

7

ESTUDIOS MOLECULARES SOBRE LA ESTABILIDAD
ELECTRONICA DE LAS BASES DE ADN.

ALFONSO MONDRAGON
FACULTAD DE CIENCIAS
U.N.A.M.
MÉXICO
FEBRERO DE 1981.

FISICA



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

C A P I T U L O I

En 1865 Gregor Mendel propuso las reglas básicas del mecanismo de transmisión de los rasgos hereditarios. Mendel usó para sus experimentos guisantes (*pisum sativum*) de cepas con características bien definidas, como forma o color de la semilla. Cruzó guisantes de cepas puras que presentaban rasgos diferentes; por ejemplo, plantas con semilla amarilla y plantas con semilla verde. En la primera generación todas las plantas presentaron solo uno de los rasgos anteriores, al que llamó dominante. Al hacer un entrecruzamiento de las plantas de la primera generación obtuvo una población que presentaba ambos rasgos. La proporción de plantas con el rasgo dominante fue de $3/4$ mientras que el $1/4$ restante presentó el rasgo ausente en la primera generación, a este último rasgo lo llamó recesivo. Mendel interpretó correctamente sus datos de la siguiente manera: las diferentes características son controladas por dos factores, uno derivado del progenitor macho y el otro del progenitor hembra. Uno de estos factores domina al otro, lo que explica su expresión genética en la primera generación. La explicación de la proporción de 3 a 1 en la segunda generación se puede entender mejor fijandose en la figura 1.1.

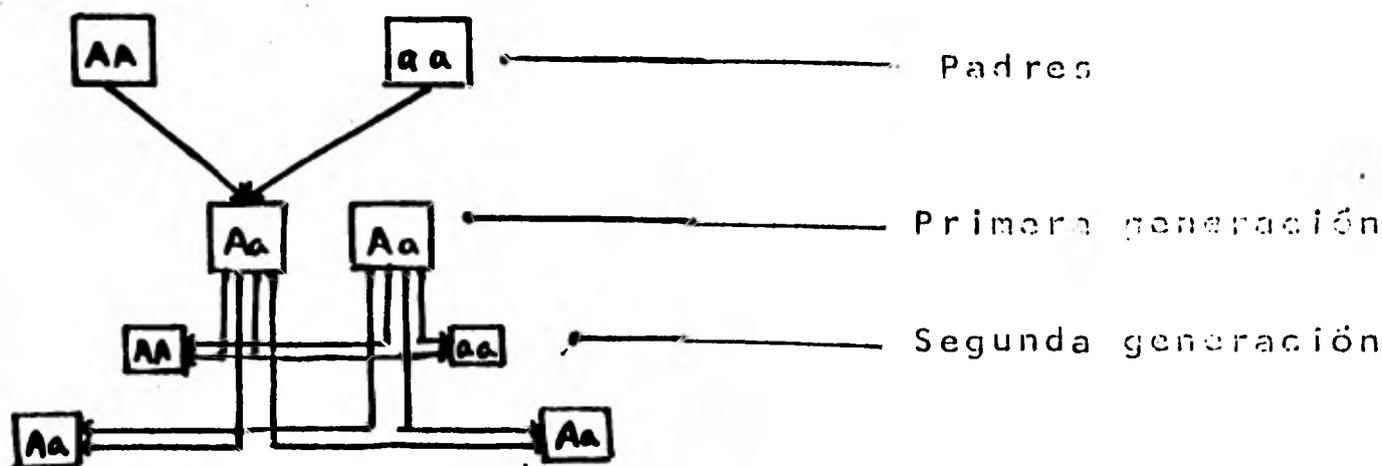


Figura 1.1

La primera generación proviene del cruzamiento de un individuo en el que los dos factores para un rasgo son dominantes con otro en el que los dos factores para el mismo rasgo son recesivos. Sólo se expresa el factor dominante. La segunda generación se obtiene del entrecruzamiento de individuos de la primera generación. Puesto que cada individuo de la primera generación tiene un factor recesivo y uno dominante habrá cuatro formas de que se combinen estos en la segunda generación. Tres son dominantes y una recesiva.

Además Mendel notó que los individuos que provienen del cruzamiento de individuos con características diferentes sólo presentan una de estas, no hay rasgos intermedios. Los resultados de Mendel son conocidos como Leyes de Mendel de la Herencia. Estas leyes explicaron exitosamente los experimentos de hibridación realizados hasta esa época. Sin embargo, su mayor importancia radica en que fueron las primeras reglas en biología con poder predictivo basadas en observaciones experimentales. A pesar de su importancia los resultados de Mendel pasaron desapercibidos hasta 1900 en que fueron redescubiertos independientemente por De Vries, Correns y von Tschermak-Seyseney al hacer estudios similares a los de Mendel.

Las Leyes de Mendel no explican el mecanismo biológico por medio del cual el fenómeno que describen se realiza. Sin embargo, el desarrollo paralelo de la citología permitió que se encontrara la relación entre estas leyes y los procesos a nivel celular. Con el advenimiento del microscopio óptico a principios del siglo XVII se empezaron a estudiar muchas de las partes principales de la célula (Figura 1.2) aunque la función de muchas de estas partes aun era desconocida. En particular se estudió el mecanismo de división celular. Mediante este proceso la célula se divide dando lugar a dos células idénticas.

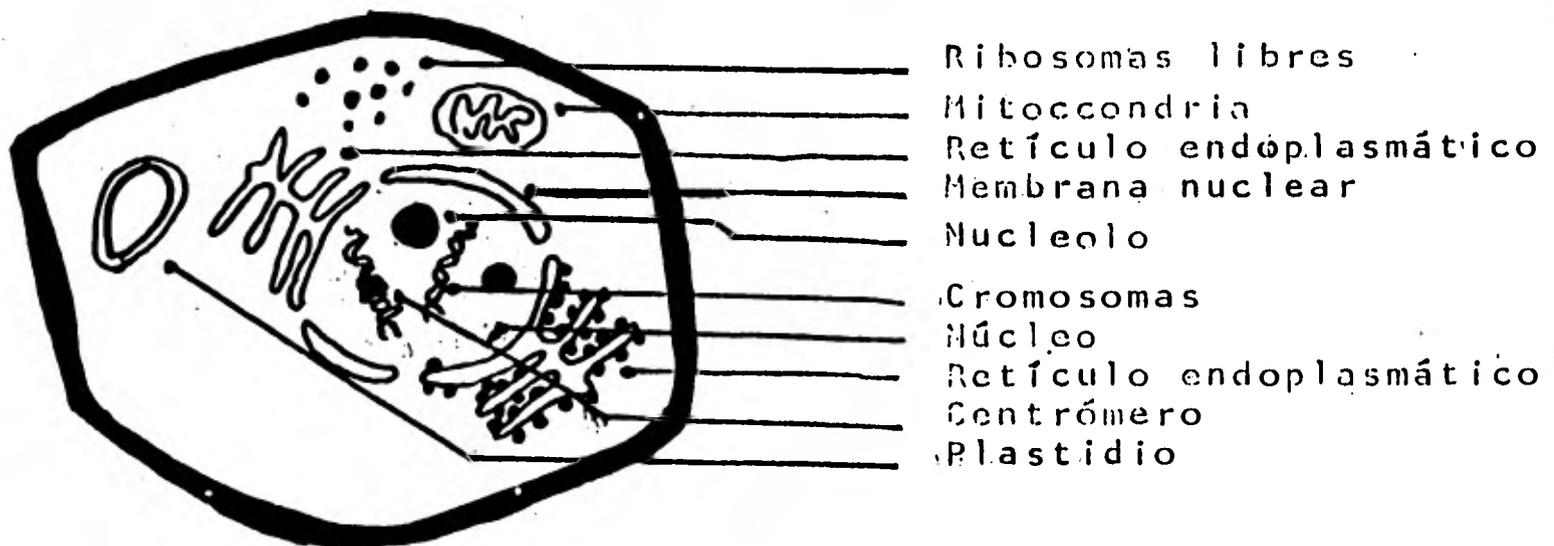


Figura 11.2

Se observó que en el núcleo de la célula se encuentran unas estructuras conocidas como cromosomas (Figura 1.2) que durante el proceso de división celular tienen un comportamiento particular. Antes de la división celular el número de cromosomas en el núcleo se duplica, después de varias etapas a las cuales las caracteriza el comportamiento de los cromosomas, la célula se divide y cada una de las células nuevas presenta el mismo número de cromosomas que la célula de la cual se originaron (Figura 1.3).

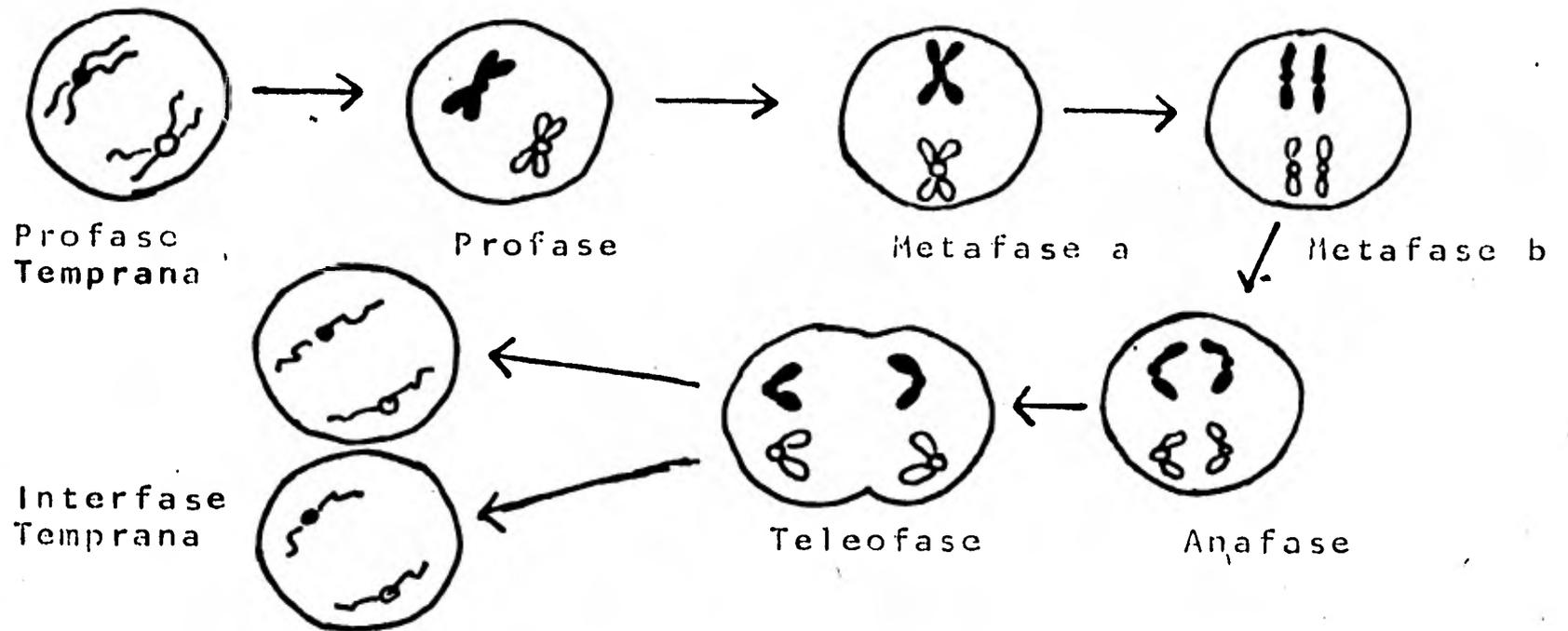


Figura 1.3

En 1903 Sutton relacionó los resultados de Mendel con el proceso de duplicación del número de cromosomas. Afirmó que los cromosomas son los responsables de la transmisión de los rasgos hereditarios y de esta manera relacionó la citología con los experimentos de crianza.

T.H.Morgan y sus colaboradores desarrollaron en 1908 la teoría del gen como una unidad discreta del cromosoma. Se llamó gen a aquella parte del cromosoma que es responsable de la transmisión de un rasgo genético. Morgan, Muller, Bridges y Stuyvesant en estudios con la mosca *Drosophila melanogaster* descifraron los mecanismos de cruzamiento e hicieron el primer mapa genético.

El comportamiento de los cromosomas y su división en genes se estudió con gran cuidado, sin embargo, el mecanismo de transmisión de la información genética a nivel molecular era desconocido. Se sabía que los cromosomas estaban constituidos por proteínas y por ciertas moléculas conocidas como ácido desoxirribonucleico (ADN). Se creía que las proteínas eran las estructuras en las que residía la información genética.

por su complicada estructura química mientras que el ADN era descartado, por su relativa simplicidad. En 1944 O.T. Avery y sus colaboradores identificaron al ADN como el portador de la información genética. Avery y sus colaboradores trabajaban con la bacteria *Diplococcus pneumonia* de una cepa no virulenta. Notaron que al añadir ADN de bacterias de una cepa virulenta a un cultivo de bacterias no virulentas las nuevas generaciones eran patogénicas a pesar de que el ADN provenía de bacterias muertas. Aunque los experimentos de Avery no intentaban reconocer al responsable de la transmisión de la información genética lo hicieron. Estos experimentos establecían claramente que el ADN era capaz de transferir información genética de una bacteria a otra. A pesar de su importancia sus resultados tardaron en ser apreciados debido en gran parte a que fueron publicados en una revista médica.

La evidencia que señalaba al ADN como portador de la información genética se acumuló después del descubrimiento de Avery. La información que se tenía acerca de su composición química se tornó muy importante al tratar de entender su comportamiento. Ya entonces se sabía que el ácido desoxirribonucleico es una macromolécula larga en forma de cadena, constituida a partir de monómeros llamados nucleótidos. Cada nucleótido se caracteriza químicamente por tres cosas:

- a) Una base nitrogenada heterocíclica, que es un derivado de la purina o de la pirimidina.
- b) Una pentosa.
- c) Una molécula de ácido fosfórico.

El ADN está compuesto principalmente por cuatro nucleótidos que sólo difieren entre ellos en la base nitrogenada. Las cuatro bases son: adenina, guanina, timina y citosina. Las dos primeras son purinas y las otras dos pirimidinas. (Figura 1.4).

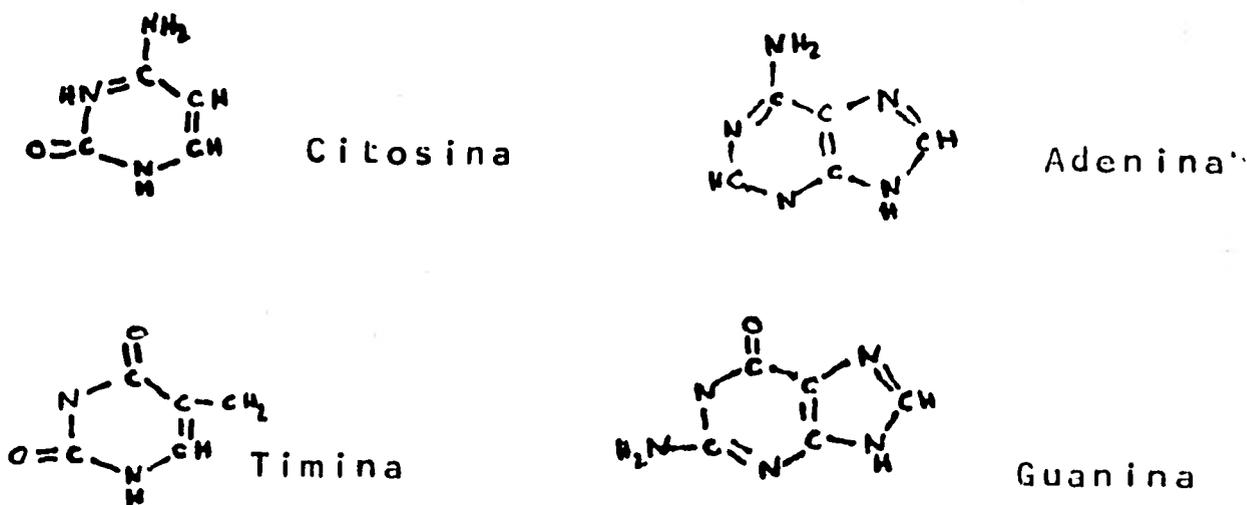


Figura 1.4

Los nucleótidos forman una cadena larga covalentemente unida por puentes fosfodiéster entre el grupo 5'-hidroxil de un nucleótido y el grupo 3'-hidroxil del siguiente (Figura 1.5).

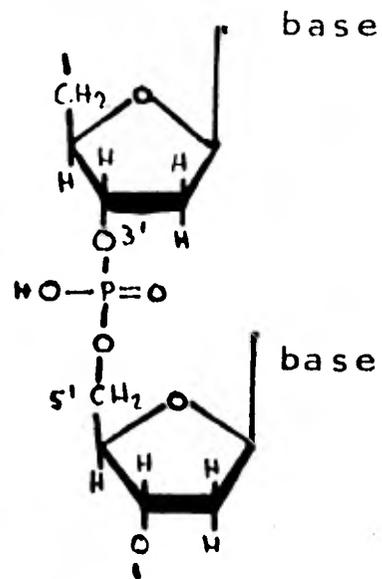


Figura 1.5

Además de la información sobre la composición química Chargaff mostró en 1950 que los nucleótidos del ADN presentan las siguientes características:

- a) La proporción de bases en el ADN varía de especie a especie.
- b) ADN aislado de diferentes tejidos de la misma especie tienen la misma composición.
- c) La proporción de bases de ADN no cambia con la edad, ni la alimentación o por cambios ambientales.
- d) En casi todos los ADN el número de residuos de adenina es igual al de timina y el de citosina al de guanina.
- e) El ADN de especies cercanas tienen una proporción de bases similar.

Los resultados de Chargaff junto con otras observaciones señalaban al ADN como el portador de la información genética. Entre la evidencia que se tenía destacaban los siguientes resultados:

- a) La cantidad de ADN en cada tipo de célula es constante y no cambia debido al medio ambiente, ni a la alimentación ni a la edad.
- b) La cantidad de ADN presente en una célula esta en proporción a la complejidad de esta y por lo tanto a la cantidad de información que puede almacenar.
- c) Experimentos con virus que infectan a bacterias señalaban al ADN como el material genético.

La gran importancia que parecía tener el ADN hizo que muchos investigadores trataran de descubrir su estructura

tridimensional. En 1951 M.H.F. Wilkins y R. Franklin usando técnicas de difracción de rayos X obtuvieron que el ADN tiene dos periodicidades; una de 0.34 nm y otra de 3.4 nm dentro de una posible estructura helicoidal.

Para 1953 se conocía todo lo descrito anteriormente pero faltaba encontrar la estructura tridimensional del ADN. Cualquier modelo de la estructura del ADN debía de ser compatible con los requerimientos biológicos pedidos al material genético: duplicación exacta, capacidad de llevar información genética y posibilidad de mutación. También debía de ser compatible con los resultados encontrados por Chargaff acerca de la composición química y proporción de las bases. Los datos químicos señalaban hacia alguna forma de complementaridad entre las bases, además existían las constricciones físicas encontradas por medio de rayos X. En ese año J.D. Watson y F.H. Crick postularon un modelo tridimensional preciso de la estructura del ADN. Watson y Crick habían trabajado en la estructura del ADN con modelos a escala. Su trabajo no sólo es importante por haber descubierto la estructura del ADN sino por el método empleado. Encontraron la estructura del ADN partiendo de la evidencia química y física pero tomando en cuenta la función biológica que se le atribuía al ADN y buscando una estructura que permitiera que los mecanismos biológicos que debía cumplir efectivamente se pudieran describir por medio de esta estructura. El modelo explicaba no sólo las observaciones experimentales hechas anteriormente sino también sugería el mecanismo de duplicación y la manera de guardar la información genética.

En el modelo de Watson y Crick del ADN dos cadenas polinucleótidas están enrolladas en forma helicoidal alrededor del mismo eje formando así una doble hélice (Figura 1.6). El enrollamiento es tal que no pueden ser separadas las cadenas más que desenrollando la hélice.

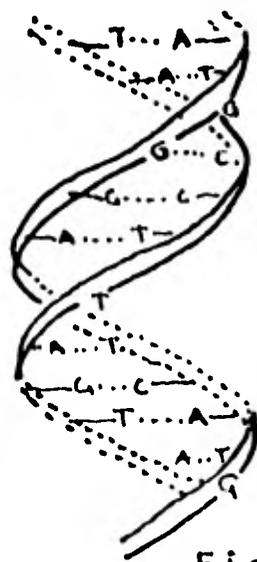


Figura 1.6

Las bases de los nucleótidos que forman cada cadena están acomodadas en el interior de la doble hélice con sus planos paralelos uno al otro y perpendiculares al eje de la hélice. Las bases de una cadena están apareadas con las bases de la otra en el mismo plano. El apareamiento es tal que sólo ciertos pares de bases acomodan en el interior de la estructura para formar cierto tipo de enlaces débiles llamados comúnmente puentes de hidrógeno. Un puente de hidrógeno se forma cuando dos átomos parecen compartir un átomo de hidrógeno. Los pares permitidos son adenina-timina y guanina-citosina pues pueden formar puentes de hidrógeno como se ilustra en la Figura 1.7.

