

### 8-Desarrollo del trabajo

Cuando se observa la secuencia básica de una molécula de R.N.A<sub>t</sub>, tal como se la muestra en la fig.2, se puede comprobar que sus zonas exteriores son altamente susceptibles de sufrir un ataque del medio. En los seres vivos este medio es de tipo acuoso, el cual, debido a su estructura, posee una alta cualidad tautomérica.

Por ese motivo es que en este trabajo se pretendió determinar, entre otras cosas, a partir de las curvas isopotenciales, las probabilidades de ataque que se presentan en el grupo de bases del R.N.A<sub>t</sub> de la alanina, que forman el anticodón del mismo.

La estructura electrónica de las bases nucleicas ha sido muy estudiada, pero la mayoría de las veces en sus estados fundamentales. Es por eso que nosotros hemos considerado el estudio de algunos de sus estados excitados, tanto en la forma singulete como triplete, no solo en las líneas isopotenciales sino también de las reactividades, realizándose además una evaluación de los procesos tautoméricos con sus correspondientes constantes de equilibrio.

Este estudio se realizó para tres moléculas diferentes, hipoxantina, citosina y guanina, desarrollándose aquí, en forma completa, todo lo referente a la primera de ellas y solo de manera parcial (tautomerismo y constantes de equilibrio) en lo que se refiere a las otras dos.

a) Estudio de los niveles energéticos correspondientes a formas tautoméricas de la molécula de hipoxantina.

Desarrollaremos a continuación el estudio de los estados singuletes excitados de la molécula de hipoxantina.

a<sub>1</sub>) Mapas isopotenciales correspondientes a esos estados, para formas tautoméricas.

En la tabla 7 pueden observarse las transiciones entre el estado fundamental y el primer y segundo estado excitado, correspondientes a las formas tautoméricas (fig.80). Mirando la tabla uno encuentra que para todas las formas tautoméricas solo una de esas transiciones es lo suficientemente potente como para ser detectada por medio de estudios espectroscópicos en la zona U.V.

La forma tradicional de estudio de los centros de posible ataque electrofílico o nucleofílico es utilizando los mapas isopotenciales. Existen varios métodos de cálculo para las líneas isopotenciales, muchos de ellos presentados por Politzer. En este trabajo se ha utilizado la expresión dada por Giessner-Prettre :

$$V_P \sum \frac{Z_A}{R_{PA}} - P_{AA} \cdot V_{AP}$$

donde  $p_{AA}$  es la densidad electrónica para el átomo A y  $V_{AP}$  son las integrales de atracción nuclear para los orbitales s localizados en el mismo elemento.

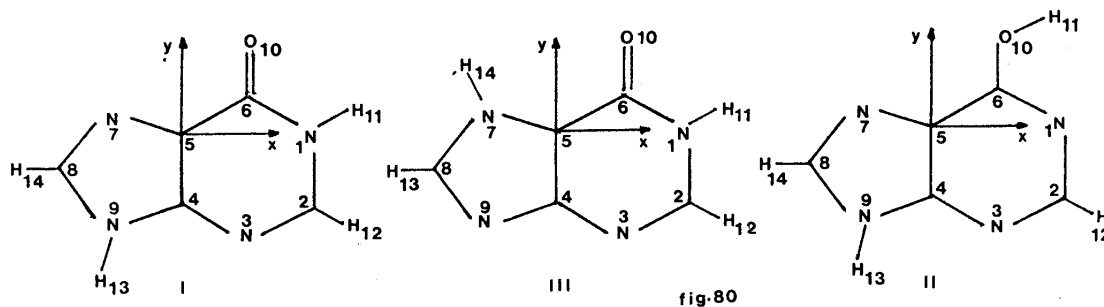
El cálculo de las densidades de carga se ha hecho en base a 60 configuraciones de estados mono-excitados.

a<sub>2</sub>) Interpretación, en base a los resultados obtenidos en a<sub>1</sub>), de reacciones químicas en que se ven involucrados estos tautómeros.

Con respecto al estado electrónico fundamental, la dirección más probable de ataque electrofílico en el plano molecular, está localizada entre los elementos C<sub>6</sub>-O<sub>10</sub> y N<sub>7</sub> (fig.81), tal como se vé cuando el plano se toma en z = 0. En todas las figuras se consideró el plano molecular en z = 0, pero se han estudiado también un conjunto de planos en el rango -1 ≤ z ≤ 1. En estos planos, los mínimos de las líneas equipotenciales se desplazan rápidamente desde la posición C<sub>6</sub>-O<sub>10</sub> hacia el N<sub>7</sub>, cuando el protón se mueve hacia afuera del plano molecular, (figs.81-a y 81-b), tal como uno puede ver cuando se comparan los valles isotopotenciales para z = 0 y z = 1. Es por esto que, en la hipoxantina, la región molecular comprendida entre C<sub>6</sub>-O<sub>10</sub> y N<sub>7</sub> puede ser considerada como el centro más sensible a las reacciones electrofílicas. Todo esto coincide con resultados experimentales previos, tanto para esta molécula como para otras similares (F. Jordan, M.D. Sostman, J. Amer. Chem. Soc., 95, 6544; 1973; M. Kleiner, M. Elder, Mol. Phys., 30, 357, 1975), así como en los cálculos realizados por Pullman (A. y B. Pullman, Bull. Soc. Chem., France, 766, 1958). Con respecto a los datos experimentales, para la hipoxantina, es posible mencionar, entre otras cosas, la obtención de la N-7-metil hipoxantina (G.D. Fasman, Handbook of Biochemistry and Molecular Biology, Nucleic Acids, C.R.C. Press, Vol. I, 85, 1975) y del O-metil-hipoxantina (H.T. Miles, J. Org. Chem., 26, 4761, 1961). En el trabajo de Pullman, este autor predice como centro más reactivo para un ataque electrofílico, al O<sub>10</sub>.

Se han estudiado también las líneas equipotenciales para otros tautómeros, por ejemplo para el producido por la migración de un protón entre las posiciones 1 → 10 (figs.82-a y 82-b), y se puede observar que existe más similitud entre las líneas de la fig.82-b y las de la 81-b, que con las mostradas en la 82-a.

Otra forma tautomérica que puede presentarse en la hipoxantina es la que se produce por la migración de un protón desde la posición 9 a la 7 y viceversa. Este tau-



Formas tautoméricas estudiadas

### Hipoxantina I

Estado	Energía e.V	Cte. de osc.
1 <sup>ro</sup>	4.04	0.295
2 <sup>do</sup>	4.64	0.006

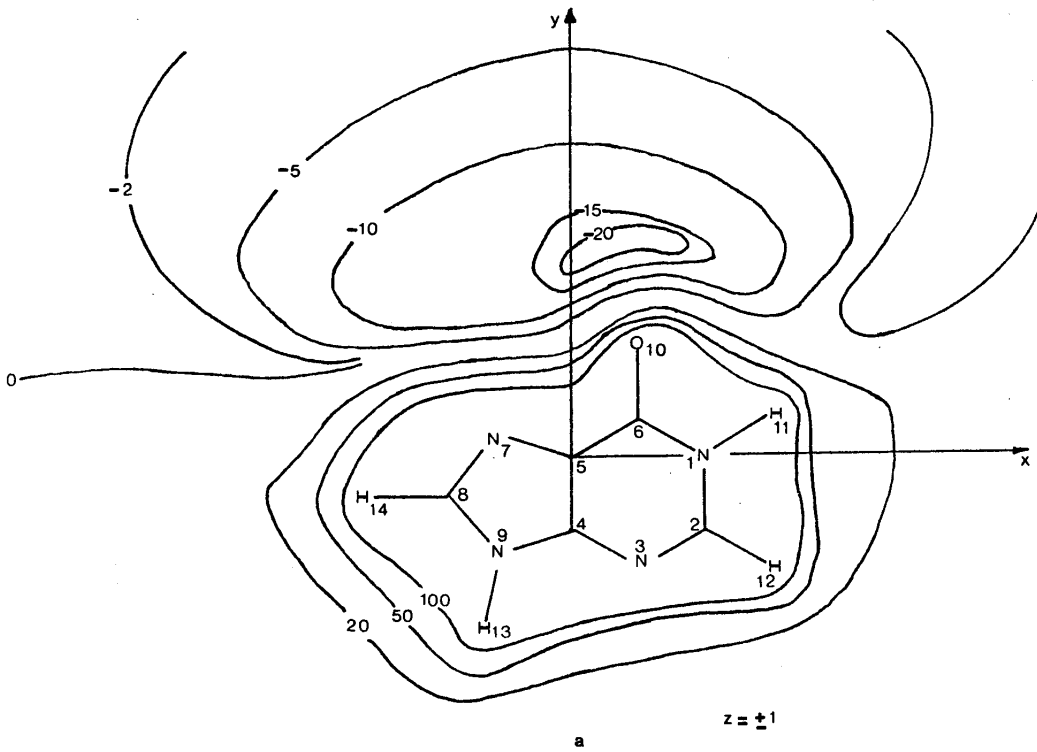
### Hipoxantina II

Estado	Energía e.V	Cte. de osc.
1 <sup>ro</sup>	4.54	0.007
2 <sup>do</sup>	4.67	0.201

### TABLA VII

### Hipoxantina III

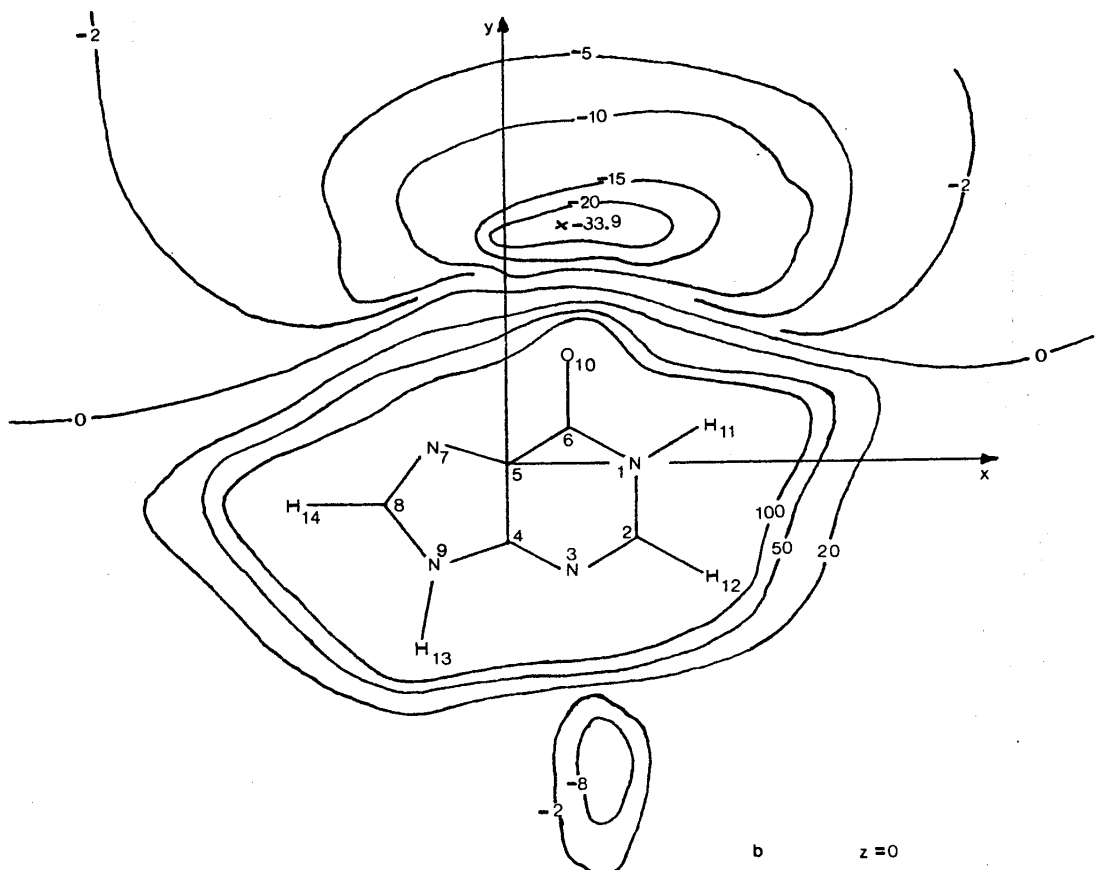
Estado	Energía e.V	Cte. de osc.
1 <sup>ro</sup>	4.33	0.07
2 <sup>do</sup>	4.40	0.085

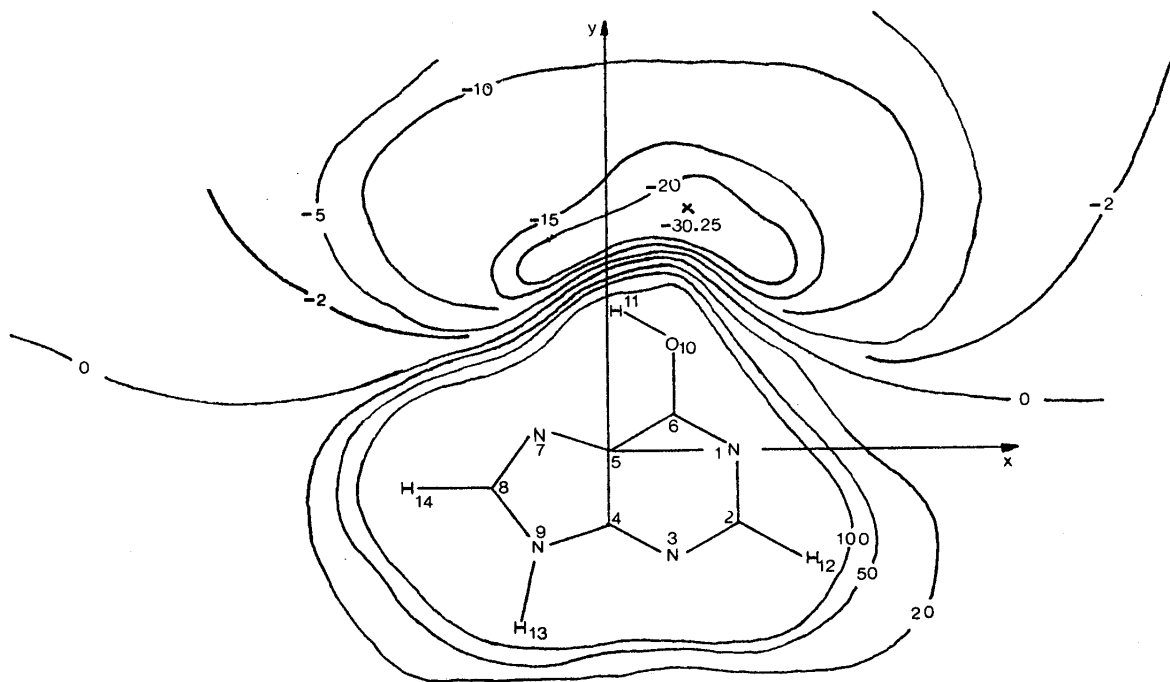


Líneas isopotenciales para los planos  $z = \pm 1$  y  $z = 0$ .

fig. 81

Estado fundamental. Tautómero I.





