



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO
EN CIENCIAS QUÍMICAS

ESTUDIO TEÓRICO DE LA REACTIVIDAD DE LOS PRODUCTOS DE
OXIDACIÓN DE LA GUANINA Y SU IMPACTO EN EL DAÑO AL ADN.

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA:

M. EN C. SANDY MARÍA PACHECO ORTÍN

TUTOR: DR. RICARDO GAITÁN LOZANO FES-CUAUTITLÁN

MIEMBROS DE COMITÉ TUTOR
DR. RAÚL ÁLVAREZ IDABOY FACULTAD DE QUÍMICA-CU
DR. RODOLFO GÓMEZ BALDERAS FES-CUAUTITLÁN

MÉXICO, D.F ENERO 2015



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.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por: darme la mejor formación durante mis estudios de Doctorado y contribuir a mi desarrollo como investigadora.

Al Dr. Ricardo Gaitán Lozano tutor de mi Doctorado y director de esta tesis por: sus atenciones prestadas en el desarrollo del trabajo, su apoyo incondicional y principalmente por apoyarme en mi inserción a la vida académica universitaria. Y de investigación.

*Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para poder realizar este trabajo de investigación con el número de becario: **205404***

A la Dirección General de Cómputo y de Tecnologías de Información y Comunicación, por el apoyo en el uso de las supercomputadoras KanBalam y Miztlí.

Al posgrado en Ciencias Químicas por el apoyo administrativo que se me otorgó durante mi estancia como estudiante del programa.

A la Dra. Esther Agacino Valdés por sus importantes contribuciones y apoyo para el desarrollo de este trabajo además, por ser un ejemplo de constancia y trabajo como investigadora y docente. Gracias a su confianza, apoyo y orientación me ayudó a culminar lo que sólo había sido una aspiración y espero seguir aprendiendo gracias a los múltiples proyectos en conjunto.

A los sinodales de esta tesis por sus contribuciones: Dra. Ana Martínez Vázquez (UNAM-IIM), Dr. Juan Raúl Álvarez Idaboy (UNAM-FQ), Dr. Marcelo Enrique Galván Espinoza (UAM-I), Dr. Francisco Miguel Castro Martínez (UNAM-FQ) y Dr. Fernando Cortés Guzmán (UNAM-IQ)

Agradecimientos

Al Comité Tutor de mi tesis por sus importantes contribuciones Dr. Juan Raúl Álvarez Idábov (UNAM-FQ) y Dr. Rodolfo Gómez Balderas (UNAM-FESC).

Al Centro de Investigaciones Teóricas (CIT) por el espacio brindado para la realización de este proyecto.

Al Técnico Académico del Centro de Cómputo de la FESC el Ing. Moisés Hernández Duarte por su apoyo técnico brindado durante el desarrollo de este proyecto y por su amistad.

A mi Madre y a mi Padre, por apoyarme en este largo caminar a pesar de todas las dificultades que hemos enfrentado y hemos podido superar.

A mis hermanos Diego y Félix, mis primos Abraham, Reyna y Janette siempre pendientes de mis actos.

A Claudia Briones, Gloria Cruz, Luis Reyes y Marco Franco por su amistad.

Quiero agradecerte a ti Roberto Mejía Olvera por ser el mejor esposo, por tu comprensión, amistad, paciencia y sobre todo por tu AMOR. TE AMO.

Quiero de igual modo, hacer extensivo mi reconocimiento a todos los que no nombro pero que siempre me han apoyado y han compartido su amistad conmigo. Además quisiera agradecer a los que ya no están acompañándome en esta vida porque se adelantaron...

Dedicatorias

*A Roberto Mejía...
A mi Mamá, a mi Papá, Eli y Juanito*

*“... Se está acercando un día de abril
a los finales de noviembre.... ”*

Congresos y Publicaciones

Publicaciones en Revistas Internacionales

S. Pacheco-Ortín, R. Gaitán-Lozano, E. Agacino-Valdés "Possible DNA damage by oxidation products of Guanine: A DFT and Electron Propagator study" International Journal of Quantum Chemistry, 2012, 112, 2840–2847

Trabajos presentados en Congresos Internacionales

S. Pacheco, E. Agacino, R. Gaitán, "Cálculos y Predicciones de posible pareamientos bases nitrogenadas – productos de oxidación de la guanina en el ADN" XXXV Congreso de Químicos Teóricos de Expresión Latina (QUITEL 2011), 4-9 de diciembre del 2011, Riviera Maya, México. Cartel

Trabajos presentados en Congresos Nacionales

Participación en Séptima Reunión Mexicana de Fisicoquímica Teórica, Xalapa. Veracruz 13-15 de Noviembre 2008. Cartel profesional: "Estudio exploratorio de cálculos de índices de reactividad con diferentes tipos de moléculas dentro del formalismo de la TPE"

Participación en Séptima Reunión Mexicana de Fisicoquímica Teórica, Colima. 13-15 de Noviembre 2009. Cartel profesional: "Estudio de la 2,5-diaminoimidazolona (Iz) dentro del formalismo de la TPE"

Participación en Novena Reunión Mexicana de Fisicoquímica Teórica, Pachuca, Hidalgo. 11-13 de Noviembre 2010. Cartel profesional: "Estudio de la Spiroiminohidantoína (SpR y SpS) dentro del formalismo de la TPE"

Participación en Decima Reunión Mexicana de Fisicoquímica Teórica, Pachuca, Hidalgo. 10-12 de Noviembre 2011. Presentación Oral: "Posible daño en el ADN por productos de oxidación de la guanina: Estudio por funcionales de la densidad y el propagador electrónico"

Participación en QuimiUNAM 2011, Ciudad Universitaria 16-18 de Noviembre 2011. Presentación Oral "Estudio de la Spiroiminohidantoína (SpR y SpS) dentro del formalismo de la TPE"

- Participación en Onceava Reunión Mexicana de Fisicoquímica Teórica, Toluca, Edo. de México. 12-15 de Noviembre 2012. Estudio teórico de la posible participación de los productos de oxidación de la guanina Sp(R) y Sp(S) en la transversión G:C→T:A.

ÍNDICE

Abreviaturas	
Resumen	1
Abstrac	2
Capítulo 1 Introducción	
1.1 Antecedentes	3
1.2 Productos de Oxidación de la Guanina	5
1.3 Apareamientos de las Bases Nitrogenadas	6
Capítulo 2 Hipótesis y Objetivos	
2.1 Hipótesis	8
2.2 Objetivos General y Particulares	8
Capítulo 3 Generalidades y Formalismo	
3.1 Estructura del ADN	9
3.1.1 Bases Químicas de las transversiones	12
3.2 La Ecuación de Schrödinger	15
3.3 Teoría de Funcionales de la Densidad	18
3.3.1 Matriz de Densidad	19
3.3.2 Teorema de Hohenberg-Kohn	20
3.3.3 Teorema Variacional de Hohenberg-Khon	22
3.3.4 El método de Khon-Sham	22
3.3.5 La aproximación densidad local (LDA)	25
3.3.6 La aproximación del gradiente generalizado	26
3.4 Funciones Base	27
3.5 Teoría del Propagador Electrónico	30
3.6 Índices de Reactividad	33

Capítulo 4 Detalles Computacionales

4.1 Metodología	37
-----------------	----

Capítulo 5 Resultados y Discusión I

5.1 Validación del funcional de intercambio y correlación y la función base en de TFD	40
5.2 Potenciales de Ionización y Afinidades Electrónicas obtenidos con cálculos de TPE para Bases Nitrogenadas (BN)	41
5.3 Potenciales de Ionización y Afinidades Electrónicas obtenidos con cálculos de TPE para Productos de Oxidación de la Guanina (POG)	44
5.4 Índices de Reactividad para Productos de Oxidación de la Guanina (POG)	46

Capítulo 6 Resultados y Discusión II

6.1 Similitud en Apareamientos	48
--------------------------------	----

Conclusiones	62
---------------------	----

Bibliografía y Referencias

Abreviaturas

BN	Bases Nitrogenadas
POG	Productos de oxidación de la Guanina
T	Timina
A	Adenina
C	Citosina
G	Guanina, 2-amino-3,7-dihidropurin-6-ona
8OG	8-Oxo-7,8-dihidroguanina
Sp(R)	spiroiminodihidantoina; 2-imino-5,5-spirodihidantoina
Sp(S)	spiroiminodihidantoina; 2-imino-5,5-spirodihidantoina
TFD	Teoría de Funcionales de la Densidad
TPE	Teoría del Propagador Electrónico
VIP	Energía de Ionización Vertical
VEA	Afinidad Electrónica Vertical

Resumen

En el presente trabajo, se realizó un estudio sistemático a nivel teórico de reactividad de siete productos de oxidación de guanina (POG) que incluyeron a la 8-Oxo-7,8-dihidroguanina (8OG), junto con las cuatro bases nitrogenadas (BN) naturales, Adenina, Citosina, Guanina y Timina; las geometrías fueron optimizadas a nivel de la Teoría de Funcionales de la Densidad, utilizando el funcional de intercambio y correlación MPWB95 combinado con la función base 6-311++G (d, p).

Aplicando el formalismo de la Teoría del Propagador Electrónico (TPE) se obtuvieron los parámetros de energía vertical de ionización (VIP) y afinidad electrónica vertical (VEA) de los cuales se derivaron, los índices de reactividad electronegatividad, dureza y blandura. La TPE se utilizó debido a que proporciona valores de VIP/VEA muy cercanos a los experimentales y su formalismo se puede vincular con los índices de reactividad definidos en TFD. Dentro del formalismo de la TPE se utilizó la aproximación P3 porque mostró los errores absolutos más bajo respecto a los reportados experimentalmente para las BN naturales consideradas, en todos los cálculos el valor de fuerza del polo (PS) se mantuvo de 0,9 a 1, el cual indica una buena aproximación con el teorema de Koopmans.

La reactividad y estabilidad se determinó con base en parámetros de energía, como la energía de ionización vertical y afinidad electrónica vertical, de reactividad como la electronegatividad, dureza y blandura obtenidos a partir de los dos primeros parámetros energéticos.

Por otra parte, se presenta, una estrategia para estudiar las bases químicas de una transversión, en este caso GC \rightarrow TA, con fundamento en dos elementos: estudios de similitud estructural POG-BN y apareamientos POG:BN.

Abstract

In this work, a systematic study was carried out at a theoretical level of reactivity seven guanine oxidation products (GOP) involving 8-Ox-7,8-dihidroguanina (8OG), along with the four nitrogenous bases (NB) natural, adenine, cytosine, guanine and thymine, the geometries were optimized DFT level, using the exchange-correlation functional combined with the base 6-311++G (d,p) and MPWB95 function.

Applying the formalism of the theory of propagator electronic was obtained parameters as vertical ionization energy (VIP) and vertical electron affinity (VEA) of which they were derived reactivity indices as electronegativity, hardness and softness. The TPE was used because it provides values of VIP/ VEA are very close to the experimental and formalism can be linked to the reactivity indexes defined in DFT. Inside, the formalism of the PET P3 approximation was used because it showed the lowest absolute errors compared to those reported for natural BN experimentally considered in all calculations the value of pole strength from the (PS) remained 0.9 to 1 which indicates a good approximation to the Koopmans theorem.

The reactivity and stability was determined based on energy parameters, such as vertical ionization energy and vertical electron affinity, reactivity and electronegativity, hardness and softness obtained from the first two energetic parameters.

Moreover, a strategy is presented to study the chemical of a transversión, in this case GC \rightarrow TA , based on two elements : studies of structural similarity and pairings POG:BN POG: BN.

CAPITULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

En los últimos años del siglo XX, se generó una verdadera revolución en el campo de las investigaciones relacionadas con el *estrés oxidativo*, sobre todo debido a la relación que se cree que existe entre éste y el envejecimiento. Aunque este enigma aun no ha podido ser descifrado en un 100%, algunos resultados permiten establecer que la mayoría de las enfermedades tienen su origen por un desequilibrio entre fenómenos de oxidación y reducción del cuerpo humano llamándosele a este efecto estrés oxidativo.

Por tanto, podemos definir el *estrés oxidativo*, como “una perturbación del equilibrio entre sustancias favorecedoras de procesos de oxidación y sustancias no favorecedoras, es decir, antioxidantes, con un desplazamiento a favor de los primeros. Esta alteración puede dar lugar a cambios estructurales en las biomoléculas” como por ejemplo en el Ácido Desoxirribonucleico (ADN), causando el conocido *daño al ADN*.

Por tanto, el reto actual de la ciencia en esta área del conocimiento es generar terapias farmacológicas que ayuden a las células a recuperar su capacidad de reparación del ADN. Recientes investigaciones sobre el genoma humano han considerado de gran interés el estudio de la alteración en el balance oxido-reducción que lleva a un estado de estrés oxidativo [1], el cual se caracteriza por un aumento en el nivel de radicales libres y especies reactivas, al punto que ya no pueden ser contrarrestados por los mecanismos de defensa antioxidantes, produciéndose diversos daños y muerte celular. Estas especies oxidantes pueden provenir de los procesos normales del organismo, como el metabolismo de los alimentos, la respiración o de elementos del medio ambiente que crean radicales libres, como los procesos industriales y los gases que emergen del escape de los coches (CO, NO_x), el tabaco (NO, OH⁻, H₂O₂, etc.), la radiación (UV), medicamentos, aditivos químicos en los alimentos procesados y pesticidas; en tal caso se denominan agentes endógenos y exógenos.

En particular, la oxidación del ADN causada por agentes oxidantes endógenos y exógenos, incitan alteraciones anormales causando enfermedades, como cáncer [2-4], síndromes neurológicos como Alzheimer [5] y esclerosis lateral amiotrófica [6]. Así, el *daño en el ADN* es el resultado biológico de mutaciones producidas por sustituciones, inserciones o eliminaciones y recombinaciones erróneas, que involucran a las bases nitrogenadas (BN), Adenina(A), Guanina (G), Citosina(C) y Timina (T), e impactan fundamentalmente en los sitios de apareamiento. En la figura 1.1 se muestran las estructuras químicas de estas bases nitrogenadas.

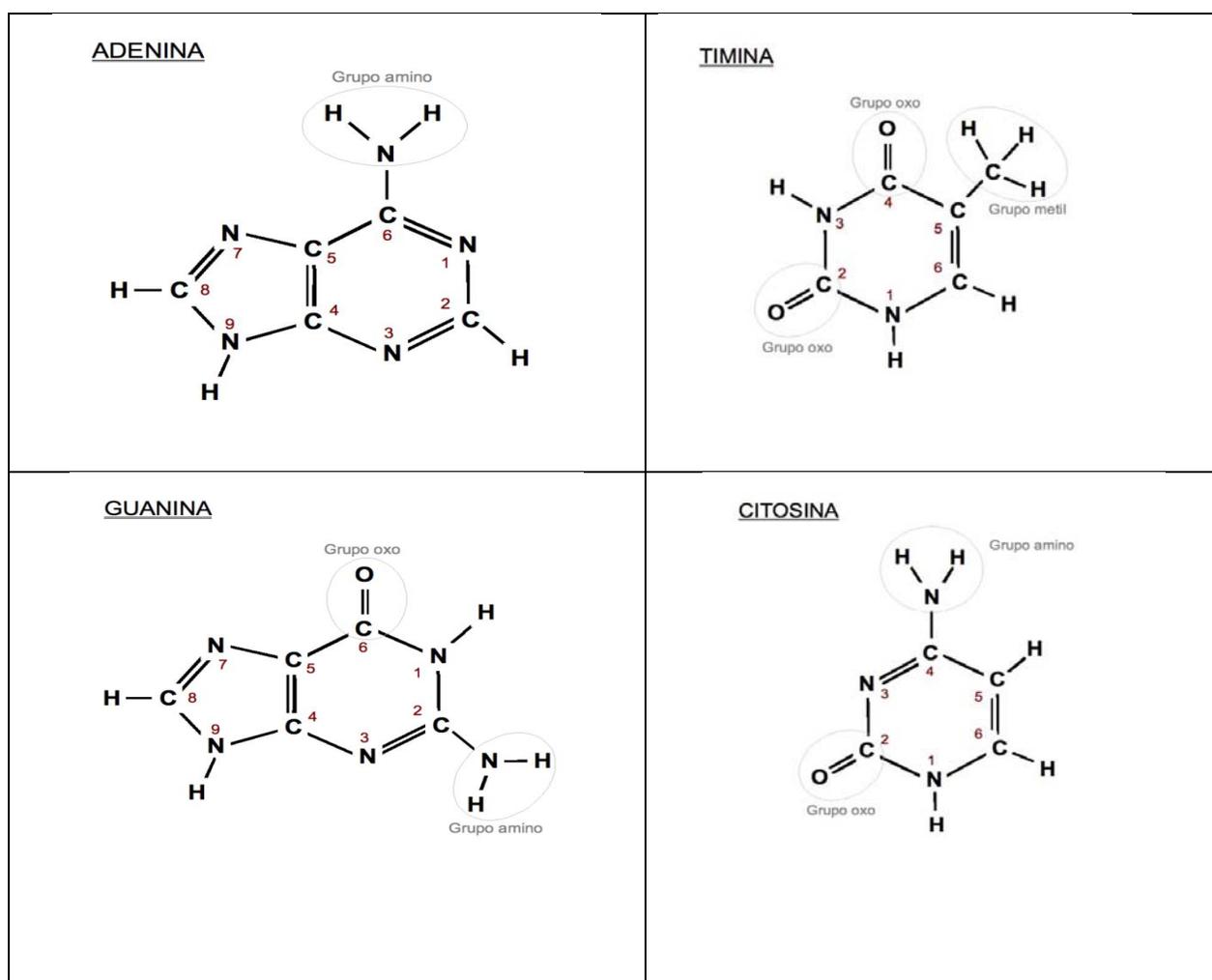


Figura 1.1 Bases nitrogenadas

En las últimas décadas del siglo pasado, algunos grupos de investigación comenzaron a reportar la existencia de ciertas sustancias derivadas de la oxidación fundamentalmente de la Guanina [7], lo cual puede ser explicado si tenemos en cuenta que esta BN es la más susceptible a la oxidación debido a que presenta el potencial de ionización (PI) más bajo respecto a las otras bases [8]. Uno de los primeros productos de oxidación de la guanina (POG) identificado fue la 7,8-dihidro-8oxoguanina (8OG) [9] y comenzó a relacionarse la presencia de estos productos de oxidación en la estructura del ADN con la causa de algunas de las mutaciones ya señaladas y del llamado *daño u oxidación del ADN*.

1.2 Productos de Oxidación de la Guanina (POG)

Recientemente se han identificado algunos POG, los cuales pueden o no tener a la 8OG como intermediario; en este sentido, ya han sido propuestos diversos mecanismos de oxidación [10]. En la década de los 90, Cadet et al. caracterizaron, la 2-aminoimidazolona (Iz) y la 2,2,4-triamino-2H-oxazol-5-ona (Oz) las cuales pueden ser obtenidas por la acción de radiación gamma (γ) y por la presencia de oxígeno singulete [11]; más tarde, ellos sugirieron que Iz y Oz derivados de la presencia de oxígeno singulete, incluían a la 8OG como intermediario [12]. Katsuhito y Saito encontraron que Iz se produce como producto mayoritario y la 8OG es solo un producto menor; se confirmó además, que la formación de Iz ocurría por foto oxidación en presencia de riboflavina, y después de un análisis cuantitativo, se encontró que el 25% de la Iz producida, estaba basado en el consumo de los residuos de la Guanina, y que la 8OG solo se obtuvo en una proporción de sólo el 1.5% después de un periodo de irradiación[13];este trabajo de Katsushito y Saito en 1998, confirmó la hipótesis acerca de que la 8OG puede oxidarse a otros productos.

En los años siguientes, Luo et al. propusieron que la riboflavina podía también formar Oz, además de 8OG e Iz [14]. Otros dos POG, la 5-guanidinohidantoina (Gh) y la 2-imino-5,5'-spirodihidantoina (Sp) fueron estudiadas bajo diferentes condiciones de oxidación, como un proceso electroquímico [15], en presencia de oxígeno singulete [16] o de radical de carbonato [17]. William y et al. en un trabajo de 2006, han recolectado y resumido las principales propuestas acerca de los mecanismos de oxidación de los POG; en este trabajo puede confirmarse, que en algunos casos está presente la 8OG como un intermediario y en otros no [18].

1.3 Apareamiento de las Bases Nitrogenadas (BN)

La oxidación del ADN puede producirse a través de sus bases nitrogenadas e impactar en el apareamiento existente entre estas, lo cual es de suma importancia en los procesos de la transcripción y la replicación de este. Como es conocido, la estructura de doble hélice del ADN planteada por Watson y Crick a partir de los trabajos previos de E. Chargaff, fue publicada por la revista Nature en su número 4356 en 1953 titulado "A structure for deoxyribose nucleic acid", establece como elemento estructural clave que las dos hebras del ADN se mantienen unidas por los puentes de hidrógeno entre las bases nitrogenadas, que a su vez forman parte de una estructura llamada nucleótido (Base nitrogenada + azúcar + grupo fosfato). Los pares de bases están formados siempre por una purina y una pirimidina, de forma que ambas cadenas están siempre equidistantes, a unos 11 Å una de la otra. Los pares de bases adoptan una disposición helicoidal en el núcleo central de la molécula, ya que presentan una rotación de 36° con respecto al par adyacente, de forma que hay 10 pares de bases por cada vuelta de la hélice. La Adenina (A) se aparea siempre con la Timina (T) mediante dos puentes de hidrógeno, mientras que la Citosina (C) se empareja siempre con la Guanina (G) por medio de 3 puentes de hidrógeno; y es precisamente la secuencia en la cual se encuentran las bases a lo largo de la molécula de ADN lo que permite la transmisión de la información genética durante el proceso de replicación del ADN. Aunque la réplica del ADN y la posterior transcripción de la información genética de la que es portador; durante la síntesis del mRNA se hace con gran fidelidad, el estrés oxidativo puede producir errores; dentro de estos errores tenemos la sustitución de una purina por otra, o una pirimidina por otra (Transición) o la sustitución de una purina por una pirimidina (Transversión). Por todo lo anterior, los apareamientos tipo Watson-Crick [(A-T) y (G-C)] han sido muy estudiados, con el objetivo de conocer cuáles son los posibles transversiones que pueden producirse en ellos y cómo se originan. Actualmente está bien documentado que los POG incluyendo la 8OG son causantes de algunas transversiones; por ejemplo, existen reportes experimentales en los que se ha mostrado que la Sp podría participar en las transversiones GC → TA [5]. En estas transversiones Sp ha ocupado el lugar de G y durante la réplica del ADN, la Adenina se inserta incorrectamente, pareándose con Sp. Este fenómeno de transversión nos lleva a plantear una hipótesis: Al parecer los Sp en sus dos formas conformacionales (S y R) podrían, (i) formar apareamientos estables con las base nitrogenada adenina; (ii) presentar cierta semejanza estructural con la Timina, razón por la que en el proceso de

transcripción, la adenina se inserta por error. Si la célula no repara los cambios y el error entra en el proceso de duplicación, el cambio se fija y se vuelve permanente; entonces, el gen modificado puede ahora codificar una proteína diferente, y si este es el caso, se dice que ha tenido lugar una mutación génica. Estos estudios, podrían dar un enfoque químico al problema, y contribuir junto con los proyectos de Genoma Humano, al desarrollo de nuevos sistemas de diagnóstico y tratamiento de enfermedades genéticas, incluida la terapia génica.

