



Gradu Amaierako Lana / Trabajo Fin de Grado

Kimikako Gradua / Grado en Química

**ANESTESIKO BATEN BILAKETA
KONFORMAZIONALA ERROTAZIO
ESPEKTROSKOPIA ERABILIZ**

/

**BÚSQUEDA CONFORMACIONAL DE UN
ANESTÉSICO, UTILIZANDO ESPECTROSCOPÍA
ROTACIONAL**

Egilea/Autor:

Eneko Zabalza

Zuzendaria/Director/a:

Francisco J. Bazterretxea

Zuzendari-kide/Codirector/a:

Emilio J. Cocinero

AURKIBIDEA

1-.Sarrera	1
1.1 Helburua	1
1.2 Anestesiko orokorrak	1
1.3 Anestesikoen egitura gas fasean	3
2-.Instrumentazioa	5
2.1 Jet Supersonikoa	5
2.2 Lagina gas fasean sortzea	7
2.3 Mikrouhin-espektrometroa (CP-FTMW)	8
3-. Oinarri Teorikoa	14
3.1 Errotazio Hamiltonianoa	14
3.2 Egitura Molekularra	18
4-. Bilaketa konformazionala eta kalkulu mekaniko kuantikoak	22
4.1 Kalkulu mekano kuantikoak eta aurretiko-bilaketa konformazionala	22
4.2 Fluoroxenoaren espektro esperimentalak	25
4.3 Fluoroxenoaren egitura determinazioa	33
5-. Ondorioak	37
6-. Bibliografia	41
Erantsiak	43

1- SARRERA

1.1 HELBURUA

Gradu Amaierako Lan honetan anestesiko baten (fluoroxeno) egitura determinazioa egin da errotazio espektroskopia erabiliz, CP-FTMW (Chirp Pulse Fourier Transform MicroWave) deituriko teknikaren bitartez. Anestesikoak gaur egungo medikuntzan erabilera handia daukaten farmakoak dira. Beraz, anestesiko asko aztertuak izan dira, bereziki anestesikoak gorputzean sortzen dituen elkarrekintzak. Anestesiko baten eraginkortasunean eragina duen faktore bat anestesikoaren egitura da, honek baldintzatuko dituelako farmakoaren eta proteina dianaren arteko elkarrekintzak. Beraz, anestesikoek gorputzean eragiten duen mekanismoa ezagutzeko premia da egitura determinatzea. Fluoroxenoaren egitura determinazioa errotazio espektroskopia bidez egin da, teknika honek beste teknikak lortu ezin dezaketenean egituraren zehaztasuna lortzen duelako. Lan honek fluoroxenoaren determinazioa egiteaz aparte, Euskal Herriko Unibertsitatean (UPV-EHU) Kimika-Fisikoa sailean berriki jarritako banda zabalaren mikrouhin-espektrometroaren (CP-FTMW) doikuntza egiteko erabili da, espektrometro honekin determinatzen den lehenengo molekula baita.

1.2 ANESTESIKO OROKORRAK

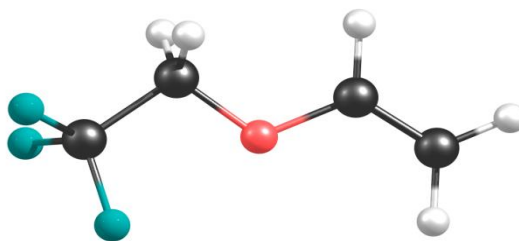
Anestesikoa kontzientzia edo sentimendu eza eragiten duen farmako multzoa da. Anestesiak sentitzen den mina gutxitzen duenez kirurgia eta beste prozesu mingarriak egiterakoan erabiltzen dira. Anestesikoek egiten duten lanaren arabera bi mota desberdintzen dira [1]: anestesiko lokalak, nerbio ehunaren zati batean aplikatzean nerbio eroapena blokeatzen dutenak, eta anestesiko orokorrak, konortea galarazi eta zentzumen-informazioa blokeatzen dutenak. Azkeneko taldeak konorte galera eta zentzumen-informazioa galarazteaz aparte, erreflexuen galera eta muskuluen erlaxazio totala eragiten du. Anestesia orokorrean aipatu diren ondorioak gertatzeko, farmakoa dosi handietan eman behar da eta honek osasun ondorio larriak ekarriko lituzke, horregatik, farmakoen kantitatea murrizteko hainbat farmako nahasten dira.

Anestesia orokorrean, anestesikoa gorputzean modu desberdinetan sartu daiteke, guztietatik gehien erabiltzen dena zain barneko injekzioa da, baina, inhalatze-anestesia orokorra ere esparru batzuetan asko erabiltzen da. Gehienetan zain barneko injekzioa anestesia eragiteko eta inhalatze-anestesia berriz anestesia mantentzeko erabiltzen da. Inhalatze-anestesian erabiltzen diren anestesiko gehienak halogenatuak dira, anestesiko erabilienak hauek dira: oxido nitroso, enflurano, isoflurano, desflurano, halotano, sevoflurano eta metoxiflurano.

Anestesikoen mekanismoa gorputzean

Anestesikoa eta gorputzaren arteko elkar-eragitearen mekanismoa ez dago guztiz zehaztuta. Baina hipotesi onartuena [2], anestesikoek sinapsi-neuronaleko ioi kanaleko proteinak erasotzen dituztena da. Hau da, anestesikoa lipidoaren zentro-aktibora lotzean, proteinaren egitura aldatuko da eta honekin batera ere ekintza biologikoa aldatuko da. Bestetik, proteinekin kanal desberdin eta egitura desberdinak dituztenez, anestesikoak estereo-espezifikoak dira, hau da, anestesiko bakoitzak ioi-kanal batzuekin elkarrekintzak egingo ditu eta beste batzuekin ez. Beraz, anestesiko baten mekanismoa ondo ezagutzeko beharrezkoa da anestesikoak daukan egitura determinatzea, horrela, jakin dezakegu proteinaren zentro-aktibora nola lotzen den.

Lan honetan, inhalatzen den anestesiko orokor bat aztertuko da, 2,2,2-trifluoro binil etil eterra edo fluoroxeno izenez ezagunagoa dena (1.1 irudia), lan honetann zehar aztertutako molekulari fluoroxeno deituko zaio. Fluoroxenoa, [3] eter taldeko likido kologea eta lurrunkorra da. Talde honetan, garrantzi handiko anestesikoak aurkitzen dira, besteak beste: isoflurano, enflurano eta sevofluranoa. 1945. urtetik aurrera, medikuek eterrak anestesikoak bezala aztertzen hasi ziren eta 1953-an fluoroxenoak anestesia eragiteko gaitasuna zeukala jabetu ziren. Fluoroxenoa fluor atomoak zituen lehenengo anestesikoa izan zen. Fluoroxenoak efektu sekundario bortitzak zituenenez 70. hamarkadan efektu sekundario ahulagoak zituzten anestesikoengatik ordezkatu zen.



1.1 Irudia: Fluoroxeno (2,2,2-trifluoro binil eterra) egitura.

1.3 ANESTESIKOEN EGITURA IKERKETA GAS FASEAN

Anestesikoen egitura determinatzeko funtsezkoa da farmakoen eta proteinen arteko elkarrekintza ulertzea, horrela, anestesikoen egitura ulertuta farmakoen potentzia handitu daiteke. Hori dela eta, anestesikoen egitura aztertuta izan da eta bi azterketa motetan desberdindu daitezke: fase kondentsatua eta gas fasea. Fase kondentsatuan egiten diren ikerketak, farmakoekin interakzionatuko duen ingurune biologikoa itxuratzen saiatzen dira. Adibidez, farmakoen azterketa ingurune urtsuan burutzen da zelula ingurunea itxuratzeko. Baina, fase kondentsatuan, eragozpen nagusia farmakoaren eta disolbatzailearen arteko elkarrekintza beste elkarrekintzek estaldu dezaketena da, adibidez, farmako eta proteinaren aktibazio-puntuaren arteko elkarrekintzak. Anestesikoa ere, gas fasean aztertu daiteke, non, farmakoaren propietate intrintsekoak elkarrekintza gabe determinatu daitezkeen. Nahiz eta gas fasea eta farmakoa inguratzen duen ingurune biologikoa oso desberdinak izan, azterketa hauek emaitza garrantzitsuak eman ditzakete anestesikoak gorputzean duen mekanismoa ulertzeko.

Lan honetan erabiliko den mikrouhin-espektroskopia erabiliz, anestesikoaren egitura intrintsekoa determinatuko da. Mikrouhinezko espektroskopiarekin fluoroxenoaren konformero ugariak lortu daitezke, baita, beste teknikekin ikertu ezin daitezkeen konplexu intramolekular ahulak ere bai. Hau, farmakoen konplexuak agintzen dituen lotura molekularrak (hidrogeno zubiak, Van der Waals indarrak...) zehazteko garrantzitsua da [4]. Hala ere, fase kondentsatuan (adibidez

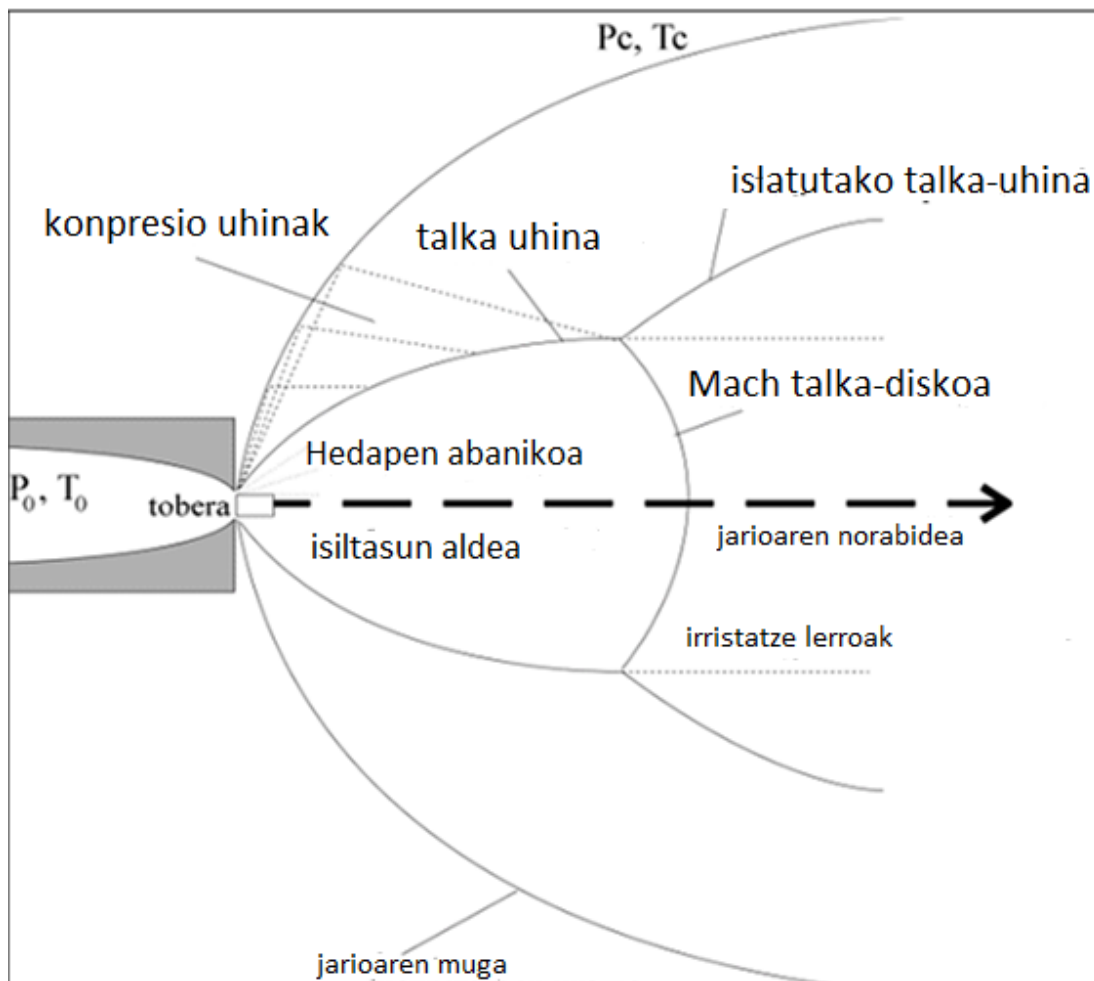
disoluzioan) ezinezkoa da konplexu ahul hauek aztertzea, farmako eta disoluzioaren arteko elkarrekintzak beste elkarrekintza ahulagoak ezkutatzen dituztelako.

Gradu Amaierako Lana egiteko, Kimika Graduan zehar ikasitako ezagutzak erabili dira. Alde batetik, Kimika Graduan hainbat ikasgaietan laborategian lan egiteko beharrezkoa den jarrera eta laborategiko oinarrizko lanak irakatsi dizkigute. Ikasketa hauek, Fluoroxenoaren espektro esperimentalala egiteko baliagarriak izan dira. Bestetik, Kimika Graduko 3. mailan Kimika Fisika II irakasgaiaren espektroskopiaren oinarriak ikasi ziren. Hasteko, irakasgai honetan molekulen translazio, errotazio, eta bibrazio higidurak aztertu ziren eta mekanika kuantikoaren funtsa ikasi zen, GAUSSIAN 03 programa erabiliz. Horretaz aparte, espektroskopiaren oinarriak aztertu ziren, bai oinarri teorikoak, bai praktikoak: infragorri, ultramore, fluoreszentsia espektroak eginda. Gainera, beste irakasgai batzuetan, adibidez esperimentazio kimika analitikoan, espektroskopia teknika desberdinak erabili ziren: ultramore ikuskor, infragorria, NMR. Honek lagundu nau espektroen irakurketa azkarra eta espektroak egiten. Beraz, Gradu Amaiera Lan honek, Kimika Fisika II irakasgaiaren ikusitakoa sakontzeko erabili da. Lanean errotazio espektroskopia aztertzea erabaki da, irakasgaiaren sakontasunez aztertu ez zelako eta mikrouhinezko espektroskopia, egungo teknika espektroskopikotik berritzaileenetarikoa delako.

2-. INSTRUMENTAZIOA

2.1 JET SUPERSONIKOA

Jet supersoniko espektroskopia estrategia egokia da, konformero molekularren eta konplexu intramolekularren karakterizazioa egiteko. Jet supersonikoaren instrumentazioa eta lagina gas fasean prestatzearen azalpena egiteko oinarria Emelio J. Cocineroren tesitik hartu da [5]. Jet supersonikoa lortzeko, lagin gaseoso bat gas inerte batean diluitzen da (normalean He, Ar edo Ne) eta molekula-sorta edo zurrusta (jet) aske supersonikoaren hedapen adiabatikoaren bidez lortzen da. Disoluzio nahasketa presurizatuak (2-10 bar) 1 mm baino txikiagoa den zulo (*nozzle*) bat zeharkatzen du, eta presio oso baxuak dituen (10^{-5} - 10^{-7} mbar) ganbara batean sartzen da. Toberan, *nozzle* baino aurrerago dagoen ganbaran, molekulen arteko talkak gertatzen dira (gas garraiatzaile edo laginen artekoak). Talka hauek, errotazio tenperatura eraginkorra murrizten dute, errotazio tenperatura 0,5-5 K izaten da. Jet-ean dagoen errotazio tenperatura baxuetan, molekulen energia oso txikia denez, soilik oinarrizko energian dauden bibrazio mailak populatuko dira. Molekulak oinarrizko errotazio maila eta bibrazio maila aurkitzen diren arren, konformeroen populazioa orekako banaketa araberakoa da. Honen arrazoa, toberan P_0 eta T_0 denean, konformeroen banaketa oreka dagoenaren antzekoa dela eta jet supersonikoan sartzean konformero bakoitzaren populazioak potentzial kurbaren minimoan gelditzen direla da. Beraz, konformeroen arteko energi langa ez bada nahiko handia jet barruan, konformero desberdinak bereizi daitezke.