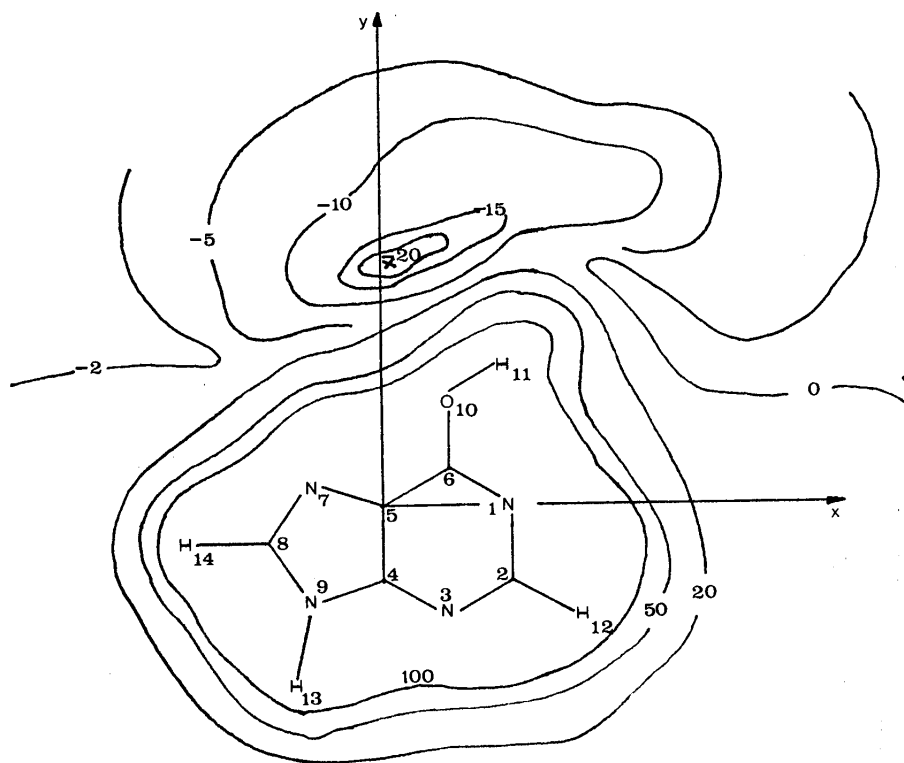
a  $z=0$

Lineas isopotenciales para el plano  $z=0$ .

fig.82

Estado fundamental. Dos posibles posiciones

para el  $H_{11}$  en el tautómero II.



b  $z=0$

tomerismo explica la obtención de la N-7-metil-hipoxantina.

Del estudio de la fig.81 se llega a la conclusión que la zona para un posible ataque protónico es bastante incierta, aún cuando solo se extienda a la región limitada por el  $N_1-H_{11}$  y el  $C_2-H_{12}$ . En la vecindad de estos elementos y en los planos comprendidos entre  $-1 \leq z \leq 1$ , no hay valles equipotenciales. Esta carencia, sin embargo alcanza al  $N_3$ , aún cuando éste no se halla lo suficientemente definido como para formar uno (fig.81-a y b).

Si comparamos los resultados obtenidos con los que corresponden a estados electrónicos fundamentales para moléculas similares o iguales no excitadas, por ejemplo, hipoxantina y guanina normal, se ve que en las regiones  $N_1-H_{11}$  y  $C_2-H_{12}$  las líneas equipotenciales son muy parecidas, aún cuando la guanina presente un grupo amino.

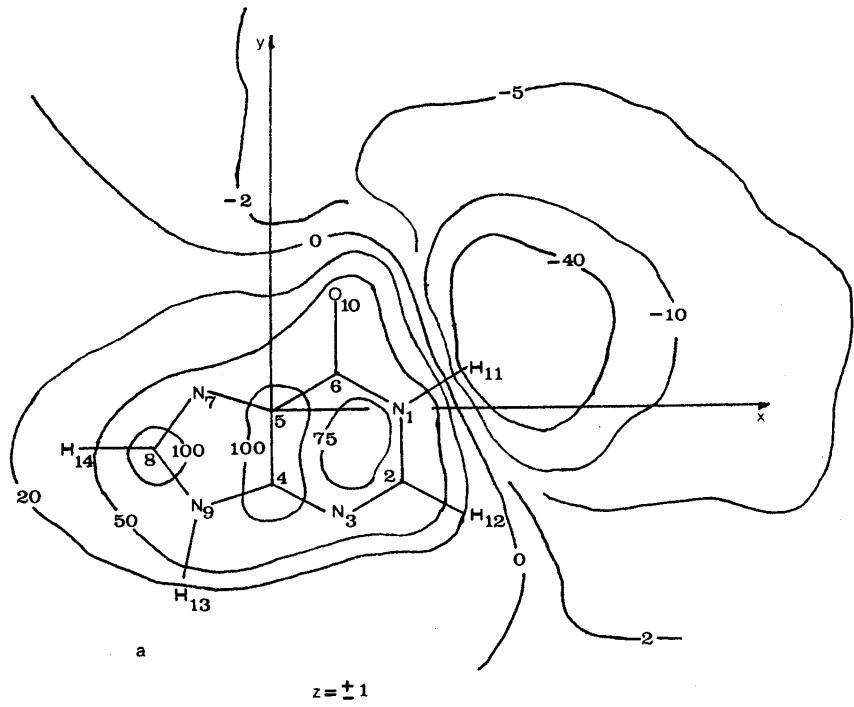
La importancia del estudio de los estados singuletes excitados de la hipoxantina se debe a que forma parte del grupo de nucleótidos que constituyen el anticodón del R.N.A de transferencia, y dado que la interacción codón-anticodón se verifica a través de los grupos  $C_6-O_{10}$  y  $N_7$ , las líneas equipotenciales más importantes son las que se presentan en torno a ellos.

En el estado fundamental el estudio de las líneas equipotenciales y de la distribución de carga, nos lleva a la conclusión que el átomo más sensible a un ataque nucleofílico es el  $C_6$ . En este caso, el movimiento debe realizarse en contra de los campos de fuerza, por lo que para que pueda llevarse a cabo debe haber un aumento de energía en los reactivos, lo que se lograría, por ej., mediante la sustitución del átomo de O por uno de S (conversión de la hipoxantina en purina-6-tionina).

En el primer estado singulete excitado (fig.83), los valles equipotenciales se sitúan en las regiones  $C_6-O_{10}$  y  $N_1-H_{11}$ , es decir, se van desplazando hacia el segundo grupo, lo que permite suponer que el centro de ataque electrofílico más probable en este caso es el  $N_1$  (tautómero I). Evidentemente esto explica la posibilidad de obtención del compuesto 1-metil-hipoxantina, cuando esta molécula reacciona con un alcali carbonado.

Refiriéndonos siempre al primer estado, y en los planos  $z = \pm 1$  (fig.83-a), aparecen grupos de líneas equipotenciales cerradas. En los planos cercanos al molecular, (fig.83-b) las curvas potenciales por debajo de 100 kcal./mol, desaparecen. Esto explicaría la gran actividad del elemento  $C_2$  en la reducción nucleofílica y reacción de hidrólisis de la hipoxantina con una solución de zinc en ácido sulfúrico (fig.84). En este

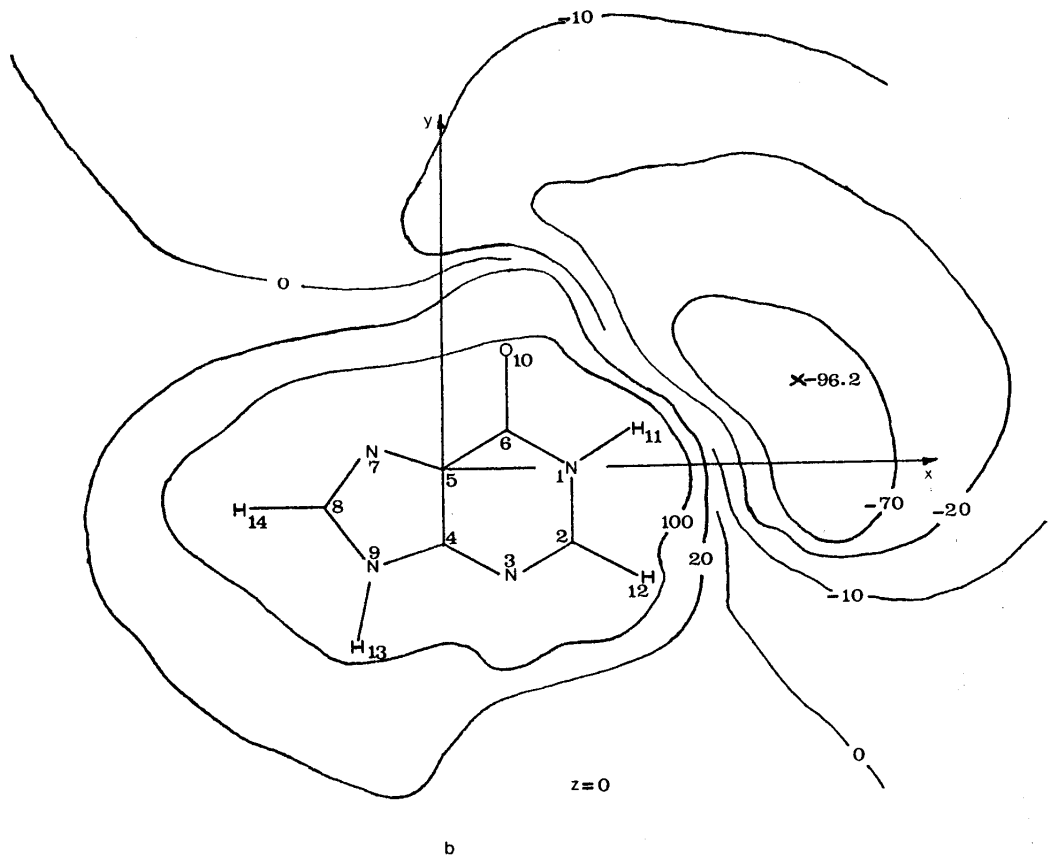




Lineas isopotenciales para los planos  $z = +1$  y  $z = 0$ .

Primer estado singulete excitado. Tautómero I.

fig.83



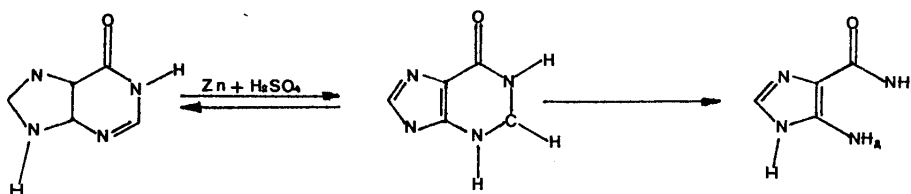


fig.84

Reacción de hidrólisis de la hipoxantina en una solución de ácido sulfúrico y Zn.

caso, el reactivo nucleofílico es la molécula de agua, la cual se mueve en contra del campo de fuerzas, por lo que se acercará a la zona de mayor potencial, la cual corresponde al átomo nombrado. Otro camino de ataque para los nucleófilos, en el plano  $z = \pm 1$ , es a través del valle cercano a la ligadura  $C_4-C_5$ , lo cual explicaría la reacción por aditividad fotoexcitada U.V de la hipoxantina con agua. Una reacción similar que puede ser explicada de la misma manera es la hidratación de la pirimidina.

Sería muy interesante realizar un estudio exhaustivo de los estados fundamentales y excitados de algunos tautómeros, ya que de las cuatro hidroxipirimidinas posibles, en estado natural, se ha detectado solo una de ellas, la forma amidica, aún cuando todas son igualmente posibles.

Las líneas equipotenciales para los estados singuletes excitados y 1º fundamental, de las formas tautoméricas II y III, se muestran en la fig.85. En ellas se ve que el principal elemento, en el estado fundamental, para el tautómero II, que puede ser objeto de un ataque electrofílico, es el  $O_{10}$  (fig.85-a), mientras que en el primer estado excitado lo es el  $N_{11}$  (fig.85-b) y por último, observando las curvas correspondientes al primer estado excitado del tautómero III, detectamos los átomos  $N_3$  y  $N_9$  (fig.85-c).

En la fig.86 se pueden observar las curvas isopotenciales correspondientes al segundo estado singulete excitado para los tres tautómeros. Para este estado, los centros de ataque electrofílico están localizados sobre el grupo  $C_8-H_{14}$  (tautómero III) y sobre el  $N_3$  (tautómeros I y II).

