

Doc.
079
N 44



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA

FORMACION DE ACIDOS POLICARBOXILICOS DE
IMPORTANCIA BIOLOGICA INDUCIDA POR
RADIACION IONIZANTE.

TESIS DOCTORAL

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE
DOCTOR EN CIENCIAS QUIMICAS

P R E S E N T A :

Alicia Negrón Mendoza

1980

M-53471



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Esta tesis fue desarrollada en el Laboratorio de Evolución Química del Departamento de Química de la Universidad de Maryland, bajo la dirección del Dr. Cyril Ponnampuram, a quien agradezco profundamente su valiosa guía.

La realización de este trabajo fue posible gracias a una beca otorgada por CONACYT.

Hago patente mi agradecimiento al Dr. Akira Shimoyama, Dr. Toshiyuki Hobo y Mr. Ramsay Pal, por la colaboración que me prestaron para la elaboración de esta tesis.

Agradezco a la M. en C. Cielita Archundia, por sus comentarios y sugerencias sobre el manuscrito.

R e s u m e n

La evolución química abarca el estudio de la formación de moléculas de relevancia biológica en la era prebiótica. Este proceso es considerado como un preámbulo necesario a los eventos físicos y químicos que originaron la formación de sistemas vivos.

La hipótesis propuesta por Oparin y Haldane es el punto de partida de este estudio. De acuerdo con esta hipótesis, la formación gradual de los compuestos de significancia biológica pudo haber tenido lugar sobre la superficie de la tierra mediante la interacción de los componentes de la --- atmósfera primitiva, sujeta a diferentes fuentes de energía, transformándose en moléculas más complejas. Estos elementos y la generación de sistemas replicantes fueron etapas importantes, que pudieron haber sido una posible vía para la aparición de la vida en la tierra.

En este trabajo se investigó la síntesis de los ácidos dicarboxílicos, que son intermediarios en rutas metabólicas o precursores de moléculas más complejas, usando radiación gamma o luz ultravioleta como fuente de energía.

La radiólisis así como la fotólisis de las soluciones diluídas de ácido acético dieron por resultado entre los productos los ácidos succínico, tricarbálico, cítrico, isocítrico, malónico, y β hidroxí- β metilglutárico. Algunos de ellos son intermediarios en el ciclo de ácidos tricarbóxicos, otros como el ácido malónico juega un papel importante en la bio-

TABLA DE CONTENIDO

CAPITULO	Página
I. LA EVOLUCION QUIMICA Y EL ORIGEN DE LA VIDA...	1
Hipótesis sobre la Evolución Química.....	1
1. Escala de tiempo.....	2
2. Naturaleza de la atmósfera primitiva.....	2
3. Fuentes de energía.....	5
4. Temperatura de la tierra.....	8
5. pH de la hidrosfera primitiva.....	10
6. Experimentos simulados.....	10
7. Formación de biopolímeros.....	11
8. Mecanismos de protección.....	13
II. LA RADIACION IONIZANTE COMO FUENTE DE ENERGIA PARA LA EVOLUCION QUIMICA.....	15
A. Importancia de la radiación ionizante.....	15
B. Distribución de elementos radiactivos sobre la superficie terrestre.....	16
C. Experimentos simulados utilizando radiación ionizante.....	21

CAPITULO	Página
B. Dosis	37
C. Temperatura	38
D. Formación de cetoácidos	38
E. Fotólisis del ácido acético	39
IV. PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES	40
A. Preparación del material de vidrio	40
B. Purificación de los reactivos	40
C. Preparación de las muestras para irradiación	42
D. Procedimiento para la irradiación	42
1. Fuente radiactiva	42
2. Dosis de irradiación	43
E. Análisis	46
1. Ácidos carboxílicos no volátiles	46
a) Esterificación	46
b) Estudios por cromatografía de gases	47
c) Estudios por cromatografía de gases- espectro	
metría de masas	50
i) Impacto electrónico	50
ii) Ionización química	51

CAPITULO	Página
VI. DISCUSION	85
A. Formación de los ácidos carboxílicos relacionados con el ciclo de Krebs y sus implicaciones en evo- lución química	85
B. Estabilidad de los ácidos relacionados con el ciclo de Krebs irradiados en solución acuosa.	86
C. Formación de los cetoácidos relacionados con el ciclo de Krebs.	89
D. Función del ácido succínico	90
E. Mecanismo de formación de los ácidos carboxílicos durante los experimentos de radiólisis.	92
1. Radiólisis del ácido acético	93
2. Radiólisis del ácido succínico en solución acuosa.	101
3. Radiólisis del ácido málico en solución acuosa.	103
4. Radiólisis del ácido malónico en solución acuosa.	107
5. Radiólisis del ácido tricarbálico en solución acuosa.	108
6. Radiólisis del ácido trans aconítico en solución acuosa.	110
7. Radiólisis de los ácidos cítrico e isocítrico en solución acuosa	112

LISTA DE TABLAS

TABLA		Página
1	Energía accesible para la síntesis de compuestos orgánicos	6
2	Propiedades de algunos radionúclidos	18
3	Contenido de uranio, torio y radio en rocas	20
4	Formación de moléculas simples por la irradiación de compuestos gaseosos de la atmósfera.	24
5	Síntesis de moléculas complejas a partir de compuestos sencillos.	26
6	Radicales detectados por resonancia paramagnética del electrón.	31
7	Radicales detectados en ácidos carboxílicos por radiólisis de pulsos	33
8	Dosis de irradiación para los ácidos carboxílicos.	44
9	Dosis de irradiación para el ácido succínico a diferentes temperaturas.	45
10	Resumen de los ácidos carboxílicos no volátiles formados por la radiólisis del ácido acético y sus soluciones acuosas en sistemas libres de oxígeno.	64

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Fuentes de compuestos orgánicos durante la evolución química	6
2	Esquema del análisis de los ácidos carboxílicos no volátiles	48
3	Gráficas de calibración para el análisis cuantitativo de los ácidos policarboxílicos por cromatografía de gases . .	54
4	Diagrama del aparato usado para el análisis de los productos gaseosos	58
5	Flujo de fotones de la lámpara usada en la fotólisis del ácido acético	60
6	Cromatogramas de los ésteres metílicos de los productos formados por la radiólisis del ácido acético (106,8 Mrad). Efecto de la concentración	62
7	Gráfica de la traza de los iones formados por CLG-EM (por ionización química) de los ésteres metílicos obtenidos por la radiólisis del ácido acético (106,8 Mrad). . .	65
8	Gráfica de la traza de iones (por impacto electrónico) de los ésteres metílicos de compuestos formados por la radiólisis del ácido acético 16M (106,8 Mrad).	66

Figura	Página
19	Cromatograma de los productos formados en la fotólisis del ácido acético 0.8 M 83
20	Espectro de masas del succinato de dimetilo 121
21	Lugares en el cromatograma de gases en los cuales fueron tomados los espectros de masas 124
22	Espectro de masas del éster dimetilico del ácido β hidroximetilglutárico 129
23	Espectro de masas del éster trimetilico del ácido carboxisuccínico 134
24	Espectro de masas del éster trimetilico del ácido metiltricarballílico 137
25	Espectro de masas del éster trimetilico del ácido tricarballylico 139
26	Espectro de masas del éster trimetilico del ácido 1,2,4-butantricarboxílico 140
27	Espectro de masas del éster tetrametilico del ácido 1,2,3,4-isobutantricarboxílico 152
28	Espectro de masas del éster tetrametilico del ácido 1,2,3,4-butantricarboxílico 153

CAPITULO I

LA EVOLUCION QUIMICA Y EL ORIGEN DE LA VIDA

Hipótesis sobre la Evolución Química

El proceso postulado para explicar la aparición de la vida sobre la tierra es conocido como evolución química. Este término connota los eventos físicos y químicos que hicieron posible la formación de sistemas vivos.

Las hipótesis propuestas independientemente por Oparín (1924) y Haldane (1929) es el punto de partida para este estudio. De acuerdo con la hipótesis de Oparín-Haldane, la acumulación de materia orgánica en las condiciones primitivas de la tierra, su transformación en moléculas más complejas y la generación de sistemas replicantes, fueron factores que permitieron el surgimiento de la vida.

Una parte fundamental de esta hipótesis es la suposición de que, moléculas que tienen importancia biológica en la actualidad, fueron importantes en el tiempo del origen de la vida. Tal premisa está basada en la unidad de la composición molecular de la materia viva, desde el más sencillo microorganismo hasta el mamífero más organizado.

En la discusión sobre la evolución química surgen un gran número de preguntas, sobre el ambiente existente en las primeras etapas de formación de la tierra, la naturaleza de la atmósfera, la cantidad de energía

en escasa proporción en la tierra con relación a su abundancia solar, denotan que la atmósfera primaria terrestre adquirida durante el acrecentamiento por la captura de gases y polvo de la nebulosa solar, fué perdida muy tempranamente. Esto dió origen a una atmósfera secundaria como resultado de las emanaciones volcánicas (Brown, 1952).

Generalmente se acepta que la atmósfera primitiva contenía oxígeno sólo en trazas, pero puntos de vista muy diversos han sido expresados con relación a su carácter reductor.

Informaciones geológicas sobre la composición mineral de las rocas ígneas y sedimentarias muy antiguas denotan que éstas fueron depositadas en la ausencia de oxígeno libre y más evidencias del mismo tipo - fueron obtenidas por el estudio de un agregado de rocas precámbricas (Rankama, 1955); aunque estas evidencias favorecen el criterio de una atmósfera no oxidante, no indican el carácter verdadero de la atmósfera.

Varios modelos sobre la composición de la atmósfera primitiva han sido propuestos, de los cuales los más importantes son:

a) Ya que el hidrógeno es el elemento más abundante en el espacio interestelar y ciertamente fue predominante en el material del cual el sistema solar fue formado, Urey (1952) propuso un modelo en el que la atmósfera terrestre estaba constituida por hidrógeno, vapor de agua, amoníaco y metano. Urey, basó su modelo en consideraciones de equilibrio químico, por la cantidad de hidrógeno, su velocidad de escape y la gran cantidad de amoníaco y metano que existe en los planetas exteriores. De estos datos él -----

en escasa proporción en la tierra con relación a su abundancia solar, denotan que la atmósfera primaria terrestre adquirida durante el acrecentamiento por la captura de gases y polvo de la nebulosa solar, fué perdida muy tempranamente. Esto dió origen a una atmósfera secundaria como resultado de las emanaciones volcánicas (Brown, 1952).

Generalmente se acepta que la atmósfera primitiva contenía oxígeno sólo en trazas, pero puntos de vista muy diversos han sido expresados con relación a su carácter reductor.

Informaciones geológicas sobre la composición mineral de las rocas ígneas y sedimentarias muy antiguas denotan que éstas fueron depositadas en la ausencia de oxígeno libre y más evidencias del mismo tipo -- fueron obtenidas por el estudio de un agregado de rocas precámbricas (Rankama, 1955); aunque estas evidencias favorecen el criterio de una atmósfera no oxidante, no indican el carácter verdadero de la atmósfera.

Varios modelos sobre la composición de la atmósfera primitiva han sido propuestos, de los cuales los más importantes son:

a) Ya que el hidrógeno es el elemento más abundante en el espacio interestelar y ciertamente fue predominante en el material del cual el sistema solar fue formado, Urey (1952) propuso un modelo en el que la --- atmósfera terrestre estaba constituida por hidrógeno, vapor de agua, amoníaco y metano. Urey, basó su modelo en consideraciones de equilibrio químico, por la cantidad de hidrógeno, su velocidad de escape y la gran cantidad de amoníaco y metano que existe en los planetas exteriores. De estos datos él -----

cerca de quinientos millones de años, la segunda fase tenía nitrógeno, dióxido de carbono y agua y la última etapa fué altamente oxidante, tal como lo es la presente atmósfera. El cambio de una atmósfera reductora a una oxidante se explica con base en la producción de oxígeno por la fotólisis del agua y por el desarrollo de los procesos fotosintéticos en los sistemas vivos.

Desde el punto de vista bioquímico, una atmósfera reductora parece ser más favorable. En los organismos contemporáneos, el carbono tiene que estar en forma reducida antes de que pueda ser incorporado en aminoácidos, purinas, etc. Los efectos deteriorantes del oxígeno sobre el núcleo de las células, es también indicativo de que las condiciones no oxigénicas pudieron haber prevalecido durante la evolución inicial de la célula.

3.- Fuentes de energía.- Diferentes fuentes energéticas han sido propuestas como contribuyentes a las síntesis orgánicas durante la evolución química (Miller y Urey, 1959).

La radiación proveniente del sol produce un total de 260 000 cal/cm² año, no obstante la mayoría de esta radiación es removida del flujo solar incidente. Así se ha estimado que la contribución de luz ultravioleta de longitudes menores de 2 500 Å es de 570 cal/cm² año (Miller y Urey (1959). Sagan en 1967 calculó que el flujo accesible de luz ultravioleta en la atmósfera era de 2×10^{13} fotones/cm² seg para una longitud de onda de 2 000 Å .

Es igualmente probable que otras fuentes de energía contribuyeran a la formación de compuestos orgánicos. Entre ellas han sido propuestas descargas eléctricas de la atmósfera, el calor procedente de los volcanes y la energía ionizante del decaimiento radiactivo. (Tabla I).

Muchas otras fuentes energéticas han sido propuestas, tales como los rayos cósmicos, la energía sónica generada por las ondas en los océanos y las ondas de choque producidas por el paso de un meteoro a través de la atmósfera y su impacto con la superficie de la hidrosfera. Sin embargo, la magnitud con la cual estas fuentes de energía contribuyeron es difícil de estimar. (Figura I).

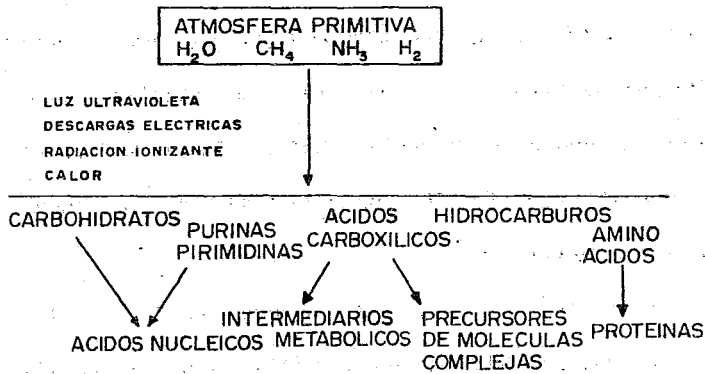


Figura 1

una gran energía proveniente de una descarga eléctrica. Desde este experimento, muchas moléculas importantes para la vida han sido sintetizadas, tales como aminoácidos (Miller, 1953, 1959; Pavloskaia y Pasynskii, 1959; Dose y Risi, 1968; Harada y Fox, 1964), purinas (Ponnamperuma et al. 1963a, 1963b, 1963c; Oró, 1960), ácidos grasos (Allan y Ponnamperuma, 1967) azúcares (Gabel y Ponnamperuma, 1967).

Durante el tiempo transcurrido desde la publicación de Miller hasta la fecha casi todos los aminoácidos proteínicos han sido sintetizados en experimentos prebióticos y la síntesis de casi todas las bases han sido reportadas. Ciertamente los experimentos abióticos han ilustrado exitosamente la formación de moléculas importantes para la vida, fundamentando en esta forma la hipótesis de Oparín y Haldane.

7.- Formación de biopolímeros..- La acción de varias formas de energía en la tierra primitiva ha ocasionado la síntesis de pequeñas moléculas, formadas directamente a partir de las constituyentes de la atmósfera, o bien como resultado de síntesis en varias etapas. El siguiente paso de experimentación concierne con la polimerización de algunas moléculas tales como los aminoácidos y los nucleótidos para formar a las proteínas y los ácidos nucléicos respectivamente.

En la formación de estos biopolímeros, la eliminación de agua es un paso necesario para la condensación. Varios esquemas de reacción han sido propuestos para explicar la formación de polipéptidos y polinucleo-

sustancias son la cianamida, dicianamida, el tetrámero del ácido ci anhídrico, etc. (Hulshof y Ponnampuruma, 1976).

3. Se ha propuesto que algunas reacciones de polimerización pueden ser inducidas por radiación ultravioleta o con radiación gamma. Por ejemplo se ha publicado la formación de ácido poliurídilico a partir de ácido uridílico expuesto a la radiación gamma de una fuente de Cesio-137 (Aguilera y col. 1965).