2.1 Irudia: Jet supersonikoaren atal desberdinen eskema

Espezie kimiko desberdinak isiltasun zonaldean karakterizatzen dira, temperatura baxuenak dituelako eta molekulak isolatuak daudelako, beraz, ez dira molekulen arteko elkarrekintzarik gertatuko. Jet supersonikoen beste erabilera garrantzitsu bat molekulen arteko konplexuen karakterizazioa da, tobera ondoan konplexu berrien agerpena sortzen dituzten talka ternario eta kuaternario desberdinak gertatzen direlako. Sortutako konplexu berriak jet gunean sartzean isolatuta gelditzen dira eta espektroskopikoki karakterizatu daitezke.

Laburbilduz, esan dezakegu, jet supersonikoaren bidezko mikrouhinezko espektroskopia molekulen karakterizazioa egiteko teknika aproposa dela, teknikaren abantaila nagusiak hauek dira:

-Molekulak talka-gune gabeko ingurunean aztertu daitezke, hau da molekulen arteko elkarrekintzarik gabe. Molekulen propietate intrintsekoak aztertu daitezke, inguratzen duen ingurumenarekin elkarrekintza sortu gabe.

-Molekula baten konformero eta tautomero desberdinak isolatu eta karakterizatu daitezke.

-Beste teknika batzuekin aztertzea ezinezkoa izango litzatekeen konplexu intramolekular ahulak aztertu daitezke (dimero, trimeroak...). Beste metodo espektroskopikoetan konplexuak aztertzeko isolatu behar dira, eta dimeroak eta trimeroak isolatzea oso konplikatu da. Baina, jet supersonikoan ez da beharrezkoa konplexuak isolatzea, horrela, toberan gertatzen diren talken bitartez sortutako konplexuak aztertu daitezke.

-Jet supersonikoan presio eta tenperatura oso baxuak erabiltzen direnez, soilik errotazio energi txikieneko mailak populatzen dira, horrela, espektroaren konplexutasuna nabarmenki murrizten da. Gainera, trantsizioen intentsitatea handitzen denez intentsitate baxuan agertzen diren trantsizio batzuk ikusi daitezke.

2.2 LAGINA GAS FASEAN PRESTATZEA

Mikrouhin espektroskopia egiteko lehen pausoa lagina gas fasera pasatzea da, ondoren lagina jet supersonikoa egiteko. Lagina hiru motakoa izan daiteke: lagin gaseoso, solido eta likidoa.

Garrantzitsua da lagin bakoitza bere egoera egokian prestatzea, horretarako, lagin bakoitzaren propietate kimiko-fisikoak kontuan hartu behar dira (fusio tenperatura, bapore presioa, ezegonkortasun termikoa).

Errazena lagina gas egoeran dagoenean da, soilik lagin disoluzioa behar delako eta lagina gas inerte batekin nahastu behar delako. Gas inerte normalen gas noblea izaten da (He, Ne edo Ar) edo haien nahasketa. Prestatutako disoluzioa laginaren edukia %0,5-5 izaten da eta disoluzioa bonbona batean sartzen da.

Lagin solidoetan, erabili daitekeen metodo orokorra *nozzle* ingurunean laginaren miligramo batzuk berotzean datza. Erresistentzia baten bitartez lortutako baporeak gas garraiatzaile batekin *jet*-era sartzen dira. Baina, metodo hau ezin daiteke lagin guztiekin erabili, lagin batzuk, tenperatura handietan deskonposatzen baitira. Hori dela eta, lagin hauekin beste metodoa erabili behar da. Egun mikrouhinezko espektroskopian laginak lurruntzeko berriki inplementatu den laserraren bidezko ablazio metodoa erabiltzen da. Laserrak lagina erasotzen du pulsu oso motzetan, horrela, laserraren energia zuzenean lagina lurruntzeko erabiltzen da eta ez beste prozesu termikoak gertatzeko. Teknika hau Euskal Herriko Unibertsitatean Kimika Fisiko Sailean dagoen FTMW espektrometroan inplementatua dago [6].

Azkenik, lagin likidoen kasuan bi erataria egin daiteke: laginaren bapore presioa handia denean eta laginaren bapore presioa txikia denean. Lehenengo kasuan, lagin gaseosoetan erabiltzen den antzeko metodoa erabiltzen da. Lagina hutsean berotuz lurruntzen da eta lortutako gasak bonbona batean sartzen dira. Praktikan, metodo hau oso erraz erabili daiteke, soilik prestatuko bonbona espektroskopiaren balbulari lotu behar zaio. Lurruntze tenperatura handiak direnean, lagin solidoetan erabiltzen den beroaren bidezko lurruntzea erabiltzen da. Beraz, lagina justu *nozzle* aurretik ipintzen da erresistentzia betekin eta gas garraiatzaile baten laguntzaz ganbaran sartzen da.

Gure lagina, fluoroxenoa, likido hegazkor bat da, bapore presioa 20°C-an 286 Torr da eta irakite tenperatura 43° C da. Beraz, likido hegazkorrentzako erabiltzen den metodoa erabili zen, fluoroxeno %0,5-5 eta He: Ar gas inerte nahasketa bat zeukan bonbonan sartuz.

2.3 MIKROUHIN-ESPEKTROSKOPIA (CP-FTMW)

Fourier transformatuaren mikrouhinezko espektroskopiak (FTMW) [7], errotazio trantsizioen maiztasun erresonanteak neurtzen ditu. Espektroskopia hau, mikrouhinen eremuan molekulen errotazio mailen kitzikapenean datza, lortutako emisioa denbora eremuan detektatzen da (*Free Induction Decay*) eta Fourier transformatuarekin lortutako datuak maiztasun eremura eraldatzen dira. Mikrouhin

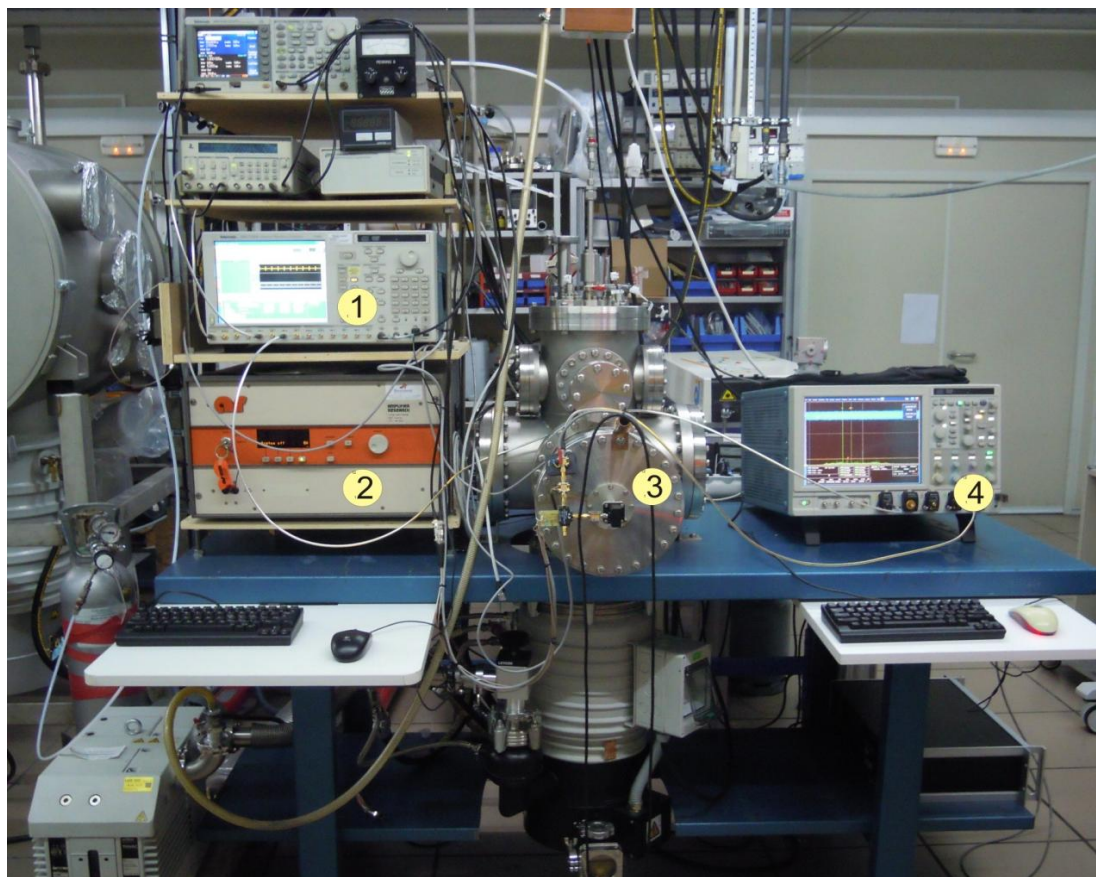
espektroskopia eta *jet* supersoniko teknikak konbinatuz molekulen egitura erresoluzio handiarekin determinatu daitezke. Teknika hauen bidez lortutako erresoluzioa hain handia denez, molekula baten konformeroen edo espezie intramolekularren egituraren determinazioak erresoluzio handiarekin lortu daitezke [8]. *Jet* supersonikoetan FTMW espektroskopia egiteko erabiltzen den metodo orokorra *jet* supersonikoan hutsean dagoen Fabry-Pérot erresonatzailea erabiltzea da [9]. Baina, FTMW diseinu experimentalaren eragozpen nagusia, soilik 1 MHz-ko espektroak lortu daitezkeena da. Beraz, espektroak 7500-18000 MHz tartean egiten direnez, uhin guztiak neurtzeko Fabry-Pérot erresonatzaileak denbora asko irauten duen sinkronizazio mekanikoa egiten du.

Orain dela gutxi, Virginia Unibertsitateko Pate irakasleak errotazio espektroskopian garrantzi handiko aurkikuntza egin zuen, Fourier transformatuaren teknika eta frekuentzia aldakorrekoko pultsuak (chirped pulse, ingelesez) erabiltzen dituen *banda zabaleko* mikrouhin espektroskopia (CP-FTMW) diseinatu zuen [10]. Espektrometro honek, datu eskuratze bakar batean 7-18 MHz eremuan neurtu dezake, hau da, pultsu motz batean (1 μ s) banda zabal bat kitzikatzen du (1-12 MHz). Horrela, pultsu bakar batean eremu horretan dagoen trantsizio guztiak neurtzen dira. Teknika berritzaile hau, Euskal Herriko Unibertsitatean, Kimika Fisika Sailean berriki inplementatu da, eta Gradu Amaierako Lan honetan espektroskopiaren doitzea egiteko erabili da.

Esan behar da, ez dagoela (CP-FTMW) espektrometro komertzialik, eta espektrometroaren diseinua eta eraikitzea ikerkuntza laborategian bertan egin dela. Jarraian, tresna honen azalpen nagusiak ematen dira.

CP-FTMW atal garrantzitsuak

2.2 Irudian EHU dagoen CP-FTMW espektrometroaren argazkia agertzen da. Espektroskopia osotik atal garrantzitsuenak zenbaki batekin adierazi dira.



2.2 Irudia. EHU CP-FTMW espektrometroaren irudia. Osagai nagusiak 1: Hautazko uhin sorgailua (AWT) 2: Potentzia anplifikadorea (TWT) 3: Hedatze ganbara 4: Detekzio sistema (osziloskopia).

Jarraian, espektrometroaren atal nagusiak azaltzen dira:

1-.Mikrouhinezko pultsu sortzailea (*AWG Arbitrary Waveform Generator*):

AWG mikrouhinezko pultsu motz batean ($1-2 \mu\text{s}$) espektroaren 12 GHz betetzen ditu. Jarraian, lortutako maitasuna finkatutako mikrouhinarekin nahasten da frekuentzia tarte mugitzeko (7,5-18 MHz). Pultsu-motz honek, pultsu bakar batean maiztasun tarte osoan (7,5-18 MHz) ekorketa azkar bat egiten du. Premiazkoa da pultsua oso laburra izatea, normalean $1 \mu\text{s}$ izaten da, $10 \mu\text{s}$ -tan lan egiten duen FID detektagailuari maiztasun guztiak detektatzeko denbora nahikoa izateko. Praktikan, AWG 10 pultsu *chirped* bakoitza $1 \mu\text{s}$ iraupenarekin sortzen ditu, pultsu bakoitzaren artean $25 \mu\text{s}$ etena dago. Horrela, pulsu molekular bakoitzeko 10 espektro desberdin analizatu daitezke, beraz, espektroak lortzeko denbora tarte dezente murrizten du.

2-Potentzia anplifikadorea (TWT Traveling-Wave Tube):

Tresna honek AWG sortutako seinalearen potentzia 200 W anplifikatzen du. Anplifikadoreak espektro osoa betetzen du, 7,5-18 MHz tartean.

3-Hedatze ganbara:

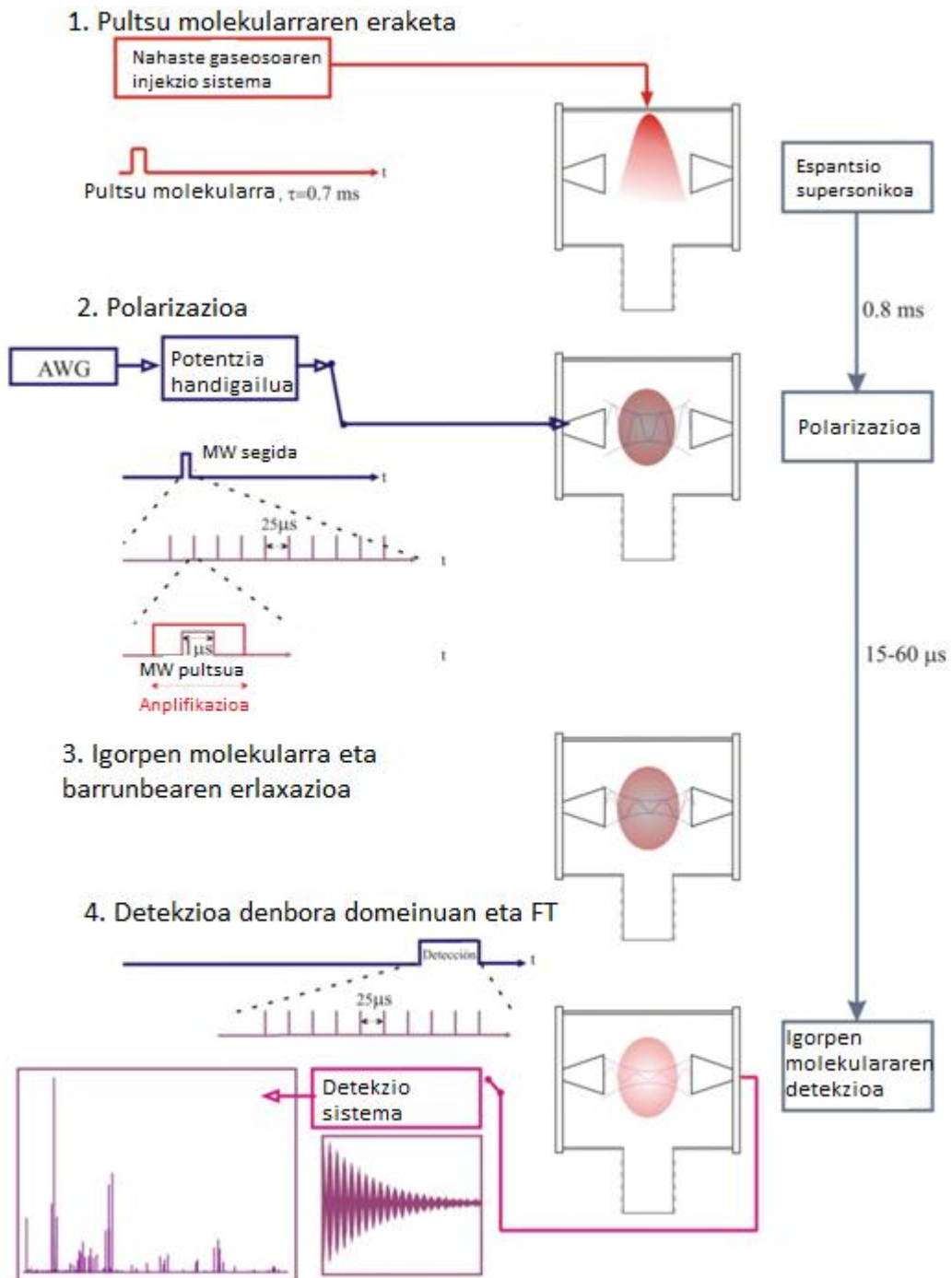
Hedatze ganbara mikrouhina eta *jet* supersonikoa elkartzen diren barrunbea da. Hedatze ganbara hutsean dago (10^{-6} mbar), hutsa egiteko difusio-pompa eta pompa birakari bat erabiltzen dira. Lagina hedatze ganbarara sartzen da *nozzle*, 0,5-1 mm duen zuloa zeharkatuz eta hedatze ganbarara sartzen den lagin kopurua injektore pulsatutako balbula batek kontrolatzen du. Balbula honek, 1 Hz maiztasuneko pulsu molekularrak sortzen ditu. AWG sortzen dituen frekuentziak ganbarara bozina batetik sartzen dira eta beste bozina batek emisio seinalea detektagailura bideratzen du.

