



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

Estudio teórico de las estabilidades
energética y termodinámica de los tautómeros
de la 6-mercaptapurina en fase gas bajo
diferentes estados de protonación.

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA

JENIFFER DIANA CRUZ DELGADO



MÉXICO, D.F.

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado:

Presidente: **Profesor: José Manuel Méndez Stivalet**
Vocal: **Profesora: María Eugenia Costas Basin**
Secretario: **Profesor: Alfonso Sebastián Lira Rocha**
1er. Suplente: **Profesor: Francisco Hernández Luis**
2do. Suplente: **Profesor: Blas Flores Pérez**

Sitio donde se desarrolló el tema: Área de fisicoquímica teórica (cubiculario 106) del Departamento de Fisicoquímica perteneciente a la Facultad de Química, UNAM.

Dra. María Eugenia Costas Basin
Asesora

Dr. Rodolfo Acevedo Chávez
Supervisor técnico

Jeniffer Diana Cruz Delgado
Sustentante

A mis amigos

Agradecimientos:

A DGAPA-UNAM por el apoyo mediante una beca de tesis para la realización de este trabajo (proyecto IN 101208).

A todos los que en la UNAM, luchan por que siempre existan los espacios, actividades y educación libres que la población necesita.

A Mayu y Rodolfo. Todo lo que me enseñan son cosas que valoro muchísimo en mi vida y por la amistad que me brindan.

En especial a los sinodales encargados de supervisar este trabajo.

A mis padres por el amor, apoyo y comprensión que me dan día a día.

A Karen por ser mi mejor amiga.

A Luis, por estar siempre a mi lado.

Índice

1. Introducción	1
2. Antecedentes	7
3. Metodología	13
3.1 Teoría de Funcionales de la Densidad	15
3.2 Base.....	18
3.3 Condiciones del cálculo	20
4. Resultados y análisis	23
4.1 Estabilidad energética y termodinámica, y poblaciones tautoméricas de la 6-mercaptopurina en fase gas.	
4.2 Valores teóricos de ΔG^\ominus y pK_a de las disociaciones protónicas tautoméricas para la 6-mercaptopurina en fase gas.	
4.3 Valores teóricos de pK_a macroscópico para las disociaciones protónicas de la 6-mercaptopurina en fase gas.	
5. Conclusiones	42
6. Apéndice	44
6.1 Valores teóricos de pK_a macroscópico para las disociaciones protónicas de la 6-mercaptopurina en fase gas	44
6.2 Parámetros estructurales	50
7. Bibliografía	57

1. Introducción

El interés en una molécula se puede deber a muchas causas, como sus usos, el mecanismo mediante el cual participa en una reacción, cómo hacer para poder emplearla en algo novedoso, su toxicidad, sus propiedades físicas, etc. A pesar de todo esto, muy pocas veces dejamos de verla como algo estático o algo que conserva un arreglo definido y sólo cambia al participar en una reacción.

Aunque sabemos que en realidad las interacciones que ocurren a microescala son importantes, solemos interesarnos mucho menos en ellas y ponemos más atención a lo que podemos observar. Pero, ¿qué pasa cuando en una molécula algún grupo funcional cambia de posición dependiendo de las condiciones en las que se encuentre? ¿qué ocurre si sólo algunas moléculas de cierta cantidad de éstas son las que se modifican? El tautomerismo se define como una isomería constitucional, en donde la migración de un grupo funcional o átomo provoca un cambio en la estructura, mas no en la composición química de una molécula.

El tautomerismo no se presenta en todas las moléculas y a veces no es muy tomado en cuenta en las que sí lo está. Es sumamente relevante en la correcta interpretación de la actividad biológica de algunos compuestos, en la elucidación de mecanismos de reacción, así como en la caracterización de moléculas para su posterior aplicación en cualquier campo.

Entre los diversos tipos de tautomerismo es evidente la importancia del papel que los átomos de hidrógeno juegan, haciendo posible que ciertas formas tautoméricas se “adapten” al entorno fisicoquímico, mediante equilibrios ácido-base que les permitan cambiar su patrón de protonación, o bien, dar paso a una serie de tautómeros en un nuevo estado de protonación.

Entre los diversos tipos de estructuras moleculares que presentan un fenómeno de tautomerización, resulta muy interesante estudiar el grupo de los derivados y análogos de purina (Figura 1.1), dado que dos de ellas (adenina y guanina) son parte esencial del ADN y ARN, junto con las pirimidinas. Los enlaces de hidrógeno modulan el reconocimiento entre estas bases, así como la interacción entre bases complementarias dependiendo de la acidez y basicidad intrínseca de los grupos aceptores o donadores de protones. Algunas purinas participan en vías metabólicas (hipoxantina) y otras han resultado muy eficientes en el tratamiento de diversas enfermedades (alopurinol, 6-tioguanina, 6-mercaptopurina, aciclovir y azatioprina).¹

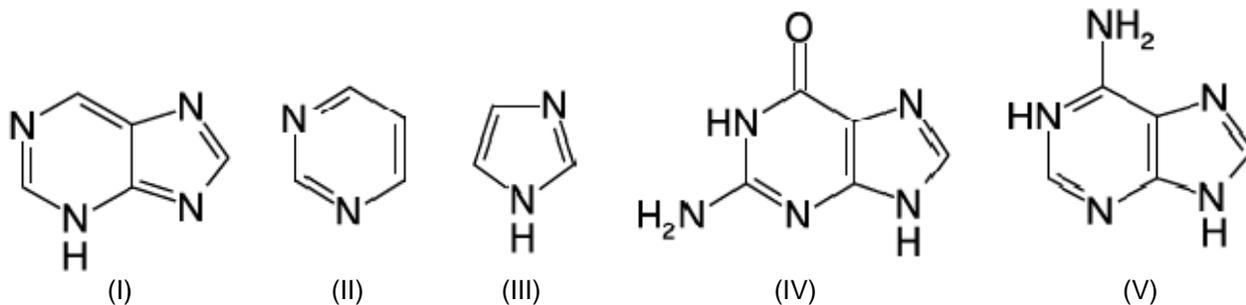


Figura 1.1. Estructura de la purina (I), pirimidina (II), imidazol (III), guanina (IV) y adenina (V)

La estructura de la purina resulta de la fusión de la pirimidina y el imidazol. Sus derivados, pueden presentar deslocalización de la densidad electrónica, ya que están compuestos por heteroátomos; ello propicia principalmente tres distintos tipos de isomería de enlace conocidos como:

- Tautomerismo prototrópico (Figura 1.2), que es aquel en el cual un protón se intercambia entre cualquiera de los átomos de nitrógeno presentes en los heterociclos.

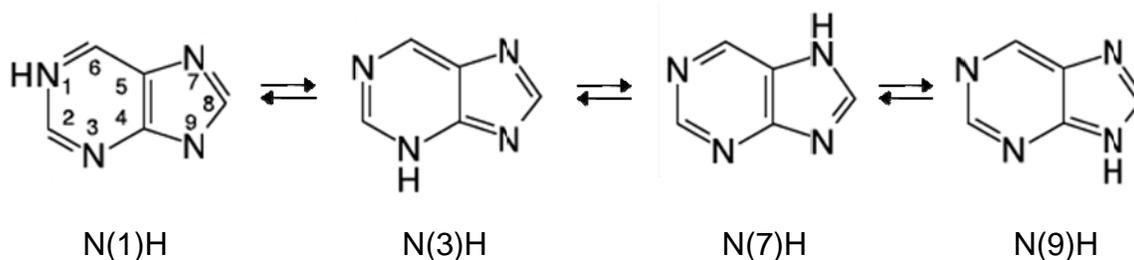


Figura 1.2. Tautomerismo prototrópico de la purina. La notación usada para nombrar a los tautómeros indica la posición del átomo de hidrógeno de acuerdo a la numeración usada para los átomos del heterociclo, como se muestra en el tautómero N(1)H.

- Tautomerismo ceto-enol (Figura 1.3), presente en las oxopurinas debido al desplazamiento de un protón entre el átomo de oxígeno exocíclico y los átomos de nitrógeno del sistema de anillos. En el caso de los derivados mercapto, este tautomerismo es llamado tiona-tiol.

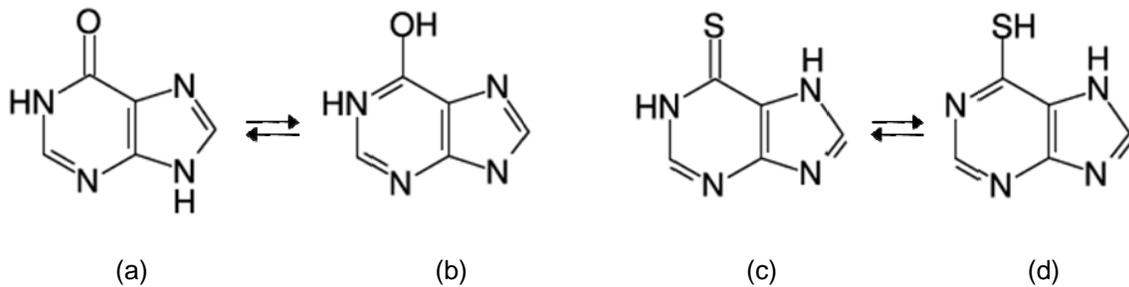


Figura 1.3. Tautomerismo ceto (a) – enol (b) de la hipoxantina y tiona (c) – tiol (d) de la 6-mercaptopurina.

- Tautomerismo amina-imina (Figura 1.4), que se presenta en aminopurinas (como la adenina), en el cual un protón se desplaza entre un átomo de nitrógeno exocíclico y otro átomo de nitrógeno perteneciente a los anillos.

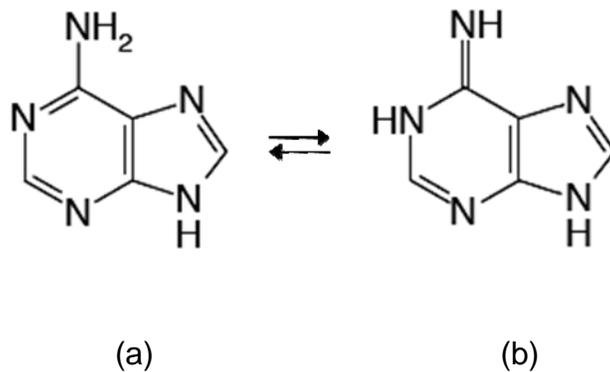


Figura 1.4. Tautomerismo amina (a) – imina (b) de la adenina.

Por lo antes mencionado, es posible percatarse de la amplia variedad de conformaciones que se pueden presentar en una misma molécula. El equilibrio tautomérico depende de diversos factores como temperatura, pH, estado de agregación, propiedades del medio (polaridad, constante dieléctrica, etc.), entre otros².

En el campo de la biología, el tautomerismo ha sido un aspecto clave. J. Donohue (un alumno de L. Pauling) sugirió a Watson utilizar la forma ceto para lograr construir su modelo

de ADN junto con Crick. Después de haberlo logrado, se percataron de que naturalmente se presenta la tautomerización ceto-enol y amina-imina en las bases del DNA; mientras que las formas ceto y amina son las más abundantes y se aparean con la regularidad que conocemos (A-T y C-G), los tautómeros enol e imino (alrededor de 10^{-4} de cada base) presentan afinidad por alguna otra base (p. ej. A-C), llevando así a una mutación si el daño no es corregido a tiempo³⁻⁴.

Imaginar cómo se lleva a cabo alguna reacción en un sistema biológico resulta complicado, debido a la cantidad de sustancias y biomoléculas presentes en él. Contrario a lo que se podría pensar un medio biológico, que puede comprender desde el interior de una célula hasta el interior de una proteína, no siempre tiene las características de un entorno acuoso. Ha sido demostrado que al interior de las proteínas predomina un ambiente no polar, causando un incremento en la acidez y basicidad de ciertas moléculas, así como cambios en la reactividad, en comparación al comportamiento observado en solución acuosa. En el caso de moléculas tan importantes como las bases nucleicas y sus derivados, es esencial contar con datos precisos referentes a su acidez y basicidad, para así lograr comprender temas de fundamental importancia en sistemas biológicos. Por ello, los estudios en fase gas, tanto teóricos como experimentales, resultan valiosos ya que permiten examinar las propiedades y reactividad las moléculas en un ambiente carente de interacciones⁵.

El estudio de las rutas bioquímicas y de los sustratos, metabolitos, receptores y enzimas implicadas en éstas, ha permitido entender el origen de muchas enfermedades, así como el desarrollo racional de fármacos, muchos de los cuales basan su mecanismo de acción en la analogía estructural que poseen con el sitio de interacción de la molécula farmacológicamente activa. Tal es el caso de algunos derivados purínicos como el alopurinol y la 6-mercaptopurina, isómeros estructurales de la hipoxantina, y la 6-tioguanina, isómero de la guanina.

La 6-mercaptopurina (6-MP, 1,7-dihidro-6-*H*-purina-6-tiona) fue el primer fármaco efectivo contra la leucemia. Desde su aparición en el mercado hasta la fecha, la 6MP (Figura 1.5), en combinación con otros agentes quimioterapéuticos antineoplásicos, es administrada en el tratamiento de leucemia, en especial, de la leucemia linfoblástica aguda (de la que cura alrededor del 80% de los casos infantiles)⁶; y de desordenes autoinmunes como la enfermedad inflamatoria de intestino (que incluye a la enfermedad de Crohn)⁷. Dado que la 6-MP es un bioisostero de la hipoxantina, es que se le clasifica como antimetabolito análogo de purina⁸⁻⁹.

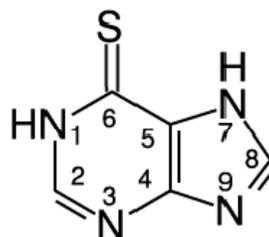


Figura 1.5. Representación esquemática de la 6-mercaptopurina en su forma tautomérica tiona N(1,7)H.

Debido a la amplia distribución de la 6-MP como fármaco y a los diversos factores mediante los cuales puede ser tóxica en los pacientes^{6,10}, varios grupos de trabajo se enfocan en diseñar y probar nuevas moléculas en donde la toxicidad de la 6-MP disminuya, y tenga una mejor farmacocinética. En el primer rubro, algunos métodos parten desde el profármaco azatioprina, analizando alternativas distintas a la 6-MP o utilizan 6-MPribosa¹¹⁻¹². Otros, aprovechan su comportamiento frente a otras especies químicas, y han logrado obtener complejos con bismuto¹³, platino y paladio, con actividad antitumoral¹⁴. En cuanto a la mejora de la farmacocinética, ha sido ampliamente explorado el diseño de nanoestructuras de oro¹⁵ y algunos complejos de cobalto¹⁶. Incluso, se ha tomado en cuenta el uso de polímeros de cadmio y 6-MP como un nanomaterial¹⁷.

Todas estas líneas de investigación indican la importancia de conocer a fondo el comportamiento fisicoquímico de la 6-MP. En el trabajo que aquí se presenta, se busca ahondar en esas propiedades, como parte de una línea de investigación sobre heterociclos tipo purínicos. A la fecha se han realizado estudios sobre la estructura molecular y propiedades electrónicas, y del fenómeno de solvatación, de 6-MP en estado neutro.

Es así, que en este trabajo se exploran, mediante cálculos basados en la Teoría de Funcionales de la Densidad, los equilibrios tautoméricos en cada uno de los seis posibles estados de protonación (3+ a 2-) de la 6-MP en fase gas, con base en las propiedades energéticas y termodinámicas obtenidas para cada tautómero.

Partiendo de esta información, se proponen los tautómeros más estables y predominantes en cada estado de protonación. Así mismo, se establecen los diversos equilibrios de disociación protónica que pudiesen existir entre dichas especies y se especifican tanto las constantes teóricas tautoméricas (microscópicas) y globales (macroscópicas) de cada paso de desprotonación de la 6-MP en fase gas a 298.15 K.

Usando toda esta información, se pretende establecer la importancia de los sitios de disociación protónica de los heterociclos en los diferentes estados de protonación, y abordar algunos puntos a cerca de la estabilidad termodinámica de los diversos tautómeros en las condiciones de trabajo, haciendo uso de los parámetros obtenidos.

2.

2. Antecedentes

Las propiedades fisicoquímicas de la 6-MP se han estudiado en diversos ámbitos, tanto teóricos como experimentales. En cuanto a la intención de este trabajo, existe poca información previa acerca de los valores de las constantes de acidez para los diferentes estados de protonación en fase gas. Sin embargo, el conocimiento respecto a las propiedades fundamentales de esta molécula, así como su comportamiento en distintos medios y frente a otras especies, es elemental para la interpretación de los resultados obtenidos.

a) Estudios sobre el tautomerismo de la 6-mercaptopurina

La 6-MP presenta dos fenómenos tautoméricos, el tiona-tiol y el prototrópico (que siempre resulta en el rearreglo de enlaces π en un sistema aromático).