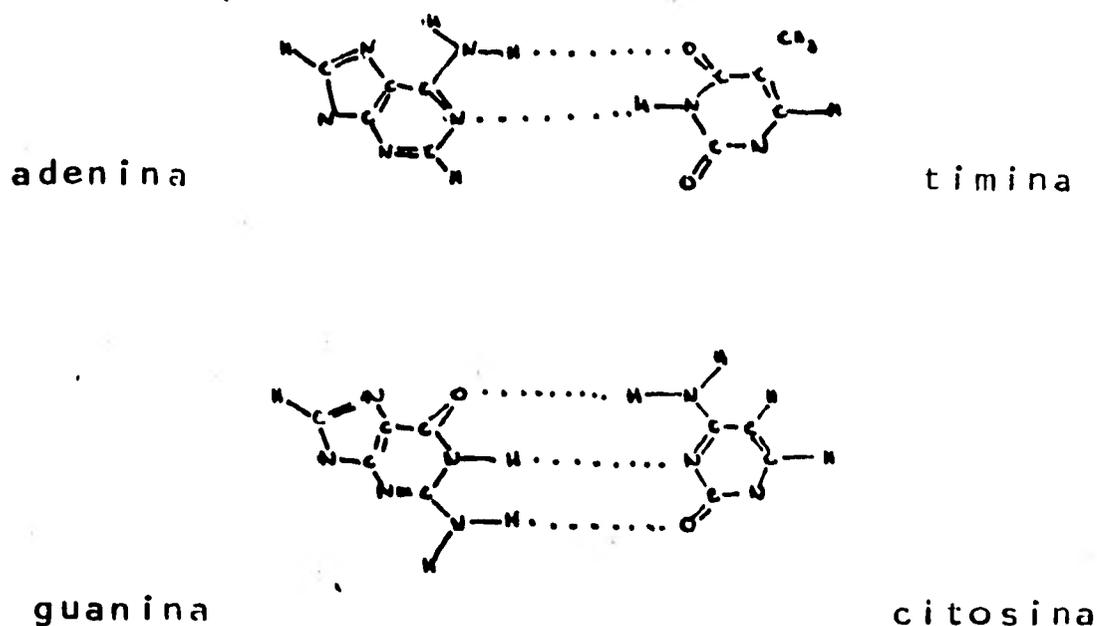


Figura 1.7

Este apareamiento selectivo explicó porque se encontraba la misma cantidad de adenina y timina y de guanina y citosina en los diferentes ADN. Ya que las bases se encuentran apareadas en la hélice debe haber igual cantidad de una base que de su complemento.

Las dos cadenas de ADN son antiparalelas, pues los enlaces covalentes de una y otra corren en sentidos opuestos (Figura 1.8). Las cadenas no son idénticas en composición ni en secuencia de bases, sino complementarias es decir, cuando en una de las cadenas se encuentra timina en la otra debe haber adenina y viceversa; similarmente ocurre para guanina y citosina.

Las características físicas que se habían encontrado por medio de rayos X también fueron explicadas. La separación entre los pares de bases adyacentes es de 0.34 nm y cada 3.4 nm hay una vuelta completa de la hélice. Esto explica las periodicidades encontradas por Wilkins y Franklin.

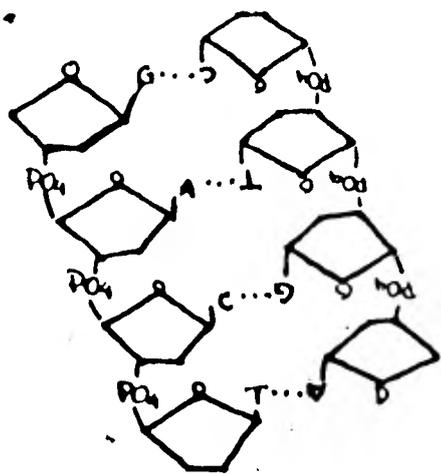


Figura 1.8

El modelo de Watson y Crick también explicó las observaciones biológicas. El mecanismo de duplicación del ADN es inmediato dado el carácter complementario de las dos cadenas que hace que cada cadena tenga la información complementaria a la otra. Se postuló que la duplicación del ADN se realiza separando la doble hélice y creando dos hélices nuevas sirviendo cada cadena antigua como molde a una hélice nueva. El resultado de este proceso son dos moléculas de ADN idénticas y cada una conteniendo una cadena del ADN original. Este proceso de duplicación del ADN es conocido como semiconservativo y fue probado experimentalmente por F.W. Stahl en 1957 usando ADN marcado con un isótopo pesado del nitrógeno y separación por centrifugación en equilibrio. De esta manera pudo descartarse otros dos posibles mecanismos de duplicación del ADN conocidos como conservativo y dispersivo (Figura 1.9).

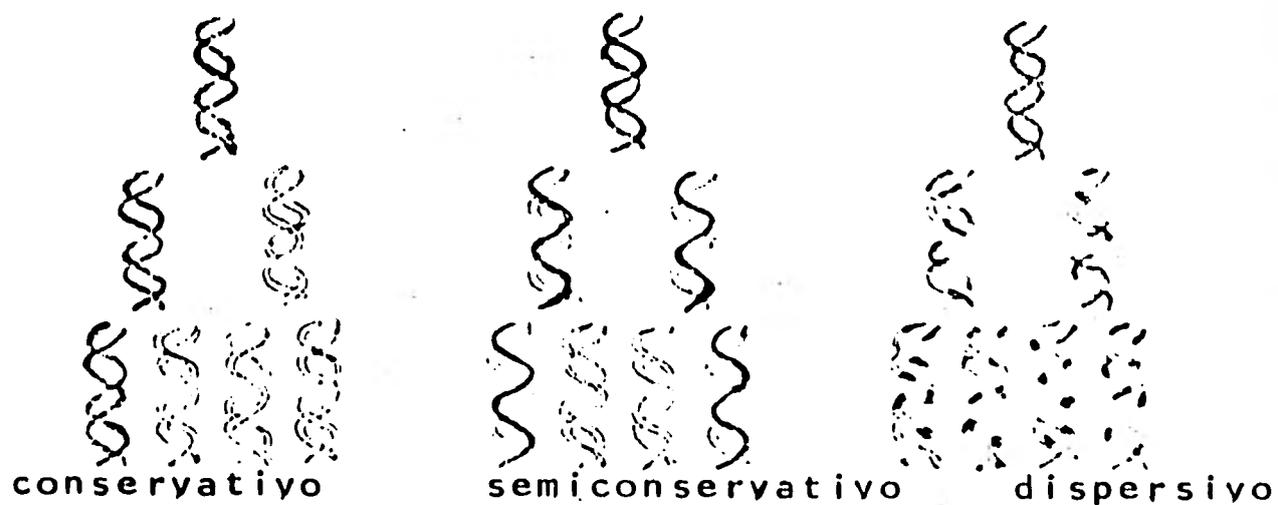


Figura 1.9

Además del mecanismo de duplicación hacía falta explicar la manera en que el ADN almacena la información. Al proponer su modelo tridimensional del ADN Watson y Crick también sugirieron la manera de guardar la información. Las cuatro bases que forman al ADN son las responsables de esto, con ellas se puede formar un alfabeto de cuatro letras creando así un código dentro del ADN. El número de arreglos diferentes que se pueden formar con n nucleótidos es 4^n , entonces para una cadena de n nucleótidos se pueden formar 4^n combinaciones diferentes. El número promedio de nucleótidos en una cadena es de 1500 así que habría 4^{1500} cadenas diferentes y cada una con información diferente. Este número es suficientemente grande como para codificar las formas de vida existentes.

El ADN debe de contener la información sobre las diferentes proteínas que se encuentran en la célula. Las proteínas son moléculas constituidas a partir de 20 aminoácidos diferentes. La secuencia de estos aminoácidos es la que distingue una proteína de otra. El ADN debe de codificar la secuencia de aminoácidos en las proteínas pero como estas están constituidas de 20 monómeros diferentes cada base no puede codificar a un aminoácido. Tampoco son suficientes grupos de 2 bases pues sólo se pueden formar 16 grupos diferentes. El número mínimo de secuencias de bases es de 3. Con secuencias de 3 bases se pueden formar 64 grupos diferentes. La prueba de que el código está formado por tripletes de bases fue realizada por S. Ochoa y Nirenberg independientemente en 1961 quienes además encontraron que el código es degenerado, es decir, algunos aminoácidos están codificados por más de un grupo de bases.

El problema del almacenamiento de la información genética quedó resuelto al encontrarse que es por medio de tripletes que se guarda la información en el ADN. Sin embargo, la manera en que este código es interpretado no está explicada por este mecanismo. La primera pregunta que surge es como pasar la información del código a los sitios donde ocurre la síntesis de proteínas. La síntesis de proteínas ocurre en los ribosomas que se encuentran fuera del núcleo, mientras que los cromosomas se encuentran dentro de este. De alguna manera tiene que pasar la información del interior del núcleo al exterior donde se encuentran los ribosomas. El intermediario entre el ADN y los ribosomas lo encontraron Valin y Astrachan en 1957. La molécula responsable de este proceso es el ácido ribonucleico (ARN).

El ARN es una molécula muy parecida al ADN, difiere básicamente en un grupo OH en el azúcar del nucleótido. Está formado principalmente por cuatro nucleósidos: adenina, uracil, guanina y citosina. Generalmente forma una hélice de una sola cadena. Se han identificado tres tipos de ARN en la célula, ARN mensajero (ARNm), ARN de transferencia (ARNt) y el ARN

ribosomal (ARNr). El primero de estos es el encargado de llevar la información del ADN a los ribosomas.

Una vez que se encontró al intermediario sólo faltaba explicar la manera en que se obtiene esta información del ADN y como se transmite para que se efectue la síntesis de proteínas. El mecanismo de transcripción de la información fue encontrado por Champe y Benzer en 1962. La transcripción de la información del ADN al ARNm se efectúa de la siguiente manera: el ADN se desenrolla en una sección y se copia una de las cadenas de esta sección. La copia se separa quedando libre una molécula que es el ARNm. El ADN se transcribe en secciones y cada sección puede codificar a una o mas proteínas. Para transmitir la información del ARNm es necesario que intervenga una molécula adaptadora pues no existe una forma en que el ARNm y los aminoácidos que forman una proteína interactuen de una manera directa. La molécula adaptadora se tiene que encargar de identificar los tripletes en el ARNm y escoger los aminoácidos apropiados para formar la secuencia de aminoácidos de una proteína. La molécula responsable de este mecanismo fue identificada como el ARNt.

La molécula de ARNt consta de 70 a 80 bases que están unidas en algunos sectores por puentes de hidrógeno que le dan una estructura característica (Figura 1.10). Esta formada principalmente por adenina, guanina, citosina y uracil aunque también se encuentran otros nucleótidos en ella, con la inosina.

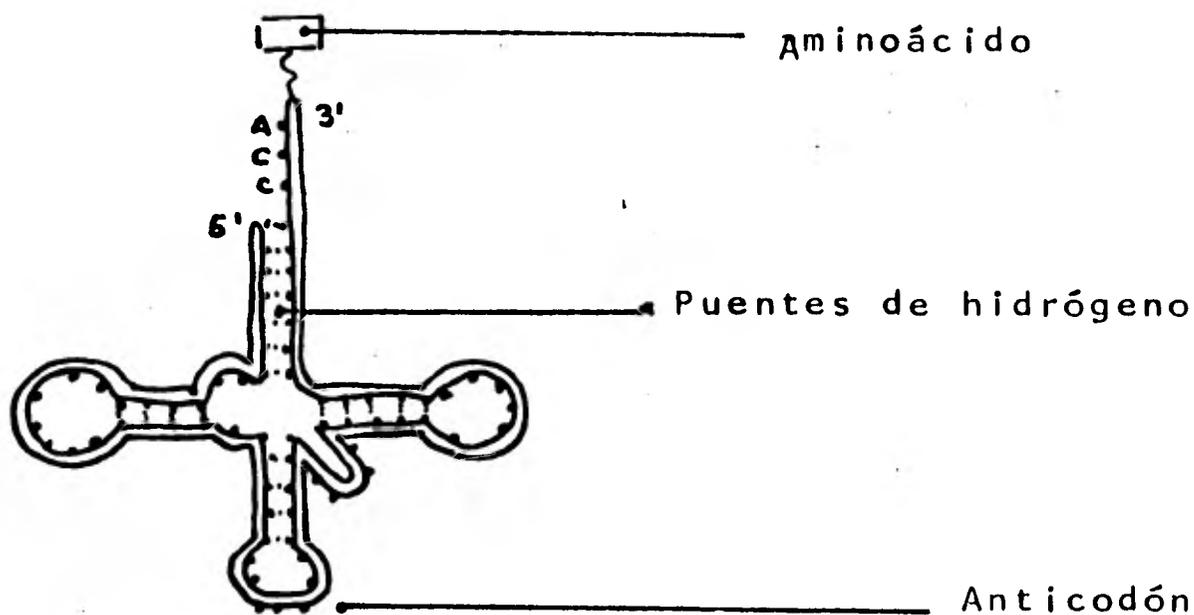


Figura 1.10

En la parte inferior de la molécula se encuentra un triplete de bases libre conocido como anticodón, que es el encargado de reconocer al triplete en el ARNm (codón). En la parte superior de la molécula hay otro triplete sin aparear donde se liga el aminoácido específico para cada ARNt.

El ARNt es creado a partir del ADN y después se le une al aminoácido que codifica. En este proceso interviene una molécula de adenosín trifosfato (ATP) para permitir la unión del aminoácido al ARNt. El ATP se transforma en adenosín difosfato (ADP) y libera energía al separarse una molécula de ácido fosfórico. Esta energía es la que se usa para formar el nuevo enlace entre el aminoácido y el ARNt. Ya que se ha unido el aminoácido a la molécula de ARNt se difunden hacia los ribosomas. En los ribosomas se realiza la síntesis de proteínas. La función principal de los ribosomas consiste en orientar a los ARNt y ARNm de manera que puedan interactuar y el código pueda ser leído con precisión. Los ribosomas se acomodan en el ARNm como se ve en la figura 1.11 y se van recorriendo a lo largo del ARNm conforme se va realizando la síntesis.

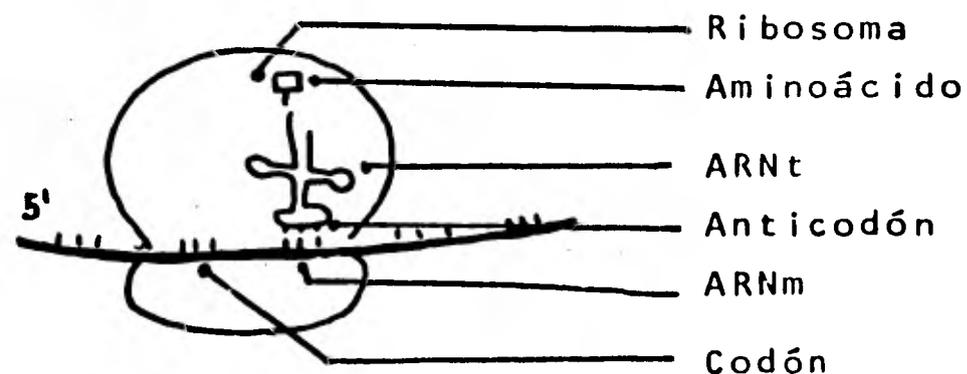


Figura 1.11

Los ARNt se van uniendo al ARNm de manera que las moléculas de aminoácidos quedan en el otro extremo del ARNt. Los aminoácidos se van separando del ARNt y forman una cadena que está unida al último ARNt que ha llegado al ARNm (Figura 1.12). Para que se pueda ir formando la cadena de aminoácidos es necesario añadir energía para poder formar los enlaces covalentes. La energía proviene de la molécula de guanósín trifosfato (GTP) que se transforma en guanósín difosfato (GDP) liberando energía. En todos estos procesos la presencia de enzimas específicas es imprescindible pero no detallaremos la manera en que estas intervienen. El proceso de formación de la cadena de aminoácidos continúa hasta que por medio de

un triplete de indicación de final la síntesis termina.

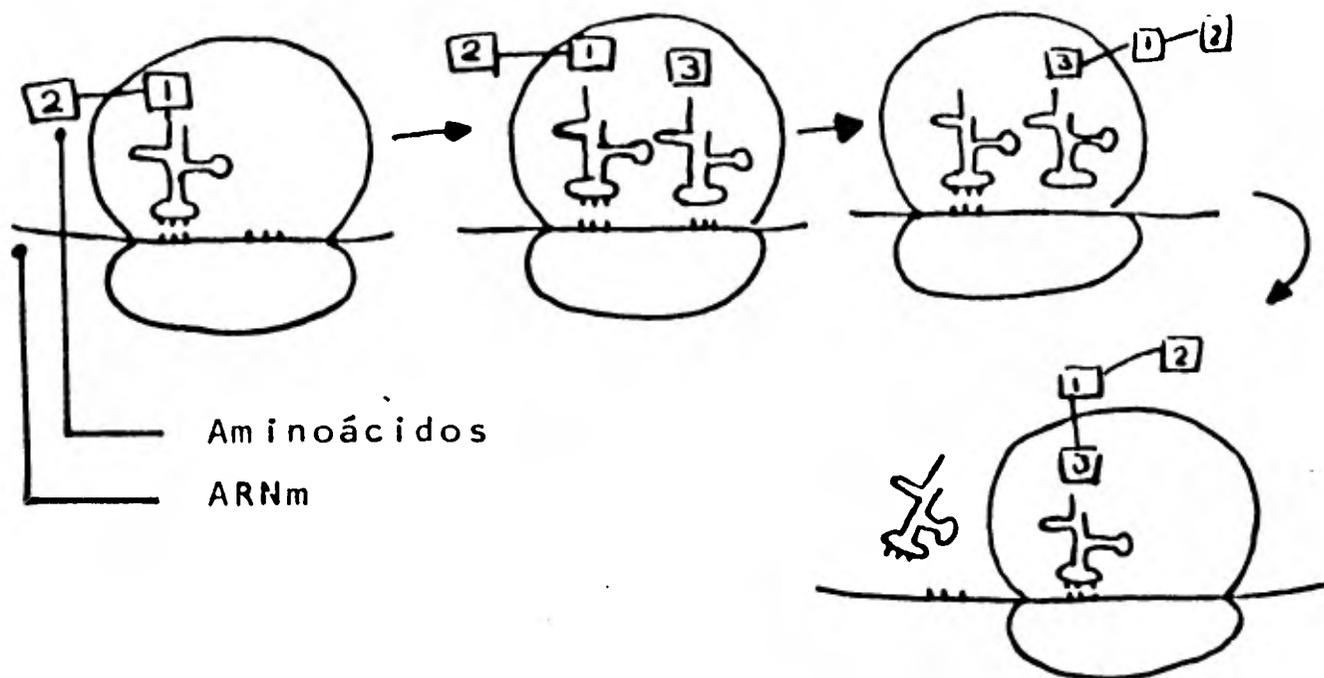


Figura 1.12

La síntesis de proteínas es un proceso controlado dentro de la célula. Si no fuese así la cantidad de proteínas que se sintetizan dentro de la célula no respondería a las necesidades de esta. En 1961 Monod y Jacob postularon un mecanismo de control intercelular que respondía a las condiciones extracelulares. Notaron que algunas enzimas son activadas por sustancias que no son necesariamente las sustancias con las que la enzima va a interactuar. Además, al inducir la creación de ciertas enzimas también se inducía la creación de enzimas relacionada con estas. Esta observación las hicieron al estudiar la β -galactosidasa en *Escherichia Coli*. Al inducir la formación de β -galactosidasa también se formaba β -galactosidasa acetiltransferasa y β -galactosidasa permeasa. En sus experimentos encontraron que ciertos mutantes de *E. coli* son incapaces de formar ciertas enzimas en respuesta a los inductores apropiados pero no pierden la capacidad de formar otras enzimas. La tercera observación importante que hicieron Jacob y Monod fue el descubrimiento de un tipo de mutante de *E. coli* que sintetizaba β -galactosidasa sin haber estado en contacto con el inductor de esta.

En base a estas observaciones Jacob y Monod concluyeron que hay tres sitios diferentes en el ADN que influyen en la síntesis de una enzima. Estos tres sitios fueron llamados z , i y o . El sitio z especifica la secuencia de aminoácidos y es conocido como gen estructural. El sitio i se conoce como gen regulador y es el que determina si el gen estructural ha de ser transcrito o no. No tiene influencia sobre la

estructura electrónica de los ácidos nucleicos es un problema que requiere herramientas propias de la física. El siguiente capítulo lo dedicaremos a este importante aspecto del ADN.

C A P I T U L O I I

En el capítulo anterior se mostró la importancia que tiene el ADN como portador de la información genética. En base al conocimiento de la estructura tridimensional de la molécula fue posible establecer la manera en que se almacena, codifica y transcribe dicha información. El ADN tiene que mantenerse sin cambios para evitar errores genéticos por lo que debe de ser necesariamente una molécula estructuralmente estable, de lo contrario la información genética se perdería con facilidad. Los enlaces covalentes entre los grupos fosfato y los azúcares en las bases forman un esqueleto que da estabilidad y rigidez a la molécula. Sin embargo, este esqueleto no es el único responsable de la estabilidad estructural sino el efecto combinado de varios factores.