En el caso de los estados excitados se cuenta con algunos datos experimentales, los cuales confirman las predicciones. Estos datos han sido obtenidos "in vitro", mediante el uso de radiación en soluciones de purinas y pirimidinas en agua. De esta manera se



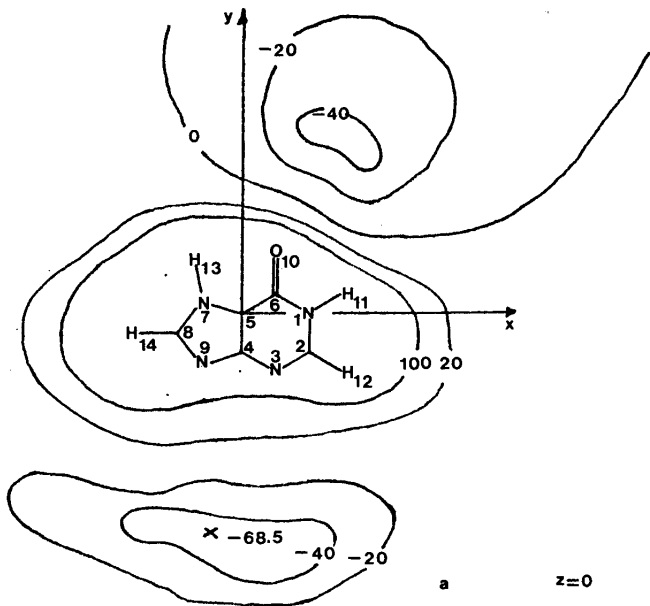
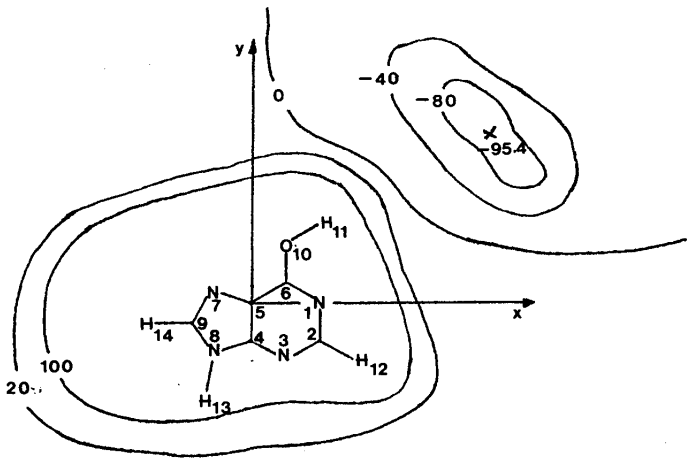
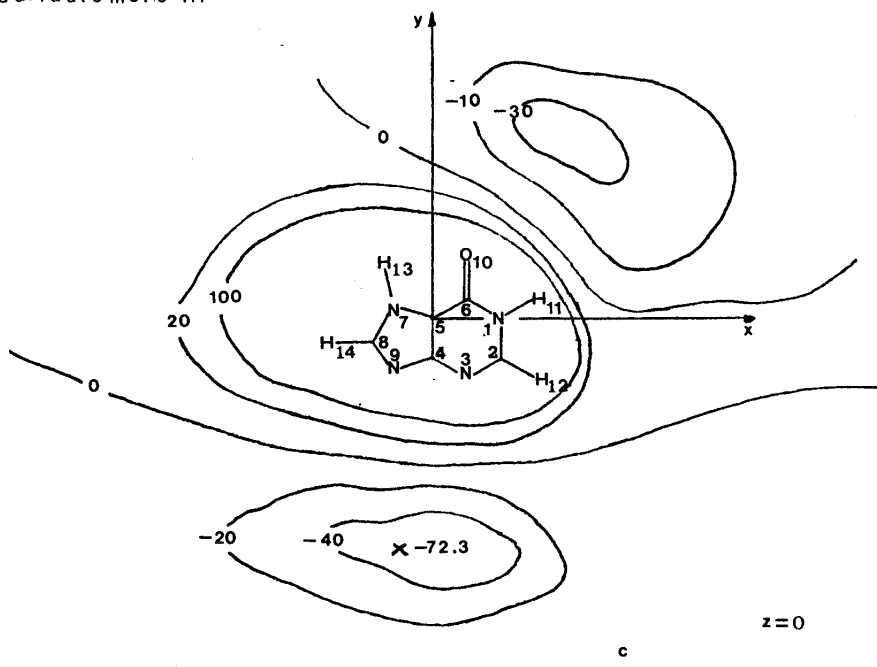


fig.85



a) Estado fundamental. Tautómero III. b) Primer estado singlete excitado. Tautómero II. c) Primer estado singlete excitado. Tautómero III.



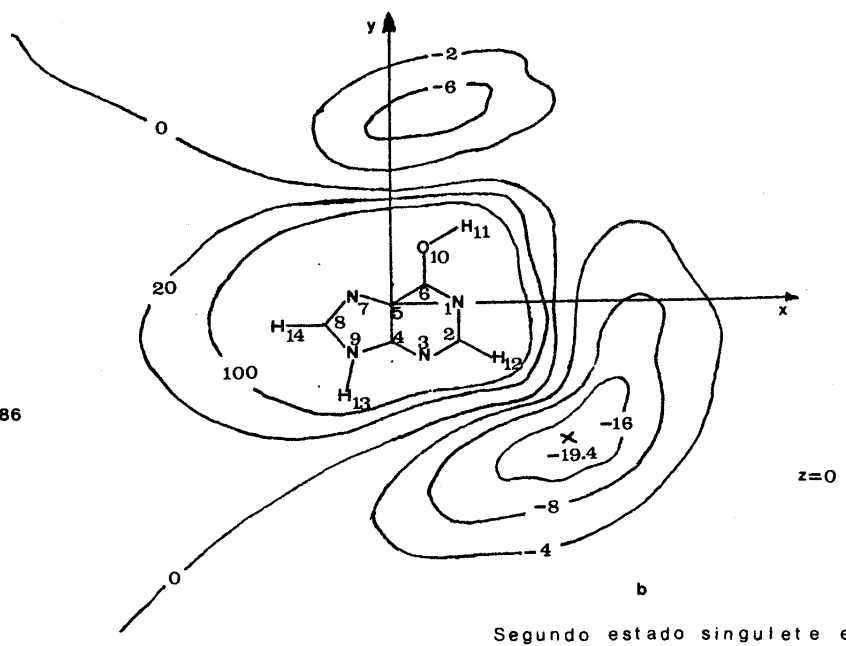
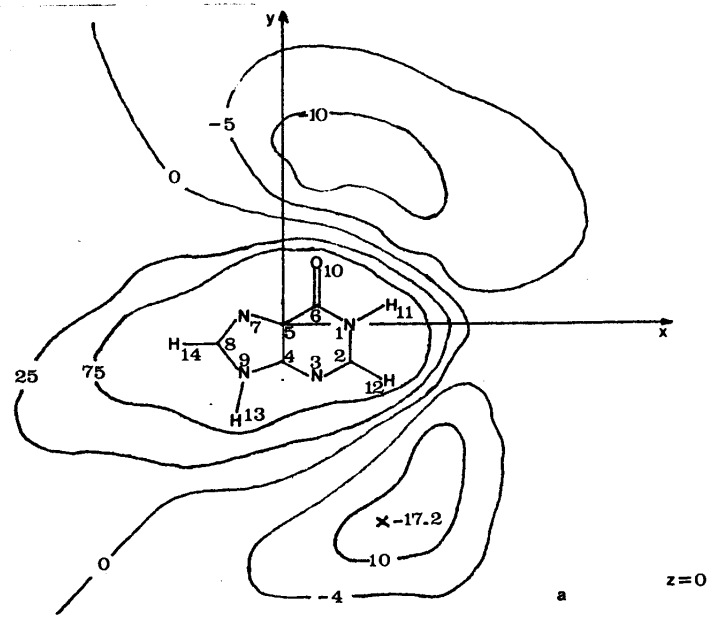
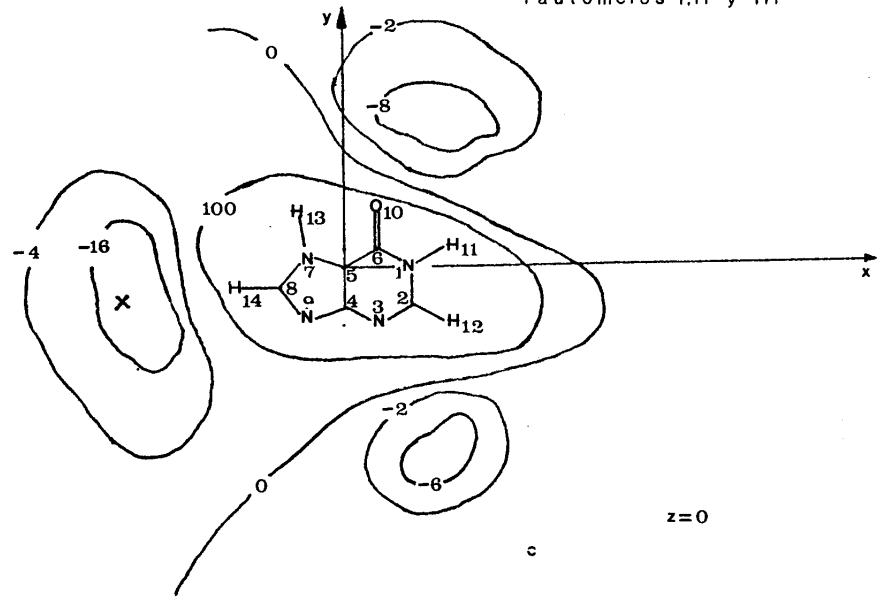


fig.86

Segundo estado singulete excitado.

Tautómeros I,II y III



sabe que si se usa la condición aeróbica, la adenina y la hipoxantina sufren 8-oxidación.

Todo lo antedicho puede resumirse en el siguiente grupo de conclusiones:

1°\_Para los tautómeros I y II, en el estado fundamental, el elemento más sensible a un ataque electrofílico es el  $O_{10}$ .

2°\_La suposición de un movimiento contra las fuerzas de campo para los reactivos nucleofílicos provee una explicación teórica del ataque sobre el  $C_2$  en la hidrólisis de una solución de hipoxantina en ácido sulfúrico y en presencia de zinc.

3°\_La posición del hidrógeno en el tautómero II (a derecha o izquierda del grupo  $C_6-O_{10}$ ) es tal que la forma molecular encerrada por las líneas isopotenciales se asemeja a una de las formas normales en el estado fundamental.

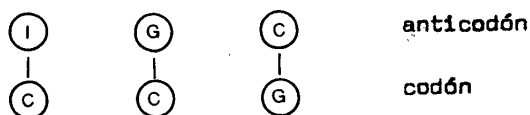
4°\_En el caso de los primeros estados excitados singuletes correspondientes a los tautómeros I y II, el centro más importante de ataque electrofílico está localizado en el  $N_1$ .

5°\_Para el segundo estado excitado singulete, el centro más sensible a un ataque electrofílico aparece en el tautómero III y se encuentra en las cercanías del grupo  $C_8-H_{14}$ .

b) Estudio de las constantes de equilibrio y tiempo de efecto túnel para la guanina, citosina e hipoxantina.

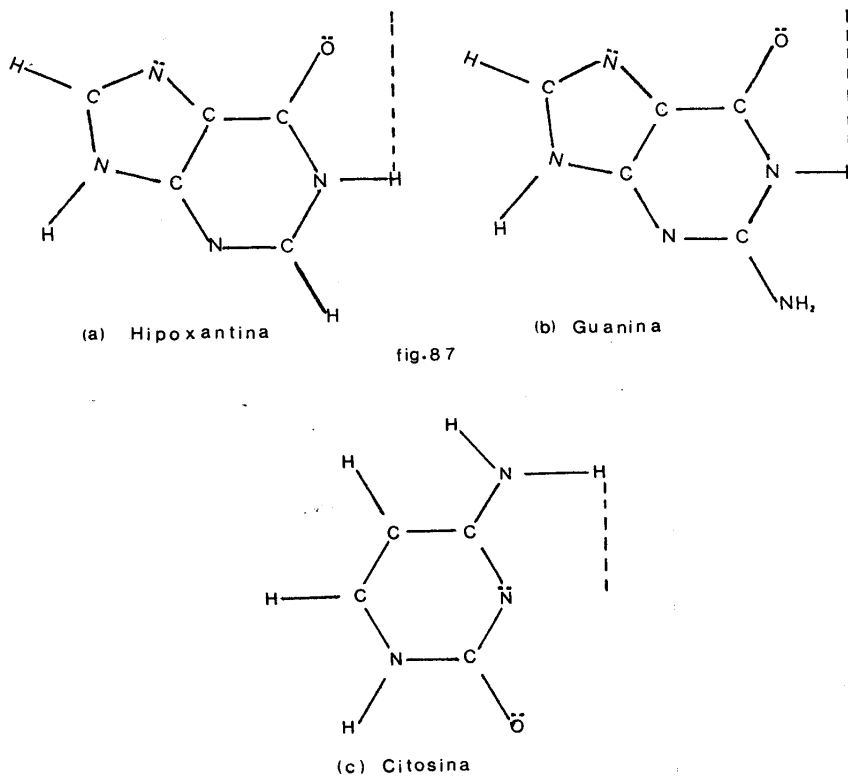
Hemos dicho ya reiteradas veces que la función específica del  $R.N.A_t$  es acoplarse con el  $R.N.A_m$  a fin de adosar un amino-ácido en la cadena polipeptídica, durante la síntesis de proteínas. En el caso particular del  $R.N.A_t$  para la alanina, el codón en el molde, está formado por las bases G, C, C, mientras que el anticodón lo está por la serie I, G, C, siendo I (hipoxantina o inosina), una variedad de las cuatro bases presentes en todos los  $R.N.A$ : G, C, U y T.

El acoplamiento se realiza en la forma:



estando el anticodón aproximadamente en la parte media de la molécula de  $R.N.A_t$ . Evidentemente, cualquier proceso tautomérico que introduzca variaciones en las bases del anticodón generará un acoplamiento defectuoso con el molde. En este trabajo, entonces, estudiaremos algunos tautómeros ceto-enol y amino-imino producidos por la transición electrónica entre el estado fundamental y algunos estados singuletes y tripletes para las

tres bases ya nombradas, del anticodón (fig.87), considerando los apareamientos normal y anormal del mismo.



Tautomerismo ceto-enol para las moléculas de hipoxantina y guanina y amino-imino para la de citosina. -----Desplazamiento del H entre los tautómeros de: a)hipoxantina.b)guanina y c)citosina.

### b<sub>1</sub>) Determinación de la probabilidad de formación de tautómeros por efecto túnel.

A fin de poder desarrollar adecuadamente el estudio realizado, comenzaremos con una pequeña introducción en donde explicaremos sucintamente el tratamiento cuántico del problema. Este tratamiento ha sido desarrollado totalmente en puntos anteriores de esta monografía, por lo que aquí nos limitaremos a recalcar los elementos utilizados.

Como hemos dicho ya, los procesos de tautomerismo se verifican por el pasaje de un protón de un par electrónico a otro, lo cual involucra el movimiento dentro de un doble pozo potencial. Este pozo posee dos mínimos, los que presentan distinto peso de acuerdo con el par electrónico más estable, por lo que es un doble pozo asimétrico.

Consideremos ahora un pozo doble en el que el lado derecho ha sido reforzado para que se produzca efecto túnel por retroceso. Supondremos que el potencial es perfec-

tamente parabólico y que está caracterizado por la expresión:

$$\alpha(x - x_1)^2 \quad (2)$$

en donde  $x$  es una posición cualquiera del protón dentro del pozo y  $x_1$ , la posición de mínima energía para el mismo.

En estas condiciones, puede suponerse que el protón se comporta como un oscilador armónico de frecuencia  $\nu_1 = (\alpha / 4\pi^2 m)^{1/2}$ , la cual depende de  $m^{-1/2}$ , por lo que disminuirá a medida que aumente la masa de la partícula involucrada, es decir, será mayor para un electrón que para un protón.

La mecánica cuántica predice que el paquete de onda que da cuenta del movimiento de este protón debe golpear la barrera  $\nu_1$  veces por segundo, independientemente del estado de energía en que se encuentre tal protón.

