

La cuantificación de los sitios activos en las bases de DNA y RNA utilizando las funciones Fukui condensadas

M. Virginia Popa

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Centro de Investigaciones Químicas,
Km 4.5 Carretera Pachuca-Tulancingo, Pachuca, 42076 Hidalgo, México,
e-mail: virginia.popa@yahoo.com.mx

Recibido el 16 de agosto de 2006; aceptado el 4 de mayo de 2007

En este trabajo se calculan el momento dipolar, las funciones Fukui (FF), tomando en cuenta las cargas de Mulliken y las energías HOMO y LUMO para determinar los sitios activos de las bases de DNA y RNA (adenina, citosina, timina, guanina y uracilo) en fase gaseosa y en presencia del solvente. Se optimizaron las moléculas de DNA y RNA con los niveles de teoría AM1 en fase gas, HF/6-31G, LSDA/6-31++G, B3LYP/LANL2DZ, PBE/6-31++G y para uracilo se ha utilizado MP2/6-31++G, en fase gaseosa y en presencia de solvente ($\epsilon=78.39$) empleando el modelo de continuo polarizable de Tomasi (PCM). El momento dipolar grande inducido en las moléculas es dado por la presencia del solvente y es mayor cuando se introduce la correlación electrónica con PBE (Perdew-Burke-Ernzerhof) y el funcional local LSDA. Los primeros cuatro sitios activos encontrados indistintamente de los niveles de teoría utilizados coinciden con los datos experimentales presentes en la literatura. La diferencia HOMO-LUMO es muy pequeña cuando se utiliza DFT comparado con los métodos AM1, HF/6-31G y MP2/6-31++G. Si se conocen las energías de los orbitales frontera se pueden comparar sus energías con las de otros reactantes para determinar si es posible la existencia de un enlace o no y qué tipo de enlace es.

Descriptor: DNA y RNA bases; funciones Fukui; sitios activos.

In this paper the dipolar moment, the Fukui functions by considering the Mulliken charges and the energies of HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) and LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) are computed in order to determine the most active centers of DNA and RNA (adenine, guanine, cytosine, thymine and uracil), being them in gas phase and the solvent. The DNA and RNA molecules are optimized by using the theory levels AM1 in gas phase, HF/6-31G, LSDA/6-31++G, B3LYP/LANL2DZ, PBE/6-31++G and, for uracil MP2/6-31++G has also been used, in gas phase and the solvent phase ($\epsilon=78.39$) with the Tomasi model of continued polarizable. The larger dipole moment induced on the molecule is due to the presence of the solvent and become even large when the electronic correlation is introduced with the PBE (Perdew-Burke-Ernzerhof) and the local functional LSDA (Local Spin Density Approximation). The first four active sites found indiscriminately of the theory level employed coincide with the experimental data already reported in the literature. The HOMO-LUMO (gap) is small when the DFT (Density Function Theory) is used along with LSDA/6-31++G, comparing this value with the rest levels of theory. If the energies of the frontier orbital are known, then such energy levels can be compared to those of the reactants, making it possible to determine whether a bound exists or not, and if so what type of bound it is.

Keywords: DNA and RNA bases; Fukui function; active site.

PACS: 31.15.Ar; 31.15.Ct; 31.70Dk; 82.39.Pj; 31.90.+s

1. Introducción

La aplicación de las leyes de la física cuántica para el estudio de propiedades moleculares ha surgido como un tema de importancia actual. Ejemplos de esto los encontramos en los espectros RAMAN, el estudio de la polaridad y polarizabilidad, así como en las funciones Fukui (FF) condensadas. Estas últimas se emplean para calcular el índice de reactividad de las moléculas y con ello elucidar los llamados sitios reactivos; es decir los lugares de las moléculas que interactuarían más rápido con alguna sustancia. El conocimiento de los sitios activos de los compuestos químicos ha servido para explicar y predecir los lugares más reactivos en las cadenas de DNA y RNA cuando entran en contacto con compuestos orgánicos cuya acción puede ser cancerígena, anticancerígena, bactericida o virucida. Por lo tanto, con herramientas teóricas como las mencionadas funciones Fukui, es factible estudiar los sitios reactivos de las cadenas de DNA y RNA en bacterias como E.Coli, L. Pneumophila, o de virus como el Cocksie y HIV, y con ello abrir espacios para la creación de bactericidas

y virucidas más eficientes. Las funciones Fukui condensadas se basan en el formalismo de la teoría de los funcionales de la densidad. En la literatura se mencionan diferentes trabajos relacionados con la interacción de los metales con las bases de DNA y RNA, por la capacidad de proveer información acerca de las reacciones que ocurren en los seres vivos, tales como las bacterias mencionadas líneas arriba. En particular, las interacciones base-cation tienen implicaciones en muchos procesos biofísicos importantes, como la estabilización de las hélices de DNA triple y cuádruple. Al respecto se encontraron en la bibliografía cálculos para adenina, timina y uracilo con los iones de Na^+ , Li^+ y K^+ utilizando el nivel de teoría MP2(full)/6-311+G(2d,2p) MP2(full)/6-31G* [1,2]. Para aplicaciones en este campo se pueden mencionar varios trabajos teóricos con metales [3,4] y compuestos orgánicos [5-8]. Específicamente, para guanina se reportan tanto estudios teóricos como experimentales [9-12]. Otro trabajo pone en evidencia la formación de los compuestos citosina- BX_3 (F, Cl) optimizando con el funcional B3LYP y la ba-

se 6-311+G [13]. Asimismo, en la Ref. 14 se reporta N13 como sitio activo, para el complejo adenina- BF_3 y adenina- BCl_3 , optimizados con el nivel B3LYP/6-311+G*. Además del estudio de la interacción con metales, el radical $HO\cdot$ ha recibido mucha atención por su efecto sobre las bases de DNA, pues se presume que dicho radical causa lesiones y alteraciones en los seres vivos [15-17]. Al respecto, se reportó la reacción de la citosina con el radical $HO\cdot$, utilizando DFT/B3LYP/6-31G (d,p) [18]. Por otro lado, las funciones Fukui condensadas y la dureza local se han utilizado como índices locales de reactividad para determinar las reacciones de sustituciones electrofílicas para benceno [19]. También se utilizaron las FF condensadas y las blanduras locales para determinar el tautomerismo enol-ketol [20] y los sitios activos en maleamide [21]. Tomando en cuenta estos antecedentes, el objetivo del presente artículo es mostrar las diferencias en los sitios activos para las bases de DNA y RNA optimizadas tanto en fase gas como en presencia de disolvente. Se emplean seis niveles de teoría y se comparan los resultados del estudio con aquellos encontrados en la literatura. La contribución de este trabajo es la relación del momento dipolar en fase gas y en presencia de disolvente, empleando diferentes niveles de teoría, con los centros reactivos de la molécula. El autor de este artículo no está al tanto de la existencia de cálculos para las funciones Fukui utilizando cargas atómicas, haciendo un análisis de la población de Mulliken [22] con el modelo PCM [23] ni con los funcionales de la densidad LSDA y PBE. En el presente trabajo se analizan los sitios activos obtenidos con las funciones Fukui, empleando las cargas de Mulliken para las bases de DNA y RNA y se ha graficado las energías HOMO y LUMO de los orbitales frontera. Estas bases fueron optimizadas con los siguientes métodos:

- (i) AM1,
- (ii) HF/6-31G,
- (iii) LSDA/6-31++G
- (iv) PBE/6-31++G y
- (v) MP2/6-31++G para uracilo exclusivamente, todos ellos en fase gaseosa y en presencia de disolvente.

Se comparan los resultados obtenidos con los resultados experimentales y teóricos reportados en la literatura. También se calcula el momento dipolar de las moléculas. Finalmente se presenta una discusión sobre la trascendencia de los resultados obtenidos, a la luz de futuras aplicaciones.

2. Fundamentos teóricos

Por su importante contribución para establecer las bases teóricas de la física cuántica para la determinación de la reactividad de compuestos, es posible mencionar los estudios hechos por Pearson, Mulliken y Klopman. En 1963 R.G. Pearson definió y clasificó cualitativamente, basado en datos

experimentales, varios compuestos en ácidos y bases Lewis. Afirmó que los ácidos duros prefieren las bases duras o no polarizables, y que los ácidos blandos prefieren las bases blandas o polarizables [24]. Por otro lado, Mulliken ha desarrollado la teoría covalente para definir ácidos y bases blandos a los que tienen tamaño grande, número de oxidación pequeño y alta polarizabilidad [25,26]. De igual importancia es la contribución de Klopman, quien introdujo la idea de efecto controlado por la carga y efecto controlado en la frontera [27]. Aunque se han empleado extensivamente las teorías arriba mencionadas, todavía se desconocen los lugares más reactivos de un compuesto. Este conocimiento servirá para poder corroborar los datos experimentales y prever las reacciones a nivel molecular. Para ello se emplean las funciones Fukui, propuestas por Parr y Yang. Ellos descubrieron que una reacción es posible si el valor de la función Fukui es grande y se mueve hacia un cambio en el potencial químico electrónico del sistema [28]. En 1986 se definió la función Fukui utilizando la densidad de espín por sus aplicaciones en catálisis y quemisorbción [29]. El incremento de la electrofiliidad y nucleofiliidad en presencia de disolvente se puede determinar utilizando las funciones Fukui [30]. En la Ref. 31 se han hecho cálculos con las funciones Fukui para las bases de DNA en fase gas y en presencia del disolvente utilizando el modelo Onsager y optimizando las bases de DNA y RNA con el nivel $HF/6-31G^{**}$. Sin embargo, cuando se realizan estudios de las propiedades físicas a nivel molecular estando presente un disolvente, una propiedad que debe considerarse es el cambio en el momento dipolar eléctrico de la molécula debido a la presencia del campo eléctrico creado por el disolvente. Por este motivo se ha incluido la influencia del momento dipolar en la función de onda, calculando la ecuación de Schrödinger con el hamiltoniano del sistema e incluyendo el operador del momento dipolar eléctrico. En su expresión clásica, el módulo del momento dipolar eléctrico es la suma del producto de un conjunto de cargas discretas con sus respectivos vectores de posición. En el conjunto mecanocuántico del sistema, el momento dipolar eléctrico se expresa como

$$\mu = \int \psi^{(0)*} \hat{\mu} \psi^{(0)} d\tau, \quad (1)$$

donde $\hat{\mu}$ es el operador momento dipolar eléctrico

$$\hat{\mu} = \sum_i Q_i \hat{\mathbf{r}}_i = \mathbf{i} \hat{\mu}_x + \mathbf{j} \hat{\mu}_y + \mathbf{k} \hat{\mu}_z. \quad (2)$$

