

LA FAMILIA KASHA: UNA EXPERIENCIA UCRANIANA Y RUSA EN ESTADOS UNIDOS.

Juan Carlos del Valle Lazaro

Departamento de Química Física Aplicada. Universidad Autónoma de Madrid

RESUMEN

La “familia Kasha” es una forma de nombrar a todos aquellos que estudiábamos y trabajábamos con el Profesor Michael Kasha. Es una familia muy extensa, pero hablaré brevemente de algunas vivencias que compartí con el grupo de rusos y ucranianos. Elena y Sasha eran ucranianos, Igor era ruso, y nuestro supervisor, Michael, era americano (Elizabeth, New Jersey) pero de origen ucraniano –sus padres nacieron en Ucrania y se vieron forzados por la revolución rusa a huir a Estados Unidos-. Michael era muy nombrado por sus trabajos de fotofísica y espectroscopia de moléculas orgánicas e inorgánicas; había fundado el Instituto de Biofísica Molecular en Florida State University, en aras a unir la biología, matemáticas, física y química por la investigación de sistemas bioquímicos relevantes. Michael entendía la ciencia de una forma multidisciplinar, en la que lo teórico y experimental se complementaban. Los procesos de la naturaleza estaban todos unidos, así como las personas, el mundo de la familia Kasha no tenía divisiones, la espectroscopia se utilizaba con la ayuda de la mecánica cuántica para explicar la música, la fotografía, o se aplicaban estos conocimientos al estudio genético de las flores como las azucenas azules (M. Kasha, “The Elusive Blue Daylily”, American Hemerocallis Society, 1990). La ciencia se utilizaba para unir y de hecho constataba la unión natural de todo, incluso con el hecho religioso –que él mismo entendía “as the ethical basis of life for humans” (Evolution or devolution? Tallahassee Democrat, Sunday, January 30, 2000)-. En la familia Kasha se hablaba de todo en aras de un mejor entendimiento sin presiones, el tiempo no era una variable que nos presionara a publicar, se fundaba todo sobre el silencio, la observación, el estudio, el entusiasmo y la pasión, el amor por el trabajo bien hecho.

La letra “Movimiento” del cantautor Jorge Drexler ejemplifica a la familia Kasha, puesto que todos éramos inmigrantes en un país de inmigrantes, Estados Unidos. Pero de igual manera así son todos los países (por ejemplo, Ucrania, Rusia y España), aunque algunos pretendan lo contrario: Somos una especie en viaje. / No tenemos pertenencias sino equipaje. / Vamos con el polen en el viento, / estamos vivos porque estamos en movimiento. / Nunca estamos quietos, somos trashumantes. / Somos padres, hijos, nietos y bisnietos de inmigrantes. / Es más mío lo que sueño que lo que toco. / Yo no soy de aquí, / pero tú tampoco. / Yo no soy de aquí, / pero tú tampoco. / De ningún lado del todo, / de todos lados un poco.

1. INTRODUCCIÓN.

Febrero de 1994. Estoy llegando a Tallahassee, Florida. Comienzo una estancia postdoctoral con el Profesor Michael Kasha. Le conozco por sus artículos científicos y algunas fotos. Es un pionero de la fotofísica y fotoquímica, sus artículos sobre el estado triplete en moléculas orgánicas publicados con el Profesor Gilbert Newton Lewis completaron el diagrama de energía fotofísico de moléculas orgánicas, además de la caracterización de las transiciones electrónicas y su aportación a la fluorescencia y fosforescencia con su famosa “regla de Kasha”. Pero no se encuentra en el aeropuerto, sin embargo, alguien me encuentra. Are you Juan Carlos? Yes, I am. This is Sasha, Professor Kasha

asked me to take care of you. Alexander I. Sytnik –Sasha-, era bioquímico, se formó con el Profesor Alexander. P. Demchenko, y yo no le conocía, pero me trataba como a un amigo. Are you hungry? Yes, I am. Let's go to my home to eat something, and then...I will give you a ride to your student residence. I am a family man, you know, my wife and my daughter are waiting for me at home. Fuimos a su casa, me presento a su mujer Vita (Victoria Russakova) y a su hija Svieta (Lana Sytnik) – tenía entonces tres años-. Su hospitalidad me asombró, acabe cenando algo que me preparó Vita en el momento, estuvimos hablando un buen rato, y después, Sasha me acompañó a la residencia de estudiantes. Nuestro primer encuentro como colaboradores fue familiar. Esta relación aún continúa, aunque de otra forma, en la distancia, pero lo recuerdo todo con mucho cariño.

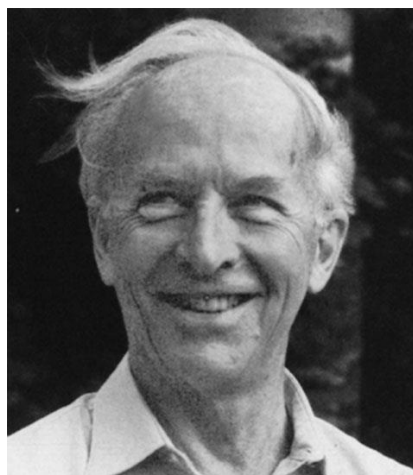


Foto 1. Prof. Michael Kasha, 1920-2013. Florida State University.

Al día siguiente conocí a nuestra secretaria, Ms. Dale, quién me llevó a la presencia del Profesor Kasha. Le comenté que el Profesor Kasha no me había ido a recoger, mostré mi disgusto, pero ella, igualmente fue muy alegre y amistosa –Juan Carlos, welcome to US! This is it. Prof. Kasha is always busy, this is his way, do not worry about, enjoy your stay with us! Este fue el comienzo de una relación familiar con una base profundamente científica que buscaba lo nuevo, y estaba basado en la observación y la medida –pero no sistemática-. Los estudios sistemáticos no eran algo que el Prof. Kasha persiguiera, sino lo nuevo de un sistema, la solución a un problema científico. Además del Prof. Kasha y Sasha, también formaban parte del grupo de investigación Elena Falkovskaia e Igor Litviniuk. Prof. Kasha, Michael o Mike como todos le llamábamos era de origen ucraniano, sus padres y hermanos eran inmigrantes ucranianos, habían vivido en Elisabeth -New Jersey-, pero él nació en esa ciudad, era americano (o estadounidense). Toda su infancia transcurrió con su familia donde se hablaba ucraniano y poco inglés. Sasha y Elena eran ucranianos, ambos se habían formado con el Prof. Alexander Demschenko –un bioquímico famoso que también trabajaba en espectroscopia aplicada a sistemas bioquímicos-. Igor era ruso, y realizaba su doctorado, así como Elena, con el Prof. Kasha.

