuda: M. en C. Ricardo Hipólito, Dra. Norma Rodríguez y Alfredo Castro.

Al Q. Eduardo Martín, por su apoyo en mi estancia en el LQM para la síntesis de los LQM300 (LQM314).

Al Dr. Alberto Rojas por su apoyo en el PCA (Análisis de los componentes principales) y por compartir su gran bagaje sobre la determinación de constantes de equilibrio.

Al Dr. Enrique Ángeles por permitirme trabajar con el compuesto LQM312 y ser parte de su proyecto de investigación de los LQM300. Así como a los miembros del jurado, por sus recomendaciones para finalizar este trabajo.

A la Dra. Ma. Del Rosario Moya Hernández, a quien le debo un gran respeto y admiración. Le agradezco por darme la oportunidad de trabajar en su laboratorio y el apoyo brindado durante la realización de este proyecto. Sus asesorías siempre eran un gran alivio cuando me encontraba muy perdido.

Y a la UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, que me ha brindado todo lo que puede a cambio de muy poco. Es un orgullo pertenecer a esta gran Universidad.

“Por mi raza hablará el espíritu”

DEDICATORIA

Para mi hermano Fernando:

Desde el día de tu partida juré que, todo lo que me propusiera realizar sería en tu memoria. Nunca te he olvidado ni lo haré porque tu esencia sigue con nosotros. Deseo tanto que estuvieras aquí, disfrutando de la vida y de Luis. ¡Te extrañamos mucho!

También le dedico mi trabajo a Luis Fernando, mi sobrino, quien llegó a llenarnos de felicidad y nos brinda una gran fortaleza para vivir.



Now all those simple things are simply too complicated for my life.

No Doubt. (2000). 2. Simple Kind of Life. En Return of Saturn [CD]. Los Angeles, CA. Interscope.



EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZÓ EN EL LABORATORIO DE FISICOQUÍMICA ANALÍTICA (LABORATORIO 10) DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MULTIDISCIPLINARIA DE LA FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN.

Índice

1.	Introducción	1
2.	Antecedentes	4
2.1	Hipertensión.....	4
2.1.1	Fármacos antihipertensivos	5
2.2	Cáncer	8
2.3	Antineoplásicos.....	9
2.3.1	Antineoplásicos con Cu (II).	12
2.4	Compuestos LQM.....	14
3.	Generalidades	19
3.1	Espectrofotometría.....	19
3.1.1	Espectro electromagnético	19
3.1.2	Absorción de radiación electromagnética.....	21
3.1.3	Ley de Lambert-Beer-Bouguer	23
3.1.4	Espectrofotómetro.....	26
3.2	Métodos computacionales para la determinación de constantes de equilibrio	29
3.2.1	SQUAD.....	31
3.2.2	TRIANG.....	33
3.2.3	MEDUSA.....	34
3.3	Estequiometría	35
3.3.1	Método de las variaciones continuas.....	36
3.3.3	Método de Relaciones molares.....	39
4.	Hipótesis	43
5.	Objetivos	44
5.1	Objetivos generales.....	44
5.2	Objetivos particulares	44

6. Metodología	46
6.1 Materiales, equipos y reactivos	46
6.1.1 Materiales	46
6.1.2 Equipos.....	46
6.1.3 Reactivos.....	46
6.2 Metodología.....	47
6.2.1 Estabilidad del LQM312 en solución acuosa y determinación de sus constantes de disociación ácida	47
6.2.1.1 Estudio de la estabilidad del LQM312 en medio acuoso.....	47
6.2.1.2 Determinación de los pKa's del LQM312.....	47
6.2.2 Formación de complejos Cu (II)- LQM312	49
6.2.2.1 Método de Job.....	50
6.2.2.2 Método de las relaciones molares	51
6.2.2.2.1 [Cu ²⁺] Constante	51
6.2.2.2.2 [LQM312] Constante	52
7. Resultados y Análisis de Resultados	53
7.1 Constantes de acidez.....	53
7.1.1 Estabilidad del compuesto LQM312 en agua	53
7.1.2 Determinación de los pKa's.....	56
7.2 Determinación de las constantes de formación LQM312-Cu (II).....	72
8. Conclusiones	90
9. Referencias	92
Anexos	i
A. Método del Análisis de componentes principales (PCA)	i
B. Corrección de pH.....	v



1. INTRODUCCIÓN



La hipertensión es una enfermedad cardiovascular y es de las principales causas de mortalidad y morbilidad en el país. El 43.2% de la población adulta del país sufre de esta enfermedad y solamente la mitad sabe que la padece, ya que, es asintomática; (Nieto, 2013). Una persona es hipertensiva cuando la presión sistólica es mayor de 160 mmHg y la diastólica de 99 mmHg.

En el Laboratorio de Química Medicinal (LQM) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán se desarrollan compuestos análogos a la Changrolina (Figura 1.1), producto natural obtenido de una planta procedente de China. El desarrollo de estos compuestos inicia por el diseño asistido por computadora de diferentes moléculas para después realizar la síntesis (Velázquez Sánchez, 2007).

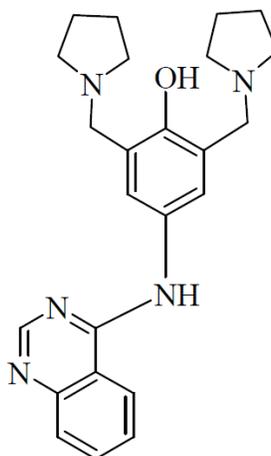


Figura 1.1. Estructura de la Changrolina.

Los compuestos análogos a la Changrolina sintetizados en el LQM son derivados morfolínicos, tiomorfolínicos y piperidínicos del fenol. Esta serie de compuestos reciben la clave de LQM300 (Figura 1.2). Estudios *in vitro* e *in vivo* han comprobado que los compuestos LQM300 son buenos candidatos como fármacos antihipertensivos.

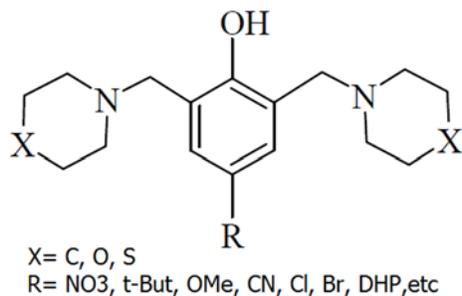


Figura 1.2. Estructura de los compuestos LQM300.

Además, los compuestos LQM300, son capaces de formar complejos de coordinación con diversos iones metálicos. Los complejos formados con el ion Cu^{2+} son de gran interés, debido a que existen complejos cúpricos que poseen actividad antineoplásica semejante al cis-platino (Escutia, 2012).

La actividad antineoplásica es la capacidad de matar o detener el crecimiento celular. Lo más deseable, es que los fármacos con actividad antineoplásica sean específicos para células cancerígenas. El cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo, según lo reportado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2008: 7.6 millones de casos. En México, el INEGI reportó 75229 defunciones debidas a tumores malignos en el 2013.

En el presente trabajo, se determinaron las constantes de disociación ácida (pK_a) del 2,6-bis(morfolin-4-ilmetil)-4-nitrofenol (el que también se conoce con la clave *LQM312*, la cual será utilizada a partir de aquí en adelante) así como las constantes de formación de complejos con el ion Cu (II), utilizando los programas TRIANG y SQUAD, a partir de datos de absorbancia UV-Vis.

Para la determinación de los pK_a 's del LQM312, se efectuaron mezclas de dos soluciones de LQM312 a la misma concentración, pero una en medio ácido y otra en medio básico. A cada cambio de pH se determinaba el espectro de absorción del sistema en un intervalo de longitudes de onda de 200 a 900 nm



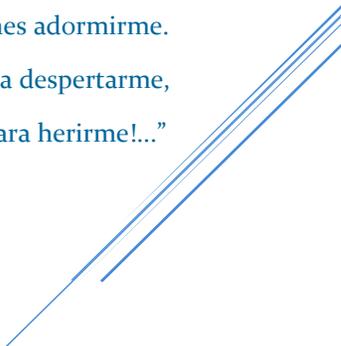
La determinación de las constantes de formación (β_n) de los complejos LQM312-Cu (II) se hizo mediante el método de las variaciones continuas (Método de Job) y por el método de relaciones molares, principalmente para identificar cuántos complejos y bajo qué relación estequiométrica es que se forman éstos.



2. ANTECEDENTES

“...Con otras ilusiones engañarme
quise, y entre perfumes adormirme.
¡Y vino el desengaño a despertarme,
y vino su memoria para herirme!...”

Hojas secas
Manuel Gutiérrez Nájera





2.1 Hipertensión.

La presión sanguínea, mejor conocida como presión arterial, es la fuerza que ejerce la sangre en los vasos sanguíneos y es el producto del gasto cardíaco por la resistencia vascular periférica (Opie, 2002).

Cuando el corazón bombea la sangre oxigenada hacia los tejidos a través de las arterias, se le denomina *sístole*, que es cuando el corazón se contrae y la presión es más alta; En cambio, en el *diástole*, las aurículas y los ventrículos se dilatan para que la sangre entre de nuevo a las aurículas provocando que la presión sanguínea disminuya (Figura 2.1.).

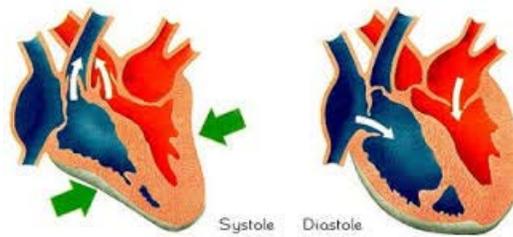


Figura 2.1. Esquematización de la sístole y diástole.

En la medición de la presión arterial se reportan dos números, que corresponden a la presión sistólica y a la presión diastólica. Para que una persona sea diagnosticada con hipertensión es necesario que de la presión arterial en un lapso de cuando menos algunas semanas no disminuya, y si ésta no disminuye se debe decidir qué tratamiento se debe seguir para controlar la presión arterial. En la Tabla 2.1 se presentan los parámetros y qué tratamiento se debe indicar para pacientes con hipertensión.

Tabla 2.1. Parámetros de presión arterial. (Opie, 2002)

Grados de Hipertensión	Presión (mmHg)	Grupo de riesgo A
Normal Alta	130-139/85-89	Modificar hábitos
Etapa 1	140-159/90-99	Modificar hábitos (hasta 12 meses)
Etapa 2 y 3	≥160/≥100	Tratamiento farmacológico

La hipertensión es un factor para presentar infartos de miocardio, insuficiencia renal y accidentes cerebrovasculares. En México, un 43.2% de adultos, padecen hipertensión y la mitad de ellos no sabe que la padece debido a que esta enfermedad es asintomática en la mayoría de las veces. Los síntomas que pueden llegar a presentarse son: dolor de cabeza, náuseas, vómito, mareo, sangrado nasal, etc. La forma de diagnosticarla es midiendo la presión arterial en un lapso corto. (Nieto, 2013).

Para prevenir la hipertensión es necesario tener un estilo de vida saludable, es decir, una dieta baja en calorías, rica en alimentos frescos, baja en grasas y comer una gran cantidad de frutas y verduras. Además, es recomendable realizar ejercicio aeróbico, no exceder la cantidad recomendada de cloruro de sodio al día (5 g), suspender el tabaquismo y disminuir el consumo de alcohol. (Instituto Mexicano del Seguro Social, 2015).

2.2.1 Fármacos antihipertensivos.

Existen diferentes tipos de fármacos para el tratamiento de la hipertensión, los cuales se clasifican de la siguiente manera (OMS, 2015):



a) Diuréticos.

La acción de los diuréticos en general es disminuir el volumen sanguíneo. Existen tres tipos de diuréticos, los cuales actúan de manera diferente: tiazidas, de asa y ahorradores de potasio.

- Tiazidas. Las tiazidas aumentan la excreción de iones Na^+ y Cl^- debido a que bloquea la reabsorción de sodio en la porción inicial del túbulo contorneado distal en el segmento de dilución cortical. Son los más utilizados en el tratamiento de la hipertensión a menos que ésta sea causa de insuficiencia renal (Bragulat & Antonio, 2001).
- Diuréticos de asa. Éstos tienen una mayor potencia y actúan sobre la rama ascendente del asa de Henle inhibiendo activamente la reabsorción de sodio (Marroquín Pascual, 2008).
- La espirolactona y la amilorida son los principales ahorradores de potasio que se utilizan para el tratamiento de la hipertensión. La amilorida se administra junto a tiazidas para evitar la hipopotasemia (niveles bajos de potasio en el plasma sanguíneo). La espirolactona es una antagonista de los receptores de aldosterona por lo que se inhibe la reabsorción de sodio en el túbulo distal (Bragulat & Antonio, 2001).

b) Bloqueadores β -adrenérgicos (Bloqueadores β).

Los bloqueadores β actúan sobre los receptores β del corazón disminuyendo la presión arterial por presentar un antagonismo competitivo con las catecolaminas sobre los receptores adrenérgicos periféricos. También disminuyen la frecuencia cardíaca, la contractibilidad cardíaca y la demanda de oxígeno del miocardio (González Terán & Torres Garduño, 2012).

c) Inhibidores de la enzima convertora de la angiotensina (IECA).

La angiotensina II, que se forma a partir de la angiotensina I, estimula la producción de aldosterona la cual a su vez estimula la retención de sodio aumentando la presión arterial. Al ser inhibida la enzima convertidora de angiotensina disminuye la secreción de aldosterona e impide la degradación de bradiquinina, el cual es un vasodilatador (Bragulat & Antonio, 2001).

d) Bloqueadores de los canales de calcio. Este tipo de antihipertensivos bloquean los canales de calcio dependientes del potencial de membrana. La baja concentración de ion Ca^{2+} en el citosol de las células musculares lisas arteriolares disminuye la contracción de éstas y la resistencia vascular, por lo que también disminuye la presión arterial (Bragulat & Antonio, 2001).

e) Antagonistas de los receptores de angiotensina II (ARA-II). Estos fármacos bloquean al receptor AT1 de angiotensina II haciendo que la presión arterial disminuya hasta valores normales. No causan tos ni angioedema. Tienen un efecto sinérgico, el cual aumenta al ser administrado junto con un diurético (Bragulat & Antonio, 2001).

En México, los tratamientos para la hipertensión suelen ser muy caros y de por vida. Para controlar la presión arterial es necesario realizar cambios en el estilo de vida así como monitorear la ingesta de los fármacos recetados para el tratamiento de dicha enfermedad (Instituto Mexicano del Seguro Social, 2015).



2.2 Cáncer.

Normalmente, el organismo de una persona produce y reproduce el tipo de células que le son necesarias. Cuando las células envejecen o se dañan, éstas mueren y son reemplazadas por células nuevas. (NCI, 2015).

El cáncer es el crecimiento y diseminación descontrolado de células anormales en el cuerpo. Las células que se multiplican de manera descontrolada forman tejidos llamados tumores, neoplasia o blastoma. El cáncer aparece cuando el material genético de una célula es modificado, ocasionando que las células comiencen a multiplicarse sin control invadiendo y/o sustituyendo tejido circundante. Algunos tipos de tumores crecen de manera lenta, y no logran invadir el tejido sano cercano a ellos. Este tipo de tumores se les llama tumores “benignos” (Puente, 2015).

Existen diferentes tipos de cáncer y reciben el nombre del órgano en el cual se originan, por ejemplo, cáncer de pulmón, cáncer de cerebro, etc. (NCI, 2015).

El cáncer es una enfermedad genética, ya que aparece cuando los genes que controlan diversas funciones de las células son modificados. También puede presentarse cuando el ADN es dañado por factores externos como sustancias cancerígenas como los compuestos presentes en los cigarrillos de tabaco, así como la radiación ultravioleta tipo B proveniente del sol (NCI, 2015).

El cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo, según lo estimado por la OMS en 2008 (7.6 millones de casos) localizados en su mayoría en pulmón, estómago, hígado, colon y mama. En México, en el 2013, se reportaron 75 229 defunciones debidas a tumores malignos, siendo ésta la tercera causa de muerte en el país (INEGI, 2013).

2.3 Antineoplásicos.

Los antineoplásicos son fármacos con la capacidad de matar o detener el crecimiento de las células vivas. También llamados citotóxicos o anticancerosos. Estos fármacos son utilizados en las quimioterapias. Su acción es atacar los sitios metabólicos esenciales de la multiplicación celular causando una lesión citotóxica en el crecimiento del tumor (Escutia, 2012).

Existen diversos antineoplásicos que contienen metales de transición coordinados a diferentes ligantes. La acción terapéutica de estos complejos se basa en que son capaces de inducir la apoptosis (muerte celular) de células cancerígenas y suelen ser selectivos con éstas. La inducción a la apoptosis como tratamiento contra el cáncer se ha investigado a fondo debido a que las células cancerígenas son más propensas a ser inducidas a la apoptosis. (Zuo, y otros, 2013).

Los principales antineoplásicos que contienen metales son:

1. Complejos de platino.

El primer complejo de coordinación utilizado en quimioterapia es el *cis*-diclorodiaminoplatino (II) (Figura 2.2), conocido como *cis*-platino. Se ha utilizado desde 1978 y se administra en solución por vía intravenosa una vez cada 3 o 4 semanas. El

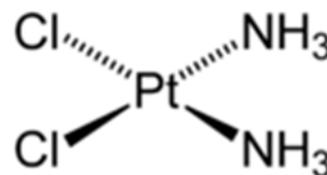


Figura 2.2. *cis*-platino.

*cis*platino actúa deteniendo la acelerada multiplicación de las células cancerosas ya que al activarse intracelularmente forma enlaces con componentes del ADN alterando la configuración tridimensional de la molécula produciendo errores en la transcripción y en la replicación.

El *cis*platino se utiliza para: sarcoma, cáncer de pulmón, tumores de testículos, ovarios, linfoma, etc. Este compuesto es nefrotóxico además de provocar vómito y náuseas (Benedí, 2006).



Carboplatino (*cis*-diamino(ciclobutano-1,1-dicarboxilato-O,O')platino (II)) (Figura 2.3). Este complejo de platino se administra por vía intravenosa y se usa contra el cáncer de ovario y de pulmón, principalmente. El carboplatino se administra durante 15 minutos cada 4 semanas durante la quimioterapia. Es 10 veces más soluble que el cisplatino por lo que es más fácil de eliminar por el riñón (Benedí, 2006).

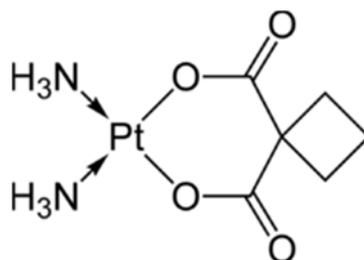


Figura 2.3. Carboplatino.

El oxaliplatino (Figura 2.4) es un antineoplásico que se usa para el cáncer de colon y de recto, así como para cáncer de mama y ovario. El oxaliplatino produce enlaces alquílicos con el ADN que inhiben la síntesis y la replicación posterior de este. El oxaliplatino se administra en forma de solución por vía intravenosa cada 14 días y la dosis depende de la estatura, peso y estado de salud del paciente. Suele administrarse después de que se haya extirpado un tumor al paciente (Benedí, 2006).

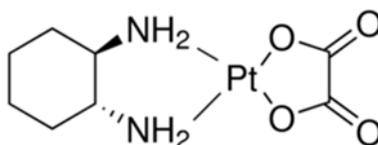


Figura 2.4. Oxaliplatino.

2. **Sales de Galio (III).** El galio (III) forma enlaces coordinados con los grupos fosfatos de la cadena de ADN inhibiendo así la replicación de éste. El nitrato de galio (III) se administra por vía intravenosa para disminuir la hipercalcemia asociada al cáncer. (Mendoza, 2015).
3. **Complejos de Hierro.** A pacientes con cáncer se les administra bleomicina, el cual es un agente quelante. La bleomicina se une con hierro o cobre; este complejo degrada el ADN. La desferrioxamina tiene una gran afinidad por el hierro: al enlazarse con éste lo vuelve inactivo metabólicamente. La inactivación de hierro ha sido favorable para el tratamiento de neuroblastoma y leucemia (Mendoza, 2015).
4. **Metallocenos.** Los metallocenos son compuestos organometálicos. Estos complejos están conformados por dos ciclopentadienilos como ligantes (donadores de electrones de enlace π) enlazados a un centro metálico (Figura 2.5). El primer metalloceno estudiado fue el de hierro, el ferroceno. Los titanocenos y vanadocenos forman complejos que inhiben la síntesis de ADN y ARN. Estos compuestos organometálicos presentan actividad antineoplásica debido a que forman complejos metalloceno-ácido nucleico. El dicloruro de titanoceno (Figura 2.6) es un agente anticanceroso además de ser antiinflamatorio, antiviral y ha sido estudiado para sarcoma, leucemia y carcinoma (Mendoza, 2015).

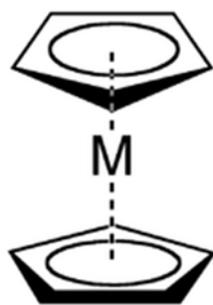


Figura 2.5. Estructura de los metallocenos.

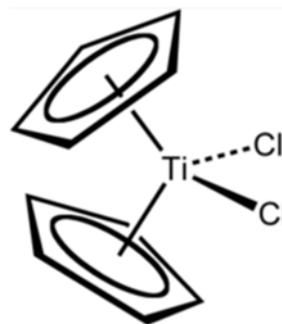


Figura 2.6. Dicloruro de titanoceno



2.3.1. Antineoplásicos con Cu (II).

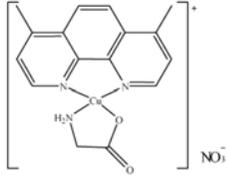
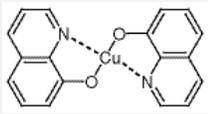
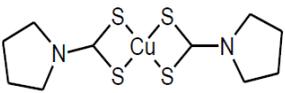
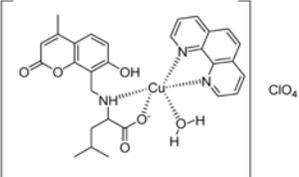
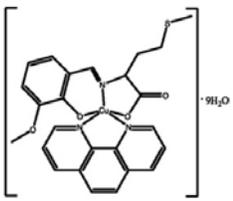
El cobre es un mineral esencial para organismos aeróbicos porque se utiliza como cofactor en diversas rutas metabólicas: respiración mitocondrial, biosíntesis de melanina, metabolismo de dopamina, homeostasis de hierro, defensa antioxidante, angiogénesis, formación de matriz extracelular y amidación peptídica (Omar Ramón Mejía, 2006).

La cantidad de cobre en neoplasias es mayor que en células normales, ya que es necesario para la angiogénesis de éstas, lo cual se ha identificado en diferentes tipos de cáncer (mama, próstata, colon pulmón y cerebro). El cáncer podría ser tratado administrando agentes quelantes de cobre (II), los cuales forman complejos capaces de inducir la muerte las de las células cancerígenas (Daniel, y otros, 2005).

Los compuestos de cobre han mostrado un espectro más amplio de actividad antineoplásica frente a los complejos de platino, así como una menor toxicidad. La baja toxicidad de los complejos de cobre (II) se debe a que las células cancerígenas son más sensibles a estímulos que inducen la apoptosis que las células normales (Daniel, Gupta, Hope Harbach, Guida, & Ping Dou, 2004). Se han estudiado los complejos de cobre bajo la suposición de que los metales endógenos son menos tóxicos para células normales con respecto a las células cancerígenas. (Alina Soroceanu, 2016).

Actualmente, ningún compuesto de cobre se utiliza en quimioterapia, pero se encuentran bajo investigación (Escutia, 2012). Algunos compuestos de cobre (II) de los que se tiene reportado que presentan actividad antitumoral se presentan en la Tabla 2.2.

Tabla 2.2. Complejos de Cu (II) con propiedades antineoplásicas.

Estructura	Descripción	Referencia
<p>Casiopeínas</p>  <p>Casiopeína II gly</p>	<p>Las casiopeínas son complejos de cobre con diiminas y algún otro agente quelatante como acetilacetato o glicina. Inducen la apoptosis de células cancerígenas</p>	<p>(García-Mora, y otros, 2001)</p>
 <p>Bis-8-hidroxiquinolinacobre (II)</p>	<p>La actividad antineoplásica de este complejo fue estudiada en células de Leucemia y cáncer de próstata y se concluyó que actúa inhibiendo las proteasomas induciendo la apoptosis de células cancerosas.</p>	<p>(Daniel, Gupta, Hope Harbach, Guida, & Ping Dou, 2004)</p>
 <p>Bis(1-pirrolidincarboditioato-kS,kS')cobre (II)</p>	<p>Este complejo de cobre (II) inhibe las proteasomas induciendo la apoptosis. La apoptosis inducida por la inhibición de las proteasomas suele ser selectiva para células cancerígenas.</p>	<p>(Milacic, y otros, 2008)</p>
 <p>Perclorato de acuo(1,10-fenantrolina)(7-hidroxi-4-metil-8-cumarinil)valinacobre (II)</p>	<p>Su actividad citotóxica consiste en unirse al ADN de las células de cáncer, en especial en los de próstata, hígado y leucemia mielode. Es necesario modificar la estructura del ligante para disminuir su toxicidad.</p>	<p>(Lei, y otros, 2010)</p>
	<p>Los complejos de cobre (II) con bases de Schiff y o-fenantrolina son capaces de inhibir la proliferación de células de cáncer de mama debido a que estos compuestos son capaces de inducirles la muerte.</p>	<p>(Zuo, y otros, 2013)</p>



2.4 Compuestos LQM.

En el Laboratorio de Química Medicinal (LQM) ubicado en la Unidad de Posgrado de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campus I dirigido por el Dr. Enrique Ángeles Anguiano se encuentra el equipo de trabajo de investigación que se ha encargado de desarrollar nuevos compuestos con propiedades antihipertensivas.

El desarrollo de estas nuevas moléculas como antihipertensivos comienza por el diseño asistido por computadora basado en la estructura de la Changrolina (Figura 2.7), un producto natural proveniente de una planta china. Se sabe desde 1979 que la Changrolina posee propiedades antiarrítmicas. El equipo de investigación de Stout trabajó con una nueva serie de antiarrítmicos variando las diferentes regiones de la Changrolina para determinar cuál parte de esta es la responsable de la actividad biológica (Velázquez, y otros, 2008).

La estructura de la Changrolina (Figura 2.7) se puede dividir en 3 partes:

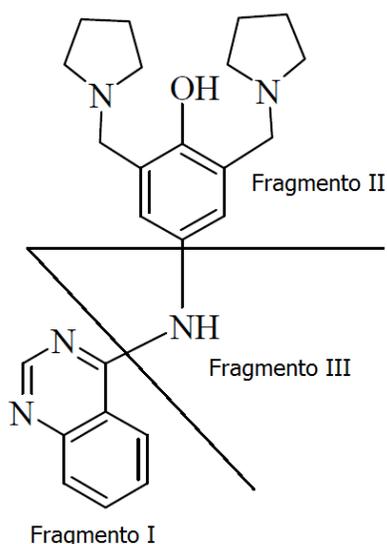


Figura 2.7. Estructura de la Changrolina dividida en sus diferentes regiones.

Fragmento I.- Segmento heterocíclico, que corresponde a la estructura de la quinazolina.

Fragmento II.- Es el fragmento aromático y es la responsable de la actividad biológica.

Fragmento III.- Es el centro de unión entre las dos anteriores.

El grupo de Stout encontró que (Stout, y otros, 1985):

- El fragmento heteroatómico puede ser reemplazado por una gran variedad de heterociclos sin perder actividad antiarrítmica.
- El fragmento aromático presenta una mejor actividad cuando éste se encuentra tetrasustituido y, que sin este fragmento, la actividad antiarrítmica es nula.
- La región III puede ser sustituida por grupos carbonilo y de esta manera aumenta la actividad antiarrítmica y disminuye la toxicidad.

En el Laboratorio de Química Medicinal, se diseñaron y se sintetizaron derivados morfolínicos, tiomorfilínicos y piperidínicos del fenol basados en el fragmento II de la estructura de la Changrolina: se cambiaron los anillos de pirrolidina por morfolina, tiomorfolina o piperidina. En la posición 4 del fenol se utilizaron diferentes sustituyentes (Cl^- , Br^- , NO_2^- , H_3CO^- , etc.). Este conjunto de compuestos son conocidos como la serie 300 o LQM300 (Figura 2.8). (Velázquez Sánchez, 2007).

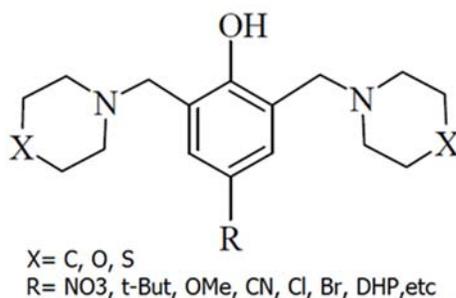


Figura 2.8. Estructura de la serie LQM300.



El LQM312 (2,6-bis(morfolin-4-ilmetil)-4-nitrofenol; Figura 2.9), es un derivado morfolínico del fenol en cuya estructura se presenta un grupo nitro en la posición 4 del anillo aromático. Es un sólido de color amarillo que presenta baja solubilidad en agua así como en solución de bicarbonato de sodio al 2 % pero soluble en ácido clorhídrico 0.01M (Briones Beltrán, 2009).

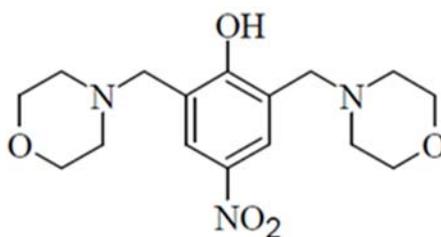


Figura 2.9. 2,6-bis(morfolin-4-ilmetil)-4-nitrofenol, LQM312.

Los compuestos LQM300 poseen propiedades ácido-base en medio acuoso debido a la variedad de grupos funcionales presentes en su estructura.

La importancia de determinar las constantes de disociación ácida de un fármaco radica en establecer el intervalo de pH en el cual la actividad farmacológica es máxima. Debido a que varios fármacos son ácidos o bases débiles, el efecto del fármaco depende del pH, ya que, la actividad o máxima actividad farmacológica se debe a alguna especie ácido-base.

Se han determinado los valores de las constantes de disociación ácida de, por lo menos, 21 compuestos de la serie LQM300. Las técnicas que se han utilizado son espectrofotometría UV-Vis y Electroforesis capilar de zona (ECZ) principalmente.

Las constantes de disociación ácida de los compuestos LQM300 se ha podido realizar mediante espectrofotometría UV-Vis gracias a la presencia del anillo fenólico, el cual, ocasiona que los compuestos presenten coeficientes de absorptividad molar elevados. En la Figura 2.10 se presentan las estructuras de algunos compuestos de la serie 300 así como los valores de sus pKa.