De acuerdo con el método W.K.B y a lo ya visto antes (Cap.4), la probabilidad de que una partícula incidente sufra efecto túnel a través de la barrera, depende de la magnitud  $S$ , dada por:

$$S = (2\pi/\hbar) \int_{x_1}^{x_2} \{2m[V(x) - E]\}^{1/2} dx \quad (3)$$

donde  $m$  y  $E$  son la masa y energía del protón respectivamente,  $V(x)$  su energía potencial en el punto  $x$ , y  $x_1$  y  $x_2$  puntos de retorno (límites clásicos de la zona prohibida), cumpliéndose además que:

$$V(x) \geq E \quad \text{y} \quad x_1 \leq x \leq x_2$$

En el caso particular de una barrera parabólica de altura  $V_0$  y ancho  $a_0$ , la expresión  $S$  toma la forma:

$$S = (\pi a_0 / 2\hbar) \cdot (2mV_0)^{1/2} \quad (4)$$

La probabilidad  $g$ , de que la partícula incidente penetre la barrera con el mínimo de energía de efecto túnel, será:

$$g = e^{-2.S} \quad (5)$$

Así, si la partícula golpea la barrera  $\nu_1$  veces por segundo, la razón de efecto túnel por unidad de tiempo, para la mínima energía posible, quedará expresada como:

$$c = g \cdot \nu_1 \quad (6)$$

Para una molécula aislada, la desviación desde el equilibrio entre las formas normal y tautomérica decae exponencialmente como  $\exp. -(C_N + C_T) \cdot t$ , donde:

$$\tau = (C_N + C_T)^{-1} \quad (7)$$

es el tiempo característico de efecto túnel, es decir aquel en el cual la desviación del

equilibrio se ha reducido a 1/e del valor original.

Suponiendo que los mínimos para ambos tautómeros poseen forma aproximadamente parabólica, es decir que podemos usar la función de partición para el oscilador armónico, la distribución protónica de equilibrio entre ambas configuraciones puede expresarse como:

$$K = \frac{n_T}{n_N} = e^{-\Delta E/kT} \cdot \frac{e^{-h\nu_T/2kT} (1 - h\nu_N/kT)}{e^{-h\nu_N/2kT} (1 - h\nu_T/kT)} \quad (8)$$

siendo:

$\nu_N$ : frecuencia de oscilador para la forma normal

$\nu_T$ : " " " " " " " " " " tautomérica (anormal)

y tomando  $\Delta E$  como la diferencia de energías entre ambas configuraciones. En la fig. 88 se muestra un pozo potencial típico.

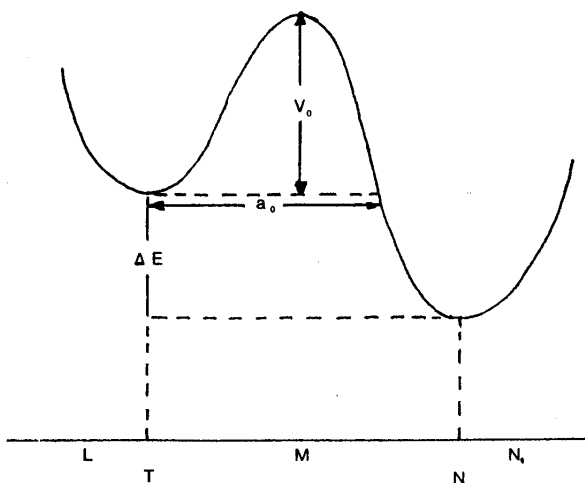


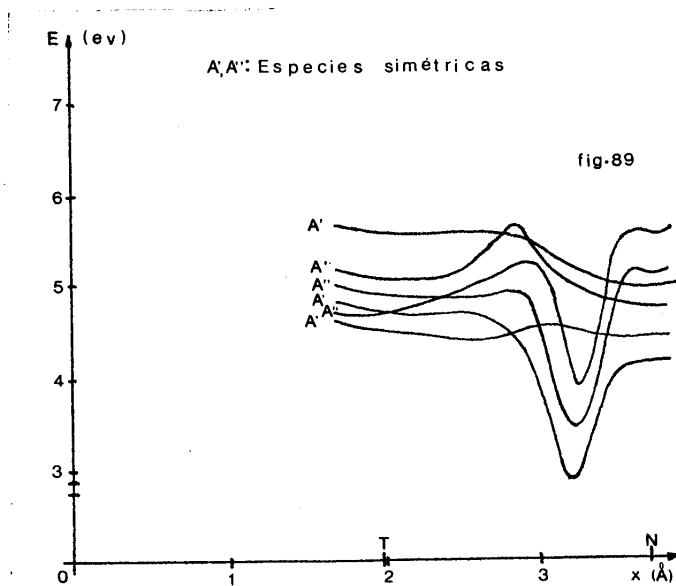
fig. 88

b<sub>1</sub>) Resultados numéricos y conclusiones.

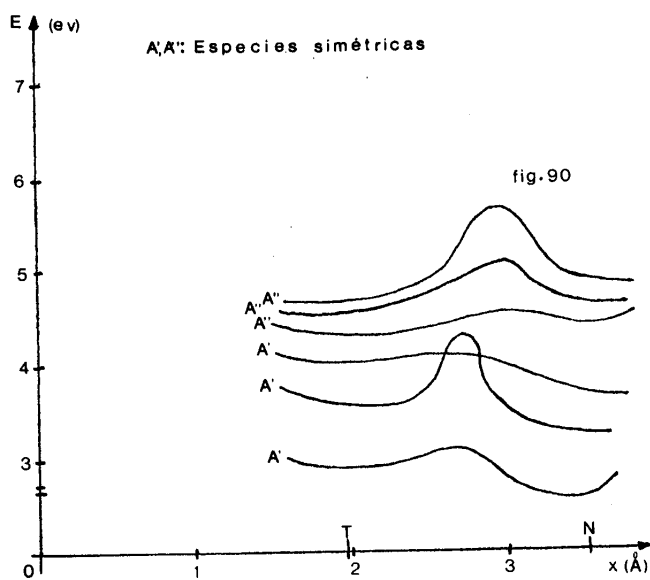
Para obtener estos resultados hemos considerado los desplazamientos del H<sup>+</sup> (protón) entre las posiciones ceto-enol o amino-imino en las tres moléculas de la fig. 87 (elementos 2-14 para la hipoxantina, 2-16 para la guanina y 1-11 para la citosina). Los cálculos se realizaron mediante el método CNDO/M-SCF-CI. Las configuraciones de interacción se calcularon en base a 60 de ellas para estados singuletes y tripletes, mostrándose los resultados para un grupo de estos niveles en las figs. 89 a 94.

El cálculo de  $\nu_N$  y  $\nu_T$  se realizó por medio de un par de aproximaciones parabólicas, definida entre puntos similares a LM y MN, mostrados en la fig. 88.

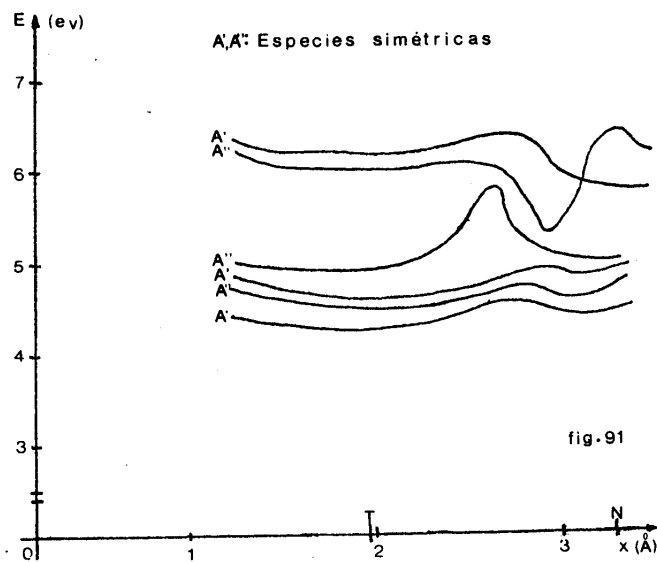
Se tomaron 20 valores para las coordenadas en cada curva parabólica, las cua-



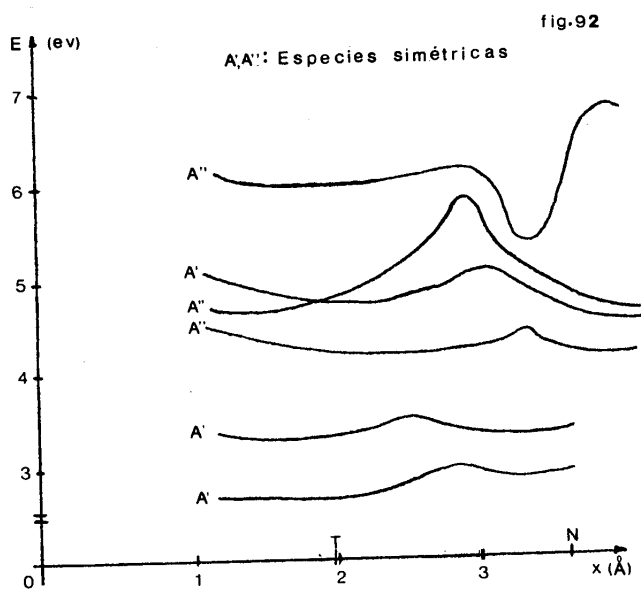
N: forma ceto y T: forma enol. Los seis estados singletes excitados más bajos. Molécula de hipoxantina.



N: forma ceto y T: forma enol. Los seis estados tripletes más bajos. Molécula de hipoxantina.



N: forma ceto y T: forma enol. Los seis estados singletes  
excitados más bajos. Molécula de guanina.



N: forma ceto y T: forma enol. Los seis estados tripletes  
más bajos. Molécula de guanina.



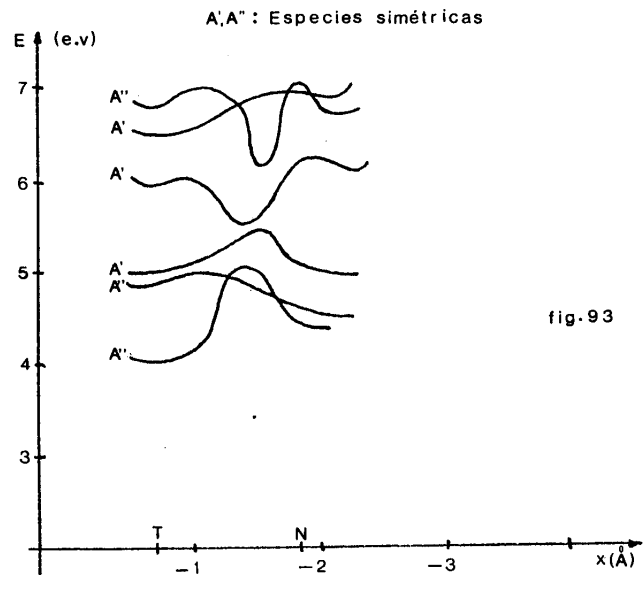


fig-93

N:forma amino y T:forma imino. Los seis estados singuletos excitados más bajos. Molécula de citosina.

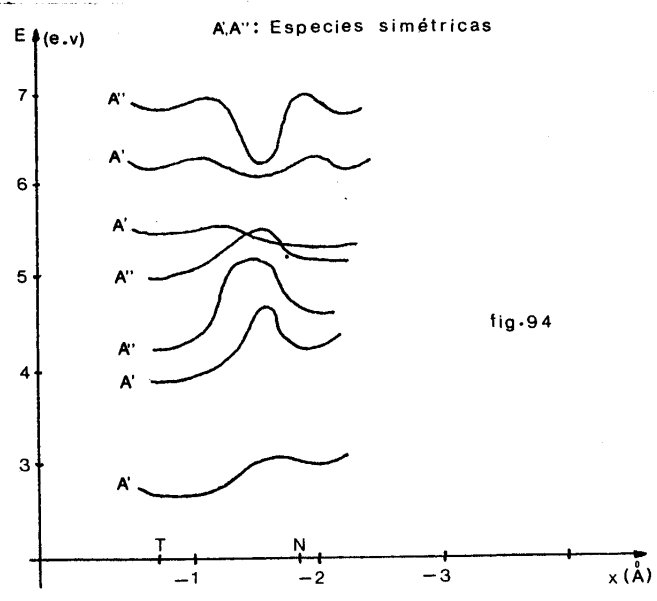


fig-94

N:forma amino y T:forma imino. Los seis estados tripletes más bajos. Molécula de citosina.

les quedaron definidas por:

$$y - y_0 = c. (x - x_0)^2 \quad (9)$$

en donde  $(x_0, y_0)$  representan las coordenadas de cada mínimo, tanto normal como tautomérico, realizándose el ajuste parabólico por medio del método de los cuadrados mínimos.

Las moléculas de R.N.A.<sub>t</sub> poseen diferentes estructuras, de acuerdo al amino-ácido al cual se encuentran asociadas. Cada una de ellas está formada por aproximadamente 80 nucleótidos (P.M ~ 2500), constituyendo una cadena simple de ligaduras covalentes. Uno de los dos extremos de estas macromoléculas (3') está rematado siempre por la secuencia CCA (ácido citidílico, ácido citidílico, ácido adenílico). El otro extremo (terminal 5'), es generalmente ácido adenílico. Aunque su estructura es lineal, muchas de sus bases pueden unirse entre ellas por medio de ligaduras hidrógeno, posibilitando el plegamiento de la molécula en forma de horquilla, disponiéndose los nucleótidos en una doble hélice muy similar a la del D.N.A. Las ligaduras hidrógeno unen las bases uracil-adenina y guanina-citosina, tal como se muestra en la fig. 95, formando una especie de trebol. Cada una de las hojas de este trebol posee una función específica durante la síntesis proteínica. La central, la cual contiene al anticodón, debe adosarse al codón del R.N.A.<sub>m</sub>. La de la derecha, se une al R.N.A.<sub>r</sub> y la última (parte izquierda de la fig. 95) se adosa a la encima específica que activa el traslado del amino-ácido por medio del R.N.A.<sub>t</sub>.

El R.N.A.<sub>t</sub> estudiado en este trabajo está formado por un gran número (9/77) de bases no comunes. Llamamos de esta manera a las bases no comprendidas en el grupo A, C, G, U. Aunque las diferencias no son muy grandes, algunas de ellas se distinguen por poseer uno o más grupos metil.

La determinación de las secuencias completas de muchos R.N.A.<sub>t</sub> ha demostrado que parte de esas secuencias, es decir ciertas series de nucleótidos, son comunes a todos ellos, pudiéndose considerar la fig. 95 como un esquema típico de una de estas moléculas.

En el caso particular considerado, podemos resumir sus características de la siguiente manera:

1° La terminal 3', la cual durante la síntesis proteínica se une al amino-ácido, está formada por la secuencia ACC y un cuarto nucleótido, variable de acuerdo al amino-ácido que corresponda a la molécula. La alanina se une al ácido adenílico.