Buscando las causas de la estabilidad del ADN Pullman y colaboradores (1) hicieron un estudio teórico de las diferentes configuraciones de los pares de nucleótidos. Calcularon la energía de los pares para geometrías y apareamientos diferentes entre las cuatro bases. Para el par guanina-citosina la configuración de mínima energía coincide con la de Watson y Crick. Sin embargo, para el par adenina-timina la configuración más estable no es la del modelo de Watson y Crick sino la llamada configuración de Hoogsteen (Figura 11.1)

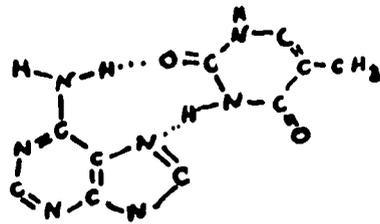


Figura 11.1

Por otro lado, en 1974 Ts'lo (2) encontró, en un estudio experimental, que las bases en un medio acuoso no forman pares en un mismo plano sino que se apilan o sobreponen. Ya que para obtener estos resultados no se tomó en cuenta el esqueleto formado por los grupos fosfato de la hélice es claro que la estructura de la molécula se debe en buena parte a los enlaces entre los grupos fosfato y los azúcares. Sin embargo, no podemos olvidar que la transcripción de la información se lleva cabo mediante el apareamiento de las bases según el modelo de Watson y Crick. Por esto es importante estudiar que otros factores pueden influir en la configuración de los pares además de la estructura helicoidal de los fosfatos.

Hay dos factores que son importantes al estudiar la estabilidad estructural: la interacción entre las bases y la interacción de las bases con el medio. En el primer caso podemos distinguir dos tipos de interacción: la interacción entre los pares de bases en un plano para formar puentes de hidrógeno y la interacción entre las bases apiladas. Al estudiar la interacción de las bases con el medio interesa sobre todo la interacción con el medio acuoso. Para estudiar la interacción entre las bases a través de puentes de hidrógeno es necesario estudiar primero que es un puente de hidrógeno. Por esto, al final de este capítulo presentaremos un análisis sobre los puentes de hidrógeno.

El apilamiento de las bases es una característica esencial de la doble hélice. En la molécula de ADN los pares de bases se encuentran apilados, con sus planos paralelos entre sí y perpendiculares al eje de la hélice (Figura 1.7). Los pares necesariamente interactúan debido a este acomodamiento. Es interesante estudiar la naturaleza de las fuerzas responsables de esta interacción no sólo como un ejercicio teórico sino también para entender como afecta a la estructura el apilamiento. Los resultados experimentales de Ts'lo (3,4) y Bugg (5) señalan a las fuerzas inductivas o de polarización como las más importantes en la interacción entre bases apiladas. Sin embargo, los resultados teóricos (6,7,8,9,10,11,12,13,14) no están de acuerdo con esto. En base a los cálculos teóricos se pueden hacer las siguientes generalizaciones acerca del apareamiento:

a) La contribución atractiva más grande proviene del término dispersivo y después la del término de polarización.

b) La contribución de las fuerzas dispersivas y de polarización varía monotonamente con el ángulo de giro alrededor del eje de la hélice.

c) El término electrostático cambia varias veces de signo al rotar los pares de bases alrededor del eje de la hélice.

El término electrostático se refiere a las fuerzas puramente debidas a la interacción electrostática. El de polarización es el que representa la interacción de una molécula con otra polarizada debido a la presencia de la primera. Por último, el término dispersivo se refiere a las interacciones dipolo inducido-dipolo inducido.

Estos términos pueden variar también debido al orden en que están apilados los nucleótidos. La estabilidad de cadenas de purinas no es igual a la de cadenas mixtas o de pirimidinas. Los resultados obtenidos por Ts'o (15) en cadenas simples de oligonucleótidos señalan que las estabilidades relativas de pares de bases apiladas siguen el orden: purina-purina, purina-pirimidina y pirimidina-pirimidina. En un estudio teórico, Claverie, Pullman y Caillet (16) obtuvieron los mismos resultados. Además se han hecho estudios teóricos de parejas de pares apilados (v.g. $\begin{matrix} C-G \\ C-G \end{matrix}$ $\begin{matrix} A-T \\ A-T \end{matrix}$). Los resultados obtenidos por Rein et al (13), Coeckelenbergh (17), Claverie (7), Pullman et al (18) y Kudristkaya (10) no muestran mucha correlación aunque todos están de acuerdo en el orden de las estabilidades relativas de las parejas.

En 1974 Borer y colaboradores (19) estudiaron el comportamiento de las parejas de pares apilados al desnaturalizarse. En base a sus resultados calcularon los parámetros termodinámicos de estas parejas. Las estabilidades relativas que encontraron siguen el orden: parejas de guanina-citosina, parejas de adenina-timina y por último parejas mixtas. Estas últimas son 7 u 8 kcal/mol más inestables que las otras. Los resultados no están muy de acuerdo con los cálculos teóricos de Rein, Coeckelenbergh y Egan (20) que señalan a las parejas mixtas como más estables que las parejas de adenina-timina. Tampoco están de acuerdo con las estabilidades calculadas por Pullman y Caillet (21) debidas a los puentes de hidrógeno que señalan a las parejas mixtas como más estables.

Hasta ahora la información que se tiene acerca del apilamiento de bases es poca y en algunos casos contradictoria. Se tiene aún menos información acerca del efecto del medio ambiente en la doble hélice de ADN. Puesto que el agua parece ser el único solvente que le confiere estabilidad a la molécula sólo se ha estudiado el efecto del agua en la estructura del ADN.

Se han hecho cálculos teóricos para tratar de entender el proceso de formación de la hélice. Los primeros cálculos fueron hechos por Sinanoglu y Abdulnor en 1964 (22), sus resultados están en desacuerdo con los datos obtenidos para este proceso en estudios sobre las propiedades termodinámicas. Desde entonces se han hecho numerosos estudios sobre el efecto del agua en la hélice. Aún no se tiene información concluyente acerca del mecanismo de interacción. En la actualidad este es un problema abierto.

La interacción entre nucleótidos a través de puentes de hidrógeno ha sido estudiada sobre todo en relación con los mecanismos de mutación de la información genética. Uno de los efectos más interesantes que ocurren al formarse un puente de hidrógeno es la modificación del potencial del protón en el puente. Si no hay puente de hidrógeno el potencial del protón

* Por parejas mixtas se entiende las formadas por una par A-T y un par G-C.

es un pozo con su parte mas profunda a la distancia de equilibrio. En la presencia de otro átomo para formar un puente de hidrógeno es posible que el potencial se modifique para formar un doble pozo. Podemos visualizar el potencial del protón de la siguiente manera (Figura 11.2)

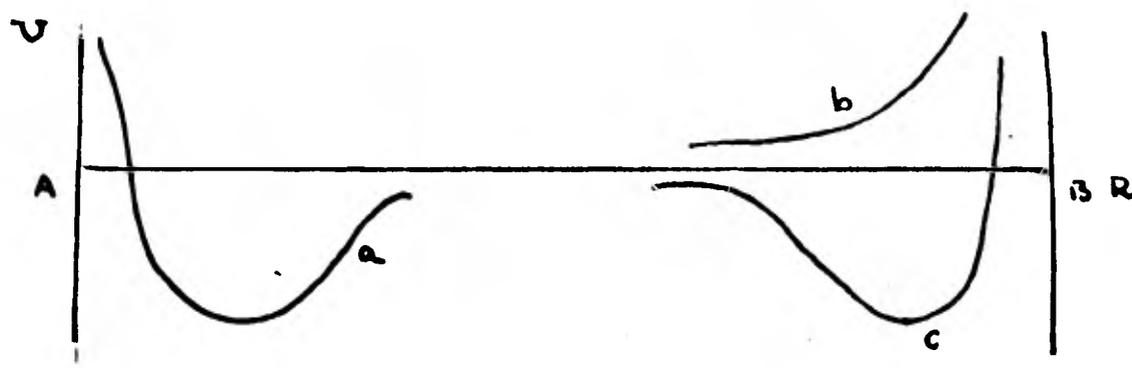


Figura 11.2

En la figura *a* es el potencial para el enlace entre un átomo y el hidrógeno (A—H), *b* y *c* son las dos posibilidades para la interacción entre el otro átomo y el hidrógeno (H---B). El potencial que resulta de la composición de estas posibilidades puede ser de cualquiera de las formas que se ilustran en la Figura 11.3.

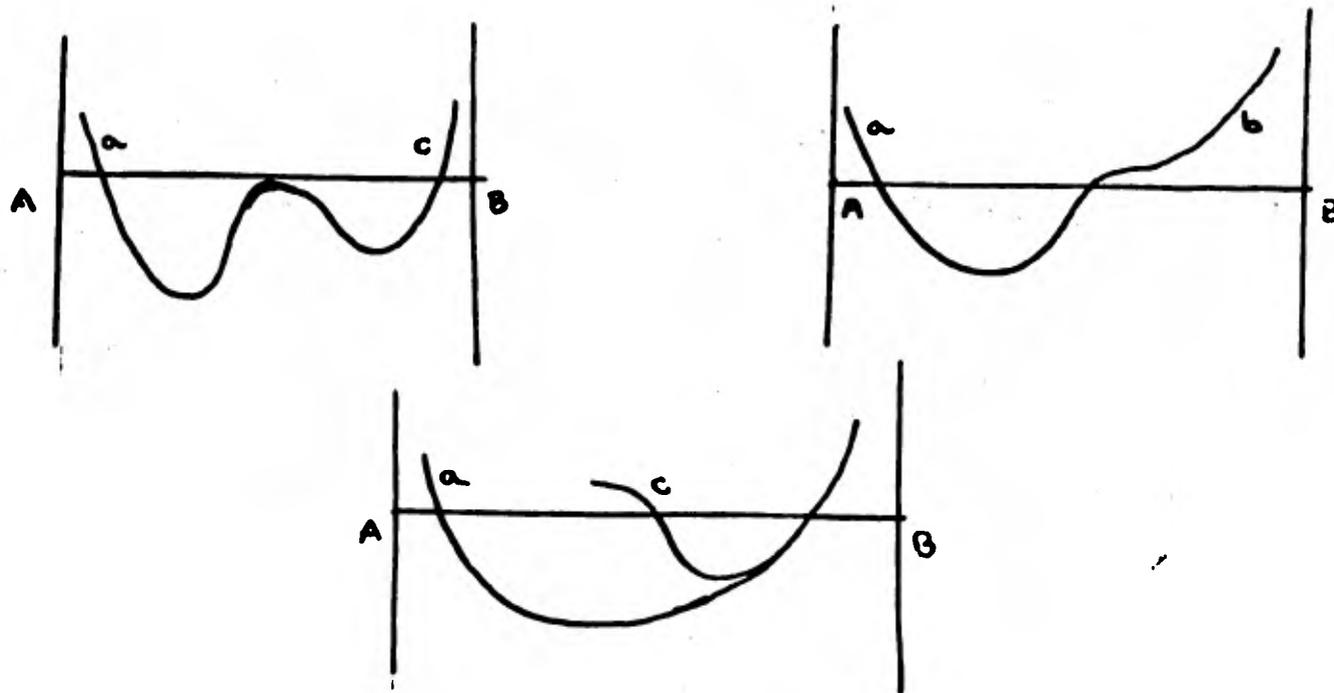


Figura 11.3.

Diferentes observaciones experimentales hechas en moléculas que presentan puentes de hidrógeno han sido atribuidas a la presencia de un doble pozo de potencial. Sin embargo, no puede considerarse como evidencia experimental las explicaciones

que se han dado a fenómenos no muy bien entendidos.

Se ha tratado de dar una explicación teórica a los resultados experimentales. Sin embargo, las teorías no son totalmente rigurosas ya que están parametrizadas o implican un modelo molecular muy burdo (23).

La teoría del doble pozo de potencial adquirió importancia en los estudios de transferencia de información genética cuando Löwdin (24,25) propuso una teoría para explicar un posible mecanismo de error en los pares de nucleótidos en base al movimiento del protón en un doble pozo. El modelo de Watson y Crick del ADN depende del apareamiento único de bases complementarias de purina y pirimidina. Los mismos Watson y Crick sugirieron que la existencia de bases en su forma tautomérica rara podría producir errores de apareamiento provocando así la aparición de una mutación en el código genético (mutación puntual). Si el potencial del protón presenta un doble pozo es posible que el protón pase de un pozo al otro aunque no tenga la energía suficiente para traspasar la barrera. El mecanismo es conocido como efecto túnel y es un efecto estudiado desde el inicio de la mecánica cuántica. Löwdin propuso que las bases pueden pasar a su forma tautomérica rara si los protones en el puente de hidrógeno cambian de posición por efecto túnel. En base a este mecanismo Löwdin ha propuesto toda una teoría de las mutaciones puntuales.

La teoría de Löwdin y la complementaridad entre las bases se puede visualizar fácilmente con la notación introducida por el propio Löwdin para los nucleótidos. Cada nucleótido se representa por la estructura que presenta en la zona del puente de hidrógeno. Así, por ejemplo, para timina



Figura 11.4

En esta notación los puntos representan pares electrónicos y las H protones. Las demás bases quedan representadas como:

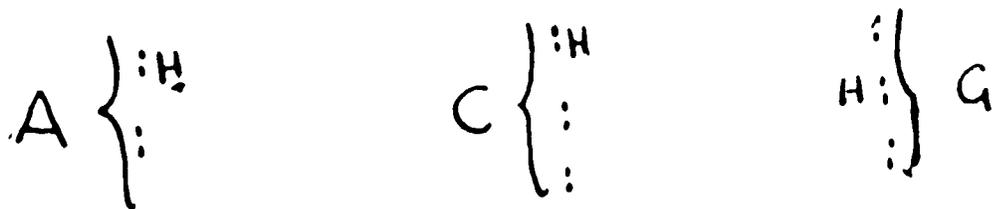


Figura 11.5

Como se puede ver, A y C tienen codigos equivalentes con respecto a las dos posiciones superiores, lo mismo es cierto para G y T. En esta notación los puentes de hidrógeno quedan representados por un protón compartido por dos pares electrónicos. Las formas tautoméricas raras quedan representadas como:

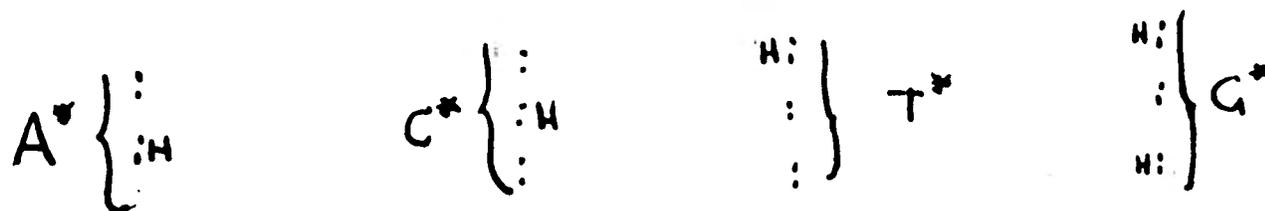


Figura 11.6

En su forma normal A sólo se puede combinar con T y G sólo con C. Sin embargo, si consideramos formas tautoméricas raras esto deja de ser cierto y se pueden formar las siguientes combinaciones:



Figura 11.7

La complementaridad entre las bases cambia por completo.

Löwdin propuso que el cambio de un solo protón dentro de un par daba por resultado bases iónicas. Si los dos protones en un par se mueven acopladamente por efecto túnel el resultado son dos bases en su forma tautomérica rara. En el caso de tunelaje de un solo protón es muy probable que se induzca el movimiento del otro protón para mantener la carga neta equilibrada en las dos bases. El efecto túnel acoplado implica las siguientes transiciones en las bases:

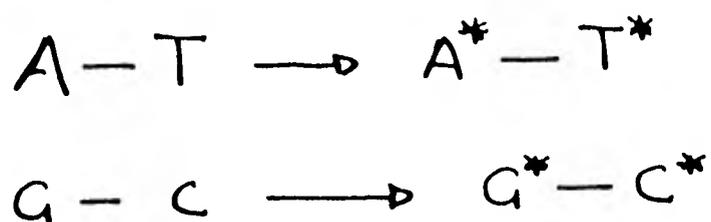


Figura 11.8

Si el proceso de transcripción o duplicación se lleva a cabo cuando han aparecido pares tautoméricos es posible que se produzcan errores de la siguiente manera:

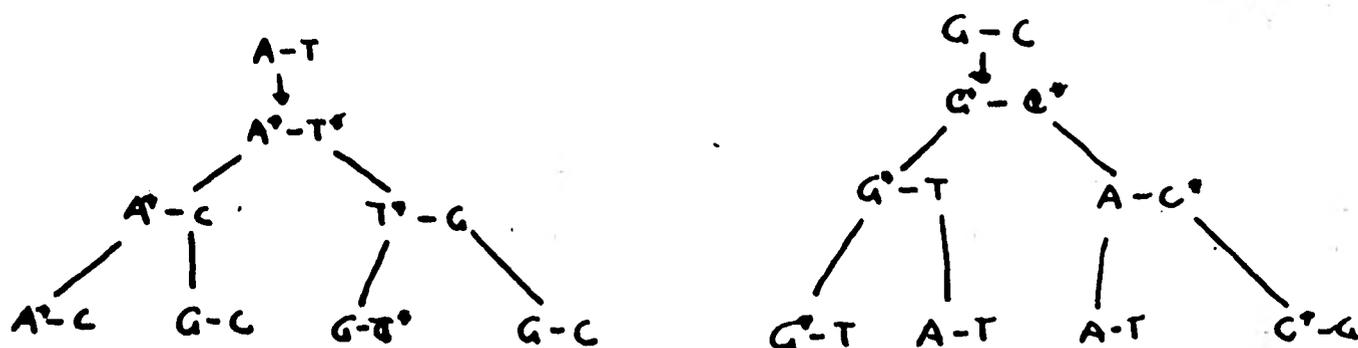


Figura 11.9

Sobre estas observaciones acerca de las implicaciones del movimiento de los protones por efecto túnel Löwdin propuso algunos modelos para explicar varios fenómenos biológicos. Por ejemplo, atribuyó a este mecanismo el proceso de envejecimiento pues asoció la pérdida de información con el envejecimiento. También propuso que la razón de aparición de tumores espontáneamente es el cambio en las bases del ADN por efecto túnel. Los cambios en la secuencia de las bases producen cambios en la síntesis de proteínas y en los procesos de control. Estos cambios se traducen en tumores y podrían ser los responsables de ciertos tipos de cáncer.

La falta de evidencia experimental que sustente esta teoría ha hecho que sea muy criticada. Además, los cálculos moleculares sobre los que se basó Löwdin para asegurar la existencia de un doble pozo (27,28) han sido cuestionados pues cálculos más rigurosos no muestran un doble pozo (26). A manera de comprobación de su teoría Löwdin calculó la probabilidad de que ocurra un cambio por efecto túnel en un doble pozo. Comparó sus resultados con los datos acerca de las probabilidades de mutación encontró que están de acuerdo con el experimento pero, otra vez,

están basados en cálculos moleculares de poca confiabilidad.

Por medio de diferentes técnicas experimentales (espectroscopía en el infrarrojo, Raman y ultravioleta, NMR y cristalografía de rayos X) se ha podido establecer que las formas que siguen el esquema de Watson y Crick son más comunes (29,30). Además se ha establecido por medio de cálculos moleculares que las formas normales son muy estables y es poco probable que ocurra un cambio espontáneo (29,31,32).

Otro mecanismo que puede causar mutaciones e involucra al puente de hidrógeno fue propuesto por Crick en 1966. Una característica importante del código genético es que el codón para cada aminoácido no es único y casi invariablemente sólo varía en el último nucleótido del triplete. Para explicar esta peculiaridad Crick introdujo el concepto de par "wobble". Este concepto establece que el extremo 5' del anticodón no está tan espacialmente restringido como los otros dos, permitiéndole formar enlaces con cualquiera de las bases localizadas en el extremo 3' de un codón. No todas las combinaciones son posibles. En la Tabla I presentamos las que son posibles:

ANTICODON	CODON
G	U o C
C	G
A	U
U	A o G
I	A, U o C

Tabla I

Pollack y Rein (33) estudiaron en 1966 la estructura de los pares "wobble" en base a los pares sugeridos por Crick. Encontraron que todos los pares posibles son estables apoyando la teoría de los pares "wobble".

Hasta aquí hemos mencionado al puente de hidrógeno sin decir nada acerca de su naturaleza. Diversas teorías han tratado de explicar en qué consiste un puente de hidrógeno. Antes de explicar estas teorías resumiremos brevemente la evidencia experimental acerca de la existencia de los puentes (23).

En muchas propiedades físicas se manifiestan los puentes de hidrógeno. Diferentes técnicas sirven para medir diferentes características del puente. La mejor técnica para detectar los puentes de hidrógeno es la espectroscopía en el infrarrojo mientras que para medir la energía del puente las técnicas termoquímicas son las mejores. Los puentes de hidrógeno también se manifiestan modificando la geometría de las moléculas. Esto puede ser detectado por difracción de rayos X o de electrones.

La evidencia espectroscópica se puede agrupar en tres

tipos diferentes;

a) Espectroscopía en el infrarrojo lejano; la evidencia del puente de hidrógeno consiste en los modos de acortamiento, torsión y flexión del puente ($A-H-B$).

b) Espectroscopía en el infrarrojo; las modificaciones del modo de acortamiento del enlace entre el átomo A y el hidrógeno con respecto a las muestras no ligadas son las características principales. Las modificaciones consisten en:

- i) Cambio del centro de gravedad.
- ii) Ensanchamiento de la banda.
- iii) Aparición de estructura fina.
- iv) Aumento en la intensidad integrada.

c) Espectroscopía de sobrearmónicos (overtone spectroscopy). También aquí el acortamiento del enlace entre el átomo y el hidrógeno es la manera de detectarlo.

d) Espectroscopía óptica y ultravioleta; la evidencia proviene del cambio batocrómico de las transiciones $\pi-\pi^*$ y el cambio hipsocrómico de las transiciones $n-\pi^*$.

