



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS
EXPERIMENTALES**

AREA DE QUIMICA FISICA

**MECANISMOS MOLECULARES DE
REACCIONES ENZIMATICAS Y
ESTRUCTURAS DE
TRANSICION:
ESTUDIOS TEORICOS**



**TESIS DOCTORAL
VICENTE MOLINER IBANEZ
1993**



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS
EXPERIMENTALES**

AREA DE QUÍMICA FÍSICA

**MECANISMOS MOLECULARES DE
REACCIONES ENZIMÁTICAS Y
ESTRUCTURAS DE TRANSICIÓN:
ESTUDIOS TEÓRICOS**

MEMORIA DE TESIS DOCTORAL PRESENTADA POR:

Vicente Moliner Ibáñez

DICIEMBRE 1993

JUAN M. ANDRÉS BORT, Profesor Titular de Química-Física del Departamento de Ciencias Experimentales de la Universitat Jaume I de Castellón

CERTIFICA:

Que D. Vicente Moliner Ibáñez, Licenciado en Ciencias Químicas por la Universidad de Valencia, ha realizado bajo mi dirección, desde Noviembre de 1990 hasta la actualidad, el trabajo que se recoge en este Memoria para optar al Grado de Doctor en Ciencias Químicas.

Asimismo, autorizo la presentación del trabajo ante la Universitat Jaume I de Castellón para que cumpla los trámites correspondientes.

Y para que así conste a los efectos legales, presentamos dicha Tesis, firmado este Certificado en Castellón, a veintiuno de Octubre de mil novecientos noventa y tres

J. M. Andrés Bort

*A mis padres
y hermanos.*

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido realizado en el Departament de Ciències Experimentals de la Universitat Jaume I de Castellón bajo la dirección del Dr. Juan M. Andrés Bort a quien quiero expresar mi más sincero agradecimiento por toda la ayuda, confianza y amistad que en todo momento he recibido de él.

También quiero hacer constar mi agradecimiento:

Al Departament de Ciències Experimentals por todos los medios dispuestos a mi alcance y por haber aceptado la realización de esta Tesis Doctoral.

Al Convenio Fundació Caixa Castellón - Universitat Jaume I, por la beca de FPI concedida que me permitió la dedicación exclusiva a este trabajo.

A los profesores Jiri Krechl y Estanislao Silla, por sus inestimables explicaciones y orientaciones.

Al equipo del Centre d'Processament de Dades de la Universitat Jaume I, por su profesionalidad y constante cooperación.

También deseo agradecer de forma muy especial a mis compañeros del área de Química Física: Juan Andrés, Vicent Sixte Safont, Rosa Llusar, Armando Beltrán, Juan Antonio Igualada y Joao B. Lopes, no solo por haber conseguido un equipo humano impresionante, sino porque cuando lo he necesitado he podido contar con la desinteresada ayuda de cualquiera de ellos.

Por último, a mi amigo Jesús Lancis, por todas las horas de trabajo compartidas en el largo verano del 93. Cuando juguemos en primera lo recordaremos. A todos los profesores que han contribuido a mi formación y, en general, a todas las personas buenas.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
I.1. REFERENCIAS.....	8
II. OBJETIVOS	11
III. CARACTERIZACIÓN TEÓRICA	15
III. 1. La Teoría del Estado de Transición en Catálisis Enzimática	15
III. 2. Aproximación Mecanocuántica al Estudio del Estado de Transición.....	19
III. 3. Superficies de Energía Potencial.....	22
III.3.1. Consideraciones Generales.....	22
III.3.2. Coordenada de Reacción.....	26
III.3.3. Estados Estacionarios.....	32
III.3.4. Mecanismos de Reacción.....	36
III.4. Estado de Transición.....	46
III.4.1. Vector de Transición.....	48
III.4.2. Localización del Estado de Transición.....	49
III.4.3. Reglas de Simetría.....	53
III.4.4. Modos Normales.....	56
III.4.5. Efectos Isotópicos.....	58
III.4.6. Propiedades de los Estados de Transición	66
III.5. Efecto del Medio.....	68
III.6. Métodos Químico-cuánticos.....	71
III.6.1. Requisitos Generales.....	71
III.6.2. Métodos <i>ab initio</i>	73
III.6.3. Métodos Semiempíricos.....	90
III. 7. Programas y Ordenadores.....	95

III.8. REFERENCIAS.....	16
IV. APLICACIONES	167
IV.1. Biotina (vitamina H)	167
IV.1.1. Introducción	167
IV.1.2. Primer Modelo $\text{CO}_2 + \text{CH}_3\text{NH}_2$	167
IV.1.3. Estudio del efecto de la correlación electrónica.....	167
IV.1.4. Segundo Modelo $\text{CO}_2 + \text{CH}_3\text{NHCONH}_2$	167
IV.1.5. Conclusiones	167
IV.2. Lactato Deshidrogenasa (LDH).....	167
IV.2.1. Introducción	167
IV.2.2. Estudio PM3	167
IV.2.3. Comparación AM1 vs PM3	167
IV.2.4. Conclusiones	167
IV.3. Dihidrofolato Reductasa (DHFR).....	171
IV.3.1. Introducción	171
IV.3.2. Modelo Molecular y Resultados.....	171
IV.3.3. Conclusiones	171
IV.4. Pírroloquinolina Quinona (PQQ).....	18
IV.4.1. Introducción	18
IV.4.2. Método y Modelo Molecular.....	18
IV.4.3. Resultados.....	18
IV.4.4. Conclusiones.....	18
IV.5. Efectos Isotópico Cinéticos en la Etapa de Transferencia de Hidruro del LDH.....	177
IV.5.1. Introducción	177
IV.5.2. Modelo Molecular y Método de Cálculo	177
IV.4.3. Resultados.....	177
IV.4.4. Conclusiones.....	177
IV.6. REFERENCIAS.....	207
V. CONCLUSIONES	237

I *INTRODUCCIÓN*

El mecanismo por el cual actúan los enzimas es una área de investigación interdisciplinar entre la Química, la Física y la Biología. De hecho, gran parte de la historia de la bioquímica se traduce en la historia de la investigación de los enzimas. La mayoría de estas reacciones tienen lugar en una área específica del enzima que recibe el nombre de centro activo, constituido por todos los residuos implicados en la forma de enlazarse o unirse específicamente el sustrato, así como por los trozos de las cadenas peptídicas que están directamente implicados en el proceso catalítico. Una constante para todos los centros activos es que únicamente un pequeño número de grupos funcionales producen su alta actividad catalítica¹.

Por definición, un catalizador es una sustancia que altera la velocidad de una reacción química sin sufrir cambio alguno, es decir, manteniendo la estructura química y conformacional. Si el enzima fuera alterado después de una primera reacción química, quedaría incapacitado para actuar sobre un segundo sustrato. Por supuesto, como catalizador, los enzimas necesitan estar presentes en pequeñas concentraciones. En el metabolismo celular, controlado enzimáticamente, en muchas ocasiones el centro activo requiere otro tipo de moléculas que pueden ser llamadas catalizadores, pero que en realidad se pueden consumir o modificar en el curso de la reacción. Son los *coenzimas* y son con frecuencia restaurados a su forma original por otra reacción enzimática. El coenzima suele ser un ión metálico o una sustancia orgánica no proteica. Muchos enzimas requieren ambos tipos. En estos sistemas la porción proteica del enzima se conoce como apoenzima y suele ser inactivo. Por último, podemos decir que el complejo formado por el coenzima y el apoenzima constituye el holoenzima o, en definitiva, el enzima¹.

Un análisis de la literatura revela el interés progresivo por los enzimas². Esto se debe en parte al desarrollo de los métodos de mutagénesis dirigida, dichos métodos consisten en toda una serie de procedimientos de laboratorio a partir de los cuales la secuencia de aminoácidos de un enzima (o cualquier otro tipo de proteína) puede ser alterada precisa y deliberadamente mutando el código genético de dicha molécula. Este continuo desarrollo de la aplicación en las técnicas de mutagénesis, los avances en los métodos para la preparación de enzimas híbridos, semisintéticos e incluso compuestos totalmente sintéticos, el continuo progreso en la cristalografía de rayos X y por último, la producción de anticuerpos catalíticamente activos, ha originado el nacimiento de una nueva disciplina conocida como ingeniería enzimática³.

Las razones de este interés creciente no son difíciles de entender. Desde el momento en que la mayoría de las drogas actúan modificando o bloqueando la actividad de algún enzima, un conocimiento profundo de los mecanismos de reacción de los enzimas nos proporcionaría una privilegiada posición para el diseño racional de fármacos. Los enzimas y las reacciones que ellos catalizan pueden ser estudiados efectivamente usando los principios mecanísticos que constituyen la base de la química física orgánica⁴.

El fenómeno de la actividad de los enzimas, aumento de la velocidad de reacción y extraordinaria especificidad, ha intrigado a los científicos desde 1830⁵ cuando la actividad enzimática fue observada por primera vez. Durante el periodo de 1930-1940 se desarrolló una metodología sistemática^{6,7} para la elucidación de los mecanismos de reacción en enzimas, basándose fundamentalmente en los avances de las teorías clásicas de la cinética química⁸⁻¹⁰. A través de los años, numerosas hipótesis y explicaciones *ad hoc* se han enunciado sobre la catálisis enzimática, muchas de ellas etiquetadas por sus autores con nombres muy imaginativos. M.I. Page lista no menos de 21 hipótesis¹¹. De todas ellas, la que mejor ha aguantado el paso del tiempo ha sido la hipótesis enunciada por Linus Pauling¹²⁻¹⁴ hace cerca de 50 años. La idea básica, tan clara y sencilla como elegante, se basa en una combinación directa de dos conceptos fundamentales de la química física: la teoría del estado de transición (ET) propuesta por Eyring y Polanyi¹⁵⁻¹⁷ y el ciclo termodinámico. Desde este punto de vista un enzima es fundamentalmente una plantilla molecular ligeramente flexible, diseñada a través de la evolución para ser complementaria a la geometría de los reactivos en su ET, y no a la geometría de los reactivos en su estado fundamental. De esta forma, un enzima se enlazaría fuertemente al ET de la reacción que cataliza, estabilizándolo respecto a los reactivos. O dicho de otro modo, desestabilizando los reactivos y en consecuencia acelerando la velocidad de reacción. Esta descripción de la catálisis enzimática es en la actualidad conocida como la estabilización del ET.

De hecho, tal como fue documentado por Schowen¹⁸ en 1978, casi la totalidad de las 21 hipótesis enumeradas por Page¹¹, simplemente son diferentes formas de enunciar esta teoría o sugieren factores que contribuyen a ella. En cualquier caso, parece apropiado hacer un repaso de los elementos de la teoría del ET en su aplicación al problema de la catálisis enzimática.

La noción de distorsión del sustrato, junto con el principio de estabilización del ET, ha sido de alguna manera una constante en enzimología y proporciona un ejemplo interesante del desarrollo del pensamiento científico a través de una lenta evolución en lugar de una repentina revolución. En

cualquier caso, una breve cronología de los pasos más relevantes resulta siempre una ayuda para entender el problema.

Las teorías modernas de la catálisis enzimática probablemente tienen su origen en 1930, con el tratado de Haldane titulado "Enzymes"^{5a}. Él introdujo la idea de que el complejo enzima-sustrato requiere un pequeño aporte de energía de activación antes de reaccionar y sugiere que el famoso símil de la "llave y la cerradura", enunciado por Fischer^{5b}, puede ser retocado en la manera en que la "llave" no coincide exactamente con la "cerradura", se requiere una pequeña deformación para que se acople.

En 1935, Eyring¹⁶ formuló las bases de la teoría contemporánea del complejo activado o ET, ahora conocida como teoría del ET, que abonó el terreno para que años más tarde surgiera la contribución de Pauling. Sin embargo, tuvo que pasar mucho tiempo para ser completamente aceptada esta hipótesis. Tal vez la razón de la actitud reacia de la sociedad científica hacia este enunciado fue la forma en que se presentó: tres artículos dirigidos a una audiencia de científicos no especializados en este campo. En cualquier caso, el principio de la estabilización del ET prevaleció a través de los siguientes 20 años, pero no se incorporó al pensamiento generalizado de la enzimología.

En 1955 Ogston¹⁹ utilizó el postulado de Pauling en una discusión de activación enzimática e inhibición. En 1959 Bernhard y Orgel²⁰ postularon que la inhibición específica de las serino proteasas por ciertos ésteres fosfóricos era debido a la semejanza del complejo inhibidor del enzima con el ET, y sugirieron que el fenómeno debía ser generalizado para cualquier enzima.

Una expresión relativa al aumento de la constante de velocidad por un catalizador, sin referencia particular a los enzimas y haciendo mención a la fuerza de enlace relativa del ET frente al estado fundamental, fue dada por primera vez por Kurz en 1963²¹. Kurz combinó un argumento del ciclo termodinámico con la ecuación de Eyring, dando lugar a una formulación cuantitativa del postulado de Pauling. Posteriormente Kurz no ha sido suficientemente citado. En 1966 Jencks²² fue el primero en sugerir la existencia de inhibidores análogos al ET y citó varios posibles ejemplos de la literatura. No obstante, aunque la estabilización del ET por el enzima no fue

ciertamente ignorada, constituía un papel menor en el campo de la enzimología y, como destacaba Schowen en 1978¹⁸, era tratado sólo como un factor más de la catálisis enzimática.

A partir de 1969 y durante el inicio de los 70, la teoría del ET empezó a tener más impacto en enzimología. En una serie de artículos, Wolfenden^{23,24} y Lienhard^{25,26} contribuyeron, separadamente, a enfatizar el carácter general y el poder de esta teoría. Argumentaron que compuestos con una geometría similar al ET, estados de transición análogos, deberían enlazarse al centro activo con una fuerza superior en varios órdenes de magnitud a la de los propios sustratos. Recogieron numerosos ejemplos y propusieron que estos ETs análogos podían constituir una importante ayuda para el esclarecimiento del mecanismo de reacción de los enzimas.

Al mismo tiempo, con la primera estructura tridimensional de un enzima determinada por cristalografía de rayos X en 1965 por Blake y colaboradores^{27,28} (la lisozima del huevo de gallina), la complementariedad del centro activo de un enzima con la geometría del ET era evidente. Utilizando la nueva estructura de rayos X, junto a los mapas de transformada de Fourier de los enlaces de varios inhibidores oligosacáridos e información sobre los grupos funcionales de enlace con el sustrato, Phillips y sus colaboradores²⁹ dedujeron cómo los sustratos interaccionan con la molécula de lisozima. Estudios de "model-building" demostraron que un residuo del azúcar que ocupaba un centro D, donde la hidrólisis tiene lugar, estaría fuertemente enlazado únicamente cuando estuviera en la conformación de "media silla", y no en la de "silla". Era precisamente la conformación esperada para un ET similar al ión glicosil oxocarbanión en el anillo D, pero la descripción fue todavía construída en el lenguaje de distorsión y deformación.

Quince años antes, en 1950, los calores de combustión del ciclopropano y ciclobutano habían sido determinados, permitiendo el cálculo de sus calores de formación y energías de tensión. La energía de tensión es la diferencia entre el calor de formación observado y el de formación de una molécula hipotética con el mismo número de átomos pero libre de tensiones (ΔH_f de los elementos). El concepto de tensión ha sido desarrollado de la idea original de von Baeyer³⁰.

Hoy en día es discutido en términos de distorsiones de distancias de enlaces, distorsiones de ángulos de enlace, tensiones de torsión, interacciones entre átomos o grupos de átomos sin enlazar, y cambios de energía debidos a rehibridaciones. Las energías de tensión son de gran ayuda para evaluar compuestos orgánicos con geometrías inusuales o con interacciones intramoleculares. El problema de evaluar cuantitativamente la tensión estérica llevó a Westheimer y Mayer³¹ a elaborar el primer cálculo de lo que hoy se conoce como mecánica molecular. Utilizando valores razonables de interacciones entre dos átomos no enlazados, junto con constantes de fuerza derivadas de espectroscopía de IR, fueron capaces de reproducir la energía de activación observable para la racemización de bifenoles ortosustituídos ópticamente activos. Ello suponía una aproximación al estudio teórico de los estados de transición. Desde entonces, aspectos semejantes han sido estudiados en procesos enzimáticos con bastante frecuencia^{32,33}.

Pero no fue hasta 1977 cuando J. Kraut³⁴ dio a conocer una característica común entre media docena de potentes inhibidores covalentes: aunque químicamente inconexos, todos ellos poseían una estructura similar al ET tetraédrico para la reacción de la hidrólisis del sustrato y se enlazaban de la misma manera al oxianión complementario del centro activo. Como un indicativo de la dificultad en caracterizar los detalles de la catálisis enzimática, se puede decir que aunque las serino proteasas son probablemente el tipo de enzimas más estudiado, el debate sobre detalles de sus rasgos estructurales sigue todavía abierto.³⁵

La relación entre estructura y funcionalidad de los enzimas naturales es extremadamente compleja y convierte la reciente tecnología del diseño de proteínas activas en un proceso muy complicado³⁶⁻⁴⁰. Tal como fue sugerido por vez primera por Jencks en 1969⁴¹, y demostrado experimentalmente en 1986 por Lerner y Schultz³⁷, el estudio de los anticuerpos proporciona una estrategia muy adecuada para diseñar catalizadores biológicos. Son compuestos que teniendo estructuras muy similares a la estructura del sustrato de un enzima dado, no serán transformados por éste pero actuarán como inhibidores. Básicamente existe dos tipos de inhibidores, los reversibles (aquellos que

compiten por el sustrato pero se pueden extraer del enzima y reactivarlo) y los irreversibles (aquéllos que no pueden ser separados del enzima y en consecuencia la actividad de éste no queda restaurada cuando el enzima se separa de la solución que contiene el inhibidor). En estos casos, se forma normalmente enlaces covalentes entre el enzima y el inhibidor. En consecuencia, el único tipo de inhibidores reversibles son los estados de transición análogos, que consisten en productos estables cuya estructura es análoga a la estructura del ET de la reacción. En 1986, P.G. Shultz⁴² y R.A. Lerner⁴³ desarrollaron el primer anticuerpo con actividad catalítica basándose en el principio de Pauling y de los estados de transición análogos. El objetivo era conseguir anticuerpos que pudieran catalizar la hidrólisis de ésteres orgánicos y carbonatos con cierto grado de especificidad. De hecho, mimetizaban el ET tetraédrico de la reacción de hidrólisis. El concepto de ET análogo es el punto clave de este empeño, y la idea básica es diseñar antígenos basados en los principios del mecanismo químico⁴⁴. Lo que hace que este hecho sea posible es la habilidad del sistema inmunológico para reconocer cualquier configuración atómica en la superficie de un antígeno invasor, y en respuesta producir inmunoglobulinas (anticuerpos) con la característica de enlazarse a esa configuración específicamente. Si el sistema inmunológico puede ser inducido a crear un anticuerpo que se enlace a algunos grupos químicos semejantes al ET para una reacción dada, entonces el anticuerpo catalizará la reacción. De esta forma, se utiliza una proteína como antígeno a la cual se le acopla el adecuado ET análogo. Esta aproximación resulta ser muy versátil para muchos tipos de reacciones y sustratos³⁷.

En definitiva, podemos intuir la importancia del ET en el estudio del mecanismo molecular de una reacción enzimática.

I. 1 REFERENCIAS

- [1] C. J. Suckling: *Enzyme Chemistry. Impact and Applications. 2nd Ed.*; Chapman and Hall: London, 1990.

- [2] G. H. Hitchings *Angew. Chem. Int. Ed. Eng.* , 879, **28**, 1989.
- [3] H. Dugas: *Bioorganic Chemistry. A Chemical Approach to Enzyme Action. 2nd Ed.*; Springer-Verlag: New York, 1989.
- [4] J. Kraut *Science* , 533, **242**, 1988.
- [5] (a) J. B. S. Haldane: *Enzymes*; London, 1930; reprinted by MIT Press, Cambridge, 1965. (b) E. Fischer *Ber. Dt. Chem. Ges.*, 2985, **27**, 1894.
- [6] C. K. Ingold: *Structure and Mechanism in Organic Chemistry*; Cornell University Press: New York, 1953.
- [7] L. P. Hammett: *Physical Organic Chemistry*; New York, 1970.
- [8] S. Glasstone; K. Laidler y H. Eyring: *The Theory of Rate Processes*; McGraw-Hill: New York, 1941.
- [9] K. Laidler: *Theories of Chemical Reaction Rates*; McGraw-Hill: New York, 1969.
- [10] D. G. Truhlar; W. L. Hase y J. T. Hynes *J. Phys. Chem.* , 2664, **87**, 1983.
- [11] M. I. Page: *Enzyme Mechanisms*; Royal Society of Chemistry: London, 1987.
- [12] L. Pauling *Chem. Eng. News* , 1375, **24**, 1946.
- [13] L. Pauling *Nature* , 707, **161**, 1948.
- [14] L. Pauling *Am. Sci.* , 51, **36**, 1948.
- [15] H. Eyring y M. Polanyi *Z. Phys. Chem. Abt. B.* , 279, **12**, 1931.
- [16] H. Eyring *J. Chem. Phys.* , 107, **3**, 1935.
- [17] M. G. Evans y M. Polanyi *Trans. Faraday Soc.* , 1340, **32**, 1936.
- [18] R. L. Schowen: *Transition States of Biochemical Processes*; Plenum: New York, 1978, pp 77-114.
- [19] A. G. Ogston *Discuss. Faraday Soc.* , 161, **20**, 1955.
- [20] S. A. Bernhard y L. E. Orgel *Science* , 625, **130**, 1959.
- [21] J. L. Kurz *J. Am. Chem. Soc.* , 987, **85**, 1963.
- [22] W. P. Jencks: *Current Aspects of Biochemical Energetics*; Academic Press: New York, 1966.
- [23] R. Wolfenden *Nature* , 704, **223**, 1969.
- [24] R. Wolfenden *Acc. Chem. Res.* , 10, **5**, 1972.

- [25] G. E. Lienhard *Annu. Rep. Med. Chem.* , 249, **7**, 1972.
- [26] G. E. Lienhard *Science* , 149, **180**, 1973.
- [27] P. J. Artymiuk; C. C. F. Blake; D. E. P. Grace; S. J. Oatley; D. C. Phillips y M. J. E. Sternberg *Nature* , 757, **206**, 1965.
- [28] P. J. Artymiuk; C. C. F. Blake; D. E. P. Grace; S. J. Oatley; D. C. Phillips y M. J. E. Sternberg *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* , 484, **57**, 1967.
- [29] P. J. Artymiuk; C. C. F. Blake; D. E. P. Grace; S. J. Oatley; D. C. Phillips y M. J. E. Sternberg *Nature* , 563, **280**, 1979.
- [30] A. v. Baeyer *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* , 2278, **18**, 1885.
- [31] F. H. Westheimer y J. E. Mayer *J. Chem. Phys.* , 733, **14**, 1946.
- [32] T. C. Bruice *Enzymes*; Academic Press: New York, 1970; Vol. II.
- [33] D. E. Koshland Jr y K. E. Neet *Annu. Rev. Biochem.* , 359, **37**, 1968.
- [34] J. Kraut *Annu. Rev. Biochem.* , 331, **46**, 1977.
- [35] R. L. Schowen: *Principles of Enzyme Activity*; VCH: Deerfield Beach, FL, 1989; Vol. 9.
- [36] R. L. Lerner y A. Tramontano *TIBS* , 427, **12**, 1987.
- [37] R. A. Lerner; S. J. Benkovic y P. G. Schultz *Science* , 659, **252**, 1991.
- [38] A. Tramontano; K. Janda; A. D. Napper; S. J. Benkovic y R. A. Lerner: *Cold Spring harbor Symposia on Quantitative Biology.* , 91-96, **LII**, 1987.
- [39] A. Tramontano; K. D. Janda y R. A. Lerner *Science* , 1566, **234**, 1988.
- [40] J. L. Reymond; G. K. Jahangiri; C. Stoudt y R. A. Lerner *J. Am. Chem. Soc.* , 3909, **115**, 1993.
- [41] W. Jencks: *Catalysis in Chemistry and Enzymology*; McGraw-Hill: New York, 1969.
- [42] J. Jacobs; P. G. Schultz; R. Sugawara y M. Powell *J. Am. Chem. Soc.* , 2174, **109**, 1987.
- [43] A. Tramontano; K. D. Janda y R. A. Lerner *Proc. Natl. Acad. Sci.* , 6736, **83**, 1986.
- [44] S. J. Pollack; J. W. Jacobs y P. G. Schultz *Science* , 1570, **234**, 1986.

II ***OBJETIVOS***

El mecanismo de una reacción química está descrito por todos los pasos elementales que cubren la transformación desde reactivos hasta productos. Cualquier información en este sentido debe incluir la secuencia de estos pasos, así como la naturaleza de cada uno de ellos. Ello supone conocer los puntos del camino de reacción que desde reactivos, vía el ET, nos llevan a los productos. En particular, y teniendo en cuenta el postulado de Pauling, la caracterización del mecanismo de reacción de un enzima pasa por una discusión completa de la composición, estereoquímica, estructura electrónica y energía relativa del ET. Si conseguimos conocer el ET de una reacción catalizada enzimáticamente estaremos en una posición privilegiada para controlarla. Considerando la

importancia de los enzimas en la actividad metabólica de cualquier ser vivo, el interés por controlar estas reacciones resulta evidente.

En los últimos años el progreso alcanzado en técnicas instrumentales como espectroscopías de laser de alta resolución, estudios de efectos isotópicos, o la más reciente ingeniería molecular con la obtención de ET análogos, está haciendo posible acercarnos al estudio directo del ET. Sin embargo, la caracterización completa de estas especies moleculares de tiempo de vida extremadamente corto (10^{-12} - 10^{-15} s) sigue constituyendo un objetivo inalcanzable para los científicos experimentales.

Durante las últimas décadas, la química teórica, y en concreto la química computacional, está siendo gradualmente reconocida como una herramienta fundamental en la elucidación de estructuras moleculares y de las propiedades químicas asociadas a ellas. El enorme desarrollo de la tecnología computacional ha permitido una progresiva contribución de la teoría cuántica en la dilucidación de las estructuras de los ET. Hoy en día, se puede disponer de una gran variedad de programas avanzados y de potentes ordenadores capaces de llevar a cabo cálculos cuánticos que hace sólo diez años parecían impensables.

El trabajo de la presente Tesis Doctoral se enmarca dentro de la línea de investigación iniciada en 1982 y desarrollada en nuestro Departamento sobre el estudio teórico de los mecanismos moleculares que tienen lugar en centros activos de diferentes enzimas. En concreto los objetivos fundamentales del presente estudio son los siguientes:

- 1) debido al amplio espectro que los actuales algoritmos y programas de cálculo nos ofrecen y a la indudable necesidad de reducir al mínimo los costes de tiempo de CPU y almacenamiento de datos en discos duros (que constituyen un límite en todo estudio computacional), resulta evidente la importancia de llegar a un equilibrio entre la sofisticación de los cálculos y la calidad de los resultados. En este sentido, analizaremos los diferentes métodos de cálculo desde los semiempíricos a los *ab initio*, incluyendo la estimación de la correlación electrónica.