Para una molécula el operador momento dipolar eléctrico es

$$\hat{\mu} = \sum_i (e \mathbf{r}_i) + \sum_{\alpha} Z_{\alpha} e \mathbf{r}_{\alpha}, \quad (3)$$

donde r_{α} es el vector desde el origen al núcleo de número atómico Z_{α} , y r_i es el vector para el electrón i . Si los electrones están dispersos en una distribución de carga continua cuya densidad de carga es dada por $\rho(x, y, z)$, entonces el momento dipolar eléctrico es

$$\mu = -e \iiint \rho(x, y, z) \mathbf{r} dx dy dz + e \sum_{\alpha} Z_{\alpha} e \mathbf{r}_{\alpha}. \quad (4)$$

La aplicación del campo distorsiona la función de onda de $\psi^{(0)}$, dando lugar a un momento dipolar eléctrico inducido, además del momento dipolar permanente en fase gas:

$$\mu_{\text{ind}} = \alpha \mathbf{E}, \quad (5)$$

donde α es la polarizabilidad de la molécula y \mathbf{E} es el campo eléctrico [32].

En el modelo continuo (PCM) la cavidad del soluto se define como una distribución de carga $\rho(r)$ en un medio dieléctrico polarizable con permitividad ϵ . En sí la cavidad del soluto se obtiene como el traslape de diferentes esferas. De esta forma se pueden producir formas de cavidades más cercanas a la realidad para moléculas grandes. Se aproxima como muchas cargas puntuales sobre la superficie de la cavidad. La distribución de la carga de superficie se calcula considerando los elementos de superficie ΔS [23]. Se considera el dieléctrico polarizado como una perturbación de la solución de la matriz hamiltoniana y se resuelva otra vez la ecuación de Schrödinger. El potencial eléctrico en la cavidad es la suma de la distribución de carga de la molécula de soluto y de la contribución del dieléctrico polarizado. Para conocer el término de la energía potencial de interacción soluto-disolvente se usa un método numérico. Se realizan ciclos de iteración hasta la convergencia de la carga y el potencial. A diferencia del modelo PCM, en el modelo Onsager, que es el más simple, el soluto ocupa una cavidad esférica de radio a_0 dentro del disolvente. El dipolo en la molécula localizado en el centro de la molécula, inducirá un dipolo en el medio, y el campo eléctrico aplicado por el dipolo del disolvente volverá a interactuar con el dipolo de la molécula, conduciendo a la estabilización del soluto [32]. Todos estos modelos se encuentran implementados en el programa Gaussian 03W rev C.02 y Gauss View 3.09 para visualizar [33].

2.1. Cálculo de la función Fukui

La teoría de frontera equivale a decir que una reacción es favorable en el lugar donde FF (función de Fukui) es grande, o se prefiere la dirección donde el reactante produce un cambio en el potencial químico del sistema electrónico. La función de Fukui se define como [34-36]

$$f(\vec{r}) \equiv \left(\frac{\partial \rho(\vec{r})}{\partial N} \right)_v \equiv \left(\frac{\partial^2 E}{\partial N \partial v(\vec{r})} \right) \equiv \left(\frac{\delta \mu}{\delta v(\vec{r})} \right)_N, \quad (6)$$

donde ρ es la densidad electrónica, N es el número de electrones, μ es el potencial químico y v es el potencial externo producido por los núcleos. La Ec. (3) nos da los tres índices de reacción, como es una función de N , como $E(N)$, la curva tiene discontinuidades. De esta manera tenemos

$$f(\vec{r})^- = \left(\frac{\partial \rho(\vec{r})}{\partial N} \right)_v^-, \quad (7)$$

$$f(\vec{r})^+ = \left(\frac{\partial \rho(\vec{r})}{\partial N} \right)_v^+, \quad (8)$$

$$f(\vec{r})^0 = \left(\frac{\partial \rho(\vec{r})}{\partial N} \right)_v^0, \quad (9)$$

donde $f(\vec{r})^+$ corresponde al ataque nucleofílico, $f(\vec{r})^0$ corresponde al ataque con radicales y $f(\vec{r})^-$ para un ataque electrofílico.

Éstas son las reglas de la teoría clásica del orbital frontera en reacciones químicas. Este método predice la posición de las reacciones electrofílicas como el lugar en la molécula donde la densidad del orbital más alto ocupado (HOMO) es grande y la posición de un ataque nucleofílico es en la posición donde la densidad del orbital más bajo desocupado es mayor [36]. Por otro lado, la densidad electrónica del estado basal $\rho(r)$ en la teoría Kohn-Sham es un funcional del orbital más alto ocupado, ψ_{max} . Para un sistema de $(M + \delta)$ electrones en la teoría de Kohn-Sham en la generalización de Janak's en el límite $\delta \rightarrow 0$ tenemos [37]

$$\rho^+ = \rho[\psi_{M+1}] = \rho[\psi_{LUMO}] \text{ para } \delta > 0,$$

$$\rho^- = \rho[\psi_M] = \rho[\psi_{HOMO}] \text{ para } \delta < 0 \text{ y}$$

$$\rho^0 = \rho[\psi_{M+1}, \psi_M] = \rho[\psi_{LUMO}, \psi_{HOMO}] \text{ para } \delta = 0$$

De la Ec. (3), haciendo la aproximación de diferencias finitas se llegó a las expresiones

$$f(\vec{r})^+ = \rho_{N+1}(\vec{r}) - \rho_N(\vec{r}), \quad (10)$$

$$f(\vec{r})^- = \rho_N(\vec{r}) - \rho_{N-1}(\vec{r}), \quad (11)$$

$$f(\vec{r})^0 = \frac{\rho_{N+1}(\vec{r}) + \rho_{N-1}(\vec{r})}{2}, \quad (12)$$

donde ρ_{N+1} , ρ_N y ρ_{N-1} son las densidades electrónicas de las moléculas (ión) negativas, neutras y positivas, todas teniendo la misma estructura geométrica. Las funciones de Fukui condensadas se obtienen tomando en cuenta la aproximación de las diferencias finitas en la Ec. (3) para el análisis de la población de Mulliken de átomos en moléculas para el j-ésimo átomo en la molécula [35]:

$$f_j^+ \equiv q_j(N+1) - q_j(N), \quad (13)$$

$$f_j^- \equiv q_j(N) - q_j(N-1), \quad (14)$$

$$f_j^0 \equiv \frac{q_j(N+1) - q_j(N-1)}{2}, \quad (15)$$

donde q_j es la población de Mulliken en el j-ésimo lugar en el átomo para especie química neutra (N), aniónica (N+1) y catiónica (N-1), f_j^+ corresponde al ataque nucleofílico, f_j^0 corresponde al ataque con radicales y f_j^- para un ataque electrofílico.

Las funciones de Fukui se definen utilizando las cargas de Mulliken (MPA) y no otros métodos (NPA, NBO), por lo que es impropio utilizar otros métodos en las fórmulas (13), (14) y (15). Asimismo, Bader [38] propuso un criterio de asignación de cargas en términos de las derivadas de la densidad de probabilidad electrónica (AIM). La carga neta sobre el átomo A se define por

$$Q_A = Z_A - \int_{\Omega_A} \rho dV,$$

donde la integración se extiende a la región Ω_A a diferencia del método (MPA) donde se considera la densidad de probabilidad electrónica asociada a cada electrón de la molécula y la carga atómica neta es $q_A = Z_A - N_A$ donde N_A es la suma de las poblaciones brutas, y a su vez se define como la suma de las poblaciones netas y la mitad de la suma de las poblaciones de solapamiento para funciones de base y los posibles pares de funciones de base. Los resultados obtenidos utilizando la teoría de Bader son independientes del método y las bases utilizadas. Es aconsejable utilizarlo para determinar los órdenes de enlace. Ajustando el potencial electrostático molecular (MEP) se pueden obtener de forma razonable las cargas. Se emplea una función de onda molecular para calcular los valores del potencial eléctrico molecular en una parrilla de muchos puntos en la región fuera de la superficie de van der Waals de la molécula. Se sitúa la carga en cada núcleo y se calcula en cada punto de la parrilla el potencial eléctrico molecular aproximado

$$\phi^{approx} \equiv \sum_{\alpha} Q_{\alpha} e / 4\pi\epsilon_0 r_{i\alpha}.$$

Los valores de las cargas varían de forma que se minimice la suma de los cuadrados de las desviaciones $\phi^{approx} - \phi$ en los puntos de la parrilla. El CHelpG en esquema de Breneman [39] tiene la metodología descrita anteriormente y en esquema Merz-Kollman-Singh (MKS) [40] determina el potencial electrostático en puntos seleccionados en conjuntos de esferas concéntricas alrededor de cada átomo. Los dos métodos se utilizan en cálculo de mecánica molecular, por lo que consideramos que no tienen mayor exactitud en cuanto a determinar los centros activos para las moléculas de DNA y RNA utilizando las funciones de Fukui con métodos *ab initio*. Otro método es el análisis de población natural (NPA) que utiliza las ideas relacionadas con los orbitales naturales (NBO) [41] y la carga en cada átomo se reparte entre orbitales atómicos.