Para medir la energía de enlace del puente de hidrógeno se pueden usar diferentes técnicas termodinámicas midiendo el calor de formación. Para esto se mide la constante de equilibrio entre las formas ligadas y las no ligadas con espectroscopias en el infrarrojo, de sobrearmónicos y ultravioleta y PVT.

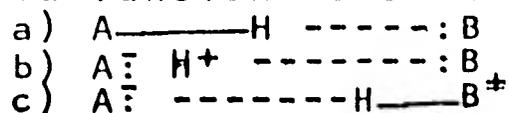
Por último, hay gran cantidad de evidencia basada en modificaciones a la estructura de las moléculas debido al puente de hidrógeno. se han observado estas modificaciones por medio de difracción de rayos X, microondas y electrones. Estas técnicas presentan el inconveniente de que no permiten hacer observaciones cuantitativas, sólo cualitativas.

Para explicar la naturaleza del puente de hidrógeno se han propuesto diferentes teorías. Las primeras teorías que trataron de explicar el puente de hidrógeno fueron las teorías electrostáticas (34). La idea de las teorías electrostáticas es muy simple. Un átomo electronegativo con una δ^+ de carga sentirá una atracción dipolar en la presencia de un protón con una δ^- de carga. Este criterio inmediatamente reduce los puentes de hidrógeno a tres átomos pues un cuarto sentiría una repulsión de los otros átomos electronegativos sin poder competir por el protón. La energía que se obtiene para el puente de hidrógeno está de acuerdo con la energía medida experimentalmente. Sin embargo, existe evidencia experimental en contra de esta teoría como el hecho de que no hay correlación entre la fuerza del puente y los momentos dipolares de los átomos.

Un refinamiento de las teorías electrostáticas se ha logrado mediante la introducción de la mecánica cuántica a este problema. Las teorías cuánticas del puente de hidrógeno pueden ser divididas en tres grupos:

- a) Teorías de transferencia de carga
- b) Métodos perturbativos
- c) Tratamiento de supersistema.

Del primer grupo podemos distinguir dos casos: la teoría de valencia y la teoría de transferencia de carga. La teoría de valencia considera tres estructuras y en base a estas construye la función de onda del sistema. Las estructuras son:



La función de onda se construye como una combinación de funciones asociadas a estas posibilidades. Las dos primeras representan interacciones iónicas que también son consideradas en las teorías electrostáticas. La tercera describe el fenómeno de transferencia de carga. La conclusión a la que llega esta teoría es que las fuerzas involucradas en el puente de hidrógeno son las siguientes: fuerzas electrostáticas, fuerzas repulsivas de corto alcance, fuerzas debidas a la transferencia de carga y fuerzas de polarización.

Aunque la teoría de valencia da un resultado muy bueno para la energía del puente de hidrógeno tiene el inconveniente de que sólo puede ser aplicada a sistemas pequeños.

La teoría de transferencia de carga usa cuatro electrones distribuidos en tres orbitales para dar cuenta del puente de hidrógeno. Uno de los orbitales es de enlace, otro de antienlace y un orbital para un par electrónico. Esta teoría adolece de los mismos problemas que la teoría de valencia. Además, se ha notado que aunque aumente la energía del puente de hidrógeno la transferencia de carga no aumenta.

Los métodos perturbativos no han sido muy usadas para tratar puentes de hidrógeno ya que las técnicas perturbativas se vuelven muy complicadas al tratar con sistemas grandes. Además, para obtener un resultado aceptable es necesario irse a niveles de perturbación altos y se tiene el inconveniente de que hay que antisimetrizar la función de onda. Las técnicas de perturbación tienen la ventaja de que la energía del puente de hidrógeno es calculada directamente y no como la resta de dos cantidades grandes. En el capítulo siguiente revisaremos brevemente en que consiste la teoría de perturbaciones antisimetrizada.

El tratamiento que mas se ha usado y parece ser el mas adecuado para el puente de hidrógeno es el tratamiento de supersistema. En este tratamiento todos los átomos son incorporados a la misma función de onda. El puente de hidrógeno no es considerado como un enlace químico. La energía del puente se obtiene como la resta de la energía de los monómeros de la energía del sistema.

Un punto en contra de las técnicas de supersistema es que la energía se obtiene como la resta de dos cantidades grandes y algunos métodos tienen un margen de error mayor que la energía del puente de hidrógeno.

Dentro de este tratamiento hay diferentes técnicas de cálculo que se pueden usar. Se clasifican en tres tipos principalmente: métodos ab-initio, teorías semiempíricas de un electrón y teorías semiempíricas de dos electrones. Las tres técnicas intentan encontrar soluciones a la ecuación de Schrödinger que describe a un sistema polieletrónico. La diferencia entre ellas es el grado de aproximación y el método usado para resolverla. En el siguiente capítulo veremos en detalle algunos de los métodos mas comunes.

Hasta la fecha la evidencia que se tiene acerca de la doble transferencia de protón es muy poca y no ha evidencia experimental ni resultados teóricos rigurosos y confiables. Antes de estudiar las implicaciones de un doble pozo de potencial es necesario establecer si existe tal pozo y si lo hay, que forma y profundidad tiene. La teoría de Löwdin no podrá ser evaluada correctamente hasta que no se tenga una evidencia a favor o en contra del doble pozo.

Por otro lado, la adición de tautómeros a la doble hélice como proponen Watson y Crick, depende en gran parte de la diferencia de energías entre las dos formas. Si esta diferencia es muy grande es difícil que las dos formas existan en una configuración estable.

En vista de que existen muchos resultados acerca de la energía de tautomerización obtenidos experimentalmente es interesante tratar de calcular teóricamente esta energía. No sólo permitirá tener una mejor idea de la posibilidad de adición de tautómeros a la doble hélice, sino que permitira evaluar los métodos de cálculo para luego ser usados para un estudio completo de la doble transferencia de protón. Estas ideas en gran parte nos indujeron a realizar el estudio que se presenta en esta tesis acerca de la energía de tautomerización de las bases y del potencial del protón en el par adenina-timina.

Como un preámbulo a los resultados encontrados, en el siguiente capítulo hacemos una descripción somera de los métodos teóricos usados para obtener las energías moleculares.

CAPITULO III

La ecuación que describe a un sistema polielectrónico es la ecuación de Schrödinger

$$H\Psi = E\Psi$$

donde

$$H = -\frac{\hbar^2}{2} \sum_A \frac{\nabla_A^2}{M_A} + \sum_{A \neq B} e^2 \frac{z_A z_B}{r_{AB}} - \frac{\hbar^2}{2m} \sum_p \nabla_p^2 - \sum_{A,p} e^2 \frac{z_A}{r_{Ap}} + e^2 \sum_{p,q} \frac{1}{r_{pq}}$$

es el operador hamiltoniano del sistema, A y B corren sobre los diferentes núcleos y p y q sobre los electrones.

La solución analítica exacta de esta ecuación sólo se conoce para el átomo de hidrógeno y para átomos hidrogenoides. Se puede encontrar la solución exacta para el átomo de hidrógeno pues es posible hacer uso de la técnica de separación de variables para separar una ecuación de tres variables en tres ecuaciones en una variable. Para los átomos hidrogenoides la solución se encuentra tomando en cuenta sólo un electrón en el campo de un núcleo con carga diferente a la del original de manera que el problema se reduce a un problema de dos cuerpos y, otra vez, se pueden separar las variables. Para los otros casos la solución debe de ser expresada de una manera aproximada pues aún no se conocen métodos matemáticos adecuados para resolver esta ecuación. No se ha encontrado una manera exacta de considerar los términos de interacción, V_{ij} . Sin embargo, existen diferentes métodos para encontrar soluciones aproximadas. En este capítulo mencionaremos algunas de ellas así como la manera en que se aplican.

Uno de los métodos más conocidos es la llamada teoría de perturbaciones de Rayleigh-Schrödinger. De inicio se supone que el hamiltoniano del sistema se puede escribir como la suma de dos partes. Una de estas, H_0 , es lo suficientemente simple como para encontrar su solución exacta y la otra parte, H' , lo suficientemente pequeña como para considerarla una perturbación a H_0 .

La suposición de que H' es pequeño sugiere que se puede desarrollar la función perturbada Ψ y su eigenvalor \mathcal{W} en series de un parámetro λ que luego se iguala a 1. Esto es

$$\begin{aligned} H &= H_0 + \lambda H' \\ \Psi &= \Psi_0 + \lambda \Psi_1 + \lambda^2 \Psi_2 + \dots \\ \mathcal{W} &= \mathcal{W}_0 + \lambda \mathcal{W}_1 + \lambda^2 \mathcal{W}_2 + \dots \end{aligned}$$

Si sustituimos estos valores en la ecuación de Schrödinger obtenemos:

$$(H_0 + \lambda H')(\Psi_0 + \lambda \Psi_1 + \dots) = (\mathcal{W}_0 + \lambda \mathcal{W}_1 + \dots)(\Psi_0 + \lambda \Psi_1 + \dots)$$

Puesto que se supone que la ecuación anterior es válida para cualquier valor de λ podemos pedir que el coeficiente de cada potencia de λ sea cero. Obtenemos el sistema de ecuaciones:

$$\begin{aligned} (H_0 - \mathcal{W}_0)\Psi_0 &= 0 \\ (H_0 - \mathcal{W}_0)\Psi_1 &= (\mathcal{W}_1 - H')\Psi_0 \\ &\vdots \end{aligned}$$

La primera de estas ecuaciones nos permite escoger a Ψ_0 como cualquiera de las funciones de onda de la ecuación no perturbada,

$$\Psi_0 = U_m, \quad \mathcal{W}_0 = E_m$$

Además, podemos desarrollar Ψ_1 en términos de las eigenfunciones del hamiltoniano H_0 :

$$\Psi_1 = \sum_k a_k' U_k$$

Para la primera corrección, \mathcal{W}_1 , obtenemos como solución:

$$\begin{aligned} \mathcal{W}_1 &= \langle m | H' | m \rangle \\ a_k' &= \frac{\langle k | H' | m \rangle}{E_m - E_k} \quad k \neq m \end{aligned}$$

Se puede ver que a primer orden el término de corrección es el valor de expectación de la perturbación.

Las correcciones a segundo orden son:

$$\begin{aligned} \mathcal{W}_2 &= \sum_{n \neq m} \frac{|\langle n | H' | m \rangle|^2}{E_m - E_n} \\ a_k'' &= \sum_{n \neq m} \frac{\langle k | H' | n \rangle \langle n | H' | m \rangle}{(E_m - E_k)(E_m - E_n)} - \frac{\langle k | H' | m \rangle \langle m | H' | m \rangle}{(E_m - E_k)^2} \end{aligned}$$

En base a estos resultados podemos escribir la energía del sistema perturbado, hasta segundo orden, como:

$$\mathcal{W} = E_m + \langle m | H' | m \rangle + \sum_{n \neq m} \frac{|\langle n | H' | m \rangle|^2}{E_m - E_n}$$

Consideremos ahora el caso de dos moléculas, la primera con n_1 electrones y la segunda con n_2 electrones. Tomemos como hamiltoniano no perturbado la suma de los hamiltonianos de las

moléculas solas

$$H_0(1,2,\dots,n_1, n_1+1, \dots, n_1+n_2) = H^{(1)}(1, \dots, n_1) + H^{(2)}(n_1+1, \dots, n_1+n_2)$$

Si $\psi_0^{(1)} \psi_0^{(2)}, \dots$ y $\psi_0^{(2)} \psi_0^{(1)}, \dots$ son las eigenfunciones de las moléculas 1 y 2 respectivamente las eigenfunciones del hamiltoniano H_0 son

$$|\psi_0^{(1)} \psi_0^{(2)}\rangle, \dots, |\psi_0^{(1)} \psi_0^{(1)}\rangle, \dots, |\psi_a^{(1)} \psi_0^{(2)}\rangle, \dots, |\psi_a^{(1)} \psi_0^{(1)}\rangle, \dots$$

y los eigenvalores de H_0 son la suma de los eigenvalores de $H^{(1)}$ y $H^{(2)}$

$$E_0^{(1)} + E_0^{(2)}, \dots, E_0^{(1)} + E_0^{(1)}, \dots, E_a^{(1)} + E_0^{(2)}, \dots, E_a^{(1)} + E_0^{(1)}, \dots$$

El potencial de interacción esta dado por

$$V = H - H_0 = H - (H^{(1)} + H^{(2)})$$

y su expresión explicita es

$$V = e^2 \left\{ \sum_{\mu, \nu} \frac{z_\mu z_\nu}{r_{\mu\nu}^{(1)}} - \sum_{\mu, \nu} \frac{z_\mu z_\nu}{r_{\mu\nu}^{(2)}} - \sum_{\mu, \nu} \frac{z_\mu z_\nu}{r_{\mu\nu}^{(12)}} + \sum_{j, k} \frac{1}{r_{jk}^{(12)}} \right\}$$

La energía de interacción, $\Delta E_0 = E_0 - E_0^{(1)} - E_0^{(2)}$, la podemos escribir hasta segundo orden como:

$$\Delta E = \langle \psi_0^{(1)} \psi_0^{(2)} | V | \psi_0^{(1)} \psi_0^{(2)} \rangle + \sum_{a,b} \frac{|\langle \psi_0^{(1)} \psi_0^{(2)} | V | \psi_a^{(1)} \psi_0^{(2)} \rangle|^2}{E_0^{(1)} - E_a^{(1)}}$$

que también se puede escribir de la siguiente manera:

$$\begin{aligned} \Delta E = & \langle \psi_0^{(1)} \psi_0^{(2)} | V | \psi_0^{(1)} \psi_0^{(2)} \rangle - \\ & - \sum_a \frac{|\langle \psi_0^{(1)} \psi_0^{(2)} | V | \psi_a^{(1)} \psi_0^{(2)} \rangle|^2}{E_a^{(1)} - E_0^{(1)}} - \\ & - \sum_b \frac{|\langle \psi_0^{(1)} \psi_0^{(2)} | V | \psi_0^{(1)} \psi_b^{(2)} \rangle|^2}{E_b^{(2)} - E_0^{(2)}} - \\ & - \sum_{a,b} \frac{|\langle \psi_0^{(1)} \psi_0^{(2)} | V | \psi_a^{(1)} \psi_b^{(2)} \rangle|^2}{(E_a^{(1)} + E_b^{(2)}) - (E_0^{(1)} + E_0^{(2)})} \end{aligned}$$

El primer término se puede identificar con la energía electrostática, es el valor de expectación del hamiltoniano perturbativo y representa el promedio de las interacciones electrostáticas entre los electrones. El segundo y tercer término son las energías de polarización de (1) sobre (2) y de (2) sobre (1) respectivamente. Representan la interacción de una molécula con otra que se ha polarizado debido a la presencia de la primera y viceversa. Finalmente, el cuarto término es la energía de dispersión. Este término representa la interacción dipolo inducido-dipolo inducido y varía como r^{-6} . Su nombre se debe a que es el responsable de la dispersión óptica.

El tratamiento de Rayleigh-Schrödinger ha sido utilizado con éxito para moléculas cuando la distancia de separación es grande (mas de 8 Å). A distancias cortas el tratamiento falla (37) pues no toma en cuenta los términos de intercambio que crecen exponencialmente conforme la distancia disminuye. Estos

términos aseguran el buen comportamiento de la energía cerca del mínimo de Van der Waals (36). Se han dado diversas explicaciones para esta falla (37) sin embargo, tampoco son correctas. Claverie (37) demostró que la falla está en la simetría de $H_A + H_B + H_{AB}$ es simétrico con respecto a permutaciones de electrones de A y B mientras que $H_A + H_B$ es simétrico con respecto a permutaciones de los electrones de A entre si y de B entre si. El estado mas bajo de energía que se obtiene no es un estado físico sino uno matemático (37). La teoría de Rayleigh-Schrödinger es inadecuada en esta forma para hacer cálculos moleculares.

Para salvar esta dificultad se ha formulado una teoría de permutaciones antisimetrizada adecuadamente para así considerar la simetría correcta del problema. La idea general es construir una base completa de funciones con la simetría correcta y sobre esta base construir la función de onda. En la teoría de Rayleigh-Schrödinger la base utilizada esta construida a partir de los productos $\Phi_A^A \Phi_B^B$. En la teoría de perturbaciones antisimetrizada la base se construye antisimetrizando estos productos por medio del operador de antisimetrización

$$A = \sum_P (-1)^P P_{AB}$$

donde P representa las permutaciones de electrones de A y B. La base nueva queda formada por los elementos $A(\Phi_A^A \Phi_B^B)$. Llamemos a esta base $\{\psi_i\}$. La matriz H tiene por elementos, en esta base,

$$H_{ij} = \langle \psi_i | H | \psi_j \rangle$$

y la matriz S de superposición tiene por elementos a

$$S_{ij} = \langle \psi_i | S | \psi_j \rangle$$

Además, cualquier función Ψ puede ser expresada como una combinación lineal de los elementos de la base:

$$\Psi = \sum_k c_k \psi_k$$

A cada desarrollo le asociamos un vector columna

$$c = \begin{bmatrix} c_1 \\ \vdots \\ c_k \\ \vdots \\ c_n \end{bmatrix}$$

formado por los coeficientes del desarrollo, queda entonces el problema reducido al cálculo de valores propios de un hamiltoniano:

$$(H - ES)c = 0$$

con la condición adicional (38)

$$c^+ S c \neq 0$$

para evitar soluciones que corresponden a la función nula.

Si introducimos una matriz no perturbada H_0 y una matriz de perturbación V el problema se puede escribir de una manera similar a la empleada en la teoría de Rayleigh-Schrödinger.

$$(H_0 - \lambda V - E_0) \psi = 0$$

donde λ es el parametro de perturbación. En base a esta expresión podemos obtener una serie de ecuaciones similares a las obtenidas en la teoría de Rayleigh-Schrödinger. Bajo ciertas condiciones este problema tiene solución (37), para el caso que nos interesa, las interacciones moleculares, las expresiones para la energía son las siguientes (37):

$$E^{(0)} = \frac{H_{00}}{S_{00}} = \frac{\langle \psi_0 | H | \psi_0 \rangle}{\langle \psi_0 | \psi_0 \rangle} = E_0$$

$$E^{(1)} = \frac{V_{00}}{S_{00}} = 0$$

$$E^{(2)} = -\frac{1}{S_{00}} \sum_{k \neq 0} \frac{|H_{0k} - E_0 S_{0k}|^2}{H_{kk} - E_0 S_{kk}}$$

La función de onda a orden cero se ha escogido como

$$\psi_0 = \frac{A}{\sqrt{N_{AB}}} (\phi_0^A \phi_0^B)$$

donde N_{AB} es el número total de electrones y aparece para garantizar la normalización de ψ_0 .

La energía a orden cero se puede escribir como

$$E^{(0)} = \frac{\langle A \phi_0^A \phi_0^B | H | A \phi_0^A \phi_0^B \rangle}{\langle A \phi_0^A \phi_0^B | A \phi_0^A \phi_0^B \rangle}$$

y usando el hecho de que A y H conmutan

$$E^{(0)} = \frac{\langle \phi_0^A \phi_0^B | A^2 H | \phi_0^A \phi_0^B \rangle}{\langle A \phi_0^A \phi_0^B | A \phi_0^A \phi_0^B \rangle} = \frac{\langle \phi_0^A \phi_0^B | A^2 (H_0 + V) | \phi_0^A \phi_0^B \rangle}{\langle A \phi_0^A \phi_0^B | A \phi_0^A \phi_0^B \rangle}$$

$$= \frac{\langle \phi_0^A \phi_0^B | A^2 H_0 | \phi_0^A \phi_0^B \rangle}{\langle A \phi_0^A \phi_0^B | A \phi_0^A \phi_0^B \rangle} + \frac{\langle A \phi_0^A \phi_0^B | V | A \phi_0^A \phi_0^B \rangle}{\langle A \phi_0^A \phi_0^B | A \phi_0^A \phi_0^B \rangle} = (E_0^A + E_0^B) + \frac{\langle \psi_0 | V | \psi_0 \rangle}{\langle \psi_0 | \psi_0 \rangle}$$

La energía de interacción del sistema queda como:

$$\Delta E^{INT} = \frac{\langle \psi_0 | V | \psi_0 \rangle}{\langle \psi_0 | \psi_0 \rangle} + \sum_{r > 0} E^{(r)}$$

Veamos ahora como se comportan los diferentes términos de la energía de interacción. Para esto usemos el hecho de que A es un operador idempotente, es decir, $A^2 = A$ y que

$$A = I + \sum_{P \neq I} (-1)^P P_{AB}$$

La energía de interacción a orden cero queda como

$$E_{INT}^{(0)} = \frac{\langle \phi_0^A \phi_0^B | V | \phi_0^A \phi_0^B \rangle + \sum_{P \neq I} (-1)^P \langle P_{AB} \phi_0^A \phi_0^B | V | P_{AB} \phi_0^A \phi_0^B \rangle}{\langle \phi_0^A \phi_0^B | \phi_0^A \phi_0^B \rangle + \sum_{P \neq I} (-1)^P \langle P_{AB} \phi_0^A \phi_0^B | \phi_0^A \phi_0^B \rangle}$$

Si ϕ_0^A y ϕ_0^B están normalizados, $\phi_0^A \phi_0^B$ también lo está, además los términos $\langle P_{AB} \phi_0^A \phi_0^B | \phi_0^A \phi_0^B \rangle$ que representan la superposición entre los orbitales son pequeños y menores que 1 por lo que

$$E_{INT}^{(0)} = \langle \phi_0^A \phi_0^B | V | \phi_0^A \phi_0^B \rangle + \sum_{P \neq I} (-1)^P \langle P_{AB} \phi_0^A \phi_0^B | V | \phi_0^A \phi_0^B \rangle - \langle \phi_0^A \phi_0^B | V | \phi_0^A \phi_0^B \rangle \sum_{P \neq I} (-1)^P \langle P_{AB} \phi_0^A \phi_0^B | \phi_0^A \phi_0^B \rangle +$$

↑ términos de orden superior para el intercambio entre A y B.