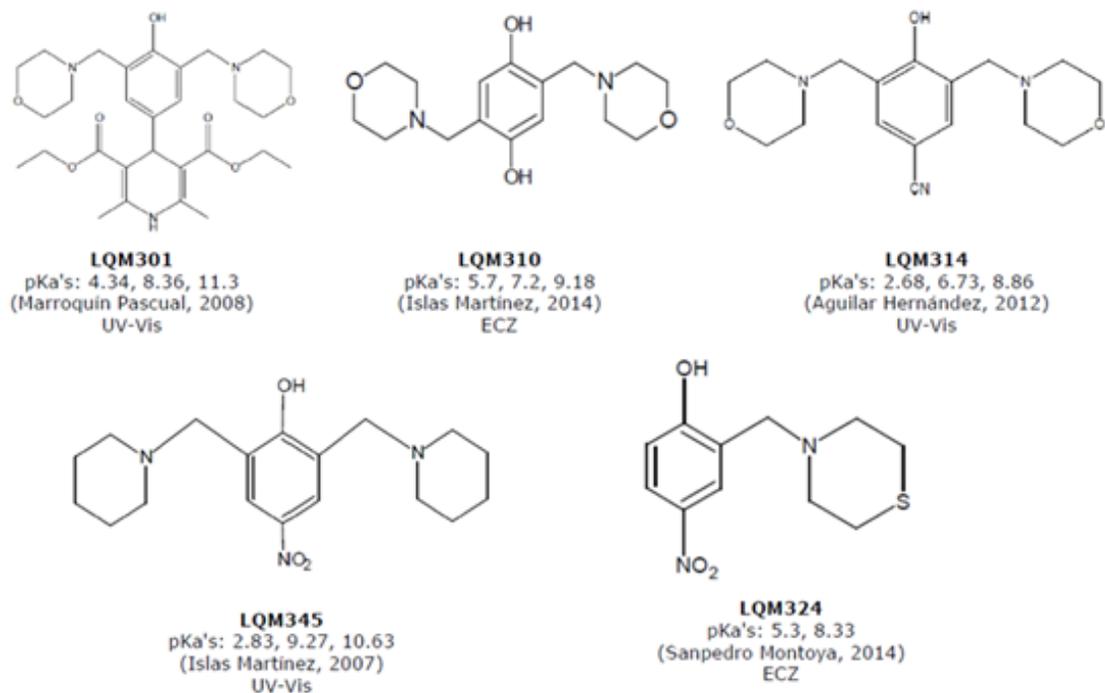


Figura 2.10. Estructuras y valores de pKa de algunos compuestos LQM300.

Los compuestos LQM300 pueden formar compuestos de coordinación con iones metálicos ya que contienen átomos con pares de electrones sin compartir. Cuando los compuestos LQM300 forman complejos con Cu (II) reciben la clave LQM400. Estos complejos presentan actividad antineoplásica. Los complejos de cobre tienen la capacidad de unirse y romper el ADN, interrumpiendo el ciclo celular hasta la muerte de estas (apoptosis) (Escutia, 2012).

Se tiene reportado que el complejo $(\mu_4\text{-oxo})\text{tetra-}\mu_4\text{-acetato}\{4\text{-hidroxi-3,5-bis(morfolin-4-ilmetil)fenil}\}$ tetracobre (II) (LQM402) (Figura 2.11) posee actividad antineoplásica ya que provoca la muerte de células malignas en el cáncer cervicouterino, ya que, es capaz de inducir la escisión de ADN, siendo selectivo con este tipo de células. Por otro lado, no presenta actividad genotóxica y baja citotoxicidad en células normales (Frías González, Angeles Anguiano, Mendoza Herrera, Escutia Calzada, & Ordaz Pichardo, 2013).

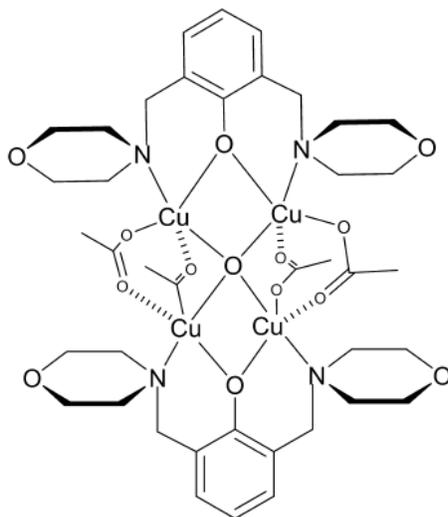


Figura 2.11. LQM 402

Parte del desarrollo de nuevos fármacos es la determinación de las propiedades fisicoquímicas de éstos. La determinación de las constantes de los equilibrios en los que participa algún fármaco sirve para identificar bajo qué condiciones predominan las especies químicas formadas y así determinar cual especie es la responsable de la acción farmacológica o cual la intensifica.



3. GENERALIDADES



3.1 Espectrofotometría

La espectrofotometría es un tipo de espectroscopia que se encarga del análisis de una muestra mediante la interacción de la materia con radiación UV, Visible y/o Infrarroja. El fundamento de la espectrofotometría se basa en medir la cantidad de radiación que producen o absorben las especies moleculares o atómicas de interés. (Skoog, 2005).

3.1.1 Espectro electromagnético.

La radiación electromagnética se emite mediante ondas que pueden propagarse en cualquier medio, inclusive en el vacío. Estas ondas están compuestas por un campo eléctrico y uno magnético. Los campos son perpendiculares entre sí; el campo eléctrico se encuentra en el plano xy y el campo magnético en el xz (Figura 3.1) (Harris, 2007).

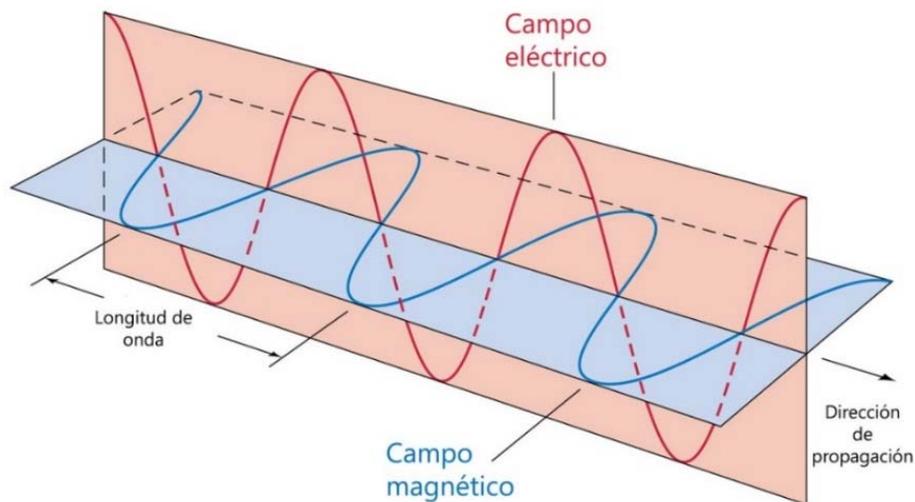


Figura 3.1. Radiación electromagnética.

La radiación electromagnética puede describirse tanto como onda o como partícula. Las propiedades ondulatorias de la luz son: longitud, frecuencia, amplitud y velocidad.

Se define a la longitud de onda como la distancia que hay entre cresta y cresta de una onda y se representa con la letra griega lambda (λ). La frecuencia es el número de oscilaciones en un lapso. Las unidades de la frecuencia es s^{-1} o Hertz (Hz) y se representa con la letra griega nu (ν). La relación entre la longitud de onda y la frecuencia es la velocidad de propagación. En el vacío, la velocidad de la luz, c , es $2.99792458 \times 10^8 \text{ ms}^{-1}$. La velocidad de propagación de la luz depende del medio por el cual se propaga, así como de la frecuencia. (Skoog, 2005).

$$c = \lambda\nu$$

En cualquier medio, distinto del vacío, la velocidad de la luz es menor que c ; por ejemplo, la velocidad de la luz en el aire es 0.03% menor que en el vacío. Por lo que este valor se puede redondear a $3 \times 10^8 \text{ m s}^{-1}$. La relación que existe entre la velocidad de la luz en el vacío y en otro medio se denomina índice de refracción, n , y es igual al cociente entre la velocidad de la luz en el vacío entre la velocidad de la luz en el medio distinto al vacío (ν).

$$n = \frac{c}{\nu}$$

Los fenómenos de reflexión, refracción, interferencia y difracción de la luz son bien comprendidos con la teoría ondulatoria de la radiación electromagnética. Sin embargo, este modelo no explica, por sí mismo, las interacciones con la materia en donde se involucran transiciones energéticas. Para comprender los fenómenos en donde se involucran cambios energéticos, se considera que la radiación es una partícula, la cual, se denomina fotón.

La energía de los fotones viene dada por la ecuación de Planck, en donde la energía es directamente proporcional a la frecuencia:

$$E = h\nu$$



Donde h es la constante de Planck cuyo valor es $6.6260755 \times 10^{-34} \text{J}\cdot\text{s}$.
Combinando las dos ecuaciones anteriores se tiene:

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

El símbolo $\tilde{\nu}$, se le conoce como número de onda y es el inverso de la longitud de onda. Entonces, la energía es indirectamente proporcional a la longitud de onda y directamente proporcional al número de onda.

El espectro electromagnético se puede dividir en distintas regiones de acuerdo a la energía de los fotones irradiados (Figura 3.2).

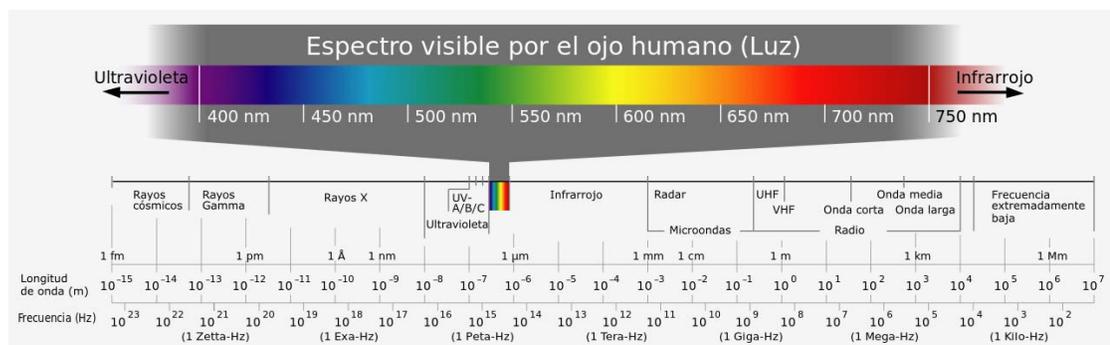


Figura 3.2. Espectro electromagnético.

3.1.2. Absorción de radiación electromagnética.

Las interacciones entre la materia y la radiación en donde se presentan transiciones energéticas son la absorción y la emisión. La absorbancia de energía radiante produce transiciones entre niveles energéticos, como son: excitación, deformaciones de enlace, excitación rotacional e inversiones de spin nuclear. A partir del estudio de la interacción de la radiación con una muestra nos proporciona información sobre su estructura molecular.

La energía total de una molécula viene definida como la suma de su energía electrónica, vibracional y rotacional:

$$E_T = E_e + E_v + E_r$$

La cantidad de energía que puede tener cada componente energético no puede ser continuo, sino que posee niveles o estados discretos, siendo la energía electrónica la de mayor magnitud (Owen, 2000).

Cuando un electrón absorbe energía electromagnética, éste pasa de un estado de baja energía a otro de mayor energía, es decir, se excita. Para que se dé la excitación del electrón es necesario que absorba radiación que tenga la energía necesaria para que éste cambie de estado. Las transiciones electrónicas son provocadas por la absorción de radiación UV-Vis. Los electrones de valencia son los que absorben radiación UV-Visible.

En una molécula orgánica, los electrones de valencia pueden ser descritos por orbitales moleculares (OM) σ , σ^* , π , π^* y n . Los OM se diferencian en energía y se pueden representar en un diagrama como se muestra en la Figura 3.3.

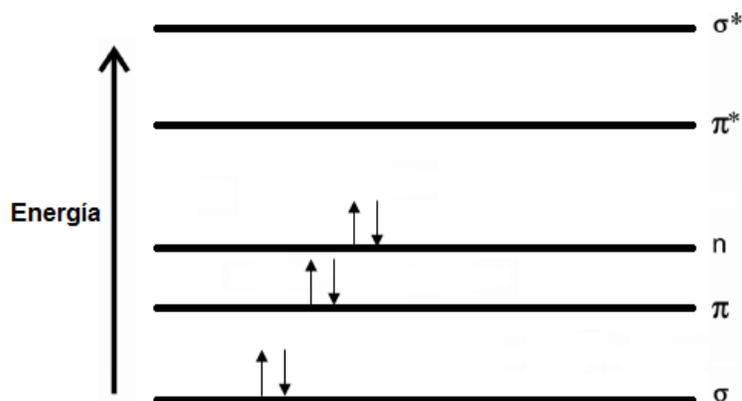


Figura 3.3. Diagrama energético de los orbitales moleculares presentes en una molécula orgánica.

Por lo tanto, son 6 las posibles transiciones que se pueden dar (Figura 3.4)

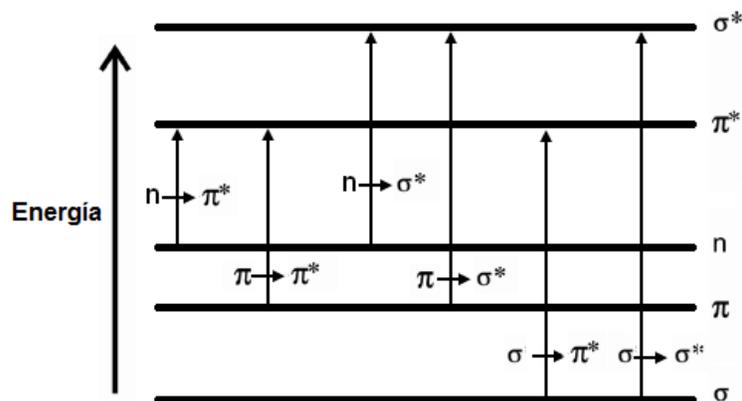


Figura 3.4. Transiciones electrónicas.

De acuerdo al diagrama de la Figura 3.4, las transiciones que se pueden presentar, ordenados de manera descendiente en energía son: $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $\sigma \rightarrow \pi^*$, $\pi \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $\pi \rightarrow \pi^*$ y $n \rightarrow \pi^*$.

Las tres primeras transiciones ($\sigma \rightarrow \sigma^*$, $\sigma \rightarrow \pi^*$ y $\pi \rightarrow \sigma^*$) requieren de radiación cuya longitud de onda sea menor a 200 nm, es decir, con más energía que la radiación UV. A la radiación con longitud de onda menor que 200 nm se le conoce como UV del vacío. Por lo que son poco relevantes en espectrofotometría UV-Vis.

Las tres últimas transiciones, requieren de menor energía la cual corresponde a la región UV-Vis. Por lo tanto, para analizar un compuesto orgánico por espectrofotometría UV-Visible es necesario que éste presente enlaces múltiples.

3.1.3 Ley de Lambert-Beer-Bouguer.

Cuando se hace incidir radiación UV-Visible a una muestra, la energía de la radiación es absorbida por los electrones de valencia, los cuales sufren una transición de un estado de menor energía (estado basal) a un estado de mayor energía (estado excitado). Las moléculas tienen estados excitados característicos de sí mismas.

La emisión sucede cuando el electrón libera energía, ya sea en forma de radiación electromagnética o calor, para pasar de un estado excitado a su estado de mínima energía.

Cuando a una solución, que contenga una especie absorbente, se le hace pasar un haz de luz, con potencia inicial P_0 , el haz final tendrá una potencia menor debido a que parte de la luz incidente es absorbida por las especies presentes en la solución (Figura 3.5).



Figura 3.5. Fenómeno de absorción de energía electromagnética.

La Transmitancia, T , es la medida de la atenuación de un haz luminoso cuando pasa a través de una solución y es la fracción, o porcentaje, de luz incidente que sale de la muestra

$$T = \frac{P}{P_0}$$

$$\%T = \frac{P}{P_0} \times 100$$

Experimentalmente, se mide la absorbancia debido a que es una propiedad fisicoquímica relacionada con la transmitancia. La absorbancia se define como el logaritmo negativo de base 10 de la transmitancia.

$$A = -\log_{10} T = \log_{10} \frac{P_0}{P}$$

La importancia de realizar la medición de la absorbancia de una solución es que la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de analito absorbente en la solución

$$A^\lambda = \varepsilon^\lambda bC$$



- b es la longitud del paso óptico medido en cm.
- C la concentración de la especie absorbente
- ϵ es el coeficiente de absorptividad.

A la ecuación anterior se le conoce como ley de Lambert-Beer-Bouguer o simplemente Ley de Beer. El coeficiente de absorptividad es específico para cada molécula y éste indica la intensidad con la cual una sustancia absorbe radiación a cierta longitud de onda. Cuando la concentración se expresa en molaridad, ϵ se denomina coeficiente de absorptividad molar.

Debido a que la absorbancia es adimensional, las unidades del coeficiente de absorptividad deben anular las unidades de la concentración y de la longitud de paso óptico; Las unidades del coeficiente de absorptividad molar son $L\text{ cm}^{-1}\text{ mol}^{-1}$. El valor ϵ es una constante de proporcionalidad entre la absorbancia y la concentración del analito y depende de la longitud de onda con la cual se haga incidir a la muestra. Cuanto mayor es ϵ , mayor será la absorbancia.

La Ley de Beer se cumple para soluciones diluidas, ya que, en soluciones concentradas, las moléculas de analito están muy próximas entre sí generando una mayor interacción entre éstas y así modificando la absorptividad de las especies absorbentes (Harris, 2007).

Cuando en una solución se tiene más de una especie química que absorbe luz a la misma longitud de onda, la absorbancia queda definida por la suma de las absorbancias de cada una de las especies. A esto se le conoce como ley de las aditividades

$$A_{\lambda} = \sum_i A_i^{\lambda} = \sum_i \epsilon_i^{\lambda} b C_i$$

Debido a que el coeficiente de absorptividad molar es específico para cierta longitud de onda, la absorbancia será dependiente, además de la concentración de las especies absorbentes y de la longitud del paso óptico, de la longitud de onda.

3.1.4 Espectrofotómetro.

Las mediciones de absorbancia se realizan en un aparato conocido como espectrofotómetro. El espectrofotómetro está conformado por:

1. Fuente de radiación.
 - a. Lámpara de deuterio o hidrógeno. Esta lámpara se utiliza para emitir radiación ultravioleta. La molécula de deuterio o hidrógeno pasa a un estado excitado debido a una corriente eléctrica para después disociarse en sus átomos junto con la liberación de un fotón, con longitudes de onda correspondientes al ultravioleta, que van de 160 a 360nm.
 - b. Lámpara de filamento de Tungsteno. El filamento de tungsteno se encuentra en un bulbo herméticamente sellado al vacío o con un gas inerte. El filamento se calienta con una corriente eléctrica hasta la incandescencia y la radiación que emiten pertenece a la región visible del espectro electromagnético y del infrarrojo (350 a 2500 nm).
 2. Monocromador. Se utiliza para elegir una longitud de onda en específico.
 3. Compartimiento para colocar la muestra. La muestra se contiene en un recipiente, que regularmente es una celda de cuarzo de 1 cm de paso óptico. En las paredes del contenedor se efectúan pérdidas en la intensidad de la radiación debidas a la reflexión y a la dispersión de la misma. Para contrarrestar estas pérdidas es necesario comparar la intensidad de la luz que se transmite por una celda que contiene la solución del analito con la intensidad de una celda idéntica que sólo contenga el disolvente o un blanco. (Skoog, 2005).
-



4. Detector. El detector recibe la energía transmitida por la muestra y la convierte en una señal eléctrica. La señal es procesada y amplificada para ser interpretada por el sistema de lectura.
5. Lectura. La señal percibida por el detector es amplificada para que la intensidad de la señal sea proporcional al porcentaje de transmitancia (o absorbancia).

En la actualidad, se utilizan espectrofotómetros de doble haz. El haz de luz pasa alternadamente, con ayuda de un espejo rotatorio, por la muestra para medir P y por una referencia (blanco) para medir P_0 . Este procedimiento posibilita la corrección de los cambios de intensidad de la fuente de radiación y del detector.

En la Figura 3.6 se esquematiza las partes de un espectrofotómetro. El espectrofotómetro de doble haz hace posible una corrección automática en los cambios de intensidad de la fuente y de la respuesta del detector, con el tiempo y la longitud de onda porque la potencia que emerge de las dos muestras se compara constantemente. Esto se aprovecha para obtener un barrido continuo de longitudes de onda y un registro continuo de absorbancias (Harris, 2007).

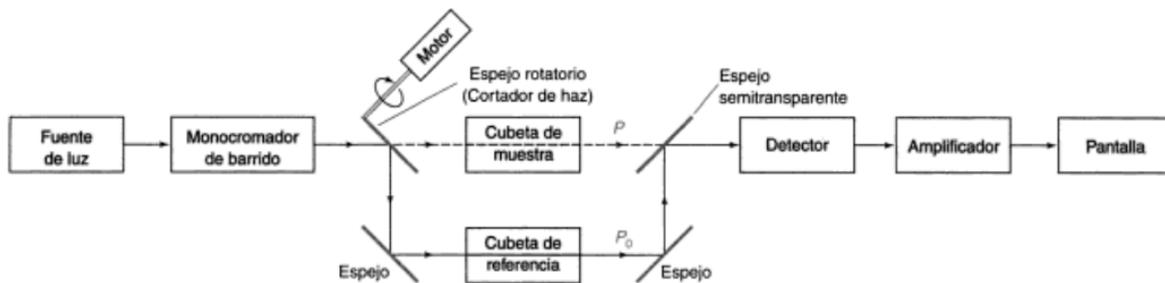
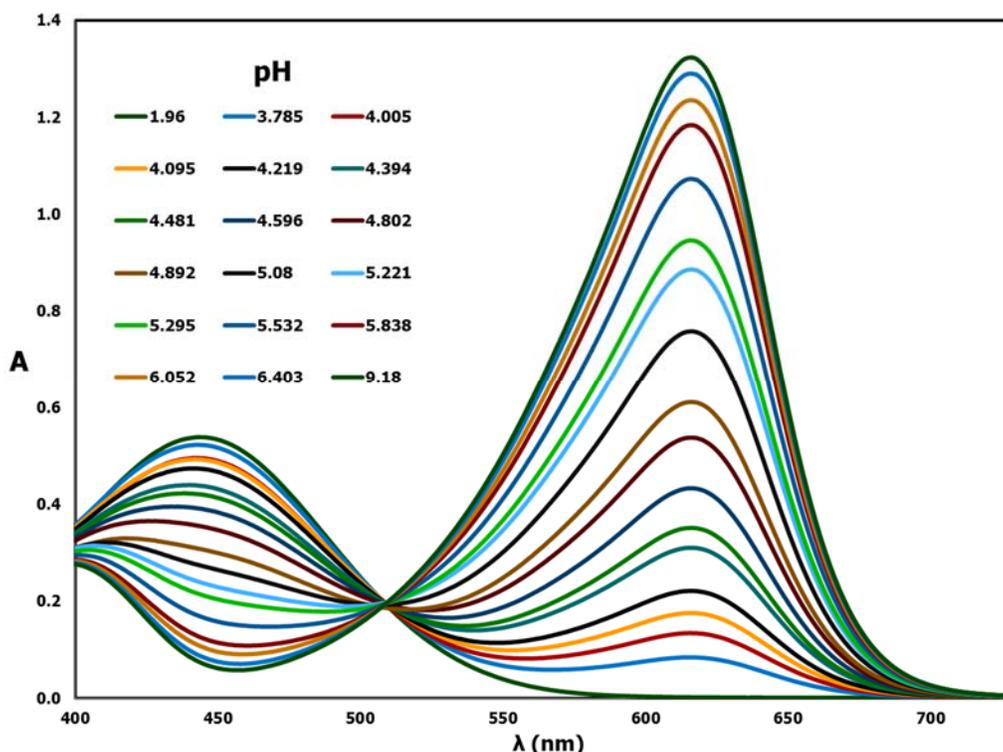


Figura 3.6. Partes de un espectrofotómetro de doble haz. (Harris, 2007).

A la representación gráfica de la absorbancia en función de la longitud de onda se le conoce como espectro de absorción (Gráfica 3.1).



Gráfica 3.1. Espectro de absorción del verde de bromocresol 3×10^{-5} M a diferentes valores de pH.

Las curvas que aparecen en un espectro de absorción UV-Vis se les conoce como bandas de absorción. Por lo regular, las bandas de absorción son anchas debido a que se superponen las transiciones rotacionales y vibracionales, que son de menor energía.

Las bandas pueden sufrir diferentes efectos ocasionados por el medio en el que se encuentre la especie absorbente o a sustituyentes dentro de su estructura:

- Efecto batocrómico, o desplazamiento al rojo, es cuando el máximo de absorbancia se desplaza a longitudes de onda mayores.
- Efecto hipsocrómico, o desplazamiento al azul. Se da cuando el máximo de absorbancia se desplaza a longitudes de onda menores.
- Efecto hiperocrómico. Se da cuando aumenta el máximo de absorbancia
- Efecto hipocrómico. Es el efecto que ocurre cuando el máximo de absorbancia disminuye.



En el espectro, se puede cuantificar la energía asociada a la transición electrónica, mediante la ecuación de Planck, y con la longitud de onda en la cual se presenta el máximo de absorbancia. De acuerdo con la energía de la transición, se puede identificar el tipo de transición.

La aplicación más importante de la espectrofotometría UV-Vis es la cuantificación. Para cuantificar un analito es necesario que éste, o un derivado, sea capaz de absorber radiación en la región UV-Vis del espectro electromagnético. La cuantificación se realiza por una valoración, determinando un espectro de absorción a cada adición valorante o construyendo una curva de calibración de absorbancia en función de la concentración.

3.2 Métodos computacionales para la determinación de constantes de equilibrio.

Una gran cantidad de reacciones químicas se llevan a cabo en medio acuoso y es por esto que es necesario determinar los valores de las constantes de equilibrio de dichos procesos.

Existen varios programas computacionales que son capaces de refinar los valores de constantes de formación global (β). Para esto, es necesario alimentar los programas con datos experimentales. Las técnicas que comúnmente se utilizan son espectrofotometría, potenciometría, calorimetría y desplazamiento químico obtenido por resonancia magnética nuclear (Mendoza, 2015).

Los programas usan un algoritmo de cuadrados no lineales y utilizan estimaciones iniciales de las constantes de formación para después formar un conjunto de ecuaciones simultáneas que al resolverlas se obtengan las correcciones que se deben realizar a la constante de formación. Los nuevos valores de constantes de formación se utilizan para el siguiente ciclo de refinamiento; el ciclo se repite

hasta que el proceso iterativo arroja el valor de las constantes que dan el mejor ajuste entre los valores calculados y los valores experimentales. Es importante alimentar un modelo químico adecuado al programa para que el refinamiento tenga un buen ajuste. El mejor ajuste se da cuando la suma de los cuadrados de los residuales (U) es mínima. (Legget, 1985)

$$U = \sum_{k=1}^{NPT} (Y_{obs}^k - Y_{calc}^k)^2$$

En el Diagrama 3.1 se presenta el algoritmo en forma de diagrama de flujo que llevan a cabo los diferentes programas para el refinamiento de las constantes de formación.

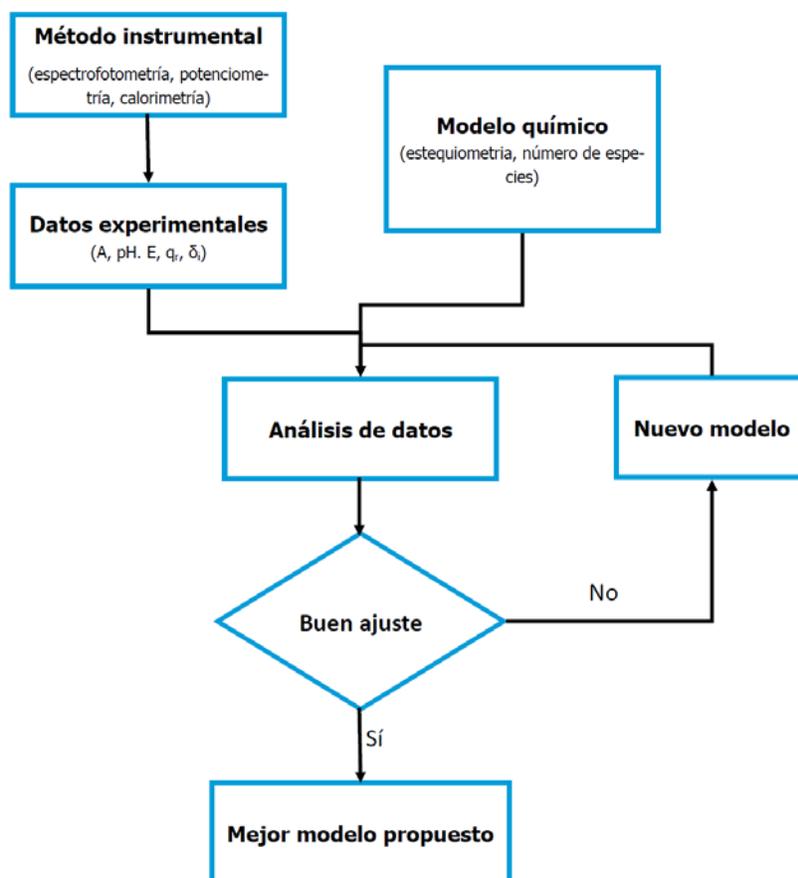


Diagrama 3.1. Algoritmo utilizado para refinar el valor de las constantes de formación.



3.2.1 SQUAD.

SQUAD (**S**tability **Q**uotients from **A**bsorbance **D**ata) es un programa diseñado por Legget en lenguaje FORTRAN. Fue creado para refinar los valores de las constantes de formación de un modelo químico propuesto a partir de datos experimentales de absorbancia obtenidos a diferentes longitudes de onda y a diferentes composiciones del sistema.

El modelo químico puede ser dependiente o independiente del pH y puede contener especies cuya fórmula molecular sea:



Donde: $j, l, k, q \geq 0$; $i > 0$ para H; $i < 0$ para OH. (Moya Hernández, 2003).

El refinamiento de las constantes se realiza mediante la minimización de la suma de los cuadrados de los residuales de la absorbancia mediante el algoritmo de Gauss-Newton.

$$U = \sum_{i=1}^I \sum_{k=1}^{NW} (A_{i,k}^E - A_{i,k}^T)^2$$

Donde:

I=todas las soluciones

NW=todas las longitudes de onda

$A_{i,k}^T$ =todas las absorbancias calculadas a la k -ésima longitud de onda de la i -ésima solución

$A_{i,k}^E$ =todas las absorbancias experimentales a la k -ésima longitud de onda de la i -ésima solución.