De acuerdo con la hipótesis anterior, no sólo es importante estudiar los apareamientos correctos establecidos por la naturaleza, sino que también deben estudiarse los apareamientos entre los POG y las bases nitrogenadas, y su semejanza estructural y reactividad en el contexto de una transversión en particular. Estudios de esta naturaleza, podrían aportar conocimiento básico sobre este tipo de *daño del ADN* para ser utilizado posteriormente en el diseño de terapias farmacológicas. Sin embargo, no se han reportado investigaciones de esta clase, con un carácter sistemático; solo algunos trabajos aislados de algunos POG y su reactividad en relación con ciertas bases nitrogenadas. Por ello, nos propusimos trabajar en esta línea de investigación.

CAPITULO 2

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 Hipótesis

Las transversiones, un tipo de mutación que provoca daño del ADN, pudieran tener bases químicas y estar relacionadas con errores de apareamiento donde se estarían sustituyendo bases nitrogenadas por otros productos de oxidación derivados de la guanina con semejanza estructural con las primeras. Particularmente la semejanza estructural entre el producto de oxidación 2-imino-5,5-spirodihidantoina (R y S) y la Timina, puede ser la causa por la que en el proceso de transcripción, la adenina se aparee al producto y este producto de apareamiento, al ser estable con esta base nitrogenada induce la transversión G:C →T:A

2.2 Objetivo General

Estudiar la naturaleza química de la transversión G:C-T:A generada por la presencia de la 2-imino-5,5-spirodihidantoina (Sp), un producto de oxidación de la Guanina y establecer la posible semejanza estructural entre la Sp y T con la cual se conduce la transversión

2.3 Objetivos Particulares

- Con moléculas de prueba, seleccionar la combinación del funcional y función base que se utilizará en el sistema en estudio, mediante cálculos de TFD.
- Comparar las reactividades de las BN y POG, calculando sus índices de reactividad (dureza/blandura y electronegatividad molecular) derivados de los potenciales de ionización y afinidades electrónicas obtenidos de la TPE.
- Buscar las posibles semejanzas estructurales y/o electrónicas entre Sp (R y S) y la Timina.
- Modelar y calcular los apareamientos T:A y Sp(R y S):A, para encontrar sus posibles semejanzas estructurales y/o electrónicas.

CAPITULO 3

GENERALIDADES

3.1 Estructura del ADN

La estructura del ADN [18-20] en doble hélice fue propuesta por James Watson y Francis Crick en el año 1953 la cual fue evidenciada por la "fotografía 51" la cual es una imagen del ADN obtenida por Rosalind Franklin mediante difracción de rayos X en 1952; por la trascendencia de este hallazgo fueron galardonados en 1962 (junto con Maurice Wilkins) con el Premio Nobel de Medicina.

En la Figura 3.1 observamos a la unidad básica del ADN (y del ARN) que es el nucleótido, el cual está formado por una base nitrogenada (púrica o pirimidínica), un azúcar pentosa: desoxirribosa en el ADN y ribosa en el ARN, y una molécula de ácido fosfórico. Una hebra de ADN está formada por una secuencia de nucleótidos unidos mediante un enlace fosfodiéster formado por la unión de un grupo $-OH$ del fosfato y otro grupo $-OH$ del azúcar, con pérdida de una molécula de agua y formación de un enlace estable: $(-P-O-CH_2-)$ en los que el hidroxilo en posición 5' de la molécula de fosfato de un nucleótido está unido al grupo hidroxilo en 3' del azúcar del nucleótido siguiente. La molécula de ADN está integrada por dos hebras en forma de doble hélice antiparalela (Fig.3.2). El concepto de antiparalelas significa que sus enlaces 5'–3' fosfodiéster tienen direcciones opuestas.

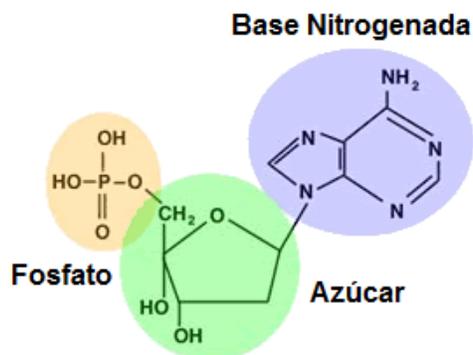


Figura 3.1 Estructura del Nucleótido

En las dos hebras las bases se unen de forma estructural complementaria mediante puentes de hidrógeno que, al no ser enlaces covalentes, se rompen y regeneran con gran facilidad; como ya se señaló anteriormente, en el apareamiento (G–C) la unión se produce por tres puentes de hidrógeno y (A–T) por dos puentes de hidrógeno, lo cual se puede observar en la Fig.3.3. Una vuelta completa de la hélice del ADN incluye 10 nucleótidos y tiene una longitud de 4,3 nm.

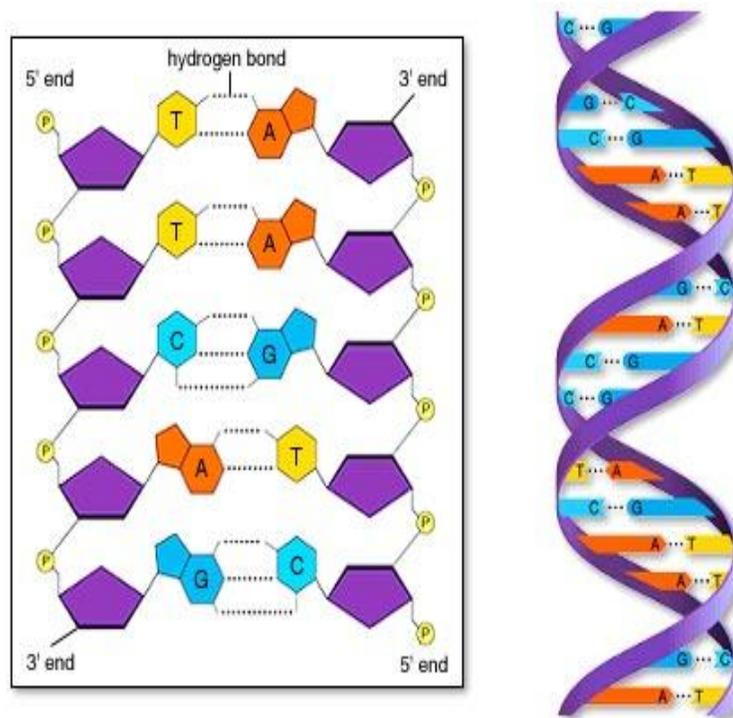


Figura 3.2 Estructura de ADN

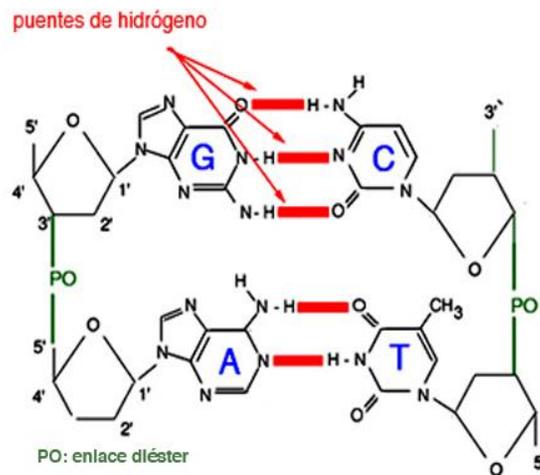


Figura 3.3 Pareamiento de Bases Nitrogenadas (BN)

La característica fundamental del ADN es su capacidad de replicación, la cual se ocurre cuando las dos hebras de ADN se separan y cada hebra independiente sirve de molde para la síntesis de otra hebra complementaria mediante el apareamiento de bases: G–C y A–T, con el resultado final de una replicación de éste. De un segmento de ADN se derivan segmentos idénticos con la ayuda de la enzima de ADN-polimerasa la cual interviene en el proceso de replicación. En la Figura 3.4 podemos observar este mecanismo el cual es la base de la herencia biológica. La función principal de la secuencia de bases a lo largo de la hebra de ADN es almacenar y transmitir la información genética para codificar la síntesis de todas las proteínas del cuerpo humano.

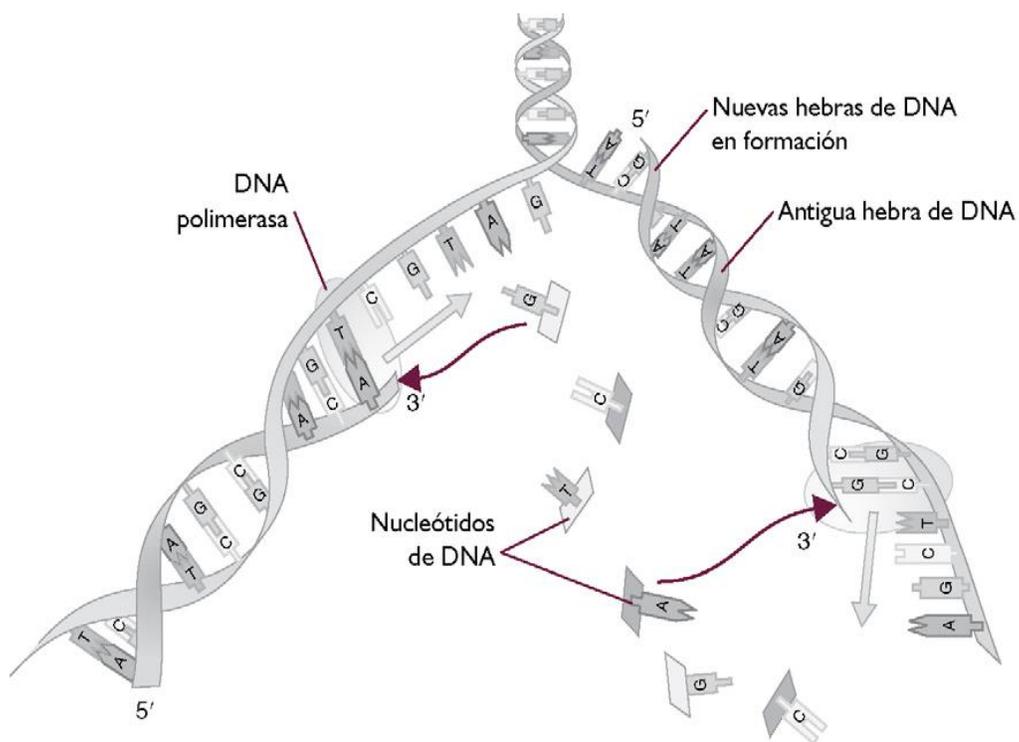


Figura 3.4 Replicación del ADN

Tomado de Jorde LB, Bamshad MJ, Carey JC y White RL. *Genética Médica*. 3a ed. Madrid: Elsevier, 2004.

3.1.1 Bases Químicas de las Transversiones

Una mutación se define como cualquier cambio en la secuencia de un nucleótido o en la organización del DNA. Las mutaciones pueden clasificarse en tres categorías:

- Las que afectan el número de cromosomas en la célula (**mutaciones genómicas**),
- Las que alteran la estructura de un cromosoma en concreto (**mutaciones cromosómicas**) y,
- Las que alteran genes concretos (**mutaciones génicas**).

Las mutaciones cromosómicas son cambios que implican sólo una parte de un cromosoma, como las duplicaciones o triplicaciones parciales, las deleciones (perdida de un fragmento de ADN del cromosoma), las inversiones y las translocaciones (cambio de posición del genoma), que pueden ocurrir de manera espontánea o ser el resultado de una segregación anómala de un cromosoma durante la meiosis. Las mutaciones génicas son cambios en la secuencia del DNA de los genomas del núcleo o la mitocondria, que van desde una modificación tan pequeña como la de un solo nucleótido hasta cambios que pueden afectar a muchos millones de pares de bases, incluidas las sustituciones de pares de bases, las inserciones y las deleciones; éstas se originan mediante dos mecanismos básicos: errores producidos durante el proceso normal de replicación del DNA o mutaciones ocasionadas por un fallo en la reparación del DNA dañado, al intentar dejar su secuencia tal como era antes del daño. Como ya se señaló, algunas mutaciones son espontáneas, mientras que otras son inducidas por agentes físicos o químicos denominados **mutágenos**, porque incrementan mucho la frecuencia de mutaciones.

En la figura 3.5 se muestran los tipos de **sustituciones** de pares de bases las cuales pueden ser;

- **Transiciones:** cambio en un nucleótido de una base púrica por otra púrica o de una pirimidínica por otra pirimidínica.
- **Transversiones:** cambio de una base púrica por una pirimidínica o viceversa.

La **pérdida o inserción** de nucleótidos, lo que induce a un corrimiento en el orden de lectura. Pueden ser;

- **Adiciones génicas:** inserción de nucleótidos en la secuencia del gen.
- **Deleciones génicas:** pérdida de nucleótidos

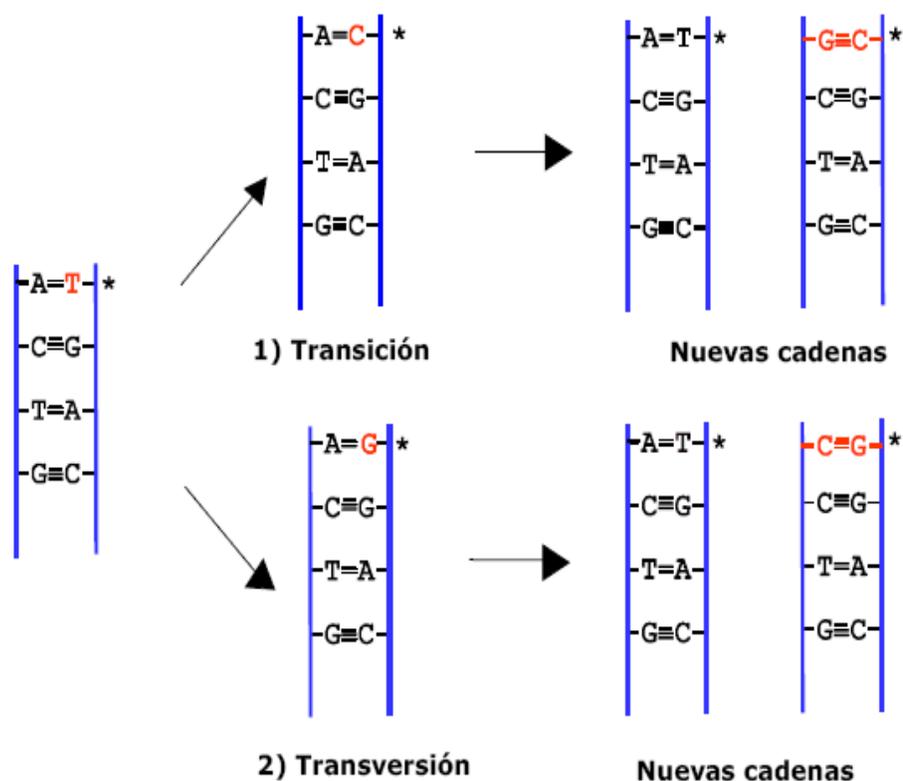


Figura 3.5 Mutaciones por transversión y transición

Dentro de las especies oxidantes que pueden causar mutaciones del tipo de las transversiones, tenemos las especies de oxígeno reactivas como los superóxidos, peróxidos y los radicales hidroxilo, producidos por la reducción incompleta de oxígeno en los procesos metabólicos aeróbicos [21]. En 1991, varios autores señalaron que la 8OG, (generada por oxidación de la guanina), podía ser la responsable de que se produjera una inserción errónea de Adenina, con lo cual quedaría en posición opuesta, formando el apareamiento 8OG:A [22-23], que conduciría finalmente, en un intento de reparación, a la inserción de la Timina y a la transversión G:C → T:A.

Un año después, en 1992, Grollman y co. encontraron que la proteína MutY es parte de un sistema de reparación dirigido contra las lesiones que provoca la 8OG, con la función específica de remover la Adenina insertada erróneamente [23]. En ese mismo año, Loeb y co. [24] mostraron que el azul de metileno y una fuente de luz conteniendo oxígeno singulete, causaban un daño en el ADN por una lesión *no identificada*, que inducía mutaciones de las cuales el 66% eran G:C → C:G y el 27% G:C → T:A [25].

Sugden y Martin establecen en 2002, que en una posterior oxidación, la 8OG podía producir otros productos de oxidación [26], y en ese mismo año se reporta un aumento de la velocidad de las transversiones G:C → T:A y G:C → C:G por la presencia de Gh (y su isómero Ia) y Sp, respecto a la velocidad de las mismas con la sola presencia de la 8OG [24]. Los estudios acerca de la participación de los POG de la guanina en las transversiones, permitieron establecer que en presencia de Sp y Gh, la enzima polimerasa inserta predominantemente Adenina y Guanina, provocando las dos transversiones ya mencionadas [26-27]. En 2005, Sugden, Martin y co. [26] identificaron dos enzimas que podían reconocer y remover del ADN a los productos de oxidación ya señalados. Sin embargo, la capacidad mutagenética de Sp y Gh ha sido puesta en duda, al reportarse [28] que su contribución a la transversión G:C → T:A es mínima y que fundamentalmente esta transversión se debe a la 8OG. Este trabajo provoca una controversia acerca de la importancia de Sp y Gh en la transversión mencionada

FORMALISMO

3.2 La ecuación de Schrödinger

A pesar de que desde el siglo XVII la Física contaba con una teoría, la Mecánica Clásica, que describía las leyes del movimiento de los objetos macroscópicos, conforme los científicos se fueron adentrando en el estudio de fenómenos a nivel atómico y molecular, se hizo cada vez más necesaria una nueva teoría que explicara las inconsistencias que se iban observando entre los resultados de las mediciones y las predicciones que hacía la teoría existente. Es así como surge la Mecánica Cuántica, fundamentada en una serie de postulados.

Esta teoría brindó a la Química un formalismo matemático que permitió redefinir el concepto de enlace químico, describir la estructura electrónica de los átomos y las moléculas, calcular propiedades moleculares y finalmente predecir y explicar la reactividad, actividad catalítica y actividad biológica de las sustancias, derivándose de ésta forma la Química Cuántica.

La ecuación fundamental de la Química Cuántica es la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo:

$$\hat{H} \Psi(r, R) = E \Psi(r, R) \quad (3.1)$$

donde \hat{H} se le conoce como el operador Hamiltoniano, en honor del físico irlandés Hamilton y su formulación corresponde a un sistema molecular de M núcleos y N electrones. $\Psi(r, R)$ es la función de onda que depende de las coordenadas de los electrones (r) y de los núcleos (R) y E es la energía. La expresión para \hat{H} es:

$$\hat{H} = \hat{T}_N + \hat{T}_e + \hat{V}_{NN} + \hat{V}_{ee} + \hat{V}_{Ne} \quad (3.2)$$

donde \hat{T}_N es la energía cinética nuclear, \hat{T}_e la energía cinética electrónica, \hat{V}_{NN} la energía interacción núcleo-núcleo, \hat{V}_{ee} la energía interacción electrón-electrón y \hat{V}_{Ne} la energía interacción núcleo-electrón, respectivamente.

Los términos de energía cinética, tanto la nuclear como la electrónica, expresados en unidades atómicas, tienen la forma:

$$\hat{T} = -\frac{1}{2} \sum_i \frac{\nabla_i^2}{M_i} \quad (3.3)$$

donde M_i es la masa de la partícula en cuestión y ∇_i^2 es el operador Laplaciano. Dado que la masa de los núcleos es mucho más grande que la de los electrones, los electrones se mueven mucho más rápidamente que aquellos y podemos suponer que los núcleos están fijos. Esto nos permite separar el movimiento de los núcleos de los electrones, dando lugar a la aproximación de *Born-Oppenheimer*.

La aproximación de Born-Oppenheimer supone que la variación de la función de onda electrónica con la posición de los núcleos es nula, por lo cual se trabajará con un Hamiltoniano electrónico. Dado un sistema de M núcleos y N electrones, el problema consiste en resolver la Ecuación de Schrödinger, con un Hamiltoniano electrónico; por tanto tendremos:

$$\hat{H}_{el} \Psi_{el}(r, R) = E_{el}(R) \Psi_{el}(r, R), \quad (3.4)$$

donde, Ψ_{el} depende funcionalmente de las coordenadas de los electrones y paramétricamente de los núcleos; por su parte E_{el} depende de las coordenadas de los núcleos. Para un sistema de M núcleos y N electrones, expresados en unidades atómicas, el hamiltoniano electrónico viene dado por:

$$\hat{H}_{el} = \hat{T}_e + \hat{V}_{ee} + \hat{V}_{Ne} = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \nabla_i^2 - \sum_{\alpha=1}^M \sum_{i=1}^N \frac{Z_{\alpha}}{r_{i\alpha}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>1}^N \frac{1}{r_{ij}} \quad (3.5)$$

A partir de la ecuación 2.4 se obtiene la energía electrónica $E_{el}(R)$ y añadiendo la energía de interacción núcleo-núcleo V_{NN} , se obtiene la energía potencial del sistema, $U(R)$:

$$U(R) = E_{el}(R) + V_{NN} \quad (3.6)$$

La presencia de términos bielectrónicos en la expresión de \hat{H}_{el} hace que no sea posible resolver la ecuación de Schrödinger electrónica de manera exacta, por lo que es necesario usar aproximaciones. Una de las formas de tratar la Ecuación de Schrödinger independiente del tiempo es a través del Método Variacional.