4-Detekzio sistema

Detekzio sistemak hedatze ganbaran sortutako igorpen molekularrak detektatzen ditu. Detekzio sistemaren osagai nagusia 20 GHz-ko kapazitatea daukan osziloskopioa da, beraz, oszilokopioak AWG sortzen duen frekuentzia tarte osoa detektatzen du. Oszilokopioak denbora errealean Fourier Transformatua egiten du, hau da, denbora eremuan dagoen seinalea maiztasun eremura bihurtzen du. Oso lagungarria da osziloskopio berak FT egitea, esperimentua egiten ari den unean espektroa ikus daitekeelako eta espektroskopiaoren optimizazioa errazago egin daitekeelako. Maiztasun seinale guztiak, 10 MHz-eko Rb kristal batekin sinkronizatuta daude, horrela, espektroak modu koherente batean metatu daitezke.

CP-FTMW denbora sekuentzia

CP-FTMW aparatuen denbora sekuentzia 2.3 irudian agertzen da.



2.3 Irudia: CP-FTMW denbora sekuentziaren eskema.

2.3 Irudian agertzen diren lau etapak jarraian azaltzen dira

-Pultsu molekularra: Balbula 500-800 μ s irekita egoten da, tarte honetan laginaren hedatze adiabatikoa gertatzen da eta huts ganbaran *jet* supersonikoa sortzen da.

-Polarizazioa: Atal honetan *jet* supersonikoan dauden espezieen polarizazioa induzitzen da (mikrouhin eremuan kitzikapena), pultsu molekularra sortu eta 560-950 μ s geroago. AWG-an lortu den kitzikapen sekuentzia, TWT-an potentzia amplifikatzen da eta uhin gidari batek hedatze ganbarara zuzentzen du. Polarizazioa mikrouhin pultsua hedatze ganbarara sartzen denean hasiko da.

-Igorpen molekularra eta barrunbearen erlaxazioa: Jet supersonikoan dauden molekulek, bere errotazio energi aldaketaren arabera, uhin maiztasun batzuk xurgatuko dituzte eta errotazio maila handiago batera aldatuko dira. Epe labur batean errotazio maila txikiagoetara itzuliko dira soberan dagoen energia igorritz.

-Detekzioa: Jet supersonikoan dauden molekulek igorritako energia detektagailura bideratzen da. Igorritako uhinak ahulak direnez, zarata gutxiko amplifikadore batean sartzen dira uhinen intentsitatea handitzeko. Detektagailua osziloskopio bat da eta lehenago aipatu den bezala, osziloskopioak molekulen uhinen emisioa denbora eremuan detektatzen du. FT bitartez, osziloskopio berak espektroa maiztasun eremura eraldatu dezake. Horrela, hedatze ganbaran dauden espezie guztien errotazio trantsizioak detektatuko dira.

3-. OINARRI TEORIKOA

3.1-. ERROTazio MOLEKULARREN MEKANIKA KUANTIKOA ETA ESPEKTROSKOPIA

Errotazio espektroaren analisia egiteko errotazio molekularren ezaugarriak aztertu behar dira. Atal honetan ezaugarri garrantzitsuenak azaltzen dira, baina xehetasun guztiak bibliografian agertzen dira [11-13].

Errotazio molekularra aztertzeko, hasiko gara suposatuz molekula errotore zurrunda dela, hau da, loturen angelu eta distantziak finkaturik daudela. Beraz, errotazio Hamiltondarrak honako espresio hau hartzen du:

$$H_{\text{rot}} = AJ_a^2 + BJ_b^2 + CJ_c^2 \quad (1)$$

J_i ($i = a, b, c$) momentu angularraren osagaien eragileak dira inertzia-ardatz nagusiekiko (a, b, c). A, B eta C errotazio konstanteak dira eta (2) ekuazioan ikusten den bezala inertzia-momentuen menpe daude:

$$A = \frac{h^2}{8\pi^2 I_a} \quad B = \frac{h^2}{8\pi^2 I_b} \quad C = \frac{h^2}{8\pi^2 I_c} \quad (2)$$

Edozein molekularren inertzia momentua grabitate zentroarekiko determinatzeko ekuazio hau erabiltzen da:

$$I = \sum_i m_i r_i^2 \quad (3)$$

m_i eta r_i i ardatzarekiko atomoaren masa eta distantzia dira. Hiru ardatzetatik batek, hitzarmenez c ardatza, inertzia momentu balio maximoa dauka. Bigarren ardatz batek, a ardatza, inertzia momentu balio minimoa dauka eta bi ardatzak elkarrekiko perpendikularrak dira. Badago hirugarren ardatz bat, b ardatza, beste bi ardatzarekiko perpendikularra dena. Beraz, hiru inertzia-momentu nagusi daude, I_a, I_b eta I_c eta inerti momentuen balioek orden zehatza jarraitzen dute: $I_c > I_b > I_a$. Inertzia momentuaren arabera molekulak hiru talde desberdinetan sailkatzen dira:

-Molekula linealak: $I_c = I_b > I_a = 0$ (4)

-Molekula simetrikoak:

$$\text{-Errotore luzatu simetrikkoa: } I_c = I_b > I_a \quad (5)$$

$$\text{-Errotore zanpatu simetrikkoa: } I_c > I_b = I_a \quad (6)$$

$$\text{-Molekula asimetrikoak: } I_c > I_b > I_a \quad (7)$$

Interes biologikoa daukaten molekula gehienak asimetrikoak dira, baina batzuetan molekula asimetrikoak errotore simetrikoko batetik gertu egon daitezke. Molekula bat errotore luzatu edo zanpatu muga dagoen jakiteko Ray parametroa erabiltzen da [14]:

$$\kappa = \frac{2B-A-C}{A-C} \quad (8)$$

κ parametroak -1-1 arteko balioak hartu dezake eta muga balioak ziba simetrikoei dagozkie, errotore luzatu muga $\kappa = -1$ eta errotore zanpatu muga $\kappa=1$ dira.

Molekula lineal eta ziba simetrikoeetan, errotazioaren energia-mailak analitikoki determinatu daitezke:

$$\text{Lineala: } E(J) = 2B(J + 1) \quad (9)$$

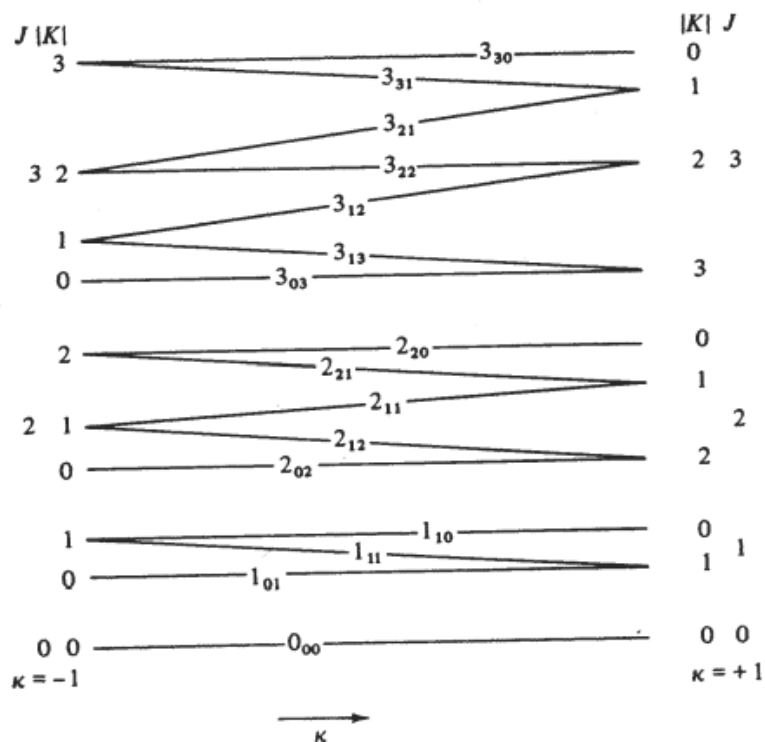
$$\text{Errotore luzatua: } E(JK) = BJ(J + 1) + (A - B)K^2 \quad (10)$$

$$\text{Errotore zanpatua: } E(JK) = BJ(J + 1) + (C - B)K^2 \quad (11)$$

J momentu angeluar totalaren kuantu-zenbakia da, eta K kuantu zenbakia J-ren proiektzioa z ardatzaren zehar da. Errotore luzatuaren J mailaren energia K kuantu-zenbakiarekin handitzen da eta errotore zanpatuaren J mailaren energia K kuantu-zenbakiarekin txikitzen da.

Molekula asimetrikoetan errotazio higiduraren Schrodinger ekuazioak ez dauka emaitza analitikorik eta ekuazioen emaitzak metodo konputazionalen bidez lortzen dira. Hori dela eta, molekula asimetrikoen Hamiltondarra lortzea ez da erreza izaten, molekula simetrikoen uhin-funtzioak erabili behar dira eta. Ziba asimetrikoen errotazio maila $J_{K_a K_c}$ moduan izendatzen da, baina gehienetan errotore luzatu eta zanpatuaren muga bezala izendatzen dira: $J_{K-1 K+1}$. J zenbaki kuantiko egokia da errotazio molekularra deskribatzeko, baina K_a eta K_c (zein K_{-1} eta K_{+1}) ez

dira kuantu-zenbaki egokiak. K_a eta K_c bakarrik kuantu-zenbaki egokiak izango dira molekula errotore luzatu eta zanpatua denean.



3.1 Irudia: Errotore luzatu eta zanpatuaren energien arteko korrelazio-diagrama.

Diagraman ikusten denez, eta lehen esan den bezala, K_a edo K_{-1} maila energian handitzen denean sistemak energia irabazten du, berriz K_c edo K_{+1} maila energia handitzen denean sistemak daukan energia txikitzen da. Garrantzitsua da gogoratzea K ez dela kuantu-zenbaki ona, horregatik *pseudozenbaki kuantikoa* deitzen da.

Hautapen arauak

Errotatzen ari diren molekulek, mikrouhin-erradiazioaren aurrean, trantsizio espektroskopikoak sortzen dituzte. Erradiazioaren energia egokia izateaz gainera ($\Delta E=h\nu$), trantsizio espektroskopikoa gertatzeko zenbait baldintza bete behar dira kuantu-zenbakien artean, hautapen arauak deiturikoak. Ziba asimetrikoen hautapen arauak molekula linealak eta ziba simetrikoen hautapen arauekin konparatuta konplexuagoak dira. Ziba asimetrikoetan, trantsizioaren momentu

bipolarraren integrala ezin daiteke nulua izan. Ziba asimetrikoetan integral horrek forma hau hartzen du:

$$\langle A(J, K_{-1}, K_{+1}) | \mu | A(J', K'_{-1}, K'_{+1}) \rangle \neq 0 \quad (12)$$

Molekula baten momentu bipolarra ardatz nagusien zehar orientatuta dauden hiru osagaiak osatzen dute: μ_a , μ_b eta μ_c . Hiru osagai hauen arabera trantsizio mota aldatuko da, baina molekula guztietan (linealak, simetrikoak eta asimetrikoak) trantsizioa gertatzeko ΔJ eta ΔM aldaketek balio zehatz jakinak hartu behar dituzte, jarraian adierazten direnak:

$-\Delta J = -1$ (P adarra), 0 (Q adarra), $+1$ (R adarra)

$-\Delta M_j = 0, \pm 1$

2.1 taulan agertzen den moduan, *pseudozenbaki kuantikoak* inertzia momentuarekin erlazionaturik daude.

2.1 Taula: Errotore asimetriko baten hautapen arauak K_{-1} eta K_{+1} *pseudozenbaki* kuantikoen arabera.

Trantsizio mota	ΔK_{-1}	ΔK_{+1}
a	$0 (\pm 2, \pm 4)^a$	$\pm 1 (\pm 3, \pm 5)$
b	$\pm 1 (\pm 3, \dots)$	$\pm 1 (\pm 3, \dots)$
c	$\pm 1 (\pm 3, \dots)$	$0 (\pm 2, \pm 4)$

^a Parentesi artean dauden balioek trantsizio ahulak ematen dituzte.

Errotazio espektroen analisia egitean, molekulak daukan momentu bipolarraren orientazioa jakin behar da, horrela ze trantsizio mota gertatuko den aurreikusi daiteke. Momentu bipolarra nagusiki ardatz batean orientatuta badago, adibidez a ardatzaren zehar, soilik a trantsizioak gertatuko dira. Hala ere, errotazio espektroskopiaren bidez aztertzen diren molekula gehienek momentu bipolarra bi ardatzen zehar orientatuta daudenez gero, bi motako trantsizioak gailenduko dira. Beraz, hautapen arauak argi uzten duten bezala, trantsizioak gerta dadin inertzia momentua zeroren ezberdina izan behar da.

Distortsio zentrifugoa

Orain arte errotazio molekularra aztertzeko sistema zurruna erabili da, sistema honetan atomoak orekako posizio finkoak mantentzen dituzten masa zurrinak dira. Hala ere, errealitatea bestelakoa da, nukleoak indar berreskuratzaile finituen bidez lotuta daude eta ondorioz errotazioan distortsio zentrifugoa sortzen da, atomoen arteko distantziak eta angeluak aldatzen dituena. Distortsio zentrifugoa espektroen esleipenean kontuan hartu behar den efektua da, batez ere molekula malguak edo konplexu intermolekularrak aztertzen direnean. Efektu hau kontuan hartzen duen metodoa Watsonen Hamiltondarra da [15], errotore asimetrikoei egiten zaien erredukzio simetrikoan oinarritzen da.

$$\mathbf{H}_{\text{Watson}}^{(S)} = \mathbf{H}_{\text{errot}}^{(S)} + \mathbf{H}_{\text{dz}}^{(S)} \quad (13)$$

$$\mathbf{H}_{\text{errot}}^{(S)} = A^{(S)}J_a^2 + B^{(S)}J_b^2 + C^{(S)}J_c^2 \quad (14)$$

$$\mathbf{H}_{\text{dz}}^{(S)} = -D_J J^4 - D_{JK} J^2 J_c^2 - D_K J_c^4 + d_1 J^2 (J_+^2 + J_-^2) + d_2 (J_+^4 + J_-^4) \quad (15)$$

$$+ H_J J^6 + H_{JK} J^4 J_c^2 + H_{KJ} J_c^2 J^2 + H_K J_c^6 + h_1 J^4 (J_+^2 + J_-^2) + h_2 J^2 (J_+^4 + J_-^4) \\ + h_3 (J_+^6 + J_-^6)$$

Non: D_J , D_{JK} , D_K , d_1 eta d_2 distortsio zentrifugoen konstanteak dira eta H_J , H_{JK} , H_{KJ} , H_K , h_1 , h_2 eta h_3 termino seitikoak. Ekuazio hau erabiliko da gure molekularren kalkulu mekanokuantikoak egiteko.