Para la resolución de la minimización requiere el cálculo de la absorbancia de la i-ésima solución a la k-ésima longitud de onda. SQUAD calcula las absorbancias considerando que todas las soluciones cumplen con la ley de Beer así como con la ley de las Aditividades. Para esto, el programa asigna valores de coeficientes de absorptividad molar para cada especie y determina la concentración de éstas empleando el algoritmo de Newton-Raphson.

La convergencia se da cuando la diferencia en la minimización entre un ciclo iterativo y otro es menor o igual a 0.001 unidades. Que se cumpla el criterio anterior no significa que es el mejor refinamiento de las constantes debido a que se puede caer en el caso de una convergencia en un mínimo local. (Gómez Zaleta, 2006).

SQUAD utiliza los siguientes parámetros estadísticos para verificar que el modelo químico propuesto se ajusta a las observaciones experimentales:

- a) Parámetro de correlación (matriz)
- b) La desviación estándar sobre los datos de absorbancia (σ_{datos}) y de las constantes (σ_{ctes}).
- c) La desviación estándar por espectro (σ_{espectro}).
- d) La desviación estándar sobre los coeficientes de absorptividad molar (σ_{coef}).

Para elegir cual modelo es el que mejor se ajusta al experimento no solo se basa en la obtención de los mejores parámetros estadísticos, también se debe verificar la consistencia de éste. Los coeficientes de absorptividad molar calculados deben ser congruentes con el comportamiento experimental para cada una de las especies y que las especies refinadas puedan predominar bajo las condiciones experimentales. (Moya Hernández, 2003).



3.2.2 TRIANG.

El programa TRIANG está desarrollado en lenguaje FORTRAN y su función es calcular el número de especies químicas que absorben radiación electromagnética a partir de datos de absorbancia a diferentes longitudes de onda y diferentes composiciones del sistema, tomando en cuenta el error en la transmitancia (ΔT).

La forma en que el programa establece si una especie química absorbe es mediante el siguiente algoritmo (suponiendo que las diferentes soluciones siguen la ley de Beer y la ley de las aditividades):

TRIANG calcula la matriz de error considerando el error en la transmitancia (E_{jj}), la ecuación de error en absorbancia y la teoría de propagación de error. Después, realiza la diagonalización a cero de dicha matriz comparando los valores de la diagonal con los de la matriz de absorbancia (P_{jj}): si el elemento diagonal de la matriz error E'_{jj} multiplicado por tres es menor que el elemento de la diagonal de la matriz P'_{jj} se dice que el elemento de la matriz de absorbancias es diferente de cero. En caso contrario se dice que es igual a cero. El número de especies que absorben en el sistema es la suma de los elementos diferentes de cero de la matriz de absorbancias. (Moya Hernández, 2003).

Para datos de espectrofotometría, el error de transmitancia debe estar en el intervalo de $0.003 \leq \Delta T \leq 0.010$ (Gómez Zaleta, 2006). En el Diagrama 3.2 se muestra el algoritmo que sigue este programa.

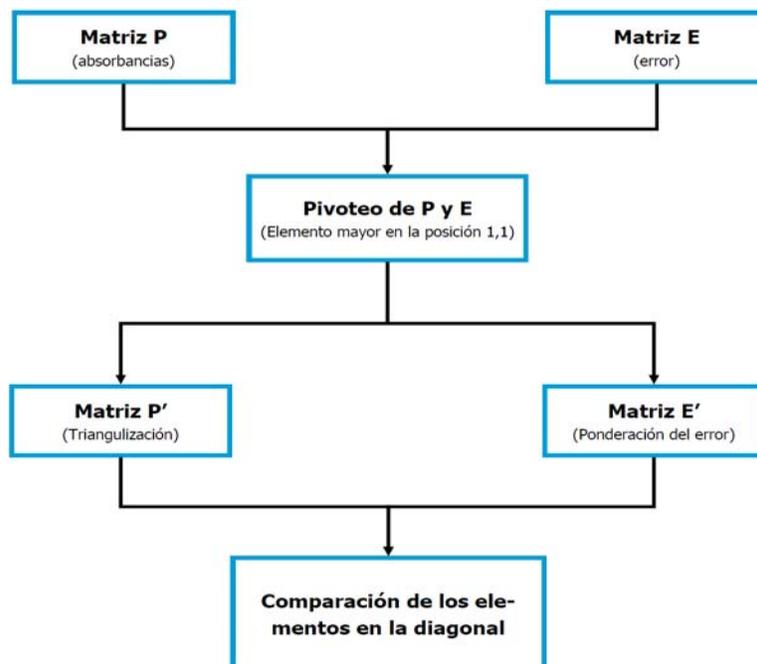


Diagrama 3.2. Algoritmo que sigue el programa TRIANG para determinar el número de especies que absorben en un sistema.

3.2.3 MEDUSA.

MEDUSA (**M**ake **E**quilibrium **D**iagram **U**sing **S**ophisticated **A**lgorithms) es una interfaz de Windows que se utiliza para calcular y graficar diagramas de composición de sistemas químicos como son diagramas de fracción molar, diagramas logarítmicos, diagramas de zonas de predominio, etc. (KTH, 2013). Los programas que componen a MEDUSA son (Moya Hernández, 2003):

- INPUT, SED, PREDOM o PREDOM2. Son paquetes de software MS-DOS para crear los diagramas.
- HYDRA (Hydrochemical Equilibrium Data Base) es la base de datos que crea los archivos de entrada para INPUT, SED y/o PREDOM. HYDRA contiene las constantes de formación a 25 °C obtenidos de la base de datos desarrollada por *el Department of Inorganic Chemistry, Royal Institute of Technology (KTH) en Estocolmo, Suiza.*



INPUT es el programa que crea el archivo de entrada para generar el diagrama. Sin embargo, el archivo de entrada se puede modificar directamente por el usuario. El archivo de entrada debe contener:

- Número de componentes del sistema.
- Número de complejos formados.
- Especies sólidas (de complejos y componentes).
- Valores de las constantes de formación.
- Estequiometría de los complejos.
- Concentraciones.
- Fuerza iónica.
- Temperatura.

SED utiliza la versión modificada del algoritmo SOLGASWATER, el cual está basado en la minimización de la energía libre. Puede generar diagramas de fracción, logarítmicos y de solubilidad. Estos diagramas se grafican en función de una variable principal (pH, E, concentración total o logaritmo de la concentración).

PREDOM Y PREDOM2 construyen los diagramas de zonas de predominio, en función del logaritmo de la concentración total o de la actividad ($\log C_T$ o $\log a$). PREDOM utiliza el algoritmo de HALTAFALL para determinar la distribución de las especies resolviendo el sistema de ecuaciones no lineales de balance de materia punto por punto. PREDOM2 utiliza el algoritmo de SOLGASWATER completo y es adecuado para sistemas químicos más complejos debido a que es más poderoso que PREDOM. El tiempo de ejecución también es mayor. (Gómez Zaleta, 2006).

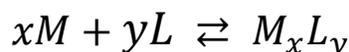
3.3 Estequiometría

Para la determinación y refinamiento de las constantes de formación de complejos es necesario proponer un modelo químico que explique la formación de cada especie. Dentro del equilibrio de formación se debe indicar la relación estequiométrica entre el metal y el ligante.

Para determinar la estequiometría de una reacción de formación de un complejo mediante espectrofotometría se pueden emplear diferentes métodos. Los más utilizados son: método de las variaciones continuas (Método de Job) y método de relaciones molares.

3.3.1 Método de las variaciones continuas.

El método de las variaciones continuas, también conocido como el método de Job, nos permite determinar la estequiometría del complejo predominante. Teniendo en cuenta el siguiente equilibrio:



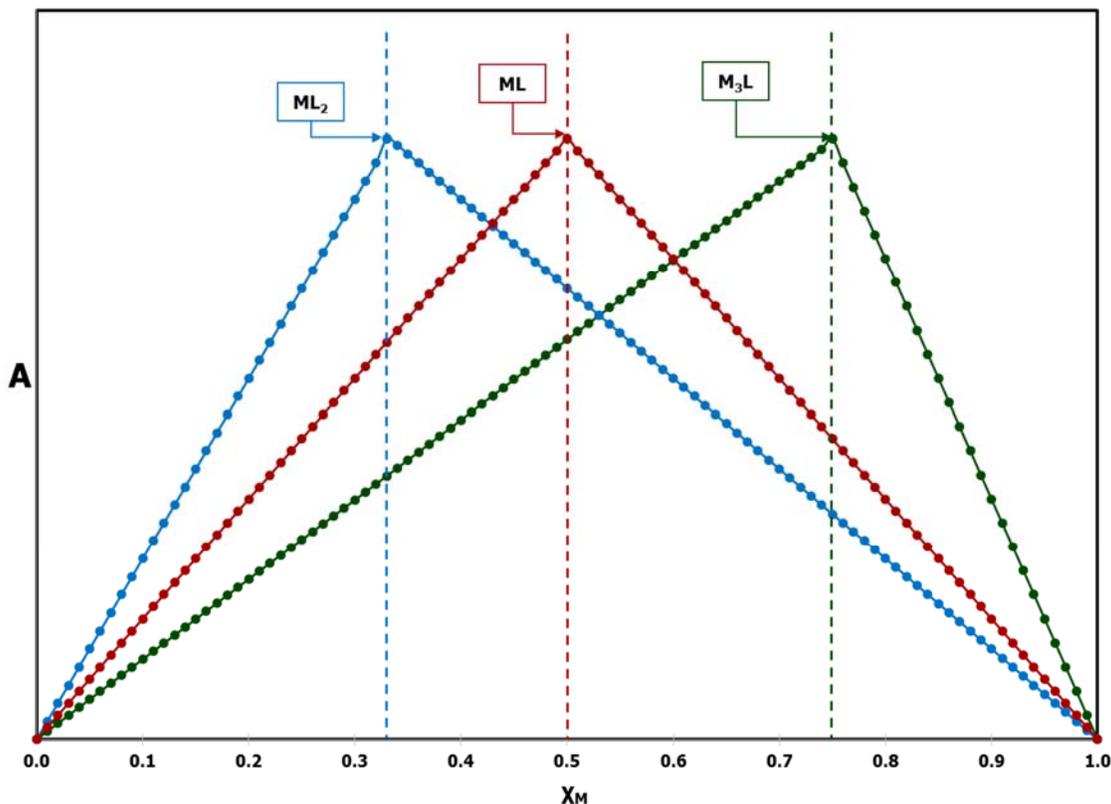
El procedimiento consiste en preparar una serie de soluciones a partir de mezclar alícuotas de disoluciones equimolares de M y L de tal manera que la concentración total sea constante en todos los sistemas:

$$C_T = [M]_i + [L]_i$$

De esta manera se irán modificando las fracciones molares de M y de L, de 0 a 1 y de 1 a 0 respectivamente.

$$\chi_{M_i} = \frac{[M]_i}{[M]_i + [L]_i}$$

A cada una de las soluciones se le determina la absorbancia a una longitud de onda adecuada a la cual sólo el complejo absorba y se realiza un gráfico de la absorbancia en función de la fracción mol de alguno de los componentes del sistema (Gráfica 3.2). Comúnmente se utiliza la fracción mol de M. En este gráfico se alcanza la absorbancia máxima a la composición correspondiente a la estequiometría del complejo predominante.



Gráfica 3.2. Método de Job para diferentes estequiometrías.

La absorbancia máxima depende de la fracción mol de M porque cuando la fracción mol de M tiende a cero existe una deficiencia de M y cuando la fracción mol de M tiende 1, L es el reactivo limitante. Cuando la absorbancia es máxima las cantidades de M y L se encuentran en condiciones estequiométricas por lo tanto se forma la mayor cantidad del complejo.

El máximo de absorbancia se presenta a la fracción molar de M que corresponde a la estequiometría del complejo M_xL_y (Harris, 2007).

$$\chi_M = \frac{x}{y + x}$$

En la Tabla 3.1 se presentan diferentes fracciones mol de M para diferentes relaciones estequiométricas.

Tabla 3.1. Fracción mol de M para diferentes estequiometrías.

Complejo [M _x L _y]	X	Y	χ_M (condiciones estequiométricas)
M ₃ L	3	1	$\chi_M = \frac{3}{3+1} = 0.75$
M ₂ L	2	1	$\chi_M = \frac{2}{2+1} = 0.667$
ML	1	1	$\chi_M = \frac{1}{1+1} = 0.50$
ML ₂	1	2	$\chi_M = \frac{1}{1+2} = 0.33$
ML ₃	1	3	$\chi_M = \frac{1}{1+3} = 0.25$

Se realiza este procedimiento teniendo en cuenta que:

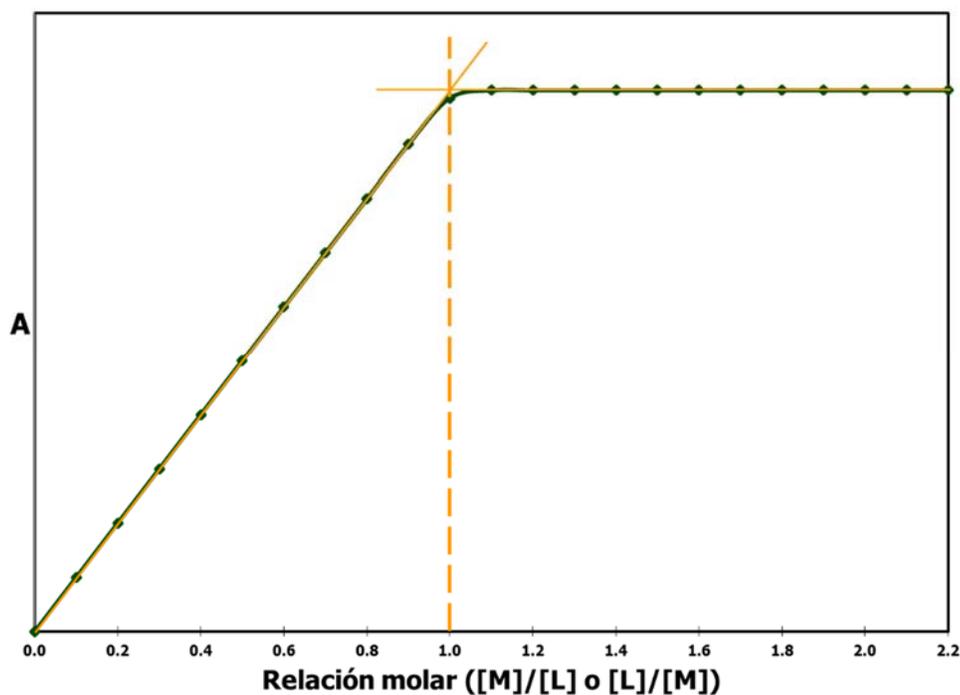
- Un solo complejo es el que predomina.
- La propiedad medida tiene una relación directamente proporcional con la concentración del complejo formado.
- La reacción de formación del complejo es cuantitativa. Si la reacción de formación del complejo es poco cuantitativa, la forma de la gráfica no es aguda como se muestra en la Gráfica 3.2, sino que es achatada. Para determinar la fracción mol de M en las condiciones estequiométricas, se extrapola las curvas cuando $\chi_M \rightarrow 0$ por un lado y por el otro cuando $\chi_M \rightarrow 1$ y en la intersección de estas dos rectas se determina la fracción mol de M en las condiciones estequiométricas.



- Tener en cuenta los valores de pH y fuerza iónica, ya que estos dos parámetros juegan un papel importante en la estabilidad del complejo formado. Lo más recomendable es mantenerlos constantes. (Mendoza, 2015).

3.3.2 Método de Relaciones molares.

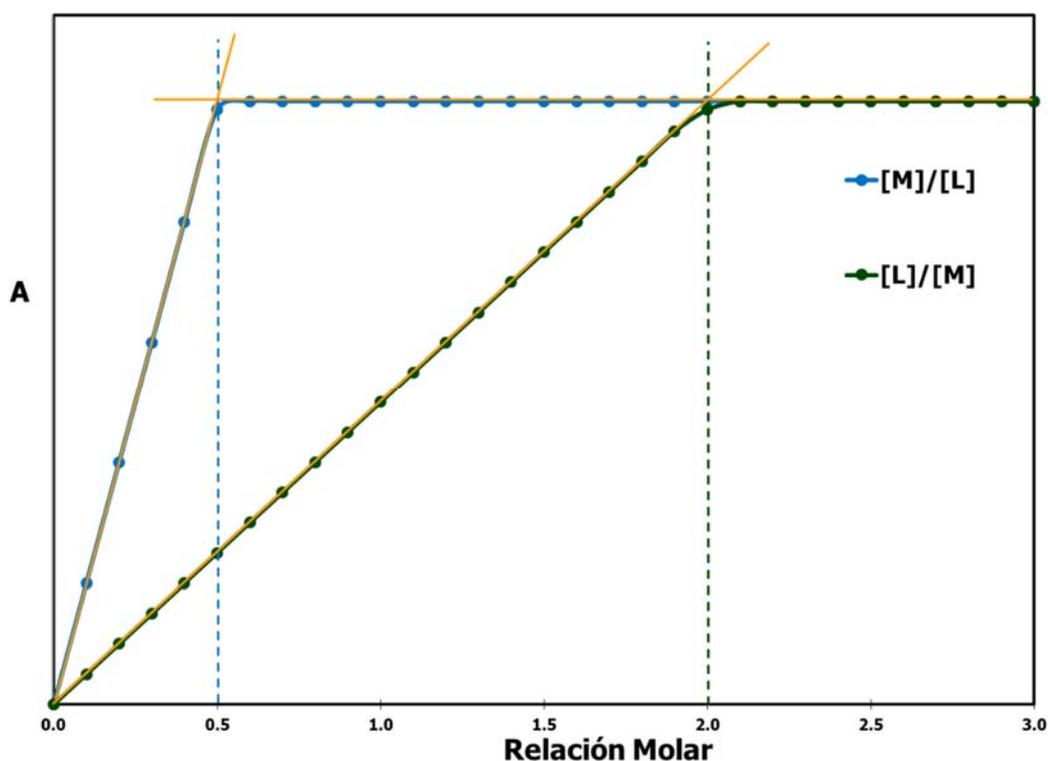
Este método consiste en mantener constante la concentración de un reactivo, en una serie de disoluciones mientras que la concentración del otro es variable. Se mide alguna propiedad que sea directamente proporcional a la concentración (absorbancia) y se grafica la propiedad en función de la relación molar entre M y L en cada sistema (Gráfica 3.3). En donde se observa un cambio en la pendiente de la propiedad medida corresponde a la relación molar a la cual se encuentran en condición estequiométrica ambos reactivos.



Gráfica 3.3. Método de relaciones molares para un complejo 1:1.

Cuando el cambio de pendiente no es muy pronunciado, se puede determinar la relación molar en condiciones estequiométricas extrapolando ambos extremos de la curva y en donde se intersecten es donde se encuentra la relación molar estequiométrica.

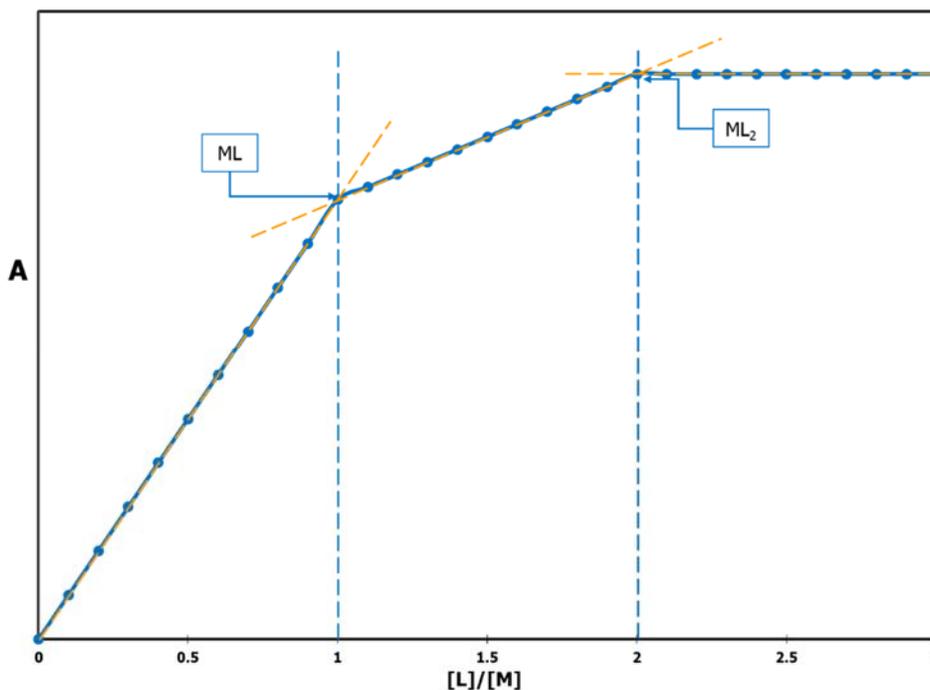
Para complejos con estequiometría 1:1 se obtiene el mismo gráfico si se grafica la absorbancia en función de $[M]/[L]$ o $[L]/[M]$. Para complejos con estequiometría diferente de 1:1 se obtienen diferentes gráficos si la variable independiente es $[M]/[L]$ o $[L]/[M]$. En la Gráfica 3.4 se muestran los diferentes gráficos que se obtienen para un complejo de estequiometria 1:2 (ML_2) en donde solamente el complejo formado absorbe radiación mientras que M y L no.



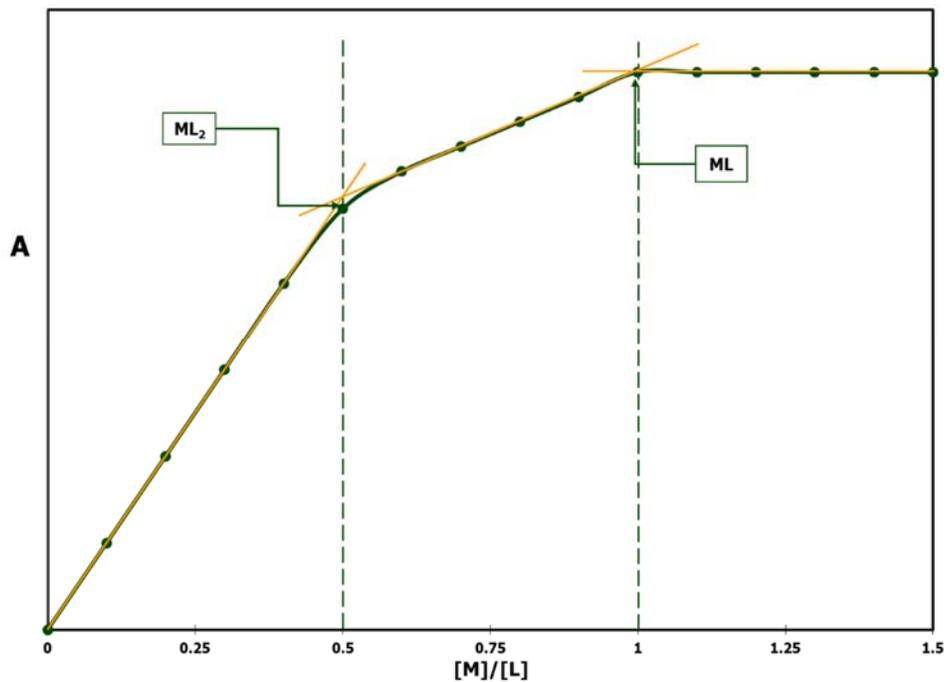
Gráfica 3.4. Método de relaciones molares para un complejo 1:2.



El método de relaciones molares se puede utilizar para determinar la formación de más de un complejo, así como la estequiometría con la que se forma cada uno siempre y cuando los coeficientes de absortividad molar de los complejos sean diferentes y que los valores de las constantes de formación sean lo suficientemente distintas y que estos sean estables bajo las condiciones experimentales (Gráfica 3.5 y Gráfica 3.6). De igual manera, se determina la estequiometría al localizar la relación molar en los cambios de pendiente. (Mendoza, 2015).



Gráfica 3.5. Relaciones molares para las formaciones sucesivas de los complejos ML y ML_2 , finado la concentración de M. Solamente los complejos absorben.



Gráfica 3.6. Relaciones molares para la formación de los complejos sucesivos ML y ML₂, fijando la concentración de L. Solamente los complejos absorben.



4. HIPÓTESIS



En la estructura del compuesto LQM312 se encuentran tres grupos funcionales que son capaces de intercambiar protones en un medio acuoso: el OH del anillo aromático y los dos nitrógenos de los anillos de morfolina.

Por lo tanto, el LQM312 disuelto en agua tendrá un comportamiento ácido-base de Brønsted-Lowry y que existan, al menos, de uno a tres equilibrios ácido-base. Los valores de sus pKa podrán ser determinados mediante un método computacional utilizando datos de absorbancia UV-Vis, ya que, la molécula es capaz de absorber radiación en dicha región del espectro. En la Figura 4.1 se señalan con color los grupos funcionales ionizables del LQM312 en medio acuoso.

Además, el compuesto LQM312 podrá formar enlaces covalentes coordinados con el ion Cu^{2+} porque en su estructura se presentan átomos con pares de electrones sin compartir cuando se encuentran desprotonados. La formación del o los complejos de Cu (II) con LQM312 como ligante se determinará mediante espectrofotometría UV-Vis utilizando los métodos de Job y de relaciones molares.

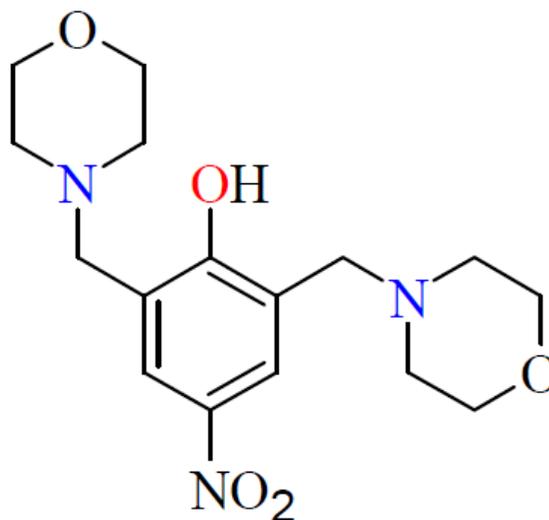


Figura 4.1. 2,6-bis(morfolin-4-ilmetil)-4-nitrofenol, LQM312.



5. OBJETIVOS

5.1 Objetivos generales.

- Determinar los valores de las constantes de disociación ácida (pK_a 's) del compuesto LQM312 mediante espectrofotometría para identificar las zonas de predominio de cada especie ácido base de éste.
- Determinar el número de complejos que se forman entre el LQM312 y el ion Cu^{2+} mediante los métodos de variaciones continuas (Método de Job) y relaciones molares para refinar el valor de las constantes de formación (β_n).

5.2 Objetivos particulares.

- Realizar un estudio cinético del LQM312 en medio ácido y básico seguido espectrofotométricamente para establecer la estabilidad del dicho compuesto.
- Llevar a cabo una titulación ácido base del compuesto LQM312 seguida espectrofotométricamente para identificar las bandas de absorción de cada especie ácido-base, así como los puntos isobécticos que puedan presentar los espectros.
- Verificar el número de especies que absorben radiación en el intervalo de longitudes de onda seleccionado mediante el programa TRIANG para determinar los pK_a que posee el compuesto LQM312.
- Simular los espectros de absorción teóricos del LQM312 en diferentes valores de pH calculando la absorbancia con los valores refinados de pK_a y los coeficientes de absorción calculados por SQUAD para corroborar que el modelo químico propuesto explica el comportamiento ácido-base del LQM312.



-
- Emplear el método de variaciones continuas (método de Job) y el método de relaciones molares mediante espectrofotometría UV-Vis para determinar la estequiometría de los complejos que pueden formar el LQM312 con Cu^{2+}
 - Determinar el número de especies de Cu^{2+} que absorben radiación con el programa TRIANG utilizando los datos de absorbancia obtenidos en los métodos de Job y de relaciones molares para proponer un modelo químico que será alimentado al programa SQUAD.
 - Refinar los valores de las constantes de formación de los complejos de Cu (II) con LQM312 y calcular los coeficientes de absorción molar de éstos con el programa SQUAD para simular los espectros teóricos para corroborar que el modelo químico elegido es el que explica la formación de los complejos.



6. METODOLOGÍA

6.1 Materiales, equipos y reactivos.

6.1.1. Materiales

- ✓ Matraces volumétricos de 5, 10, 25, 50 y 100 mL
- ✓ Pipetas volumétricas de 3, 5, 10, 20 y 25 mL
- ✓ Micropipeta de 100 a 1000 μ L
- ✓ Micropipeta de 5 mL
- ✓ Vasos de precipitado de 10, 50 y 100 mL
- ✓ Celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico
- ✓ Embudo de vidrio
- ✓ Soporte Universal

6.1.2. Equipos

- ✓ Balanza analítica Metler Toledo AB204
- ✓ Agitador magnético Cole-Parmer
- ✓ Espectrofotómetro Perkin Elmer UV/VIS Lambda 35
- ✓ pH-metro Metler Toledo de pH Metler Toledo INLAB 413
- ✓ Baño termostataado Polyscience 9105
- ✓ Estufa de calentamiento Riossa H-33-D

6.1.3. Reactivos

- ✓ Perclorato de sodio monohidratado 98% Aldrich.
- ✓ Hidróxido de sodio 98.1% Fermont.
- ✓ Ácido perclórico 60-62% J. T. Baker
- ✓ Soluciones buffer de pH 4, 7 y 10 Radiometer Analytical.
- ✓ Nitrato de cobre (II) 99.999% Aldrich Chem.
- ✓ Nitrógeno alta pureza, 99.997% INFRA.
- ✓ 2,6-bis(morfolin-4-ilmetil)-4-nitrofenol (LQM312).



6.2 Metodología

6.2.1 Estabilidad del LQM312 en solución acuosa y determinación de sus constantes de disociación ácida

Se preparó una solución madre de LQM312 con una concentración de 2.6×10^{-3} M de la siguiente manera:

- Se pesaron 21.9 mg de LQM312 en una balanza analítica.
- Los 21.9 mg de LQM 312 se disolvieron con ácido perclórico 0.1 M.
- La mezcla resultante se vertió en un matraz volumétrico de 25 mL y se aforó con agua desionizada.

6.2.1.1. Estudio de la estabilidad del LQM312 en medio acuoso.

De la solución madre, se tomaron dos alícuotas de 230 μ L y cada una se colocó en un matraz volumétrico de 10 mL; una se aforó con solución de ácido perclórico 0.1 M y la segunda con hidróxido de sodio 0.1 M. Se etiquetaron como solución ácida (A1) y solución básica (B1). La solución de LQM312 en medio ácido es incolora y en medio básico es de un color amarillo muy intenso (Figura 6.1). $C_{LQM312} = 6 \times 10^{-5}$ M.

