

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE  
HIDALGO**

---

---

**INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA**

**DETERMINACIÓN DE LAS CONSTANTES  
DE ACIDEZ DEL 2-(AMINOMETIL)BENCIMIDAZOL  
POR RMN DE  $^{13}\text{C}$ , ESPECTROFOTOMETRÍA Y  
POTENCIOMETRÍA**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA  
OBTENER EL GRADO DE: MAESTRA EN  
CIENCIAS QUÍMICAS (OPCIÓN QUÍMICA  
ANALÍTICA)**

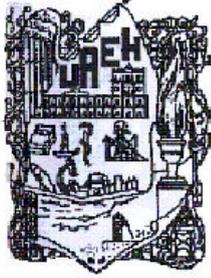
**P R E S E N T A:  
ARACELI SIERRA ZENTENO**



**ASESORES: Dr. CARLOS ANDRÉS GALÁN VIDAL  
Dr. ANTONIO RAFAEL TAPIA BENAVIDES**

**PACHUCA DE SOTO, HIDALGO**

**2002**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE  
HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

Carretera  
Pachuca Tulancingo Km 4.5  
C.P. 42073  
Tel. (01 771) 72000  
Ext. 6301 63 02  
Fax. (01 771) 7 21 09)

L.A. ADOLFO PONTIGO LOYOLA  
DIRECTOR DE CONTROL ESCOLAR  
DE LA U.A.E.H.,  
P R E S E N T E.

Por este conducto le comunico que el jurado asignado a la Candidata a Maestra en Ciencias Químicas con Especialidad en Química Analítica **Araceli Sierra Zenteno**, quien presenta el trabajo para obtener el grado "**Determinación de las Constantes de Acidez del 2-(aminometil) Bencimidazol por RMN de  $^{13}\text{C}$ , Espectrofotometría y Potenciometría**", después de revisar el trabajo en reunión de Sinodales ha decidido autorizar la impresión del mismo, hechas las correcciones que fueron acordadas.

A continuación se anotan las firmas de conformidad de los integrantes del jurado:

PRESIDENTE: Dr. Alberto Rojas Hernández  
PRIMER VOCAL: Dr. Antonio Rafael Tapia Benavides  
SECRETARIO: Dr. Carlos Andrés Galán Vidal  
PRIMER SUPLENTE: Dra. Noemí Andrade López  
SEGUNDO SUPLENTE: Dr. Francisco Prieto García.

Sin otro particular, reitero a usted la seguridad de mi atenta consideración.

ATENTAMENTE.

"AMOR, ORDEN Y PROGRESO"

Pachuca de Soto Hidalgo., a 02 de julio de 2002.

Lic. en Comp. Luis Islas Hernández  
Coordinador de Titulación.

El presente trabajo se ha realizado gracias al financiamiento de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo UAEH, del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT y de la Secretaría de Educación Pública, mediante los siguientes proyectos:

Desarrollo de membranas líquidas soportadas y sensores químicos para la separación y cuantificación de plata y mercurio con un nuevo compuesto azufrado (CONACYT Nacional j-27920-E).

Apoyo para la formación de recursos humanos de excelencia a través de la adquisición de material para el desarrollo de tesis de licenciatura y posgrado del área académica (CIQ) (Subsecretaría de Educación superior e investigación Científica SEP, PROADU 2000).

Mejoramiento De las fuentes de información y del material didáctico para el apoyo de la docencia y a la investigación científica del área de química (Subsecretaría de Educación Superior e Investigación Científica SEP, PROADU 2000).

Adquisición de software educativo para la consulta de bases de datos de química analítica, química de coordinación y química inorgánica (Subsecretaría de Educación Superior e Investigación Científica SEP, PROADU 2000-2001).

Los resultados del presente trabajo han sido presentados y aceptados para su publicación en:

Determinación de las constantes de acidez del 2-(aminometil) bencimidazol en agua. *Encuentro entre investigadores en Química*, 3-4 de noviembre 1998. Academia Mexicana de Ciencias-UAEH, Pachuca, Hidalgo.

Acid-base equilibrium studies of 2-(aminomethyl)benzimidazole in aqueous solution. Araceli Sierra-Zenteno, Carlos A. Galán-Vidal, Rafael Tapia-Benavides. *Revista de la Sociedad Química de México*. 2002.

Acid-base equilibria study of 2-(aminomethyl)benzimidazole. Araceli Sierra-Zenteno, Carlos A. Galán-Vidal & Rafael Tapia\_Benavides. *Indian Journal of Chemistry "A"*. 2002.

El presente trabajo se realizó en los laboratorios de Electroquímica y Química Analítica del Centro de Investigaciones Químicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco muy especialmente a mis asesores. **DR. Carlos Andrés Galán Vidal y Dr. Antonio Rafael Tapia Benavides** por su tiempo, paciencia y dedicación en los seminarios, trabajo experimental, preparación de artículos y elaboración de tesis.

A los integrantes del jurado: **Dr. Alberto Rojas Hernández, Dra. Noemí Andrade López y Dr. Francisco Prieto García** por sus valiosas sugerencias y observaciones para el enriquecimiento de este trabajo.

Gracias también a la **M. en C. Ma. Elena Páez Hernández** por toda su ayuda en la presentación de seminarios, elaboración de artículos y tesis pero sobre todo por su amistad.

Mi aprecio y agradecimiento a las autoridades del **I.C.B.I.** y del **C.I.Q.** por el apoyo otorgado durante mis estudios de maestría y elaboración de tesis.

Gracias a mi amiga de toda la vida **Dora Luz Mogica** por su amistad y apoyo.

Gracias a **Nora Katia Cañipa Morales** amiga y compañera de la maestría, por compartir sinsabores y alegrías.

Y a todos aquellos que contribuyeron de una u otra forma en la elaboración de este trabajo.

## DEDICATORIAS

A mis hijos **Jaime y Juan Antonio**

A mi esposo **Jaime**

A la familia **Sierra Zenteno**

Por todo su amor, comprensión y apoyo durante estos años.

# Í N D I C E

<b>RESUMEN</b>	1
<b>CAPÍTULO I</b>	
ANTECEDENTES Y OBJETIVOS	3
I.1 La constante de equilibrio	4
I.2 Determinación de constantes de equilibrio	5
I.2.1 Métodos gráficos	7
I.2.1.1 Variaciones continuas	7
I.2.1.2 Relaciones morales	8
I.2.1.3 Método de Bjerrum	10
I.2.2 Métodos computacionales.	13
I.3 Propiedades e importancia del 2-(aminometil) bencimidazol	15
I.4 Objetivos	17
<b>CAPITULO II</b>	
METODOLOGÍA	18
II.1 Reactivos y soluciones	19
II.2 Purificación del clorhidrato de 2- (aminometil) bencimidazol	19
II.3 RMN de <sup>13</sup> C	19
II.3.1 Instrumentación	19
II.3.2 Determinación de las constantes de acidez	20
II.3.3 HypNMR	20
II.4 Espectrofotometría UV/Vis	21
II.4.1 Instrumentación	21
II.4.2 Determinación de las constantes de acidez	21
II.4.3 SQUAD	22
II.4.4 TRIANG	23
II.5 Potenciometría	23
II.5.1 Instrumentación	23
II.5.2 Determinación de las constantes de acidez	23
II.5.3 SUPERQUAD	24
<b>CAPITULO III</b>	
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
III.1 Estudios de RMN	26

III.1.1	Asignación de señales.	26
III.1.2	Reacciones propuestas de protonación-desprotonación del 2-(aminometil) bencimidazol	29
III.1.3	Determinación de las constantes de acidez mediante HypNMR	30
III.1.3.1	Evaluación del programa	30
III.1.3.1.1	Modelo teórico del bencimidazol	30
III.1.3.1.2	Información experimental del sistema B(III)-H <sub>2</sub> O	34
III.1.3.2	Refinamiento de las constantes de acidez del 2-(aminometil) bencimidazol	35
III.2	Estudios de espectrofotometría UV/Vis	38
III.2.1	Cinética	38
III.2.2	Ley de Lambert -Beer	38
III.2.3	Refinamiento de constantes de acidez	39
III.3	Estudios potenciométricos	42
<b>CAPÍTULO IV</b>		
	CONCLUSIONES	45
	REFERENCIAS	48
	APÉNDICES	52
I.-	Guia breve para la generación de los archivos del programa HypNMR	53
II.-	Archivos del programa HypNMR	56
III.-	Archivos del programa HypNMR para el sistema B(III)-H <sub>2</sub> O	73

**RESUMEN**

## RESUMEN

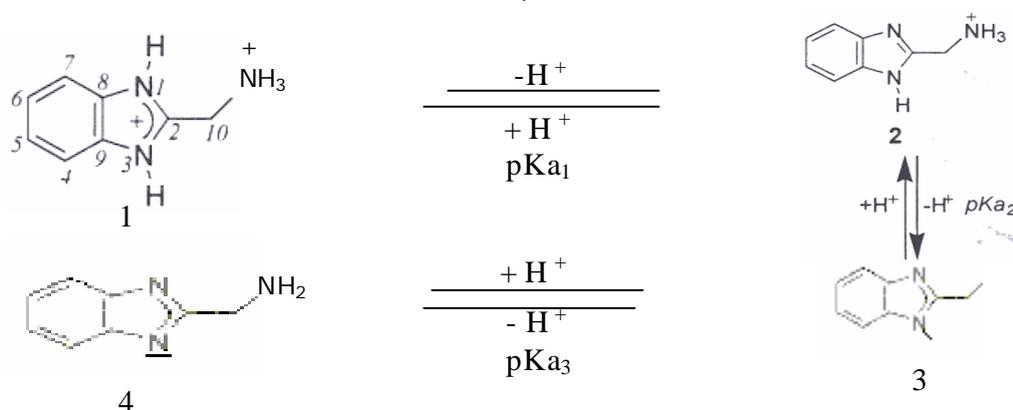
En el presente trabajo se reporta la determinación de las constantes de equilibrio ácido-base del 2-(aminometil) bencimidazol en medio acuoso, refinadas mediante los programas computacionales HypNMR, SQUAD y SUPERQUAD a partir de información experimental obtenida por resonancia magnética nuclear de  $^{13}\text{C}$ , espectrofotometría UV/Vis y potenciometría respectivamente. Los pka's obtenidos con las técnicas empleadas, son consistentes entre si y con la información publicada anteriormente. Así mismo se confirma la existencia de un tercer pka, del cuál solamente se conoce un reporte aunque sin estadística asociada.

Los resultados de RMN  $^{13}\text{C}$  permiten fundamentar una propuesta de las reacciones de protonación-desprotonación, de las cuales existe controversia y ayudan a identificar cada una de las especies ácido-base involucradas en los equilibrios.

**Pka's del 2-(aminometil) bencimidazol obtenidos con los programas HypNMR, SQUAD y SUPERQUAD a partir de información experimental en medio acuoso a 25<sup>o</sup> C.**

Método	I	pka <sub>1</sub>	pka <sub>2</sub>	pka <sub>3</sub>
NMR <sup>1</sup>	var.	3.103(0.079)	7.624(0.063)	12.550(0.038)
Espectrofotometría <sup>2</sup>	var.	2.777(0.111)	7.481(0.073)	12.593(0.010)
Espectrofotometría <sup>2</sup>	1.0	2.982(0.116)	7.887(0.082)	12.487(0.015)
Potenciometría <sup>3</sup>	var.	2.996(0.006)	7.569(0.003)	nd
Potenciometría <sup>3</sup>	0.1	3.044(0.016)	7.611(0.008)	nd

<sup>1</sup>HypNMR, <sup>2</sup> SQUAD, <sup>3</sup> SUPERQUAD. I = Fuerza iónica ajustada con NaClO<sub>4</sub>; var = fuerza iónica variable; nd = no determinada. Entre paréntesis se indican las desviaciones estándar. Unidades de las constantes de equilibrio mol L<sup>-1</sup>.



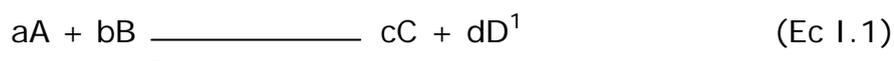
Reacciones propuestas de protonación-desprotonación del 2-(aminometil)benzimidazol

## **ANTECEDENTES Y OBJETIVOS**

## CAPITULO I ANTECEDENTES Y OBJETIVOS

### I.1 LA CONSTANTE DE EQUILIBRIO.

La condición de equilibrio de una reacción química (Ec I.1) se alcanza cuando la velocidad de formación de los productos  $v_1$  es igual a la velocidad con la que se regeneran los reactivos  $v_2$  (Ecs. 1.2 y 1.3)



$$V_1 = K_1 [A]^a [B]^b \quad (\text{Ec I.2})$$

$$V_2 = K_2 [C]^c [D]^d \quad (\text{Ec I.3})$$

Haciendo la consideración anterior, es posible deducir que el cociente del producto de las concentraciones de los productos respecto al producto de las concentraciones de los reactivos elevados a sus respectivos coeficientes estequiométricos corresponde a un valor conocido como la constante de equilibrio K (Ec.I.4).

$$K = \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b} = \frac{K_1}{K_2} \quad (\text{Ec I.4})$$

Es importante aclarar que la expresión anterior es válida formalmente a dilución infinita; es decir, en condiciones ideales. En sistemas reales, la constante de equilibrio debe expresarse en términos de las actividades de las especies involucradas en la reacción (Ec.I.5).

$$K = \frac{a_C^c a_D^d}{a_A^a a_B^b} \quad (\text{Ec I.5})$$

La actividad  $a$  (Ec. I.6) está definida por el producto de la concentración de la especie química y su coeficiente de actividad  $f$ , el cuál, conforme a la ecuación extendida de Debye-Hückel (Ec.I.7) está en función de la fuerza iónica  $I$  (Ec.I.8) y de la temperatura; así como de las propiedades particulares de la especie y del disolvente.

$$a_x = [x] f_x \quad (\text{Ec I.6})$$

---

<sup>1</sup> a,b,c y d son los coeficientes estequiométricos de las especies químicas A, B,C y D respectivamente.

$$\log f_{\pm} = \frac{-AZ^2 I^{1/2}}{1+aB I^{1/2}} \quad (\text{Ec 1.7})^2$$

$$I = \sum C_i Z_i^2 \quad (\text{Ec 1.8})^2$$

Conforme a lo anteriormente expuesto, es importante destacar que si la fuerza iónica y la temperatura se mantienen fijas, el coeficiente de actividad será constante y en consecuencia la constante de equilibrio podrá expresarse en términos de concentración, especificando las condiciones impuestas.

Dependiendo del tipo de reacción química a la que haga referencia, la constante de equilibrio recibe en ocasiones un nombre específico cuyo uso se ha generalizado (Tab. I.1).

**Tabla I.1 Ejemplos de notación especial de algunas constantes de equilibrio de uso común**

Equilibrio	Tipo de equilibrio	Notación
$\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{OH}^-$	ácido-base	$K_w$ : constante de autodisolución del agua.
$\text{H}_j\text{A}^Z \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{H}_{(j-1)}\text{A}^{(Z-1)}$	ácido-base	$K_a$ : constante sucesiva de disociación de un ácido.
$\text{H}_2\text{O} + \text{B}^Z \rightleftharpoons \text{HB}^{(Z+1)} + \text{OH}^-$	ácido-base	$K_b$ : constante sucesiva de hidrólisis de una base.
$\text{M}^Z + n\text{L}^W \rightleftharpoons \text{ML}_n^{(Z-nW)}$	complejos	$\beta_n$ : constante global de formación.
$\text{M}_k\text{X}_m \rightleftharpoons \text{KM}^Z + m\text{X}^{(kZ/m)}$	solubilidad	$K_{ps}$ : constante del producto de solubilidad.

La constante de equilibrio es la expresión matemática que representa la condición de equilibrio, conteniendo información relevante acerca de la estequiometría y desplazamiento neto de la reacción (hacia reactivos o productos); así como del principio de Le Chatelier. Consecuentemente es de gran utilidad para explicar, modificar, y proponer diversos métodos analíticos y sintéticos. En este sentido, su determinación ha sido de interés general y permanente en diversas áreas del conocimiento.

## I.2 DETERMINACIÓN DE CONSTANTES DE EQUILIBRIO

La información que es posible obtener a partir de la constante de equilibrio y de las condiciones iniciales en un sistema determinado, pro-

<sup>2</sup> A y B son parámetros que involucran la constante dieléctrica del disolvente y la temperatura Z y a son la carga y el diámetro del ión respectivamente. C<sub>i</sub> representa la concentración de cada una de las especies presentes en el sistema.

porciona los fundamentos teóricos necesarios para entender; por ejemplo, titulaciones, selección de agentes enmascarantes, distribución de especies en función de una variable química, etc. [1]. Así, la determinación de este importante parámetro termodinámico continúa siendo objeto de estudio de numerosos grupos de investigación.

En la actualidad diversos autores y asociaciones químicas, se han dado a la tarea de publicar periódicamente compendios específicos de constantes de equilibrio [2-5], algunos de los cuales han generado bases de datos disponibles comercialmente [6]. Asimismo, existen publicaciones especializadas en la divulgación de trabajos abocados a la determinación de constantes de equilibrio como el Journal of Chemical & Engineering Data y el Journal of Solution Chemistry, entre otros.

La determinación de constantes de equilibrio es posible realizarla mediante cálculos teóricos; no obstante, esta estrategia es aún poco utilizada debido a la limitada capacidad de cómputo para realizar un cálculo eficiente en sistemas constituidos por varios átomos que presentan diversas interacciones con el disolvente y otras especies químicas presentes en solución.

Por otra parte, se han desarrollado métodos de determinación de constantes de equilibrio mediante cálculos semiempíricos que parten de la simulación de un comportamiento o tendencia para una serie de compuestos obtenida originalmente a partir de información experimental. En la actualidad se dispone comercialmente del programa ACD/pKa DB que cuenta con una base interna de datos de 8,800 estructuras y 23,000 valores de pKa experimentales [7], mismo que calcula pKa's a 25°C y una fuerza iónica de cero. La exactitud del programa es generalmente del orden de  $\pm 0.5$  unidades de pKa, aunque para estructuras bien caracterizadas puede llegar a ser de  $\pm 0.2$  unidades de pKa (Tab. 1.2).

**Tabla 1.2. Comparación de valores pKa's experimentales (exp) y calculados (cal) con ACD/pKa DB [8].**

Compuesto	pKa <sub>1</sub> (exp)	pKa <sub>1</sub> (cal)	pKa <sub>2</sub> (exp)	pKa <sub>2</sub> (cal)
Atropina	9.9	9.8 + 0.40	-	-
Clorotiazida	6.5	6.60+0.30	9.5	9.44+0.20
Diacepam	3.3	3.40+0.10	-	-
Lidocaína	7.94	8.53 + 0.25	-	-
Procainamida	nr	2.63+0.10	9.4	9.86 + 0.25
Tetracaína	2.39	1.59 + 0.39	8.49	8.24+0.28

nr= no reportado. La incertidumbre corresponde a la desviación estándar.

El programa se restringe al cálculo de estructuras que contienen C, H, O, S, P, N, F, Cl, Br, I, Se, Si, Ge, Pb, Sn, As y B con estados de oxidación típicos y sólo considera enlaces covalentes. Es posible realizar los cálculos de estructuras hasta con 255 átomos y que no contengan más de 20 centros ionizables. Es importante mencionar que el programa no es capaz de distinguir diferencias entre isómeros o isótopos.

El algoritmo en que se basa el programa es simplemente el establecimiento de funciones de pKa de diferentes grupos con factores de corrección que dependen a su vez de los grupos funcionales vecinos y que son calculados basándose en la información experimental previamente reportada.

No obstante los esfuerzos realizados para determinar constantes de equilibrio mediante cálculos teóricos o semiempíricos, éstas son obtenidas mayoritariamente a partir de información experimental. En este sentido, existen diversos métodos analíticos aplicables de acuerdo al tipo de reacción que se involucre ya la propiedad que se mida, misma que se relaciona con la concentración o actividad de los componentes y/o especies de un sistema dado.

La determinación experimental de constantes de equilibrio requiere del conocimiento (directa o indirectamente) de la concentración de cada una de las especies químicas presentes en el sistema de estudio. Esto se logra mediante la medida experimental de alguna de ellas, calculando las restantes a partir de las ecuaciones de balance de masa y carga [9].

La elección del método experimental depende fundamentalmente de las propiedades fisicoquímicas de las especies químicas que constituyen el sistema; sin embargo, al realizar una revisión bibliográfica sobre la determinación de constantes de equilibrio en los últimos años puede comprobarse que los métodos más utilizados para tales fines son los espectrofotométricos y los potenciométricos [6], mientras que dentro de los menos empleados están los electroquímicos, calorimétricos, electroforesis y RMN entre otros. Este hecho se debe probablemente a la necesidad de versatilidad y economía en la instrumentación utilizada.

La información experimental obtenida a partir de la aplicación de alguna técnica instrumental en particular, se puede tratar mediante métodos gráficos y/o computacionales para obtener los valores de las constantes de equilibrio, los primeros son de gran utilidad y aplicables

a sistemas relativamente sencillos; sin embargo, para sistemas multicomponentes y multireaccionantes su aplicación ya no es adecuada por lo que en la actualidad se han visto desplazados por los métodos computacionales. Es importante mencionar que ambas estrategias son complementarias en muchos casos.

### I.2.1 Métodos Gráficos

En la actualidad se cuenta con una gran variedad de métodos gráficos para la determinación de constantes de equilibrio, dentro de ellos los más utilizados son:

- Variaciones Continuas
- Relaciones Molares
- Método de Bjerrum (número promedio de ligantes)

#### I.2.1.1 Variaciones continuas

El método de variaciones continuas, también conocido como el método de Job, además de utilizarse para calcular constantes de equilibrio, nos permite determinar la estequiometría del complejo predominante [1, 9, 10]. El método se basa en la variación de la relación de la concentración entre un ligante y un metal entre 0 y 1 ; manteniendo en consecuencia la suma de concentraciones totales del ligante y el metal constante.