8.- Mecanismos de protección.- En los párrafos anteriores se puso de manifiesto que es posible formar numerosas moléculas de importancia biológica al utilizar diferentes fuentes de energía. En principio, esta síntesis azarosa no podría seguir indefinidamente, ya que estas mismas fuentes de energía destruirían estas "primeras moléculas", por lo que un proceso de selección debió haberse introducido. Para que los primeros organismos pudiesen haber utilizado estos compuestos debieron ser de vidas medias muy largas, si es que se formaron en un sólo evento, o bien están sintetizándose continuamente. En este último caso sin embargo, debió de existir un equilibrio de estado estacionario entre la velocidad de síntesis y la de descomposición para tener una concentración apreciable del compuesto en cuestión.

Algunos de los mecanismos de protección considerados son de carácter físico, por ejemplo, la lluvia trae consigo los compuestos químicos formados en las capas más externas de la atmósfera, sujetas a

CAPITULO II

LA RADIACION IONIZANTE COMO FUENTE DE ENERGIA PARA LA EVOLUCION QUIMICA

A. Importancia de la Radiación Ionizante.

La importancia de la radiación ionizante ha sido propuesta (Ponn-
amperuma, 1967) con base en cálculos del decaimiento radiactivo de ele-
mentos tales como potasio-40, uranio-235, uranio-238 y torio-232, to-
dos ellos con vidas medias del orden de 10^9 años ó más. Varios otros --
isótopos radiactivos de vida media larga se han descubierto, encontrando
se entre ellos rubidio-87, indio-115, lantano-138, etc., pero éstos
parecen ser muy raros para que hayan sido significativos como fuentes de
energía.

Un gran número de radionúclidos de vida media corta que han si-
do producidos artificialmente, pudieron haber existido en la tierra en el
período de la evolución química y por tanto, haber tenido una gran impor-
tancia en esa etapa inicial de la historia de la tierra. Todos los radio-
núclidos con vidas medias del orden de 10^8 años ó menos actualmente
se han reducido pequeñas fracciones de su cantidad original (Birch, --
1954).

formación de la tierra. Este factor es importante, debido a que solamente una fracción de la energía total liberada pudo haber sido accesible para las síntesis orgánicas, ya que la mayoría fue absorbida por la corteza terrestre.

Algunas de las propiedades de los isótopos naturales y su contenido en la corteza terrestre se resumen en las Tablas 2 y 3 (Eisenbud, 1963).

Aunque potasio-40, zirconio-96, calcio-48 y torio-232 son los radioisótopos más ampliamente distribuidos en la corteza terrestre; el potasio-40 es el más importante ya que está distribuido homogéneamente en la corteza, especialmente en rocas perisilícicas, en arcillas y en los océanos.

La presencia de radioisótopos en los océanos o lagos es un factor muy importante, ya que estos elementos en forma iónica son capaces de reaccionar libremente. Un depósito de estos materiales radiactivos en un lago puede formar compuestos orgánicos a partir de simple gases disueltos en el lago, después de su formación dichos compuestos pueden difundirse alejándose del depósito y escapar de una degradación posterior.

Se ha calculado que el contenido de potasio-40 en el agua de mar, actualmente varía entre los límites de $3 \text{ a } 5 \times 10^{-10} \text{ Ci/l}$, aunque pueden observarse grandes variaciones. Esta cantidad fue mucho mayor hace 4.75 miles de millones de años, por esta razón el potasio-40 en el agua del mar o en otro geomedio, es el elemento que determina con mucho el nivel de radiactividad.

La naturaleza localizada de la radiación de otras fuentes naturales, tales como uranio, torio etc., en zonas de alta actividad pudieron haber favorecido la condensación de moléculas sencillas para formar moléculas más complejas. Los depósitos de minerales asociados con estos isótopos pudieron haber tenido cierta actividad catalítica y en este aspecto, la función de las arcillas ha sido reconocida ampliamente (Bernal, 1951, Shimoyama y col. 1976).

Es bien conocido que las arcillas son muy eficientes para la fijación selectiva del potasio, una consecuencia de esta fijación selectiva es el valor elevado de radiactividad encontrado en diversas arcillas. Esta cantidad se estima en 25×10^9 Ci/Kg, de los cuales 21×10^9 Ci/Kg son debidos al potasio-40, y 1.4×10^9 Ci/Kg al uranio-235. De estos datos y con los cálculos de Bullard (1954) es probable que estas cantidades fueran cuatro veces mayores, hace cuatro mil millones de años.

En adición a la energía en forma de calor o radiación ionizante de los elementos radiactivos, la radiación cósmica pudo haber tenido cierta importancia en las primeras síntesis orgánicas. La radiación cósmica representa un flujo de partículas elementales (protones, núcleos de helio, núcleos de elementos pesados) que llegan a la superficie terrestre desde varias regiones del universo. Sin embargo dichas radiaciones no tienen gran poder de penetración al entrar a la atmósfera, produciendo especies excitadas que pueden posteriormente reaccionar y producir compuestos de interés biológico.

C. Experimentos Simulados Utilizando Radiación Ionizante.

1. Irradiación de mezclas gaseosas de la atmósfera Primitiva.

Las reacciones inducidas por la radiación de los componentes individuales de la atmósfera primitiva han sido estudiados extensamente; -- principalmente con respecto a los mecanismos de radiólisis. Desafortunadamente se han estudiado muy poco, las interacciones entre metano, hidrógeno, vapor de agua y amoníaco cuando se mezclan e irradian.

En tanto que la química de radiaciones de amoníaco gaseoso es bien conocida, la radiólisis del metano y del agua, aunque han sido objeto de muchos estudios, todavía presentan muchas incógnitas y aún más algunas de las características ya señaladas son cuestionables.

Uno de los primeros experimentos utilizando radiación ionizante que fue enfocado al problema del origen de la vida, fue realizado por Calvin y Garrison (Garrison y col. 1951), en el que una mezcla de agua y dióxido de carbono fue irradiada en un ciclotrón con iones de helio de 40 MeV habiéndose obtenido con rendimientos apreciables formaldeído, ácido succínico y otros compuestos. Aunque el experimento no fue realizado bajo las condiciones más similares a las de la tierra primitiva, es sin embargo de gran relevancia al problema del origen de la vida, ya que es un ejemplo de la formación de compuestos orgánicos por métodos no biológicos.

En 1957, Dose y Rajewsky irradiaron una mezcla de amoníaco, metano, hidrógeno, dióxido de carbono y nitrógeno con rayos X y gamma y detectaron la formación de algunos aminoácidos, sin embargo no pudieron

Se han comprobado reacciones de carboxilación y aminación por la irradiación de mezclas de dióxido de carbono y amíñas o de amoníaco y ácidos carboxílicos respectivamente (Dose, 1968 c).

Una de las contribuciones más significativas en este campo fué la síntesis de la adenina lograda por Ponnampereuma y colaboradores en 1963, partiendo de mezclas tanto de metano-amoníaco y agua, como de metano-amoníaco-agua-hidrógeno irradiadas con electrones de 4.5 MeV de un acelerador lineal; las dosis de irradiación fueron del orden de 4×10^{22} eV/g y los rendimientos de adenina fueron significativamente altos.

Todos los experimentos enumerados anteriormente se han llevado al cabo en estado líquido o gaseoso; sin embargo se ha propuesto que los compuestos orgánicos pudieron haberse formado en cometas, meteoros o en la materia interestelar (Oró, 1961, Lederburg, 1961). Para fundamentar esta propuesta se ha realizado la irradiación en estado sólido de mezclas gaseosas sencillas, Oró (1963) irradió con electrones de 5 MeV, mezclas de metano, hidrógeno, amoníaco y agua a -196°C , habiendose identificado tentativamente pocos compuestos, entre ellos glicina, alanina y glicinamida.

Simulando rayos cósmicos, Berger en 1961 irradió una mezcla de metano, amoníaco y agua con protones de 12 MeV a 77K (85 % de los rayos cósmicos está compuesta por protones), entre los productos identificados en este experimento se citan acetona, urea y acetamida pero muchos otros compuestos permanecen sin identificar.

Un resumen de los experimentos que se han realizado utilizando radiación ionizante como fuente de energía y las mezclas de los gases componentes de la atmósfera primitiva se presentan en la tabla 4.

2.- Síntesis de Moléculas Complejas o Material Polimérico a partir de Compuestos muy Reactivos.- El ácido cianhídrico es una de las moléculas que se ha encontrado en varios de los experimentos prebióticos. La irradiación de este compuesto ha sido llevada al cabo por varios autores usando radiación gamma como fuente de energía. Ogura y Kondo (1967) demostraron que las soluciones de ácido cianhídrico 1M y 0.5M expuestas a rayos gamma producen el tetrámero de dicho ácido que es una de las moléculas más significativas en el contexto de la evolución química. En otro experimento con ácido cianhídrico, Sweeney y Ponnampereuma (1975) detectaron la formación de algunos aminoácidos.

El estudio de la formación de enlaces peptídicos inducidos por la radiación, ha sido investigada por Dose y Ponnampereuma (Dose, 1971), en este estudio N-acetilglicina y amoníaco fueron irradiados con rayos gamma, electrones rápidos de 7.5MeV y radiación ultravioleta. Entre los productos detectados están: diglicina, ácido diaminosuccínico, ácido succínico aspartilglicina y los derivados N-acetíflicos de estos compuestos.

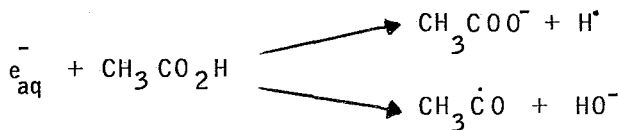
También se han irradiado con dosis bajas soluciones de ácido uridílico (Aguilera, 1965), encontrándose algunas evidencias de la formación del ácido poliuridílico; sin embargo no puede descartarse la polimerización en otro tipo de enlace diferente al fosfato.

Los experimentos llevados al cabo con moléculas sencillas con fines de polimerización mediante la radiación se resumen en la Tabla 5.

D. Estudios Previos en la Radiólisis de los Ácidos Carboxílicos.

1. Radiólisis de ácido acético.- Se ha publicado que la irradiación de soluciones acuosas del ácido acético con iones de helio puede producir hidrógeno, peróxido de hidrógeno, dióxido de carbono y ácido succínico (Garrison y col., 1953, 1955), ácidos policarboxílicos tales como cítrico, málico y malónico pueden producirse por una irradiación prolongada, Whitehead (1951), Newton (1957) y Johnsen (1959) examinaron los productos volátiles de la irradiación del ácido acético glacial con partículas alfa y rayos gamma, habiendo detectado hidrógeno, dióxido de carbono, monóxido de carbono, metano, etano, agua y algunos compuestos carbonílicos.

Hayon y Weiss (1960) sugirieron que las soluciones de ácidos carboxílicos que no contienen fuertes grupos aceptores en la posición alfa respecto al grupo carboxilo, pudiesen reaccionar con un electrón solvatado de la siguiente manera:



De la irradiación con rayos X de soluciones acuosas de los ácidos malónico y succínico, Fricke y colaboradores (1938) detectaron hidrógeno y dióxido de carbono. La irradiación del ácido málico con rayos X fue llevada al cabo por Putney y Pratt (1956) y publicaron la formación de dióxido de carbono, ácidos pirúvico y oxalacético, cuando se irradiaba en presencia de oxígeno. Tanaka y Wang (1967) estudiaron la radiólisis del ácido succínico a temperatura ambiente y publicaron la formación de los ácidos malónico, málico, tricarbálico, pirúvico y oxalacético en sistemas con y sin oxígeno. Bartonicek y Pejsa (1974) estudiaron la radiólisis del ácido succínico en estado sólido para su utilización como dosímetro y publicaron la formación de dióxido de carbono, monóxido de carbono, metano así como pequeñas cantidades de hidrógeno. La radiólisis del ácido oxálico en solución acuosa ha sido estudiada por Draganić (1959), habiendo encontrado ácido fórmico, dióxido de carbono e hidrógeno; este sistema ha sido utilizado como dosímetro para dosis grandes, hasta de 70 Mrad. La radiólisis del ácido fumárico en un sistema oxigenado fue estudiado por Nofre y colaboradores (1965) quienes publicaron la formación de los ácidos succínico, málico y tartárico.

3. Estudios de Resonancia del espín del electrón en ácidos carboxílicos. Los estudios de resonancia del espín electrónico en el ácido acético han sido realizados por Bennet y Gale (1968) quienes identificaron el anión radical $\text{CH}_3 \cdot \text{COO}^-$ durante la irradiación gamma del ácido acético a -196°C . Esa especie también fue observada cuando se irradió ácido acético absorbido en gel de sílice (Cadena y col., 1967).

Tabla 6. Radicales Detectados por Resonancia del Espín del Electrón de Acidos Carboxílicos Irrradiados.

Acido	Radical	Referencia
Acético	$\cdot\text{CH}_2\text{COOH}$	Horsefield, 1961.
	$\text{CH}_3-\overset{\cdot}{\underset{\text{OH}}{\text{C}}}-\overset{\text{O}^-}{\text{O}}$	Cadena, 1967 Bennett, 1968 and Iwasaki, 1970.
	$\cdot\text{CH}_2\text{CO}_2^-$	Bennett, 1967 and Neta, 1969.
	$\text{CH}_3\overset{\cdot}{\text{C}}\text{OO}^+$	Ayscough, 1971 Cadena, 1967.
Propiónico	$\text{CH}_3\overset{\cdot}{\text{C}}\text{HCOOH}$	Neta, 1969.
Malónico	$\text{HO}_2\text{C}-\overset{\cdot}{\text{C}}\text{H}-\text{CO}_2\text{H}$	Bonazzola, 1973 Cole, 1961 and Kikuchi, 1976
	$\overset{\cdot}{\text{C}}\text{H}_2\text{COOH}$	
Succínico	$\cdot\text{CH}-\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$	Horsefield, 1961 Bonazzola, 1975 Budzinski, 1975
	$\text{HO}_2\text{C}-\overset{\cdot}{\text{C}}\text{H}-\text{CH}_2-\text{CO}_2\text{H}$	Hahn, 1960; Heller 1960; Pooley, 1961 Budzinski, 1975.
	$\text{HO}_2\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\overset{\cdot}{\underset{\text{O}^-}{\text{C}}}-\text{O}^-$	Box, 1965.
Fumárico	$\text{HO}_2\text{C}-\text{CH}=\overset{\cdot}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-\text{OH}$	Miyagama, 1970
Maléico	$\text{HO}_2\text{C}-\text{CH}=\overset{\cdot}{\text{C}}\text{H}$	Iwasaki, 1970
Glutárico	$\text{HO}_2\text{C}-\text{CH}_2\text{CH}_2\overset{\cdot}{\text{C}}\text{H}-\text{CO}_2\text{H}$	Iwasaki, 1970

Tabla 7. Radicales Detectados en la Radiólisis de Pulsos de Acidos Carboxílicos.*

Acido	Radical
Fórmico	$\cdot\text{COO}^-$
Acético	$\cdot\text{CH}_2\text{COOH}$ $\cdot\text{CH}_2\text{COO}^-$
Láctico	$\text{CH}_3\overset{\cdot}{\underset{ }{\text{C}}}-\text{OH}$ COOH
Malónico	$\cdot\text{CH}(\text{COOH})_2$
Cítrico	$\begin{array}{c} \text{CH COO}^- \\ \\ \text{HO}-\text{C}-\text{COO}^- \\ \\ \text{CH}_2\text{COO}^- \end{array}$
Succínico	$\cdot\text{CH}-\text{COO}^-$ $ $ CH_2COOH
Tricarballílico	$\cdot\text{CH}-\text{COO}^-$ $ $ $\text{CH}-\text{COO}^-$ $ $ CH_2COO^-

* Neta y Col., 1969 y Simić y col. 1969.

CAPITULO III

PLAN DE INVESTIGACION

La mayor parte del presente estudio está relacionado con la formación e identificación de los productos no volátiles de la irradiación gamma de ácidos carboxílicos como el ácido acético y de otros ácidos relacionados con el ciclo de Krebs, así como con la determinación de la posible interconversión de dichos ácidos bajo condiciones similares a las que pudieron haber existido en la tierra hace 4 750 millones de años.

El ciclo de Krebs, ciclo del ácido cítrico o ciclo de los ácidos tricarbónicos es una serie de reacciones bioquímicas que oxidan el acetato a CO_2 y agua con objeto de producir energía en los organismos aerobios.

Un esquema simplificado de la serie de reacciones que se llevan a cabo en dicho ciclo se muestra a continuación: (Lehninger, 1971).