Se determinó el espectro de absorción a cada solución a partir de que fueron preparadas y cada 30 minutos durante 5 horas. Transcurridas las 5 horas, los espectros se tomaron cada 24 horas hasta completar una semana. En los espectros se determinaron en un intervalo de longitudes de onda de 200 a 900 nm.

6.2.1.2. Determinación de los pK_a 's del LQM312

- De la solución madre, se midieron dos alícuotas de 2.3 mL con una micropipeta de 5 mL y fueron depositadas en dos matraces volumétricos de 100 mL cada una conteniendo 2.15 g de $NaClO_4$ disueltos con la mínima

cantidad de agua desionizada. Una fue aforada con solución de HClO₄ 0.1 M (Sol. A2) y la segunda con NaOH 0.1 M (Sol. B2). En ambas soluciones, la concentración de LQM312 fue de 6×10^{-5} M.

- En una celda con un baño termostatado a 37 °C, se agregó una alícuota de 20 mL de solución A2.
- Se burbujeó nitrógeno al sistema mientras la temperatura de éste se equilibró a la del baño termostatado.
- Se midió el pH del sistema con un pHmetro previamente calibrado con soluciones buffer de pH 4, 7 y 10.
- Conociendo el pH del sistema, se tomó una muestra para obtener el espectro de absorción. La muestra no se devolvió a la celda.
- Se agregó la cantidad suficiente de solución B2 a la celda para que el pH del sistema aumentará.
- A cada incremento de pH del sistema se tomaba una muestra del mismo y se obtenía el espectro de absorción.
- Esto se repitió hasta que el pH del sistema fuera cercano a 13.
- Los datos de absorbancia se utilizaron para ejecutar los programas TRIANG y SQUAD. Este procedimiento se realizó tres veces.



Figura 6.1. Soluciones de LQM312 6×10^{-5} M en medio ácido (izquierda) y en medio básico (derecha).



6.2.2. Formación de complejos Cu (II)- LQM312.

Para la determinación de las constantes de formación global de los complejos Cu (II) con LQM321 se prepararon las siguientes soluciones:

A. Nitrato de cobre (II) 0.01 M.

1. Se pesaron 0.2158 g de nitrato de cobre (II).
2. Se disolvió la sal con agua desionizada y se llevó a un aforo de 5 mL (Sol. D) $C_{\text{Cu}(\text{NO}_3)_2}=0.21 \text{ M}$.
3. De la solución D, se tomó una alícuota de 4.77 mL y se vertieron en un matraz volumétrico de 100 mL.
4. Se pesaron 2.15 g de perclorato de sodio, se disolvieron con agua desionizada y se añadieron al matraz volumétrico donde se encontraba la alícuota de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$.
5. La solución se llevó al aforo con agua desionizada. $C_{\text{Cu}(\text{NO}_3)_2}=0.010 \text{ M}$; $C_{\text{NaClO}_4}=0.15 \text{ M}$
6. Esta solución fue etiquetada como solución Cu.

B. 2,6-bis(morfolin-4-ilmetil)-4-nitrofenol (LQM312) 0.01 M.

1. En una balanza analítica se pesaron 338.6 mg de LQM312 en un vaso de precipitados de 100 mL.
2. El LQM312 se disolvió con la mínima cantidad de ácido perclórico concentrado.
3. Se pesaron 2.15 g de perclorato de sodio, se disolvieron con la mínima cantidad de agua desionizada y se añadió al vaso donde se encontraba el LQM312 disuelto.
4. Disuelto ya el LQM312, se añadió agua desionizada hasta la marca de 80 mL del vaso.
5. Se ajustó el pH de la mezcla a 7.54 con solución de Hidróxido de sodio 0.1 M.

6. La mezcla se vertió en un matraz aforado de 100 mL y se llevó al oforo con agua desionizada. $C_{LQM312}=0.010$; $C_{NaClO_4}=0.15$ M. Esta solución fue etiquetada como solución LQM312.

6.2.2.1 Método de Job.

Para el método de Job se prepararon 22 sistemas los cuales tenían una concentración total de 0.008 M. Todos los sistemas fueron aforados en matraces volumétricos de 5 mL. Las alícuotas de cada solución de cada reactivo que se agregaron a cada sistema se presentan en la Tabla 6.1.

Tabla 6.1. Alícuotas utilizadas de las soluciones de Cobre (II) y LQM312 en el método de Job.

Sistema	V_{Cu} (mL)	V_{LQM312} (mL)	$[Cu^{2+}]$	$[LQM312]$	χ_{Cu}
1	0.00	4.00	0.0000	0.0080	0.000
2	0.18	3.82	0.0004	0.0076	0.045
3	0.36	3.64	0.0007	0.0073	0.090
4	0.54	3.46	0.0011	0.0069	0.135
5	0.72	3.28	0.0014	0.0066	0.180
6	0.90	3.10	0.0018	0.0062	0.225
7	1.00	3.00	0.0020	0.0060	0.250
8	1.32	2.68	0.0026	0.0054	0.333
9	1.44	2.56	0.0029	0.0051	0.360
10	1.80	2.20	0.0036	0.0044	0.450
11	2.00	2.00	0.0040	0.0040	0.500
12	2.16	1.84	0.0043	0.0037	0.540
13	2.34	1.66	0.0047	0.0033	0.585
14	2.52	1.48	0.0050	0.0030	0.630
15	2.70	1.30	0.0054	0.0026	0.675
16	2.88	1.12	0.0058	0.0022	0.720
17	3.00	1.00	0.0060	0.0020	0.750
18	3.24	0.76	0.0065	0.0015	0.810
19	3.42	0.58	0.0068	0.0012	0.855
20	3.60	0.40	0.0072	0.0008	0.900
21	3.80	0.20	0.0076	0.0004	0.950
22	4.00	0.00	0.0080	0.0000	1.000

Posteriormente, se elevó la temperatura de cada sistema a 37 °C con ayuda de un baño termostatado para finalmente determinar los espectros de absorción.



6.2.2.2. Método de las relaciones molares.

6.2.2.2.1. $[Cu^{2+}]$ Constante.

En la primera parte de relaciones molares se mantuvo constante la concentración de Cu (II) en 0.002M. Los volúmenes que se agregaron de solución de Cu y de LQM312 a cada sistema se explican en la tabla 6.2.

Tabla 6.2. Alícuotas de solución de Cu y LQM312 que fueron necesarios para llevar a cabo el método de relaciones molares fijando la concentración de Cu (II) en 0.002 M.

Sistema	V_{Cu} (mL)	V_{LQM312} (mL)	$[Cu^{2+}]$
1	1.00	0.00	0.0020
2	1.00	0.20	0.0020
3	1.00	0.40	0.0020
4	1.00	0.60	0.0020
5	1.00	0.80	0.0020
6	1.00	1.00	0.0020
7	1.00	1.20	0.0020
8	1.00	1.40	0.0020
9	1.00	1.60	0.0020
10	1.00	1.80	0.0020
11	1.00	2.00	0.0020
12	1.00	2.20	0.0020
13	1.00	2.40	0.0020
14	1.00	2.60	0.0020
15	1.00	2.80	0.0020
16	1.00	3.00	0.0020
17	1.00	3.20	0.0020
18	1.00	3.40	0.0020
19	1.00	3.60	0.0020
20	1.00	3.80	0.0020
21	1.00	4.00	0.0020

Todos los sistemas se prepararon en matraces volumétricos de 5 mL. Antes de medir la absorbancia de los sistemas, con ayuda de un baño termostático, se mantuvo una temperatura de 37 °C.

6.2.2.2. [LQM312] Constante.

Los sistemas para el método de relaciones molares manteniendo la concentración de LQM312 se prepararon en matraces aforados de 5 mL. Las alícuotas que se utilizaron de las soluciones de Cu y LQM312 se presentan en la tabla 6.3.

Tabla 6.3. Volúmenes tomados de las soluciones de Cu y LQM321 para el método de relaciones molares cuando la concentración de LQM32 se fijó en 0.002 M.

Sistema	V _{Cu} (mL)	V _{LQM312} (mL)	[Cu ²⁺]
1	0.00	1.00	0.0000
2	0.10	1.00	0.0002
3	0.20	1.00	0.0004
4	0.30	1.00	0.0006
5	0.40	1.00	0.0008
6	0.50	1.00	0.0010
7	0.60	1.00	0.0012
8	0.70	1.00	0.0014
9	0.80	1.00	0.0016
10	0.90	1.00	0.0018
11	1.00	1.00	0.0020
12	1.10	1.00	0.0022
13	1.20	1.00	0.0024
14	1.30	1.00	0.0026
15	1.40	1.00	0.0028
16	1.50	1.00	0.0030
17	1.60	1.00	0.0032
18	1.70	1.00	0.0034
19	1.80	1.00	0.0036
20	1.90	1.00	0.0038
21	2.00	1.00	0.0040

Una vez preparados los sistemas, se elevó la temperatura de cada uno en 37 °C para así medirla absorbancia de cada uno. Los datos de absorbancia obtenidos se analizaron para proponer un modelo químico (número de complejos que se forman con TRIANG y la relación estequiométrica) y así alimentar el programa SQUAD para refinar los valores de las constantes de formación de cada complejo.



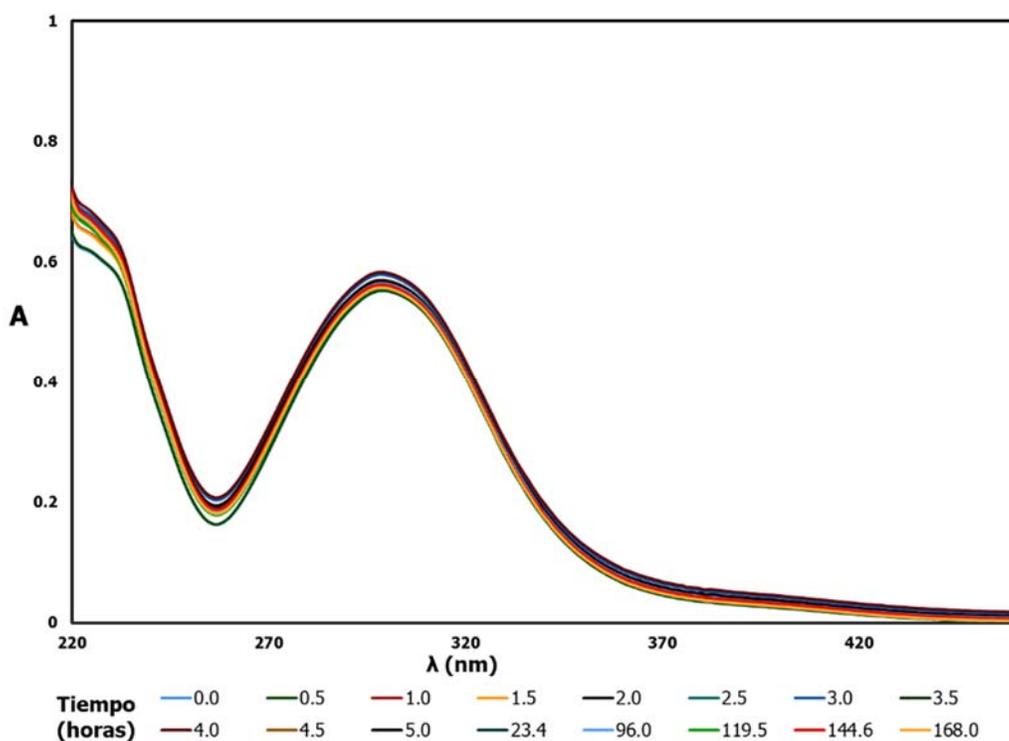
7. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS



7.1 Constantes de acidez.

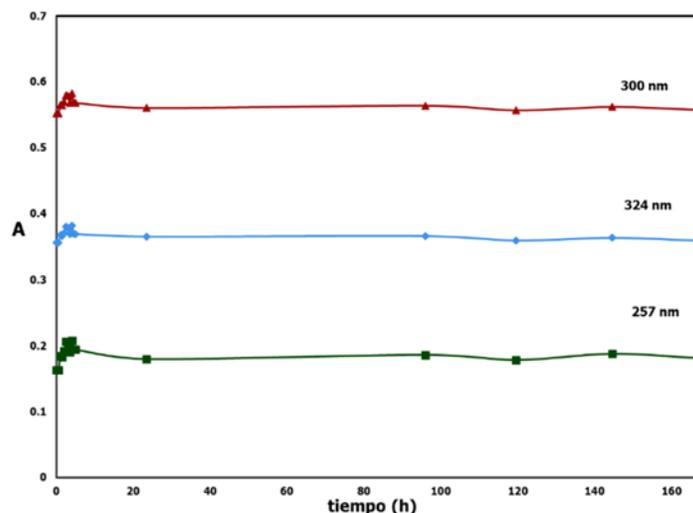
7.1.1. Estabilidad del compuesto LQM312 en agua.

Los espectros de absorción de la solución ácida de LQM312 determinados durante una semana se presentan en la Gráfica 7.1. El máximo de absorbancia se presenta en 300 nm. En las primeras 2.5 horas las bandas sufren un efecto hipercrómico. También se observa que de 2.5 a 5 horas se observan fluctuaciones en el máximo de absorción. A partir de que transcurre 1 día y durante una semana, la absorbancia se mantiene constante.



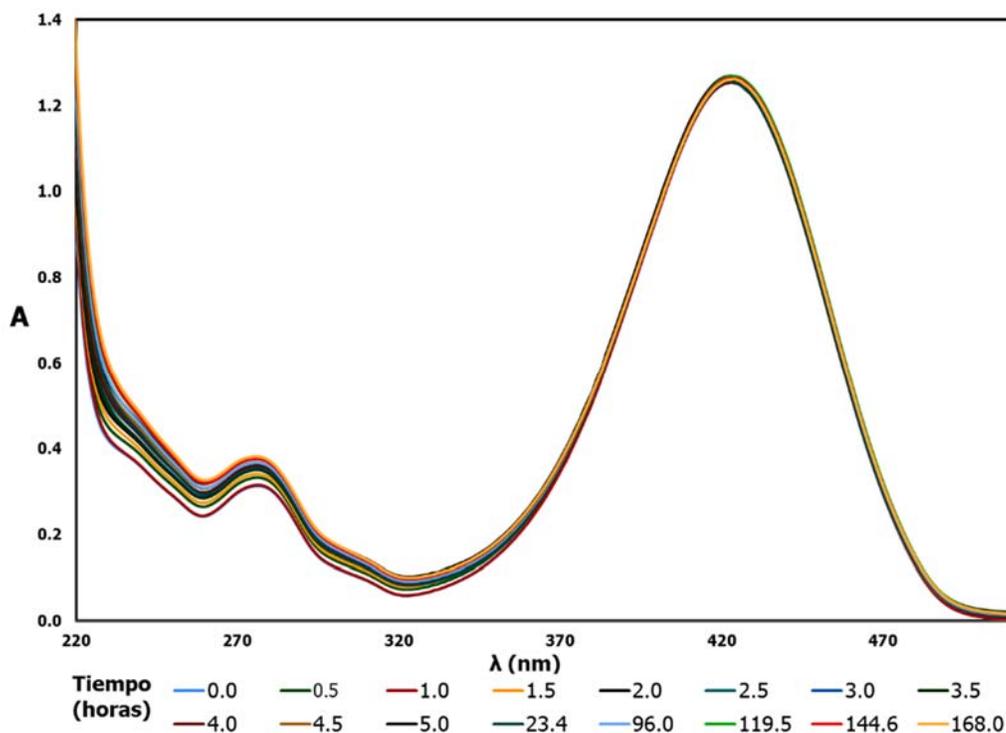
Gráfica 7.1. Espectros de absorción de la solución de LQM 312 6×10^{-5} M en medio ácido, HClO_4 0.1 M.

Esto se comprende al graficar la absorbancia en función del tiempo a cierta longitud de onda (Gráfica 7.2). Para este caso, se seleccionaron las longitudes de onda donde se encuentra el máximo de absorbancia (300 nm), el mínimo de absorbancia (257 nm) y una más elegida al azar (324 nm).



Gráfica 7.2. Absorbancia en función del tiempo, LQM312 $6 \times 10^{-5} \text{M}$ en medio ácido.

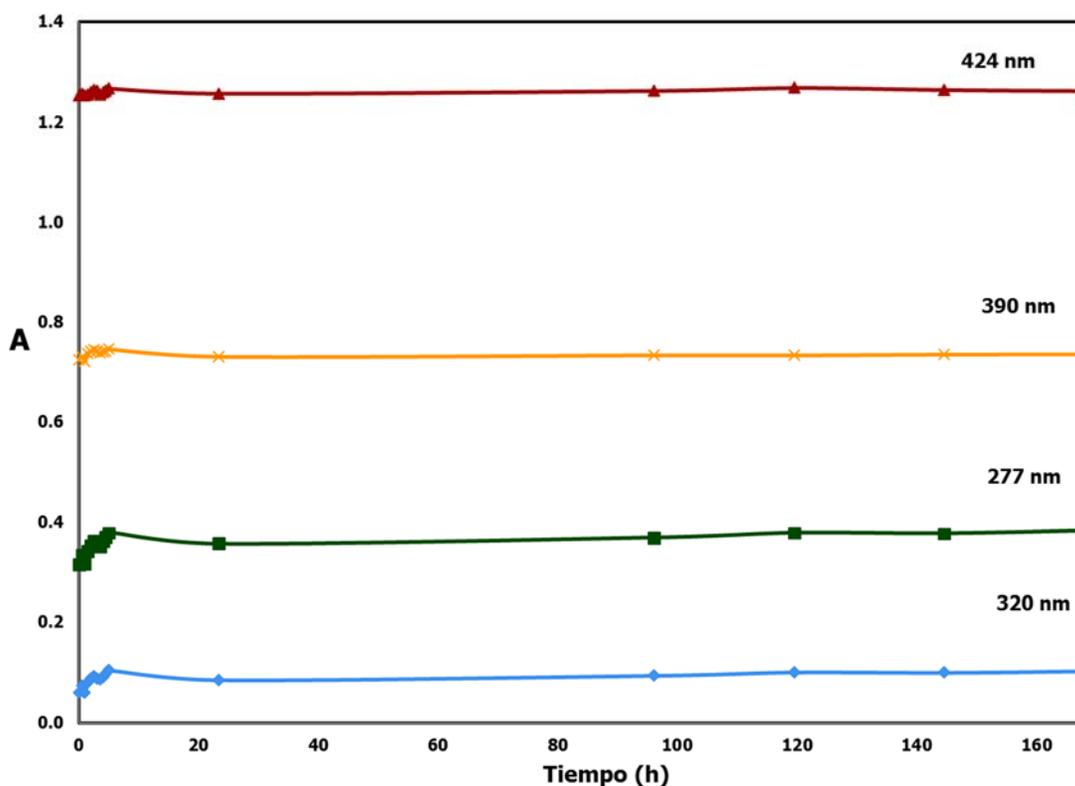
En los espectros de absorción de la solución de LQM312 en medio básico se observa que la absorbancia varía con respecto al tiempo con mayor significancia en la región ultravioleta, comprendida de 200 a 370 nm, que en la región visible (Gráfica 7.3).



Gráfica 7.3. Espectros de absorción de la solución de LQM312 $6 \times 10^{-5} \text{M}$ en medio básico.



En la gráfica 7.4 se aprecia que la absorbancia de la solución se mantiene constante a partir de que transcurre un día de que fue preparada y durante una semana, en especial en la región visible. En longitudes de onda correspondientes a la región ultravioleta (Gráfica 7.4; 320 y 277 nm), la absorbancia presenta un ligero efecto hipercrómico.

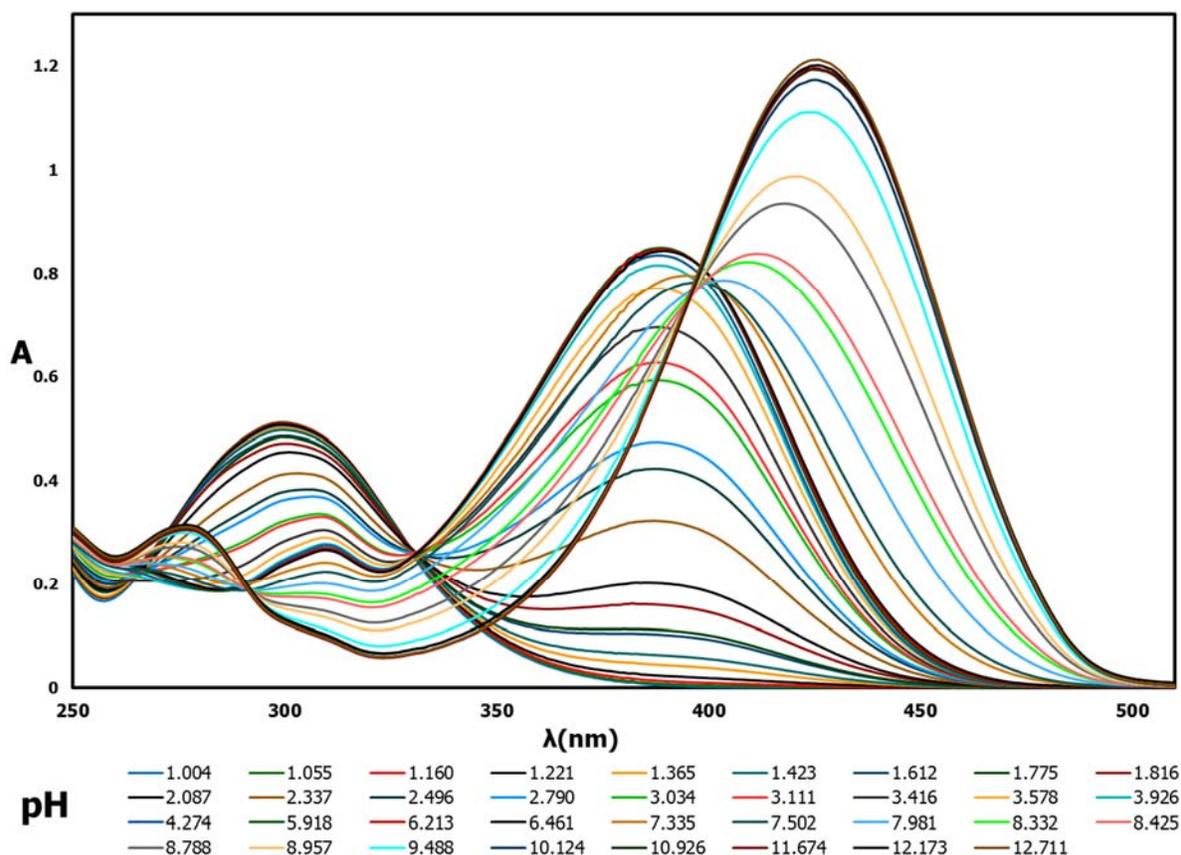


Gráfica 7.4. . Absorbancia en función del tiempo de la solución básica de LQM312 6×10^{-5} M.

Debido a que la absorbancia de las soluciones LQM312 en medio ácido y básico presenta una gran variación en las primeras horas de preparación, pero se estabiliza a partir de que transcurren 24 horas, se dejaron reposar las soluciones durante un día para llevar a cabo los procedimientos correspondientes para determinar los pK_a 's y las β_n 's con Cu (II).

7.1.2. Determinación de los pK_a 's.

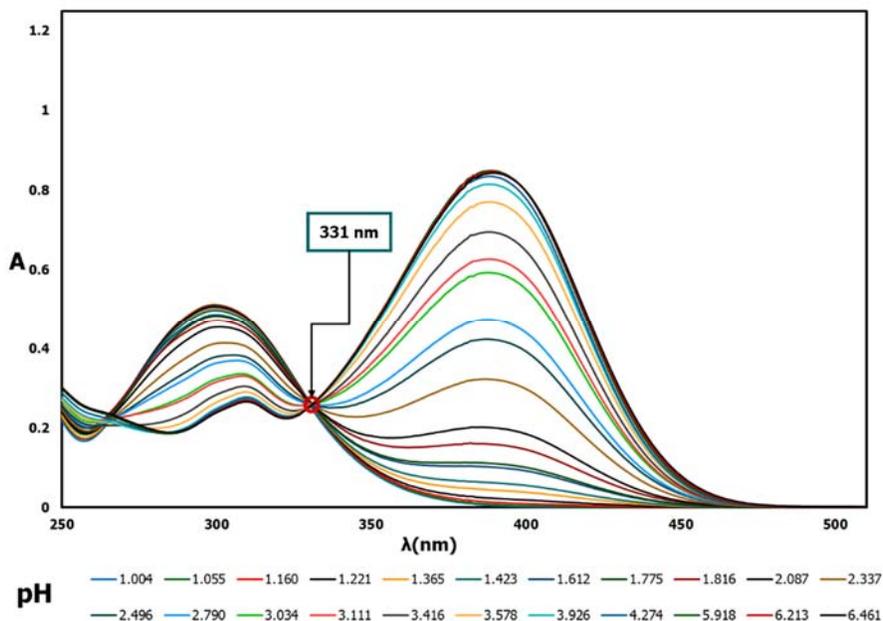
En la gráfica 7.5 se presentan los espectros de absorción de la solución de compuesto LQM312 modificando el pH. El intervalo de pH de trabajo fue de 1.004 a 12.711.



Gráfica 7.5. Espectros de absorción LQM312 6×10^{-5} M a diferentes pH's

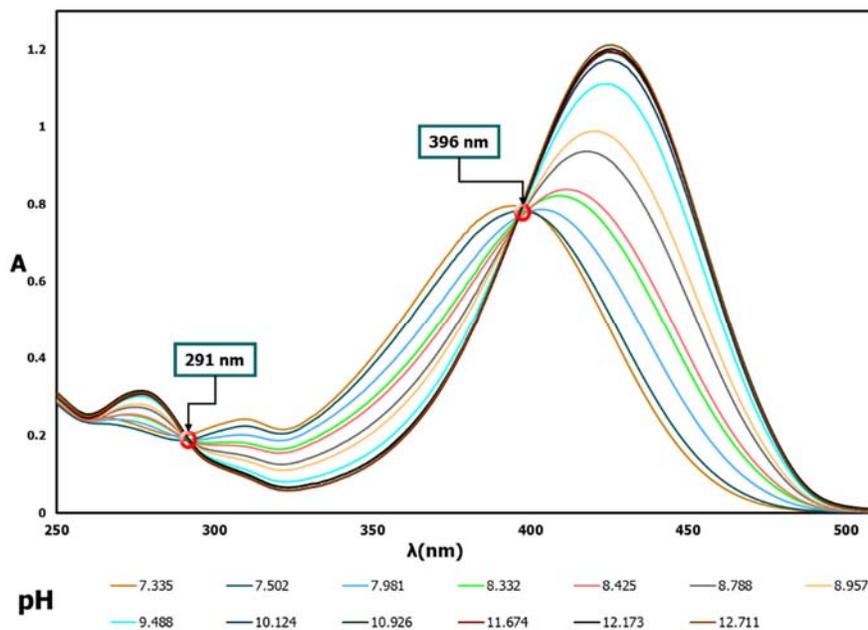
Teniendo en cuenta que el compuesto LQM312 es estable en agua tanto en medio ácido como básico, se realizó el experimento correspondiente para determinar los pK_a . El compuesto LQM312 se mantuvo soluble en todo el intervalo de pH.

Dentro de los espectros de absorción aparecen tres puntos isobésticos. Se forma un punto isobéstico en 331 nm entre los espectros que se encuentran en el intervalo de pH de 1.004 a 6.461 (Gráfica 7.6).



Gráfica 7.6. Ubicación del primer punto isobéptico en 331nm. Estos espectros corresponden al intervalo de pH de 1.004 a 6.213.

En los espectros de absorción de las soluciones de LQM312 con valores de pH superiores a 7.0, aparecen dos puntos isobéuticos, en 291 y 396 nm. En la Gráfica 7.7 se ubican ambos puntos.



Gráfica 7.7. Ubicación de los puntos isobéuticos entre los espectros correspondientes a valores de pH básicos.

La importancia de los puntos isobéuticos ubicados entre los espectros de absorción es que son un indicio de que existe al menos un equilibrio químico relacionado con el intercambio de la partícula de la cual se va variando su concentración. En este caso, se fue variando la concentración de ion hidronio (H_3O^+) mediante la modificación del pH del sistema y la presencia de los tres puntos isobéuticos afirma que el compuesto LQM312 presenta propiedades ácido-base de Brøsted-Lowry.

Sabiendo que el compuesto LQM312 es capaz de intercambiar protones cuando se encuentra disuelto en agua, es necesario conocer cuántas especies ácido-base se forman y el valor de cada constante de equilibrio ácido base (K_a) para identificar bajo qué condiciones (intervalo de pH, principalmente) predomina cada una de las especies.

Para conocer el número de especies ácido-base que forma el compuesto LQM312 se utilizó el programa TRIANG. El programa TRIANG puede calcular el número de especies que absorben radiación electromagnética a partir de datos de absorbancia a diferentes longitudes de onda y sistemas con composición química diferente tomando en cuenta el error en la transmitancia (ΔT) y para datos de espectrofotometría se toma un intervalo de $0.003 < \Delta T < 0.01$. (Moya Hernández, 2003) (Gómez Zaleta, 2006).

El programa TRIANG acepta solamente 48 longitudes de onda, así que se alimentó el programa con los datos de absorbancia de 260 a 506 nm cada 6 nm teniendo un total de 42 longitudes de onda. Los resultados, a cada valor de ΔT se presentan en la tabla 7.1.



Tabla 7.1. Especies que absorben radiación durante la valoración calculadas por el programa TRIANG a cada valor de ΔT .