Para la aplicación del método se preparan mezclas con alícuotas de soluciones equimolares de L y M y se mide alguna propiedad de cada una de las soluciones preparadas (absorbancia, intensidad de corriente, etc.). Posteriormente se construye un gráfico de la propiedad contra la fracción molar de L ( $X_L$ ). Así, al alcanzar el máximo valor en la propiedad medida, se obtiene  $n$  que corresponde al coeficiente estequimétrico de L en el complejo predominante  $ML_n$  (Ecs. 1.9 y 1.10), donde  $X_{L \text{ max}}$  es la fracción molar de L cuando la propiedad es máxima [9] (Fig. 1.1).

$$X_L = \frac{[L]}{[L] + [M]} ; ([L] + [M] = \text{constante}) \quad (\text{Ec I.9})$$

$$n = \frac{X_{L \text{ max}}}{1 - X_{L \text{ max}}} \quad (\text{Ec I.10})$$

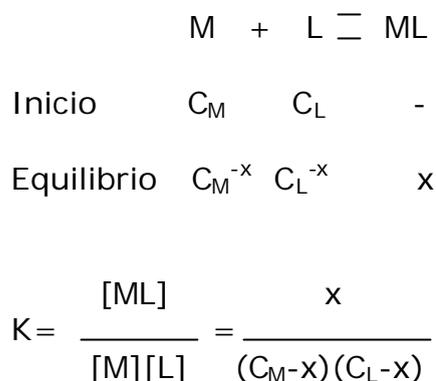
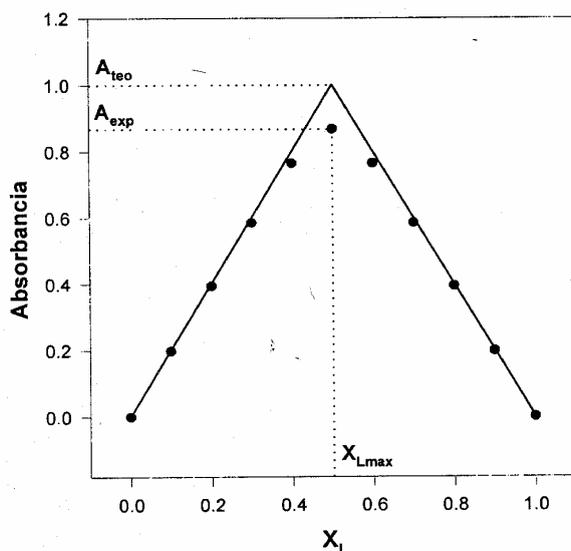


Figura 1.1. Curva de variaciones continuas y variación de cantidades molares simuladas para el equilibrio químico mostrado y detección espectrofotométrica.  $C_M + C_L = 1 \times 10^{-4} M$ , coeficiente de absorptividad molar  $E_{ML} = 2.0 \times 10^4 M^{-1} cm^{-1}$ ,  $\log K = 6.0$ .

La constante de equilibrio, se calcula a partir de la estimación de las concentraciones de reactivos y productos que se alcanzan en condiciones estequiométricas. Dicha estimación se obtiene de la diferencia entre el valor experimental de la propiedad, bajo dicha condición, y la intersección de las líneas trazadas sobre las laderas del gráfico, que a su vez indican el valor de la propiedad que se obtendría con un 100% de cuantitatividad (Fig. 1.1).

Considerando el ejemplo espectrofotométrico presentado; que  $A_{teo} = 1.000$ ,  $A_{exp} = 0.868$  y la concentración máxima posible del complejo es de  $5 \times 10^{-5} M$ , se encuentra que la concentración de  $ML$  en el equilibrio es de  $4.34 \times 10^{-5} M$ , por lo que  $K = 106$  (Fig. 1.1).

Para calcular constantes de equilibrio mediante el método gráfico de variaciones continuas, es importante considerar que  $M$  y  $L$  no deben reaccionar con otras especies presentes en el sistema y que el método no es útil cuando se forman simultáneamente 2 o más complejos.

El método de variaciones continuas ha sido desarrollado originalmente para procesar información espectrofotométrica de complejos; no obstante, pueden emplearse otras propiedades y equilibrios, siempre y cuando cumplan con una funcionalidad lineal respecto a la concentración y una ley de aditividades de la propiedad. Existen en la literatura revisiones amplias acerca de las posibilidades

que implica su uso en sistemas con diferentes estequiometrías y donde más de una especie puede absorber radiación electromagnética [11]; en este sentido, lo anteriormente expuesto, constituye solamente una descripción muy general.

Es importante aclarar que el método es aplicable solamente cuando la reacción es medianamente cuantitativa, ya que en los casos extremos, sería sumamente difícil evaluar con eficiencia la fracción de reactivos que en el equilibrio queda sin reaccionar.

### I.2.1.2 Relaciones molares

Este método gráfico consiste en preparar una serie de soluciones en las que la concentración de un componente, usualmente el metal, se conserva constante y la concentración del ligante se varía. Posteriormente, la propiedad de cada uno de los sistemas elaborados es medida para construir un gráfico en función de la relación de las concentraciones  $C_L/C_M$  (Fig. 1.2).

De manera análoga al método de variaciones continuas, ésta representación nos permite establecer la estequiometría del complejo y calcular su constante de equilibrio. Así, directamente donde se intersectan las dos líneas de tendencia  $n=C_L/C_M$ ; la constante se calcula a partir de la desviación entre la propiedad experimental y teórica (Fig. 1.2) [9].

Cabe señalar que las consideraciones que deben tomarse en cuenta para el uso de este método, son equivalentes a las discutidas en el caso anterior.

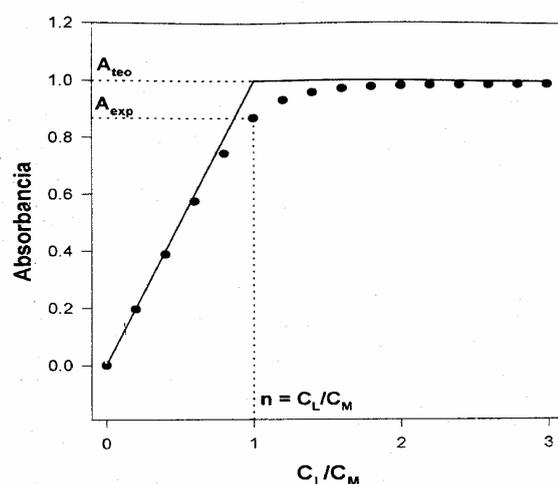


Figura 1.2. Curva de relaciones molares simulada para el equilibrio químico mostrado en la Fig. I.1 y detección espectrofotométrica.  $C_M=5 \times 10^{-5} M$ ,  $\epsilon_{ML}=2 \times 10^4 M^{-1} cm^{-1}$ ,  $\log K=6.0$ .

### I.2.1.3 Método de Bjerrum

El método de Bjerrum se basa en la definición de una función denominada número promedio de ligantes  $n$  [12], misma que es posible evaluar tanto teórica como experimentalmente. Considerando la formación sucesiva de diversos complejos mononucleares  $ML_n$  en un sistema químico con concentraciones totales de ligante y metal  $[L]_t$  y  $[M]_t$  respectivamente; es posible definir dicha función para condiciones de equilibrio en término de la concentración libre de ligante  $[L]$ . (Ec. I. 11).

$$n = \frac{[L]_t - [L]}{[M]_t} \quad (\text{Ec. I.11})$$

Así, considerando los diversos equilibrios sucesivos involucrados y sus respectivas constantes de equilibrio (Ecs. 1.12 y 1.13), es posible demostrar que  $n$  depende solamente de las constantes globales de formación  $\beta_n$  y de  $[L]$  (Ecs. 1.14, 1.15 y 1.16).



$$\beta_n = \frac{[ML_n]}{[M][L]^n} \quad (\text{Ec. I.13})$$

$$[L]_t = [L] + [M] \sum_{i=1}^{i=n} \beta_i [L]^i \quad (\text{Ec. I.14})$$

$$[M]_t = [M] \left( 1 + \sum_{i=1}^{i=n} \beta_i [L]^i \right) \quad (\text{Ec. I.15})$$

$$n = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} i \beta_i [L]^i}{1 + \sum_{i=1}^{i=n} \beta_i [L]^i} \quad (\text{Ec. I.16})$$

A partir de las ecuaciones I.11 y I.16, es posible calcular  $n$  con información experimental y teórica respectivamente. En consecuencia si realizamos ambos cálculos a diferentes  $[L]$  o  $pL$  es posible evaluar si ambas funciones se superponen. En caso afirmativo, las constantes de equilibrio consideradas constituyen un buen modelo de la información

experimental, en caso contrario, su modificación es necesaria hasta reproducir la información experimental.

El método de Bjerrum fue originalmente concebido para equilibrios de complejación; no obstante, de manera análoga se han propuesto otras definiciones que permiten estudiar otros equilibrios como el número promedio de cargas negativas [13].

Dada la naturaleza del presente trabajo, es conveniente plantear el concepto análogo del número promedio de protones  $h$ . Considerando un ácido poliprótico  $H_nA$  con una distribución de especies ácido-base que depende del pH, es posible definir  $h$  conforme a la ecuación 1.17.

$$h = \frac{[H]_t - [H^+] + [OH^-]}{[A]_t} \quad (\text{Ec. 1.17})$$

En este caso  $[H]_t$  es la concentración de protones totales aportados por el ácido,  $[H^+]$  la concentración de protones libres al equilibrio,  $[OH^-]$  la concentración de iones hidróxido al equilibrio, misma que corresponde a la concentración de protones aportados por el agua y  $[A]_t$ , la concentración total de la base conjugada. Es importante hacer notar que es posible evaluar experimentalmente la función que representa la ecuación 1.17 a partir de la concentración total del ácido poliprótico  $H_nA$  y del pH de equilibrio (Ec. 1.18).

$$h = \frac{n[H_nA] - [H^+] + [OH^-]}{[H_nA]_t} \quad (\text{Ec. 1.18})$$

A partir de las ecuaciones de balance de masa análogas a las presentadas anteriormente para el caso de complejos, es posible definir el número promedio protones en función de  $[H^+]$  y las constantes de equilibrio involucradas (Ecs 1.19 y 1.20).

$$\beta_n = \frac{[H_nA]}{[A^{n-}][H^+]^n} \quad (\text{Ec. 1.19})$$

$$\bar{h} = \frac{\sum_{i=1}^{i=n} i\beta_i[H^+]^i}{1 + \sum_{i=1}^{i=n} \beta_i[H^+]^i} \quad (\text{Ec. 1.20})$$

Un ejemplo del procedimiento para el cálculo del número promedio de protones y su utilidad en el cálculo de constantes de equilibrio se representa en la figura 1.3. En este caso la curva de valoración "experimental" se obtuvo mediante el programa HySS (Hyperquad Simulation and Speciation) [14] considerando la valoración de 20 ml de  $H_2A$  0.05M con  $OH^-$  0.1M. A partir de dicha curva de valoración, es posible calcular la función experimental  $\bar{h}$  con la ecuación 1.18 (Fig. 1.3).

Una vez conocida la función experimental  $\bar{h}$ , es posible calcularla teóricamente a partir de la suposición de un modelo químico determinado utilizando la ecuación 1.20.

La principal ventaja del método de Bjerrum radica en la posibilidad de estudiar sistemas multicomponentes y multirreaccionantes. La gran cantidad de operaciones matemáticas necesarias aunque dificultó su uso, incentivó la creación de los programas computacionales.

Los métodos gráficos en general tienen la cualidad de permitir al investigador permanecer en contacto con los diversos pasos en los cálculos, facilitando así la interpretación de la información y la detección de errores sistemáticos. En la actualidad se continúan utilizando como auxiliares en la proposición de modelos químicos y constantes de partida para su refinamiento mediante métodos computacionales.

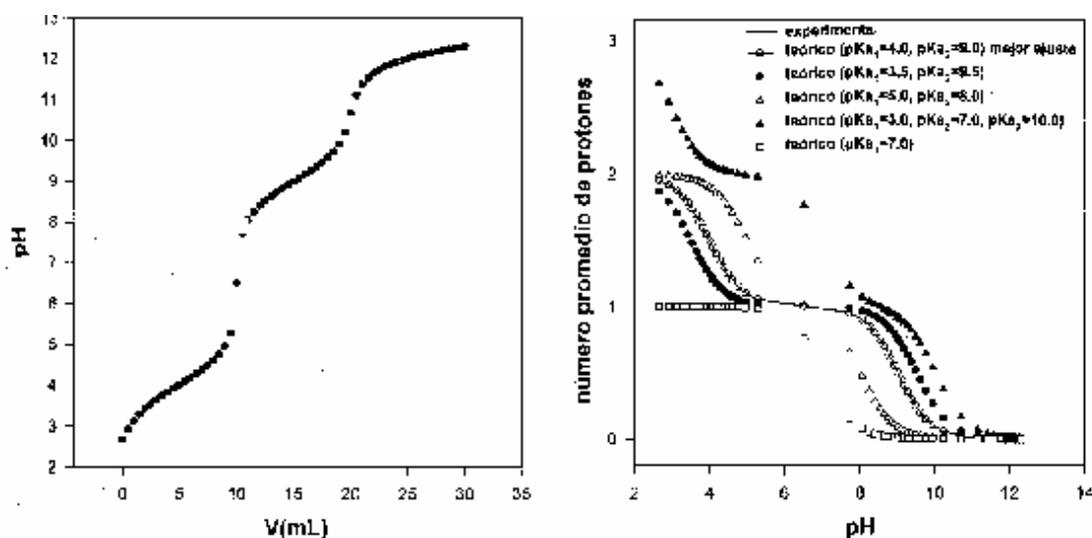


Figura 1. 3. Curva de valoración pHmétrica de 20 mL de  $H_2A$  0.05M con  $OH^-$  0.1M simulada con el programa HySS ( $pK_{a1}=4$ ,  $pK_{a2}=9$ ). Representación del número promedio de protones obtenido a partir de la curva de valoración "experimental" y ajustes teóricos calculados con diversos modelos.

### 1.2.2 Métodos Computacionales.

Los métodos computacionales para la determinación de constantes de equilibrio fueron creados desde hace más de 40 años con la finalidad de afrontar el estudio de sistemas multicomponentes y multirreaccionantes. Dicha estrategia fue posible implementarla con el advenimiento de la computación y su desarrollo continúa en expansión gracias a la mayor asequibilidad y poder de los equipos de cómputo.

En la actualidad se dispone de una gran variedad de programas, algunos de los cuales cuentan con un alto grado de sofisticación y poderosos algoritmos matemáticos para el refinamiento de constantes de equilibrio y su evaluación estadística [10, 15]. Aunque originalmente su distribución era gratuita, en la actualidad se comienzan a comercializar.

No obstante la gran variedad de programas disponibles, en términos generales, la mayoría de ellos refinan las constantes de equilibrio a partir de la minimización de la sumatoria de los residuos cuadráticos entre la propiedad experimental y la calculada  $U$  (Ec. 1.21 )

$$U = \sum_{k=1}^n (Y_{\text{obs}}^k - Y_{\text{cal}}^k)^2 \quad (\text{Ec. 1.21})$$

donde  $Y_{\text{obs}}^k$  y  $Y_{\text{cal}}^k$  representan las propiedades experimental (observada) y calculada del  $k$ -ésimo punto respectivamente.

Para evaluar la función objetivo  $U$  durante el proceso de refinamiento, la propiedad del sistema es calculada a partir de las constantes de equilibrio alimentadas o refinadas en cada ciclo iterativo y las concentraciones analíticas de los componentes participantes. Dicho cálculo implica el uso de la ecuación que relaciona la concentración de las especies químicas participantes con la propiedad medida; por ejemplo, leyes de Lambert-Beer y aditividades para absorbancia, o ley de Nernst para potencial. Este hecho conlleva la necesidad de alimentar al programa o, en su caso, calcular parámetros adicionales como el coeficiente de absorptividad molar  $\epsilon_i^?$  o el potencial normal del electrodo  $E_0$ .

Una vez calculada  $Y_{\text{cal}}^k$  es posible obtener la función  $U$  utilizando el respectivo valor experimental de la propiedad.

Las constantes de equilibrio alimentadas al programa, implícitamente al proporcionan un modelo químico del sistema, el cual no puede ser cambiado por el propio programa. Así, es importante contar con información previa para proponer modelos razonables con especies químicas de las cuales exista evidencia experimental, ya que el proceso de refinamiento podría converger aún con modelos erróneos. En

este sentido es imprescindible corroborar las constantes de equilibrio a partir de otras técnicas instrumentales, aplicando otros programas.

**Tabla I.3. Métodos Computacionales**

<b>Método Instrumental</b>	<b>Programas</b>	<b>Referencias</b>
Potenciometría	LETAGROUP	[15]
	POLET	[15]
	SCOGS	[15]
	MINIQUAD	[10]
	SUPERQUAD	[16]
	ACBA	[15]
	DALSEFK	[15]
	MINIPOT	[15]
	PKAS	[15]
Espectrofotometría	MRLET	[15]
	MRFIT	[15]
	DCMINUIT	[15]
	LETAGROUP-SPEFO	[15]
	SQUAD	[10]
Potenciometría y Espectrofotometría	DALSFEK	[15]
	PSEQUAD	[10,15]
	HYPERQUAD	[14,17]
RMN	EQNMR	[18]
	HypNMR	[18]

Conforme a la naturaleza de la propiedad se puede obtener una clasificación de los métodos computacionales [10, 14-18]. (Tab. I.3), de los cuales emplean diversos algoritmos matemáticos para realizar los cálculos necesarios durante el refinamiento, entre ellos destacan los métodos de mínimos cuadrados como Newton-Raphson. Gauss-Newton y Marquardt-Levenberg [10].

Los métodos computacionales han permitido calcular constantes de equilibrio en sistemas multicomponentes y multirreaccionantes, incluso cuando existen especies polinucleares. Gracias a ello, en la actualidad contamos con conjuntos de constantes de equilibrio confiables que han sido utilizados para predecir la distribución de

especies en sistemas tan complejos como el agua de mar o el plasma de la sangre [1].

### **I.3. PROPIEDADES E IMPORTANCIA DEL 2-(AMINOMETIL) BENCIMIDAZOL**

El bencimidazol (Fig. I.4) es un heterociclo presente de manera natural en la cianocobalamina (vitamina B<sub>12</sub>) y en varias drogas con actividad farmacológica importante (omeprazol, mebendazol, astemizol, etc.) [19]. Por ejemplo, en la última década la estructura del bencimidazol-5(6)-ácido carboxílico ha sido ampliamente utilizada en el diseño de agentes como: diuréticos, antiparasitarios, antagonistas serotónicos, antineoplásicos, herbicidas y compuestos antihipertensivos [19].

Las excelentes propiedades coordinantes de los bencimidazoles han dado origen a complejos que pueden emplearse como modelos de bajo peso molecular para simular los sitios activos de muchas metaloproteínas [20,21] y elucidar la relación estructura-función de algunas enzimas [22]. Asimismo, se han descrito ligantes polidentados y macrociclos conteniendo bencimidazol unido a grupos electrodonadores (OH, O, S, CO<sub>2</sub>) que simulan condiciones encontradas en metaloproteínas y proporcionan una rica fuente de nuevos compuestos de interés [23].

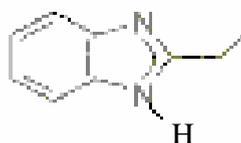


Fig. I.4 Bencimidazol

Dentro de los bencimidazoles, el 2-(Aminometil)bencimidazol 2AMBZ (Fig. I.5) ha sido objeto de particular interés, debido a su extendido uso en el desarrollo de agentes antimicrobianos, antiparasitarios [24-29] y antiVIH [30-32]. Asimismo, es un compuesto útil para la síntesis de fármacos empleados en tratamientos de cáncer, osteoporosis, artritis y retinopatía [33-37]. La importancia del 2AMBZ es manifiesta en diversas patentes [28,31-37].

El 2AMBZ tiene propiedades ácido-base debido a la presencia de nitrógenos en su estructura (Fig. I.5). Así, la bibliografía reporta hasta el momento la existencia de cuatro especies ácido base: un dicatión, un monocatión, una especie neutra y el monoanión [38], relacionados con tres equilibrios ácido-base. Conforme a la estructura, se ha

propuesto un equilibrio adicional para generar el dianión [38]; no obstante, no existen reportes confirmatorios en este sentido, por lo cual se puede suponer que esta especie se formaría en un medio extremadamente básico.

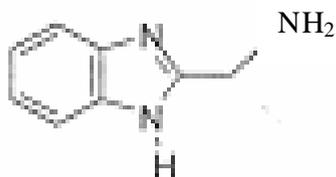


Figura I.5. 2-(Aminometil)bencimidazol

Hasta el momento se conocen sólo 4 trabajos en los que se reportan las constantes de acidez del 2AMBZ (Tab. I.4) y solamente uno de ellos reporta el tercer pKa. Los métodos instrumentales empleados para realizar el cálculo han sido la fluorescencia, espectrofotometría UVNis y potenciometría; no obstante, el procesamiento de la información se ha realizado mediante métodos gráficos y el significado de la estadística asociada a las constantes no es reportado. En este sentido es importante mencionar que el único trabajo que reporta el tercer pKa [38], no asocia ninguna medida de dispersión a este parámetro. Conforme a los resultados mostrados en la tabla I.4, se puede observar que existe cierta certeza en el valor del primer pKa (desestimando los valores de fluorescencia); no obstante, en el caso del segundo y tercero, se observan diferencias importantes entre los diversos trabajos, llegando a ser superiores a una unidad de pKa [38-41].