A partir de difracción de rayos X, se ha determinado en estado sólido exclusivamente la forma tiona de la 6-MP. No obstante, el patrón de protonación cambia de acuerdo a diferentes parámetros. En la forma anhidra de la 6-MP, el tautómero que predomina es el N(1,9)H¹⁸. G. M. Brown¹⁹ y E. Sletten y colaboradores, reportaron que para la 6-MP monohidratada el tautómero predominante es el N(1,7)H al igual que L. Pazderski y colaboradores, que confirman la abundancia de esta especie en una proporción de 0.87:0.13 respecto al isómero N(1,9)H¹⁸. Por otro lado, para el estado monocatiónico se reporta en mayor cantidad la especie N(1,7,9)H (donde la carga positiva es compartida entre los nitrógenos imidazólicos)¹⁸.

L. Lapinski y colaboradores²⁰ determinaron, mediante la Teoría de Funcionales de la Densidad, que en fase gas la tiona N(1,7)H es energéticamente más estable, seguida de los isómeros *trans* y *cis* (respecto al N(1)) N(9)H y por último de la tiona N(1,9)H. En el mismo trabajo pero usando un método *ab initio* (Hartree-Fock y MP4(SDQ)), obtuvieron también un orden diferente de estabilidad energética, en el cual, la tiona N(1,9)H ocupa el cuarto lugar en vez de el segundo.

Por el contrario, P. Ü. Civcir²¹ afirma que el orden de estabilidad energética parte del tiol N(9)H (no contempla las isomerías *cis* y *trans* en su estudio), le siguen el tiol N(7)H y las tionas N(1,9)H, N(1,7)H y N(3,7)H.

En la línea de investigación a la cual pertenece el presente trabajo, se analizó la estabilidad energética de todos los posibles tautómeros de la 6-MP neutra en fase gas, obteniendo como especie predominante, al igual que L. Lapinski (para sus resultados obtenidos mediante TFD) a la tiona N(1,7)H, seguida por N(1,9)H y los tioles N(9)H *trans* y *cis*²².

En disolución de dimetilsulfoxido se reporta como predominante la tiona N(1,7)H respecto a la N(1,9)H en una proporción de 4:1 por M.-Th. Chenon²³ y de 3:1 por L. Pazderski y colaboradores¹⁸. En cambio, en disolución acuosa, P. Ü. Civcir²¹, al igual que los resultados obtenidos en esta línea de investigación²⁴, señala como más estable a la tiona N(1,7)H, mientras que Contreras y Alderete²⁵, así como D. Lichtenberg y colaboradores²⁶, hallaron como predominante la tiona N(1,9)H.

Es posible apreciar que aún hoy existen diferencias en los resultados, razón por la cual sigue siendo un problema abierto al estudio.

Cabe señalar que en el caso de los ángulos dihedrales (Figura 2.1) lo correcto es utilizar la notación *synperiplanar*, para ángulos de torsión de 0° a 30°, y *antiperiplanar*, para ángulos de torsión de 150° a 180°. La IUPAC determina que la conformación *synperiplanar* puede ser denominada también *cis*, y del mismo modo la conformación *antiperiplanar* se puede nombrar *anti* o *trans*. En todas las referencias antes mencionadas y en el presente trabajo se utiliza la notación *cis* y *trans*.

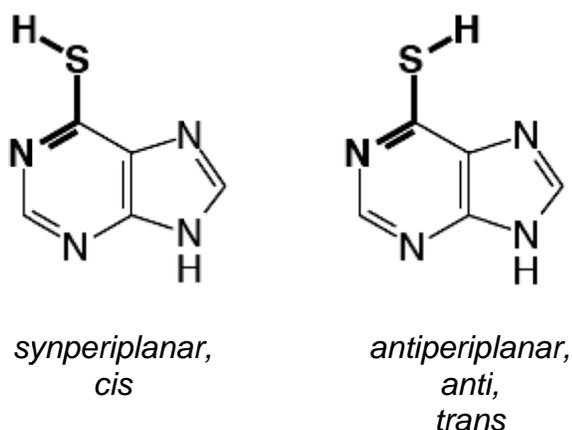
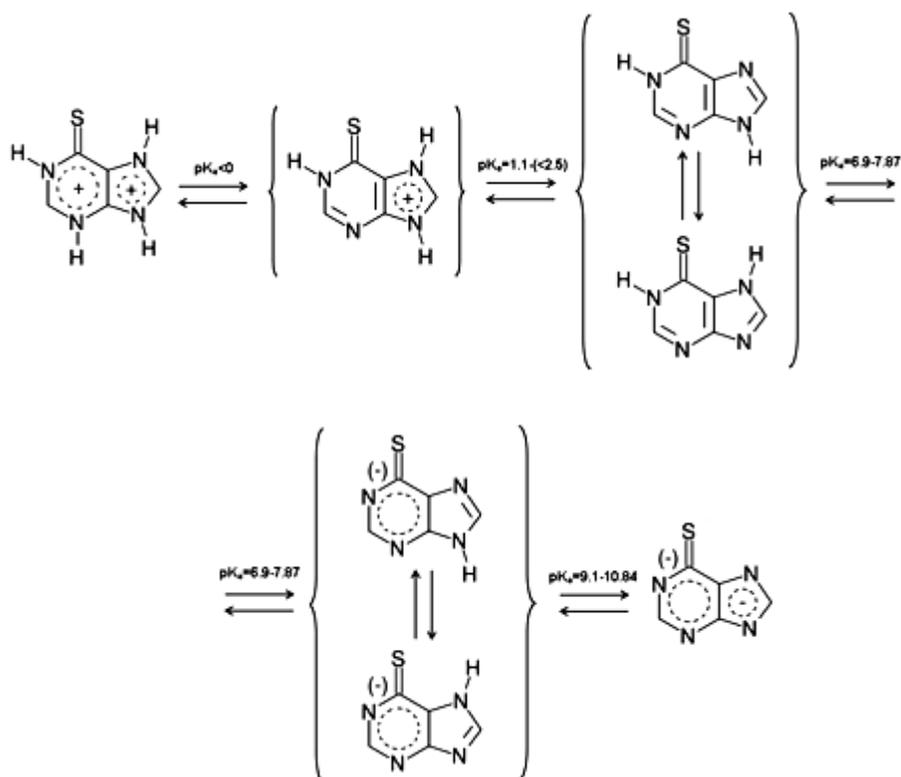


Figura 2.1. Distintas notaciones pueden ser empleadas al nombrar el tipo de ángulos de torsión.

b) Estudios sobre la conducta ácido-base de la 6-mercaptopurina frente al protón

El comportamiento de la 6-MP frente al protón está estrechamente ligado al fenómeno de tautomerismo que le caracteriza, de tal forma que las constantes de

estabilidad termodinámica $L-H^+$ correspondientes a los diferentes equilibrios de protonación en cada estado, son constantes globales (macroscópicas); cada una está determinada primordialmente por las constantes tautoméricas (microscópicas) del equilibrio en el que participan los tautómeros predominantes. Cuando se presenta este caso, comúnmente las constantes macroscópicas se reportan a partir de determinaciones experimentales donde no se especifican los tautómeros preponderantes ni los sitios involucrados en cada paso de disociación protónica²⁷.



Esquema 2.1. Disociación protónica en H_2O propuesto para la 6-mercaptopurina, considerando los equilibrios tautoméricos de las especies predominantes en cada etapa de los equilibrios $L-H^+$.

Las constantes microscópicas, por lo regular, son constantes teóricas debido a la dificultad que conlleva su determinación experimental. No obstante, estas constantes resultan importantes por estar directamente relacionadas al grupo funcional o sitio

involucrado en la disociación protónica, permitiendo la interpretación de diversos parámetros en términos de la estructura molecular²⁷.

A partir de una revisión de los estudios realizados respecto a los equilibrios L-H⁺ para la 6-MP, es posible proponer un esquema de disociación protónica en H₂O (Esquema 2.1), considerando los equilibrios tautoméricos de las especies predominantes en cada estado de protonación²⁸.

c) Estudios sobre la formación de compuestos de coordinación metálica con la 6-mercaptapurina.

La coordinación de la 6-MP con metales (Figura 2.1) ha sido ampliamente estudiada¹³⁻¹⁷ y ha permitido establecer que en la formación de estos compuestos participa como sitio de coordinación el S en todos los casos, ya sea solo o junto con uno o dos de los nitrógenos que conforman el heterociclo, que en la mayoría de los casos es el N(7); no obstante, ha sido observado que este patrón de coordinación no cambia el carácter tiónico del S.

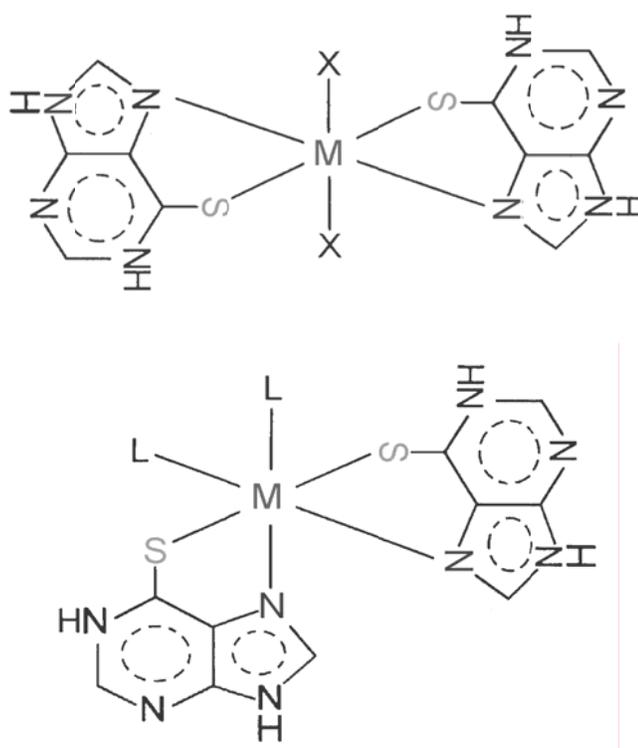


Figura 2.2. Algunas formas de coordinación de la 6-mercaptapurina.

En disolución acuosa, la 6-MP neutra presenta un equilibrio tautomérico donde la especie más estable es la tiona N(1,7)H, seguida del tautómero N(1,9)H. Sin embargo, los trabajos mencionados al respecto de la coordinación metálica con el heterociclo neutro,

indican sólo la presencia del tautómero N(1,9)H independientemente de que el heterociclo se coordine por S o por S y N(7).

En los estudios, resulta evidente que no existe un paralelismo entre la estabilidad termodinámica hacia el protón y la estabilidad termodinámica hacia un metal de transición, para un sitio de coordinación específico en el heterociclo.

Los diversos compuestos de coordinación que se han logrado sintetizar usando 6-MP, tienen entre sus propósitos disminuir la toxicidad del ligando libre, modificar los parámetros de liberación del fármaco e incluso su aprovechamiento fuera del campo farmacológico.

d) Estudios teóricos sobre la 6-mercaptopurina.

Los estudios teóricos²⁰⁻²² acerca de los equilibrios tautoméricos en fase gas permiten observar que los distintos modelos predicen diferentes tautómeros como los más estables; de hecho, tampoco hay una concordancia clara en los estudios realizados en disolución acuosa.

El orden de estabilidad energética para la 6-MP coincide mucho menos en diferentes estudios que el de las oxopurinas hipoxantina²⁹⁻³⁰ y alopurinol²⁶. De hecho, los sitios de coordinación con metales de transición también presentan grandes diferencias respecto a la hipoxantina, a pesar de sólo distinguirse en el oxígeno que esta última tiene como heteroátomo exocíclico, por medio del cual nunca forma compuestos de coordinación. Estas diferencias sin duda alguna son provocadas por la presencia del azufre: los orbitales y el arreglo electrónico de este átomo le confieren al heterociclo una dinámica distinta a la de las oxopurinas.

Las referencias citadas muestran que las poblaciones relativas de las especies predominantes son dependientes de las condiciones del estudio. Mientras que en estado sólido y gaseoso existe cierta concordancia, excepto por los resultados de P. Ü. Civcir, acerca de que el tautómero predominante es la tiona N(1,7)H, esta proporción parece cambiar en otras condiciones como la presencia de agua, DMSO y al formar compuestos de coordinación, favoreciendo claramente en los últimos dos casos a la tiona N(1,9)H.

Algunos de las investigaciones realizan los cálculos teóricos de la 6-MP con el objetivo de estudiar únicamente el comportamiento tautomérico sin analizar sus

propiedades estructurales y energéticas, mientras que otros grupos de trabajo si ahondan en estos tópicos, basan sus cálculos únicamente en las formas tautoméricas reportadas experimentalmente. Los modelos utilizados para estos trabajos han sido aventajados, sin dejar de ser una buena referencia al momento de comparar nuevos resultados.

Para poder aportar información valiosa a las investigaciones basadas en la 6-MP, se requieren datos concluyentes sobre las especies predominantes en los equilibrios tautoméricos, no sólo en estado neutro sino en todos los que la molécula pudiera mostrar. Así mismo, establecer las constantes de acidez involucradas en el proceso de desprotonación del heterociclo, constituye una forma de ampliar los conocimientos sobre esta especie. Una ventaja importante que presentan los estudios teóricos sobre los experimentales es que por medio de la química-cuántica se puede estudiar cualquier configuración del heterociclo a pesar de estar lejos de ser la geometría óptima en términos energéticos. Dado que para cualquier configuración molecular se puede obtener la energía correspondiente, los datos mecánico-cuánticos son una forma directa de establecer la relación entre la estructura molecular y la energía. De igual forma, las investigaciones realizadas en fase gas son de suma relevancia tanto en estudios basados en comprender y determinar la naturaleza de las moléculas aisladas, así como en estudios de interacción molecular de cualquier índole.

3. Metodología

La química computacional (QC) tiene como finalidad simular de manera numérica estructuras químicas y reacciones, basada total o parcialmente en las leyes fundamentales de la física (Foresman y Frisch, 1995).

No ha sido posible resolver analíticamente la ecuación de Schrödinger más que para sistemas isoelectrónicos al átomo de hidrógeno. La esperanza de hallar una solución exacta a esta ecuación para un sistema químico radica en el desarrollo de computadoras cuánticas.

Actualmente existen distintos modelos teóricos que permiten aproximarse al resultado que se obtendría al resolver la ecuación de Schrödinger para un sistema químico determinado, entendiéndose por sistema una molécula o un conjunto de ellas que pueden interactuar o no. Mientras que algunos de estos modelos utilizan en mayor o menor medida la función de onda Ψ y los conceptos fundamentales de la física para lograr su cometido, otros como la Mecánica Molecular o la Teoría de Funcionales de la Densidad (TFD) introducen otros conceptos y métodos para lograr estudiar sistemas químicos más complejos y usando menores recursos computacionales. Es un reto para la QC enfrentarse a estos sistemas químicos complejos ya que frecuentemente se encuentran en fase condensada y por lo general las moléculas se calculan aisladas, en fase vapor a 0 K.

La química teórica provee las herramientas para interpretar la realidad física del fenómeno de reactividad. Si se establece un conjunto de núcleos y el número de electrones de cada molécula, estas herramientas pueden ser usadas por la QC para calcular propiedades como:

- Los arreglos geométricos de los átomos que corresponden a moléculas estables y a estados de transición.
- Las energías relativas de varias moléculas.
- Sus propiedades: momento dipolar, polarizabilidad.
- Propiedades espectroscópicas, como corrimientos químicos y constantes de acoplamiento, frecuencias vibracionales, etc.
- Propiedades termoquímicas.
- La rapidez con la que un reactivo se transforma en producto (propiedades cinéticas).
- La dependencia de algunas propiedades como la estructura molecular con el tiempo.

Todas estas oportunidades hacen de la QC una importante herramienta, junto con la química experimental, para lograr entender el comportamiento químico de los átomos y moléculas.

Los modelos teóricos deben de generar resultados eficientemente y con precisión. En un principio deben de ser aplicables a cualquier molécula, aunque en la práctica la capacidad de cómputo no permita obtener un resultado.

Los modelos están compuestos por un procedimiento teórico, también llamado nivel de teoría, y por una base (o conjunto de base) que permite obtener una representación de los orbitales de un sistema químico.

3.1. Teoría de Funcionales de la Densidad.

El hamiltoniano es la suma de la energía cinética para los núcleos, la energía cinética para los electrones, el potencial debido a la atracción entre el núcleo y los electrones, el potencial debido a la repulsión entre los núcleos y el potencial debido a la repulsión entre los electrones. La aproximación de Born-Oppenheimer facilita la obtención de los parámetros nucleares, y también la parte electrónica del hamiltoniano se simplifica para el cálculo de la energía potencial entre cualquiera de los electrones y los núcleos, pues se utiliza un sistema con núcleos fijos. De esta forma, la energía potencial de los electrones sólo depende de sus coordenadas, lo que se conoce como el potencial externo.

Una vez conocido el potencial externo y el número de electrones n en el sistema se puede determinar la función de onda y la energía de la molécula al resolver la ecuación Schrödinger, para lo cual se usan modelos teóricos.

Hohenberg y Kohn demostraron (1964), que para moléculas con estados basales no degenerados, la energía del estado basal (E_0), la función de onda y las demás propiedades electrónicas (como el potencial externo) son determinadas únicamente por la densidad electrónica de ese estado $\rho_0(x,y,z)$, por lo que se puede decir que E_0 es funcional de la densidad electrónica $E_0=E_0[\rho_0]$. Por lo tanto es posible decir que la densidad electrónica contiene toda la información necesaria para describir al sistema.