En un intento para demostrar la posible formación abiogénica de estos compuestos se propuso el siguiente esquema de trabajo, en el cual las técnicas de cromatografía líquido-gas (C.L.G.) y cromatografía de gases-espectrometría de masas se usaron ampliamente como los principales métodos de identificación de los productos de radiólisis.

A. CONCENTRACION

1. Acido acético. - Para este estudio las concentraciones del ácido acético fueron las siguientes: ácido acético glacial, 16M, 8M, 0.8M y 0.08M; todas estas concentraciones fueron estudiadas en las mismas dosis de radiación. Aunque concentraciones más elevadas no son realistas en condiciones que simulen las de la tierra primitiva, se incluyeron en esta investigación para un mejor entendimiento de los procesos químicos.

2. Acidos aconítico, cítrico, isocítrico, málico, malónico, succínico y tricarbálico. - Para estos ácidos se estudiaron dos concentraciones: 0.01M y 0.1M.

B. DOSIS

El estudio del efecto de las dosis de radiación fue llevado al cabo variando el tiempo de radiación y fijando la posición de las muestras en la fuente. Para los casos del ácido acético y los ácidos dicarboxílicos y

E. FOTOLISIS DEL ACIDO ACETICO 0.8 M.

Debido a que la luz ultravioleta es la fuente de energía más importante desde el punto de vista de la evolución química, fue llevado al cabo un estudio comparativo entre la fotólisis del ácido acético 0.8 M y la irradiación gamma del mismo.

CAPITULO IV

PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

A. Preparación del Material de Vidrio.

Todo el equipo de vidrio fue tratado para minimizar las contaminaciones: fue lavado siguiendo las técnicas recomendadas en química de radiaciones (Swallow, 1960) que involucran la inmersión del material en una mezcla de ácido nítrico y ácido sulfúrico en caliente, seguido por un abundante enjuague con agua tridestilada y finalmente calentado en una mufla a 500° C durante toda una noche.

B. Purificación de los reactivos.

El agua destilada colectada de un aparato de destilación marca Corning AG-11, fue redestilada sucesivamente de una solución ácida de dicromato y de una solución alcalina de permanganato de potasio, este tratamiento es necesario para oxidar todas las posibles impurezas, utilizándose solamente las porciones medias del destilado. En todas las destilaciones se usó una columna empacada con perlas de vidrio.

acético deuterado fue destilado al vacío, secado con sulfato de magnesio y pasado a través de mallas moleculares 4A. Los análisis de RMN e IR mostraron una composición satisfactoria e insignificante contenido de agua.

C. Preparación de la Muestra para Irradiación.

Seis mililitros de la solución se colocaron en ampollitas de vidrio de 10ml, se saturaron con nitrógeno y las soluciones fueron congeladas, evacuadas y luego descongeladas. Este ciclo fue repetido tres veces, con objeto de remover todo el oxígeno. En los experimentos que debían contener inicialmente oxígeno, las ampollitas fueron saturadas con dicho gas, hasta asegurar que la atmósfera deseada fuese establecida por completo y luego las ampollitas se sellaron.

D. Procedimiento para la Irradiación.

1. Fuente Radiactiva .- Las ampollitas fueron irradiadas usando una fuente de Cobalto-60, la cual consiste de diez barras arregladas en una configuración circular. La fuente se encuentra en el fondo de un tanque de agua a una profundidad de tres metros y se eleva a la cámara de irradiación para su uso. La posición central corresponde

TABLA 8 DOSIS DE RADIACION USADAS EN LA RADIOLISIS DE ACIDOS CARBOXILICOS

A c i d o	Dosis en Mrad. (Dosis en eV/ml x 10 ¹⁹)											
	0	1.68	6.25	12.5	17.5	18.9	20.4	22.5	30.0	53.6	75.0	106.8
	0	(10.4)	(39.0)	(78.0)	(109)	(117.9)	(127.3)	(140)	(187.2)	(334.4)	(468)	(666.4)
Acético	X	X	X	X						X	X	X
Malónico	X		X	X					X	X	X	X
Succínico	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Fumárico	X	X								X		
Málico	X	X		X	X	X	X	X	X	X	X	
Aconítico	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	
Cítrico	X		X	X					X	X	X	
Isocítrico	X		X		X					X		
Tricarbalico	X		X	X					X	X	X	

* También se irradió a dosis más bajas.

El rendimiento del ión férrico en ambos dosímetros fue medido por espectroscopía de ultravioleta a 305 nm, usando $\epsilon = 21741$ a 23.7°C .

Después de la irradiación las muestras fueron congeladas inmediatamente para prevenir posibles reacciones antes de su análisis.

E. Análisis.

Para el análisis de los productos de radiólisis, el cuello de las ampollas se cortó y las soluciones se transfirieron con una pipeta a tubos de cultivo con tapas de teflón. Las soluciones fueron divididas en dos fracciones, la fracción I fue esterificada y analizada por cromatografía de gases y cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-EM); la fracción II fue utilizada para la detección de aldehídos y cetonas así como para la detección de los ácidos carboxílicos de cadena corta.

1.- Ácidos carboxílicos No Volátiles.

a) Esterificación .- Cuatro mililitros de la solución fueron evaporados casi hasta sequedad, bajo una corriente de nitrógeno o en un liofilizador. El residuo fue esterificado con MeOH/BCl_3 al

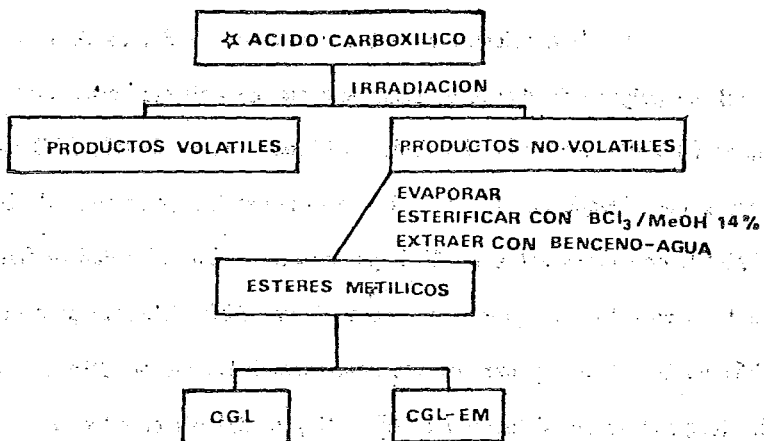


Figura 2 Esquema del análisis de los ácidos policarboxílicos no volátiles.

iii) Otra columna utilizada para el análisis de los ésteres de los ácidos no volátiles fue de acero inoxidable con una longitud de 8 pies y 1/8 de pulgada de diámetro, empacada con 10% de una fase líquida de nombre comercial Silicon OV-17 la cual estuvo absorbida por la fase sólida Chromosorb W de 80/100 mallas previamente lavado con ácido. La temperatura estuvo programada de 50 a 250° C por minuto. Las de mas condiciones experimentales son las indicadas para la columna de Hi Eff, del inciso i.

c) Estudios de Cromatografía de Gases - Espectrometría de Masas.

Una confirmación posterior de los productos de radiólisis fue obtenida utilizando las técnicas combinadas de cromatografía de gases y espectrometría de masas (CG-EM). Para los estudios de espectrometría de masas se utilizaron las técnicas de impacto electrónico y de ionización química.

i) Impacto electrónico .- Estos estudios fueron realizados usando un cromatógrafo de gases Varian Aerograph serie 2700 acoplado a un espectrómetro de masas DuPont CEC 21-492, usando un separador de membrana de 5 ml de espesor fabricado de metil silicón, modelo

2. Acidos Carboxílicos Volátiles.

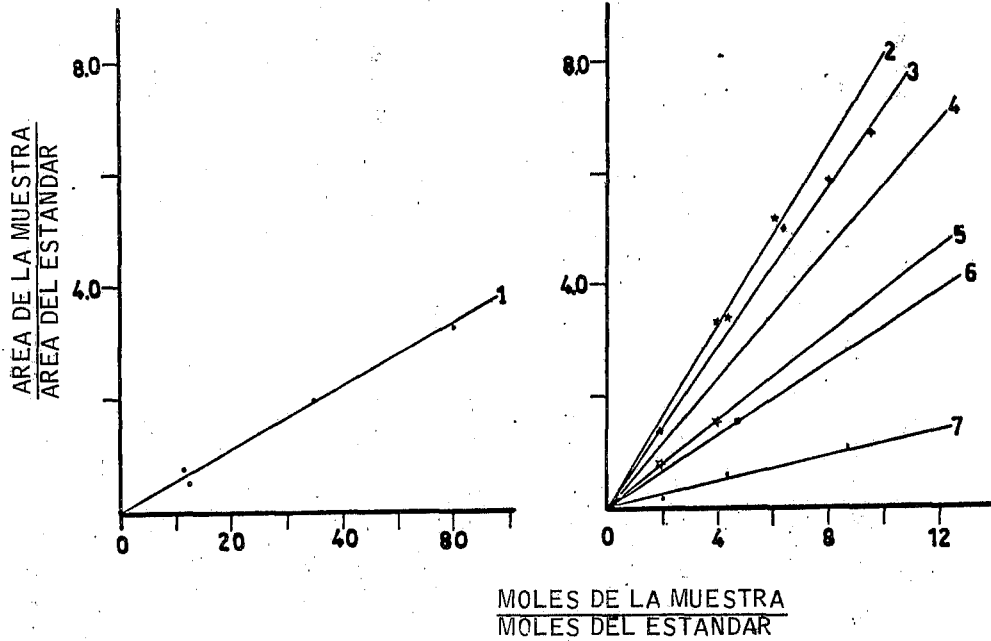
Para la identificación entre los productos de radiólisis de los ácidos carboxílicos de cadena corta de C_1 a C_8 , se inyectó sin algún tratamiento previo una alícuota de $5\mu l$ de la solución en un cromatógrafo de gases con detector de ionización de flama. La columna usada en este análisis fué de 6 pies de longitud y $1/8$ pulgada de diámetro, de acero inoxidable y empacada con Chromosorb 101. La temperatura fue programada de 90 a $220^\circ C$ con incrementos de $2^\circ C$ por minuto.

También se utilizó la técnica de cromatografía en placa fina bidimensional, se usaron placas recubiertas de poliamida 6, de 20×20 cm de longitud y el sistema de solventes usado fue eter dietílico saturado con agua-ácido fórmico ($7.1 v/v$) en una dirección y acetonitrilio-ácido fórmico-acetato de etilo ($81.8 : 8.1 : 9.1 v/v$) en la otra dirección. Para la detección de los ácidos se utilizó una solución de ver de de bromocresol al 0.2% , la cual produce manchas amarillas donde se encuentren los ácidos carboxílicos.

3. Análisis Cuantitativo.

Para la estimación cuantitativa de los productos de radióli-

Figura 3



1. acético, 2. tricarballílico, 3. aconfítico, 4. cítrico, 5. succínico, 6. málico y 7. malónico.

También se utilizó una técnica modificada en la que un mililitro de la muestra irradiada se mezcló con una solución formada por 1 ml de metanol y un mililitro de 2, 4 dinitrofenil hidrazina al 1% en metanol v/v. Esta mezcla posteriormente se acidificó con una gota de HCl concentrado, se calentó por 5 minutos a 70-80 °C. después de enfriada, se le adicionaron 5 ml de KOH al 10% (preparados con 10 g de KOH en 20 ml de agua y diluidos a 100 ml con metanol), se agitó y se diluyó a 50 ml con metanol. Al mismo tiempo se preparó un blanco, sustituyendo las soluciones irradiada por un mililitro de metanol; el blanco y la solución se analizaron espectrofotométricamente a 432 nm. En esta técnica es necesario utilizar metanol libre de compuestos carbonílicos para lo cual 500 ml de metanol q. p. se refluían durante 2 horas con 5 g de 2, 4 dinitrofenil hidrazina, con destilado posterior en una columna vigreux.

5. Análisis de los productos gaseosos.

En la investigación de los productos gaseosos, formados en la radiólisis del ácido acético se utilizaron muestras selladas en ampollitas con un tubo lateral que tiene un sello de vidrio que fácilmente puede ser roto mediante una barra magnética. Las muestras conteniendo CH_3COOD ó CD_3COOH libres de oxígeno, fueron irradiadas en la fuente de cobalto-60 a una dosis de 53.7 Mrad, en las mismas condiciones que las otras muestras de ácido acético. Después de la irradiación el cuello de las ampollitas fué sellado a un tubo "Pyrex", que tenía tres tubos en forma de "U" y

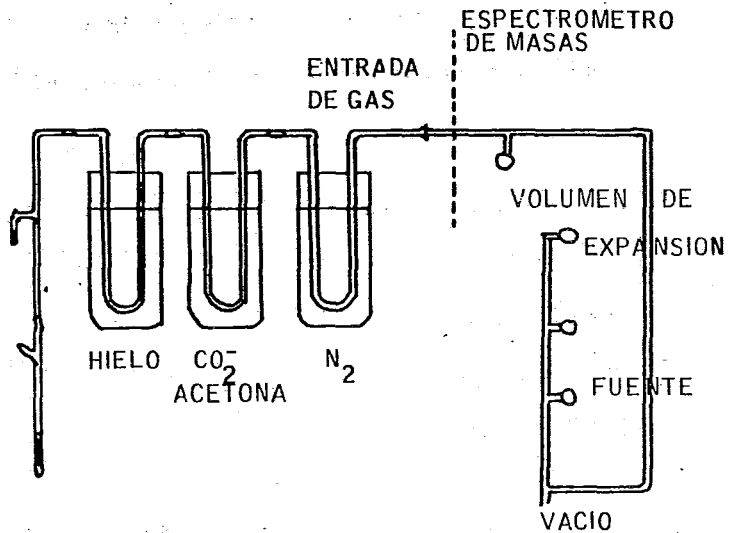


Figura 4 Diagrama del aparato usado para el análisis de productos gaseosos.

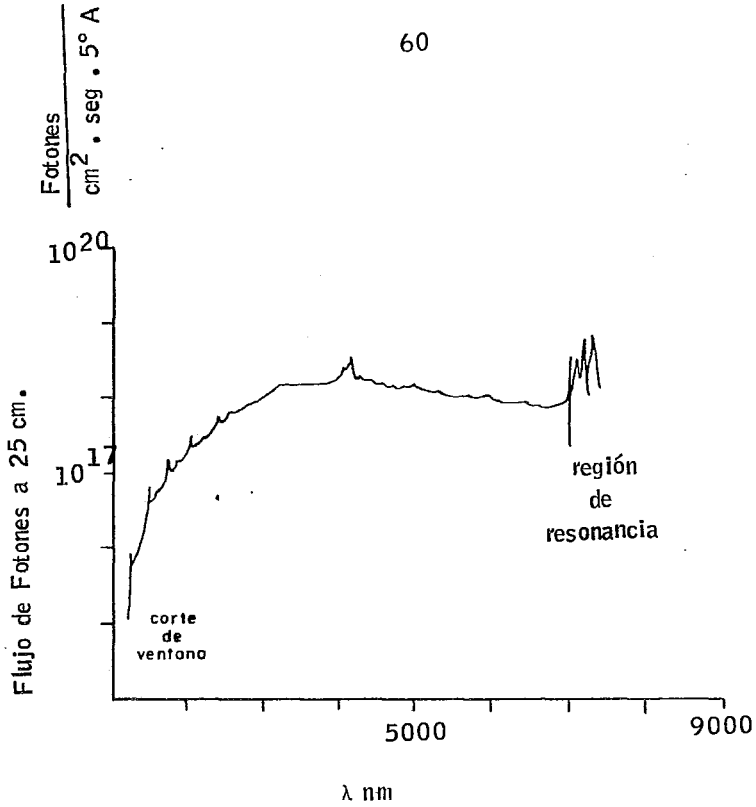


Figura 5 Flujo de fotones de la lámpara de plasma de argón.

CAPITULO V

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en esta investigación, demuestran que muchos compuestos pueden ser formados como consecuencia de la acción de la radiación en ácidos carboxílicos en solución acuosa. Los productos de radiólisis fueron estudiados utilizando cromatografía de gases y cromatografía de gases-espectrometría de masas.

A. Acido acético y soluciones acuosas de ácido acético.

La primera parte de este estudio consistió en la irradiación del ácido acético a diferentes dosis y concentraciones (Tabla 8). Aunque las concentraciones elevadas no se consideran "naturales" en las condiciones que se han postulado como posibles en la tierra primitiva, éstas se utilizaron para estudiar el proceso químico involucrado. Los cromatogramas resultantes de esta serie (figura 6) muestran que los compuestos de peso molecular elevado fueron sintetizados utilizando radiación gamma como fuente de energía, los compuestos identificados en este experimento están enlistados en la Tabla 10. La figura 7 representa el cromatograma reconstruido por la computadora para el caso en que se utilizó la técnica de cromatografía de

gases - ionización química. La figura 8 muestra el cromatograma típico - utilizando la técnica de impacto electrónico, obtenido de trazar el total de los iones detectados en el espectrómetro.