Por otra parte, las reacciones de protonación-desprotonación, han sido reportadas en dos trabajos que presentan discrepancias entre sí [38,40].

**Tabla I.4 Constantes de acidez del 2-(Aminometil)bencimidazol 2AMBZ reportadas en la literatura.**

Método	T (°C)	Fuerza iónica	pka <sub>1</sub>	pka <sub>2</sub>	pka <sub>3</sub>	Ref.
Espectrofotometría	25	0.3(NaClO <sub>4</sub> )	3.17+/-0.03	7.83+/-0.07	Nr	[40]
Espectrofotometría	30	0.3(NaClO <sub>4</sub> )	3.14+/-0.06	7.68+/-0.05	Nr	[40]
Espectrofotometría	27	var	3.1	8.1 +/-0.5	12.8	[38]
Fluorescencia	27	var	1.8	8	12	[38]
Potenciometría	20	0.1 (KCL)	3.46	7.69	Nr	[39]
Potenciometría	30	0.2 (NaClO <sub>4</sub> )	3.45+/-0.02	7.30+/-0.02	Nr	[41]
Potenciometría	30	0.5 (NaClO <sub>4</sub> )	3.33+/-0.02	7.02+/-0.02	Nr	[41]

var= fuerza ionica variable; nr=no reportado; Ref=referencia. El significado de las incertidumbres no fue reportado.

## I.4 OBJETIVOS

Debido a las discrepancias en las reacciones de protonación-desprotonación del 2AMBZ propuestas en la literatura, a la existencia no corroborada de un tercer pKa ya que las constantes de equilibrio reportadas hasta el momento han sido determinadas mediante métodos gráficos y no asocian una estadística clara. Los objetivos perseguidos con la realización del presente trabajo son:

- 1 Determinar las constantes de acidez del 2AMBZ mediante información experimental potenciométrica, espectrofotométrica y por primera vez de resonancia magnética nuclear de <sup>13</sup>C, procesada con los programas computacionales SUPERQUAD, SQUAD e HypNMR respectivamente.
- 2 Corroborar la existencia de un tercer pKa para el 2AMBZ
- 3 Determinar mediante estudios de <sup>13</sup>C RMN las reacciones de protonación- desprotonación del 2AMBZ
- 4 Evaluar el funcionamiento del programa computacional HypNMR a partir de la información teórica y experimental.

## **METODOLOGÍA**

## **CAPÍTULO II**

### **METODOLOGÍA**

#### **11.1 REACTIVOS y SOLUCIONES.**

Todos los reactivos empleados en el presente trabajo fueron de grado analítico. Clorhidrato de 2-(aminometil)bencimidazol hidratado (Aldrich 98%),  $\text{NaClO}_4$ ,  $\text{KHC}_8\text{O}_4$ ,  $\text{HCl}$ ,  $\text{NaOH}$  (J.T.Baker),  $\text{D}_2\text{O}$ , fenolftaleína y etanol absoluto (Aldrich).

Las soluciones de  $\text{NaOH}$  se prepararon a las concentraciones requeridas a partir de una solución stock de  $\text{NaOH}$  al 50% (p/v) bajo en carbonatos, filtrada y almacenada dentro de un desecador con ascarita [15,42]. Para la valoraciones potenciométricas se utilizaron soluciones de  $\text{NaOH}$  estandarizadas con biftalato de potasio [42].

Todas las soluciones fueron preparadas con agua desionizada y descarbonatada [15,42].

#### **II.2 PURIFICACIÓN DEL CLORHIDRATO DE 2-AMINOMETIL(BENCIMIDAZOL)**

El reactivo adquirido de Aldrich es un polvo color rosa debido a las impurezas presentes, mismas que pueden afectar las determinaciones experimentales; así, fue necesario purificarlo por recristalización en etanol [40,41,43]. De esta manera se obtuvieron unos cristales blancos con punto de fusión de 263-264 °C acorde al reportado en la literatura para el compuesto [40,43,44]. El punto de fusión fue determinado en un equipo Büchi B-545.

Con la finalidad de corroborar la identidad y pureza del compuesto, se obtuvo el espectro de IR en un espectrofotómetro FT -IR 2000 Perkin Elmer, en pastilla de  $\text{KBr}$ . Dicho espectro fue comparado con el reportado en el catálogo Aldrich [45], encontrando similitud entre ellos.

Finalmente se realizó el análisis elemental en un equipo CHNS/O 2400 Perkin Elmer, encontrando: C, 40.8%; H, 5.7%; N, 17.3% para  $\text{C}_8\text{H}_{11}\text{N}_3\text{Cl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ : (C, 40.3%; H, 5.5%; N, 17.7%).

## II.3 RMN DE $^{13}\text{C}$

### II.3.1 Instrumentación

Los espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  se obtuvieron en un espectrómetro de RMN de 400 MHz marca JEOL Eclipse operando a 9.389 T con un probe de 5 mm, usando como referencia electrónica la frecuencia del trimetilsilano TMS, a temperatura de  $25 \pm 0.5$  °C. Aunque el equipo no fue calibrado, a partir de los desplazamientos químicos de protón del metanol se estimó la precisión en el control de la temperatura [46,47].

Los parámetros experimentales para los núcleos de  $^{13}\text{C}$  fueron los siguientes: frecuencia espectral de 100.53 MHz, anchura espectral 25.19 KHz (250 ppm), anchura de pulso 3.17  $\mu\text{s}$  (9.5  $\mu\text{s}$  a un ángulo de  $90^\circ$ ), número de scans 3995.

Los espectros fueron obtenidos usando un experimento de pulso simple de  $^{13}\text{C}$  desacoplado. Para la asignación correcta de las señales se realizó un experimento de pulso de protón simple acoplado a  $^{13}\text{C}$ .

Las medidas de pH se efectuaron en un potenciómetro PH250 Radiometer- Copenhagen equipado con un electrodo para pH ROSS (Orion). El potenciómetro se calibró a 3 puntos con soluciones buffer de pH 4.005, 7.000 y  $10.012 \pm 0.010$  Radiometer-Copenhagen certificadas por la IUPAC obteniendo una eficiencia en la celda mayor al 98%. La temperatura de las soluciones durante el ajuste del pH se mantuvo constante a  $25 \pm 0.1$  °C con una celda termostataada y un recirculador de agua Techne Tempetie TE-8D

### II.3.2 Determinación de las constantes de acidez

Se obtuvieron los espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  de disoluciones de 2AMBZ.2HCl 0.1 M a diferentes valores de pH en el intervalo de 1.1 a 13.2. Dichas soluciones fueron preparadas a partir de la mezcla de dos soluciones 0.1 M del compuesto; una ácida (por adición de HCl) y otra básica (por adición de NaOH), hasta obtener el pH deseado. En ambos casos se adicionó un 10% (v/v) de D<sub>2</sub>O para fijar el campo.

En el caso de los estudios de RMN no se controló la fuerza iónica mediante la adición de alguna sal inerte, debido a que I varía desde 0.34 M cuando se tiene la especie desprotonada, hasta 0.64 M cuando se tiene la especie completamente protonada.

Para realizar el refinamiento de las constantes de acidez, los desplazamientos químicos de  $^{13}\text{C}$  a diferentes valores de pH, fueron alimentados y procesados en el programa computacional HypNMR [18].

### II.3.3 HypNMR

HypNMR es un programa computacional que emplea los valores de los desplazamientos químicos de uno o más núcleos para el refinamiento de las constantes de equilibrio. Se asume que el equilibrio se alcanza rápidamente, de tal manera que para un conjunto de núcleos los desplazamientos químicos registrados representan un promedio de todas las especies químicas en las cuales están presentes dichos núcleos.

HypNMR se encuentra estructurado por tres subprogramas que son: un editor de datos (HypNMR); el programa maestro que realiza el refinamiento a partir del archivo de datos generado con HypNEDIT (HypNMR) y la aplicación necesaria para la instalación y evaluación de los resultados (HypNOUT). Cada cálculo requiere de dos archivos de datos, un archivo del modelo de extensión PAR y un archivo de datos de resonancia con extensión \*PAR contiene la información necesaria para especificar el modelo químico del sistema en estudio:

- Etiquetas de los componentes
- Valores estimados o de partida de las constantes de equilibrio
- Coeficientes estequiométricos
- Claves de refinamiento
- Identificación de los núcleos activos a RMN considerados en el sistema.

El archivo de datos de resonancia (\*.PRD) se conforma por un número variable de datos, cada uno de los cuales tiene asociada la descripción de la concentración de los componentes, el pH, y los valores observados de los desplazamientos químicos  $d_i$ . Los nombres de los archivos \*.PAR y \*.PRD son incorporados conjuntamente con el archivo de salida \*.RES en un solo archivo de configuración \*.CON, el cual describe su nombre y ubicación.

En el proceso del refinamiento los valores de las constantes de equilibrio y los desplazamientos químicos que no se conocen son variados para producir el mejor ajuste entre los valores observados y los calculados a partir del modelo. La minimización de la función

objetivo U se lleva a cabo mediante el método de mínimos cuadrados (Ec. II.1).

$$U = \sum W_i (d_i^{\text{cal}} - d_i^{\text{obs}})^2 \quad (\text{Ec. II.1})$$

El factor de ponderación  $W_i$  asignado a cada desplazamiento observado idealmente debe ser igual al recíproco de la varianza de la medida.

## 11.4 ESPECTROFOTOMETRÍA UV/Vis

### 11.4.1 Instrumentación

Los espectros UV se obtuvieron en un espectrofotómetro UV/Vis Lambda 40 Perkin Elmer, con celdas de cuarzo de 1 cm de paso óptico a una velocidad de barrido de 60 mm/min (slit=1 ). Los estudios fueron realizados a una temperatura de  $25 \pm 0.1$  °C, controlada mediante un holder termostataado y un recirculador de agua Techne Tempette TE-80.

Para la medida del pH de las disoluciones de 2AMBZ.2HCl se empleó el equipo descrito en los estudios de RMN.

### 11.4.2 Determinación de las constantes de acidez

Para la determinación de las constantes de acidez a partir de información espectrofotométrica se procesaron los espectros de absorción de diferentes disoluciones de 2AMBZ.2HCl a concentraciones de;  $1.5 \times 10^{-4}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $5 \times 10^{-5}$ , y  $2 \times 10^{-5}$  M a diferentes valores de pH, mismas que se obtuvieron de la mezcla de dos soluciones del compuesto, una ácida (por adición de HCl) y la otra básica (por adición de NaOH). Los estudios se realizaron por triplicado a fuerza iónica variable y 1.0 M ajustada con  $\text{NaClO}_4$ .

La información obtenida se alimentó y procesó en los programas computacionales SQUAD y TRIANG.

### II.4.3 SQUAD

SQUAD (Stability Quotients from Absorbance Data) es un programa escrito en lenguaje fortran, que tiene la capacidad de refinar constantes de estabilidad a partir de información espectrofotométrica, para complejos de fórmula general  $M_m M'_l H_j L_n L_q$  donde los coeficientes estequiométricos  $m, l, n, q = 0$  y  $j$  es positivo para  $\text{H}^+$  o negativo para iones  $\text{OH}^-$ . Dicho programa puede emplearse para estudiar sistemas hasta de cinco componentes que involucren diversos equilibrios químicos

como: ácido-base, hidrólisis de iones metálicos; complejos binarios, ternarios y cuaternarios (incluso con polinucleación) [10,48,49].

Para realizar el refinamiento SQUAD considera las ecuaciones de balance de masa, la ley de Lambert-Beer de las especies químicas que absorben radiación electromagnética en la región del espectro estudiada; además de la ley de aditividad que las engloba. Así, el programa requiere de los coeficientes de absorptividades molares correspondientes, mismos que pueden ser alimentados o calculados por el propio programa.

La información necesaria es alimentada al programa mediante un archivo de datos que contiene:

- Las constantes globales de formación ( $\log \beta_n$ ) provenientes de una propuesta razonable de un modelo químico del sistema en estudio.
- Los coeficientes estequiométricos acordes al modelo propuesto.
- El intervalo de longitudes de onda
- El pH de cada una de las soluciones
- La concentración de las soluciones
- Las absorbancias medidas a cada una de las longitudes de onda consideradas para cada uno de los sistemas definidos en función de las concentraciones y pH.

A partir de la información declarada en el archivo de entrada o datos, el programa refina el valor de las constantes a fin de obtener el menor valor de U (Ec. II.2); empleando para ello el algoritmo de minimización Gauss-Newton [10].

$$U = \sum_{i=1}^i \sum_{k=1}^k (A_{i,k}^{cal} - A_{i,k}^{obs})^2 \quad (\text{Ec. II.2})$$

Cabe aclarar que SQUAD no considera ningún factor de ponderación sobre las medidas de absorbancia para realizar el refinamiento.

Los resultados se presentan en un archivo de salida que nos reporta los valores de las constantes refinadas en términos de  $\log \beta$  con su respectiva desviación estándar y el valor final de U (sumatoria de los residuos al cuadrado).

#### **II.4.4 TRIANG.**

Es un programa computacional escrito en lenguaje Fortran que calcula el número más probable de especies químicas que absorben radiación electromagnética a partir de una matriz de absorbancias a diferentes longitudes de onda [49,50]. En términos generales, la estrategia consiste en encontrar el número de ecuaciones linealmente independientes, comparando la matriz triangularizada de absorbancias con la matriz de error que se construye a partir del valor del error en la transmitancia  $\%T$  y la ecuación de propagación de error.

El número de especies que reporta el programa, es dependiente del valor de  $\%T$ , el cual debe evaluarse a partir de los errores implicados en la preparación de soluciones y los instrumentales aplicando la teoría de propagación del error.

### **11.5 POTENCIOMETRÍA**

#### **11.5.1 Instrumentación**

Las curvas de valoración potenciométricas se realizaron en un Titulador Automático Mettler- Toledo DL53, provisto de una bureta de borosilicato de 10.00 mL y un electrodo combinado de pH Mettler-Toledo DG101SC, calibrado con las soluciones buffer reportadas en el apartado II.3.1.

El equipo se programó considerando adiciones de NaOH de 50 ó 100  $\mu\text{L}$  hasta un volumen de 2.0 mL y un criterio de estabilidad de 0.001 unidades de pH/min, mismo que se cumplió en un tiempo promedio de 3-15 minutos para cada adición.

Durante las valoraciones se controló la temperatura a  $25 \pm 0.1$  °C por medio del baño termostataado descrito anteriormente. Asimismo se mantuvo una agitación constante mediante la propela del titulador automático y con atmósfera de nitrógeno saturado con agua a fin de evitar la incorporación de  $\text{CO}_2$  en la solución y la evaporación del sistema.

Cabe mencionar que la bureta del titulador fue calibrada previamente mediante la obtención de la masa de diferentes volúmenes de agua destilada a 25 °C empleando una balanza analítica Sartorius BP 221 S.

#### **11.5.2 Determinación de las constantes de acidez.**

Se efectuaron valoraciones potenciométricas de disoluciones de 2AMBZ.2HCl en el intervalo de concentraciones de 0.001 a 0.05 M con soluciones de NaOH a concentraciones adecuadas para que el volumen empleado en la valoración no excediera de 2 mL.

Las valoraciones se hicieron por triplicado en alícuotas de 20 mL, a fuerza iónica (I) variable, y 0.1 M impuesta con NaClO<sub>4</sub>.

Los valores de pH contra volumen agregado de cada una de las valoraciones y la información complementaria procesada empleando el programa computacional SUPERQUAD, a fin de realizar el refinamiento de las constantes de acidez del 2AMBZ.

### II.5.3 SUPERQUAD

SUPERQUAD [16], cuyos predecesores son MINQUAD y MIQUV [10,15], es un programa escrito en lenguaje Fortrán, el cual refina constantes de equilibrio a partir de información potenciométrica. En la actualidad existe una versión equivalente capaz de trabajar en ambiente windows, misma que se comercializa bajo el nombre de HYPERQUAD [17].

Para realizar el refinamiento, SUPERQUAD considera las ecuaciones de balance de masa y la ley de Nernst asociada a las especies químicas electroactivas. Consecuentemente, el programa requiere del potencial estándar del electrodo mismo que es alimentado, excepto en el caso de la pH-metría.

El refinamiento de las constantes de equilibrio es realizado mediante la búsqueda de la minimización de la suma de los residuos al cuadrado de los potenciales de celda U (Ec.II.3) [16].

$$U = \sum_i W_i (E_i^{\text{calc}} - E_i^{\text{obs}})^2 \quad (\text{Ec. II.3})$$

El factor de ponderación  $W_i$  asignado a cada potencial medido, es por el programa considerando las desviaciones estándar de la medida potencial y del volumen agregado durante la valoración;  $W_i$  es el recíproco de varianza obtenida mediante una ecuación de propagación de error.

La información potenciométrica necesaria es alimentada al programa mediante archivo de datos que contiene:

- Constantes globales de formación, provenientes de una propuesta razonable de un modelo químico del sistema en estudio.
- Coeficientes estequiométricos asociados a las constantes de formación propuestas.
- Concentraciones de los reactivos presentes en el sistema de valoración (número de milimoles).
- Volumen inicial
- Curvas de valoración pH-métricas o potenciométricas.

- Incertidumbres instrumentales en medidas de potencial y en el volumen agregado de solución valorante.

De manera similar a HypNMR o SQUAD; SUPERQUAD nos muestra los resultados en un archivo de salida, mismo que presenta tres parámetros que nos ayudan a elegir el mejor modelo químico: U, las desviaciones estándar de las constantes refinadas y la prueba de  $\chi^2$  aplicada a los residuos que permite identificar sesgos en el ajuste del modelo respecto a la información experimental.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## CAPÍTULO III RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### III.1 ESTUDIOS DE RMN

#### III.1.1 Asignación de señales.

Los espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  obtenidos a partir de las disoluciones acuosas de 2AMBZ, presentan en todo el intervalo de pH estudiado 5 señales perfectamente definidas (Fig. III.1a); tres de ellas corresponden a los C químicamente equivalentes debido a la simetría de la molécula y fenómenos de tautomerismo (C5-C6, C4-C7 y C8-C9) [51], mientras que las dos señales restantes se asignan a los carbonos C2 y C10.

La asignación de cada una de las cinco señales se realizó a partir del análisis del espectro de  $^{13}\text{C}$  acoplado a  $^1\text{H}$  (Fig. III.1b) La señal a 34.5 ppm es un triplete que corresponde al C10 del grupo metileno. Por otra parte, se observan dos señales dobles que corresponden a los carbonos C4-C7 y C5-C6. Finalmente las dos señales simples, corresponden a los carbonos C2 y C8-C9.

Los patrones de acoplamiento de  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  permiten diferenciar las señales de los carbonos equivalentes C4-C7 ( $d = 114.5$  ppm) respecto a C5-C6 ( $d = 127.4$  ppm). Los *núcleos equivalentes* de C4 y C7 se acoplan sólo a 3 átomos de hidrógeno (H4, H5, H6, y H7, H6, HS respectivamente), mientras que C5 y C6 se acoplan con 4 átomos de hidrógeno (H4, H5, H6 y H7) presentando por lo tanto mayor multiplicidad. Finalmente fue posible diferenciar las frecuencias de resonancia de C2 ( $d = 143.5$  ppm) respecto a C8-C9 ( $d = 131.0$  ppm), C2 sólo se acopla con los hidrógenos del metileno por lo que ésta es una señal triple, mientras que la señal de los C8-C9 presenta mayor multiplicidad por acoplarse con tres átomos de hidrógeno.

La asignación anteriormente descrita coincide con reportes previos [52] y con la simulación realizada mediante el programa ACD/CNMR Spectrum Generator 4.5 (Tab. III.1) [53].

**Tabla III.1. Desplazamientos químicos de  $^{13}\text{C}$  del 2-(aminometil)bencimidazol experimentales y simulados mediante el programa ACD/CNMR Spectrum Generator 4.5**

núcleo	$d^{13}\text{C}/\text{ppm}$	
	Experimental <sup>1</sup>	Simulación <sup>2</sup>
C2	143.5	156.16
C4-C7	114.5	112.76
C5-C6	127.4	127.26
C8-C9	131.0	131.76
C10	34.5	36.95

<sup>1</sup> 2AMBZ.2HCl 0.1M (pH=2.082); <sup>2</sup> Se consideró el dicatión.