El teorema variacional señala que dado un sistema cuyo operador Hamiltoniano H es independiente del tiempo y cuyo valor propio de la energía más bajo es E_0 , si ψ es una función de prueba, dependiente de las coordenadas del sistema, normalizada, bien comportada y que satisface las condiciones límites del sistema, entonces:

$$E_i \equiv \int \psi^* H \psi dV \geq E_0, \quad (3.7)$$

que es la integral variacional [29]. Haciendo la variación respecto de ciertos parámetros en la función ψ de forma que se minimice la integral variacional, obtendremos un valor de energía E_i muy cercano al valor E_0 . Para una molécula, si definimos ψ como una combinación lineal de funciones base que describen los orbitales atómicos de los átomos que la forman:

$$\Psi = \sum c_j \chi_j, \quad (3.8)$$

la variación de los coeficientes c_j para minimizar la integral variacional, conduce a la ecuación secular: $(H_{ij} - S_{ij}E) = 0$, cuyas raíces darán los límites superiores a los n valores propios de energía, los que a su vez permitirán calcular los coeficientes y obtener la función Ψ mejorada. Un procedimiento sistemático para obtener las soluciones E_i y Ψ_i mejoradas fue introducido por Hartree en 1928 y es conocido como el método del campo autoconsistente (SCF) [30]. Las ecuaciones de Hartree-Fock con la función ϕ_{molec} representada como un producto antisimetrizado espín-orbital (determinante de Slater) y considerando la ec. 3.8, conducen a las ecuaciones de Roothaan, las cuales por un procedimiento SCF nos dan las soluciones (c_j y E_j).

En la aproximación de Hartree-Fock (HF) el tratamiento de la correlación electrónica no es considerando, por lo cual han surgido varias alternativas para su solución y una de ellas, que además aumenta la eficiencia computacional de los cálculos, es la Teoría de Funcionales de la Densidad (TFD).

3.3 Teoría de Funcionales de la Densidad

La Teoría del Funcional de la Densidad (TFD) representa una forma alternativa de los métodos ab initio convencionales de introducir los efectos de la correlación electrónica en la resolución de la ecuación de Schrödinger electrónica [31].

De acuerdo con la TFD, la energía del estado fundamental de un sistema polielectrónico puede expresarse a partir de la densidad electrónica, y de hecho, el uso de la densidad electrónica en lugar de la función de onda para el cálculo de la energía constituye la base fundamental de la TFD.

La fórmula matemática exacta que relaciona la energía con la densidad electrónica no es conocida, y es necesario recurrir a expresiones aproximadas. Estas expresiones proporcionarían resultados sorprendentemente buenos si uno las considera. Consideremos un sistema de N electrones descrito por una función de onda $\Psi(x_1, x_2, \dots, x_N)$ normalizada a la unidad. El producto $\Psi(x_1, x_2, \dots, x_N) \Psi^*(x_1, x_2, \dots, x_N) dx_1 dx_2 \dots dx_N$ nos da la probabilidad de encontrar el electrón 1 entre x_1 y $x_1 + dx_1$, el 2 entre x_2 y $x_2 + dx_2$, ..., y el N entre x_N y $x_N + dx_N$. La probabilidad de encontrar un electrón entre x_1 y $x_1 + dx_1$, independientemente de donde se encuentre el resto vendrá dada por:

$$d x_1 \int \Psi(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_N) \Psi^*(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_N) d \vec{x}_2 \dots d \vec{x}_N \quad (3.9)$$

y dado que los electrones son indistinguibles:

$$\rho(\vec{x}_1) d \vec{x}_1 = N \int \Psi(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_N) \Psi^*(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_N) d \vec{x}_2 \dots d \vec{x}_N \quad (3.10)$$

nos da la probabilidad de encontrar un electrón entre x_1 y $x_1 + dx_1$ independientemente de donde se encuentre el resto, $\rho(x)$ es la denominada función densidad. Integrando respecto a la coordenada de espín se obtiene la densidad electrónica, $\rho(r)$

$$\rho(\vec{r}_1) = \int \rho(\vec{x}_1) ds_1 = N \int \Psi(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_N) ds_1 d \vec{x}_2 \dots d \vec{x}_N \quad (3.11)$$

y dado que Ψ está normalizada se debe cumplir que:

$$\int \rho(\vec{r}) d\vec{r} = N \quad (3.12)$$

3.3.1 Matriz Densidad

Para ciertas aplicaciones es conveniente trabajar con la denominada matriz densidad de primer orden o de Fock-Dirac que se define según:

$$\rho_1(\vec{x}_1, \vec{x}'_1) = N \int \Psi(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_N) \Psi^*(\vec{x}'_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_N) d\vec{x}_2, \dots, d\vec{x}_N \quad (3.13)$$

integrando respecto a la coordenada del espín se obtiene la matriz densidad de primer orden:

$$\rho_1(\vec{r}_1, \vec{r}'_1) = \int \rho_1(\vec{x}_1, \vec{x}'_1) ds_1 ds'_1 \quad (3.14)$$

A diferencia de las funciones densidad, los elementos de las matrices densidad no tienen significado físico, salvo los términos diagonales, que en el caso de la matriz densidad reducida de primer orden coinciden con la densidad electrónica.

$$\rho(\vec{r}_1, \vec{r}_1) = p(\vec{r}_1) \geq 0 \quad (3.15)$$

La suma de los elementos de las matrices densidad de primer orden, que es una integral por el carácter continuo de la matriz, nos da el número total de electrones tal como se desprende de la ecuación:

$$\rho_1 = \int \rho(\vec{r}_1, \vec{r}'_1) d\vec{r}_1 = \int \rho(\vec{r}_1) d\vec{r}_1 = N \quad (3.16)$$

De forma equivalente pueden definirse matrices densidad de orden superior a uno. La más interesante es la matriz de segundo orden que se define a partir de la siguiente expresión:

$$\gamma_2(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \vec{x}_1', \vec{x}_2') = N(N-1) \int \Psi(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \dots, \vec{x}_N) \Psi^*(\vec{x}_1', \vec{x}_2', \dots, \vec{x}_N) d\vec{x}_3, \dots, d\vec{x}_N \quad (3.17)$$

integrando respecto a las coordenadas de espín se obtiene la matriz densidad reducida de segundo orden

$$\gamma_2(\vec{r}_1, \vec{r}_2; \vec{r}_1', \vec{r}_2') = \int \gamma_2(\vec{x}_1, \vec{x}_2; \vec{x}_1', \vec{x}_2') ds_1 ds_2' ds_2 ds_2' \quad , \quad (3.18)$$

al igual que en caso anterior, por un lado sólo los términos diagonales tienen significado físico, y por otro, la matriz nos da el número total de pares de electrones

$$\gamma_2(\vec{r}_1, \vec{r}_2; \vec{r}_1, \vec{r}_2) = \gamma_2(\vec{r}_1, \vec{r}_2) \quad (3.19 a)$$

$$\gamma_2 = \int \gamma_2(\vec{r}_1, \vec{r}_2; \vec{r}_1', \vec{r}_2') d\vec{r}_1 d\vec{r}_2 = \int \gamma_2(\vec{r}_1, \vec{r}_2) d\vec{r}_1 d\vec{r}_2 = N(N-1) \quad (3.19 b)$$

3.3.2 Teorema de Hohenberg-Kohn

En 1964, Pierre Hohenberg y Walter Kohn [32-33] probaron que para moléculas con estado fundamental no degenerado, la energía molecular del estado fundamental, la función de onda y todas las demás propiedades electrónicas, están determinadas unívocamente por la densidad de probabilidad electrónica del estado fundamental $\rho_0(x, y, z)$, una función que depende únicamente de tres variables.

Se dice que la energía electrónica del estado fundamental E_0 es un funcional de ρ_0 y se escribe $E_0 = E_0[\rho_0]$, donde los corchetes denotan la relación funcional. La *teoría de funcionales de la densidad* (TFD) intenta calcular E_0 y otras propiedades moleculares del estado fundamental a partir de la densidad electrónica del estado fundamental ρ_0 .

La energía está dada por integrales, en las que el integrando se expresa en términos de la densidad electrónica. Por lo cual la energía es un número cuyo valor depende de los

valores de la densidad electrónica en todos los puntos del espacio; este tipo de relación matemática se le llama funcional.

La demostración del teorema de Hohenberg es como sigue. La función de onda electrónica del estado fundamental, ψ_0 , para n -electrones, es una función propia del Hamiltoniano puramente electrónico:

$$\hat{H} = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \nabla_i^2 + \sum_{i=1}^n v(r_i) + \sum_j \sum_{i>j} \frac{1}{r_{ij}} \quad (3.20)$$

donde:

$$v(r_i) = -\sum_{\alpha} \frac{z_{\alpha}}{r_{i\alpha}} \quad (3.20a)$$

$v(r_i)$ es la suma de los términos de interacción electrón - núcleo de los $n-1$ electrones actuando sobre el electrón i . La cantidad $v(r_i)$, depende de las coordenadas x_i, y_i, z_i del electrón i y de las coordenadas nucleares. Ya que la ecuación de Schrödinger se resuelve para posiciones fijas de los núcleos, las coordenadas nucleares no son variables para la ecuación de Schrödinger electrónica.

Una vez que se han especificado el potencial externo, $v(r_i)$, y el número de electrones, se determinan las funciones de onda electrónicas y las energías permitidas de la molécula como soluciones de la ecuación de Schrödinger electrónica.

Hohenberg y Kohn demostraron [34] que para sistemas con un estado fundamental no degenerado, la densidad de probabilidad electrónica del estado fundamental, $\rho_0(r)$, determina el potencial externo (excepto en una constante aditiva arbitraria) y determina el número de electrones. Su teorema puede resumirse así: *“Cualquier estado estacionario fundamental no degenerado puede ser calculado, en principio de forma exacta, a partir de la densidad electrónica de este estado fundamental; esto es, cualquier observable⁽¹⁾ puede escribirse como un funcional de la densidad electrónica del estado fundamental.”*

⁽¹⁾ Observable: propiedad del sistema

3.3.3 Teorema variacional de Hohenberg-Kohn

Hohenberg y Kohn demostraron que para toda función densidad de prueba $\rho_{pr}(r)$ que satisface $\int \rho_{pr} = n$ y $\rho_{pr}(r) \geq 0$ para todo r , es válida la siguiente expresión:

$$E[\rho_{pr}] \geq E[\rho_0] = E_0 \quad (3.21)$$

donde ρ_0 es la verdadera densidad electrónica del estado fundamental; la verdadera densidad electrónica del estado fundamental minimiza el funcional energía $E_v(\rho_{pr})$.

Por tanto, la densidad electrónica de un estado fundamental no-degenerado puede ser calculada, en principio de forma exacta, determinando aquella densidad que minimiza la energía del estado fundamental.

3.3.4 El método de Kohn-Sham

En 1965, Kohn y Sham [34] idearon un método práctico para obtener ρ_0 y para obtener E_0 a partir de ρ_0 . Su método es capaz de obtener resultados exactos, pero debido a que las ecuaciones involucradas contienen un funcional desconocido que debe aproximarse, la formulación de Kohn-Sham (KS) del DFT da lugar a resultados aproximados.

Kohn y Sham consideraron un sistema de referencia (denotado mediante el subíndice s y llamado a menudo sistema no interactuante) de n electrones no interactuantes que experimentan todos ellos la misma función de energía potencial, $v_{\square}(r_{\square})$, donde $v_{\square}(r_{\square})$ es tal, que hace que la densidad de probabilidad electrónica del estado fundamental $\rho_s(r)$, del sistema de referencia sea igual a la densidad electrónica del estado fundamental exacta, $\rho_0(r)$, de la molécula a estudiar; es decir, $\rho_s(r) = \rho_0(r)$.

Ya que Hohenberg y Kohn probaron que la función de densidad de probabilidad del estado fundamental determina el potencial externo. Una vez que $\rho_s(r)$ está definido por el sistema de referencia, el potencial externo $v_{\square}(r_{\square})$ en el sistema de referencia esta unívocamente determinado, pese a que no podríamos saber cómo obtenerlo realmente.

Los electrones no interactúan entre sí en el sistema de referencia, de forma que el Hamiltoniano del sistema de referencia es:

$$\hat{H} = \sum_{i=1}^n \left[-\frac{1}{2} \overline{V}_i^2 + v_s(r_i) \right] \equiv \sum_{i=1}^n \hat{h}_i^{\text{ks}} \text{ donde } \hat{h}_i^{\text{ks}} \equiv -\frac{1}{2} \overline{v}_i^2 + v_s(r_i) \quad (3.22)$$

\hat{h}_i^{ks} es el Hamiltoniano de un electrón Khon-Sham.

Los términos que corresponden a la parte interactuante se obtienen a partir del funcional $E_{ci}[\rho]$, llamado *funcional de la energía de correlación - intercambio total* el cual se define como;

$$E_{ci}[\rho] \equiv \Delta \bar{T}[\rho] + \Delta \bar{V}_{ee}[\rho] \quad (3.23)$$

donde $\Delta \bar{T}$ es la diferencia entre la energía cinética del sistema real y la del sistema de referencia y recibe el nombre de energía cinética de correlación $\Delta \bar{T}[\rho] \equiv \bar{T}[\rho] - \bar{T}_s[\rho]$, y $\Delta \bar{V}_{ee}[\rho] \equiv \bar{V}_{ee}[\rho] - \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{12}} dr_1 dr_2$, es la energía de correlación e intercambio de la parte electrónica donde, r_{12} es la distancia entre los puntos de coordenadas x_1, y_1, z_1 y x_2, y_2, z_2 .

La cantidad $-\frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{12}} dr_1 dr_2$ es la expresión clásica (en unidades atómicas) de la energía de repulsión electrostática íter-electrónica si los electrones están dispersos en una distribución continua de carga con densidad electrónica ρ .

Con estas consideraciones la ecuación de la energía nos queda como;

$$E_0 = E_v[\rho] = \int \rho(r)v(r)dr + T_s[\rho] + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{12}} dr_1 dr_2 + E_{ci}[\rho] \quad (3.24)$$

donde $E_v[\rho]$ en la ecuación (3.24), se puede expresar en términos de cuatro cantidades: los primeros tres términos son fáciles de evaluar a partir de ρ , ya que incluyen las principales contribuciones a la energía del estado fundamental y en la cuarta cantidad que es $E_{ci}[\rho]$ están contenidas las contribuciones no clásicas a la energía. La energía de

intercambio y correlación (E_{ci}), que pese a que no es fácil de evaluar con precisión, es un término relativamente pequeño. La clave para efectuar un cálculo con precisión KS DFT (Kohn-Sham Density Functional Theory) de propiedades moleculares es tener una buena aproximación para E_{ci} .

Del mismo modo que podemos demostrar que los orbitales ortornormales que minimizan la expresión de Hartree-Fock para la energía molecular satisfacen la ecuación de Fock, se pueden demostrar que los orbitales de Kohn-Sham que minimizan la expresión para la energía molecular del estado fundamental satisfacen,

$$\left[-\frac{1}{2}\nabla^2 - \sum_{\alpha} \frac{z_{\alpha}}{r_{1\alpha}} + \int \frac{\rho(r_2)}{r_{12}} dr_2 + v_{ci}(1) \right] \theta_i^{KS}(1) = \varepsilon_i^{KS} \theta_i^{KS}(1) \quad (3.25)$$

Donde la función v_{ci} (potencial de intercambio y correlación) está definida por

$$v_{ci}(r) \equiv \frac{\partial E_{ci}[\rho(r)]}{\partial \rho(r)} \quad (3.26)$$

Otra forma de encontrar de escribir la ecuación 3.25

$$\hat{h}^{ks} \hat{\theta}_i^{ks} = \hat{\varepsilon}_i^{ks} \hat{\theta}_i^{ks} \quad (3.27)$$

Existe solamente un problema al usar el método de Kohn-Sham para obtener ρ y E_0 , ya que no sabemos cuales la forma de el funcional correcto $E_{ci}[\rho]$. Para una molécula de capa cerrada, cada energía de un orbital ocupado de Hartree-Fock es una buena aproximación al negativo de la energía necesaria para arrancar un electrón de ese orbital. Sin embargo, esto no es cierto para las energías orbitales de Kohn-Sham.

Los orbitales de Kohn-Sham θ_i^{KS} son orbitales para el sistema de referencia de electrones no interactuantes, de forma que estos orbitales no tienen otro significado físico que el permitir que se calcule ρ del estado fundamental molecular exacto a partir de la ecuación (3.24).

La función de onda molecular del funcional de la densidad, no es un determinante de Slater de espín-orbitales; de hecho no hay función de onda molecular en funcionales de la densidad.

3.3.5 La aproximación densidad local (LDA)

Hohenberg y Kohn mostraron que si ρ varía de forma extremadamente lenta con la posición, entonces $E_{ci}[\rho]$ está dada con precisión por:

$$E_{ci}^{LDA}[\rho] = \int \rho(r) \varepsilon_{ci}(\rho) dr \quad (3.28)$$

donde la integral se extiende a todo el espacio; dr representa a $dx dy dz$, y $\varepsilon_{ci}(\rho)$ es la energía de intercambio más la correlación por electrón, en un gas de electrones homogéneos con densidad electrónica ρ (*Jellium*). Se define un *Jellium* como un sistema hipotético eléctricamente neutro de volumen infinito, consistente en un número infinito de electrones interactuantes moviéndose en un espacio a través del cual la carga positiva está distribuida de forma continua y uniforme; el número de electrones por unidad de volumen tiene un valor constante no nulo, ρ . Los electrones en un *Jellium* constituyen un gas de electrones homogéneo (o uniforme). [35]

Tomando la derivada funcional E_{ci}^{LDA} según la ecuación (3.26);

$$v_{ci}^{LDA} = \frac{\delta E_{ci}^{LDA}}{\delta \rho} = \varepsilon_{ci}(\rho(r)) + \rho(r) \frac{\partial \varepsilon_{ci}(\rho)}{\partial \rho} \quad (3.29)$$

Kohn y Sham sugirieron el uso de las ecuaciones (3.28) y (3.29) como aproximaciones a E_{ci} y v_{ci} , un procedimiento que se denomina aproximación de densidad local donde ε_{ci} se puede escribir como la suma de las partes de intercambio y de correlación:

$$\varepsilon_{ci}(\rho) = \varepsilon_i(\rho) + \varepsilon_c(\rho) \quad (3.30)$$

E_i se define por la misma fórmula usada para la energía de intercambio en la teoría de HF, excepto que los orbitales HF están remplazados por los orbitales de Kohn-Sham. La energía de intercambio de una molécula de capa cerrada, está dada por los términos que incluyen una integral de intercambio k_{ij} . Remplazando los orbitales entonces tenemos,

$$E_i \equiv -\frac{1}{4} \sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n \langle \theta_i^{KS}(1) \theta_i^{KS}(2) | 1/r_{12} | \theta_j^{KS}(1) \theta_j^{KS}(2) \rangle \quad (3.31)$$

E_i y E_c son negativas siendo $[E_i]$ mucho mayor que $[E_c]$. Para moléculas de capa abierta y geometrías moleculares próximas a la disociación, la aproximación densidad de espín local LSDA, da mejores resultados. Mientras en LDA los electrones con espín opuesto, apareados entre sí, tienen el mismo orbital KS, la LSDA permite que tales electrones tengan diferentes orbitales espaciales KS, $\theta_{i\alpha}^{KS}$ y $\theta_{i\beta}^{KS}$.

La generalización de la teoría del funcional de la densidad que permite diferentes orbitales para electrones con diferentes espines se denomina teoría del funcional de la densidad espín (Parr y Yang). Entonces en este caso E_{ci}^{LSDA} se define como:

$$E_{ci}^{LSDA} [\rho^\alpha, \rho^\beta] = \int \rho(r) \varepsilon_{ci}(\rho^\alpha, \rho^\beta) dr \quad (3.32)$$

Para calcular la parte de correlación existen numerosas parametrizaciones y una de las más utilizadas es la desarrollada por Vosko, Wilk y Nusair (VWN), [36] la cual está basada en simulaciones de Monte Carlo.

3.3.6 Aproximación del gradiente generalizado

Como es conocido, la hipótesis de un gas uniforme de electrones no da resultados buenos, por el hecho de no considerar las fluctuaciones locales de la densidad electrónica, lo cual le resta un poco de exactitud al método LDA.

Por ello es necesario describir mejor las fluctuaciones introduciendo el gradiente de la densidad en el funcional. A esto se le llama corrección del gradiente. Las letras GGA significan aproximación de gradiente generalizado. Usualmente se desdobla en partes de intercambio y correlación, que se modelan separadamente,

$$E_{ci}^{GGA} = E_i^{GAA} + E_c^{GAA} \quad (3.33)$$

Algunos funcionales de intercambio de gradiente corregido (E_i) comúnmente empleados son el funcional Perdew y Wang de 1986 [37] (que no contiene parámetros empíricos) designado como PW86 o PWx86, el funcional de Becke de 1988 [38], denotado B88, Bx88, Beckee88, ó B, y el funcional Perdew y Wang de 1991, PWx91.[39]

Los funcionales de correlación de gradiente corregido comúnmente usados (E_c), son entre otros el funcional de Lee-Yang-Parr (LYP) y el funcional de correlación de Perdew 1986 (p86 o Pc86), el funcional de correlación libre de parámetros Perdew y Wang de 1991(PW91 o PWc91), y el funcional de correlación de Becke (Bc95 o B96) [40]. Cualquier funcional de intercambio se puede combinar con cualquier funcional de correlación.

Zhao y Trular [41] desarrollaron nuevos métodos llamados MPW1B95 y MPWB1K los cuales están basados sobre una modificación del funcional de intercambio y correlación de Perdew y Wang (mPw o MPW) y el funcional de Becke de meta correlación (B95) Un funcional meta utiliza el laplaciano (segunda derivada) de la densidad o de la densidad de energía, además de la densidad y la magnitud del gradiente de la densidad.