3.2.- EGITURA MOLEKULARRAK

Errotazio espektroskopiaren erabilera garrantzitsuena egitura molekularren determinazioa da. Teknika honen bidez prezisio handiko egitura molekularrak lortu daitezke.

Errotazio konstanteen bidez lortzen diren inertzia momentuak (I_a , I_b eta I_c) 3 ekuazioan adierazten den bezala, atomo bakoitzaren distantzia eta masarekin erlazionatua daude, beraz, errotazio konstanteek ere molekularren geometriarekin erlazio zuzena izango dute.

Hala eta guztiz ere, nahiz eta oinarrizko mailan egon molekulek bibrazio energia daukate. Errotazio espektroen bidez lortzen diren egitura molekularrek ez dutenez bibrazio energi hori kontuan hartzen, ziurgabetasun faktore bat emango dute. Hala ere, errotazio espektroskopiaren bidez beste metodoekin ezin daitezkeen zehaztasun handiko egiturak lortzen dira.

Lan honetan, errotazio espektroskopian molekularen egitura parametroak determinatzeko gehien erabiltzen diren hiru metodo aztertuko dira: orekako egitura, egitura eraginkorra eta ordezkapen egitura.

Orekako egitura

Orekako egitura (r_e) nukleoen arteko energia potentzialaren funtzioaren minimoan determinatzen da, baina ezinezkoa da fisikoki minimo hau lortzea. Orekako egitura errotazio konstanteetatik lortzen da, bibrazio maila kitzikatuen estrapolazio eginda. Ordea, bibrazio maila kitzikatuetan dauden populazioa txikia denez, estrapolazio hau ezin daiteke beti egin. Beste aldetik, bibrazio-errotazio espektroak oso korapilatsuak direnez gero, errotazio konstante guztien determinazioa egitea ezinezkoa da, soilik, molekula sinple batzuetan lortu egin da. Arrazoi hauengatik, egitura determinatzeko oinarrizko bibrazio mailan dauden errotazio konstanteak hartzen dira. Esan behar da, molekularen egitura determinatzeko hurrengo bi metodoak gehiago erabiltzen direla.

Ordezkapen egitura

Ordezkapen egitura (r_s) lortzeko, oinarrizko molekularen espezie isotopikoak erabiltzen dira. Espezie isotopikoak erabiliz, inertzia momentuetan desbideratzeak sortzen dira, bibrazio energiaren efektua gutxituz. Kraitchman-ek garatutako metodoan [16], atomo bat isotopo batekin ordezkatzeko inertzia momentuak aldatzen direla baliatuz, atomo baten masa zentroarekiko koordinatuak determinatu daitezke. Metodo honek atomo baten ordezkapen isotopikoa egitean atomoen arteko distantzia eta

angeluak mantentzen direla onartzen du. Espezie monoordezkatuetan Kraitchman ekuazioak hauek dira:

$$\begin{aligned}
 |x| &= \left[\frac{\Delta P_x}{\mu} \left(1 + \frac{\Delta P_y}{I_x - I_y} \right) \left(1 + \frac{\Delta P_z}{I_x - I_z} \right) \right]^{1/2} \\
 |y| &= \left[\frac{\Delta P_y}{\mu} \left(1 + \frac{\Delta P_z}{I_y - I_z} \right) \left(1 + \frac{\Delta P_x}{I_y - I_x} \right) \right]^{1/2} \\
 |z| &= \left[\frac{\Delta P_z}{\mu} \left(1 + \frac{\Delta P_x}{I_z - I_x} \right) \left(1 + \frac{\Delta P_y}{I_z - I_y} \right) \right]^{1/2}
 \end{aligned} \tag{16}$$

Non:

$$\begin{aligned}
 \Delta P_x &= \frac{1}{2} (\Delta I_y + \Delta I_z - \Delta I_x) \\
 \Delta P_y &= \frac{1}{2} (\Delta I_x + \Delta I_z - \Delta I_y) \\
 \Delta P_z &= \frac{1}{2} (\Delta I_x + \Delta I_y - \Delta I_z)
 \end{aligned} \tag{17}$$

μ , masa murriztua da $\mu = \frac{M\Delta m}{M+\Delta m}$, M espezie nagusiaren masa da eta Δm espezie ordezkatuaren masa aldaketa. ΔI_i (i= x, y eta z) inertzia momentuaren aldaketa da espezie nagusi eta ordezkatuaren ardatz nagusien zehar.

Beraz, 16 eta 17 ekuazioetan adierazten den bezala, ordezkapen egituran (r_s) atomo baten koordinatuak determinatzeko, atomo hori isotopikoki ordezkaturik egon behar da, soilik horrela atomo baten egitura-parametro guztiak determinatu daitezke.

Alabaina, molekula batzuetan bibrazio efektua garrantzitsua izan daiteke, bereziki ordezkaturiko atomoa ardatz nagusietatik hurbil dagoenean. Horregatik, ziurgabetasuna distantziarekiko alderantziz proportzionala da eta koordinatuak 0,1 Å baino txikiagoa direnean balioak ez dira zehatzak izaten. Batzuetan, ordezkapen egituran ziurgabetasun handia dituzten koordinatuak agertzen dira, honen arrazoi bat izan daiteke, hidrogenoa deuterioarekin ordezkatzeko masa diferentzia handia denez, atomoen arteko distantziak aldatu daitezkeelako. Horregatik, egitura zehazteko ez dira hidrogenoak ordezkatzeko.

Egitura eraginkorra

Egitura eraginkorra (r_0), bibrazio-maila zehatz batean (normalean oinarrizko mailan) molekula baten errotazio konstanteak hoberen erreproduzitzen duen metodoa da [17].

Molekularen zailtasunaren arabera, egituraren determinazio egokia lortzeko espezie isotopiko batzuen datu esperimentalak behar dira. Metodo honetan suposatzen da espezie isotopikoak sartzean lotura parametroak ez direla aldatzen. Ordezkapen egituran gertatzen den bezala, beti ezin daitezke bibrazio efektuak alde batera utzi eta erabili diren espezie isotopiko kantitatearen arabera, koordenatuak era adierazgarri batean aldatu daitezke. Praktikan egitura eraginkorra errotazio konstante (A, B eta C) edo inertzia momentuen minimo karratu bidezko prozesu iteratibo baten bidez lortzen da. Egitura eraginkorrean, ordezkapen egituran ez bezala, isotopikoki ordezkatuta ez dauden atomoen egitura parametroak determinatu daitezke.

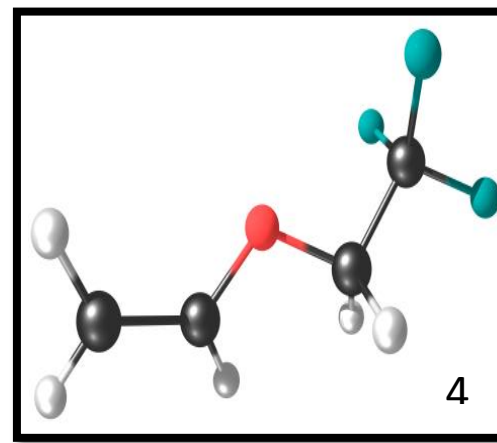
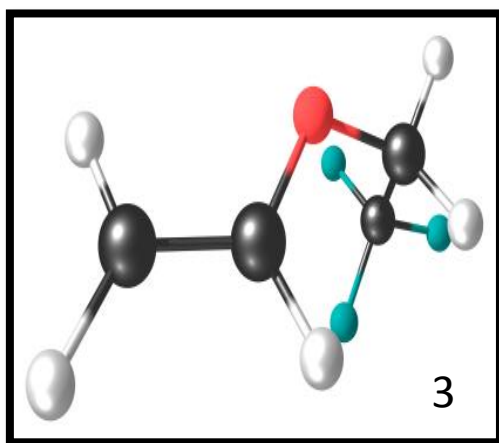
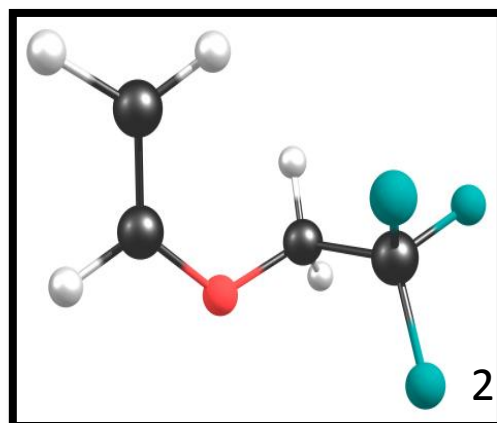
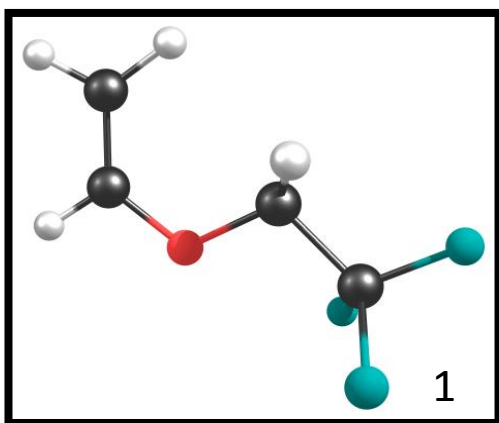
4-.FLUOROXENO DETERMINAZIOA

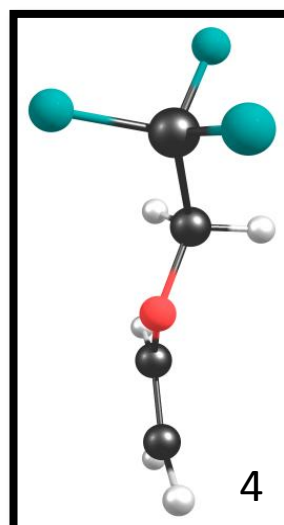
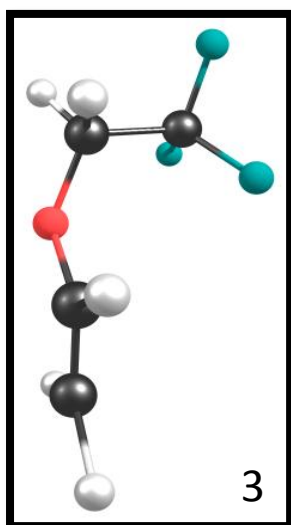
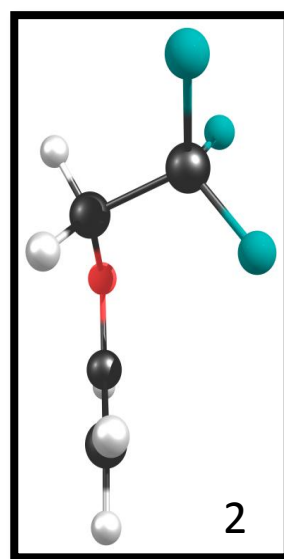
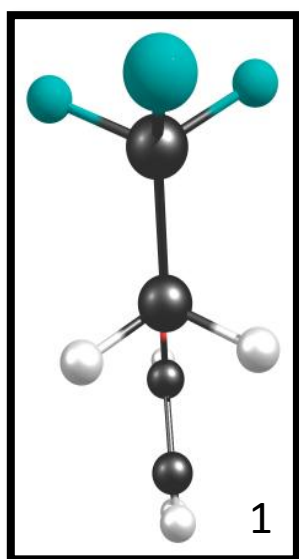
MOLEKULAREN

EGITURAREN

4.1-. KALKULU MEKANO KUANTIKOAK ETA AURRETIKO BILAKETA KONFORMAZIONALA

Fluoroxenoaren determinazio espektroskopikoa egin baino lehen, mekanika molekularra erabiliz (Makromodel programa informatikoa [18]) konformero guztien bilaketa sistematikoa burutu zen, 0-20 KJ/mol energi tartean. Fluoroxenoaren lau isomero desberdin lortu ziren, hain zuzen 4.1 irudian agertzen direnak. Fluoroxenoaren konformero egonkorrena 4.1 irudian 1 zenbakia dauka, konformero honek simetria planoak dauka (C_s talde puntuala) ardatz baten inguruan, beraz energi txikiena izango du eta egonkorrena izango da.





4.1 Irudia. Fluoroxenoaren 4 konformero egonkorrenak (0-20 kJ/mol bitartean) bi ardatz desberdinetatik begiratuta.

Macromodel programarekin lortutako fluoroxenoaren lau konformero egonkorrenen parametro espektroskopikoak zehazki determinatzeko, hiru metodo mekano kuantiko desberdin erabili ziren (MP2, B3LYP eta M-06-2X). Hiru metodo hauek Gaussian 09 programarekin [19] egin ziren. Konformeroen energia erlatiboa,

beraien errotazio konstanteak (A, B eta C) eta momentu dipolarra 4.1 taulan agertzen dira.

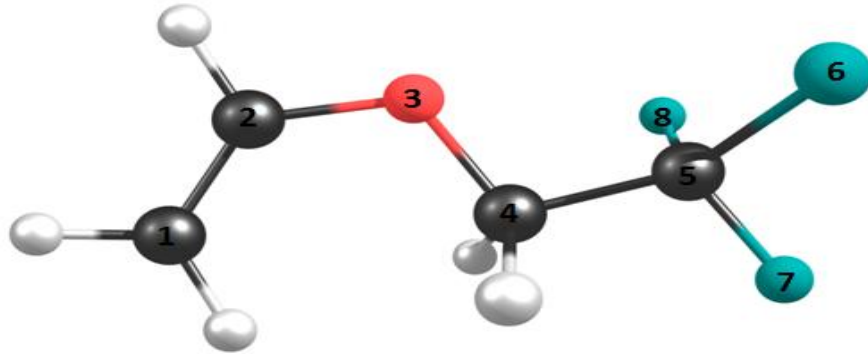
4.1 Taula: Hiru metodo mekanokuantiko erabiliz, fuoroxeno konformero onargarrien errotazio konstanteak eta momentu dipolarrak.

	Konformero 1			Konformero 2			Konformero 3			Konformero 4		
	M06-2X	B3LYP	MP2	M06-2X	B3LYP	MP2	M06-2X	B3LYP	MP2	M06-2X	B3LYP	MP2
A MHz ^a	4455	4403	4393	3781	4302	3756	4275	4892	4178	4961	3762	4920
B MHz	1123	1099	1121	1415	1159	1399	1221	1000	1226	1016	1356	1011
C MHz	1071	1049	1068	1293	1134	1279	1186	983	1189	998	1247	994
μ_a (Debye)	2,3	2,2	-2,2	1,5	-0,8	1,4	0,7	1,7	0,7	1,8	1,5	1,8
μ_b (Debye)	1,4	1,4	1,4	-0,1	-0,9	0,0	1,0	-2,2	1,0	-2,3	-0,1	-2,1
μ_c (Debye)	0	0	0	1,6	-1,8	1,5	-1,7	-0,7	-1,7	0,7	1,6	-0,9
μ_t (Debye)	2,7	2,6	2,6	2,2	2,2	2,1	2,1	2,9	2,1	3,0	2,2	2,9
DE (KJoul/mol)	0	0,0	0	6,9	4,6	7,3	8,1	6,4	7,5	11,3	7	9,6

^a Errotazio konstanteak A, B eta C. ^b Inertzia momentuko osagai nagusiak ardatz nagusiak (a, b eta c ardatzetan). ^c Konformero egonkorrena oinarri hartuta energia aldaketa, zero-puntuaren zuzenketa eginda.