Si los efectos de relajación son despreciables [42], y tomando en cuenta la aproximación de "core congelado", nos da en cada uno de los casos $d\rho = d\rho_{valencia}$, tenemos

$$f(\vec{r})^{-} = \rho_{HOMO}(\vec{r}), \quad (16)$$

$$f(\vec{r})^{+} = \rho_{LUMO}(\vec{r}), \quad (17)$$

$$f(\vec{r})^0 = \frac{\rho_{HOMO}(\vec{r}) + \rho_{LUMO}(\vec{r})}{2}, \quad (18)$$

donde ρ_{LUMO} es la densidad del orbital molecular más bajo no ocupado (LUMO) y ρ_{HOMO} es la densidad del orbital molecular más alto ocupado.

La blandura local es una medida directa de la función de Fukui así como lo mencionan Yang y Parr [43], y es el producto de la función de Fukui y la blandura total del sistema.

2.2. Métodos teóricos

Todos los cálculos han sido optimizados con los siguientes niveles:

- (i) AM1 (Austin Model 1, uno de los dos métodos semi empíricos más modernos en uso, debido a Dewar [44,45]),
- (ii) Hartree-Fock con la base 6-31G [46,47], y
- (iii) teoría de los funcionales de la densidad (DFT-Density Functional Theory) para determinar las diferencias en resultados que podrían arrojar sobre los centros activos de las bases adenina, timina, citosina, guanina y uracilo.

Entre los funcionales de la densidad mencionados en la literatura se utilizan tanto el LSDA (la aproximación densidad de espín local), el cual deriva de LDA (la aproximación de densidad local) descrita por Andzelm y Wimmer [48], como el funcional PBE (Perdew-Burke-Ernzerhof) que se basa en la teoría de la aproximación del gradiente generalizado (GGA-Generalized Gradient Approximation) [49,50]. También se ocupará el funcional híbrido con tres parámetros B3LYP, con el conjunto de bases 6-31++G, [51], y LANL2DZ que incluye un pseudopotencial (o ECP) con (10s,5p) y funciones contraídas [3s,2p], [52].

TABLA I. Momento dipolar (debye) de las bases de DNA y RNA.

Niveles de teoría	adenina	citosina	timina	guanina	uracilo
HF/6-31G	2.58	7.99	5.22	7.49	5.29
HF/6-31G ($\epsilon=78.39$)	3.58	11.2	7.09	10.46	7.27
LSDA/6-31++G	2.58	7.30	4.83	7.56	4.90
LSDA/6-31++G ($\epsilon=78.39$)	3.79	11.13	6.99	11.43	7.13
PBE/6-31++G	2.52	7.20	4.82	7.38	4.84
PBE/6-31++G ($\epsilon=78.39$)	3.72	11.03	6.98	11.23	7.07
B3LYP/LANL2DZ	2.62	7.41	4.90	7.46	4.93
B3LYP/LANL2DZ ($\epsilon=78.39$)	3.76	10.86	6.82	7.83	6.93

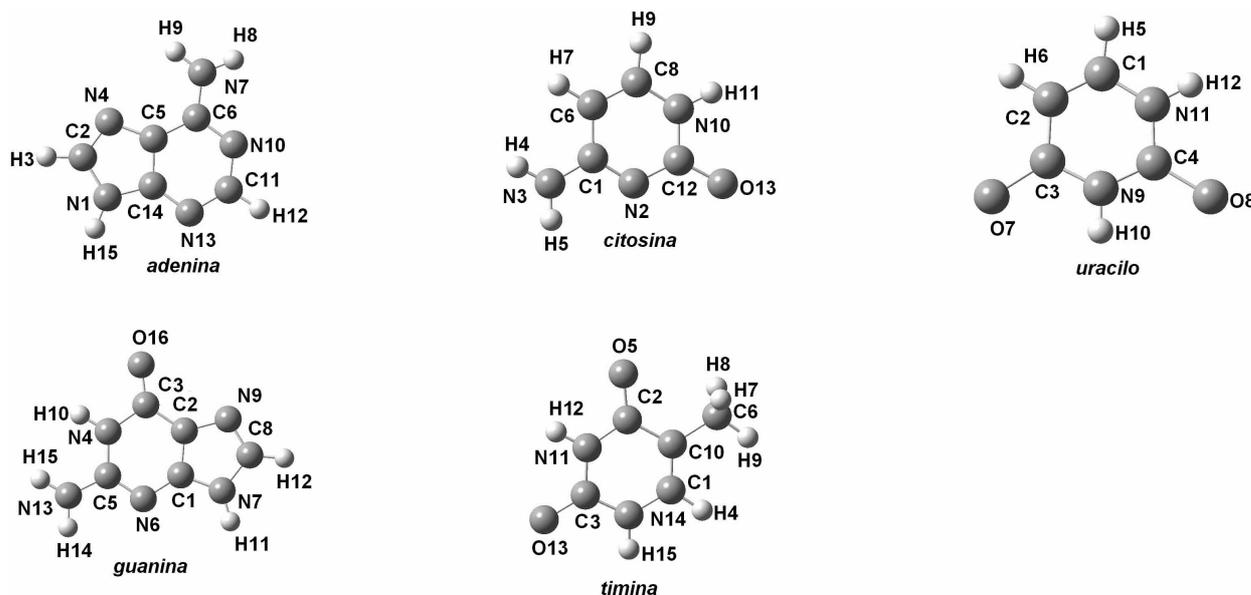


FIGURA 1. Estructuras de las bases de DNA y RNA estudiados.

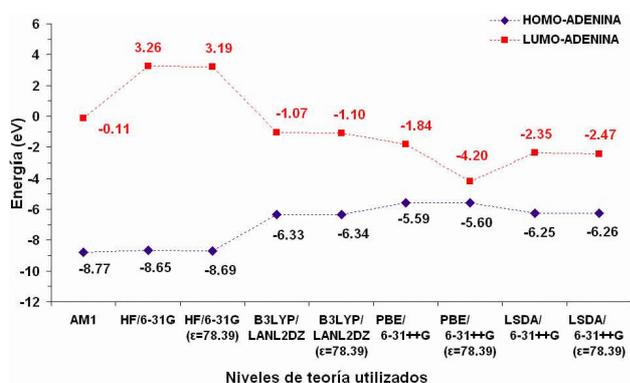


FIGURA 2. Energías de los orbitales HOMO y LUMO en eV para adenina.

3. Resultados

En las siguientes secciones se presentan los datos obtenidos para las bases de DNA y RNA optimizadas con los niveles de teoría arriba mencionados. Se muestran las gráficas de las energías de los orbitales frontera HOMO y LUMO para las bases de DNA y RNA y las funciones de Fukui utilizando las relaciones (13), (14) y (15). Todas las estructuras son estables después de realizar el análisis de frecuencias. Los cálculos se han hechos simulando la presencia de agua con permitividad de $\epsilon=78.39$. Las estructuras de las bases de DNA y RNA con las etiquetas de los átomos mostrados en las Fig. 3, 5, 7, 9 y 11 se presentan en la Fig. 1. En la Tabla 1 se muestran los valores de los momentos dipolares de las bases de purinas y pirimidinas empleadas en este trabajo.

3.1. Adenina

Los sitios activos N13 y N10, calculados con las FF, utilizando tanto el método semiempírico AM1, como los méto-

dos HF/6-31G y LSDA/6-31++G en fase gas, son iguales con lo reportado en la literatura, donde se han utilizado los métodos MP2(full)/6-311+G(2d,2p)/MP2(full)/6-31G* [1] y B3LYP/6-3111+G(2df,2p) [2]. Cabe observar que N13, N10 y N7 se reportan como datos experimentales [53-57], mostrándose como sitios activos en la Figs. 3b y 3e. El sitio N4 reportado como dato experimental por Blas *et al.* [58,10] en fase gas y Gareth *et al.* [55] en presencia de disolvente aparecen como sitios activos cuando empleamos los funcionales de la densidad con LSDA y PBE. Utilizando LSDA/6-31++G en fase gas se obtuvo un valor muy alto para N1 comparando con los resultados obtenidos con los demás niveles de teoría para ataque nucleofílico (ver Fig. 3a). Se observa la misma tendencia para las FF en el ataque nucleofílico cuando se emplea LSDA y PBE, al contrario del caso en el cual se utilizó el método Hartree-Fock, ver Fig. 3a. Los mayores valores para los centros activos se obtuvieron con AM1, LSDA y PBE. En la Fig. 3d se observa que los resultados tienden a homogeneizarse por la influencia del solvente respetándose las mismas tendencias que en fase gaseosa con la excepción del centro más reactivo N1 obtenido con LSDA/6-31++G. Para ataque electrofílico en fase gaseosa las funciones de Fukui en el caso en el cuál utilizó AM1 tienen la misma tendencia que en el caso cuando se utiliza HF/6-31G (ver Fig. 3b).