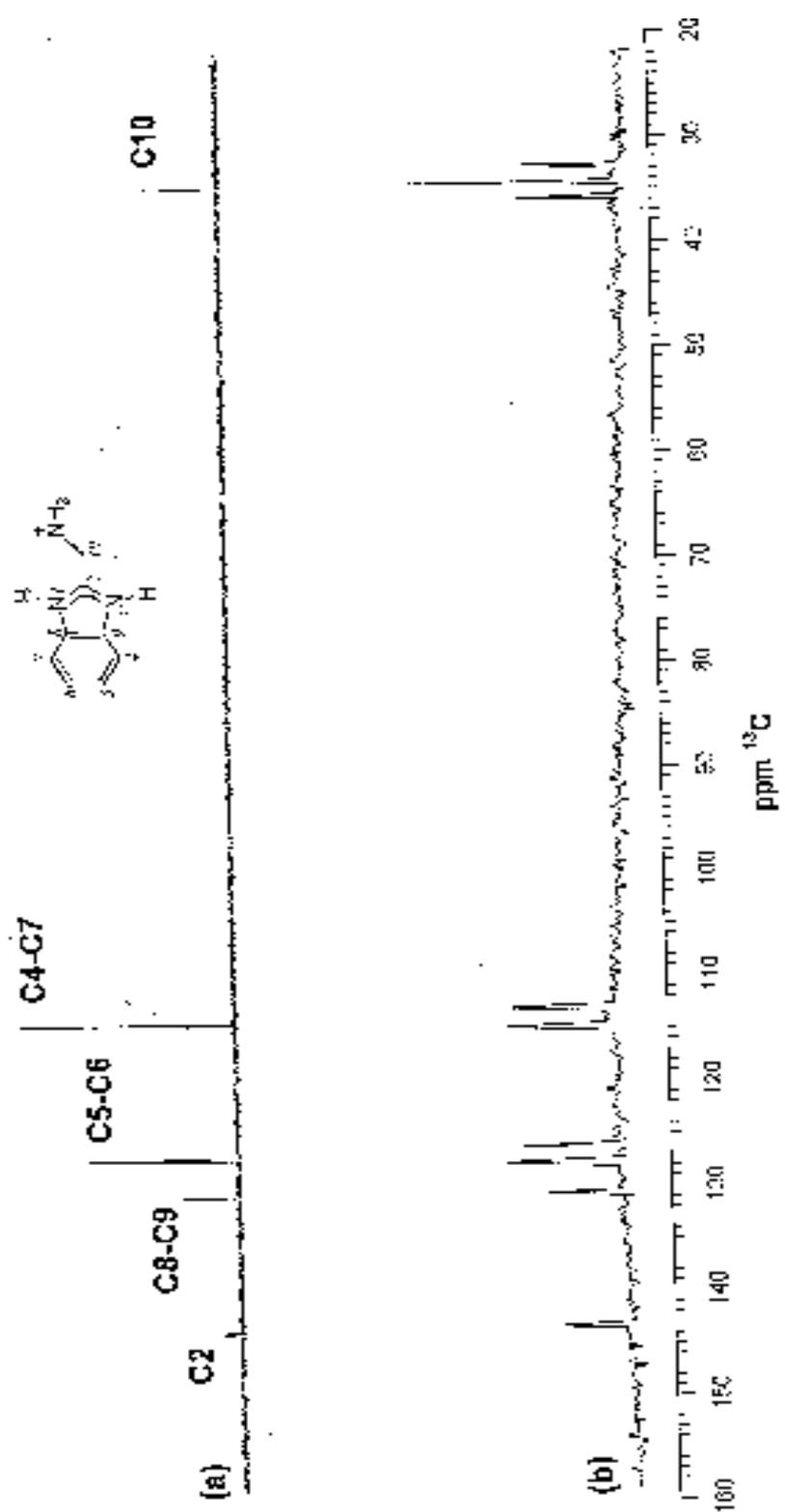


Figura III.1. a) Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  de 2AMBZ. b) Espectro de RMN de  $^{13}\text{C}$  acoplado a  $^1\text{H}$ .

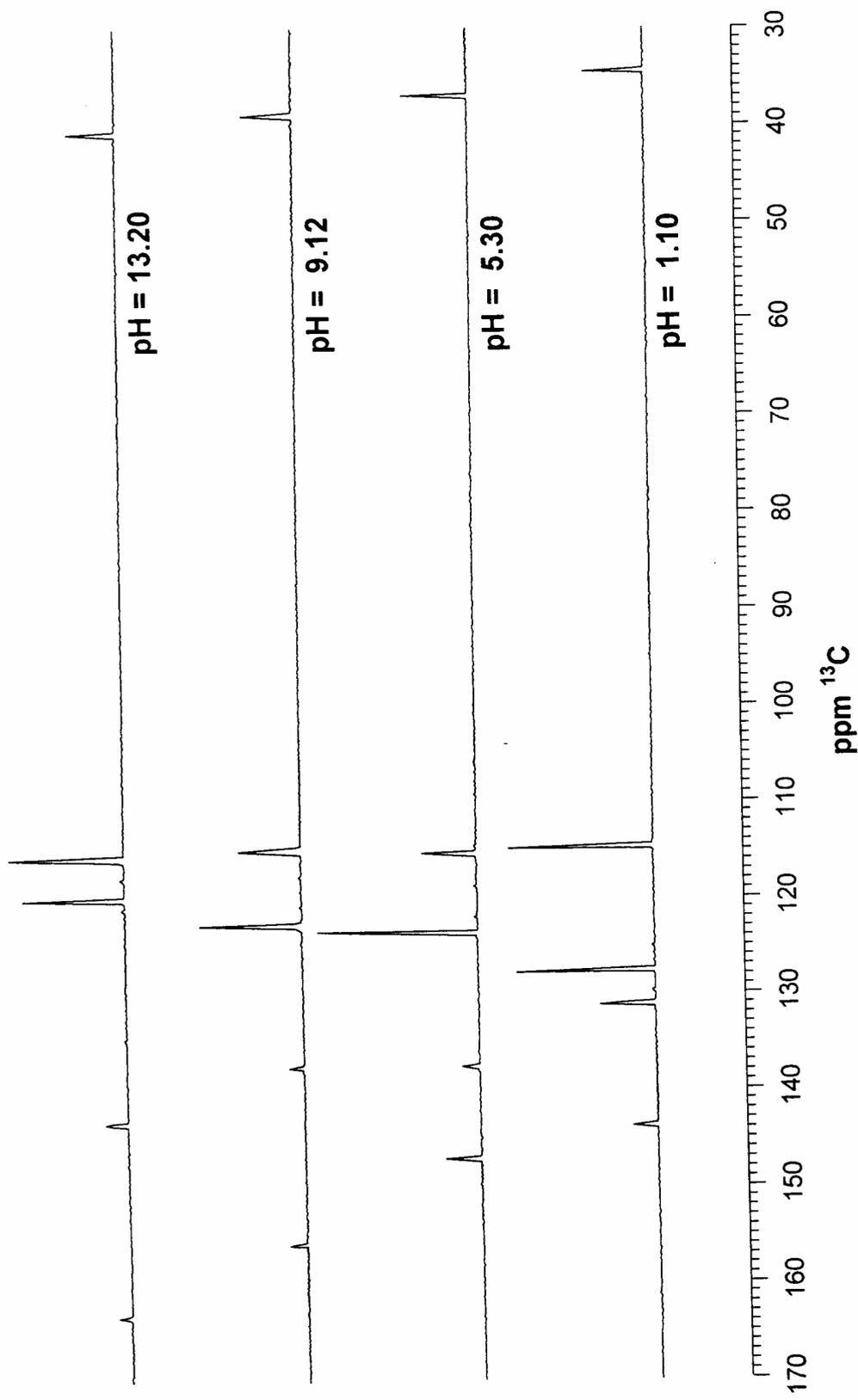


Figura III.2. Espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  de 2AMBZ 0.1 M a 25°C a diferentes valores de pH.

### III.1.2 Reacciones propuestas de protonación-desprotonación del 2-(aminometil)bencimidazol.

Al estudiar los espectros de RMN de  $^{13}\text{C}$  desacoplados obtenidos de las disoluciones de 2AMBZ.2HCl se observa que los desplazamientos químicos cambian cuando el pH es variado (Fig. III.2); este hecho nos proporciona información respecto a los sitios de desprotonación del dicatión del 2AMBZ y formación del monoanión.

Se conoce que la formación de sales de amonio causa fenómenos de protección a los átomos de carbono unidos a átomos de nitrógeno [54]. Por lo tanto los desplazamientos químicos de los núcleos de carbono en posición  $\alpha$  a los nitrógenos cuaternarios son desplazados a bajas frecuencias respecto a la amina libre.

En correspondencia a lo anteriormente expuesto, se encontró que cuando el pH aumenta (partiendo del dicatión), las señales de C2, C8-C9 y C10 son desplazadas a frecuencias más altas. En la figura III.2 puede observarse que sólo las señales de los C2 y C10 se vieron afectadas por la pérdida sucesiva de los protones unidos a los átomos de nitrógeno. Los desplazamientos químicos de los C8-C9 son prácticamente constantes entre los valores de pH 4 y 11 (Fig. III.3 a y b), lo cual puede explicarse si se asume que la primera desprotonación tiene lugar en un nitrógeno imidazólico produciendo el respectivo monocatión, mientras que la segunda desprotonación ocurre en el grupo  $\text{NH}_3$ . Por otro lado existen reportes de que las frecuencias de resonancia de los C5-C6 son afectadas por efectos inductivos producidos por los nitrógenos imidazólicos [54]; así, cualquier desprotonación en estos átomos desplazará las señales a frecuencias bajas.

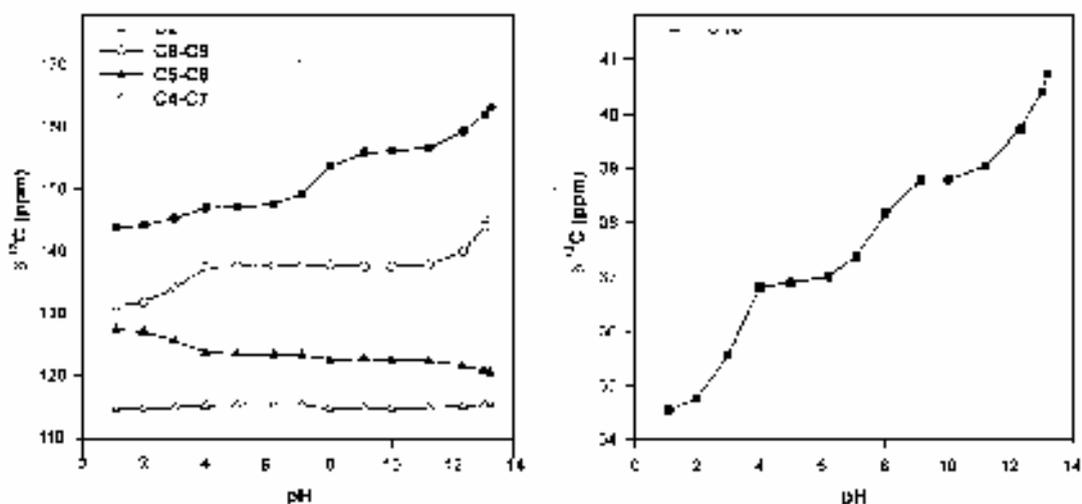


Figura III.3 Desplazamientos químicos de  $^{13}\text{C}$  en el 2AMBZ en función del pH

Los espectros muestran que los desplazamientos químicos de C5-C6 son prácticamente constantes en el intervalo de pH de 4 a 11 (Figs. III.2 y III.3), confirmando que la segunda desprotonación ocurre en el  $\text{NH}_3$ . Finalmente, el último protón que se pierde es el del nitrógeno imidazólico restante, afectando a los núcleos de C2, C8-C9, C5-C6 y C10.

Las reacciones de protonación-desprotonación propuestas (Fig. III.4) coinciden con las reportadas anteriormente por Dash, aunque sólo hace referencia a la pérdida de los primeros dos protones [40]. En contraparte difieren de las propuestas por Sinha, el cual establece que la primera desprotonación ocurre en el  $\text{NH}_3$  [38]. Es importante mencionar que Dash no sustenta su propuesta y aunque Sinha si lo hace, su discusión se basa en información espectrofotométrica, la cual no es tan confiable para este tipo de estudios.

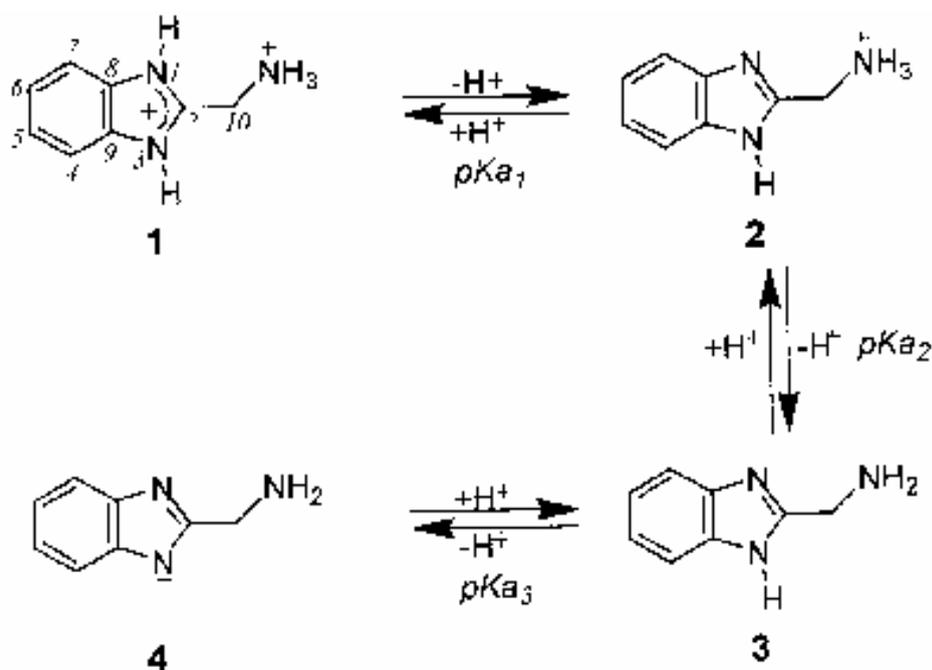


Figura III.4 Reacciones de protonación-desprotonación del 2AMBZ propuestas con base en estudios de RMN de  $^{13}\text{C}$ .

### III.1.3 Determinación de las constantes de acidez del 2AMBZ mediante HypNMR.

#### III.1.3.1 Evaluación del programa.

Es importante evaluar de manera previa el desempeño del programa HypNMR para el refinamiento de constantes de equilibrio, a fin de conocer su manejo y confirmar su utilidad.

Esta evaluación se realizó con un modelo teórico (bencimidazol) y con información experimental anteriormente reportada (sistema de B(III)-H<sub>2</sub>O).

### III.1.3.1.1 Modelo teórico del bencimidazol.

A fin de generar información teórica para evaluar HypNMR, se consideró al bencimidazol, como una especie química similar al 2AMBZ. Las dos constantes de acidez utilizadas ( $pK_{a1}=5.67$ ,  $pK_{a2}=13.00$ ) se calcularon previamente con el programa ACD/pKa DB. La primera constante de acidez, coincide con el valor reportado en la literatura [6]; no obstante, no se conoce ningún reporte experimental correspondiente al segundo pKa. A partir de dicha información se construye el Diagrama de Distribución de Especies (Figs. III.5 y III.6).

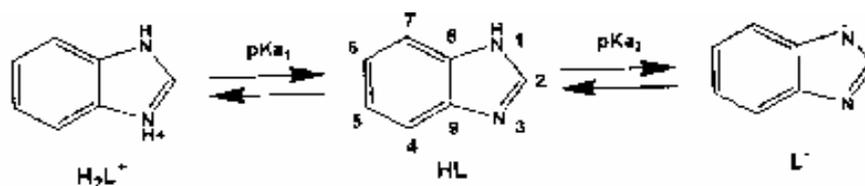


Figura III.5. Equilibrios ácido-base del bencimidazol

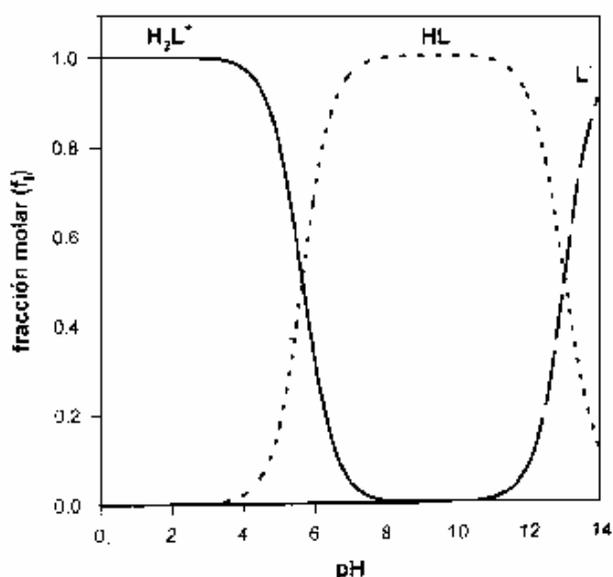


Figura III.6. Diagrama de Distribución de Especies del bencimidazol.

Los desplazamientos químicos necesarios para generar el modelo teórico, fueron obtenidos mediante el programa ACD/CNMR Spectrum Generator 4.5 (Tab. III.2).

**Tabla III.2 Desplazamientos químicos de  $^{13}\text{C}$  simulados\* de las especies ácido-base del bencimidazol.**

Especie	$d^{13}\text{C}$ (ppm)			
	C2	C8-C9	C5-C6	C4-C7
L-	149.44	147.46	121.10	116.40
HL	142.01	138.54	122.88	115.90
H <sub>2</sub> O	140.25	131.70	127.88	115.54

- ACD/CNMR Spectrum Generator 4.5. En el caso de los carbonos equivalentes, los desplazamientos reportados, corresponden al promedio de las señales de ambos carbonos, ya que el programa los diferencia al no considerar el fenómeno de tautomerismo.

A partir de las fracciones molares de cada una de las especies ácido-base del bencimidazol y sus respectivos desplazamientos químicos, es posible calcular el desplazamiento observado para cada carbono en función del pH, conforme a la ecuación III.1 (Tab. III.3 Fig. III.7).

$$d_{\text{obs}} = \frac{d_{\text{L}^-} [\text{L}^-] + d_{\text{HL}} [\text{HL}] + d_{\text{H}_2\text{L}^+} [\text{H}_2\text{L}^+]}{[\text{L}^-] + [\text{HL}] + [\text{H}_2\text{L}^+]} \quad (\text{Ec. III.1})$$

**Tabla III.3. Desplazamientos químicos simulados simulados de  $^{13}\text{C}$  para el bencimidazol en función del pH.**

pH	$^{13}\text{C}$ (ppm) *			
	C2	C8-C9	C5-C6	C4-7
0.0	140.25	131.70	127.88	115.54
0.5	140.25	131.70	127.88	115.54
1.0	140.25	131.70	127.88	115.54
1.5	140.25	131.70	127.88	115.54
2.0	140.25	131.70	127.88	115.54
2.5	140.25	131.70	127.88	115.54
3.0	140.25	131.71	127.87	115.54
3.5	140.26	131.75	127.85	115.54
4.0	140.29	131.84	127.78	115.55
4.5	140.36	132.13	127.56	115.56
5.0	140.56	132.90	127.00	115.60
5.5	140.96	134.46	125.86	115.69
6.0	141.45	136.36	124.47	115.79
6.5	141.78	137.66	123.52	115.85
7.0	141.93	138.23	123.10	115.88

7.5	141.98	138.44	122.95	115.89
8.0	142.00	138.51	122.90	115.90
8.5	142.01	138.53	122.89	115.90
9.0	142.01	138.54	122.88	115.90
9.5	142.01	138.54	122.88	115.90
10.0	142.02	138.55	122.88	115.90
10.5	142.03	138.57	122.87	115.90
11.0	142.08	138.63	122.86	115.90
11.5	142.24	138.81	122.83	115.92
12.0	142.69	139.35	122.72	115.95
12.5	143.80	140.68	122.45	116.02
13.0	145.72	143.00	122.99	116.15
13.5	147.65	145.32	121.53	116.28
14.0	148.76	146.65	121.26	116.35

\*Para la asignación de carbonos ver Fig.III.5.

La información teórica generada fue alimentada al programa HypNMR, encontrándose una excelente correspondencia entre los valores refinados de las constantes y los desplazamientos químicos de las especies respecto a los que dieron origen al modelo (Tab. III.4). En los apéndices I y II se presentan el instructivo de HypNMR y los archivos teórico respectivamente.

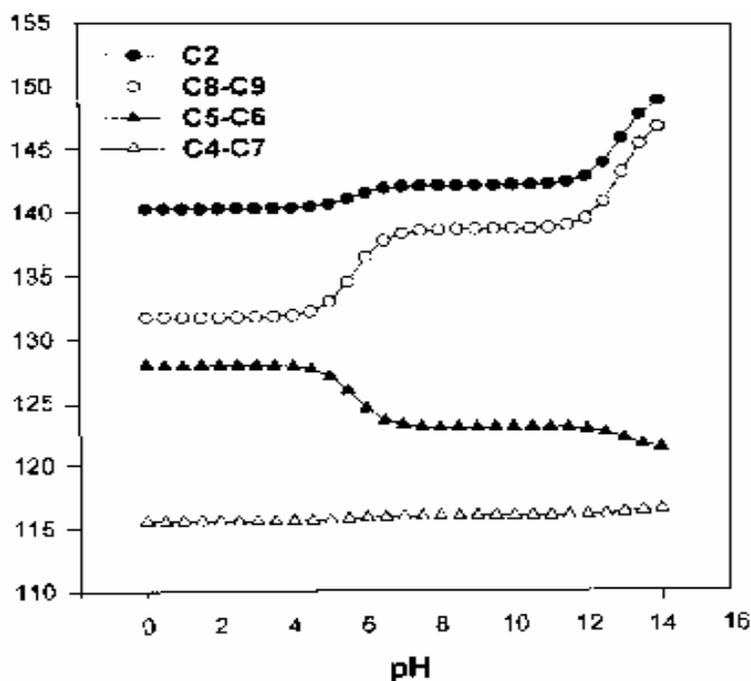


Figura III.7 Desplazamientos químicos de <sup>13</sup>C en el bencimidazol en función del pH.

**Tabla III.4 Resumen de resultados del modelo teórico alimentado a HypNMR.**

parámetro		teórico	refinado*	
Log $\beta$ 1		13.00	12.9999(0.0004)	
Log $\beta$ 2		18.67	18.6694(0.0006)	
$d^{13}\text{C}$ (ppm)	L <sup>-</sup>	C2	149.44	149.435(0.002)
		C8-C9	147.46	147.461(0.002)
		C5-C6	121.10	121.101(0.002)
		C4-C7	116.40	116.398(0.002)
	HL	C2	142.01	142.010(0.001)
		C8-C9	138.54	131.698(0.001)
		C5-C6	122.88	127.881(0.001)
		C4-C7	115.90	115.540(0.001)
	H <sub>2</sub> L <sup>+</sup>	C2	140.25	140.249(0.001)
		C8-C9	131.70	131.698(0.001)
		C5-C6	127.88	127.881(0.001)
		C4-C7	115.54	115.540(0.001)

\* entre paréntesis se presenta la desviación estándar.