Mi comienzo en el laboratorio fue limitado, los fluorímetros estaban en reparación, aunque pude utilizar la espectroscopia de absorción ultravioleta-visible y la espectroscopia láser. Nos llegó unos meses después un fluorímetro que compró Michael con el departamento de Biología; estábamos muy interesados en utilizarlo, tenía capacidad para medir vidas medias hasta 20 picosegundos, y permitía no sólo excitación con lámparas de xenón sino también con láser. Igor, Sasha, Elena y yo aprendimos a manejarlo. Había desarrollado mi tesis, bajo la supervisión del Prof. Javier Catalán, con la ayuda de un fluorímetro de resolución temporal parecido, y eso nos llevó a Sasha y a mí a colaborar en la medida de vidas medias de un sistema molecular que podría ser utilizado como sonda de fluorescencia en macromoléculas. Sasha tenía una forma de vivir la ciencia arrolladora, muy meticuloso –lo apuntaba todo en su libro de laboratorio-. Tenía mil ideas, y Michael estaba muy contento con él, y juntos trabajaban en el mundo apasionante de las proteínas y el ácido desoxirribonucleico. Elena estudiaba los compuestos flavonoides, también de una forma muy

independiente. Descubrió una serie de procesos fotofísicos en la 5-hidroxi flavona que merecían un estudio detallado y sobre eso cimentó su tesis doctoral. También yo me vi involucrado en esos estudios años después; Elena me pidió ayuda y colaboramos en la fotofísica y fotoquímica de compuestos flavonoides que fueron sintetizados por otro Profesor ucraniano, el Prof. Vasyl Pivovarenko. Elena e Igor eran grandes amigos. Igor se llevaba bien con todo el mundo; cimentó su tesis en procesos de transferencia de energía en sólidos moleculares orgánicos y colaboró puntualmente también con Sasha -Igor era un excelente programador-. Uno de los elementos que Michael nos inculcó fue la soledad, la independencia, el hecho de enfrentarnos a los procesos científicos de forma autónoma, cada uno con su talento. Michael nunca decía que no a un proyecto científico en el que estuviera implicado la espectroscopia; es importante señalar que aplicaba la espectroscopia a la música, la botánica, la fotografía, la astronomía y la químico-física, etc.

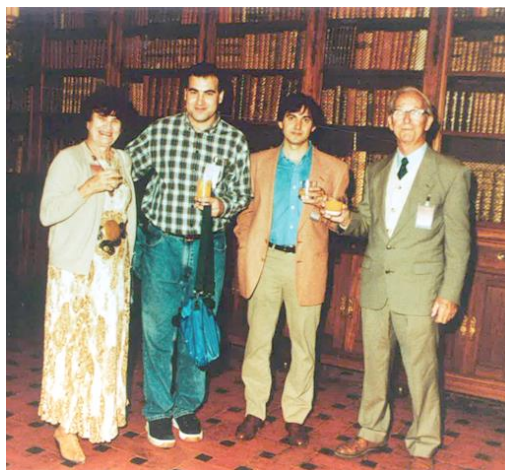


Foto 2. De izquierda a derecha, Lilli Kasha, un estudiante postdoctoral, J.C. del Valle (Autor) y M. Kasha. En el congreso Photophysics and Photochemistry 2000, Costa do Estoril, Portugal. Se desarrolló en honor del Prof. Ralph S. Becker -uno de los primeros estudiantes de doctorado de M. Kasha-.

Mis primeros estudios fueron fotográficos. Michael tenía un segundo laboratorio de fotografía analógica dentro del laboratorio de espectroscopia. Poco a poco nos introdujo a todos en ese mundo – tenía varios proyectos fotográficos y había practicado técnicas de serigrafía, como fotografía alternativa-. Cualquier conversación era interesante –pero en un principio no para mí, porque lo que tenía en mente era publicar cuanto más mejor, pero ese no era el propósito de Michael-. Él quería aprender, y cualquier objeto o proceso era asombrosamente interesante –el proceso de publicación no era *lo importante*-. Mi primer proyecto fue el diseño de una cámara oscura, después diseñamos un sistema para la detección de oxígeno con la ayuda de la N,N-dimetilanilina. Esta molécula se oxida fácilmente en la presencia de oxígeno, y dicho proceso se pudo cuantificar. Además, la música era una constante en el laboratorio de Michael, había publicado varios artículos y patentes de instrumentos de cuerda, y las conversaciones sobre ese tema salpicaban las discusiones sobre espectroscopia. Nos invitaba a los conciertos de música de la universidad Florida State en Tallahassee, de vez en cuando organizaba conciertos de guitarra española –y promocionó la candidatura del maestro Segovia a Profesor Honoris Causa por Florida State-. Michael tenía varias patentes de instrumentos de cuerda que había desarrollado por aplicación de sus conocimientos de espectroscopia al diseño de la guitarra española y después a otros, como la viola, violín, piano, etc. Eran estudios de física, pero también de historia de los instrumentos de cuerda. Todo se mezclaba y todo estaba asombrosamente conectado –la mecánica cuántica, la música, la espectroscopia de absorción y emisión, la fotografía, la observación astronómica-. No importaba de donde fueras, la amistad entre todos era buena. Sasha y Vita tenían muchos amigos ucranianos, pero también rusos. Tuve unos años en los que frecuentaba básicamente amistades ucranianas y rusas. Había claramente una unidad entre todos ellos, aunque también una independencia. Todos ellos añoraban esos años dorados de la unión soviética donde era sencillo y barato viajar, y se vivía de otra forma, más programada, aunque más fácil y barata –aunque no