El primer término de esta expresión es igual al término electrostático del tratamiento de Rayleigh-Schrödinger. Los demás términos contienen a P_{AB} e involucran un electrón de A y uno de B. Puesto que las funciones $\phi_A^0 \phi_B^0$ decrecen exponencialmente con la distancia estos términos son de orden e^{-R} . A grandes distancias son despreciables pero no lo son a distancias cortas y aseguran el buen comportamiento repulsivo entre los dos sistemas.

De manera similar podemos desarrollar $\epsilon_{int}^{(2)}$ y obtener

$$\epsilon_{int}^{(2)} = \sum_k \frac{|\langle \phi_A^0 \phi_B^0 | V | \phi_A^k \phi_B^k \rangle|^2}{(\epsilon_{AB}^0 - \epsilon_{AB}^k)^2} (1 + \text{Términos que tienden a 0 cuando } R \rightarrow \infty)$$

Otra vez, el primer término corresponde a la teoría de Rayleigh-Schrödinger mientras que los demás aseguran el comportamiento a distancias cortas.

La teoría de perturbaciones ha sido utilizada con éxito para moléculas pequeñas. Sin embargo, para moléculas grandes es muy difícil hacer cálculos perturbativos pues estos pueden ser extremadamente largos y es necesario irse a niveles de perturbación altos para obtener un buen resultado. Debido a esto se han desarrollado otro tipo de métodos que son más adecuados para sistemas grandes aunque no sean tan precisos como los perturbativos.

Entre los métodos no perturbativos se encuentra el método del campo autoconsistente o de Hartree-Fock. Este método está basado en un principio general conocido como el principio variacional.

El principio variacional ha dado lugar a la creación de un método del mismo nombre. El método variacional consiste básicamente en minimizar la energía utilizando el método de los multiplicadores de Lagrange con la restricción de que la carga electrónica debe conservarse. De todos los parámetros físicos se escoge la energía para realizar la minimización pues es sabido que los sistemas siempre tienden a su estado más bajo de energía, no así otros parámetros que pueden tomar cualquier valor.

El problema se puede considerar como el de encontrar las funciones ψ y ψ^* sujetas a la restricción $\int \psi^* \psi d\tau = 1$, que es equivalente a pedir la conservación de la carga, tales que minimicen la función

$$\int \psi^* H \psi d\tau = \langle H \rangle$$

El resultado es la desigualdad

$$E_0 \leq \frac{\langle H \rangle}{\int \psi^* \psi d\tau}$$

donde E_0 es el estado más bajo de energía. Esta desigualdad constituye el principio variacional. De esta manera sabemos que cualquier energía que calculemos será siempre mayor o igual que la energía del estado más bajo. Puesto que la minimización

la hicimos en base a la energía no se puede esperar que otros parámetros físicos también se optimicen.

El hamiltoniano total de un sistema polielectrónico puede escribirse como la suma de dos partes, una nuclear y una electrónica

$$H_N = -\frac{\hbar^2}{2} \sum_A \frac{\nabla_A^2}{M_A} + \sum_{A < B} e^2 \frac{z_A z_B}{r_{AB}}$$

$$H_{eL} = -\frac{\hbar^2}{2m} \sum_P \nabla_P^2 - \sum_{A,P} e^2 \frac{z_A}{r_{AP}} + \sum_{P,Q} \frac{e^2}{r_{PQ}}$$

La parte nuclear contiene los términos de repulsión entre los núcleos y la energía cinética de los núcleos. Se puede considerar que los núcleos están quietos ya que estos son mucho más pesados que los electrones, por lo que su energía cinética es cero y la repulsión entre ellos es un término constante. Dentro de esta aproximación la energía del sistema se escribe como

$$E = E_{eL} + \sum_{A < B} e^2 \frac{z_A z_B}{r_{AB}}$$

donde E_{eL} es la energía electrónica. Esta aproximación es conocida como de Born-Oppenheimer y dentro de este contexto sólo queda por resolver la parte electrónica.

A su vez, el hamiltoniano electrónico puede ser escrito como la suma de dos partes:

$$H_{eL} = H_1 + H_2$$

donde

$$H_1 = \sum_P H^C(P)$$

con

$$H^C(P) = -\frac{\hbar^2}{2m} \nabla_P^2 - \sum_A \frac{z_A}{r_{PA}}$$

y

$$H_2 = \sum_{P < Q} \frac{e^2}{r_{PQ}}$$

La parte $H^C(P)$ corresponde al hamiltoniano de un electrón en el campo de los núcleos solos, mientras que H_2 representa la interacción entre los electrones.

Para hacer uso del principio variacional necesitamos calcular el valor de $\langle \Psi | H | \Psi \rangle$ para luego poder hacer una variación sobre este. El valor de expectación de H se puede escribir como:

$$\langle \Psi | H | \Psi \rangle = \langle \Psi | H_1 | \Psi \rangle + \langle \Psi | H_2 | \Psi \rangle$$

Para el primer término de la derecha

$$\langle \Psi | H_1 | \Psi \rangle = \sum_P \langle \Psi | H^C(P) | \Psi \rangle$$

Como los electrones son partículas indistinguibles el valor promedio de $H^C(P)$ debe de ser el mismo para todos los $2n$ electrones. Entonces, sólo consideramos $H^C(1)$ y podemos escribir

$$\langle \Psi | H | \Psi \rangle = 2n \langle \psi | H^c(i) | \psi \rangle$$

Hasta aquí no hemos hecho ninguna suposición acerca de la forma de la función de onda. El método del campo autoconsistente, desarrollado por D.R. Hartree, consiste en considerar que cada electrón se mueve dentro de un campo promedio creado por el núcleo y los otros electrones. No considera la correlación electrón-electrón. En esta aproximación, la función de onda se escribe como

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{(2n)!}} \sum (-1)^p P \{ \psi_1(z_1) \alpha(z_1) \dots \psi_n(z_n) \beta(z_n) \}$$

Para tomar en cuenta el principio de exclusión de Pauli se hace la suma sobre las permutaciones y se incluye el espín. Cada función $\psi_i(z)$ se calcula resolviendo la ecuación de Schrödinger para ese electrón en el campo creado por los demás electrones, considerados como quietos, y el núcleo. El método del campo autoconsistente tiene la desventaja de que no incluye la correlación entre los electrones, por ejemplo, la variación que sufre un electrón cuando otro se ha movido.

Para incluir la correlación entre los electrones se toman en cuenta las diferentes configuraciones en las que se puede encontrar al sistema. Esto se hace describiendo la función de onda del sistema como la combinación de funciones de onda correspondientes a las diferentes configuraciones. Este método es conocido como interacción de configuraciones y permite mejorar las funciones de onda en los cálculos de campo autoconsistente.

El valor de expectación de H , se puede calcular tomando como funciones de onda las del campo autoconsistentes arriba mencionadas obteniéndose

$$\langle \Psi | H | \Psi \rangle = \frac{1}{(2n)!} \sum_{P, P'} (-1)^{P+P'} \int \dots \int P \{ \psi_1(z_1) \alpha(z_1) \dots \psi_n(z_n) \beta(z_n) \} H^c(i) P' \{ \psi_1(z_1) \alpha(z_1) \dots \psi_n(z_n) \beta(z_n) \} dz_1 \dots dz_{2n}$$

Las integrales serán cero para cualquier par de permutaciones P y P' a menos que esta sean idénticas. Sólo quedan entonces las integrales con P y P' iguales

$$\langle \Psi | H | \Psi \rangle = \frac{1}{(2n)!} \sum_P \int \dots \int P \{ \psi_1(z_1) \alpha(z_1) \dots \} H^c(i) P \{ \psi_1(z_1) \alpha(z_1) \dots \} dz_1 \dots dz_{2n}$$

La integración sobre $2, \dots, 2n$ da 1 por lo que la expresión da una suma de integrales de un electrón sobre las coordenadas espaciales y de espín del electrón i . Como $H^c(i)$ es independiente del espín la integración sobre el espín da 1 y el resultado final es

$$\langle \Psi | H | \Psi \rangle = 2 \sum_i H_{ii}$$

donde H_{ii} es el valor de expectación del hamiltoniano nuclear de un electrón correspondiente al orbital ψ_i :

$$H_{ii} = \int \psi_i^* H^c \psi_i dz_i$$

y el 2 se debe a que hay 2 electrones en cada orbital molecular.

Para encontrar el valor de expectación de H_2 se procede de una manera similar y se obtiene que

$$\langle \Psi | H_2 | \Psi \rangle = \frac{1}{2} (2n)(2n-1) \langle \Psi | r_{12}^{-1} | \Psi \rangle$$

donde no aparece el término e^2 pues tomamos un sistema de unidades donde e , h y m valen 1. Haciendo uso de la expresión para Ψ

$$\langle \Psi | H_2 | \Psi \rangle = \frac{1}{2(2n-2)!} \sum_{P, P'} (-1)^P (-1)^{P'} \dots \int P \{ \psi_i^{(1)} \alpha^{(1)} \dots \} r_{12}^{-1} P' \{ \psi_i^{(1)} \alpha^{(1)} \dots \} d\tau_1 \dots d\tau_m$$

Otra vez, la ortonormalidad de los orbitales moleculares hace que las integrales sean cero a menos que P y P' sean iguales en todos los términos excepto en las funciones de espín de los electrones 1 y 2. Si P y P' son iguales habrá $(2n-2)!$ permutaciones para cada configuración de los electrones 1 y 2 de las funciones de espín. Esto cancela el factor $(2n-2)!$ en la ecuación anterior. Si los electrones 1 y 2 tienen asignados diferentes orbitales moleculares espaciales ambos pueden tener como función de espín α o β y habrá cuatro contribuciones cada una igual a $1/2 J_{ij}$ donde

$$J_{ij} = \iint \psi_i^*(z_1) \psi_j^*(z_2) r_{12}^{-1} \psi_i(z_1) \psi_j(z_2) dz_1 dz_2$$

Si los electrones están asignados al mismo orbital molecular ψ_i , tienen que tener espín diferente y sólo quedan dos términos iguales a $1/2 J_{ii}$.

Si P y P' difieren en el intercambio de 1 y 2 se obtiene que sólo contribuyen dos términos, iguales a $-1/2 K_{ij}$ donde

$$K_{ij} = \iint \psi_i^*(z_1) \psi_j^*(z_2) r_{12}^{-1} \psi_j(z_1) \psi_i(z_2) dz_1 dz_2$$

y el signo menos aparece ya que P y P' tienen diferente paridad pues P' se puede obtener a partir de P con una permutación más.

La energía electrónica da, finalmente

$$E_{el} = 2 \sum_i H_{ii} + \sum_i J_{ii} + \sum_{i < j} (2J_{ij} - K_{ij})$$

y como $K_{ii} = J_{ii}$

$$E_{el} = 2 \sum_i H_{ii} + \sum_{i < j} (2J_{ij} - K_{ij})$$

Las integrales J_{ij} y K_{ij} se llaman integrales de Coulomb y de intercambio respectivamente. Las integrales de Coulomb representan la interacción electrostática entre orbitales mientras que las de intercambio representan la corrección a la energía electrostática por el principio de Pauli debido a que electrones de diferente espín tienden a juntarse mientras que los de espín igual tienden a separarse.

Con estos resultados para $\langle \Psi | H | \Psi \rangle$ podemos hacer uso del principio variacional para tratar de minimizar la energía. Se tiene que minimizar la función

$$Q = E - 2 \sum_{i < j} \epsilon_{ij} S_{ij}$$

donde las ϵ_{ij} son los multiplicadores de Lagrange, aun indeterminados. Un mínimo de la función se obtiene para $\delta Q = 0$ que es equivalente a

$$2 \sum_i \delta H_{ii} + \sum_{i,j} (2\delta J_{ij} - \delta K_{ij}) - 2 \sum_{i,j} \epsilon_{ij} \delta S_{ij} = 0$$

donde

$$\delta H_{ii} = \int \delta \psi_i^*(z) H^e(z) \psi_i(z) dz + \text{complejo conjugado}$$

$$\delta J_{ij} = \int \delta \psi_i^*(z) J_j(z) \psi_j(z) dz + \int \delta \psi_j^*(z) J_i(z) \psi_i(z) dz + \text{complejo conjugado}$$

$$\delta K_{ij} = \int \delta \psi_i^*(z) K_j(z) \psi_j(z) dz + \int \delta \psi_j^*(z) K_i(z) \psi_i(z) dz + \text{complejo conjugado}$$

$$\delta S_{ij} = \int \delta \psi_i^*(z) \psi_j(z) dz + \text{complejo conjugado}$$

$$J_j(z) = \int \psi_j^*(z_2) r_{12}^{-1} \psi_j(z_2) dz_2$$

y el operador K_j cumple con la propiedad

$$K_j(z) \psi_j(z) = \left[\int \psi_j^*(z_2) r_{12}^{-1} \psi_j(z_2) dz_2 \right] \psi_j(z)$$

Como los orbitales y su conjugado varían independientemente nos podemos restringir a funciones y variaciones reales. Entonces

$$\delta G = 2 \sum_i \int \delta \psi_i^* \left[H^e \psi_i + \sum_j (2J_j - K_j) \psi_j - \sum_j \epsilon_{ij} \psi_j \right] dz_i = 0$$

La variación de Ψ es arbitraria por lo que la ecuación anterior se satisface si el término entre paréntesis es cero para toda i . Queda entonces un sistema de ecuaciones diferenciales

$$\left[H^e \psi_i + \sum_j (2J_j - K_j) \psi_j \right] = \sum_j \epsilon_{ij} \psi_j \quad i=1, \dots, n$$

La expresión dentro del paréntesis en la ecuación anterior se conoce como hamiltoniano de Fock, \mathbb{F} , las ecuaciones anteriores se escriben usando este operador como

$$\mathbb{F} \psi_i = \sum_j \epsilon_{ij} \psi_j \quad i=1, \dots, n$$

Se puede encontrar una transformación unitaria tal que la matriz de multiplicadores de Lagrange, \mathbb{E} , quede en forma diagonal, es decir

$$\mathbb{F} \psi_i = \epsilon_i \psi_i \quad i=1, \dots, n$$

Estas ecuaciones son conocidas como ecuaciones de Hartree-Fock. Para resolverlas se utiliza un proceso iterativo. Se propone una función de prueba por medio de la cual se calculan los operadores J y K y con estos operadores se construye el operador de Fock. Se obtienen nuevas funciones que sean solución a las ecuaciones de Hartree-Fock que a su vez permiten el cálculo de J y K . Se continúa el proceso hasta que las energías no varíen o varíen en menos de un cierto valor.

En los desarrollos anteriores hemos supuesto que las funciones de onda de los sistemas no perturbados o los orbitales moleculares son conocidos. Sin embargo, esto no siempre es

cierto. Es por esto que se han desarrollado técnicas, también aproximadas, para construir funciones de onda. El método que mejores resultados ha dado es el de orbitales atómicos. Las funciones de onda se construyen como combinación lineal de orbitales atómicos y por esto se conoce el método como LCAO (linear combination of atomic orbitals).

Usando esta técnica podemos encontrar las expresiones para las ecuaciones de Hartree-Fock. Los orbitales moleculares los podemos expresar como una combinación lineal de orbitales atómicos, ϕ_μ , es decir

$$\psi_i = \sum_{\mu} c_{\mu i} \phi_{\mu}$$

la condición de ortonormalidad para los orbitales moleculares queda como

$$\sum_{\mu\nu} c_{\mu i}^* c_{\nu j} S_{\mu\nu} = \delta_{ij}$$

donde

$$S_{\mu\nu} = \int \phi_{\mu}^*(z) \phi_{\nu}(z) dz$$

No describiremos aquí los pasos que se siguen para encontrar las ecuaciones de Hartree-Fock con orbitales atómicos, solamente mencionaremos los resultados que se obtienen para H_{ij} , J_{ij} y K_{ij} .

$$H_{ij} = \sum_{\mu\nu} c_{\mu i}^* c_{\nu j} H_{\mu\nu}$$

con

$$H_{\mu\nu} = \int \phi_{\mu}(z) H^e \phi_{\nu}(z) dz$$

Además

$$J_{ij} = \sum_{\mu\nu\lambda\sigma} c_{\mu i}^* c_{\lambda j}^* c_{\nu i} c_{\sigma j} (\mu\nu|\lambda\sigma)$$

y

$$K_{ij} = \sum_{\mu\nu\lambda\sigma} c_{\mu i}^* c_{\lambda j}^* c_{\nu i} c_{\sigma j} (\mu\lambda|\nu\sigma)$$

donde

$$(\mu\nu|\lambda\sigma) = \iint \phi_{\mu}(z) \phi_{\nu}(z) r_{12}^{-1} \phi_{\lambda}(z) \phi_{\sigma}(z) dz_1 dz_2$$

Con estos resultados la energía electrónica queda de la siguiente forma:

$$E = \sum_{\mu\nu} P_{\mu\nu} H_{\mu\nu} + \frac{1}{2} \sum_{\mu\lambda\nu\sigma} P_{\mu\nu} P_{\lambda\sigma} [(\mu\nu|\lambda\sigma) - \frac{1}{2} (\mu\lambda|\nu\sigma)]$$

donde

$$P_{\mu\nu} = 2 \sum_i c_{\mu i}^* c_{\nu i}$$

Igual que en el método de Hartree-Fock minimizamos E y obtenemos un conjunto de ecuaciones conocidas como ecuaciones de Roothan

$$\sum_{\nu} (F_{\mu\nu} - \epsilon_i S_{\mu\nu}) c_{\nu i} = 0$$

donde

$$F_{\mu\nu} = H_{\mu\nu} + \sum_{\lambda\sigma} P_{\lambda\sigma} [(\mu\nu|\lambda\sigma) - \frac{1}{2} (\mu\lambda|\nu\sigma)]$$

Estas ecuaciones difieren de las de Hartree-Fock en que son ecuaciones algebraicas, no diferenciales. Como las $F_{\mu\nu}$ son funciones cuadráticas en $S_{\mu\nu}$ las ecuaciones de Roothan son cúbicas y para resolverlas es necesario usar un proceso iterativo.

Con las ecuaciones de Hartree-Fock o de Roothan podemos evaluar la energía de un sistema molecular. El enfoque de estos métodos es conocido como ab-initio pues parten desde construir la función de onda del sistema hasta encontrar la energía. En el caso de moléculas pequeñas los métodos ab-initio pueden ser usados, sin embargo, para sistemas moleculares grandes el cálculo puede ser muy largo e involucrar el cálculo de muchas integrales. Para tratar de simplificar los cálculos se han desarrollado técnicas basadas en las ab-initio pero donde ciertos parametros e integrales se sustituyen por valores fijos. Para seleccionar estos valores se comparan con resultados experimentales. Estas técnicas son conocidas como técnicas semi-empíricas.

Los métodos semi-empíricos se caracterizan por trabajar solamente con los electrones de valencia. De esta manera un gran número de integrales de repulsión no son calculadas. Además, algunos hacen uso de la llamada aproximación de superposición diferencial cero (ZDO por zero differential overlap). En esta aproximación la superposición de funciones representando diferentes orbitales se considera despreciable. El significado físico es inmediato, se considera que los electrones están localizados en sus orbitales y por lo tanto no se mezclan entre sí. Dentro de esta aproximación

$$\langle \mu\nu | \lambda\sigma \rangle = \langle \mu\mu | \lambda\lambda \rangle \delta_{\mu\nu} \delta_{\lambda\sigma}$$

y

$$S_{\mu\nu} = \int \phi_{\mu}^{(i)} \phi_{\nu}^{(i)} d\tau$$

Las integrales

$$H_{\mu\nu} = \int \phi_{\mu}^{(i)} H^c \phi_{\nu}^{(i)} d\tau$$

no son despreciadas pues representan la interacción entre orbitales para formar enlaces. La manera de escoger cuales integrales se desprecian y cuales no está en gran parte basado en la idea química que tenemos de los enlaces.