3.4 Funciones de Base

Un paso importante en los cálculos cuánticos es la elección de funciones base f_r , que se usarán para expresar los orbitales moleculares (OM) ϕ_i como $\phi_i = \sum_i c_{ri} X_r$, ya que el uso de una base adecuada es un requerimiento esencial para el éxito del cálculo. Los criterios de selección de base dependen del sistema molecular, el nivel de la teoría a emplear y el problema a resolver.

Inicialmente las funciones se representaban a partir de los orbitales de Slater [42] (STO: Slater type orbitals, por sus siglas en inglés) u orbitales STO. Un STO centrado sobre un átomo tipo a tiene la forma $Nr^{n-1}e^{-zr/a} Y_l^m(\theta_a, \phi_a)$. Para las moléculas poliatómicas, las funciones de onda moleculares, representadas por determinantes de Slater y con elementos del determinante con la forma de los orbitales de Slater generó integrales formadas por tres y cuatro STO, las cuales tenían un costo computacional grande.

Para acelerar la evaluación de las integrales moleculares, Boys, [43] en 1950 propuso usar para los orbitales atómicos, las *funciones tipo gaussianas (GTF)*, en lugar de las STO. Una gaussiana cartesiana centrada en el átomo b se define como:

$$g_{ijk} = N x_b^i y_b^j z_b^k e^{-\alpha r^2_b} \quad (3.34)$$

donde $i, j, y k$ son enteros no negativos, α es un *exponente orbital* positivo, y $x_b, y_b, y z_b$ son coordenadas cartesianas con el origen en el núcleo b la constante de normalización gaussiana N es:

$$N = \left(\frac{2\alpha}{\pi} \right)^{3/4} \left[\frac{(8\alpha)^{i+j+k} i! j! k!}{(2i)!(2j)!(2k)!} \right]^{1/2} \quad (3.35)$$

Cuando $i + j + k = 0$ (esto es $i=0, j=0, k=0$), la GTF se denomina gaussiana de *tipos*; cuando $i + j + k = 1$ tenemos la gaussiana *tipo p*, que contiene el factor x_b, y_b o z_b . Cuando $i+j+k = 2$, tenemos una gaussiana de *tipo d*, habiendo seis tipos de gaussianas d , con los factores $x_b^2, y_b^2, z_b^2, x_b y_b, x_b z_b$ y $y_b z_b$. De forma similar hay diez gaussianas *tipo f* que podrían combinarse para tener el comportamiento angular de los siete OA $4f$ reales.

Cualquier orbital atómico se representa por una combinación lineal de varias gaussianas con diferentes exponentes orbitales, pero con la forma $\exp(-\alpha r^2_b)$; cualquier orbital p_x se representa por una combinación lineal de gaussianas, cada una de la forma $x_b \exp(-\alpha r^2_b)$; y así sucesivamente.

Las bases tipo STO pueden ser variadas con base a su extensión; una *base mínima*, consta de un STO para cada OA de capa interna y de capa de valencia de cada átomo. Una *base doble zeta (DZ)* se obtiene reemplazando cada orbital STO de una base mínima por dos orbitales que difieren en sus exponentes.

Ya que cada función de base Ξ_r en $\phi_i = \sum_i c_{ri} X_r$ tiene sus propios coeficientes variacionales c_{ri} , determinados independientemente, el número de parámetros variacionales en una función de onda de una base doble zeta, es dos veces los de la función de onda de una base mínima. En una *base triple zeta (TZ)* se reemplaza cada STO de una base mínima por tres STO que difieren sus exponentes orbitales. Una *base de valencia desdoblada (SV)* usa dos o más STO para cada OA de valencia pero solamente un STO para cada OA de capa interna (core).

Las funciones base construidas de gaussianas son más eficientes computacionalmente; la práctica corriente es tomar cada función de base como una combinación lineal normalizada de unas cuantas gaussianas, de acuerdo con:

$$\Xi_r = \sum_u d_{ur} g_u \quad (3.36)$$

Donde las g_u son las gaussianas cartesianas normalizadas centradas en el mismo átomo y con los mismos valores i, j, k que las otras pero diferentes α . Los coeficientes d_{ur} , llamados de contracción son constantes que se mantienen fijas durante el cálculo de Ξ_r según (3.36); estas funciones se denominan funciones tipo gaussiana contraída (CGTF) y las g_u se llaman gaussianas primitivas. Usando bases gaussianas contraídas, en lugar de primitivas, se reduce el número de coeficientes variacionales a determinar, lo que ahorra mucho tiempo de cálculo con poca pérdida de precisión si los coeficientes se eligen bien.

En los cálculos moleculares que usan funciones de base CGTF, los exponentes orbitales y los coeficientes de contracción de las funciones de base se mantienen fijos en los valores determinados de las bases usadas. Añadiendo funciones de polarización, permitimos que las formas de los OA varíen desplazando, densidad de carga de los núcleos al interior de las regiones de enlace en la molécula. Cada STO se aproxima por una combinación lineal de N funciones gaussianas, donde los coeficientes de la combinación lineal y los exponentes orbitales de las gaussianas se eligen para que proporcionen mejor ajuste por mínimos cuadrados.

Cuando se usan metales de transición o se trabaja con moléculas formadas por muchos átomos y se consideran todos los electrones de forma explícita, ello representa un gran costo computacional; una forma para bajar este costo es tratar a los electrones internos implícitamente en lugar de explícitamente. Hay dos tipos de métodos que hacen esto: el uso de pseudopotenciales y la aproximación *frozen core*. Estos métodos dan una buena descripción con un menor costo computacional y mantienen la descripción en detalle de los electrones de valencia. Los métodos basados en pseudopotenciales consideran que los electrones internos de los átomos no se ven afectados por la presencia de otros átomos. Así los podemos remplazar por un pseudopotencial monoeléctrico. Los métodos que utilizan la aproximación *frozen core* introducen las funciones de los orbitales de capa interna, pero no optimizan sus coeficientes. De esta manera podemos decir que hemos congelado los orbitales internos ó sea el core.

3.5 Teoría del Propagador Electrónico

Los métodos de estudio de orbitales moleculares ab initio se pueden efectuar mediante cálculos de HF pero estos pueden presentar dificultades numéricas. La TFD propone una teoría alterna a diferencia de cálculos HF. Esta teoría propone un camino alternativo para la correlación electrónica, que en muchas ocasiones no es muy bien incluida. En contraste, la Teoría del Propagador Electrónico propone soluciones exactas a la ecuación de Schrodinger de muchos electrones, de manera que la exactitud de este enfoque está más acorde con las aproximaciones ab initio a la Química Cuántica tales como la teoría de perturbaciones de muchos cuerpos.

La Teoría del Propagador Electrónico provee una muy útil descripción para la estructura electrónica de las moléculas ya que plantea en su formalismo que las energías de ionización y la afinidad electrónica están íntimamente ligadas con las energías de los orbitales [44-51]. En esta teoría los orbitales moleculares son generalizados por los orbitales de Dyson [45], los cuales están sujetos a un potencial dependiente de la energía para la correlación electrónica. En este formalismo las relaciones totales entre las energías de ionización y la afinidad electrónica están dadas por las integrales de contorno mostrando ventajas para los efectos de la correlación con alta precisión a un costo computacional razonable.

La esencia de este formalismo reside en sus polos (donde se sitúan las singularidades de la energía) y en los residuos (coeficientes de los términos responsables de estas singularidades) [46]. En una base de espín-orbitales r y s los elementos de matriz se definen por en la siguiente ecuación:

$$G_{rs}(E) = \lim_{\eta \rightarrow 0} \left\{ \sum_n \left[\frac{\langle N | a_r^\dagger | N-1, n \rangle \langle N-1, n | a_s | N \rangle}{E + E_n(N-1) - E_0(N) - i\eta} \right] \right\} + \sum_m \left[\frac{\langle N | a_s | N+1, m \rangle \langle N+1, m | a_r^\dagger | N \rangle}{E - E_m(N+1) + E_0(N) + i\eta} \right] \quad (3.37)$$

donde el limite respecto a η se toma debido a que las técnicas de integración requieren transformadas de Fourier para la representación dependiente del tiempo [47]. Los índices r y s se refieren a las coordenadas ortonormales de espín orbital, respectivamente.

Los elementos de matriz, tienen solamente polos en el plano de la energía cuando la base de espín-orbital es discreta y finita. Cuando los parámetros de convergencia ($\eta > 0$) se acercan a cero, todos los polos son reales en el eje de la energía e iguales a las diferencias entre la energía total del estado estacionario de los N-electrones del estado basal y los estados iónicos finales apropiados [48]. Los elementos de matriz de los operadores de campo correspondientes, a_r^+ y a_s , dependen de los estado de referencia de los N-electrones, $|N\rangle$, los estados finales $N \pm 1$ de los electrones denotados como n y m . La matriz del propagador es dependiente de la energía; los polos están en los puntos donde la energía E es igual a la energía de ionización, $E + E_n(N - 1)$, o la afinidad electrónica $E - E_m(N + 1)$. Los residuos correspondientes, tales como $\langle N|a_r^+|N - 1, n\rangle\langle N - 1, n|a_s|N\rangle$ o como $\langle N|a_s|N + 1, m\rangle\langle N + 1, m|a_r^+|N\rangle$ están relacionados con las amplitudes de Feynman-Dyson (FDA), donde $U_{r,n} = \langle N - 1, n|a_s|N\rangle$ ó $\langle N + 1, m|a_r^+|N\rangle$; con estas amplitudes se relacionan los orbitales de Dyson para las energías de ionización y la afinidad electrónica

$$\phi_n^{Dyson, EI}(x) = \sum_r \phi_{r(x)} U_{r,n} \quad (3.38)$$

$$\phi_n^{Dyson, AE}(x) = \sum_r \phi_{r(x)} U_{r,n} \quad (3.39)$$

El propagador electrónico es una expresión del estado basal para un sistema de N electrones, que depende, temporalmente de los operadores de campo a_r^+ y a_s , que representan los operadores de creación y aniquilación respectivamente.

Los orbitales canónicos son un caso especial de los orbitales de Dyson, donde ψ_N es una función de onda tipo Hartre-Fock y los estados finales son una aproximación de orbitales estáticos, de una función de onda con un determinante simple, mostrado en el teorema de Koopmans.

$$\phi_n^{Dyson, EI}(x_1) = \int \psi_N(x_1, x_2, x_3, \dots, x_N) \psi_{N-1,n}^*(x_1, x_2, x_3, \dots, x_N) dx_1, dx_2, dx_3, \dots, dx_N \quad (3.40)$$

$$\phi_n^{Dyson, AE}(x_1) = \int \psi_N^*(x_1, x_2, x_3, \dots, x_N) \psi_{N+1,n}(x_1, x_2, x_3, \dots, x_N) dx_1, dx_2, dx_3, \dots, dx_N \quad (3.41)$$

Los sistemas químicos de capa cerrada con N electrones pueden ser descritos como un determinante de Slater con una función de onda $|\psi_o\rangle$, construida por un conjunto de espín-orbitales N-ortonormal $(x_1, x_2, x_3, \dots, x_N)$ y entonces:

$$|\psi_o\rangle = (x_1, x_2, x_3, \dots, x_N) \quad (3.42)$$

La aproximación HF consiste en encontrar aquellos espín-orbitales cuyo valor principal minimizado (E_o) se encuentre del Hamiltoniano H en $|\psi_o\rangle$. La condición de normalización en (E_o) conlleva los requerimientos de que los espín-orbitales ocupados $(x_1, x_2, x_3, \dots, x_N)$ se expandan hacia un subespacio de Fock donde los requerimientos de los elementos de la matriz de Fock entre los espín-orbitales ocupados y virtuales deberán de ser cero. Estos espín-orbitales son entonces llamados "canónicos". De esta forma se puede evaluar el potencial de ionización (PI) del sistema, como la energía requerida para quitar un electrón de una molécula neutra.

En el nivel HF, la densidad electrónica del sistema iónico esta descrita como la parte neutra en la cual la densidad del orbital es mínima para el electrón retirado. Esto conlleva a suponer que aquellos N-electrones restantes no cambian su espacio parcial de distribución dentro de la molécula durante el proceso de ionización. Entonces se puede describir a la ionización molecular simple utilizando HF. Partiendo de esta suposición, el teorema de Koopmans [54] se enunció como "La diferencia de las energías entre la energía E_o en HF para un sistema de N-electrones será igual a la energía del orbital relativo al espín-orbital canónico y está es una aproximación estimada del PI para un sistema de N-electrones". Podemos decir que el que $PI = -\varepsilon_{HOMO}$ (Highest Occupied Molecular Orbital) y esté teorema se puede extender para la afinidad electrónica $PI = -\varepsilon_{LUMO}$ (Lowest Unoccupied Molecular Orbital)

Los métodos de cálculo del propagador electrónico dan una alternativa para establecer funciones de onda para la obtención de mayor información de la estructura electrónica de los átomos y moléculas, conocido como dispersión electrónica. Los orbitales de Dyson están relacionados con los estados iniciales y finales de la función de onda para la energía de ionización y la afinidad electrónica. Por lo cual los valores obtenidos de estos cálculos se pueden relacionar con las energías de ionización directamente con el teorema de Koopmans.

3.6 Índices de Reactividad

Es posible estudiar la estructura y propiedades de átomos, moléculas y sólidos mediante métodos basados en formalismos de la Química Cuántica. En los epígrafes anteriores se hizo referencia algunos de estos métodos los cuales permiten calcular estas propiedades. Como aquellos que usan la función de onda los cuales se basan en la resolución de la ecuación Shrodinger (como el método de HF), los relacionados con la densidad electrónica que están basados en la TFD y el método Propagador Electrónico (funciones de Green).

Desde hace algunos años con la TFD ha sido posible justificar conceptos químicos y principios que inicialmente fueron establecidos de manera empírica tales como la electronegatividad (χ), la dureza (η), la blandura (S), índices de Fukui, etc., mediante los cuales se ha podido explicar la reactividad de las moléculas.

Los conceptos que surgen de la TFD son funciones de respuesta que se expresan en términos de las derivadas de la energía y de la densidad electrónica con respecto al número de electrones a un potencial externo constante (por los núcleos de la molécula o de otras moléculas). Parr et al. [55] desarrollaron una importante y favorable teoría de reactividad química. Está formulación establece que la energía $E = E[N, v(r)]$ es un funcional del número total de electrones, N , y del potencial externo, $v(r)$. El cambio, de la energía se debe a variaciones tanto en N como en $v(r)$ y quedan expresados con la siguiente ecuación

$$dE = \mu dN + \int \rho(r)_N \delta v(r) dr \quad (3.46)$$

donde a μ se le denomina al potencial químico electrónico el cual está dado por la ecuación siguiente:[56]

$$\mu = \left(\frac{\partial E}{\partial N} \right)_{v(r)} = -\chi \quad (3.47)$$

y por lo tanto podemos decir que μ es una medida de la variación de la energía respecto a un cambio en el número de electrones cuando el potencial externo $v(r)$ es constante. Este es un índice que mide la tendencia de un electrón a escapar de una nube electrónica y, el negativo de μ está íntimamente relacionado con la electronegatividad

($\mu = -\chi$) [57]. Partiendo de la definición para " μ " Pearson, [58] consideró que los cambios asociados a este potencial químico con respecto al número de electrones a potencial externo constante podrían asociarse al concepto de dureza química. Lo cual conlleva a que la dureza es igual a la primera derivada del potencial químico, o el negativo de la electronegatividad, con respecto al número de electrones, lo que queda expresado en la siguiente ecuación

$$\eta = \left(\frac{\partial \mu}{\partial N} \right)_{v(r)} = \left(\frac{\partial^2 E}{\partial N^2} \right)_{v(r)} \quad (3.48)$$

Por lo tanto el concepto de la dureza se puede definir como una medida de la resistencia de un sistema a transferir carga o intercambiar densidad de carga con su entorno. Además en 1985 por Yang [59] introdujo un término conocido como blandura absoluta S el cual es simplemente el inverso de la dureza, indicando una medida de la facilidad con que un sistema cede carga. La blandura es expresada como

$$S = \left(\frac{\partial N}{\partial \mu} \right)_{v(r)} = \frac{1}{\eta} \quad (3.49)$$

Podemos decir que una especie química con un valor grande de dureza (valor pequeño de la blandura), indica que se trata de una especie poco susceptible a ceder su carga, mientras que una especie con un valor pequeño de la dureza (valor grande de la blandura), indica que se trata de una especie muy susceptible a ceder su carga.

En la definición del potencial químico (3.47) la curva experimental (Fig. 3.5) de la energía (E) versus el número de electrones (N), solo puede dibujarse para valores enteros de N . Por lo que un método útil para poder determinar los valores correspondientes a las derivadas de la energía es el de diferencias finitas el cual permite obtener los valores μ y η correspondientes a la primera y segunda derivada de la energía a con respecto al número de electrones a potencial externo constante, respectivamente.

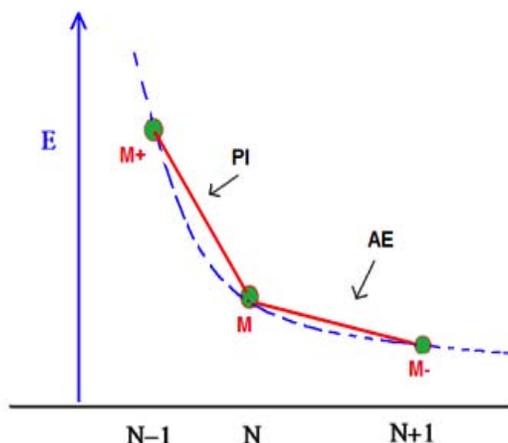


Fig. 3.5 Energía vs. número total de electrones

En la figura 3.5 las energías asociadas para la especie M , están relacionadas con la pérdida o ganancia de electrones la cuales se pueden expresar de la siguiente forma:

$$M \rightarrow M^+ + e^- \quad \Delta E = E(N_0 - 1) - E(N_0) = PI \quad (3.50)$$

$$M + e^- \rightarrow M^- \quad \Delta E = E(N_0) - E(N_0 + 1) = AE \quad (3.51)$$

Estas cantidades se usan para calcular de forma aproximada la derivada parcial de la energía con respecto al número de electrones aplicando el método de diferencias finitas. En las ecuaciones (3.50) y (3.51), el PI (Potencial de Ionización) y AE (afinidad electrónica) son dos propiedades físicas de naturaleza electrónica asociadas a la pérdida y ganancia de electrones respectivamente por los átomos neutros o moléculas. Por lo que en la ecuación (3.50) la $E(N_0 - 1)$ está relacionada a la energía total de un ion positivo y $E(N_0)$ representa una molécula o un átomo neutro ambas energías se refieren a estados basales. Las energías de ionización son siempre positivas es decir, siempre es más estable la especie neutra que la catiónica. En la ecuación (6) la afinidad electrónica se define como la diferencia de energías totales de la especie $M = E(N_0)$ y de su ión negativo $M^- = E(N_0 + 1)$ lo que corresponde a la energía liberada en la ionización de M^- , la afinidad electrónica es positiva; lo que implica que ambos casos son considerados procesos de ionización. La reacción inversa de esta propiedad generalmente es exotérmica por lo que, el cambio de signo que implica el proceso en la ecuación 6 obedece a que las mayores afinidades electrónicas correspondan a los átomos más electroafines. [60]

Considerando las relaciones expuestas en las ecuaciones 3.50 y 3.51 el potencial químico se puede expresar en términos de PI y AE y queda expresada como sigue:

$$\mu = \left(\frac{\partial E}{\partial N} \right)_{v(r)} = -\frac{(PI+AE)}{2} \quad (3.52)$$

de la misma manera la segunda derivada de la energía la podemos expresar como:

$$\eta = \left(\frac{\partial^2 E}{\partial N^2} \right)_v = (IP - AE) \quad (3.53)$$

Si se considera el teorema de Koopmans el cual dice que potencial de ionización coincide con la energía HOMO con signo cambiado y por analogía la afinidad electrónica se relaciona con el LUMO entonces podemos expresar las ecuaciones 3.52 y 3.53 en la forma:

$$\mu = -\frac{(E_{HOMO} + E_{LUMO})}{2} \quad (3.54)$$

$$\eta = (E_{HOMO} - E_{LUMO}) \quad (3.55)$$

El potencial químico y la dureza son parámetros de reactividad de tipo global, ya que caracterizan a la molécula como un todo, mientras que la densidad electrónica, caracterizada por la función de Fukui [61] y el descriptor dual son parámetros de tipo local, porque sus valores dependen de la posición dentro de la molécula. Los primeros dan información sobre tendencias globales de reactividad, y los segundos información sobre la selectividad de los diferentes sitios de una molécula.

Melin, Ayers y Ortiz [62] sugieren que la Teoría del Propagador Electrónico puede considerar vínculos con la Teoría de Funcionales de la Densidad para describir la transferencia de la carga. El enfoque TPE considera mejor los efectos de correlación electrónica y la relajación del orbital mediante la derivación de expresiones precisas. Por lo cual los índices de reactividad calculados en TFD pueden ser relacionados con la TPE, por lo que ellos combinaron este enfoque para que fuera más preciso y considerando que en la TFD se tienen que realizar tres cálculos separados (uno para el neutro, catiónico y aniónico) en TPE se sustituye por un solo cálculo.

CAPITULO 4

DETALLES COMPUTACIONALES

4.1 METODOLOGÍA

Todos los cálculos se realizaron con el paquete Gaussian09 [63], y fueron calculados en la supercomputadora KanBalam, la cual operó con procesadores AMD Opteron de 2.6GHz y 3016 GB de memoria RAM. Las geometrías de las moléculas consideradas en el estudio realizado, fueron optimizadas totalmente, utilizando la Teoría de Funcionales de la Densidad (TFD) y adicionalmente, se realizaron cálculos con la estructura ya optimizada mediante la Teoría del Propagador Electrónico (TPE).