Para las FF obtenidas utilizando el funcional híbrido B3LYP con la base relativista se observa la influencia del disolvente además, no discrimina los sitios activos, aunque los primeros cuatro centros activos en fase gaseosa coinciden con los centros activos en presencia del disolvente, con mayor reactividad en el último caso, ver Figs. 3e y 3b. Para ataque con radicales (ver Figs. 3c y 3e) las tendencias siguen ser las mismas en fase gas como en presencia del disolvente. Comparando las FF de la Fig. 3d con las demás funciones se puede decir que el funcional local LSDA en fase gas no dis-

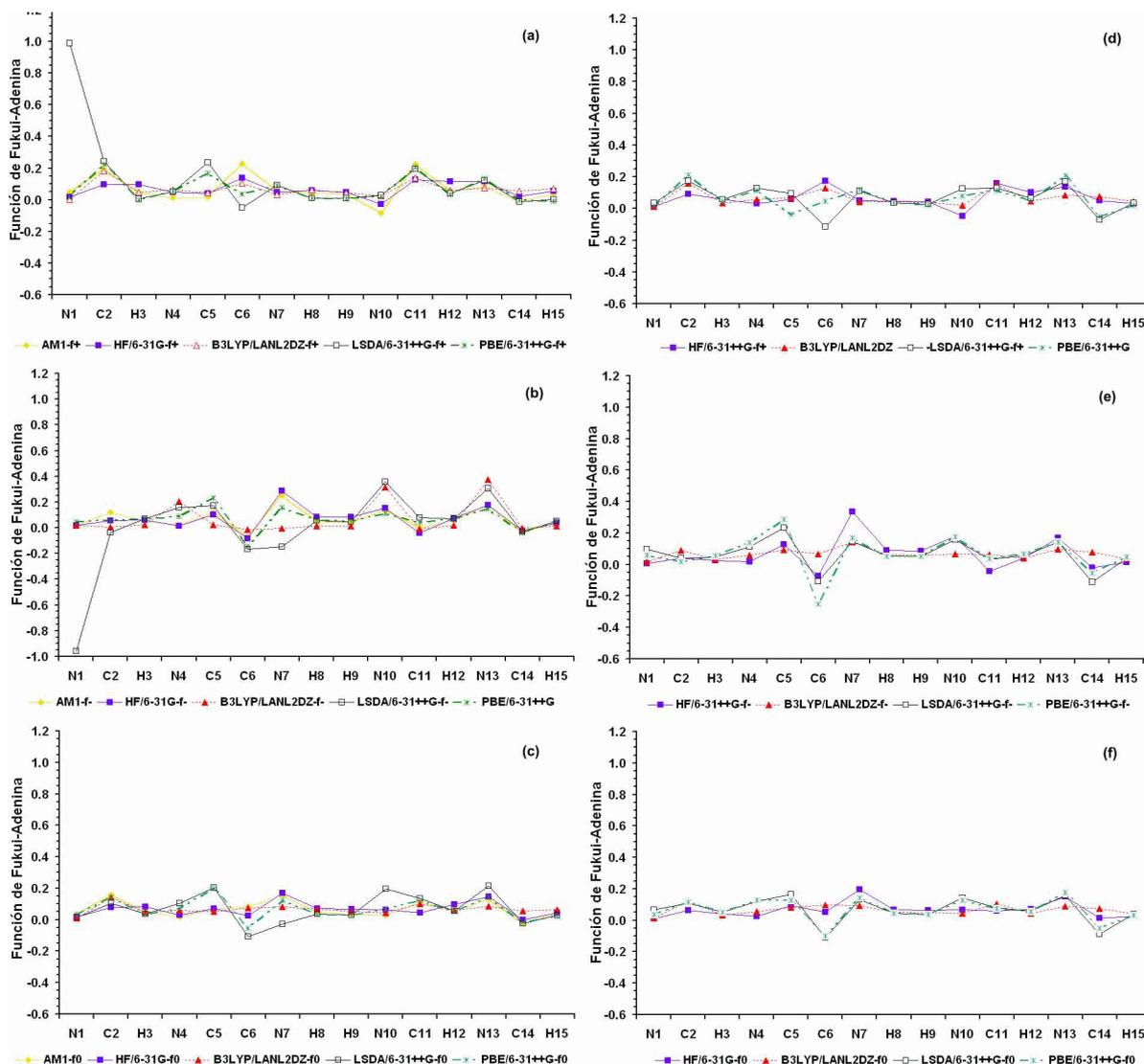


FIGURA 3. Funciones de Fukui utilizando cargas de Mulliken para adenina: a) ataque nucleofílico, b) ataque electrofílico y c) ataque con radicales en fase gas; d) ataque nucleofílico, e) ataque electrofílico y f) ataque con radicales en presencia de solvente ($\epsilon = 78.39$). Los rútelos en el eje x corresponden a la Fig. 1.

crimina los centros activos como lo hacen los otros métodos. En la Tabla I se confirma que la presencia del disolvente no influye mucho en los resultados porque no hay diferencias grandes entre los momentos dipolares en fase gas y en presencia del disolvente para adenina. El momento dipolar inducido obtenido utilizando los niveles HF y DFT con los funcionales PBE y LSDA es entre 1 y 1.2 D. Estos valores resultan ser pequeños comparado con los obtenidos para las demás bases de DNA y RNA, ver Tabla I. Esto acentúa la poca influencia del campo eléctrico creado por el medio acuoso en la polarización de la molécula. En la Fig. 2 las diferencias HOMO-LUMO, excepto cuando se introduce el funcional PBE en presencia del disolvente, con la diferencia de 1.2 eV, son bastante grandes; obteniéndose para HOMO con HF/6-31G los mayores valores 3.26 y 3.19 eV, lo que conforme al teorema de Klopman sería difícil interactuar con la mayoría de los compuestos químicos [27].

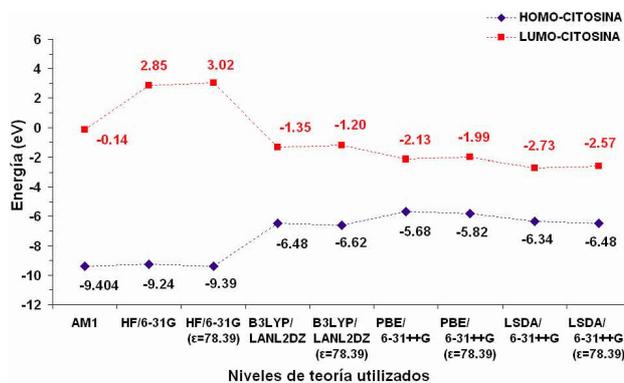


FIGURA 4. Energías de los orbitales HOMO y LUMO en eV para citosina.

3.2. Citosina

Los sitios activos O13 y N2 que se reportan en la bibliografía, donde se optimizaron con *ab initio* GB [8] y B3LYP/6-311+G*[13], coinciden para ataque electrofílico (f_j^-) con los lugares más reactivos de la molécula optimizada con HF/6-31G y LSDA/6-31++G en fase gas y en presencia del disolvente y con B3LYP/LANL2DZ en fase gas (ver Figs. 5b-f). Además, el sitio activo N2 es reportado en las Refs. 60 a 63 como dato experimental. Para ataque con radicales, los centros activos C6 y C8 reportados como datos experimentales en la literatura [63-65] se muestran como principales sitios activos para todos nuestros cálculos, coincidiendo con el reporte de Yan Yu Yi [18]. El sitio activo C6 para ataque nucleofílico se reporta como dato experimental con fluoruro, cloruro e ioduro de uracilo [65].

Realizando los cálculos con B3LYP/LANL2DZ en fase gaseosa la tendencia es muy diferente de las obtenidas con los demás niveles de teoría y de lo obtenido en presencia del disolvente probablemente porque se toman en cuenta solamente 19 electrones en la capa externa y el resto se incluyen en ECP (ver Figs. 5a y 5d). Se observa que para ataque nucleofílico los valores obtenidos con LSDA casi coinciden con los obtenidos para FF utilizando PBE. Por lo general, las tendencias son las mismas con diferencias muy pequeñas entre los valores de los centros activos indistintamente del nivel de teoría utilizado en presencia del disolvente. Para los demás niveles de teoría casi no se discriminan los sitios activos en fase de gas y en presencia del disolvente para ataque electrofílico. En fase gas y en presencia del solvente para ataque con radicales los sitios activos obtenidos son muy cercanos y no se discriminan casi los sitios activos. Para ataque electro-