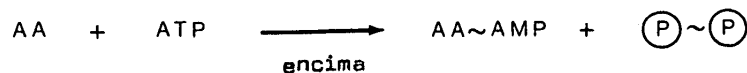
medio de ligaduras hidrógeno a las bases C, C, G' del R.N.A<sub>m</sub>, posibilitando así la adición de la alanina a la cadena polipeptídica.

5° La última horquilla (izquierda de la fig. 95) está formada por 8 bases y es relativamente rica en UH<sub>2</sub> (dihidrouridina). Si bien estas bases no se unen por medio de ligaduras hidrógeno a ningún otro grupo, se acoplan de alguna manera a una encima específica (amino-amilsintetasa), la cual activa al R.N.A<sub>t</sub> al comenzar la síntesis proteínica. Sin esta activación no se podría transferir el amino-ácido a la cadena.

La adenocina de la terminal 3' y el amino-ácido se unen por medio de una ligadura covalente entre el grupo carboxilo terminal y el componente final de la ribosa constituyente de la adenosina. Esta ligadura se denomina amino-acílica.

La energía necesaria para la formación de la ligadura amino-acílica proviene de una molécula de ATP (adenosina trifosfato) la cual es altamente energética, siendo su formación uno de los mecanismos que poseen los organismos vivos para acumular energía.

Previamente a la unión AA ~ R.N.A (AA: amino-ácido), los amino-ácidos son activados por una amil-sintetaza, dando AA ~ AMP (adenosina monofosfato), de acuerdo con la reacción:

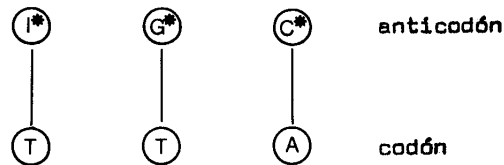


permaneciendo el compuesto intermedio, AA ~ AMP, fuertemente ligado a la encima hasta su encuentro con el R.N.A<sub>t</sub>, momento en que aquella transfiere el amino-ácido a la terminal 3' de este último. Mientras tanto otra amil-sintetaza mantiene activado al R.N.A<sub>t</sub>, hasta que este deposita el amino-ácido en la cadena polipeptídica, con lo cual la transferencia de, por ej. la alanina, queda concluida.

Evidentemente, la exactitud de todo este proceso se basa en el acoplamiento codón-anticodón, ya que la modificación de cualquiera de ellos llevaría a la edición de un amino-ácido equivocado. Los procesos de tautomerismo constituyen uno de los caminos para una relación codón-anticodón anormal. Analizaremos por ello las probabilidades para la formación de tautómeros ceto-enol y amino-imino en las tres bases del anticodón, partiendo de las constantes de equilibrio para estas configuraciones, en algunos estados excitados singletes y tripletes.

Los procesos de tautomerismo llevan a las formas I\*-G\*-C\*, las cuales deben e-

parearse, en caso de hacerlo con un codón distinto del normal:



De acuerdo a lo dicho antes, la relación entre la forma tautomérica y la normal viene dada por las constantes  $K$  de equilibrio. En el caso de la hipoxantina, la relación  $K = n_T/n_N$ , entre la forma normal (ceto) y la anormal (enol), en sus 6 estados singuletes, varía entre  $10^{-28}$  y  $10^{-7}$ . Los dos primeros estados son los más estables, mientras que en el 5° y en el 6° se ve favorecida la forma enol. En el 1° estado singulete, una de cada  $10^{28}$  moléculas tiene probabilidades de pasar a la forma enol, mientras que en el 2° la probabilidad es de una cada  $10^{20}$ . Este número decrece rápidamente para los siguientes estados singuletes, llegándose en el 5° a una cada  $10^7$ . La radiación U.V., excitando a la molécula de hipoxantina puede dar lugar, entonces a un apareamiento anormal.

Los estados tripletes de la hipoxantina presentan valores más favorables a la forma enol que los singuletes, ya que la probabilidad se hace alta a partir del 4° estado, si bien los tripletes en sí son menos probables que los singuletes, ya que solo se forman por el choque molecular directo entre la molécula de R.N.A. y otras pertenecientes al medio celular que lo contiene.

Los tiempos de relajación  $\bar{G}$ , que dan cuenta de las fluctuaciones alrededor de los valores  $K$  de equilibrio, se muestran en las columnas 2° y 5° de la tabla 8.

En el caso de la guanina, la variación producida por la sustitución de un H, en la hipoxantina, por el grupo NH, cambia drásticamente la situación respecto a la transformación ceto-enol. En este caso, la forma enol se ve claramente favorecida para los estados singuletes excitados, del 1° al 4°, es decir desde el fundamental a cualquiera de esos estados, mientras que el 5° y el 6° estado favorecen la forma ceto (una cada  $10^{10}$  en el 5° y una cada  $10^7$  en el 6° serán anormales), lo que nos indica que en los primeros estados el acoplamiento anormal será la regla y no la excepción.

Los estados tripletes de la guanina están alternativamente dominados por la forma ceto y la enol. En el 2° estado, por ej., domina la primera, mientras que en el 3°, lo hace la 2°. Los tiempos de relajación y las constantes de equilibrio para esta molécula se muestran en la tabla 9.

Por último, en el caso de la citosina, las formas amino-imino aparecen, como en los estados tripletes de la guanina, dominando alternativamente de acuerdo con el estado singulete excitado que se considere. Así, en el 1° estado domina la forma imino, mientras que en el 2° lo hace la amino. Las razones  $n_T/n_N$  oscilan en este caso entre  $10^9$  y  $10^{-6}$ , demostrando la gran variación que presentan los estados singuletes estudiados. En la tabla 10 se dan los tiempo  $\tau$  de relajación y las constantes K de equilibrio para la citosina.

En base a lo antedicho podemos concluir que las formas tautoméricas ceto-enol y amino-imino se presentan en forma bastante variable y de acuerdo con el estado estudiado. En el caso de los estados singuletes, las formas enol y imino son, en algunos casos, claramente dominantes, por lo que el apareamiento anormal es más bien la regla que la excepción, mostrando de esa manera que la excitación molecular es un factor sumamente importante.

**TABLA VIII**

Nivel	Singuletes		Triplettes	
	$\tau$	K	$\tau$	K
1	$0.491 \times 10^{-10}$	$0.102 \times 10^{-28}$	$0.297 \times 10^{-7}$	$0.228 \times 10^{-4}$
2	$0.484 \times 10^{-10}$	$0.301 \times 10^{-27}$	$0.308 \times 10^{-11}$	$0.331 \times 10^{-9}$
3	$0.107 \times 10^{-8}$	$0.136 \times 10^{-20}$	$0.402 \times 10^{-13}$	$0.436 \times 10^{-1}$
4	$0.440 \times 10^{-4}$	$0.126 \times 10^{-20}$	$0.883 \times 10^{-13}$	$0.306 \times 10^4$
5	$0.436 \times 10^{-4}$	$0.126 \times 10^{-7}$	$0.813 \times 10^{-7}$	$0.255 \times 10^1$
6	$0.611 \times 10^{-3}$	$0.808 \times 10^{-11}$	$0.133 \times 10^{-4}$	$0.130 \times 10^6$

**TABLA IX**

Nivel	Singuletes		Triplettes	
	$\tau$	K	$\tau$	K
1	$0.121 \times 10^{-16}$	$0.181 \times 10^5$	$0.373 \times 10^{-13}$	$0.521 \times 10^3$
2	$0.911 \times 10^{-13}$	$0.102 \times 10^2$	$0.230 \times 10^{-13}$	$0.105 \times 10^{-2}$
3	$0.424 \times 10^{-12}$	$0.991 \times 10^1$	$0.911 \times 10^{-13}$	$0.664 \times 10^2$
4	$0.790 \times 10^{-6}$	$0.420 \times 10^3$	$0.933 \times 10^{-11}$	$0.980 \times 10^1$
5	$0.469 \times 10^{-12}$	$0.399 \times 10^{-10}$	$0.511 \times 10^{-4}$	$0.567 \times 10^{-1}$
6	$0.136 \times 10^{-11}$	$0.645 \times 10^{-7}$	$0.976 \times 10^{-13}$	$0.895 \times 10^{-12}$

TABLA X

Nivel	Singuletes		Triplettes	
	G	K	G	K
1	$0.133 \times 10^{\bar{5}}$	$0.130 \times 10^{\bar{5}}$	$0.119 \times 10^{\bar{12}}$	$0.492 \times 10^{\bar{9}}$
2	$0.234 \times 10^{\bar{12}}$	$0.348 \times 10^{\bar{6}}$	$0.535 \times 10^{\bar{7}}$	$0.291 \times 10^{\bar{7}}$
3	$0.224 \times 10^{\bar{12}}$	$0.232 \times 10^{\bar{1}}$	$0.361 \times 10^{\bar{5}}$	$0.308 \times 10^{\bar{7}}$
4	$0.143 \times 10^{\bar{5}}$	$0.153 \times 10^{\bar{6}}$	$0.238 \times 10^{\bar{10}}$	$0.558 \times 10^{\bar{3}}$
5	$0.101 \times 10^{\bar{5}}$	$0.427 \times 10^{\bar{2}}$	$0.138 \times 10^{\bar{13}}$	$0.329 \times 10^{\bar{6}}$
6	$0.190 \times 10^{\bar{8}}$	$0.471 \times 10^{\bar{1}}$	$0.627 \times 10^{\bar{8}}$	$0.587 \times 10^{\bar{3}}$

## c) Estudio de las polarizabilidades.

De acuerdo con todo lo dicho antes, es evidente que el estudio de como interactúan con la radiación las moléculas constituyentes de codones y anticodones, es muy importante. Por esa razón es que este trabajo se ha terminado realizando el cálculo de los tensores de polarizabilidad de la hipoxantina.

c<sub>1</sub>) Interacción entre radiación y materia. Tensor de polarización.

Hemos visto ya que cuando se consideran tan solo interacciones coulombianas, el hamiltoniano molecular puede ser escrito:

$$H_0 \Psi_n^{(0)} = i \cdot \hbar \cdot \frac{\partial \Psi_n^{(0)}}{\partial t} \quad (10)$$

en donde las funciones de onda son estacionarias, es decir:

$$\Psi_n^{(0)} = \psi_n(\vec{r}) \cdot e^{-i \cdot E_n^{(0)} \cdot t / \hbar} \quad (11)$$

expresando con  $\vec{r}$  al conjunto de coordenadas espaciales de las moléculas. Si una perturbación  $H'$  producida por un campo rápidamente fluctuante interactúa con la molécula, la ecuación 10 se transforma en:

$$(H_0 + H') \Psi = i \cdot \hbar \cdot \frac{\partial \Psi}{\partial t} \quad (12)$$

en cuyo caso la función de onda puede expresarse como:

$$\Psi = \sum c_r(t) \cdot \Psi_r^{(0)} \quad (13)$$

donde los coeficientes  $c_r(t)$  están vinculados a la probabilidad  $P_r$  que la molécula se encuentre en el estado  $r$  al tiempo  $t$ .

Admitiremos ahora que el vector potencial  $\vec{A}$ , en cualquier punto de la molécula, puede expresarse adecuadamente mediante un desarrollo en serie de Taylor de la forma:

$$A_x^j = A_x^0 + x_j \left( \frac{\partial A_x}{\partial x} \right)_0 + y_j \left( \frac{\partial A_x}{\partial y} \right)_0 + z_j \left( \frac{\partial A_x}{\partial z} \right)_0 \quad (14)$$

siendo  $A_x^j$  la componente  $x$  del vector potencial  $\vec{A}$  en el punto ocupado por la partícula  $j$ -ésima, la cual pertenece a la molécula y posee coordenadas  $x, y$  y  $z$ , respecto a un origen fijado en la misma molécula. (Esta aproximación ha sido discutida en detalle por Hameka (1965) y por Caldwell y Egving (1971), razón por la cual la hemos utilizado).

Si suponemos ahora las siguientes condiciones iniciales:

$$c_n(0) = 1 \quad ; \quad c_m(0) = 0 \quad \text{si } m \neq n \quad (15)$$

el momento dipolar para el estado  $n$ , al interactuar la molécula con la radiación, puede expresarse como:

$$\langle \vec{\mu} \rangle_{nn} = \langle \mu^0 \rangle_{nn} + \alpha_n \vec{E} + \mathcal{P}_n \vec{H} - \frac{\beta_n}{c} \frac{\partial \vec{H}}{\partial t} \quad (16)$$

expresión en la cual  $\langle \mu^0 \rangle_{nn}$  indica el momento dipolar en ausencia de radiación y  $\alpha_n$ ,

$\mathcal{P}_n$  y  $\beta_n$  se definen en función de  $\vec{R}$  y  $\vec{M}$ , operadores vectoriales posición y momento angular, respectivamente:

$$\vec{R} = e \cdot (x \vec{i} + y \vec{j} + z \vec{k}) \quad (17)$$

$$M_x = \frac{\hbar}{i} \left( y \frac{\partial}{\partial z} - z \frac{\partial}{\partial y} \right) \quad (18)$$

$$M_y = \frac{\hbar}{i} \left( z \frac{\partial}{\partial x} - x \frac{\partial}{\partial z} \right) \quad (19)$$

$$M_z = \frac{\hbar}{i} \left( x \frac{\partial}{\partial y} - y \frac{\partial}{\partial x} \right) \quad (20)$$

De esta manera obtenemos:

$$\alpha_n = \frac{2}{3 \cdot h} \sum_m \frac{\nu_{mn} |\langle n | \vec{R} | m \rangle|^2}{\nu_{mn}^2 - \nu^2} \quad (21)$$

$$\mathcal{P}_n = \frac{2}{3 \cdot h} \sum_m \frac{\nu_{mn} \text{Re} \{ \langle n | \vec{R} | m \rangle \cdot \langle m | \vec{M} | n \rangle \}}{\nu_{mn}^2 - \nu^2} \quad (22)$$

$$\beta_n = \frac{c}{3 \pi \hbar} \sum_m \frac{\text{Im} \{ \langle n | \vec{R} | m \rangle \cdot \langle m | \vec{M} | n \rangle \}}{\nu_{mn}^2 - \nu^2} \quad (23)$$

Las relaciones (16), (21), (22) y (23) corresponden a la perturbación  $H^1$ , de la



ec. (12), la cual, se ha supuesto, responde a la expresión:

$$H' = -\frac{e}{c} \sum \frac{1}{m_j} \vec{A}^j \cdot \vec{p}_j \quad (24)$$

Utilizando la aproximación (14), obtenemos:

$$H' = -\frac{e}{c} \sum \frac{1}{m_j} \left\{ (\vec{A} \cdot \vec{p})^j + \frac{1}{2} (\nabla \wedge \vec{A})_0 \cdot (\vec{r}^j \wedge \vec{p}_j) \right\} \quad (25)$$

En las últimas expresiones,  $e$ ,  $m_j$  y  $p_j$  representan la carga, masa y momento conjugado de la  $j$ -ésima partícula, tal como se la ha considerado al desarrollar el vector potencial. Los términos  $\nu$  y  $\nu_{mn}$  de las ecs. (21), (22) y (23) son las frecuencias de la radiación incidente y del cambio de estado:

$$E_m - E_n = h \cdot \nu_{mn} \quad (26)$$

respectivamente. Se puede demostrar que, a bajas frecuencias, es decir, si se cumple

$$\nu^2 \ll \nu_{mn}^2 \quad \text{para todo par de estados electrónicos excitados, el término dominante es}$$

$\alpha_n$ . Las relaciones (21)-(23) son válidas solo si la radiación es isotrópica, es decir cuando el vector  $\vec{A}$ , referente a una terna cualquiera fijada en la molécula, cumple las condiciones:

$$|A_x(\nu)|^2 = |A_y(\nu)|^2 = |A_z(\nu)|^2 = \frac{1}{3} |A(\nu)|^2 \quad (27)$$

con  $\nu$ , como antes, frecuencia de la radiación incidente. Si el medio material posee  $N_1$  moléculas por  $\text{cm}^3$  y todas las moléculas se encuentran en el mismo estado cuántico, la polarización (momento dipolar inducido por  $\text{cm}^3$ ) será:

$$P = \frac{N_1 \cdot \alpha}{1 - \frac{4\pi N_1 \alpha}{3}} \quad (28)$$

mientras que la constante dieléctrica promedio satisface la relación:

$$\frac{\epsilon - 1}{\epsilon + 2} = \frac{4\pi N_1 \alpha}{3} \quad (29)$$

Si los estados cuánticos están mezclados y se debe considerar uno de los grupos, los factores de peso deben quedar expresados por medio de la distribución de Boltzmann.