Para determinar la combinación del funcional y base a utilizar, se realizó una validación, en la cual fueron empleadas aminas alifáticas y aromáticas, de las cuales se conocía el potencial de ionización experimental; esta magnitud experimental, fue comparada con los valores obtenidos en los cálculos, utilizando los potenciales B3LYP, PW91 y MPWB95 combinados con las funciones bases 6-311+G(d,p) y 6-311++G(d,p). El funcional de intercambio y correlación escogido para los cálculos con TFD fue MPWB95 [33]. Como resultado del procedimiento de validación, se seleccionó la combinación de funcional de intercambio y correlación y conjunto base: MPWB95/6-311++G(d,p), misma que fue utilizada en la optimización de las geometrías de las cuatro bases nitrogenadas naturales y los productos de oxidación de la guanina (POG) considerados en este trabajo.

Las geometrías de las bases nitrogenadas (BN) consideradas, se eligieron de acuerdo a los tautómeros más estables reportados en la literatura; además, debe señalarse que todas las moléculas optimizadas en este trabajo, presentan mínimos de energía que fueron confirmados por los cálculos de frecuencias correspondientes.

En la Figura 4.1 se presentan las geometrías POG objeto de estudio y en la tabla 4.1 se enlistan los nombres comunes de estas. La elección de los siete POG se hizo con base en las evidencias experimentales disponibles.

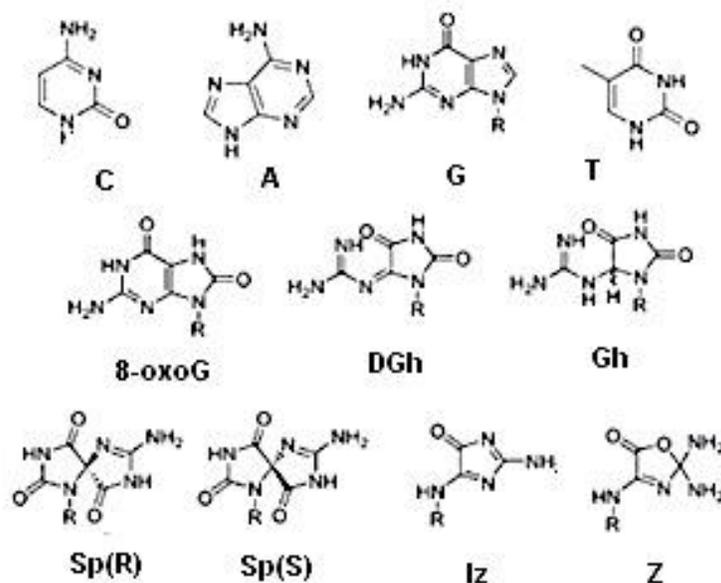


Figura 4.1 Figuras objeto de estudio [10]

Tabla 4.1 Nombres comunes [10]

Símbolo	Nombre
G	Guanina, 2-amino-3,7-dihidropurin-6-ona
A	Adenina, 9H-purin-6-amina
T	Timina, 5-metilpirimidina-2,4(1H,3H)-diona
C	Citosina, 4-amino-3H-pirimidina-2-ona
8OG	8-Oxo-7,8-dihidroguanina
DGh	Dehidroguanidinohidantoina
Gh	guanidinohidantoina; 5-guanidinohidantoina
Sp1 + Sp2	spiroiminodihidantoina; 2-imino-5,5-spirodihidantoina
Iz	imidazolona; 2-aminoimidazolona; 2,5-diaminoimidazolona
Z	oxazolona; 2,2,4-triamino-2H-oxazol-5-ona

El uso de la TPE, permitió la estimación de potenciales de ionización verticales (VIP) y afinidades electrónicas verticales (VEA); la selección de este enfoque teórico se justifica teniendo en cuenta que en primer lugar, se proporciona un método directo para la inclusión sistemática de los efectos de correlación electrónica, con lo cual los resultados teóricos dan muy cercanos a los resultados experimentales; y en segundo lugar, es

posible relacionar la energía HOMO con el VIP por el teorema de Koopmans [57]. Del mismo modo, la energía LUMO también se pudo relacionar con la VEA como se menciona en la sección anterior. Aunque los potenciales de ionización obtenidos con el teorema de Koopmans son muy cercanos a los correspondientes valores experimentales, las afinidades electrónicas presentaron en algunos casos discrepancias mayores; sin embargo, los resultados siempre fueron mejores que con métodos de la TFD. Considerando $-\epsilon_{\text{HOMO}} \approx \text{VIP}$ y $\epsilon_{\text{LUMO}} \approx \text{VEA}$, pudieron evaluarse otros índices de reactividad como la electronegatividad, la dureza y blandura; estos índices, definidos en la TFD, han podido expresarse en términos de la TPE. Estas magnitudes, así como los cálculos del patrón de distribución de la carga a través del mapeo del potencial electrostático y algunos parámetros geométricos, permitieron evaluar las semejanzas estructurales y energéticas entre las BN y los POG y entre los pareamientos BN:BN y BN:POG de la transición estudiada.

El potencial electrostático generado por la molécula nos da, para cada punto del espacio, la energía de interacción entre la molécula y una carga puntual positiva que se situará en ese punto. Es probablemente una de las funciones más útiles para predecir la reactividad de una molécula. Esta propiedad, permite visualizar las regiones del espacio hacia las que se sentirían atraídas partículas cargadas positivamente (regiones de potencial electrostático negativo) o negativamente (regiones de potencial electrostático positivo).

Las energías de los orbitales moleculares nos permiten conocer el orden de "llenado" de los orbitales moleculares y por tanto, la configuración electrónica de las moléculas y apareamientos estudiados. Particularmente el orbital indica donde se encuentra el par de electrones que más fácilmente puede perder o ceder la molécula; por su parte, el orbital LUMO indica el lugar donde más fácilmente la molécula aceptaría un par de electrones, por lo que resulta importante evaluar estas susceptibilidades. Además se muestran las cargas NBO correspondientes para cada molécula y apareamiento estudiado

Para el cálculo de energías de enlazamiento se utilizó la siguiente ecuación:

$$E_{\text{enlace}} = E_{\text{Adenina}-X} - (E_{\text{Adenina}} + E_X) \quad (4.1)$$

para X = T, Sp(R), Sp(S)

Para el cálculo de energías de enlace de hidrogeno se utilizó la siguiente ecuación:

$$E_{\text{enlace}} = \frac{E_{\text{Adenina}-X} - (E_{\text{Adenina}} + E_X)}{2} \quad (4.2)$$

para X = T, Sp(R), Sp(S)

CAPITULO 5

Resultados y Discusión I

5.1 Validación del funcional de intercambio y correlación y la función base en cálculos de TFD

Para seleccionar la mejor combinación de funcional y base fueron seleccionadas un conjunto de moléculas de prueba (aminas alifáticas y aromáticas), con potenciales de ionización experimentales conocidos. Como se observa en la Tabla 5.1, estas moléculas presentan grupos funcionales afines con las moléculas objeto de estudio (BN y POG).

La tabla 5.1 muestra los VIP obtenidos teóricamente de las aminas alifáticas y aromáticas seleccionadas, así como sus correspondientes valores experimentales; las combinaciones de funcional y bases escogidas, con el objetivo de seleccionar la combinación de funcional y base de mejor desempeño, son presentados además los errores absolutos, calculados según la ecuación: $E_{ABS} = VIP_{Calculado} - VIP_{Experimental}$, así como el promedio de los errores (PROM ERROR ABS).

En general, los valores de potenciales de ionización dan menores que el valor experimental, aunque se puede observar que la mejor combinación es MPBW95/6-311++G**, por mostrar los valores más bajos del error absoluto y de su promedio (-1.63 eV). Por ello, fue esta la combinación utilizada en las optimizaciones de geometría realizadas. Sin embargo, a efectos de los cálculos posteriores es importante buscar un método que disminuya aún más, los errores absolutos en el cálculo de los potenciales de ionización. Esa es la razón por la que, en la siguiente sección, se presentan los cálculos de TPE.

Tabla 5.1: Comparación de energías de ionización calculadas y experimentales (expresadas en eV)

Funcionales	B3LYP				PW91				MPWB95				Exp.
	6-311+G**		6-311++G**		6-311+G**		6-311++G**		6-311+G**		6-311++G**		
Bases	ERROR		ERROR		ERROR		ERROR		ERROR		ERROR		VIP
Nombres	VIP	ABS	VIP	ABS	VIP	ABS	VIP	ABS	VIP	ABS	VIP	ABS	
Methylamine	6.59	-3.06	6.59	-3.06	5.42	-4.23	5.42	-4.23	7.80	-1.85	7.80	-1.85	9.65
Ethylamine	6.59	-2.91	6.59	-2.91	5.44	-4.06	5.45	-4.05	7.80	-1.70	7.80	-1.70	9.50
Isopropylamine	6.60	-2.77	6.60	-2.77	5.47	-3.90	5.47	-3.90	5.29	-4.08	7.81	-1.56	9.37
Aniline	5.78	-1.94	5.78	-1.94	5.79	-1.93	5.78	-1.94	5.78	-1.94	5.78	-1.94	7.72
p-methylaniline	5.58	-2.27	5.37	-2.48	4.64	-3.21	4.83	-3.02	6.20	-1.65	6.20	-1.65	7.85
p-CN-anilina	6.25	-2.39	6.22	-2.42	5.53	-3.11	5.51	-3.13	7.04	-1.60	7.08	-1.56	8.64
2-piridinamine	5.98	-2.42	6.36	-2.04	5.22	-3.18	5.22	-3.18	6.83	-1.57	6.83	-1.57	8.40
2-Aminopirazine	6.36	-2.34	6.36	-2.34	5.61	-3.09	5.61	-3.09	7.20	-1.50	7.20	-1.50	8.70
9H-Purine	7.25	-2.27	7.25	-2.27	6.07	-3.45	6.07	-3.45	8.19	-1.33	8.18	-1.34	9.52
PROM													
ERROR ABS		-2.49		-2.47		-3.35		-3.33		-1.91		-1.63	

5.2 Potenciales de Ionización y Afinidades Electrónicas obtenidos con cálculos de TPE para Bases Nitrogenadas (BN)

En la Figura 5.1, se muestran las geometrías optimizadas de las 4 bases nitrogenadas presentes en el ADN.

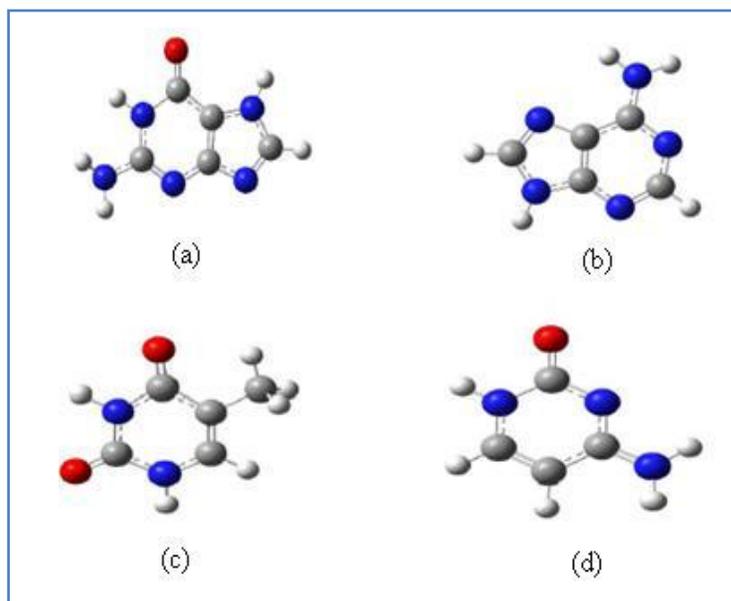


Figura 5.1: Geometría de las 4 bases nitrogenadas presentes en el ADN

(a) Guanina; (b) Adenina; (c) Timina y (d) Citosina.

Considerado lo señalado anteriormente acerca de las ventajas de calcular energías de ionización VIP y afinidades electrónicas VEA mediante la TPE, en la Tabla 5.2 se presentan los VIP de las cuatro bases nitrogenadas consideradas, empleando dos niveles de cálculo: Teorema de Koopmans (KT) y una corrección perturbativa adicional de tercer orden, la aproximación P3. Igualmente fueron calculados los errores absolutos respecto al valor experimental.

Tabla 5.2 Comparación de energías de ionización calculadas y experimentales de las 4 bases nitrogenadas (expresadas en eV)

Base	KT	ERROR ABS		PS	EXP
		(%ER)	P3		
Guanina	8.5	0.22 (2.65%)	8.32	0.04 (0.48%)	8.28 (a)
Adenina	8.50	0.02 (0.23%)	8.50	0.02 (0.23%)	8.48 (b)
Timina	9.66	0.56 (6.10%)	9.25	0.15 (1.63%)	9.17 (c)
Citosina	9.40	0.46 (5.14%)	8.87	-0.07 (0.78%)	8.94 (d)

(a) J. Lin, C. Yu, S. Peng, I. Akiyama, K. Li, K. L. Lee, P. R. LeBreton, J. Phys. Chem. 1980, 84, 1006.
 (b) J. Lin, C. Yu, S. Peng, I. Akiyama, K. Li, K. L. Lee, P. R. LeBreton, J. Am. Chem. Soc. 1980, 102, 4627.
 (c) S. Urano, X. Yang, P. R. LeBreton, J. Mol. Struct. 1989, 214, 315.
 (d) J. N. S. Hush, A. S. Cheung, Chem. Phys. Lett. 1975, 34, 11.

Como se puede observar de la tabla anterior, el método de TPE reduce significativamente los errores absolutos a menos de 1 eV respecto a los cálculos TFD. Particularmente, en los cálculos de TPE, los resultados de los potenciales de ionización obtenidos con la aproximación P3 fueron mejores, con un promedio de error absoluto de 0.07 eV (1.6 Kcal mol⁻¹), respecto al cálculo simple de Koopmans con un promedio de error absoluto de 0.32. Lo anterior indica que la aproximación P3 es un procedimiento más conveniente para el cálculo de los VIP en las bases nitrogenadas. Por otra parte, en todos los cálculos, los valores de la fuerza de polo (PS) se mantuvieron cerca de 0,9 lo cual es una buena señal acerca de la validez del teorema de la Koopmans para describir el estado final (ionizado).

Los resultados confirmaron que la guanina tiene el potencial de ionización más bajo seguido por la adenina. Por tanto, las dos moléculas más sensibles a ser oxidadas son la Guanina y la Adenina, que pertenecen al grupo de bases purínicas; en ambos casos, la mayor conjugación estabiliza el orbital HOMO. Obsérvese además, que la Timina es la única base nitrogenada con un VIP mayor a 9 eV, por lo que debemos esperar que esta BN sea de las más resistentes a la oxidación.

En la tabla 5.3 se comparan las VEA de las cuatro BN consideradas, obtenidas igualmente de cálculos de TPE, considerando la simple aplicación del Teorema de Koopmans (KT) y la aproximación P3. Nótese que de nuevo, los valores más cercanos al experimental, corresponden al cálculo con la aproximación P3, con un promedio de error absoluto de 0.08 eV (1.8 Kcal mol⁻¹).

Considerando que la VEA se define como la energía liberada, cuando una molécula neutra recibe a un electrón para convertirse en una especie de aniónica, teniendo en cuenta que no hay cambios de geometría respecto a la especie neutra, podemos relacionar esta magnitud con la estabilidad del anión formado. De acuerdo con la tabla 5.3, la Guanina y la Adenina resultaron ser también, las bases más favorecidas para atrapar los electrones y formar centros aniónicos en el ADN.

Tabla 5.3 Comparación de Afinidades Electrónicas calculadas y experimentales de las 4 bases nitrogenadas (expresadas en eV)

Base	KT	ERROR ABS	P3	ERRORABS (%ER)	PS	EXP (a)
Guanina	-0.83	----	-0.50	----	0.98	----
Adenina	-0.89	0.35	-0.62	-0.08	0.98	-0.54
Timina	-0.69	0.40	-0.40	-0.11	0.98	-0.29
Citosina	-0.68	0.36	-0.40	-0.07	0.98	-0.32

(a) National Institute of Standards and Technology (NIST), NIST Chemistry WebBook Number 69; National Institute of Standards and Technology (NIST), Gaithersburg, USA. Available at: <http://www.nist.gov>. Accessed on 2011.

Aunque las BN exhiben valores negativos de VEA (lo que implica LUMO > 0), es importante establecer que, en fase gaseosa, pueden existir aniones temporales de Adenina y otras BN, los cuales han sido detectados por técnicas de dispersión de electrones de baja energía, como la espectroscopia electrónica de transmisión. Estos aniones son inestables, corresponden a ocupaciones temporales de ciertos orbitales virtuales y están relacionados con valores de VEA positivos [67]

De acuerdo con los resultados anteriores, podemos señalar que en efecto, las bases purínicas (Guanina y Adenina) son las más reactivas en procesos de transferencia electrónica.

5.3 Potenciales de Ionización y Afinidades Electrónicas obtenidos con cálculos de TPE para Productos de Oxidación de la Guanina (POG)

En la Figura 5.2 se muestran las geometrías optimizadas de los Productos de Oxidación de la Guanina presentados en la sección inicial del trabajo.

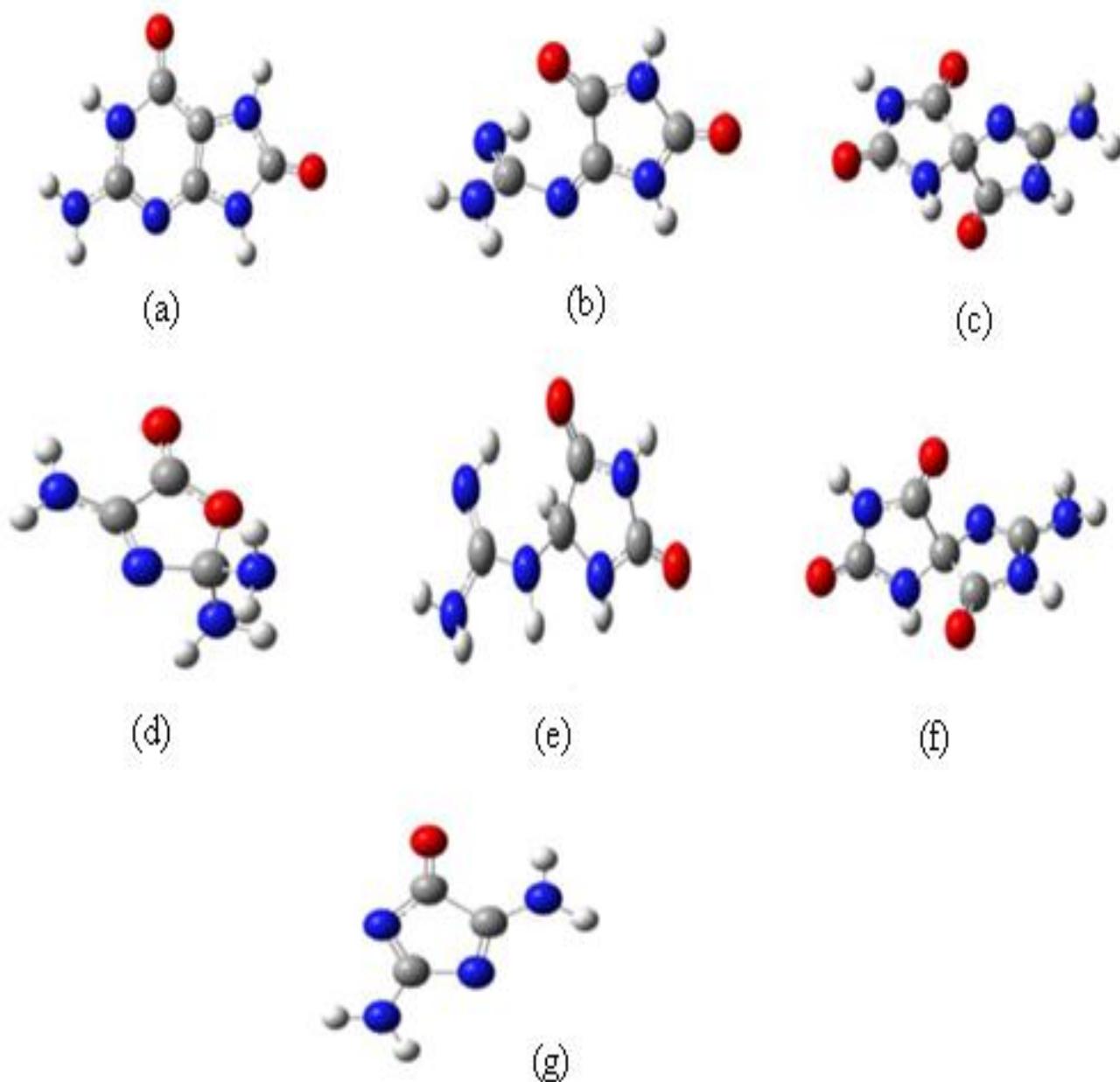


Figura 5.2: Geometría de Productos de oxidación de la Guanina

(a) 8-oxoG; (b) DGh; (c) Sp(R); (d) Z; (e) Gh; (f) Sp(S); (g) Iz

En la tabla 5.4 se muestran los cálculos de los POG con TPE, utilizando únicamente la aproximación P3, que da los resultados más cercanos al valor experimental y en la figura 5.2, se muestran las geometrías optimizadas de los siete POG de interés.

La primera observación interesante es que 8OG presenta la menor energía de ionización; este resultado confirma que la 8OG es oxidada fácilmente a otros productos de oxidación y, por consiguiente, la presencia de estos POG, son un peligro potencial para el posible daño del ADN.

POG	P3(VIP)	PS	P3(VEA)	PS
8-Oxo	7.87	0.89	-0.22	0.98
Z	9.7	0.89	-0.66	0.98
Iz	9.29	0.88	-0.65	0.98
DGh	9.22	0.88	-0.58	0.98
Gh	9.22	0.89	-0.44	0.98
Sp(R)	9.51	0.89	-0.14	0.98
Sp(S)	9.54	0.89	-0.21	0.98

Si observamos la tendencia que muestran los VIP en la Tabla 5.4, se puede tener el siguiente orden: 8OG < DGh = Gh < Iz < Sp(R) < Sp(S) < Z. En esta secuencia podemos observar que:

(1) Iz, Z, Sp(R) y Sp(S) son los productos de oxidación que presentan la mayor estabilidad debido a que tienen el VIP más alto no sólo respecto a otros POG, sino también de las cuatro BN, incluyendo Timina que es la de mayor VIP del grupo de las BN. Por tanto, estas especies junto con la Timina son las más resistentes a diferentes condiciones de oxidación y por tanto las que con más probabilidad podrían participar en transversiones.