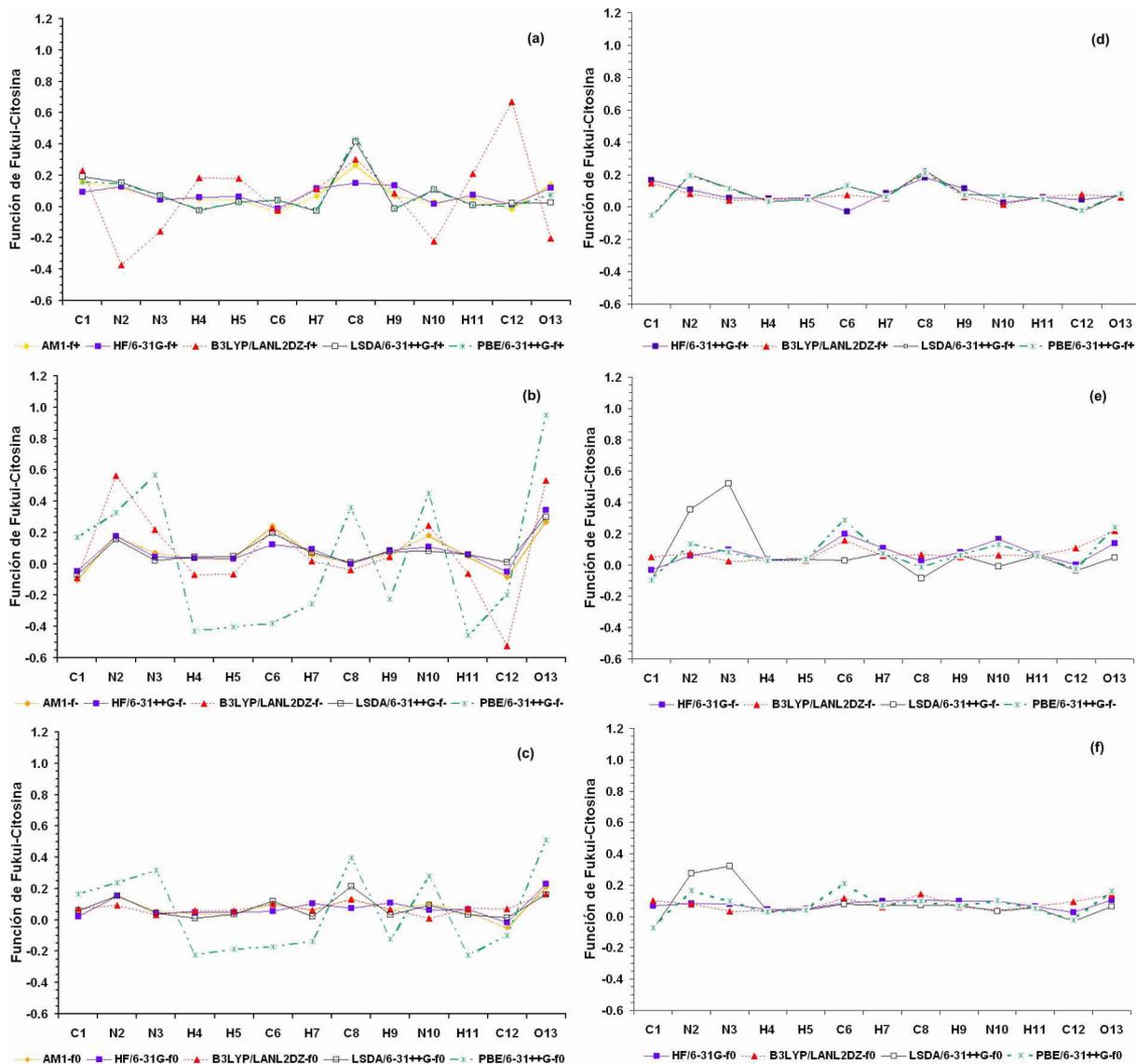


FIGURA 5. Funciones de Fukui utilizando cargas de Mulliken para citosina: a) ataque nucleofílico, b) ataque electrofílico y c) ataque con radicales en fase gas; d) ataque nucleofílico, e) ataque electrofílico y f) ataque con radicales en presencia de solvente ($\epsilon = 78.39$). Los rótulos en el eje x corresponden a la Fig. 1.

fílico y con radicales PBE en fase gas tienen una tendencia muy diferente de los demás. Piotr [67] menciona que citosina presenta menor aromaticidad que guanina y adenina, pero mayor que timina y uracilo. El momento dipolar inducido es de 3.21D para HF/6-31G y 3.83D cuando se introduce la correlación electrónica (ver Tabla I). Observando la Figs. 5b-5f, se reafirma la influencia del agua junto con los efectos de la correlación electrónica introducidos con los dos funcionales LSDA, PBE. En cambio, cuando se emplea B3LYP, no se observan diferencias notables en el cálculo de las FF en fase gas, con los resultados presentados en agua como disolvente para las mismas FF.

3.3. Guanina

Tanto para la citosina como para la guanina se observan diferencias entre el modelo de Tomasi y Onsager [32]. Ford *et al.*

que quien utiliza el método SCF (MI) con el nivel de teoría HF/6-31G [5], y Famulari que empleó el método semiempí-

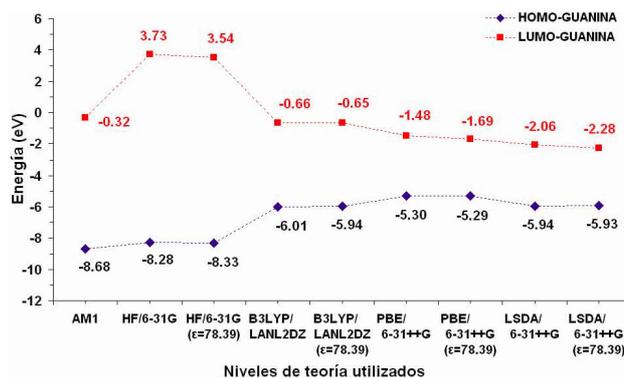


FIGURA 6. Energías de los orbitales HOMO y LUMO en eV para guanina.

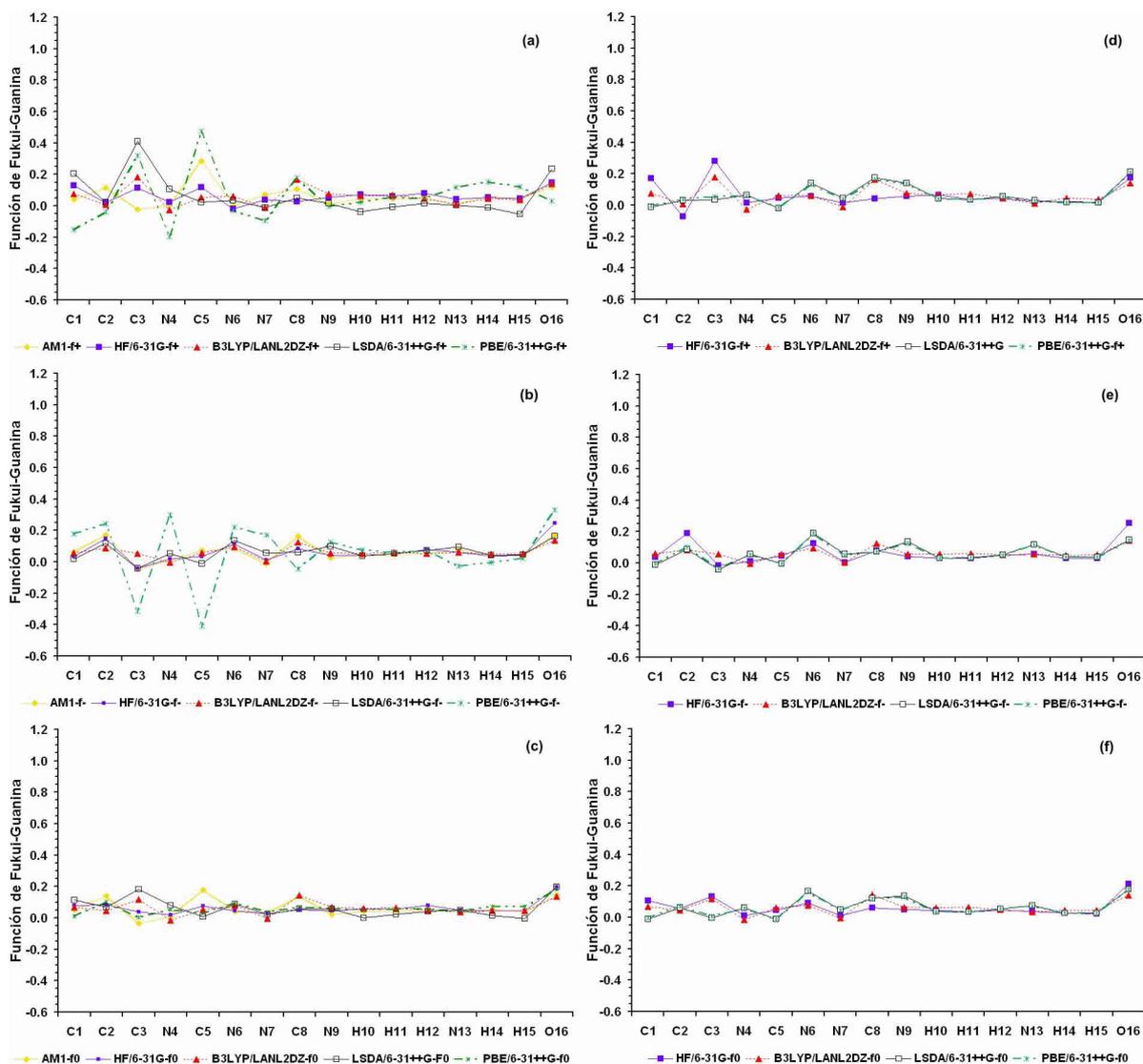


FIGURA 7. Funciones de Fukui utilizando cargas de Mulliken para guanina: a) ataque nucleofílico, b) ataque electrofílico y c) ataque con radicales en fase gas; d) ataque nucleofílico, e) ataque electrofílico y f) ataque con radicales en presencia de solvente (ε = 78.39). Los rótulos en el eje x corresponden a la Fig. 1.

rico MNDO [4], reportan como sitios activos para ataque electrofílico N9 y O16. El O16 aparece como sitio activo para ataque electrofílico, indistintamente del nivel de teoría utilizado en el presente trabajo y es reportado como dato experimental con Cu divalente [68]. El sitio activo N9 es reportado como dato experimental, tanto en fase gas como en presencia del disolvente, [54,60,65], en el presente trabajo aparece cuando se emplea LSDA/6-31++G, B3LYP/LANL2DZ y PBE/6-31++G. El sitio N13 es mencionado por Hye-Young *et al.* [54] como dato experimental, mientras que en el presente trabajo se reporta con LSDA y PBE en presencia del disolvente para ataque electrofílico como el cuarto lugar más reactivo de la molécula.