Los resultados del análisis estadístico reportados por el programa son de gran calidad, ya que se obtuvieron pequeñas desviaciones estándar en los valores refinados de las constantes de equilibrio y los desplazamientos químicos de las especies. La sumatoria de los residuos al cuadrado  $U$  es de  $7.1 \times 10^{-4}$ , la cual implica una diferencia promedio entre los desplazamientos químicos alimentados y los calculados por HypNMR (sigma) de 0.00247 ppm.

A partir del análisis de los residuos, el programa reporta una  $\chi^2$  de 15.31, misma que es mayor al valor límite de 12.60, por debajo del cual se puede considerar que siguen una distribución normal con un 95% de confianza. Este hecho puede atribuirse a la pequeña magnitud de los residuos o a un cierto sesgo de la información en la parte básica debido a que el monoanión nunca llega a establecer un predominio franco.

### III.1.3.1.2 Información experimental del sistema B(III)-H<sub>2</sub>O

Mediante la información experimental de RMN de <sup>11</sup>B reportada por la M. en Q Evelia Morales para el sistema B(III)-H<sub>2</sub>O [55], fue posible realizar una evaluación del programa. El modelo químico

propuesto para explicar dicho sistema, considera solamente el pKa del ácido bórico.

La información experimental alimentada a HypNMR comprende las señales del desplazamiento de un núcleo de  $^{11}\text{B}$  obtenidas a partir de soluciones de  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  con  $[\text{B(III)}]_{\text{total}}=0.075\text{M}$  en el intervalo de pH comprendido entre 1.706 y 12.117. Los archivos de entrada \*.CON, \*.PAR, \*.PRD y \*.RES se presentan en el apéndice III. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla III.5.

**Tabla III.5 Resumen de resultados del sistema B(III)-H<sub>2</sub>O alimentado a HypNMR.**

parámetro	reportado[55]*	refinado
Log $\beta_1$	9.11(0.027)	9.1691(0.0125)
d $^{11}\text{B}$ (ppm)borato	-	1.793(0.381)
d $^{11}\text{B}$ (ppm)ácido bórico	-	18.901(0.266)
U	-	$6.6 \times 10^{-1}$
sigma	-	0.2
Equilibrio	$\text{B(OH)}_4^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{B(OH)}_3 + \text{H}_2\text{O}$	

\* El valor de la constante fue determinado mediante el método gráfico de la ecuación tipo Henderson-Hasselbalch aplicable en estudios de resonancia [56]. Los valores entre paréntesis corresponden a la desviación estándar.

La constante de equilibrio refinada es congruente con el valor calculado mediante un método gráfico a partir de la misma información, lo cual confirma la capacidad del programa para refinar constantes de acidez a partir de los desplazamientos químicos asociados en el intervalo de pH de interés. Cabe destacar que HypNMR reporta menor desviación estándar sobre la constante.

Asimismo se encuentra una sigma de 0.2; es decir, una diferencia promedio de 0.2 ppm entre los desplazamientos químicos observados y calculados. El análisis de  $\chi^2$  de los residuos no fue calculado por el programa, debido al insuficiente número de puntos alimentados.

### III.1.3.2 Refinamiento de constantes de acidez del 2-(Aminometil)bencimidazol.

En la tabla III.6 se indican los desplazamientos de  $^{13}\text{C}$  observados en el 2AMBZ, mismos que fueron alimentados y procesados por el programa HypNMR cuyos resultados se resumen en la tabla III.7

**Tabla 111.6. Desplazamientos químicos de  $^{13}\text{C}$  en el 2AMBZ 0.1M a diferentes valores de pH.**

pH	C2	C4-C7	C5-C6	C8-C9	C10
1.1	143.9	114.6	127.4	131.1	34.5
2.0	144.2	114.7	127.1	131.8	34.8
3.0	145.4	114.8	125.6	134.1	35.6
4.0	147.1	115.2	123.7	137.5	36.8
5.0	147.2	115.4	123.6	137.7	36.9
6.2	147.7	115.5	123.5	137.7	37.0
7.1	149.4	115.3	123.4	137.8	37.4
8.0	153.8	114.7	122.7	138.0	38.2
9.12	156.1	115.0	122.9	137.8	38.8
10.0	156.4	114.8	122.7	137.8	38.8
11.2	156.9	114.9	122.7	138.1	39.0
12.3	159.5	115.2	122.0	140.2	39.7
13.2	163.4	115.7	120.8	143.2	40.8

**Tabla III.7. Constantes de equilibrio ( $\log \beta_n$ ) para el 2AMBZ obtenidos con el programa HypNMR a partir de los datos reportados en la tabla III.6.**

$\log \beta_1$	$\log \beta_2$	$\log \beta_3$	U	N° datos	sigma	$\chi^2$
12.550 (0.038)	20.174 (0.050)	23.277 (0.060)	$8.6 \times 10^{-1}$	70	0.1351	25.09

$\log \beta_1 = \text{pKa}_3$ ;  $\log \beta_2 = \text{pKa}_3 + \text{pKa}_2$ ;  $\log \beta_3 = \text{pKa}_3 + \text{pKa}_2 + \text{pKa}_1$ . Fuerza iónica variable.

Los resultados del refinamiento obtenidos presentan valores bajos de desviación estándar y son congruentes con reportes previos (ver tabla I.4). El valor de sigma reportado corresponde a un 0.69% y 12.13% respecto al cambio total del desplazamiento de los carbonos más (C2) y menos (C4-C7) sensibles.

Conforme al valor reportado de  $\chi^2$ , es claro que los residuos no siguen una distribución normal. Un análisis más detallado de este hecho nos muestra que existen mayores magnitudes de los residuos en la zona básica, lo cual se puede relacionar con la falta de un franco predominio del monoanión en el máximo pH alcanzado (Fig. III.8).

Las constantes de equilibrio obtenidas en conjunto con los desplazamientos químicos refinados por HypNMR para cada uno de los cinco núcleos distinguibles de carbono asociado a cada una de las especies ácido-base del 2AMBZ, hacen posible realizar la simulación del comportamiento de los desplazamientos químicos en función del pH de cada carbono (Fig. III.9). El procedimiento seguido, es análogo al

presentado en el apartado III.1.3.1. y permite evaluar la calidad de la información.

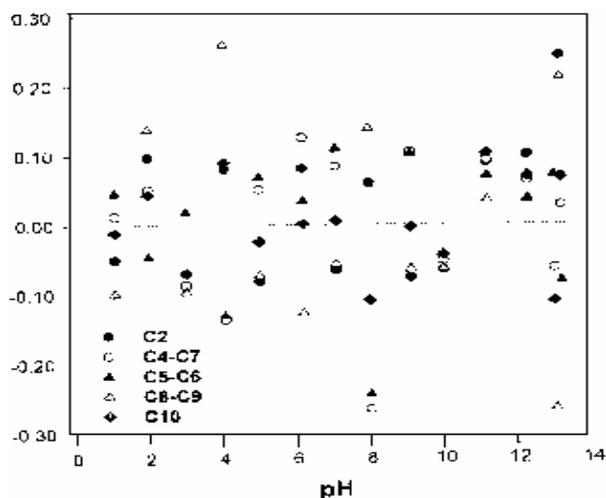


Fig.III.8. Distribución de residuos ( $d_{obs}-d_{cal}$ ) en el intervalo de pH estudiado.

El comportamiento de los desplazamientos químicos obtenidos a partir de la simulación, es muy similar al experimental, razón por la cual puede afirmarse que los parámetros termodinámicos refinados explican adecuadamente el sistema del 2AMBZ.

Es importante destacar que los resultados de RMN de  $^{13}\text{C}$ , además de permitir identificar la especie predominante en cada zona de pH, confirman la existencia del tercer pKa, del cual el presente trabajo constituye el primer reporte con estadística asociada.

No obstante la buena calidad del refinamiento obtenido, el modelo de tres pKa's propuesto, debe ser confirmado por otras técnicas a fin de extender su validez más allá de una técnica en particular. En este sentido, la información obtenida se contrastó con estudios espectrofotométricos y potenciométricos.

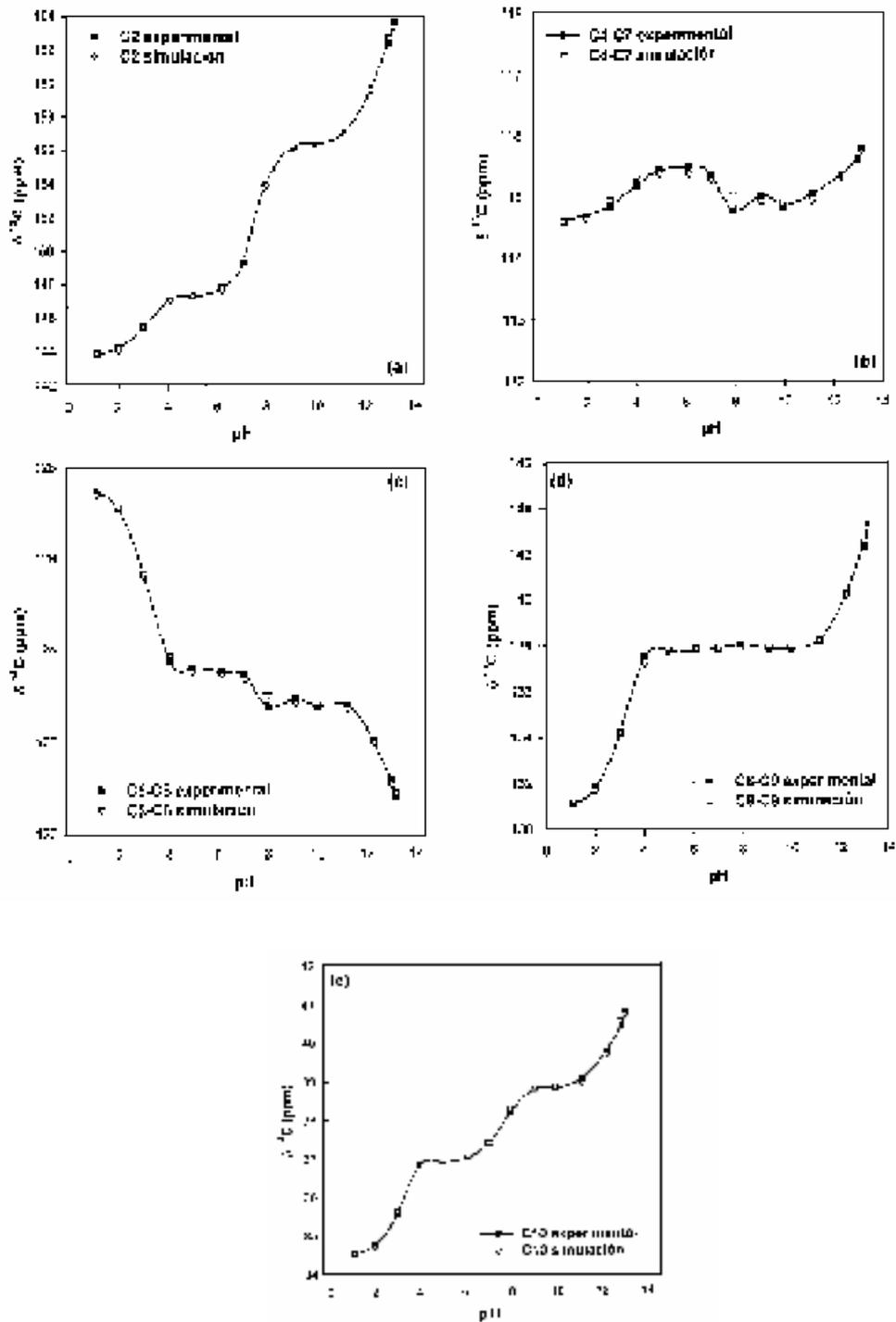


Figura III.9. Comportamiento comparativo de los desplazamientos químicos experimentales y simulados para las cinco señales de  $^{13}\text{C}$  del 2AMBZ en función del pH.

## III.2 ESTUDIOS DE ESPECTROFOTOMETRÍA UV/Vis

### III.2.1 Cinética

Uno de los aspectos fundamentales que debe ser abordado al realizar estudios de equilibrio es la invarianza de la propiedad medida con respecto al tiempo, ya que de esta manera se confirma que el sistema se encuentra precisamente en equilibrio químico.

Con base en la estabilidad de la lectura de pH de los sistemas y la reproducibilidad de los resultados en RMN, se puede determinar que el equilibrio se establece con rapidez; no obstante, mediante experimentos espectrofotométricos se realizó el estudio formal de este aspecto.

Así, se obtuvieron espectros de absorción de disoluciones de 2AMBZ.2HCl a diferentes valores de pH a través del tiempo, hasta por 24 horas, encontrándose diferencias menores al 1.5% en la absorbancia, confirmándose de esta manera el estado de equilibrio en el intervalo de pH estudiado (Fig. III.10).

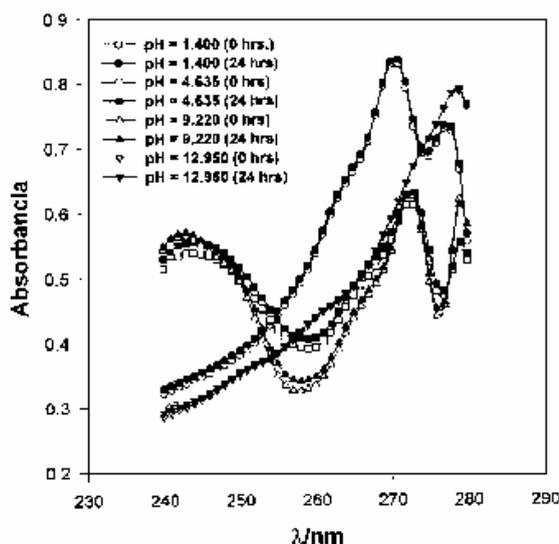


Figura III.10. Espectros UV del 2AMBZ.2HCl  $1 \times 10^{-4}$  M a diferentes valores de pH y tiempos.

### III.2.2 Ley de Lambert-Beer

Para el refinamiento de las constantes de acidez del 2AMBZ mediante el programa SQUAD, se considera que la información alimentada corresponde al estado de equilibrio y que se cumple con las leyes de Lambert-Beer y aditividades. Este hecho hace necesario

corroborar el comportamiento lineal de la absorbancia con respecto a la concentración.

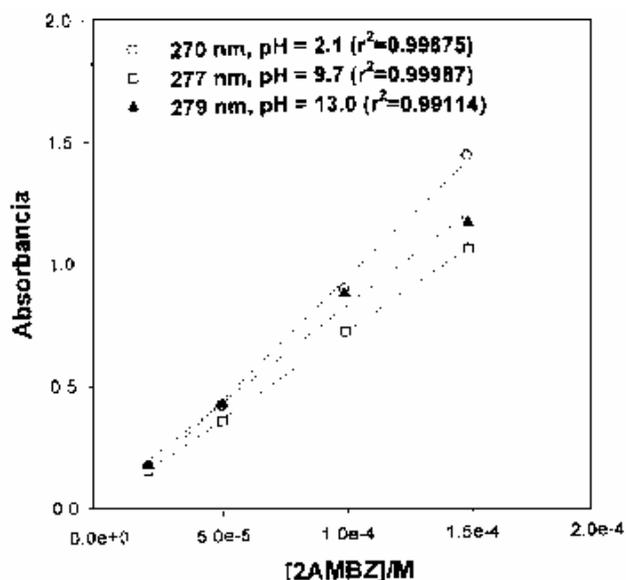


Figura III.1.1. Gráfico de absorbancia contra concentración de 2AMBZ a diferentes longitudes de onda.

A partir de los espectros de absorción de las disoluciones de 2AMBZ.2HCl con diferentes concentraciones y valores de pH, se obtuvieron los datos de absorbancia necesarios para construir curvas de calibración a longitudes de onda seleccionadas (Fig. III.11). Como puede observarse, el comportamiento exhibido es lineal y se presentan aceptables coeficientes de correlación; en consecuencia, se confirma el cumplimiento de la ley de Lambert-Beer a diferentes longitudes de onda.

### III.2.3 Refinamiento de constantes de acidez del 2AMBZ.

La información espectrofotométrica obtenida, permite observar claramente dos puntos isobésticos en las regiones ácida y básica respectivamente. En ambos casos, su ubicación es 253-254 nm y puede asociarse a un equilibrio ácido base (Fig. III.12). No obstante, en los espectros ubicados en el intervalo de pH 5 a 10, no fue posible distinguir un punto isobéstico debido al fenómeno de tautomerismo que presentan el monocatión y la especie neutra (Fig. III.12), mismo que ha sido discutido anteriormente y el cual provoca que los coeficientes de absorptividad molar de dichas especies sean similares [38].

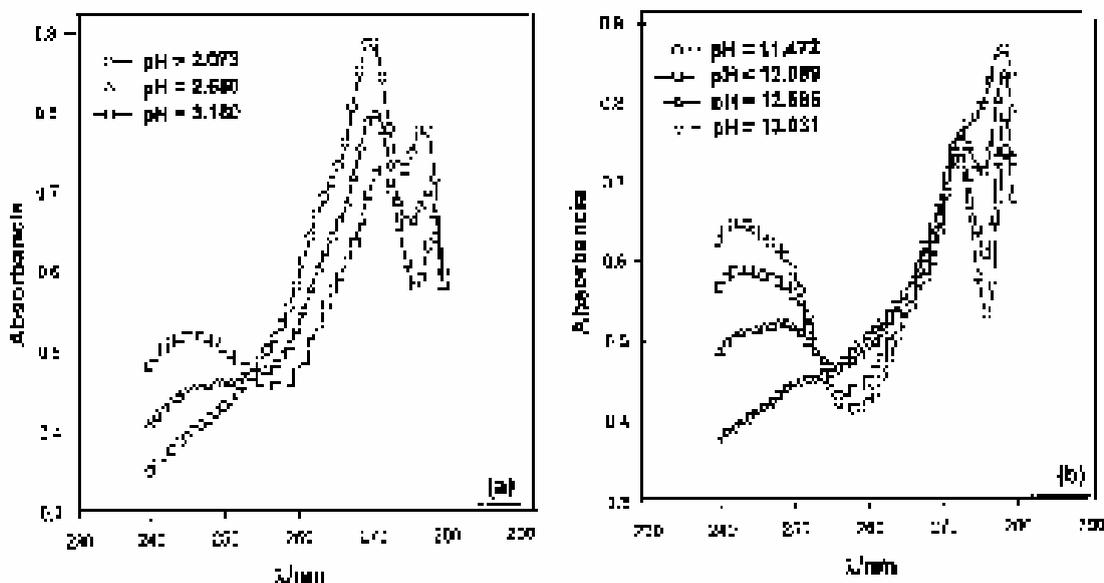


Figura III.12. Espectros de absorción de  $[2AMBZ.2HCL]=0.0001\text{ M}$ ,  $I = \text{var.}$  (a) zona ácida; (b) zona básica.

Los resultados obtenidos mediante del programa computacional TRIANG a partir de la matriz de absorbancias a diferentes longitudes onda (248-290 nm), valores de pH (1.211-13.600), concentraciones ( $2.0 \times 10^{-5}$ - $1.5 \times 10^{-4}\text{ M}$ ) y fuerza iónica (variable, 1.0 M), nos indican que el número de especies químicas que absorben radiación electromagnética en el sistema es de 4 para un intervalo de  $\Delta T$  (error en las lecturas de transmitancia) de 0.001 a 0.005, intervalo en el que se ubica el error del equipo (0.003). Esta información apoya la existencia de 3 valores de pKa; y es consecuente con las 4 especies químicas del modelo refinado a partir de RMN.

Una vez establecida la congruencia entre la información de RMN y la de espectrofotometría UVNis, se alimentaron al programa SQUAD los espectros de absorción a diferentes concentraciones y valores de pH, considerando el modelo de tres pKa's. Los resultados mostrados en la tabla III.8 son congruentes con la información reportada anteriormente en la literatura y los estudios de RMN descritos en apartados precedentes.

**Tabla III.8. Constantes de equilibrio ( $\log \beta_n$ ) para el 2AMBZ obtenidos con el programa SQUAD a partir de información espectrofotométrica.**

$\log \beta_1$	$\log \beta_2$	$\log \beta_3$	I/M	U	n	sigma	$\chi^2$
12.593 (0.010)	20.074 (0.072)	22.851 (0.084)	var.	$2.00 \times 10^{-1}$	1032	0.014	nd
12.487 (0.015)	20.374 (0.081)	23.356 (0.084)	1.0	$2.55 \times 10^{-1}$	1032	0.016	nd

$\log \beta_1 = pK_{a3}$ ;  $\log \beta_2 = pK_{a3} + pK_{a2}$ ;  $\log \beta_3 = pK_{a3} + pK_{a2} + pK_{a1}$ . I = Fuerza iónica ajustada con  $\text{NaClO}_4$ ; var. = fuerza iónica variable; nd = no determinada por el programa;  $\text{sigma} = \sqrt{U/n [2\text{AMBZ}] = 2 \times 10^{-5} - 1.5 \times 10^{-4} \text{M}}$ .

El programa SQUAD, de manera paralela al refinamiento de las constantes de equilibrio, calculó los coeficientes de absorptividad molar de cada una de las 4 especies ácido-base del 2AMBZ (Fig. III.13).