(2) 8OG, Sp(R), Sp(S) y Gh, son, junto con la Timina y Citosina en el grupo de las BN, las especies más resistentes a formar centros aniónicos.

(3) Iz, Gh y DGh, presentan los valores de VIP más cercanos a la Timina.

(4) Iz y Z, presentan la mayor capacidad para formar centros aniónicos.

5.4 Índices de Reactividad para Productos de Oxidación de la Guanina (POG)

Utilizando los valores de VIP y VEA obtenidos en las secciones anteriores mediante cálculos de TPE, la Tabla 5.5 presenta los índices de reactividad (dureza, blandura y electronegatividad), de las BN y los POG en estudio. El análisis de la índices de reactividad se realizó usando las ecuaciones mencionadas en la sección 3.6.

Molécula	η	S	χ
Guanina	8.82	0.11	3.91
Adenina	9.12	0.11	3.94
Timina	9.65	0.10	4.42
Citosina	9.27	0.10	4.23
8-Oxo	8.09	0.12	3.82
Z	10.36	0.10	4.52
Iz	9.94	0.10	4.32
DGh	9.80	0.10	4.32
Gh	9.66	0.10	4.39
Sp(R)	9.65	0.10	4.68
Sp(S)	9.75	0.10	4.66

De la tabla anterior podemos señalar algunos comentarios:

- (1) La Guanina y la 8OG presentan los valores más bajos de dureza y de electronegatividad; por tanto son más blandas, con nubes electrónicas fácilmente polarizables y las más susceptibles a cambiar la distribución de la densidad electrónica. Estos valores, junto con los valores de VIP nos permiten confirmar, que no solo la Guanina, sino que también la 8OG puede tener centros reactivos para la oxidación de otros POG.
- (2) En el grupo de las BN, la Timina presenta la mayor dureza, misma que es muy cercana a la dureza de Gh, Sp(R) y Sp(S).
- (3) De nuevo, Timina en el grupo de las BN y Sp(R)/Sp(S) en el grupo de los POG presentan la mayor electronegatividad.
- (4) Z e Iz presentan la mayor dureza.

Resumiendo podemos señalar que:

- Sp(R), Sp(S) y Z, junto con la Timina, por su VIP, son las especies más resistentes a diferentes condiciones de oxidación y por tanto las más estables.
- Sp(R), Sp(S), 8OG y Gh, junto con la Timina y Citosina en el grupo de las BN, por su VEA, son las especies más resistentes a formar centros aniónicos.
- Sp(R) y Sp(S) junto con la Timina, presentan la mayor electronegatividad.
- Sp(R), Sp(S) y Gh, tienen una dureza semejante a la Timina.
- Iz, Gh y DGh, presentan los valores de VIP más cercanos a la Timina.

Por tanto, de acuerdo a los valores de VIP, VEA, dureza y electronegatividad molecular, debemos esperar que Sp(R), Sp(S), Gh, DGh e Iz, al presentar índices de reactividad semejantes a la Timina, sean buenos candidatos para participar en transversiones GC → TA. Sin embargo, de los indicadores analizados, consideramos que los más importantes, por estar más relacionados con la reactividad, son la electronegatividad y la dureza, de manera que la lista anterior quedaría reducida a Sp(R), Sp(S) y Gh. Como veremos más adelante, la selección efectuada estuvo muy cerca de las evidencias experimentales.

Kino y Sugiyama [68] han sugerido un mecanismo para la transversión G:C → CG y por analogía se presenta a continuación el posible mecanismo de la transversión: G:C → T:A. Si consideramos que en el apareamiento G:C, la G se oxida, a X, donde X = Sp(R), Sp(S), Gh, tendríamos: G:C → X:C

Si durante el primer proceso de replica, X es reconocida como una Timina, entonces tendríamos la inserción errónea de la Adenina: X:C → X:A

Posteriormente en el siguiente proceso de réplica, se trata de reparar el apareamiento, insertando la Timina, por lo que se obtiene: X:A → T:A

De manera que el proceso global sería: **G:C → T:A**

Teniendo en cuenta el mecanismo anterior, en la siguiente sección, realizamos el estudio de los POG Sp(R) y Sp(S) en la etapa en que se produce la inserción errónea de la Adenina, esto es, en el apareamiento Sp:A, el cual es comparado con el apareamiento natural T:A.

Capítulo 6

Resultados y Discusión II

6.1 Similitud en Pareamientos

Considerando el mecanismo ya expuesto en el epígrafe 3.1.2 para la transversión G:C → T:A, en ésta sección se realizó el estudio comparativo de los apareamientos T:A, Sp(R):A y Sp(S):A, con el objetivo de evaluar las semejanzas estructurales entre ambos, con lo cual podría explicarse la inserción errónea de Adenina durante la transversión. Los indicadores de semejanza estructural analizados fueron:

- Regiones HOMO y LUMO, mapas de potenciales electrostáticos,
- Energías de pareamiento y energías de enlace de hidrógeno.

En la figura 6.1 se muestra el mapeo de orbitales HOMO Y LUMO para las moléculas, Sp-R, Timina y Sp-S.

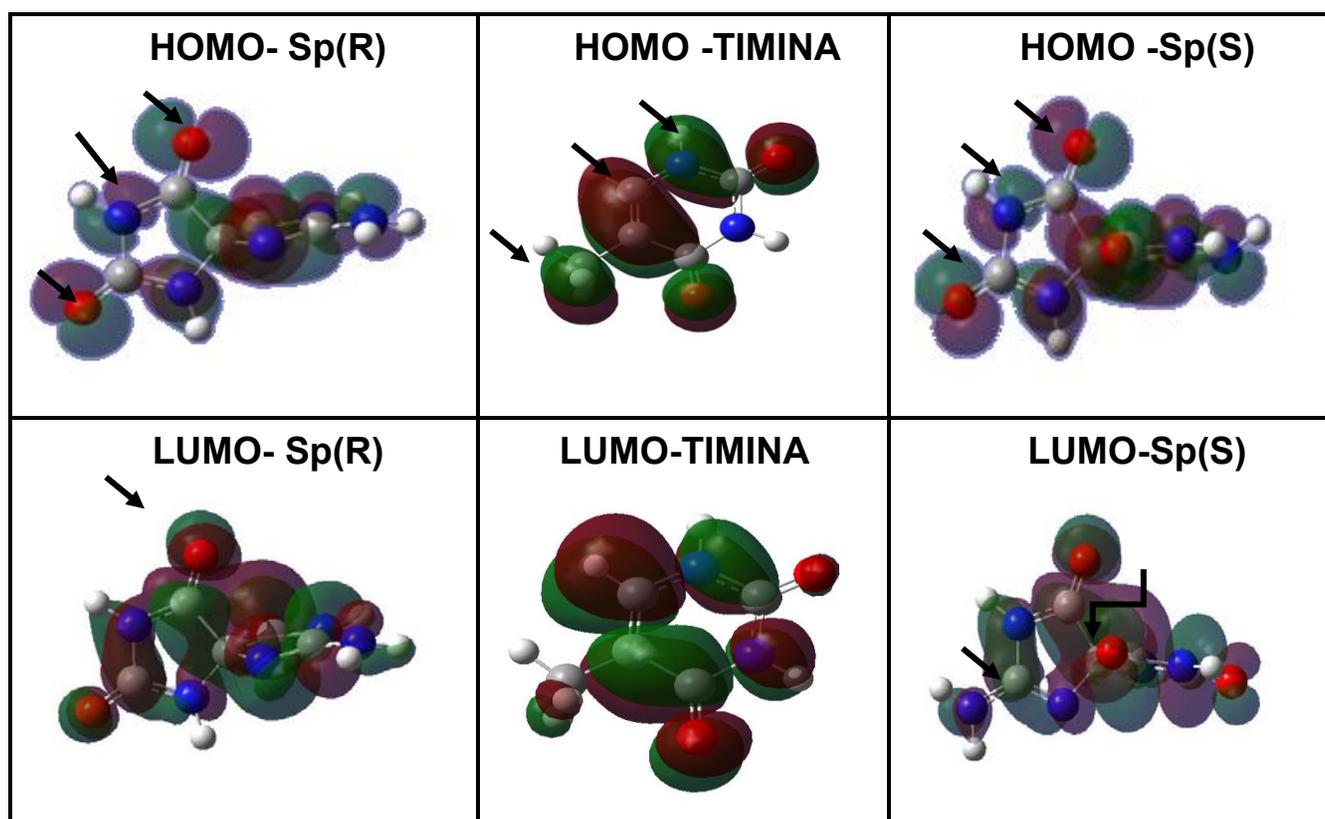
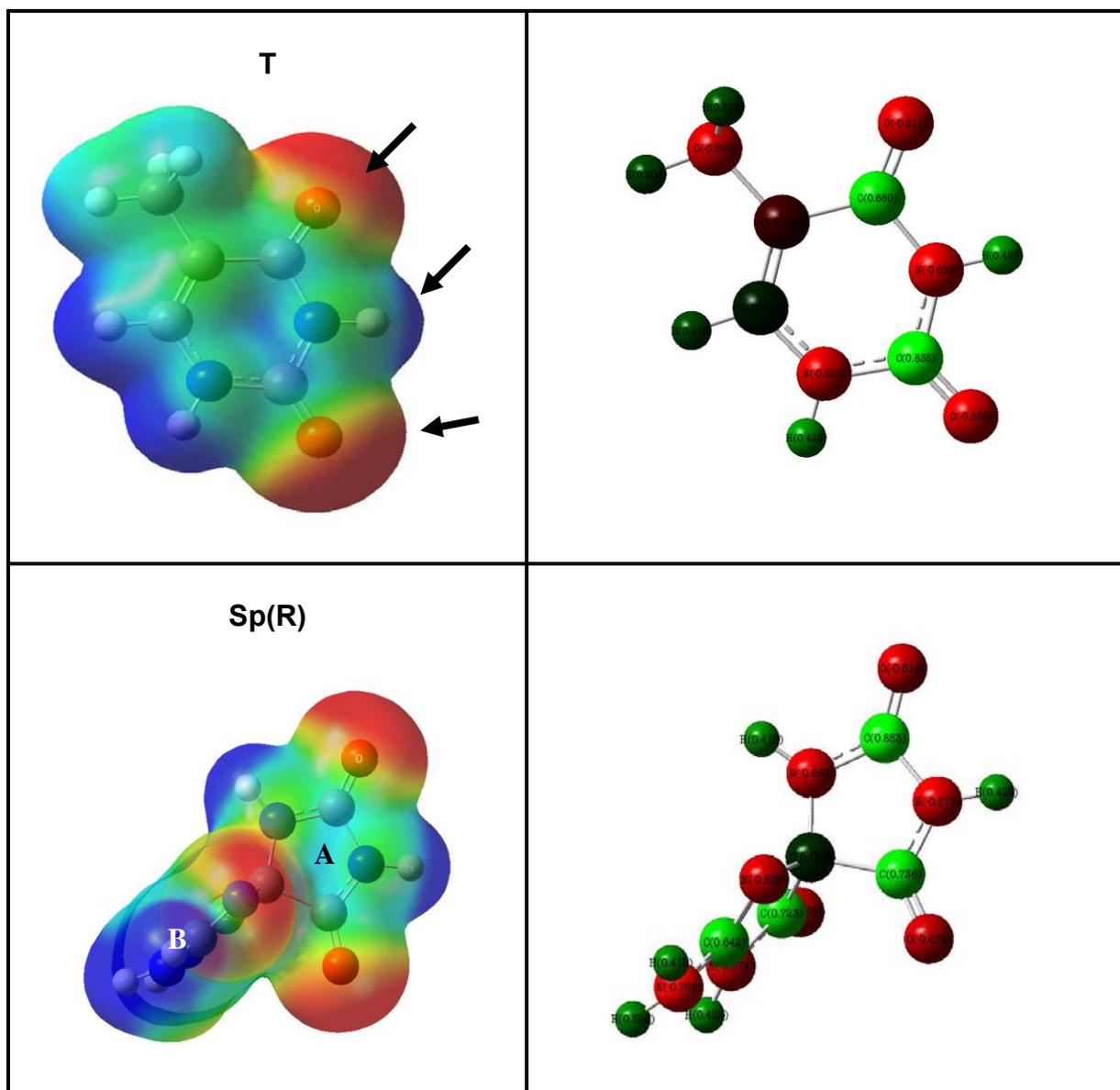


Figura 6.1 mapeo de orbitales HOMO-LUMO para las moléculas T y Sp(R y S)

De acuerdo a la figura 6.1, en el mapeo del orbital HOMO cuando se compara la T con Sp (R y S) se observa un patrón muy semejante en la región izquierda del anillo independientemente si es de 5 o 6 miembros. El patrón consiste en orbitales tipo π localizados en los átomos de O de los grupos C=O (carbonilo), el heteroátomo N (C-N-C) y el N del NH todos perteneciente al anillo (nótese entre flecha y flecha los nodos). En los tres casos los C del C=O están fuera de la región de probabilidad. En el mapeo de orbitales LUMO podemos ver que la región de máxima probabilidad está sobre el anillo y los C del C=O mantienen su orbital molecular independiente. Nótese cómo las regiones que participarán en el pareamiento ya presentan cierta semejanza.



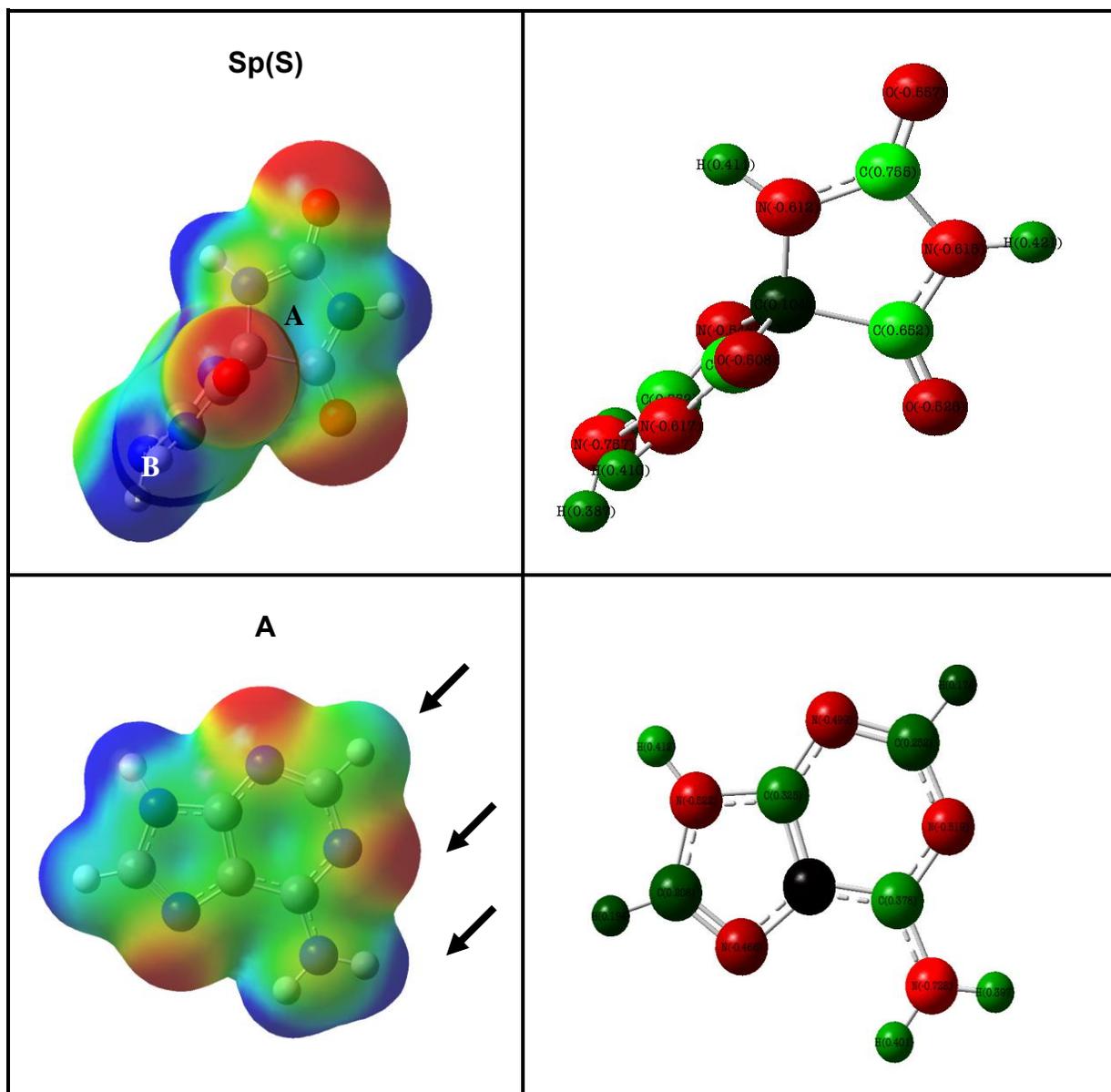


Figura 6.2 Potencial electrostático para la A, Sp(s), Sp(R) y T

En la Figura 6.2 podemos observar el mapeo del potencial electrostático (isovalue=0.04) para las moléculas Sp(R), T y Sp(S) en las cuales se puede observar la polarización de la molécula; las zonas de color azul muestran la parte más positiva del potencial electrostático, mientras que el rojo muestra la zona más negativa; la zona verde está relacionada con zonas ligeramente positivas, y el color amarillo marca que son ligeramente negativos. La T, presenta una región espacial similar a los isómeros Sp(R) y Sp(S); en estos podemos observar que las zonas más negativas son los O del grupo C=O debido a la presencia del un par de electrones libres por lo que se aumenta la densidad

de carga negativa, las más positivas son el grupo amino (NH_2) del anillo “b” y los H pertenecientes al heteroátomo N del anillo “a”; las zonas con la densidad más baja se localizan en el anillo “a”. Considerando estas observaciones podemos suponer que las regiones más negativas y más positivas (para la T, Sp (R y S) en la figura 6.3 se encuentran señaladas con una flecha), son las más susceptibles a la formación de puentes de hidrogeno en el apareamiento con otras bases nitrogenadas ya que, en estas zonas, las moléculas están polarizadas y pueden presentar interacciones electrostáticas con la A; de igual forma podemos observar que las zonas marcadas con las flechas son las más polarizadas y; la similitud entre ellas, se debe, en parte a esta región, donde tenemos los átomos de N y O.

El enlace de hidrógeno, [67] es sin duda el más ampliamente estudiado de las interacciones intermoleculares pero incluso después de un siglo de investigaciones sigue siendo de gran interés. La IUPAC propuso en 2011 una definición: "el enlace de hidrógeno es una interacción atractiva entre un átomo de hidrógeno de una molécula o un fragmento molecular X-H en la que X es más electronegativo que el H, y un átomo o un grupo de átomos en la misma o una molécula diferente lo cual, es la evidencia de la formación de enlace". Como puede observarse, de lo ya discutido, el uso del potencial electrostático calculado, nos ha proporcionado una herramienta fiable y práctica para predecir y confirmar, los eventos de reconocimiento molecular en los que se producen enlaces de hidrógeno. En la Figura 6.3 podemos observar el mapeo de orbitales HOMO y LUMO de los apareamientos T:A, Sp(R):A y Sp(S):A. La visualización de los orbitales moleculares indica que en el apareamiento A:T, los orbitales HOMO y LUMO presentan la misma simetría tipo π . Para el caso de A:T se observa que en los mapas de región de probabilidad que el HOMO se extiende por la región que corresponde a la A y el LUMO en la región que corresponde a la T, lo cual puede interpretarse en términos de que, de acuerdo a la teoría de interacción orbital estaría favorecido una canal para el movimiento electrónico de la A a la T, y por tanto podríamos pensar en que la región de la T aumentaría en densidad electrónica y la región de la A disminuiría.

En el apareamiento Sp(R):A y Sp(S):A se observa que en los mapas de región de probabilidad que a semejanza del apareamiento natural T:A, el HOMO se extiende por la región que corresponde a la A y el LUMO se localiza en la región que corresponde a los productos de oxidación; lo anterior puede interpretarse en términos de que, como ya se apuntó, la semejanza entre los productos de oxidación Sp(R) y Sp(S) con la Timina, ha

generado un patrón de orbitales frontera con la misma localización. Por tanto, debe esperarse que esté favorecido el mismo canal para el movimiento electrónico observado en T:A, ahora de la A a la Sp(R)/Sp(S); por consiguiente la región Sp(R)/Sp(S) aumenta en densidad electrónica y la región de la A disminuye.