En 1965, Kohn y Sham propusieron un método para aproximar el funcional $E[\rho]$, con la finalidad de determinar la energía E_0 a partir de la densidad ρ_0 , pues en el trabajo de Hohenberg y Kohn no se indicaba cómo hacerlo. Los funcionales con los que opera este método son desconocidos, por lo cual los resultados de éstos sólo pueden considerarse como aproximados a pesar de que los conceptos involucrados en principio generarían resultados exactos.

El trabajo de Kohn y Sham se basa en un sistema (S) en el que los electrones no interactúan y experimentan el mismo potencial externo, lo que permite establecer una función de onda del estado basal que se describe a través de un conjunto de orbitales llamados Kohn-Sham (KS). Aunque dichos orbitales carecen de un significado físico permiten que la densidad molecular exacta pueda ser calculada.

A pesar de tener la misma densidad electrónica, la molécula real y la del sistema S tienen una diferencia de energía cinética electrónica, $\Delta T[\rho]$, y una diferencia en la energía

potencial de repulsión electrostática entre los electrones, $\Delta V_{ee}[\rho]$. Aunque estos funcionales no se conocen, se introducen en uno nuevo llamado funcional de energía de intercambio y correlación $E_{XC}[\rho]$, que contempla la energía de correlación cinética, la energía de intercambio (que se origina del requerimiento de antisimetría) y la energía de correlación coulombica.

En este punto, la E_0 puede ser determinada a partir de los orbitales KS y el funcional E_{XC} . Este último sólo se ha logrado aproximar mediante varios métodos, tres de ellos son: la aproximación local de la densidad (las siglas en inglés son LDA), la aproximación local de la densidad de espín (LSDA) y la corrección por gradiente.

Puesto que la LDA y la LSDA se basan en el modelo del gas uniforme de electrones, ayudan a describir sistemas donde ρ varía lentamente con la posición. En la realidad, los sistemas químicos tienen una distribución de carga que varía rápidamente y de manera poco uniforme. Con el objetivo de mejorar estas dos aproximaciones, se ha incluido una función de la densidad de espín y sus gradientes, llamada aproximación de gradiente generalizado (GGA) y en el cual la E_{XC} se estudia por separado en las partes de intercambio y de correlación.

De los funcionales de intercambio corregidos, los más usados son el de Perdew y Wang de 1986 (PW86), el de Becke de 1988 (B88), y el de Perdew Wang de 1991 (PW91). Cada uno de estos funcionales tiene una matemática particular. Los funcionales de correlación más utilizados son los de Lee-Yang-Parr (LYP), Perdew de 1986 (P86), Perdew-Wang 1991 (PW91) y Becke (B96). El funcional BLYP surge de la combinación del funcional de intercambio Becke 1988 y el funcional de correlación de Lee-Yang-Parr.

En este trabajo, los cálculos se realizaron con el funcional híbrido B3LYP que se define como:

$$E_{XC}^{B3LYP} = (1 - a_0 - a_x)E_X^{LSDA} + a_0E_X^{HF} + a_xE_X^{B88} + (1 - a_c)E_C^{VWN} + a_cE_C^{LYP}$$

En esta ecuación, el subíndice X se refiere a los funcionales de intercambio y C a los de correlación. E_X^{HF} es la energía de intercambio de Hartree-Fock, a_0 , a_x y a_c son parámetros ajustados a datos experimentales y E_C^{VWN} es el funcional de correlación de Vosko, Wilk y Nusair. El funcional B3LYP, es un funcional híbrido por tener una expresión de Hartree-Fock, y no sólo funcionales que dependan de la densidad. El número 3 representa a los tres coeficientes que definen el tipo de combinación.

Un cálculo que utiliza la TFD arranca con una densidad que por lo regular se encuentra superponiendo las densidades calculadas de los átomos individuales en la geometría molecular. Por medio de esta ρ inicial se obtienen los orbitales KS, los cuales son usados para conseguir una densidad electrónica, y con ello se inicia el ciclo de nuevo. Las iteraciones terminan cuando no existe una diferencia en la densidad y en los orbitales KS para dos iteraciones sucesivas. Una vez que el cálculo converge, se puede calcular la energía, ya que se conoce ρ y el funcional aproximado E_{XC} .

Los orbitales híbridos de intercambio y correlación son ampliamente usados, ya que proporcionan buenos resultados no sólo para geometrías de equilibrio, sino también para frecuencias vibracionales, momentos dipolo eléctricos y energías de atomización.

El funcional B3LYP ha sido usado por el grupo de trabajo, con distintas bases atómicas, en la descripción de las propiedades de estructura electrónica y molecular de los heterociclos hipoxantina, alopurinol y 6.mercaptopurina. En este trabajo se utiliza el funcional B3LYP con la base 6-31++G** que contiene funciones difusas, que permiten una mejor descripción de los sistemas moleculares en estudio.

3.2. Base

Además de un modelo teórico, la química computacional necesita de un conjunto de funciones de base que le permitan obtener una representación de los orbitales de un sistema químico.

Para lograr obtener un resultado que se aproxime a la realidad física, es necesario utilizar un cierto número de funciones de base que no afecte la precisión deseada y no demande grandes recursos de cómputo.

Los orbitales propuestos por Slater (STO) y los de tipo gaussiano (GTO) propuestos por Boys, son los dos tipos de funciones de base más utilizadas³². En cálculos que emplean la función de onda se prefieren las funciones de Slater ya que describen mejor las propiedades de los orbitales; desafortunadamente su solución requiere mucho tiempo y recursos de cómputo. Las funciones gaussianas permiten un manejo más simple del problema y, usando funciones gaussianas contraídas, que son combinaciones lineales de funciones gaussianas preestablecidas (o primitivas), se pueden obtener mejores funciones de base.

El factor más importante que se debe considerar en la elección de un conjunto de base es el número de funciones y la precisión deseada. La base más pequeña disponible se denomina base mínima ya que sólo incorpora las funciones de base necesarias para contener todos los electrones de los átomos neutros. Las bases doble zeta (DZ en inglés o doble ζ) buscan mejorar a la base mínima, duplicando todas sus funciones. ζ es el exponente de las funciones de base tipo Slater.

En la actualidad, se utiliza una variante de estas bases, en donde sólo se duplica el número de orbitales tipo Slater de valencia, produciendo las bases de valencia dividida. En esta modalidad, se han creado bases triple ζ (TZ), cuádruple ζ (QZ) y quíntuple ζ (5Z).

Pople³² desarrolló funciones de base de valencia dividida que se describen de la manera **k-nlm**. El término **k** indica el número de funciones gaussianas primitivas usadas para representar a los orbitales internos, mientras que los números **nlm** indican el número de funciones en que se dividieron los orbitales de valencia como el número de funciones gaussianas primitivas empleadas para su representación. Por ejemplo, en la base 6-31G (Hehre, Ditchfield y Pople, 1972) los orbitales internos son el producto de la contracción de seis funciones y la región de valencia está dividida, y es producto de tres gaussianas por una parte y de una por la otra.

Existen también bases polarizadas, bases con funciones difusas y bases que incorporan potenciales efectivos.

Las bases con polarización permiten cambiar la forma de los orbitales, ya que en la descripción de éstos, usan un momento angular mayor al requerido para la descripción del estado basal de cada átomo. Estas funciones se pueden agregar a bases doble ζ , triple ζ , etc., incluso de forma selectiva a los átomos pesados y no a los hidrógenos, dado que las funciones de polarización de estos últimos, en algunos casos, sólo tienen un papel secundario. El error de esta simplificación es cancelado al obtener diferencias de energía, por lo cual resulta un buen método para ahorrar recursos de cómputo.

El uso de bases difusas permite a los orbitales ocupar un mayor espacio. Al describir mejor la parte final de la función de onda también describen mejor a los electrones de zonas lejanas al núcleo, razón por la cual reciben el nombre de difusas. Sirven para representar la densidad electrónica en aniones, moléculas con pares de electrones no compartidos, estados excitados, sistemas con potenciales de ionización bajos, etc.

La base 6-31++G(d,p) incorpora una base doble ζ de valencia dividida con una función de polarización d y funciones difusas sp en los átomos de la primera fila (el primer +), así como una función de polarización p y funciones difusas en los hidrógenos (segundo +). En el caso de la base 6-31++G** los asteriscos indican que se usaron funciones de polarización en los átomos de la primera fila pero no en los átomos de hidrógeno.

3.3. Condiciones del cálculo.

Se estudiaron todos los posibles tautómeros e isómeros para los 6 diferentes estados de protonación que puede presentar la 6-MP (Figura 3.1). A continuación se indica cada uno de ellos:

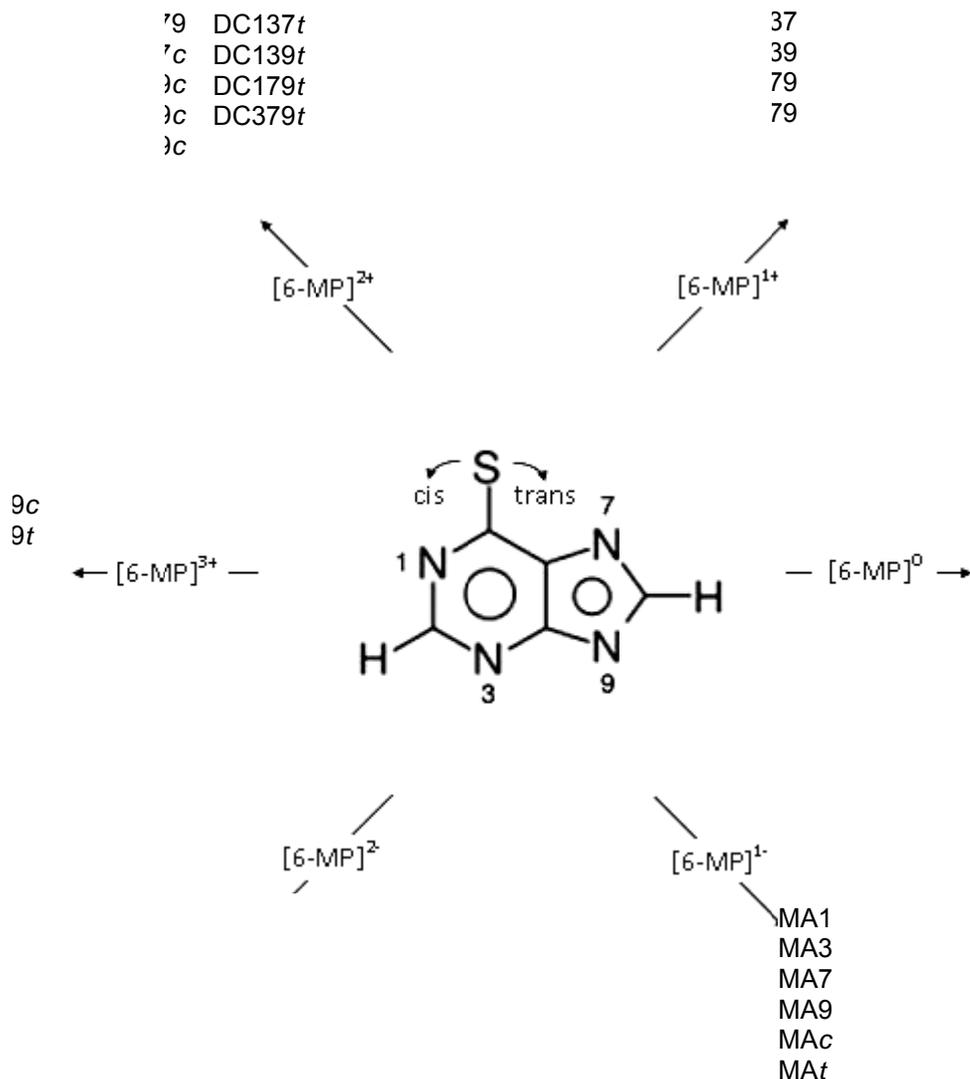


Figura 3.1. Tautómeros posibles para los seis estados de protonación de la 6-mercaptopurina (6-MP). En el caso de los tautómeros tipo tiol, el azufre está unido mediante un enlace sencillo al carbono y a un hidrógeno, que puede estar orientado de forma *cis* o *trans*, según se señala en el esquema. El enlace a hidrógeno y su orientación, se especifica por una *c* o *t* al final de la notación usada para cada tautómero. Los tautómeros tipo tiona carecen de esta especificación por presentar solamente un doble enlace al carbono 6 del heterociclo.

TC, tricatió; DC, dicatió; MC, monocatió; N, neutro; MA, monoanión; DA, dianión (tiona con todos los N desprotonados); los números indican los sitios protonados.

Las propiedades energéticas y los parámetros estructurales se obtuvieron a partir implementar aproximaciones de la TFD, herramienta incluida en el software Gaussian 98³⁵.

Tanto la energía como la geometría se optimizaron utilizando el funcional híbrido B3LYP. La base implementada en la determinación de la energía y la geometría fue la 6-31++G**.

Usando el programa Spartan³⁶ y a partir los parámetros estructurales reportados para el tautómero N(1,7)H de la 6-MP neutra en fase sólida³⁷, se modificó la estructura (únicamente añadiendo, quitando o cambiando de posición átomos de hidrógeno) para obtener cada uno de los isómeros antes mencionados. En los tioles, el hidrógeno se colocó en forma *cis* o *trans* respecto al N1.

Los valores de energía molecular total (E) fueron corregidos con la energía de punto cero y, por otro lado, se verificó que las geometrías calculadas correspondieran a puntos estacionarios revisando que las frecuencias de vibración no presentaran valores imaginarios.

Se determinó la energía libre de Gibbs (G) a 298.15 K, bajo la aproximación de gas ideal/rotor rígido/oscilador armónico, para todos los tautómeros e isómeros, y se calculó el ΔG de la especie más estable a las menos estables, entre las moléculas pertenecientes al mismo estado de protonación. Los tautómeros con ΔG cercanos a 5 Kcal/mol fueron considerados como especies predominantes en dicho estado, y con esta información se calcularon las constantes de equilibrio tautomérico (K_{eq}) y posteriormente las poblaciones relativas (expresadas en fracción molar) de dichas especies.

Tomando en cuenta únicamente a los tautómeros predominantes, se construyó un esquema de desprotonación (de 3+ a 2-) que permitiera observar la relación entre las especies involucradas en cada estado, y calcular el ΔG^\ominus de desprotonación correspondiente a partir de la energía libre de Gibbs de cada tautómero y de $H^+_{(g)}$ (0.5924 kcal/mol). Consecuentemente, para cada proceso de disociación protónica, se determinó la constante de acidez microscópica (tautomérica) y macroscópica (global), así como los respectivos pK_a .

Así mismo, se recopilaron los valores de diversos parámetros estructurales, que para este trabajo sólo sirven como apoyo para analizar otros resultados, pero que de igual manera pueden resultar útiles en estudios posteriores. Dichos parámetros son presentados en el apéndice 6.3.

Todos los cálculos se llevaron a cabo en una computadora de escritorio bajo un sistema operativo Linux, ubicada en el cubiculario 106 (área de fisicoquímica teórica) que forma parte del Departamento de Fisicoquímica de la Facultad de Química de la UNAM.

4. Resultados y análisis.

4.1. Estabilidad energética y termodinámica, y poblaciones tautoméricas de la 6-mercaptapurina en fase gas.

Los tautómeros seleccionados como más estables energética y termodinámica para cada estado de protonación de la 6-mercaptapurina en fase gas, son presentados en la tabla 4.1, junto con los valores del vector momento dipolo eléctrico, constante tautomérica y población tautomérica.

Tabla 4.1. Valores teóricos de diversas propiedades fisicoquímicas de los tautómeros seleccionados en cada estado de protonación de la 6-mercaptapurina (condiciones de gas ideal, a 298.15 K).

Nivel de protonación	Tautómero	ΔE (kcal/mol)	ΔG^{\ominus} (kcal/mol)	μ (D)	K_t	X_i
[6-MP³⁺]	TC1379 _c	0.0000	0.0000	4.51	1	0.9597
	TC1379 _t	+1.9218	+1.8781	4.71	4.199x10 ⁻²	0.0403
[6-MP²⁺]	DC179 _c	0.0000	0.0000	1.77	1	0.9217
	DC179 _t	+1.7095	+1.5562	3.88	0.0723	0.0666
	DC1379	+2.5465	+2.6399	8.46	0.0116	0.0107
	DC379 _c	+4.0249	+4.0650	7.40	0.0010	9.65x10 ⁻⁴
[6-MP¹⁺]	MC179	0.0000	0.0000	6.03	1	0.8750
	MC19 _t	+1.3769	+1.2864	1.93	0.1140	0.0998
	MC37 _c	+2.3166	+2.1480	0.91	0.0266	0.0233
	MC137	+3.8612	+3.8096	4.68	1.61x10 ⁻³	1.41x10 ⁻³
	MC19 _c	+4.6387	+4.4396	3.47	5.56x10 ⁻⁴	4.87x10 ⁻⁴
	MC37 _t	+5.3863	+5.1437	2.46	1.70x10 ⁻⁴	1.48x10 ⁻⁴
[6-MP⁰]	N17	0.0000	0.0000	0.42	1	0.9882
	N19	+3.0177	+2.9989	6.18	6.33x10 ⁻³	0.0063
	N9 _t	+3.4119	+3.3057	4.55	3.77x10 ⁻³	0.0037
	N9 _c	+3.8765	+3.7425	3.16	1.80x10 ⁻³	0.0018
[6-MP¹]	MA7	0.0000	0.0000	2.18	1	0.7270
	MA1	+0.5829	+0.5899	4.86	3.69x10 ⁻¹	0.2686
	MA _t	+3.1493	+3.0641	2.91	5.67x10 ⁻³	4.12x10 ⁻³
	MA _c	+4.7573	+4.5921	3.78	4.30x10 ⁻³	3.13x10 ⁻³
[6-MP²]	DA	-507584.5655	-507604.6914	3.55	1	1.0000

D, Debye; K_t , constante de equilibrio tautomérico (298.15 K), determinada respecto al tautómero más estable en cada estado de protonación; x_i , fracción molar. Los valores de energía molecular total (E) contemplan la corrección de punto cero.