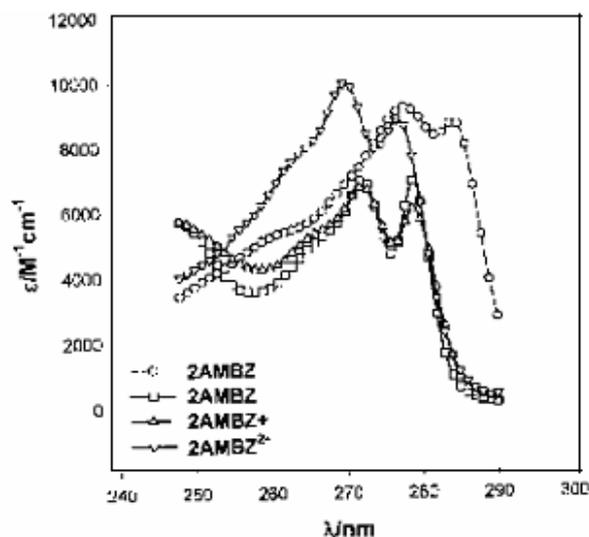


Figura III.13. Coeficientes de absorptividad molar de las 4 especies ácido-base del 2AMBZ obtenidos mediante el programa SQUAD a partir de los espectros de absorción.

De manera análoga al procedimiento seguido en los estudios de RMN para evaluar la calidad del refinamiento, se realizó la respectiva simulación de los espectros a partir de los coeficientes de absorptividad, las concentraciones y las constantes de equilibrio refinadas; considerando para ello las leyes de Lambert-Beer y aditividades (Fig. III.14). Se observa un excelente ajuste entre la información

experimental y la teórica; por lo que se puede considerar que la información obtenida es confiable.

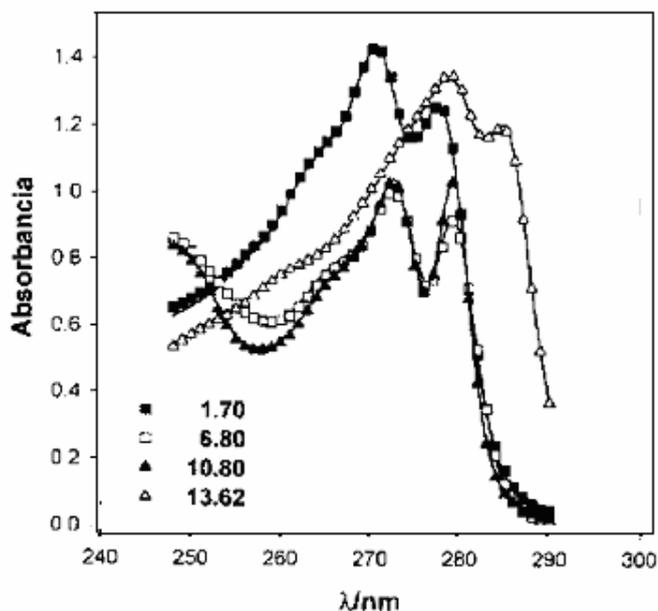


Figura II.14. Espectros de Absorción simulados (línea sólida) y experimentales (símbolos) a diferentes valores de pH para disoluciones de 2AMBZ.2HCl  $1.5 \times 10^{-4}$  M (fuerza iónica variable).

### III.3. ESTUDIOS POTENCIOMÉTRICOS.

Las curvas de valoración potenciométricas obtenidas (pH contra volumen de valorante) presentan buena reproducibilidad, incluso para valoraciones realizadas en diferentes días (Fig. III.15). Cabe aclarar que mediante los estudios potenciométricos solamente fue posible refinar las constantes de equilibrio relacionadas con los dos primeros pKa's, debido a la baja concentración de la solución valorante necesaria para generar un número suficiente de puntos. Así, no es posible alcanzar valores de pH superiores a 12.5, mismos que se requieren para refinar el tercer pKa. Con base en lo anteriormente expuesto y considerando que la primera y segunda zona de solución reguladora contienen la información necesaria para refinar las primeras dos constantes de acidez, las curvas de valoración solamente se obtuvieron hasta la cercanía del segundo punto de equivalencia (Fig. III.16).

Las curvas de valoración obtenidas fueron alimentadas al programa SUPERQUAD a fin de refinar las constantes de equilibrio asociadas al sistema. Tomando en cuenta el intervalo de pH de trabajo, en el refinamiento se consideró un modelo de dos equilibrios y no de

tres como en los estudios previos de RMN y espectrofotometría. Los resultados obtenidos se resumen en la tabla 111.9.

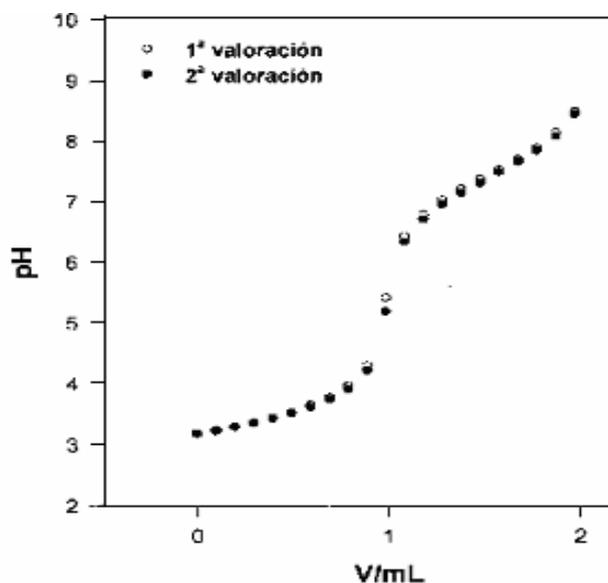


Figura III.15. Curva de valoración de 20 mL de 2AMBZ.2HCl 0.001 M con NaOH 0.01886 M a fuerza iónica 0.1 M ( $\text{NaClO}_4$ ).

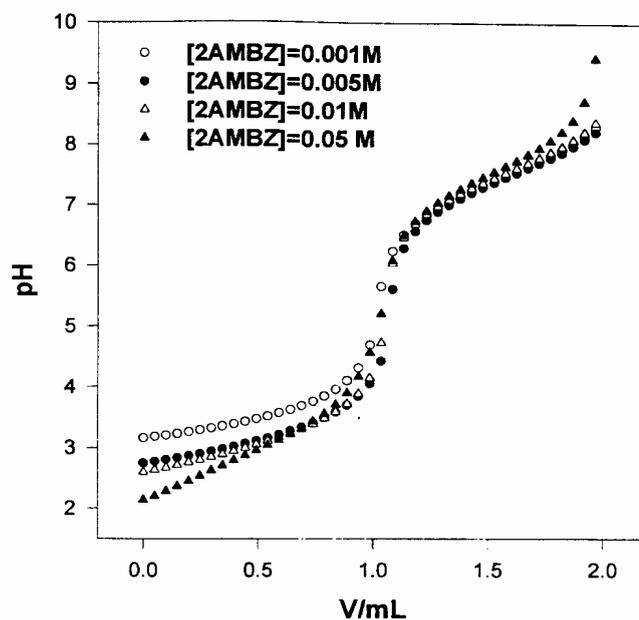


Figura III.16. Curvas potenciométricas de valoración para alícuotas de 20 mL de 2AMBZ.2HCl a diferentes concentraciones valoradas con NaOH 0.01872, 0.09327, 0.1887 y 0.9600 M respectivamente a fuerza iónica variable

**Tabla III.9. Constantes de equilibrio ( $\log \beta_n$ ) para el 2AMBZ obtenidos con el programa SUPERQUAD a partir de información potenciométrica.**

Log $\beta_1$	log $\beta_2$	Log $\beta_3$	I/M	U	n	sigma	$\chi^2$
7.569 (0.003)	10.564 (0.006)	nd	var.	$8.43 \times 10^3$	420	4.5	12.69
7.611 (0.008)	10.655 (0.014)	nd	0.1	$2.44 \times 10^3$	101	4.9	22.01

$\log \beta_1 = pK_{a2}$  ;  $\log \beta_2 = pK_{a2} + pK_{a1}$  I= fuerza iónica ajustada con  $\text{NaClO}_4$ ; var. = fuerza iónica variable; nd = no determinada;  $\text{sigma} = \sqrt{U/n}$ ;  $[\text{2AMBZ}] = 1 \times 10^{-3} - 5 \times 10^{-2}$  M (var.),  $1 \times 10^{-3} - 1 \times 10^{-3}$  M (0.1).

Los resultados obtenidos mediante el procesamiento de la información experimental generada con SUPERQUAD, muestra desviaciones estándares particularmente bajas y total correspondencia con los resultados reportados anteriormente. En lo que respecta a sigma, los autores del programa consideran que su valor debe ser menor a 3; no obstante, ellos mismos reconocen que es un criterio sumamente estricto que normalmente no se cumple [16].

Con las constantes de equilibrio refinadas por SUPERQUAD fue posible simular las curvas de valoración y compararlas con las experimentales; observando un excelente ajuste como se aprecia en la figura III.17. En este sentido, se puede decir que la información generada es de calidad.

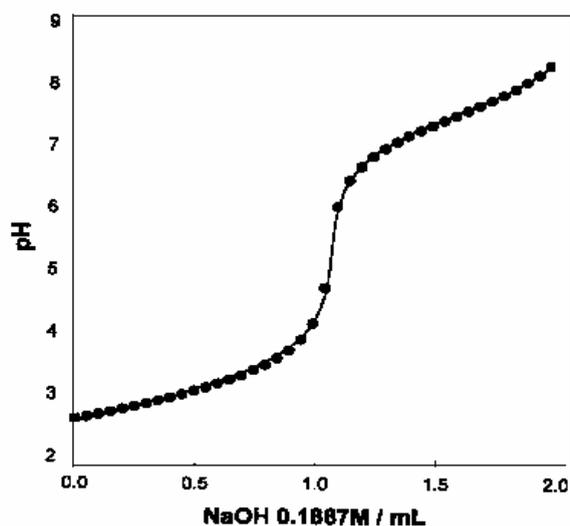


Figura III.17. Curva de titulación teórica (línea sólida) y experimental (símbolos) para 20 mL de 2AMBZ.2HCl 0.01M. I=var.

**CONCLUSIONES**

## **CAPÍTULO IV CONCLUSIONES**

Fue posible determinar las constantes de acidez del 2AMBZ a partir de información experimental de RMN de  $^{13}\text{C}$ , Espectrofotométrica y Potenciométrica, procesada por los programas ya mencionados en apartados anteriores, encontrando similitud tanto entre los resultados obtenidos con las tres técnicas utilizadas así como con los reportados en la bibliografía. En la tabla IV.1 se resumen esta información.

Por otro lado, a partir de los estudios realizados fue posible obtener información acerca de la existencia del monoanión del 2AMBZ, que es la cuarta especie del sistema, logrando de esta forma la determinación de un tercer pKa.

De las técnicas instrumentales empleadas, la RMN es la que mayor información proporciona ya que además de la obtención de las constantes de acidez, el análisis de los espectros a diferentes valores de pH permitió establecer claramente las reacciones de protonación-desprotonación del 2AMBZ.

Es importante señalar también- que se evaluó de manera satisfactoria el programa computacional HypNMR, y que con estos estudios se pretende sentar las bases para continuar con la línea de investigación referente a la determinación de constantes de equilibrio en los laboratorios de Química Analítica y Electroquímica del Centro de Investigaciones Químicas de la UAEH.

Tabla IV.1. Constantes de acidez del 2-(aminometil)benzimidazol.

Método	I	[2AMBZ]/M	n	pKa <sub>1</sub>	pKa <sub>2</sub>	pKa <sub>3</sub>	$\sigma$	$\chi^2$
NMR <sup>1</sup>	var	0.1	95	3.103(0.079)	7.624(0.063)	12.550(0.038)	4.1X10 <sup>-2</sup>	25.1
Espectrofotométrico <sup>2</sup>	var	2X10 <sup>-5</sup> -1.5X10 <sup>-5</sup>	1032	2.777(0.111)	7.481(0.073)	12.593(0.010)	1.5X10 <sup>-2</sup>	nd
Espectrofotométrico <sup>2</sup>	1.0	2X10 <sup>-5</sup> -1.5X10 <sup>-5</sup>	1032	2.982(0.116)	7.887(0.082)	12.487(0.015)	1.6X10 <sup>-2</sup>	nd
Potenciométrico <sup>3</sup>	var	1X10 <sup>-3</sup> -5X10 <sup>-2</sup>	420	2.996(0.006)	7.569(0.003)	nd	4.5	12.7
Potenciométrico <sup>3</sup>	0.1	1X10 <sup>-3</sup> -1X10 <sup>-2</sup>	101	3.044(0.016)	7.611(0.008)	nd	5.0	22.0

<sup>1</sup>HypNMR, <sup>2</sup>SQUAD, <sup>3</sup>SUPERQUAD. I = fuerza iónica ajustada con NaClO<sub>4</sub>; var = fuerza iónica variable; nd = no determinada. Entre paréntesis se indican las desviaciones estándar. Unidades de las constantes de equilibrio mol L<sup>-1</sup>.

## **REFERENCIAS**

## REFERENCIAS

- 1 McBryde W. A. E., *Talanta*, 21 (1974) 979-1004.
- 2 Högfeltdt E., *Stability Constants of Metal-Ion Complexes, Part-A Inorganic Ligands, Chemical Data Series 21*. IUPAC, Nueva York, 1979.
- 3 Perrin D. D., *Stability Constants of Metal-Ion Complexes, Part-B-Organic Ligands, Chemical Data Series 22*. Pergamon, Nueva York, 1979.
- 4 Martell A. E., Smith G., *Critical Stability Constant Data Vol. 6*. Plenum Press, New York, 1975-1980.
- 5 Dean J. A., *Lange Manual de Química* 13a edición. Mc. Graw Hill, México, 1996.
- 6 Academic Software, *The IUPAC Stability Constants Data (ScQuery 5.12)*, Academic Software and IUPAC, Reino Unido, 2001.
- 7 Advanced Chemistry Development, *ACD/pKa DB 5.0*, Advanced Chemistry Development Inc., Toronto, Canada 1994-2001.
- 8 Slater B., McCormack A., Avdeef A. y Comer J. E. A., *Pharm. Sci.*, 83 (1994) 1280-1283.
- 9 Inczédy J., *Analytical Applications of Complex Equilibria*. John Wiley & Sons Inc, Hungría, 1976.
- 10 Leggett D. J., *Computational Methods for the Determination of Formation Constants*. Plenum Press, New York, 1985.
- 11 Adsul J. S. y Ramanathan P. S., *Anal. Chim. Acta*, 101 (1978) 157.
- 12 Ringbom A., *Formación de Complejos en Química Analítica*, Alhambra, España, 1979.
- 13 Baes Ch. F. y Mesmer R. E., *The Hydrolysis of Cations*, Wiley, New York, 1976.
- 14 Protonic Software, *HYSS Hyperquad Simulation and Speciation*, Protonic Software, Reino Unido, 1998.
- 15 Meloun M., Havel J. y Högfeltdt E., *Computation of Solution Equilibria: A Guide to Methods in Potentiometry, Extraction and Spectrophotometry*, John Wiley & Sons. New York, 1988.
- 16 Gans P., Sabatini A. y Vacca A., *J. Chem. Soc. Dalton Trans*, (1985) 11951200.
- 17 Gans P., Sabatini A. y Vacca A., *Talanta* 43 (1996) 1739-1753
- 18 Frassinetti C., Ghelli S., Gans P., Sabatini A., Moruzzi M. S. y Vacca A., *Analytical Biochemistry*, 231 (1995) 374.
- 19 Göker H., Olgen S, Ertan R., Akgün H., özbey S., Kendi E. y Topcu G., *J. Heterocyclic Chem.*, 32 (1995) 1767.
- 20 Matthews C. J., Clegg W., Elsegood M. R. J., Leese T. A., Thorp D., Thornton P. y Lockhart J - C., *J. Chem. Soc., Dalton Trans*, (1996) 1531.

- 21 Rajan R., Rajaram R., Nair B. U., Ramasami T. y Mandal S. K., *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1996) 2019-2021.
- 22 Viswanathan J. R., Palaniandavar M., Balasubramanian T. y Muthiah P. T., *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1996) 2519.
- 23 Lockhart C., Clegg W., Stuart Hill M. N. y Ruston D. J., *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1990) 3541.
- 24 Oenkol B., Cakir Abbasoglu U. y Sahin M. F., *J. Pharm. Gazí Univ.*, 12 (1995) 37.
- 25 Surender R. B., Buchi R. R., Mouli G. V. P. C. y Reddy Y. D., *J. Indian Chem. Soc.*, 65 (1988), 853.
- 26 Badawey E. S. A. M., Hassan A. M. M. y Kappe T., *Egypt. Arch. Pharm.*, 324 (1991) 355.
- 27 Misra V. S., Saxena V. K. y Srivastava R., *Indian Drugs*, 20 (1982) 98.
- 28 Leeman A. H., Hammond M. L., Maletic M., Santorelli G. M., Waddell S. F., Finn J., Morytko M., Ram S. y Keith D., U.S. Patent 132546, 1999.
- 29 Misra V. S., Shah P. y Saxena V. K., *Indian J. Pharm. Sci.*, 44 (1982) 72.
- 30 Lehr P., Billich A., Charpiot B., Ettmayer D., Schoiz B. Rosenwirth y Gstach H., *J. Med. Chem.*, 39 (1996) 2060.
- 31 Trova M. P., Babine R. E., Zhang N., Schow S. R y Wissner A., U.S. Patent 991876, 1992.
- 32 Sigal I. S., Huff J. R., Darke P., Vacca J. P., Young S. D., Desoims S. J., Thompson W. J., Lyie T. A., Graham S. L. y Ghosh A. K., U.S. Patent 180507, 1988.
- 33 Labrecke D., Lamothe S., Courchesne M., Chan L., Attardo G. y Meerovitch K., U.S. Patent 91063, 1998.
- 34 Craig R. A., Henkin J., Kawai M., Lynch L. L., Patel J., Sheppard G. S. Y Wang J., U.S. Patent 71714, 1998.
- 35 Drake, F. H., U.S. Patent 27764, 1996.
- 36 Jacobsen E. J., Mitchell M. A., Schostarez H.J. y Harper D. E., U.S. Patent 16003, 1996.
- 37 Miller W. H., Bondinell W. E., Ku T. W., Keenan R. M., Samanen J. M. Kwon, C., Ali F. E. y Lago M. A., U.S. Patent 9366, 1995.
- 38 Sinha H. K. y Dogra S. K., *Spectrochimica Acta*, 41A, 8 (1985) 961.
- 39 Irving H. y Weber O. A., *J. Chem. Soc.*, (1959) 2560.
- 40 Dash A. C., Panda D. y Dash B., *Indian Journal of Chemistry*, 25A (1986) 141.
- 41 Dash A. C., Acharya N. A. y Sahoo R. K., *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, (1994) 3727.
- 42 Day Jr. R. A., Underwood A. L., *Química Analítica Cuantitativa 5' ed.* Prentice-Hall, México, 1989.
- 43 Cescon L. A. y Day A. R., *J. Org. Chem.*, 27 (1962) 581.
- 44 *The Aldrich Handbook of Fine Chemicals and Laboratory Equipment 2001*, Sigma-Aldrich Company. Milwaukee. 2000.
- 45 *The Aldrich Library of FT-IR Spectra. Edition II, Vol. 3.* Sigma-Aldrich Company. Milwaukee. 1997.
- 46 Van Geett A. L., *Anal. Chem.*, 40 (1968) 2227-2229.
- 47 Van Geett A. L., *Anal. Chem.*, 42 (1970) 679-680.

- 48 Leggett D. J., Kelly S. L., Shiue L. R., Wu, Y. T., Chang D. y Kadish K. M., *Talanta*, 30, 8, (1983) 579.
- 49 Morales Pérez A. Tesis de Maestría en Ciencias (Fisicoquímica), FESC-UNAM 1993.
- 50 Hartley F.R., Burges C., Alcock R. M., *Solution Equilibria*, Wiley, Chichester, 1988.
- 51 Grimmett M. R., *Comprehensive Heterocyclic Chemistry Vol. 5*, Pergamon Press, Oxford 1988.
- 52 Lopyrev V. A., Larina L. I., Vaku'skaya T. I., Larin M. F., Nefedova O. B., Shibanova E. F., Voronkov M. G., *Org. Magn. Reson.*, 15 (1981) 219-224.
- 53 Advanced Chemistry Development, CNMR Spectrum Generator 4.5 chemist's version, Toronto, Canadá 1994-2000.
- 54 Günther H, *NMR Spectroscopy. Basic Principles, Concepts and Applications in Chemistry*, 2nd edn, John Wiley & Sons. Chichester 1995, 499.
- 55 Morales Domínguez E. Tesis de maestría en Ciencias, UAM, Unidad Iztapalapa, 1999.
- 56 Led J.J. y Petersen S.B., *J. Magn. Reson.*, 33 (1979) 603.

## **APÉNDICES**

## APÉNDICE 1

### GUÍA BREVE PARA LA GENERACIÓN DE LOS ARCHIVOS DEL PROGRAMA HypNMR

#### ARCHIVO DE CONFIGURACIÓN \*.CON

Línea 1: Nombre del archivo de salida y ruta de ubicación (extensión \*.RES)

Línea 2: Nombre del archivo que describe el modelo y ruta de ubicación (extensión \*.PAR)

Línea 3: En blanco (en consistencia con HyperQuad)

Línea 4: Nombre del archivo de datos de RMN y ruta de ubicación (extensión \*.PRD).