- 2) elección de modelos moleculares apropiados para el estudio de sistemas biológicos de interés.
- 3) las reacciones químicas consideradas son: a) el mecanismo molecular de la biotina (vitamina H): la fijación del CO_2 ; b) el mecanismo molecular del enzima lactato deshidrogenasa (LDH): reducción del anión piruvato a lactato; c) oxidación del metanol por el PQQ; y d) la transferencia de hidruro en el enzima deshidrofolato reductasa (DHFR).
- 4) cálculo teórico de efectos isotópico cinéticos. En particular, la caracterización del ET para el LDH y la comparación con ETs de diferentes enzimas de la familia de las deshidrogenasas va a permitir proponer un mecanismo común para la etapa de transferencia de hidruro.
- 5) el análisis y discusión de los resultados permitirá obtener un procedimiento general para abordar estudios mecanocuánticos de interconversiones químicas, de gran valor para la caracterización de mecanismos moleculares de reacciones químicas en sistemas biológicos.

III CARACTERIZACIÓN TEÓRICA

III. 1. LA TEORÍA DEL ESTADO DE TRANSICIÓN EN CATALISIS ENZIMÁTICA

A pesar de que la teoría del estado de transición (TET) está basada en ciertas aproximaciones, su aplicación práctica produce buenos resultados¹. Durante sus casi 60 años de existencia la teoría ha sufrido notables mejoras y actualmente se acepta como válida. En realidad, incluso ha podido ser corroborada con resultados experimentales y con cálculos teóricos

extremadamente rigurosos ¹⁻⁴. Así, la teoría predice, con extremada precisión, constantes de reacción en fase gaseosa para ciertas reacciones bimoleculares entre átomos y moléculas. Sin embargo, reacciones más complejas todavía resultan difícil de calcular.

La teoría esta basada en dos suposiciones : i) el ET es un "cuello de botella" dinámico, de manera que la reacción está controlada por la descomposición del complejo activado, ET, y ii) la existencia de un equilibrio termodinámico entre los reactivos y el ET ⁵. La conjunción de estas dos hipótesis da lugar a la ecuación fundamental :

$$k = \kappa \nu K^\ddagger \quad (3.1)$$

donde k representa una constante de reacción experimentalmente observable, κ es el coeficiente de transmisión, ν es la frecuencia del "modo normal" de vibración del ET a lo largo de la coordenada de reacción (rigurosamente hablando, sería la frecuencia promedio de la barrera de reacción), y K^\ddagger es la constante de equilibrio para la formación del ET desde los reactivos ⁵.

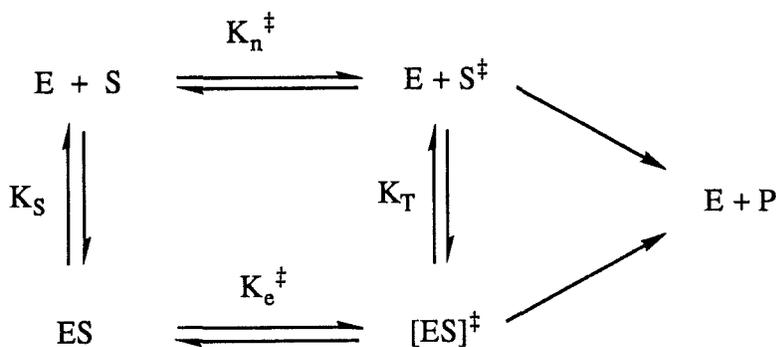
La definición precisa del coeficiente de transmisión κ tal como viene en la expresión 3.1 no es excesivamente importante para entender la teoría, pero cabe destacar que aunque κ puede en general ser muy diferente de la unidad (en algunos casos varios órdenes de magnitud) se acepta que su valor está comprendido en el rango entre 0.1 a 1 para las reacciones en solución a temperatura ordinaria. Se puede asumir que los factores tales como el efecto tunel, correlación electrónica y efectos del solvente están incluidos en la κ ¹. La determinación exacta de dicho factor ha sido objeto de estudios desde su aparición².

La constante K^\ddagger se puede aproximar a $k_B T K^\ddagger / h\nu$. Donde k_B es la constante de Boltzmann, T la temperatura absoluta, h la constante de Planck y K^\ddagger contendría la función de partición rotacional, traslacional y electrónica. Esta aproximación proporciona un valor de $k_B T / h\nu \gg 1$, lo cual se puede aplicar en este caso ya que ν está asociada esencialmente a la vibración de un enlace parcialmente formado; que en general es una característica común a

todos los ETs. La v aparece ahora en el numerador y denominador de la ecuación 3.1, dando lugar a una variación de la ecuación de Eyring:

$$k = \kappa \frac{k_B T}{h} K^\ddagger \quad (3.2)$$

J. L. Kurz⁶ y más tarde y con mayor rigor de detalles Wolfenden^{7,8} y Lienhard^{9,10} mostraron como la TET podía ser aplicada a la catálisis enzimática utilizando el ciclo termodinámico, que corresponde a la descripción cualitativa del enlace en el ET de acuerdo con el postulado de Pauling. El ciclo termodinámico sobre el que nos basamos será el que presentamos en el esquema 3.1, donde la rama inferior representa la reacción catalizada enzimáticamente, y la superior la reacción no catalizada.



Esquema 3.1.

donde E representa el enzima, S el sustrato, y P los productos. El exponente \ddagger denota el ET.

Comparando las constantes de velocidad de primer orden para una reacción sencilla catalizada enzimáticamente k_e , con la misma reacción en ausencia de enzima k_n , y utilizando la ecuación 3.1 llegaríamos a la ecuación 3.3:

$$\frac{k_e}{k_n} = \frac{\kappa_e v_e K_e^\ddagger}{\kappa_n v_n K_n^\ddagger} \quad (3.3)$$

Los subíndices e y n refieren a la reacción catalizada y no catalizada respectivamente. Nótese que para este caso tan sencillo k_e es el mismo que el parámetro convencional k_{cat} . Luego, utilizando el ciclo termodinámico, se puede igualar la reacción de constantes de formación del ET a partir de la ecuación 3.3 a la reacción de constantes de disociación para el sustrato, K_S , y para el ET, K_T , generando la ecuación 3.4:

$$\frac{k_e}{k_n} = \frac{\kappa_e v_e K_S}{\kappa_n v_n K_T} \quad (3.4)$$

Las magnitudes de k_e/k_n son extraordinariamente grandes para enzimas normales; relaciones del orden de 10^{10} a 10^{14} suelen ser comunes¹¹ y aunque difíciles de medir, en algunos casos incluso superan estos valores^{12,13}. Centrándonos en el miembro de la derecha de la ecuación (3.4), aún no siendo extraño que el factor $\kappa_e v_e / \kappa_n v_n$ difiera de la unidad por varios órdenes de magnitud, de forma aproximada podemos escribir:

$$\frac{k_e}{k_n} \approx \frac{K_S}{K_T} \quad (3.5)$$

Éste es el resultado importante de la presente teoría. Si reconocemos que el enzima, E, debe enlazarse mucho mas fuertemente al sustrato con la estructura del ET que al sustrato en el estado fundamental, S, (es decir que el sustrato que se enlaza es el complejo de Michaelis) lo hará por un factor similar a la relación que existe entre las constantes de velocidad de la reacción catalizada enzimáticamente y sin catalizar.

La hipótesis que de estas conclusiones podemos extraer es que la estructura que caracteriza a una reacción catalizada enzimáticamente es la del ET. Las estructuras de reactivos y productos, consideradas sin ningún tipo de restricción, no serán verdaderamente las que conecten con el ET, debido a que el

centro activo del enzima y todos los grupos funcionales que lo rodean habrán forzado las estructuras de los reactivos. Sin estas intervenciones y modificaciones previas la reacción no puede tener lugar en el enzima: el sistema estará impedido.

III. 2. APROXIMACIÓN MECANO-CUÁNTICA DEL ESTADO DE TRANSICIÓN

El mecanismo de una reacción química está descrito por todos los pasos elementales que cubren la transformación desde reactivos hasta productos. Cualquier información de este mecanismo debe incluir la secuencia de estos pasos, así como la naturaleza de cada uno de ellos. Ello supone, en principio, conocer las geometrías y energías de cada uno de los puntos del camino de reacción que desde reactivos, vía el ET, nos lleva a los productos. No obstante y teniendo en cuenta el postulado de Pauling, la caracterización del mecanismo de reacción de un enzima pasa por una discusión completa de la composición, estereoquímica, estructura electrónica y energía relativa del ET.

Uno de los más importantes logros de la química teórica consiste precisamente en la determinación de estos parámetros. Cabe destacar que éstos, salvo en raras excepciones, no pueden ser determinados por métodos experimentales. Mientras reactivos, productos e incluso productos intermedios representan estructuras estables susceptibles de ser estudiadas por técnicas de laboratorio, el estado de transición, que supone curiosamente "la huella digital" de la reacción, es una estructura lejos de la estabilidad. Ello supone un tiempo de vida medio extremadamente corto y, por tanto, la dificultad de ser caracterizado con medidas experimentales. A pesar de todo, en los últimos años la revolución en las técnicas de haces moleculares, quimiluminiscencia, y espectroscopía láser de alta resolución está haciendo posible el estudio del comportamiento microscópico de las reacciones químicas. El avance en la

obtención de pulsos de luz láser cada vez más cortos ha permitido alcanzar la escala de tiempos que caracteriza la vida media de los estados de transición (10^{-14} - 10^{-15} s)^{14,15}, y ha hecho posible obtener medidas experimentales de estas estructuras para algunas reacciones sencillas. En cualquier caso las consecuencias que de ellas se extraen se ajustan adecuadamente a cálculos teóricos previos^{14,16,17}.

Los estudios cinéticos de efectos isotópicos (que veremos en la sección III.4 y IV.5), proporcionan información que permiten únicamente conclusiones indirectas sobre el camino de reacción desde el momento en que están basados en la comparación del estado inicial y del estado final de cada paso elemental de la reacción. Esta situación nos recuerda una "caja negra": el acceso directo a la información es imposible, sólo puede ser deducida a través de estudios comparativos entre la entrada y la salida de datos.

La química cuántica, y en concreto la química computacional, ha abierto nuevas posibilidades de estudio de las reacciones químicas. Los cálculos teóricos permiten investigar los estados de transición, las estructuras lejos del equilibrio, lo que supone el mecanismo intrínseco de la reacción. Por supuesto, no nos quedaremos en el simple conocimiento de este mecanismo. Es necesario conocer las causas que influyen en la cinética para establecer los conceptos y los modelos teóricos que gobiernan la reacción. El espíritu consiste en hacer posible un control del proceso químico, fundamentalmente de reacciones catalizadas enzimáticamente. Y es precisamente la química computacional la que juega un papel pionero en el desarrollo de estas aproximaciones generales al conocimiento de los mecanismos de reacción.

Con el objeto de describir la forma general de los cambios estructurales que tienen lugar en un sistema reactivo es necesario resolver la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo. Ahora bien, incluso para sistemas de muy pocos átomos, el problema de obtener soluciones a esta ecuación es extraordinariamente complicado. Una aproximación suficientemente rigurosa que se puede emplear para describir la dinámica de una reacción es el cálculo de la superficie de energía potencial y las trayectorias de las partículas que

interaccionan sobre ésta. En esta aproximación el problema se divide en dos partes:

- 1) Los cálculos mecanocuánticos de la energía potencial de un sistema de partículas estático que interaccionan, y
- 2) La solución de las ecuaciones clásicas del movimiento utilizando el potencial obtenido en la descripción del sistema.

III. 3. SUPERFICIES DE ENERGÍA POTENCIAL

III.3. 1. CONSIDERACIONES GENERALES

El tratamiento teórico de una reacción química mediante los procedimientos de la química cuántica exige como requisito el conocimiento detallado de la superficie de energía potencial (SEP) ya que, como veremos en este capítulo, la construcción de ésta para una reacción química proporciona la información necesaria para la caracterización completa de su mecanismo molecular.

El cálculo de las SEP es un problema mecanocuántico y requiere resolver la ecuación de Schrödinger para cada una de las configuraciones posibles del sistema. Una partícula (un electrón) moviéndose en una región del espacio bajo la influencia de un potencial (el núcleo), quedaría descrita por una función de onda $\Psi(r,t)$ que satisface la ecuación de Schrödinger dependiente del tiempo:

$$\left\{ -\frac{\hbar^2}{2m} \left(\frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + \frac{\partial^2}{\partial z^2} \right) + V \right\} \Psi(r,t) = i\hbar \frac{\partial \Psi(r,t)}{\partial t} \quad (3.6)$$

donde m sería la masa del electrón y r el vector posición respecto al núcleo en un instante t . Esta ecuación debe ser resuelta para la función de onda $\Psi(r,t)$ sujeta a las condiciones de contorno. La ecuación (3.6) suele ser escrita en términos del operador gradiente ∇ , que en coordenadas cartesianas toma la expresión:

$$\nabla \equiv \frac{\partial}{\partial x} i + \frac{\partial}{\partial y} j + \frac{\partial}{\partial z} k \quad (3.7)$$

y elevándolo al cuadrado:

$$\nabla \cdot \nabla \equiv \frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + \frac{\partial^2}{\partial z^2} \quad (3.8)$$

En definitiva, la ecuación (3.6) quedaría como:

$$\left\{ -\frac{\hbar^2}{2m} \nabla^2 + V \right\} \psi(r,t) = i\hbar \frac{\partial \psi(r,t)}{\partial t} \quad (3.9)$$

Para el caso en que el potencial es independiente del tiempo se puede hacer una separación de variables, la parte espacial de la parte dependiente del tiempo, $\Psi(r,t) = \Psi(r)\Psi(t)$, y la ecuación (3.9) la desglosaríamos en dos ecuaciones:

$$\left\{ -\frac{\hbar^2}{2m} \nabla^2 + V \right\} \psi(r) = E\psi(r) \quad (3.10)$$

$$\psi(t) = \exp(-iEt / \hbar) \quad (3.11)$$

La ecuación (3.10) se conoce como la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo, mientras que la (3.11) representa la dependencia del tiempo. Ésta se utiliza para el estudio de transiciones espectroscópicas, la respuesta de una molécula a un campo eléctrico oscilante de alta frecuencia o para estudios de scattering. Nosotros emplearemos la parte independiente del tiempo (3.10), que se puede escribir como:

$$\hat{H}\psi(r) = E\psi(r) \quad (3.12)$$

donde \hat{H} es el operador Hamiltoniano.

En 1927 Born y Oppenheimer¹⁸ postularon que el movimiento de los núcleos y el de los electrones, basándose en la diferencia de sus masas, podían ser considerados separadamente. Ésta resultó ser una aproximación que salvo en algunos fenómenos (efecto Renner)¹⁹ se cumple muy bien para un alto porcentaje de fenómenos químicos. Bajo esta consideración, la ecuación (3.12) se escribe:

$$H_e(r, R) \psi_e(r, R) = E(R) \psi_e(r, R) \quad (3.13)$$

donde H_e es el operador hamiltoniano para los electrones del sistema con la configuración nuclear fija, es decir H_e no contiene ningún término correspondiente a la energía cinética del movimiento de los núcleos:

$$H_e(r, R) \psi_e(r, R) = T(r) + V(r, R) \quad (3.14)$$

En la ecuación (3.14), $T(r)$ y $V(r, R)$ son los operadores de energía cinética electrónica y energía potencial total, respectivamente, y r y R representan colectivamente las coordenadas de todos los electrones y núcleos. La función de onda $\Psi_e(r, R)$ depende de las coordenadas de los electrones y de los núcleos, mientras la energía electrónica $E(R)$ depende solamente de la configuración nuclear.

La ecuación (3.14) conlleva que el sistema se comporte adiabáticamente; el estado electrónico cuántico del sistema permanece invariante. Los métodos de resolución son aproximados, bien mediante el uso del teorema variacional o la teoría de perturbaciones que veremos en la sección III.6. Una vez se ha encontrado el mejor valor propio $E(R)$ para $H_e(r, R)$ se repite el proceso cambiando la configuración nuclear y así se construye un mapa de energías potenciales $V(R)$ con todo el conjunto de valores propios. La expresión para $V(R)$ viene dada por la ecuación (3.15):

$$V(R) = E(R) + V_{nn}(R) \quad (3.15)$$

donde $E(R)$ ya ha sido definido y $V_{nn}(R)$ es la energía potencial debida a las repulsiones nucleares. Al mapa completo se le llama SEP y es por tanto una superficie que gobierna el movimiento de los núcleos. De esta forma, la SEP es una representación de la energía potencial para los movimientos de los núcleos, donde cada punto representa una posición relativa de todos ellos. Variando ésta conseguiremos trasladarnos desde los reactivos hasta productos e identificar los caminos de reacción. El trazado de la superficie de energía potencial completa para un proceso o reacción sería, en principio, un proceso muy complejo dado

que la energía para cada punto es una función de la posición de todos los núcleos; de todas las coordenadas internas del sistema (3N-6).

Para un sistema de tres átomos el número de grados de libertad es igual a 3. Si añadimos la energía se convierte en una hipersuperficie en cuatro dimensiones. Su representación ya no es posible y por tanto su percepción visual se confina a la inspección de las secciones a valores fijos de una de las coordenadas, o depende de una relación arbitraria entre dos coordenadas. Más aún, incluso para una reacción sencilla que implicara un sistema de 12 grados de libertad, 6 átomos, si la SEP fuera calculada únicamente con 10 valores para cada variable, el número total de configuraciones geométricas sería 10^{12} . Suponiendo que tuviéramos un supercomputador capaz de realizar cada cálculo en un segundo, la superficie completa requeriría un total de 10^{12} segundos que suponen 10^5 años. Evidentemente tanto por la dificultad de la representación gráfica, como por nuestra limitada longevidad, este procedimiento resulta inviable. Afortunadamente, en nuestro afán por analizar el mecanismo y la cinética de una reacción, ambos problemas pueden ser evitados como veremos a continuación.

De este modo, la SEP de un sistema viene dada por la función que describe la energía en función de las coordenadas q de cada uno de los núcleos que lo componen. En general, para un sistema de N núcleos atómicos, el número de coordenadas independientes o grados de libertad es $3N-6$ ($3N-5$ para sistemas lineales):

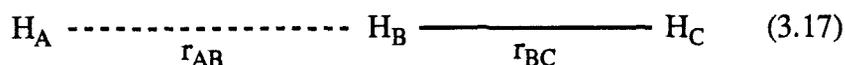
$$E(q) = E(q_1, q_2, q_3, \dots, q_{3N-6}) \quad (3.16)$$

El concepto de SEP crea la base de todos los modelos teóricos modernos que describen las propiedades de moléculas individuales o de las reacciones entre ellas, que dependen de los parámetros geométricos del sistema. Propiedades cinéticas, termodinámicas o espectroscópicas están intrínsecamente definidas en estas superficies. Con el objeto de representar la SEP de una reacción química a partir de la ecuación (3.16), deberemos ser capaces de calcular, utilizando los métodos adecuados (ver sección III.6), la energía del sistema para todas y cada una de las combinaciones del conjunto de

coordenadas q_i que definen el sistema desde reactivos hasta productos pasando por el ET. Es por este motivo que en la energía del sistema no consideramos la energía cinética de los núcleos.

III.3. 2. COORDENADA DE REACCIÓN

En los inicios de los años 30, Eyring y Polanyi desarrollaron una relación entre mecanismos de reacción y superficies de energía potencial²⁰. Estudiaron la reacción de intercambio $H + H_2$ (ortho) $\rightarrow H_2$ (para) + H. Aplicando los conceptos teóricos desarrollados por London²¹ calcularon la SEP para este sistema triatómico (ecuación 3.17) como una función de dos coordenadas internas r_{AB} y r_{BC} , donde la primera es la distancia entre los núcleos H_A-H_B y r_{BC} la distancia H_B-H_C .



La figura 3.1 ilustra los resultados de estos cálculos considerando que el ángulo $H_A-H_B-H_C$ permanece constante e igual a 180° . La figura representa un diagrama de contorno o de curvas equipotenciales similar a los obtenidos en cartografía para superficies geográficas.

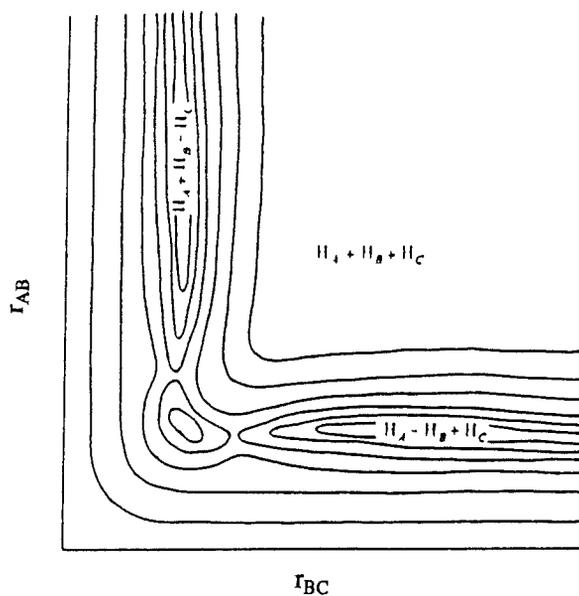


Figura 3.1.- Superficie de Energía Potencial bidimensional para la reacción $H_A + H_B-H_C \rightarrow H_A-HB + H_C$. r_{AB} = distancia H_A-HB , (Å) r_{BC} = distancia H_B-HC (Å).

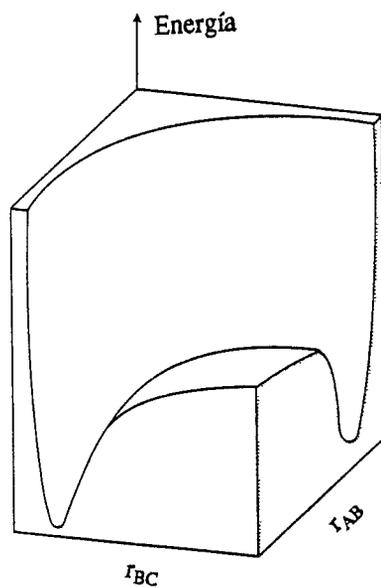


Figura 3.2.- Superficie de Energía Potencial tridimensional para la reacción $H_A + H_B-H_C \rightarrow H_A-HB + H_C$. r_{AB} = distancia H_A-HB , (Å) r_{BC} = distancia H_B-HC (Å) y E = Energía relativa (kcal/mol).

En la figura 3.1, el valle superior de la superficie representa el valle de los reactivos ($H_A + H_B - H_C$) y el inferior el de productos ($H_A - H_B + H_C$). Se obtiene así el diagrama típico para una reacción en un etapa (por ejemplo una reacción de sustitución nucleófila de segundo orden, S_N2). Este diagrama permite una representación sencilla en dos dimensiones de una superficie de energía potencial tridimensional. Por supuesto, este tipo de diagramas o sus correspondientes en tres dimensiones, figura 3.2, son realmente abstracciones de hipersuperficies mucho más complejas.

En este sencillo sistema, no olvidemos que el ángulo $H_A-H_B-H_C$ no viene representado. La representación de sistemas más complejos (más de tres átomos) lógicamente requerirá "olvidar" un mayor número de coordenadas internas. Se podría tal vez imaginar una descripción completa por una superficie n -dimensional, pero sería imposible dibujarla. Sin embargo, para cualquier par de valores de las coordenadas especificadas en el mapa (para cada punto) habrá un conjunto de valores del resto de coordenadas omitidas las cuales son tales que darán la menor energía posible para el sistema. Se asume que la energía dibujada en el mapa de contorno o en el tridimensional ha sido calculada utilizando este conjunto de coordenadas para los que la energía es mínima.

En general, la coordenada de reacción se toma como un parámetro arbitrario asociado a la evolución del sistema químico desde reactivos a productos y que mide el progreso de la reacción. Por tanto, dentro de un contexto químico, el concepto de coordenada de reacción es intuitivo y cualitativo, y por consiguiente más esquemático que preciso. Sin embargo, en la gran mayoría de libros de química física o química orgánica se representa el curso de una reacción química mediante un diagrama de energía potencial donde el eje de ordenadas corresponde a la energía y el de abscisas a la coordenada de reacción, tal como se muestra en la figura 3.3.

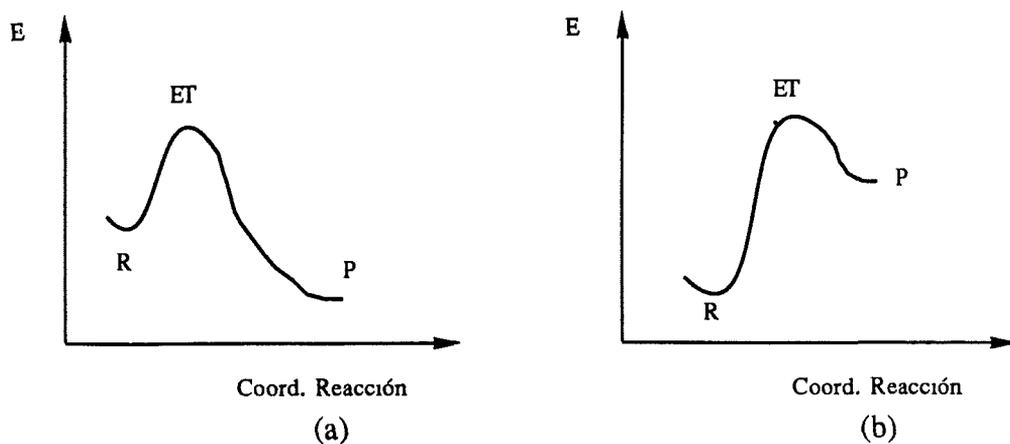
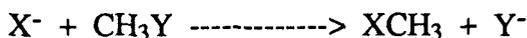


Figura 3.3.- Perfil energético para una reacción exotérmica (a) y para una reacción endotérmica (b).

El perfil energético de la figura 3.3 correspondería a un corte imaginario de la SEP tridimensional, que contendría los puntos singulares; reactivos (R), ET y productos (P). La elección de la coordenada de reacción es esencial para obtener un camino de reacción continuo y que pase por el ET. Lógicamente, el aspecto concreto de este perfil dependerá de la elección de la coordenada de reacción pero la energía relativa del ET permanece invariable.

Razonamientos análogos se pueden extraer del análisis de una SEP completa. Así, para el caso de la superficie de la figura 3.1, se puede observar cómo los reactivos y los productos se pueden conectar vía un camino que hemos llamado de reacción, camino de mínima energía, que pasa a través de un punto de silla de la superficie. (El mínimo relativo o pequeño valle que aparece en esta región es un artefacto de la función particular empleada por Eyring y Polanyi, que desaparece para cálculos mecanocuánticos más sofisticados). Sin embargo, tal camino no es único debido a que el aspecto de la superficie no es invariante. Depende de la particular elección de las coordenadas que describen la geometría del sistema en la representación de la superficie, y se puede emplear más de una combinación de distancias interatómicas, ángulos de enlace o ángulos dihedros para representar el mismo cambio de estructuras

atómicas. Recordemos que la energía de una molécula que posee una geometría determinada (ec. 3.16) depende únicamente de la posición relativa de los núcleos. Si en lugar de considerar el sistema estudiado por Eyring y Polanyi tomamos un proceso similar pero ligeramente más complicado;



podremos justificar nuestra afirmación anterior. En este caso, si elegimos las distancias interatómicas r_{C-X} y r_{C-Y} como coordenadas de reacción, la superficie que obtendríamos (figura 3.4.a) sería muy similar a la figura 3.1.. Ahora bien, si representamos el ángulo H-C-X frente a una combinación de distancias $r_C = r_{C-X} - r_{C-Y}$, obtendremos una superficie de aspecto muy diferente (Figura 3.4.b), y el camino de reacción trazado desde reactivos a productos será por tanto distinto.