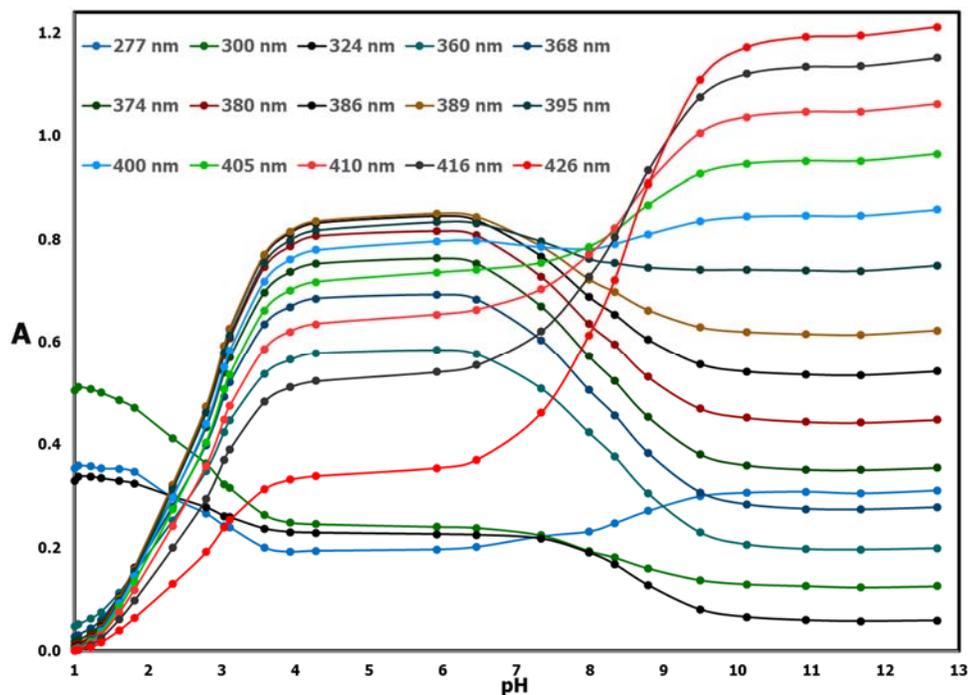
ΔT	Especies absorbentes.
0.003	4
0.004	4
0.005	4
0.006	3
0.007	3
0.008	3
0.009	3
0.010	3

De acuerdo al cálculo realizado por TRIANG, existen tres o cuatro especies ácido base del compuesto LQM312, es decir, que este compuesto es un ácido diprótico ($H_2LQM312^+$) o un ácido triprótico ($H_3LQM312^{2+}$).

Para saber el número de pK_a 's que presenta un compuesto, se realiza la gráfica de la absorbancia en función del pH a una longitud de onda fija y en cada cambio pronunciado en la trayectoria de la curva corresponderá a un valor de pK_a .

El comportamiento de la absorbancia del LQM312 en función del pH (Gráfica 7.8) presenta dos cambios acentuados en la pendiente de la curva.

Se aprecia que dichos cambios de pendiente se encuentran alrededor de pH de 2.52 y 8.00. Entre pH de 4 a 6.8 y arriba de 10 la absorbancia se mantiene constante.



Gráfica 7.8. Absorbancia en función del pH a diferentes longitudes de onda.

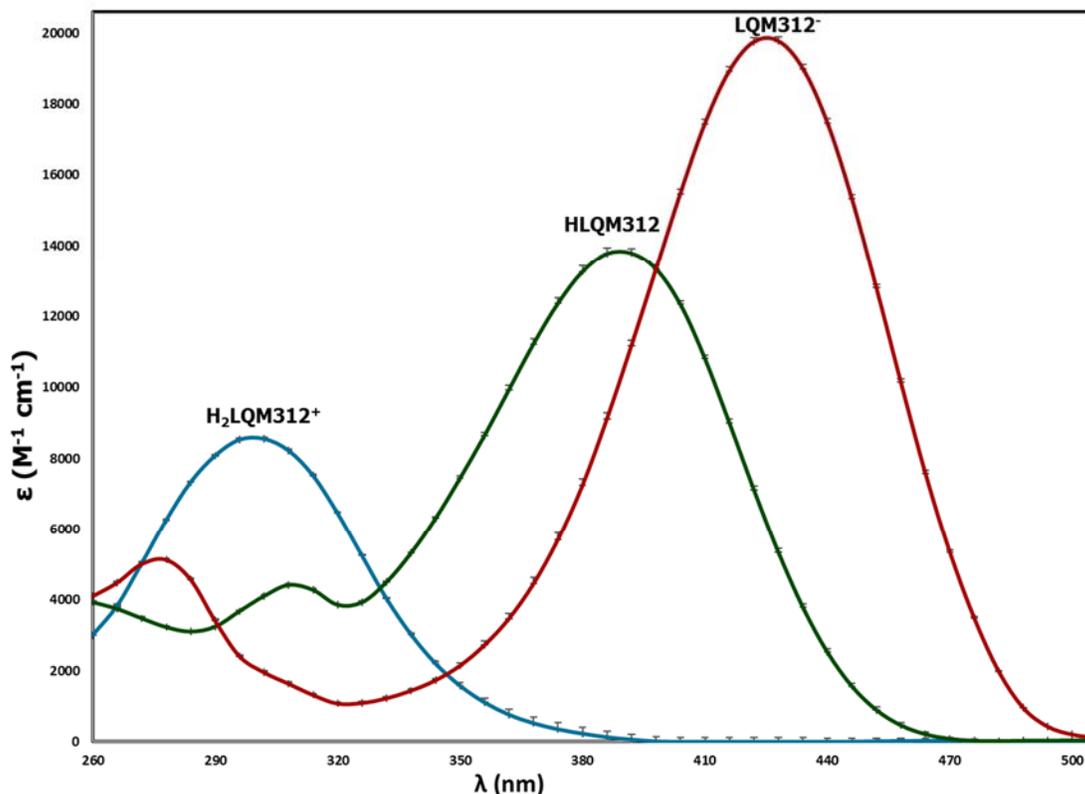
Conociendo los valores aproximados de los pK_a del LQM312 se utilizó el programa SQUAD para refinar estos valores. Para el primer cálculo realizado por SQUAD, se alimentó al programa con un modelo bidonador de protones ($H_2LQM_{312}^+$) y con 24 espectros con 42 datos de absorbancia determinada cada 6 nm de 260 a 506 nm. El resultado emitido por el programa se presenta en la Tabla 7.2.

Tabla 7.2. Resultados obtenidos por el cálculo realizado por SQUAD para refinar el valor de los pK_a del compuesto LQM312 para un modelo bidonador.

Equilibrio	Log $\beta \pm \sigma$	σ	U
$2H^+ + LQM_{312}^- \rightleftharpoons H_2LQM_{312}^+$	11.04±0.01	1.3597X10⁻²	1.6270X10⁻¹
$H^+ + LQM_{312}^- \rightleftharpoons HLQM_{312}$	8.428±0.007		
Equilibrio	pK_a		
$H_2LQM_{312}^+ \rightleftharpoons HLQM_{312} + H^+$	2.61±0.02		
$HLQM_{312} \rightleftharpoons LQM_{312}^- + H^+$	8.428±0.007		



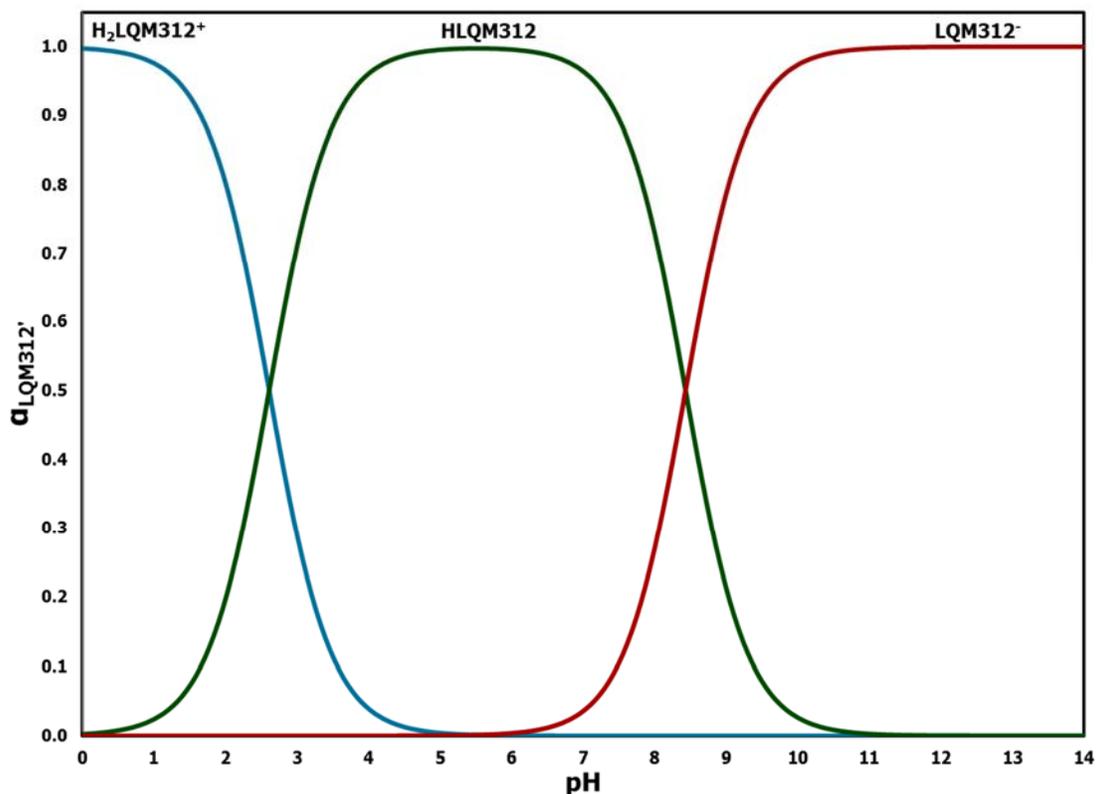
De acuerdo al cálculo realizado por SQUAD, los pK_a del LQM312 son 2.61 y 8.428; Además de refinar los valores de las constantes de equilibrio, SQUAD calcula los coeficientes de absortividad molar de cada especie. Los coeficientes calculados por el programa para las especies ácido base del LQM312, se presentan graficados en función de la longitud de onda en la Gráfica 7.9.



Gráfica 7.9. Coeficientes de absortividad molar calculados por SQUAD.

El comportamiento de los coeficientes de absortividad molar calculados por SQUAD es muy parecido al que presenta la absorbancia de las especies ácido base del LQM312 ya que en ambas representaciones gráficas se presentan tres máximos alrededor de 300, 392 y 422 nm respectivamente.

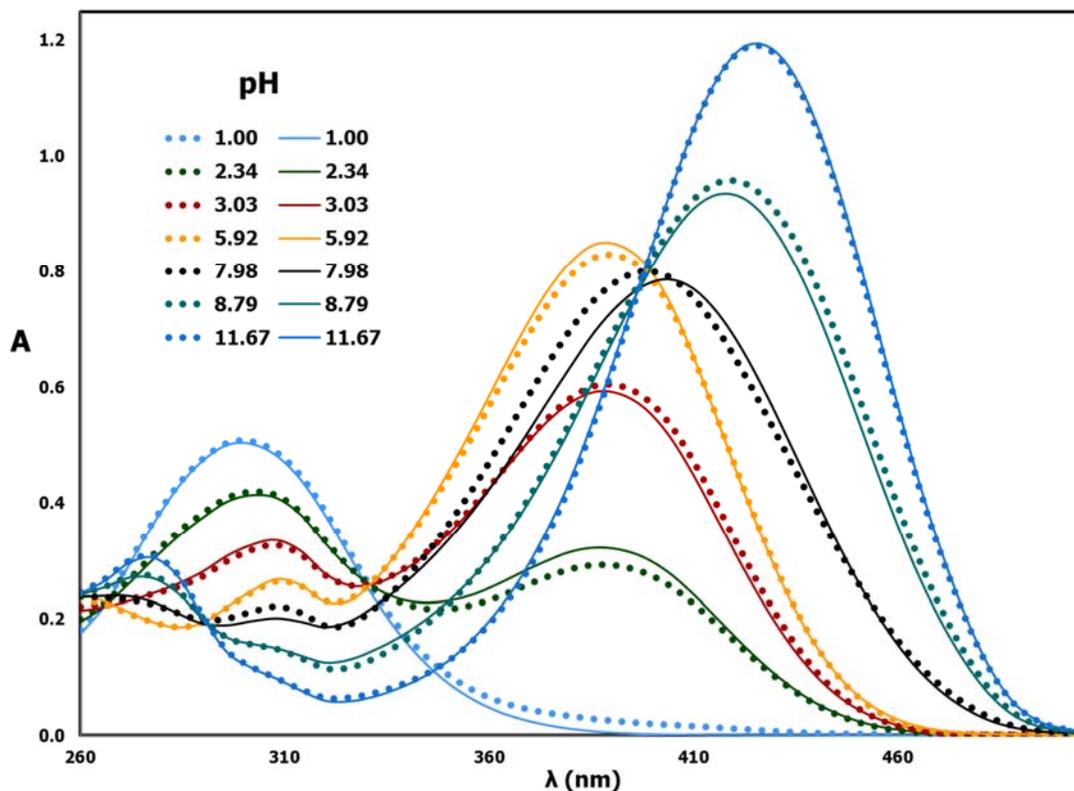
A partir de los valores refinados por SQUAD se construyó el diagrama de distribución de especies (Gráfica 7.10)



Gráfica 7.10. Diagrama de distribución de especies ácido base del LQM312.

La importancia de construir este tipo de gráficos es identificar bajo qué intervalo de pH existe o no el predominio de las especies presentes en el sistema, es decir, la estabilidad de cada especie. En la gráfica 7.10 se observa que la especie diprótica tiene un predominio en pH menores a 2.61; en el intervalo de pH de 2.6086 a 8.428 predomina la especie neutra y en valores de pH por encima de 8.428 predomina la base.

Con las fracciones calculadas de cada especie ácido-base del LQM312 y los coeficientes de absorción dados por SQUAD se realizó la simulación de los espectros de absorción y se compararon con los experimentales (Gráfica 7.11).



Gráfica 7.11. Espectros teóricos (línea punteada) y espectros experimentales (línea continua).

A pesar de que el ajuste estadístico de los valores refinados por SQUAD es bueno con respecto a los datos experimentales, en el momento de comparar los espectros teóricos con los experimentales no es tan preciso como se esperaba. En la parte donde se observa una mayor desviación es en los espectros cercanos a pH neutro.

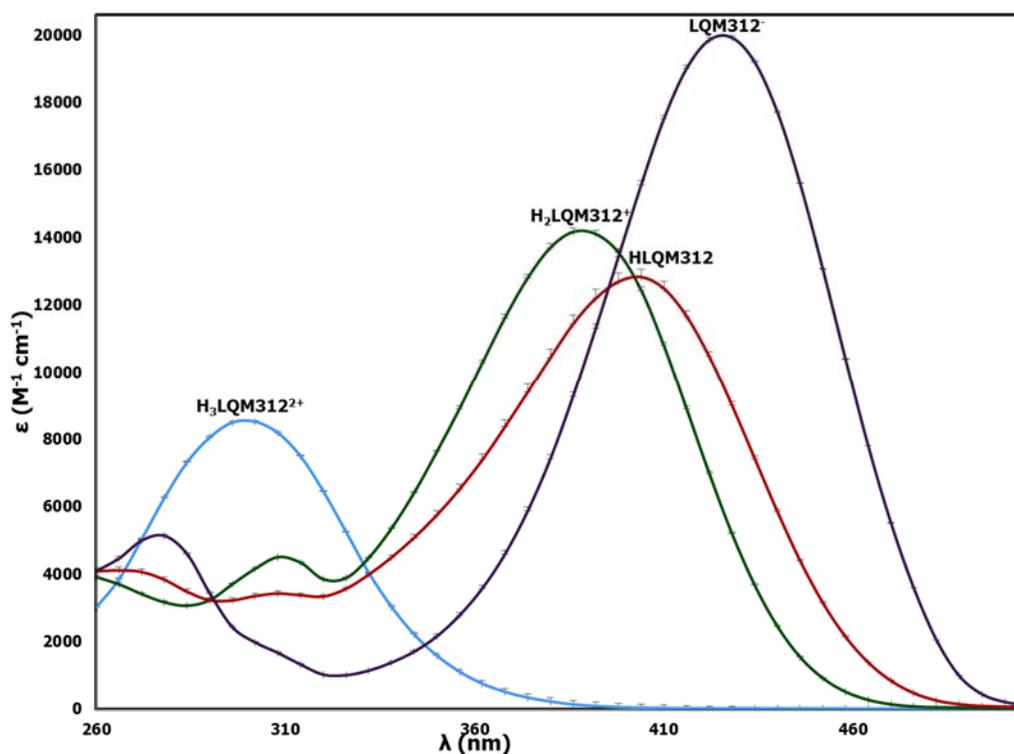
Por otra parte, se ejecutó el programa SQUAD alimentando al programa con un modelo tridonador ($H_3LQM312^{2+}$). Para esto se seleccionaron 24 espectros con 42 datos de absorbancia determinada experimentalmente cada 6 nm en un intervalo de longitud de onda de 260 a 506 nm. Los resultados dados por SQUAD con el segundo modelo se presentan en la Tabla 7.3.

Tabla 7.3. Resultados obtenidos por el cálculo realizado por el programa SQUAD introduciendo un modelo tridonador del compuesto LQM312.

Equilibrio	Log $\beta \pm \sigma$	σ	U
$3H^+ + LQM_{312}^- \rightleftharpoons H_3LQM_{312}^{2+}$	18.76±0.05		
$2H^+ + LQM_{312}^- \rightleftharpoons H_2LQM_{312}^+$	16.12±0.05	8.4609X10⁻³	5.99180X10⁻²
$H^+ + LQM_{312}^- \rightleftharpoons HLQM_{312}$	08.70±0.02		

Equilibrio	pK _a
$H_3LQM_{312}^{2+} \rightleftharpoons H_2LQM_{312}^+ + H^+$	2.60±0.10
$H_2LQM_{312}^+ \rightleftharpoons HLQM_{312} + H^+$	7.42±0.07
$HLQM_{312} \rightleftharpoons LQM_{312}^- + H^+$	8.70±0.02

De igual manera, se graficaron los coeficientes de absorptividad molar de cada especie ácido base calculados por SQUAD en función de la longitud de onda. (Gráfica 7.12).

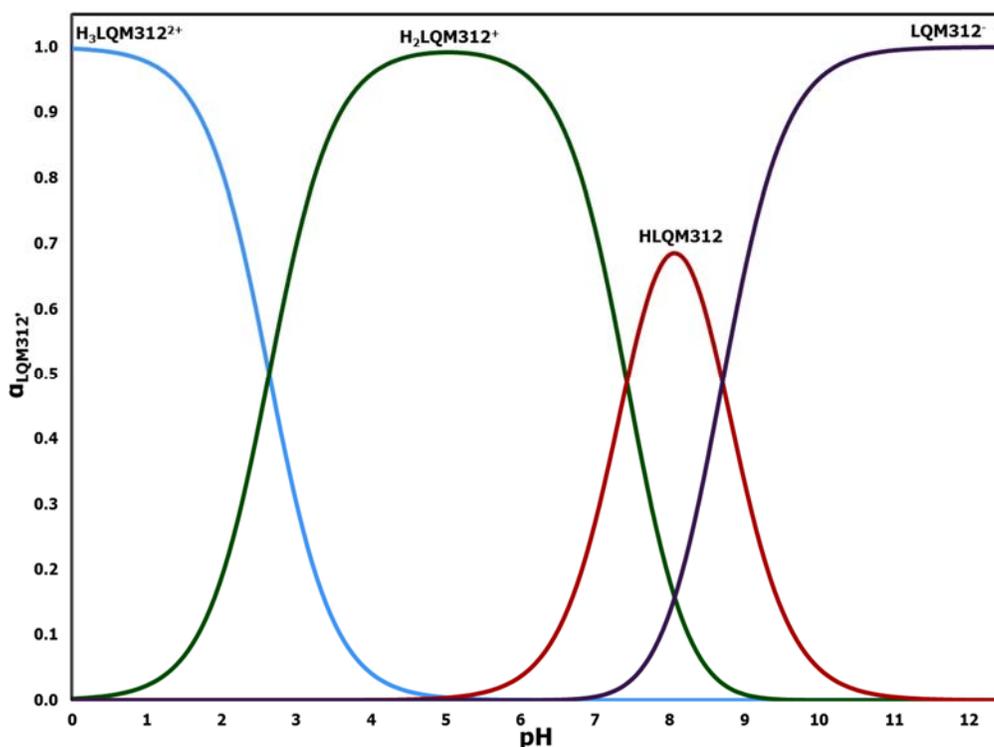


Gráfica 7.12. Coeficientes de absorptividad molar de cada especie ácido base del compuesto LQM312 calculados por SQUAD.



El comportamiento de los coeficientes de absorptividad calculados por el programa con un modelo triprótico se asemeja más que con el bidonador, debido a que en valores de pH de 6 a 8 se observa con efecto hipocrómico y batocrómico, debido a que el máximo de absorptividad se mueve de 390 a 402 nm. Por otra parte, en valores de pH de 8 a 12, la banda tiene un desplazamiento hipercrómico y batocrómico desde 402 nm a 426 nm.

Teniendo en cuenta los valores de pK_a refinados por SQUAD, se construyó el diagrama de distribución de especies ácido base del compuesto LQM312. (Gráfica 7.13).

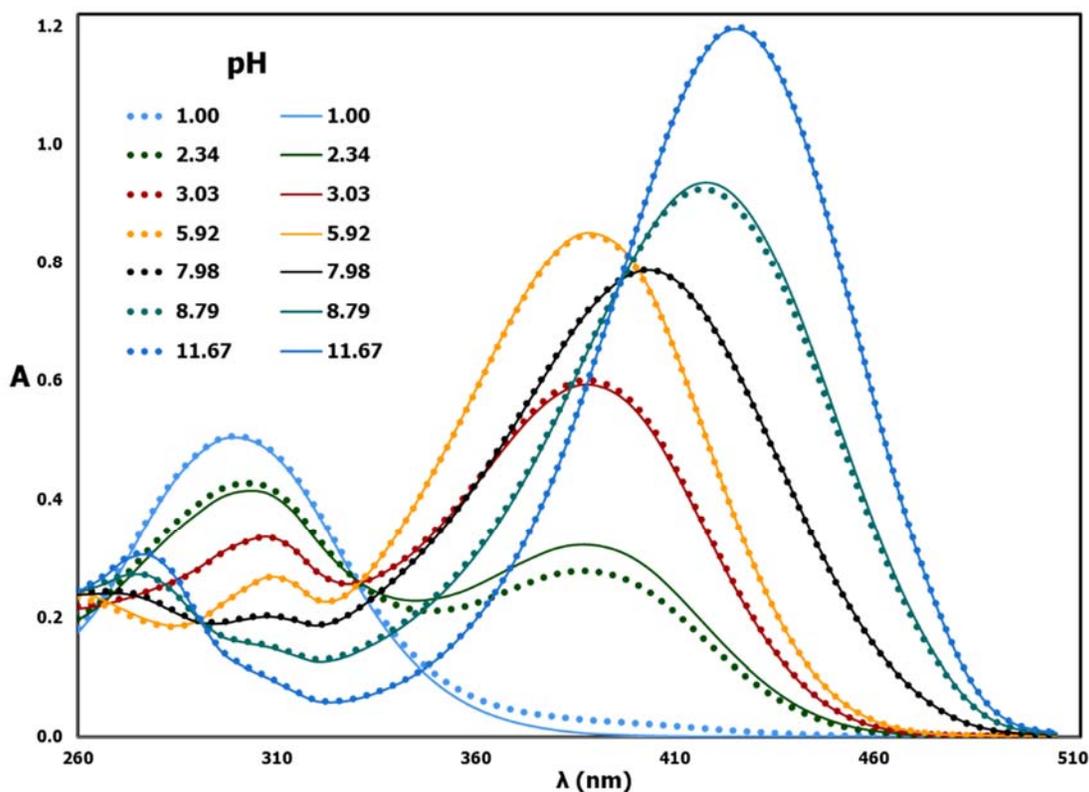


Gráfica 7.13. Diagrama de distribución de especies ácido base del compuesto LQM312 (modelo tridonador)

La especie neutra ($HLQM312$) es un anfolito semiestable ya que la constante de dismutación (K_D) es de 0.056. En el diagrama se observa que, a pH de 8, la mayor fracción de $HLQM312$ que puede formarse es de 68.35 %. El resto de las especies llegan a predominar en diferentes intervalos de pH.

El modelo tridonador alimentado a SQUAD es el que tiene un mejor ajuste con respecto a los datos experimentales de absorbancia debido a que la sumatoria de los cuadrados de los residuales (U) es menor que el del modelo bidonador ($0.05992 < 0.1627$)

Para corroborar el ajuste del modelo tridonador a los datos experimentales obtenidos, se construyeron los espectros de absorción teóricos (Gráfica 7.14). Para esto se asume que se cumple la Ley de Beer así como la de las Aditividades a la concentración total de LQM312 de 6×10^{-5} M.



Gráfica 7.14. Espectros de absorción LQM312 a diferentes valores de pH. Teóricos (línea punteada) y experimentales (línea continua).

En la Gráfica 7.14 se comprueba que el modelo tridonador es el que explica el comportamiento ácido-base del compuesto LQM312 porque los espectros calculados son más semejantes a los experimentales que los calculados cuando el modelo propuesto es el de un ácido diprótico ($H_2LQM312^+$).



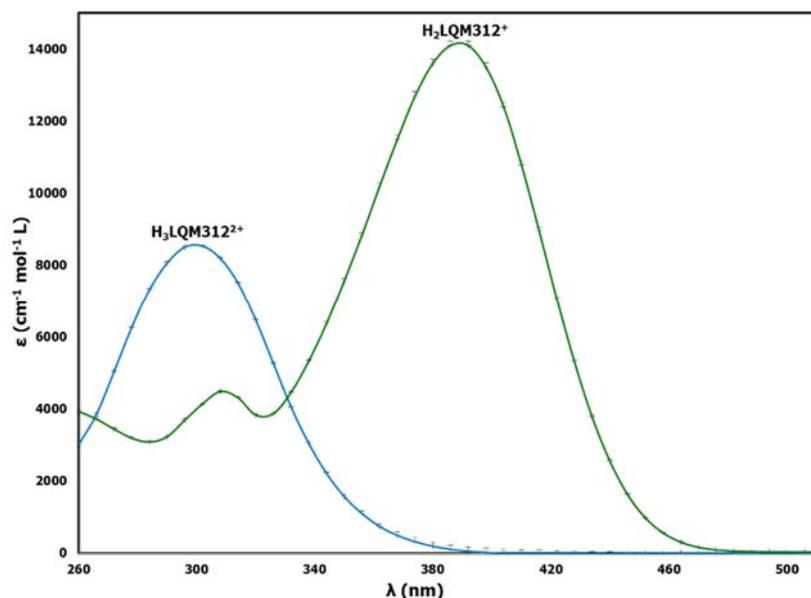
Existe una diferencia significativa entre los espectros calculados y los determinados experimentalmente en el intervalo de onda de 330 a 430 nm para los valores de pH de 1.00 y 2.34, por lo que se realizó el refinamiento de los valores de los tres pKa pero haciéndolo en dos partes: ácida y básica.

Para la parte ácida, se alimentó el programa SQUAD con 18 espectros de absorción determinados en un intervalo de pH de 1.00 a 6.46 con datos de absorbancia cada 6 nm desde 260 a 512 nm. Los resultados obtenidos por SQUAD se presentan en la Tabla 7.4.

Tabla 7.4. Resultados obtenidos por SQUAD para el pKa₁ del LQM312.

Equilibrio	Log $\beta \pm \sigma$	σ	U
$3H^+ + LQM_{312}^- \rightleftharpoons H_3LQM_{312}^{2+}$	2.630 ± 0.005	9.7910×10^{-3}	6.590×10^{-2}
Equilibrio	pKa		
$H_3LQM_{312}^{2+} \rightleftharpoons H_2LQM_{312}^+ + H^+$	2.630 ± 0.005		

En la gráfica 7.15 se presentan los coeficientes de absorptividad molar calculados por el programa SQUAD.



Gráfica 7.15. Coeficientes de absorptividad molar calculados por SQUAD del par conjugado $H_3LQM_{312}^{2+}/H_2LQM_{312}^+$.

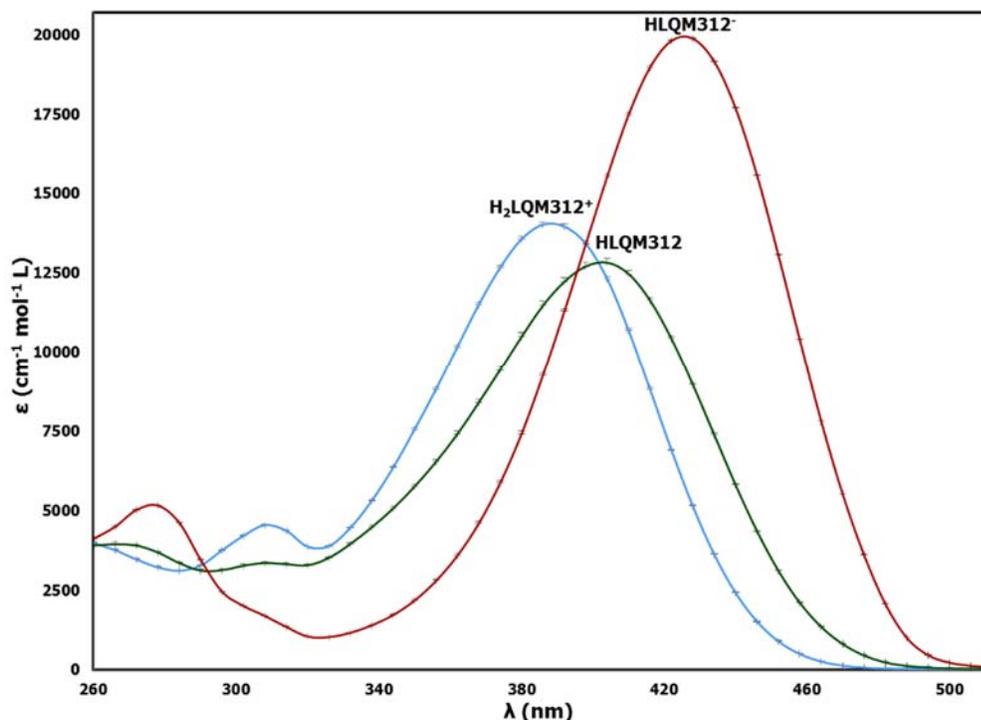
La dependencia de los coeficientes de absorptividad molar con respecto a la longitud de onda de la especie $H_3LQM312^{2+}$ y $H_2LQM312^+$ es muy parecida a las bandas de absorción cuando el LQM312 en el intervalo de pH de 1.00 a 5.92 respectivamente. El pK_a de este par conjugado es de 2.630.

Por otra parte, se realizó el refinamiento del pK_{a2} y pK_{a3} utilizando los espectros correspondientes al intervalo de pH de 4.00 a 12.17. En este caso, se alimentaron 16 espectros de absorción con 43 datos de absorbancia determinada cada 6 nm desde 260 nm hasta 512 nm. Los resultados obtenidos por SQUAD se presentan en la tabla 7.5.

Tabla 7.5. Resultados obtenidos para el refinamiento de los valores del pK_{a2} y pK_{a3} del LQM312.