Algunos de los factores que fueron estudiados, debido a su posible influencia sobre los productos de radiólisis, son los siguientes:

1) Efecto de la concentración .- El ácido acético glacial y la solución 16M mostraron un comportamiento similar, los cromatogramas respectivos tienen el mismo patrón de picos y casi la misma abundancia relativa. En esta serie, los compuestos que se formaron en mayor proporción, tales como los ácidos succínico, β hidróxi- β metilglutárico, carboxi succínico y malónico, aparecen en el cromatograma con tiempos de retención menores que el éster trimetílico del ácido tricarbálico (pico número 20 en el cromatograma presentado en la figura 6). Estos cromatogramas de ácido acético en concentraciones elevadas fueron diferentes de los que contenían baja concentración de ácido acético, en donde los picos prominentes aparecieron después del pico correspondiente al éster trimetílico del ácido tricarbálico.

La formación de ácidos de cadena corta no fue observada en las diferentes series en estudio (figura 9).

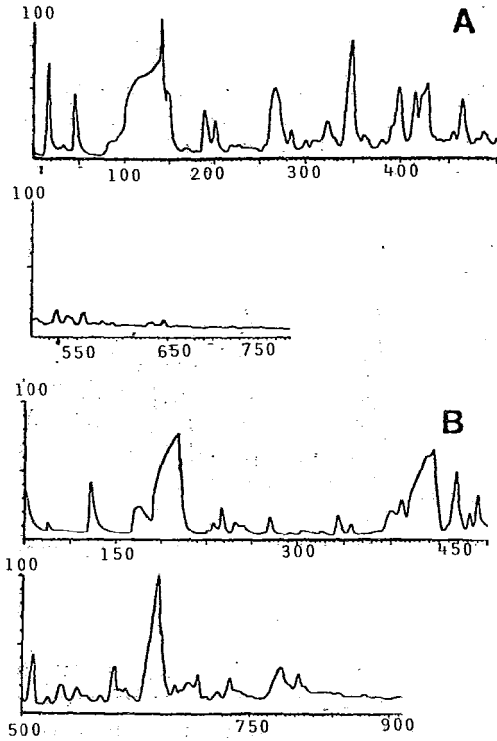


Figura 7 Traza de los iones, (Reconstruida por computadora), del cromatograma obtenido por CLG-EM (ionización química) del ácido acético irradiado con 106.8 Mrad y analizado como ésteres metílicos A) 16 M B) 0.8 M.

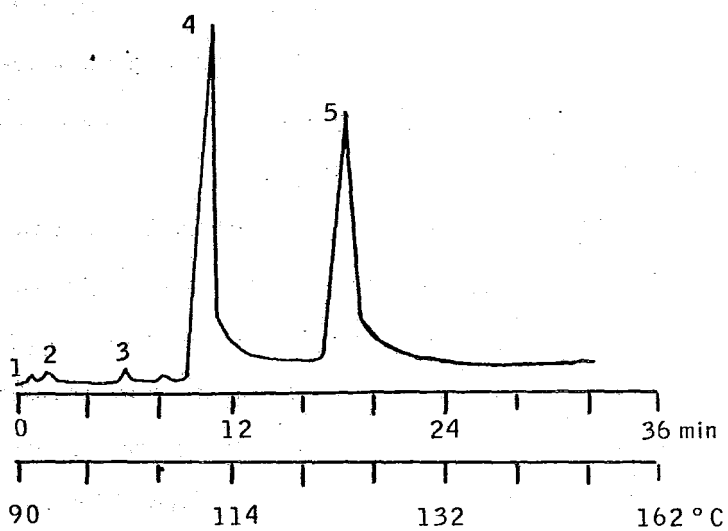


Figura 9 Cromatograma de compuestos volátiles formados durante la radiólisis del ácido acético 1) acetaldehído, 2) acetona, 3) no identificado, 4) ácido acético, 5) ácido propiónico (estándar).

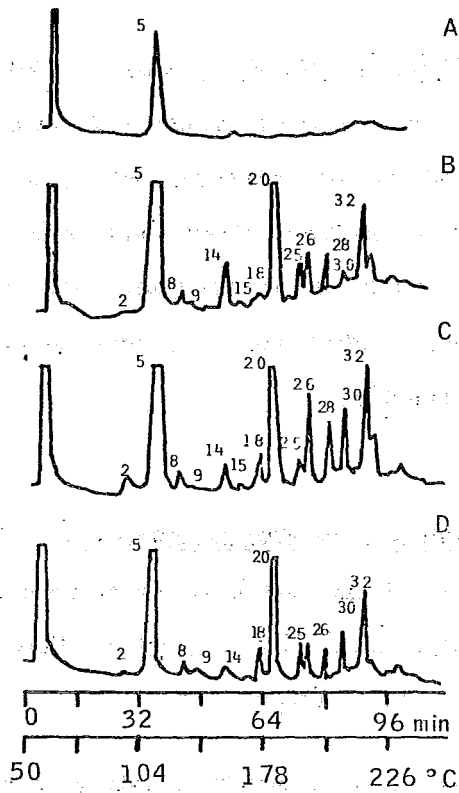


Figura 10 Cromatograma de los ésteres metílicos de ácidos formados por la irradiación de ácido acético 0.8M. Efecto de la dosis de irradiación. A) 3.15 Mrad, B) 12.6 Mrad, C) 50.4 Mrad, D) 94.5 Mrad. Leyenda como en la Tabla 10.

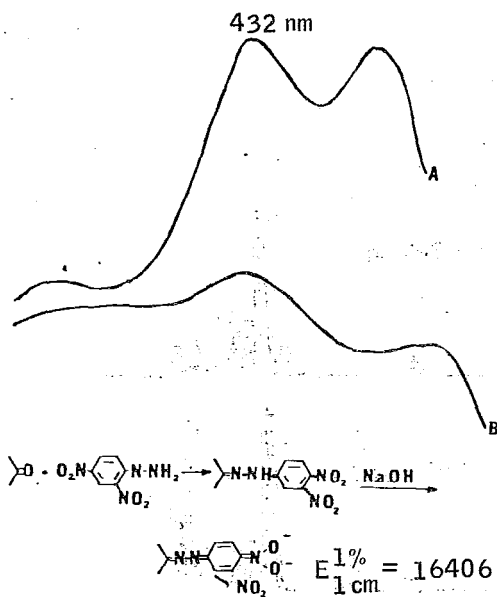


Figura 11 Espectro Ultravioleta de las Dinitrofenil Hidrazonas de compuestos formados durante la radiólisis de ácido acético glacial.
A) Acetona (estándar), B) Acido Acético.

para el caso de ácido acético 0.1 M y en la figura 13 para el ácido málico 0.1 M. En general, los productos de radiólisis se incrementaron al incrementarse la dosis de irradiación. El ácido tricarbálico fue en todos los casos uno de los productos más abundantes.

Los cambios de concentración no afectaron la formación de estos ácidos carboxílicos, en la figura 14 se presenta un cromatograma típico para los efectos de la concentración.

Un resumen de los diferentes productos de las varias radiólisis estudiadas se presenta en la Tabla 11, en la que los ácidos irradiados se listan horizontalmente y los ácidos producidos están listados verticalmente.

La descomposición de estos ácidos fue estudiada cuantitativamente y los resultados se encuentran en la Tabla 12, las correspondientes gráficas de descomposición se indican en las figuras 15 y 16, en las cuales el número de moléculas no reaccionantes por mililitro se trazan en función de las dosis absorbidas en eV/ml.

Efecto de la Temperatura .- Los resultados de la radiólisis a diferentes temperaturas muestran que es un ácido estable en esas condiciones, y que el incremento en la temperatura no afectó considerablemente su descomposición, como puede observarse en la figura 17.

Tabla 12. Degradación Radiolítica de Ácidos Dicarboxílicos y Tricarboxílicos en Solución Acuosa.

Dosis eV/ml x 10 ¹⁹	0	10.2	34.3	67.6	76.1	106	118	137	182	292	457
Acido	Número de Moléculas no Reaccionantes por ml x 10 ¹⁹										
Malónico	600				567					389	309
Málico	600	440		189		99	101	127	18	0	
Succínico	600				310	286		247	188		39
Aconítico	600	475	403		240	223		115		11	
Cítrico	600		584*	340				346	359	249	128
Tricarbalílico	600		540		432			360	403	190	90

* 39 x 10¹⁹ eV/ml

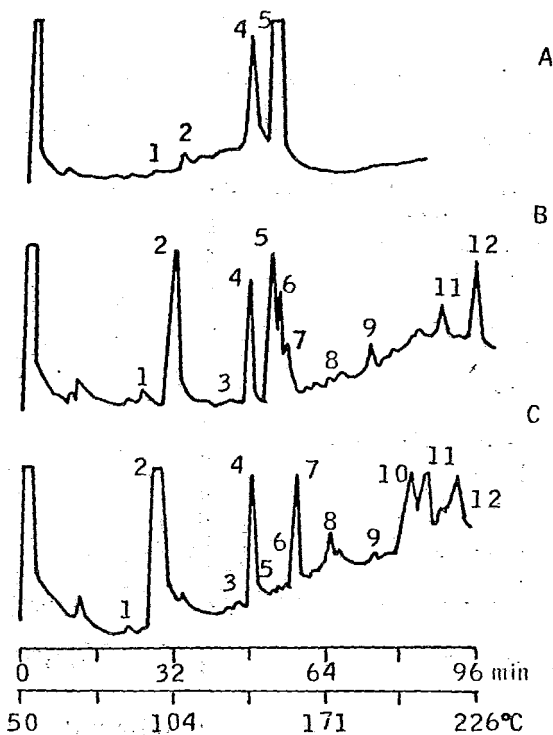


Figura 13 Cromatograma de gases de los esteres metílicos de compuestos formados por la irradiación de ácido málico 0.1M. Efecto de la dosis A) 1.68 Mrad, B) 20.4 Mrad, C) 30 Mrad. 1) ácido malónico, 2) ácido succínico, 4) ácido adípico (estándar), 5) ácido málico, 6) ácido carboxisuccínico, 7) no identificado, 8) ácido tricarbálico, 9) ácido cítrico, 10) ácido 1, 2, 3, 4-isobutanotetracarboxílico, 11) ácido 1, 2, 3, 4-butanotetracarboxílico, 12) no identificado.

NUMERO DE MOLECULAS SIN REACCIONAR/ml x 10¹⁷

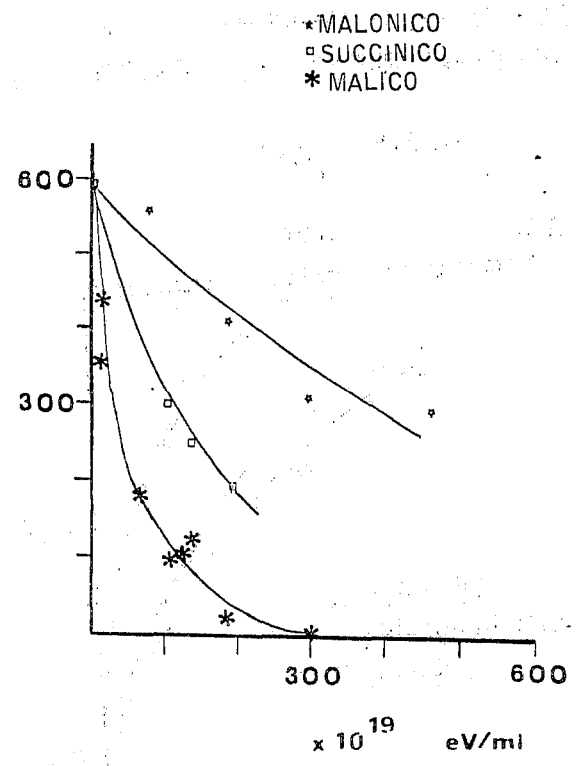


Figura 15 Gráfica de la descomposición de ácidos dicarboxílicos en solución acuosa por irradiación gamma.

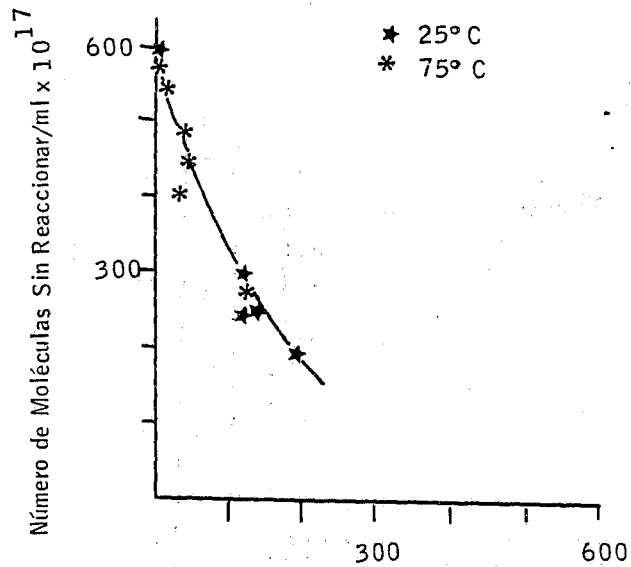


Figura 17 Descomposición del ácido succínico 0.1M por la radiación gamma. Efecto de la temperatura.

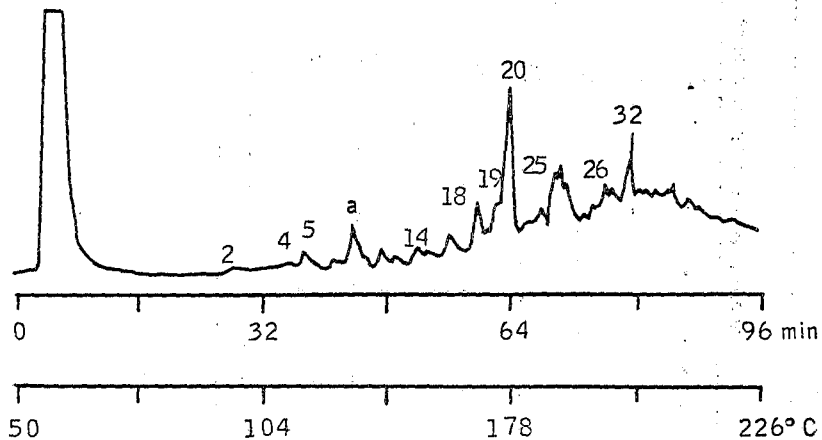


Figura 19 Cromatograma de los ésteres metílicos de ácidos formados en la fotólisis de ácido acético 0.8M. Leyenda, como en la Tabla 13.

CAPITULO VI

DISCUSION

A. Formación de ácidos carboxílicos relacionados con el ciclo de Krebs y sus implicaciones en la evolución química.

El principal interés de esta investigación estuvo enfocado a establecer la posible formación e interconversión de los ácidos carboxílicos relacionados con el ciclo de Krebs mediante la acción de la radiación gamma en varios ácidos policarboxílicos, para este propósito fué necesario utilizar dosis de irradiación elevadas que abarcaron la región de los megarads.

En esta serie de experimentos se comprobó, en todos los casos, la formación de compuestos de alto peso molecular por la radiólisis de ácidos carboxílicos, también se observó la formación de productos gaseosos; sin embargo como el principal objetivo era la identificación de compuestos no volátiles para detectar la posible interconversión de dichos ácidos, la fase gaseosa no fue analizada y por consiguiente, el balance de material no fué calculado.

Se pudo demostrar que la interconversión de los ácidos en estudio es un mecanismo posible, debido a la relación estructural que guardan entre si. Esto es importante desde el punto de vista de la evolución química para

elevados flujos de radiación ultravioleta. Otro de los mecanismos de protección que se han propuesto es la absorción de los componentes orgánicos en superficies tales como arcillas u otros minerales, los cuales también pudieron servir como catalizadores de las reacciones de condensación. En experimentos llevados a cabo en presencia de arcillas como la montmorilonita de sodio, se ha demostrado el incremento de productos formados con relación al mismo experimento realizado sin la arcilla. (Shimoyama y col., 1976).

de etano, amoniaco y agua, en este experimento el producto más importante fue el ácido acético (Groth, 1960). La irradiación del ácido glicólico en estado sólido produjo la formación de los ácidos acético, málico y tartárico.