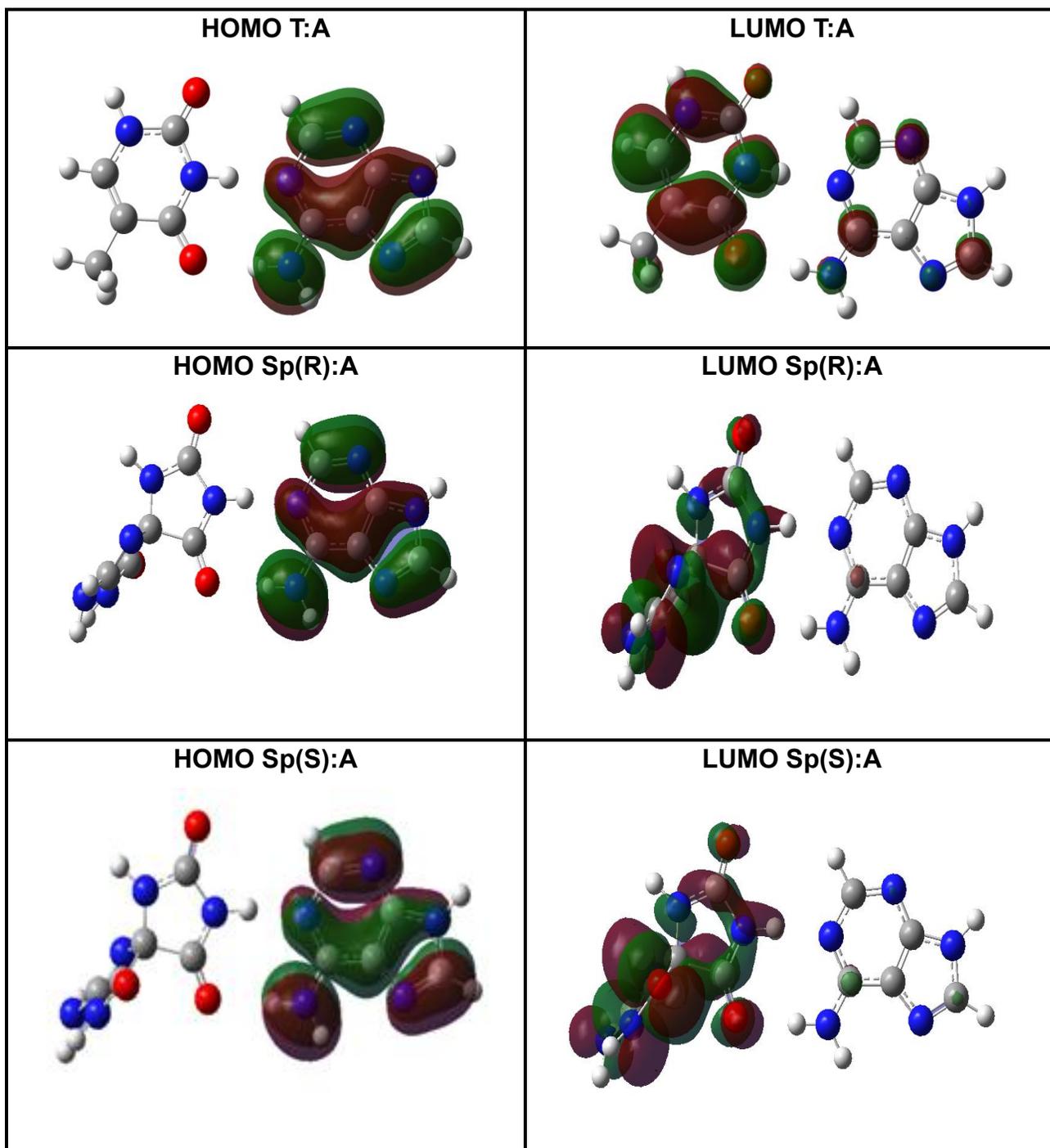


Figura 6.3 orbitales HOMO y LUMO para los apareamientos de la T:A y Sp(R y S):A

En la figura 6.4 se muestran las cargas NBO en el apareamiento T:A en la región de formación de puentes de hidrógeno se observan dos oxígenos y un nitrógeno con cargas negativas en la región de la T y dos nitrógenos con carga negativa en la región de la A.

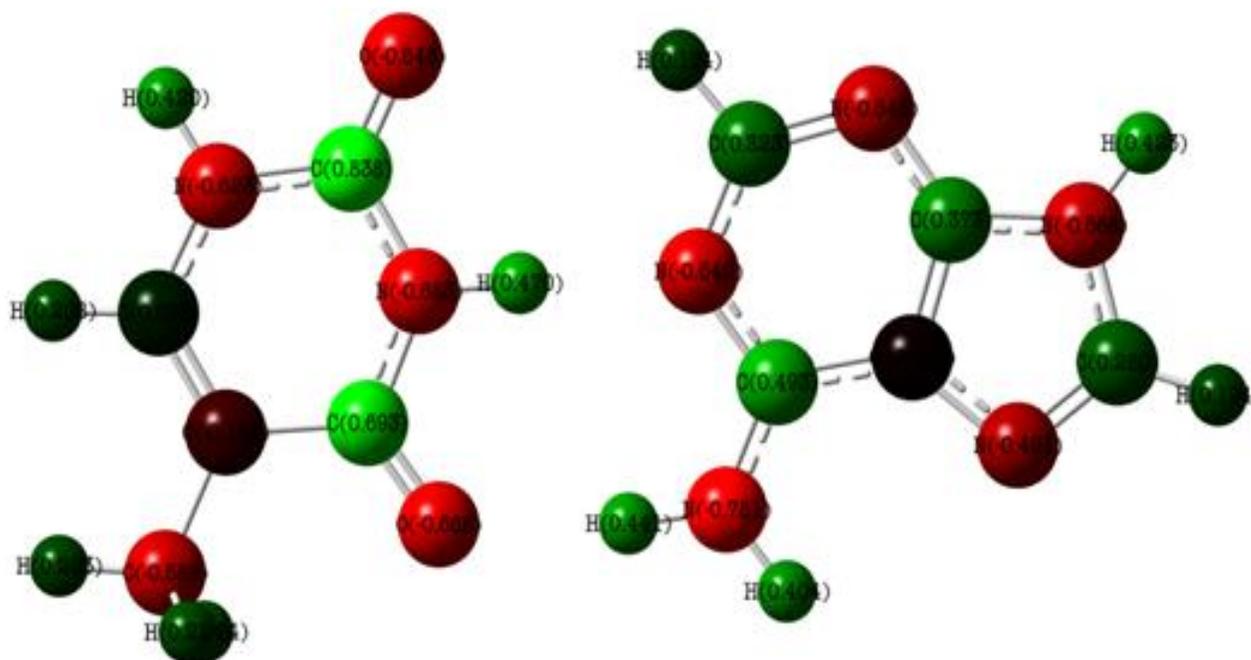


Figura 6.4 cargas NBO en el apareamiento T:A

En la tabla 6.1 se muestran los valores de las cargas correspondientes a los diferentes átomos involucrados en la formación de puentes de hidrógeno.

Tabla 6.1 Cargas NBO para la A y T aisladas y apareadas

Timina				Adenina			
	T (aislada)	Región (T-A)	Δq		A (aislada)	Región (T-A)	Δq
O	-0.611	-0.648	-0.037	---	---	---	---
N(N-H)	-0.658	-0.685	-0.027	N	-0.619	-0.640	-0.021
O	-0.639	-0.668	-0.029	N(N-H)	-0.728	-0.781	-0.053
Σ cargas	-1.908	-2.001	-0.093	Σ cargas	-1.347	-1.421	-0.074

- Se observa que todos los átomos de oxígeno y nitrógeno participantes en los enlaces de hidrógeno aumentan su carga negativa respecto a cuando estaban como moléculas aisladas; por tanto, el proceso de apareamiento moviliza las densidades electrónicas de ambas moléculas hacia las regiones frontera donde se producen los enlaces de hidrógeno (punto de apareamiento).
- En el análisis de las Δq en la Timina observamos que el oxígeno que mayor aumento de carga negativa tiene corresponde a aquel que no forma enlaces de hidrógeno, lo que nos indica que hay un mecanismo de movimiento de la carga hacia él que estaría funcionando como un reservorio de carga negativa.
- En el análisis de las Δq en la Adenina observamos igualmente un aumento de la carga; sin embargo en la región adenina del sistema apareado se observa el menor incremento de carga y a la vez el mayor incremento de carga de todos los átomos. Esto puede deberse al hecho de que a diferencia de la región de la Timina, no hay un elemento electronegativo que actúe como reservorio de carga negativa, y por el contrario hay una polarización de la carga hacia el átomo que está donando el protón.
- En el caso de la región de la Timina el átomo de nitrógeno que aporta el hidrógeno como protón al enlace es el que menos incrementa la carga negativa producto de la distribución de la carga hacia el oxígeno que actúa de reservorio de carga negativa.
- Finalmente debemos señalar que, aunque el proceso de transferencia de carga es localizado en el sentido de que el átomo que cede el protón es el que queda obviamente con más carga negativa, la suma de las cargas nos dice que como efecto neto la región de la Timina quedó más negativa y podríamos señalar que la transferencia neta de carga va de la Adenina a la Timina. Esta conclusión está de acuerdo con lo ya señalado en la sección anterior acerca de que las regiones de probabilidad de los orbitales frontera, nos permitieron predecir un canal de movimiento de la densidad electrónica de la región adenina (HOMO) a la región Timina (LUMO).

En la figura 6.5 se muestra el resultados del mapa de potencial electrostático en el apareamiento T:A

- El análisis del mapa de potencial electrostático nos dice que en los puntos donde ocurre el apareamiento, que hemos señalado en la figura 6.5 con un rectángulo, las zonas negativas (en rojo) aparecen en la región de la Timina, lo cual nos indica que, como resultado final del apareamiento la carga se distribuyó de tal forma que la región de la Timina recibió más carga negativa que la región adenina, por lo que se confirma lo ya señalado en las dos secciones anteriores acerca de que el efecto neto es un movimiento de carga de la Adenina a la Timina.
- Una vez analizado el comportamiento del apareamiento natural que ocurre en el ADN entre Timina y Adenina, pasemos a analizar lo que ocurre en los apareamientos resultados del daño del ADN por la presencia de los productos de oxidación Sp(R) y Sp(s).

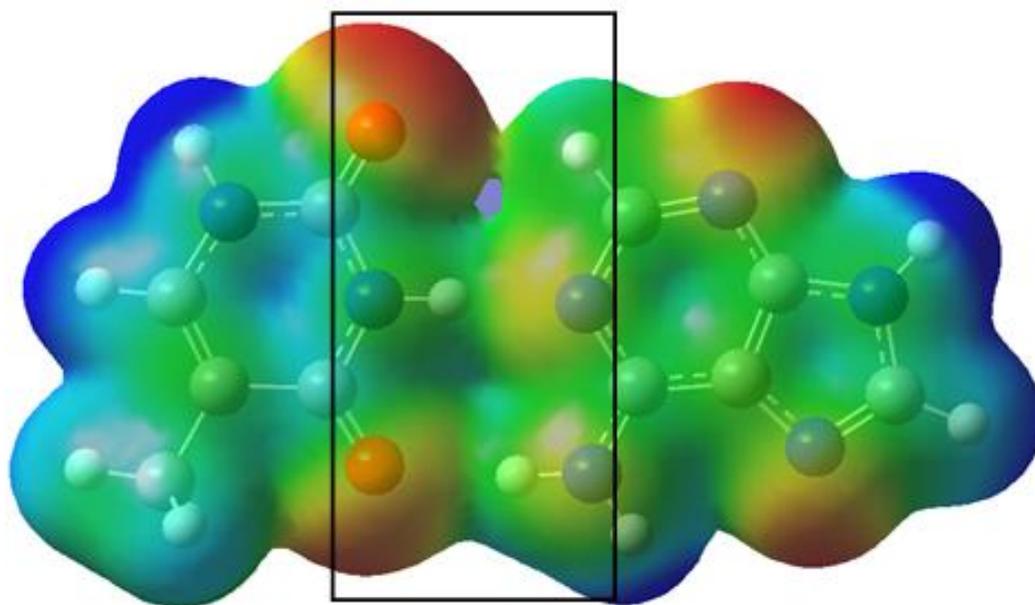


Figura 6.5 Mapa de Potencial Electrostático en el apareamiento T:A

En la figura 6.6 y 6.7 se muestran las cargas NBO en el apareamiento Sp(R):A y Sp(S):A en la región de formación de puentes de hidrógeno se observan dos oxígenos y un nitrógeno con cargas negativas en la región de la T y dos nitrógenos con carga negativa en la región de la A en ambos casos.

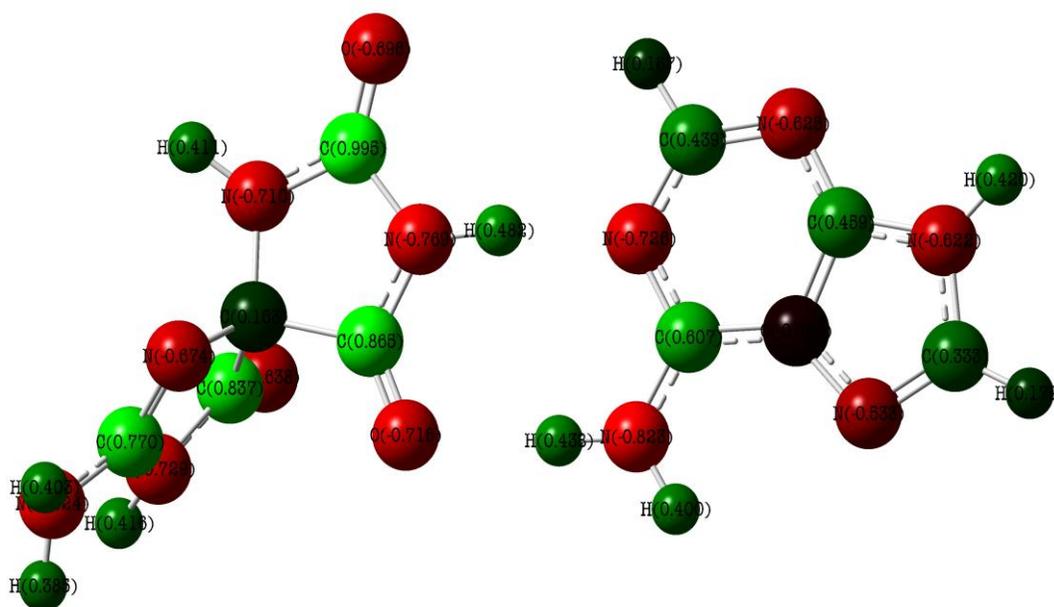
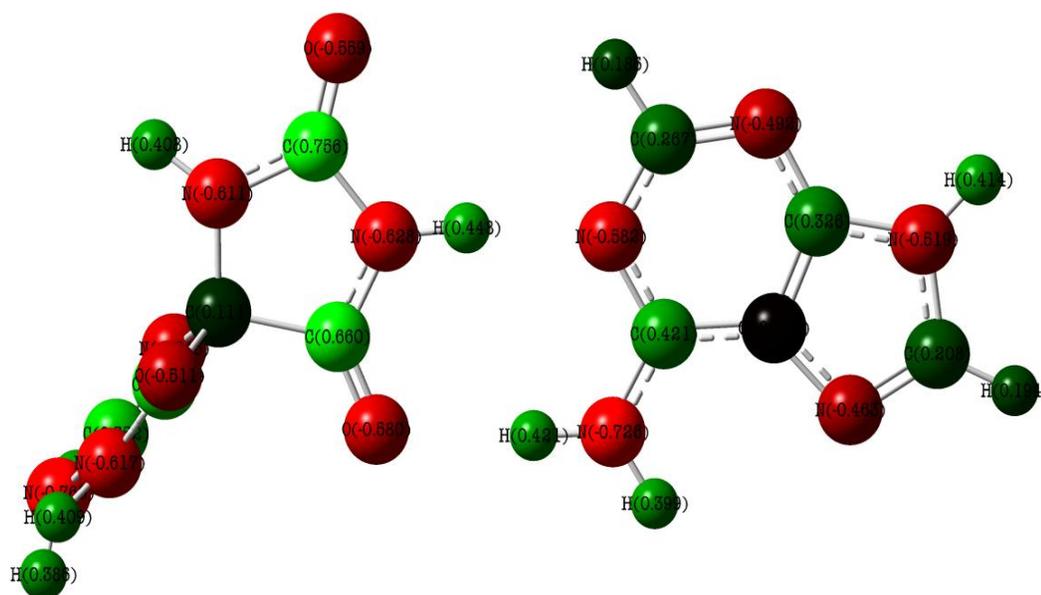
Figura 6.6 cargas NBO en el apareamiento $Sp(R)$ Figura 6.7 cargas NBO en el apareamiento $Sp(S)$

Tabla 6.2 Cargas NBO para Sp(R)/Sp(S) y A en el apareamiento y aisladas

Sp(R)/Sp(S)				adenina			
	Sp(R)/Sp(S) aislada	Región Sp(R)/Sp(S)	Δq		A aislada	Región A	Δq
O	-0.612/-0.557	-0.696/-0.559	-0.084/-0.002	---	---	---	---
N (H)	-0.671/-0.615	-0.769/-0.628	-0.098/-0.013	N	-0.619	-0.726/-0.582	-0.107/+0.037
O	-0.578/-0.526	-0.716/-0.580	-0.138/-0.054	N(H)	-0.728	-0.823/-0.726	-0.095/+0.002
Σ cargas	-1.861/-1.698	-2.181/-1.767	-0.320/-0.069	Σ cargas	-1.347	-1.549/-1.308	-0.202/+0.039

En la tabla 6.2 se muestran los valores de las cargas correspondientes a los diferentes átomos involucrados en la formación de puentes de hidrógeno en la que se puede observar el comportamiento siguiente;

- Sp(R):A Se observa que todos los átomos de oxígeno y nitrógeno que participan en los enlaces de hidrógeno aumentan su carga negativa respecto a cuando estaban como moléculas aisladas; el oxígeno que no participa no aumenta significativamente su carga por tanto, no tiene un función efectiva como reservorio de carga negativa. A semejanza del pareamiento natural, el proceso de apareamiento moviliza las densidades electrónicas de ambas moléculas hacia las regiones frontera donde se producen los enlaces de hidrógeno (puntos de apareamiento).
- Sp(S):A La región de la adenina no aumenta su carga negativa.
 - Se observa en el apareamiento Sp(R):A mayor semejanza en el proceso de distribución de la carga que en Sp(S):A
- Sp(R):A En el análisis de las Δq se observa que la carga tanto en la región de Sp(R) como en en la región de la adenina se polariza hacia el átomo que no aporta el protón hidrógeno.
- Sp(S):A En la región Sp(S) el comportamiento es similar al Sp(R), pero la región de la adenina quedará desactivada en carga negativa.

Independientemente de las diferencia en los patrones de distribución de la carga negativa en los apareamientos Sp(R):A y Sp(S):A respecto a T:A, la semejanza se observa en que la región de Sp(R) y Sp(S) gana carga y la región adenina pierde carga; esto se confirma también con la suma de las cargas realizadas. Por tanto al igual que en el apareamiento T:A las regiones de probabilidad de los orbitales frontera, permiten predecir un canal de

movimiento de la densidad electrónica de la región adenina (HOMO) a la región Timina (LUMO).

En la figura 6.8 y 6.9 se muestran los resultados de los mapas de potencial electrostático en el apareamiento Sp(R):A y Sp(S):A respectivamente. El análisis del mapa de potencial electrostático nos dice que en los puntos donde ocurre el apareamiento mostrado en las figuras 6.6 para Sp(R):A y 6.7 para Sp(S):A con un rectángulo, las zonas negativas (en rojo) aparecen en la regiones del Sp(R) y Sp(S), lo cual nos indica que, como resultado final del apareamiento, la carga se distribuyó de tal forma que la región de los productos de oxidación recibió más carga negativa que la región adenina, por lo que se confirma que a semejanza del apareamiento T:A, el efecto neto es un movimiento de carga de la Adenina a la Sp(R) y Sp(S).

De acuerdo a lo ya señalado, se han identificado tres indicadores de semejanza entre el apareamiento T:A y los apareamiento Sp(R):A y Sp(S):A, lo cual refuerza la hipótesis inicial.