4.1 Taulan ikustenenez, aztertu diren hiru metodo kuantikoen emaitzak antzekoak dira. Lehen esan den bezala, erabili diren hiru metodo desberdinek adierazten dute lehenengo konformeroa beste hiru konformeroak baino energi baxuago batean dagoela. Haien arteko energi diferentzia M06-2X eta MP2 metodoetan 7 KJ/mol baino handiagoa da. Hiru metodoek, konformero egonkorrenen segida berdina mantentzen dute: 1 konformero < 2 konformero < 3 konformero < 4 konformero. Beraz, mekanika kuantikoren emaitzak kontuan hartuta, espektro esperimentalean gehien bat 1 konformeroaren trantsizioak behatzea espero da. Beste hiru konformeroak energi maila elektroniko altuagoetan daudenez beraien ugaritasun erlatiboa inguruko tenperaturan oso txikia izango da eta espektrometroak ez ditu trantsizio horiek detektatuko.

4.2 Irudian fluoroxenoaren 1 konformeroaren atomoen zenbatzea ageri da



4.2 Irudia Fluoroxeno 1 konformeroaren atomoen zenbatzea.

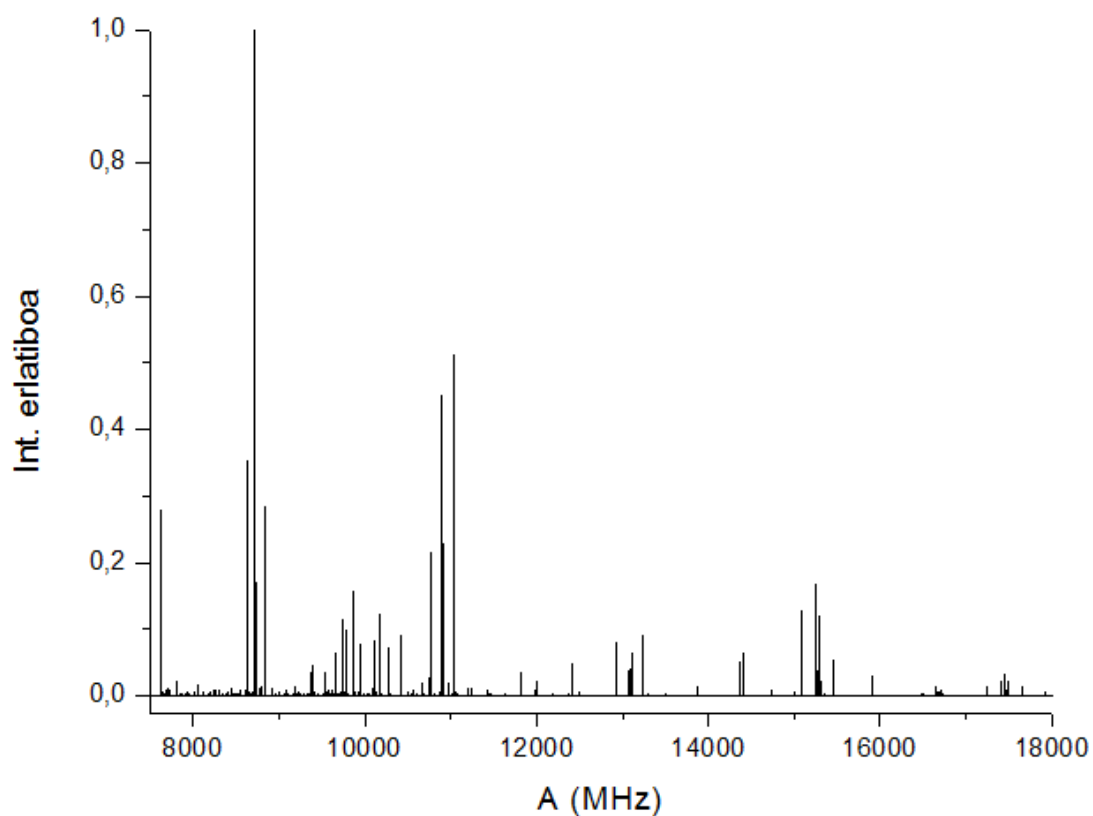
4.2.-FLUOROXENOREN ESPEKTRO ERROTAZIONALA

Fluoroxenoaren espektro esperimentalak 7500-1800 MHz eskualdean erregistratu zen. Espektroaren seinale/zarata erlazioa laborategian optimizatu zen eta optimizatutako balioak jarraian agertzen dira:

- Injekzio balbularen irekiera: 800 μ s
- Mikrouhin frekuentziaren atzerapena: 950 μ s
- Disoluzio gaseosoaren presioa: 2 bar

Bestetik, beste parametro batzuk finkatuta utzi ziren: espantsio kameraren presioa (2×10^{-6} mbar) eta *nozzle*-aren diametroa (0,8 mm).

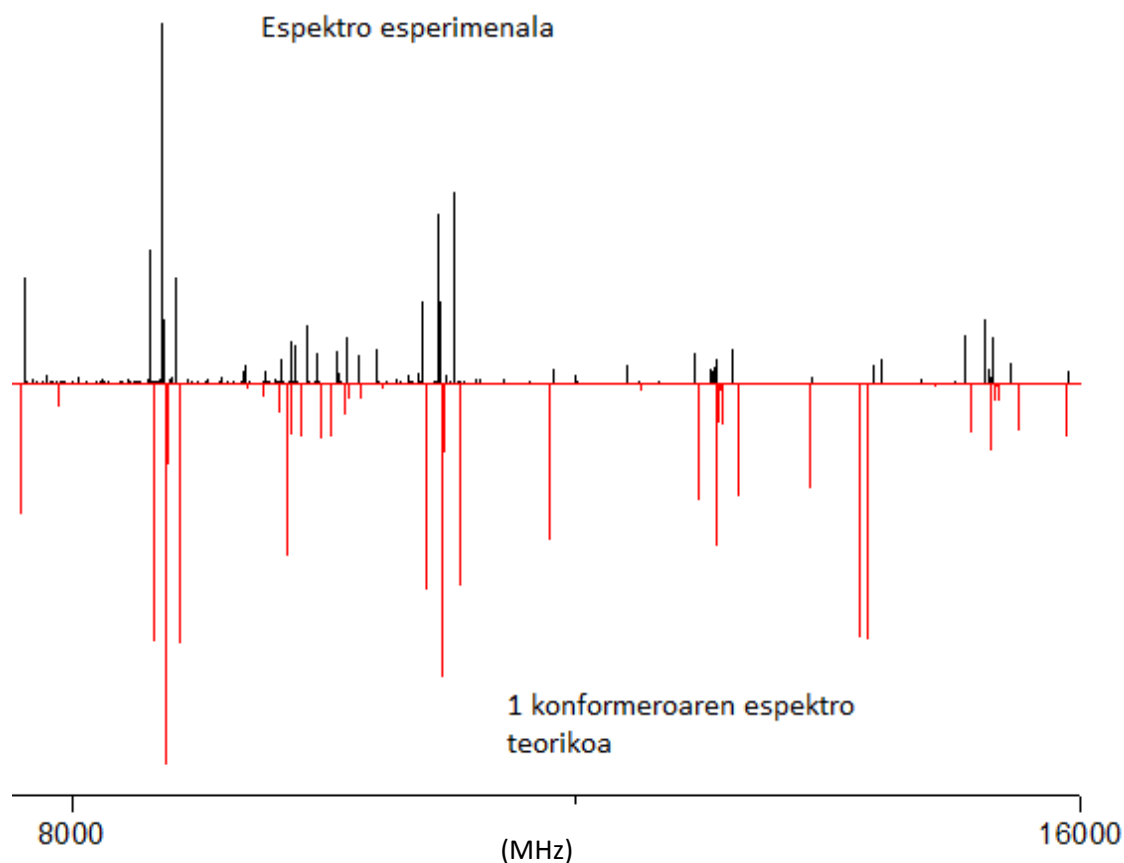
Lortutako espektroa 4.3 irudian agertzen da, espektro horretan seinale/zarata erlazioa 4/1 baino handiagoa duten 509 trantsizio agertzen dira. Espektro hori lortzeko 1675600 espektro bakanen batz bestekoa egin da.



4.3 Irudia Fluoroxenoaren espektro esperimental (7500-16000 MHz)

Espektro esperimental eta teorikoaren arteko konparaketa

4.4 Irudian lortutako espektro esperimental eta teorikoa MP2 metodoa erabiliz konparatzen dira. Horrela, erabilitako metodo teorikoa egokia den ala ez eta 1 konformeroaren eragina espektroan jakin dezakegu.



4.4 Irudia Fluorexenoaren espektroa esperimental eta 1 konformeroaren espektro teorikoaren (MP2) konparaketa (7500-16000 MHz).

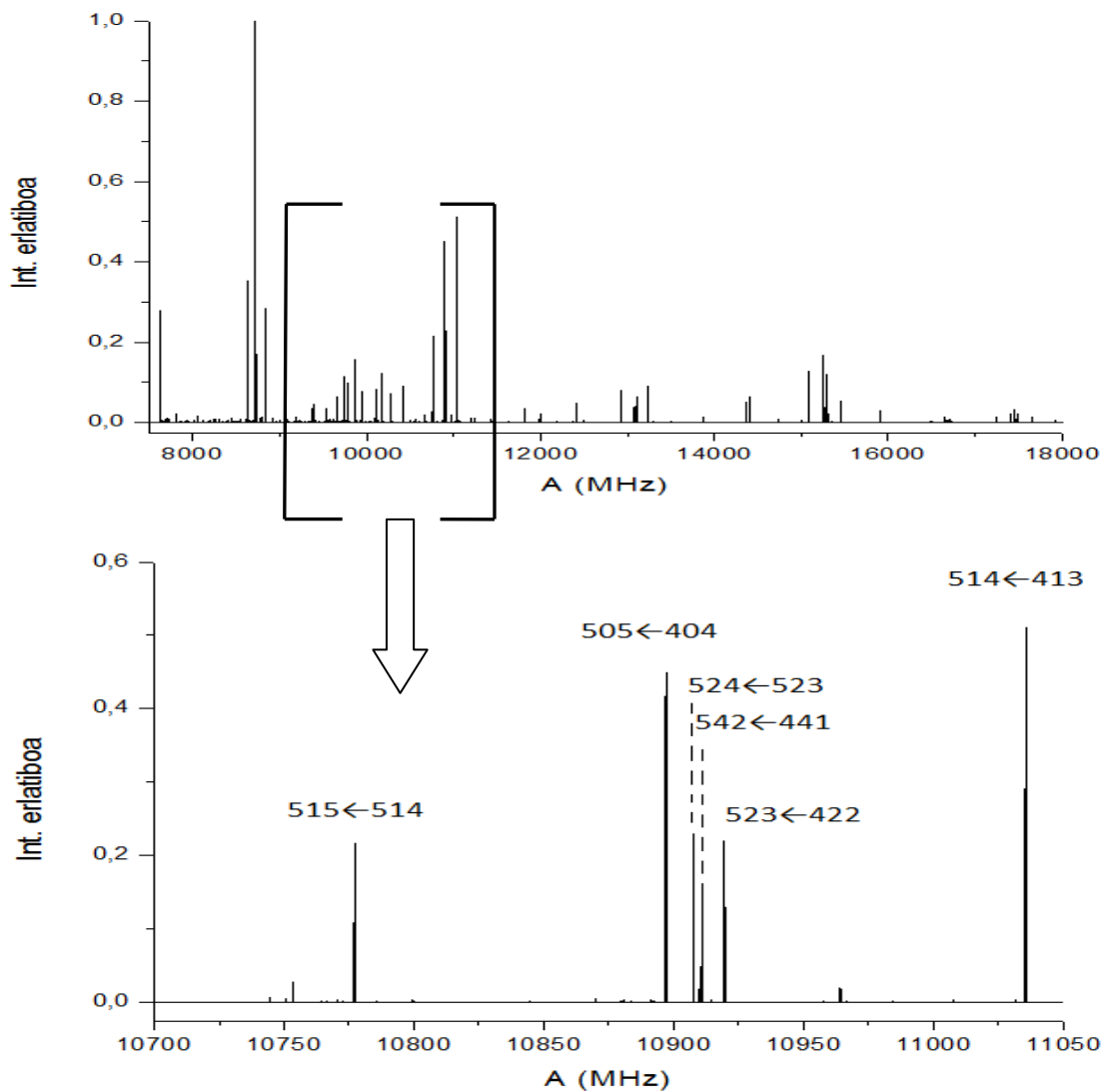
Ikus daitekeen moduan, espektro esperimental eta 1 konformeroaren espektro teorikoa trantsizioetan nahiko antzekoak dira, bereziki a motako trantsizioetan. Hala ere, kalkulu teorikoetan jartzen den tenperaturaren arabera trantsizioen intentsitatea aldatzen da. Beraz, esan daiteke espektro esperimentalean gehien bat 1 konformeroa agertzen dela, hau egiaztatzeko, ondoren azaltzen den espektroen esleipena egin behar da.

1 Konformeroaren trantsizioen esleipena

Fluorexenoaren 1 konformeroa, Ray asimetria-parametroa; $k=-0,96$ da, ondorioz, nahiz eta molekula errotore asimetrikoa den, errotore luzatuaren antz handia izango du. Bestetik, teoria atalean azaldu den bezala, errotore asimetrikoetan hiru trantsizio mota desberdin daude, momentu dipolarrek inertzia ardatzarekiko hartzen dituen orientazioen arabera. 1 Konformeroaren momentu dipolarra ab

($\mu_a=2.2$ debye eta $\mu_b=1.4$ debye) planoan dagoenez gero, trantsizio nagusiak a eta b motakoak izango dira. Hori dela eta, intentsitate handiagoetan agertzen diren μ_a -R trantsizioak bilatzen hasi ginen. Ab initio espektroen iragarpenen laguntzaz, μ_a motako 49 trantsizio aurkitu ziren, guztiak R adarrekoak dira eta $J= 4\leftarrow 3, 5\leftarrow 4, 6\leftarrow 5, 7\leftarrow 6$ eta $8\leftarrow 7$ trantsizioei dagozkie. Trantsizio talde hauen tartea gutxi gora behera 2170 MHz-koa da, B + C hain zuzen. Bestetik, aipatzekoa da $404\leftarrow 303$ trantsizioa oso intentsitate handikoa dela, bigarren trantsizio intentsuaren bikoitza baino gehiago.

Adibide gisa $J= 4\leftarrow 5$ trantsizioen esleipena 4.5 irudian agertzen da.



4.5 Irudia μ_a -R adarrean $J= 5\leftarrow 4$ trantsizioen esleipena, espektroaren handipenarekin.

Behin μ_a motako trantsizioen esleipena eginda eta errotazio konstanteak lortuta, b motako trantsizioak iragarri eta bilatu ziren. Horrela, μ_b -R, μ_b -Q eta μ_b -P motako 82 trantsizio bilatu ziren, beraz osotara 1 konformeroaren 131 trantsizio aurkitu ziren. Espeketroaren esleipena A1 erantsian ikus daiteke. 1 konformeroaren esleipenaren datuak erretore erdi-zurrun baten Hamiltondar eragile bati doitu zitzaizkion, eta 4.2 taulan agertzen dira doiketaren ostean lortutako errotazio eta distortsio zentrifugoaren konstanteak.

4.2 Taula: fluoroxeno 1 konformeroaren errotazio parametro experimental eta teorikoen arteko konparaketa.

	Esperimentala	Teoria		
		MP2	M06-2X	B3LYP
A/MHz^a	4431.82239(75) ^f	4393.47	4455.25	4403.06
B/MHz	1116.73622(17)	1121.28	1122.66	1098.89
C/MHz	1065.05818(17)	1067.51	1070.70	1048.86
D_J/kHz^b	0.07070(80)	0.067	0,069	0,068
D_{JK}/MHz	0.001147(12)	0.0011	0.0013	0.0013
D_K/kHz	-0.082(28)	-0.26	-0.38	-0.33
d_1/Hz	-3.78(17)	-3.78	-3.41	-3.75
d_2/Hz	3.098(62)	3.71	4,85	3.63
H_{JK}/Hz	0.222(53)			
$ \mu_a /D^c$		2.20	2.32	2.23
$ \mu_b /D$		1.39	1.42	1.38
$ \mu_c /D$		0.00	0.00	0.00
$ \mu_{Tot} /D$		2.60	2.73	2.62
N^d	131			
σ/kHz^e	8.2			

^a Errotazio konstanteak (A, B C). ^b Distortsio zentrifugoaren konstanteak (D_J , D_{JK} , D_K , d_1 , d_2). ^c Ardatz nagusien momentu dipolarrarekiko osagaiak (μ_α , $\alpha = a, b, c$; $1D \approx 3.336 \times 10^{-30} \text{ C m}$). ^d Trantsizio kopurua (N). ^e Doiketarekiko rms desbideratzea (σ). ^f Parentesi artean azken bi digituen errore estandarra adierazten da.