No obstante, ambas representaciones son igualmente válidas y lo que es más importante, tanto la geometría como la energía de los mínimos y del punto de silla son exactamente iguales. En cualquier caso y tal como propuso por vez primera K. Fukui^{22,23}, apelando a la mecánica clásica es posible definir un camino de reacción independiente del sistema de coordenadas. El movimiento de una partícula en la mecánica clásica sobre una superficie energética dada debe ser el mismo independientemente de como se especifique la geometría. El camino de reacción intrínseco será el camino trazado por una partícula clásica a la que se le permite rodar lentamente desde el punto de silla hacia ambos lados de éste; hacia reactivos y hacia productos. Durante este descenso, tan pronto como la partícula adquiere un incremento de velocidad (o de energía cinética) infinitesimal, se le ralentiza y se le permite de nuevo el movimiento. Considerando que las ecuaciones clásicas del movimiento se pueden definir para cualquier sistema de coordenadas y considerando que proporcionan la misma trayectoria, esta definición de la coordenada intrínseca de reacción será única.

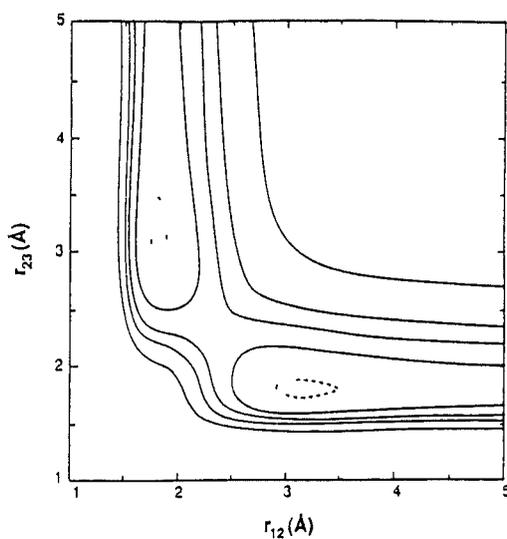


Figura 3.4.a.- Superficie de Energía Potencial bidimensional para la reacción: $X^- + CH_3Y \rightarrow XCH_3 + Y^-$. r_{12} = distancia C-X (Å) y r_{23} = distancia C-Y (Å).

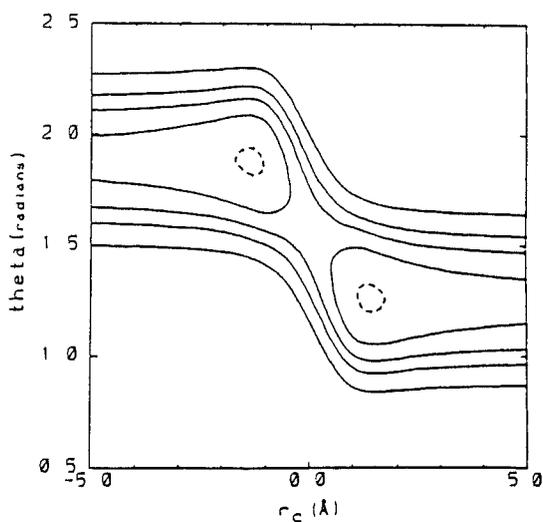


Figura 3.4.b.- Superficie de Energía Potencial bidimensional para la reacción: $X^- + CH_3Y \rightarrow XCH_3 + Y^-$. Theta = ángulo H-C-X (radianes) y $r_C = r_{C-X} - r_{C-Y}$ (Å).

Las ecuaciones del movimiento más sencillas en mecánica clásica son las que utilizan las coordenadas cartesianas ponderadas en peso, ya que la masa efectiva para cada una de ellas es la misma. Únicamente en este sistema de coordenadas el camino de reacción de mayor pendiente coincide con el camino intrínseco de reacción (IRC).

Aunque el IRC comprende características geométricas o matemáticas de superficies energéticas, se debe tener un cuidado extremo para no atribuirle excesivo significado químico o físico. Las moléculas tienen una energía cinética algo mayor que la infinitesimal, y no seguirán exactamente el IRC. Por otra parte, aunque el uso de coordenadas de reacción nos permite visualizar caminos de reacción sobre la SEP, lo verdaderamente invariante en una reacción química son los puntos estacionarios²⁴ (reactivos, estados de transición y productos). En cualquier caso, el IRC nos proporciona una descripción del progreso de una reacción; nos permite conectar inequívocamente un punto de silla con los reactivos y productos asociados a él, y juega un papel fundamental en los cálculos de las constantes de reacción basado en la teoría variacional del estado de transición²⁵ y en el hamiltoniano del camino de reacción²⁶.

III. 3. 3. ESTADOS ESTACIONARIOS

Como ya hemos anticipado, la SEP es una función que representa los cambios en energía que tienen lugar cuando el sistema molecular se deforma. Por muy compleja que aquélla pueda llegar a ser, el problema de su representación gráfica ya ha sido superado. No obstante, el análisis completo de la SEP se puede convertir en un trabajo muy laborioso para sistemas más o menos complejos. Y dado que no es imprescindible el conocimiento de toda la superficie, será suficiente dar preferencia a la información de ciertas regiones. Concretamente aquéllas que correspondan a las regiones de mínimos de energía y estados de transición, ciertos caminos de interés químico, y en general la

búsqueda de lo que se conoce como puntos estacionarios, puntos críticos o puntos singulares.

La estructura de una molécula viene definida por el número y tipo de átomos, y por las relaciones geométricas entre ellos. Cuando una molécula está en un estado relajado, o lo que es lo mismo presenta una estructura de equilibrio, las distancias y los ángulos de enlace no están distorsionados respecto a su posición estandar o de mínima energía. Esta geometría corresponde a un mínimo en la SEP, es decir, el fondo de un valle en una superficie en tres dimensiones. Desde este punto el movimiento en cualquier dirección nos lleva a estructuras de energía superior.

Una SEP generalmente posee más de un mínimo relativo, cada uno representa una estructura en equilibrio que puede referirse a diferentes isómeros conformacionales, diferentes isómeros estructurales, o moléculas completamente diferentes. Estas serán reactivos, productos o intermedios.

En la comparación con el lenguaje cartográfico, diríamos que los valles que contienen estructuras de equilibrio están separados entre ellos por picos, crestas o cordilleras. Un movimiento en cualquier dirección desde un pico nos conducirá a un descenso de energía. Consecuentemente, un pico es un máximo local de energía que no tiene interés químico, a no ser por su sentido negativo. Si tenemos una cordillera entre dos valles siempre será posible encontrar un camino de mínima energía que conecte ambos mínimos. Este camino, como ya habíamos adelantado, es el camino de mínima energía, y en él habrá un punto que será la cota máxima; el punto de silla o ET. Desplazamientos desde éste en cualquier dirección excepto en una, supondrán valores superiores de energía. La única dirección cuyo desplazamiento supone una disminución de energía es la del vector de transición. Este punto será por tanto un mínimo para las $n-1$ direcciones y un máximo en la dirección del camino de reacción.

Matemáticamente, los puntos críticos de una función dada $f(q)$ son aquellos puntos del espacio cuyos valores de la primera derivada de la función respecto a cualquier variable q_j son iguales a cero. En cualquier punto crítico de una SEP descrita por las variables, $q_1, q_2, q_3, \dots, q_{3N-6}$, la primera derivada de la energía E respecto a todas las coordenadas (el gradiente) es igual a cero:

$$\overline{\text{grad}} E \equiv \left(\frac{\partial E}{\partial q_1}, \frac{\partial E}{\partial q_2}, \frac{\partial E}{\partial q_3}, \dots, \frac{\partial E}{\partial q_{3N-6}} \right) = (0, 0, 0, \dots, 0) \equiv 0 \quad (3.18)$$

A fin de caracterizar completamente la naturaleza de estos puntos críticos y establecer el papel que juegan en la SEP del sistema, se necesita conocer la curvatura de la superficie. Con este propósito, las segundas derivadas de la energía deben ser calculadas con respecto a todas las coordenadas internas. En su forma general el conjunto de las segundas derivadas se puede escribir en notación matricial constituyendo la matriz H conocida como la Hesiana o matriz de las constantes de fuerza:

$$H = \begin{pmatrix} \frac{\partial^2 E}{\partial q_1^2} & \frac{\partial^2 E}{\partial q_1 \partial q_2} & \dots & \frac{\partial^2 E}{\partial q_1 \partial q_{3N-6}} \\ \frac{\partial^2 E}{\partial q_2 \partial q_1} & \frac{\partial^2 E}{\partial q_2^2} & \dots & \frac{\partial^2 E}{\partial q_2 \partial q_{3N-6}} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ \frac{\partial^2 E}{\partial q_{3N-6} \partial q_1} & \frac{\partial^2 E}{\partial q_{3N-6} \partial q_2} & \dots & \frac{\partial^2 E}{\partial q_{3N-6}^2} \end{pmatrix} \quad (3.19)$$

Diagonalizando la matriz H obtendremos las diferentes combinaciones posibles de los valores propios; esta combinación es entonces utilizada para caracterizar los puntos críticos²⁷.

Los puntos críticos de la SEP para los cuales la matriz de constantes de fuerza tiene al menos un valor propio igual a cero se conoce como punto crítico degenerado. El grado de degeneración de éste se determina por el número de ceros. Está asumido de forma general que la degeneración no es de gran importancia en el análisis del mecanismo de reacción²⁸ por lo que únicamente consideraremos aquellos puntos críticos no degenerados. Aquellos en los que la diagonal de su matriz H no tienen ningún valor propio igual a cero.

El punto de la SEP en el que todos los valores propios son positivos corresponde a un mínimo. Dado que los valores propios equivalen a las constantes de fuerza de las vibraciones normales del sistema, el hecho de que

todas sean positivas supone que cualquier movimiento desde esta región de la SEP nos llevará a un aumento de la energía del sistema. Los mínimos se corresponderían con estructuras estables; reactivos, productos o intermedios.

En aquellos puntos críticos en los que la matriz H tiene al menos un valor propio negativo, su estructura se conocerá como punto de silla de orden N , donde N es el número de valores propios negativos. Cuando $N=1$, estaremos en un punto de silla de primer orden y caracteriza estructuralmente un estado de transición de la reacción. El único valor negativo de las constantes de fuerza corresponde a la frecuencia imaginaria de la vibración normal del sistema. Su vector, referido como vector de transición^{29,30}, determina la dirección y la simetría del camino de reacción en el punto de máxima energía del paso a través de la región cuadrática del ET.

Únicamente aquellas geometrías cuyas configuraciones atómicas pertenecen a las regiones de mínimos en la SEP corresponden a formas moleculares estables. Es decir, tales especies son en principio las únicas susceptibles de ser caracterizadas experimentalmente (la profundidad del valle de un mínimo será siempre tal que contendrá al menos un nivel vibracional). Así, un análisis teórico de las transformaciones químicas debería empezar por la localización de las estructuras de los compuestos involucrados en el mínimo perteneciente a la reacción cuya SEP pretendemos dibujar. Para este propósito es necesario verificar la validez de la ecuación 3.18 y que la matriz de las constantes de fuerza (ecuación 3.19) tenga todos los valores propios positivos.

Existen muy buenos algoritmos para optimizar la geometría molecular de mínimos de energía³¹⁻³⁴, algunos de ellos basados únicamente en valores de la energía. Otros más sofisticados utilizan los gradientes de energía. (Los métodos quimicuánticos que los emplean los especificaremos en la sección III.6.). El procedimiento incluye el cálculo del conjunto completo de las constantes de fuerza del sistema y el cálculo de las frecuencias de vibración moleculares asociadas a estas constantes. El conocimiento de las frecuencias normales de vibración permite una evaluación estricta de las energías relativas de varias estructuras, las cuales surgen en el curso de la reacción química. Es decir, la

contribución de sus vibraciones a la energía en el nivel cero, $\sum(1/2h\nu_j)$, las cuales deben ser incluidas en la energía total de cada estructura.

El ET es aquella geometría nuclear que separa los reactivos de los productos en una reacción química. De acuerdo con la TET, la constante de velocidad es independiente del camino tomado por los reactivos para alcanzar el estado de transición. Asimismo, considerando que las reacciones que tienen lugar en los enzimas vienen caracterizadas por la naturaleza del centro activo (estructura y propiedades químicas) y éste, siguiendo el postulado de Pauling (ver sección III.1), es complementario al ET de la reacción que cataliza, podemos fácilmente intuir su importancia. Por todo ello, dedicaremos una sección especial a este punto crítico de la SEP.

III. 3. 4. MECANISMOS DE REACCIÓN

Hemos tratado de establecer los conceptos generales de las características de una SEP. Su naturaleza particular en una reacción concreta viene determinada por factores que afectan a la energía relativa del ET respecto de reactivos y productos, y no debemos dejar de considerar que en catálisis enzimática el mecanismo de una reacción viene caracterizado por la estructura y energía de estos particulares estados estacionarios. Así, estos factores específicos se pueden agrupar en tres clases:

- 1.- Los estiramientos y acortamientos de los enlaces que se forman y/o rompen durante la reacción (incluyendo posibles compensaciones parciales de la energía necesaria para romperlos con energías desprendidas por los enlaces que se forman).
- 2.- El hecho de que una reacción sea exotérmica o endotérmica. Nos referimos al postulado de Hammond³⁵ el cual supone que las reacciones exotérmicas tienden a tener energías de activación (energía

relativa del estado de transición respecto a reactivos) menores que las endotérmicas. Dicho en otras palabras, la estructura del ET en las primeras se parece más a la estructura de los reactivos, mientras que en las endotérmicas se asemeja más a productos.

- 3.- Los efectos específicos asociados a fases orbitales, o simetrías orbitales, que surgen fundamentalmente de restricciones geométricas en la aproximación de las especies reactivas. Esto puede controlar el curso estereoquímico de una reacción e incluso prohibir algunas reacciones cuando la barrera energética se hace excesivamente alta³⁶⁻³⁹.

Las reglas de Woodward y Hoffmann³⁹ establecen un camino de reacción modelo entre reactivos y productos considerando los orbitales moleculares ocupados y los no ocupados que intervienen en la reacción (los más importantes son los orbitales frontera: el OM ocupado de mayor energía, HOMO, y el desocupado de menor energía, LUMO). Las consideraciones están limitadas a aquellos átomos afectados por cambios de enlaces durante el curso de la reacción. Las reglas se pueden concretar en: (a) los pares enlazantes de orbitales deben mantener un fuerte solapamiento durante la reacción, (b) cuando orbitales enlazantes y no enlazantes están deslocalizados sobre la misma región, tenderán a entrar ortogonalmente en el ET y por tanto exhibirán características de cambios de fase opuestas, y (c) las relaciones de fase de los orbitales cambian continuamente durante el curso de la reacción.

Al margen de estos factores, en un sentido más cuantitativo, una reacción podrá ser concertada o por etapas. La figura 3.5 ilustra ambos casos. En general, se considera que una reacción es concertada cuando no existen mínimos de energía potencial entre el valle de reactivos y el de productos, mientras que en las reacciones por etapas encontramos algún mínimo relativo, o intermediato, entre las estructuras moleculares iniciales y finales. En la figura 3.5, éstos se situarían en las esquinas superior izquierda e inferior derecha;

mínimos relativos I y II respectivamente. Por supuesto, cada una de estas etapas estará caracterizada por un estado de transición.

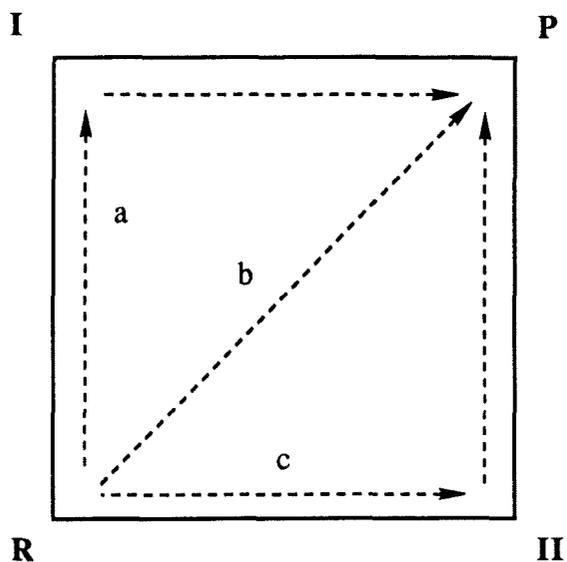
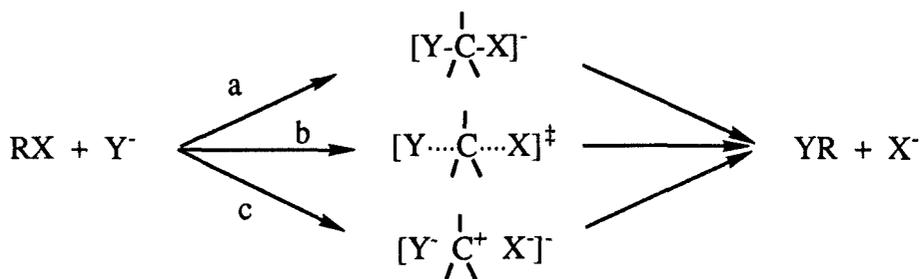


Figura 3. 5. Representación esquemática de una SEP en la que se traza un camino de reacción concertado (*b*) y por etapas (*a* y *c*). I y II representan dos mínimos relativos.

El esquema 3.2 ilustra de igual forma los tres caminos posibles para una reacción de sustitución nucleófila (S_N)



Esquema 3.2.

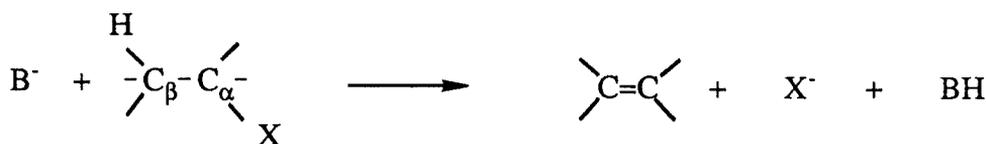
Los caminos *a* y *c* implican poblaciones importantes de intermedios. El camino *c* se conoce tradicionalmente como mecanismo de sustitución nucleófila de primer orden; S_N1 (en la figura 3.5 $\Pi \equiv [Y^- R^+ X^-]$), mientras que *b* sería una sustitución nucleófila de segundo orden (S_N2). El camino *a*, (triángulo superior de la figura 3.5) es mucho menos frecuente ya que supone la formación de átomos de carbono pentavalente. No obstante, estos tipos de intermedios se dan en algunas reacciones de desplazamiento nucleófilo en sistemas bencílicos⁴⁰.

Cuando la reacción es concertada (camino *b*), el estado de transición está localizado en la zona centro de la figura 3.5 (reacción tradicionalmente conocida como S_N2), los enlaces que se forman y los que se rompen lo hacen prácticamente de forma sincrónica. Si el enlace que se forma precede al que se rompe nos estaremos desplazando hacia la esquina superior izquierda y significa, en el límite, la existencia de un intermedio pentavalente (camino *a*). Análogamente, si el orden es inverso nos estaremos desplazando desde el centro hacia la esquina inferior derecha (siempre hablando sobre la figura 3.5). En este caso el límite supondría un intermedio cargado positivamente (camino *c*). Experimentalmente es posible alterar las condiciones para forzar estos desplazamientos.

Teóricamente, se nos presenta el problema de la elección de la coordenada de reacción para cada uno de los tres caminos. Para describir el camino *a*, en primer lugar será la distancia R-Y la válida como parámetro de control que nos lleve de R a I. A partir de ahí, será la distancia R-X la coordenada que describa correctamente el proceso. Una situación inversa se produce para describir el camino *c*. En ambos casos no se puede hablar de un único parámetro de control. Para el camino *b*, ninguna de las dos distancias se puede tomar como preferente frente a la otra por lo que será necesario combinar ambas ya que tomando solamente una, llegará un momento que se produzca un salto brusco de la energía. Las combinaciones a las que nos referimos son conocidas como combinación simétrica y antisimétrica. La figura 3.5 quedaría con el aspecto de la figura 3.6.

Realizando un corte de la SEP paralelo al eje de la combinación antisimétrica (ya que sobre la simétrica reactivos y productos coincidirían en el mismo punto) obtendremos los dos posibles perfiles para reacciones concertadas o por etapas. La coordenada de control antisimétrica será pues la coordenada de máxima información para trasladarnos de reactivos a productos.

Reacciones de eliminación también pueden ser representadas por estos ingeniosos diagramas. De forma general podemos estudiar las reacciones que presentamos en el esquema 3.3:



Esquema 3.3.

Los posibles mecanismos corresponderían a las conocidas E1, E2 y E1cB. La representación esquemática de su SEP podemos hacerla mediante diagramas similares a la figura 3.4. Sin embargo, en este caso aparecen tres variables que pueden controlar la reacción, correspondientes a las tres distancias de enlace B-H, H-C_β y C_α-X. Las dos primeras corresponden a la transferencia protónica desde C_β a B. Dado que la formación del enlace B-H supone la ruptura del H-C_β, se puede representar esta etapa por una combinación antisimétrica de ambas, de modo que su representación sería similar a la obtenida para sustituciones nucleófilas.

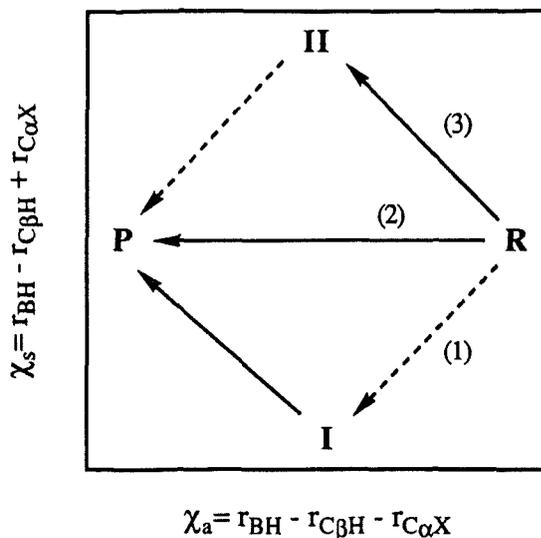


Figura 3.8. Diagrama de reacciones de eliminación por etapas (E1 o E1cB) y concertada (E2), en el que se representa la combinación simétrica (χ_s) respecto la antisimétrica (χ_a).

Las líneas a trazos discontinuos indican que la etapa puede ser a su vez concertada o por etapas ya que depende de la combinación antisimétrica de las distancias B-H y H-C β , y la formación del primer enlace y la ruptura del segundo pueden ser de ambos tipos. El camino (2) es totalmente concertado, e intervienen simultáneamente los tres enlaces. En el camino (3) se rompe en primer lugar el enlace C α -X, dando lugar al intermedio II, y a partir de éste nuevamente el proceso hasta productos podrá llevarse a cabo por etapas o de forma concertada.

En este tipo de reacciones una posible coordenada que nos llevaría desde reactivos a productos será algo más complicada; $\chi = r_{BH} - r_{C\beta H} - r_{C\alpha H}$. De las reacciones estudiadas podemos deducir que el número de enlaces que aparecen en la combinación que define χ está relacionado con el número posible de estados de transición e intermedios que aparecen en el proceso total. De esta forma, como en las reacciones de sustitución son dos los enlaces que aparecen

en la coordenada de máxima información, podremos encontrar dos ET y un intermediario (reacciones por etapas), o solo un ET (reacciones concertadas). En las reacciones de eliminación, el número de enlaces es de tres, por lo que tendremos entre uno y tres ET, y entre cero y dos mínimos relativos respectivamente.

Una vez hemos visto cómo los diferentes tipos de mecanismos de reacción se pueden estudiar mediante diagramas en los que aparecen los reactivos, estados de transición, intermediarios y productos, podemos analizar, por medio de diagramas similares, los efectos del cambio de sustituyentes sobre el ET. Existen varios modelos que intentan explicar la relación entre la estructura del ET y los cambios energéticos en los reactivos, intermedios y productos. El que más éxito ha tenido durante los últimos años es el elaborado por More O'Ferrall⁴¹ basado en un trabajo previo de Thornton⁴², y que posteriormente ha ampliado Jencks^{43,44}. Las tres reglas en las que nos basamos, derivadas de las de Thornton, son las siguientes:

- 1) Efecto paralelo o efecto Hammond: la estabilización a lo largo de la coordenada de reacción de alguna especie situada en un vértice, bien los productos o los reactivos, provoca el desplazamiento del ET en sentido contrario al vértice estabilizado.
- 2) Efecto perpendicular o efecto anti Hammond: las especies estabilizadas se encuentran en alguno de los vértices perpendiculares a la coordenada de reacción, el efecto es el de aproximar el ET al vértice estabilizado.
- 3) La estabilización de varias especies produce un efecto que es la suma de los efectos individuales.

Jencks utilizó parámetros determinados experimentalmente (efecto isotópico del disolvente, efecto isotópico del grupo saliente, etc...) para estimar las cargas efectivas de los átomos en el ET^{45,46}, y situar el mismo sobre el

diagrama de More O'Ferrall. El eje x podrá tomar valores comprendidos entre 0 y 1, y la diagonal entre 1 y -1 siempre que los parámetros o los efectos isotópicos determinados a partir de datos cinéticos puedan ser normalizados. Éste método, que clasifica los efectos en función de los parámetros de interacción estructura-reactividad^{47,48} no sólo proporcionan una medida cuantitativa de los cambios en los parámetros y en el ET, sino que también define relaciones entre las modificaciones de unos parámetros y las de otros que no siempre son evidentes^{49,50}.

Un aumento en la estabilidad del carbanión (esquina inferior derecha de la figura 3.5), es decir, el decrecimiento de su energía, provocará un efecto anti-Hammond en la estructura del ET, acercándonos al carbanión. Esto ocurre cuando el efecto de aumentar la estabilidad es transmitido al ET desde una dirección perpendicular a la coordenada de reacción y actúa hacia mínimos desde el punto de silla, ocasionando un cambio en su estructura hacia la dirección de estabilidad creciente: efecto perpendicular.

Cuando el aumento en la estabilidad de una especie es transmitido a lo largo de la coordenada de reacción y actúa incrementando la energía relativa del ET, hay un cambio de su estructura hacia las especies que lo provocan: efecto paralelo^{42,51}. Estabilizando suficientemente el ión carbenio (HC^+) o el carbanión (XC^-) podemos hacer decrecer la barrera de formación de ambos hasta el punto en que pueda llegar a ser más baja la barrera de formación del ET de la E2, por lo que el mecanismo concertado E2 pasaría a ser por etapas (E1 ó E1cB). Se puede utilizar este modelo y una SEP apropiada para analizar los efectos de un cambio en el sustrato y las condiciones de una reacción que llevan a la formación del ET. Si los efectos pueden ser expresados en términos de un cambio en la energía de las especies estables, podemos relacionarlo con un cambio en la localización del ET en la SEP. Esto se llevó a cabo de forma muy elegante por More O'Ferrall⁴¹, quien examinó en detalle la relación entre mecanismos E2 y E1cB en derivados orgánicos fluorados.