Han surgido diferentes métodos en los que se utiliza la aproximación ZDO y difieren entre sí en el grado en que esta aproximación es usada. El más conocido es el método creado por Pople, Santry y Segal llamado CNDO por Complete Neglect of Differential Overlap. Debido a que las ecuaciones de Roothan no son invariantes ante rotaciones en la aproximación ZDO en CNDO se introduce la condición adicional de que

$$\langle \mu\mu | \lambda\lambda \rangle = \gamma_{\lambda\sigma} \quad \forall \mu \in A, \forall \lambda \in B$$

para recuperar la invariancia ante rotaciones. Además, se introducen las aproximaciones

$$\langle \mu | V_0 | \mu \rangle = V_{\lambda\sigma}$$

$$\forall \mu, \nu \in A$$

$$\langle \mu | V_0 | \nu \rangle = 0$$

Estas dos últimas aproximaciones representan la interacción de los orbitales de un átomo con el potencial de otro átomo. De

manera somera, expresan que un orbital puede interactuar con otro átomo pero dos orbitales en el mismo átomo no pueden interactuar a través de un tercero.

Con estas aproximaciones los términos $H_{\mu\nu}$ quedan de la forma

$$H_{\mu\mu} = U_{\mu\mu} - \sum_{\alpha \neq A} V_{\alpha\alpha}$$

donde $H_{\mu\nu} = \beta_{AB} S_{\mu\nu}$

$$U_{\mu\mu} = (\mu | -\frac{1}{2} \nabla^2 - V_A | \mu) \quad \mu \in A$$

y

$$\beta_{AB} S_{\mu\nu} = (\mu | -\frac{1}{2} \nabla^2 - V_A - V_B | \nu) \quad \mu \in A \quad \nu \in B$$

El método CNDO se completa asignándole valores a los parámetros $S_{\mu\nu}$, $U_{\mu\mu}$, $V_{\alpha\alpha}$, β_{AB} y β_{AB} . La manera en que se parametriza CNDO puede ser diferente. Para β_{AB} y $V_{\alpha\alpha}$ el valor está dado por

$$\beta_{AB} = \iint S_A^2(r_1) r_{12}^{-1} S_B^2(r_2) dZ_1 dZ_2$$

$$V_{\alpha\alpha} = Z_\alpha \int S_A^2(r_1) r_{1\alpha}^{-1} dZ_1$$

donde S_A es el orbital de valencia S del átomo A .

Para obtener $U_{\mu\mu}$ se compara con los valores experimentales para los potenciales de ionización mientras que el valor de β_{AB} se obtiene en comparación con cálculos ab-initio(39).

El método CNDO ha sido modificado dando por resultado el MNDO (Modified Neglect of Differential Overlap). El MNDO considera las mismas aproximaciones que el CNDO pero no desprecia las integrales de repulsión electrónica entre dos centros. Estas integrales se substituyen por valores semi-empíricos calculados a partir de los momentos multipolares de los átomos. La parametrización también es diferente pues se hace en base a los potenciales de ionización, momentos dipolares, calor de formación y ángulos y distancias de enlace entre los átomos de carbono, nitrógeno, oxígeno e hidrógeno (40).

Otro método aproximado es el conocido como PCILO por Perturbative Configuration Interaction of Localized Orbitals. Este método no utiliza las ecuaciones de Roothan ni las de Hartree-Fock para calcular la energía sino que se vale de la teoría de Rayleigh-Schrödinger. Como su nombre lo indica, los orbitales moleculares son aproximados por combinaciones lineales de orbitales atómicos localizados. Además, usa de la hipótesis ZDO para no tener que calcular todas las integrales. Entre las ventajas de PCILO destacan: los cálculos son muy rápidos pues no es necesario utilizar un proceso iterativo, la función de onda no perturbada toma en cuenta la fórmula química del sistema. La forma práctica en que funciona es, de manera somera, la siguiente:

en base a la información química del sistema se construye una función de onda no perturbada que además considera estados excitados de manera que pueda considerar la correlación entre los electrones. Con esta función se calcula la serie perturbativa de Rayleigh-Schrödinger sin necesidad de hacer iteraciones(36).

Por último, mencionaremos una técnica ab-initio que es empleada en cálculos moleculares. Este método es conocido como de pseudo potenciales. El hamiltoniano total de un sistema atómico puede descomponerse en dos partes: una que sólo contenga interacciones entre electrones del carozo y otra que considera a los electrones de valencia. La idea de hacer esta separación es que los electrones de valencia son los responsables del comportamiento químico del átomo. Toda la contribución del carozo es incorporada dentro de un pseudo potencial analítico cuya forma debe de determinarse. Por un método completamente teórico, J.C. Barthelat (41,42) ha demostrado que los pseudo potenciales se pueden expresar de la forma

$$W_{ps} = -\frac{Z}{r} + \sum_l W_l P_l$$

donde Z es la carga neta debida al núcleo y los electrones del carozo, P_l es el operador de proyección sobre el l -ésimo subespacio de los armónicos esféricos y $W_l(r)$ es una función radial característica de cada átomo y cuya expresión general esta dada por

$$W_l(r) = \sum_i C_i \frac{\exp(-d_i r^{\mu_i})}{r^{\mu_i}}$$

El siguiente paso es encontrar el valor de los parámetros C_i, d_i y μ_i tales que el pseudo potencial reproduzca correctamente el comportamiento del átomo.

Para parametrizar los pseudo potenciales se construyen pseudo orbitales de valencia definidos por las condiciones siguientes

a) Las partes radiales de ϕ_v , el pseudo orbital de valencia, y ψ_v , el orbital verdadero, coincidan a partir de cierto radio de carozo R_c .

b) La parte radial de ϕ_v decrece monotonamente a cero para $r < R_c$

El valor del radio de carozo, R_c , esta determinado por la intersección de la amplitud de probabilidad radial $P(r)=rR(r)$ del orbital de valencia con el orbital de carozo.

Con estos orbitales se encuentran las soluciones a la ecuación

$$H_{ps} \phi_v = \epsilon_v \phi_v.$$

H_{ps} es el pseudo hamiltoniano y es igual a

$$H_{ps} = T + W_{ps} + V_{qv}$$

donde V_{qv} representa la suma de los operadores de Coulomb e in-

tercambio asociados a ϕ_n . Podemos construir una ecuación idéntica a la anterior pero donde en el nuevo pseudo hamiltoniano, H_n' , se incluya la forma explícita de W_n . Las soluciones de esta nueva ecuación son ϕ_n' y ϵ_n' . Como las energías y los orbitales deben de ser idénticos podemos pedir que la norma euclidiana del operador Q , definido por

$$Q = \sum (\epsilon_n' |\phi_n'\rangle \langle \phi_n| - \epsilon_n |\phi_n\rangle \langle \phi_n'|)$$

este muy próxima a cero. Los parámetros se obtienen variando apropiadamente $\|Q\|$ hasta obtener el mínimo deseado.

Una vez que se tienen los pseudo potenciales adecuados se procede a resolver las ecuaciones de Roothan por un proceso iterativo.

Los métodos presentados en este capítulo constituyen los que fueron usados para obtener los resultados que se describen en el siguiente capítulo. Sin embargo, la complejidad con la que funcionan ya en la práctica está muy lejos de lo descrito aquí.

C A P I T U L O I V

Como se discutió anteriormente el ADN es el portador de la información genética, esto ha motivado diversos estudios teóricos a nivel molecular acerca de sus propiedades. También, como ya se vio, las mutaciones puntuales pueden tener consecuencias notorias debido al fenómeno de amplificación biológica. Para explicar el mecanismo de las mutaciones puntuales se han propuesto diversas teorías, entre las que destacan la de Watson y Crick acerca de la adición de bases en su forma tautomerica rara a la hélice y la de Löwdin(24,25) donde se propone que la existencia de un doble pozo de potencial para los protones que forman los puentes de hidrógeno en los pares podría ocasionar que las bases pasaran a su forma tautomérica rara por efecto túnel. Ambas teorías dependen basicamente de la estabilidad relativa de las bases y sus tautómeros.

Debido a que la teoría de Lowdin supone la existencia de un doble pozo de potencial para los puentes de hidrógeno se ha tratado de encontrar teoricamente la forma de este potencial. Ladik (28) y Rein y Harris (27) calcularon el potencial del protón para el par guanina-citosina. En estos cálculos aparece un doble pozo tanto para la transferencia simple como para la doble transferencia acoplada. Sus resultados fueron muy criticados por Clementi et al (26) quienes repitieron el cálculo para la transferencia simple en el mismo par con un método ab-initio y no encontraron un doble pozo de potencial, solamente un punto de inflexión en la curva y a una separación entre las bases mayor que la experimental. Sin embargo, en sus cálculos usaron una base pequeña y no consideraron relajación molecular. Los mismos autores estudiaron el dímero de ácido fórmico como ejemplo de un sistema mas sencillo ligado por puentes de hidrógeno. En este caso es de esperarse que aparezca un doble pozo de potencial para la doble transferencia por la simetría del dímero. Calcularon la doble transferencia acoplada y notaron un doble pozo, sin que llegara a ser simétrico, pues no consideraron relajación molecular.

Del Bene (44) y Del Bene y Kochenour (43) también consideraron la doble transferencia de protón en el dímero de ácido fórmico para tratar de establecer la importancia de la relajación molecular y la dependencia con la base. Encontraron un doble pozo de potencial, simétrico, para la doble transferencia si consideraban relajación molecular además del uso de una base extendida. Scheiner y Kern (57) calcularon la coordenada de reacción para la doble transferencia en ácido fórmico obteniendo que los protones se mueven ligeramente fuera del puente, tendiendo a separarse cuando se aproximan pero sin llegar a separarse mucho como se podría suponer si sólo se considera la repulsión electrostática. Además, encontraron que la optimización de la geometría reduce la barrera de potencial para la doble transferencia. Sin embargo, no aparece un doble pozo para la transferencia simple aun si se optimiza la geometría. Estos resultados en ácido fórmico señalan la necesidad de considerar relajación molecular si se quiere estudiar los pares que forman el ADN.

Hasta ahora, no se ha estudiado los pares de bases considerando optimización de geometría por el esfuerzo computacional que se requiere. Se ha podido establecer que no existe un doble pozo para la transferencia simple de protón. Resultado que es razonable ya que la transferencia simple implicaría la ionización de ambas bases, los potenciales de ionización son altos, del orden de 9 eV para citosina (47), por lo que sería necesario un gasto grande de energía. Por otro lado, los resultados que se tienen acerca de la doble transferencia no son confiables pues además de no considerar relajación molecular corresponden a métodos semiempíricos (45,58).

Como un paso previo al estudio de la doble transferencia se han estudiado los procesos de tautomerización de las bases, los cuales también tienen importancia dentro de la teoría de Watson y Crick de adición de tautómeros del medio a la hélice. En estos estudios se tiene la ventaja de que existen datos experimentales con los cuales comparar (52,53,54,59,60,61) y poder evaluar el modelo teórico. Goddard et al (49) calcularon la energía de tautomerización para timina y obtuvieron un valor de 4 Kcal/mol, aunque no consideraron optimización de la geometría. Czerminski et al (47) optimizaron la geometría de uracil y su tautómero con MINDO/3 y calcularon la energía de tautomerización y el potencial de ionización y el momento dipolar de uracil. Para la energía de tautomerización obtuvieron un valor de 5.1 kcal/mol. Zielinski y Rein (50) también optimizaron la geometría pero con MINDO/2 y obtuvieron que la forma tautomérica es más estable que la forma normal, en contradicción con los resultados experimentales. Sin embargo, en un trabajo posterior, los mismos autores (51) corrigieron esta geometría basándose en la idea química que se tiene de la molécula. Debido a que el valor del ángulo C4-O8-H calculado con MINDO/2 era de 141.7°, fuera completamente del valor esperado, se cambió a un valor de 109.5°

que esta dentro del rango conocido para enlaces de este tipo. Calcularon la energía de tautomerización con un método ab-initio obteniendo un valor de 25.5 kcal/mol. En un trabajo reciente (48), este mismo grupo presentó una optimización de geometría hecha ab-initio y un valor de la energía de tautomerización de 6.6 kcal/mol. Además, calcularon la corrección debido al efecto de solvente por medio del modelo del campo de reacción obteniendo un valor de 1.0 kcal/mol y el término entrópico, el cual calcularon usando las frecuencias vibracionales obtenidas con MINDO/3, resultando de 0.32 kcal/mol. Con estos resultados calcularon la energía libre y la constante de equilibrio. Este último valor cae dentro del rango experimental de 1.5×10^{-2} - 1×10^{-4} (52, 53, 54) lo que sugiere que sus resultados están bastante aproximados al experimento. Esto los lleva a concluir que los modelos teóricos usados son los adecuados para considerar los procesos de tautomerización siempre y cuando se permita relajación molecular en un método ab-initio, siendo una base mínima suficiente.

No es claro si el acuerdo anterior entre los cálculos y los resultados experimentales ha sido fortuito ya que la energía de tautomerización depende mucho del método empleado para calcularla así como de la manera como se optimiza la geometría. Por esta razón, en esta tesis nos avocamos a la tarea de hacer un análisis detallado del uracil y su tautómero con diferentes métodos y geometrías para poder evaluar el modelo teórico usado y tratar de encontrar el enfoque adecuado para el estudio de los procesos de tautomerización y la transferencia de protón en las bases nucleicas.

MÉTODOS.

Optimizamos la geometría por dos métodos diferentes, ambos semi-empíricos. No hicimos una optimización ab-initio pues implica un esfuerzo computacional muy grande y no tenemos ninguna evidencia de que esto sea necesario. Sin embargo, para los cálculos sobre la energía de tautomerización tomamos en cuenta la geometría optimizada ab-initio por Shibata et al. (48) para luego poder hacer comparaciones. La barrera de tautomerización se calculó tanto con técnicas ab-initio como semi-empíricas.

Los dos métodos semi-empíricos usados fueron PCILO y MNDO. En ambos la optimización de la geometría se hace en base a la conformación de mínima energía. El programa MNDO utiliza el método de Fletcher-Powell (55) para optimizar la geometría mientras que con PCILO se optimizó en base a variaciones cíclicas de todos los parámetros hasta que la energía total no variaba en más de 0.01 kcal/mol. La esencia de ambos métodos ya fue discutida en el capítulo anterior.

* El tautómero que es de interés biológico es el 4-hidroxiuracil.

Para calcular la energía de tautomerización usamos los dos programas semi-empíricos anteriores además del programa PSHONDO (adaptación de pseudo potenciales a HONDO por J.P. Daudey*) para cálculos ab-initio. Este último resuelve las ecuaciones de Roothan por un proceso iterativo e incluye pseudo potenciales atómicos de Barthelat et al. (41,42). Además, usamos dos bases diferentes, una base mínima (4G;1) y otra base extendida o 2 ζ (4G;3,1). Así mismo, se calculó el momento dipolar de las moléculas con MNDO y PSHONDO.

RESULTADOS.

Las geometrías de uracil y su 4-hidroxiuracil tautómero optimizadas con los diferentes métodos se reproducen en las figuras IV.1-IV.6. En las tablas IV.1 y IV.2 se presentan los ángulos y distancias de enlace para uracil y se comparan con los valores experimentales reportados, entre paréntesis aparece la desviación porcentual del valor experimental. También se presenta el promedio total de las desviaciones, así como el correspondiente a los átomos pesados, a los hidrógenos y a los átomos que forman el anillo purínico. Como se puede ver, la optimización que se aproxima más a la geometría experimental es la hecha con MNDO tanto para distancias como para ángulos. PCILO parece no predecir correctamente los valores para los átomos ligeros pero en cambio da valores muy buenos para las distancias interatómicas de los átomos que forman el anillo. Los resultados de la optimización ab-initio son pobres en general excepto para algunos valores aislados. La diferencia básica entre las geometrías optimizadas con MNDO y PCILO y la geometría ab-initio se encuentra en el anillo purínico. El ángulo N1-C2-N3 difiere bastante (8°) para la geometría ab-initio de los otros valores, además de que en general todas las distancias interatómicas del anillo son malas. Esto hace que la geometría ab-initio tome una forma peculiar en el anillo, que se aprecia mejor en las figuras.

En las tablas IV.3 y IV.4 se encuentran los ángulos y distancias de enlace para uracil tautómero. En este caso no se tienen datos experimentales con los cuales comparar. Sin embargo, podemos comparar los resultados entre sí y con los resultados para la forma normal. Entre paréntesis aparece la desviación porcentual del valor para uracil. Las diferencias entre los ángulos no son tan grandes entre las diferentes geometrías aunque, otra vez, el anillo purínico es diferente para la geometría ab-initio tanto en ángulos como en distancias. La única diferencia notable, fuera de lo anterior, está en el ángulo C4-O8-H que varía en varios grados entre la geometría de PCILO y la de MNDO.

* J.P. Daudey. Universidad Paul Sabatier, Tolosa, Francia.

Las diferencias básicas entre uracil y su tautómero parecen estar en el anillo purínico. Los ángulos de enlace para los átomos del anillo cambian todos un poco así como las distancias. El único cambio grande es en el O8 que se aleja más del N3, lo que es de esperarse pues la estructura química de las dos moléculas difiere precisamente en este átomo. También, la distancia N3-C4 se acorta para el tautómero pero se debe a que aparece una doble ligadura entre estos átomos que no aparece en la forma normal, es decir, los resultados son los que se esperarían por intuición química.

En las tablas IV.5-IV.8 aparece una comparación de la energía total de las moléculas según el método empleado para calcularla y la geometría usada. Como es de esperarse, tanto MNDO como PCILO predicen la energía más baja para la geometría que optimizaron. Cuando se calcula la energía con PCILO las energías de MNDO son más altas pero en un valor que no es muy diferente para las dos moléculas y algo similar ocurre con la geometría de PCILO al calcularse con MNDO. La geometría ab-initio de uracil tautomérico apareció tanto con PCILO, MNDO y Pseudo potenciales con base extendida como la segunda mejor y en el caso de la base mínima como la mejor. Esto sugiere fuertemente que la optimización ab-initio para uracil tautomérico es buena. Sin embargo, no podemos decir lo mismo de la geometría ab-initio para uracil que consistentemente tiene la energía más alta y con una diferencia notable. Otro resultado interesante es que la geometría de MNDO es la mejor para una base extendida y que con una base chica la energía total no es muy diferente de la energía más baja. Cabe hacer hincapié en que las diferencias en energías totales para las diferentes geometrías se reduce conforme se amplía la base, lo que sugiere que el efecto de la optimización de la geometría se reduce también.

En las tablas IV.9 y IV.10 aparecen los momentos dipolares de uracil y su tautómero predichos por MNDO y PSHONDO. Para uracil se conoce el momento dipolar experimental, que es de 4.16 Debyes (56). No existe un dato similar para uracil tautomérico. El momento dipolar para ambas moléculas calculado con base extendida es mayor que el calculado con MNDO y base mínima. Aunque los valores mismos no tienen relevancia, ya que la función de onda se obtiene minimizando la energía y no implica ninguna mejor aproximación para otras propiedades moleculares. Con base mínima y MNDO los resultados son comparables al valor experimental. Es decir, nuevamente se observa que las propiedades moleculares de las diferentes geometrías son muy parecidas excepto para la geometría ab-initio, la cual está en franco desacuerdo con los datos experimentales.

Las energías de tautomerización aparecen en la Tabla IV.11. El primer punto que llama la atención es que la energía de tautomerización para la geometría ab-initio siempre es negativa, lo cual significa que el tautomero es más estable. Este resultado está en desacuerdo con los resultados experimentales (52). El valor de la energía de tautomerización aumenta al extender la base en los cálculos con PSHONDO, pero tanto para la geometría de PCILO como la de MNDO este valor es muy parecido y aumenta en la misma proporción. Para PCILO la energía es la más cercana al valor que se espera en base a los experimentos y si consideramos el efecto de solvente y el término entrópico predicho por Shibata et al (48). Entanto, MNDO parece predecir muy bajos los valores de la energía de tautomerización. Es interesante notar que en ninguno de los casos presentados aquí se invierte la estabilidad relativa de las moléculas.

Por último, en la Tabla IV.12 se presentan los potenciales de ionización para uracil. Se comparan los resultados con los valores experimentales (56) y con los valores de los cálculos hechos con MINDO/3 (47) y CNDO/2 (65). Los valores no están muy cercanos al valor experimental aunque mejoran conforme aumenta la base y además mantienen el mismo espaciamiento. Los resultados son mejores que los obtenidos con CNDO/2. Con MINDO/3 también se comparan bien pues aunque son sistemáticamente mayores el espaciamiento es muy parecido. Con MNDO sólo se obtiene el primer potencial de ionización, el cual es muy parecido al experimental para PCILO y MNDO.

CONCLUSIONES.

De los métodos para optimizar la geometría el mejor parece ser MNDO si comparamos con los datos experimentales que se tienen hasta ahora. La geometría ab-initio reportada para uracil parece que es errónea pues los resultados que se obtienen para la energía de tautomerización* y la energía total no corresponden a los reportados (47,48,49,50,51). Por esta razón, excluirémos estos resultados de cualquier discusión. En cuanto a la geometría de PCILO, esta no parece ser mala y tiene la ventaja de que sistemáticamente difiere la energía total de la energía más baja obtenida en un valor casi constante. Es decir, la tendencia de cualquier método a favorecer una geometría en particular se presenta tanto para uracil como su tautomero. Por esta razón, las diferencias en las energías totales no se aprecia en la energía de tautomerización. Este resultado es alentador ya que indica que se pueden obtener datos confiables con cualquier método que se utilice para optimizar la geometría.

* Estos resultados obtenidos con una base mínima predicen un valor de 6.6 kcal/mol, mientras que en nuestro cálculo llegan a tomar un valor de -214.5 kcal/mol también para una base mínima.