Taulan ikusten denez, esperimentalki lortutako emaitzak eta MP2 eta M06-2X metodoekin lortutako emaitzak nahiko antzekoak dira, ordea, B3LYP metodoarekin ez dira emaitza egokirik lortzen. B3LYP metodoak A errotazio konstanteak ongi aurratsen du, errore erlatiboa txikia delako (%0,6), aldiz, B eta C errotazio konstanteak ez ditu oso ondo aurratsen, erroreak handiagoak direlako, %1,6 eta %1,52 hurrenez hurren. Beste bi metodoek, errore erlatiboak txikiagoak dituzte, M06-2X hiru errotazio konstanteentzako errore erlatiboa %0,5 da eta MP2 metodoan A konstanteentzako errorea nahiko handia da (%0,9) baina B eta C konstanteentzako errore erlatiboa txikitzen da, %0,4 eta %0,23 hurrenez hurren.

Lehen esan den bezala, espektroak osotara 509 trantsizio dauzka, seinale zarata erlazioa $\frac{1}{4}$ baino handiagokoak. 1 konformerorako 131 trantsizio esleitu dira eta, espektroa espezie guztien batuketa denez, izendatzeko geratzen diren 378 trantsizioak beste isotopomero eta konformeroen trantsizioak izango dira.

-1 Konformeroaren isotopomeroak

Behin, 1 konformeroaren espezie nagusia esleitu zenean espezie honen isotopomeroak esleitu ziren. Horretarako, espezie nagusiaren egitura zuzenduarekin ^{13}C mono ordezkatuaren lau espezie eta ^{18}O mono-ordezkatuaren espezie baten trantsizioen iragarpena egin zen. Espezie guztiak ugaritasun naturalean aurkitu ziren, (isotopomeroen espezien ugaritasun erlatiboa gutxi gora behera %1 ^{13}C eta %0,2 ^{18}O da). Beraz, trantsizioen intentsitatea espeziearen ugaritasunarekin erlasionaturik egongo da: ^{13}C espezieak %1-eko ugaritasun erlatiboa duenez, ^{13}C atomo batez ordezkaturako espeziearen intentsitatea espezie nagusiarena baino 100 aldiz txikiagoa izango da. ^{18}O atomo batez ordezkaturako espeziearekin antzekoa gertatzen da: ugaritasun erlatiboa espezie nagusiarekin konparatuz intentsitatea 500 aldiz txikiagoa izango da. Karbono eta oxigenoaz gain, fluoroxenoan dauden beste bi atomoak fluoro eta hidrogenoa dira, baina errotazio espektroskopian bi atomo hauen isotopomeroak ez dira behatzen. Honen arrazoia hurrengoa da: ^{19}F atomoak isotopo bakarra du eta hidrogenoaren isotopo nagusiaren (^2H deuterioa) ugaritasun naturala oso txikia da, %0,015 hain zuzen.

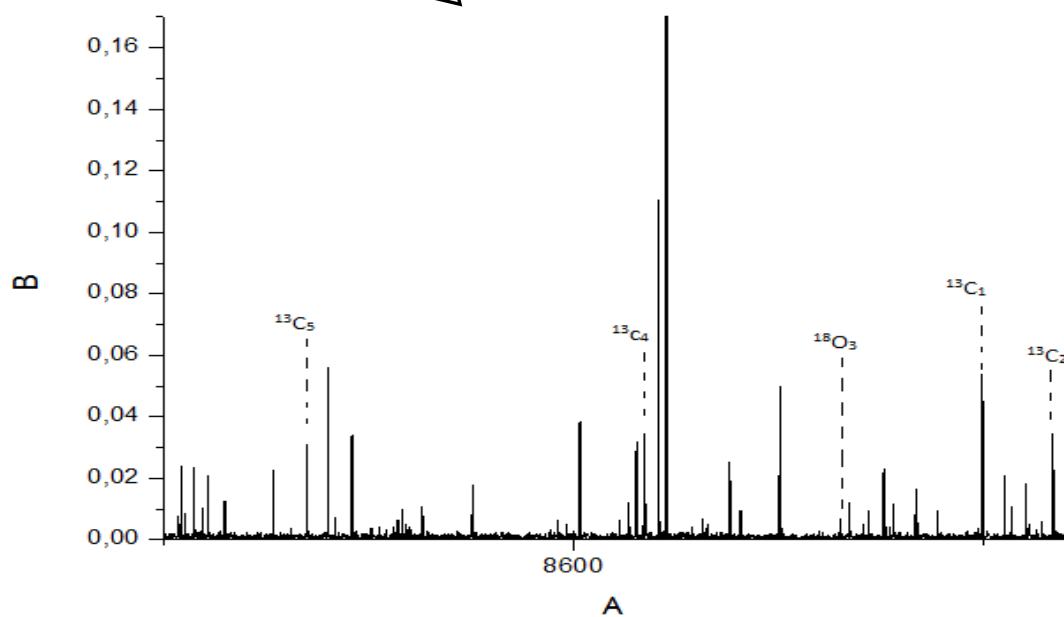
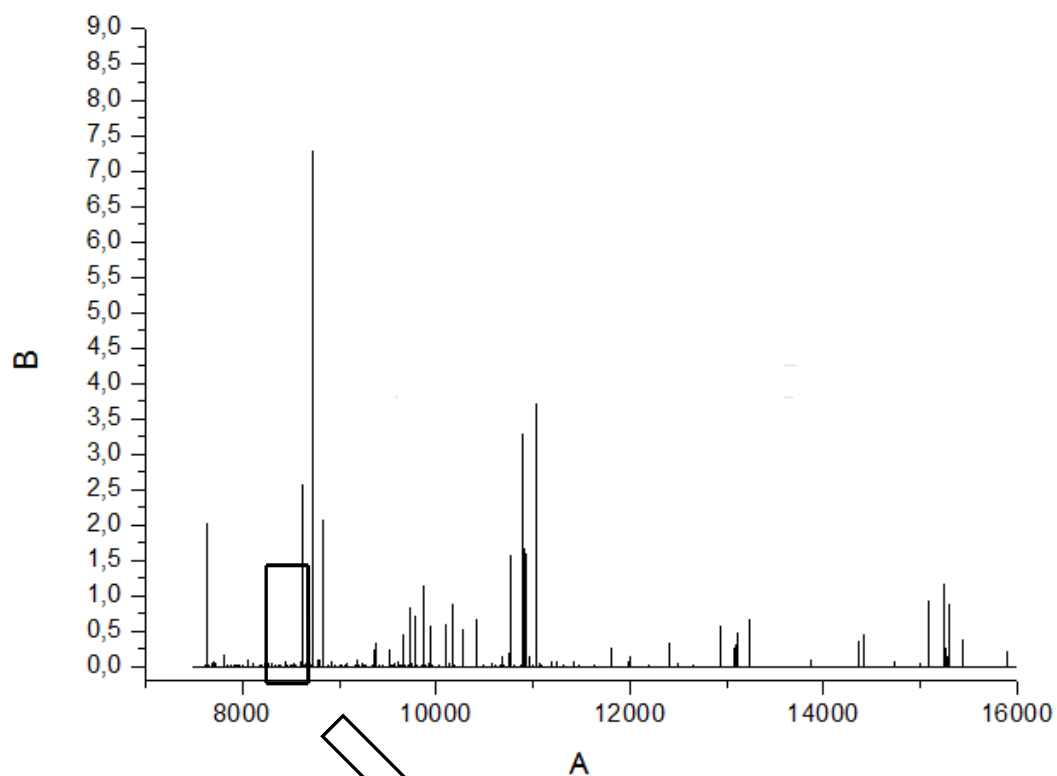
Espezie nagusiarekin egin den bezala, behin trantsizioen iragarpena eskuratuta trantsizioen esleipena egin zen. Isotopikoki monoordezkatutako espezie hauen trantsizioak intentsitate txikiagoetan agertzen direnez, trantsizio gutxiago esleitu ziren. ^{13}C -z ordezkaturako isotopomero bakoitzean gutxi gorabehera 37 trantsizio aurkitzen dira eta ^{18}O -z ordezkaturako isotopomeroan aldiz, 14 trantsizio. Aurkitutako trantsizio gehienak μ_a -R dira, intentsoenak direlako, baina μ_b -R trantsizio batzuk ere behatu dira. 1 Konformeroaren isotopomero bakoitzerako behatu diren trantsizioen esleipenak A.2, A.3, A.4, A.5 eta A.6 eranskinetan agertzen dira. 4.3 taulan mono-ordezkatutako espezie bakoitzaren errotazio konstanteak agertzen dira.

4.3 Taula: Fluoroxeno 1 konformeroaren monoordezkatutako isotopoen isotopo konstanteak ditua.

	$^{13}\text{C}_1$	$^{13}\text{C}_2$	$^{13}\text{C}_4$	$^{13}\text{C}_5$	$^{18}\text{O}_3$
<i>A</i> /MHz ^a	4412.9779(10) ^d	4423.95030(98)	4421.6399(11)	4432.0153(70)	4397.9350(50)
<i>B</i> /MHz	1092.87409(34)	1101.62931(21)	1116.49158(30)	1113.90684(50)	1110.37085(33)
<i>C</i> /MHz	1042.28288(35)	1050.86597(22)	1064.25398(28)	1062.47462(54)	1057.42153(38)
<i>N</i> ^b	33	40	35	31	14
σ /kHz ^c	3.6	3.1	3.6	2.3	4.1

^a Errotazio konstanteak (A, B eta C). ^bDoitzean dauden lerro kopurua (N). ^c Doitzearen desbideratze estandarra (σ). ^dParentesi artean errore estandarra azken digitu unitateko.

1 konformeroaren espezie isotopikoak nola agertzen diren azaltzeko, 4.6 irudian espezie isotopikoen $404 \leftarrow 303$ trantsizioa agertzen da. Espezie isotopiko guztiak ikusteko intentsitate handiena daukana trantsizio aukeratu da.



4.6 Irudia Fluorexeno 1 Konformeroaren isotopomeroen 404 \leftarrow 303 trantsizioen esleipena.

1 Konformeroa eta haren isotopomeroen trantsizioen esleipena egin zenean, espektro esperimentalean esleitutako trantsizioak kendu ziren. Beraz, oraindik

espektroan agertzen diren eta senale/zarata erlazioa $\frac{1}{4}$ baino handiagoa daukaten 225 trantsizio esleitu behar dira.

Hasiera batean, saiatu ginen metodo mekanokuantikoekin aurreikusitako beste hiru konformeroen trantsizioak espektroarekin doitzea. Baina ez zen lortu, honen arrazoa seguru aski izango da beste hiru konformeroek energi altua daukatenez (7kJ/mol baino energi handiagoa MP2 metodoaren arabera) konformeroen populazioa oso txikia izango da eta espektrometroak ezin izango ditu trantsizio horiek detektatu. Esleitu gabe geratzen diren 225 trantsizioen artean seguruenik fluoroxenoak osatzen dituen konplexu intermolekularrak agertuko dira. Eratu daitezkeen konplexu intermolekularren artean garrantzitsuenak fluoroxeno-ura eta fluoroxenoaren dimeroa dira. Baina konplexu hauen esleipena lan honetatik kanpo geratzen da.

4.3 FLUOROXENOAREN EGITURAREN DETERMINAZIOA

Fkuoroxenoaren egitura lortzeko esperimentalki lortutako 1 konformeroaren eta bere isotopomeroen errotazio parametroak (4.2 eta 4.3 taulak) erabili dira. 1 konformeroaren egituraren determinazioa metodo desberdinekin burutu da: ordezkapenezko egitura (r_s), egitura eraginkorra (r_0) eta orekako egitura (r_e).

Ordezkapenezko egitura (r_s)

Ordezkapenezko egitura lortzeko Kraitchman ekuazioak erabili dira. Kraitchman ekuazioek, 3.2 atalean azaldu den moduan, soilik isotopo batekin ordezkaturako atomoen masa-zentroarekiko koordinatuen balio absolutuak determinatzen ditu. Beraz, esperimentalki lortutako koordinatuen ikurra zehazteko, metodo teoriko bidez lortutako koordinatuen ikurrekin konparatu behar dira. Ordezkapenezko egituraren beste muga bat, soilik isotopikoki ordezkaturata dauden atomoen koordinatuak determinatu daitezkeela da, horrela fluoroxeno molekulan soilik karbono eta oxigeno atomoen koordinatuak determinatu daitezke. Fluoroxenoa C_s simetria planoak daukanez, molekula lauei egokitutako Kraitchman ekuazioak erabili dira. Molekula ab planoan dagoela suposatuz, 4.4 taulan Kraichman ekuazioen bidez lortutako balioak MP2 metodo teorikoarekin konparatzen dira.

4.4 Taula: Kraitchman ekuazioen bidez isotopoki ordezkaturako atomoen koordenatuak.

	$ a /\text{Å}$	$ b /\text{Å}$	$ c /\text{Å}$	MP2 / Å
C ₁	3.14836	0.70956	0.00000	3.139/0.721/0.000
C ₂	2.49613	0.45561	0.00000	2.495/0.457/0.000
C ₄	0.31550	0.51370	0.00000	1.084/0.071/0.000
C ₅	1.07461	0.00000	0.00000	1.084/0.071/0.000
O ₃	1.14524	0.66992	0.00000	1.149/0.667/0.000

Taulan behatu daitekeen bezala, datu esperimentalak eta teorikoak bat datoz, kasu txarrean errore estandarra %0,9-koa da. Behin atomoen koordenatuak izanda, egiturazko parametroak determinatu ziren, eta horien balioak 4.5 taulan agertzen dira.

Egitura eraginkorra (r_0)

Egitura eraginkorra molekulen egitura determinatzeko erabiltzen diren metodoen artean errepikakortasun handiena daukan metodoa da. Errotazio espektroen bitartez lortutako errotazio konstanteak baliatuz, bibrazio maila zehatz batean (normalean oinarritzko egoera batean) fluoroxenoaren egitura eraginkorra determinatu daiteke, 2.3 atalean ikusi den bezala. Egitura eraginkorra, espezie nagusiaren eta isotopikoki ordezkaturaren errotazio konstante desberdinekin egiten den karratu txikien bidezko doitze iteratibo baten bidez determinatzen da. Egituraren determinazioa egiteko, Rudolph irakasleak idatzitako RU111 [18] programa erabili zen. 1 Konformerorako 18 errotazio konstante erabili ziren guztira, espezie nagusiaren 3 (A, B, C) eta espezie isotopikoen 15 errotazio konstante hain zuzen. Suposatu da molekula laua dela eta angelu diedroak 180°-tan finkatu dira.