añoraban el sistema autoritario que habían sufrido-. En fin, hace ya mucho tiempo de esto, pero recuerdo que rusos y ucranianos, bielorrusos, y otros., se trataban como si fueran del mismo país, aunque cada uno reclamaba su independencia. La ciencia, la formación científica nos unía a todos, el país de origen era una anécdota, una excusa para aprender de los demás, independientemente de cual fuera la formación inicial. A las reuniones asistían matemáticos, Natalia Berloff –rusa, que realizaba su tesis con el Profesor Louis N. Howard, sobre solitones en matemática aplicada-, o Pavel Berloff, un ruso que realizaba su tesis en oceanografía; también Sergey Borisov, un ruso que desarrollaba su tesis doctoral en oceanografía -fuimos compañeros de apartamento durante unos meses-. El punto de unión era el hecho de trabajar en la universidad Florida State –tener una cultura científica y universitaria, un lugar común de trabajo-. Natalia me ayudó en el entendimiento de los solitones, me aconsejó bibliografía que nos fue muy útil tanto a Michael como a mí en la escritura de nuestro trabajo sobre sistemas moleculares con emisión dual de radiación láser (ASE, emisión espontánea amplificada a dos longitudes de onda, Figura 1).¹

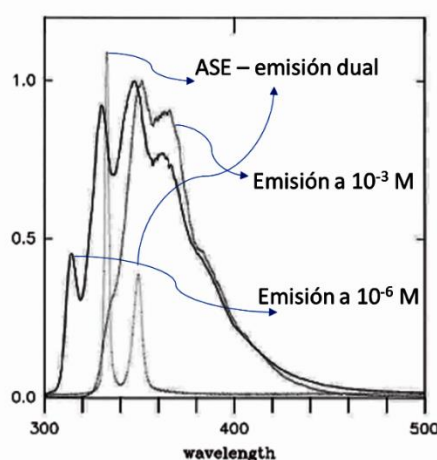


Figura 1. Emisión amplificada espontánea, ASE, dual a 330 y 350 nm (aprox.) del 2-fenilbenzoxazol en ciclohexano a una concentración de 10^{-3} M; emisión a concentración diluida 10^{-6} M; y emisión a 10^{-3} M. De la referencia 1.

2. LOS ESTUDIOS SOBRE SONDAS MOLECULARES CON SASHA.²

Los primeros meses de mi estancia con Michael Kasha se dedicaron a mi formación en espectroscopia láser. Los experimentos se realizan en el laboratorio láser del Instituto de Biofísica Molecular, donde se encontraba nuestro laboratorio. Tenía planeados una serie de experimentos con moléculas traídas desde España, una colaboración con el Profesor Javier Catalán. Javier estaba muy interesado en trabajar con Michael en un proyecto común de láseres de colorantes que deberían funcionar en el rango ultravioleta. El mecanismo propuesto era de tipo torsional, ejemplificado por familias de fenilimidazoles y feniloxazoles (Figura 1). Sin embargo, los comienzos en este proyecto fueron lentos. Mientras avanzaba en los resultados comencé a trabajar al mismo tiempo con Sasha sobre una sonda molecular, la molécula 10-hidroxi-5-azafenantreno (Figura 2). El nuevo fluorímetro se instaló y con una resolución temporal hasta picosegundos, lo que nos permitía medir vidas medias desde minutos o segundos hasta 20 picosegundos.

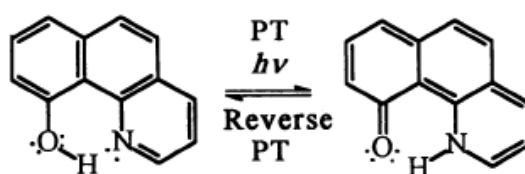


Figura 2. Tautomerismo de la sonda molecular 4-hidroxi-5-azafenantreno en el estado electrónico excitado. Con la absorción de luz ultravioleta, esta molécula sufre una transferencia protónica, el

protón H⁺ se transfiere del oxígeno al nitrógeno. Esto da lugar a una nueva emisión de la que se puede extraer información del entorno químico dónde se encuentra esta sonda.

Sasha estaba muy interesado en obtener información de los restos aminoácidos de las cavidades de algunas proteínas. Mi experiencia con un fluorímetro de resolución temporal de picosegundos durante mi tesis doctoral supervisada por J. Catalán nos permitió colaborar en este proyecto de solvatocromismo. A través de estudios de polaridad con la sonda antes propuesta intentamos obtener información de cuan polares eran las cavidades de la proteína donde se alojaba la sonda. La sonda experimentaba un proceso de transferencia protónica intramolecular en el estado electrónico excitado. Después de este proceso la sonda emitía luz fluorescente cuyo análisis nos daba información de su entorno molecular. Probamos con la albumina humana y obtuvimos información utilizando como parámetro de polaridad la escala ET30 de Reichardt -una escala monoparamétrica-. Los máximos de emisión y absorción de la 4-hidroxi-5-azafenantreno (también llamada, 10-hidroxibenzo[h]quinolina, o HAP) se medían en un número de disolventes, y utilizábamos el valor de ET30 publicado para construir una gráfica de correlación. Después se registraban los máximos de absorción y emisión de la sonda molecular en la albumina. La comparación con el patrón de calibración nos daba información de cuan polar era la cavidad de la proteína. Previamente debíamos estudiar en que cavidades se había introducido la sonda. Por lo que Sasha realizó estudios FRET, transferencia de energía de resonancia de Förster, experimentos de transferencia de energía entre nuestra sonda y los triptófanos cercanos, para medir distancias y así comparar con los resultados publicados de la estructura de la proteína, y estimar la posición de nuestra sonda. Los resultados fueron completados con vidas medias tanto en la proteína como en un número de disolventes. Una de nuestras conclusiones fue que el solvatocromismo de la sonda en emisión tenía una respuesta que dependía mayormente de la polarizabilidad y dipolaridad del entorno –desde el punto de vista de la escala ET30-. En ese momento, se creía que la betaína ET30 daba información de polarizabilidad, dipolaridad, acidez y basicidad; algo que resultó erróneo: “In the present work we do not discuss the relation among polarity, basicity and acidity of the environment. HAP as a fluorescence probe could be sensitive to the effects of basicity and acidity of solvent, but at any rate these two effects are minor in comparison with the influence of static polarity.” Este artículo, años después, dio origen a otros donde se estudiaba el solvatocromismo de la molécula HAP en un número grande de disolventes -en colaboración con el Prof. Javier Catalán-. Javier había desarrollado con mucho éxito tres escalas de disolvente que informaban de la respuesta de una determinada molécula a su entorno: la escala de polarizabilidad y dipolaridad del disolvente (SPP), la escala de acidez del disolvente (SA), y la escala de basicidad del disolvente (SB). Con estas escalas obtuvimos una caracterización más precisa de su solvatocromismo³. La conclusión obtenida por Sasha y yo mismo era correcta para la banda de absorción, pero no así para la banda de emisión, que dependía fuertemente de la acidez del medio por la formación de un carbonilo en el estado electrónico excitado (después de ocurrida la transferencia protónica); además, encontramos una anomalía en la zona de poca polaridad; misteriosamente, los disolventes hidrocarbonados no mostraban correlación alguna con los disolventes más polares. Posteriormente, Javier Catalán dio una respuesta plausible a esa disparidad, separando los efectos de la polarizabilidad y dipolaridad del disolvente, es decir, diseñó dos escalas una de polarizabilidad (SP) y otra de dipolaridad (SdP). Con las escalas de polaridad, SA y SB, y las dos nuevas SP y SdP, consiguió correlacionar todos los datos⁴. La colaboración con Sasha fue productiva y sus conclusiones se corrigieron e inspiraron en parte el diseño de nuevas escalas, que condujeron a la mejor caracterización del solvatocromismo de la molécula HAP.