La validez de las expresiones (28) y (29) está limitada, no solo a radiación isotrópica, sino también a medios isotrópicos. Si el medio es cristalino y la radiación luz polarizada, la polarizabilidad se transforma en un tensor de la forma:

$$\alpha_{ij}^n = \frac{2}{3h} \sum_m \nu_{mn} \frac{\langle n | x_i | m \rangle \langle m | x_j | n \rangle}{\nu_{mn}^2 - \nu^2} \quad (30)$$

donde los subíndices  $i$  y  $j$  indican los ejes coordenados elegidos ( $x, y$  o  $z$ ).

Este tensor está vinculado al diferencial de sección eficaz en el cual rebota un fotón de momento  $h\vec{K}$ , el cual se mueve dentro del diferencial de ángulo sólido:

$$d\Omega = \sin\theta \, d\theta \, d\varphi \quad (31)$$

sobre la dirección  $\vec{K}$  y que simultáneamente cambia la polarización, de un valor  $\vec{u}_k$  a otro valor  $\vec{u}_k'$ , en la forma [ver Avery (1972)]:

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} \approx \frac{K^4}{4} \left| \sum_{i,j=1}^3 (\vec{u}_k')_i \alpha_n^{ij} (\vec{u}_k)_j \right|^2 \quad (32)$$

En general, la radiación provoca transiciones desde el nivel electrónico fundamental a niveles electrónicos excitados, de multiplicidad uno, es decir singuletes. Si se utiliza interacción de configuraciones, las funciones de onda que representan los estados excitados quedan estructuradas como combinaciones lineales de determinantes de Slater, en la forma:

$$\Delta_{i \rightarrow j} = \frac{1}{\sqrt{2}} \left\{ |\Psi_1 \bar{\Psi}_1 \dots \Psi_i \bar{\Psi}_i \dots \Psi_r \bar{\Psi}_r| - |\Psi_1 \bar{\Psi}_1 \dots \bar{\Psi}_i \Psi_i \dots \Psi_r \bar{\Psi}_r| \right\} \quad (33)$$

en donde el uso o la carencia del supra-rayado en los orbitales moleculares  $\Psi_i$  indican ambas posiciones de spin para la transición desde el nivel ocupado  $i$  hasta el desocupado o virtual  $l$ . En el caso de las moléculas consideradas en este trabajo, el nivel fundamental queda representado por un único determinante de Slater, de la forma:

$$|\Psi_1 \bar{\Psi}_1 \dots \Psi_{2r-1} \bar{\Psi}_{2r-1}| \quad (34)$$

siendo  $2r = N$  el número de electrones de valencia de los niveles correspondientes a los orbitales moleculares cuyas energías orbitales tienen valores más bajos (auf-bau principle). Los electrones interiores, tal como se ha explicado en los capítulos previos, son tratados como parte del centro rígido (rigid core), de manera que aparecen en la parte electrónica del hamiltoniano modificando el potencial nuclear. Si se utiliza el método CNDO, las ecuaciones originales de Roothaan, de la forma:

$$F'.C' = S.C'.E \quad (35)$$

quedan modificadas, pasando a::

$$F.C = C.E \quad (36)$$

siendo  $E$  una matriz diagonal constituida por las energías orbitales. Es evidente que si se utiliza la transformación:

$$C = S^{1/2}.C' \quad (37)$$

ambas expresiones son similares, lo cual indica que esta última transformación es equivalente a reemplazar las bases originales de orbitales atómicos  $\phi$  por el conjunto de bases ortogonalizadas mediante el método de Löwdin (1950). Introduciendo, por último, la interacción de configuraciones en la forma:

$$\Phi_n(1, 2, \dots, 2r) = \sum_{nl} d_{nl} \cdot \Delta_1 \quad (38)$$

donde los  $\Delta_1$  son determinantes de Slater que representan interacciones mono-electrónicas, tales como las de la expresión (33), es posible obtener para los elementos de matriz dipolar de las expresiones (21) y (30), relaciones típicas, por ejemplo para la componente x, de la forma:

$$\langle n | e \Sigma x | m \rangle = \int \Phi_n(e \Sigma x) \Phi_m \cdot d\zeta = \sum_{nmls} d_{nl} \cdot d_{ms} \int \Delta_1(e \Sigma x) \Delta_s \cdot d \quad (39)$$

siendo  $d\zeta = d\zeta_1 \dots \dots \dots d\zeta_{2r}$

si el sistema posee  $2r$  electrones en los niveles ocupados.

Por otra parte, al estar los determinantes de Slater ortonormalizados, es posible aplicar las reglas de Slater-Löwdin:

1° \_ Cuando ambos determinantes están constituidos por los mismos orbitales moleculares, es posible escribir:

$$\int \Delta_1(e \Sigma x) \Delta_s \cdot d\zeta = \sum_n \int \Psi_n(1) (ex) \Psi_n(1) d\zeta_1 \quad (40)$$

indicándose con  $\Psi_n$  al conjunto de orbitales moleculares de spin que constituyen ambos determinantes.

2° \_ Si los determinantes difieren en un solo orbital molecular, con  $n_1$  perteneciente al determinante  $\Delta_1$  y  $n_2$  al  $\Delta_s$ , la expresión (40) queda:

$$\int \Delta_1(e \Sigma x) \Delta_s \cdot d\zeta = \int \Psi_{n_1}(1) (ex) \Psi_{n_2}(1) \cdot d\zeta_1 \quad (41)$$

3° \_ Si los determinantes difieren en dos o más orbitales moleculares de spin, la integral (39) se anula.

Considerando que los orbitales moleculares son combinaciones lineales de orbitales atómicos  $\chi_p$ , es posible escribir:

$$\Psi_n = \sum_{hp} c_{hp} \chi_p \quad (42)$$

por lo que las integrales (40) y (41) pueden expresarse como:

$$e \int \Psi_{h_1}(1).x. \Psi_{h_2}(1).d\mathcal{E}_1 = e \sum_{p,q} c_{h_1 p} \cdot c_{h_2 q} \cdot \int \chi_p \cdot x \cdot \chi_q \cdot d\mathcal{E}_1 \quad (43)$$

pudiendo ser  $h_1 = h_2$  ó  $h_1 \neq h_2$ .

En el caso de usarse la aproximación de Mulliken (1949), la integral de la expresión (43) quedará:

$$\int \chi_p \cdot x \cdot \chi_q \cdot d\mathcal{E}_1 \simeq S_{pq} \int (\chi_p^2 + \chi_q^2) \cdot d\mathcal{E}_1 \quad (44)$$

donde:

$$S_{pq} = \int \chi_p \cdot \chi_q \cdot d\mathcal{E}_1 \quad (45)$$

Utilizando todas estas aproximaciones, es posible entonces calcular el tensor  $\alpha_n$ . El cálculo de los tensores  $\beta_n$  y  $\gamma_n^1$ , en forma similar a la antedicha, resulta sumamente complicado, por la presencia del operador  $\vec{M}$  [ver expresiones (22), (23), (18), (19) y (20)], ya que las integrales entre orbitales moleculares conducen a integrales entre orbitales atómicos, de difícil evaluación. En general, se llega a operadores mono-atómicos similares a los escritos en (39) y (40), para los cuales valen las mismas reglas de Slater, pero con condiciones finales diferentes.

Los operadores  $\vec{M}$ , definen sumas de integrales entre orbitales moleculares, en la forma:

$$\langle \Psi_{h_1} | x_i \frac{\partial}{\partial x_j} | \Psi_{h_2} \rangle$$

siendo  $x_i$  y  $x_j$  las coordenadas x, y y z de referencia, elegidas. Si las funciones de onda  $\Psi_h$  constituyeran un sistema completo, estas integrales podrían expresarse como:

$$\langle \Psi_{h_1} | x_i \frac{\partial}{\partial x_j} | \Psi_{h_2} \rangle = \sum_{h_3} \langle \Psi_{h_1} | x_i | \Psi_{h_3} \rangle \cdot \langle \Psi_{h_3} | \frac{\partial}{\partial x_j} | \Psi_{h_2} \rangle \quad (46)$$

Sin embargo, las funciones de onda  $\Psi_h$ , obtenidas mediante la solución del sistema (36) y (37) son aproximaciones de las autofunciones del hamiltoniano, que no cumplen dicha condición, por lo que la sumatoria sobre  $h_3$  debe extenderse a la totalidad de estados posibles, disponiéndose sin embargo de un número limitado de orbitales moleculares  $\Psi_h$ . Por este motivo, la expresión (46) puede ser utilizada tan solo como una aproximación muy cruda, para verificar por ejemplo, si el rengón de las relaciones  $\beta/\alpha$  y  $\gamma^1/\alpha$  puede suponerse nulo. Por último, y dentro del mismo objetivo, es posible utilizar la siguiente aproximación (Kauzmann, 1957):

$$\left\langle \Psi_{h_3} \left| \frac{\partial}{\partial x_j} \right| \Psi_{h_2} \right\rangle = -\frac{m \cdot 2\pi \delta_{mn}^i}{h} \left\langle \Psi_{h_3} \left| x_j \right| \Psi_{h_2} \right\rangle \quad (47)$$

siendo  $m$  la masa del electrón y  $\delta_{mn}^i = E_m - E_n$ , con  $E_m$  y  $E_n$  energías orbitales correspondientes a los orbitales moleculares  $\Psi_{h_2}$  y  $\Psi_{h_3}$ , respectivamente.

c<sub>2</sub>) Cálculo de polarizabilidades para la molécula de hipoxantina.

Las moléculas aisladas que conforman el R.N.A<sub>t</sub>, particularmente las bases que constituyen el anticodón, son partes de un cristal aperiódico. En general, si una molécula aislada que se encuentra en un estado  $n$  es sometida a un campo electromagnético, el efecto dominante sobre ella es simplemente la inducción de un momento dipolar eléctrico, de la forma:

$$\vec{P}_n = \alpha'_n \cdot \vec{E} \quad (48)$$

donde  $\alpha'_n$  es el tensor de polarizabilidad correspondiente a ese estado. Las bases nucleicas, por su estructura particular (gran cantidad de ligaduras hidrógeno), poseen momentos dipolares permanentes para cada estado electrónico  $\mu_n$ , lo cual implica una contribución adicional a la polarizabilidad molecular. Si las moléculas están aisladas, por ejemplo las bases consideradas de R.N.A<sub>t</sub> como soluto en una solución, el momento dipolar permanente tenderá a alinear las moléculas en la dirección del campo, produciendo una polarización de orientación que es dominante sobre la polarizabilidad inducida. Sin embargo, cuando las moléculas formen parte de un cristal los efectos de orientación desaparecen, ya que pierden la posibilidad de rotación. Generalmente, no se realizan mediciones del tensor de polarizabilidad, ya que las relaciones (28) y (29) que tendrían que usarse para las determinaciones, son válidas únicamente para medios isótropos (por ej., soluciones de la molécula considerada), y la polarizabilidad  $\alpha$  que puede obtenerse a partir de mediciones de la constante dieléctrica para frecuencias no ópticas, incluye la polarizabilidad de orientación como efecto altamente dominante.

En el cálculo teórico del tensor de polarizabilidad, las expresiones (21) y (23) deben incluir los estados vibracionales. En general, una molécula compleja no lineal, como lo son las bases nucleicas, tiene  $3N - 6$  modos normales de vibración, pero los estados vibracionales pueden excluirse del análisis, ya que los elementos de matriz entre dichos estados tienen características prácticamente independientes del par de bandas  $m, n$  que se considere en dichas fórmulas; por otra parte, los desplazamientos de los

núcleos son despreciables frente a los desplazamientos electrónicos originados por la radiación incidente, todo lo cual hace que los términos  $\delta_{m,n}^1$ , para estados vibracionales correspondientes a las bandas  $m, n$ , se mantengan constantes.