Reacciones que incluyen una adición reversible de un reactivo nucleófilo a un grupo carbonilo sirven como modelo para un gran número de procesos bioquímicos, y ha sido y son objeto de extensas investigaciones para dilucidar

sus mecanismos. La construcción de diagramas apropiados comparables a la figura 3.5, proporciona un procedimiento sencillo y eficaz para decidir sin ambigüedad si se puede predecir un cambio estructural que depende de cambios en la estabilidad de las especies iónicas. Si así es, utilizando los efectos paralelo y perpendicular se puede predecir la estructura resultante del ET en respuesta a los cambios citados. Jencks ⁴³ realizó este tipo de estudios para un número sustancial de reacciones de adición catalítica ácido base a grupos carbonilo con muy buenos resultados.

III. 4. ESTADO DE TRANSICIÓN

Las características generales de los estados de transición como puntos estacionarios de la SEP ya han sido anticipadas en la sección III.3. En este apartado vamos a estudiar con detalle lo que, según la teoría del estado de transición (TET), viene a ser la caracterización específica del mecanismo molecular de una reacción química, y en particular de una reacción catalizada enzimáticamente.

El punto de menor energía que conecta reactivos y productos en una SEP fue denominado por H. Eyring complejo activado o estado activado⁵². Al mismo tiempo, los ingleses M. G. Evans y M. Polanyi lo definieron como ET⁵³. El término "estado" se justificó por la suposición de equilibrio termodinámico entre éste y los reactivos, como ya se ha explicado en la TET (III.1.). Siguiendo en esta línea, está asumido que los estados activados o de transición de las reacciones químicas determinan las características más importantes del mecanismo y velocidad de la transformación. Ésta es la razón del enorme interés por la determinación de sus estructuras y propiedades, y en general por la topografía de la SEP en estas regiones.

Sin embargo, en la SEP cada punto y naturalmente el ET representa una posición nuclear, una estructura geométrica y por tanto, al punto que une reactivos y productos sería más adecuado llamarle estructura de transición. No obstante, dado que el término estado de transición está mucho más extendido, seguiremos refiriéndonos al ET como el estado o punto de silla de primer orden en el camino de mínima energía de la SEP, y especificaremos "estructura del ET" cuando así lo requiera el contexto. Murrell y Laidler⁵⁴ demostraron un importante teorema: "la curvatura de la SEP en el ET es negativa a lo largo de uno y sólo uno de los principales ejes de curvatura". Si estamos interesados en el mecanismo de una reacción, debemos tomar en consideración las estructuras de las moléculas y la energía que se requiere para distorsionarlas. La determinación de un ET en la SEP de un sistema reactivo nos permite obtener parámetros cinéticos de la reacción. La geometría del ET predetermina la

estereoquímica de la reacción, la curvatura de la SEP en esta región determina la magnitud de los efectos isotópicos (apartado III.4.5.), mientras que la posición del ET en la SEP afecta a la distribución energética en los productos de la transformación química.

Un punto en la SEP de una reacción considerado como ET, de acuerdo con McIver y Komornicki⁵⁵, debe cumplir las siguientes cuatro condiciones:

- 1) Ser un punto estacionario, cumplir la ecuación 3.18
- 2) La matriz de constantes de fuerza o Hesiana (ecuación 3.19) diagonalizada debe tener un solo valor propio negativo (teorema de Murrell-Laidler⁵⁴)
- 3) Debe ser el punto de mayor energía a través del camino que une reactivos y productos.
- 4) Debe ser el punto de menor energía que satisface las tres condiciones anteriores.

Para cualquier reacción debe haber al menos un ET que determine la interconversión entre dos estructuras estables. Cuando la reacción ocurre en más de un paso se debe considerar que habrá un ET para cada una de estas etapas. Si una de ellas es considerablemente más lenta que las otras, la velocidad del proceso completo estará determinada esencialmente por la velocidad de interconversión de las especies moleculares involucradas en esa etapa. Constituirá la etapa controlante y la caracterización del ET para ésta se convertirá en el objetivo primordial en la elucidación del mecanismo de reacción⁵⁶.

Aunque el paso entre dos mínimos se hace siempre a través de una barrera de energía potencial, existe como en toda regla una excepción: el efecto mecanocuántico conocido como efecto túnel⁵⁷. Existen muchas y muy extensas discusiones de esta teoría⁵⁸, pero la consecuencia más importante es su capacidad para alterar la velocidad de reacción. Obviamente, si una fracción significativa de moléculas de reactivos llega a productos sin haber pasado por la barrera del ET, entonces la velocidad predecible de una reacción no se

corresponderá con los resultados experimentales si no se considera este factor. Dado que el efecto túnel depende de la masa de la partícula que se transfiere y de la altura y anchura de la barrera a flanquear, el efecto túnel no será importante, excepto para reacciones que incluyan todas estas condiciones. La cuestión no es cuándo se dará este efecto, sino si será lo suficientemente importante para ser detectado; para que afecte a la velocidad de reacción. El efecto túnel puede ser detectado por medidas de efectos isotópicos o por la determinación de la dependencia de la constante de velocidad con la temperatura³⁷. Afortunadamente, hasta el momento existen pocos casos donde se requiera una corrección significativa del efecto túnel para correlacionar las predicciones teóricas con resultados experimentales.

III. 4. 1. VECTOR DE TRANSICIÓN

El vector propio al que corresponde el único valor propio negativo de la ecuación 3.19 fué denominado por McIver⁵⁵ vector de transición. Sin embargo, debido a que las coordenadas generalizadas usadas para describir la SEP no son necesariamente ortogonales, el vector de transición no corresponde a un vector de reacción con sentido físico. Por lo tanto, los valores propios y vectores propios no tienen significado físico preciso ya que no son independientes del sistema de coordenadas elegido. Para obtener un vector de reacción independiente del sistema de coordenadas es necesario, de una manera similar a la empleada en la teoría de vibraciones moleculares, diagonalizar la matriz de Wilson, $W = FG$, donde F es la matriz Hesiana de constantes de fuerza que habíamos definido según la ecuación 3.19 y G es la de transformación dependiente de la masa que relaciona las $3N-6$ coordenadas generalizadas (internas) con las $3N$ coordenadas cartesianas necesarias para describir el sistema molecular en un marco de referencia. Los principales ejes de curvatura y sus correspondientes curvaturas principales derivados de la matriz FG tienen un sentido físico: representan los modos normales de vibración y sus correspondientes frecuencias, respectivamente. El valor propio negativo del ET

corresponde a una frecuencia vibracional imaginaria y la dirección del movimiento mecánico clásico del sistema en el ET, de manera que este vector puede ser designado como el vector de reacción.

Los puntos estacionarios son independientes del sistema de coordenadas elegido, ya que la ecuación 3.18 es de naturaleza tensorial. De acuerdo con la TET, la constante de velocidad es independiente del camino seguido, solo es importante la posición de los puntos que hacen cero la ecuación 3.18 y fundamentalmente aquellos que poseen un valor propio negativo en la ecuación 3.19 diagonalizada. En la nada fácil tarea de localizar estos últimos en la SEP vamos a centrar nuestra atención.

III. 4. 2. LOCALIZACIÓN DEL ET.

La búsqueda de un punto de silla o ET en una SEP es un problema mucho más complejo que la determinación de un mínimo de energía. Resulta mucho más fácil descender desde un punto de alta energía siguiendo la dirección principal de máxima pendiente hacia mínimos, que ascender desde éstos hacia un punto desconocido. Para resolver este problema se ha desarrollado numerosas aproximaciones que definen, cada una de ellas, la metodología, algoritmos y exigencias concretas de cada problema⁵⁹⁻⁶². El procedimiento para localizar un ET en la SEP coincide con el de los mínimos en algunos aspectos. En ambos casos el gradiente de la geometría final debe ser cero (ec.3.18), si bien, para el caso del ET debe ser un mínimo para todas las direcciones menos para una; que en principio no se conoce. Todo ello hace que la localización del ET dependa, en último término, de la adecuada combinación de todos y cada uno de los factores que afectan a éste. A continuación vamos a dar un ligero repaso de los posibles algoritmos que se pueden utilizar para la búsqueda del ET.

Conceptualmente, la aproximación más simple se traduce en ajustar una expresión analítica que nos permita calcular energías de estructuras nucleares determinadas. En este sentido, para encontrar la estructura del ET en la SEP se

pueden aplicar métodos numéricos muy potentes. Estos procedimientos presentan problemas tales como: (a) se puede encontrar una función aceptable para la superficie n-dimensional, pero no hay una forma universal para aplicar ésta, y cada superficie presentará un nuevo desafío; (b) se requiere un gran número de cálculos de la energía para obtener un ajuste aceptable de la superficie^{63,64}; (c) La superficie ajustada puede no tener la suficiente precisión en la región de la barrera para proporcionar una estimación aceptable de la geometría del ET.

Otra aproximación propuesta es el tránsito lineal sincrónico (LST)⁶⁵. En este método se asume que el camino de reacción es una línea recta que conecta reactivos con productos. Bajo esta hipótesis el ET es el punto de máxima energía de esta línea recta. No es difícil suponer que este presunto ET será mucho mayor en energía que el verdadero punto de silla, o en su caso igual si por simetría o accidentalmente coincide que el ET está en línea recta. Para mejorar este error se podría minimizar la energía con respecto a todas las coordenadas perpendiculares al camino de reacción lineal. Por supuesto, la energía descenderá pero no podemos asegurar que caigamos en el ET, e incluso es fácil que podamos irnos a un punto de menor energía, con lo que estaríamos de nuevo en el problema de partida. A este método se le conoce como tránsito sincrónico cuadrático (QST)⁶⁵. Una ventaja de ambos métodos, LST y QST, es que requieren únicamente cálculos de energía y se pueden utilizar incluso cuando los gradientes de energía no estén a nuestro alcance. El proceso completo de ambos métodos es mucho menos costoso que el primero pero los resultados dependen mucho del aspecto de la SEP, obteniéndose con relativa frecuencia resultados irreales.

Como hemos visto en la sección III.3., en muchas reacciones el cambio en una coordenada domina la región de la SEP que va desde reactivos hasta el ET, ó entre éste y los productos, o ambas. En estos casos la búsqueda del ET se puede basar en movimientos a lo largo de esta coordenada de reacción dominante, y en minimizar la energía con respecto al resto de coordenadas. Sin embargo, si llegado un punto de la reacción otra coordenada empieza a ser importante, el método fallará ya que supone minimizar el resto de coordenadas,

lo que lógicamente no nos acercará al ET⁶⁶. Un simple cambio en la estrategia puede solventar este problema. En lugar de desplazarnos a lo largo de una coordenada específica, se puede hacer un incremento de una longitud y determinar la dirección que corresponde al ascenso menos pronunciado. Este tipo de métodos se basa en cálculos de energía⁶⁷, o energía y gradientes^{68,69}. Otra mejora de este método consiste en seguir el vector de segundas derivadas⁷⁰⁻⁷³. En principio con este método se podría explorar cualquier superficie por complicada que fuera, pero; (a) resulta un proceso muy costoso ya que deberemos recalcular la matriz de segundas derivadas en cada iteración; (b) está limitado a superficies de energía SCF (sección III.6), y por último y más importante: (c) puede llevarnos a puntos de silla que no corresponden con el verdadero ET de la reacción.

Hemos visto que el cálculo de gradientes de energía es de gran utilidad para localizar mínimos. En una primera aproximación los métodos estándar de gradientes que son empleados para encontrar mínimos no serían apropiados para localizar ET ya que el criterio de convergencia depende del carácter positivo de la matriz Hessiana. No obstante, es posible convertir la optimización de un ET en un problema de minimización si consideramos que el cuadrado del vector gradiente o norma del gradiente es mínimo en cualquier punto estacionario:

$$R = |\mathbf{g}|^2 = \sum_i \left(\frac{\partial E}{\partial q_i} \right)^2 \quad (3.20)$$

El método de la norma del gradiente^{55,74} transforma la optimización de un punto de silla en un problema de mínimos cuadrados, el cual puede ser resuelto utilizando el algoritmo de Powell⁷⁵. Las limitaciones de este método son que deberemos partir de la zona cuadrática del ET ya que artefactos de la SEP (como pueden ser los "hombros") nos proporcionarían ceros en la norma del gradiente y provocarían resultados equívocos.

Aunque no es posible probar la convergencia de algoritmos de gradientes cuando la matriz de constantes de fuerza no es positiva, ello no es óbice para que no podamos emplear métodos de gradientes para la optimización de

estructuras de estados de transición⁷⁶⁻⁷⁹. Éstos emplean una función cuadrática para modelar la superficie de energía y localizar los puntos estacionarios. Una superficie cuadrática tendrá únicamente un punto estacionario cuando la Hesiána tenga solo valores propios positivos o negativos, pero no nulos. Con una geometría de partida y una estimación de esta matriz, la aproximación cuadrática puede ser usada para converger directamente a un punto de silla. La geometría inicial debe estar lo suficientemente cerca del ET para que el procedimiento sea satisfactorio. Si no es así, una posibilidad sería calcular unos pasos siguiendo el valor propio citado anteriormente, o la aproximación de la función racional para alcanzar la zona cuadrática. A continuación, una estimación inicial de la Hesiána debe tener un vector propio con un valor propio negativo que es una aproximación razonable al vector de transición. En tercer lugar, el valor propio del vector propio, tomado ya como vector de transición, debe mantenerse negativo durante la optimización, aunque su magnitud y dirección puede variar. Bajo circunstancias favorables este procedimiento converge a un ET en un número de pasos comparable a las optimizaciones de gradiente de estructuras de equilibrio. No obstante, para ciertas reacciones, se necesita un cuidado extremo en la elección de la geometría inicial y las coordenadas internas del sistema⁸⁰.

Como se puede deducir de toda la serie de algoritmos que hemos resumido, la búsqueda de un ET resulta ser tan importante como complicada, y con todos los avances en computación que se ha llevado a cabo en los últimos años, sigue siendo un problema que requiere una buena dosis de intuición. Para obtener buenos resultados se requiere partir de estructuras aceptables y no muy lejos del ET (en su zona cuadrática), una metodología y una estrategia. Éstas dependerán, en la mayoría de los casos, del problema concreto que vayamos a abordar.

El procedimiento que hemos llevado a cabo para obtener los ETs que describiremos en la presente memoria ha variado ligeramente en función de las condiciones particulares de cada reacción, pero en el último paso todos se han basado en la "partición del espacio" propuesta por vez primera por O. Tapia y J. Andrés⁶². El conjunto de todos los parámetros que definen el sistema se ha

dividido en dos subespacios utilizando el criterio de pequeños o grandes cambios que las coordenadas presentan en el camino entre reactivos y productos. Las coordenadas que sufren grandes cambios son consideradas en un subespacio llamado de control, el cual es optimizado completamente en cada etapa del proceso. De este subespacio se elige una coordenada que llamaremos coordenada de control la cual normalmente debe contener la coordenada de reacción (que controla el proceso de formación o/y rotura de enlaces). Ésta se va modificando de forma paramétrica mientras el otro subespacio, llamado complementario, se va optimizando completamente en cada punto de manera que proporciona la mínima energía. Cada punto final encontrado en la optimización deberá verificar que es realmente un punto de silla de primer orden, y no un mínimo o un máximo. Ello requiere el cálculo de la matriz de segundas derivadas y su diagonalización, así como el cálculo de las frecuencias de vibración. Para un ET, debe haber una y sólo una frecuencia imaginaria o valor propio negativo. Esta frecuencia estará asociada fundamentalmente a las coordenadas del espacio de control. Por último, cabe preguntarse si el punto de silla localizado y caracterizado como tal, corresponde efectivamente con el ET que estábamos buscando. Para un total convencimiento de que el ET conecta nuestros reactivos y productos, resulta de gran ayuda los cálculos del camino de reacción intrínseco, IRC (explicados en la sección III.3.).

Considerando las dificultades expuestas, es fundamental hacer una recopilación de cuanta información sea posible; conectividad, estructuras de mínimos resueltas por rayos X, efectos isotópicos, o consideraciones teóricas como el postulado de Hammond, la suposición de Pauling y, bajo ciertas circunstancias, consideraciones de simetría y polaridad.

III. 4. 3. REGLAS DE SIMETRÍA

En aquellos casos en los que los estados de transición esperados de una reacción pueden retener ciertos elementos de simetría de los reactivos iniciales

y de los productos, alegar argumentos del grupo de simetría puede ayudar a formular las reglas de selección de las estructuras del ET^{59,81}. Estas reglas, que vamos a considerar de una forma simplificada, permiten descartar ciertas estructuras sin necesidad siquiera de realizar cálculos de las segundas derivadas. Igualmente importante es que una aplicación consistente de éstas revelan un número de regularidades inherentes al mecanismo intrínseco de una reacción.

El concepto clave para la formulación de las reglas en cuestión es el concepto de vector de transición (apartado III.4.1). Este vector puede ser considerado como una porción muy corta, aunque finita, de la parte del camino de reacción cuyos orígenes están en el punto de silla. Un desplazamiento del sistema en la dirección definida por el vector de transición disminuirá su energía potencial. La figura 3.9 muestra un ejemplo del aspecto del vector de transición para la reacción de descomposición unimolecular de la acetamidina⁸².

El vector de transición necesariamente posee todos los elementos de simetría de la configuración nuclear del estado de transición. Es decir, corresponde a una de las representaciones irreducibles del grupo puntual de simetría de ésta.

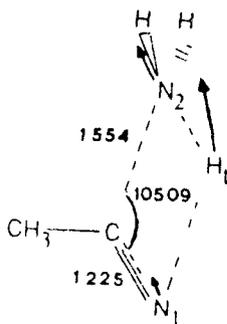


Figura 3.9.- Representación esquemática del ET para la descomposición unimolecular de la acetamidina. El vector de transición está representado por flechas [J. Andrés, J. Krechl and E. Silla, Chem. Phys. Lett. 509, 169, 1990]

Stanton y McIver⁵⁹ formularon los siguientes teoremas tratando de regular las reglas de selección de los estados de transición de una reacción por medio de la simetría correspondiente al vector de transición:

- 1) El vector de transición no puede pertenecer a una representación degenerada del grupo de simetría puntual del ET.
- 2) El vector de transición es antisimétrico con respecto a las operaciones de simetría del ET que transforman reactivos en productos.
- 3) El vector de transición es simétrico respecto a aquellas operaciones de simetría que no transforman reactivos en productos.

Por todo ello, para hacer uso de estas propiedades del vector de transición, si queremos seleccionar posibles estructuras del ET de una reacción, es necesario examinar el efecto de cada operación individual del grupo puntual de éste. Si tales operaciones no conllevan una transformación de reactivos a productos, tiene carácter +1; en caso contrario la operación tendrá carácter -1. Tras comparar los resultados obtenidos con las tablas de caracteres, las estructuras del ET cuyos vectores de transición no cumplan lo demandado por los teoremas 1 a 3, pueden ser descartadas. Podemos limitar las estructuras de partida en la búsqueda del ET.

El teorema (1) es simplemente la reformulación del teorema de Murrell-Laidler, e implica que una SEP no puede tener más de una dirección de curvatura negativa en el punto del ET. El corolario más importante del teorema (2) es que ninguna configuración nuclear puede representar un ET de una reacción dada si la rotación sobre un eje de tercer orden o superior, impar, transforma los reactivos en productos. Para posibles estructuras de ETs que pertenezcan a grupos de simetría con ejes de simetría de cuarto orden o superior, par, las reglas de selección no son tan rígidas como en el caso de estructuras con ejes de simetría de orden impar.

III. 4. 4. MODOS NORMALES

Los núcleos de una molécula se mueven en un campo de fuerzas producido por ellos mismos y por la nube electrónica que pertenece a la molécula. El movimiento es oscilante y la posición promedio es la geometría molecular. Según la mecánica clásica, es posible considerar la fuerza como proporcional al desplazamiento, $F=-kx$, la energía potencial cuadrática, $E=1/2kx^2$, y la aproximación del potencial al conocido problema del oscilador armónico. Según estas aproximaciones, la ecuación del movimiento tiene una solución exacta. El problema se resolverá a través de una combinación entre la mecánica clásica y la mecánica cuántica.

Si consideramos todos los núcleos en movimiento, se llega a un problema de osciladores acoplados. Se puede probar⁸³ la existencia de un tipo de movimiento del oscilador en el que todas las coordenadas oscilan sinusoidalmente con una frecuencia común.

Los modos normales de movimiento son una representación aproximada del conjunto de movimientos atómicos en una molécula. El movimiento se puede representar por la variación de un conjunto de coordenadas independientes, Q , conocidas como coordenadas normales.

El formalismo de la SEP y la caracterización de los puntos estacionarios son generalmente dados en términos de coordenadas normales⁸⁴ y éstas son coordenadas ortogonales que contienen el cambio de la geometría y de la energía.

Los modos normales son utilizados en el análisis de las vibraciones, niveles de energía, función de partición vibracional y propiedades termodinámicas y cinéticas del nivel de energía del punto cero⁸⁵. Tienen particular importancia en el estudio de las reacciones químicas como herramienta fundamental para analizar caminos de reacción^{86,87}, y son también de extremada utilidad para localizar y caracterizar posibles estructuras de ET basándose en sustituciones isotópicas⁸⁸.

Los movimientos de vibración provocan desplazamientos en la espectroscopía de infrarrojos (IR) y Raman debido al cambio del momento dipolar y polarizabilidad relacionados con los movimientos nucleares. La intensidad de la radiación de IR o Raman son expresadas en términos de variación con respecto a los modos normales, Q^{89} .

Fue necesario crear un campo de fuerzas con sentido químico, el campo de fuerzas de la coordenada interna de valencia⁹⁰; distancias de enlace, R , ángulos de enlace, q , y ángulos dihedros o de torsión, T . Este tipo de coordenadas son utilizadas en la actualidad para construir la matriz Z ; una forma bien conocida de definir la geometría de una molécula que se utiliza en muchos programas de cálculo molecular (GEOMO⁹¹, CAMVIB⁹², MOPAC⁹³, MONSTERGAUSS⁹⁴ o GAUSSIAN⁹⁵).

A fin de calcular los modos normales, es posible utilizar el formalismo de Lagrange. Se ha encontrado que una forma cómoda para expresar las energías potenciales son coordenadas internas de valencia⁹⁶ mientras que la energía cinética se expresa mejor en términos de las coordenadas cartesianas. A fin de llegar a una representación común, Wilson y colaboradores⁹⁷ construyeron una transformación lineal por medio de un conjunto de vectores con el que se obtenía el conjunto de coordenadas de desplazamiento interno de valencia. La transformación entre coordenadas cartesianas e internas hemos visto que se lleva a cabo por medio de la matriz de Wilson; W . La transformación se expresa con la fórmula:

$$R = W X \quad (3.21)$$

donde R es la matriz de coordenadas internas, y X la de coordenadas cartesianas. La matriz W se construye generalmente a partir de los vectores de Wilson⁹⁷. Podemos construir una matriz que contenga los cambios geométricos y las masas atómicas, G , y G^{-1} será la matriz cinética;

$$G = W^T M B \quad (3.22)$$

M es una matriz diagonal, con elementos $d_{ij}m_j$ igual a $d_{ij}1/M_j$,

$$\frac{\partial^2 E(R)}{\partial R_i \partial R_j} = H_{ij} \quad (3.23)$$

H es la constante de fuerza definida en la ecuación 3.19. Una solución del problema se puede encontrar cuando las coordenadas generalizadas, q, son las coordenadas internas de desplazamientos R.

Siguiendo la solución de la ecuación de Lagrange, llegaremos a la conocida ecuación de valores propios^{97,89};

$$(GF - 1L)L = 0 \quad (3.24)$$

con L igual a la matriz diagonal en la que los elementos son el cuadrado de las frecuencias y la matriz L construida con los vectores propios. Cada vector propio representa una coordenada Q, dichas coordenadas son generalmente vibraciones. Si la estructura es un ET, un valor propio será negativo y el correspondiente vector propio es conocido ya como vector de transición.

El problema puede ser también resuelto utilizando las coordenadas cartesianas, en cuyo caso aparecen seis coordenadas más. Éstas representan tres rotaciones y tres traslaciones de la molécula.

En la presente memoria todos los sistemas moleculares los definiremos utilizando coordenadas internas, excepto en algún caso en que nos interesará probar la independencia de las coordenadas elegidas.

III. 4. 5. EFECTOS ISOTÓPICOS

Los efectos isotópicos han sido utilizados desde hace un par de décadas como una valiosa ayuda en la elucidación de mecanismos de reacción y estructuras de ET⁹⁸. Recientemente, varios cálculos en química computacional han permitido obtener efectos isotópicos teóricos que se han utilizado en este sentido⁹⁹⁻¹⁰³. Por otro lado, aun siendo la mayoría de ellos relativos a efectos isotópicos primarios o secundarios de hidrógeno, también se puede llevar a

cabo sustituciones isotópicas de otros átomos como los isótopos del carbono o del oxígeno¹⁰⁴.

Aunque en la literatura se puede encontrar un gran número de pruebas cinéticas de estructuras de ET para reacciones en solución, la aplicación de estos métodos para sistemas enzimáticos todavía se encuentra en una fase inicial. La característica simple de un efecto isotópico resulta, por tanto, del hecho de que ambas especies, la sustituida isotópicamente y la original, tienen virtualmente idénticas distribuciones electrónicas y por tanto se moverán por la misma SEP. Por el contrario, los cambios o sustituciones tradicionales suponen cambios de superficie. Este hecho, junto con el gran número de sistemas enzimáticos cuya reacción principal supone una transferencia de hidrógeno, hidruro o protón, convierte la aplicación de las sustituciones isotópicas de hidrógeno al estudio de ETs enzimáticos particularmente atractiva.

En una primera aproximación, la aplicación de los efectos isotópicos fue utilizada para determinar cómo las transferencias de hidrógeno ocurrían en la etapa que controlaba la velocidad de una reacción. Más tarde se ha utilizado de forma muy acertada para determinar la estereoquímica de una reacción enzimática y en la demostración de la presencia de intermediarios en reacciones de roturas de enlaces carbono-hidrógeno^{105,106}.

La sustracción de H es un proceso fundamental en reacciones de catálisis enzimática. Sustituciones del hidrógeno transferido, efectos isotópicos primarios, por deuterio, proporcionan normalmente una disminución en la constante de velocidad del orden de $k_H/k_D = 1-10$, donde k_H es la constante de velocidad para la sustracción del hidrógeno, y k_D para el deuterio. Más aún, las sustituciones isotópicas pueden dar lugar a efectos isotópicos de hidrógeno primarios que pueden ser normales (>1) o inversos (<1). Aunque los factores que pueden contribuir a estos efectos son complejos, se ha propuesto modelos que relacionan la magnitud de los efectos observados con la estructura del ET.

La teoría de los efectos isotópicos se desarrolló desde sus inicios dentro del marco de la teoría del estado de transición¹⁰⁷⁻¹⁰⁹. El estado fundamental de más baja energía de una reacción se considera que está en equilibrio con su ET, y K^\ddagger es la constante de equilibrio que define este proceso (ver sección III.1). En

el caso de una transferencia de H entre dos centros atómicos $A-H + B \rightleftharpoons [A \cdots H \cdots B]^\ddagger \rightleftharpoons A + B-H$, la constante de equilibrio se puede expresar en términos de funciones de partición que representan las contribuciones de movimientos vibracionales, Q_V , rotacionales, Q_R , y traslacionales, Q_T , a la energía total del ET ($[A \cdots H \cdots B]^\ddagger$) y del estado fundamental ($A-H + B$):

$$K^\ddagger = \frac{Q_V^\ddagger Q_R^\ddagger Q_T^\ddagger e^{-\Delta E/kT}}{Q_{V(AH)} Q_{R(AH)} Q_{T(AH)} Q_{V(B)} Q_{R(B)} Q_{T(B)}} \quad (3.25)$$

El exponente de la ecuación 3.25 contiene ΔE , la diferencia en la energía potencial electrónica entre el ET y el estado fundamental (figura 3.10.a). Tal como se acepta en la aproximación de Born-Oppenheimer, esta diferencia de energías potenciales es independiente de las masas nucleares y ΔE se asume que es invariante frente a sustituciones isotópicas de las moléculas de la reacción.