Todos aquellos isómeros con disociaciones protónicas alternativas no fueron considerados en este estudio por considerarse poco estables energéticamente.

Ninguna de las estructuras tautoméricas presenta un valor imaginario de la frecuencia de vibración, por lo tanto no describen estados de transición, sino estacionarios.

La [6-MP]³⁺ tiene dos posibles tautómeros, ambos tioles, de los cuales el más estable es el que presenta la configuración *cis* (TC1379*c*), mientras que el tautómero *trans* tiene una presencia muy escasa. Como en casi todos los demás estados de protonación, el heterociclo con el menor valor de μ es el que predomina; en este caso los dos valores son muy parecidos, lo que podría indicar que en medios con una constante dieléctrica elevada (p. ej. solución acuosa), el TC1379*t* llegaría a ser más abundante, que en fase gas. En todos los niveles de protonación se seleccionaron como predominantes a aquellos tautómeros con valores de ΔG^\ominus cercanos a 5 Kcal/mol; por lo tanto se considera que la población tautomérica en este estado, no está constituida sólo por uno, sino por ambos tricationes, o en otras palabras, que bajo este esquema de protonación ambos son estables termodinámicamente, con diferente población.

En el caso del hipoxantina tricatiónica, estudiada bajo las mismas condiciones y con el mismo nivel de teoría³⁸, se observó que el orden de estabilidad es muy similar al de los tautómeros TC1379*c* y TC1379*t*, para los análogos enólicos de dichas especies.

Para la [6-MP]²⁺ se considera que sólo 4 de los 9 posibles heterociclos contribuyen a la población tautomérica. Aunque uno le sigue al otro, el tautómero DC179*c* tiene una presencia mucho más significativa que el tautómero *trans*, al igual que en el caso de los tricationes. En este estado de protonación, el único tautómero tipo tiona posible es el DC1379, que a pesar de tener una escasa presencia resulta ser ésta más importante que la de muchos otros tautómeros tioles descartados. Al comparar estos resultados con los de la hipoxantina dicatiónica en fase gas³⁸, se observa que el tautómero más estable es el que conserva el mismo patrón de protonación, que en este caso es un enol (179*c*), seguido los tautómeros 379*c* y 1379 (una cetona).

Los valores de μ para los tautómeros dicatiónicos de la 6-MP, muestran una clara tendencia a incrementarse conforme la estabilidad energética y termodinámica de los heterociclos disminuye. Estos resultados podrían compararse en estudios posteriores acerca del fenómeno de tautomerismo en disolución, ya que como se mencionó anteriormente, en un medio con una alta constante dieléctrica se favorece la presencia de especies con valores

de μ elevados; por lo que se esperaría, que los heterociclos con mayor μ predominen en la población, en un medio de constante dieléctrica alta. También es posible observar que la μ difiere aproximadamente 2 D el isómero DC179c al DC179t, mientras que el DC379c tiene un μ más cercano al de la tiona DC1379 que a los otros dos tioles.

En el caso de la [6-MP]¹⁺, se encuentran seis tautómeros predominantes. En este estado de protonación, la tiona MC179 tiene una presencia dominante sobre las otras estructuras, similar a lo que ocurre en estado sólido¹⁸. Al igual que en el caso de los tricaciones y dicaciones, un tiol con configuración *trans* (MC19t) es la segunda especie que predomina en la población, a pesar de su limitada presencia. La hipoxantina monocatiónica, bajo las mismas condiciones que la [6-MP]¹⁺, se presenta también en mayor proporción como el tautómero cetónico 179; le siguen en orden de estabilidad el enol *cis* 37 y la tiona 137, que conforman a las únicas especies consideradas para este estado de protonación¹⁸.

Los valores de μ para los monocaciones, no muestran una tendencia clara. De hecho, el tautómero monocatiónico más estable, MC179, presenta una μ mayor a las demás especies consideradas como estables, contrario a lo que ocurre para los tautómeros con la mayor fracción molar en los demás estados de protonación. Esta última situación también se ha reportado para los tautómeros energéticamente más estables de la hipoxantina y el alopurinol, ambos en estado neutro, y se ha observado que al aumentar la constante dieléctrica del medio estas especies continúan siendo las más favorecidas^{31,39}.

La población de la [6-MP]⁰ bajo las condiciones de estudio, está conformada primordialmente por cuatro de los catorce posibles tautómeros para este estado. A pesar que las tionas son termodinámicamente más estables que los tautómeros tiólicos, sigue existiendo, al igual que en los estados de protonación antes mencionados, una gran diferencia en la proporción de la población que ocupa el tautómero más estable respecto a las demás especies. Al igual que lo reportado por otros grupos de trabajo^{21,20}, el tautómero predominante en fase gas, es la tiona N17; sin embargo, el orden de estabilidad energética difiere para el tautómero N19 (cuando se usan métodos *ab initio*²⁰), ya que bajo las condiciones del presente trabajo (y otro anteriormente reportado por este mismo grupo²²) resulta ser el segundo más estable y no el cuarto. Lo mencionado anteriormente se puede observar en la tabla 4.2. Mientras que el uso del mismo esquema mecánico-cuántico (TFD) arroja resultados similares en cuanto al orden de estabilidad energética a pesar de utilizar diferentes conjuntos de base, el uso de métodos *ab initio* (HF y MP4(SDQ)) provee un orden

de estabilidad diferente, de acuerdo con lo informado por L. Lapinski y colaboradores²⁰. Por otro lado, es posible notar también, que los valores de μ son sensibles tanto al nivel de teoría empleado para realizar el cálculo, como al conjunto de base. No obstante, el orden es el mismo en los cuatro esquemas de trabajo.

Tabla 4.2. Estabilidad energética relativa y momentos dipolares calculados por dos grupos de trabajo, a partir de cuatro esquemas distintos, para los cuatro tautómeros más estables de la 6-mercaptapurina neutra.

Tautómero	TFD ^a		TFD ^b		TFD ^c		<i>Ab initio</i> ^d	
	ΔE (kcal/mol)	μ (D)	ΔE (kcal/mol)	μ (D)	ΔE (kcal/mol)	μ (D)	ΔE (kcal/mol)	μ (D)
N17	0.00	0.42	0.00	0.77	0.00	0.24	0.00	0.52
N19	+3.02	6.18	+3.06	5.90	+3.03	6.25	+2.37	6.01
N9t	+3.41	4.55	+4.07	4.48	+4.07	4.56	+1.29	4.65
N9c	+3.88	3.16	+4.51	3.03	+4.50	3.18	+1.65	3.31

- Valores de este trabajo. B3LYP/6-31++G(d,p)
- Valores de ref. 32 (mismo grupo de trabajo que a). B3LYP/6-31G**
- Valores de ref. 30. B3LYP/6-31G(d,p)
- Valores de ref. 30. HF/6-31G(d,p)

Los resultados del orden de estabilidad energética de los tautómeros de la [6-MP]⁰ es el mismo que para la hipoxantina³⁸. El predominio de la forma ceto 17 sobre la 19, para la hipoxantina neutra, ya había sido reportada anteriormente mediante otro método³⁹⁻⁴⁰.

El tautómero N17, que es el más estable de los heterociclos neutros, tiene un μ muy pequeño; de hecho, es el menor valor para todos los tautómeros, en todos los estados de protonación. Dicho valor concuerda con el hecho de que en medio acuoso (cuya constante dieléctrica es 80.1 a 20°C) no predomine la especie N17 sino la N19, cuya μ es más alta, de acuerdo con D. Lichtenberg y colaboradores²⁶. En solución de DMSO, donde la constante dieléctrica es de 46.8 a 20°C, M-Th. Chenon y colaboradores²³ informan que el tautómero más abundante es el N17.

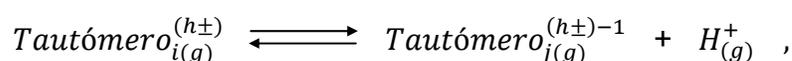
Continuando con el análisis de las especies más importantes en cada estado de protonación de la 6-MP, corresponde ahora el turno de la [6-MP]¹⁻. De los seis posibles monoaniones que se pueden proponer para la 6-MP, solamente dos de ellos son asumidos, bajo estas condiciones de trabajo, como parte importante de la población. En este caso, son las tiones MA7 y MA1 quienes conforman la gran parte de la población, y no sólo una especie como ocurre en los demás estados de protonación. Las condiciones del estudio

vuelven a ser, como en el caso del estado neutro, más favorables para los tautómeros tiónas que para los tioles, contrario a lo que sucede con los tautómeros de los estados tri y dicatiónico; no obstante resulta mucho más estable la protonación en el grupo mercapto que en los nitrógenos 3 y 9 del heterociclo. Al realizar nuevamente una comparación con el caso de la hipoxantina en estado monoaniónico, se observa que el tautómero preponderante en la población es el análogo a MA1 seguido por una el tautómero enólico análogo a MA_t, del tautómero cetónico análogo a MA7 y el análogo a MAc, aunque estos tres últimos con una presencia mucho más escasa. Los valores de μ para los tautómeros monoaniónicos de la 6-MP, no pasan de los 5D y no varían en más de 3 unidades; al igual que en el caso de los tautómeros neutros (pero de manera menos marcada), la especie más estable es la que presenta una μ menor, pero la especie que le sigue tiene el mayor valor de este parámetro en el grupo que conforma dicho nivel de protonación.

Por último, para la [6-MP]²⁻ existe sólo un posible tautómero (DA), una estructura tiónica donde todos los nitrógenos del heterociclo están desprotonados.

4.2. Valores teóricos de ΔG^\ominus y pK_a de las disociaciones protónicas tautoméricas para la 6-mercaptapurina en fase gas.

Como ya se ha mencionado, en este trabajo se contemplan cinco niveles de protonación de la 6-MP, que van del tricatiónico (3+) al dianiónico (2-). Esta sección corresponde al estudio de los equilibrios de disociación protónica entre los tautómeros termodinámicamente más estables de cada estado de protonación de la 6-MP en fase gas (298.15 K), dichos tautómeros ya han sido especificados en la sección anterior. Para cada uno de los equilibrios, establecidos de la siguiente manera:



se calculó el ΔG^\ominus teórico a partir de los valores respectivos de G^\ominus tanto de los tautómeros i y j , como el de $H^+_{(g)}$ (-6.28 kcal/mol).

A partir del valor de ΔG^\ominus es posible calcular el pK_a teórico, mediante la siguiente ecuación:

$$pK_a = -\log_{10} K_a = \frac{\Delta G^\ominus}{2.30RT} ,$$

donde K_a es la constante de equilibrio.

El establecimiento de todos los posibles equilibrios entre tautómeros de diferente grado de protonación, permite también señalar los sitios de disociación protónica. Estos sitios se indican en la tabla 4.3, junto con los valores teóricos de ΔG^\ominus y pK_a . Adicionalmente, en el apéndice 6.1 se presentan esquemas que ilustran con mayor detalle estos procesos y muestran las poblaciones relativas de los tautómeros implicados.

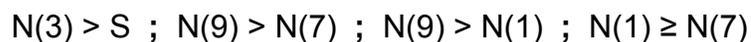
En la tabla 4.3, se puede apreciar que los valores de pK_a para los equilibrios implicados en cada paso de disociación protónica, son bastante similares entre sí (en ningún caso hay una diferencia mayor a 6 unidades). Estos valores al parecer, siguen una progresión aritmética con una diferencia de alrededor de 75 unidades (p. ej. 8, 83, 158, ...) entre cada paso de disociación. Al comparar estos resultados con los del trabajo antes mencionado para la hipoxantina³⁸, se aprecian diferencias en la afinidad protónica de los tautómeros análogos, independientemente del nivel de protonación.

Tabla 4.3. Valores teóricos de ΔG^\ominus y pK_a para los diversos pasos de disociación protónica de la 6-mercaptapurina, que se pueden llevar a cabo entre los tautómeros preponderantes en fase gas a 298.15 K.

Nivel de protonación	Tautómeros involucrados en la disociación protónica		Sitio de disociación protónica	ΔG^\ominus (kcal/mol)	pK_a tautomérico
	Tautómero inicial	Tautómero resultante			
[6-MP]³⁺	TC1379c*	DC179c*	N(3)	+8.41	+6.17
		DC1379	S-c	+11.05	+8.11
		DC379c	N(1)	+12.47	+9.15
	TC1379t	DC179t	N(3)	+8.08	+5.93
		DC1379	S-t	+9.17	+6.73
[6-MP]²⁺	DC179c*	MC179*	S-c	+111.47	+81.81
		MC19c	N(7)	+115.91	+85.07
	DC179t	MC179*	S-t	+109.91	+80.67
		MC19t	N(7)	+111.20	+81.61
	DC1379	MC179*	N(3)	+108.83	+79.87
MC137		N(9)	+112.64	+82.67	
DC379c	MC37c	N(9)	+109.55	+80.40	
[6-MP]¹⁺	MC179*	N17*	N(9)	+212.13	+155.68
		N19	N(7)	+215.13	+157.88
	MC19t	N19	S-t	+213.84	+156.94
		N9t	N(1)	+214.15	+157.17
	MC137	N17*	N(3)	+208.32	+152.89
		N19	S-c	+210.69	+154.63
MC19c	N9c	N(1)	+211.43	+155.17	
[6-MP]⁰	N17*	MA7*	N(1)	+321.50	+235.95
		MA1	N(7)	+322.09	+236.38
	N19	MA1	N(9)	+319.09	+234.18
		Mat	N(9)	+321.26	+235.77
	N9c	MAc	N(9)	322.35	+236.57
[6-MP]¹⁻	MA7*	DA	N(7)	+413.71	+303.62
	MA1	DA	N(1)	+413.13	+303.19
	Mat	DA	S-t	+410.64	+301.37
	MAc	DA	S-c	+409.11	+300.25

*Especies más estables en su respectivo nivel de protonación.

Al tratar de establecer un orden de acidez comparativo para el sitio donador del protón en la 6-MP, se han tomado en cuenta los valores pK_a para todos los tautómeros involucrados en cada uno de los equilibrios estudiados. La acidez parcial relativa detectada, es la siguiente:



Por otro lado, al considerar únicamente los procesos de disociación protónica en los que participa como tautómero inicial aquel más estable (predominante) en determinado estado, se logra obtener una secuencia general de acidez descendente para los sitios del heterociclo; de tal forma que:



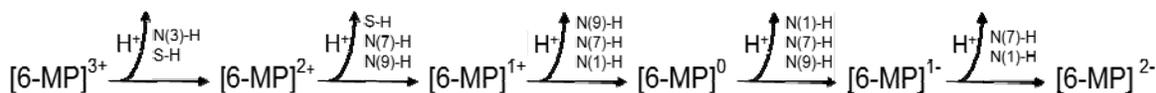
A este respecto, cabe señalar que la secuencia descendente teórica de basicidad para los sitios endocíclicos y exocíclico de la hipoxantina³⁸, es el siguiente:



Al comparar las secuencias anteriores para ambos heterociclos, es posible detectar varias diferencias. A un alto grado de acidez, el sitio más favorecido para donar el H^+ en la hipoxantina, es el O exocíclico, y no el N(3) como en el caso de la 6-MP, donde el S exocíclico ocupa el segundo lugar como sitio más ácido. Mientras en la hipoxantina los N del anillo imidazólico muestran afinidades similares por el H^+ , en la 6-MP el N(9) presenta un carácter más ácido a comparación del N(7). Consecuentemente, el orden de acidez del N(1) difiere para ambos heterociclos, resultando el menos ácido en el caso de la 6-MP. Por lo tanto, estos resultados indican que tanto la afinidad por el H^+ , como el orden de acidez de los sitios endocíclicos y exocíclicos es diferente para ambos análogos estructurales.

Adicionalmente a lo señalado en la tabla 4.3, se ha analizado más detalladamente a los sitios principalmente involucrados en cada proceso de disociación protónica, considerando a los tautómeros respectivamente más estables ($1.000 \geq x_i \geq 0.001$) de cada estado (3+ a 2-).

El resultado obtenido se muestra en el esquema 4.1:



Esquema 4.1. Principales sitios de disociación protónica de la 6-MP bajo condiciones de gas ideal y 298.15 K, considerando a los tautómeros más estables ($1.000 \geq x_i \geq 0.001$). Los sitios aparecen en orden descendente de contribución.