En otras palabras, los núcleos pueden considerarse fijos en sus posiciones medias, las cuales corresponden al estado electrónico fundamental, por lo que la polarizabilidad se deberá únicamente a los electrones. Las fórmulas (21)-(23) tienen polos de segundo orden cuando las frecuencias  $\nu$  de la radiación incidente satisface la relación:

$$h \nu_{mn} = E_m - E_n = h \nu \quad (49)$$

siendo  $E_m$  y  $E_n$  las energías correspondientes a dos estados electrónicos cualesquiera. Las expresiones que proporciona la mecánica cuántica considera la molécula aislada y desprecian efectos de amortiguamiento. Estos polos, sin embargo, son de origen similar a polos del mismo tipo que aparecen en las relaciones de dispersión que expresan el índice de refracción en función de la frecuencia, es decir que se deben expresar como consecuencia de un amortiguamiento forzado. Los términos de amortiguamiento del tipo  $\delta \cdot \frac{dx}{dt}$ , que se presentan en las ecuaciones del movimiento electrónico forzado, son muy difíciles de introducir en un tratamiento cuántico; sin embargo, su introducción en un tratamiento clásico es relativamente sencilla, permitiendo una interpretación semi-cuantitativa de la dispersión, mediante la definición de un índice de refracción complejo, en la forma:

$$n = n_1 + i \cdot n_2 \quad (50)$$

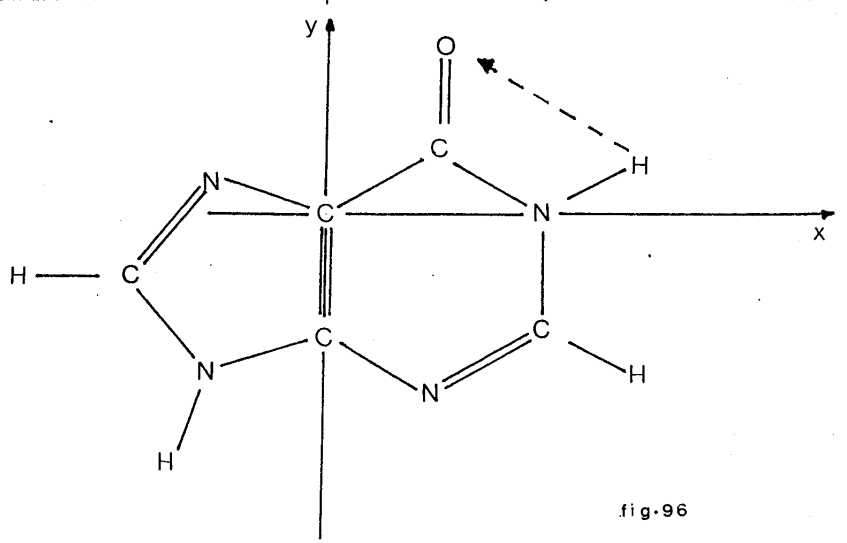
que expresa la posibilidad de absorción. Las componentes  $n_1$  y  $n_2$  satisfacen las relaciones de Kramers-Koenig (ver Kittel, 1958). Consideraciones similares permiten eliminar los polos del tensor de polarizabilidad, ya que ese caso presenta las mismas dificultades para introducir los términos de amortiguamiento. Por tal motivo, si se desea conocer la variación del tensor  $\alpha$  en función de la frecuencia, pueden eximirse del tratamiento las zonas de frecuencias  $\nu \approx \nu_{mn}$ , y determinar en forma global la variación de  $\alpha$ , en cada una de sus componentes, de la manera que se describe a continuación.

El tensor  $\alpha$  es cartesiano, es decir, dadas sus componentes  $\alpha_{ij}$ , en un sistema de ejes, las componentes  $\alpha'_{ij}$ , en una terna rotada pueden expresarse como:

$$\alpha'_{ij} = \sum \beta_{il} \cdot \beta_{jk} \cdot \alpha_{lk} \quad (51)$$

siendo  $\beta_{il}$  los cosenos directores correspondientes a la rotación de ejes.

En el inciso siguiente mostraremos algunos resultados numéricos que expresan las componentes no nulas del tensor de polarizabilidad, para la molécula de hipoxantina, en dos de sus formas tautoméricas y en los ejes coordenados que se muestran en la figura 96. Para el cálculo se han utilizado las aproximaciones mencionadas en este inciso, usando interacción de configuraciones para un conjunto de estados singuletes simplemente excitados (mono-electrónicos).



Molécula de hipoxantina. La migración protónica entre las formas ceto y enol se indica por medio de línea quebrada. (-----)

### c<sub>3</sub>) Resultados numéricos. Conclusiones.

Para calcular numéricamente las componentes del tensor de polarización en función de la frecuencia, mediante la fórmula (21) o su equivalente (32), se han determinado previamente los orbitales moleculares y las configuraciones de base, utilizando el método SCF-CI de Jaffé-Del Bene (1968), en una versión estandarizada proporcionada por el Quantum Chemistry Exchange, de la Universidad de Indiana, cuyos orbitales moleculares han sido localizados mediante el método de Löwdin (1950) (recordar la discusión expuesta entre las relaciones (36)-(37)). La elección se justifica, en nuestra opinión, en el éxito que ha tenido el método SCF de Pople, del que se deriva el procedimiento de Jaffé-Del Bene, cuando se lo utilizó para el cálculo de propiedades ópticas, particularmente para la línea de fuerza en transiciones  $\Pi \rightarrow \Pi^*$ , ya que los elementos de matriz dipolares constituyen la base para una estimación numérica de las propiedades del tensor de polarización.

Para realizar los gráficos de las curvas que expresan la polarizabilidad en función de la frecuencia (figs.97-102), se han analizado solamente los primeros seis estados singuletes excitados, ya que contienen un número suficiente de transiciones  $\sigma - \pi^*$ ,  $\pi - \pi^*$  y  $\sigma - \sigma^*$ , como para poder arribar a algunas conclusiones interesantes, en un sentido cuali-cuantitativo. La interacción de configuraciones se extendió hasta cuarenta, ya que un número mayor no modifica sustancialmente los valores de  $\alpha$  obtenidos. Esto se debe a que, dentro del rango estudiado de frecuencias, el acoplamiento entre estados se hace particularmente débil para valores muy grandes del término  $\nu_{mn}^2 - \nu^2$ , ya que este aparece en los denominadores de las sumatorias (21) y (30).

Las aproximaciones usadas han sido expuestas en el inciso anterior fórmulas (33) hasta (45), realizándose el estudio para las dos formas tautoméricas mostradas en la fig.96, donde la tautomerización por efecto túnel del hidrógeno se indica con línea punteada. Las componentes se representaron de la siguiente manera:  $E_{mxx}$  (figs.97 y 98);  $E_{mxy}$  (figs.99 y 100);  $E_{myy}$  (figs.101 y 102). Las componentes en z,  $E_{mxz}$ ,  $E_{myz}$  y  $E_{mzz}$  son nulas debido a que la molécula es plana.

La orientación de los ejes usados para determinar las componentes tensoriales se muestran también en la fig.96, mientras que las variaciones en frecuencias para algunos rangos seleccionados aparecen en las figs.97-102.

En realidad, se han analizado otros intervalos de variación de frecuencia, utilizando largo tiempo de máquina, ya que los intervalos  $\Delta\nu$  en las diversas curvas representativas deben ser muy pequeños, tomándose puntos relativamente alejados de los polos antes nombrados.

Se ha analizado también la variación en torno de los polos, es decir se han considerado series de valores que satisfagan  $\nu_{mn} \simeq \nu$ . Estas frecuencias pueden estar bastante alejadas de la zona óptica, ya que la diferencia entre el primer y segundo singulete, por ej., es de décimas de e.V y los polos mencionados provocan dificultades de cálculo en zonas de mucha menor frecuencia que el visible o el ultravioleta (U.V).

En las curvas mostradas se han omitido dichos polos, debido a que el ancho de banda de la anomalía  $\Delta\nu$  es muy pequeño y los intervalos mencionados resultan comparables a los valores experimentales en la dispersión anómala, por lo que estimamos que las aproximaciones introducidas son razonables, por lo menos en sentido cuali-cuantita-



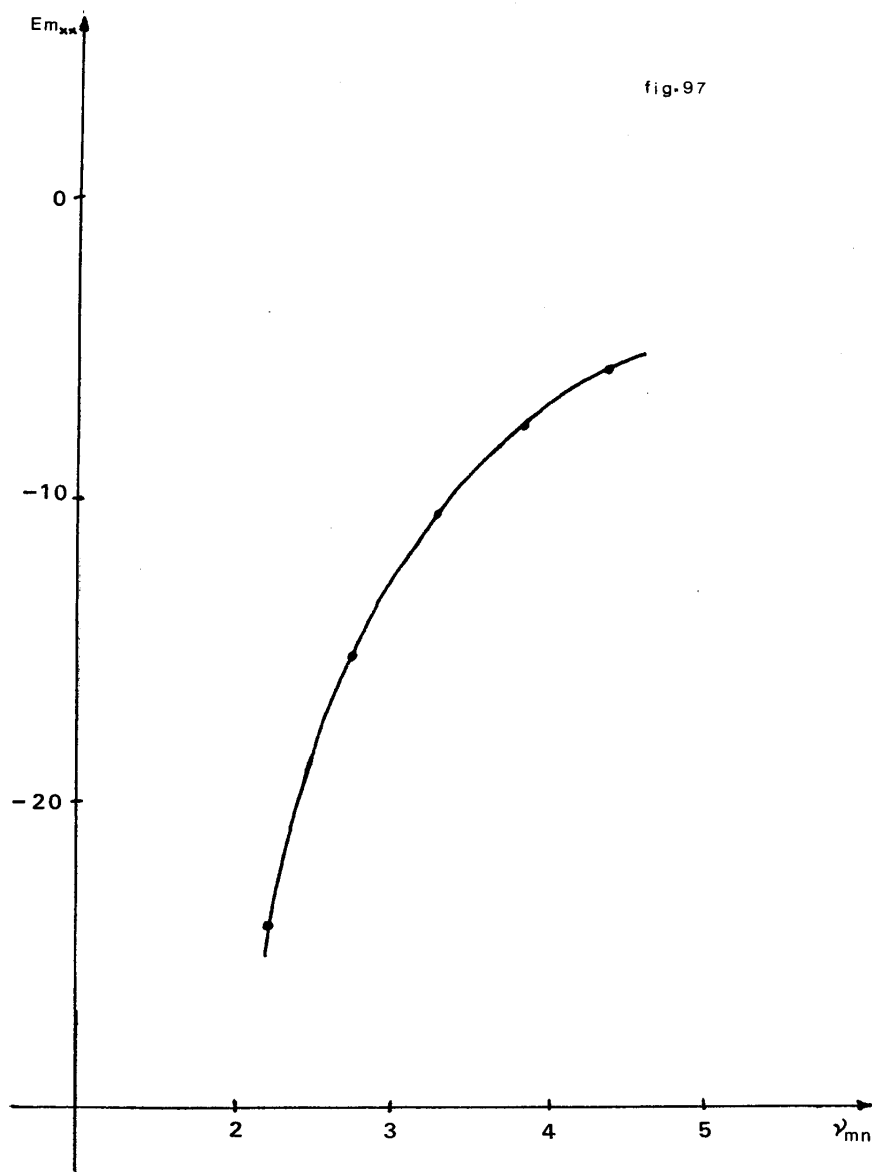


fig.97

Componente  $\alpha_{xx}$  del tensor de polarizabilidad para el primer estado singlete excitado-Forma enol-Molécula de hipoxantina.

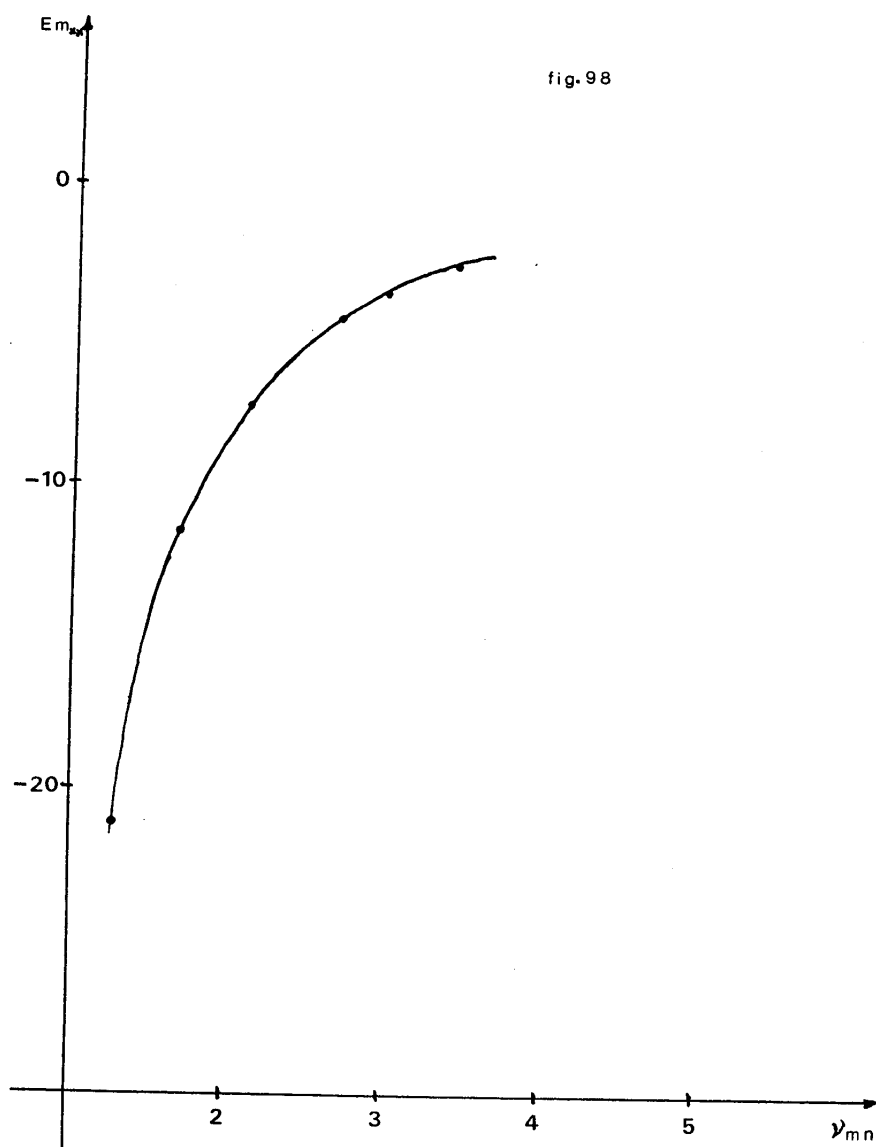


fig. 98

Componente  $\alpha_{xx}$  del tensor de polarizabilidad para el primer estado singulete excitado. Forma ceto. Molécula de hipoxantina.