Todos estos diferentes caminos han contribuido a la acumulación de los compuestos orgánicos durante la evolución química y fundamentan el uso del ácido acético como materia prima para la formación de ácidos dicarboxílicos y tricarboxílicos.

C. Formación de Cetoácidos Relacionados con el Ciclo de Krebs.

Ya que los cetoácidos relacionados con el ciclo del ácido cítrico no fueron observados en la radiólisis de las soluciones acuosas de los correspondientes hidroxiaácidos en una atmósfera libre de oxígeno molecular, el estudio se extendió a la irradiación de los ácidos málico, cítrico e isocítrico en un sistema saturado inicialmente con oxígeno para observar la producción de los ácidos oxalacético, cetoglutárico y oxalosuccínico, respectivamente. Esta investigación que se basó en el estudio de la oxidación del ácido láctico a pirúvico por la radiación X en presencia de oxígeno molecular (Johnson y Col., 1953), indicó que sólo en el caso del ácido málico su correspondiente cetoácido se formó en una cantidad muy pequeña. Sin embargo de estos experimentos no se puede

Tabla 14. Rendimiento Radiolítico de la descomposición de ácidos policarboxílicos en solución acuosa 0.1M, en sistemas libres de oxígeno, irradiados con cobalto-60¹

Acidos dicarboxílicos	G	Acidos tricarboxílicos	G
Málico ²	----- 4.69	Aconítico ²	----- 4.73
Malónico ³	----- 0.72	Cítrico ³	----- 1.2
Succínico ²	----- 2.26	Tricarbalílico	----- 2.21

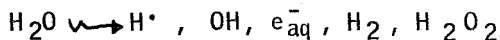
¹ Expresado en términos de G= número de moléculas formadas o destruidas por cada 100 eV.

² Dosis total de 106×10^{19} eV/ml.

³ Dosis total de 292×10^{19} eV/ml.

Con base en la información bibliográfica obtenida tanto de las radiólisis de compuestos similares como de la identificación de los radicales libres por RPE de los ácidos pertinentes al presente estudio, así como por la confirmación de los productos de radiólisis hecha por GC-EM, se proponen los siguientes mecanismos de radiólisis.

1. Radiólisis del ácido acético.- Está bien establecido que los efectos químicos de la radiación ionizante en soluciones acuosas diluídas, son debido a los radicales libres producidos por la descomposición de las moléculas del agua que sigue a la absorción de la radiación, de acuerdo al siguiente esquema de reacción total:



Las 3 primeras especies denominadas radicales primarios de la descomposición del agua, juegan un papel importante, ya que las reacciones subsecuentes del H^\bullet , HO^\bullet y los electrones hidratados con las moléculas del soluto, producen los cambios químicos observados.

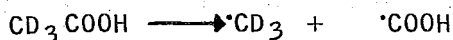
En la radiólisis del ácido acético, los productos de la descomposición del agua reaccionan con la molécula del ácido acético para producir el radical $^\bullet\text{CH}_2\text{COOH}$, entidad que ha sido comprobada por RPE (Horsefield, 1961). El radical $^\bullet\text{CH}_2\text{COOH}$ por una reacción de dimerización produce ácido succínico:

La recombinación de los radicales $\text{CH}_3\cdot$ formarían etano por la reacción :

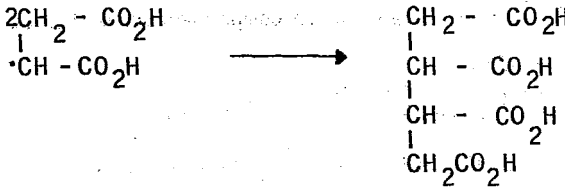


En la radiólisis del CD_3COOH fue detectada la formación de CD_4 y CD_3H , su determinación produjo proporciones casi iguales para ambos compuestos. En el caso de CD_3H con una m/e de 19, el pico en el espectro de masas se superpone con el pico correspondiente al H_2O , que también pudo haberse formado. El potencial de ionización para ambos -- compuestos es muy similar y la espectrometría de masas de alta resolución que los hubiese podido diferenciar no fue usada, por lo tanto en este -- experimento no fue posible distinguir las posibles proporciones con que estos compuestos contribuyen al pico en el espectro de masas con una m/e de 19.

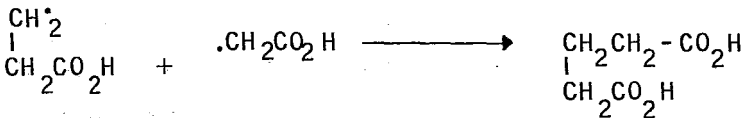
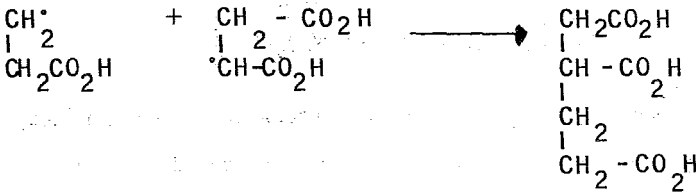
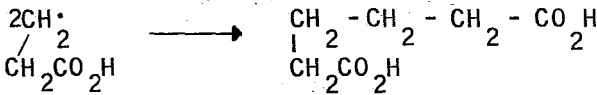
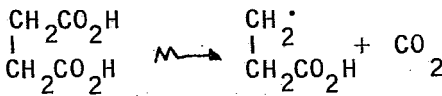
En esta radiólisis también se detectó un pico en el espectro de masas con una m/e de 36, el cual se asignó al etano perdeuterado. Su formación se puede explicar como sigue :



El radical $\cdot\text{CD}_3$ así formado produce otro compuesto estable, el cual fue detectado en el espectrómetro de masas y que corresponde a la acetona perdeuterada:



Otras formas de disociación del ácido succínico producirán otra clase de radicales, que pueden explicar otros de los productos -- observados:

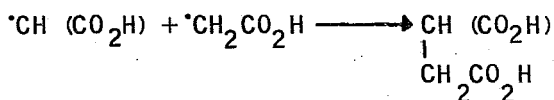
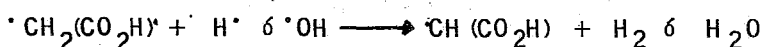


presente investigación un compuesto presentó las mismas características que el éster dimetílico del ácido málico, éste compuesto corresponde al pico número 14 en la figura 10. El estudio por CG-EM mostró un espectro de masas completamente diferente para el éster metílico del ácido málico, la estructura propuesta para este compuesto corresponde al éster dimetílico del ácido β hidroximetilglutárico, el cual co-eluye con el éster del ácido málico en las diferentes columnas utilizadas y con los diferentes sistemas usados en cromatografía de placa fina. Varios espectros de masas fueron tomados por CG-EM a lo largo del pico de interés, buscando algunos de los fragmentos característicos para el éster dimetílico del ácido málico, solamente una muestra irradiada a 1.5×10^{21} eV/ml presentó dichos picos a una m/e de 131, 103 y 71 con muy baja intensidad.

Con dosis bajas la radiólisis del ácido succínico produce ácido málico entre otros compuestos, aunque en pequeña cantidad, su rendimiento decrece rápidamente con dosis elevadas de irradiación. Esta observación es consistente con la radiólisis del ácido málico, mostrando que este compuesto es muy sensible a la radiación.

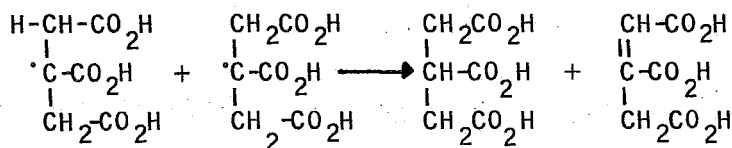
Estos datos indican que aunque el ácido málico es un compuesto cuya formación es muy probable en la radiólisis del ácido acético, su estabilidad en estas circunstancias hace poco probable su acumula-

Se propone al ácido malónico como un intermediario en la formación de otros productos de radiólisis tales como ácido carboxisuccínico de acuerdo con las reacciones siguientes:



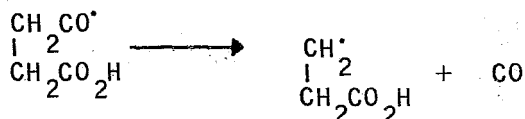
La formación del radical $\cdot\text{CH}(\text{COOH})_2$ ha sido demostrado por RPE en el ácido malónico por Cole (1961) y Kikuchi (1976). También ha sido detectado en la radiólisis de pulsos del ácido malónico (Neta y Col., 1969a).

Los compuestos no saturados como los ácidos fumárico y aconítico pueden ser formados por una reacción de desproporción. Por ejemplo para el caso del ácido aconítico se tendría la siguiente reacción:

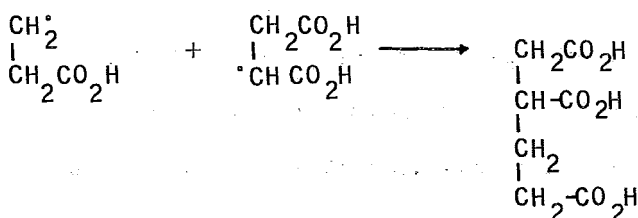
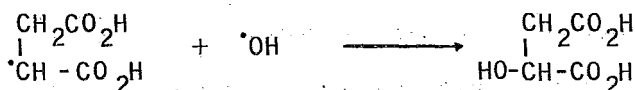
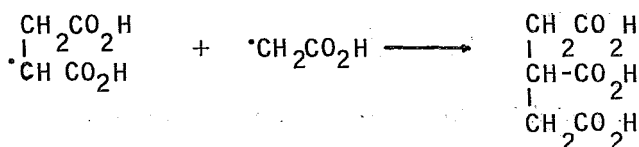


2. Radiólisis del ácido succínico en solución acuosa.

La formación del radical $\text{HOOC}-\cdot\text{CH}-\text{CH}_2-\text{COOH}$ por una

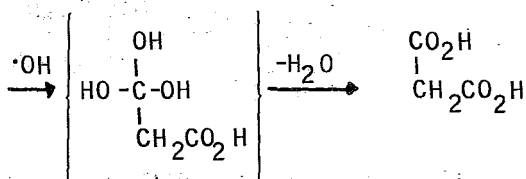
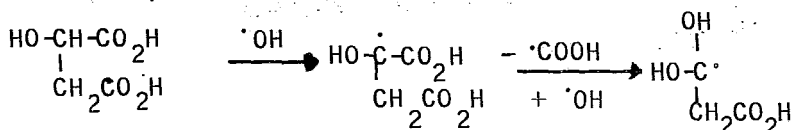


Estas especies mediante reacciones de abstracción o polimerización formarán los productos observados experimentalmente:



3. Radiólisis del ácido málico en solución acuosa. El ácido succínico fue el producto no volátil más abundante obtenido en la radiólisis del ácido málico en solución acuosa y pudo haberse producido

El ácido malónico es el segundo constituyente más importante de los productos de radiólisis del ácido málico. Su formación puede -- extrapolarse de la radiólisis del ácido glicólico, publicada por Grant y Ward (1959):



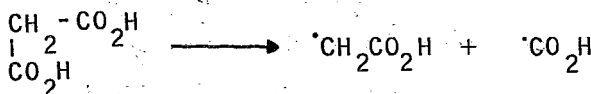
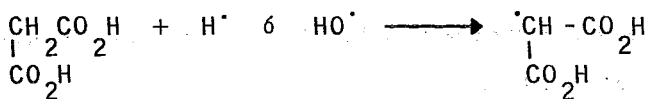
La mayoría de los compuestos producidos en esta serie están indicados en la Tabla 11 y su formación puede ser extrapolada de la radiólisis del ácido succínico.

El ácido oxalacético fue publicado por Tanaka (1967) como producto de la radiólisis del ácido málico a dosis bajas, sin embargo este producto no fue demostrado en este estudio. Este ácido sólo se produjo cuando el sistema fue oxigenado inicialmente y el mecanismo de su formación puede ser similar al indicado en el estudio de la --- irradiación con rayos X del ácido láctico, realizado por Johnson y col., en 1953. Se asume que el proceso inicial para la oxidación inducida

tema libre de oxígeno molecular corresponde al pico número 7 en la figura 18, este compuesto aumenta en rendimiento al incrementarse las dosis totales y - después de 182×10^{19} eV/ml la concentración decae rápidamente. El espectro de masas por impacto electrónico presenta un pico intenso a una m/e de 156 y otro a una m/e de 124; el espectro por ionización química no presenta ión casi molecular y aún ahora este compuesto permanece sin identificar.

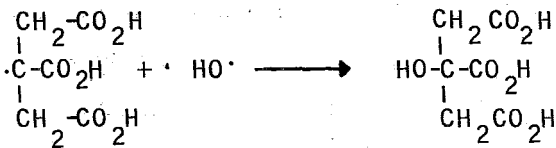
4. Radiólisis del ácido malónico en solución acuosa.-

Los principales productos no volátiles identificados en esta radiólisis fueron los ácidos carboxisuccínico, tricarbálico y 1,2,3,4 butantetracarboxílico. La formación de estos compuestos puede explicarse por la presencia de los radicales $\cdot\text{CH}_2\text{COOH}$ y $\dot{\text{C}}(\text{COOH})_2$, que ya fueron detectados por resonancia del espín electrónico del ácido malónico en estado sólido (Bonnazzola y col., 1975):



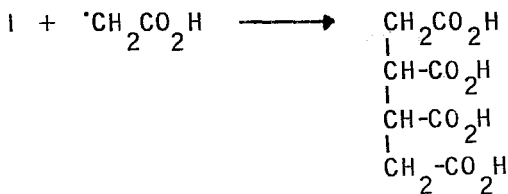
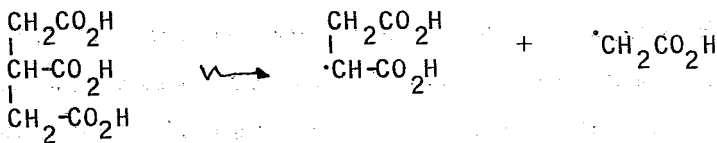
La recombinación de estos radicales formaría los productos observados:

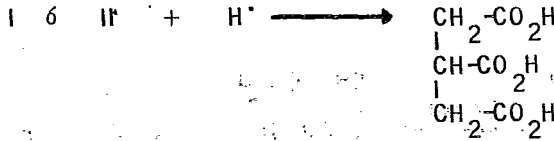
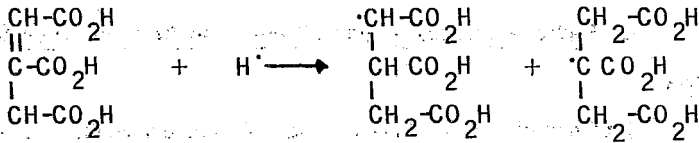
Estos dos radicales pueden formarse siendo el más estable la especie número II, ya que es un radical terciario; esta especie puede posteriormente reaccionar con otro radical HO^\bullet proveniente de la descomposición del agua para formar el ácido cítrico:



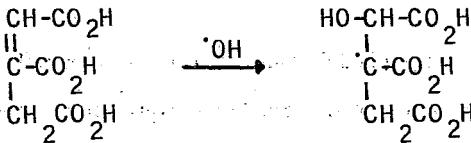
El radical I también puede reaccionar con el radical HO^\bullet para producir ácido isocítrico, siguiendo el mismo tipo de reacción.

Si los radicales I y II reaccionan con el radical $\cdot\text{CH}_2\text{COOH}$ - producido por la disociación del ácido tricarbálico; se podrán formar el dímero del ácido succínico o sea el ácido 1,2,3,4 butantetracarboxílico y el ácido 1,2,3,4 isobutanetracarboxílico:





Otro de los compuestos más abundantes en esta radiólisis fue el ácido isocítrico, si éste fuese formado a través del radical I a pesar de ser menos estable que el radical II, su rendimiento sería insignificante, por lo que este mecanismo de formación no parece ser el adecuado. Por otro lado, se ha investigado la adición del radical OH^\bullet a un doble enlace para el caso del ácido fumárico (Nofre y col., 1965); por tanto para el caso del ácido isocítrico, si el ataque del radical OH^\bullet es en el carbón alfa, el radical resultante sería un radical terciario, el cual puede reaccionar posteriormente con un radical H^\bullet mediante una reacción de recombinación y producir el correspondiente hidroxiacido:



Una mayor cantidad de ácido cítrico se formó del isocítrico que isocítrico del cítrico, fundamentando así que el radical II es el más estable.