En este esquema y para cada paso de disociación, los sitios han sido presentados de mayor a menor grado de contribución. Este orden es observado también en los valores de pK_a global (macroscópico) en fase gas, mencionados en la sección 4.3 (tabla 4.4). A partir de este esquema y demás resultados ya mencionados, pueden enumerarse ciertas observaciones que ayuden a entender el por qué se observan determinadas especies y la razón de su proporción en la población tautomérica, después de un proceso de disociación protónica.

1. Dado que en los primeros dos pasos se lleva a cabo la disociación del H^+ unido al S, es posible observar tautómeros tipo tiona desde el estado dicatiónico. De hecho, es el segundo paso ($2+ \rightarrow 1+$), donde la disociación del grupo tiol es la más significativa, el que genera a la tiona MC179 que (en las condiciones de trabajo) es más estable que el tiol MC19c, a pesar de que ambos provienen principalmente del DC179c. Como consecuencia, es una especie tiónica la que tiene una proporción mucho mayor en la población.
2. La disociación protónica en el sitio N(3) tan significativa en el primer paso genera dos tioles, DC179c y DC179t, que son los tautómeros de los que proceden todas las especies tiónicas en los siguientes estados de protonación, hasta el monoaniónico. Si la disociación del grupo N(3)-H no ocurriera desde el primer paso, la capacidad con la que otros sitios como N(7) o N(9) pudiesen ceder su H^+ , sólo contribuiría a la generación de tautómeros tiónicos.
3. A partir del tercer paso, son los grupos N(9)-H, N(1)-H y N(7)-H los que, primordialmente, generan a partir de su disociación a las especies de los estados de protonación consecutivos. De hecho, en el cuarto paso ($0 \rightarrow 1-$) ningún grupo tiona se disocia; motivo por el cual prevalecen los tioles en el estado monoaniónico donde a pesar de ser mucho menos estables que las especies tiónicas, tienen una

energía relativa más baja que los tautómeros DA9 y DA3, que no fueron considerados como parte importante de la población tautomérica en dicho estado de protonación.

4. A pesar de estar contempladas en las especies más estables del estado monoaniónico (Tabla 4.1), los tautómeros MC37*c* y MC37*t* no guardan relación con tautómeros del estado neutro, que les permitan dar paso mediante la disociación de cualquiera de sus sitios protonados a una especie considerada estable del estado subsecuente (Apéndice 6.1, esquema 6.1.2). En el caso del MC37*t*, ni siquiera es posible explicar su presencia a partir de un tautómero considerado como predominante en el estado dicatiónico.

4.3. Valores teóricos de pK_a macroscópico para las disociaciones protónicas de la 6-mercaptapurina en fase gas.

En esta sección se analizarán los equilibrios de acidez macroscópicos o globales, a partir de los resultados obtenidos para las constantes de acidez tautoméricas, también llamadas microscópicas. Estas últimas, a pesar de ser muy valiosas al momento de establecer los órdenes de acidez de los sitios de disociación protónica, como se mostró en la sección anterior, sólo permiten el análisis de los equilibrios entre dos especies, la protonada y la desprotonada. Sin embargo, dicho equilibrio se puede llevar a cabo simultáneamente con otro tautómero, tanto para la especie protonada como para el desprotonada (Figura 4.2). Debido a esto, el sólo contar con las constantes microscópicas no resulta tan valioso puesto que en una molécula como la 6-MP los equilibrios tautoméricos pueden generar varias opciones para llevar a cabo un equilibrio ácido-base. Por ello es importante establecer las constantes de acidez macroscópicas, pues contemplan los posibles equilibrios de acidez tautomericos implícitos en un proceso de disociación protónica.

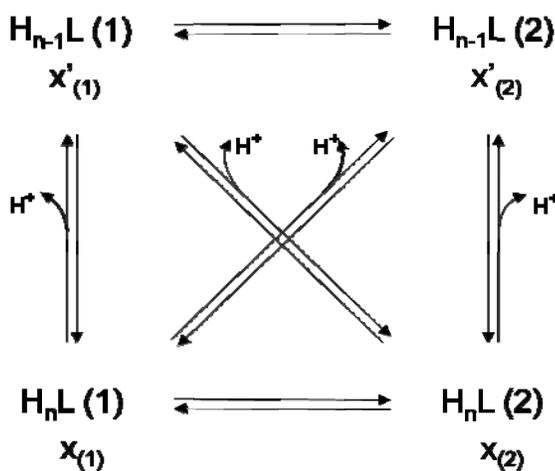


Figura 4.1. Relación entre cuatro especies que presentan equilibrios tautoméricos (entre tautómeros con el mismo grado de protonación) y equilibrios de disociación protónica tautomericos.

En la figura 4.1 se muestran dos posibles tautómeros para dos estados de protonación, los tautómeros $H_nL(i)$, con sus respectivas fracciones molares, $x_{(i)}$; y los correspondientes tautómeros desprotonados, $H_{n-1}L(j)$, también con sus respectivos valores de $x_{(j)}$.

Para dicho esquema, la constante de equilibrio correspondiente a una disociación protónica específica (en función de las actividades $a_i = \alpha_i [i]$), es:

$$K_a^{ij} = \frac{\alpha_{H^+} \alpha_{H_{n-1}L(j)}}{\alpha_{H_nL(i)}} \quad \dots (a)$$

En el estado ideal las $\alpha_i = 1.0$, por lo tanto:

$$K_a^{ij} = \frac{[H^+] [H_{n-1}L(j)]}{[H_nL(i)]} \quad \dots (b)$$

En la expresión anterior, K_a^{ij} corresponde al equilibrio que involucra al tautómero i -ésimo como la especie inicial (protonada) y al tautómero j -ésimo como la especie resultante (desprotonada).

Considerando la inclusión de las expresiones $x_j = \frac{[H_{n-1}L(j)]}{[H_{n-1}L(T)]}$ y $x_i = \frac{[H_nL(i)]}{[H_nL(T)]}$, donde el subíndice T indica al total de los tautómeros, en la ecuación (b), se obtiene:

$$K_a^{ij} = \frac{[H^+] x_j [H_{n-1}L(T)]}{x_i [H_nL(T)]} \quad \dots (c)$$

y, por lo tanto la ecuación anterior se puede expresar de la siguiente manera:

$$K_a^{ij} = K_a \frac{x_j}{x_i} \quad \dots (d)$$

en donde, K_a es la constante de equilibrio global (macroscópica).

Reordenando la ecuación (d) e incluyendo en ésta varios procesos de disociación protónica, resulta:

$$K_a = K_a^{11} \left(\frac{x_1}{x'_{11}} \right) = K_a^{12} \left(\frac{x_1}{x'_{12}} \right) = K_a^{13} \left(\frac{x_1}{x'_{13}} \right) = , \quad \dots (e)$$

o también:

$$K_a = K_a^{21} \left(\frac{x_2}{x'_{21}} \right) = K_a^{22} \left(\frac{x_2}{x'_{22}} \right) = K_a^{23} \left(\frac{x_2}{x'_{23}} \right) = , \quad \dots (f)$$

por lo tanto:

$$K_a = K_a^{ij} \left(\frac{x_i}{x'_{j1}} \right) \quad \dots (g)$$

$$-\log K_a = -\log \left\{ K_a^{ij} \left(\frac{x_i}{x'_{j1}} \right) \right\} \quad \dots (h)$$

$$pK_a = pK_a^{ij} - \log x_i + \log x_j \quad \dots (i)$$

Esta última ecuación es muy importante, porque permite obtener el valor de pK_a asociado a un paso de disociación particular, considerando a todos los tautómeros involucrados en él. Por medio de esta ecuación se determinaron los valores de pK_a global (macroscópico) para varias rutas microscópicas (tautoméricas) de disociación protónica que se muestran en la Tabla 4.4 y también se pueden apreciar en el apéndice 6.1. Para cada equilibrio global existe una concordancia entre los valores de pK_a , que en todos los casos varía a partir de la tercera o cuarta cifra decimal.

Tabla 4.4. Valores teóricos de pK_a global (macroscópico) para los diversos pasos de disociación protónica tautomérica de la 6-mercaptipurina en fase gas a 298.15 K.

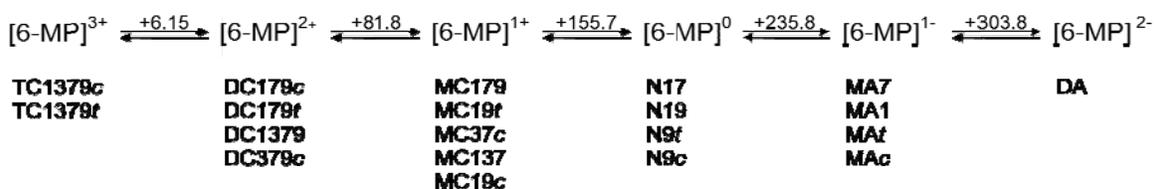
Nivel de protonación	Tautómeros involucrados en la disociación protónica		pK_a global
	Tautómero inicial	Tautómero resultante	
[6-MP] ³⁺	TC1379c	DC179c	+6.1513
		DC1379	+6.1535
		DC379c	+6.1546
	TC1379t	DC179t	+6.1510
		DC1379	+6.1519
[6-MP] ²⁺	DC179c	MC179	+81.7850
		MC19c	+81.7886
	DC179t	MC179	+81.7837
		MC19t	+81.7847
	DC1379	MC179	+81.7828
MC137		+81.7859	
DC379c	MC37c	+81.7834	
[6-MP] ¹⁺	MC179	N17	+155.7363
		N19	+155.7388
	MC19t	N19	+155.7377
		N9t	+155.7380
	MC137	N17	+155.7332
MC19c	N19	+155.7351	
N9c	N9c	+155.7357	
[6-MP] ⁰	N17	MA7	+235.8158
		MA1	+235.8163
	N19	MA1	+235.8138
	N9t	Mat	+235.8156
	N9c	MAc	+235.8165
[6-MP] ¹⁻	MA7	DA	+303.7596
	MA1	DA	+303.7591
	Mat	DA	+303.7571
	MAc	DA	+303.7558

A grandes rasgos, se considera que el valor de pK_a global (macroscópico) es el mismo para todos los equilibrios de acidez tautomericos o microscópicos que ocurren en un paso específico de disociación protónica. Estos valores se muestran la tabla 4.5.

Tabla 4.5. Valores teóricos de pK_a global (macroscópico) para los diversos pasos de disociación protónica de la 6-mercaptapurina en fase gas a 298.15 K.

Paso global de disociación protónica del heterociclo	pK_a teórico global
a) $[6-MP]^{3+} \rightarrow [6-MP]^{2+}$	$pK_a(1) = +6.15$
b) $[6-MP]^{2+} \rightarrow [6-MP]^{1+}$	$pK_a(2) = +81.8$
c) $[6-MP]^{1+} \rightarrow [6-MP]^0$	$pK_a(3) = +155.7$
d) $[6-MP]^0 \rightarrow [6-MP]^{1-}$	$pK_a(4) = +235.8$
e) $[6-MP]^{1-} \rightarrow [6-MP]^{2-}$	$pK_a(5) = +303.8$

De esta forma, se puede establecer el siguiente esquema teórico del equilibrio de disociación protónica de la 6-MP en fase gas (298.15 K), en el cuál se señala a los tautómeros principalmente involucrados (Esquema 4.2).



Esquema 4.2. Valores de pK_a global (macroscópico) y especies principalmente implicadas en el equilibrio de disociación protónica de la 6-MP en condiciones de gas ideal.

Se han considerado los valores teóricos globales de pK_a para la 6-MP y la hipoxantina en fase gas con el objetivo de compararlos. Para el heterociclo hipoxantina, los valores desde el estado 3+ al 2-, son los siguientes:

Paso de disociación	3+ \rightarrow 2+	2+ \rightarrow 1+	1+ \rightarrow 0	0 \rightarrow 1-	1- \rightarrow 2-
pK_a global	+0.85	+77.7	+156.4	+239.2	310.4

Al observar ambas secuencias se puede apreciar que para los estados tricatiónico y dicatiónico, la hipoxantina muestra un comportamiento ácido más fuerte (menor valor de pK_a). Por el contrario, en los pasos siguientes de disociación protónica, la 6-MP muestra un carácter ácido levemente mayor que el de su análogo estructural.

Como complemento, se muestran en la Tabla 4.6, los valores teóricos de ΔG^\ominus asociadas con los pasos de disociación protónica macroscópica de la 6-MP en fase gas. Estos valores fueron obtenidos directamente de los valores de pK_a global.

Tabla 4.6. Valores teóricos de ΔG^\ominus global para los diversos pasos de disociación protónica de la 6-mercaptapurina en fase gas a 298.15 K.

	Paso global de disociación protónica del heterociclo	ΔG^\ominus teórico global (kcal/mol)
a)	$[6-MP]^{3+} \rightarrow [6-MP]^{2+}$	+8.38
b)	$[6-MP]^{2+} \rightarrow [6-MP]^{1+}$	+111.5
c)	$[6-MP]^{1+} \rightarrow [6-MP]^0$	+212.1
d)	$[6-MP]^0 \rightarrow [6-MP]^{1-}$	+321.3
e)	$[6-MP]^{1-} \rightarrow [6-MP]^{2-}$	+413.9

Como se puede observar, un estado más desprotonado de la 6-MP se relaciona con un valor mayor de ΔG^\ominus . Esto significa que bajo condiciones de vacío, la desprotonación de la 6-MP no es favorecida termodinámicamente. En otras palabras, cada paso de disociación protónica es comparativamente menos favorable que el anterior.

Para conocer teóricamente (y bajo el empleo de métodos mecánico-cuánticos) las poblaciones tautoméricas de la 6-MP en cada estado de protonación del heterociclo, ahora en un ambiente de constante dieléctrica elevada (por ejemplo, la del $H_2O_{(l)}$, que es ~ 78.4 a T_{amb}), es indispensable calcular la energía libre de Gibbs molar a condiciones estándar (G^\ominus) de tautómeros seleccionados y correspondientes a cada estado protónico, bajo la perturbación del medio continuo dieléctrico ($\epsilon \sim 78.4$) y bajo el esquema de campo reactivo autoconsistente, con optimizaciones completas de geometría y obtención de puntos estacionarios por análisis vibracional. Así, los valores de G^\ominus permitirán determinar los de las constantes de equilibrios tautoméricos y los de las poblaciones relativas (x_i) tautoméricas.

En ausencia de dichos estudios, es posible formular conjeturas sobre tautómeros más

favorecidos en dicho medio, considerando las G^\ominus relativas en fase gas ($\epsilon = 1.0$) y los valores de momento dipolar de dichas especies en condiciones de vacío. Lo anterior se plasma en la Figura 4.2:

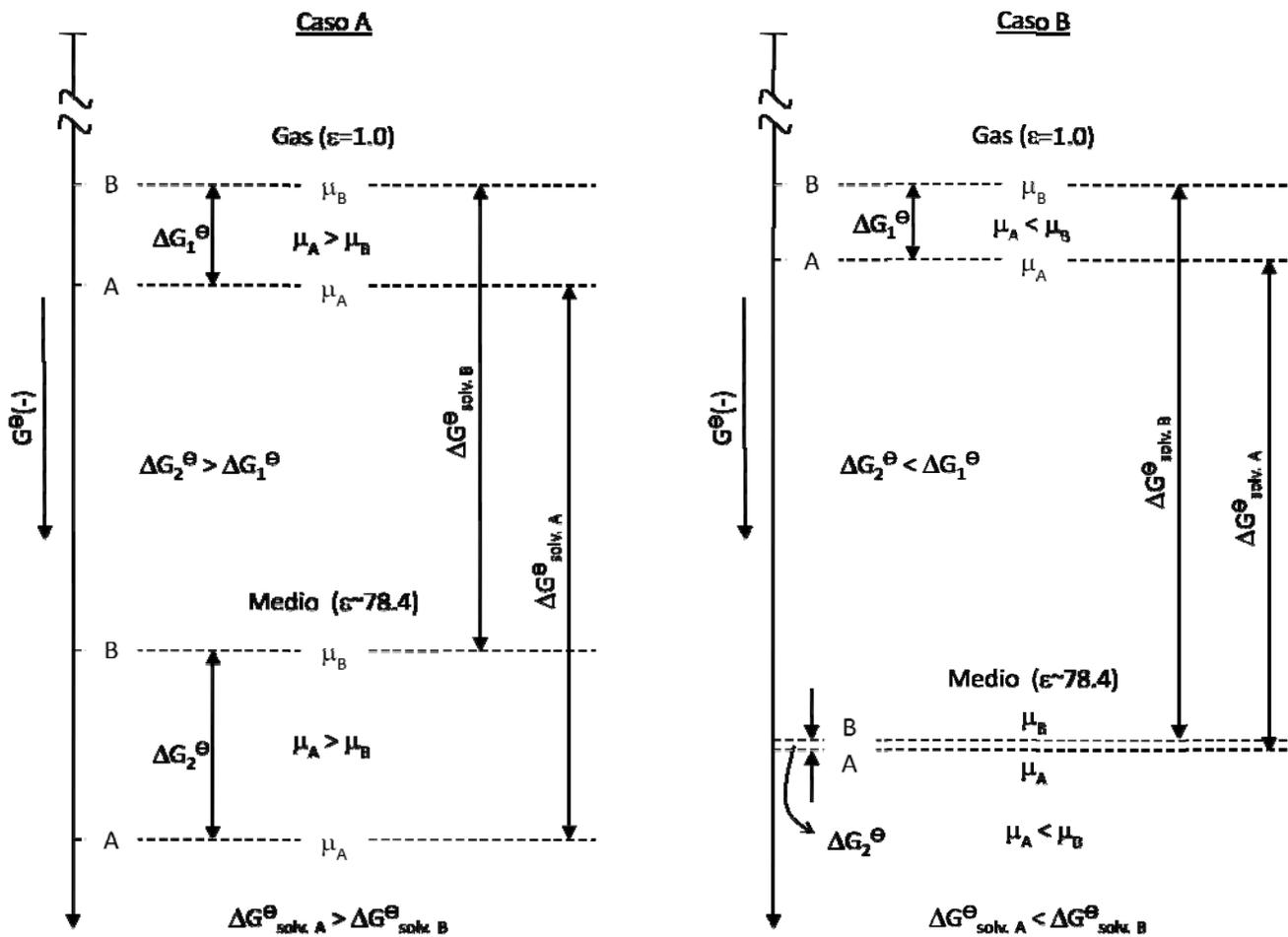


Figura 4.2. Criterios para identificar a los tautómeros más estables en ambientes con diferente constante dieléctrica.