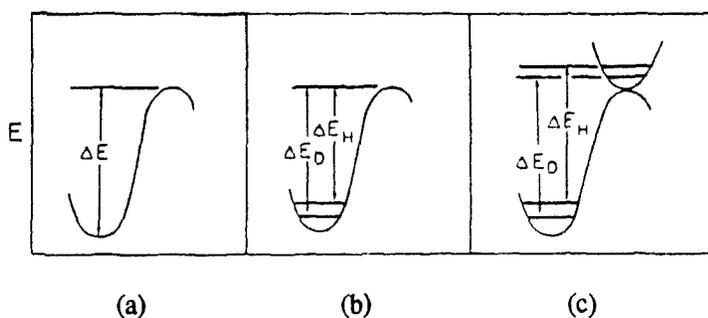


Figura 3. 10. Diagramas de energía frente a la coordenada de reacción que muestran (a) la independencia de la superficie de energía potencial electrónica con las sustituciones isotópicas. (b) el origen de los efectos isotópicos máximos debido a la pérdida de una frecuencia de stretching del estado fundamental, y (c) la cancelación del estado fundamental por la energía del punto cero del ET dando lugar a pequeños efectos isotópicos.

El ET difiere del estado fundamental en que uno de sus modos normales de vibración corresponde a la coordenada de reacción. Ésta, que para nuestro ejemplo es la traslación del H de A a B, viene descrita por una frecuencia vibracional V_i^\ddagger , cuya magnitud es una medida de la curvatura de la barrera energética y se puede tratar como la frecuencia vibracional de una partícula en un valle de energía potencial estable. La diferencia estriba en que esta vibración tiene signo negativo (ecuación 3.19). De la ley de Hooke se deduce que la frecuencia de vibración de una partícula es

$$v = \left(\frac{1}{2\pi}\right) \sqrt{\frac{F}{M_R}} \quad (3.26)$$

donde F es la constante de fuerza y M_R la masa reducida; una constante de fuerza negativa proporciona una expresión que contiene $\sqrt{-1}$ por lo que V_i^\ddagger es referida como una frecuencia imaginaria. Factorizando la función de partición para la coordenada de reacción en la ecuación 3.25 podemos obtener:

$$K^\ddagger = K \left(\frac{h V_i^\ddagger}{kT} \right) \quad (3.27)$$

donde k, T y h son la constante de Boltzmann, la temperatura en Kelvin y la constante de Planck respectivamente.

El efecto isotópico cinético k_H/k_D es igual a la relación $K_D^\ddagger/K_H^\ddagger$. Utilizando la regla de Redlich-Teller para el producto, que permite descubrir funciones de partición rotacionales y traslacionales a partir de frecuencias vibracionales, Bigeleisen^{110,111}, apoyándose siempre en la TET, desarrolló una fórmula que expresaba la relación de constantes de velocidad entre la reacción sustituida isotópicamente y la no sustituida. Esta expresión para los efectos isotópicos se puede dividir en dos partes; un factor preexponencial y un factor exponencial. En el primero estaban incluidas las contribuciones de rotaciones moleculares, traslaciones y vibraciones de estados excitados. A temperaturas normales de trabajo estas últimas pueden ser despreciadas; y considerando que las sustituciones isotópicas del H no suelen estar afectadas apreciablemente por

movimientos de rotación y traslación, el factor preexponencial estará próximo a la unidad. Además, tal aproximación puede ser justificada por el hecho de que el centro activo de un enzima, una vez asumido que las especies que intervienen son con toda probabilidad moldeadas según la estructura característica del ET (teoría del estado de transición postulada por Pauling), están de alguna manera impedidos a rotar o trasladarse. La dependencia de este término con la temperatura es además pequeña, por lo que la contribución de este factor a k_H/k_D queda en el rango entre 0.5-1.4⁵⁷. El factor exponencial de la ecuación del rotor rígido armónico de Bigeleisen, que contiene la frecuencia de vibración del punto cero del ET y del estado fundamental, es normalmente el que determina la magnitud del efecto isotópico primario del H. La fórmula, en términos de las frecuencias vibracionales de reactivos y ET, adaptada por Klinman¹¹² queda como sigue:

$$\frac{k}{k'} = \exp\left(\frac{hc}{2kT}\right) \times \left(\sum_{\text{react}}^{3N-6} (\omega_i - \omega'_i) - \sum_{\text{ET}}^{3N-7} (\omega_i^\ddagger - \omega_i^{\ddagger'}) \right) \quad (3.28)$$

Las frecuencias de vibración vienen expresadas como números de onda ($w = n/c$) en lugar de ciclos por segundo. En la ecuación 3.28 las cantidades primadas corresponden a las especies deuteradas; k y k' son las constantes de velocidad; ω_i y ω_i^\ddagger son las frecuencias de los reactivos y ET en m^{-1} ; h , c y k son la constante de Planck, la velocidad de la luz en vacío y la constante de Boltzmann, respectivamente; y T es la temperatura en Kelvin.

Considerando la descomposición unimolecular de una molécula diatómica obtendremos una ilustración del efecto isotópico sobre la energía en el punto cero. El proceso de $A-H$ a $[A\cdots H]^\ddagger$ envuelve la pérdida de una vibración de stretching del estado fundamental. La vibración del ET es la coordenada de reacción y no contribuye al efecto isotópico:

$$\frac{k_H}{k_D} = \exp \frac{hc}{2kT} (\omega_H - \omega_D) \quad (3.29)$$

La frecuencia de vibración del estado fundamental (ecuación 3.26) es dependiente de la constante de fuerza, F , la cual es independiente de la sustitución isotópica y la masa reducida de A-H frente a A-D $M_R = M_A M_{H(D)} / (M_A + M_{H(D)})$ cuando la masa de A es relativamente más grande que H o D (como es el caso de los enzimas), la masa reducida de A-H(D) viene aproximadamente determinada por la masa de H(D), y $\omega_D \approx \omega_H / \sqrt{2}$. La figura 3.10.b ilustra el decrecimiento en la energía del punto cero y el incremento en la energía de activación que resulta de una masa reducida grande y frecuencias de vibración pequeñas de A-D respecto de A-H.

La relación entre los efectos isotópicos de deuterio y tritio reflejan en primer lugar la diferencia en masa de ambos tal como había previsto la ecuación de Swain ¹¹³;

$$\left(\frac{k_H}{k_D} \right)^{1.44} = \frac{k_H}{k_T} \quad (3.30)$$

Estudios de efectos isotópicos en sistemas enzimáticos en los que un enlace C-H se rompe indican efectos isotópicos primarios de hidrógeno pequeños ¹¹⁴ sugiriendo la posibilidad de que estas reacciones estén caracterizadas por ETs asimétricos; trabajos posteriores indican que en muchos ejemplos el hecho de que éstos sean pequeños resulta de la naturaleza de reacciones por etapas de los sistemas enzimáticos ¹¹⁵.

Los efectos isotópicos secundarios suponen una diferencia en la velocidad de reacción o de las posiciones de equilibrio provocada por una sustitución isotópica de átomos cuyos enlaces no se forman o rompen en el curso de la reacción. Tales efectos son clasificados como α , β ó superiores (γ , δ , etc...), dependiendo de la posición de la sustitución respecto del átomo en el que están ocurriendo los cambios de enlace.

La diferencia de energía del punto cero entre reactivos sustituidos puede ser alterada para alcanzar el ET, dependiendo de la manera en la que cambien las constantes de fuerza que describen los modos vibracionales isotópicos. En la figura 3.11 se puede apreciar este efecto para sustituciones de hidrógeno por deuterio (la misma aproximación se puede hacer para cualquier isótopo). Si la

constante de fuerza disminuye (figura 3.11.a), la curvatura de la parábola de energía potencial aumenta, disminuyendo la diferencia de energía entre niveles de energía del H y del D en el ET. Así, la energía de activación (E_a) será menor para el H y la constante de velocidad aumentará ($k_H/k_D > 1$). Si la constante de fuerza aumenta (figura 3.11.b) se observa el efecto contrario ($k_H/k_D < 1$).

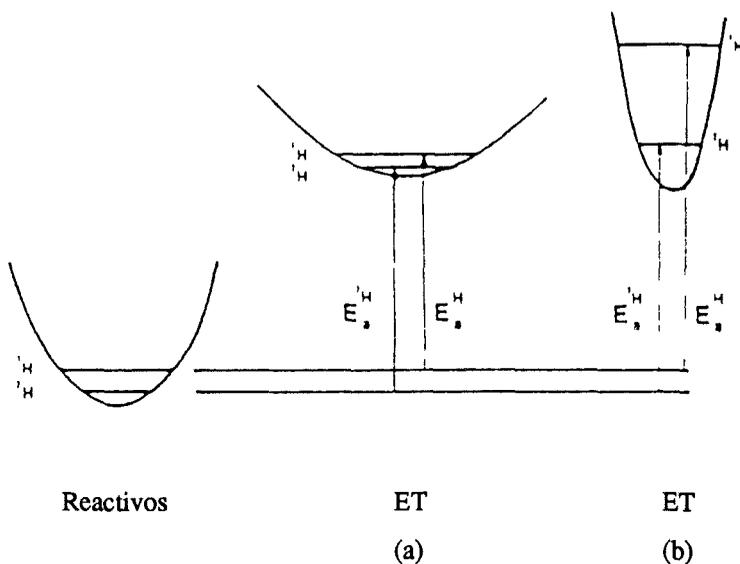


Figura 3. 11.- Diagramas de energía para un plano perpendicular a la coordenada de reacción muestran las diferencias energéticas en el punto cero entre reacciones sin sustituir ^1H y sustituidas isotópicamente por deuterio ^2H . (a) Efecto isotópico secundario normal, y (b) efecto isotópico secundario inverso.

Efectos secundarios de α -D surgen de cambios en frecuencias de ángulos de enlace sustituidos isotópicamente que cambian al pasar de reactivos a productos. El origen más convincentemente explicado de los efectos secundarios β lo encontramos en los trabajos de Shiner y Humphrey¹¹⁶, que suponen una estabilización del reactivo o del ET por una hiperconjugación de los orbitales. La diferencia de tamaños entre hidrógeno, deuterio y tritio ha sido empleada también para explicar este tipo de efectos isotópicos¹¹⁷. Al margen

de las explicaciones empleadas para un efecto en concreto, el concepto básico responsable de estos efectos es, como en los primarios, el cambio en las frecuencias vibracionales.

Por último, otros efectos isotópicos que afectan a los procesos bioquímicos son aquellos causados por sustituciones isotópicas del disolvente, generalmente H_2O por D_2O ^{118,119}. Aunque algunos organismos inferiores (determinadas algas y bacterias) son capaces de sobrevivir en medios acuosos completamente deuterados, en organismos vegetales superiores la actividad de su metabolismo cesa tras sustituciones isotópicas del 30%. Los mamíferos son incapaces de sobrevivir con una incorporación de deuterio superior al 25%. Esto es una clara consecuencia directa o indirectamente atribuible a cambios en las velocidades de reacciones bioquímicas (catalizadas enzimáticamente). Estas diferencias se pueden expresar en términos de los efectos isotópicos cinéticos del solvente $k_{\text{H}_2\text{O}}/k_{\text{D}_2\text{O}}$, expresión que vendrá afectada por la diferencia de energía libre de activación para la reacción en agua ó en agua pesada. Es importante destacar que el efecto isotópico cinético será observable cuando la diferencia de energía libre cambie entre ambas reacciones, y ello ocurrirá cuando un enlace que implique a un átomo isotópico sufra algún cambio de reactivos a productos. Para este último tipo, dichas interacciones serán entre las moléculas del sistema reactivo y el solvente.

Las sustituciones isotópicas son, en general, las menores alteraciones experimentales que se pueden hacer a un sistema para obtener información de su mecanismo. Carga nuclear, distribución electrónica y energía potencial permanecen invariables y, como corolario a todos los efectos isotópicos mencionados, se puede calcular dichos efectos teóricamente a partir del presunto ET localizado en la SEP. La comparación de sus frecuencias con las frecuencias de la estructura del ET isotópicamente sustituido puede ser introducida en la ecuación de Bigeleisen (ecuación 3.28) a fin de comparar los resultados teóricos con medidas cinéticas experimentales.

III.4. 6. PROPIEDADES DE LOS ESTADOS DE TRANSICIÓN

Los puntos de silla de primer orden o ET poseen una bien definida geometría. Aún teniendo tiempos de vida extremadamente cortos, existen como tales. Para una reacción donde una partícula es intercambiada entre centros de reactivos y productos, los fragmentos del dador y del aceptor tienen parámetros geométricos transportables con una pequeña tolerancia. A este respecto, la estructura del ET comparte propiedades geométricas similares con las estructuras de los mínimos. Para reacciones de transferencia de electrones la identificación de la geometría del ET, aún siendo algo más delicada, es de esperar que conserve ciertas leyes geométricas. El grado de avance de una reacción depende, por supuesto, de las especies químicas que constituyen los reactivos. Esto es, la naturaleza química actual de dador y aceptor.

Dado que la geometría de un punto de silla de primer orden está bien definida, ésta determina la estereoquímica de la reacción. Puede diferir, como ocurre frecuentemente, de la de reactivos y productos del sistema en vacío. Este punto tiene un interés particular. Para una reacción de interconversión que pueda tener lugar en varios solventes con el mismo mecanismo para la etapa controlante, el ET es una característica fundamental invariante, que además coincidirá con la estructura localizada en vacío.

El proceso de interconversión está arropado en las fluctuaciones del ET. Si un solvente deforma esta información, el sistema perderá la memoria. Si la reacción tiene lugar en cualquier caso, será sin duda utilizando otro camino de reacción.

Mientras que los átomos que participan en el espacio de control del ET son siempre los mismos, aquellos que forman el espacio complementario pueden no serlo. Si estos últimos no modulan las constantes de fuerza del espacio de control, el vector de transición es invariable aunque puedan darse efectos de segundo orden. La invariabilidad debe ser entendida en términos de conservación de las fluctuaciones reactivas. Fluctuaciones en una dirección dirigirán al sistema hacia un descenso de energía; reactivos o productos. Por

ejemplo, en reacciones de transferencia de hidruro, las configuraciones endo parecen ser invariantes¹²⁰. La estereoquímica endo facilita el solapamiento del orbital molecular ocupado de mayor energía (HOMO) con el desocupado de menor energía (LUMO). Así, los enzimas que poseen NAD ó NADP como coenzimas¹²¹ presentan una configuración endo entre el plano de la nicotinamida y el anillo de isoalloxicina de la flavina. Glutathione reductasa, tripanotione reductasa, son ejemplos claros de esta familia¹²².

Si tomamos como punto de mira los anticuerpos catalíticos, podemos demostrar que todas las premisas formuladas son correctas y se cumplen a la perfección. Ellos representan un argumento sólido en favor de estas propiedades.

III. 5. EFECTO DEL MEDIO

Los efectos del solvente modulan un gran número de fenómenos en Física, Química y Biología¹²³⁻¹²⁶. Su tratamiento teórico ha seguido dos diferentes pero complementarias líneas de pensamiento. Una de ellas persigue cantidades observables, por ejemplo la evaluación directa de la energía libre de solvatación o/y la energía de excitación. Este campo es conocido como la teoría de la solvatación¹²⁵. En la otra línea de investigación, conocida como la teoría del efecto del solvente, la atención está centrada en la función de onda electrónica del sistema, o en sus grados de libertad clásicos para determinar cómo el medio afecta en cada uno de ellos. Los cambios producidos en la estructura, propiedades dinámicas o moleculares del sistema al estar envuelto por el medio se mide normalmente respecto al sistema en vacío. La aproximación tiene connotaciones químico cuánticas que lo hacen susceptible de estudio a nivel microscópico¹²⁶.

La teoría del efecto del solvente se ha desarrollado en base a dos áreas convergentes. En una de ellas el énfasis está localizado en aspectos mecanocuánticos para representar el soluto (o sistema de interés), mientras que el medio es moldeado a nivel de la física clásica. En la otra, la representación del soluto y del medio se hace con la ayuda de técnicas mecanicoestadísticas clásicas. Esta aproximación se ha beneficiado del desarrollo de métodos como el de Monte-Carlo (MC) y simulaciones de dinámica molecular (DM) implementados en potentes programas de cálculo¹²⁷⁻¹²⁹. La mecánica cuántica, cuando se emplea, sirve para generar información de potenciales intermoleculares, distribución de carga o cualquier otro dato molecular relevante.

Las transformaciones químicas de las reacciones catalizadas enzimáticamente, normalmente tienen lugar en pequeños volúmenes; el centro activo. La teoría del efecto del solvente se construye sobre un modelo localizado espacialmente por las transformaciones de interés. A través de estas técnicas,

únicamente una pequeña parte del sistema se incluye explícitamente en la simulación, mientras que los efectos del resto del sistema se tratan implícitamente. En los estudios de MC y de DM, la clave de incorporar factores del solvente en los cálculos mecanocuánticos no ha sido resuelta satisfactoriamente. La aproximación empírica del enlace de valencia de Warshel, el método del campo de reacción directo de Van Duijen¹³⁰, el modelo PCM de Tomasi¹³¹⁻¹³³ y la teoría ISCRF propuesta por Tapia¹³⁴ que tratan de incluirlos con mayor rigor, son incorporaciones en este sentido.

La cavidad inmersa en un dieléctrico atrae la atención de los químicos cuánticos que intentan incorporar el efecto del solvente a los cálculos realizados en vacío¹³⁵⁻¹³⁸. Los cálculos del efecto del solvente se pueden llevar a cabo a partir de las geometrías optimizadas en vacío. En el caso de mínimos de la SEP, la aproximación de geometrías congeladas se puede considerar como adecuada^{138,139}. Sin embargo, es más cuestionable para estructuras del ET. El tratamiento correcto de éstas en solución implica la consideración simultánea del soluto y del disolvente. Si por razones prácticas es necesario separar el movimiento del soluto del disolvente, se pueden tomar dos opciones: utilizar la optimización llevada a cabo en fase gas o reoptimizar la geometría bajo el efecto de un potencial promedio provocado por el solvente. En el modelo continuo polarizable (PCM) propuesto por el grupo de Tomasi mencionado con anterioridad, el solvente se asume como un medio continuo caracterizado por una constante dieléctrica (ϵ) que rodea a una cavidad molecular en cuyo interior se sitúa el soluto. El tamaño de ésta dependerá del sistema a estudiar inmerso en el solvente, debiéndose calcular la superficie molecular con programas adecuados¹⁴⁰⁻¹⁴².

Por otro lado, reacciones que impliquen la presencia de especies polares o iónicas supondrán interacciones electrostáticas con el solvente que podrán provocar cambios importantes respecto a los cálculos en vacío. Sin embargo, las reacciones catalizadas enzimáticamente tienen lugar en una cavidad más o menos pequeña: el centro activo. En su interior, medidas experimentales de resonancia magnética nuclear y espectroscópicas de IR y de RX revelan que además del sustrato y del coenzima, no suelen entrar más de un número

limitado y conocido de moléculas del solvente. La conclusión parece inmediata: el efecto del medio no será importante en la caracterización del ET de reacciones enzimáticas. Sobre las estructuras de mínimos, dado que no entran como tales en el centro activo, no tiene tampoco excesivo significado plantearse sus efectos.

III. 6. MÉTODOS QUIMICOCUÁNTICOS

III.6.1. REQUISITOS GENERALES

Tal como hemos sugerido en los capítulos previos, la elección de la técnica mecanocuántica para estudiar teóricamente una reacción química es una tarea de difícil solución que presenta todavía controversias¹⁴³. De hecho, el análisis de las posibles técnicas y los procedimientos computacionales necesarios para su realización indican que no sólo la elección es compleja, sino que no existe técnica alguna que permita un criterio de flexibilidad y resolución aplicable al amplio rango de los problemas potenciales de interés en química. Y aunque existe un gran número de teorías mecanocuánticas que permiten el cálculo de propiedades y estructuras moleculares, basaremos nuestros estudios en técnicas que se apoyan en la teoría de orbitales moleculares¹⁴⁴, que son las más ampliamente utilizadas para el estudio de sistemas moleculares de gran tamaño.

Evidentemente, las propiedades de una SEP de un sistema reactivo: topografía, naturaleza y posición de los puntos estacionarios, dependen del método empleado para su cálculo. En consecuencia, las conclusiones del mecanismo de reacción pueden diferir notablemente dependiendo del tipo de aproximación utilizada.

Como veremos más adelante, el uso de una base extendida en cálculos *ab initio*, teniendo en cuenta la correlación electrónica así como correcciones relativistas y no adiabáticas proporcionaría, indudablemente, las predicciones teóricas más exactas. Pero tal programa no se puede llevar a cabo por el momento para sistemas de más de 3 ó 4 átomos. En la práctica, cuando se hacen estudios teóricos de mecanismos de reacción en sistemas orgánicos se presenta siempre la disyuntiva de elegir entre un cálculo riguroso aplicable a

sistemas muy limitados o aproximaciones simplificadas que permitan la investigación de sistemas mucho más grandes.

Para el cálculo de una SEP, un método debe satisfacer ciertos requerimientos antes de que los resultados puedan ser utilizados como base para una interpretación teórica del mecanismo de una reacción. Este debe reproducir: 1) energías relativas de reactivos, ET y productos; 2) la curvatura de la SEP en las zonas de los puntos estacionarios; y 3) las características geométricas de éstos.

Muchos de los métodos mecanocuánticos modernos, especialmente los semiempíricos, se han desarrollado con el objeto de calcular algunas propiedades moleculares y satisfacer adecuadamente sólo alguno de los requerimientos mencionados. Por tanto, las conclusiones de los mecanismos de reacción deben ser tratadas con un cierto grado de precaución.

La teoría y el análisis de los esquemas de cálculo de la química cuántica han sido explicados con detalle en gran número de libros¹⁴⁵ y artículos monográficos¹⁴⁶. En esta sección únicamente vamos a dar un ligero repaso de los principios para la construcción de los métodos más importantes de la química cuántica: semiempíricos y *ab initio*.

Otros métodos teóricos como la mecánica molecular no los consideraremos en esta memoria, dado que están enfocados a sistemas mucho más grandes que los que tratamos de estudiar y consecuentemente son más inexactos.

Para considerar las alternativas disponibles, resulta de gran utilidad hacer una clasificación de las técnicas que han sido desarrolladas. En términos generales, éstas se pueden dividir en dos clases: I) *ab initio*, y II) semiempíricas. Mientras que muchas de las características de ambos tipos de métodos son similares, la diferencia fundamental estriba en la forma de tratar los términos que aparecen en las diferentes ecuaciones. En concreto, los métodos *ab initio* calculan todos los términos utilizando técnicas numéricas y/o analíticas con una precisión limitada sólo por el programa y/o el ordenador utilizados. Los métodos semiempíricos utilizan datos experimentales u otros criterios para asignar o descartar ciertos términos de las fórmulas.

III. 6. 2. MÉTODOS *AB INITIO*

Los métodos quimicocuánticos *ab initio* tratan de resolver la ecuación de Schrödinger con el mínimo de aproximaciones posibles, y utilizando datos no empíricos. Ello no significa que este tipo de métodos sea exacto, ya que raramente disponemos de la suficiente capacidad de cálculo para alcanzar la solución exacta. Sin embargo, la característica fundamental que distingue los métodos *ab initio* del resto es que son potencialmente exactos y que, dentro de éstos, existe una bien definida jerarquía de métodos y algoritmos para converger al resultado exacto. Esto significa que para el usuario de un programa *ab initio* es posible mejorar un resultado si eleva el nivel del cálculo adecuadamente, contrariamente con lo que ocurre en los métodos semiempíricos, cuyas mejoras dependen del autor del programa. Otro hecho distintivo de los métodos *ab initio* es la generalidad. En principio son capaces de describir cualquier estado de cualquier molécula, y de calcular una amplia variedad de propiedades moleculares. Obviamente, en la práctica la potencia del ordenador sigue constituyendo un límite. Otro punto que cabe mencionar es que todos los programas *ab initio* dan la misma respuesta a un problema dado, siempre que éste sea capaz de hacer el particular tipo de cálculo (existe un gran número de técnicas *ab initio* y no siempre todas están incluidas en un programa). No obstante, y pese a la serie de ventajas que estamos enumerando, el punto débil de estos métodos es la gran cantidad de tiempo de cálculo que requieren; son mucho más lentos que los semiempíricos. Aun considerando el progresivo desarrollo de ordenadores y programas, probablemente sea ésta la etapa limitante en la aplicación de los métodos *ab initio* para la resolución de problemas químicos.

La dificultad esencial de la ecuación de Schrödinger radica en los términos de interacción electrón-electrón: la energía potencial depende de $1/r_{ij}$, donde r_{ij} es la separación entre los electrones i y j , y hay muchos términos de este tipo en los átomos polielectrónicos. Es inútil esperar encontrar soluciones

analíticas, pero existen actualmente técnicas computacionales poderosas que dan soluciones numéricas detalladas y fiables para las funciones de onda y las energías. El esquema fue introducido en un principio por Douglas Hartree y modificado posteriormente por Vladimir Fock para incluir la indistinguibilidad de los electrones individuales. A grandes rasgos, el procedimiento Hartree-Fock para el cálculo de un átomo polielectrónico, como por ejemplo el átomo de sodio, es el siguiente: la aproximación orbital sugiere la configuración $1s^2 2s^2 2p^6 3s^1$, con los orbitales aproximados por orbitales atómicos hidrogenoides correspondientes a diferentes cargas nucleares efectivas (los electrones internos experimentan una carga nuclear mayor que los externos porque están menos apantallados). Considérese a continuación el electrón $3s$. Puede escribirse una ecuación de Schrödinger para este electrón asignándole una energía potencial, debida tanto a la atracción nuclear como a las repulsiones electrónicas de los electrones distribuidos en sus orbitales aproximados. Esta ecuación se resuelve para Ψ_{3s} (utilizando técnicas de integración numérica), obteniendo una solución que será diferente de la solución supuesta inicialmente. El procedimiento se repite para otro orbital, como el Ψ_{2p} : en primer lugar, la ecuación de Schrödinger se escribe en la forma de la ecuación inicial, pero para el término de repulsión electrón-electrón se utiliza ahora el orbital Ψ_{3s} mejorado. La ecuación se resuelve entonces numéricamente, obteniendo una versión mejorada del orbital Ψ_{2p} . El procedimiento se repite para los orbitales $2s$ y $1s$ utilizando cada vez los orbitales mejorados hallados en la etapa anterior. Después se repite todo el procedimiento utilizando los orbitales mejorados y se obtiene un segundo conjunto de orbitales mejorados. El ciclo se repite hasta que los orbitales y las energías obtenidas difieran insignificadamente de las utilizadas para iniciar el ciclo anterior. Las soluciones son entonces autoconsistentes (SCF) y se aceptan como soluciones del problema.