Como en el caso de citosina, el funcional PBE tiene excepciones de los demás niveles de teoría en fase gas para ataque electrofílico y nucleofílico, ver Figs. 7b y 7b. En las demás gráficas se pone en evidencia la indiscriminación de

los sitios activos indistintamente de los niveles de teoría utilizados en presencia del solvente en caso de los tres tipos de

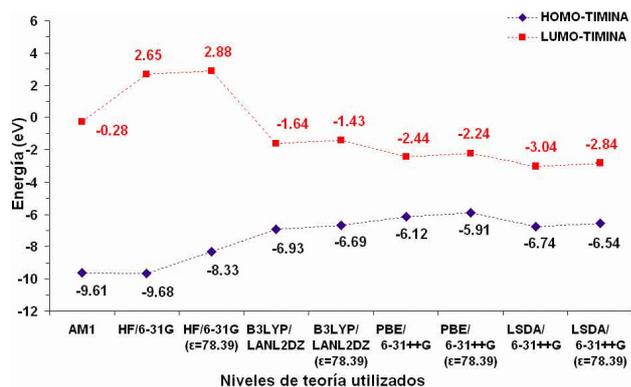


FIGURA 8. Energías de los orbitales HOMO y LUMO en eV para timina.

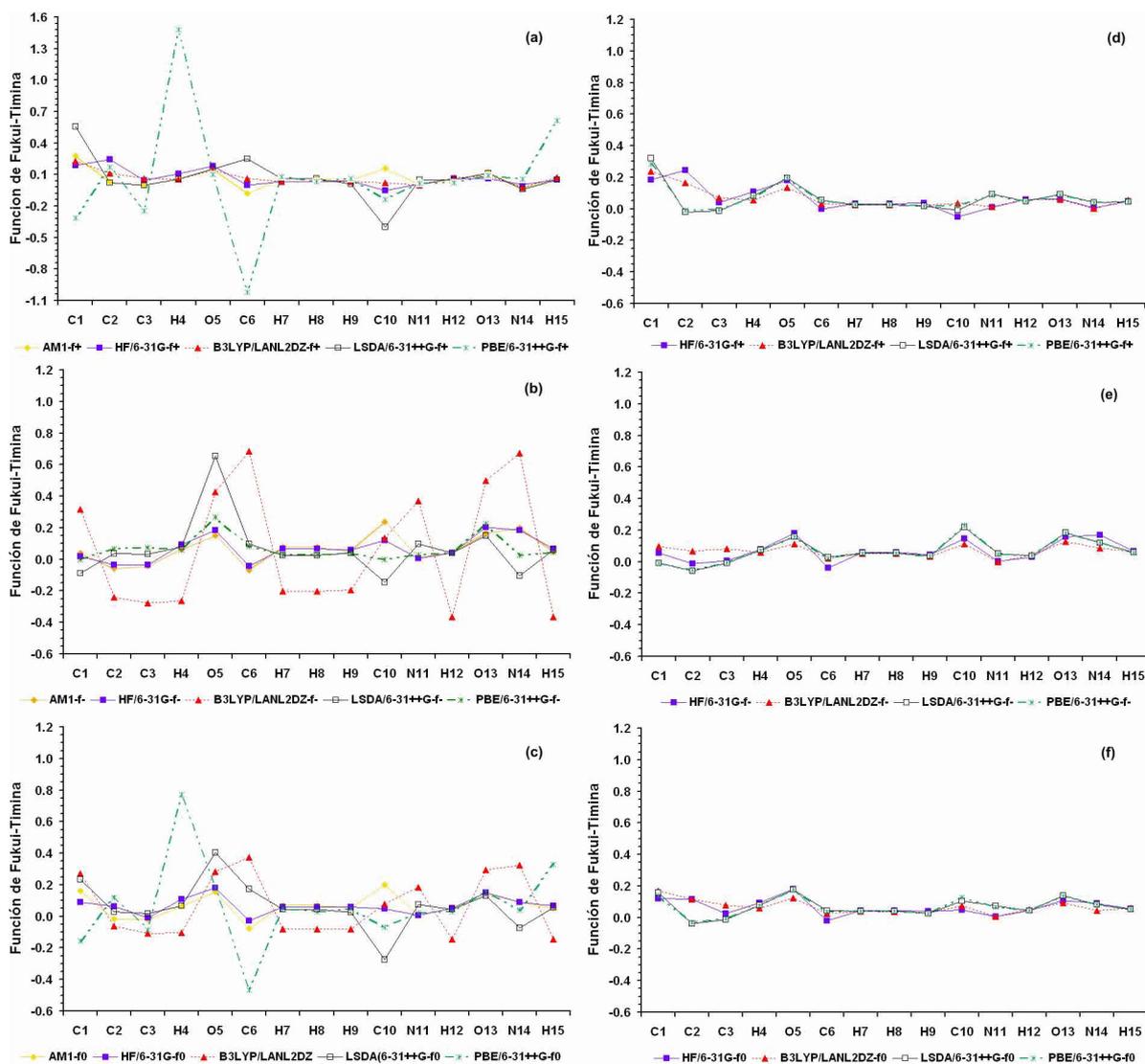


FIGURA 9. Funciones de Fukui utilizando cargas de Mulliken para timina: a) ataque nucleofílico, b) ataque electrofílico y c) ataque con radicales en fase gas; d) ataque nucleofílico, e) ataque electrofílico y f) ataque con radicales en presencia de solvente (ε = 78.39). Los rótulos en el eje x corresponden a la Fig. 1.

ataque. Comparando las Figs. 4 y 6, se observa que tanto para citosina como para guanina se respetan las mismas tendencias siendo los niveles de teoría PBE/6-31++G y LSDA/6-31++G que tienen el menor gap, de aproximadamente 2 eV, mayor que en el caso de adenina. Los valores del momento dipolar inducido mostrados en la Tabla I son cercanos a los valores obtenidos para citosina.

3.4. Timina

En la literatura se reportan estudio teóricos indicando que O5 y O13 son los sitios activos donde es más susceptible un ataque electrofílico [1,2,8]. Se encontró que estos sitios activos coinciden en este trabajo con los dos primeros centros activos de la timina optimizada con LSDA/6-31++G y PBE/6-31++G en fase gas (ver Fig. 9b). El sitio O13 corresponde con el dato experimental sobre plata coloidal [70] y aparece para todos los niveles de teoría utilizados, siendo éste el centro más

reactivo de la timina cuando se optimiza con HF/6-31G. Los sitios activos N11 y N14 reportados como datos experimenta-

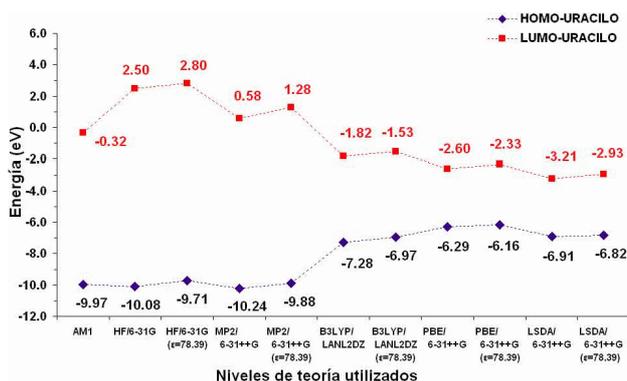


FIGURA 10. Energías de los orbitales HOMO y LUMO en eV para uracilo.