En el caso A, la especie más estable (A) en fase gas posee además un μ mayor ($\mu_A > \mu_B$). Bajo el incremento de ϵ , las interacciones soluto-disolvente estabilizan en mayor medida aún a la especie A incrementándose la diferencia (ΔG^\ominus) entre A y B en dicho medio. Esto se refleja o asocia también a la brecha existente entre los valores de ΔG^\ominus de solvatación para cada especie. En este caso, $\Delta G^\ominus_{\text{solvatación A}} > \Delta G^\ominus_{\text{solvatación B}}$.

A diferencia de lo anterior y en el caso B, la especie más estable (A) en fase gas, posee

ahora un μ comparativamente menor ($\mu_A < \mu_B$). Ahora y bajo el incremento en el valor de ϵ , las interacciones soluto-disolvente provocan que la especie B sea la que ve incrementada en forma comparativa su estabilidad. Ello provoca (por ejemplo) una disminución en la brecha de los valores de G^\ominus de A y B en dicho medio. Esto se refleja en las características de ΔG^\ominus solvatación para ambas. En este ejemplo, se tiene que: ΔG^\ominus solvatación_A < ΔG^\ominus solvatación_B.

Sobre las consideraciones anteriores, es posible ahora formular las conjeturas referidas anteriormente.

a) 6-MP³⁺

Las especies posibles son TC1379c ($G^\ominus_{\text{rel}} = 0.00$ kcal/mol, $\mu = 4.51\text{D}$) y TC1379t ($G^\ominus_{\text{rel}} = +1.88$ kcal/mol, $\mu = 4.71\text{D}$; Tabla 4.1). Considerando dichos valores, es posible conjeturar para un medio acuoso ideal a T_{amb} ($\epsilon \sim 78.4$), la coexistencia de ambos tautómeros, con un predominio de TC1379c.

b) 6-MP²⁺

Aquí es razonable considerar solamente a las especies DC179c ($G^\ominus_{\text{rel}} = 0.00$ kcal/mol, $\mu = 1.8\text{D}$), DC179t ($G^\ominus_{\text{rel}} = +1.55$ kcal/mol, $\mu = 3.9\text{D}$) y DC1379 ($G^\ominus_{\text{rel}} = +2.64$ kcal/mol, $\mu = 8.4\text{D}$). Considerando dichos valores, es posible conjeturar para $\epsilon \sim 78.4$, la posible coexistencia de DC1379 y los tioles 179.

c) 6-MP¹⁺

En este caso los tautómeros seleccionados son: MC179 ($G^\ominus_{\text{rel}} = 0.00$ kcal/mol, $\mu = 6.03\text{D}$) y MC19t ($G^\ominus_{\text{rel}} = +1.30$ kcal/mol, $\mu = 1.93\text{D}$). Considerando sus valores, se puede conjeturar para $\epsilon \sim 78.4$, la coexistencia de ambos tautómeros, con un predominio claro de MC179.

d) 6-MP⁰

Aquí los tautómeros seleccionados son: N17 ($G^\ominus_{\text{rel}} = 0.00$ kcal/mol, $\mu = 0.42\text{D}$) y N19 ($G^\ominus_{\text{rel}} = +3.00$ kcal/mol, $\mu = 6.18\text{D}$). Considerando dichos valores, es posible conjeturar para $\epsilon \sim 78.4$, la coexistencia ambos tautómeros, con un predominio posible de N19.

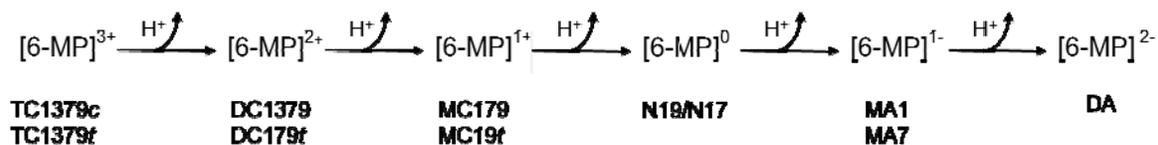
e) 6-MP²⁻

En este caso las especies seleccionadas son: MA7 ($G^\ominus_{\text{rel}} = 0.00$ kcal/mol, $\mu = 2.2\text{D}$) y MA1 ($G^\ominus_{\text{rel}} = +1.30$ kcal/mol, $\mu = 4.9\text{D}$). Considerando estos valores, se puede conjeturar para $\epsilon \sim 78.4$, la coexistencia de ambos, con un predominio de MA1.

f) 6-MP¹⁻

Aquí, la única especie posible en fase gas es DA. La misma situación ocurre para $\epsilon \sim 78.4$.

En este nivel de conjeturas es posible formular un esquema de disociaciones protónicas sucesivas para 6-MP en un medio acuoso ideal a temperatura ambiente, el cual considera en cada etapa a los tautómeros favorecidos en orden descendente, y que en todo caso serán los que mayormente contribuirán al valor global (macroscópico) de cada constante de disociación protónica. Dicho esquema se ilustra a continuación:



Esquema 4.3. Predicción de los tautómeros de 6-mercaptopurina más estables a $\epsilon \sim 78.4$

5. Conclusiones

En este trabajo, se exploraron todos los estados de protonación de la 6-mercaptopurina en la fase gas. Para cada uno, se determinó tanto la estabilidad energética, como la termodinámica para todos los posibles tautómeros. Ambos parámetros permitieron determinar las especies más favorecidas, y calcular para éstas, la constante y población tautomérica. En el estado tricatiónico las especies tiólicas son las únicas posibles, y en el dicatiónico resultan ser también las más estables; en el resto de los estados de protonación, son las tiones las más favorables. Este comportamiento también lo presenta el heterociclo análogo hipoxantina, para la que en los estados más protonados, los enoles son más estables, mientras que las cetonas predominan del estado 1+ al 2-.

El estudio desarrollado también permitió obtener los valores teóricos de pK_a tautomérico para aquellas especies más involucradas en cada equilibrio de disociación protónica de la 6-MP. Estos valores permitieron identificar los sitios más importantes donde ocurre la disociación protónica para un paso determinado; estos son: a) $6\text{-MP}^{3+} \rightarrow 6\text{-MP}^{2+}$, N(3)H ($pK_a = 6.17$); b) $6\text{-MP}^{2+} \rightarrow 6\text{-MP}^{1+}$, SH ($pK_a = 81.81$); c) $6\text{-MP}^{1+} \rightarrow 6\text{-MP}^0$, N(9)H ($pK_a = 155.68$); d) $6\text{-MP}^0 \rightarrow 6\text{-MP}^{1-}$, N(1)H ($pK_a = 235.95$); e) $6\text{-MP}^{1-} \rightarrow 6\text{-MP}^{2-}$, N(7)H ($pK_a = 302.62$). Estos grupos y sus valores de pK_a tautoméricas son, también, los que contribuyen preponderantemente al correspondiente valor de pK_a global. Otro aspecto importante de conocer el orden de acidez de los sitios de posible disociación protónica, es entender la razón de la generación de determinadas especies después de la disociación y también la razón de su proporción en la población tautomérica. Datos como éstos resultan de gran ayuda en el esclarecimiento de un mecanismo de reacción para entender el comportamiento de las moléculas bajo ciertas condiciones.

Al comparar los sitios de disociación protónica de la 6-MP con los de la hipoxantina, se puede observar que mientras en la 6-MP el grupo N(1)-H se disocia más fácil que el N(7)-H, en la hipoxantina sucede al contrario.

También se obtuvieron los valores teóricos de pK_a global y ΔG^\ominus asociados a los equilibrios que conforman cada paso de desprotonación. Estos valores muestran que con cada paso de disociación protónica, los heterociclos resultantes son termodinámicamente más inestables que sus predecesores; el incremento de la constante dieléctrica del medio en el que se encuentra el heterociclo, puede disminuir los valores de pK_a y ΔG^\ominus .

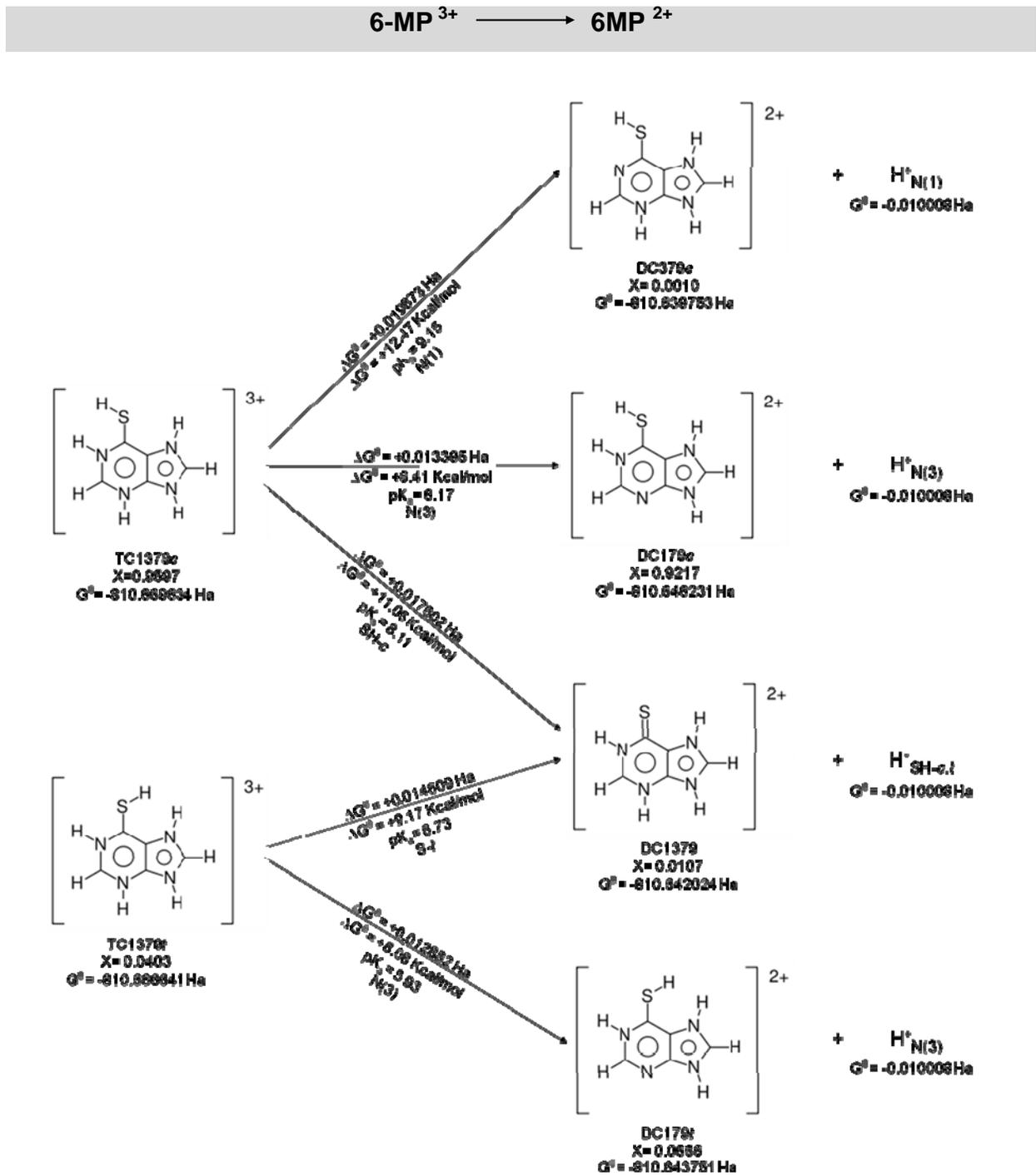
Al estar más protonada, la 6-MP muestra un carácter menos ácido que la hipoxantina; conforme el nivel de desprotonación aumenta, esta propiedad invierte sus valores aunque no existe una gran diferencia entre ambos, como ocurre en los estados más protonados. Sin duda, las primeras tres disociaciones protónicas de la 6-MP serán mucho más favorables termodinámicamente en un medio acuoso ideal y neutro. De hecho, el sistema hipoxantina muestra un pK_a tautomérico negativo en el segundo paso de desprotonación ($2+ \rightarrow 1+$), y un valor de pK_a de +2.0 para el tercer paso ($1+ \rightarrow 0$). Su primer disociación protónica ($3+ \rightarrow 2+$) no ha sido reportada a la fecha.

Por último, el estudio aquí presentado nos permitió observar de manera global, algunas de las propiedades fisicoquímicas del sistema de equilibrio de disociación protónica en fase gas. Tales propiedades constituyen parte de la reactividad intrínseca (en el sentido termodinámico) del heterociclo 6-MP.

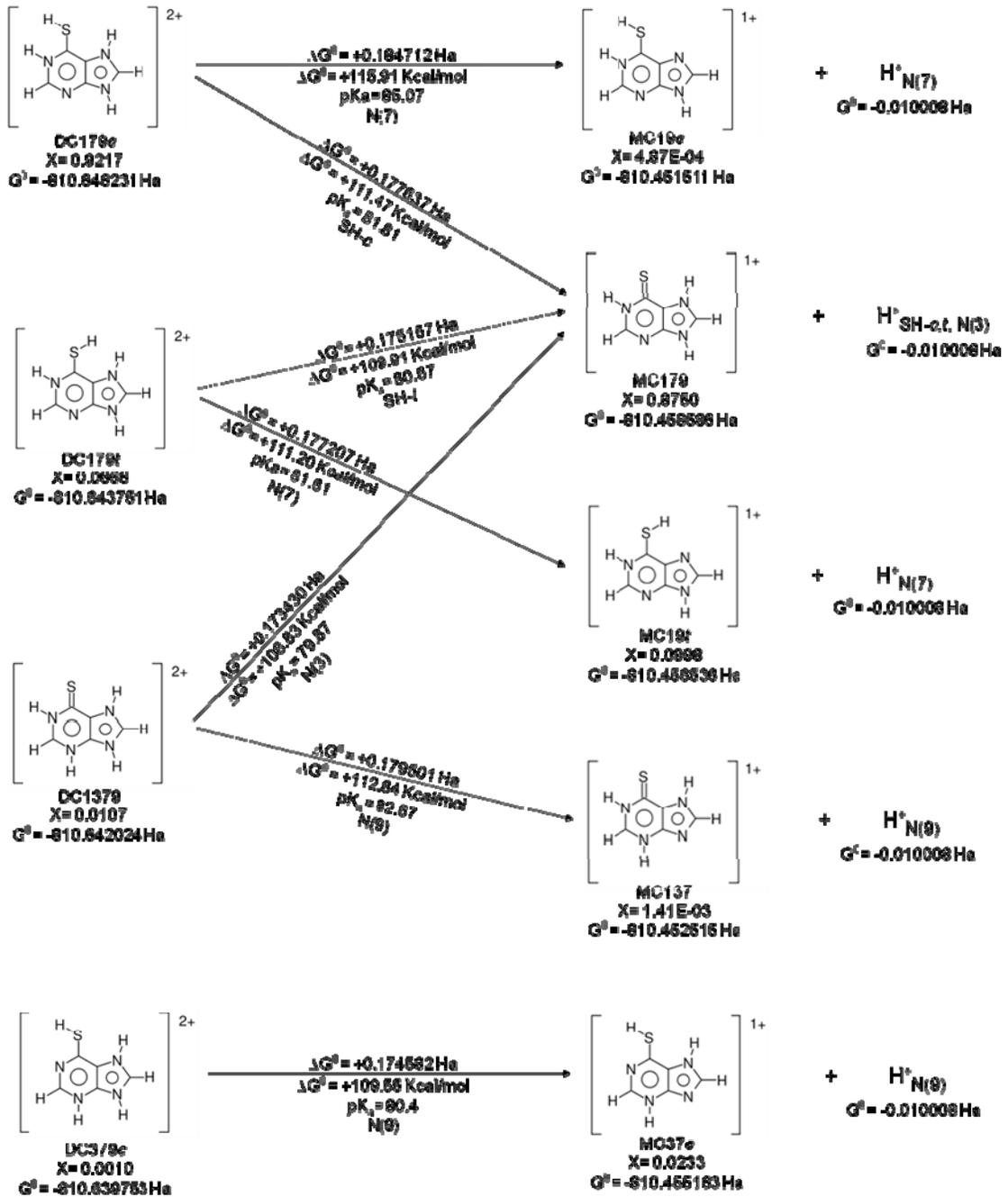
Esa imagen global ha sido enriquecida a partir de la comparación de las propiedades observadas con las de la hipoxantina, las cuales han sido obtenidas en un estudio teórico desarrollado al mismo nivel de cálculo y teoría.