#### ARCHIVO DE DATOS EXTENSIÓN \*.PAR

LÍNEA	COLUMNA	FORMATO	VARIABLE	SIGNIFICADO
<b>1</b>	1-72	A72	TÍTULO	Título descriptivo del experimento.
	73	11	ispH	pX presente/ pX ausente (0,1). Generalmente pX es el pH .
<b>2</b>	1-5	15	MAXIT	Número máximo de ciclos de refinamiento.
	6-10	15	MODE	Modo de ponderación del error (ignorado en línea 2 y declarado en la línea 8)
	11-36	913	KPRINT	Números de control de salida (ver descripción mas adelante).
<b>3</b>	1-12	A12	KEMIC	Nombre de los reactivos .
	13-15	13	KEY	Clave para indicar si el reactivo tiene o no al menos un núcleo activo (1,0)
<b>4</b>				Línea en blanco que indica que todos los reactivos se han especificado.
<b>5</b>	1-10	F10.5	TEMP.	Temperatura (ignorada en HypNMR)
<b>6</b>	1-10	F10.5	BETA	Constantes de formación Log 10.
<b>6</b>	11-15,...	15	JQR	Coefficientes estequiométricos

		15	KEY	Clave de refinamiento; -1, 0,1 (ignorar, fijar o refinar la constante)
<b>7</b>				Línea en blanco que indica el final de las constantes de formación.
<b>8</b>	11-20	F10.5	SIGMA	Error estimado para las frecuencias observadas de estos núcleos.
<b>8</b>	51-57	A7	NLB	Etiqueta para los núcleos resonantes
<b>8</b>	58-60	13	IRN	Número ordinal de reactivos que contienen estos núcleos.
<b>9</b>				Línea en blanco que indica el fin de los núcleos resonantes.
<b>10</b>	1-9	F9.1	CHS	Desplazamientos químicos del primer núcleo en la primera especie
<b>10</b>	10	A1	L	Clave de refinamiento de desplazamientos químicos; F ó T (refinar o fijar el desplazamiento químico)
	11-20, 21-30,... 3 71-80			Columnas para pares de datos similares.
<b>11 y 12</b>				Líneas en blanco que indica el fin de los datos del archivo de extensión PAR.

Nota: En casos en los que el número de reactivos no sea el mismo en todas las soluciones la línea 3 del archivo deberá contener la lista completa de reactivos.

### **ARCHIVO DE DATOS EXTENSIÓN. \*PRD**

<b>LÍNEA</b>	<b>COLUMNA</b>	<b>FORMATO</b>	<b>VARIABLE</b>	<b>SIGNIFICADO</b>
<b>1</b>	1-12	A12	SIGLA	Etiqueta de cada solución.
<b>2</b>	1-10	F10.5	TC	Concentración analítica del reactivo A.
	11-20.....	F10.5	TC	Concentración analítica del reactivo B.

		F10.5	pH	pH de la solución o concentración del último reactivo.
<b>3</b>	1-8	F8.4	FREQ	Desplazamiento químico del primer núcleo.
	9	A1	L	Clave de asignación F ó T para frecuencia no observada o no asignada y frecuencia asignada.
	11-20, 21-30,... 71-80			Contienen pares de datos similares a los anteriores.
4				Repetir líneas de la 1 a la 3 para un nuevo espectro o una línea en blanco para indicar el fin del archivo de datos .PAR.

Nota. Si el número de reactivos no es el mismo en todas las soluciones la línea 2 del archivo .PAR (la concentración analítica) deberá ser igual a cero para cada reactivo faltante, la lista completa de los reactivos se especificará en el archivo .PAR.

### **ARCHIVO DE SALIDA EXTENSIÓN \*.RES**

El programa HYPNMR produce mucha información, consecuentemente el archivo de salida es demasiado grande, razón por la cual se recomienda el uso de un archivo standard. El archivo está dividido en 9 categorías y el usuario puede elegir entre estas la información que le interesa.

<b>CATEGORÍA</b>	<b>INFORMACIÓN</b>
1	Página de resultados. Da los valores refinados de las constantes de equilibrio, desviaciones estándar y coeficientes de correlación.
2	pH de cada dato de resonancia.
3	Monitor de refinamiento. Para cada ciclo iterativo se indica el valor de: la suma de los residuos al cuadrado, las desviaciones estándar de los parámetros refinados, los valores de Log $\beta$ y desplazamientos que serán aplicados en el siguiente ciclo de refinamiento.
4	Gráfico de residuos (diferencia entre frecuencias calculadas y observadas)

5	Gráfico de la concentración de las especies.
6	Tabla de la concentración de las especies en cada solución.
7	Tabla de las concentraciones libre y total de los reactivos en cada solución.
8	Tabla de las frecuencias de rnm observadas y calculadas y sus diferencias.
9	Tabla que muestra la distribución de los residuos y sus contribuciones a $\chi^2$ .

El archivo de salida es controlado por 9 números que son generados automáticamente. Cada número puede tener alguno de los siguientes valores:

VALORES	SIGNIFICADO
0	No salir
1	Únicamente imprimir
3,6	Únicamente archivo
9	Únicamente pantalla
4,7	Impresión y archivo
10	Impresión y pantalla
12,15	Archivo y pantalla
13,16	Impresión, archivo y pantalla

Las categorías 1, 6, 7 y 8 pueden tomar los valores de 6, 7, 15 ó 16.

## APÉNDICE II

### ARCHIVOS DEL PROGRAMA HypNMR PARA EL MODELO TEÓRICO DEL BENCIMIDAZOL

#### ARCHIVO DE CONFIGURACIÓN (BZM.CON)

```
c:\hypnmr\data 1 \bzm. res  
c:\hypnmr\data 1 \bzm. par  
none  
c:\hypnmr\data 1 \bzm. prd
```

#### ARCHIVO DE DATOS DEL MODELO (BZM.PAR)

```
HYPNMR: MODELO TEORICO DE BENCIMIDAZOL 0  
 25 1 12 3 3 3 3 6 6 6 6  
BENCIMIDAZOL 1  
  PROTON 0  
  
25.000000  
10.000000  1 1 1  
12.000000  1 2 1  
  
1.000000          C2  1  
1.000000          C89 1  
1.000000          C56 1  
1.000000          C47 1  
  
0.00000F  0.00000F  0.00000F  
0.00000F  0.00000F  0.00000F  
0.00000F  0.00000F  0.00000F  
0.00000F  0.00000F  0.00000F
```

**ARCHIVO DE DATOS INFORMACIÓN(BZM.PRD)**

SLN 1  
0.100000 0.000000  
140.2500T131.7000T127.8800T115.5400T  
SLN 2  
0.100000 0.500000  
140.2500T131.7000T127.8800T115.5400T  
SLN 3  
0.100000 1.000000  
140.2500T131.7000T127.8800T115.5400T  
SLN 4  
0.100000 1.500000  
140.2500T131.7000T127.8800T115.5400T  
SLN 5  
0.100000 2.000000  
140.2500T131.7000T127.8800T115.5400T  
SLN 6  
0.100000 2.500000  
140.2500T131.7000T127.8800T115.5400T  
SLN 7  
0.100000 3.000000  
140.2500T131.7100T127.8700T115.5400T  
SLN 8  
0.100000 3.500000  
140.2600T131.7500T127.8500T115.5400T  
SLN 9  
0.100000 4.000000  
140.2900T131.8400T127.7800T115.5500T  
SLN 10  
0.100000 4.500000  
140.3600T132.1300T127.5600T115.5600T  
SLN 11  
0.100000 5.000000  
140.5600T132.9000T127.0000T115.6000T  
SLN 12  
0.100000 5.500000  
140.9600T134.4600T125.8600T115.6900T  
SLN 13  
0.100000 6.000000  
141.4500T136.3600T124.4700T115.7900T  
SLN 14  
0.100000 6.500000  
141.7800T137.6600T123.5200T115.8500T

SLN 15  
0.100000 7.000000  
141.9300T138.2300T123.1000T115.8800T  
SLN 16  
0.100000 7.500000  
141.9800T138.4400T122.9500T115.8900T  
SLN 17  
0.100000 8.000000  
142.0000T138.5100T122.9000T115.9000T  
SLN 18  
0.100000 8.500000  
142.0100T138.5300T122.8900T115.9000T  
SLN 19  
0.100000 9.000000  
142.0100T138.5400T122.8800T115.9000T  
SLN 20  
0.100000 9.500000  
142.0100T138.5400T122.8800T115.9000T  
SLN 21  
0.100000 10.000000  
142.0200T138.5500T122.8800T115.9000T  
SLN 22  
0.100000 10.500000  
142.0300T138.5700T122.8700T115.9000T  
SLN 23  
0.100000 11.000000  
142.0800T138.6300T122.8600T115.9000T  
SLN 24  
0.100000 11.500000  
142.2400T138.8100T122.8300T115.9200T  
SLN 25  
0.100000 12.000000  
142.6900T139.3500T122.7200T115.9500T  
SLN 26  
0.100000 12.500000  
143.8000T140.6800T122.4500T116.0200T  
SLN 27  
0.100000 13.000000  
145.7200T143.0000T121.9900T116.1500T  
SLN 28  
0.100000 13.500000  
147.6500T145.3200T121.5300T116.2800T  
SLN 29  
0.100000 14.000000  
148.7600T146.6500T121.2600T116.3500T

**ARCHIVO DE RESULTADOS (BZM.RES)**

\*\*\*\*\*

\* HypNMR (versión1.0) \*

\*\*\*\*\*

output file: c:\hypnmr\data1\bzm.res  
parameter file: c:\hypnmr\data1\bzm.par  
resonance data file: c:\hypnmr\data1\bzm.prd

pH readings=0 (present)

SLN 1

pH = .000

.10000

140.2500T131.7000T127.8800T115.5400T

SLN 2

pH = .500

.10000

140.2500T131.7000T127.8800T115.5400T

SLN 3

pH = 1.000

.10000

140.2500T131.7000T127.8800T115.5400T

SLN 4

pH = 1.500

.10000

140.2500T131.7000T127.8800T115.5400T

SLN 5

pH = 2.000

.10000

140.2500T131.7000T127.8800T115.5400T

SLN 6

pH = 2.500

.10000

140.2500T131.7000T127.8800T115.5400T

SLN 7

pH = 3.000

.10000

140.2500T131.7100T127.8700T115.5400T

SLN 8

pH = 3.500

.10000

140.2600T131.7500T127.8500T115.5400T

SLN 9

pH = 4.000

.10000

140.2900T131.8400T127.7800T115.5500T

SLN 10

pH = 4.500

.10000

140.3600T132.1300T127.5600T115.5600T

SLN 11

pH = 5.000

.10000

140.5600T132.9000T127.0000T115.6000T

SLN 12

pH = 5.500

.10000

140.9600T134.4600T125.8600T115.6900T

SLN 13

pH = 6.000

.10000

141.4500T136.3600T124.4700T115.7900T

SLN 14

pH = 6.500

.10000

141.7800T137.6600T123.5200T115.8500T

SLN 15

pH = 7.000

.10000

141.9300T138.2300T123.1000T115.8800T

SLN 16

pH = 7.500

.10000

141.9800T138.4400T122.9500T115.8900T

SLN 17

pH = 8.000

.10000

142.0000T138.5100T122.9000T115.9000T

SLN 18

pH = 8.500

.10000

142.0100T138.5300T122.8900T115.9000T

SLN 19

pH = 9.000

.10000

142.0100T138.5400T122.8800T115.9000T

SLN 20

pH = 9.500

.10000

142.0100T138.5400T122.8800T115.9000T  
SLN 21  
pH = 10.000  
.10000  
142.0200T138.5500T122.8800T115.9000T  
SLN 22  
pH = 10.500  
.10000  
142.0300T138.5700T122.8700T115.9000T  
SLN 23  
pH = 11.000  
.10000  
142.0800T138.6300T122.8600T115.9000T  
SLN 24  
pH = 11.500  
.10000  
142.2400T138.8100T122.8300T115.9200T  
SLN 25  
pH = 12.000  
.10000  
142.6900T139.3500T122.7200T115.9500T  
SLN 26  
pH = 12.500  
.10000  
143.8000T140.6800T122.4500T116.0200T  
SLN 27  
pH = 13.000  
.10000  
145.7200T143.0000T121.9900T116.1500T  
SLN 28  
pH = 13.500  
.10000  
147.6500T145.3200T121.5300T116.2800T  
SLN 29  
pH = 14.000  
.10000  
148.7600T146.6500T121.2600T116.3500T

no. of spectra                    29  
no. of resonance values       116  
no. of resonant nuclei         4  
Run timed at 2.27 on 27 jun 2002

HYPNMR: MODELO TEORICO DE BENCIMIDAZOL  
Maximum of 25 iterations allowed  
Temperature: 25.000 Celsius

Reagent number	Reagent name	Resonance keys
1	BENCIMIDAZOL	1
2	PROTON	0

Complex Species	Refinement Keys	Resonance Keys	log Formation Constants	Stoichiometric Coefficients
A	1	2	10.0000	1 1
B	1	3	12.0000	1 2

2 formation constant(s) and 12 molar absorbances to be refined Starting refinement...

Iteration 1 Sigma = 1.69581

Sum of squared weighted residuals 2.93328705E+02

	Old value	Rel shift	New value	Logarithm
Beta A	1.0000E 10	.2230	1.2230E 10	10.0874
Beta B	1.0000E 12	3.3568	4.3568E 12	12.6392

Iteration 2 Sigma = 1.62378

Sum of squared weighted residuals 2.68938145E+02

	Old value	Rel shift	New value	Logarithm
Beta A	1.2230E 10	.5103	1.8471E 10	10.2665
Beta B	4.3568E 12	3.6710	2.0350E 13	13.3086

Iteration 3 Sigma = 1.53791

Sum of squared weighted residuals 2.41246485E+02

	Old value	Rel shift	New value	Logarithm
Beta A	1.8471E 10	.8908	3.4925E 10	10.5431
Beta B	2.0350E 13	4.0509	1.0279E 14	14.0119

Iteration 4 Sigma = 1.43309

Sum of squared weighted residuals 2.09482187E+02

	Old value	Rel shift	New value	Logarithm
Beta A	3.4925E 10	1.3289	8.1338E 10	10.9103
Beta B	1.0279E 13	4.4274	5.5788E 14	14.7465

Iteration 5 Sigma = 1.30258  
Sum of squared weighted residuals 1.73064443E+02

	Old value	Rel shift	New value	Logarithm
Beta A	8.1338E 10	1.7334	2.2233E 11	11.3470
Beta B	5.5788E 14	4.6912	3.1750E 15	15.5017

Iteration 6 Sigma = 1.13834  
Sum of squared weighted residuals 1.32173309E+02

	Old value	Rel shift	New value	Logarithm
Beta A	2.2233E 11	1.9517	6.5624 E 11	11.8171
Beta B	3.1750E 15	4.6816	1.8039E 16	16.2562

Iteration 7 Sigma = .93574  
Sum of squared weighted residuals 8.93116839E+01

	Old value	Rel shift	New value	Logarithm
Beta A	6.5624E 11	1.8250	1.8539E 12	12.2681
Beta B	1.8039E 16	4.2373	9.4476E 16	16.9753

Iteration 8 Sigma = .70628  
Sum of squared weighted residuals 5.08810569E+01

	Old value	Rel shift	New value	Logarithm
Beta A	1.8539E 12	1.3380	4.3345E 12	12.6369
Beta B	9.4476E 16	3.3422	4.1023E 17	17.6130

Iteration 9 Sigma = .48106  
Sum of squared weighted residuals 2.36045429E+01

	Old value	Rel shift	New value	Logarithm
Beta A	4.3345E 12	.7223	7.4651E 12	12.8730
Beta B	4.1023E 17	2.2313	1.3256E 18	18.1224

Iteration 10 Sigma = .28168  
Sum of squared weighted residuals 8.09288244E+00

	Old value	Rel shift	New value	Logarithm
Beta A	7.4651E 12	.2631	9.4291 E 12	12.9745
Beta B	1.3256E 18	1.2086	2.9276E 18	18.4665

Iteration 11 Sigma = .1 1825  
Sum of squared weighted residuals 1.42625773E+00

	Old value	Rel shift	New value	Logarithm
Beta A	9.4291E 12	.0546	9.9437E 12	12.9975
Beta B	2.9276E 18	.4614	4.2784E 18	18.6313

Iteration 12 Sigma = .02401  
 Sum of squared weighted residuals 5.87967432E-02

	Old value	Rel shift	New value	Logarithm
Beta A	9.9437E 12	.0053	9.9961E 12	12.9998
Beta B	4.2784E 18	.0877	4.6535E 18	18.6678

Iteration 13 Sigma = .00284  
 Sum of squared weighted residuals 8.22178447E-04

	Old value	Rel shift	New value	Logarithm
Beta A	9.9961E 12	.0002	9.9976E 12	12.9999
Beta B	4.6535E 18	.0038	4.6710E 18	18.6694

Iteration 14 Sigma = .00264  
 Sum of squared weighted residuals 7.10441602E-04

	Old value	Rel shift	New value	Logarithm
Beta A	9.9976E 12	.0000	9.9976E 12	12.9999
Beta B	4.6710E 18	.0000	4.6710E 18	18.6694

Results page  
 HYPNMR:MODELO TEORICO DE BENCIMIDAZOL  
 14 iterations  
 Refinement converged successfully

	Class Limits Lower	Probability Higher	Frequency Calc	Frequency Obs	Partial Calc	Partial Obs	chi-square
1	-.67039+154	-.30350E-02	.1250	.1379	14.5	16	.155
2	-.30350E-02	-.17814E-02	.1250	.1034	14.5	12	.431
3	-.17814E-02	-.84189E-03	.1250	.1552	14.5	18	.845
4	-.84189E-03	.00000E+00	.1250	.0690	14.5	8	2.914
5	-.00000E+00	.84189E-03	.1250	.2155	14.5	25	7.603
6	.84189E-03	.17814E-02	.1250	.0776	14.5	9	2.086
7	.17814E-02	.30350E-02	.1250	.1466	14.5	17	.431
8	.30350E-02	.67039+154	.1250	.0948	14.5	11	.845

Chi-squared = 15.31  
 Chi-squared should be less than 12.60 at the 95% confidence level

rms weighted residual (Sigma) = .00264

	Value	relative std devn	log beta	standard deviation	
Beta A refined	9.9976E 12	.0010	12.9999	.0004	1 1
Beta B refined	4.6710E 18	.0014	18.6694	.0006	1 2

Individual chemical shifts

		<b>BENCIMIDAZOL</b>		<b>1,1</b>		<b>1,2</b>	
	<sup>3</sup>	value	error	value	error	value	error
C2	<sup>3</sup>	149.435	.002	142.010	.001	140.249	.001
C89	<sup>3</sup>	147.461	.002	138.540	.001	131.698	.001
C56	<sup>3</sup>	121.101	.002	122.879	.001	127.881	.001
C47	<sup>3</sup>	116.398	.002	115.900	.001	115.540	.001

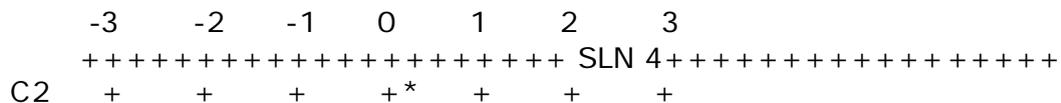
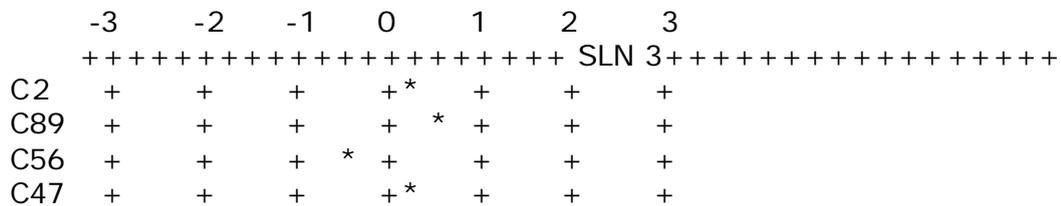
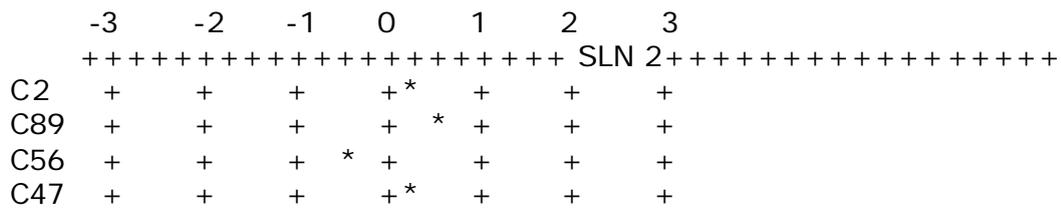
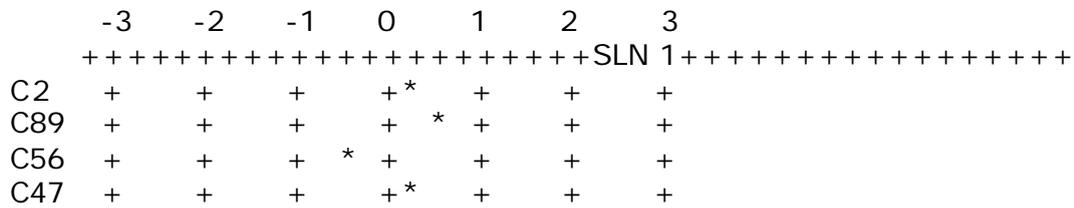
Correlation coefficients\*1000

	1	2
1		
2	769	

Parameters are numbered as follows

- 1 beta 1,1
- 2 beta 1,2

Residual plots – units of sd .0026



C89	+	+	+	+	*	+	+	+
C56	+	+	+	*	+	+	+	+
C47	+	+	+	+	*	+	+	+
	-3	-2	-1	0	1	2	3	
	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
								SLN 5
C2	+	+	+	*	+	+	+	
C89	+	+	+	+	+	+	+	
C56	+	+	+	*	+	+	+	
C47	+	+	+	*	+	+	+	
	-3	-2	-1	0	1	2	3	
	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
								SLN 6
C2	+	+	+	*	+	+	+	
C89	+	+	*	+	+	+	+	
C56	+	+	+	*	+	*	+	
C47	+	+	+	+	*	+	+	
	-3	-2	-1	0	1	2	3	
	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
								SLN 7
C2	+	+	*	+	+	+	+	
C89	+	+	*	+	+	+	+	
C56	+	+	+	*	+	+	+	
C47	+	+	+	*	+	+	+	
	-3	-2	-1	0	1	2	3	
	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
								SLN 8
C2	+	+	+	*	+	+	+	
C89	+	+	+	+	+	+	*	+
C56	+	+	+	+	*	+	+	
C47	+	+	+	*	+	+	+	
	-3	-2	-1	0	1	2	3	
	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
								SLN 9
C2	+	+	+	+	+	*	+	
C89	+	+	+	*	+	+	+	
C56	+	+	+	+	+	*	+	
C47	+	+	+	+	*	+	+	
	-3	-2	-1	0	1	2	3	
	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
								SLN 10
C2	+	+	+	*	+	+	+	
C89	+	+	+	*	+	+	+	
C56	+	+	*	+	+	+	+	
C47	+	+	+	*	+	+	+	