A. Discusión de los espectros de masas.

No obstante la continua investigación concerniente a la fragmentación de los ésteres metílicos inducidos por impacto electrónico, la mayor parte de la información está relacionada con ésteres de cadena larga y con algunos ácidos dicarboxílicos no ramificados. La información sobre ésteres metílicos o ácidos libres relacionados al ciclo de Krebs está limitada y por esta razón, el estudio de la fragmentación de estos compuestos fue importante para la identificación de los productos de radiólisis de los ácidos carboxílicos.

En la fragmentación por impacto electrónico el ión molecular estuvo a menudo ausente, por consiguiente para una asignación más correcta del peso molecular se usó la técnica de ionización química que favorece un alto porcentaje del ión quasi-molecular.

La mayoría de los ácidos en estudio presentan la fórmula general:



en dónde $\text{R} = \text{H}, \text{Me}, \text{OH} \text{ ó } \text{CH}_2\text{COOH}$

En general, las migraciones observadas del grupo metoxi en los ácidos dicarboxílicos (Howe y Williams, 1968) pueden ocurrir en el caso de los ésteres metílicos de los ácidos policarboxílicos.

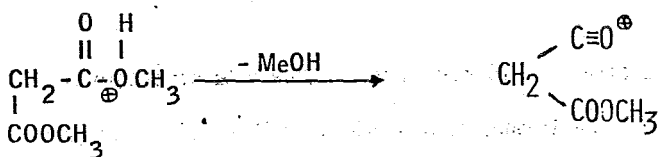
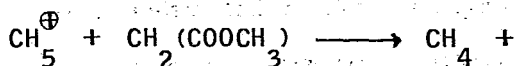
En los espectros de masas obtenidos por ionización química, el ión quasi-molecular con una m/e de $(M+1)^+$ apareció en poca abundancia, relativamente el pico base en estos espectros, en la mayoría de los casos estudiados, corresponde a la eliminación de una molécula de metanol del ión quasi-molecular.

Algunos de los espectros obtenidos en las diferentes radiólisis se discutirán brevemente a continuación. El orden en que aparecen corresponde al tiempo de retención en la columna empacada con 8% Hi Eff 8BP y el número del pico corresponde con los picos presentes en los cromatogramas ilustrados en las figuras 6, en el caso de la técnica de impacto electrónico y en la figura 7 para los espectros obtenidos por ionización química.

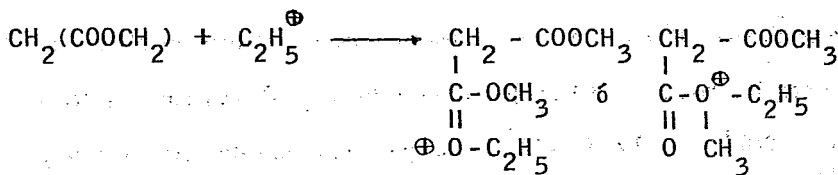
1.- Ácidos dicarboxílicos.

Pico número 2 (p.m. = 132). El espectro de masas para este compuesto presenta el pico base (100%) a una m/e de 101, que corresponde a la pérdida de un grupo metoxi del ión molecular a una m/e de 132, presente únicamente en baja intensidad a 20 eV (2% respecto al pico

Para el caso del espectro de ionización química:



m/e 101



m/e 161

Pico número 5 (p.m. = 146). Este compuesto fue encontrado en la mayoría de los ácidos carboxílicos irradiados y fue el principal producto en la radiólisis de los ácidos acético, malónico y málico.

El espectro de impacto electrónico muestra que el pico más alto corresponde al fragmento a una m/e de 115, asignado a la pérdida de un grupo OCH_3 del ión molecular a m/e de 146. La presencia

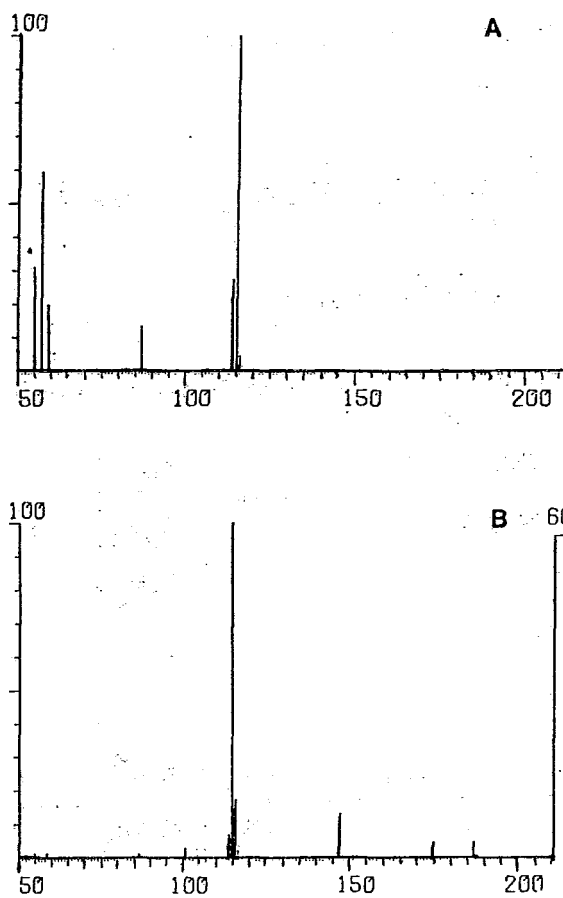
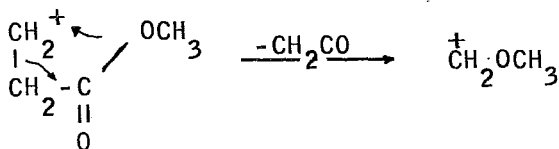


Fig. 20.- Espectro de masas para el éster dimetílico del ácido succínico.

a) Por impacto electrónico

b) Por ionización química.



m/e 87

m/e 45

Picos número 4 (p.m. = 160), 4' (p.m. = 144), 6 (p.m. = 144), y 7 (p.m. = 158). En los estudios hechos por GC-EM para la radiólisis del ácido acético, surgió un problema debido a las diferentes concentraciones de varios de los productos de radiólisis; en particular, el ácido succínico fue formado en mucha mayor cantidad que otros compuestos. Aunque en las condiciones cromatográficas utilizadas con muestras estándar de los ésteres de los ácidos fumárico, metilsuccínico, maleico, itacónico y citracónico se obtuvo una buena separación cromatográfica, desafortunadamente en las muestras irradiadas esos compuestos aparecen sobrepuestos con el pico correspondiente al éster dimetílico del ácido succínico. Para detectar estos compuestos usando GC-EM, fue necesario tomar varios espectros en la zona del pico del ácido succínico, buscando fragmentos característicos para los otros compuestos. La figura 21 presenta los lugares en los cuales se tomaron los espectros, la figura 21A corresponde a las muestras estándar y la 21B a una muestra de ácido acético 16M irradiado con 94Mrad.

Pico número 4' (p.m. = 144). En la figura 6 se presen

ta un espectro de impacto electrónico con un ión molecular a una m/e de 144, el más abundante está presente a una m/e de 113 y corresponde a la pérdida de 31 uam.

El espectro de ionización química corresponde al espectro - número 97 de la figura 7. El ión quasi-molecular aparece a una m/e de 145 con una intensidad de 3% respecto al pico base presente a una m/e de 113 (100%) el cual es debido a la pérdida de metanol del ión quasi-molecular. Los picos a una m/e de 173 y 185 pueden explicarse por una reacción entre la muestra y el gas reactante metanol y están en concordancia con el peso molecular asignado y por esas características se sugiere que este compuesto de radiólisis sea el éster metílico del ácido fumárico.

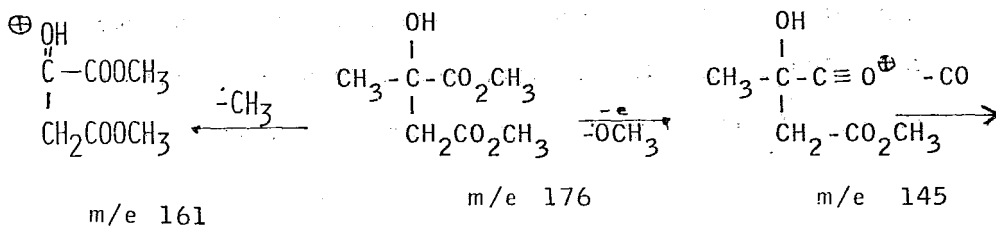
El pico número 6 presenta un espectro idéntico que al pico número 4' pero aparecen con diferentes tiempos de retención. El espectro asignado a este compuesto corresponde al éster dimetílico del ácido maléico, que es un isómero del ácido fumárico.

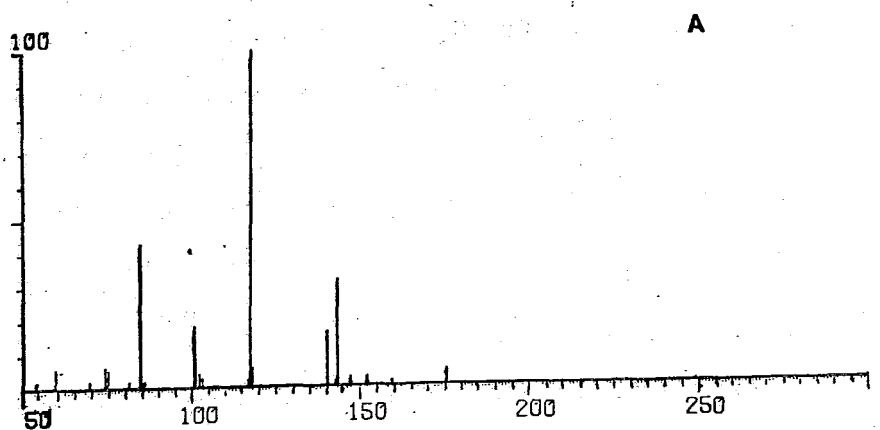
Pico número 4 (p.m. 160). Este compuesto tiene un espectro de ionización química en el cual el fragmento a una m/e de 161 fue asignado como al ión quasi-molecular, basándose en la presencia de picos a una m/e de 189 y 201 que corresponden a los fragmentos de la reacción del compuesto problema con el metano: $(QM + 29)^+$ y $(QM + 41)^+$,

la pérdida de metanol del ión quasi-molecular. Se analizaron los diferentes isómeros que pueden ser propuestos para este compuesto y como el éster dimetilico del ácido citracónico presentó el mismo comportamiento que la muestra, se concluyó que ésta es la estructura de dicho compuesto.

Pico número 9 (p.m. = 176). En el espectro de impacto electrónico de la figura 6, el pico número 9 indica la mayor fragmentación que involucra la pérdida del grupo carbometoxi produciendo el fragmento a una m/e de 117 del ión molecular con una m/e de 176. En el espectro de ionización química, el pico correspondiente al ión quasi molecular a una m/e de 117 se identifica fácilmente por la presencia del fragmento a una m/e de 206 y 217 ocasionado por la reacción entre el plasma de metano del gas reactante y la muestra. El pico a una m/e de 117 representa el pico base.

Una comparación de este espectro con una muestra estándar de ácido citramálico muestran fragmentos idénticos, también el comportamiento cromatográfico de ambas muestras está en concordancia, por lo cual el ácido citramálico fue asignada al pico número 9. Las posibles formas de fragmentación pueden resumirse como sigue:





267

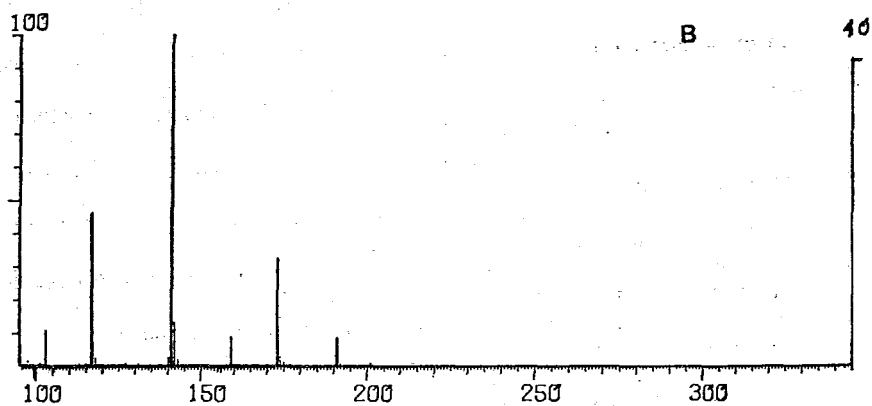


Fig. 22.- Espectro de masas para el éster dimetílico del ácido β -hidroxi- β -metilglutárico

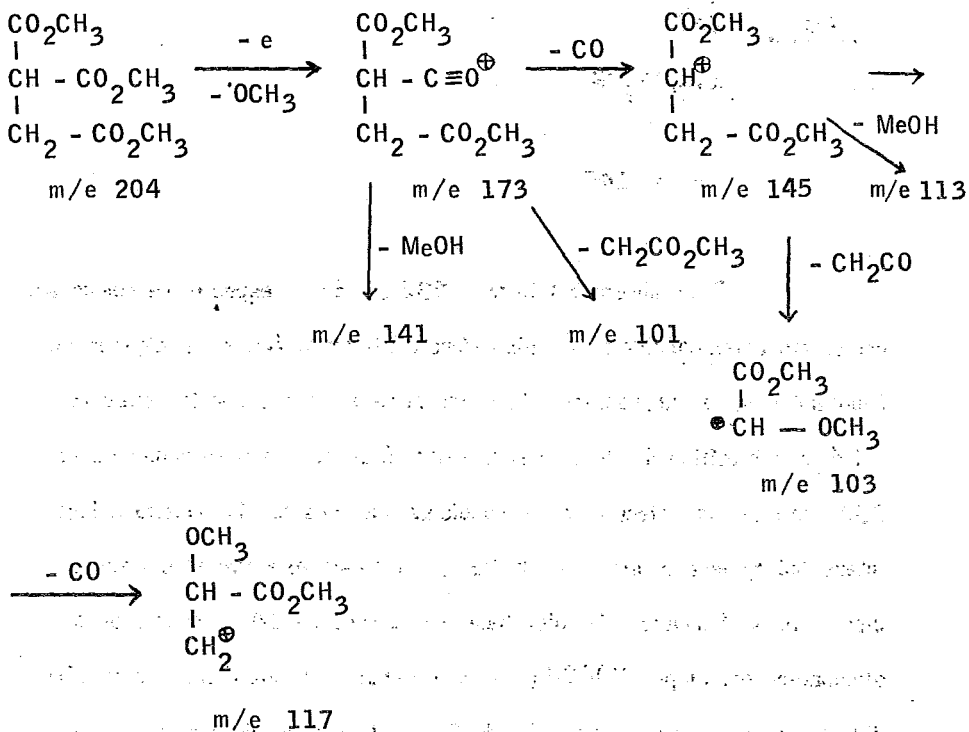
a) Por impacto electrónico

b) Por ionización química.

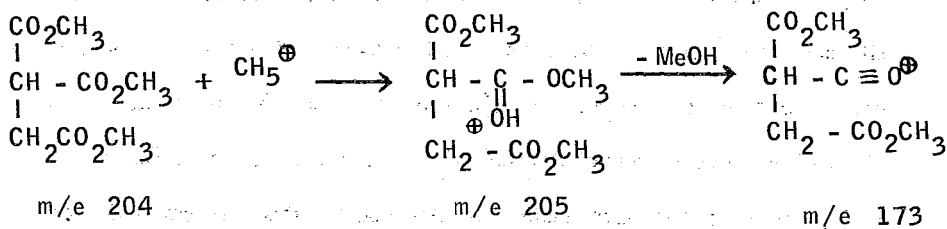
pico intenso a una m/e de 173 para el $(M-31)^+$, que por una pérdida posterior de CO origina un pico a una m/e de 145, con un pico metaestable a una m/e de 121.5. El pico a una m/e de 113 fue debido a la expulsión de una molécula de metanol del fragmento a una m/e de 145 esta asignación está basada en la presencia de un pico metaestable a una m/e de 88.1. Estos datos sugieren la presencia de tres grupos carboximetil ésteres en la molécula. El espectro de ionización química confirmó la asignación del peso molecular a una m/e de 204, debido a la presencia del ión quasi-molecular a una m/e de 205 y dos picos a una m/e de 233 y 245 debido a la reacción con $C_2H_5^+$ y $C_3H_5^+$ formados por el gas reactante.