Todos los métodos *ab initio* empiezan por el cálculo de las energías y la función de onda de una molécula con una geometría específica. La mayoría de ellos trabajan con la teoría de orbitales moleculares (OM), cuya aproximación está basada en la suposición de que a cada electrón le corresponde un orbital

$\phi_i\alpha$ o $\phi_i\beta$ (donde ϕ_i es la función de las coordenadas espaciales y α ($m_s = 1/2$) o β ($m_s = -1/2$) son las funciones de las coordenadas de spin). La forma más sencilla para una función de onda es la SCF también conocida como de Hartree-Fock (HF). La función de onda completa para un sistema polielectrónico Ψ , en la aproximación de HF se escribe como el determinante de Slater, cuyo aspecto es coherente con las propiedades de antisimetría de una función de onda requeridas por el principio de Pauli para la permutación de cualquier par de electrones:

$$\psi(1,2,\dots,2n) = [(2n)!]^{-1/2} \begin{vmatrix} \phi_1(1)\alpha(1) & \phi_1(1)\beta(1) & \dots & \phi_n(1)\beta(1) \\ \phi_1(2)\alpha(2) & \phi_1(2)\beta(2) & \dots & \phi_n(2)\beta(2) \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ \phi_1(2n)\beta(2n) & \phi_1(2n)\beta(2n) & \dots & \phi_n(2n)\beta(2n) \end{vmatrix} \quad (3.31)$$

La función de onda 3.31 corresponde al conocido método restringido de HF para capa electrónica cerrada cuando $2n$ electrones están localizados en n pares de OM con spines diferentes. Los OM se desarrollan como combinaciones lineales de funciones de base u orbitales atómicos (CLOA), donde éstos, χ_j , centrados en cada átomo, se utilizan como una expansión de funciones de base:

$$\phi_i = \sum_j C_{ji} \chi_j \quad (3.32)$$

Los coeficientes C_{ji} de esta expansión se obtienen de resolver la ecuación de Roothaan, ecuación 3.33;

$$\sum_{j=1}^N C_{ji} (F_{jk} - \epsilon_i S_{jk}) = 0 \quad (3.33)$$

donde F_{jk} es el operador de Fock (ecuación 3.39) y S_{jk} la integral de solapamiento entre los orbitales atómicos χ_j y χ_k .

Para sistemas moleculares caracterizados por ser de capa abierta, la función de onda no se representa correctamente por una aproximación

monodeterminantal, ecuación 3.31, sino por una combinación lineal de determinantes de Slater con todas las posibles combinaciones de electrones desapareados. No obstante, para radicales y para los estados energéticos más bajos, la función de onda se puede escribir por medio de un solo determinante.

Los tipos de funciones de onda SCF son los siguientes:

1.- RHF de capa cerrada (Restricted Hartree-Fock)¹⁴⁷: todos los orbitales están doblemente ocupados:

$$\psi = |\phi_1^2 \phi_2^2 \phi_3^2 \dots \phi_n^2| \quad (3.34)$$

2.- UHF (Unrestricted Hartree-Fock)¹⁴⁸: todos los orbitales están ocupados por un electrón,

$$\psi = |\phi_1^\alpha \phi_2^\beta \phi_3^\alpha \phi_4^\beta \dots \phi_n^\alpha| \quad (3.35)$$

3.- ROHF o de capa abierta de spin alto¹⁴⁹: algunos orbitales están doblemente ocupados y algunos por un solo electrón, siempre con el mismo spin,

$$\psi = |\phi_1^2 \phi_2^2 \dots \phi_n^2 \phi_{n+1}^\alpha \dots \phi_m^\alpha| \quad (3.36)$$

Dependiendo del problema que deseemos resolver deberemos utilizar la función de onda que mejor describe el sistema.

Una vez descrito en qué consiste el procedimiento SCF para un átomo, y los tipos de funciones moleculares que podemos emplear, los pasos básicos de un cálculo SCF para un sistema molecular, si bien pueden ser alterados deliberadamente por el usuario del programa, son:

- 1.- Obtener una geometría de la molécula. Normalmente de resultados espectroscópicos.
- 2.- Elegir un conjunto de base (que explicaremos en detalle más adelante).
- 3.- Realizar el cálculo en el ordenador, que consiste en:

- 3.1.- Evaluar y almacenar todas las integrales monoeléctricas y bielectricas. Las primeras;

$$h_{ij} = \langle \chi_i | h | \chi_j \rangle \quad (3.37)$$

representan la energía cinética de los electrones y el potencial de atracción entre los electrones y los núcleos. Las bielectricas;

$$\langle ij | kl \rangle = \iint \chi_i(1)\chi_j(1) \frac{1}{r_{12}} \chi_k(2)\chi_l(2) d\tau_1 d\tau_2 \quad (3.38)$$

representan las interacciones repulsivas entre los electrones.

- 3.2.- Realizar una estimación de la función de onda.
3.3.- Calcular el operador de Fock

$$F_{ij} = h_{ij} + \sum_k (2\langle ij | kl \rangle - \langle ik | jl \rangle) D_{kl} \quad (3.39)$$

donde D_{kl} son los términos de la matriz de densidad. Esta expresión se suele escribir en forma matricial.

- 3.4.- Diagonalizar el operador de Fock para obtener una mejor estimación de los orbitales moleculares y la matriz de densidad.
3.5.- Repetir los pasos 3.3 y 3.4 hasta converger bajo un criterio preestablecido.

Incluso considerando que los programas SCF han sido desarrollados hasta el punto que son prácticamente automáticos, muchos factores pueden hacer que el cálculo no termine correctamente. Por ejemplo, la solución iterativa puede no converger (algo que resulta cada vez menos frecuente dado el desarrollo en técnicas de convergencia), o puede converger a un estado electrónico diferente al deseado (situación no tan infrecuente). Si el SCF es el primer paso de un estudio más elaborado, por ejemplo la optimización de una geometría o un cálculo de las frecuencias de vibración, al partir de un estado incorrecto o de una geometría demasiado lejos de la de convergencia, el cálculo puede requerir

un consumo de tiempo excesivo. Con el objeto de controlar el buen desarrollo de éste, un indicador de que algo no funciona correctamente puede ser el estudio de los orbitales moleculares; el hecho de que no tengan la simetría esperada o la diferencia de energías entre el HOMO y el LUMO sea muy pequeña son síntomas de cálculos incorrectos. No obstante, en sistemas con carga positiva puede darse el caso de que el LUMO tenga una energía orbital negativa.

Los cálculos SCF dan una sencilla y casi automática descripción de una molécula. La solución es razonablemente precisa para estructuras cercanas al equilibrio. Particularmente, distancias de enlace de moléculas de capa cerrada en el estado fundamental son correctamente estimadas (con errores no superiores al 1%), así como cierto tipo de diferencias de energía. Sin embargo, pocas propiedades más se pueden calcular con una estimación por debajo del 10% de error, entre ellas las frecuencias armónicas, distribución de carga o momentos dipolares. Por otro lado, muchas funciones de onda SCF de capa cerrada pueden fallar incluso a nivel cualitativo al describir, por ejemplo, una disociación molecular: en lugar de reproducir $A-B \rightarrow A + B$, con frecuencia dan $A-B \rightarrow A^+ + B^-$. El resultado es un aspecto de la curva de potencial erróneo:

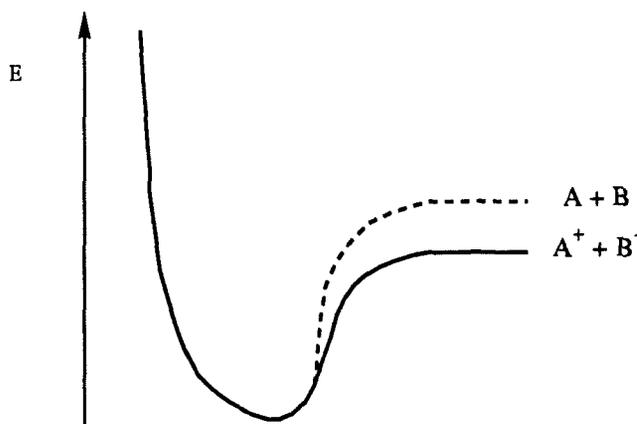


Figura 3.12. Representación esquemática de la disociación de una molécula AB

La curva es demasiado pronunciada incluso en las proximidades del equilibrio, lo que provoca una sobreestimación de las frecuencias vibracionales. Ello significa necesariamente que las energías de enlace serán erróneas. Los cálculos SCF generan energías correctas de AB, y de A y B separadamente, pero la curva que une los estados iniciales y finales se desvía de la correcta resolución. Por contra, los cálculos UHF tienen la ventaja de que por regla general dan una descripción correcta de las disociaciones. Sin embargo, para la mayoría de moléculas de capa cerrada cerca de las posiciones de equilibrio, la energía de un cálculo UHF y la de un RHF son iguales, por tanto las frecuencias vibracionales, distribución de carga o propiedades eléctricas, son las mismas. Para sistemas de capa abierta, y de capa cerrada lejos del equilibrio, la función de onda UHF no es una correcta función propia de spin. Esto significa que no se puede calcular un estado particular sino una mezcla de estados. Por otro lado, en el punto donde la curva de energía potencial UHF y la solución capa cerrada SCF se hacen diferentes hay un cambio de pendiente hacia resultados erróneos. Si una función de onda UHF está seriamente contaminada por estados de spin diferentes, los resultados que de ella se extraigan serán poco fiables.

Un factor limitante en los cálculos SCF es la evaluación y particularmente el almacenamiento de integrales. Para sistemas grandes esto significa que los discos duros se pueden llenar rápidamente. Una posible solución que ha sido implementada en varios programas es el DIRECT SCF¹⁵⁰. Este tipo de método no almacena integrales, las evalúa en cada interacción y, no obstante, no consume tanto tiempo como a primera vista cabría imaginar, ya que el número de éstas que deben ser evaluadas para una molécula grande no aumenta tan rápidamente. Así, mientras para sistemas pequeños, si hay n funciones de base el SCF viene descrito como un proceso n^4 (todo el esfuerzo crece con respecto a la cuarta potencia del tamaño del sistema) en moléculas grandes el hecho de que la mayoría de interacciones sean de corto rango hace que la escala sea del orden de $n^2(\log n)^2$. Esto significa que los programas SCF de las últimas generaciones (algunos de ellos incluyen técnicas de vectorización que los hacen

incluso más rápidos) permiten cálculos de sistemas más grandes a una velocidad mayor de la esperada.

La mejora de un cálculo SCF puede ser enfocada hacia dos direcciones: 1.- aquéllas que se pueden llevar a cabo cuando el SCF ofrece una descripción cualitativamente correcta, y 2.- mejoras que deben realizarse cuando el SCF no da ni tan siquiera resultados cualitativos aceptables.

En el primer caso el refinamiento del cálculo va destinado a obtener resultados más exactos. Métodos que pertenecen a esta clase son los métodos de interacción de configuración¹⁵¹ (CI) o los basados en la teoría perturbacional¹⁵² (Moller Plesset o MBPT), y los métodos coupled-cluster¹⁵³. En el segundo caso, es necesario utilizar cálculos de multiconfiguración MCSCF. Éstos son más difíciles y existen pocos programas que los ofrezcan. Entre otros están el GAMES o las últimas versiones del GAUSSIAN, el cual posee un tipo particular de MCSCF conocido como CASSCF (Complete Active Space SCF)¹⁵⁴. Debemos hacer hincapié en el hecho de que si un cálculo SCF no resuelve el problema particular, los métodos semiempíricos tampoco serán adecuados dado que son métodos parametrizados SCF (como veremos en la sección siguiente).

Los métodos CI o de interacción de configuraciones¹⁵¹ utilizan funciones de onda que se generan haciendo excitaciones desde la función de onda SCF. Éstas pueden ser tanto sencillas,

$$\psi_i^a = |\phi_1^2 \phi_2^2 \dots \phi_i^\alpha \phi_a^\beta \dots \phi_n^2| \quad (3.40)$$

en la que el par ϕ_i^α es reemplazado por $\phi_i^\alpha \phi_a^\beta$, o dobles excitaciones como,

$$\psi_{ij}^{ab} = |\phi_1^2 \phi_2^2 \dots \phi_i^\alpha \phi_a^\beta \phi_j^\alpha \phi_b^\beta \dots \phi_n^2| \quad (3.41)$$

en la que dos pares $\phi_i^\alpha \phi_j^\alpha$ son reemplazados por $\phi_i^\alpha \phi_a^\beta \phi_j^\alpha \phi_b^\beta$.. La función de onda total será entonces una combinación lineal de excitaciones. La función de onda CISD consiste en sustituciones dobles y sencillas por lo que se puede escribir como:

$$\psi_{CI} = C_0 \psi_{SCF} + \sum_{i,a} t_i^a \psi_i^a + \sum_{i,j,a,b} t_{ij}^{ab} \psi_{ij}^{ab} \quad (3.42)$$

Los coeficientes t_i^a y t_{ij}^{ab} se elijen de manera que minimicen la energía. El peso de la función de onda SCF, C_0 , como parte de la función de onda total, se fija por el hecho de que ésta debe ser normalizada. Es posible incluir excitaciones de más alto orden (triples o cuádruples) y, si se hicieran todas las sustituciones posibles, la función de onda resultante sería una interacción de configuraciones completa, Full-CI. Ésta es la mejor función de onda que se puede obtener para un conjunto de base determinado, y si éste es lo suficientemente grande representaría la solución "exacta" a la ecuación de Schrödinger no relativista. Desafortunadamente estos cálculos sólo son posibles para sistemas muy pequeños. En un cálculo MCSCF tanto los pesos de las configuraciones como los orbitales moleculares son modificados simultáneamente.

La teoría de perturbaciones de Moller-Plesset¹⁵² se expresa también en términos de excitaciones, pero los pesos de éstas son determinados en base a la teoría perturbacional en lugar de la variacional, lo que la hace mucho más rápida que los cálculos CI. La perturbación es la diferencia entre el Hamiltoniano verdadero y el operador de Fock:

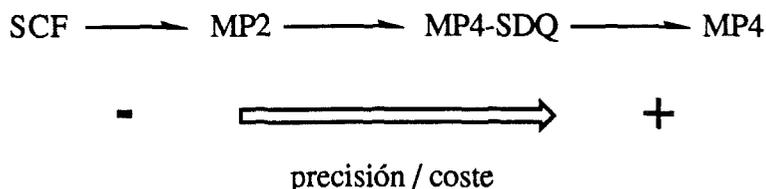
$$\begin{aligned} H_0 &= \sum_i F_i & H_1 &= H - H_0 \\ E &= E_0 + E_1 + E_2 + E_3 + \dots & E_0 + E_1 &= E_{SCF} \end{aligned}$$

En consecuencia, la perturbación recobra la diferencia entre el promedio de las interacciones electrón-electrón inherente al método SCF, y los movimientos que surgen de las interacciones instantáneas, también electrón-electrón. La ecuación para la energía en la teoría de perturbaciones de segundo orden, MP2, es bastante sencilla y, en términos de integrales bielectrónicas entre orbitales moleculares resulta:

$$E_{MP2} = \frac{1}{4} \sum_{ijab} \frac{\langle ij || ab \rangle^2}{E_a + E_b - E_i - E_j} \quad (3.43)$$

Hay términos de orden superior, MP3¹⁵⁵, MP4¹⁵⁶, etc. MP2 contiene dobles excitaciones desde la función de onda SCF, MP3 contiene excitaciones dobles y triples, y MP4 incluye hasta excitaciones cuádruples. Esta última, si se aproxima despreciando las excitaciones triples recibe el nombre de MP4-SDQ¹⁵⁷.

Para muchas moléculas, MP2 es con mucho la corrección más sofisticada posible, y con un conjunto de bases suficientemente grande puede proporcionar alrededor del 75-90% de la energía de correlación. Incluso con un conjunto de base de tamaño medio se obtiene por encima del 50% del efecto de la correlación. La serie de energías MBPT tiende a oscilar un poco y en muchos sistemas las contribuciones MP3 y MP4-SDQ se cancelan, por lo cual es un buen argumento para no ir más allá de la MP2, a menos que se requiera una gran precisión, en cuyo caso es preferible pasar de MP2 a MP4-SDQ o MP4, sin parar en cálculos MP3. Éste es un ejemplo de una de las jerarquías de la metodología de las aproximaciones *ab initio*:



Esquema 3.4

Las dos aproximaciones estudiadas, CI y MP2, si se aplican en circunstancias favorables corrigen muchos de los defectos de la función de onda SCF, mejorando resultados de geometrías, frecuencias, distribución de carga, energías de enlace, etc... También proporcionan mejoras en descripciones de propiedades como polarizabilidad y derivadas del momento dipolar, así como predicciones de intensidades de espectros de infrarrojos.

El método de perturbaciones MP2 es relativamente económico, tal vez aumenta en un 50% el costo del cálculo. Por contra, los métodos de interacción de configuración CI pueden ser mucho más costosos, dependiendo el tiempo de

cálculo del número de configuraciones, que a su vez depende del número de electrones que uno decide incluir en el proceso CI. La escala de consumos de tiempo de CPU para un cálculo SCF hemos visto que es del orden de n^4 (ó $n^2(\log n)^2$ para moléculas grandes), siendo n el número de funciones de base, los cálculos MP2 son del orden de $(n^2 \text{ orbitales ocupados}) \times n^4$; MP3, CISD y MP4-SDQ vienen dados por n^6 ; y MP4 por n^7 . Los métodos de correlación crecen con una proporción de n^6 donde n es el número de orbitales importantes en lugar del número total de funciones de base. Los orbitales de core y los orbitales virtuales más altamente excitados no contribuyen sustancialmente a muchos de los problemas químicos y por tanto en determinadas situaciones pueden ser congelados. Por último, cabe recordar que ambos métodos, MP2 y CI, no corrigen completamente rasgos cualitativos incorrectos de un cálculo SCF.

El otro tipo de correcciones a la función de ondas SCF consiste en los métodos Coupled-Cluster¹⁵³. Para mantener la notación compacta definiremos un operador T_2 , el cual al actuar sobre una función SCF produce el conjunto de todas las excitaciones dobles:

$$T_2 \psi_{SCF} = \sum_{i,j,a,b} t_{ij}^{ab} \psi_{ij}^{ab} \quad (3.44)$$

Considerando dos sistemas A y B, y la molécula producida por la unión de ambas AB, si utilizamos una función de onda SCF más todas las dobles excitaciones, la función de onda para el sistema A y para el B serán:

$$\psi^A = (1 + T_2^A) \psi_{SCF}^A \quad \psi^B = (1 + T_2^B) \psi_{SCF}^B \quad (3.45)$$

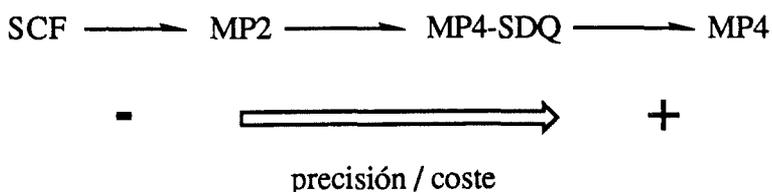
y a grandes distancias, donde los subsistemas interactúan muy débilmente, la función de onda para el sistema completo sería:

$$\psi^{AB} = (1 + T_2^A)(1 + T_2^B) \psi_{SCF}^A \psi_{SCF}^B \quad (3.46)$$

No obstante, si utilizáramos un método CI la función de onda para el sistema combinado sería:

Hay términos de orden superior, MP3¹⁵⁵, MP4¹⁵⁶, etc. MP2 contiene dobles excitaciones desde la función de onda SCF, MP3 contiene excitaciones dobles y triples, y MP4 incluye hasta excitaciones cuádruples. Esta última, si se aproxima despreciando las excitaciones triples recibe el nombre de MP4-SDQ¹⁵⁷.

Para muchas moléculas, MP2 es con mucho la corrección más sofisticada posible, y con un conjunto de bases suficientemente grande puede proporcionar alrededor del 75-90% de la energía de correlación. Incluso con un conjunto de base de tamaño medio se obtiene por encima del 50% del efecto de la correlación. La serie de energías MBPT tiende a oscilar un poco y en muchos sistemas las contribuciones MP3 y MP4-SDQ se cancelan, por lo cual es un buen argumento para no ir más allá de la MP2, a menos que se requiera una gran precisión, en cuyo caso es preferible pasar de MP2 a MP4-SDQ o MP4, sin parar en cálculos MP3. Éste es un ejemplo de una de las jerarquías de la metodología de las aproximaciones *ab initio*:



Esquema 3.4

Las dos aproximaciones estudiadas, CI y MP2, si se aplican en circunstancias favorables corrigen muchos de los defectos de la función de onda SCF, mejorando resultados de geometrías, frecuencias, distribución de carga, energías de enlace, etc... También proporcionan mejoras en descripciones de propiedades como polarizabilidad y derivadas del momento dipolar, así como predicciones de intensidades de espectros de infrarrojos.

El método de perturbaciones MP2 es relativamente económico, tal vez aumenta en un 50% el costo del cálculo. Por contra, los métodos de interacción de configuración CI pueden ser mucho más costosos, dependiendo el tiempo de

cálculo del número de configuraciones, que a su vez depende del número de electrones que uno decide incluir en el proceso CI. La escala de consumos de tiempo de CPU para un cálculo SCF hemos visto que es del orden de n^4 (ó $n^2(\log n)^2$ para moléculas grandes), siendo n el número de funciones de base, los cálculos MP2 son del orden de $(n^2 \text{ orbitales ocupados}) \times n^4$; MP3, CISD y MP4-SDQ vienen dados por n^6 ; y MP4 por n^7 . Los métodos de correlación crecen con una proporción de n^6 donde n es el número de orbitales importantes en lugar del número total de funciones de base. Los orbitales de core y los orbitales virtuales más altamente excitados no contribuyen sustancialmente a muchos de los problemas químicos y por tanto en determinadas situaciones pueden ser congelados. Por último, cabe recordar que ambos métodos, MP2 y CI, no corrigen completamente rasgos cualitativos incorrectos de un cálculo SCF.

El otro tipo de correcciones a la función de ondas SCF consiste en los métodos Coupled-Cluster¹⁵³. Para mantener la notación compacta definiremos un operador T_2 , el cual al actuar sobre una función SCF produce el conjunto de todas las excitaciones dobles:

$$T_2 \psi_{SCF} = \sum_{i,j,a,b} t_{ij}^{ab} \psi_{ij}^{ab} \quad (3.44)$$

Considerando dos sistemas A y B, y la molécula producida por la unión de ambas AB, si utilizamos una función de onda SCF más todas las dobles excitaciones, la función de onda para el sistema A y para el B serán:

$$\psi^A = (1 + T_2^A) \psi_{SCF}^A \quad \psi^B = (1 + T_2^B) \psi_{SCF}^B \quad (3.45)$$

y a grandes distancias, donde los subsistemas interactúan muy débilmente, la función de onda para el sistema completo sería:

$$\psi^{AB} = (1 + T_2^A)(1 + T_2^B) \psi_{SCF}^A \psi_{SCF}^B \quad (3.46)$$

No obstante, si utilizáramos un método CI la función de onda para el sistema combinado sería:

$$\psi_{CI}^{AB} = (1 + T_2) \psi_{SCF}^{AB} = (1 + T_2^A + T_2^B) \psi_{SCF}^{AB} \quad (3.47)$$

La ecuación 3.47, cuando las interacciones se hicieran muy débiles tendería a:

$$\psi_{CI}^{AB} = (1 + T_2^A + T_2^B) \psi_{SCF}^A \psi_{SCF}^B \quad (3.48)$$

Este es un ejemplo de las deficiencias de los métodos CI. Si la molécula se divide en subunidades la función de onda CI debería describir con igual precisión a éstas y al sistema combinado. Esto no es cierto para las funciones de onda CI, pero se cumple para la serie de Moller-Plesset y para las funciones de coupled-cluster, CC, que son de la forma:

$$\psi_{CC}^A = e^{T_2^A} \psi_{SCF}^A \quad ; \quad \psi_{CC}^B = e^{T_2^B} \psi_{SCF}^B \quad (3.49)$$

y para el sistema combinado:

$$\psi_{CC}^{AB} = e^{T_2} \psi_{SCF}^{AB} = (e^{T_2^A + T_2^B}) \psi_{SCF}^{AB} \longrightarrow \psi_{CC}^A \cdot \psi_{CC}^B \quad (3.50)$$

Una forma más general sería CCSD¹⁵⁸, donde se considera las excitaciones sencillas y dobles

$$\psi_{CCSD} = e^{T_1 + T_2} \psi_{SCF} \quad (3.51)$$

donde T_1 genera las excitaciones sencillas y T_2 las dobles. Hay también varias aproximaciones a las funciones de onda CC, como por ejemplo CI cuadráticas (QCI)^{159a} ó el método funcional coupled-pair (CPF)^{159b}. Una de las tendencias de los últimos años en química computacional ha ido en sentido contrario a los métodos CI, los cuales no suelen proporcionar una precisión mayor que los MP2 a pesar de ser más costosos. En este sentido, los métodos CC, siendo unas dos veces más costosos, proporcionan resultados más exactos. La razón de la tendencia al desuso de los métodos CI es que los CC proporcionan mejores estimaciones de varias propiedades, particularmente energías de enlace, pero también estructuras y frecuencias de vibración.

Si buscamos resultados de gran precisión, las funciones de onda SCF son prácticamente siempre insuficientes, e incluso hay situaciones donde tienen dificultades incluso para obtener resultados cualitativamente correctos. Una descripción SCF asume un par de electrones con un esquema de acoplamiento de spin fijo y, sin embargo, en muchas reacciones este esquema cambia en el transcurso del proceso químico. Por ejemplo, en términos de orbitales atómicos: en diferentes etapas de la reacción los diferentes orbitales están acoplados de forma desigual. Raro es el caso en que una descripción SCF proporciona una exacta descripción de la energía del camino de reacción desde reactivos a productos a través del ET. No obstante, reactivos y productos pueden ser bien resueltos separadamente, lo que supondría un valor de la energía de reacción razonable y un buen punto de partida para abordar la localización del ET. Es importante citar que según comprobaron Levy y Perdew¹⁶⁰, para formalismos aproximados como los Hartree-Fock, el cambio en el error de las energías, cuando la geometría se altera, es cero debido al término de perturbaciones de segundo orden en Hamiltonianos coulombianos. Esto significa que las energías absolutas son, por regla general, irreales, mientras que los valores de los resultados de las geometrías suelen ser satisfactorios.

La exacta descripción de una SEP necesita de métodos multiconfiguracionales MCSCF, aunque ello requiere un alto coste y extremo cuidado en su uso. Los métodos UHF son frecuentemente utilizados para el estudio de reacciones ya que dan una mejor aproximación que los SCF de capa cerrada. No obstante, no son completamente satisfactorios debido a problemas de contaminación de spin. Con todo, tienen el mérito de ser mucho más sencillos que los MCSCF, y es posible añadir un método de correlación como el MP2 para obtener mejores resultados. Varios intentos se han llevado a cabo para mejorar la teoría UHF, por ejemplo incluyendo operadores de proyección de spin para restar las contribuciones de otros estados, pero aun siendo prometedor no es todavía concluyente.