4.5 Taula: Ordezkapenezko egitura, egitura eraginkorra eta orekako egituraren (MP2 metodotik lortuta) Fluoroxenoaren 1 konformeroaren egitura.

	r_s	r_0	r_e^d
$r(C_1=C_2)^a$	1.33530 (7) ^b	1.342 (10)	1.34249
$r(C_2-O_3)$	1.36778 (8)	1.362 (4)	1.36216
$r(O_3-C_4)$	1.44549 (3)	1.407 (8)	1.40686
$r(C_4-C_5)$	1.48199 (5)	1.512 (10)	1.51150
$r(C_5-F_6)$		1.347 (8)	1.34748
$r(C_5-F_6) = r(C_5-F_6)$		1.339 (5)	1.33866
$\angle(C_1=C_2-O_3)$	128.253 (4)	127.5 (6)	127.502
$\angle(C_2-O_3-C_4)$	116.017 (5)	115.0 (5)	115.039
$\angle(O_3-C_4-C_5)$	104.750 (4)	107.4 (6)	107.394
$\angle(C_4-C_5-F_6)$		108.9 (8)	108.988
$\angle(C_4-C_5-F_7)$		112.0 (4)	112.035
$\tau(C_2-O_3-C_4-C_5)$	-180.000 ^{*c}	-180.000000*	180.000
$\tau(C_1=C_2-O_3-C_4)$	0.00000*	0.000000*	0.00000

^a Distantziak angstrometan eta angeluak gradutan. ^b Lortutako errorea estandarrak parentesi artean, azkeneko unitatea. ^c ,* dutenak finkatu diren balioak dira. ^d Orekako egitura, MP2 metodo mekanokuantikotik lortutakoak

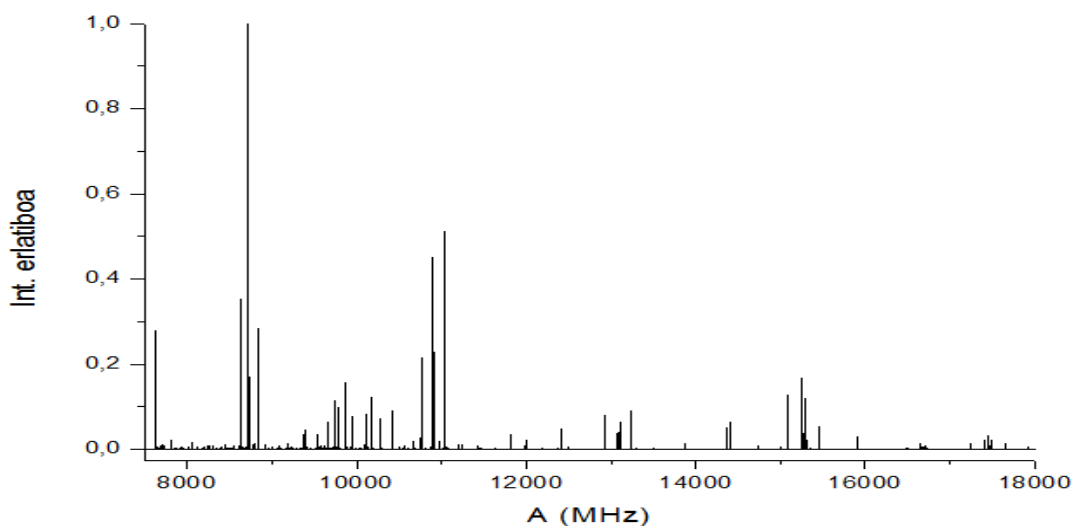
Egitura lortzeko erabili diren metodo desberdinek antzeko emaitzak eman dituzte. Lehen azaldu den moduan, ordezkapenezko egiturak soilik ordezkatutako atomoen parametroak (lotura distantzia, angelua, angelu diedroa) ematen ditu. Aldiz, egitura eraginkorrak atomo guztien parametroak ematen ditu. Orekako egitura MP2 metodotik lortutakoa da, eta egitura eraginkorreko nahiko antzekoa da. Beraz, taulatutako datuak konparatuta, ikusten da hasierako kalkulu teorikoak eta esperimentalki lortutakoak nahiko antzekoak direla. Fluoroxenoaren egitura determinatzeko eta atal teorikoan adierazi den bezala, aztertu diren hiru metodoetatik egitura eraginkorra emaitzak hobekien ematen dituen metodoa da.

5.-ONDORIOAK

Lan honen helburua arnasketa anestesiko orokor baten egitura determinazioa da, fluoroxenoa 70. hamarkadan erabilia eta fluor atomoa zeukan lehenengo farmakoa izan zen. Fluoroxenoaren egituraren determinazioa funtsezkoa da anestesikoaren mekanismoa ulertzeko.

Euskal Herriko Unibertsitatean, Kimika Fisika sailean berriki implementatu den CP-FTMW espektrometroa erabili da fluoroxeno molekularen determinazioa egiteko. Egin zen lehenengo gauza, metodo konputazional desberdin erabiliz (MP2, B3LYP eta M-06-2X), fluoroxenoren konformero ugariak aurkitzea izan zen, 20 kJ energi tartean. 4.1 taulan agertzen den bezala, energi langa horretan lau konformero desberdin agertzen dira eta 1 konformeroa besteekin konparatuta askoz egonkorragoa da.

Ondoren, fluoroxenoaren espektroa egin zen CP-FTMW erabiliz eta 4.2 atalean agertzen diren baldintzak erabili ziren, 5. 1 irudian agertzen den espektroa lortuz.



5.1 Irudia: Fluoroxenoaren espektro esperimentalaren (7500-16000 MHz)

Behin espektroa lortuta trantsizioen esleipena egin zen. Lehenengo 1 konformeroaren esleipena egin zen konformero egonkorrena delako. Osotara 82 trantsizioen esleipena egin ziren (A.1-ean agertzen dira) eta 1 konformeroen parametroak determinatu ziren, 5.1 taulan agertzen den moduan. Ondoren espezie

nagusiaren egitura zuzenduarekin ^{13}C monoordetzkatuaren lau espezie eta ^{18}O monoordetzkatuaren trantsizioen esleipena egin zen. Espezie guztiak ugaritasun naturalean aurkitu ziren eta esan behar da trantsizioen ugaritasuna erlazio zuzena daukala trantsizioen intentsitatearekin. Azkenik, 1 konformeroaren espezie guztien errotazio parametroak aurkitu ziren. 5.1 taulan agertzen den moduan.

5.1 Taula: 1 konformeroaren espezie nagusien errotazio parametroak.

	Esp. nagusia	$^{13}\text{C}_1$	$^{13}\text{C}_2$	$^{13}\text{C}_4$	$^{13}\text{C}_5$	$^{18}\text{O}_3$
A/MHz^a	4431.82239(75) ^d	4412.9779(10)	4423.95030(98)	4421.6399(11)	4432.0153(70)	4397.9350(50)
B/MHz	1116.73622(17)	1092.87409(34)	1101.62931(21)	1116.49158(30)	1113.90684(50)	1110.37085(33)
C/MHz	1065.05818(17)	1042.28288(35)	1050.86597(22)	1064.25398(28)	1062.47462(54)	1057.42153(38)
N^b	131	33	40	35	31	14
σ/kHz^c	8.2	3.6	3.1	3.6	2.3	4.1

4.1 Taulan agertzen diren beste hiru konformeroen trantsizioak ez dira aurkitu. Honen arrazoia izan daiteke beste hiru konformeroak energi maila handiago batean agertzen direla, horregatik konformero hauen trantsizioak intentsitate baxuago batean agertzen dira. Beraz, laborategian lortutako espektroan 225 trantsizio esleitu gabe geratzen dira, trantsizio hauek fluoroxenoak sortzen dituen konplexu intramolekularren trantsizioak izan daitezke.

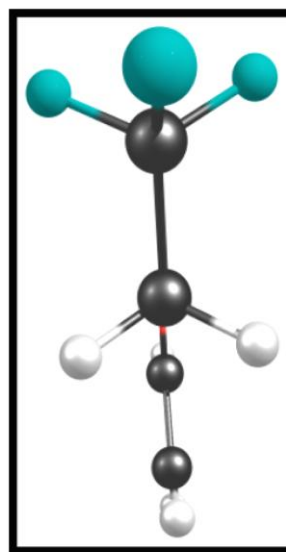
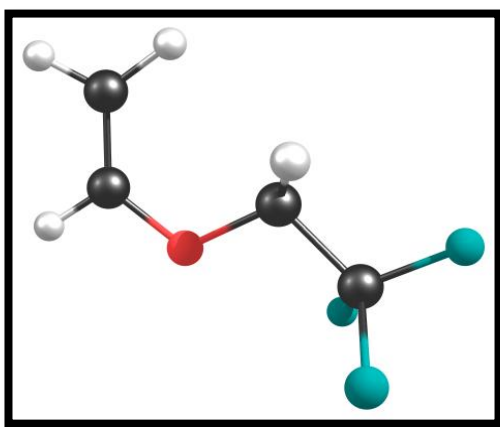
Esperimentalki lortutako errotazio parametroak fluoroxenoaren egitura determinatzeko erabili dira. Egitura determinazioa hiru metodo desberdinez egin da, ordezkapen egitura, egitura eraginkorra eta orekako egitura. Guztietatik erabiliena, egitura eraginkorra, molekularren oinarritzko egitura determinatzen duelako da. 5.2 taulan agertzen da egitura eraginkorra erabiliz lortutako egitura parametroak.

5.2 Taula: Egitura eraginkorraren parametroak.

$r(C_1=C_2)^a$	1.342 (10) ^b	$\angle(C_1=C_2-O_3)$	127.5 (6)
$r(C_2-O_3)$	1.362 (4)	$\angle(C_2-O_3-C_4)$	115.0 (5)
$r(O_3-C_4)$	1.407 (8)	$\angle(O_3-C_4-C_5)$	107.4 (6)
$r(C_4-C_5)$	1.512 (10)	$\angle(C_4-C_5-F_6)$	108.9 (8)
$r(C_5-F_6)$	1.347 (8)	$\angle(C_4-C_5-F_7)$	112.0 (4)
$r(C_5-F_6) = r(C_5-F_6)$	1.339 (5)	$\tau(C_2-O_3-C_4-C_5)$	-180.000000*
$\tau(C_1=C_2-O_3-C_4)$	0.000000* ^c		

^a Distantziak angstrometan eta angeluak gradutan. ^b Lortutako errorea estandarrak parentesi artean, azkeneko unitatea. ^c ,* dutenak finkatu diren balioak dira.

Lortutako egitura parametroekin fluoroxenoaren egitura lortu zen. Beraz, azkenean lan honen helburua lortu zen, fluoroxeno molekularen egitura nagusia determinatzea. Lortutako egiturak balio du farmakoa gorputzean daukan mekanismoa ulertzeko eta behin anestesikoa proteinaren aktibazio puntuarekin nola lotzen den jakinda farmakoaren potentzia handitu dezan farmakoaren egitura optimizatu daiteke.



5.2 Irudia: Fluoroxenoaren egitura egonkorrena.

6-. BIBLIOGRAFIA:

[1]: Consejería de Sanidad Comunidad de Madrid, Anestesia Información General
www.madrid.org/cs/satelliteDINFORMACION_GENERAL_SOBRE_LA_ANESTESIA.pdf

[2]: RW Oslen, *The molecular mechanism of action of general anesthetic*, *Toxico Lett.* 1998 23: 100-101, 193-201

[3]: J.C. Krantz, *Anesthesia*. XL. 1953, 108, 488.

[4]: Patria Écija, Francisco J. Basterretxea, Alberto Lesarri, Emilio J. Cocinero, *Single Hydratation of the Peptide Bond: The Case of the Vince Lactam*, *J. Phys. Chem. A* 2012, 116, 10099-10106.

[5]: Emilio J. Cocinero Pérez, Tesis de Licenciatura, Desarrollo de un espectrómetro de microondas en jets supersónicos con ablación láser. Universidad de Valladolid, 2002

[6]: T.A. Halgren, *J. Comput. Chem.* 1999, 20, 720.

[7]: Y. Zhao, D.G. Truhlar, *Theor. Chem. Acc.* 2008, 120, 215.

[8]: Emilio J. Cocinero, Alberto Lesarri, Patricia Écija, *Conformational equilibria in vanillin and ethylvanillin*, *Phys. Chem*, 2010, 12, 12486-12493.

[9]: Amanda L. Steber, Justin L. Neill, Daniel P. Zaleski, Brooks H. Pate, *Structural studies of biomolecules in the gas phase by chirped-pulse Fourier transform microwave spectroscopy*, *Faraday Discuss*, 201,150

[10]: A. Battaglia, A. Gozzini, G. Bloudouris, *Experimental study of confocal fabry-perot microwave resonator*, *Singerlink*, 1970, Issue 2, pp 121-151.

[11]: G.G. Brown, B.C. Dian, K.O. Douglass, S.M. Geyer, S.T. Shipman, B.H. Pate, *Rev. Sci. Instrum.* 2008, 79, 053103.

[12]: H. W. Kroto, *Molecular Rotation Spectra*, 1992, Dover Publication Inc., New York

- [13]: E. Gordy y R. L. Cook, *Microwave Molecular Spectra*, 1984
- [14]: C.H. Townes, A.L. Schawlow, 'Microwave Spectroscopy', *Dover Publication Inc.*, New York, 1975.
- [15]: B.S. Ray, *Z. Physik, Group Theory and Quantum Mechanic* 1932, 78, 74.
- [16]: J.K.G. Watson, *Vibrational spectra and structure*, Vol. 6, *Elsevier*, Amsterdam, Oxford & New York, 1977.
- [17]: J. Kraitchman, *Am. J. Phys.* 1953, 21, 17.
- [18]: Macromodel, Version 9.2, Schrödinger LLC., New York, NY, 2012.
- [19]: H.D. Rudolph, *Struct. Chem.* 1990, 2, 581

ERAINTSIAK

E.1 Taula Espezie nagusiaren trantsizioak.

J'	K' ₁	K' ₊₁	J''	K'' ₋₁	K'' ₊₁	Obs.	o.-c.	J'	K' ₁	K' ₊₁	J''	K'' ₋₁	K'' ₊₁	Obs. ^a	o.-c. ^b
2	1	2	1	0	1	7626.9906	0.0026	7	1	7	6	1	6	15083.9831	0.0004
2	2	0	1	1	1	14412.7786	0.0018	7	2	5	6	2	4	15301.0479	-0.0013
2	2	0	2	1	1	9945.8405	0.0017	7	2	5	7	1	6	9382.4375	0.0080
2	2	1	1	1	0	14360.5008	0.0017	7	2	6	6	2	5	15277.306	-0.0044
2	2	1	2	1	2	10100.2738	0.0007	7	2	6	7	1	7	10753.3175	0.0088
3	1	3	2	0	2	9731.4830	0.0025	7	3	4	6	3	3	15277.5685	-0.0133
3	2	1	2	1	2	16648.6150	-0.0035	7	3	4	7	2	5	16650.6925	0.0058
3	2	1	3	1	2	9871.0771	0.0009	7	3	5	6	3	4	15277.0310	-0.0031
3	2	2	2	1	1	16490.5934	0.0063	7	4	3	6	4	2	15275.1810	-0.0167
3	2	2	3	1	3	10178.1426	0.0012	7	4	4	6	4	3	15275.1810	-0.0135
3	3	0	3	2	1	16701.9395	-0.0026	7	5	2	6	5	1	15274.1872	-0.0101
3	3	0	4	2	3	7978.2762	-0.0076	7	5	3	6	5	2	15274.1872	-0.0101
3	3	1	3	2	2	16704.9311	-0.0043	8	0	8	7	1	7	14728.4026	0.0109
3	3	1	4	2	2	7969.2813	-0.0090	8	1	7	7	1	6	17648.3507	-0.0019
4	0	4	3	0	3	8721.1731	0.0036	8	1	7	7	2	6	8341.1016	0.0092
4	1	3	3	1	2	8829.2969	0.0035	8	1	8	7	1	7	17236.0487	0.0105
4	1	4	3	0	3	11811.1118	0.0001	8	2	6	7	2	5	17496.4861	-0.0182
4	1	4	3	1	3	8622.6146	0.0053	8	2	6	8	1	7	9230.5906	0.0094
4	2	2	3	2	1	8732.6538	0.0062	8	2	7	7	2	6	17446.7964	-0.0124
4	2	2	4	1	3	9774.4341	0.0037	8	2	7	8	1	8	10964.0863	0.0069
4	2	3	3	2	2	8726.6618	0.0057	8	3	5	7	3	4	17461.7904	-0.0069
4	2	3	4	1	4	10282.1906	0.0025	8	3	5	8	2	6	16615.9668	-0.0129
4	3	1	3	3	0	8728.2833	-0.0062	8	3	6	7	3	5	17460.6894	-0.0136
4	3	1	4	2	2	16697.5617	-0.0224	8	3	6	8	2	7	16738.8340	-0.0032
4	3	2	3	3	1	8728.2833	0.0198	8	4	5	7	4	4	17458.1248	-0.0053
4	3	2	4	2	3	16706.5324	-0.0105	8	4	5	7	4	4	17458.1248	-0.0053
5	0	5	4	0	4	10896.9792	0.0080	8	5	3	7	5	2	17456.6813	-0.0127
5	0	5	4	1	4	7807.0313	0.0022	8	5	3	9	4	6	10422.3375	-0.0106
5	1	4	4	1	3	11035.4555	0.0058	8	5	4	7	5	3	17456.6813	-0.0126
5	1	5	4	0	4	13867.1047	0.0078	8	5	4	9	4	5	10422.3375	0.0230
5	1	5	4	1	4	10777.1615	0.0068	8	6	2	7	6	1	17455.8209	-0.0061
5	2	3	4	2	2	10919.5328	0.0070	8	6	3	7	6	2	17455.8209	-0.0061
5	2	3	5	1	4	9658.5115	0.0051	9	0	9	8	1	8	17057.8519	-0.0092

^a behatutako maiztasuna. ^b behatutako maiztasuna – kalkulaturako maiztasuna.