	-3	-2	-1	0	1	2	3
	+++++SLN 11+++++						
C2	+	+	+	+*	+	+	+
C89	+	+*	+	+	+	+	+
C56	+	+	+	+*	+	+	+
C47	+	+	*+	+	+	+	+

	-3	-2	-1	0	1	2	3
	+++++SLN 12+++++						
C2	+	+	+	*	+	+	+
C89	+	+	+	+*	+	+	+
C56	+	+	+*	+	+	+	+
C47	+	+	+	+	+	*+	+

	-3	-2	-1	0	1	2	3
	+++++SLN 13+++++						
C2	+	+	+	+*	+	+	+
C89	+	+	+	*+	+	+	+
C56	+	+	+*	+	+	+	+
C47	+	+	+	+	+	*+	+

	-3	-2	-1	0	1	2	3
	+++++SLN 14+++++						
C2	+	+	*+	+	+	+	+
C89	+	+	+	+*	+	+	+
C56	+	+	*	+	+	+	+
C47	+	+	*+	+	+	+	+

	-3	-2	-1	0	1	2	3
	+++++SLN 15+++++						
C2	+	+	+	*+	+	+	+
C89	+	+	*+	+	+	+	+
C56	+	+	+*	+	+	+	+
C47	+	+	*+	+	+	+	+

	-3	-2	-1	0	1	2	3
	+++++SLN 16+++++						
C2	+	+	*+	+	+	+	+
C89	+	+	+	*+	+	+	+
C56	+	+	+*	+	+	+	+
C47	+	+	*+	+	+	+	+

	-3	-2	-1	0	1	2	3
	+++++++ SLN 17 ++++++						
C2	+	+	+ *	+	+	+	+
C89	+	+	+	+ *	+	+	+
C56	+	+	+ *	+	+	+	+
C47	+	+	+	+ *	+	+	+

	-3	-2	-1	0	1	2	3
	+++++++ SLN 18 ++++++						
C2	+	+	+	+	* +	+	+
C89	+	+	+	+ *	+	+	+
C56	+	+	+	+	+ *	+	+
C47	+	+	+	+ *	+	+	+

	-3	-2	-1	0	1	2	3
	+++++++ SLN 19 ++++++						
C2	+	+	+	+ *	+	+	+
C89	+	+	+	+	* +	+	+
C56	+	+	+	* +	+	+	+
C47	+	+	+	+ *	+	+	+

	-3	-2	-1	0	1	2	3
	+++++++ SLN 20 ++++++						
C2	+	+	+ *	+	+	+	+
C89	+	+	+	* +	+	+	+
C56	+	+	+	+ *	+	+	+
C47	+	+	+	* +	+	+	+

	-3	-2	-1	0	1	2	3
	+++++++ SLN 21 ++++++						
C2	+	+	+	+	+ *	+	+
C89	+	+	+	+	* +	+	+
C56	+	+	+	+	* +	+	+
C47	+	+	+	* +	+	+	+

	-3	-2	-1	0	1	2	3
	+++++++ SLN 22 ++++++						
C2	+	+	* +	+	+	+	+
C89	+	+	+	+	* +	+	+
C56	+	+	* +	+	+	+	+
C47	+	+	+	* +	+	+	+

	-3	-2	-1	0	1	2	3
	+++++++ SLN 23 ++++++						
C2	+	+	* +	+	+	+	+
C89	+	+	+	+	* +	+	+
C56	+	+	+	* +	+	+	+

C47 + + \* + + + + +  
 -3 -2 -1 0 1 2 3  
 ++++++ SLN 24 ++++++

C2 + + + + \* + +  
 C89 + + \* + + + + +  
 C56 + + + + + + \* +  
 C47 + + + + \* + \* + +

-3 -2 -1 0 1 2 3  
 ++++++ SLN 25 ++++++

C2 + + + + + \* + +  
 C89 + + + \* + + + +  
 C56 + + + + + \* + +  
 C47 + + + + + \* + +

-3 -2 -1 0 1 2 3  
 ++++++ SLN 26 ++++++

C2 + + + + + \* + +  
 C89 + + \* + + + + +  
 C56 + + + \* + + + +  
 C47 + + + + \* + + +

-3 -2 -1 0 1 2 3  
 ++++++ SLN 27 ++++++

C2 + + + \* + + + +  
 C89 + + + \* + + + +  
 C56 + + + + \* + + +  
 C47 + + + + \* + + +

-3 -2 -1 0 1 2 3  
 ++++++ SLN 28 ++++++

C2 + + + \* + + + +  
 C89 + + + + \* + + +  
 C56 + + + + \* + + +  
 C47 + + + + \* + + +

-3 -2 -1 0 1 2 3  
 ++++++ SLN 29 ++++++

C2 + + + \* + + + +  
 C89 + + + \* + + + +  
 C56 + + + \* + + + +  
 C47 + + \* + + + + +

Concentrations line -plot

HYPNMR: MODELO TEORICO DE BENCIMIDAZOL

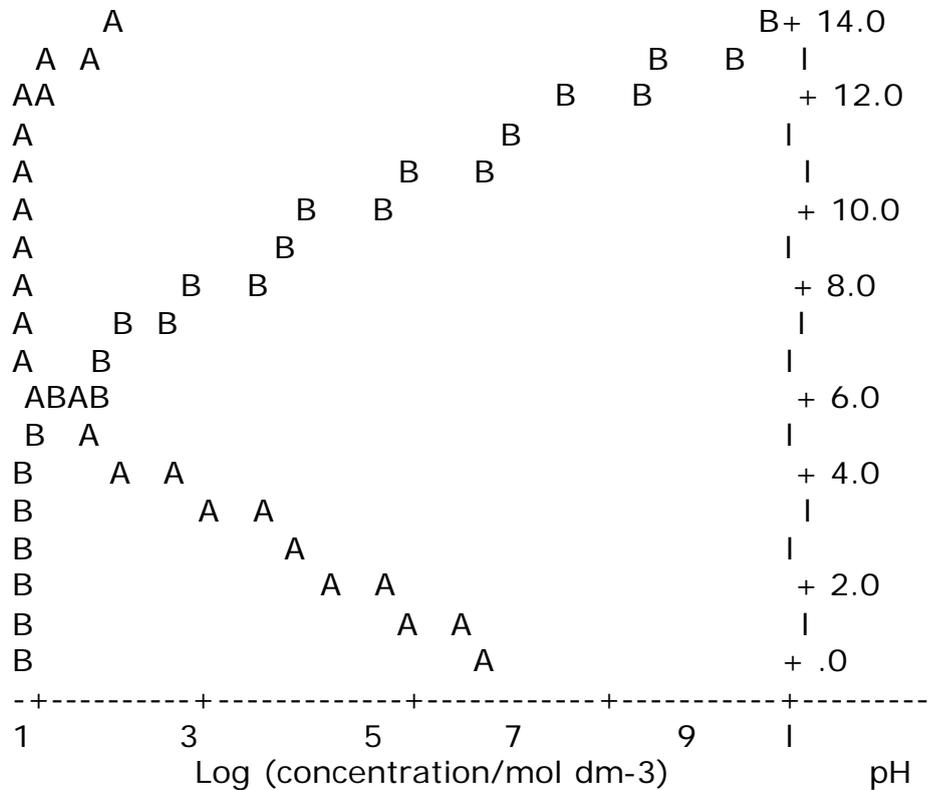


Table 1

HYPNMR: MODELO TEORICO DE BENCIMIDAZOL

Complex species concentrations (mol/l)

	1,1	1,2
1	2.140E-07	1.000E-01
2	6.768E-07	1.000E-01
3	2.140E-06	1.000E-01
4	6.768E-06	9.999E-02
5	2.140E-05	9.998E-02
6	6.764E-05	9.993E-02
7	2.136E-04	9.979E-02
8	6.723E-04	9.933E-02
9	2.096E-03	9.790E-02
10	6.339E-03	9.366E-02
11	1.763E-02	8.237E-02
12	4.036E-02	5.964E-02

13	6.816E-02	3.184E-02
14	8.713E-02	1.287E-02
15	9.554E-02	4.464E-03
16	9.854E-02	1.456E-03
17	9.953E-02	4.650E-04
18	9.985E-02	1.475E-04
19	9.994E-02	4.669E-05
20	9.995E-02	1.477E-05
21	9.990E-02	4.667E-06
22	9.968E-02	1.473E-06
23	9.901E-02	4.626E-07
24	9.693E-02	1.432E-07
25	9.091E-02	4.247E-08
26	7.597E-02	1.122E-08
27	4.999E-02	2.336E-09
28	2.402E-02	3.549E-10
29	9.089E-03	4.246E-11

Table 2

HYPNMR: MODELO TEORICO DE BENCIMIDAZOL  
BENCIMIDAZOL

	pH	total mol/l	free mol/l
1	.000	1.000E-01	2.141E-20
2	.500	1.000E-01	2.141E-19
3	1.000	1.000E-01	2.141E-18
4	1.500	1.000E-01	2.141E-17
5	2.000	1.000E-01	2.140E-16
6	2.500	1.000E-01	2.139E-15
7	3.000	1.000E-01	2.136E-14
8	3.500	1.000E-01	2.126E-13
9	4.000	1.000E-01	2.096E-12
10	4.500	1.000E-01	2.005E-11
11	15.000	1.000E-01	1.763E-10
12	5.500	1.000E-01	1.277E-09
13	36.000	1.000E-01	6.817E-09
14	6.500	1.000E-01	2.756E-08
15	7.000	1.000E-01	9.556E-08
16	7.500	1.000E-01	3.117E-07
17	8.000	1.000E-01	9.956E-07
18	8.500	1.000E-01	3.158E-06
19	9.000	1.000E-01	9.997E-06
20	9.500	1.000E-01	3.162E-05
21	10.000	1.000E-01	9.992E-05

22	10.500	1.000E-01	3.153E-04
23	11.000	1.000E-01	9.903E-04
24	11.500	1.000E-01	3.066E-03
25	12.000	1.000E-01	9.093E-03
26	12.500	1.000E-01	2.403E-02
27	13.000	1.000E-01	5.001E-02
28	13.500	1.000E-01	7.598E-02
29	14.000	1.000E-01	9.091E-02

Table 3

HYPNMR: MODELO TEORICO DE BENCIMIDAZOL

Observed chemical shifts and residuais

	SLN 1	SLN 2	SLN 3	SLN 4
C2	140.250 .0006	140.250 .0006	140.250 .0005	140.250 .0005
C89	131.700 .0018	131.700 .0018	131.700 .0017	131.700 .0013
C56	127.888 -.0010	127.880 -.0010	127.880 -.0009	127.880 -.0007
C47	115.540 .0003	115.540 .0003	115.540 .0003	115.540 .0002
	SLN 5	SLN 6	SLN 7	SLN 8
C2	140.250 .0002	140.250 -.0006	140.250 -.0032	140.260 -.0013
C89	131.700 .0003	131.700 -.0028	131.710 -.0028	131.750 .0058
C56	127.880 .0001	127.880 .0024	127.870 -.0003	127.850 .0026
C47	115.540 .0002	115.540 .0000	115.540 -.0005	115.540 -.0022
	SLN 9	SLN 10	SLN 11	SLN 12
C2	140.290 .0037	140.360 -.0010	140.560 .0002	140.960 -.0001
C89	131.840 -.0016	132.130 -.0019	132.900 -.0043	134.460 .0004
C56	127.780 .0038	127.560 -.0039	127.000 .0009	125.860 -.0019
C47	115.550 .0027	115.560 -.0026	115.600 -.0032	115.690 .0049
	SLN 13	SLN 14	SLN 15	SLN 16
C2	141.450 .0009	141.780 -.0031	141.930 -.0011	141.980 -.0041
C89	136.360 -.0010	137.660 .0011	138.230 -.0042	138.440 .0001
C56	124.470 -.0017	123.520 -.0027	123.100 -.0002	122.950 -.0016
C47	115.790 .0048	115.850 -.0035	115.880 -.0038	115.890 -.0046
	SLN 17	SLN 18	SLN 19	SLN 20
C2	142.000 -.0015	142.010 .0027	142.010 .0004	142.010 -.0018
C89	138.510 .0022	138.530 .0003	138.540 .0028	138.540 -.0013
C56	122.900 -.0020	122.890 .0039	122.880 -.0010	122.880 .0010
C47	115.900 .0018	115.900 .0007	115.900 .0003	115.900 .0001

	SLN 21	SLN 22	SLN 2	SLN 24
C2	142.020 .0030	142.030 -.0030	142.080 -.0032	142.240 .0027
C89	138.550 .0019	138.570 .0025	138.630 .0022	138.810 -.0030
C56	122.880 .0027	122.870 -.0033	122.860 -.0012	122.830 .0057
C47	115.900 -.0003	115.900 -.0014	115.900 -.0048	115.920 .0049

	SLN 25	SLN 26	SLN 27	SLN 28
C2	142.690.0052	143.800 .0061	145.720 -.0026	147.650 -.0011
C89	139.350-.0007	140.680 -.0033	143.000 -.0008	145.320 .0020
C56	122.720.0029	122.450 -.0015	121.990 .0004	121.530 .0023
C47	115.950.0049	116.020 .0005	116.150 .0011	116.280 .0017

	SLN 29
C2	148.760 .0002
C89	146.650 -.0002
C56	121.260 -.0022
C47	116.350 -.0027

end of run

### APÉNDICE III

#### ARCHIVOS DEL PROGRAMA HypNMR PARA EL SISTEMA B(III) - H<sub>2</sub>O

##### ARCHIVO DE CONFIGURACIÓN (BORO.CON)

```
c:\hypnmr\data1\BORO.res  
c:\hypnmr\data1\BORO.par  
none  
c:\hypnmr\data1\BORO.prd
```

##### ARCHIVO DE DATOS DEL MODELO (BORO.PAR)

```
pKa ACI DO BORICO (EXPERIMENTAL) 11B NMR  
 50 1 12 3 3 0 0 0 3 3 0  
BORATO 1  
PROTON 0  
  
25.000000  
10.000000 1 1 1  
  
1.0000 B 1  
  
.00000F .00000F
```

##### ARCHIVO DE DATOS INFORMACIÓN (BORO.PRD)

```
SLN 1  
 0.07500 1.706  
 19.000T  
SLN 2  
 0.07500 1.800  
 19.000T  
SLN 3  
 0.07500 1.922  
 19.000T  
SLN 4  
 0.07500 2.121  
 19.000T
```

SLN 5	
0.07500	2.792
19.000T	
SLN 6	
0.07500	7.896
18.000T	
SLN 7	
0.07500	8.363
16.200T	
SLN 8	
0.07500	8.670
14.500T	
SLN 9	
0.07500	8.928
12.500T	
SLN 10	
0.07500	9.160
10.400T	
SLN 11	
0.07500	9.363
8.800T	
SLN 12	
0.07500	9.505
7.300T	
SLN 13	
0.07500	9.671
6.000T	
SLN 14	
0.07500	9.882
4.603T	
SLN 15	
0.07500	10.275
3.400T	
SLN 16	
0.07500	10.606
2.300T	
SLN 17	
0.07500	11.425
1.800T	
SLN 18	
0.07500	11.839
1.700T	
SLN 19	
0.07500	12.117
1.600T	

**ARCHIVO DE RESULTADOS (BORO.RES)**

```
*****  
*                               *  
*   HypNMR (versión 1.0)   *  
*                               *  
*****
```

output file: c:\hypnmr\data1\BORO.res  
parameter file: c:\hypnmr\data1\BORO.par  
resonance data file: c:\hypnmr\data1\BORO.prd

pH readings=0 (present)

SLN 1  
pH = 1.706  
.07500  
19.0000T

SLN 2  
pH = 1.800  
.07500  
19.0000T

SLN 3  
pH = 1.922  
.07500  
19.0000T

SLN 4  
pH = 2.121  
.07500  
19.0000T

SLN 5  
pH = 2.792  
.07500  
19.0000T

SLN 6  
pH = 7.896  
.07500  
18.0000T

SLN 7  
pH = 8.363  
.07500  
16.2000T

SLN 8  
pH = 8.670  
.07500  
14.5000T

SLN 9  
pH = 8.928  
.07500  
12.5000T

SLN 10  
pH = 9.160  
.07500  
10.4000T

SLN 11  
pH = 9.363  
.07500  
8.8000T

SLN 12  
pH = 9.505  
.07500  
7.3000T

SLN 13  
pH = 9.671  
.07500  
6.0000T

SLN 14  
pH = 9.882  
.07500  
4.6030T

SLN 15  
pH = 10.275

.07500  
3.4000T

SLN 16  
pH= 10.606  
.7500  
2.3000T

SLN 17  
pH = 11.425  
.07500  
1.8000T

SLN 18  
pH = 11.839  
.07500  
1.7000T

SLN 19  
pH = 12.117  
.07500  
1.6000T

no. of spectra 19

no. of resonance values 19

no. of resonant nuclei 1

Run timed at 11.28 on 27 jun 2002

pKa ACIDO BORICO (EXPERIMENTAL) 11B NMR

Maximum of 50 iterations allowed

Temperature: 25.000 Celsius

Reagent Number	Reagent Name	Resonance Keys
1	BORATO	1
2	PROTON	0

Complex Species	Refinement Keys	Resonance Keys	log Formation Constants	Stoichiometric Coefficients
A	1	2	10.0000	1 1

1 formation constant(s) and 2 molar absorbances to be refined  
Starting refinement...

Free concentrations calculation failed at point 1

Free concentrations calculation failed at point 1

Free concentrations calculation failed at point 1

Iteration 1 Sigma = 3.16765

Sum of squared weighted residuals 1.60544511E +02

	Old value	Rel shift	New value	Logarithm
Beta A	1.0000E 10	-.9000	1.0000E 9	9.0000

Iteration 2 Sigma = .68617

Sum of squared weighted residuals 7.53337788E+00

	Old value	Rel shift	New value	Logarithm
Beta A	1.0000E 9	.3762	1.3762E 9	9.1387

Iteration 3 Sigma = .23525

Sum of squared weighted residuals 8.85492817E-01

	Old value	Rel shift	New value	Logarithm
Beta A	1.3762E 9	.0671	1.4686E 9	9.1669

Iteration 4 Sigma = .20256

Sum of squared weighted residuals 6.56520733E-01

	Old value	Rel shift	New value	Logarithm
Beta A	1.4686E 9	.0049	1.4758E 9	9.1690

Iteration 5 Sigma = .20237

Sum of squared weighted residuals 6.55285249E-01

	Old value	Rel shift	New value	Logarithm
Beta A	1.4758E 9	.0002	1.4761E 9	9.1691

Results page

pKa ACIDO BORICO (EXPERIMENTAL) 1 1B NMR

5 iterations

Refinement converged successfully

Not enough data for meaningful chi-squared

rms weighted residual (Sigma) = .20237

	Value	relative std devn	log beta	standard deviation	
Beta A refined	1.4761 E 9	.0288	9.1691	.0125	1 1

Individual chemical shifts

		BORATO		1,1	
<sup>3</sup> B	value	error	value	error	
<sup>3</sup> B	1.793	.381	18.901	.266	

**Table 2**

pKa ACIDO BORICO (EXPERIMENTAL) 11b NMR  
BORATO

	pH	total mol/l	free mol/l
1	1.706	7.500E-02	2.582E-09
2	1.800	7.500E-02	3.206E-09
3	1.922	7.500E-02	4.246E-09
4	2.121	7.500E-02	6.713E-09
5	2.792	7.500E-02	3.147E-08
6	7.896	7.500E-02	3.796E-03
7	8.363	7.500E-02	1.014E-02
8	8.670	7.500E-02	1.805E-02
9	8.928	7.500E-02	2.735E-02
10	9.160	7.500E-02	3.711E-02
11	9.363	7.500E-02	4.573E-02
12	9.505	7.500E-02	5.132E-02
13	9.671	7.500E-02	5.704E-02
14	9.882	7.500E-02	6.283E-02
15	10.275	7.500E-02	6.955E-02
16	10.606	7.500E-02	7.235E-02
17	11.425	7.500E-02	7.459E-02
18	11.839	7.500E-02	7.484E-02
19	12.117	7.500E-02	7.492E-02

**Table 3**

pKa ACIDO BORICO (EXPERIMENTAL) 1 1 B NMR  
Observed chemical shifts and residuals

	SLN 1	SLN 2	SLN 3	SLN 4
B	19.000 .0985	19.000 .0985	19.000 .0985	19.000 .0985

	SLN 5	SLN 6	SLN 7	SLN 8
B	19.000 .0985	18.000 -.0355	16.200 -.3893	14.500 -.2848

	SLN 9	SLN 10	SLN 11	SLN 12
B	12.500 -.1628	10.400 -.0371	8.800 .3310	7.300 .1050

	SLN 13	SLN 14	SLN 15	SLN 16
B	6.000 .1100	4.603 .0337	3.400 .3636	2.300 -.0968

	SLN 17	SLN 18	SLN 19
B	1.800 -.0876	1.700 -.1297	1.600 -.2125

end of run