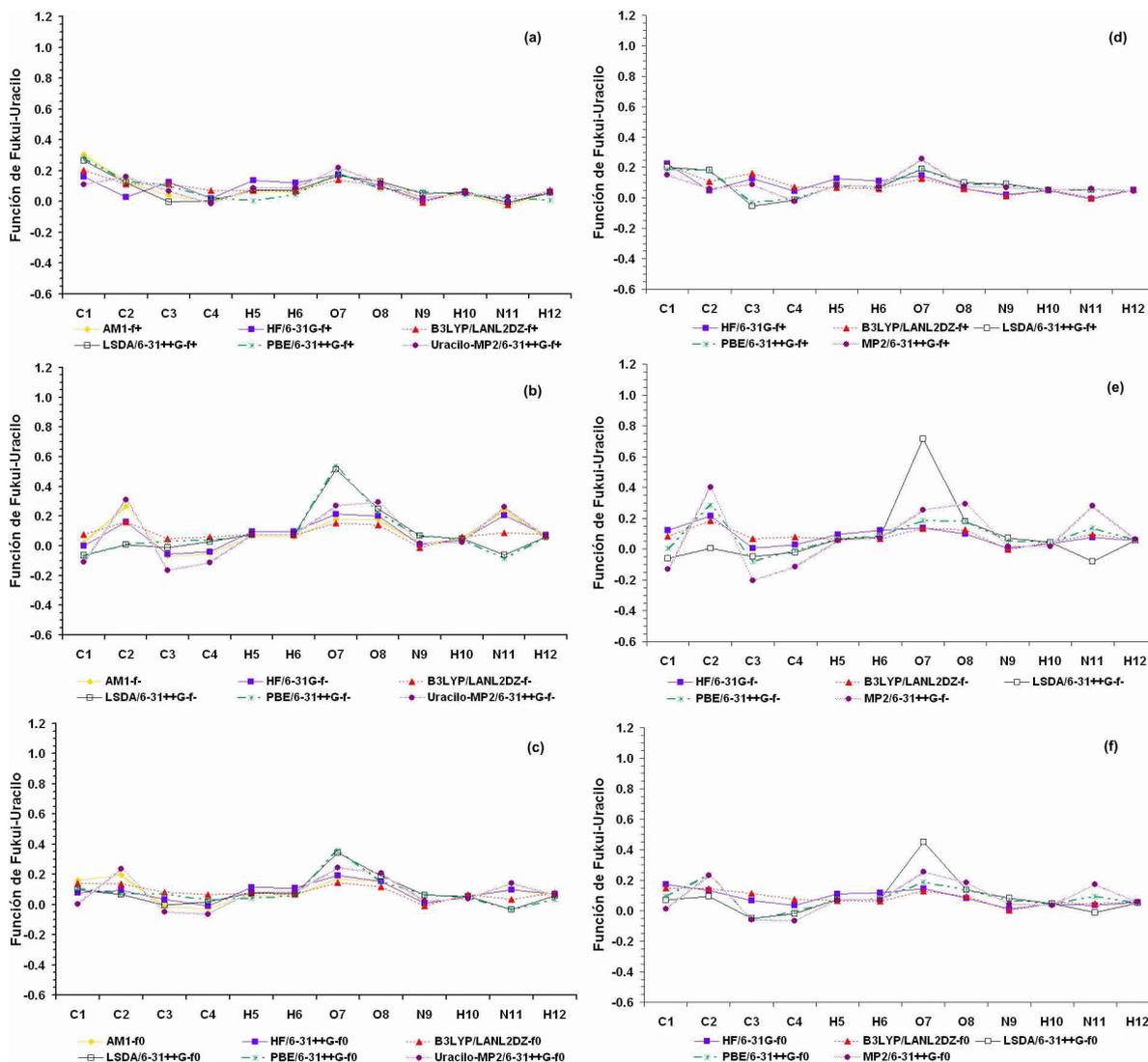


FIGURA 11. Funciones de Fukui utilizando cargas de Mulliken para uracilo: a) ataque nucleofílico, b) ataque electrofílico y c) ataque con radicales en fase gas; d) ataque nucleofílico, e) ataque electrofílico y f) ataque con radicales en presencia de solvente (ε = 78.39). Los rótulos en el eje x corresponden a la Fig. 1.

les [71,72] aparecen en las Figs. 9a-f, excepto cuando se optimiza timina con LSDA y PBE en presencia del solvente y PBE en fase gas. En fase gas se observa que las mismas tendencias para las FF en cuanto se utiliza B3LYP/LANL2DZ y HF/6-31G (ver Fig. 9a).

En cambio en presencia del disolvente las funciones de Fukui para los tres tipos de ataque cambian sustancialmente, a comparación con los resultados presentados en fase de gas, mostrándose las mismas tendencias indistintamente del nivel de teoría utilizado (ver Figs. 9a-f). En cuanto se emplean los funcionales LSDA y PBE, los valores presentados en presencia del disolvente para los ataques electrofílicos, nucleofílicos y con radicales, son muy cercanos. En la Fig. 8 se observa que la diferencia HOMO-LUMO para timina tiene la misma tendencia que en las demás bases de DNA presentadas, con una diferencia de aproximadamente 3eV cuando se utiliza PBE y LSDA en fase de gas y presencia del disolvente. El momento dipolar inducido es de 2.16D, valor más pequeño que el obtenido para citosina y guanina al introducir efectos de correlación electrónica. Los valores de los momentos dipolares para timina y uracilo son menores que para citosina y guanina (ver Tabla I).

3.5. Uracilo

Optimizando el uracilo con AM1 y calculando las funciones Fukui condensadas, se obtuvieron para el ataque electrofílico los sitios activos C2 y O7. Para el ataque nucleofílico se obtuvieron los centros activos C1 y O7 (ver Fig. 11a). En la Ref. 32 los sitios activos para ataque electrofílico y nucleofílico corresponden a N9. Este sitio no es reportado en el presente trabajo para el uracilo optimizado con los niveles de teoría AM1 y HF. Para ataque nucleofílico, C1 y O7 aparecen como los dos primeros centros más reactivos de la molécula para todos los métodos utilizados (ver Figs. 11a-g). Resalta el hecho de que N9 y N11 se mencionan como datos experimentales en la Ref. 73 y en el presente trabajo sólo se encontraron con AM1 y HF/6-31G. Los momentos de dipolo tienen valores cercanos de timina (ver Tabla I). En la FIG. 10 la brecha es muy grande cuando se emplea AM1, HF/6-31G y MP2 en fase de gas y en presencia del solvente lo que implica una poca reactividad. En cambio, en cuanto se utiliza DFT el gap disminuye sustancialmente a 3 eV aproximadamente.

Para uracilo optimizado con MP2/6-31++G los momentos dipolares en fase gas y en presencia de agua son 5.74D y 8.15D, respectivamente, mayores que los presentados en la Tabla I utilizando los demás métodos teóricos; aunque en presencia del disolvente no existen diferencias en cuanto a las tendencias de las FF y tampoco en los mapeos de HOMO y LUMO.

4. Discusiones

Se puede concluir que las funciones Fukui para LSDA y PBE tienen las mismas tendencias en los centros activos presentados en presencia de agua como disolvente y diferentes de los

resultados obtenidos utilizando el funcional híbrido B3LYP. Una explicación podría ser que tanto el funcional PBE como LSDA, que se basa en la aproximación del gradiente generalizado, no tienen parámetros empíricos a diferencia del funcional híbrido B3LYP que tiene parámetros empíricos y el funcional de energía de intercambio que usa una definición de Hartree-Fock. Utilizando los métodos AM1 y HF/6-31G la diferencia en eV entre HOMO y LUMO es muy grande para todas las bases de DNA y RNA. Para que exista una reacción controlada en la frontera el nivel de energía del HOMO (blando) de las bases de DNA y RNA tiene que ser muy cerca del nivel energético del LUMO (blando) del otro reactante, implicando una degeneración de los orbitales, conforme a la teoría de los orbitales frontera y teoría de Klopman. Si la energía del HOMO de DNA (duro) es más baja que el LUMO (duro) del otro reactante se trata de un enlace iónico. Una situación intermedia sería un ataque con radicales [24-27]. Mulliken [74] propone el principio de simetría y la orientación de los orbitales frontera HOMO y LUMO para una mayor interacción entre los reactantes. También es muy importante tomar en cuenta la densidad de espín definida en la Ref. 29 para las interacciones de las bases con diferentes sustancias. Por lo que es aconsejable en cuanto se necesita conocer el mecanismo de reacción de las sustancias analizar las FF condensadas, la densidad de espín y la orientación de los espines como también las energías de los orbitales y sus orientaciones y el momento dipolar y la polarizabilidad de la molécula. De lo reportado en la literatura resulta que en función del tipo de reactante hay preferencias en cuanto a los sitios reactivos en las bases de DNA y RNA. Un problema en el modelo de Tomasi es que la constante dieléctrica se tomó inicialmente para un medio cúbico o isótropo de un cristal. Por la reorientación de las cargas del soluto provocada por el momento dipolar inducido cambia la distribución de los dipolos de las moléculas de agua, situación por la cual ya no tenemos un medio isótropo.

5. Conclusiones

Se observó que los sitios activos presentados obtenidos con diferentes niveles de teoría coinciden con la mayoría de los datos experimentales, aunque no en todos los casos se presentaron como los primeros dos sitios más reactivos de las moléculas. El funcional de la densidad tiene una gran influencia en los sitios activos de las moléculas obtenidos tanto en fase gas como en presencia del disolvente, además el HOMO-LUMO (gap) es menor, considerándose bases blandas. Tomando en cuenta el teorema de Klopman se recomienda a ser empleados para cálculos de las bases de DNA y RNA en presencia de agua, siendo que en los casos cuando se utilizaron AM1, HF y MP2 (uracilo) los valores de LUMO son muy grandes y de HOMO muy pequeños lo que hace difícil de encontrar algún compuesto que tenga los valores en el intervalo correspondiente. Generalmente se observó que en presencia de solvente las funciones de Fukui presentan las mismas tendencias con valores muy cercanos. Además, en todos los ca-

Los resultados en presencia del disolvente obtenidos con PBE son muy cercanos de los obtenidos con LSDA. Existen diferencias entre los centros activos obtenidos utilizando el modelo PCM del presente trabajo (excepto para adenina optimizada con HF/6-31G) con los valores presentados en la literatura donde se utiliza el modelo Onsager que considera la posición del momento dipolar en el centro de la cavidad. Los resultados obtenidos en el presente trabajo pueden servir para los teóricos cuánticos y en los estudios experimentales, a fin de conocer a priori los sitios activos de las bases de DNA y RNA. Este conocimiento es de amplia utilidad práctica para establecer mecanismos de reacción con otras sustancias y para saber el nivel de teoría que mejor describe las propiedades físicas y la reactividad de las purinas y pirimidinas. Un interés especial en revisar los resultados aquí presentados lo

tienen los investigadores en el campo de física y biofísica, por las implicaciones que tienen las leyes de electricidad y magnetismo en el estudio de las propiedades físicas y químicas de las bases de DNA y RNA en presencia de agua, a nivel celular, en los seres vivos.