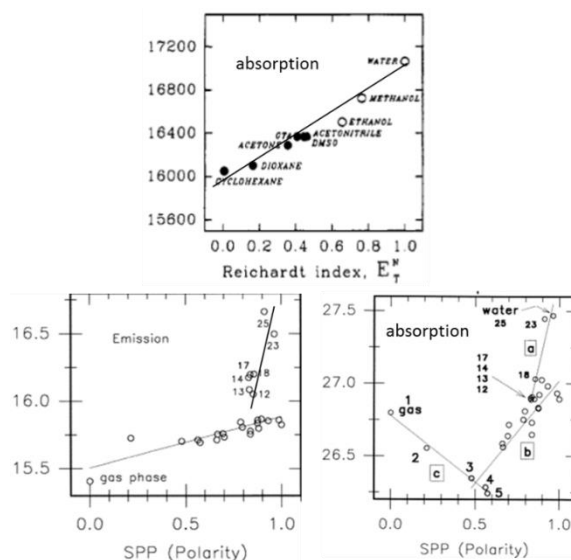


Figura 3. Dependencia del máximo de fluorescencia del tautómero transferido con la escala de polaridad de Reichardt normalizada E_T^N a 298 K (arriba); dependencia de HAP con la escala de polarizabilidad y dipolaridad SPP tanto para emisión (abajo izquierda) como para absorción (abajo derecha).³

El ajuste correcto con las escalas de disolvente (SP, SdP, SA y SB) en absorción está descrito por la ecuación, ν (cm⁻¹) = -571 SP + 637 SdP + 376 SA + 26748. Como se puede observar, la energía del máximo de absorción depende principalmente de la dipolaridad del medio y el término independiente es la transición electrónica de HAP en la fase gas. Sin embargo, la emisión depende principalmente de la acidez pero no depende de la dipolaridad de la molécula, ν (cm⁻¹) = 289 SP + 160 SB + 854 SA + 26748; en contra de lo que pensamos inicialmente, la emisión dependía fuertemente de la acidez. El término independiente nos proporcionaba la transición electrónica de emisión en fase gas. Sólo como aclaración, J. Catalán ya había estudiado el solvatocromismo de la betaína ET30 con la que se generó la escala de Reichardt y entendió que la aceptable correlación lineal que obtuvimos Sasha y yo en 1995 se debió a que la escala de Reichardt dependía también de la acidez y de la dipolaridad del disolvente. Con las cuatro escalas SP, SdP, SA y SB se entendió que la sonda molecular ET30 (su espectro de absorción) no mostraba dependencia de la polarizabilidad, y en muy pequeña extensión de la basicidad, sólo describía adecuadamente la dipolaridad y acidez del disolvente: ν (cm⁻¹) = 3390 SB + 10840 SdP + 23170 SA + 30500. Por primera vez se pudo estimar la transición en fase gas de la ET30 a 30500 cm⁻¹. Las conclusiones bioquímicas de Sasha, sin embargo, se mantuvieron intactas, la polaridad de la cavidad de la albumina donde se encontraba HAP era tan polar como el agua -el agua presenta una alta dipolaridad y una mayor acidez, pero una basicidad casi nula, menor que la de un alcano lineal-.

3. SOBRE LOS ESTUDIOS DE LA DOBLE TRANSFERENCIA PROTÓNICA DEL 7-AZAINDOLE.

Michael Kasha se preguntaba constantemente sobre aquello que observaba, ya fuera en charlas o en la observación misma de hechos científicos. Tenía una habitación que llamaba “serendipity room”, o lo que podríamos traducir como serendipia o serendipismo, la habitación del descubrimiento por azar o desde la observación misma de un hecho por casualidad, o por intuición (“the occurrence and development of events by chance in a happy or beneficial way”). Un día entró en nuestro laboratorio y entregó un pedazo de papel a Sasha. El papel contenía el dibujo a mano de una molécula que era parecida al 7-azaindole, pero con un anillo bencénico que separaba y estaba fundido a los anillos de piridina y pirrol –cómo se muestra en las figuras 4 y 5-.