Con respecto al valor de la energía de tautomerización los resultados son mucho mas críticos. En la Tabla IV.10 se puede ver que dos métodos dan resultados equívocos, CNDO/2 y MINDO/3 ya que predicen que el tautomero es mas estable, en contraposición con el experimento (52). Los resultados de MINDO/3 parecen muy cercanos a los valores obtenidos con MNDO y la geometría de PCILO. Desafortunadamente la geometría optimizada con MINDO/3 no fue reportada pero es de esperarse que sea parecida a la de MNDO. La energía de tautomerización predicha por PCILO se aproxima a la predicha por PSHONDO con base mínima para cualquier geometría, lo que sugiere que los resultados de PCILO son comprables a los resultados de un cálculo ab-initio con base mínima. Los resultados parecen señalar una necesidad de relajar la molécula y una subestimación de MINDO/3 y MNDO de la energía de tautomerización. Para la base extendida los resultados son muy diferentes a los de los otros métodos. Si bien, el valor de la energía sigue dando valores similares no importando el método que se use para optimizar la geometría el valor es mucho mayor. No hay convergencia en los métodos ab-initio al extender la base. Un resultado similar fue obtenido por Del Bene y Koche-nour (43) para el dímero de ácido fórmico que notaron que al extender la base los resultados no convergían aunque se optimizara la geometría con un método ab-initio.

En cuanto a las energías totales, los valores se aproximan al aumentar el cálculo. Así, en el cálculo con base extendida la diferencia de energías no es tan grande como en el cálculo con base mínima además de que se mantiene como mejor geometría la de MNDO para ambas moléculas. En todos los casos se tiene la particularidad de que las diferencias para una misma geometría son similares. En vista de esto, lo mas recomendable parece ser optimizar la geometría con algún método, preferentemente MNDO, y luego hacer un cálculo con una base grande. Parece ser que al aumentar el cálculo deja de ser muy relevante la manera en que se optimiza la geometría siempre y cuando se haga algún tipo de optimización.

Los resultados anteriores con base extendida son diferentes a los resultados predichos por el experimento. La razón de esto puede ser que el efecto de solvente y el término entrópico contribuyan en un modo mayor al calculado por Shibata et al (48). De ser este el caso sería necesario recalcular este término correctamente. Sin embargo, también es posible que el modelo teórico empleado sea inapropiado para este tipo de problemas o que los cálculos con base extendida no sean suficientemente exactos, lo que implicaría irse a niveles de complejidad mas altos y al uso de base mayores. De estas alternativas no podemos decir cual es la correcta en base a los resultados obtenidos, que es alentador que los potenciales de ionización mejoran conforme aumenta el tamaño de la base.

Como ya dijimos, no se puede inferir cual es la energía de tautomerización correcta para uracil, pues los resultados no solamente estan en desacuerdo entre si, sino con los datos experimentales. Para obtener mas evidencia parece ser necesario continuar los estudios teóricos y experimentales. Por el lado teórico vendría tratar de hacer cálculos con bases aun mayores para estudiar una posible convergencia de la energía, tambien considerar geometrías híbridas de los resultados obtenidos. Por ejemplo, usar las distancias para el anillos de PCILO y los demas datos tomarlos de los resultados de MNDO. Otro aspecto que sería interesante estudiar es el comportamiento de sistemas mas pequeños, especialmente para el caso de la doble transferencia. Además, considerar moléculas que no sean simétricas como el dímero de ácido fórmico donde los resultados son facilmente predecibles. En cuanto al aspecto experimental es necesario mejorar la determinación de las constantes de equilibrio así como la geometría. También es importante tratar de obtener datos para uracil tautomerico, del que casi no se sabe nada a nivel experimental.

Por último, cabe señalar que en los cálculos moleculares se considera fase gaseosa y sin interacción con el medio. Este nivel de complejidad esta aun muy alejado del nivel que se presenta dentro de la célula. Como ya se vio en los primeros capítulos de esta tesis los procesos celulares son muy complejos y esta complejidad esta lejos de ser comprendida en muchos casos. Además, los métodos que se conocen hasta ahora para tratar sistemas moleculares necesariamente son aproximados por la complejidad inherente de estos. Los modelos físicos empleados tambien son aproximados por esta misma razón. Sin embargo, parece ser que dentro de este nivel de aproximación las técnicas de la física molecular dan resultados buenos para describir a los sistemas biológicos.

Por medio de los métodos de la física molecular parece que es posible entender algunos mecanismos biológicos que en apariencia son sencillos pero que entrañan una complejidad mayor, como el proceso de adición de tautómeros a la hélice. Este campo de estudio es un campo nuevo donde no sólo se estudian problemas de frontera de biología sino que tambien de física y abre la posibilidad a una interrelación mas cercana entre estas ciencias.

URACIL. ANGULOS DE ENLACE (GRADOS)

ANGULO	PCILO	MNDO	AB-INITIO	EXPERIMENTAL
N1-C2-N3	113.3 (1.8)	113.9 (1.3)	122.8 (6.4)	115.4
C2-N3-C4	129.5 (2.4)	126.0 (0.3)	127.9 (1.2)	126.4
N3-C4-C5	111.9 (2.0)	114.6 (0.4)	112.7 (1.2)	114.1
C4-C5-C6	121.6 (0.7)	121.2 (0.4)	121.3 (0.5)	120.7
N1-C2-O7	124.0 (0.9)	122.0 (0.7)	123.8 (0.7)	122.9
N3-C4-O8	120.1 (0.3)	117.7 (2.3)	120.4 (0.1)	120.5
C2-N1-H	118.8 (0.2)	118.3 (0.6)	116.6 (2.0)	119.0
C5-C6-H	124.7 (4.4)	123.9 (3.8)	121.8 (2.0)	119.4
C6-C5-H	120.4 (0.6)	121.3 (1.3)	121.2 (1.2)	119.7
C4-N3-H	116.0 (0.7)	118.1 (1.1)	116.7 (0.1)	116.8
Promedio total de las desvia- ciones	1.4	1.2	1.5	
Promedio de las desviaciones de los átomos pesados	1.3	0.9	1.7	
Promedio de las desviaciones de los hidrógenos	1.5	1.7	1.3	
Promedio de las desviaciones de los átomos del anillo.	1.7	0.6	2.3	

TABLA IV.1 Angulos de enlace para Uracil. Entre paréntesis aparecen las desviaciones porcentuales del valor experimental. En la parte inferior aparecen los promedios de las desviaciones para los átomos pesados, los hidrógenos, los átomos que forman el anillo purínico y el promedio total.

URACIL. DISTANCIAS DE ENLACE (Å).

ENLACE	PCILO	MNDO	AB-INITIO	EXPERIMENTAL
N1-C2	1.391 (1.2)	1.417 (3.1)	1.427 (3.8)	1.374
C2-N3	1.389 (0.6)	1.406 (1.8)	1.419 (2.7)	1.381
N3-C4	1.400 (1.4)	1.429 (3.5)	1.433 (3.8)	1.380
C4-C5	1.455 (0.8)	1.474 (2.1)	1.493 (3.4)	1.444
C5-C6	1.350 (0.5)	1.359 (1.2)	1.323 (1.5)	1.343
C2-O7	1.279 (4.9)	1.226 (0.6)	1.220 (0.1)	1.219
C4-O8	1.282 (4.0)	1.224 (0.7)	1.221 (1.0)	1.233
N1-H	1.078 (7.8)	1.028 (2.8)	1.019 (1.9)	1.000
C6-H	1.130 (4.6)	1.094 (1.3)	1.086 (0.5)	1.080
C5-H	1.120 (3.7)	1.089 (0.8)	1.072 (0.7)	1.080
N3-H	1.081 (8.1)	1.007 (0.7)	1.020 (2.0)	1.000
Promedio total de las desviaciones	3.4	1.7	1.9	
Promedio de las desviaciones de los átomos pesados	1.9	1.8	2.3	
Promedio de las desviaciones de los hidrógenos	6.0	1.4	1.3	
Promedio de las desviaciones de los átomos del anillo.	0.9	2.3	3.0	

TABLA IV.2. Distancias de enlace para Uracil. Entre paréntesis aparecen las desviaciones porcentuales del valor experimental. En la parte inferior aparecen los promedios de las desviaciones para los átomos pesados, los hidrógenos, los átomos que forman el anillos purínico y el promedio total.

URACIL TAUTOMERICO. ANGULOS DE ENLACE (GRADOS).

ANGULO	PCILO	MNDO	AB-INITIO
N1-C2-N3	117.2 (3.4)	117.6 (3.2)	116.4 (5.2)
C2-N3-C4	127.4 (1.6)	122.0 (3.1)	117.7 (8.0)
N3-C4-C5	115.1 (2.8)	119.4 (4.1)	126.7 (12.4)
C4-C5-C6	119.4 (1.8)	121.0 (0.1)	116.0 (4.3)
N1-C1-O7	122.9 (0.8)	123.4 (1.1)	120.5 (2.6)
N3-C4-O8	121.9 (1.4)	121.6 (3.3)	116.5 (4.3)
C2-N1-H	121.2 (2.0)	120.6 (1.9)	118.1 (1.2)
C5-C6-H	123.6 (0.8)	122.5 (1.1)	122.8 (0.8)
C6-C5-H	121.2 (0.6)	120.0 (1.0)	121.1 (0.1)
C4-O8-H	106.05 --	114.3 --	103.1 --

TABLA IV.3. Angulos de enlace para Uracil tautomérico. Entre paréntesis aparecen las desviaciones porcentuales del valor para uracil calculado con el mismo método de optimización de geometría.

URACIL TAUTOMERICO. DISTANCIAS DE ENLACE (Å)

ENLACE	PCILO	MNDO	AB-INITIO
N1-C2	1.387 (0.2)	1.433 (1.1)	1.440 (0.9)
C2-N3	1.390 (0.1)	1.401 (0.3)	1.446 (1.9)
N3-C4	1.313 (6.2)	1.334 (6.7)	1.305 (8.9)
C4-C5	1.465 (0.6)	1.460 (0.9)	1.466 (2.7)
C5-C6	1.355 (0.3)	1.370 (0.8)	1.339 (1.2)
C2-O7	1.275 (0.3)	1.225 (0.1)	1.223 (0.2)
C4-O8	1.362 (6.2)	1.336 (9.0)	1.389 (13.7)
N1-H	1.080 (0.1)	1.031 (0.2)	1.025 (0.5)
C6-H	1.130 (0.0)	1.093 (0.1)	1.090 (0.2)
C5-H	1.120 (0.0)	1.090 (0.1)	1.081 (1.3)
O8-H	1.050 --	0.952 --	0.994 --

TABLA IV.4. Distancias de enlace para Uracil tautomérico. Entre paréntesis aparecen las desviaciones porcentuales del valor para uracil calculado con el mismo método de optimización de geometría.

ENERGIA TOTAL (KCAL/MOL) CON PCILO.

Geometría optimizada con:	Molécula	
	URACIL	URACIL TAUTOMERICO
PCILO	0	0
MNDO	26.0	23.48
AB-INITIO	94.12	16.07

TABLA IV.5. Energía total de la molécula según el método empleado para optimizar la geometría al calcularse con PCILO. El origen se toma como la energía del conformero de mas baja energía.

ENERGIA TOTAL (KCAL/MOL) CON MNDO

Molécula Geometría	Molécula	
	URACIL	URACIL*
PCILO	12.25	17.45
MNDO	0	0
AB-INITIO	41.15	11.95

TABLA IV.6. Energía total de la molécula según el método empleado para optimizar la geometría al calcularse con MNDO. El origen se toma como la energía del conformero de mas baja energía.

ENERGIA TOTAL (KCAL/MOL) CON PSEUDO
POTENCIALES Y BASE 2 ζ .

Molécula Geometría	URACIL	URACIL*
PCILO	11.8	13.74
MNDO	0	0
AB-INITIO	33.8	0.31

TABLA IV. 8. Energía total de la molécula según el método empleado para optimizar la geometría al calcularse con PSEUDO POTENCIALES y base 2 ζ .

ENERGIA TOTAL (KCAL/MOL) CON PSEUDO
POTENCIALES Y BASE MINIMA

Molécula Geometría	URACIL	URACIL*
PCILO	.0	5.7
MNDO	6.9	9.4
AB-INITIO	223.4	0

TABLA IV.7. Energía total de la molécula según el método empleado para optimizar la geometría al calcularse con PSEUDO POTENCIALES y base mínima.

MOMENTO DIPOLAR (DEBYES) PARA EL URACIL

Método Geometría	MNDO	PSEUDO POTENCIALES (B. MIN.)	PSEUDO POTENCIALES (B. 2 ζ)
PCILO	4.55	4.57	6.02
MNDO	4.12	4.12	5.45
AB-INITIO	3.62	3.95	5.58

TABLA IV.9. Momento dipolar del uracil según el método empleado para optimizar la geometría y el método empleado para calcular el momento dipolar.

MOMENTO DIPOLAR (DEBYES) PARA EL URACIL TAUTOMERICO

Molécula Geometría	MNDO	PSEUDO POTENCIALES (B. MIN)	PSEUDO POTENCIALES (B. 2 ζ)
PCILO	4.98	4.55	6.25
MNDO	4.53	4.42	6.05
AB-INITIO	6.79	4.33	5.89

TABLA IV.10 Momento dipolar del uracil tautomérico según el método empleado para optimizar la geometría y el método empleado para calcular el momento dipolar.

ENERGIA DE TAUTOMERIZACION (KCAL/MOL).

Geometria optimizada con:

Método para calcular la energía.	PCILO	MNDO	AB-INITIO ()	
PCILO	8.06	5.55	-69.9	
MNDO	7.08	1.89	-27.31	
PSHONDO (B.Mín.)	14.60	11.09	-214.65	
PSHONDO (B.Ext.)	24.39	22.39	-11.29	
CNDO/2 (65)	--	--	--	-2.2
MINDO/2 (51)	--	--	--	5.1
MINDO/3 (47)	--	--	--	-14.2
AB-INITIO			6.6	

TABLA IV.11. Energía de tautomerización para Uracil según el método empleado para optimizar la geometría y el método para calcular la energía. En la parte inferior se presentan los resultados de MINDO/2, MINDO/3 y CNDO/2 para comparación.

POTENCIALES DE IONIZACIÓN (eV).

POTENCIAL	1	2	3	4	5
MNDO					
PCILO	9.67	--	--	--	--
MNDO	9.65	--	--	--	--
AB-INITIO	10.0	--	--	--	--
PSHONDO (B.Mín.)					
PCILO	10.81	11.68	12.68	13.40	15.04
MNDO	12.16	12.16	12.90	13.78	15.36
AB-INITIO	10.32	11.88	12.73	12.82	15.47
PSHONDO (B.Ext.)					
PCILO	10.14	11.41	11.90	12.69	14.15
MNDO	9.97	11.66	12.23	13.13	14.22
AB-INITIO	9.79	11.83	11.98	12.91	13.81
MINDO/3 (47)	9.49	10.08	10.51	10.69	12.00
CNDO/2 (65)	11.88	12.90	13.10	--	--
EXPERIMENTAL (56)	9.59	10.11	10.56	10.99	12.60

TABLA IV.12. Potenciales de ionización para Uracil. Se presentan los potenciales calculados con diferentes métodos y según las diferentes formas de optimización de la geometría. En la parte inferior se presentan los resultados reportados experimentalmente así como los calculados con MINDO/3 y CNDO/2.

URACIL, GEOMETRIA OPTIMIZADA CON PCILD

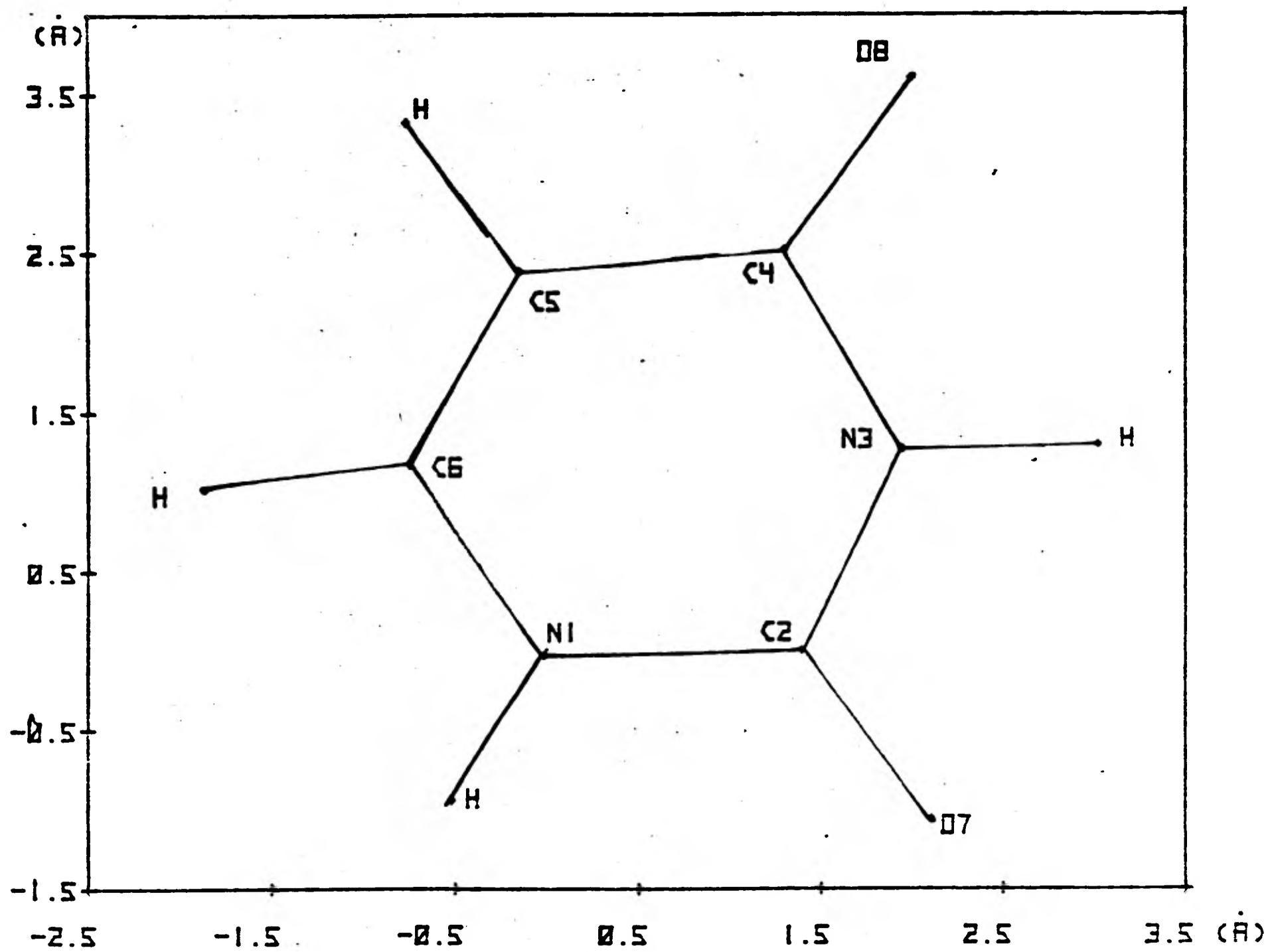


FIGURA IV.1.

URACIL TAUTOMERICO, GEOMETRIA OPTIMIZADA CON PCILD

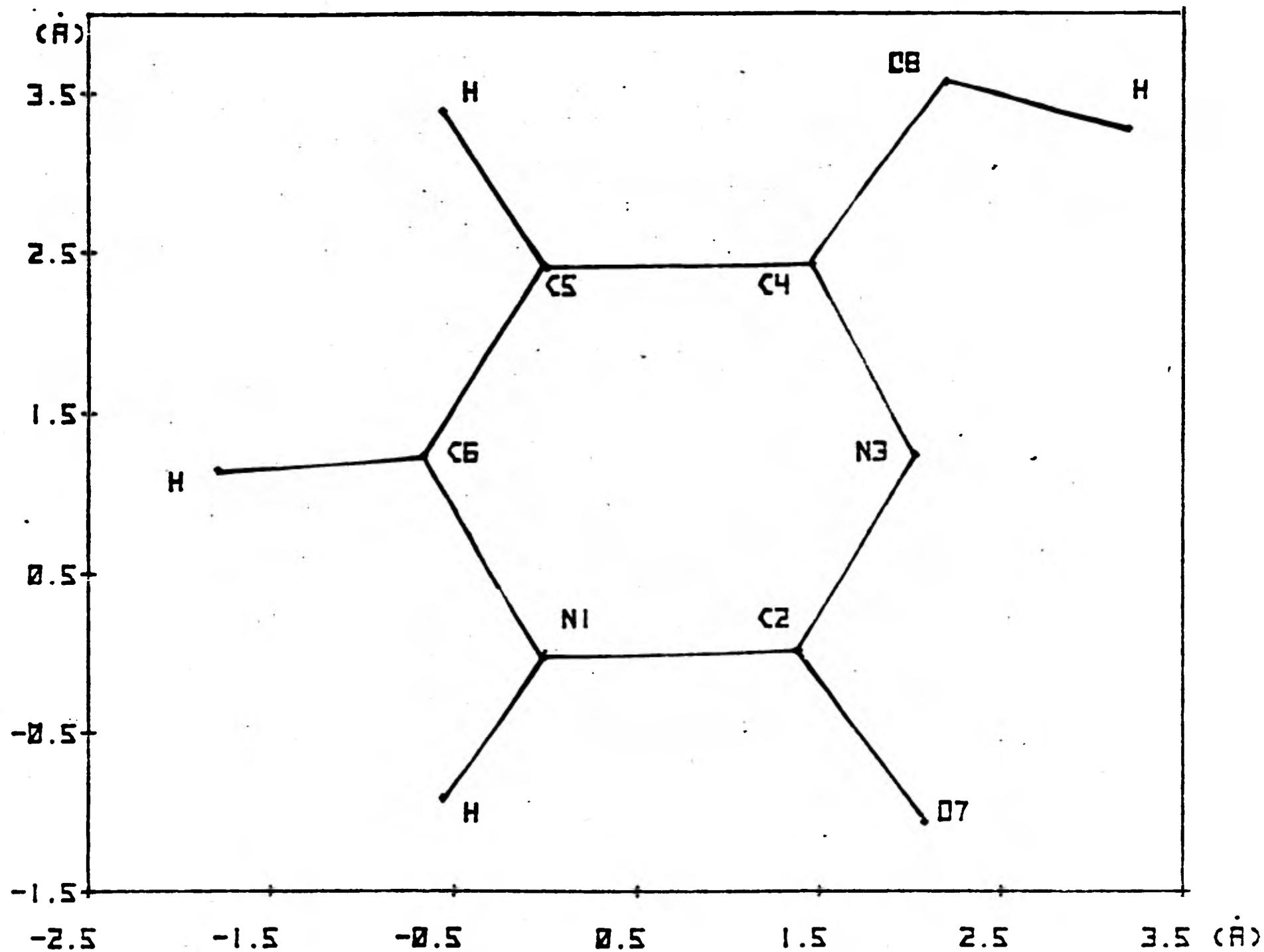


FIGURA IV.2.