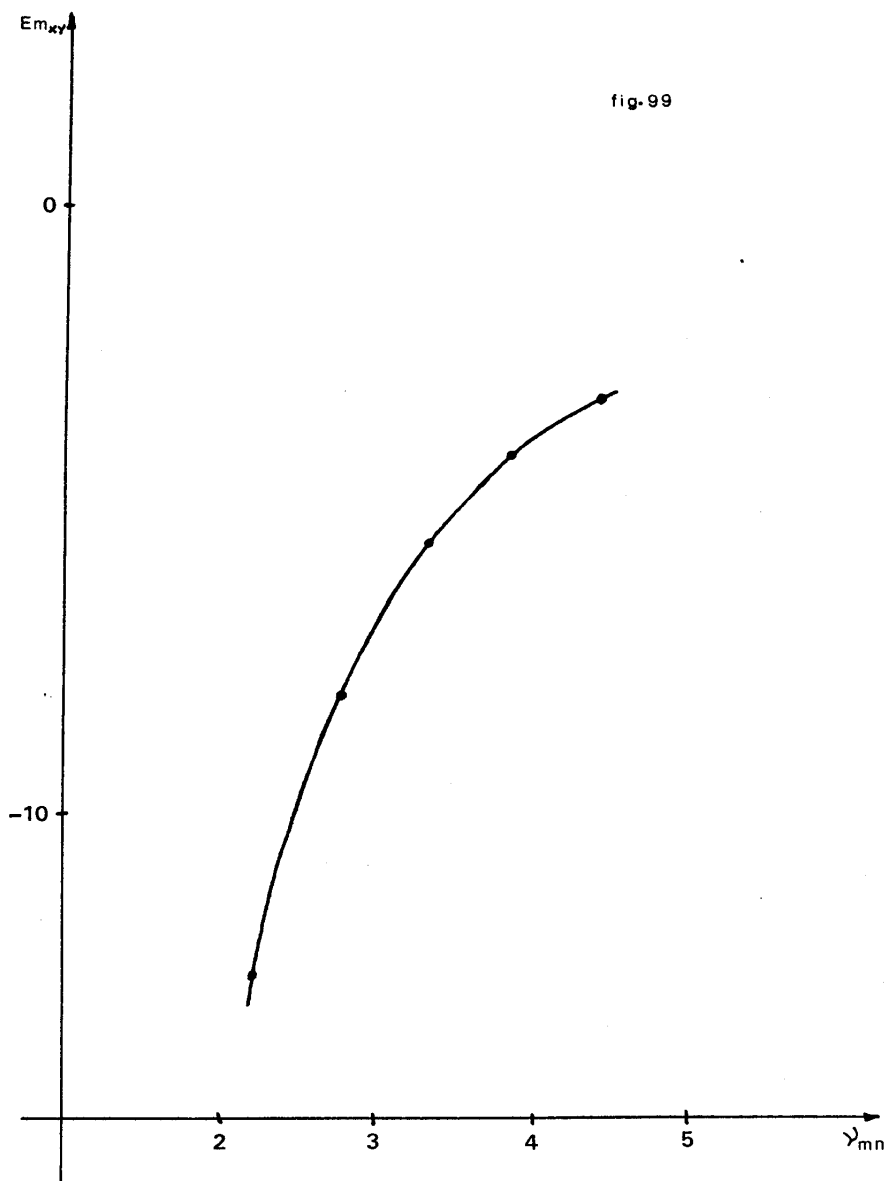
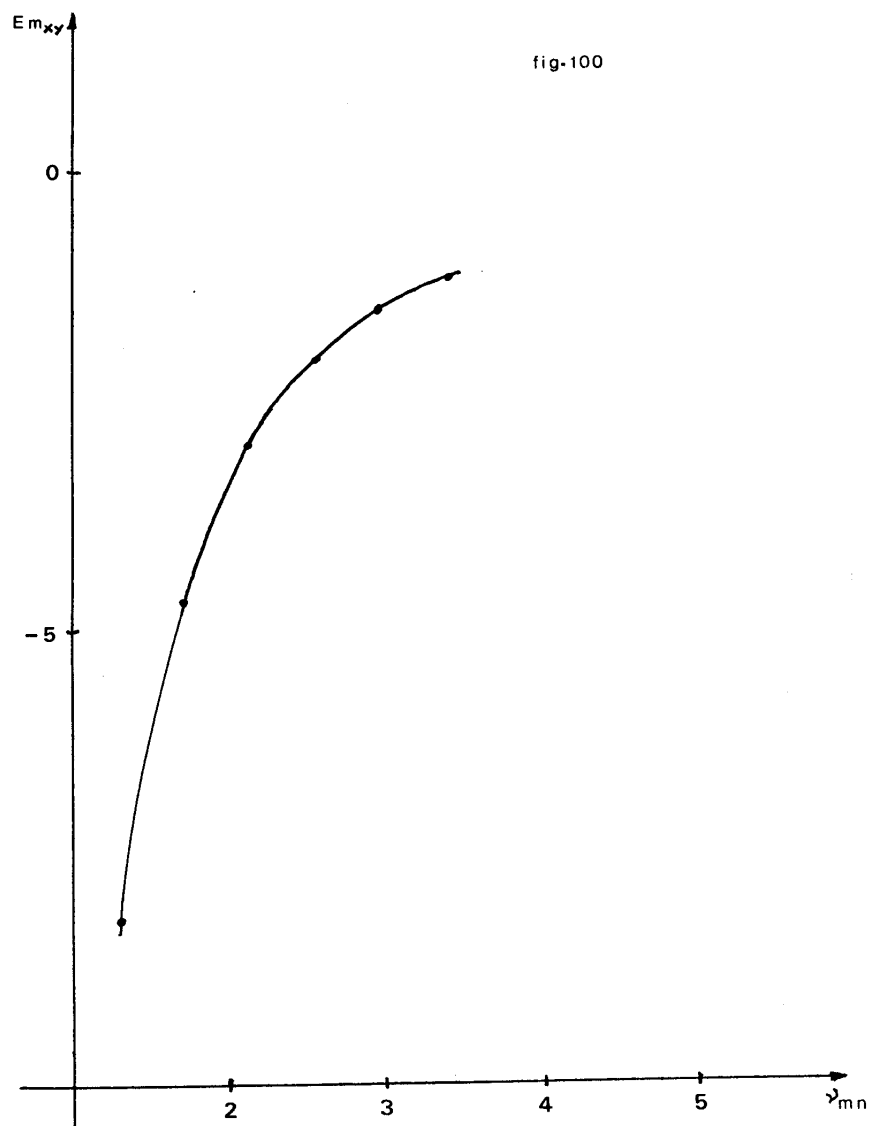
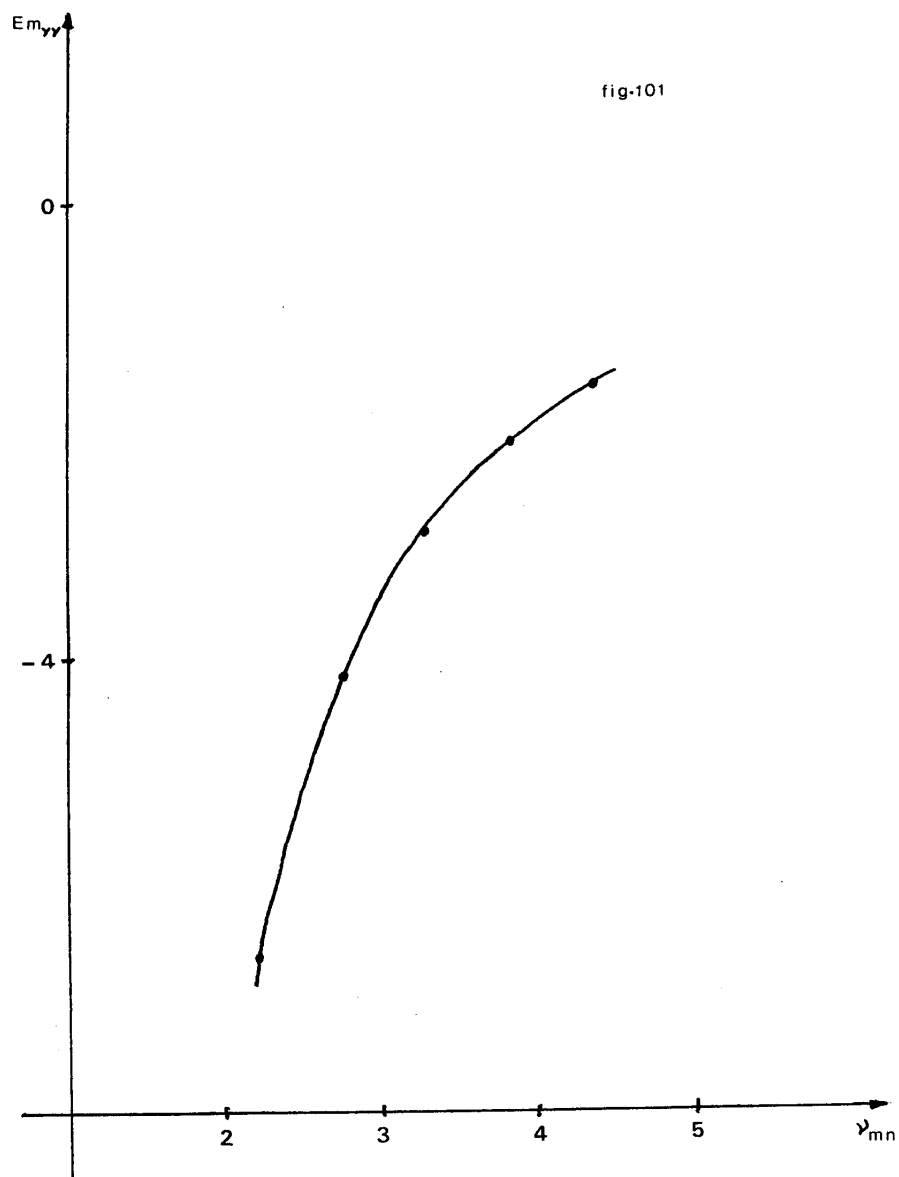


fig-99

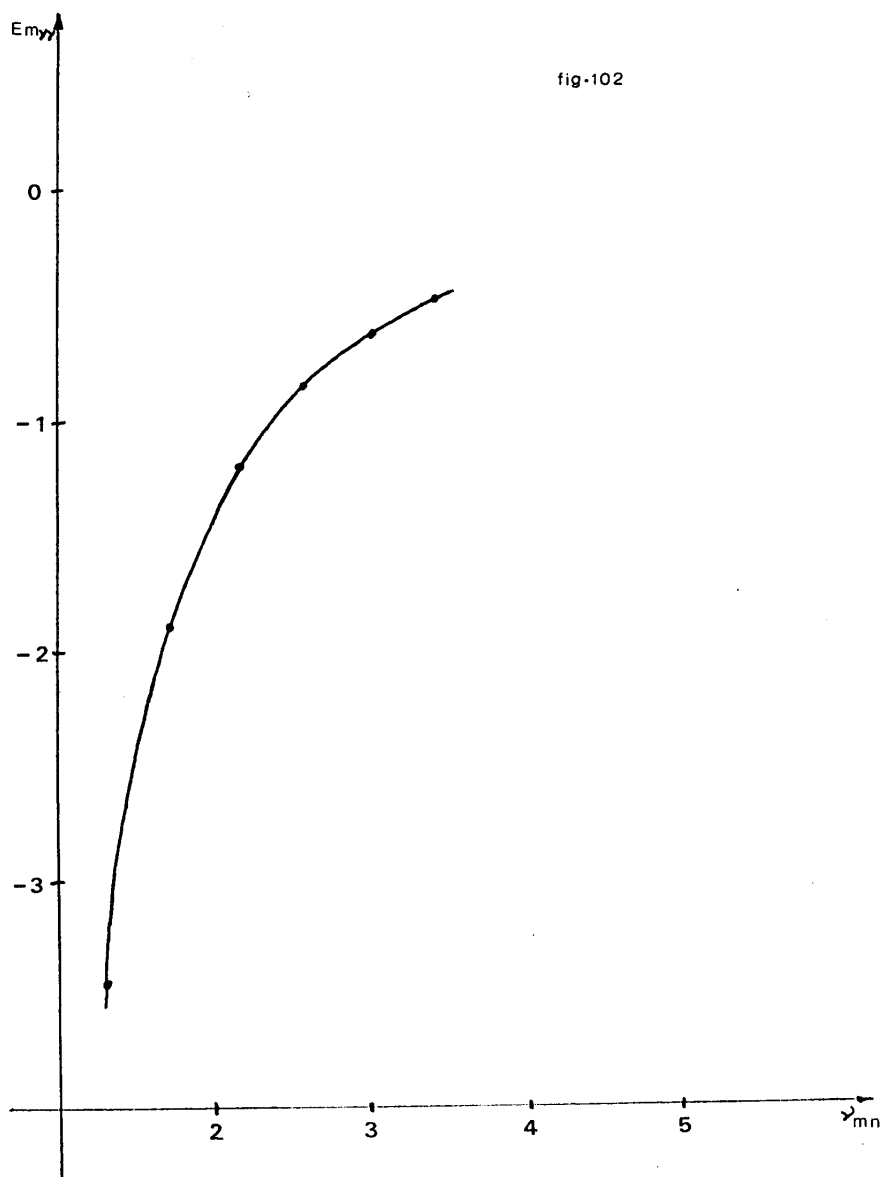
Componente  $\alpha_{xy}$  del tensor de polarizabilidad para el primer estado  
singlete excitado-Forma enol-Molécula de hipoxantina.



Componente  $\alpha_{xy}$  del tensor de polarizabilidad para el primer estado singulete excitado. Forma ceto-Molécula de hipoxantina.



Componente  $\alpha_{yy}$  del tensor de polarizabilidad para el primer estado singulete excitado-Forma enol-Molécula de hipoxantina.



Componente  $\alpha_{\gamma\gamma}$  del tensor de polarizabilidad para el primer estado singulete excitado. Forma ceto. Molécula de hipoxantina.

tivo, lo que permite algunas conclusiones interesantes, en la forma:

1° -Las curvas que expresan las componentes del tensor de polarizabilidad se modifican sensiblemente cuando se comparan dos estados excitados diferentes. Esta modificación se verifica en todos los intervalos, inclusive para valores de  $\nu$  despreciables frente a las frecuencias ópticas.

2° -La tautomerización por efecto túnel considerada anteriormente, motiva solamente una pequeña variación en las componentes tensoriales. Este resultado es razonable, ya que implica que el movimiento del hidrógeno, en el proceso de tautomerización provoca tan sólo una variación pequeña en la distribución electrónica de cada estado, motivo por el cual ambas formas tautoméricas son estables.

3° -Los polos definidos por la simetría (21) afectan un pequeño ancho de banda  $\Delta\nu$ , de orden aproximado a la dispersión anómala.

Finalmente, el cálculo de los tensores  $\beta$  y  $\delta^i$ , utilizando las aproximaciones expuestas al discutir las relaciones (46)-(47), permiten obtener valores de dichas magnitudes superiores a los órdenes esperados, aunque muy inferiores a los de la polarizabilidad  $\alpha$ . Por tal motivo no se discuten los valores obtenidos, ya que no influyen en el estado final de polarización. Por otra parte, es muy probable que métodos mucho más costosos, quizá prohibitivos en tiempo de máquina, no sean más confiables que los métodos semi-empíricos. Con respecto a esto, citaremos a Kauzmann (1957), el cual ha demostrado que aún las mejores aproximaciones para las energías orbitales pueden originar resultados sensiblemente inferiores en los momentos dipolares.