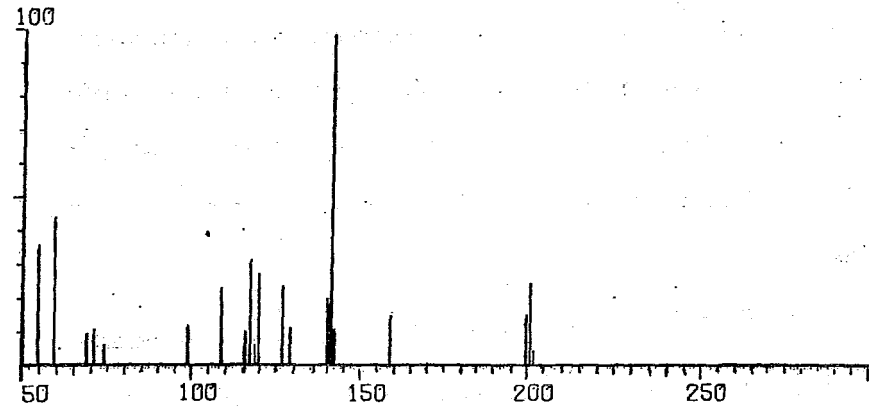
Una estructura que satisface estas características es la del éster trimetílico del ácido carboxisuccínico. Una muestra estándar de este compuesto se preparó siguiendo la técnica publicada por Kay y Perkin; la comparación de los espectros de masas y los tiempos de retención cromatográficos obtenidos de las muestras estándar e irradiada en las diferentes condiciones usadas en el análisis confirmaron la identidad y por consiguiente, la estructura propuesta.

Algunas de las principales fragmentaciones se presentan en el siguiente esquema y la figura 23 muestra los espectros de masas de este compuesto.



Espectro de I. Q.





* 411

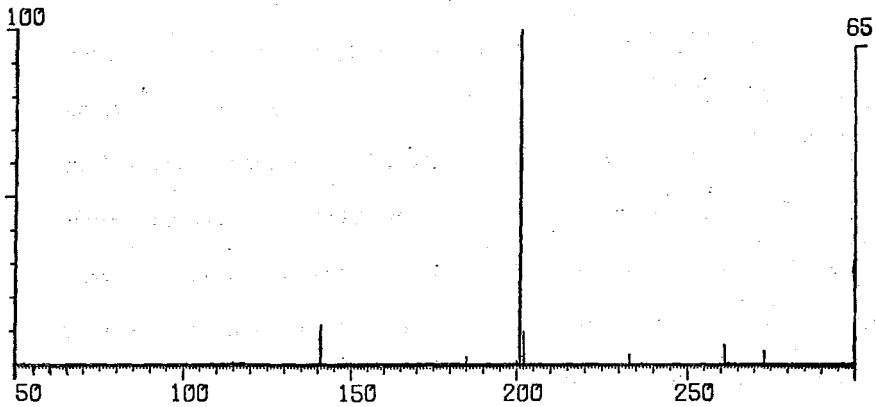


Fig. 24.- Espectro de masas para el éster trimetílico del ácido metil-tricarbalílico.

a) Por impacto electrónico

b) Por ionización química.

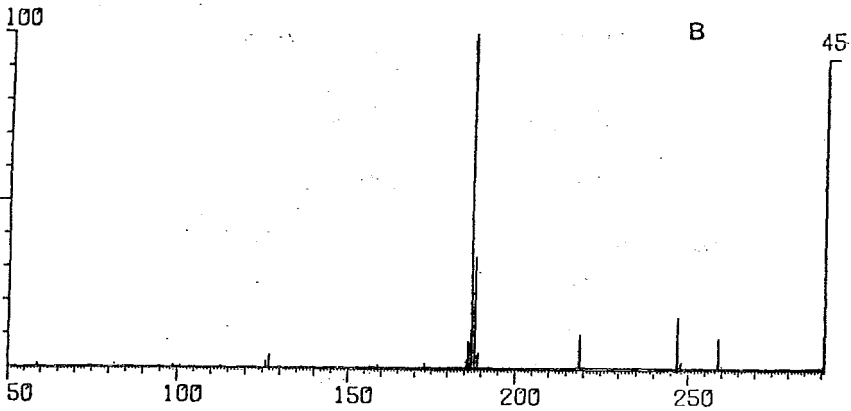
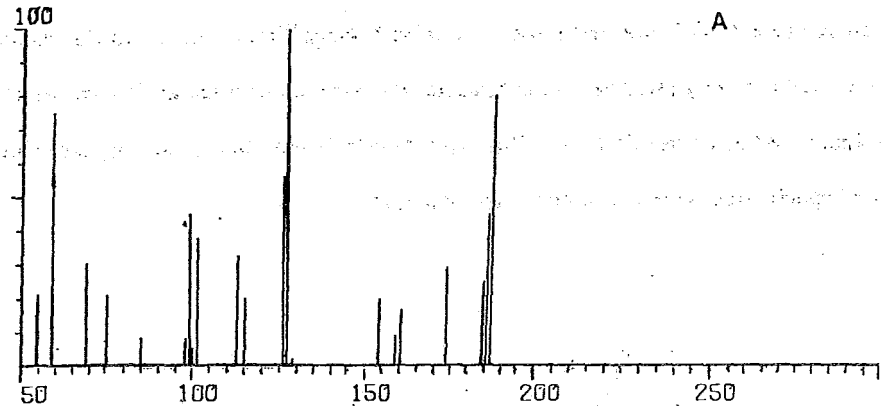
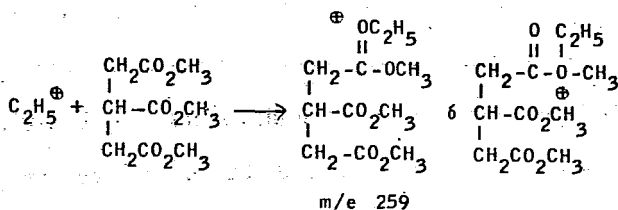
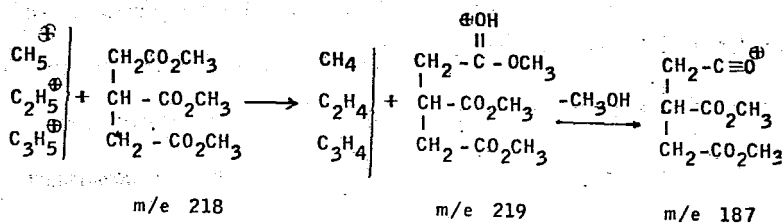


Fig. 25.- Espectro de masas para el éster trimetílico del ácido tricarbálico.

a) Por impacto electrónico

b) Por ionización química.

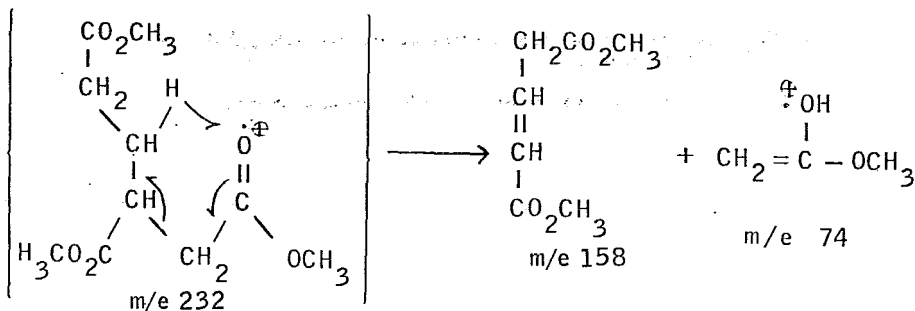
Los fragmentos en el espectro de ionización química se pueden explicar como sigue:



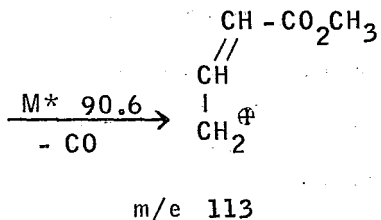
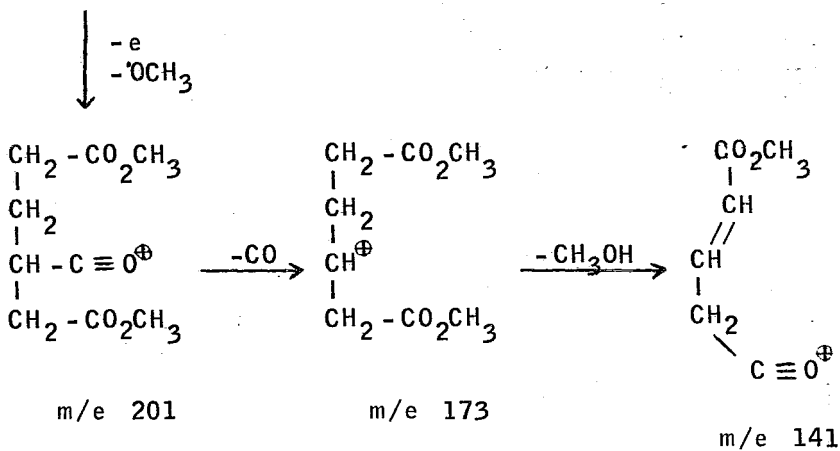
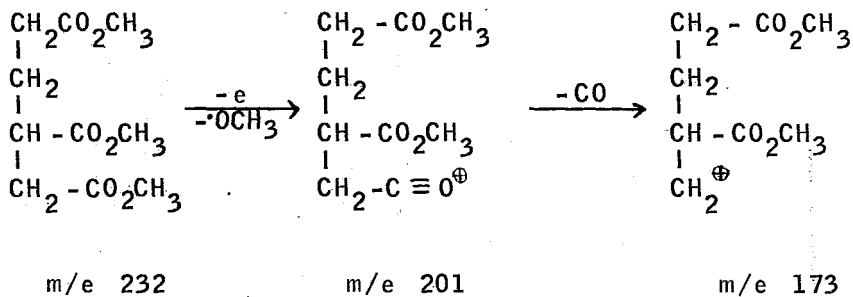
No existen suficientes datos para establecer cual de los grupos carbonílicos o cual de los átomos de oxígeno es atacado preferencialmente por las especies formadas por el metano. De la información obtenida del espectro de impacto electrónico, la pérdida del grupo COOCH_3 para obtener el fragmento observado a $(M-59)^+$ puede ser tanto en el car

tos es idéntico. Sin embargo, los tiempos de retención son muy diferentes, lo cual sugiere que ambos compuestos son isómeros. Los espectros obtenidos por ionización química e impacto electrónico se ilustran en la figura 26.

Las pequeñas diferencias observadas al comparar los espectros de impacto electrónico del éster del ácido metiltricarballílico y la muestra irradiada, son la base para proponer la estructura del compuesto y en estudio que se considera ser el éster trimetílico del ácido 1, 2, 4 butantricarboxílico, ya que el ión molecular a una m/e de 232 no se observó ni se detectó el ión a una m/e de 217, que siempre están presentes en el caso del éster del ácido metiltricarballílico. El pico predominante en este espectro es debido a la pérdida de 31 uam de un grupo metoxi y la expulsión de una molécula de metanol se explica por el pico a una m/e de 200. Otros fragmentos encontrados fueron similares a los del éster del ácido metiltricarballílico, aunque la intensidad relativa fue diferente. Así el ión a una m/e de 159 es mucho menor y el ión a una m/e de 158 que puede explicarse con base en un rearrreglo de McLafferty:



El esquema para su fragmentación es :

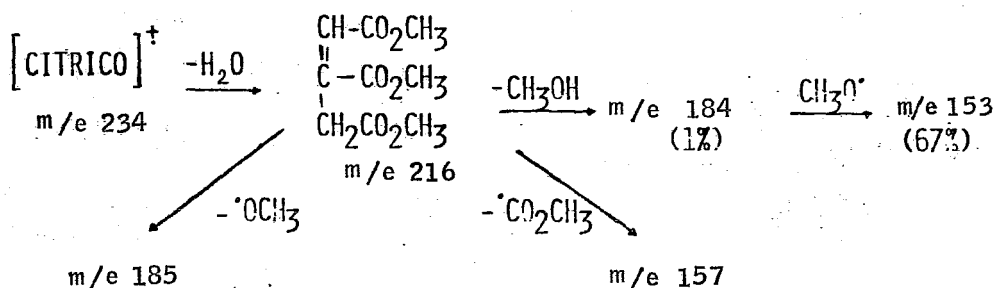


la presencia de un pico intenso a una m/e de 143; el ión molecular a una m/e de 234 no fue observado; el pico con una m/e de 203 se interpretó como la ruptura de un grupo metoxi; el fragmento a una m/e de 185 se interpretó como la pérdida de una molécula de agua; el pico a una m/e de 175 que fue producido por la pérdida de un grupo $^+COOCH_3$ del ión molecular y que posteriormente se descompone para producir el pico base a una m/e de 143 perdiendo una molécula de metanol y el pico metaestable a una m/e de 116.8 que apoya esta forma de fragmentación.

El pico base también se fragmenta, se considera que la pérdida una molécula de cetena, forma el ión observado a una m/e de 101, ésta asignación tiene como base la presencia de un pico metaestable a una m/e de 71.3.

La confirmación del peso molecular asignado se fundamentó por haberse observado en el espectro de ionización química la presencia del ión quasi-molecular a una m/e de 235 y de los iones $(M+29)^+$ a una m/e de 263 $(M+41)^+$ a una m/e de 275, considerando el pico base a una m/e de 175 debido a la pérdida de una molécula de metanol, seguido de una molécula de CO.

Un posible mecanismo de fragmentación para este éster pue



Pico número 33 (p.m. = 234). Es espectro de masas de este producto de radiólisis recuerda al espectro del trimetil citrato, aunque existen diferencias en las intensidades de los picos de fragmentación y el tiempo de retención también es diferente. El pico base fue asignado al ión con una m/e de 115, a 20 eV el pico $(M-31)^{\dagger}$ se observa con muy poca intensidad respecto al pico base. El pico a una m/e de 175 puede ser debido a la pérdida de un grupo COOCH_3 , que a su vez pierde metanol y produce el ión a una m/e de 143. En el caso del éster trimetílico del ácido cítrico, los picos a una m/e de 143 y 101 son muy intensos, sin embargo en el espectro del pico número 33, el ión a una m/e de 101 está ausente. Todas estas características han sido correlacionadas con las del éster trimetílico del ácido isocítrico; por ello al comparar una muestra estándar de este compuesto con la muestra irradiada se confirmó su identidad. Algunas de las principales fragmen

en los otros casos estudiados, corresponde a la pérdida de metanol del ión quasi-molecular en ambos compuestos, produciendo un pico a una m/e de 259.

En contraste con el espectro de ionización química, que fue simple, el obtenido por la técnica de impacto electrónico fué muy complejo, mostrando la formación de muchos fragmentos, cuya procedencia aún no es muy clara.

Las características anteriores han sido asignadas a dos isómeros: el éster tetrametílico del ácido 1, 2, 3, 4 isobutano-tetra carboxílico (pico número 30) y el éster tetrametílico del ácido 1, 2, 3, 4 butanetetracarboxílico (pico número 32). Los espectros de masas correspondientes se muestran en las figuras 27 y 28.