URACIL, GEOMETRIA OPTIMIZADA CON MNDO

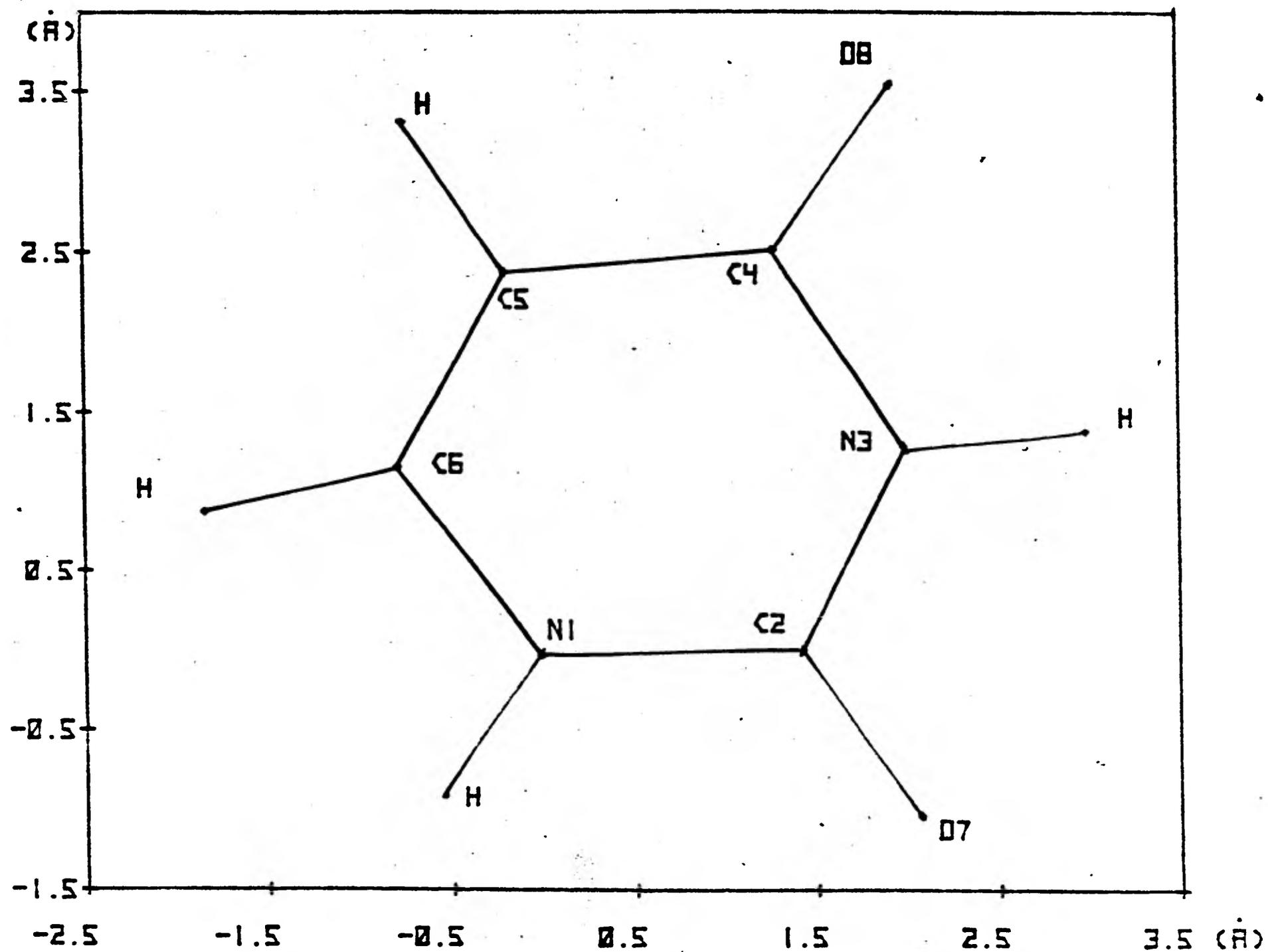


FIGURA IV.3.

URACIL TAUTOMERICO, GEOMETRIA OPTIMIZADA CON MNDO

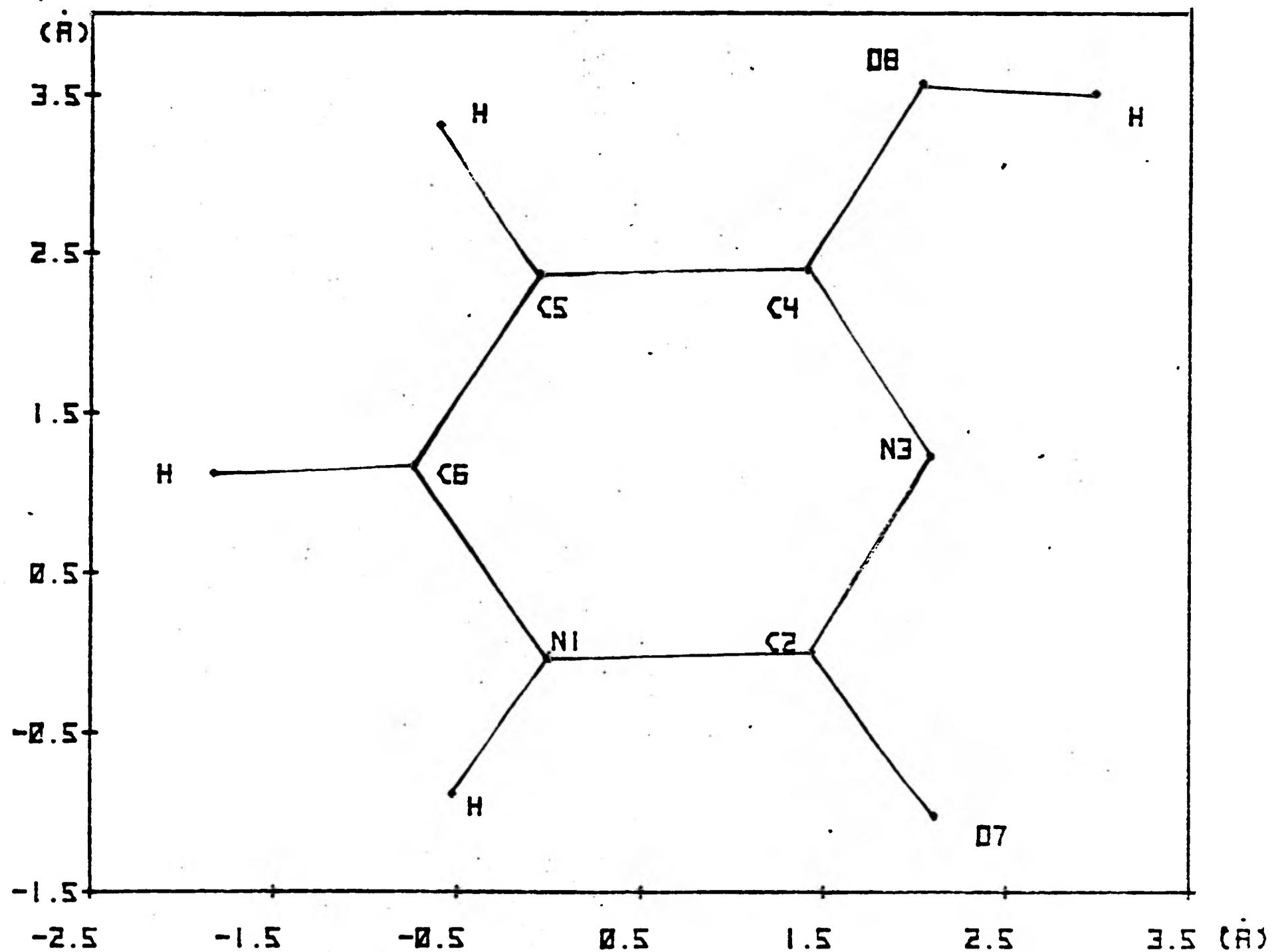


FIGURA IV.5.

URACIL, GEOMETRIA OPTIMIZADA AB-INITIO (BASE STO/3G)

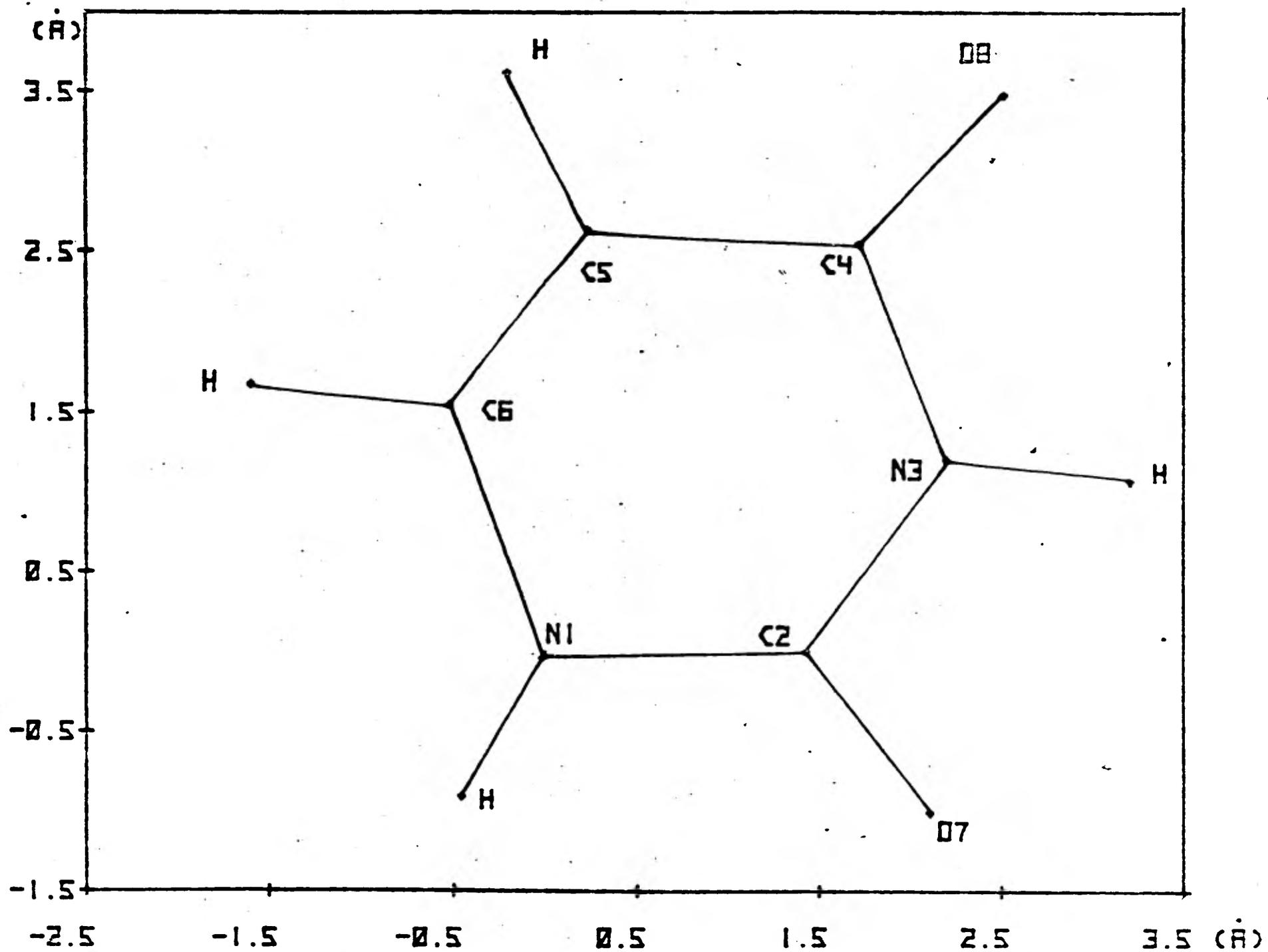


FIGURA IV.5.

URACIL TAUTOMERICO, GEOMETRIA OPTIMIZADA AB-INITIO (BASE STO/3G)

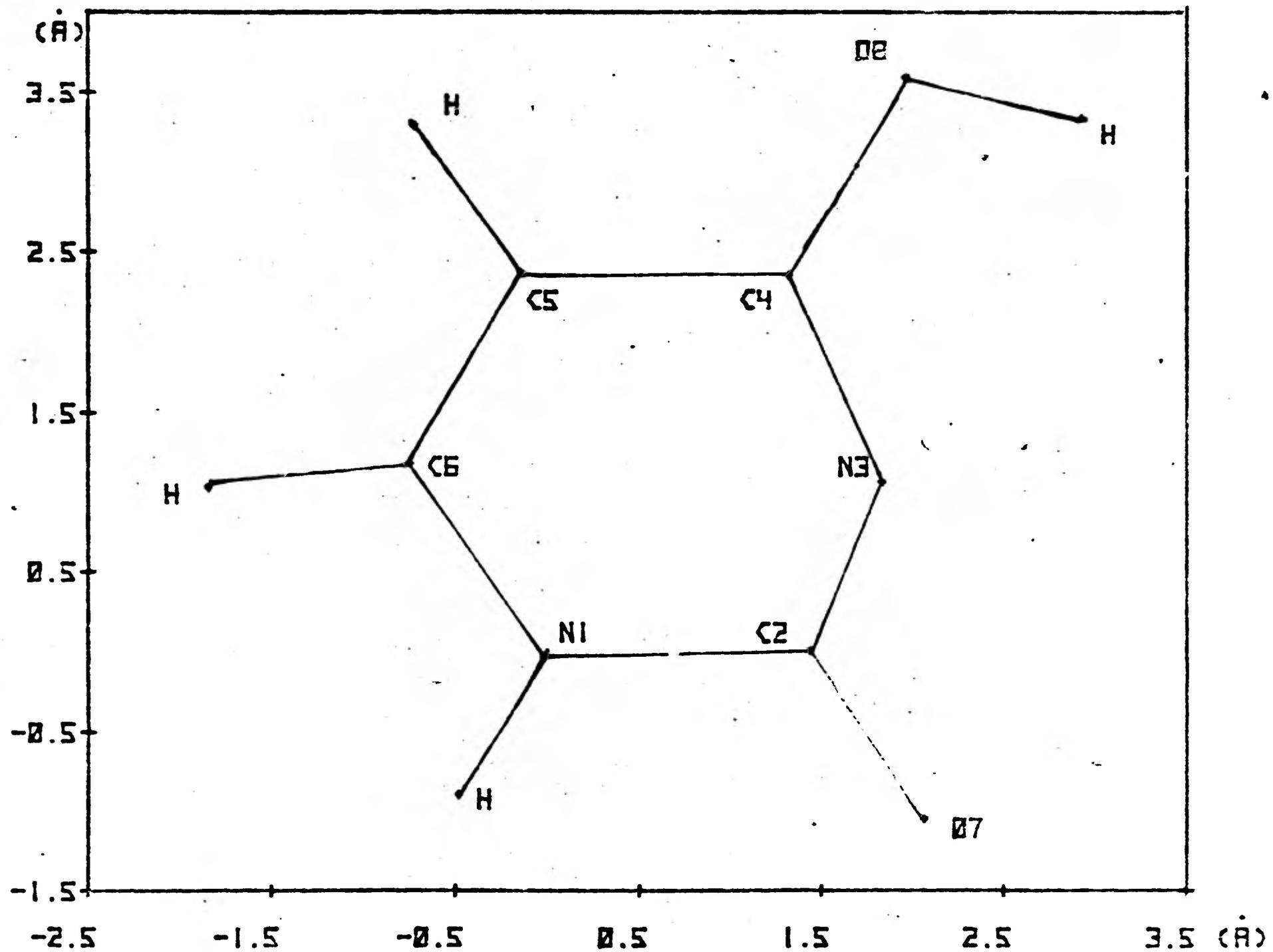


FIGURA IV.3.

R E F E R E N C I A S ,

1. Pullman, A. y B., Prog. Nucl. Acid. Res. Mol. Biol., 9, 257, 1969.
2. Ts'o, P.O.P., en BASIC PRINCIPLES IN NUCLEIC ACID CHEMISTRY, Vol. I, Academic Press, 1974.
3. Ts'o, P.O.P., J. Am. Chem. Soc., 81, 5241, 1963.
4. Ts'o, P.O.P., en MOLECULAR ASSOCIATIONS IN BIOLOGY, (Pullman, B. ed.), Academic Press, 1968.
5. Bugg, C.E., Thomas, J.M., Sunderlingam, M. y Rao, S.T., Biopolymers, 10, 175, 1971.
6. Murrell, H.N., Randig, M. y Williams, D.R., Proc. R. Soc. A284, 566, 1965.
7. Claverie, P., en MOLECULAR ASSOCIATIONS IN BIOLOGY, Academic Press, 1968.
8. Pullman, B., en MOLECULAR ASSOCIATIONS IN BIOLOGY, Academic Press, 1968.
9. Rein, R., Goel, N.S., Fukuda, N., Pollack, M. y Claverie, P., Ann. N.Y. Acad. Sci., 153, 805, 1969.
10. Kudristkaya, Z.G. y Danilov, V.I., J. Theor. Biol., 1974.
11. Polozov, R.V., Poltev, V.I. y Sukhovukov, B.I., J. Theor. Biol., 1974.
12. Fugita, H., Imamura, A. y Nagata, C., J. Theor. Biol., 45, 411, 1974.
13. Rein, R., Claverie, P. y Pollack, M., J. Quant. Chem., 2, 129, 1968.
14. Rein, R., Adv. Quant. Chem., 7, 355, 1973.
15. Ts'o, P.O.P., en NUCLEO HISTONES, (Bonner, J. y Ts'o, P.O.P. eds.) 1964.
16. Claverie, P. y Rein, R., Int. J. Quant. Chem. 3, 537, 1969.
17. Coeckelenbergh, Y., Tesis Doctoral, SUNY, 1976.
18. Pullman, B. et al., THE JERUSALEM SYMPOSIA ON QUANTUM CHEMISTRY, (Bergmann, E. y Pullman, B., eds.), 1969.
19. Rein, R., en INTERMOLECULAR INTERACTIONS: FROM DIATOMICS TO BIOPOLYMERS, (Pullman, B., ed.), John Wiley & Sons, 1978.
20. Rein, R., Coeckelenbergh, Y. y Egan, J.T., Int. J. Quant. Chem. Q.B. Symp. 2, 145, 1975.
21. Pullman, B. y Caillet, J., Ct. R. Acad. Sci. (Paris), 264, 1900, 1967.
22. Sinanoglu, O. y Abdulnor, S., J. Photochem. Photobiol., 3, 333, 1964.
23. Ortega Blake, I., Tesis de Maestria, Oxford University, 1974.
24. Löwdin, P.O., Rev. Mod. Phys., 35, 724, 1963.
25. Löwdin, P.O., Uppsala University, Preprint QB55, 1964.
26. Clamenti, E., Mehl, J. y Von Nissen, W., J. Chem. Phys., 59, 508, 1971.
27. Rein, R. y Harris, F., J. Chem. Phys., 41, 3393.
28. Ladik, J.J., Adv. Quant. Chem., 7, 397, 1973.
29. Kwiatkowski, J.S. y Pullman, B., Adv. Heterocyclic Chem., 18, 199, 1975.
30. Pullman, A. y B., Biochim. Biophys. Acta, 36, 346, 1959.
31. Pullman, A. y B., Adv. Heterocyclic Chem., 13, 177, 1971.
32. Löwdin, P.O., Adv. Quant. Chem. 2, 315, 1965.
33. Pollack, M. y Rein, R., J. Theor. Biol., 19, 241, 1969.
34. Pauling, L., THE NATURE OF THE CHEMICAL BOND, Cornell University Press, 1960.