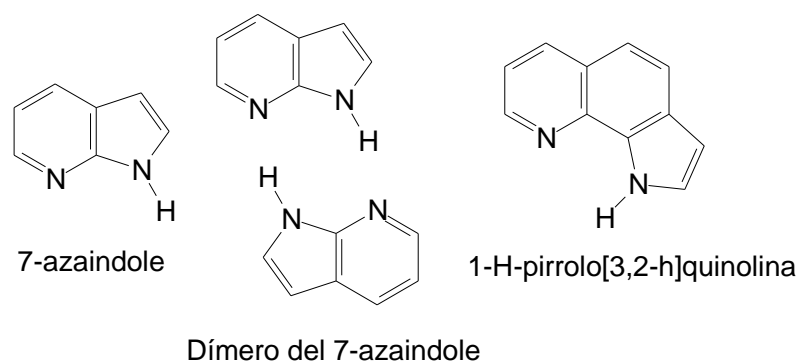


Figura 4. Moléculas que dieron lugar a la colaboración con el Prof. Catalán.

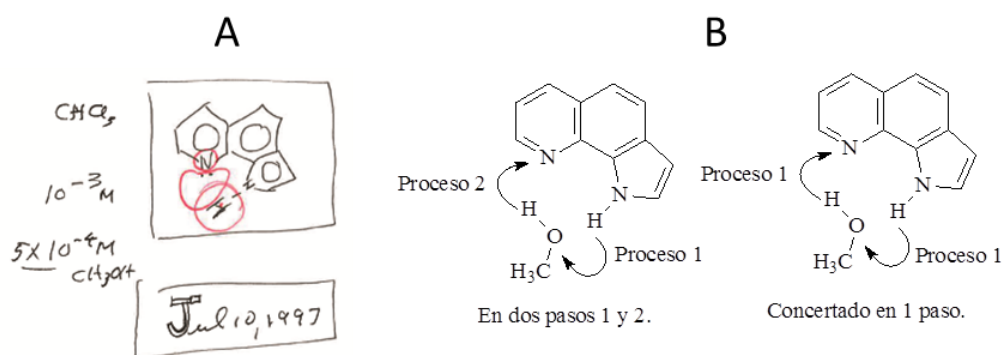


Figura 5. A) Dibujo hecho a mano por Michael Kasha, con algunas sugerencias para fijar las condiciones de los experimentos; B) Doble transferencia protónica en el estado excitado catalizada por metanol, con dos mecanismos, en dos pasos (primero salta un protón y después el otro protón, termodinámicamente presenta dos barreras), y en un paso (concertado, presenta una barrera).

La idea principal era que esa molécula tendría un mayor momento dipolar que el 7-azaindole (3.2 Debyes) y podría utilizarse como sonda de polaridad. Es decir, que los espectros de absorción y emisión de la molécula 1-H-pirrol[3,2-h]quinolina serían sensibles a la polaridad del entorno y nos podría dar información valiosa de su estructura química. Tanto Sasha como yo nos quedamos un poco sorprendidos. Lo único que teníamos era ese pedazo de papel. Sasha hizo una búsqueda bibliográfica, pero la molécula no era comercial, habría que sintetizarla. Sasha estaba muy comprometido con otros experimentos y no tenía tiempo para sintetizar la molécula. Así que me cedió el pedazo de papel y me propuso estudiarlo si me parecía bien. Meses después, Sasha se trasladó a Philadelphia para trabajar en el laboratorio de Robin Hosstrasser (antiguo estudiante postdoctoral de Michael Kasha) y me quedé definitivamente a cargo del papel con la molécula misteriosa. Por aquél entonces, el Dr. Esteban Domínguez trabajaba con el Prof. Harry Walborsky en el Departamento de Química de Florida State University. Esteban trabajaba en síntesis de compuestos orgánicos y sobre la separación de los enantiómeros de una mezcla racémica. Le propuse la síntesis de la pirroloquinolina, Figuras 4 y 5, y aceptó. Terminamos la síntesis en quince días y comencé los estudios de emisión y absorción en varios disolventes. Especialmente en etanol apareció algo interesante,⁵ Figura 5, una nueva emisión de fluorescencia aparecía distanciada de la emisión normal de la forma neutra. El etanol actuaba como puente entre el centro básico, el anillo de piridina, y el centro ácido, el anillo de pirrol –se producía una doble transferencia protónica con la mediación de una molécula de etanol-. Esto fue la bomba para mí, puesto que expliqué el proceso como una transferencia en dos pasos, primero se transfería un protón y luego el otro, Figura 5. Michael, sin embargo, no aceptó mi argumentación. Los procesos de transferencia protónica en el estado excitado estaban guiados por cambios en la acidez y basicidad de los centros implicados que ocurrían en un solo paso. Esto nos devolvió al problema de la doble transferencia protónica del 7-azaindole, Figura 4, que había descubierto Michael en 1968 y cuyo interés se había reavivado con la publicación en Nature en 1995 de un artículo que defendía que el proceso era en dos pasos, conclusión alcanzada por Douhal y Zewail⁶ con estudios cinéticos de