J`	K` ₁	K` ₊₁	J``	K`` ₋₁	K`` ₊₁	Obs.	o.-c.	J`	K` ₁	K` ₊₁	J``	K`` ₋₁	K`` ₊₁	Obs. ^a	o.-c. ^b
5	2	4	4	2	3	10907.5654	0.0078	9	1	8	8	2	7	10744.4223	0.0039
5	2	4	5	0	5	13382.7095	-0.0070	9	1	9	8	2	6	8298.1186	0.0043
5	2	4	5	1	5	10412.5949	0.0039	9	2	7	9	1	8	9075.9618	0.0104
5	3	2	5	2	3	16688.9845	-0.0151	9	2	8	9	1	9	11202.1008	0.0076
5	3	3	5	2	4	16709.8246	-0.0106	9	3	6	9	2	7	16567.2510	-0.0092
5	4	1	4	4	0	10910.0978	0.0104	9	3	7	9	2	8	16758.5277	-0.0189
5	4	1	6	3	4	10290.7186	0.0021	10	1	9	9	2	8	13169.6238	-0.0075
5	4	2	4	4	1	10910.0978	0.0107	10	1	10	9	2	7	10139.5780	0.0041
5	4	2	6	3	3	10290.3540	0.0031	10	2	8	10	1	9	8923.9036	0.0111
6	0	6	5	0	5	13069.8005	-0.0115	10	2	9	10	1	10	11467.5686	0.0144
6	0	6	5	1	5	10099.6918	0.0053	10	3	7	10	2	8	16501.7348	0.0013
6	1	5	5	1	4	13240.8088	0.0049	11	1	10	10	2	9	15615.7401	-0.0177
6	1	6	5	0	5	15901.1190	0.0077	11	1	11	10	2	8	11927.0493	0.0073
6	1	6	5	1	5	12930.9947	0.0090	11	2	9	10	3	8	7610.4078	0.0026
6	2	4	5	2	3	13108.8492	0.0007	11	2	9	11	1	10	8780.0490	0.0102
6	2	4	6	1	5	9526.5573	0.0061	11	2	10	11	1	11	11760.6444	0.0136
6	2	5	5	2	4	13087.9583	0.0073	12	2	10	11	3	9	9911.0382	0.0040
6	2	5	6	1	6	10569.5605	0.0042	12	2	10	12	1	11	8650.1676	0.0082
6	3	3	5	3	2	13094.0076	0.0045	12	2	11	11	3	8	9320.2445	0.0060
6	3	3	6	2	4	16674.1519	-0.0022	12	2	11	12	1	12	12081.4595	0.0176
6	3	4	5	3	3	13093.7632	0.0036	13	2	11	13	1	12	8540.0117	0.0078
6	3	4	6	2	5	16715.6395	-0.0042	13	2	12	12	3	9	11440.2788	0.0059
6	4	2	5	4	1	13092.5399	0.0128	13	2	12	13	1	13	12430.0432	0.0026
6	4	2	7	3	5	8106.2167	0.0075	13	3	10	13	2	11	16179.6499	-0.0141
6	4	3	5	4	2	13092.5399	0.0138	14	2	12	14	1	13	8455.1643	0.0090
6	4	3	7	3	4	8105.3157	0.0206	14	2	13	14	1	14	12806.4080	0.0059
6	5	1	5	5	0	13091.8774	0.0126	15	2	13	15	1	14	8400.9.60	0.0080
6	5	2	5	5	1	13091.8774	0.0126	15	3	12	14	4	11	9490.7296	-0.0114
7	0	7	6	0	6	15239.1566	0.0018	15	3	12	15	2	13	15844.9782	0.0213
7	0	7	6	1	6	12407.8582	0.0027	15	3	13	14	4	10	9410.2170	0.0163
7	1	6	6	1	5	15445.1707	-0.0002	15	3	13	15	2	14	17077.5491	-0.0119
7	1	7	6	0	6	17915.2764	-0.0055	16	1	15	16	0	16	8001.3626	0.0183

^a behatutako maiztasuna. ^b behatutako maiztasuna – kalkulaturako maiztasuna.

E.2 Taula $^{13}\text{C}_1$ karbonoaren isotopomeroa

J`	K` ₋₁	K` ₊₁	J``	K`` ₋₁	K`` ₊₁	Obs. ^a	o.-c. ^b
2	1	2	1	0	1	7539.8135	-0.0040
2	2	0	2	1	1	9960.8533	-0.0127
2	2	1	2	1	2	10112.0616	-0.0038
2	2	1	1	1	0	14281.1894	-0.0009
2	2	0	1	1	1	14332.3414	-0.0139
3	1	3	2	0	2	9599.2915	-0.0016
3	2	1	3	1	2	9887.6144	-0.0002
3	2	2	3	1	3	10188.3020	0.0144
3	2	2	3	1	3	10188.3142	0.0266
3	2	1	2	1	2	16520.3616	-0.0085
4	1	4	3	1	3	8438.2661	-0.0176
4	0	4	3	0	3	8534.8770	0.0005
4	3	2	3	3	1	8541.6832	0.0200
4	3	1	3	3	0	8541.6832	-0.0043
4	2	2	3	2	1	8545.8644	0.0033
4	1	3	3	1	2	8640.6257	0.0035
4	2	2	4	1	3	9792.8539	0.0005
5	1	5	4	1	4	10546.8014	0.0072
5	0	5	4	0	4	10664.2995	0.0031
5	2	4	4	2	3	10674.4333	0.0057
5	2	3	4	2	2	10685.8872	0.0037
5	1	4	4	1	3	10799.6695	0.0086
5	0	5	4	1	4	7564.7711	0.0065
5	1	5	4	0	4	13646.3297	0.0036
6	1	6	5	1	5	12654.6218	0.0021
6	2	5	5	2	4	12808.2486	0.0065
6	2	4	5	2	3	12828.2545	0.0073
6	1	5	5	1	4	12957.9352	0.0028
6	0	6	5	1	5	9808.8454	-0.0050
7	1	7	6	1	6	14761.6458	0.0010
7	2	5	6	2	4	14973.4142	0.0447
7	1	6	6	1	5	15115.2486	-0.0117
8	1	8	7	1	7	16867.7723	0.0063
8	1	7	7	1	6	17271.4340	-0.0219

^a behatutako maiztasuna. ^b behatutako maiztasuna – kalkulaturako maiztasuna.

E. 3 Taula: $^{13}\text{C}_2$ karbonoaren isotopomeroaren trantsizioen esleipena

J'	K'_{-1}	K'_{+1}	J''	K''_{-1}	K''_{+1}	Obs. ^a	o.-c. ^b
2	1	2	1	0	1	7576.5441	0.0047
2	2	0	1	1	1	14374.0316	0.0003
3	1	3	2	0	2	9653.0980	0.0018
3	2	1	3	1	2	9894.0249	-0.0028
3	2	2	3	1	3	10195.7120	-0.0037
4	1	4	3	1	3	8502.824	-0.0034
4	0	4	3	0	3	8604.1925	-0.0021
4	3	1	3	3	0	8611.0425	-0.0054
4	2	2	4	1	3	9798.9514	-0.0102
4	2	3	4	1	4	10297.9067	0.0000
5	1	5	4	1	4	10633.0462	0.0058
5	0	5	4	0	4	10750.9191	0.0011
5	2	4	4	2	3	10761.1801	0.0688
5	4	2	4	4	1	10763.5529	0.0107
5	4	1	4	4	0	10763.5529	0.0105
5	3	3	4	3	2	10764.3304	0.0500
5	3	2	4	3	1	10764.3304	-0.0362
5	2	3	4	2	2	10772.6413	0.0041
5	1	4	4	1	3	10886.7663	-0.0007
6	1	6	5	1	5	12758.1020	-0.0040
6	0	6	5	0	5	12894.7849	-0.0030
6	2	5	5	2	4	12912.2528	-0.0033
6	4	3	5	4	2	12916.6652	0.0092
6	3	4	5	3	3	12917.8544	0.0049
6	3	3	5	3	2	12918.0863	0.0069
6	2	4	5	2	3	12932.3958	0.0125
6	1	5	5	1	4	13062.4492	-0.0003
6	0	6	5	1	5	9911.6526	0.0051
6	2	5	6	1	6	10580.1213	-0.0065
7	0	7	6	0	6	15035.2730	-0.0119
7	2	6	6	2	5	15062.8160	0.0021
7	0	7	6	1	6	12888.042	-0.0222
8	1	8	7	1	7	17005.7249	0.0068
8	0	8	7	0	7	17171.9286	-0.0133
8	2	6	7	2	5	17260.5651	-0.0020
8	1	7	7	1	6	17410.7727	-0.0034

^a behatutako maiztasuna. ^b behatutako maiztasuna – kalkulaturako maiztasuna.

E. 4 Taula ¹⁸O isotopomeroaren trantsizioen esleipena

J`	K` ₋₁	K` ₊₁	J``	K`` ₋₁	K`` ₊₁	Obs. ^a	o.-c. ^b
2	1	2	1	0	1	7570.1869	-0.0034
4	0	4	3	0	3	8664.8200	0.0076
4	2	3	3	2	2	8670.6231	0.0024
4	2	2	3	2	1	8676.9598	-0.0014
4	1	3	3	1	2	8775.6959	-0.0607
5	1	5	4	1	4	10703.8149	-0.0027
5	0	5	4	0	4	10826.2665	0.0014
5	2	4	4	2	3	10837.4681	-0.0016
5	3	2	4	3	1	10841.0503	-0.0052
5	1	4	4	1	3	10968.4702	0.0096
6	0	6	5	0	5	12984.5898	0.0021
6	3	4	5	3	3	13009.9808	0.0522
7	0	7	6	0	6	15139.2135	-0.0028
8	0	8	7	1	7	14654.7897	-0.0035

^a behatutako maiztasuna. ^b behatutako maiztasuna – kalkulaturako maiztasuna.

E. 5 Taula $^{13}\text{C}_4$ isotopomeroaren trantsizioen esleipena

J'	K'_{-1}	K'_{+1}	J''	K''_{-1}	K''_{+1}	Obs. ^a	o.-c. ^b
2	1	2	1	0	1	7614.3894	-0.0035
2	2	0	2	1	1	9916.0171	-0.0231
3	1	3	2	0	2	9717.0007	-0.0022
3	2	1	3	1	2	9840.5068	0.0000
3	2	2	3	1	3	10150.8677	0.0126
3	2	1	2	1	2	16617.4154	0.0039
4	1	4	3	1	3	8617.2651	-0.0004
4	0	4	3	0	3	8716.8257	-0.0004
4	2	3	3	2	2	8722.4517	0.0026
4	3	2	3	3	1	8724.0881	-0.0091
4	3	1	3	3	0	8724.0881	-0.0362
4	2	2	3	2	1	8728.6094	0.0207
4	1	3	3	1	2	8826.1840	-0.0029
4	2	3	4	1	4	10256.0390	0.0003
4	1	4	3	0	3	11794.4863	-0.0098
5	1	5	4	1	4	10770.4502	0.0017
5	0	5	4	0	4	10891.4354	0.0037
5	2	4	4	2	3	10902.2908	0.0103
5	4	2	4	4	1	10904.8728	-0.0029
5	4	1	4	4	0	10904.8728	-0.0032
5	3	2	4	3	1	10905.6916	-0.0581
5	2	3	4	2	2	10914.5446	0.0008
5	1	4	4	1	3	11031.5406	0.0029
5	2	3	5	1	4	9625.9256	0.0109
5	2	4	5	1	5	10387.8682	-0.0024
5	1	5	4	0	4	13848.1193	0.0007
6	0	6	5	0	5	13062.9995	-0.0051
6	3	4	5	3	3	13087.5385	-0.0049
6	2	4	5	2	3	13103.0058	0.0028
6	1	5	5	1	4	13236.0624	-0.0037
6	2	4	6	1	5	9492.8565	0.0049
6	0	6	5	1	5	10106.3239	0.0059
7	1	7	6	1	6	15074.5097	0.0116
7	0	7	6	0	6	15230.9915	-0.0048
7	2	5	6	2	4	15294.4256	0.0171
7	1	6	6	1	5	15439.5708	-0.0113
8	0	8	7	0	7	17394.9061	-0.0113

^a behatutako maiztasuna. ^b behatutako maiztasuna – kalkulaturako maiztasuna.

E.6 Taula ¹³C₅ isotopomeroaren trantsizioen esleipena

J'	K' ₋₁	K' ₊₁	J''	K'' ₋₁	K'' ₊₁	Obs. ^a	o.-c. ^b
2	1	2	1	0	1	7619.4356	0.0053
4	1	4	3	1	3	8601.4626	0.0013
4	0	4	3	0	3	8699.5821	0.0025
4	2	3	3	2	2	8705.0173	0.0083
4	3	1	3	3	0	8706.6183	-0.0068
4	2	2	3	2	1	8710.9353	-0.0032
4	2	2	3	2	1	8710.9353	-0.0032
4	1	3	3	1	2	8807.1735	0.0109
5	0	5	4	0	4	10870.0344	0.0043
5	2	4	4	2	3	10880.5100	0.0034
5	4	1	4	4	0	10883.0036	-0.0051
5	3	3	4	3	2	10883.8079	0.0434
5	3	2	4	3	1	10883.8079	-0.0464
5	2	3	4	2	2	10892.3589	0.0077
5	1	4	4	1	3	11007.8083	0.0099
4	1	4	3	0	3	11793.5714	-0.0018
6	1	6	5	1	5	12899.2903	-0.0028
6	0	6	5	0	5	13037.5504	0.0008
6	2	5	5	2	4	13055.5101	0.0089
6	3	4	5	3	3	13061.2530	0.0032
6	2	4	5	2	3	13076.1903	0.0067
6	1	5	5	1	4	13207.6423	0.0019
5	1	5	4	0	4	13844.7206	-0.0039
7	1	7	6	1	6	15047.0333	0.0037
7	0	7	6	0	6	15201.6203	0.0143
7	2	6	6	2	5	15229.8769	-0.0157
7	3	4	6	3	3	15239.6264	-0.0088
7	2	5	6	2	4	15262.8541	-0.0110
7	1	6	6	1	5	15406.5175	0.0117
8	0	8	7	0	7	17361.7225	0.0003
8	2	7	7	2	6	17403.5869	0.0058
8	2	6	7	2	5	17452.7412	-0.0284
8	1	7	7	1	6	17604.1814	-0.0173

^a behatutako maiztasuna. ^b behatutako maiztasuna – kalkulaturako maiztasuna.