En ocasiones resulta obvio que no es necesario llevar a cabo cálculos muy sofisticados para determinados estudios. Si se realiza un cálculo CI utilizando

como referencia una función SCF, el primer coeficiente, C_0 , nos dará el peso de la configuración SCF en la función total,

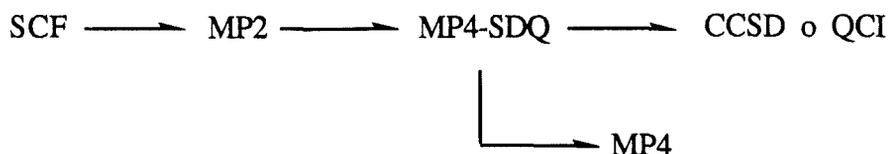
$$\psi_{CI} = C_0 \psi_{SCF} + \sum t_i^a \psi_i^a + \sum t_{ij}^{ab} \psi_{ij}^{ab} \quad (3.52)$$

Las propiedades dependen del cuadrado de la función de onda, por lo que si C_0 vale 0.95 la función SCF representará alrededor del 90% de la función total. Cantidades similares son definibles para MP2 y el resto de métodos. Si C_0 es mayor o igual a 0.90, la función de onda SCF es cualitativamente correcta, y se puede obtener resultados cuantitativos aceptables si se utilizan técnicas perturbacionales (MP2) o de interacción de configuraciones (CI) basadas en los orbitales SCF. Si C_0 es menor que 0.90, la función de onda SCF es probablemente insuficiente como base para el cálculo.

En la práctica el empleo de técnicas MP2 aumentan del orden de un 50% el tiempo inicial de cálculo (SCF) para un conjunto de base dado. Sin embargo, debido a que MP2 y el resto de métodos de correlación trabajan mejor con bases grandes, se elige preferiblemente una base superior para cálculos post-SCF, lo que constituye la razón principal del incremento del costo computacional. MP2 se consolida como el método de correlación más económico ya que los resultados se ven mejorados notablemente. En una molécula donde la descripción SCF inicial sea razonable, MP2 con una buena base puede producir entre el 75-90% de la energía de correlación. El problema precisamente es; en primer lugar que el método MP2 se basa en una teoría de perturbaciones y ello supone que solo funcionará bien si la estructura inicial SCF es razonable. En segundo lugar, es un método de pares de electrones independientes por lo que cada par está correlacionado separadamente. En situaciones en las que existan fuertes interacciones entre pares de electrones, tales como triples enlaces, se deberá utilizar una técnica más precisa.

Las otras técnicas que incluyen correlación electrónica, CISD ó CC, son métodos más costosos siendo el cargo adicional proporcional al número de iteraciones. Este costo se traduce en tiempo de CPU, ya que los requerimientos de espacio en disco duro siguen siendo proporcionales a n^4 (prácticamente igual que los SCF o MP2). Lógicamente, estos métodos son utilizados

únicamente cuando se necesita cálculos de gran precisión en sistemas moleculares que deberán ser pequeños. El sentido de precisión podemos establecerlo en el diagrama del esquema 3.5:



Esquema 3.5

Las situaciones en las que CI todavía se emplean son en el estudio de estados excitados, ya que los métodos CC y la teoría de perturbaciones sólo pueden explicar el estado excitado más bajo de energía de una simetría dada.

Otro problema cuya resolución depende del usuario de un programa de cálculo cuántico es la elección de coordenadas cartesianas o coordenadas internas para describir el sistema. Aunque en principio no afecta en la geometría final, puede influir en la velocidad de convergencia. Así, el número de pasos que se requiere para una optimización puede ser pequeño si se parte de una buena geometría. Esto se puede conseguir haciendo un cálculo previo con una base pequeña, o también utilizando métodos semiempíricos. No obstante, no debemos olvidar que la velocidad de convergencia depende también del tamaño del sistema y de la topología de la SEP.

Como hemos anticipado en la ecuación 3.32, los OM vienen descritos por una combinación lineal de OA. En química computacional éstos se desarrollan como funciones de base en términos de gaussianas;

$$(x - X_A)^l (y - Y_A)^m (z - Z_A)^n e^{-\alpha(r - R_A)^2} \quad (3.53)$$

o funciones de tipo Slater;

$$r^n e^{-\alpha r} Y_{lm}(\theta, \phi) \quad (3.54)$$

Estas últimas no son utilizadas tan frecuentemente, aunque de hecho no porque den peores resultados, sino porque las integrales bielectrónicas resultan ser muy difíciles de calcular y consumen más tiempo de CPU.

Las funciones gaussianas contraídas o comprimidas son combinaciones lineales fijas de gaussianas individuales. Estas combinaciones son aproximadamente orbitales atómicos y se obtienen a partir de resultados de cálculos atómicos SCF.

El conjunto de funciones de base mínimo resulta cuando el número de funciones de base para un átomo es igual al número de orbitales atómicos ocupados en dicho átomo. Esta afirmación no es estrictamente cierta en sistemas en los que los orbitales p están parcialmente ocupados, ya que se incluyen las tres funciones p (p_x , p_y , p_z). La base mínima más comunmente utilizada es la STO-3G. Esta notación significa que cada orbital atómico está representado por una combinación lineal de tres gaussianas primitivas, elegidas de forma que simulan un orbital de Slater (STO) de la mejor manera posible. La base mínima no es muy precisa y normalmente, excepto para cálculos preliminares, trataremos de evitarla. Son particularmente ineficaces para estimaciones de ángulos de enlace y frecuencias de vibración, pero los resultados de longitudes de enlace no son excesivamente erróneos.

El conjunto de base de partición de valencia (split-valence) utiliza la descripción mínima de los orbitales de core, pero tiene dos veces el número mínimo para los orbitales de valencia. Por ejemplo, para los átomos de la primera fila del sistema periódico tendríamos: $1s$ $2s$ $2s'$ $2p_x$ $2p_y$ $2p_z$ $2p_x'$ $2p_y'$ $2p_z'$, mientras que en la base mínima teníamos únicamente una función para cada orbital tanto en los orbitales de core ($1s$) como en los de valencia ($2s$ $2p_x$ $2p_y$ $2p_z$). La flexibilidad adicional permite descripciones mucho mejores que la base mínima. Así pues, la diferencia fundamental entre los diferentes tipos de bases es el número de funciones de contacto. Una base 3-21G supone 3 funciones gaussianas para describir el core, 2 para uno de los conjuntos $2s$ ó $2p$, y una para los conjuntos $2s'$ y $2p'$. Sucesivamente, 4-31G representa 4 gaussianas primitivas para describir el core, 3 para uno de los conjuntos $2s$ y $2p$, y una para los $2s'$ y $2p'$. 6-31G sería igual que la base 4-31G pero emplea 6

gaussianas para la descripción del core. Logicamente, la mejor descripción del core se llevará a cabo con la base 6-31G, particularmente por la obtención de las energías.

Otro paso en la descripción de los orbitales es los doble zeta, DZ, que duplica el número de funciones de base en la región del core y en los orbitales de valencia. De esta forma, la primera fila de átomos tendrá 4 funciones s y 2 conjuntos de funciones p. La notación para este tipo de funciones se hace normalmente nombrando el número de funciones para cada centro. Por tanto, DZ es 4s2p para la primera fila de átomos del sistema periódico. Algunas veces la notación representa tanto el número de primitivas como el número de funciones de contacto. Es el caso de la base Dunning-Huzinaga DZ, [9s5p/4s2p], donde la primera parte del corchete significa el número de primitivas. En esta notación 6-31G se escribiría como [10s4p/3s2p].

Las funciones 6-31G* añaden a la base 6-31G una función d a los átomos de la primera fila, mientras que la base 6-31G** supone añadir funciones d a éstos y funciones p al hidrógeno. DZP añade funciones d a la primera fila de átomos, y funciones p al hidrógeno, con base doble como sustrato (DZP= doble zeta + polarización). Las funciones de polarización dan una descripción más flexible de los enlaces, y mejores estructuras tanto a nivel SCF como con métodos de correlación. Las funciones difusas son necesarias para describir estados excitados de carácter Rydberg para describir iones negativos (generalmente requieren funciones difusas s y p).

Bases más extensas como triple zeta (6s3p, 5s3p o 5s4p para la primera fila de átomos) también han sido desarrolladas, siendo 5s4p la mejor de este tipo de combinaciones. Con estas bases se emplea comunmente dos conjuntos de funciones de polarización; 5s4p2d, para átomos de la primera fila, y 3s2p para el H. Este tipo de bases son las que se emplean para estudios de energías y propiedades espectroscópicas, pero normalmente son demasiado costosas para sistemas medianamente grandes (más de 10 o 12 átomos).

Para átomos de la segunda fila del sistema periódico las funciones d son mucho más importantes que para los de la primera fila, y en ocasiones resulta esencial (en compuestos hipervalentes).

III. 6.3. MÉTODOS SEMIEMPÍRICOS

En los cálculos cuánticos basados en métodos *ab initio* la valoración de las integrales de interacción electrónica ($\mu\nu | \lambda\sigma$) requieren aproximadamente el 70% del tiempo total de CPU. En el momento en que el tamaño del sistema molecular aumenta, el número de integrales hemos visto que aumenta proporcionalmente a n^4 , siendo n el tamaño de la base de los orbitales atómicos.

Existen varias posibilidades de abordar este inconveniente. Una de ellas consiste en despreciar un número determinado de las integrales que aparecen en la matriz del operador de Fock, o bien, dado que los orbitales atómicos de core intervienen muy débilmente en la formación de enlaces químicos, congelar los electrones de estos orbitales junto al núcleo. El resultado en ambos casos es una reducción del tiempo de cálculo aproximadamente por un factor de 10.

Finalmente, existe otra posibilidad que supone reemplazar la mayoría de estas integrales por parámetros experimentales (como por ejemplo potenciales de ionización en estados orbitales de valencia) y el uso de varias expresiones aproximadas que incluyen estos parámetros para evaluar las integrales. Los métodos basados en tales aproximaciones son conocidos como métodos semiempíricos.

Prácticamente todos los métodos semiempíricos son métodos de aproximación de valencia; en contraste con los *ab initio*, toman en cuenta únicamente los electrones de valencia y las capas de orbitales atómicos de valencia. La influencia de los electrones del core se incluye en los parámetros empíricos.

El método extendido de Hückel (EHM) desarrollado por Hoffmann^{39b} es el método semiempírico no iterativo más simple. En éste, únicamente las integrales de solapamiento son calculadas exactamente, mientras que los términos del operador de Fock, $F_{\mu\nu}$, son reemplazados por parámetros empíricos.

La otra familia de métodos semiempíricos más ampliamente empleada es la formada por los métodos autoconsistentes SCF, donde las soluciones de la ecuación de Roothaan (ecuación 3.33.) se resuelven de forma iterativa. Los diferentes métodos semiempíricos difieren en los procedimientos de parametrización, así como en el carácter y número de integrales cuyo cálculo es despreciado. El conjunto de parámetros utilizado en cada método depende de la propiedad o propiedades del sistema molecular que ha sido elegido para calibrarlo. El método se diseñará introduciendo unos parámetros tales que reproduzcan correctamente determinadas propiedades medidas experimentalmente.

El método CNDO (complete neglect of differential overlap)^{161a} se basa en la aproximación de solapamiento diferencial nulo, que supone que todos los productos de $\chi_\mu\chi_\nu$ son cero y por tanto $S_{\mu\nu}=\delta_{\mu\nu}$. El método CNDO/2 adopta algunas variantes de parametrización respecto al CNDO, pero en ambos el conjunto de integrales bielectrónicas y de intercambio de átomos no contiguos se aproxima a cero. Los elementos del operador de Fock tomarán la forma:

$$F_{\mu\mu} = -\frac{1}{2}(I_\mu + A_\mu) + (P_{AA} - Z_A) \quad (3.55)$$

donde μ pertenece al átomo A

$$F_{\mu\nu} = \frac{1}{2}(\beta_A^0 + \beta_B^0)S_{\mu\nu} - \frac{1}{2}\rho_{\mu\nu}\gamma_{AB} \quad (3.56)$$

siendo μ y ν orbitales atómicos y A y B los átomos; I_μ y A_μ son el potencial de ionización y la afinidad electrónica del orbital respectivamente; γ_{AA} y γ_{AB} son las integrales de repulsión que son calculadas exactamente con orbitales de tipo Slater para cada orbital atómico.

El parámetro de calibración es la integral de resonancia β_A^0 que depende únicamente del tipo de átomo A. Se elige de tal forma que asegure el correcto orden de niveles de energía de la OM ocupados y que los coeficientes de expansión en la combinación lineal de orbitales atómicos coincida con los cálculos *ab initio* utilizando la base única de los OA.

Los mejores resultados del método CNDO/2 se obtienen en los cálculos de distribuciones electrónicas y propiedades relacionadas con el cálculo de éstas, como momentos dipolares. En la misma línea, el método describe mejor aquellos sistemas en los que las interacciones electrostáticas predominan sobre los enlaces covalentes.

Los métodos de la familia MINDO se basan en la aproximación INDO propuesta por Pople^{161b}. A diferencia de la aproximación CNDO, la INDO está caracterizada por la inclusión en la ecuación de constantes de fuerza de las integrales de intercambio para un mismo átomo [$\mu\nu | \lambda\sigma$] cuando los O.A. μ y ν pertenecen al mismo átomo.

La parametrización de los métodos MINDO, de los que MINDO/3^{161c} es el más importante, es diferente de la CNDO/2. Los parámetros empíricos introducidos en el operador de Fock con interacciones de dos centros, se eligen de forma que reproduzcan las características experimentales (geometría, calor de formación, P.I., etc...) de un gran número de compuestos estandar de la mejor forma posible. El número total de parámetros en el método MINDO/3 para el H y los elementos del segundo periodo llega hasta 102. El resultado se traduce en una evaluación satisfactoria de calores de formación, barrera de activación y espectros vibracionales para compuestos que contienen H, C, N, y O. No obstante, existen también importantes defectos como sobreestimación en ángulos de enlace, estabilidad de pequeños ciclos, mala descripción de enlaces por puentes de hidrógeno, y en virtud de su parametrización subestiman interacciones de átomos que no están a una distancia de enlace covalente.

El método MNDO¹⁶² está basado en la aproximación NNDO^{161d} que en el operador de Fock toma en cuenta las integrales de repulsión electrónica que incluyen los solapamientos de un centro. Las integrales [$\mu\mu | \nu\nu$] entre cualquier par de orbitales de los átomos A y B no están aproximadas por las correspondientes integrales sobre orbitales, S, sino que se calcula por las correspondientes funciones orbitales (χ_μ, χ_ν). Una ventaja importante del MNDO sobre el MINDO/3 consiste en el rechazo de la parametrización de la integral de resonancia $\beta_{\mu\nu}$ de acuerdo con el tipo de enlace y una transición a la relación

$$\beta_{\mu\nu} = S_{\mu\nu}(I_{\mu} + I_{\nu})f(R_{AB}) \quad (3.57)$$

Consecuentemente, aunque el número de integrales de interacción interelectrónica de varios tipos aumenta apreciablemente, el número total de parámetros de los elementos del segundo periodo se reduce de 102 del MINDO/3 a 41. Con este método los tiempos de CPU resultan 1.5 veces más largos que con el MINDO/3 pero normalmente ofrece mejores resultados. No obstante, las desventajas siguen siendo prácticamente las mismas: incapacidad de describir enlaces de hidrógeno, sobreestimación de las barreras de activación. La parametrización del MNDO cubre los elementos del primer al tercer periodo, todos los halógenos y muchos de los metales presentes en compuestos organometálicos (Zn, Hg, Sn, Pb, ó Ge). Por otro lado no debemos olvidar que una aproximación monodeterminantal como ésta, por definición, no es capaz de reproducir correctamente reacciones de rotura de enlaces¹⁶³. En estos casos, se ha incluido la energía de correlación en un esquema conocido como MNDOC¹⁶⁴ introducido por Thiel en el que la corrección de la correlación se calcula explícitamente por la teoría de perturbación de segundo orden con la fórmula de Epstein-Nisbet^{165,166}.

El método AM1(Austin Model 1)¹⁶⁷ es uno de los últimos esquemas semiempíricos. Fué desarrollado bajo la dirección del profesor Dewar y, como el método MNDO, está basado en la aproximación NNDO. Al margen de la original parametrización MNDO, el método AM1 difiere de éste en que la función

$$E_{AB} = Z_A Z_B \gamma_{AB}^{SS} [1 + f(R_{AB})] \quad (3.58)$$

es reemplazada por una nueva función multiparamétrica de la energía de repulsión de core:

$$E_{AB} = Z_A Z_B \gamma_{AB}^{SS} [1 + f_A(R_{AB}) + f_B(R_{AB})] \quad (3.59)$$

La introducción de la ecuación 3.59 permite notables mejoras en la descripción de enlaces de hidrógeno y energías de activación, y en general los resultados respecto al método MNDO se aproximan más a los obtenidos con los métodos *ab initio*.

Por último, el método PM3¹⁶⁸ desarrollado por Stewart y colaboradores está basado igualmente en la aproximación NNDO y difiere principalmente del método AM1 en la parametrización. Sus resultados pueden ser comparables, en principio, a los obtenidos por el AM1, aunque su relativamente reciente aparición obliga a prudentes comparaciones (que realizaremos en el presente trabajo).

III. 7. PROGRAMAS Y ORDENADORES

Los cálculos realizados para la obtención de los resultados que presentamos en esta memoria han requerido una gran cantidad de tiempo de CPU y una constante optimización de los medios. Los cálculos se han llevado a cabo, casi en su totalidad, en el cluster de workstations Hewlett-Packard del Centre de Procés de Dades de la Universitat Jaume I. Se trata de estaciones de trabajo HP de la serie 9000 modelo 930 que trabajan a 24 MFLOPS (linkpack 100X100) y 76 MIPS. El enorme trabajo de INPUT/OUTPUT requerido se ha optimizado con un BUS SCSI-II y utilizando técnicas de disk striping, consiguiendo una velocidad de transferencia de 2.7 MB/s. La memoria RAM empleada ha sido de 48 MB por máquina.

Algunos cálculos de la sección IV.I se realizaron en el ordenador IBM 3090/164 del Centre d'Informàtica de la Universitat de Valencia y en el CRAY XMP 14 SE de Construcciones Aeronáuticas S.A.

Los programas de cálculo utilizados han sido el MOPAC 5.0⁹³, el MONSTERGAUSS⁹⁴ y los de la serie GAUSSIAN; GAUSSIAN 88, GAUSSIAN 90 y GAUSSIAN 92⁹⁵. Todos estos programas los hemos implementado y optimizado, en colaboración con el personal del Centre de Procés de Dades de esta Universidad, en el cluster de workstations HP. Desde un punto de vista académico, este trabajo ha sido la base de la asignatura "Química Computacional" desarrollada en los estudios de Tercer Ciclo de nuestro Departamento

III. 8. REFERENCIAS

- [1] M. M. Kreevoy y D. G. Truhlar: *Techniques of Chemistry*; Wiley: New York, 1986; Vol. 6.
- [2] D. G. Truhlar; W. L. Hase y J. T. Hynes *J. Phys. Chem.* , 2664, **87**, 1983.
- [3] T. H. Dunning; L. B. Harding; A. F. Wagner; G. C. Shatz y J. M. Bowman *Science* , 453, **240**, 1988.
- [4] H. S. Johnston: *Gas Phase Reaction Rate Theory*; Ronald Press: New York, 1966.
- [5] S. Glasstone; K. Laidler y H. Eyring: *The Theory of Rate Processes*; McGraw-Hill: New York, 1941.
- [6] J. L. Kurz *J. Am. Chem. Soc.* , 987, **85**, 1963.
- [7] R. Wolfenden *Nature* , 704, **223**, 1969.
- [8] R. Wolfenden *Acc. Chem. Res.* , 10, **5**, 1972.
- [9] G. E. Lienhard *Annu. Rep. Med. Chem.* , 249, **7**, 1972.
- [10] G. E. Lienhard *Science* , 163, **180**, 1973.
- [11] W. P. Jencks: *Advances in Enzymology and Other Related Areas of Molecular Biology*; Wiley: New York, 1975; Vol. 43.
- [12] D. E. Koshland Jr y K. E. Neet *Annu. Rev. Biochem.* , 359, **37**, 1968.
- [13] R. Wolfenden y L. Frick: *Enzyme Mechanisms*; Royal Society of Chemistry: London, 1987.
- [14] A. H. Zewail *Science* , 1645, **242**, 1988.
- [15] A. Zewail: *The Chemical Bond. Structure and Dynamics*; Academic Press, Inc.: San Diego, 1992.
- [16] C. B. Moore y C. Weisshaar *Ann. Rev. Phys. Chem.* , 525, **34**, 1983.
- [17] R. Götting; H. R. Mayne y J. P. Toennies *J. Chem. Phys.* , 6396, **85**, 1986.
- [18] M. Born y J. Oppenheimer *Ann. Physik* , 427, **84**, 1927.
- [19] P. W. Atkins: *Quanta*; Oxford University Press: Oxford, 1992.

- [20] H. Eyring y M. Polanyi *Z. Phys. Chem. Abt. B.* , 279, **12**, 1931.
- [21] F. London *Z. Elektrochem* , 552, **35**, 1929.
- [22] K. Fukui *J. Phys. Chem.* , 4161, **74**, 1970.
- [23] K. Fukui *Acc. Chem. Res.* , 363, **14**, 1981.
- [24] M. V. Besilevski , *Chem. Phys.*, 337, **67**, 1982.
- [25] D. G. Truhlar y B. C. Garrett *Acc. Chem. Res.* , 440, **13**, 1980.
- [26] W. H. Miller; N. C. Handy y J. E. Adams *J. Chem. Phys.* , 99, **72**, 1980.
- [27] E. Kraka y T. H. J. Dunning: *Advances in Molecular Electronic Structure Theory: The Calculations and Characterization of Molecular Potentials Energy Surfaces*; JAI Press, Inc.: Greenwich, C.N., 1989.
- [28] V. I. Minkin; B. Y. Simkin y R. M. Minyaev: *Quantum Chemistry of Organic Compounds*, Springer-Verlag: New York, 1990.
- [29] R. W. Stanton y J. V. McIver *J. Am. Chem. Soc.* , 3632, **97**, 1975.
- [30] J. W. J. MacIver *Acc. Chem.* , 72, **7**, 1974.
- [31] R. Fletcher: *Practical Methods of Optimization*; New York, 1981.
- [32] L. E. Scales: *Introduction to Non-linear Optimization*; Ney York, 1985.
- [33] B. D. Bunday: *Basic Optimization Methods*; Edward Arnold Press: 1984.
- [34] S. S. Shaik; H. B. Schlegel y S. Wolfe: *Theoretical Aspects of Physical Organic Chemistry*; John Wiley & Sons, Inc.: New York, 1992.
- [35] G. S. Hammond *J. Am. Chem. Soc.* , 334, **77**, 1955.
- [36] R. G. Pearson *Theor. Chim. Acta* , 107, **16**, 1970.
- [37] R. G. Pearson *Acc. Chem. Res.* , 166, **4**, 1971.
- [38] R. G. Pearson *J. Am. Chem. Soc.* , 8287, **94**, 1972.
- [39] a) R. B. Woodward y R. Hoffmann: *The Conservation of Orbital Symmetry*; Academic Press: New York, 1971. b) R. Hoffmann *J. Chem. Phys.*, 1397, **39**, 1963.
- [40] J. Hayami; N. Tanaka; N. Hihara y A. Kaji *Tetrahedron Lett.* , 385-388, 1973.
- [41] R. A. More O'Ferrall *J. Chem. Soc. B* , 274, 1970.
- [42] E. R. Thornton *J. Am. Chem. Soc.* , 2915, **89**, 1967.
- [43] W. P. Jencks *Chem.Rev.* , 705, **72**, 1972.

- [44] W. P. Jencks; S. R. Brandt; J. R. Gandler; G. Fendrich y G. Nakamura *J. Am. Chem. Soc.* , 7045, **104**, 1982.
- [45] W. P. Jencks *Chem. Rev.* , 511, **85**, 1985.
- [46] S. Thea y A. Williams *Chem. Soc. Rev.* , 125, **15**, 1986.
- [47] W. P. Jencks *Acc. Chem. Res.* , 161, **13**, 1980.
- [48] D. J. Cram; F. D. Greene y C. H. DePuy *J. Am. Chem. Soc.* , 790, **78**, 1956.
- [49] J. R. Gandler y W. P. Jencks *J. Am. Chem. Soc.* , 1937, **104**, 1982.
- [50] J. Gandler y T. Yokoyama *J. Am. Chem. Soc.* , 130, **106**, 1984.
- [51] D. A. Winey y E. R. Thornton *J. Am. Chem. Soc.* , 3102, **97**, 1975.
- [52] H. Eyring *J. Chem. Phys.* , 107, **3**, 1935.
- [53] M. G. Evans y M. Polanyi *Trans. Faraday Soc.* , 1340, **32**, 1936.
- [54] J. N. Murrell y K. J. Laidler *Trans. Farad. Soc.* , 371, **64**, 1968.
- [55] J. W. McIver y A. Komornicki *J. Am. Chem. Soc.* , 2625, **94**, 1972.
- [56] J. M. Lluch y J. Bertrán, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, 1419, 1982
- [57] R. P. Bell: *The Proton in Chemistry, 2nd Ed.*; Cornell University Press, Ithaca: New York, 1973.
- [58] M. D. Harmony *Chem. Soc. Rev.* , 211, **1**, 1972.
- [59] J. W. McIver *Acc. Chem. Res.* , 72, **7**, 1974.
- [60] P. Scharfenberg *J. Comp. Chem.* , 277, **3**, 1982.
- [61] H. B. Schlegel *J. Comp. Chem.* , 214, **3**, 1982.
- [62] O. Tapia y J. Andrés *Chem. Phys. Letters* , 471, **109**, 1984.
- [63] M. Sana *Int. J. Quant. Chem.* , 139, **21**, 1981.
- [64] D. C. Comeau; R. J. Zellmer y I. Shavitt: *Geometrical Derivatives of Energy Surfaces and Molecular Properties*; D. Reidel, NATO-ASI Ser. C166,243: 1986.
- [65] T. A. Halgren y W. N. Lipscomb *Chem. Phys. Lett.* , 225, **49**, 1977.
- [66] U. Burkert y N. L. Allinger *J. Comp. Chem.* , 40, **3**, 1982.
- [67] K. Müller y L. D. Brown *Theor. Chim. Acta* , 75, **53**, 1979.
- [68] M. V. Basilevsky y A. G. Shamov *Chem. Phys.* , 347, **60**, 1981.
- [69] M. J. S. Dewar; E. F. Healy y J. J. P. Stewart *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 2* , 227, **80**, 1984.