resolución en femtosegundos. Esto resucitó el problema de las mutaciones genéticas del ácido desoxirribonucleico, ADN, en el que están implicados los dobles enlaces de hidrógeno de las bases nitrogenadas adenina-timina y guanina-citosina. ¿Serían estos procesos de doble transferencia protónica los causantes de las mutaciones del ADN y el inicio de los procesos tumorales en la piel por la acción de absorción de la radiación solar? Michael llegó a la conclusión de que los cálculos teóricos nos podrían informar de lo que ocurría en la doble transferencia protónica del 7-azaindole dímero, que se usaba como patrón simplificado del par adenina-timina, y yo propuse al Prof. Catalán para realizarlos. Conocía de los estudios teóricos que Javier Catalán estaba realizando con la ayuda de J.L.G. de Paz en la UAM. Javier había estudiado teóricamente el dímero del 7-azaindole en los años 70, y estaba mejorando los cálculos para revisar los resultados obtenidos. Básicamente, las conclusiones coincidían con las de Michael, el proceso de doble transferencia protónica en el estado excitado se realizaba en un solo paso, era por tanto, un proceso concertado. Esto dio origen a una fructífera colaboración con el Prof. Catalán. La elección de la pirroloquinolina como sonda de polaridad no tuvo un largo recorrido, el momento dipolar que pensaba Michael que sería grande resultó ser pequeño, 0.2 Debyes, y formaba complejos con disolventes próticos, como con el metanol, etanol y otros. Sin embargo, esto puede ser entendido como un ejemplo de serendipia, “happy accident”, “pleasant surprise” o como “fortunate mistake”, ya que gracias a ese dibujo en un trozo de papel, Figura 5, comenzó una fructífera relación con el Prof. Javier Catalán sobre la doble transferencia protónica en el estado excitado del dímero del 7-azaindol. Esto nos llevó a competir científicamente por entender el proceso fotoquímico en rivalidad con el Prof. A. H. Zewail y su grupo de investigación, que pugnaban por demostrar que la doble transferencia era claramente en dos pasos. Por nuestra parte, publicamos cinco artículos en PNAS⁷ (por ejemplo, Catalán, Valle, Kasha y otros, PNAS, 2004, 101, 419; *ibid.*, PNAS, 2002, 99, 5799), y otros muchos en revistas internacionales (p.e., M. Kasha y J. Catalán. J. Phys. Chem. A 2000, 104 (46), 10812).⁸ Esto activó a la comunidad internacional que publicó muy activamente por demostrar un camino “concertado” o “en dos pasos”. Esa rivalidad científica, sin embargo, no unió a la comunidad internacional, todo lo contrario, generó un malestar personal entre muchas personas -los dos paradigmas supusieron un conflicto que se extendió a nivel personal-. La ciencia se debe entender como una herramienta, que sirve tanto para unir como para desunir, depende de quién la utilice. Michael nos enseñó sobre la unidad de todo de forma natural, y de cómo la ciencia demostraba esa unidad, pero las personas también utilizamos la ciencia para dividirnos y crear conflictos. En estos momentos creo que hay una clara conclusión a nivel internacional de que la doble transferencia protónica del dímero del 7-azaindol sigue un proceso concertado -aunque seguro que hay científicos que no estarán de acuerdo conmigo-, y que el dímero 7-azaindol no es un buen patrón para el par molecular adenina-timina. Pocos estudios superan la prueba del paso del tiempo en ciencia, y pongo como ejemplo a nuestro admirado Santiago Ramón y Cajal. En su pugna por demostrar el funcionamiento del cerebro elaboró “la teoría de la neurona”, que sí ha soportado el paso del tiempo y ahora se encuentra en todos los libros de texto. S. Ramón y Cajal también previene de la identificación personal del investigador con su investigación en su libro Reglas y Consejos sobre la Investigación Científica.⁹ Para evitar los conflictos personales en ciencia como en otras áreas de la actividad humana, el investigador no se debe identificar con su investigación, si lo hace, se produce automáticamente una fragmentación, que dará pie a un conflicto. La compasión, la empatía, el hecho de ponerse en el lugar del otro, y pedir perdón por los errores cometidos tiende a crear puentes y el conflicto se puede evitar. Sin embargo, la identificación inicial es el error fundamental, que guía a la comparación personal, que guía al “becoming”, es decir, activa nuestra vanidad. Separar el trabajo científico de esa identificación personal es fundamental para el progreso de la ciencia y el del ser humano. En este punto, creo que es importante recordar un fragmento “Silencio” por Jorge Drexler que nos viene bien a todos para que seamos uno, y nos recuerda que el silencio es la base de nuestra investigación científica: Todo el mundo intentando venderte algo / Intentando comprarte / Queriendo meterte en su melodrama / Su karma, su cama, su salto a la fama / Su breve momento de gloria / Sus dos megas de memoria / Subirte a su nube / Como un precio que sube / Para luego exhibirte / Como un estandarte / No encuentro nada más valioso que darte / Nada más elegante / Que este instante de silencio / Silencio / El índice vertical entre la boca y la nariz / El eco en la catedral / La brisa en la enredadera / Entremos en el sonido hasta el penúltimo matiz / Hagámosle caso al gesto

de la foto de la enfermera / Y cuando el ruido vuelva a saturar la antena / Y una sirena rompa la noche, inclemente / No encontraremos nada más pertinente / Que decirle a la mente / Detente / Silencio / Silencio / Shh, shh, shh / Shh, shh, shh shh / Shh, shh, shh / Shh, shh, shh shh /Silencio.

El silencio nos lleva a entender un problema científico, pero la identificación personal con un paradigma científico nos hace alejarnos de la solución y del hecho científico.

4. SOBRE LA INVESTIGACIÓN CON ELENA FALKOVSKAIA (LENA).

Lena era y es una persona muy entrañable, se llevaba bien con todos. Se acabó casando con un estudiante de doctorado del Instituto de Oceanografía de Florida State, Timour Radko (de nacionalidad rusa). Llevó a cabo una tesis muy independiente con escasa dirección por parte de Michael sobre compuestos flavonoides, importantes antioxidantes -por ejemplo, la quercetina- presentes por ejemplo en las frutas y las hojas del té. Lena me propuso colaborar en el estudio de la 3-hidroxi flavona (3HF) y un compuesto sintetizado por el Profesor ucraniano Vasyl Pivovarenko, quién también colaboraba con el mentor de Lena en Ucrania Alexander Demshenko. El Prof. Pivovarenko sintetizó para nosotros una molécula similar a la 3HF, pero con un sistema aromático más extenso y dos anillos intramoleculares con enlace de hidrógeno, que llamaremos por simplificar D3HF, Figura 6. Esto complicaba mucho su fotofísica y nos forzó a hacer algunas pruebas preliminares.

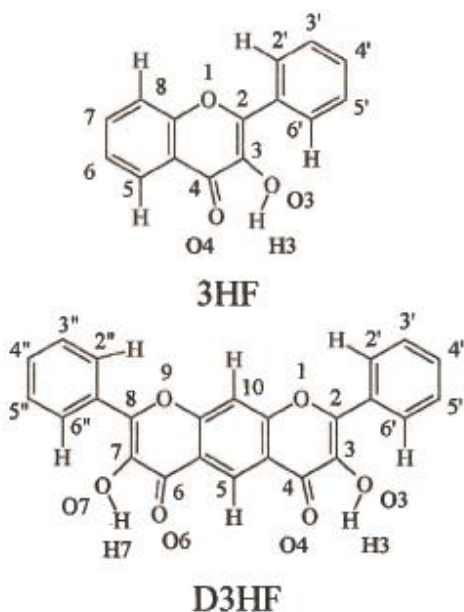


Figura 6. Las moléculas flavonoides 3-hidroxi flavona (3HF) y la doble 3-hidroxi flavona, (D3HF). Ésta última, presenta dos enlaces de hidrógeno intramoleculares y una simetría C_{2v} .