Agradecimientos

Agradezco al CONACYT por su apoyo para poder realizar los estudios de Maestría, registrados con el número de referencia 188466 y al Dr. Juvencio Robles de la Universidad de Guanajuato- México por sus valiosos consejos como también al Dr. Luis Humberto Mendoza Huizar de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo por el apoyo con los proyectos UAEHGO-PTC-148 y J46308-Q.

1. M.T. Rodgers y P. Garmentrout, *J. Am. Chem. Soc.* **122** (2000) 8548.
2. N. Russo, M. Toscamo y A. Grand, *J. Am. Chem. Soc.* **123** (2001) 10272.
3. A. Martínez, *J. Chem. Phys.* **123** (2005) 024311.
4. A. Famulari, F. Moroni, M. Sironi, E. Gianinetti y M. Raimondi, *J. Molec. Struct. (Theochem)* **529** (2000) 209.
5. G.P. Ford y J.D. Scribner, *Chem. Res. Toxicol.* **3** (1990) 219.
6. J.P. Cardona, S.J. Lippard, M.J. Gait y M. Singh, *J. Am. Chem. Soc.* **104** (1982) 5793.
7. H. Basch, M. Krauss, W.J. Stevens y D. Cohen, *Inorg. Chem.* **25** (1986) 684.
8. N. Nakayama, S. Tanaka y O. Kikuchi, *J. Theor. Biol.* **215** (2002) 13.
9. X. Jia, G. Zon y L.G. Marzilli, *Inorg. Chem.* **30** (1991) 228.
10. L.G. Marzilli, S.O. Ano, F.P. Intini y G. Natile, *J. Am. Chem. Soc.* **121** (1999) 9133.
11. P.M. Takahara, C.A. Frederiks y S.J. Lipard, *J. Am. Chem. Soc.* **118** (1996) 12309.
12. D. Yang, S.S.G.E. van Boom, J. Reedijk, J. H. van Boom, A.H.-J. Wang, *Biochem.* **34** (1995) 12912.
13. S. Zhang y P. Yang, *J. Molec. Struct. (Theochem)* **757** (2005) 77.
14. S. Zhang, M. Liu y P. Yang, *J. Molec. Struct. (Theochem)* **710** (2004) 193.
15. W.A. Pryor, *Free Radical Biol. Med.* (1988) 4219.
16. C.A. Reynolds, J.W. Essex y W.G. Richards, *J. Am. Chem. Soc.* **114** (1992) 9075.
17. R.B. Thurman y C.P. Gerba, *CRC Critical Reviews in Environmental Control.* **18** (1989) 295.
18. Y. Yu Yi, Y.Y. Xia, M.W. Zhao, B.D. Huang y F. Li, *J. Molec. Struct. (Theochem)* **723** (2005) 123.
19. M. Solimannejad, *J. Molec. Struct. (Theochem)* **589-590** (2002) 315.
20. A. Hocquet, A.T. Labeé y H. Chermette, *J. Molec. Struct. (Theochem)* **686** (2004) 213.
21. F. Méndez, M. Galván, A. Garritz, A. Vela y J. Gázquez, *J. Molec. Struct. (Theochem)* **277** (1992) 81.
22. R.S. Mulliken, *J. Chem. Phys.* **23** (1955) 1833.
23. S. Miertuš, E. Scrocco y J. Tomasi, *Chem. Phys.* **55** (1981) 117.
24. R.G. Pearson, *J. Am. Chem. Soc.* **85** (1963) 3533.
25. R.S. Mulliken, *J. Phys. Chem.* **56** (1952) 801.
26. R.S. Mulliken, *J. Am. Chem. Soc.* **74** (1952) 811.
27. J. Klopman, *J. Am. Chem. Soc.* **90** (1968) 223.
28. R.G. Parr y W. Yang, *J. Am. Chem. Soc.* **106** (1984) 4049.
29. M. Galván, J.L. Gázquez y A. Vela, *J. Chem. Phys.* **85** (1986) 2337.
30. K. Fukui, *Science* **218** (1982) 747.
31. D. Sivanesan, V. Subramanian y B. Unni Fair, *J. Molec. Struct. (Theochem)* **544** (2001) 123.
32. L. Onsager, *J. Am. Chem. Soc.* **58** (1936) 1486.
33. M.J. Frisch *et al.*, *Gaussian, Inc.*, Wallingford CT, 2004.
34. Geerlings, F. De Proft y W. Langenaeker. *Chem. Rev.* **103** (2003) 1793.
35. R.G. Parr, W. Yang, *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules*, edited by R. Breslow, G.B. Goodenough, J. Halpern y J.S. Rowlinson, (Oxford Science Publications, United State of America 1989) p. 99.
36. K. Fukui, *Theory of Orientation and Steroselection* (Springer-Verlag, Berlin, 1973) p. 134; *Science* (Washington, D.C. 1982) p. 747.
37. W. Yang, R.G. Parr y R. Pucci, *J. Chem. Phys.* **81(6)** (1984) 2862.
38. R.F.W. Bader *Chem. Reev.* **91** (1991) 893.
39. C.M. Breneman y K.B. Wiberg, *J. Comp. Chem.* **11** (1990) 361.
40. B.H. Besler, K.M. Merz Jr. y P.A. Kollman, *J. Comp. Chem.* **11** (1990) 431.

41. A.E. Reed, R.B. Weinstock y F. Weinhold, *J. Chem. Phys.* **83** (1990) 735.
42. W. Yang y W.J. Mortier, *J. Am. Chem. Soc.* **108** (1986) 5708.
43. W. Yang y R.G. Parr, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **82** (1985) 6723.
44. M.J.S. Dewar, E.G. Zoebisch, E.F. Healy y J.J.P. Stewart, *J. Am. Chem. Soc.* **107** (1985) 3902.
45. M.J.S Dewar y W. Thiel, *J. Am. Chem. Soc.* **99** (1977) 4899.
46. R.Ditchfield, W.J.Hehre, J.A. Pople, *J. Am. Chem. Soc.* **54** (1971) 724.
47. W.J. Hehre, Ditchfield R., J.A. Pople, *J. Chem. Phys.* **56** (1972) 2257, www.emsl.pnl.gov/forms/basisform.html.
48. J. Andzelm y E. Wimmer, *J. Chem. Phys.* **96** (1991) 1280.
49. In-Ho Lee y R.M. Martin, *Phys. Rev. B* **56** (1997) 7197.
50. J.P. Perdew, K. Burke y M. Ernzerhof, *Physical Review Letters* **77** (1996) 3865.
51. A.D. Becke, *J. Chem. Phys.* **98** (1993) 5648, www.emsl.pnl.gov/forms/basisform.html.
52. P.J. Hay, W.R. Wadt, *J. Chem. Phys.* **82** (1985) 299, www.emsl.pnl.gov/forms/basisform.html.
53. I.N. Kolomiets *et al.*, *J. Molec. Struct.* **250** (1991) 1.
54. H.K. Hye-Young, M. Cooper, V.N. Lubomir, M.H. Constance y M.H. Thomas, *Chem. Res. Toxicol.* **14(9)** (2001), 1306.
55. K.F. Gareth *et al.*, *J. Phys. Chem. A.* **110(6)** (2006) 2308.
56. L.G. Marzili, T.J. Kistenmacher y G.L. Eichhorn, (Ed. John Wiley Sons, New York, 1980) p. 179.
57. J.Y. Fan, M. Tercel y W.A. Denny, *Anti-Cancer Drug Design* **12** (1997) 277.
58. A. Blas, W. Cerda y W. Chrys, *J. Am. Chem. Soc.* **118** (1996) 11884.
59. A.P. Hitchcock, C.J.L. Lock, W.M.C. Pratt y B. Lippert, *ACS Symposium serie N0. 209, Am. Chem. Soc.* (Washington DC. 1983) p. 209.
60. M. Susane, L. Bernhard, *J. Am. Chem. Soc.* **118** (1996) 12467.
61. L.S. Myers Jr., M.L. Hollis, L.M. Theard, F.C. Peterson y A. Warnick, *J. Am. Chem. Soc.* **92** (1970) 2875.
62. E. Hayon y M. Simic, *J. Am. Chem. Soc.* **95** (1973) 1029.
63. A. Hissung y C.Z. von Sonntag, *Naturforsch* **88b** (1978) 321.
64. D.K. Hazra y S.J. Steenken, *J. Am. Chem. Soc.* **105** (1983) 4380.
65. T.J. Boritzkei, B.D. Palmer, J.M. Coddington y W.A. Denny, *Chem. Res. Toxicol.* **7** (1994) 41.
66. A. Jaworski, M. Szczesniak, K. Szczepaniak, K. Kubulat y W.B. Person, *J. Molec. Struct.* **223** (1990) 63.
67. C. Piotr, *J. Molec. Struct. (Theochem)* **714** (2005) 29.
68. S.V. Kornilova *et al.*, *J. Molec. Struct.* **408-409** (1997) 219.
69. S. Zhi-Guo *et al.*, *J. Molec. Struct.* (in press, 2006).
70. M. Barber y D.T. Clark, *Chem. Commun.* (1970) 24 .
71. B. Roelf *et al.*, *J. Phys. Chem. B* **101** (1997) 754.
72. Y. Miyake *et al.*, *JACS Communications, J. Am. Chem. Soc.* **128** 2006 2172.
73. I.Escorihuela, L.R. Falvello, M. Tomas y E.P. Urriolabeitia, *Cristal Grow Design* **4/4** (2004) 655.
74. R.S. Mulliken, *Recl. Trav. Chim. Pais Bass* **75** (1956) 845.