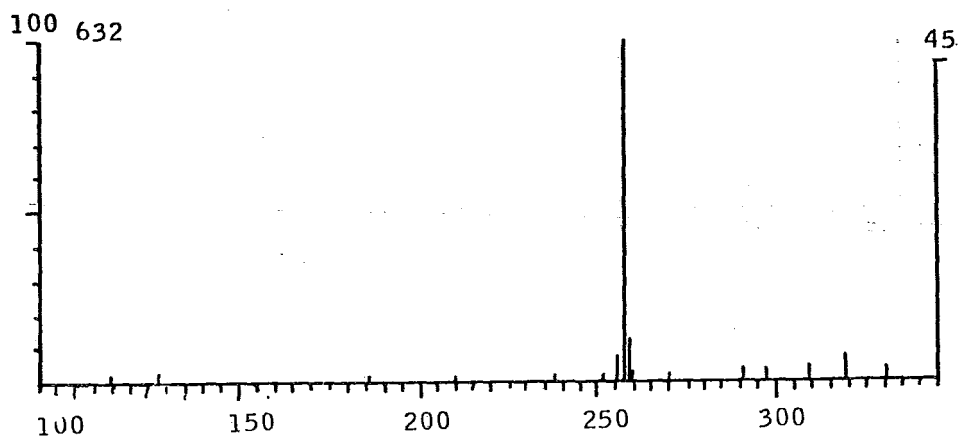
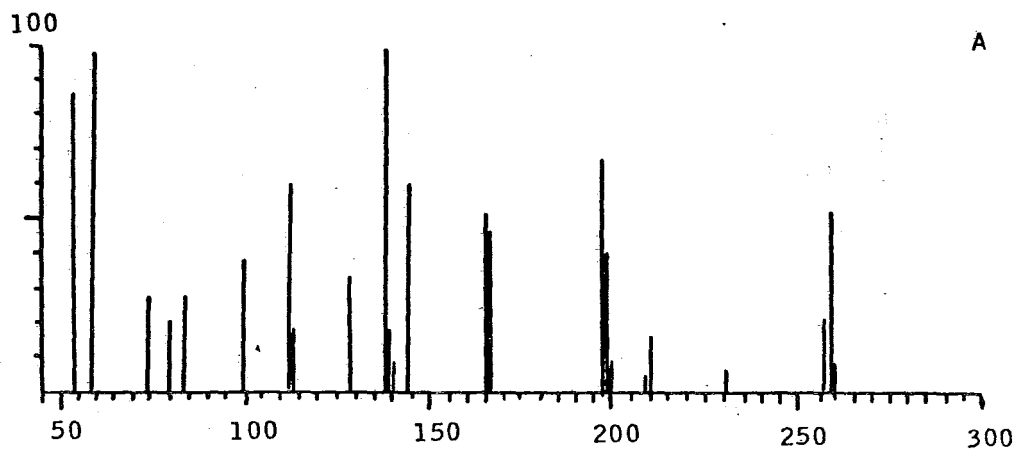


Figura 28 Espectro de masas para el éster tetrametílico del ácido 1,2,3,4-butanotetracarboxílico.
a) Por impacto electrónico b) Por ionización química

CAPITULO VII

CONCLUSIONES

Se llevó al cabo la síntesis de los ácidos dicarboxílicos y tricarboxílicos, algunos de los cuales son intermediarios en rutas metabólicas o precursores de moléculas más complejas, utilizando radiación gamma o luz ultravioleta como fuente de energía. La radiólisis así como la fotólisis de las soluciones acuosas del ácido acético produjo los ácidos succínico, cítrico, isocítrico y tricarbálico, los cuales son intermediarios en el ciclo de Krebs. Otros ácidos producidos fueron el ácido malónico, el cual es un precursor en la biosíntesis de los ácidos grasos y el ácido β -hidroximetilglutárico, que es un intermediario en la formación de la unidad isoprenoide, precursor en la biosíntesis de los esteroides.

Las radiólisis de las soluciones acuosas diluídas de los ácidos succínico, malónico, málico, fumárico, cítrico, isocítrico, aconítico y tricarbálico, muestran que estos ácidos debido a su relación estructural pueden ser interconvertidos en las condiciones usadas en esta investigación.

diciones simuladas, las moléculas de interés biológico se pueden formar por la acción de la radiación gamma. Como estas moléculas son intermediarias en rutas metabólicas, éste es el primer ejemplo en el cual algunos constituyentes de un ciclo metabólico se obtienen en síntesis prebióticas. Estos compuestos pudieron a su vez servir como materia prima para formar moléculas más complejas tales como porfirinas o ser utilizadas por los primeros organismos como sustratos para obtener su energía. Ya que las leyes de la física y la química son universales, estos experimentos nos permiten concluir que en cualquier parte del universo donde existan las condiciones apropiadas, se pueden formar estas moléculas.

BIBLIOGRAFIA

- Aquilera, A., Colombara, E., Jiménez, R., and Toha, J.: 1965, "Synthesis of Polyuridilic Acid by γ -Radiation", *Biochem. et Biophys. Acta* 95, 569-577.
- Allen, W. V. and Ponnampereuma C.: 1967, "A Possible Prebiotic Synthesis for Monocarboxylic Acids", *Currents in Modern Biology* 1, 24-28.
- Arino, H., Kramer, H. Osterholtz, and King, P. A.: "Measurement of HC^{14}N in HCN Produced by Fission Fragment Irradiation of Nitrogen and Methane-*Int. J. Appl. Radiat. Isotopes* 19, 799-800.
- Attix, F. H., and Roesch, W. C.: 1966, "Dosimetry, Vol. II, Academic Press, New York, 167-232.
- Ausloos, P., and Steacie.: 1965, "The Vapor Phase Photolysis of Acetic Acid" *Can. J. of Chem.* 33, 1530-1535.
- Ayscough, P. B., Mach, K., Oversby, J. P., and Roy, A. K.: 1971, "Electron Spin Resonance Studies of Fundamental Process in Radiation and Photochemistry. Part 6, The Radiolysis of Acetic Acid", *Trans. Faraday Soc.* 67, 360-374.
- Ayscough, P. B., Drawe, H., Kohler, P.: 1968, "The gamma Radiolysis of Acetonitrile", *Rad. Research* 33, 263-273.
- Bartonicek, B., 1974, Reactor radiolysis of succinic acid. *Int. J. Radiat. Phys. Chem.* 6, 71-77.

- Box, H. C., Freund, H. G. and Lilga, K. T.: 1965, Paramagnetic Absorption of Single Crystals of Succinic Acid Irradiated at Low Temperature. *J. Chem. Phys.* 42, 1471-1474.
- Budzinski, E.E. and Box, H. C.: 1975, The Oxidation and Reduction of Succinic Acid by Ionizing Radiation. *J. Chem. Phys.* 63, 4927-29.
- Bullard, E., 1954, In *The Earth as a Planet* (Ed. by G.P. Kuiper) University Chicago Press, Chicago. p. 57-137.
- Burr, J. G.: 1957, The Radiolysis of Deuterated and Tritiated Acetic Acid. *J. Phys. Chem.* 61, 1481-1483.
- Burton, M.: 1936a, The Photolysis of Acetic Acid, *J. Am. Chem. Soc.* 58, 692.
- Burton, M.: 1936b, Studies in the Mechanism of Decomposition The Vapor Phase Photolysis of Acetic Acid. *J. Am. Chem. Soc.* 58, 1645-1654.
- Cadena, D.G., Mendez, V. and Rowlands, J. R.: 1967, The Electron Spin Resonance Spectrum of CH_2CO_2^- Trapped in Gamma Irradiated Sodium Acetate. *Mol. Phys.* 13, 157-159.

- Draganić, I.: 1959, Action Des Rayonnements Ionizant sur les Solucions Aqueuses d'acide Oxalique: Radiolyse en présence d' oxygene. J. Chimie Physique 56, 16-17.
- Draganić, I. G., Draganić, Z.D., and Shushtarian, M. J.: 1976, Radiation Chemistry of Aqueous Solutions of Acetonitrile and Propionitrile in the Megarad dose Region. Rad. Research, 66, 54-65.
- Draganić, Z.D., Draganić, I.G. and Borovicinin, M.: 1976, Radiation - - Chemistry of Aqueous Solutions of HCN in the Megarad Dose Region. Rad. Research, 66, 42-53.
- Dzantiev, B.G.V.P., Trubnikov, and Popov, V.N.: 1966, Vesti Akad. Navuk Belarusk. SSR, Ser. Fiz. - Tekhn. Navuk., 5-7.
- Eisenbud, M.: 1963, "Enviromental Radioactivity", Mc Graw Hill Book, p. 147.
- Farkas, L., and Wansborough-Jones, O.H.: 1932 Z. Physik. Chem.B. 18, 124.
- Fricke, H. Hart, E.J., and Smith, H.P.: 1938, Chemical Reactions of Organic Compounds with X-ray Activated Water, J. Chem.Phys. 6, 229-240.
- Gabel, N., and Ponnampuruma, C.: 1967, Model for the Origen of - - Monosaccharides, Nature 216, 453-455.

Tetrahedron Lett. No. 18, 17-23.

Graff, R. L., Negrón-Mendoza, A., and Ponnampuruma, C.: 1976, "Gamma Irradiation of Malic Acid in Aqueous Solutions", in press.

Grant, P. M., and Ward, R. B.: 1959a, "Effects of Gamma Irradiation Part II. Characterization of the Products from Glycollic Acid", J. Chem. Soc. 2654-2658.

Grant, P. M., and Ward, R. B.: 1959b, "Effects of Gamma Irradiation Part III. Quantitative Studies of the Products from Glycollic Acid" J. Chem. Soc. 2659-2665.

Grant, P. M., and Ward, R. B.: 1959c, "Effects of Gamma Irradiation Part IV. The Degradation of D-Glucose in Aqueous Solutions by Gamma Irradiation in Vacuum", J. Chem. Soc. 2871-2876.

Groth, W. E. and Von Weyssenhoff, (1960), "Photochemical Formation of Organic Compounds from Mixtures of Simple Gases". Planet Space Sci. 2, 79.

Hahn, Yu. K., and Rexroad.: 1959-1960, "Electron Spin Resonance of Irradiated Single Crystal of Succinic Acid and Polycrystalline Succinamide", Proc. of West Virginia Aca. of Sci. 31-32, 185-189.

Haldane, J. B. S.: 1928, "The Origin of Life". Rationalist Annual 148, p. 142-154.

Halman, M.: 1975, "Models of Prebiological Phosphorylation", Origins of Life 6, 169.

- Holmes, J.L., and Jean.: 1970, "The Mass Spectra of Carboxylic Acids: Fragmentation Mechanism in the Homologous Series $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$, Org. Mass. Spect. 3, 1505-1518.
- Horowitz, J.: 1945, "On the Evolution of Biochemical Synthesis", Proc. Nat. Aca. Sci. U.S. 31, 153-157.
- Horsefield, A.J., Morton, J.L., Whiffen, D.H.: 1961 "Identification of the Radical $\dot{\text{C}}\text{H}_2\text{COOH}$ ", Nature 189, 481.
- Howe, E., and Williams, D.H.: 1968, "Studies in Mass Spectroscopy Part XXIII, The Mass Spectra of Dimethyl Esters, Methoxy-Migrations in The Mass Spectra of Dimethyl Esters". J. Chem. Soc. 202-209.
- Hulshof, J., and Ponnampereuma, C.: 1976, "Prebiotic Condensation Reactions in an Aqueous Medium", A Review of Condensing Agents. Origins of Life. 7, 197-224.
- Iwasaki, M., and Eda, B.: 1970a, "Evidence of a Positive Sign for the Isotopic Hyperfine Coupling Constant of Proton in Vinyl-Radicals", J. Chem. Phys. 52, 3837-3838.
- Iwasaki, M., Eda, B., Toriyama, K.: 1970b, "New Type of Radical in Irradiated Single Crystals of Carboxylic Acids", J. Am. Chem. Soc. 92, 3211-3212.
- Johnsen, R.H.: 1959, "Some Aspects of the Radiation Chemistry of ---

- Lawless, J.G., Kvenvolden, K.A., Peterson, E., Ponnamperuma, C., and Moore, C.: 1971, "Amino Acids Indigenous to the Murray Meteorite", *Science*, 173, 626-627.
- Lederberg, J.: 1961, "Science in Space", chapter IX, McGraw-Hill, New York.
- Lehninger, A.L.: 1971, "Bioenergetics", Benjamin Inc. 2o. ed. Menlo Park Cal., p. 80.
- Lowe, C.U., Rees, M.W., and Markham, R.: 1961, "Synthesis of Complex Organic Compounds from Simple Precursors Formation of Amino Acids, Amino Acids Polymers, Fatty Acids and Purines from Ammonium Cyanide", *Nature*, 199, 219-222.
- Lukáč, S., Teplý, J. and Vacek, K.: 1972, "Radiolysis of Carboxylic Compounds. Part I. Comparison of Potassium Acetate and Acetic Acid Radiolysis", *J. Chem. Soc. Faraday I* (68), 1377-1383.
- Mason, B.: 1958, "Principles of Geochemistry", John Wiley & Sons, New York, p. 140.
- Meyerson, S., Ihrig, P.J., and Hunter, T.L.: 1971, "Mass Spectra of Dimethyl Fumarate and Maleate", *J. Org. Chem.* 36, 995-996.
- Mičić, O.I., and Marković, V.: 1975, "Electron Reaction in Concentrate Solutions of Acetic Acid or Glycine", *Inter. J. Radiat. Phys. Chem.* 7, 541-546.

- Nofre, C., Le Roux, Y. Gondot, L. and Cier, A.: 1964, "Effet du Radical Libre Hydroxyle sur les Acides Organiques Aliphatiques", Memoires présentés a la Société Chimique 2451-2460.
- Nofre, C., Le Roux, Y., and Cier, A.: 1965, "Role des Especies Chimiques Issues de la Radiolyse de l'eau dans la Saturation des Doubles Liaisons Carbone-Carbone", C.R. Acad. Sc. Paris, 261, 2887-2890.
- Ogura, H. and Kondo, M.: 1967, "Radiation-induced Formation of Tetrameric Hydrogen Cyanide in Aqueous Solution", Bull. Chem. Soc. Japan 40, 2448-2449.
- Oparin, A.: 1928, "El Origen de la Vida", Ediciones de Cultura Popular, S.A., México, D.F.
- Orgel, L.E.: 1973, "The Origins of Life, Molecules and Natural Selection", John Wiley Son, New York.
- Oró, J.: 1960, "Synthesis of Adenine from Ammonium Cyanide, Biochem. Biophys. Res. Commun. 2, 407-412.
- Oró, J.: 1963, "Synthesis of Organic Compounds by High Energy Electrons", Nature 197, 971-974.

- Ponnamperuma, C., Lemmon, C., Mariner, R., and Calvin, R.: 1963c, "Formation of Adenine from Electron Irradiation of Methane, Ammonia and Water", Proc. Nat. Aca. of Sci. U.S.A., 49, 737-740.
- Ponnamperuma, C. and Mariner, R.: 1963d, "Formation of Ribose and Deoxyribose by Ultra-violet Irradiation of Formaldehyde in Water", Rad. Research 25, 229.
- Ponnamperuma, C. and Flores, J.: 1965, "The Gamma Radiolysis of Methane, Ammonia, and Water", Rad. Research 25, 229.
- Ponnamperuma, C.: 1966, "The Role of Radiation in Primordial Organic Synthesis", in Proceedings of the Third International Congress of Radiation Research, Cortina d'Ampezzo, June-July, G. Silini (ed). North Holland Amsterdam. p. 700-713.
- Ponnamperuma, C.: 1972, "Organic Compounds in the Murchison Meteorite", Ann. of N. Y. Aca. of Sci. 194, 56-70.
- Pooley, D. and Whiffen, D.H.: 1961, "Electron Spin Resonance of $(\text{CO}_2\text{H})\text{CH}_2-\dot{\text{C}}\text{H}-\text{CO}_2\text{H}$ in Succinic Acid", Molec. Phys. 4, 81-86.
-
- Putney, F. K., and Pratt, A.W.: 1956, "X- irradiation of L-Malic Acid in Aqueous Solutions", Radiat. Research 5, 134-145.

- Schimpl, D., Lemmon, R.M. and Calvin, M.: 1965, "Cyanamide Formation Under Primitive Earth Conditions", *Science* 147, 149-150.
- Schopf, J.W., and Barghoom, E.: 1967, "Alga-like Fossils From the Early Precambrian of South Africa", *Science* 156, 508-512.
- Shimoyama, A. Levine J. and Ponnampereuma, C.: 1976, "The Possible Effects of Clay on the Formation of Hydrocarbons under Prebiotic Conditions". Resumen, Congreso de la Sociedad Química Americana, Filadelfia, Penn., febrero 23-26.
- Simic, M., Neta, P., and Hayon, E.: 1969, "Pulse Radiolysis of Aliphatic Acids in Aqueous Solutions", *J. Chem. Phys.* 73, 4207-4213.
- Steenken, S.: 1975, : "Photofragmentation of alpha-oxo carboxylic Acids in Aqueous Solutions. An EPS Study. Formation of Semidione. Radicals by Dicarboxylative Substitution of Alpha-oxocarboxylic Acids by Acyl Radical II, Oxaloacetic Acid an Oxalosuccinic Acid", *Photochem. and Photobiol.* 22, 157-161.
- Stoops, C.E., and Furrow, C.L.: 1961, "Radiation Induced Reaction of Carbene Dioxide with Ethylene", *Science*, 134, 839-840.
- Sweeney, M.A., Toste, A.P., and Ponnampereuma, C.: 1975, "Formation of Amino Acids by Cobalt-60 Irradiation of Hydrogen Cyanide Solutions" in Press.

Yuen, C.U. Kvenvolden, K.A.: 1974, "Monocarboxylic Acids in Murray and Murchison Carbonaceous Meteorites", *Nature* 246, 301-303.

Whitehead, L.W., Goodman, C., and Breger, I.A.: 1951, "The Decomposition of Fatty Acids by Alpha Particules", *J. Chem. Phys.* 48, 184-189.