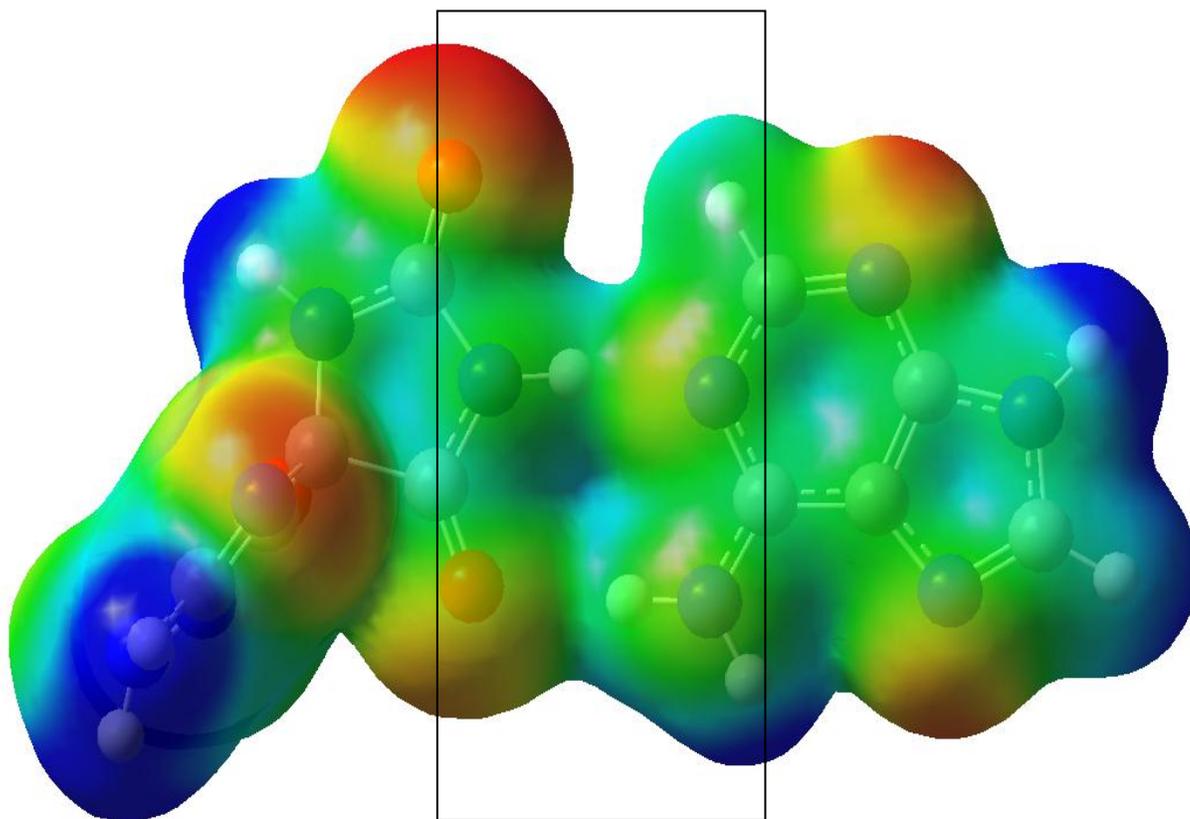


Figura 6.8 Potencial electrostático apareamiento Sp(R):A

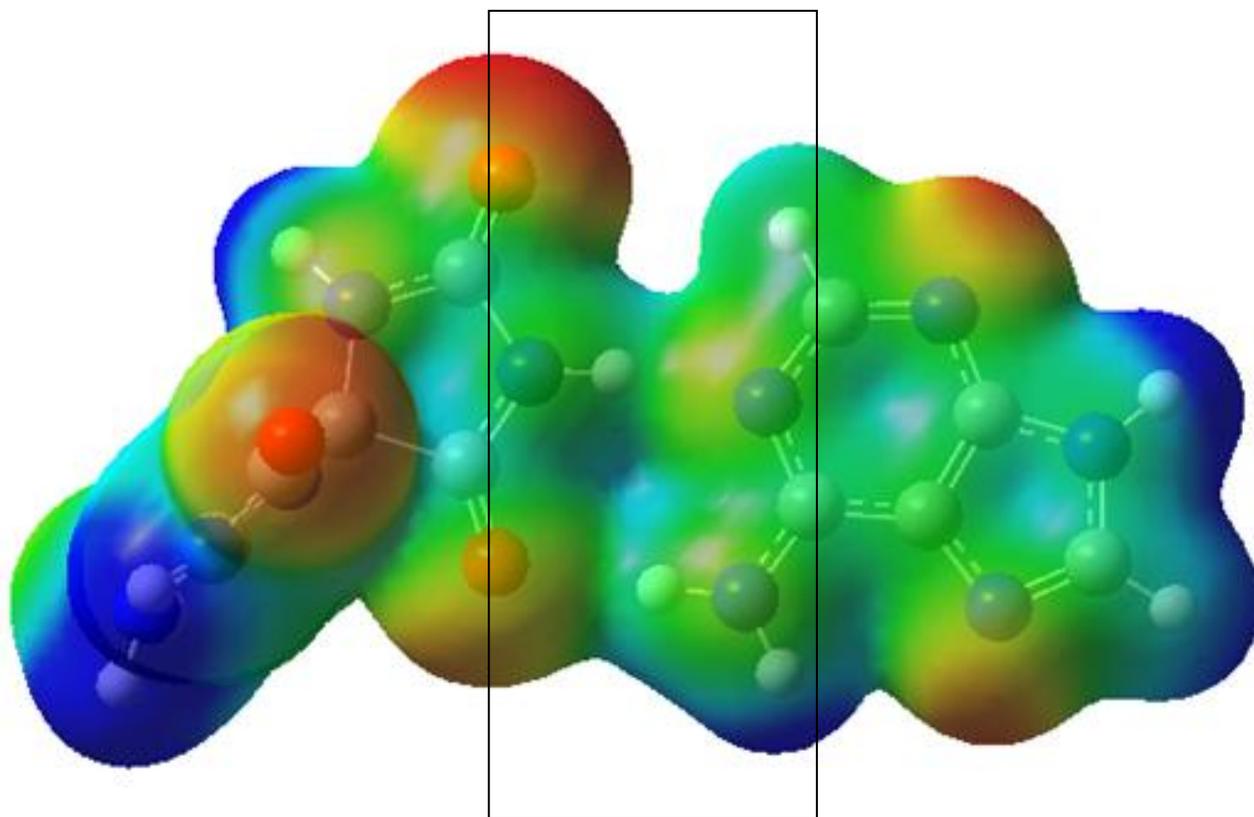


Figura 6.9 Potencial electrostático pareamiento Sp(S):A

Por la importancia que tiene la zona de contacto generada a través de los enlaces de hidrógeno, se realizó el estudio de geometría y energía de los puentes de hidrógeno. En la tabla 6.3 se muestran las energías, de los apareamientos y del enlace de H para las especies T-A, Sp(R)-A y Sp(S)-A, las cuales se calcularon con la ecuación 4.1 y 4.2 además de el valor experimental es reportado para la T:A

Tabla 6.3 Energías de Apareamiento y de Enlace de Hidrógeno

APAREMIENTOS	$E_{\text{PAREAMIENTO}}$(Kcal/mol)	$E_{\text{HIDRÓGENO}}$(Kcal/mol)
T:A(a)	(-13.0)	
T:A	-13.36 (0.36)	-6.68
Sp(R):A	-13.05 (0.05)	-6.52
Sp(S):A	-12.61 (-0.39)	-6.30

(a) Valor experimental: J. Reynisson, S. Steenken, Phys. Chem. Chem. Phys. 4 (2002) 5353

En la tabla 6.3 podemos observar que el valor experimental para T:A, es muy cercano a los valores obtenidos para T:A, Sp(R):A y Sp(S):A por lo que existe una similitud en este parámetro energético ya que estas tres especies tienen las energías de enlace muy semejante obteniendo un error entre 0.05 y 0.33.

En las figuras 7.0, 7.1 y 7.2 se muestran las geometrías de los apareamientos A:T, SpR:A y Sp(S):A podemos observar que las distancias señaladas para la formación de los puentes de hidrógeno oscila entre 1.8 Å y 2.0 Å para los tres casos, considerando que las distancias puentes de hidrógeno entre los tres átomos involucrados 2.6 Å - 3.5 Å (X—H—Y) están de acuerdo con lo experimental se corrobora que este parámetro geométrico es muy importante para considerar que estos apareamientos presentan una gran semejanza y que el ADN posiblemente pudiera confundir el apareamiento natural del ADN y comenzar una mutación al no poder reparar el daño.

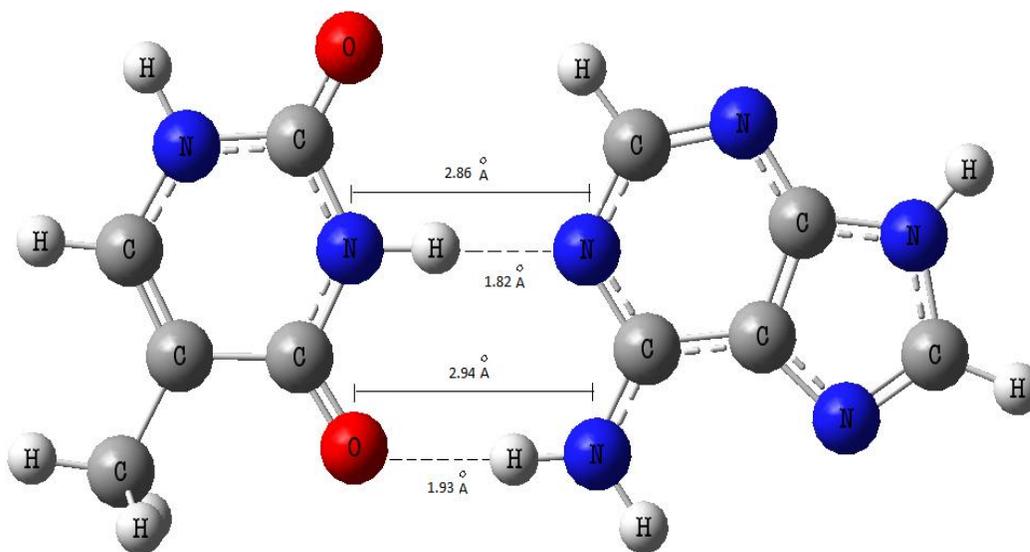


Figura 7.0 distancias de enlace para el apareamiento A-T

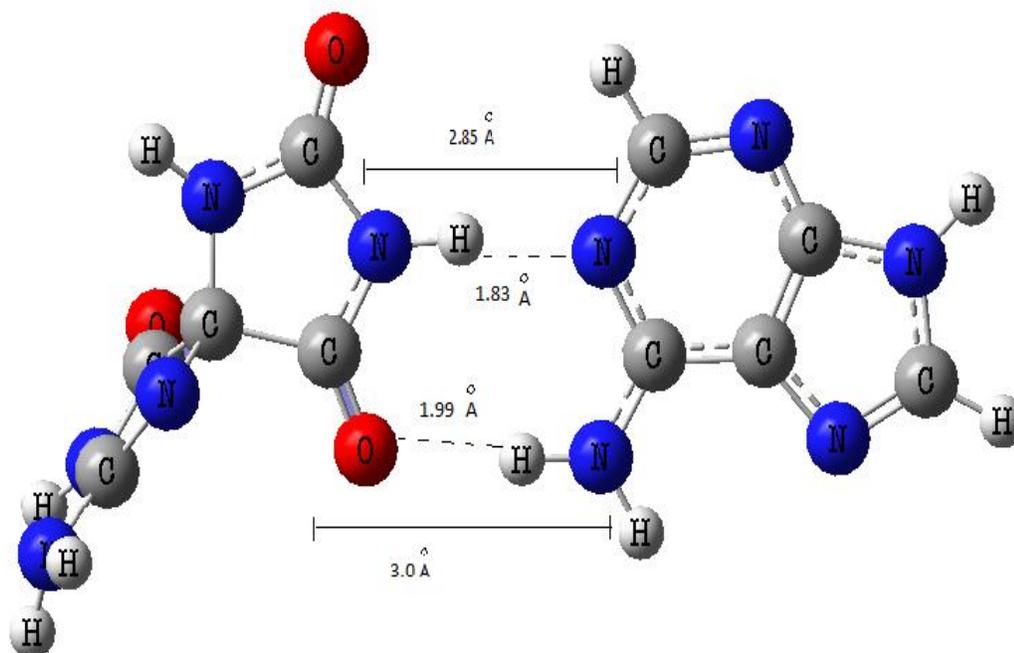


Figura 7.1 distancias de enlace para el apareamiento Sp(R)-A

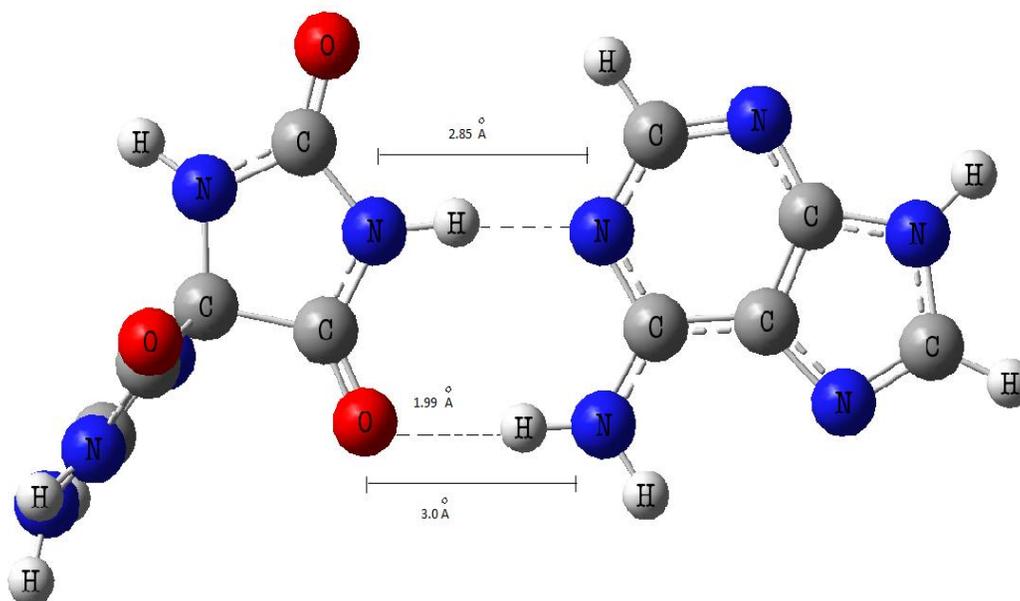


Figura 7.2 distancias de enlace para el apareamiento Sp(S)-A

Conclusiones

- En el presente trabajo, se realizó un estudio sistemático a nivel teórico de reactividad de siete productos de oxidación de guanina (POG) que incluyeron a 8OG, junto con las cuatro Bases nitrogenadas (BN) naturales, Adenina, Citosina, Guanina y Timina; las geometrías fueron optimizadas a nivel TFD, utilizando el funcional de intercambio y correlación MPWB95 combinado con la función base 6-311++G (d,p); los VIP y VEA fueron calculados con la TPE que incluye explícitamente los términos de correlación electrónica y por tanto dan valores más exactos, lo cual fue demostrado utilizando las BN y moléculas de prueba, de las cuales se disponía información experimental.
- El valor del VIP más alto fue para los POG Sp(R), SP(S) y Z lo que permite concluir que estas especies son menos susceptibles a oxidarse; los valores VEA más altos fueron para Z y Iz, lo que indica que estas moléculas tienen una capacidad grande para aceptar electrones y formar centros aniónicos en el ADN.
- Particularmente, G y 8OG exhibieron el menor valor de VIP y dureza de todas las BN y POG, respectivamente; por tanto, estas especies son las más susceptibles de cambiar sus densidades electrónicas y ser transformadas en otro POG, lo cual fue confirmado con evidencias experimentales.
- En lo antecedentes revisados se sugiere que una transversión del tipo G:C → T:A puede ser originada por lesiones debidas a la presencia en el ADN de Sp(R) y Sp(S); nuestros estudios teóricos confirmaron que existe semejanza en las propiedades electrónicas de estos productos de oxidación y la Timina, con lo cual se confirma que existe la posibilidad real de que en un primer proceso de reparación el ARN repare erróneamente el apareamiento Sp(R)/Sp(S):C para formar Sp(R)/Sp(S):A, por haber detectado semejanza entre Sp(R)/Sp(S) y la T.

- Quedó confirmado que los pareamientos T:A y Sp:A presentan semejanza en sus propiedades electrónicas con base en cuatro indicadores: orbitales HOMO-LUMO, cargas NBO, mapas de potenciales electrostáticos y naturaleza de los enlaces de Hidrógeno (energías y distancias)
- La metodología que se muestra en este trabajo puede llevarnos confirmar evidencias experimentales o proponer la posible presencia de cierto POG en una transversión.
- Se demuestra que estas mutaciones tienen una base química relacionada con procesos de oxidación y similitudes estructurales observadas a través del estudio de sus propiedades electrónicas.

Bibliografía y Referencias

- [1] K. B. Beckman, B. N. Ames, *Am Physiol Soc.* (1998) **78**, 547.
- [2] J. E. Klaunig, L. M. Kamendulis, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **44**, (2004) 239.
- [3] S. P. Hussain, L. J. Hofseth, C. C. Harris, *Nat. Rev. Cancer* **3**, (2003) 276.
- [4] R. Olinski, D. Gackowski, M. Foksinski, R. Rozalski, K. Roszkowski, P. Jaruga, *Free. Radic. Biol. Med.* **33**, (2002) 192.
- [5] M. Aslan, T. Ozben, *Curr. Alzheimer Res.* **1**, (2004) 111.
- [6] N. Aguirre, M. F. Beal, W. R. Matson, M. B. Bogdanov, *Free Radical Res.* **39**, (2005) 383.
- [7] S. Bjelland, E. Seeberg, *Mutat. Res.* **531**, (2003) 37.
- [8] S. Steenken, S. V. Jovanovic, *J. Am. Chem. Soc.* **119**, (1997) 617.
- [9] S. Steenken, S. V. Jovanovic, M. Bietti, K. Bernhard, *J. Am. Chem. Soc.* **122**, (2000) 2373.
- [10] L. William, J. Essigmann, *Chem. Reserch Tox.* **19**, (2006) 491.
- [11] J. Cadet, M. Berger, G. W. Buchko, P. C. Joshi, *J. Am. Chem. Soc.* **116**, (1994) 7403.
- [12] G. R. Martínez, M. H. G. Medeiros, J.L. Ravanant, J. Cadet, *Mascio Biol. Chem.* **383**, (2002) 607.
- [13] K. Katsuhito, I. Saito, *J. Am. Chem. Soc.* **120**, (1998) 7373.
- [14] W. Luo, J. G. Muller, C. J. Burrows, *Org. Lett.* **3**, (2002) 2801.
- [15] Y. Ye, J. G. Muller, W. Luo, C. L. Mayne, A. J. Shallop, R. A. Jones, *J. Am. Chem. Soc.* **125**, (2003) 13926.
- [16] T. Suzuki, M. D. Friesen, H. Ohshima, *Bioorg. Med. Chem.* **11**, (2003) 2157.
- [17] A. Joffe, N. E. Geacintov, V. Shafirovich, *J. Chem. Reserch Tox.* **16**, (2003) 1528.
- [18] L. B. Jorde, J. C. Carey, M. J. Bamshad, R.L White. *Genética médica*. Barcelona: Elsevier; 2009.
- [19] D.L. Nelson, M. M. Cox. Lehninger. *Principios de Bioquímica*. in: Versión Española de Claudio Cuchillo, Barcelona: Omega; 2006 .
- [20] A.J. Solari, *Genética Humana*. Madrid: Médica Panamericana; 2004.
- [21] B. Halliwell, J. M. Gutteridge, *Free Radicals in Biology and Medicine*, Clarendon, Oxford, 2nd Ed. (1989)
- [22] S. Shibutani, M. Takeshita, A. P. Grollman, *Nature* (London) **349**, (1991) 431.

- [23] M. Moriya, C. Ou, V. Bodepudi, F. Johnson, M. Takeshita, A. P. Grollman, *Mutat. Res.* **254**, (1991) 281.
- [24] M. L. Michaels, A. P. Ch. Cruz, J. H. Grollman, *Miller Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**, (1992) 7022 .
- [25] T. J. McBride, J. E. Schneider, L. A. Floyd, Loeb *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**, (1992) 6866.
- [26] K. D. Sugden, B. D. Martin, *Environ. Health Perspect.* **110**, (2002) 725.
- [27] O. Korniyushyna, A. M. Berges, J. G. Muller, C. J. Burrows, *Biochemistry* **41**, (2002) 15304.
- [28] M. K. Hailer, P. G. Slade, B. D. Martin, T. A. Rosenquist, K. D. Sugden, *DNA Repair* **4**, (2005) 41.
- [29] P. Hohenberg y W. Kohn, *Phys. Rev.* **136** (1964) 864
- [30] C.C.J Roothaan *Rev. Mod. Phys.* **23** (1951) 69.
- [31] R.G. Parr.; W. Yang, *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules.* (1994). ISBN978-0195092769.
- [32] P. Hohenberg, W. Kohn, *Phys. Rev. B* **136**, (1964) 864
- [33] P. Hohenberg, W. Kohn, L. J. Sham, *Phys. Rev.*, **140**, A (1965) 1133
- [34] W. Kohn, L. J. Sham, *Phys. Rev. A* **140**, (1965) 1133
- [35] O. Gunnarsson I. Lundquist, *Phys. Rev.*, **B10**, (1974) 1319
- [36] S. H. Vosko, L. Wilk, M. Nusair, *Can J. Phys.*, **58**, (1980) 1200
- [37] J. Perdew, *Phys. Rev.*, **B33**, (1986) 8822
- [38] A. D. Becke, *Phys. Rev.*, **A38**, (1988) 3098
- [39] J. Perdew, *Electronic Structure of Solides*, (1991)
- [40] C. Lee, W. Yang, R. G. Parr, *Phys. Rev.*, **B37**, (1988) 785
- [41] Y. Zhao, G. D. Truhlar, *J. Phys. Chem. A* (2004) 108.
- [42] J. C. Slater, *Phys. Rev.*, **36**, (1930) 57
- [43] S. F. Boys, *Proc. Roy. Soc.*, **A200**, (1950) 542
- [44] J. Linderbeg, Y. Öhrn, *Propagators in Quantum Chemistry*, Academic Press: New York, (1973).
- [45] Y. Öhrn, G. Born, *Adv. Quantum.Chem.* **13**, (1981) 1.
- [46] J. V. Ortiz, *In Computational Chemistry: Reviews of Current Trends*, Ed. World Scientific: Singapore, **2**, (1997)
- [47] R.P. Itzkowski and J. L Margrave *J. Am. Chem. Soc.* **83** (1961) 3547
- [48] R. S. Mulliken *J. Chem. Phys.* **2** (1934) 782
- [49] O. Dologounitcheva, V. G. Zakrzewski, J. V. Ortiz, *J. Am. Chem. Soc.* **122**, (2000) 12304.
- [50] P. Senet 1996 *J. Chem. Phys.* **105** 6471
- [51] P. Senet 1997 *J. Chem. Phys.* **107** 2516
- [52] P. W Ayers and Parr R G *J. Am. Chem. Soc.* **122** (2000) 2010
- [53] P. W Ayers and Parr R G *J. Am. Chem. Soc.* **123** (2001) 2007
- [54] T Koopmans, T. Physics, **104**,(1934), 1
- [55] R. G. Parr, R. G. Pearson, *J. Am. Chem. Soc.* **105**, (1983) 7512

- [56] P. Gerlings, F. de Proft and W. Langenaker, *Chemical Reviews*, ACS, 103, (2003) 1793
- [57] R. G. Parr, R. A. Donnelly, M. Levy, W. E. Palke, *J. Chem. Phys.* **68**, (1978) 3801
- [58] (a) Parr, R. G.; Pearson, R. G. *J. Am. Chem. Soc.* 1983, 105, 7512,
(b) Pearson, R. G. *Chemical Hardness: Applications from Molecules to Solids*; Wiley- VHC: Weinheim, Alemania, 1997
- [59] Yang, W.; Parr, R. G. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985, 82, 6723.
- [60] D. Cruz Valverde, D. Cruz-Garriz, J. A. Chamizo, A. Garriz, *Estructura Atómica: Un enfoque Químico*, Pearson Educación, (1986) 82.
- [61] P. W. Ayers; M. Levy, *Theor. Chem. Acc.* 2000, 103, 353
- [62] J. Melin, P. W. Ayers, J. V. Ortiz, *J. Chem. Sci.* **117**, (2005) 387
- [63] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, O. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, D. J. Fox, *Gaussian, Inc.*, Wallingford CT, (2009).
- [64] Aflatooni, K.; Gallup, G. A.; Burrow, P. D. *J Phys Chem A* 1998, 102, 6205
- [65] K. Kino, H. Sugiyama, *Mutation Research* **571**, (2005) 33
- [66] M. Hori, T. Suzuki, N. Minakawa, A. Matsuda, H. Harashima, H. Kamiya *Mutation Res.* **714**, (2011) 11.
- [67] A. D. Buckingham, J. E. Del Bene and S. A. C. McDowell, *Chem. Phys. Lett.*, 2008, 463, 1