6. Apéndices.

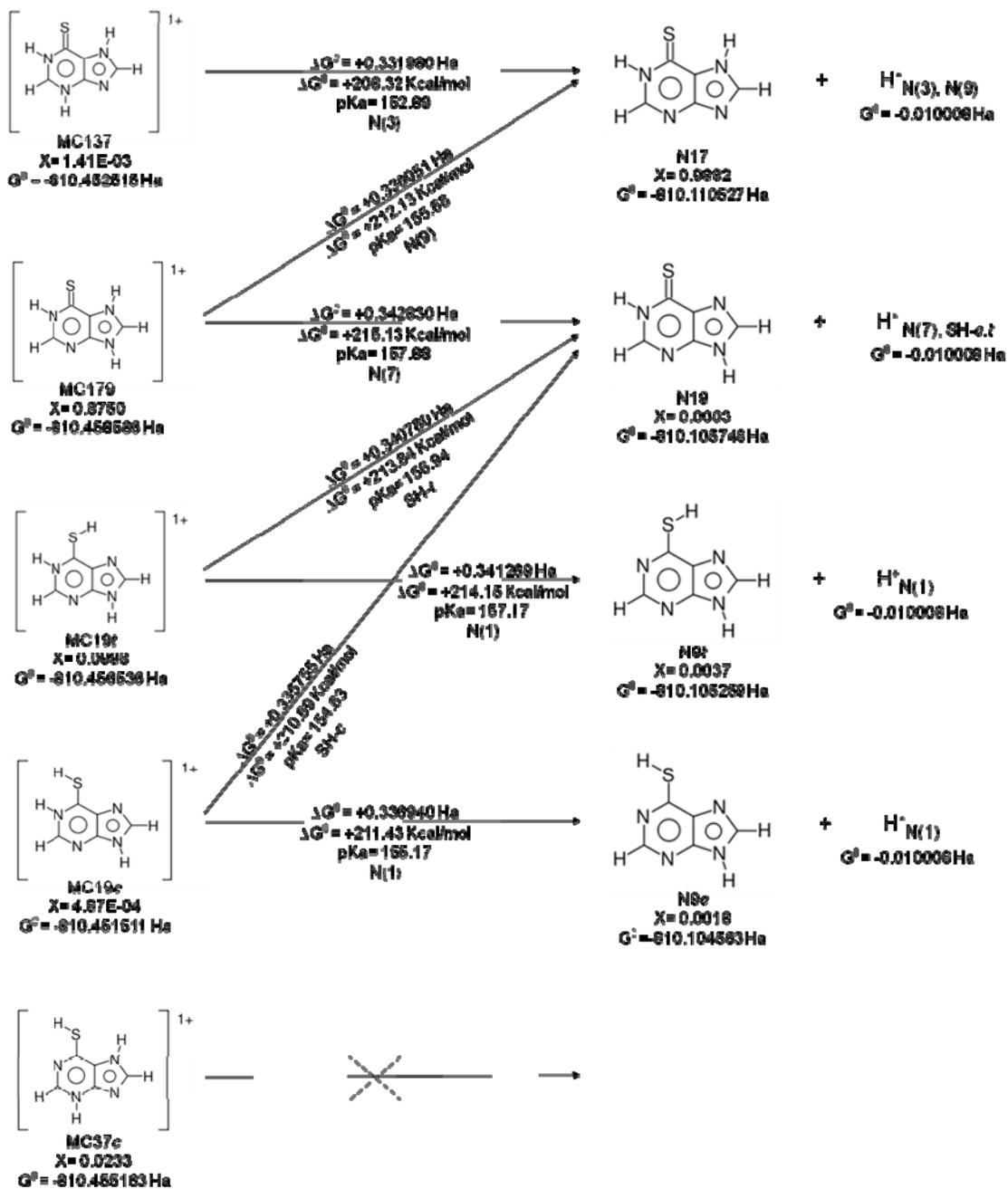
6.1. Equilibrios de disociación protónica de la 6-mercaptopurina en fase gas, a 298.15 K.



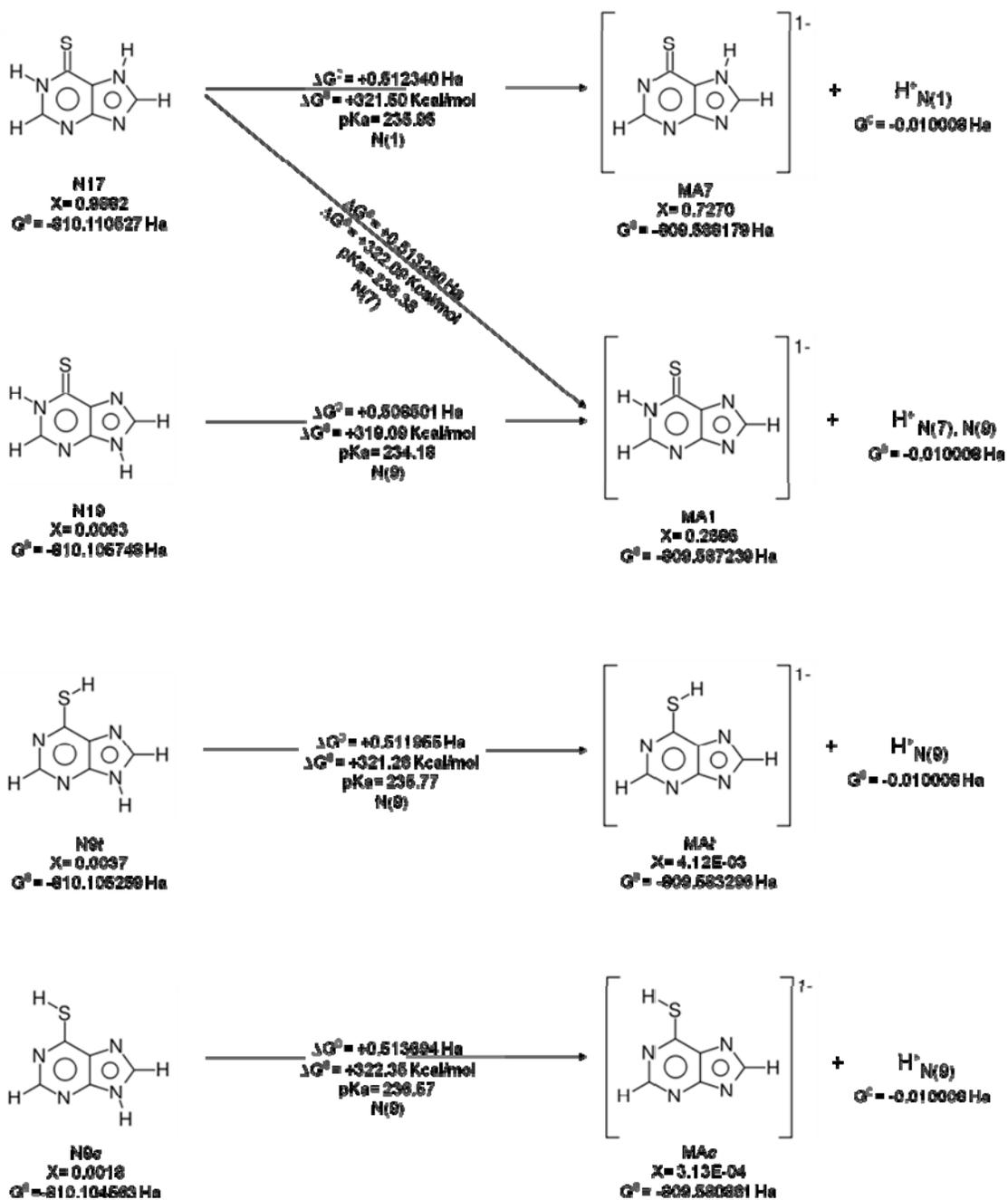
Esquema 6.1.1



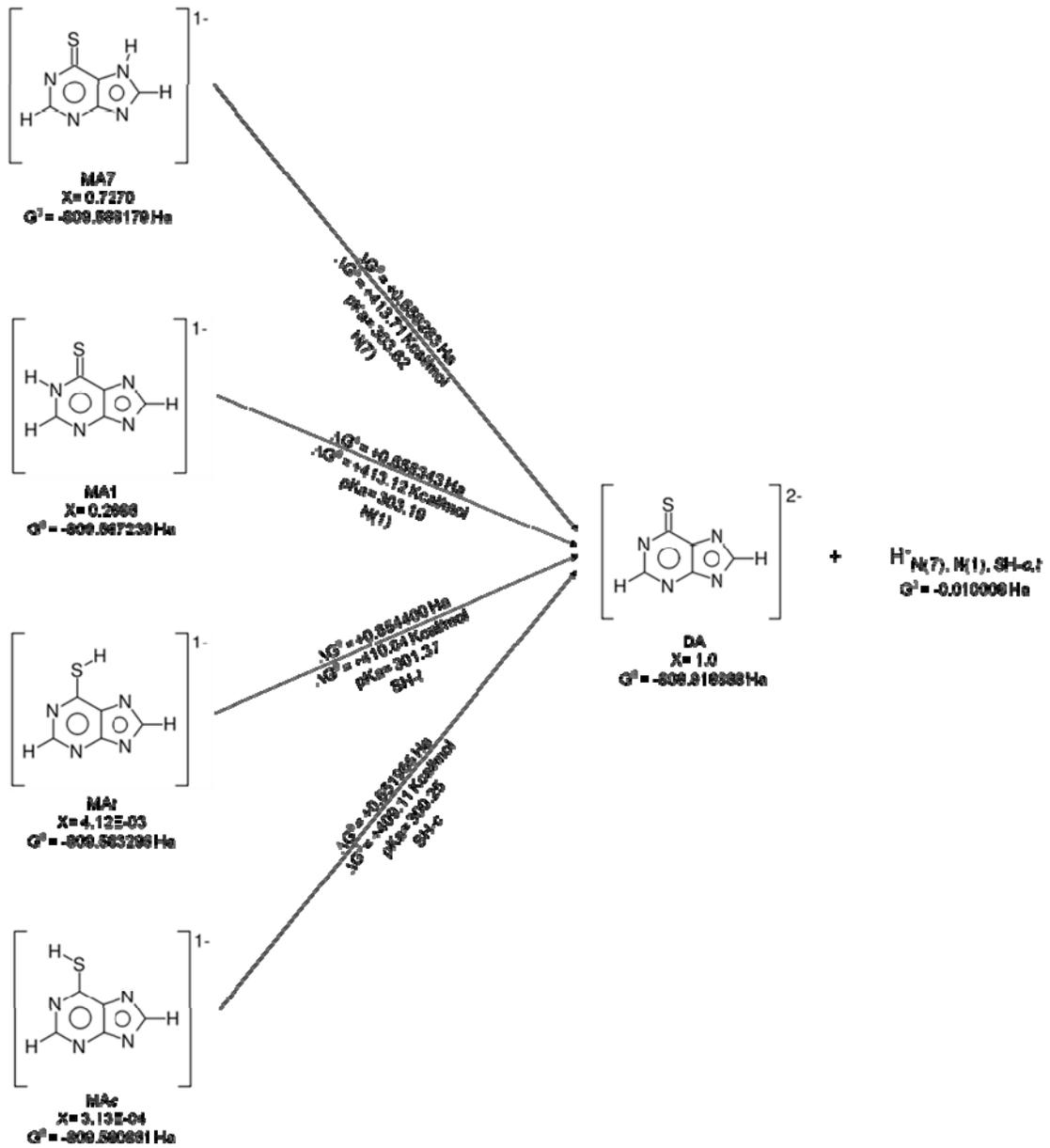
Esquema 6.1.2.



Esquema 6.1.3.



Esquema 6.1.4.



Esquema 6.1.5.

6.2. Parámetros estructurales

A continuación se presentan las longitudes y ángulos de enlace de los tautómeros que para este trabajo han sido considerados como predominantes, para cada estado de protonación de la 6-mercaptapurina. En las tablas, los tautómeros están ordenados del más al menos predominante, de izquierda a derecha, respectivamente.

Los ángulos dihedrales para todos estos tautómeros son muy cercanos a 0° o 180°, con desviaciones que no van más allá de los 0.3°, razón por la cual se asume que estos heterociclos son prácticamente planos.

[6-mercaptapurina]³⁺

Tabla 6.2.1. Longitudes de enlace (Å) de los dos posibles tautómeros tricatiónicos.

	TC1379c	TC1379t
N1-C2	1.342	1.337
N1-C6	1.398	1.403
C2-N3	1.332	1.334
N3-C4	1.373	1.371
C4-C5	1.394	1.398
C4-N9	1.366	1.365
C5-C6	1.430	1.429
C5-N7	1.389	1.391
N7-C8	1.334	1.333
C8-N9	1.353	1.352
C6-S	1.700	1.704
C2-H	1.092	1.092
C8-H	1.090	1.090
N1-H	1.027	1.029
N3-H	1.029	1.028
N7-H	1.025	1.023
N9-H	1.027	1.027
S-H	1.360	1.355

Tabla 6.2.2. Ángulos de enlace (°) de los dos posibles tautómeros tricatiónicos.

	TC1379c	TC1379t
C6-N1-C2	126.16	126.62
H1-N1-C6	118.74	118.00
H1-N1-C2	115.11	115.39
N1-C2-H2	119.28	119.46
N1-C2-N3	120.88	120.63
H2-C2-N3	119.84	119.91

C2-N3-C4	118.46	118.34
C2-N3-H3	118.81	118.91
C4-N3-H3	122.72	122.75
N3-C4-N9	130.47	129.92
N3-C4-C5	121.40	121.85
C4-C5-C6	121.19	120.77
C5-C6-N1	111.19	111.78
C5-C6-S	122.76	132.73
N1-C6-S	125.33	115.49
N7-C5-C4	105.36	105.03
C6-C5-N7	133.44	134.20
C5-N7-C8	109.32	109.51
C5-N7-H7	127.78	128.28
H7-N7-C8	122.90	122.21
N7-C8-H8	125.88	125.86
N7-C8-N9	109.04	109.02
H8-C8-N9	125.08	125.12
C8-N9-C4	108.15	108.22
N9-C4-C5	108.13	108.23
C8-N9-H9	123.63	123.63
C4-N9-H9	128.22	128.15
C6-S-H	98.64	97.71

[6-mercaptopurina]²⁺

Tabla 6.2.3. Longitudes de enlace (Å) de los tautómeros dicatiónicos predominantes en fase gas a 298.15 K.

	DC179c	DC179t	DC1379	DC379c
N1-C2	1.378	1.373	1.320	1.356
N1-C6	1.369	1.373	1.452	1.307
C2-N3	1.307	1.309	1.342	1.372
N3-C4	1.334	1.332	1.385	1.355
C4-C5	1.400	1.404	1.374	1.389
C4-N9	1.382	1.382	1.375	1.376
C5-C6	1.411	1.410	1.448	1.428
C5-N7	1.390	1.392	1.380	1.393
N7-C8	1.337	1.338	1.333	1.330
C8-N9	1.340	1.338	1.350	1.349
C6-S	1.726	1.730	1.616	1.712
C2-H	1.087	1.087	1.087	1.087
C8-H	1.085	1.085	1.083	1.084
N1-H	1.020	1.022	1.023	-
N3-H	-	-	1.018	1.020
N7-H	1.019	1.018	1.022	1.020
N9-H	1.021	1.022	1.019	1.020
S-H	1.352	1.349	-	1.355

Tabla 6.2.4. Ángulos de enlace (°) de los tautómeros dicatiónicos predominantes en fase gas a 298.15 K.

	DC179c	DC179t	DC1379	DC379c
C6-N1-C2	124.92	125.28	127.37	122.04
H1-N1-C6	118.98	118.34	114.81	-
H1-N1-C2	116.11	116.38	117.82	-
N1-C2-H2	116.02	116.25	119.73	119.70
N1-C2-N3	123.47	123.28	121.66	123.93
H2-C2-N3	120.50	120.48	118.62	116.36
C2-N3-C4	113.84	113.76	117.49	116.89
C2-N3-H3	-	-	119.39	119.97
C4-N3-H3	-	-	123.12	123.14
N3-C4-N9	126.87	126.41	130.56	131.07
N3-C4-C5	126.60	126.96	121.48	121.14
C4-C5-C6	118.95	118.53	123.94	119.38
C5-C6-N1	112.23	112.19	108.07	116.62
C5-C6-S	122.48	131.07	128.74	122.79
N1-C6-S	125.30	116.74	123.19	120.59
N7-C5-C4	106.38	106.06	105.92	105.49
C6-C5-N7	134.68	135.41	130.13	135.13
C5-N7-C8	108.70	108.87	109.63	109.43
C5-N7-H7	127.85	128.36	124.96	126.84
H7-N7-C8	123.45	122.77	125.41	123.73
N7-C8-H8	125.09	125.04	126.30	125.95
N7-C8-N9	109.44	109.46	108.42	109.02
H8-C8-N9	125.46	125.50	125.28	125.03
C8-N9-C4	108.94	108.99	108.07	108.27
N9-C4-C5	106.53	106.63	107.96	107.79
C8-N9-H9	125.61	125.67	123.84	123.98
C4-N9-H9	125.45	125.33	128.10	127.75
C6-S-H	97.63	96.83	-	94.79

[6-mercaptopurina]¹⁺

Tabla 6.2.5. Longitudes de enlace (Å) de los tautómeros monocatiónicos predominantes en fase gas a 298.15 K.