Equilibrio	Log $\beta \pm \sigma$	σ	U
$2H^+ + LQM_{312}^- \rightleftharpoons H_2LQM_{312}^+$	16.086±0.008	5.1793X10⁻³	1.4941X10⁻²
$H^+ + LQM_{312}^- \rightleftharpoons HLQM_{312}$	8.69±0.03		
Equilibrio	pK_a		
$H_2LQM_{312}^+ \rightleftharpoons HLQM_{312} + H^+$	7.39±0.01		
$HLQM_{312} \rightleftharpoons LQM_{312}^- + H^+$	8.69±0.03		

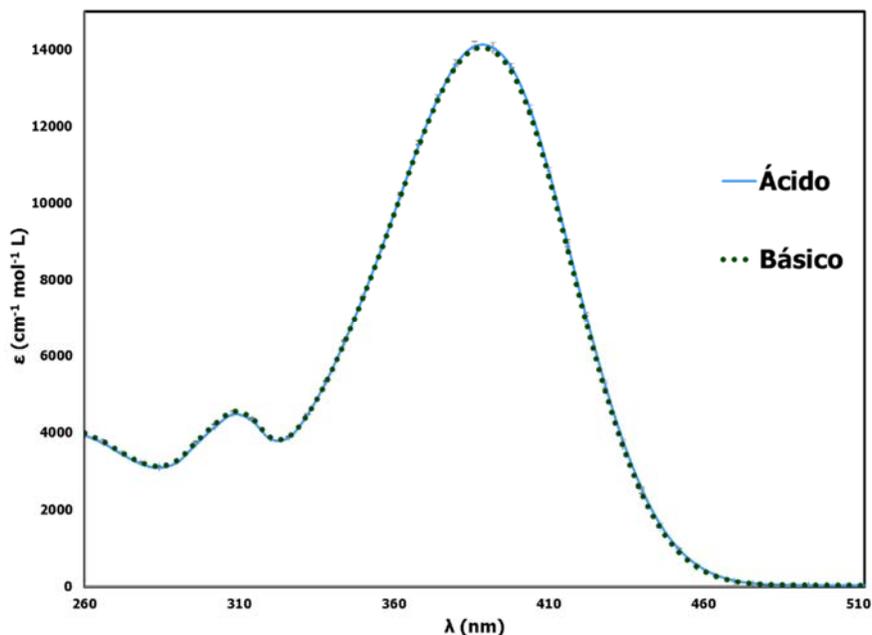
En la Gráfica 7.16 se encuentran los coeficientes de absorptividad molar calculados por SQUAD graficados en función de la longitud de onda. El comportamiento de los coeficientes es muy similar a los espectros de absorción en el intervalo de pH de 4 a 12.17. En especial, en el efecto que se observa entre los coeficientes de absorptividad molar de los anfólitos ($H_2LQM312^+$ y $HLQM312$) ya que el valor máximo del coeficiente de absorptividad molar de la especie diprótica se encuentra en 389 nm mientras que el de la especie neutra, el cual es menor que el de la primera, está en 400 nm. Es por esto, que entre el intervalo de pH de 6.0 a 7.5, se observa un efecto hipocrómico y batocrómico en las bandas de absorción del LQM312.



Gráfica 7.16. Coeficientes de absorptividad molar calculados por SQUAD para las especies $H_2LQM312^+$ / $HLQM312$ / $LQM312^-$.

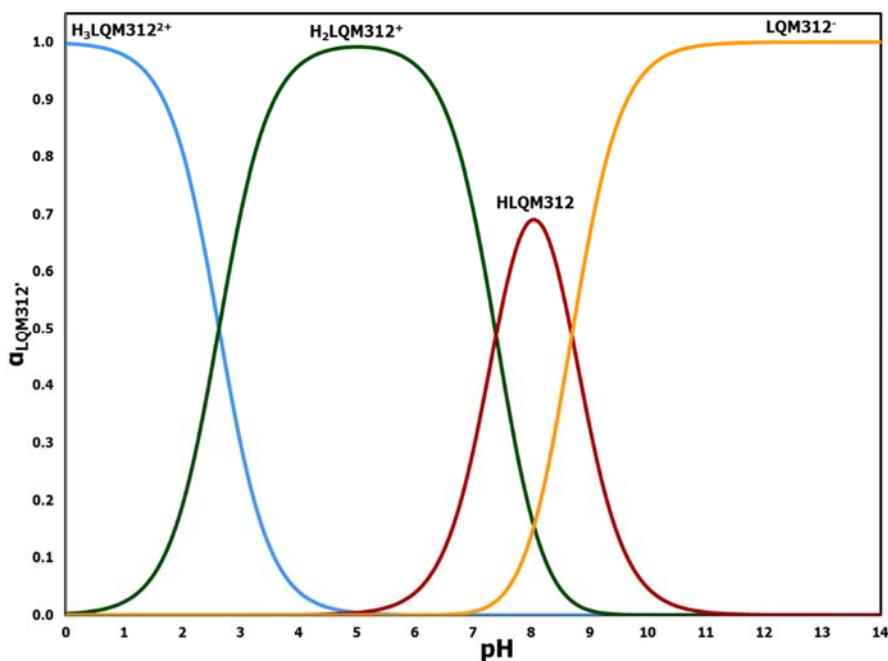
Refinando los valores de los tres pK_a del LQM312 por partes, se obtiene un mejor ajuste del modelo a los datos experimentales, sobre todo en el intervalo de pH de 4 a 12.17, donde la sumatorio de los residuales al cuadrado da de 0.0015. En el primer intervalo de pH, en donde se refina el valor del pK_{a1} , el valor de U sigue siendo 0.006. Los pK_a del LQM312, refinados en dos partes, son: 2.63, 7.39 y 8.69.

En la Gráfica 7.17 se encuentran graficados los coeficientes de absorptividad molar de la especie $H_2LQM312^+$ dados por SQUAD en cada uno de los refinamientos de las constantes (zona ácida y zona básica).



Gráfica 7.17. Coeficientes de absorptividad molar calculados por SQUAD de la especie $H_2LQM312^+$.

En ambos refinamientos, los coeficientes de absorptividad molar de la especie $H_2LQM312^+$ son prácticamente iguales en el intervalo de longitud de onda de 260 a 512 nm. Con los nuevos valores de pK_a se construyó el diagrama de distribución de especies (Gráfica 7.18).

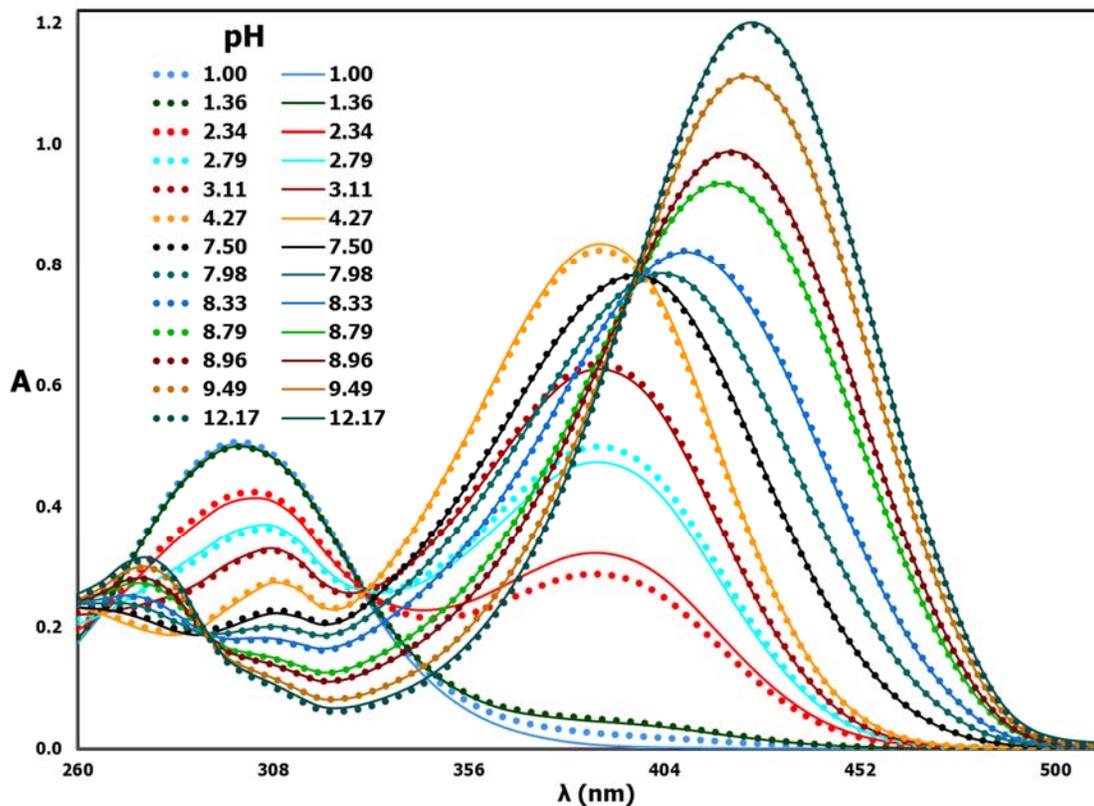


Gráfica 7.18. Diagrama de distribución de especies ácido-base del LQM312.



Con los valores de pK_a refinados en dos partes, la especie neutra, HLQM312) sigue comportándose como un anfólito semiestable ($K_D=0.05$) y la mayor fracción que puede formarse de ésta es de 69%, fijando el pH en 8.

Por último, se reconstruyeron los espectros de absorción con los nuevos valores de pK_a refinados y con los coeficientes de absorptividad molar dados por SQUAD en ambos refinamientos (Gráfica 7.19).



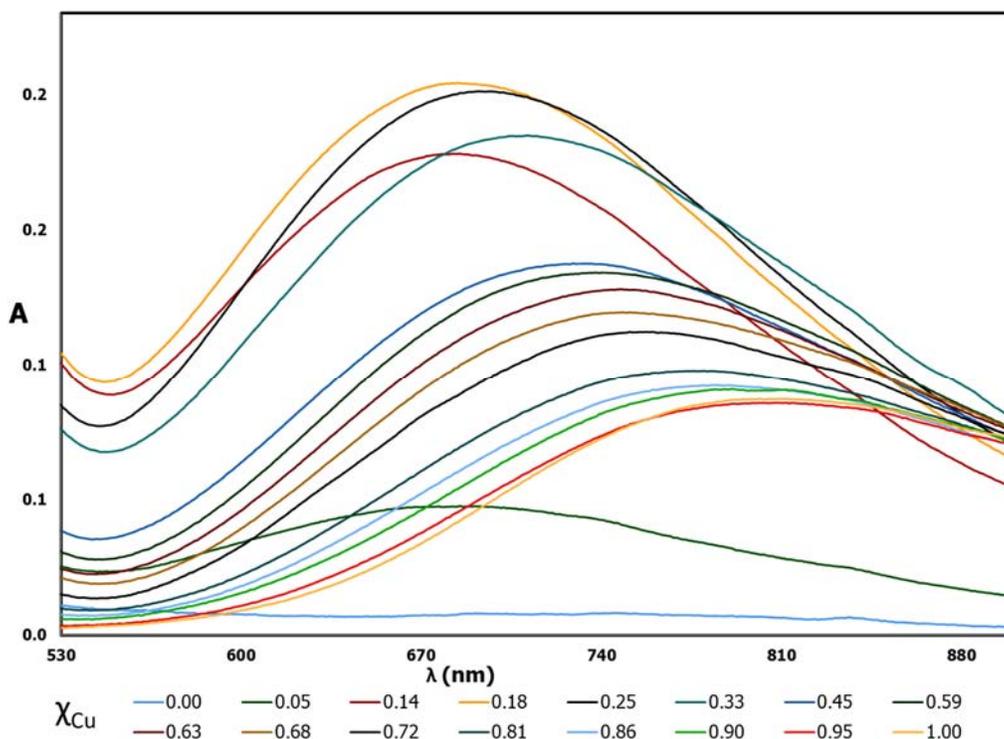
Gráfica 7.19. Espectros de absorción de LQM312 6×10^{-5} M. Las líneas continuas son los espectros experimentales y las líneas punteadas los espectros teóricos.

Se ajusta mejor el modelo a los datos experimentales cuando el refinamiento de las constantes de realiza por partes, sobre todo en la zona básica. Tanto la desviación y el valor de U son menores que los respectivos cuando se hace el refinamiento con todos los espectros que abarcan el intervalo de pH de 1.00 a 12.71.

7.2 Determinación de las constantes de formación LQM312-Cu (II).

Para la determinación de las constantes de formación de los complejos formados entre Cu^{2+} y LQM312 se impuso un pH alrededor de 6 porque a valores mayores de pH se forma un precipitado, lo cual complica el estudio por espectrofotometría.

El primer experimento realizado fue el de las variaciones continuas debido a que es un experimento exploratorio en el cual se forman mezclas de metal ligante con todas relaciones molares posibles. Los espectros determinados a cada sistema en el método de Job se presentan en Gráfica 7.20.

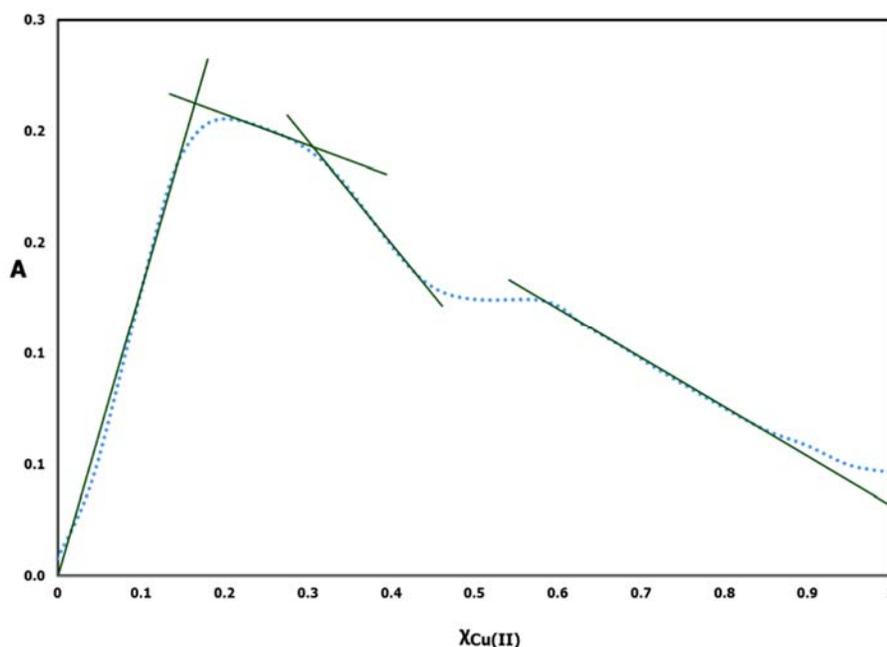


Gráfica 7.20. Espectros de absorción determinados a los sistemas del método de Job.

En la Gráfica 7.20 se observa que al aumentar la fracción de Cu (II) la banda de absorción sufre un efecto hipercrómico hasta la fracción de 0.18. Después de esto, la banda tiene un efecto hipocrómico y batocrómico hasta llegar a la banda característica de Cu^{2+} .



Para realizar la gráfica típica del método de Job, es necesario elegir una longitud de onda en la cual solamente absorba el complejo que predomine, además, de que se asegura que el sistema sigue la Ley de Beer. En este caso, se eligió la longitud de 692 nm, que es donde se presenta el máximo de absorbancia entre los espectros determinados a los sistemas preparados para el método de Job. En la Gráfica 7.21 se muestra la dependencia de la absorbancia con respecto a la fracción molar de Cu^{2+} .

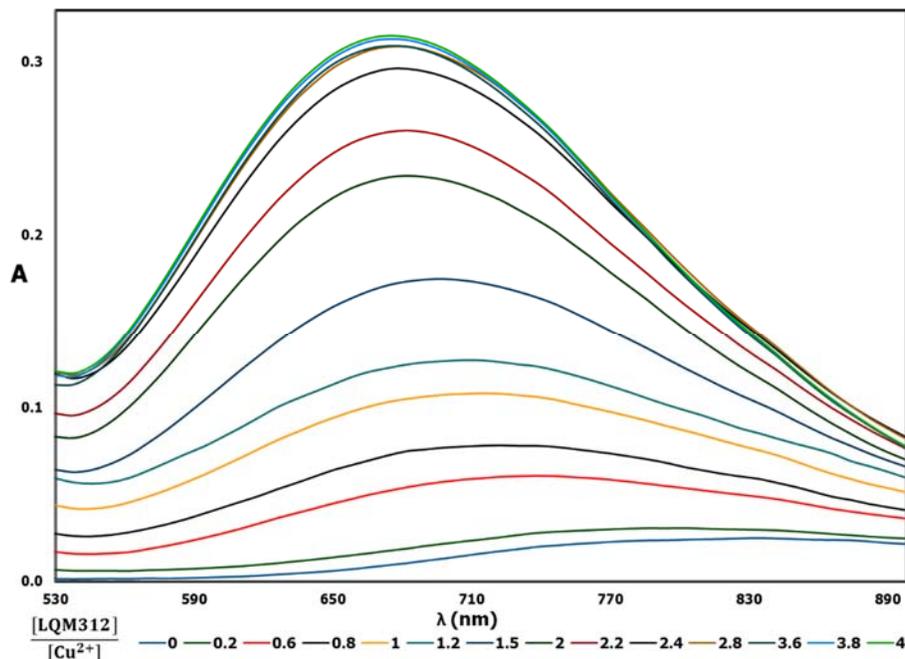


Gráfica 7.21. Gráfica típica del método de Job para la formación de complejos entre Cu (II) y LQM312.

En la Gráfica 7.21 se aprecia que entre el LQM312 y el Cu (II) se puede suponer la presencia de tres complejos. Las relaciones estequiométricas probables de los complejos formados son: $\text{CuLQM312}'$, $\text{Cu(LQM312)}_2'$, $\text{Cu(LQM312)}_3'$. Se coloca un apóstrofe a los complejos porque el ligante puede encontrarse desprotonado o protonado.

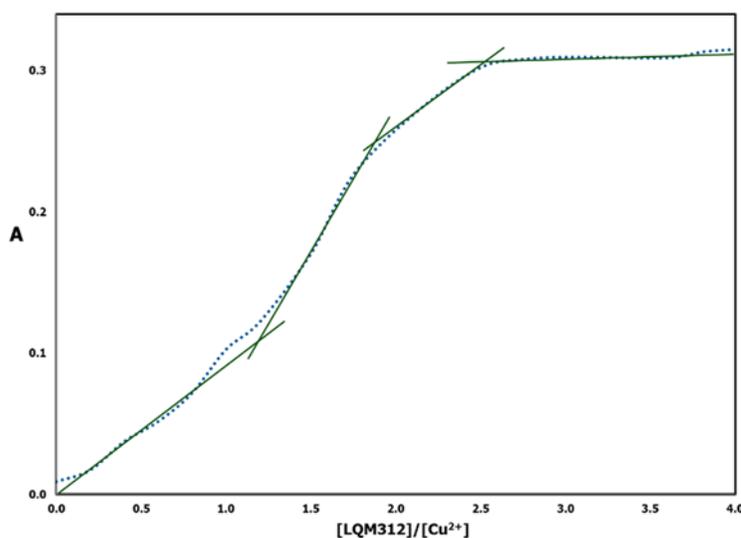
Por otro lado, en el experimento de relaciones molares manteniendo fija la concentración de metal en todos los sistemas se obtuvo un resultado muy semejante. Los espectros determinados se presentan en la Gráfica 7.22.

DETERMINACIÓN DE LAS CONSTANTES DE DISOCIACIÓN ÁCIDA DEL 2,6-BIS(MORFOLIN-4-ILMETIL)-4-NITROFENOL Y DE LAS CONSTANTES DE FORMACIÓN DE COMPLEJOS CON Cu (II).



Gráfica 7.22. Espectros de absorción determinados de los sistemas de relaciones molares.

En la Gráfica 7.22 se observa que al ir aumentando la concentración de ligante, la banda de absorción se modifica. Los efectos que presentan las bandas son hipercrómico e hipsocrómico. La curva típica de relaciones molares de trazó tomando los valores de absorbancia en una longitud de onda de 672 nm debido a que en ésta es donde se observa la máxima absorción (Gráfica 7.23).

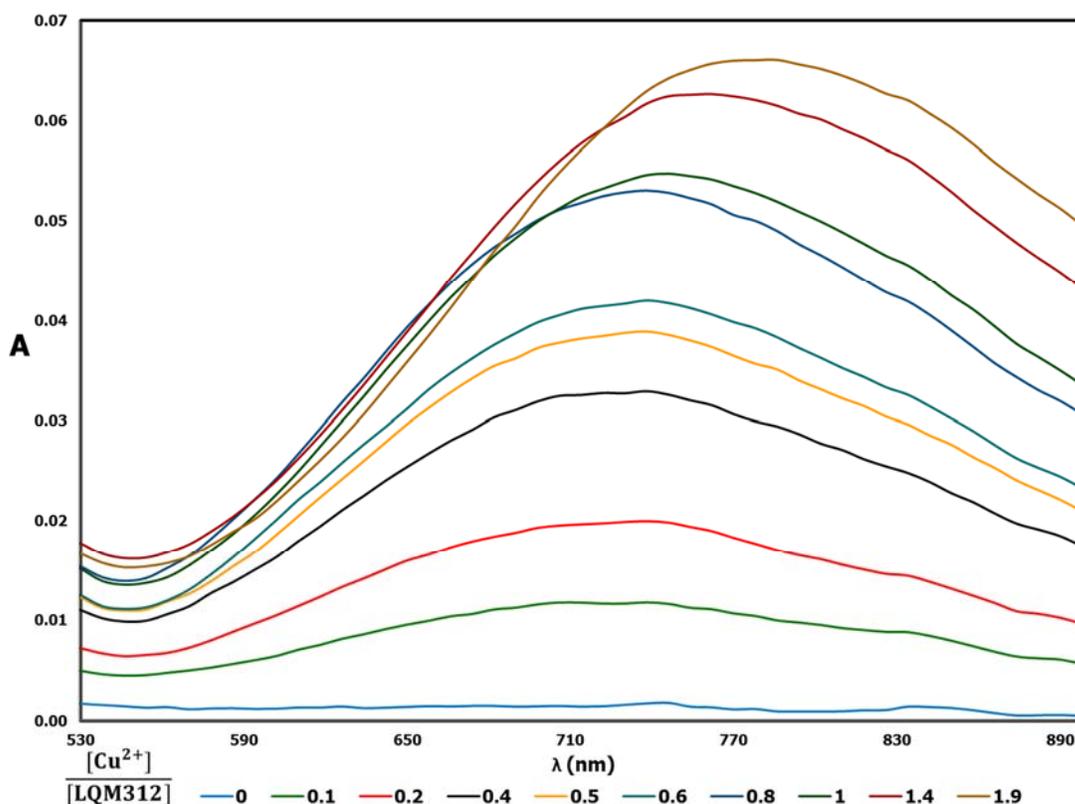


Gráfica 7.23. Gráfica típica de relaciones molares fijando la concentración de Cu²⁺.



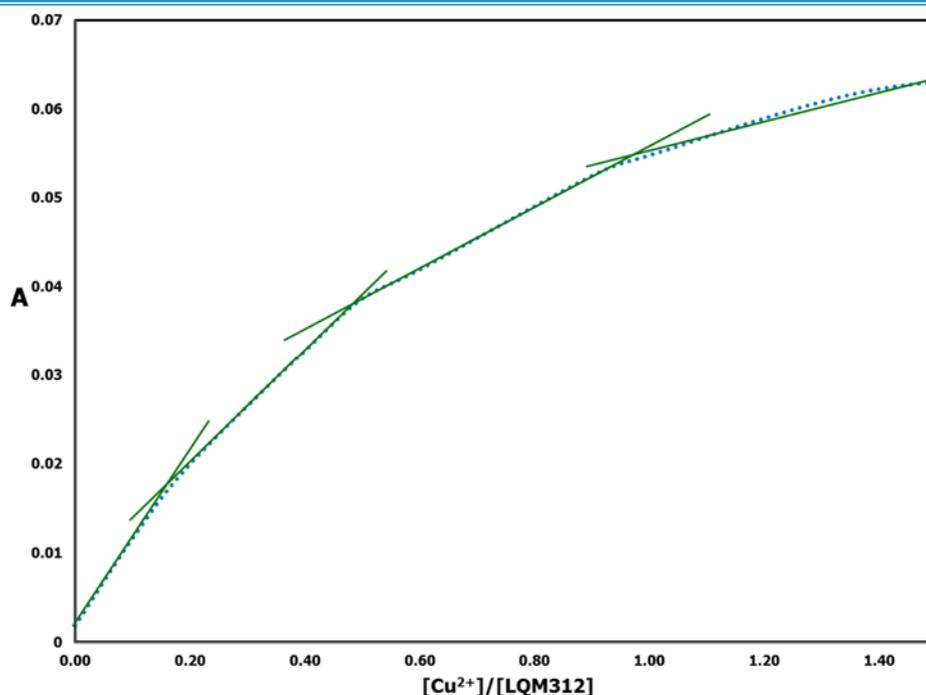
Al igual que en el gráfico del método de Job, existe la posibilidad de la formación de 3 complejos cuya relación estequiométrica es 1:1, 1:2 y 1:3 ($\text{CuLQM312}'$, $\text{Cu}(\text{LQM312})_2'$, $\text{Cu}(\text{LQM312})_3'$).

El tercer experimento realizado fue el de relaciones molares fijando la concentración de ligante. La concentración de LQM312 fijada fue de 0.002 M. Los espectros determinados a los sistemas preparados para este experimento se presentan en la gráfica 7.24.



Gráfica 7.24. Espectros de absorción determinados a las soluciones preparadas para el método de relaciones molares.

En la Gráfica 7.24 se ve cómo se va modificando la banda de absorción conforme aumenta la concentración de Cu^{2+} . El máximo de absorbancia se alcanza en 778 nm. El gráfico típico de relaciones molares se presenta en la Gráfica 7.25.



Gráfica 7.25. Gráfico de relaciones molares fijando la concentración de ligante.

De acuerdo a la Gráfica 7.25, se forman tres complejos entre el ion Cu (II) y el LQM312. Se detecta la formación de un complejo en cada cambio pronunciado en la pendiente de la curva, dichos cambios se encuentran en 0.3, 0.5 y 1.2. Estos puntos corresponden a los complejos $CuLQM312'$, $Cu(LQM312)_2'$, $Cu(LQM312)_3'$.

Teniendo la certeza de que se forman tres complejos mononucleares, se utilizaron los programas TRIANG, para determinar el número de especies químicas que absorben radiación en el intervalo de longitud de onda elegido, y SQUAD para refinar los valores de las constantes de formación de cada complejo.

Para el programa TRIANG se utilizó un intervalo de error en transmitancia de $0.003 < \Delta T < 0.01$. Para el método de Job se utilizaron 16 espectros, para el método de relaciones molares fijando la concentración de metal fueron 14 espectros y para el método de relaciones molares fijando la concentración de ligante 12. Todos contenían 47 datos de absorbancia determinados cada 8 nm desde 530 hasta 898 nm. En la tabla 7.6 se presenta los resultados de TRIANG para cada uno de los experimentos.



Tabla 7.6. Resultados dados por TRIANG para determinar el número de especies que absorben en el intervalo de longitud de onda de $530 < \lambda < 898$ para los tres experimentos.

ΔT	Método de Job	Relaciones molares $[Cu^{2+}] = 0.002 M$	Relaciones molares $[LQM312] = 0.002 M$
0.003	3	3	2
0.004	3	3	2
0.005	3	3	2
0.006	3	3	2
0.007	3	3	2
0.008	3	2	1
0.009	2	2	1
0.010	2	2	1

En el intervalo de longitudes de onda seleccionado, el Cu^{2+} absorbe, pero el ligante no. Según el cálculo realizado por TRIANG, para el método de Job y el de relaciones molares fijando la concentración del Cu^{2+} existen tres especies que absorben radiación en dicho intervalo de longitudes de onda, esto significa que, se forman dos complejos.

Otro método para determinar el número de especies que absorben energía UV-Vis es el Análisis de Componente Principal (PCA). El Dr. Alberto Rojas realizó el análisis de los datos de absorbancia mediante el método de PCA, para corroborar los resultados de TRIANG. En ambos métodos, los resultados son los mismos. El Análisis por PCA de los datos se encuentra en el anexo de este trabajo.

En la tabla 7.7 se presentan los modelos propuestos para que SQUAD realizara el refinamiento de las constantes de formación.

Tabla 7.7. Modelos propuestos para el refinamiento de las constantes de formación de los complejos formados entre Cu (II) y LQM312.

No. De equilibrios	Modelo
2	$\text{Cu}(\text{LQM312})^+$
	$\text{Cu}(\text{LQM312})_2$
2	CuHLQM^{2+}
	$\text{Cu}(\text{LQM312})_2$
2	CuHLQM312^{2+}
	$\text{Cu}(\text{HLQM312})_2^{2+}$
3	CuHLQM312^{2+}
	$\text{Cu}(\text{HLQM312})_2^{2+}$
	$\text{Cu}(\text{HLQM312})_3^{2+}$

Teniendo en cuenta que se forman de dos a tres complejos, se alimentó el programa SQUAD para refinar el valor de las constantes de formación de cada complejo. Para SQUAD, se tomaron 16 espectros para el método de Job, 14 para el método de relaciones molares a Cu^{2+} fijo y 12 para el de relaciones molares fijan do la concentración de ligante. Cada espectro contenía 47 datos de absorbancia determinada cada 8 nm en un intervalo de longitudes de onda de 530 a 898 nm.

Se propusieron 4 modelos químicos, teniendo en cuenta el número de complejos que se formaban, así como la protonación del ligante.

El mejor ajuste se da cuando el ligante se encuentra enlazado a un protón en el complejo. La especie predominante de ligante a pH de 6 es $\text{H}_2\text{LQM312}^+$ con una fracción de 96 %, el restante, es la forma neutra HLQM312 y es la que forma los complejos con Cu^{2+} . Además, el ligante HLQM312 es bidentado ya que los pares de electrones sin compartir se encuentran en el oxígeno del fenolato y en un nitrógeno del anillo de morfolina (Figura 7.2). Por lo tanto, el ligante es capaz de formar estructuras quelato con el metal, dando una mayor estabilidad al complejo.

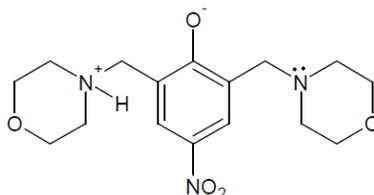


Figura 7.1. Especie neutra, HLQM312.

El modelo que presentó el mejor ajuste fue el de tres equilibrios. Los resultados dados por SQUAD se presentan en la Tabla 7.8.

Tabla 7.8. Resultados obtenidos por SQUAD para un modelo de formación de tres complejos Cu (II)-LQM312.