Lena estaba dudando de la existencia o no de una banda de absorción a 530 nm, que correspondería a la banda de absorción del tautómero transferido de la molécula D3HF. Esto habría sido la primera observación de la banda de absorción de una tautómero en compuestos flavonoides. El espectro de absorción no mostraba dicha banda, pero si se excitaba a 530 nm el fluorímetro recogía una banda de emisión a 600 nm característica de la molécula D3HG. La Figura 7 muestra los experimentos que hicimos para desentrañar el enigma.

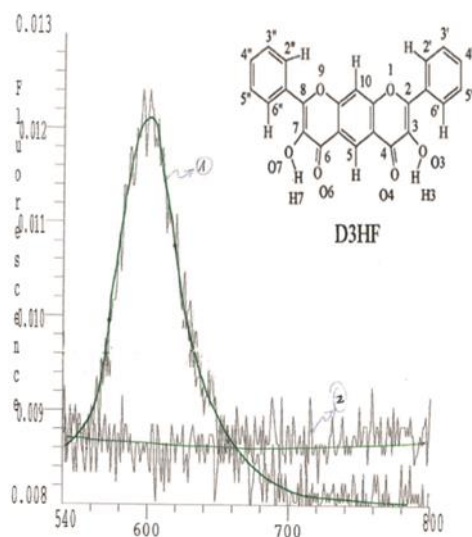


Figura 7. 1. Espectro de emisión excitando a 530 nm, falsa emisión del tautómero con H transferido.
 2. Espectro de emisión excitando a 530 nm, usando un filtro de corte a 370 nm (kv370). La falsa emisión desaparece ya que lo que excita la molécula es el armónico de la radiación a $530 / 2 = 265$ nm, que queda absorbido por el filtro de cut-off hasta 370 nm.

La molécula D3HF se excitaba a 530 nm, y se obtenía una banda de fluorescencia que correspondía a la fluorescencia desde un tautómero con el H transferido -que posee un desplazamiento de Stokes grande-. Sin embargo, esta fluorescencia, de ser correcta no debería haber desaparecido al interponer un filtro de 370 nm (un filtro que absorbe la luz recibida desde 240 nm hasta 370 nm), ya que estamos excitando con luz de longitud de onda mayor. En realidad, lo que excitaba a la muestra no era la radiación de 530 nm, sino su armónico a 265 nm, y al interponer el filtro, este absorbía la radiación de 265 nm, curva 2 de la figura 7. Es decir, que era un mero artefacto debido a los armónicos que genera la red de difracción del fluorímetro. Aclarado esto, se estudio la espectroscopia de absorción y emisión en un rango de temperaturas amplio entre 298 K y 77 K. Además se hicieron cálculos teóricos para descifrar lo que ocurría con la fotoquímica de la molécula D3HF y compararlo con 3HF. De esa forma se concluyó en dos artículos^{10,11} que se generaba una emisión a 600 nm debida a la reacción fotoquímica de transferencia protónica en el estado excitado, en la que un H⁺ saltaba del OH al carbonilo (=O) unido por enlace de hidrógeno. Sólo se producía el salto de un H⁺, el otro H⁺ en la posición simétrica no saltaba, era por tanto, un proceso sencillo de transferencia protónica en el estado excitado. Los cálculos indicaban tanto en la configuración singlete como en la configuración triplete que se formaba un molécula en un estado intermedio en el que se transfería un solo protón, y la segunda transferencia protónica no estaba activada -al menos, en las condiciones de nuestros experimentos, Figura 8-.

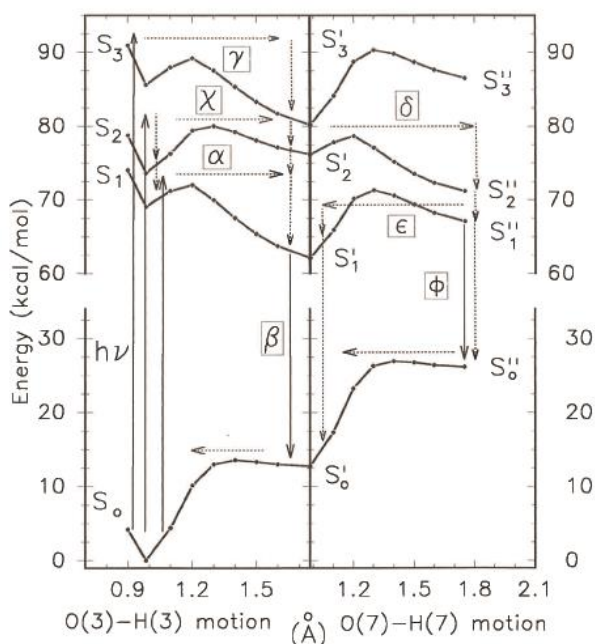


Figura 8. Diagrama de estados de energía para la molécula D3HF con respecto a la variación de la distancia OH. Se observa un mínimo intermedio de menor energía que los otros dos, en el estado electrónico excitado, lo que bloquea la transferencia del segundo protón.