- [70] C. J. Cerjan y W. H. Miller *J.Chem.Phys.* , 2800, **75**, 1981.
- [71] J. Simons; P. Jorgensen; H. Taylor y J. Ozment *J. Phys. Chem.* , 2745, **87**, 1983.
- [72] A. Banerjee; N. Adams; J. Simons y R. Shepard *J. Phys. Chem.* , 52, **89**, 1985.
- [73] J. Baker *J. Comput. Chem.* , 385, **7**, 1986.
- [74] A. Komornicki; K. Ishida; K. Morokuma; R. Ditchfield y M. Conrad *Chem. Phys. Lett.* , 595, **45**, 1977.
- [75] M. J. D. Powell *Comput. J.* , 303, **7**, 1965.
- [76] H. B. Schlegel *J. Comp. Chem.* , 214, **3**, 1982.
- [77] D. Poppinger *Chem.Phys.Lett.* , 550, **35**, 1975.
- [78] S. Bell; J. Crighton y R. Fletcher *Chem. Phys. Letters* , 122, **82**, 1981.
- [79] J. M. McKelvey y J. F. Hamilton *J.Chem.Phys.* , 579, **80**, 1984.
- [80] H. B. Schlegel: *New Theoretical Concepts in Understanding Organic Reactions*; Kluwer Publications: Dordrecht, 1989; Vol. C267.
- [81] R. W. Stanton y J. V. McIver *J. Am. Chem. Soc.* , 3632, **97**, 1975.
- [82] J. Andrés; V. Moliner; J. Krechl y E. Silla *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* , 521, 1993.
- [83] J. C. Slater y N. H. Frank *Mechanics*; McGraw Hill: New York, 1947.
- [84] L. Salem: *Electrons in Chemical Reactions*; Wiley-Interscience: New York, 1982.
- [85] M. C. Flanigan; A. Komornicki y J. W. McIver: *Modern Theoretical Chemistry*; Plenum Press: London, 1977; Vol. 8.
- [86] D. G. Truhlar y B. C. Garrett *Acc. Chem. Res.* , 440, **13**, 1980.
- [87] W. H. Miller; N. C. Handy y J. E. Adams *J. Chem. Phys.* , 99, **72**, 1980.
- [88] W. P. Huskey y R. L. Schowen *J.Am.Chem.Soc.* , 5704, **105**, 1983.
- [89] N. B. Colthup; L. H. Daly y S. E. Wiberley: *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy*; Academic Press: New York, 1975.
- [90] G. Herzberg: *Infrared and Raman Spectra of Polyatomic Molecules*; Princeton: New Jersey, 1945.
- [91] Rinaldi *Q. C. P. E.* , 290, **11**, 1975.

- [92] I. H. Williams en School of Chemistry, University of Bristol: Bristol BS8 1TS, 1988.
- [93] a) J. P. Stewart *J. Comput. Chem.* , 209, **10**, 1989. b) J. P. Stewart QCPE 560: QCPE Bull, 9, 1989.
- [94] M. R. Peterson y R. A. Poirier en University of Toronto, 1983.
- [95] Gaussian 92, Revision A: M. J. Frisch; M. Head-Gordon; G. W. Trucks; J. B. Foresman; H. B. Schlegel; K. Raghavachari; M. A. Robb; J. S. Binkley; C. Gonzalez; D. J. Defrees; D. J. Fox; R. A. Whiteside; R. Seeger; C. F. Melius; J. Baker; R. L. Martin; L. R. Kahn; J. J. P. Stewart; S. Topiol y J. A. Pople en GAUSSIAN, Inc: Pittsburgh PA, 1992.
- [96] D. F. McIntosh; K. H. Michaelian y M. R. Peterson *Can. J. Chem.* , 1289-1295, **56**, 1978.
- [97] E. B. J. Wilson; J. C. Decius y P. C. Cross *Molecular Vibrations*; Dover: New York, 1980.
- [98] L. Melander y W. H. Saunders *Reaction Rates of Isotopic Molecules*; Krieger Publishing Company, FL: 1987.
- [99] M. J. S. Dewar y G. P. Ford *J. Am. Chem. Soc.* , 8343, **99**, 1977.
- [100] M. J. S. Dewar y Y. Yate-Ching *J. Am. Chem. Soc.* , 2095, **112**, 1990.
- [101] S. Gabbay y H. S. Rzepa *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* , 671, **78**, 1982.
- [102] B. G. Hutley; A. E. Mountain; I. H. Williams; G. M. Maggiora y R. L. Schowen *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* , 267, 1986.
- [103] M. Saunders; K. E. Laidig y M. Wolfsberg *J. Am. Chem. Soc.* , 8989, **111**, 1989.
- [104] J. P. Jones y J. L. Urbauer *J. Comp. Chem.* , 1134, **12**, 1991.
- [105] J. H. Richards: *The enzymes*; Academic Press: New York, 1970; Vol. II.
- [106] J. F. Kirsch *Ann. Rev. Biochem.* , 205, **42**, 1973.
- [107] J. Bigeleisen y M. Wolfsberg *Adv. Chem. Phys.* , 15, **1**, 1958.
- [108] L. Melander *Isotope Effects on Reaction Rates*; Ronald: New York, 1960.
- [109] H. S. Johnston: *Gas Phase Reaction Rate Theory*; Ronald Press: New York, 1966.

- [110] J. Bigeleisen *J. Chem. Phys.* , 675, **17**, 1949.
- [111] J. Bigeleisen y M. Wolfsberg *Adv. Chem. Phys.* , 15, **1**, 1958.
- [112] J. P. Klinman: *Transition States of Biochemical processes*; Plenum Press: New York, 1978, pp 168.
- [113] C. G. Swain; E. C. Stivers; J. F. J. Reuwer y L. J. Schaad *J. Am. Chem. Soc.* , 5885, **80**, 1958.
- [114] H. Simon y D. Palm *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* , 920, **5**, 1966.
- [115] P. F. Cook; J. S. Blanchard y W. W. Cleland *Biochemistry.*, 4853, **19**, 1980.
- [116] V. J. J. Shiner y J. S. J. Humphrey *J. Am. Chem. Soc.* , 2416-2419, **85**, 1963.
- [117] W. Jencks: *Catalysis in Chemistry and Enzymology*; McGraw-Hill: New York, 1969.
- [118] J. J. Katz y H. L. Crespi :*Isotope Effects in Chemical Reactions*; Van Nostrand Reinhold: New York, 1970.
- [119] R. L. Schowen: *Transition States of Biochemical Processes*; Plenum: New York, 1978, pp 77-114.
- [120] O. Tapia; R. Cardenas; J. Andrés y F. Colonna-Cesari *J. Am. Chem. Soc.* , 4046, **110**, 1988.
- [121] E. Pai *Curr.Op.Struct.Biol.* , 796, **1**, 1991.
- [122] O. Tapia, J. Andrés y R. Cárdenas, *Chem. Phys. Lett.* 395, **189**, 1992.
- [123] E. S. Amis y F. H. Hinton: *Solvent Effects on Chemical Phenomena*; Academic Press: New York, 1973.
- [124] N. Tanaka; H. Ohtaki y R. Tamamushi: *Ions and Molecules in Solution*; Elsevier: Amsterdam, 1983.
- [125] R. R. Dogonadze; E. Kalman; A. A. Kornyshev y J. Ulstrup *The Chemical Physics of Solvation. Part B: Spectroscopy of Solvation.*; Elsevier: Amsterdam, 1986.
- [126] O. Tapia: *Quantum Theory of Chemical Reactivity*; Reidel: Dordrecht, 1980; Vol. 2.

- [127] U. C. Singh; P. K. Weiner; J. W. Caldwell y P. A. Kollman: *AMBER 3.1*, Department of Pharmaceutical Chemistry, University of California: San Francisco, 1988.
- [128] W. F. van Gunsteren y H. J. C. Berendsen *Groningen Molecular Simulation [GROMOS] Library Manual*; BIOMOS B.V.: Nijenborgh 16, Groningen, The Netherlands, 1987.
- [129] B. R. Brooks; R. E. Bruccoleri; B. D. Olafson; D. J. States; S. Swaminathan y M. Karplus *J. Comput. Chem.* , 187, 4, 1983.
- [130] J. A. C. Rullman y P. T. van Duijnen *Mol. Phys.* , 293, 61, 1987.
- [131] S. Miértus; E. Scrocco y J. Tomasi *J. Chem. Phys.* , 117, 55, 1981.
- [132] R. Bonaccorsi; R. Cimiraglia y J. Tomasi *J. Comp. Chem.* , 567, 4, 1983.
- [133] J. L. Pascual-Ahuir; E. Silla; J. Tomasi y R. Bonacorsi *J. Comput. Chem.* , 778, 8, 1987.
- [134] O. Tapia y G. Johannin *J.Chem.Phys.* , 3624-3635, 75, 1981.
- [135] E. S. Marcos; B. Terry y J. L. Rivail *J. Phys. Chem.* , 4695, 89, 1985.
- [136] D. Rinaldi; M. F. Ruiz-López; M. T. C. Costa y J. L. Rivail *Chem. Phys. Lett.* , 177, 128, 1986.
- [137] O. Tapia; R. Cardenas; J. Andres; J. Krechl; M. Campillo y F. Colonna-Cesari *Int.J.Quantum.Chem.* , 767, 39, 1991.
- [138] I. Tuñón; E. Silla y J. Tomasi *J. Phys. Chem.* , 9043, 96, 1992.
- [139] R. Bonaccorsi; R. Cammi y J. Tomasi *J. Comp. Chem.* , 301, 12, 1991.
- [140] J. L. Pascual-Ahuir y E. Silla *J. Comp. Chem.* , 1047, 11, 1990.
- [141] E. Silla; I. Tuñón y J. L. Pascual-Ahuir *J. Comp. Chem.* , 1077, 12, 1991.
- [142] J. L. Pascual-Ahuir; E. Silla y I. Tuñón en QCPE Program number 554: 1992; pp .
- [143] a) H. Eyring y S. H. Lin: *Physical Chemistry: An Advanced Treatise*; Academic Press: New York, 1975; Vol. 6. b) M. Durán y J. Bertrán *Reports in Molecular Theory*, 57, 1, 1990. c) M. J. S. Dewar *Int. J. Quantum. Chem.*, 427, 44, 1992. d) E. F. Healy *J. Mol. Struct. (Theochem)* , 141, 281, 1993.

- [144] R. D. Levine: *Quantum Mechanics of Molecular Rate Processes*; Charendon Press: Oxford, 1969.
- [145] W. J. Hehre; L. Radom; P. v. R. Schleyer y J. A. Pople: *Ab initio Molecular Orbital Theory*; John Wiley & Sons: New York, 1986.
- [146] E. R. Davidson *Faraday Symp. Chem. Soc.*, 7, **19**, 1984.
- [147] C. C. J. Roothan *Rev. Mod. Phys.*, 69, **23**, 1951.
- [148] J. A. Pople y R. K. Nesbet *J. Chem. Phys.*, 571, **22**, 1959.
- [149] R. McWeeny y G. Dierksen *J. Chem. Phys.*, 4852, **49**, 1968.
- [150] M. Head-Gordon, J. A. Pople y M. J. Frisch *Chem. Phys. Lett.*, 503, **103**, 1988.
- [151] J. A. Pople, J. S. Binkley y R. Seeger *Int. J. Quant. Chem. Symp.* 1, **10**, 1976.
- [152] C. Moller y M. S. Plesset *Phys. Rev.*, 618, **46**, 1934.
- [153] J. A. Pople, R. Krishnan, H. B. Schlegel y J. S. Binkley *Int. J. Quant. Chem.* 545, **14**, 1978.
- [154] a) D. Hegarty y M. A. Robb *Mol. Phys.* 1795, **38**, 1979. b) R. H. E. Eade y M. A. Robb *Chem. Phys. Lett.* 362, **83**, 1981.
- [155] J. A. Pople, R. Seeger y R. Krishnan *Int. J. Quant. Chem. Symp.* 149, **11**, 1977.
- [156] a) R. Krishnan y J. A. Pople *Int. J. Quant. Chem.* 91, **14**, 1978. b) R. Krishnan, M. J. Frish y J. A. Pople *J. Chem. Phys.* 4244, **72**, 1980.
- [157] K. Raghavachari, J. A. Pople, E. S. Replogle y M. Head-Gordon *J. Phys. Chem.* 5579, **94**, 1990.
- [158] a) S. Saebo y J. Almlöf *Chem. Phys. Lett.* 83, **154**, 1989. b) G. D. Purvis y R. J. Barlett *J. Chem. Phys.* 1910, **76**, 1982. c) G. E. Scuseria, C. L. Janssen y H. F. Schaefer, III, *J. Chem. Phys.* 7382, **89**, 1988. d) G. E. Scuseria y H. F. Schaefer, III, *J. Chem. Phys.* 3700, **90**, 1989.
- [159] a) J. A. Pople, M. Head-Gordon y K. Raghavachari *J. Chem. Phys.* 5968, **87**, 1987. b) N. C. Handy, J. A. Pople, M. Head-Gordon, K. Raghavachari y G. W. Trucks *Chem. Phys. Lett.* 185, **164**, 1989.
- [160] M. Levy y J. P. Perdew *J. Chem. Phys.* 4519, **84**, 1986.

- [161] a) G. Segel y J. A. Pople *J. Chem. Phys.*, 3289, 1966. b) J. A. Pople, D. Beveridge y P. Dobosh *J. Chem. Phys.*, 2026, **47**, 1967. c) M. Dewar y W. Thiel *J. Amer. Chem. Soc.*, 4499, **99**, 1977. d) J. A. Pople y D. L. Beveridge: *Approximate molecular orbital theory*; MacGraw-Hill: New York, 1970.
- [162] M. J. S. Dewar y W. Thiel *J. Am. Chem. Soc.* , 4899, **99**, 1977. .
- [163] R. Engelke *Chem. Phys. Lett.* , 165, **83**, 1981.
- [164] W. Thiel *J. Am. Chem. Soc.* , 1413, **103**, 1981.
- [165] P. S. Epstein *Phys. Rev.* , 695, **28**, 1926.
- [166] R. K. Nesbet *Proc. R. Soc. London, Ser. A* , 312, **230**, 1955.
- [167] M. J. S. Dewar; E. G. Zoebisch; E. F. Healy y J. J. P. Stewart *J. Am. Chem. Soc.* , 3902-3909, **107**, 1985.
- [168] J. P. Stewart *J. Comput. Chem.* , 209, **10**, 1989.

IV ***APLICACIONES***

IV.1. BIOTINA

IV. 1. 1. INTRODUCCIÓN

La biotina fue aislada e identificada por primera vez en 1935¹ como un factor de crecimiento. Contrariamente al progreso que en los años 40 se llevó a cabo en el campo de las vitaminas solubles en agua, la funcionalidad de la biotina constituyó un misterio hasta 1959, cuando F. Lynen² y sus colaboradores de Múnich observaron que la bacteria β -metil-crotonil-CoA carboxilasa, carboxilaba la (+)-biotina en ausencia de su sustrato natural CoA-tioester

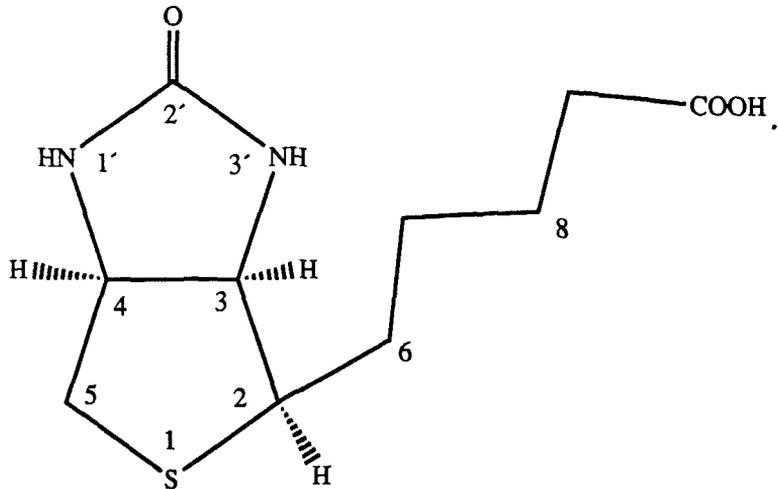


Figura 4.1.- (+)-biotina

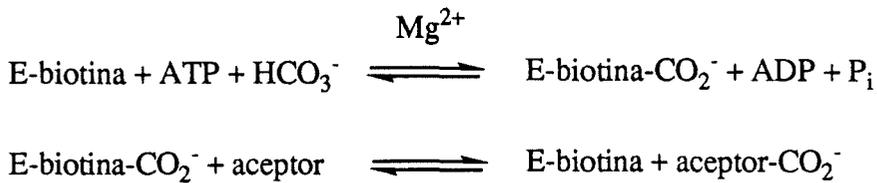
La biotina, o vitamina H en los humanos, es un cofactor esencial para un gran número de enzimas con diversas funciones metabólicas. Casi una docena de diferentes enzimas, entre ellos la acetil-CoA carboxilasa, piruvato carboxilasa, propionil-CoA carboxilasa, urea carboxilasa o oxaloacetato descarboxilasa, utilizan la biotina como cofactor. La biotina sirve como enlace covalente portador de CO_2 para reacciones en las que éste se fija a un aceptor por la carboxilasa. Entonces este grupo carboxilo, en una reacción independiente, puede ser transferido desde el sustrato aceptor a un nuevo sustrato aceptor por mediación de las transcarboxilasas, o el grupo carboxilo puede ser extraído como CO_2 por las descarboxilasas.

Trabajos recientes de rayos X sobre la forma activa (+) revelan que los dos anillos están fusionados de una forma cis, y los hidrógenos de los tres carbonos asimétricos están dispuestos también de igual manera. La estructura muestra que el $\text{N}_{3'}$ del grupo ureido está impedido para reaccionar por la cadena del ácido valérico; la distancia entre el $\text{N}_{3'}$ y el C_6 es de 2.8 Å. Por lo tanto, la reacción de transferencia de CO_2 tiene lugar a través de la formación reversible de la $\text{N}_{1'}$ -carboxibiotina.

El átomo de S puede ser oxidado a sulfóxido o a sulfona con facilidad, ambas con actividad biológica. La destiobiotina, un precursor biosintético de la

biotina en el cual el átomo de S es reemplazado por un metileno (-CH₂-), o la oxibiotina, en la que un átomo de oxígeno ocupa ésta posición, son biológicamente activos para muchos organismos³. Consecuentemente, el átomo de S no parece ser imprescindible para el mecanismo de reacción de la biotina.

En 1965 Lynen⁴ comprobó que el ión ¹⁴C-bicarbonato es un sustrato mejor que el ¹⁴CO₂ libre, siendo incorporado mucho más rápidamente a los productos. El ATP y el metal Mg(II) son también esenciales para que tenga lugar esta transformación. Existen evidencias de que la reacción catalizada por la biotina tiene lugar en dos etapas:



Esquema 4. 1

El paso inicial supone la formación del complejo enzimático carboxi-biotinilo. En el segundo paso, el grupo carboxilo se transfiere desde este complejo a un sustrato aceptor apropiado, dependiendo la naturaleza de éste del enzima específico. En las transcarboxilasas el ATP no es necesario dado que el sustrato no es el ión HCO₃⁻, sino un carbonato activado.

Estas transformaciones bioquímicas ocurren en un complejo multienzimático compuesto de al menos tres proteínas diferentes: la biotina portadora (M=22000 u.m.a.), la biotina carboxilasa (M=100000 u.m.a.) y la biotina transferasa (M=90000 u.m.a.). En 1971, J. Moss y M. D. Lane⁵ propusieron un modelo para la acetil-CoA carboxilasa de la E. coli donde el papel fundamental de la biotina en la catálisis era transferir el CO₂ fijado entre dos subcentros. Consecuentemente, reacciones catalizadas por una biotina carboxilasa, tienen lugar a través de un complejo enzimático carboxilado en el cual el grupo prostético biotinilo, enlazado covalentemente, actúa como un portador carboxílico entre dos centros catalíticos separados.

Esquemáticamente, el centro de la biotina carboxilasa cataliza la carboxilación del grupo prostético biotinilo en la proteína portadora. Siguiendo la translocalización del grupo funcional carboxilado del centro de la carboxilasa al centro de la carboxil transferasa, la transformación ocurre desde la CO_2 -biotina al acetil-CoA. Presumiblemente, la (+)-biotina libre puede tener acceso al centro de carboxilación debido a que el grupo prostético es adherido a la proteína portadora a través de 14 Å de cadena, y puede oscilar dentro y fuera del centro. Sin embargo, estudios biofísicos sobre la transcarboxilasa que cataliza la transferencia de un grupo carboxilo de metilmalonil Co-A a piruvato muestran que la carboxibiotina se mueve solo 7 Å durante la transferencia de CO_2 .⁶ Así, el papel del "largo brazo" sería el permitir al grupo carboxílico transferido alcanzar las tres subunidades y ser localizado entre el coenzima A y el centro pirúvico.

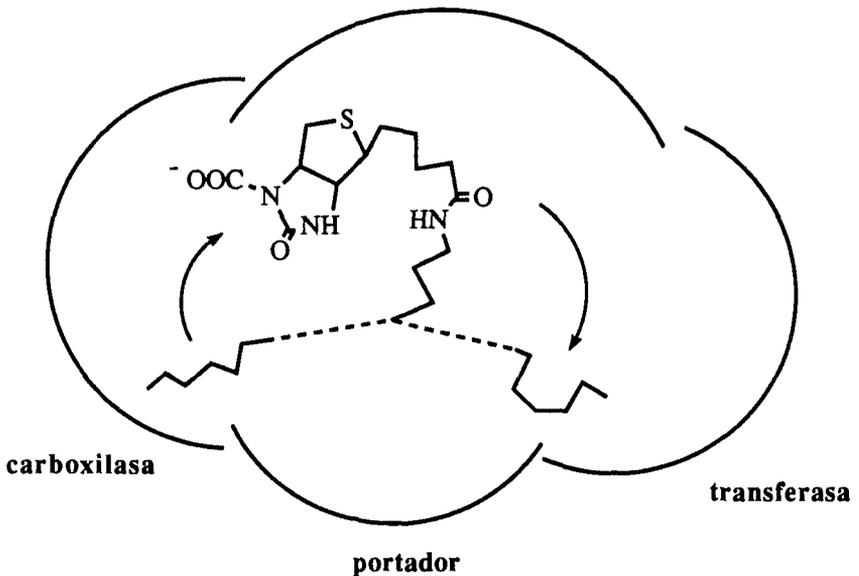


Figura 4.2.- Representación esquemática del acetil-CoA carboxilasa de la *E. coli*.

[J. Moss y M. D. Lane, *Adv. Enzymol.* 385, 35, 1977]

¿Qué tipo de mecanismo químico puede explicar las dos reacciones; carboxilación y transcarboxilación?. Tratando de responder esta pregunta han surgido tres teorías sobre la reactividad de la biotina. En 1962 S. Ochoa⁷ propuso un mecanismo en dos etapas que suponía la activación del ión bicarbonato por el ATP. En 1976 Kluger y Adawadkar⁸ proponían una variación en la que en la primera etapa se formaba una o-fosfobiotina. Por último, en 1977 W. C. Stallings⁹ sugería un tercer mecanismo basado en la intervención de la forma enol de la biotina. Los tres mecanismos están de acuerdo con resultados experimentales, por lo que no se puede descartar ninguna de las tres hipótesis.

En la presente sección vamos a abordar el estudio teórico de la reacción de fijación del CO₂ libre sobre la biotina. Tal como explicamos en el capítulo III, necesitaremos elegir el modelo molecular y el método de cálculo adecuados.

IV. 1. 2. PRIMER MODELO: CO₂ + CH₃NH₂

En una primera aproximación trataremos de ilustrar el uso de los métodos teóricos para la localización, análisis y caracterización de puntos estacionarios en un modelo sencillo de reacción para el estudio del mecanismo de reacción en el centro activo de la biotina, o vitamina H. Así, hemos elegido la reacción de adición del dióxido de carbono, CO₂, a la metilamina, CH₃NH₂, como primera aproximación, basándonos en los estudios experimentales anteriormente citados. Los átomos de carbono y nitrógeno de la metilamina de nuestro modelo se corresponderían con el C₂· y N₁· de la estructura completa; figura 4.1. El tamaño relativamente pequeño de nuestro sistema nos permite estudiar la reacción con los métodos teóricos más exactos: *ab initio*. Para ello, deberemos elegir el conjunto de base y el método *ab initio* que describa adecuadamente nuestro sistema en cada una de las etapas de la reacción.

En primer lugar, localizaremos los puntos estacionarios de la SEP y estudiaremos el efecto del conjunto de base empleado sobre las estructuras y energías.

MÉTODO DE CÁLCULO

La caracterización exacta del ET se ha llevado a cabo utilizando el algoritmo¹⁰ descrito en el capítulo III con la subrutina VA05¹¹ desde estructuras de la zona cuadrática del punto de silla de la SEP. El vector de transición¹² se determinó diagonalizando la matriz de constantes de fuerza (ec. 3.19). El criterio de convergencia para las optimizaciones se estableció cuando el gradiente promedio de longitudes se había reducido a valores inferiores a 5×10^{-4} mdyn.

Todos los cálculos se han realizado utilizando el programa MONSTERGAUSS (referenciado en el capítulo III). Los gradientes analíticos de la energía SCF-HF con respecto a los parámetros geométricos internos también han sido calculados utilizando la técnica de minimización OC (optimally conditioned)¹³.

Los conjuntos de base a comparar han sido los siguientes: STO-3G (I), 3-21G (II), 4-21G (III), 4-31G (IV), 6-31G (V), 6-311G (VI) y finalmente 6-31G* (VII), que incluye funciones de polarización para los elementos del segundo periodo; en nuestro caso N, C y O.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La aproximación de gradientes *ab initio* es, como hemos comentado, una herramienta eficiente para la investigación teórica de la SEP, aunque sus resultados pueden llevarnos a unas conclusiones erróneas surgidas de una mala elección del método. La no consideración de la energía de correlación o una inadecuada selección del conjunto de base son dos de los ejemplos más comunes. En este primer paso en el camino hacia el estudio del mecanismo molecular de la biotina, vamos a considerar la evolución de las estructuras y

energías a lo largo del camino de reacción para el modelo de adición del CO_2 sobre la CH_3NH_2 . Los vectores de transición y constantes de fuerza nos permiten decidir qué variables controlan la transformación. La evolución de la distribución electrónica nos ayudará a interpretar los resultados.

Energías de los puntos estacionarios:

En la tabla 4.1 presentamos las energías totales, energías relativas a los reactivos y el gradiente promedio de longitudes sobre todos los grados de libertad de reactivos (R), ET y productos (P).

La energía de activación tradicionalmente conocida como la diferencia de energía entre los reactivos y el ET, y la energía de reacción, o diferencia de energía entre R y P, oscilan entre 45 y 59 kcal/mol y entre -0.8 y -13 kcal/mol, respectivamente. El valor más bajo de la barrera energética se obtiene cuando utilizamos la base mínima, 45 kcal/mol, mientras que la más grande se obtiene con la base 6-31G*; 58.85 kcal/mol. Por otro lado, el valor más grande de la energía de reacción corresponde a los cálculos que emplean base STO-3G, -12.78 kcal/mol, y el más pequeño se da cuando empleamos la base 4-21G; -0.80 kcal/mol.

Un primer análisis de los resultados nos puede hacer reflexionar sobre el hecho de que todos los valores obtenidos de la energía de activación son extraordinariamente altos para reacciones orgánicas que tienen lugar en un medio biológico. Por otro lado, tampoco existe una tendencia progresiva hacia valores menores a medida que mejoramos el conjunto de base. Tanto si observamos las energías de activación, como las energías de reacción, los resultados no pueden ser concluyentes, y no se obtiene ninguna ventaja al ampliar las funciones de base. Suponiendo que el paso desde reactivos al ET implica la formación y rotura de ciertos enlaces químicos, era de esperar que una simple aproximación teórica al problema no nos proporcionaría adecuados valores de las energías. Los exagerados valores de la energía de activación obtenidos se deben a que el sistema no puede estar bien descrito a partir de una