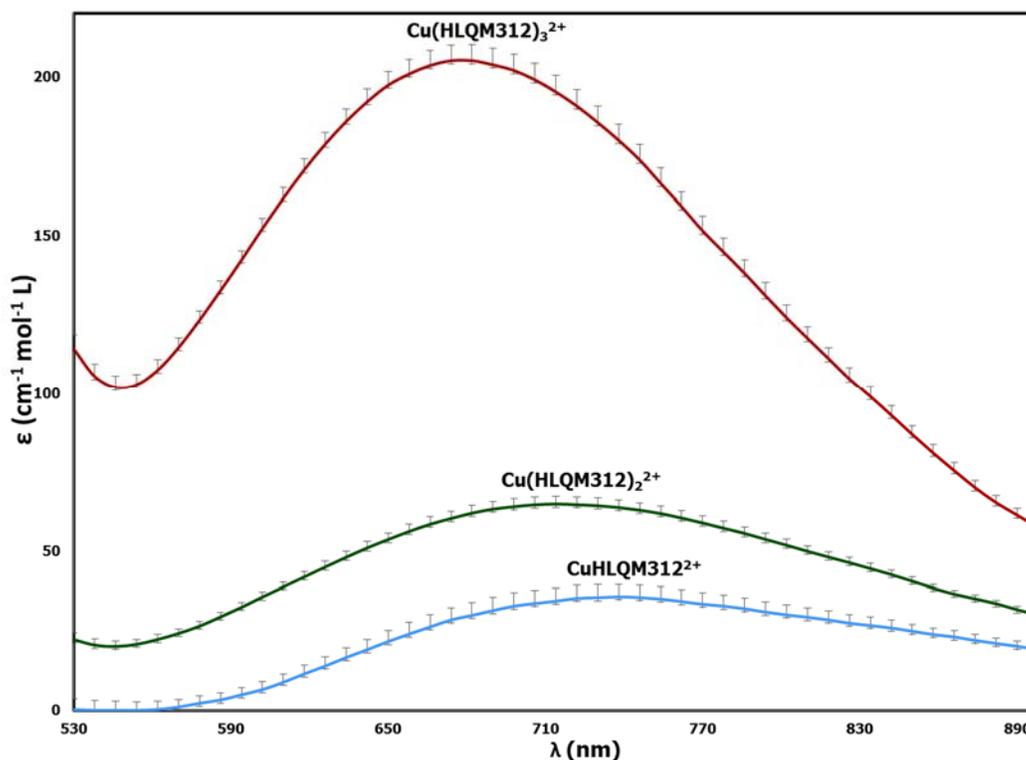
Método	Modelo	Log $\beta \pm \sigma$	σ	U
Método de Job	CuHLQM312 ²⁺	13.3±0.2	4.1867X10 ⁻³	1.066X10 ⁻²
	Cu(HLQM312) ₂ ²⁺	27.2±0.2		
	Cu(HLQM312) ₃ ²⁺	39.2±0.6		
Relaciones molares [Cu²⁺]=0.002 M	CuHLQM312 ²⁺	13.79±0.03	3.6161X10 ⁻³	6.734X10 ⁻³
	Cu(HLQM312) ₂ ²⁺	27.2*		
	Cu(HLQM312) ₃ ²⁺	38.4±0.5		
Relaciones Molares [LQM312]=0.002 M	CuHLQM312 ²⁺	13.5±0.2	1.3225X10 ⁻³	3.631X10 ⁻⁵
	Cu(HLQM312) ₂ ²⁺	27.06±0.06		

*Valor fijado en el refinamiento.

La estadística es buena, ya que el valor de σ tiene una magnitud de 10⁻³ en los tres refinamientos además de que los valores refinados son muy semejantes. En el experimento de relaciones molares fijando la concentración de metal fue necesario fijar el valor de la constante de formación del complejo Cu(HLQM312)₂²⁺ para que el programa convergiera.

Por otro lado, en el experimento de relaciones molares fijando la concentración de ligante sólo se pudo refinar los valores de las constantes de formación de dos complejos: CuHLQM312²⁺ y Cu(HLQM312)₂²⁺ ya que la concentración utilizada de ligante no fue la suficiente para formar el complejo Cu(HLQM312)₃²⁺.

En la Gráfica 7.26 se presentan los coeficientes de absorptividad molar calculados por SQUAD de cada complejo alimentando al programa con los datos de absorbancia del método de Job.



Gráfica 7.26. Coeficientes de absorptividad molar de los tres complejos calculados por SQUAD.

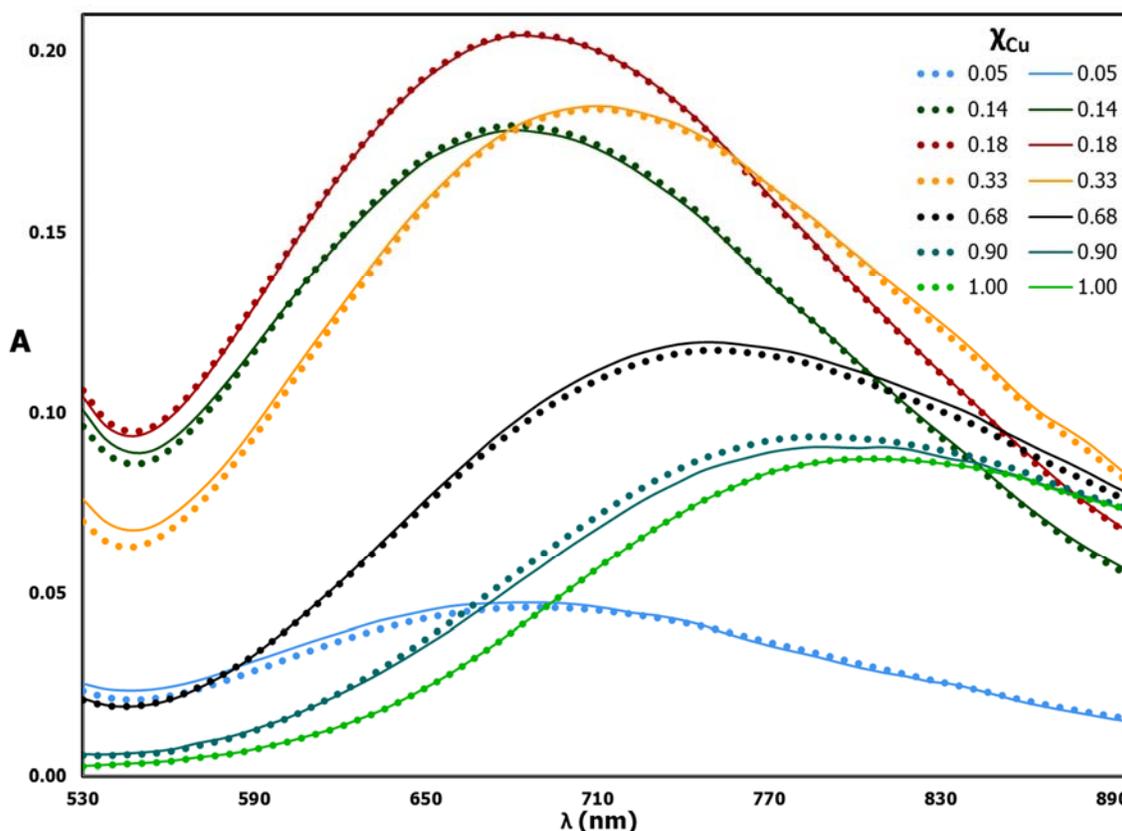
Con los valores de las constantes de formación de los complejos y de los pKa del ligante se calcularon las concentraciones de cada componente en los sistemas preparados para el método de Job para así reconstruir los espectros de absorción y compararlos con los experimentales.

Se calcularon las concentraciones al equilibrio de cada componente con ayuda del programa MEDUSA. El programa calcula la fracción molar de cada especie en el sistema en función de la concentración total de metal o ligante. Posteriormente la concentración se obtiene multiplicando la fracción molar por la concentración total de metal o ligante.



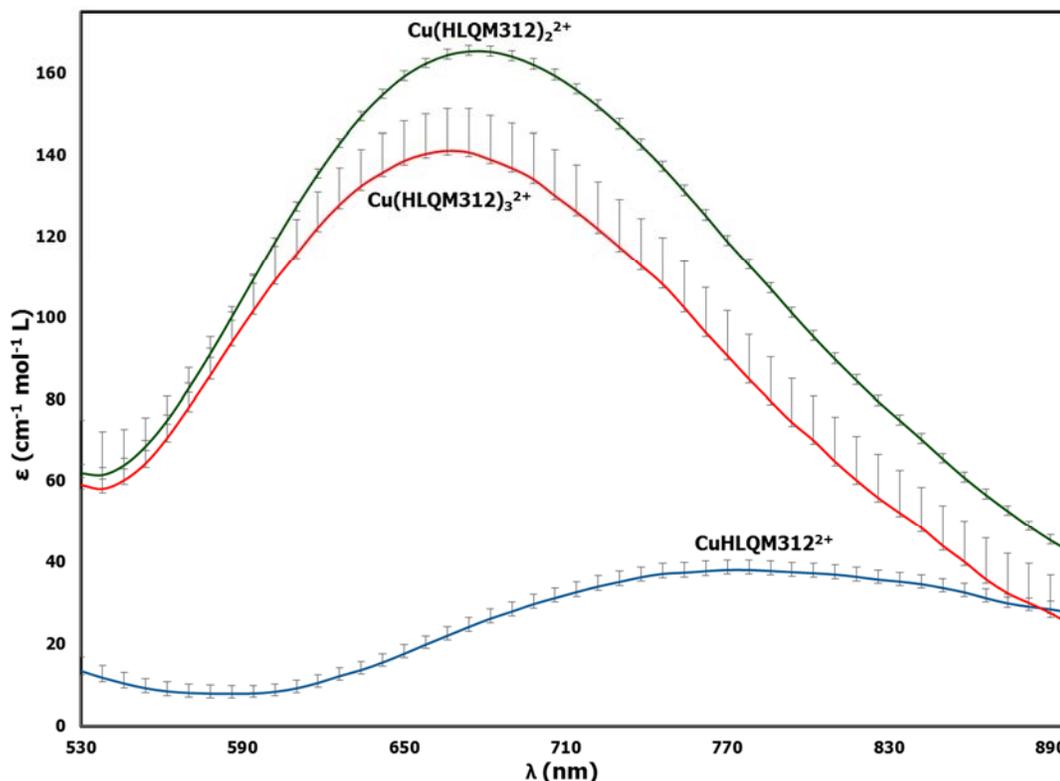
La absorbancia de cada sistema es la sumatoria de la absorbancia de cada componente que es el producto de su concentración por el coeficiente de absorptividad molar a cierta longitud de onda y por la longitud de paso óptico de la celda utilizada (1 cm).

En la Gráfica 7.27 se muestran graficados tanto los espectros experimentales y los teóricos.



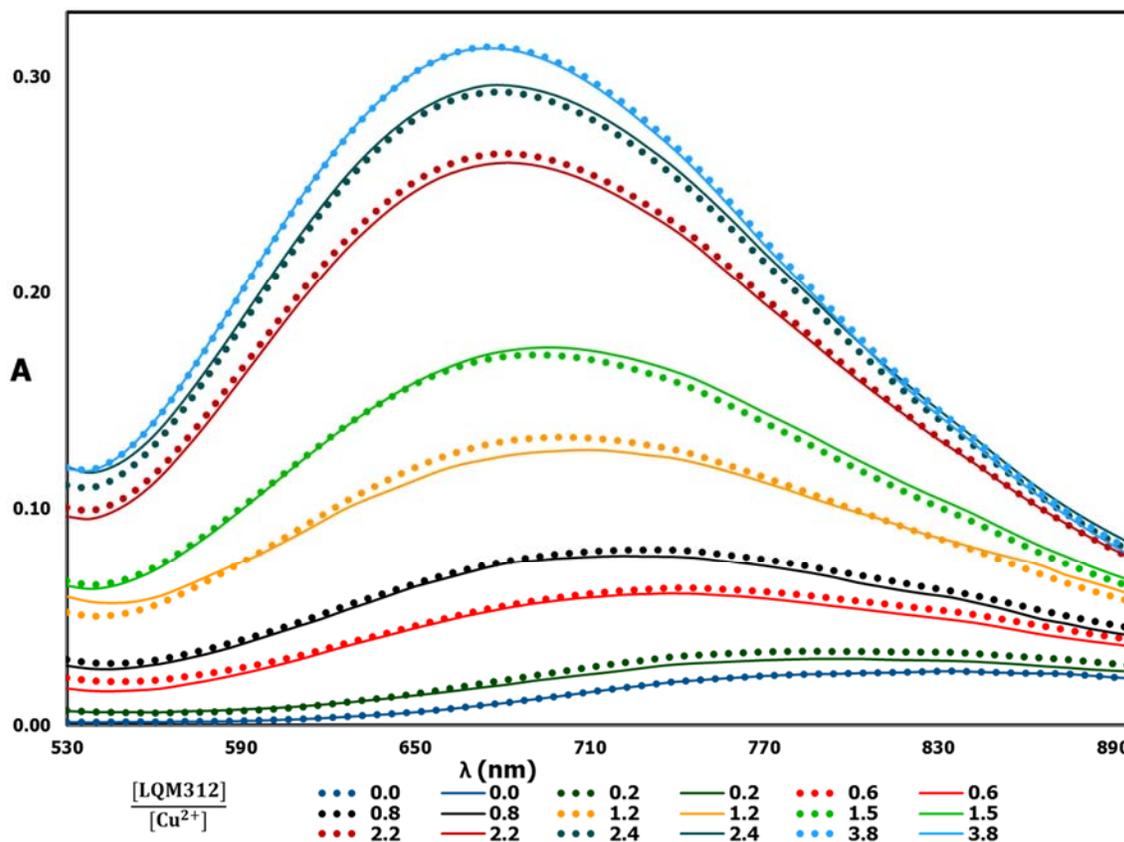
Gráfica 7.27. Simulación de los espectros. Los espectros con línea continua son los experimentales mientras que los de línea punteada corresponden a los espectros teóricos.

En la Gráfica 7.28 se muestran los coeficientes de absorptividad molar calculados por SQUAD cuando al programa se le alimentan con los datos de absorbancia del experimento correspondiente al método de relaciones molares manteniendo fija la concentración de metal.



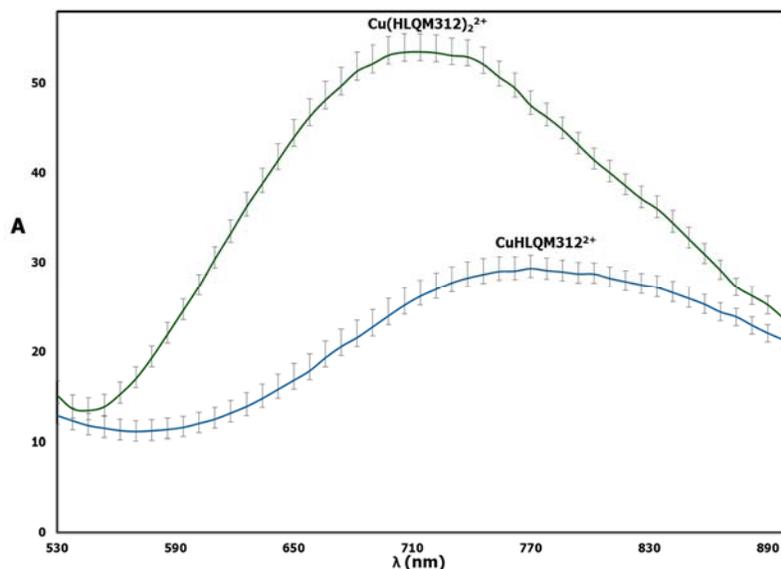
Gráfica 7.28. Coeficientes de absorptividad molar calculados por SQUAD utilizando los datos de del experimento de relaciones molares fijando la concentración de Cu (II).

Los coeficientes calculados por SQUAD utilizando los datos de absorbancia del experimento correspondiente al método de relaciones molares fijando la concentración del metal no son iguales a los calculados con los datos del método de Job. En ambos casos, el coeficiente de absorptividad molar máximo se presentan en 682 nm, para el método de Job, éste valor corresponde al complejo $\text{Cu}(\text{HLQM312})_3^{2+}$ y para el método de relaciones molares fijando la concentración de Cu (II) es para el complejo $\text{Cu}(\text{HLQM312})_2^{2+}$. A pesar de esto, los espectros teóricos se ajustan a los espectros experimentales, es decir, el modelo propuesto explica la formación de los complejos. (Gráfica 7.29).



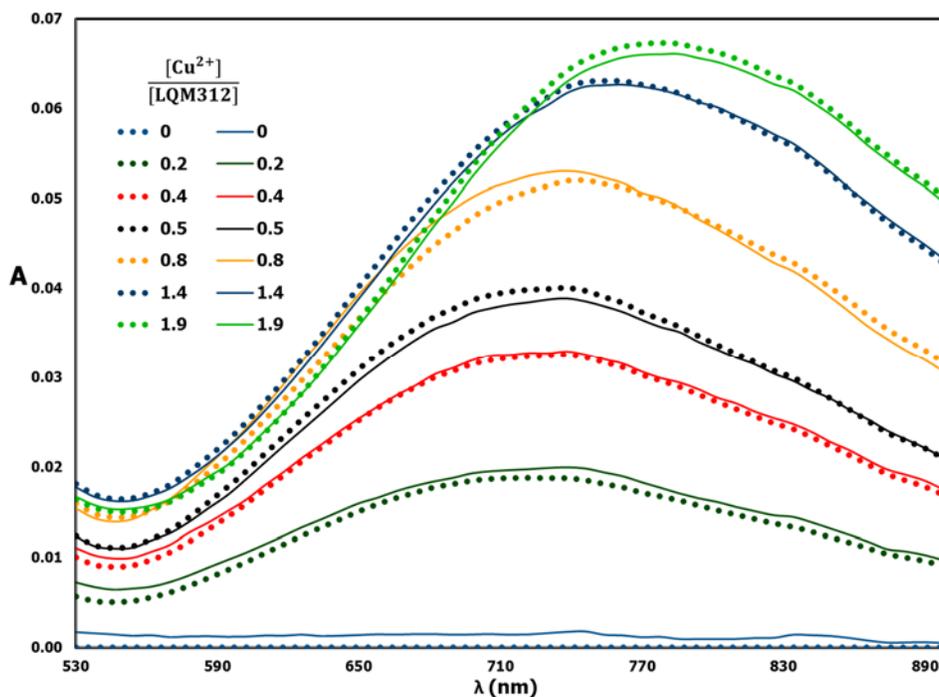
Gráfica 7.29. Espectros de absorción teóricos (líneas punteadas) y experimentales (líneas continuas) correspondientes al método de relaciones molares fijando la concentración de metal.

Por otro lado, en el refinamiento de las constantes de formación de los complejos formados en el método de relaciones molares fijando la concentración de ligante, solamente se refinaron los valores de las constantes correspondientes a los complejos CuHLQM312^{2+} y $\text{Cu}(\text{HLQM312})_2^{2+}$ debido a que el tercer complejo, $\text{Cu}(\text{HLQM312})_3^{2+}$ no se forma porque la concentración de ligante no es lo suficientemente grande para dar lugar a dicho complejo. En la Gráfica 7.30 se presentan los coeficientes de absorptividad molar, en función de la longitud de onda, calculados por SQUAD. En este caso, el coeficiente de absorptividad máximo se presenta en 714 nm y corresponde al complejo $\text{Cu}(\text{HLQM312})_2^{2+}$.



Gráfica 7.30. Coeficientes de absorptividad molar calculados por SQUAD con los datos de absorbancia del método de relaciones molares fijando la concentración de ligante.

Con los valores de los coeficientes de absorptividad calculados por SQUAD y con las constantes refinadas, se graficaron los espectros teóricos y experimentales sobre un mismo plano (Gráfica 7.31).



Gráfica 7.31. Espectros de absorción teóricos (líneas punteadas) y experimentales (líneas continuas) Para el método de relaciones molares fijando la concentración de LQM312.



En los tres experimentos, los espectros teóricos son muy parecidos a los experimentales. Esto quiere decir que el modelo propuesto de la formación de tres complejos se ajusta a lo observado experimentalmente y que los valores de las constantes de formación son correctos.

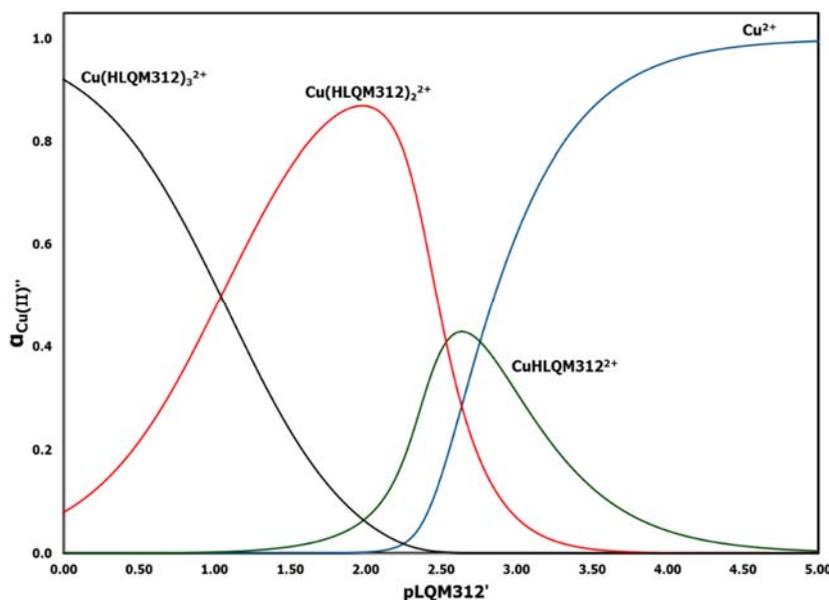
Se construyeron los diagramas de distribución de especies correspondientes a los experimentos de relaciones molares utilizando las constantes que tuvieron una mejor estadística. Dichas constantes son:

$$\log \beta_1 = 13.79 \pm 0.03$$

$$\log \beta_2 = 27.06 \pm 0.06$$

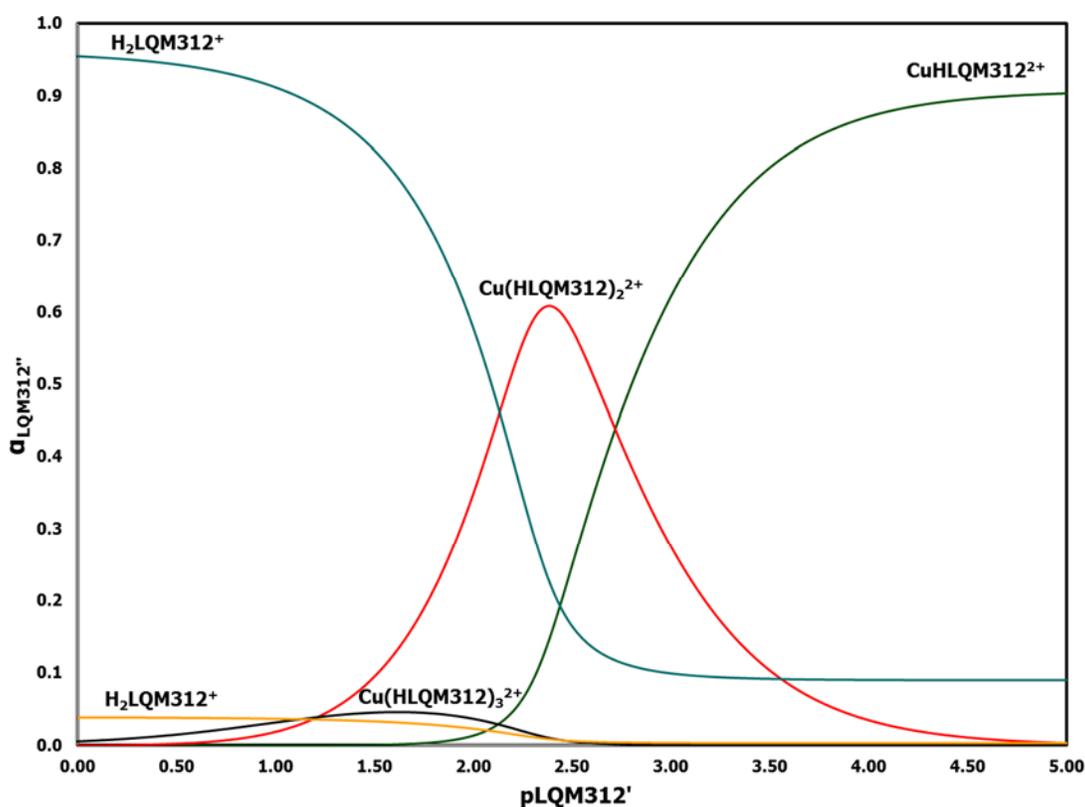
$$\log \beta_3 = 38.40 \pm 0.50$$

En la Gráfica 7.32 se presenta el diagrama de distribución de especies de Cu (II) en función del pLQM312' cuando la concentración de ion metálico es constante e igual a 0.002 M. El complejo CuHLQM312²⁺ es semiestable mientras que los otros dos complejos llegan a predominar: el Cu(HLQM312)₂²⁺ predomina en el intervalo 1.04 ≤ pLQM312' ≤ 2.54 y el complejo Cu(HLQM312)₃²⁺ a pLQM312' mayores de 2.75.



Gráfica 7.32. Diagrama de distribución de especies de Cu (II) en función del pLQM312'. pH=6 [Cu²⁺]=0.002 M.

En la Gráfica 7.33 se muestra el diagrama de distribución de especies de LQM312 en función del pLQM312' y concentración de Cu (II) de 0.002 M. A pLQM312 menores a 2.13 predomina la especie diprótica del ligante, $H_2LQM312^+$, ya que es la especie ácido base que predomina al pH ajustado (6.0). Se observa la formación del complejo $Cu(HLQM312)_3^{2+}$ en el intervalo de $0 \leq pLQM312 \leq 2.58$. El complejo $Cu(HLQM312)_2^{2+}$ es semiestable y la fracción máxima que se puede formar es de 61% a un $pLQM312'=2.4$. El complejo $CuHLQM312^{2+}$ predomina a pLQM312' mayores a 2.73.

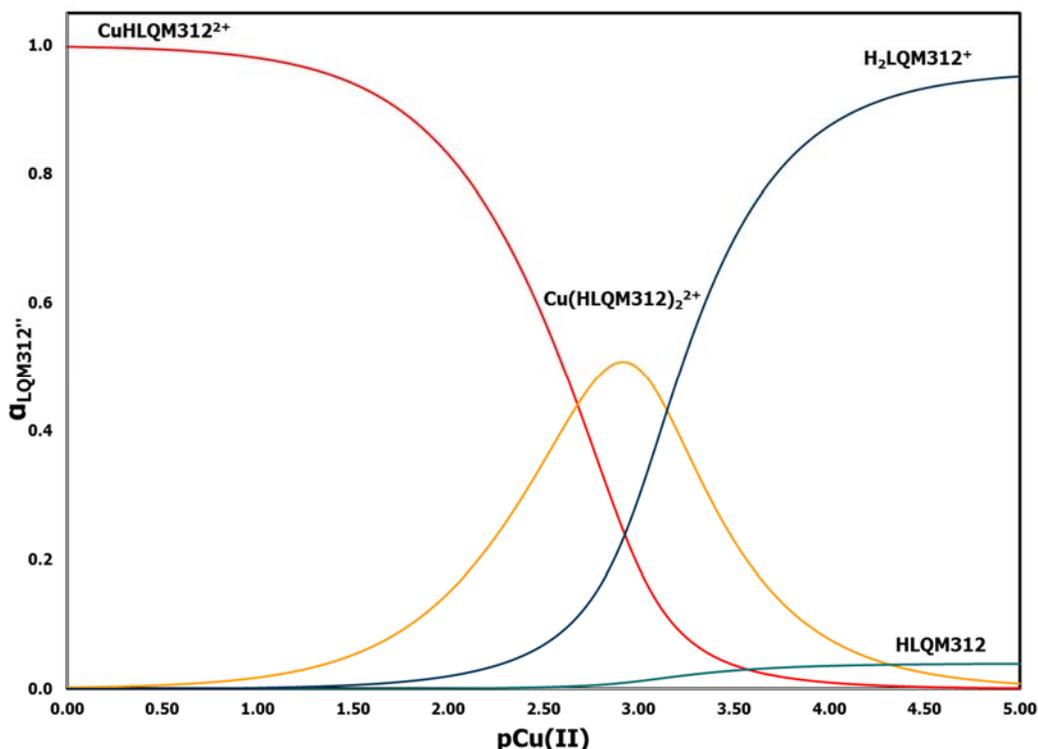


Gráfica 7.33. Diagrama de distribución de especies de LQM312'' en función del pLQM312'. pH=6, [Cu²⁺]=0.002 M.

En la Gráfica 7.34 se muestra el diagrama de distribución de especies de LQM312 en función del pCu(II)' cuando la concentración de ligante se mantiene en 0.002 M. En este se observa que el complejo $Cu(HLQM312)_3^{2+}$ no se forma ya que a pCu(II)' mayores a 3.15 la especie de LQM312 que predomina es la especie diprótica.

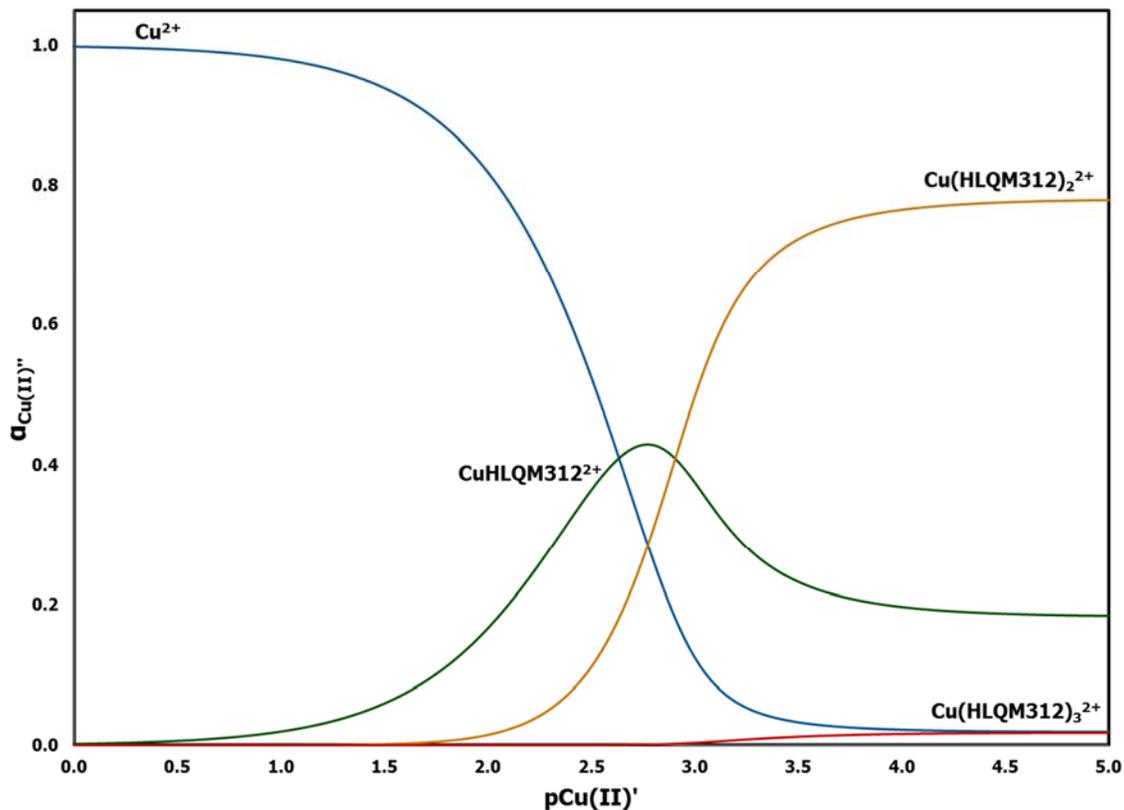


El complejo CuHLQM312^{2+} tiene una zona de predominio a pCu(II) menores a 2.65 porque en este valor de pCu(II) la concentración de ligante y metal son iguales. El complejo $\text{Cu(HLQM312)}_2^{2+}$ es semiestable y la fracción máxima que se forma es de 50% a un $\text{pCu(II)}=2.95$, que corresponde a la condición estequiométrica para la formación de este complejo.