Gracias a la colaboración con Lena se produjo además la colaboración con A. Demshenko. Durante mi estancia en Tallahassee, Lena me había presentado al Prof. Demshenko, quién entonces visitaba al Prof. Kasha con cierta frecuencia. A la muerte del Prof. Kasha, Alexander Demshenko me propuso participar en un artículo en honor a Michael y gustosamente acepté. Los resultados del artículo fueron firmados por antiguos estudiantes postdoctorales y doctorandos de Michael, o colaboradores como el Prof. Demshenko, además de por otra investigadora ucraniana experta en cálculos teóricos Larissa Brizhik, quién por entonces, 2014, colaboraba con un grupo de investigación de la Universidad Complutense de Madrid. El trabajo se publicó en *Angew. Chem. Int. Ed.* con el título “Michael Kasha: From photochemistry and flowers to spectroscopy and music.”¹²

El artículo terminaba con unas frases que caracterizaban a Michael con excelencia: “Those who had the privilege of being of Kasha’s students or co-workers always remark on the special freedom they had in doing their studies. He knew well how to shape a solid research group without putting any pressure on people”. Y así fue, en su laboratorio había una libertad total, no había presión por publicar. En una cena con Natalia Berloff y un profesor del Departamento de Matemáticas Aplicadas de Florida State, el Profesor Steve Blumsack, éste nos comentaba que siempre me acordaría con gratitud de mi formación con Michael Kasha, por su excelencia en tantos temas, y su gran talento, por su generosidad, y por su vocación de maestro, que siempre ejercía no importaba dónde y cuando -cualquier tema que analizaba tenía profundidad y sentido común-. Y así es, con el paso del tiempo refrendo esa predicción. Pero además, Michael Kasha me introdujo en un ambiente de ucranianos y rusos que también me formaron, y también con gratitud recuerdo todos aquellos años vividos con ellos. Gracias a todos. Recuerdo con especial cariño a Sasha que nos abandonó prematuramente.

5. CONCLUSIONES.

Del trabajo de Kasha, Sasha, Lena, Igor y otros se constata la unión del contenido científico, todo está interrelacionado. La identificación personal de la investigación con el investigador que la ha realizado nos crea conflictos. La ciencia es una herramienta que como todos sabemos puede ser beneficiosa para la humanidad, constata la unión de contenido de todo, pero también puede ser desastrosa para la humanidad –apoya divisiones que acaban en conflictos armados; depende de cómo

la utilicemos los personas-. Desde mi experiencia personal, tanto rusos como ucranianos son tan europeos como lo son los españoles. Además, a toda Europa la une una base de valores y virtudes comunes –valores y virtudes cristianos-. La comunidad de rusos y ucranianos con la que conviví se basaba en la armonía y en el amor. La solución al conflicto de Ucrania y Rusia está clara, que los rusos sean más ucranianos y los ucranianos más rusos, compasión-empatía y perdón, y eso se consigue sin divisiones o conflictos, con la unión de ambos a la Unión Europea. La unión hace la fuerza, se suele decir, pero en realidad la constatación por la ciencia de que estamos unidos revela el amor, el silencio, la oración. En la oración o en la observación estamos todos unidos. En la observación no hay divisiones, no hay ajustes de cuentas, se vive, por tanto, el momento presente. Esto también es silencio, y sobre el silencio presento un botón de muestra con el que quiero terminar, un fragmento del libro “Commentaries on Living” de J. Krishnamurti:

“Awareness is the silent and choiceless observation of what is. In this awareness the problem unrolls itself; and thus is completely understood.” “Darse cuenta es la observación silenciosa y sin elección de lo que es. En ese darse cuenta, el problema se despliega por sí mismo; y así se comprende en su totalidad” (J. Krishnamurti. Commentaries on Living, Series I, Chapter 41, Awareness).

REFERENCIAS

1. J.C. del Valle, M. Kasha, J. Catalán, Spectroscopy of Amplified Spontaneous Emission Laser Spikes in Phenylloxazoles. Prototype Classes. J. Phys. Chem. A 1997, 101(18), 3260.
2. A. Sytnik, J. C. Del Valle. Steady-state and time-resolved study of the proton-transfer fluorescence of 4-hydroxy-5-azaphenanthrene in model solvents and in complexes with human serum albumin. J. Phys. Chem., 1995, 99, 13028.
3. J. C. del Valle, J. Catalán. Understanding the solvatochromism of 10-hydroxybenzo[h]quinoline. An appraisal of a polarity calibrator. Chem. Phys., 270, 2001, 1-12
4. J. Catalán. Toward a Generalized Treatment of the Solvent Effect Based on Four Empirical Scales: Dipolarity (SdP, a New Scale), Polarizability (SP), Acidity (SA), and Basicity (SB) of the Medium. J. Phys. Chem. B 113, 5951.
5. J.C. del Valle, E. Domínguez, M. Kasha, J. Phys. Chem. A, 1999, 103, 2467.
6. A. Douhal, S. K. Kim & A. H. Zewail. Femtosecond molecular dynamics of tautomerization in model base pairs. Nature, 1995 (378), 260.ç
7. Laz J. Catalán, P. Pérez, J. C. del Valle, J. L. G. de Paz, M. Kasha. H-bonded N-heterocyclic base-pair phototautomerizational potential barrier and mechanism: The 7-azaindole dimer. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2004, 101, 419;
J. Catalán, P. Pérez, J. C. del Valle, J. L. G. de Paz, M. Kasha. The concerted mechanism of photo-induced biprotonic transfer in 7-azaindole dimers: a model for the secondary evolution of the classic C2h dimer and comparison of four mechanisms. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2002, 99, 5799.
8. M. Kasha y J. Catalán. Photophysics of 7-Azaindole, Its Doubly-H-Bonded Base-Pair, and Corresponding Proton-Transfer-Tautomer Dimeric Species, via Defining Experimental and Theoretical Results. J. Phys. Chem. A 2000, 104 (46), 10812.
9. S. Ramón y Cajal. Reglas y consejos sobre investigación científica: Los tónicos de la voluntad: 4 (Clásica). Editorial Austral, 2011 –prólogo de Severo Ochoa-.
10. E. Falkovskaia, V. G. Pivovarenko, J.C. del Valle. Chem. Phys. Lett., 2002, 352, 415.
11. E. Falkovskaia, V. G. Pivovarenko, J.C. del Valle. J. Phys. Chem. A 2003, 107, 3316.
12. A. P. Demchemko, J. Heldt, J. Waluk, Pi-Tai Chou, P. K. Sengupta, L. Brizhik, and J. C. del Valle. Michael Kasha: From photochemistry and flowers to spectroscopy and music. Angew. Chem. Int. Ed. 2014, 53, 14316.