	MC179	MC19t	MC37c	MC137	MC19c	MC37t
N1-C2	1.364	1.376	1.313	1.330	1.378	1.310
N1-C6	1.409	1.370	1.356	1.441	1.371	1.356
C2-N3	1.311	1.307	1.357	1.327	1.305	1.358
N3-C4	1.349	1.343	1.361	1.389	1.343	1.360
C4-C5	1.383	1.414	1.407	1.392	1.416	1.409
C4-N9	1.386	1.361	1.348	1.345	1.359	1.348

C5-C6	1.432	1.395	1.403	1.426	1.396	1.404
C5-N7	1.380	1.372	1.381	1.371	1.372	1.384
N7-C8	1.336	1.312	1.366	1.365	1.311	1.366
C8-N9	1.344	1.385	1.326	1.330	1.386	1.325
C6-S	1.644	1.734	1.738	1.636	1.737	1.740
C2-H	1.086	1.085	1.085	1.084	1.085	1.085
C8-H	1.080	1.082	1.082	1.081	1.082	1.082
N1-H	1.017	1.017	-	1.019	1.016	
N3-H	-	-	1.018	1.017	-	1.018
N7-H	1.017	-	1.013	1.014	-	1.012
N9-H	1.016	1.014	-	-	1.014	-
S-H	-	1.352	1.350	-	1.351	1.349

Tabla 6.2.6. Ángulos de enlace (°) de los tautómeros monocatiónicos predominantes en fase gas a 298.15 K.

	MC179	MC19t	MC37c	MC137	MC19c	MC37f
C6-N1-C2	126.14	123.87	120.66	127.27	124.02	121.08
H1-N1-C6	115.37	118.98	-	114.52	119.31	-
H1-N1-C2	118.49	117.15	-	118.21	116.68	-
N1-C2-H2	115.85	115.67	119.18	119.35	115.60	119.37
N1-C2-N3	124.97	124.00	123.98	119.61	123.96	123.73
H2-C2-N3	119.18	120.33	116.84	119.61	120.44	116.90
C2-N3-C4	112.23	113.61	118.51	118.80	113.59	118.45
C2-N3-H3	-	-	121.38	121.06	-	121.48
C4-N3-H3	-	-	120.11	120.14	-	120.08
N3-C4-N9	127.09	128.87	128.29	127.09	128.70	127.91
N3-C4-C5	126.65	126.00	118.91	119.77	126.64	119.21
C4-C5-C6	121.86	126.54	119.86	124.41	117.87	119.51
C5-C6-N1	108.15	114.08	118.08	108.70	113.93	118.02
C5-C6-S	127.08	125.95	122.41	129.75	121.60	128.34
N1-C6-S	124.77	119.98	119.50	121.55	121.47	113.64
N7-C5-C4	107.02	111.19	103.39	103.55	111.07	103.14
C6-C5-N7	131.12	130.90	136.75	132.04	131.07	137.36
C5-N7-C8	109.16	104.17	106.75	107.15	104.20	106.88
C5-N7-H7	124.65	-	127.49	125.67	-	127.99
H7-N7-C8	126.19	-	125.76	127.18	-	125.13
N7-C8-H8	125.79	125.16	122.03	122.53	121.12	121.98
N7-C8-N9	108.52	113.24	113.46	124.78	113.31	113.46
H8-C8-N9	125.69	121.61	124.51	124.78	121.57	124.56
C8-N9-C4	109.03	106.81	103.60	103.46	106.76	103.65
N9-C4-C5	106.26	104.59	112.80	113.14	104.66	112.88
C8-N9-H9	125.56	127.00	-	-	127.10	-
C4-N9-H9	125.41	126.19	-	-	126.14	-
C6-S-H	-	93.39	94.55	-	96.33	97.12

[6-mercaptapurina]⁰

Tabla 6.2.7. Longitudes de enlace (Å) de los tautómeros neutros predominantes en fase gas a 298.15 K.

	N17	N19	N9t	N9c
N1-C2	1.375	1.364	1.370	1.347
N1-C6	1.395	1.410	1.385	1.339
C2-N3	1.301	1.306	1.320	1.347
N3-C4	1.367	1.359	1.361	1.334
C4-C5	1.404	1.402	1.408	1.408
C4-N9	1.370	1.369	1.386	1.376
C5-C6	1.415	1.433	1.418	1.404
C5-N7	1.371	1.378	1.384	1.384
N7-C8	1.369	1.311	1.357	1.311
C8-N9	1.321	1.381	1.356	1.382
C6-S	1.672	1.660	1.680	1.766
C2-H	1.086	1.086	1.092	1.086
C8-H	1.081	1.081	1.088	1.082
N1-H	1.015	1.015	-	-
N3-H	-	-	-	-
N7-H	1.012	-	-	-
N9-H	-	1.010	1.156	1.010
S-H	-	-	1.094	1.348

Tabla 6.2.8. Ángulos de enlace (°) de los tautómeros neutros predominantes en fase gas a 298.15 K.

	N17	N19	N9t	N9c
C6-N1-C2	125.32	126.56	123.45	118.79
H1-N1-C6	115.55	114.40	-	-
H1-N1-C2	119.14	119.04	-	-
N1-C2-H2	115.04	115.81	114.49	115.61
N1-C2-N3	125.15	124.54	126.56	127.92
H2-C2-N3	119.81	119.65	118.95	116.47
C2-N3-C4	113.85	111.98	112.73	111.91
C2-N3-H3	-	-	-	-
C4-N3-H3	-	-	-	-
N3-C4-N9	126.27	126.55	126.67	128.73
N3-C4-C5	123.20	128.11	124.11	126.57
C4-C5-C6	123.37	119.19	121.91	115.57
C5-C6-N1	109.12	109.62	111.24	119.26
C5-C6-S	127.86	129.87	126.80	120.99
N1-C6-S	123.02	120.51	121.96	119.75
N7-C5-C4	105.34	110.45	107.27	110.95
C6-C5-N7	131.29	130.36	130.82	133.49
C5-N7-C8	106.29	104.81	105.39	104.23
C5-N7-H7	125.34	-	-	-
H7-N7-C8	128.37	-	-	-
N7-C8-H8	121.76	125.34	121.29	124.98

N7-C8-N9	113.37	112.96	114.02	113.59
H8-C8-N9	124.87	121.70	124.38	121.43
C8-N9-C4	104.46	106.44	104.10	106.53
N9-C4-C5	110.53	105.33	109.23	104.71
C8-N9-H9	-	127.72	110.59	127.47
C4-N9-H9	-	125.84	105.09	126.00
C6-S-H	-	-	84.54	93.43

[6-mercaptapurina]¹⁻ y [6-mercaptapurina]²⁻

Tabla 6.2.9. Longitudes de enlace (Å) de los tautómeros monoaniónicos predominantes en fase gas a 298.15 K y el único tautómero dianiónico.

	MA7	MA1	MAf	MAc	DA
N1-C2	1.346	1.372	1.355	1.355	1.344
N1-C6	1.363	1.399	1.336	1.339	1.370
C2-N3	1.339	1.301	1.331	1.330	1.335
N3-C4	1.353	1.373	1.353	1.353	1.363
C4-C5	1.400	1.441	1.435	1.439	1.434
C4-N9	1.390	1.348	1.362	1.359	1.368
C5-C6	1.417	1.413	1.393	1.393	1.429
C5-N7	1.377	1.368	1.370	1.370	1.382
N7-C8	1.368	1.341	1.350	1.348	1.343
C8-N9	1.320	1.363	1.356	1.357	1.360
C6-S	1.723	1.701	1.794	1.797	1.753
C2-H	1.091	1.088	1.089	1.089	1.096
C8-H	1.083	1.086	1.087	1.087	1.091
N1-H	1.011	1.013	-	-	-
N3-H	-	-	-	-	-
N7-H	-	-	-	-	-
N9-H	-	-	-	-	-
S-H	-	-	1.351	1.349	-

Tabla 6.2.10. Ángulos de enlace (°) de los tautómeros monoaniónicos predominantes en fase gas a 298.15 K y el único tautómero dianiónico.

	MA7	MA1	MAf	MAc	DA
C6-N1-C2	119.24	125.83	116.86	117.09	119.46
H1-N1-C6	-	114.47	-	-	-
H1-N1-C2	-	119.71	-	-	-
N1-C2-H2	114.51	115.08	114.88	114.8	114.55
N1-C2-N3	130.29	124.72	128.74	128.62	130.12
H2-C2-N3	115.20	120.20	116.38	116.58	115.33
C2-N3-C4	111.86	113.78	113.82	113.85	111.93
C2-N3-H3	-	-	-	-	-
C4-N3-H3	-	-	-	-	-

N3-C4-N9	127.56	126.13	128.64	128.44	126.67
N3-C4-C5	122.21	124.47	122.75	122.95	123.67
C4-C5-C6	122.47	120.32	116.74	116.50	118.96
C5-C6-N1	113.93	110.87	121.08	121.00	115.86
C5-C6-S	121.43	131.08	121.56	120.80	124.72
N1-C6-S	124.64	118.05	117.36	118.20	119.42
N7-C5-C4	105.53	108.39	109.51	109.35	108.15
C6-C5-N7	132.00	131.29	133.75	134.15	132.89
C5-N7-C8	106.42	102.13	101.20	101.29	102.12
C5-N7-H7	123.46	-	-	-	-
H7-N7-C8	130.12	-	-	-	-
N7-C8-H8	121.73	121.15	120.71	120.68	120.88
N7-C8-N9	113.58	118.17	118.66	118.73	118.66
H8-C8-N9	124.68	120.68	120.62	120.59	120.46
C8-N9-C4	104.24	101.91	102.01	102.02	101.40
N9-C4-C5	110.23	109.40	108.61	108.61	109.66
C8-N9-H9	-	-	-	-	-
C4-N9-H9	-	-	-	-	-
C6-S-H	-	-	93.71	93.36	-

7. Bibliografía

1. Elion G. B. *Science* **244** (1989) 41.
2. *Landolt-Börnstein – Group VII Biophysics. Physical Data II. Theoretical Investigations*; Shugar D., Psoda A. Ed. Springer-Verlag, 1990; Vol. 1d.
3. *Biochemistry*; Berg J. M., Tymoczko J. L., Stryer L. Ed. W. H. Freeman and Co., 2002.
4. Friedberg E. C. *Nature* **421** (2003) 436.
5. Sharma S., Lee J. K. *J. Org. Chem.* **67** (2002) 8360.
6. Cheok M. H., Evans W. E. *Nature Rev. Cancer.* **6** (2006) 117
7. Etchevers M. J., Aceituno M., Sans M. *World J. Gastroenterol* **14(36)** (2008) 5512.
8. *Introducción a la Química Farmacéutica*; Avendaño C., et. al. Ed. Panamericana, 2001; 76.
9. Aarbakke J., Janka-Schaub G., Elion G. B. *Trends Pharmacol. Sci* **18** (1997) 3.
10. Kanemitsu H., Yamauchi H., Komatsu M., Yamamoto S., Okazaki S., Uchida K., Nakayama H. *Neurotoxicology and Teratology.* (2009) En proceso de publicación.
11. Crawford D. J. K., Maddocks J. L., Jones D. N., Szawlowski P. *J. Med. Chem.* **39(14)** (1996) 2690.
12. Szeghalmi A. V., Leopold L., Pînzaru S., Chis V., Silaghi-Dumitrescu I., Schmitt M., Popp J., Kiefer W. *Biopolymers.* **78** (2005) 298.
13. Sadler P. J., Li H, Sun H. *Coordination Chemistry Reviews.* **185-186** (1999) 689
14. Łakomska I. *Inorganica Chimica Acta* **362** (2009) 669.
15. Podsiadlo P., Sinani V. A., Bahng J. H., Nadine Wong Shi Kam, Lee J, Kotov N. A. *Langmuir.* **24(2)** (2008) 568.
16. Zhou C., Du X., Li H. *Bioelectrochemistry.* **70** (2007) 446.
17. Amo-Ochoa P., Rodríguez-Tapiador M. I., Castillo O., Olea D., Guijarro A., Alexandre S. S., Gómez-Herrero J., Zamora F. *Inorg. Chem.* **45(19)** (2006) 7642.
18. Pazderski L., Łakomska I., Wojtczak A., Szłyk E., Sitkowski J., Kozerski L., Kamiński B., Kozminski W., Tousek J., Marek R. *Journal of Molecular Structure* **785** (2006) 205.
19. Brown G. M. *Acta Cryst.* **B25** (1969) 1338.
20. Lapinski L., Nowak M. J., Kwiatkowski J. S., Leszczynski J. *J. Phys. Chem. A.* **103** (1999) 280.

21. Civcir P. Ü. *J. Mol. Struct. (Theochem)*. **535** (2001) 121.
22. Barquera Lozada J. E. “*Estudio teórico de propiedades de estructura molecular y electrónica en 6-mercaptopurina*”. *Tesis de Licenciatura UNAM* (2004).
23. Chenon M.-Th., Pugmire R. J., Grant D. M., Panzica R. P., Townsend L. B. *J. Am. Chem. Soc.* **97 (16)** (1975) 4636.
24. Barquera Lozada J. E. “*Estudios mecánico cuánticos sobre las interacciones intermoleculares 6-mercaptopurina-H₂O*”. *Tesis de Maestría UNAM* (2006).
25. Contreras J. G., Alderete J. B. *J. Mol. Struct. (Theochem)*. **309** (1994) 137.
26. Lichtenberg D., Bergmann F., Neiman Z. *Isr. J. Chem.* **10** (1972) 805.
27. Determination and use of stability constants; Martell A. E. y Motekaitis R. J. 2da ed. Ed. Wiley-VCH. EUA, 1992. Pp. 75
28. Acevedo Chávez R. “*Compuestos de Cu(II) con los heterociclos alopurinol, hipoxantina, 6-mercaptopurina, pirazol y 3,5-dimetilpirazol*” *Tesis de Doctorado UNAM* (1997).
29. Acevedo-Chávez R., Costas M. E. *Recent Res. Devel. Physical Chem.* **3** (1999) 23.
30. Acevedo-Chávez R., Costas M. E. *J. Phys. Chem. A* **101** (1997) 8309.
31. Acevedo-Chávez R., Costas M. E. *J. Computational Chem.* **20(2)** (1999) 2000
32. Introducción a la química computacional; Cuevas G., Cortés F. 1ª edición. Ed. Fondo de Cultura Económica. México, 2003. Cap. 1,4 y 7.
33. A Guide to Molecular Mechanics and Quantum Chemical Calculations. Hehre W. J. Ed. Wavefunction Inc. E.U.A., 2003. Cap. 2.
34. Introduction to computational chemistry. Jensen F. Ed. John Wiley & Sons. Inglaterra, 1999. Cap. 6.
35. Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., Scuseria G. E., Robb M. A., Cheeseman J. R., Zakrzewski V. G., Montgomery J. A. Jr., Stratmann R. E., Burant J. C., Dapprich S., Millam J. M., Daniels A. D., Kudin K. N., Strain M. C., Farkas O., Tomasi J., Barone V., Cossi M., Cammi R., Mennucci B., Pomelli C., Adamo C., Clifford S., Ochterski J., Petersson G. A., Ayala P. Y., Cui Q., Morokuma K., Malick D. K., Rabuck A. D., Raghavachari K., Foresman J. B., Cioslowski J., Ortiz J. V., Baboul A. G., Stefanov B. B., Liu G., Liashenko A., Piskorz P., Komaromi I., Gomperts R., Martin R. L., Fox D. J., Keith T., Al-Laham M. A., Peng C. Y., Nanayakkara A., Gonzalez C., Challacombe M., Gill P. M. W., Johnson B., Chen W., Wong M. W., Andres J. L., Gonzalez C., Head-Gordon M., Replogle E. S., y Pople J.

- A. *Gaussian 98*, revisión A.7, Gaussian Inc., Pittsburgh PA, 1998.
36. Spartan 5.0. Wavefunction Inc. E.U.A., 2000.
37. Sletten E., Sletten J., Jensen L. H. *Acta Cryst.* **B25** (1969) 1330.
38. Acevedo-Chávez R., Costas M. E. Theoretical microscopic and macroscopic ΔG^0 , and pKa values of hypoxanthine protonic dissociation equilibria in gas phase. A density functional point of view. En proceso de publicación.
39. Ramos Peña A. E. "*Estudio teórico de los tautómeros de alopurinol neutro*". Tesis de Maestría UNAM (2000).
40. Gerega A., Lapinski L., Nowak M. J., Rostkowska H. *J. Phys. Chem. A.* **110(34)** (2006) 10236
41. Zaza, G. *et al.* Thiopurine Pathway [en línea], <<http://www.pharmgkb.org/search/pathway/thiopurine/thiopurine.jsp>> (última actualización en 2008).