Gráfica 7.34. Diagrama de distribución de especies de LQM312'' en función del pCu(II) . $\text{pH}=6$ y $[\text{LQM312}]=0.002 \text{ M}$.

En la Gráfica 7.35 se presenta el diagrama de distribución de especies de Cu(II) en función del pCu(II) . En este se observa que el complejo $\text{Cu(HLQM312)}_2^{2+}$ es la especie predominante a pCu(II) menores a 2.63. El complejo CuHLQM312^{2+} es inestable, y la mayor fracción que se forma es de 43% a $\text{pCu(II)}=2.78$. El complejo $\text{Cu(HLQM312)}_3^{2+}$ se comienza a formar a pCu(II) mayores a 2.95. En el experimento, el valor máximo de pCu(II) al que se llegó fue de 2.40, y es por esto que no se pudo refinar el valor de la constante de formación de este complejo.



Gráfica 7.35. Diagrama de distribución de especies de Cu(II) en función del $pCu(II)'$. $pH=6$, $[LQM312]=0.002$ M.

El compuesto LQM312 forma tres complejos con Cu^{2+} en solución acuosa y la especie que actúa como ligante es la neutra, HLQM312. En la tabla 7.9 se presentan las probables estructuras de los tres complejos.



Tabla 7.9. Estructuras propuestas de los complejos formados entre Cu (II) y LQM312.

Complejo	Estructura
CuHLQM312^{2+}	
$\text{Cu}(\text{HLQM312})_2^{2+}$	
$\text{Cu}(\text{HLQM312})_3^{2+}$	

8. CONCLUSIONES



- El 2,6-bis(morfolin-4-ilmetil)-4-nitrofenol (LQM312) es soluble en agua a concentraciones diluidas y se mantiene así a cualquier valor de pH.
- El LQM312 en medio ácido presenta un máximo de absorbancia en 300 nm, mientras que en medio básico se presentan dos máximos, uno en 277 nm y el segundo en 423 nm. El cambio en las bandas de absorción y la aparición de puntos isosbéticos son indicios de que al ir variando el pH de la solución de LQM312, se presentan diferentes especies ácido-base.
- Con el programa TRIANG se determinó que el compuesto LQM312 puede formar cuatro especies ácido-base: $H_3LQM312^{2+}$, $H_2LQM312^+$, $HLQM312$ y $LQM312^-$. En otras palabras, el compuesto LQM312 es un ácido triprótico.
- Los valores de pKa refinados por SQUAD del compuesto LQM312 son: 2.6304, 7.3919 y 8.6937. De acuerdo a estos valores, la especie neutra, $HLQM312$, es un anfolito semiestable; las demás especies llegan a predominar en cierto intervalo de pH.
- Con los segundos valores de pKa y los coeficientes de absorptividad molar calculados por SQUAD se simularon los espectros de absorción teóricos. La simulación de los espectros de absorción funcionó para corroborar que el modelo tridonador es el que explica el comportamiento ácido-base del LQM312.
- El compuesto LQM312 forma complejos con el ion Cu (II) en medio acuoso. La especie de LQM312 que actúa como ligante, a un pH de 6, es la especie neutra ($HLQM312$). Los complejos son: $CuHLQM312^{2+}$, $Cu(HLQM312)_2^{2+}$ y $Cu(HLQM312)_3^{2+}$. Esto se determinó por espectrofotometría UV-Visible mediante los métodos de variaciones continuas (Método de Job) y el de las relaciones molares.
- Los datos de absorbancia se analizaron con los programas TRIANG y SQUAD y el modelo químico que tuvo un mejor ajuste (valor de U menor) fue aquel que explica la formación de tres complejos.

- Los valores refinados de $\log\beta$ para los complejos son: $\text{Log}\beta_1=13.7887\pm 0.0317$, $\text{Log}\beta_2=27.2215\pm 0.1660$ y $\text{Log}\beta_3=38.3908\pm 0.5274$ respectivamente.
- La simulación de los espectros teóricos corrobora que el compuesto LQM312 forma tres complejos con Cu(II) a un pH de 6.

Perspectivas

Conociendo los valores de pKa del compuesto LQM312, se establece las zonas de predominio de las especies ácido-base de este. Así, es posible estudiar la actividad farmacológica de cada especie y reconocer cuál de las cuatro es la responsable de la actividad antihipertensiva o de acentuarla.

En este trabajo se llegó a la conclusión de que el ion Cu (II) forma tres complejos con el compuesto LQM312 como ligante en medio acuoso cuando el pH del medio es igual a 6. La actividad biológica de éstos complejos puede ser analizada en solución o agregando un agente precipitante para estudiarlo en estado sólido.

9. REFERENCIAS



- Abrego, V., Martínez Pérez, B., Torres, L., Ángeles, E., Martínez, L., Marroquin Pascual, J., . . . Rojas Hernández, A. (2010). Antihypertensive and antiarrhythmic properties of a para-hydroxy[bis(ortho-morpho...)]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45, 4622-4630.
- Aguilar Hernández, A. (2012). *Estudio de la interacción química del compuesto LQM314 con el ion metálico Cu(II)*. Cuautitlán Izcalli, Edo. de México: UNAM.
- AHA. (18 de diciembre de 2015). *American Heart Association*. Obtenido de Understanding Blood Pressure Readings: http://www.heart.org/HEARTORG/Conditions/HighBloodPressure/AboutHighBloodPressure/Understanding-Blood-Pressure-Readings_UCM_301764_Article.jsp#.VqfkEvnhCM8
- Alina Soroceanu, L. V. (2016). Assesment of some application potentials for copper complexes of the ligands containing siloxane moiety: Antimicrobial, antifungal, antioxidant and redox activity. *Inorganica Chimica Acta*, 119-123.
- Anónimo. (s.f.). Obtenido de http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Apuntes3_18591.pdf
- Benedí, J. G. (2006). Fármacos Antineoplásicos (I). *Farmacia Profesional*, 60-64.
- Bragulat, E., & Antonio, M. (2001). Tratamiento farmacológico de la hipertensión arterial: fármacos antihipertensivos. *Medicida Integral*, 37(5), 215-221.
- Briones Beltrán, C. (2009). *Determinación de la actividad hipotensora de los compuestos morfólicos (LQM302, LQM312), tiomorfolínicos (LQM324, LQM337) y piperidínicos (LQM335, LQM336, LQM344 y LQM345) en rata Wistar anestesiada*. Cuautitlán Izcalli, Edo. de México: UNAM.
- Correa Bernal, A. (2011). *Análisis histológico de aorta de rata Wistar, hipertensa inducida con sal e hipertensa espontánea y estudio de corazones infartados tratados con compuestos LQM (302, 308, 310, 312, 313, 318, 319, 341, 342 y 345)*. Cuautitlán Izcalli, Edo. de México.: UNAM.
- Daniel, K., Chen, D., Orlu, S., Cindy Cui, Q., Miller, F., & Ping Dou, Q. (2005). Clioquinol and pyrrolidine dithiocarbamate complex with copper to form proteasome inhibitors and apoptosis inducers in human breast cancer cells. *Breasr Cancer Research*, 7(6), R897-R908.

- Daniel, K., Gupta, P., Hope Harbach, R., Guida, W., & Ping Dou, Q. (2004). Organic copper complexes as a new class of proteasome inhibitors and apoptosis inducers in human cancer cells. *Biochemical Pharmacology*, 67, 1139-1151.
- Escutia, D. C. (2012). *Síntesis de complejos de coordinación de cobre (II) derivados del fenol con posible actividad antineoplásica y caracterización mediante técnicas espectroscópicas*. Cuautitlán Izcalli, Estado de México: UNAM.
- Frías González, S., Angeles Anguiano, E., Mendoza Herrera, A., Escutia Calzada, D., & Ordaz Pichardo, C. (2013). Cytotoxic, pro-apoptotic, pro-oxidant, and non-genotoxic activities of a novel copper(II) complex against human cervical cancer. *Toxicology*, 314, 155-165.
- García-Mora, I., Ruíz-Ramírez, L., Gómez-Ruiz, C., Tinoco-Méndez, M., Márquez Quiñones, A., Romero-De Lira, L., . . . Bravo-Gómez, M. (2001). Knigh't's move in the periodic table, from copper to platinum, novel antitumor mixed chelate coppercompounds, casiopeinas, evaluated by in vitro human and murine cancer cell line panel. *Metal Based Drugs*, 8(1), 19-28.
- Gómez Zaleta, B. (2006). *Determinación de las constantes de acidez de la Mangiferina y su interacción con algunos iones metálicos en medio acuoso*. México, D. F.: Universidad Autónoma Metropolitana.
- Gómez-Zaleta, B., Remírez-Silva, M., Gutiérrez, A., González-Vergara, E., Güizado-Rodríguez, M., & Rojas-Hernández, A. (2006). UV/vis, ¹H, and ¹³C NMR spectroscopic studies to determine mangiferin pKa values. *Spectrochimica Acta*, 64, 1002-1009.
- González Terán, R., & Torres Garduño, N. (2012). *Efecto de los compuestos antihipertensivos LQM312 y LQM319 en la captación de glucosa en carsiomicitos aislados de ratas hipertensas por una dieta alta en sal*. Cuautitlán Izcalli, Edo. de México.: UNAM.
- Hansen, L. D. (2010). Simultaneous determination of equilibrium constants and enthalpy changes by titration calorimetry: Methods, instruments, and uncertainties. *Analytical Biochemistry*, 220-229.
- Harris, D. C. (2007). *Análisis Químico Cuantitativo*. Barcelona, España: Reverté.
- Hernández Revuelta, R. I. (2012). *Determinación del efecto de 8 compuestos morfolínicos, 6 compuestos tiomorfolínicos y 1 compuesto dipiperidínico sobre*
-



la contracción de la aurícula derecha de rata Wistar. Cuautitlán Izcalli, Edo. de México: UNAM.

- INEGI. (2013). *Principales causas de mortalidad por residencia habitual, grupos de edad y sexo del fallecido*. Obtenido de <http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/registros/vitales/mortalidad/tabulados/ConsultaMortalidad.asp>
- Instituto Mexicano del Seguro Social. (15 de junio de 2015). *Hipertensión Arterial*. Recuperado el 9 de enero de 2016, de <http://www.imss.gob.mx/salud-en-linea/hipertension-arterial>
- Islas Martínez, J. (2014). *Determinación de constantes de acidez de compuestos piperidínicos, morfolínicos y tiomorfolínicos con propiedades antihipertensivas y evaluación de su capacidad antioxidante*. México, D. F.: Universidad Autónoma Metropolitana.
- Islas Martínez, J. (2014). *Determinación de constantes de acidez de compuestos piperidínicos, morfolínicos y tiomorfolínicos con propiedades antihipertensivas y evaluación de su capacidad antioxidante*. México, D. F.: Universidad Autónoma Metropolitana.
- Islas Martínez, J. M. (2007). *Determinación de las constantes de acidez de compuestos piperidínicos de interés biológico*. México, D. F.: Universidad Autónoma Metropolitana.
- Johnson, R. A. (2015). Dissecting ITC data of metal ions binding to ligands and proteins . *Biochimica et Biophysica Acta*, 1-10.
- KTH, R. I. (26 de Abril de 2013). *School of Chemical Science and Engineering*. Obtenido de Chemical Equilibrium Diagrams: <https://www.kth.se/en/che/medusa>
- Legget, D. J. (1985). *Computational methods for the determination of formation constants*. New York: Plenum Press.
- Lei, J., Xi-Ming, X., Jun, X., Long-Hai, C., Peng, J., Fei-Xiang, C., . . . Ning, T. (2010). Synthesis, characterization, cytotoxic activities, and DNA-Binding studies of ternary Copper(II) complexes with new Coumarin derivatives. *Pharmaceutical Society of Japan*, 58(8), 1003-1008.
-

- López Fuentes, H. (2009). *Determinación de las constantes de acidez de la serie de compuestos LQM: 318, 326 y 328 por espectrofotometría UV-Vis*. Cuautitlán Izcalli, Edo. de México: UNAM.
- López Pacheco, D. N., & Palma Anguino, M. (2012). *Determinación del efecto de los compuestos morfolinicos, tiomorfolinicos y piperidínicos en aorta de rata hipertensa espontánea en presencia de CaCl₂ como agente vasoconstrictor*. Cuautitlán Izcalli, Edo. de México.: UNAM.
- Marroquín Pascual, J. L. (2008). *Determinación de las constantes de acidez de la serie de compuestos LQM: 301, 305 y 337 por espectrofotometría UV-Vis*. Cuautitlán Izcalli, Edo. de México: UNAM.
- Mendoza, D. L. (2015). *Estudio de especiación química del compuesto LQM 314 con el catión Cu (II) en su sal de acetato*. México, D. F.: UNAM.
- Milacic, V., Chen, D., Giovagnini, L., Diez, A., Fregona, D., & Ping Dou, Q. (2008). Pyrrolidine dithiocarbamate-zinc(II) and -copper(II) complexes induce apoptosis in tumor cells by inhibiting the proteasomal activity. *Toxicology and Applied Pharmacology*(231), 24-33.
- Moya Hernández, M. d. (2003). *Estudio de Especiación química de los fármacos antiinflamatorios Tenoxicam y Piroxicam con cationes metálicos de interés biológico*. México, D. F.: Universidad Autónoma Metropolitana.
- NCI. (9 de febrero de 2015). *National Institutes of Health*. Recuperado el 15 de febrero de 2016, de <http://www.cancer.gov/about-cancer/what-is-cancer>
- Nieto, A. J. (17 de abril de 2013). *CNN México*. Recuperado el 9 de enero de 2016, de Las cinco enfermedades más comunes de los mexicanos: <http://mexico.cnn.com/salud/2013/04/17/hipertension>
- Omar Ramón Mejía, M. R. (2006). Bases biológicas y patológicas humanas del metabolismo del cobre. *Universitas Médica*, 55-72.
- Opie, L. H. (2002). *Fármacos en Cardiología* (Tercera ed.). México, D. F.: McGraw-Hill Interamericana Editores S. A. de C. V.
- Organización Mundial de la Salud. (2015). *Antihipertensivos*. Obtenido de Portal de información-Medicamentos esenciales y productos de salud: <http://apps.who.int/medicinedocs/es/d/Js5422s/16.3.html>
- Owen, T. (2000). *Fundamentos de la Espectroscopia UV-Visible moderna*. Alemania.
-



- Puente, J. (23 de marzo de 2015). *Sociedad Española de Oncología Médica*. Recuperado el 23 de agosto de 2016, de ¿Qué es el Cáncer y cómo se desarrolla?: <http://www.seom.org/en/informacion-sobre-el-cancer/que-es-el-cancer-y-como-se-desarrolla>
- Rico Martínez, J. (21 de marzo de 2013). *Determinación numérica de Eigenvalores y Eigenvectores*. Obtenido de <http://www.ingenierias.ugto.mx/profesores/chema/documentos/An%C3%A1lisis%20Num%C3%A9rico/DeterminacionEigenvaloresEigenvectores.pdf>
- Ríos, Y. (s.f.). *Espectroscopia UV-Visible*. Obtenido de Transiciones electrónicas en moléculas orgánicas: <http://www.yolanda-rios.net/materiales/UVTeoria.pdf>
- Rodríguez-Laguna, N., Reyes-García, L., Moya-Hernández, R., Rojas-Hernández, A., & Gómez-Balderas, R. (2016). Chemical Speciation of the System Cu(II)-Indomethacin in Ethanol and Water by UV-Vis Spectrophotometry. *Journal of Chemistry*, 1-12.
- Rojas Hernández, A. (2012). *Métodos Quimiométricos más comunes*. Saltillo, Coahuila.
- Sánchez Dorantes, A., & Mena García, Y. (2012). *Determinación del efecto vasodilatador de los compuestos morfolínicos, tiomorfolínicos y piperidínicos en aorta de rata hipertensa espontánea*. Cuautitlán Izcalli, Edo. de México.: UNAM.
- Sanpedro Montoya, K. (2014). *Determinación de constantes de acidez de derivados tiomorfolínicos con propiedades antihipertensivas*. México, D. F.: Universidad Autónoma Metropolitana.
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2005). *Fundamentos de Química Analítica* (8ª ed.). México, D. F.: Thomson.
- Universidad Católica de Chile. (s.f.). *Manual de Patología General*. Recuperado el 03 de enero de 2016, de Capítulo 5. Alteraciones del crecimiento y desarrollo: NEOPLASIA: http://escuela.med.puc.cl/publ/patologiageneral/Patol_090.HTML
- Velázquez Sánchez, A. M. (2007). *Diseño asistido por computadora, síntesis y actividad hipertensiva de derivados morfolínicos de fenol*. México: UNAM.
- Velázquez, A., Martínez, L., Abrego, V., Balboa, M., Torres, L., Camacho, B., . . . Ángeles, E. (2008). Synthesis and antihypertensive effects of new

methylthiomorpholinphenol derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry*(43), 486-500.

Zuo, J., Bi, C., Fan, Y., Buac, D., Nardon, C., Daniel, K., & Ping Dou, Q. (2013). Cellular and computational studies of proteasome inhibition and apoptosis induction in human cancer cells by amino acid Schiff base-copper complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 118, 83-93.

ANEXOS

A. Método del Análisis de componentes principales (PCA).

El método del Análisis de componentes principales es un análisis factorial que consiste en reducir la dimensionalidad del problema, pero sin perder información relevante del sistema (varianza). El método busca asociaciones entre las variables, tendencias, retener varianza, etc.

Esto se logra aplicando una técnica matemática que descompone la matriz de datos en sus componentes principales. Los componentes principales son un conjunto de vectores que al multiplicarse entre ellos se reproduce la matriz de datos original. En la descomposición de la matriz de datos original se encuentran los scores y los loadings que son los necesarios para llevar a cabo un análisis de componentes principales (Rojas Hernández, 2012).

Existen tres vías para descomponer la matriz de datos original:

1. Eigenvalores y Eigenvectores.

Un vector v es un eigenvector de la matriz X con un eigenvalor λ cuando se satisface que

$$\vec{v}X = \lambda\vec{v}$$

Los eigenvalores se encuentran calculando la determinante de la matriz

$$X - \lambda I_n = 0$$

Ya que se conocen los eigenvalores, se calculan los eigenvectores.

2. Descomposición en Valores Singulares.

La matriz de datos originales se descompone en tres matrices:

$$X = USV^T$$

Las columnas de V^T son los eigenvectores, también llamados loadings (nuevas variables), S es la matriz diagonal cuyos valores son la raíz cuadrada de los eigenvalores ($S_{ii} = \sqrt{\lambda}$); Las columnas de U multiplicadas por S_{ii} se llaman scores y están relacionados con las muestras.

3. Método Nipals.

Este tercer método descompone la matriz original de datos en dos matrices

$$X = TP^T$$

Los primeros componentes principales (CP) explican la mayor parte de la varianza de los datos (información). Es posible retener solamente los primeros CP para descomponer la matriz de datos y considerar al resto de CP como aleatorios. La importancia de cada CP viene dada por su eigenvalor. El porcentaje de varianza asociado a cada CP es:

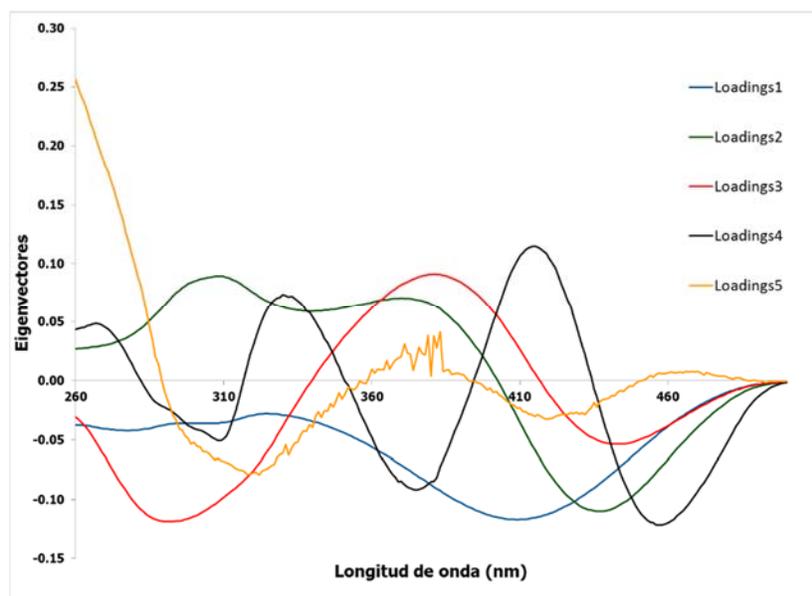
$$\text{porcentaje de varianza} = 100\% \frac{\lambda_i}{\sum_{i=1}^n \lambda_i}$$

Los CP son ortogonales entre sí, por lo que la información que da uno de ellos no se encuentra en ningún otro y van direccionados hacia donde se encuentra la mayor varianza.

Este método puede ser utilizado para determinar el número de especies que absorben radiación a partir de una matriz de absorbancias. Se elige el número de CP cuando la varianza acumulada es igual a 99.99% o cuando en la representación gráfica de los loadings comienza a verse ruido.

Se utilizó el método de Análisis de Componentes principales para comparar y corroborar los resultados de TRIANG en la determinación del número de especies químicas que absorben radiación en el intervalo de longitudes de onda seleccionado.

En la Gráfica I.1 se muestra los loadings correspondientes a la matriz de absorbancias de la titulación ácido-base del LQM312.



Gráfica I.1 Loadings correspondientes a la matriz de absorbancias determinadas en la valoración ácido-base del LQM312

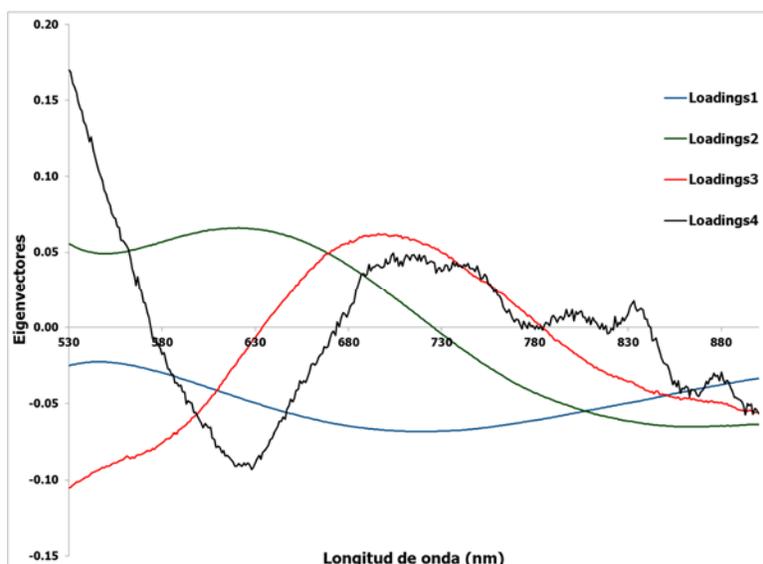
Para reconstruir la información de la matriz de absorbancias de la valoración ácido-base del LQM312 solo son necesarios 4 componentes, ya que a partir del quinto loading comienza a aparecer ruido. Además, entre 4 y 5 componentes es que la varianza acumulada es de 99.99% (Tabla I.1).

Tabla I.1. PCA para la determinación de los pKa del LQM312.

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
Eigenvalores	763.838	125.668	48.359	0.172	0.009
PVarExp	81.428	13.397	5.155	0.018	0.001
PVarAcu	81.428	94.825	99.980	99.999	100.000

Este método confirma que el LQM312 es un ácido triprótico y que durante la valoración existen 4 especies que absorben radiación UV-Vis: $H_3LQM312^{2+}$, $H_2LQM312^+$, $HLQM312$ y $LQM312^-$.

En la Gráfica I.2 se muestran los resultados del PCA para la matriz de absorbancias determinadas a los sistemas preparados para el método de Job para la formación de complejos Cu (II)-LQM312.



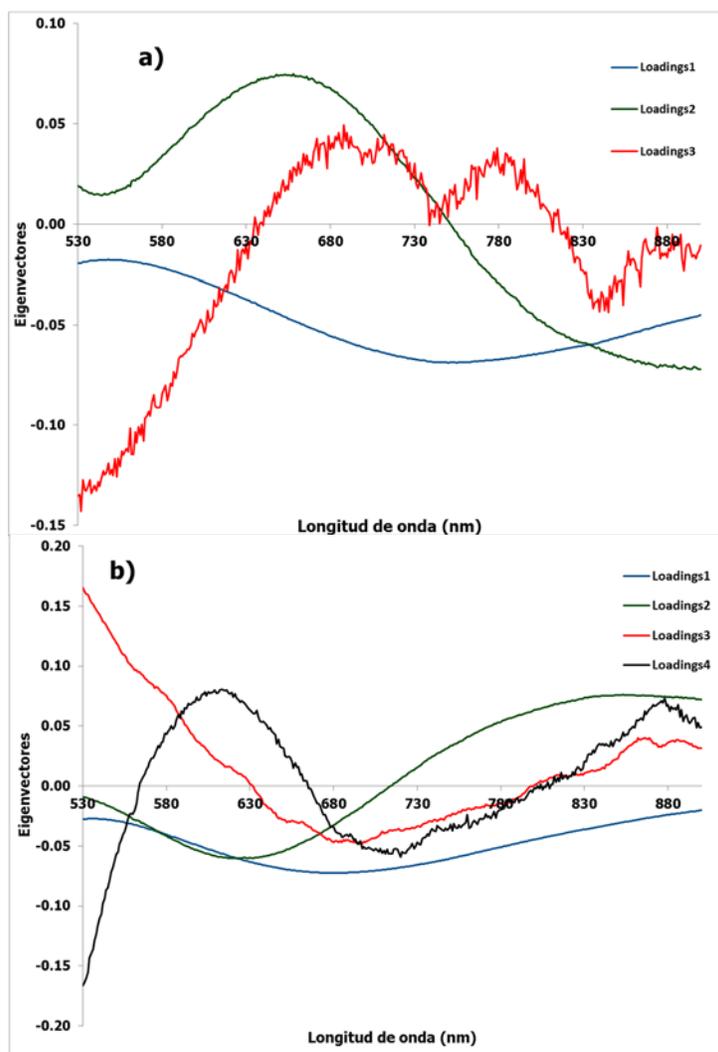
Gráfica I.2. Análisis de PCA para el método de Job para la formación de complejos Cu(II)-LQM312.

Para el método de Job, mediante el método de PCA se encuentra que hay tres especies químicas capaces de absorber radiación en el intervalo de longitudes de onda de $530\text{ nm} < \lambda < 900\text{ nm}$, es decir, que, además del ion Cu^{2+} , se forman dos complejos que absorben. En la tabla I.2 se muestran los valores de varianza acumulada para cada componente principal.

Tabla I.2. PCA para los datos de absorbancia del método de Job correspondiente a la formación de complejos entre Cu (II) y LQM312.

	PC1	PC2	PC3
Eigenvalores	63.23	2.47	0.03
PVarExp	96.19	3.76	0.05
PVarAcu	96.19	99.95	100.00

En la Gráfica I.3 se presentan los resultados de PCA para el método de relaciones molares.



Gráfica I.3. Resultados de PCA para el método de relaciones molares. a) Fijando la concentración de LQM312 y b) fijando la concentración de Cu (II).

En el PCA para el método de relaciones molares fijando la concentración de ligante, con dos componentes se reconstruye la información, es decir, que hay dos especies químicas que absorben radiación en el intervalo de longitudes de onda elegido. Para el método de relaciones molares fijando la concentración de metal son tres las especies que absorben radiación. Ambos resultados concuerdan con lo calculado por TRIANG: en relaciones molares fijando la concentración de ligante se forma un complejo y cuando se fija la concentración de metal se forman dos. En la tabla I.3 se presenta la varianza acumulada en ambos métodos experimentales.

Tabla I.3. Resultados de PCA para ambos métodos de relaciones molares en la formación de complejos entre Cu (II) y LQM312.

	Relaciones molares a [LQMO312] fija			Relaciones molares a [Cu ²⁺] fija			
	PC1	PC2	PC3	PC1	PC2	PC3	
Eigenvalores	4.82	0.03	0.00	Eigenvalores	126.36	0.49	0.01
PVarExp	99.30	0.70	0.01	PVarExp	99.60	0.39	0.01
PVarAcu	99.30	99.99	100.00	PVarAcu	99.60	99.99	100.00

B. Corrección de pH.

Todas las mediciones de pH se corrigieron por la siguiente ecuación

$$pH_{corr} = pH_{exp} + \left[\frac{pH_{cal} - pH_{exp}}{pH_{cal}} \right] Ef * pH_{exp}$$

Donde:

pH_{corr} es el pH corregido

pH_{exp} es el pH medido experimentalmente.

pH_{cal} es el pH de calibración (7.0).

Ef es la eficiencia de la celda.

La eficiencia de la celda se determinó realizando valoraciones de ácido perclórico 0.01 M con hidróxido de sodio 0.02 M. Durante la valoración se midió el pH y el potencial eléctrico con un pHmetro Metler-Toledo y un electrodo de vidrio

de la marca Hach. Para esto se realiza un ajuste a la ecuación de Nernst entre el valor de pH_{corr} y el potencial.

$$E = -59.16mV * pH_{corr}$$

La eficiencia de la celda del electrodo utilizado fue de 0.0151, por lo que la ecuación para corregir el pH es:

$$pH_{corr} = pH_{exp} + \left[\frac{pH_{cal} - pH_{exp}}{pH_{cal}} \right] 0.0151 * pH_{exp}$$