



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE QUÍMICA**

Estudio Computacional de la Estabilidad Energética y  
Termodinámica de los Tautómeros de la  
6-Mercaptopurina, en Dos Modelos de Disolvente.

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE**  
**QUÍMICO**

**PRESENTA**

**VICTOR MANUEL PÉREZ DAZA**



**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.**

**2019**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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: **Dra. María Eugenia Herminia Costas Basin**  
Vocal: **Dr. J. Jesús Hernández Trujillo**  
Secretario: **Dr. Juan Raúl Álvarez Idaboy**  
1er. Suplente: **Dra. Cristina del Carmen Jiménez Curiel**  
2do. Suplente: **Dr. Jorge Martín del Campo Ramírez**

Sitio donde se desarrolló el tema: **Departamento de Fisicoquímica, Facultad de Química, UNAM.**

**Dra. María Eugenia Herminia Costas Basin**  
Asesora

**Dr. Rodolfo Acevedo Chávez**  
Supervisor Técnico

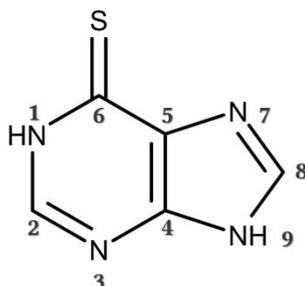
**Victor Manuel Pérez Daza**  
Sustentante

# Índice

|          |  |           |
|----------|--|-----------|
| <b>1</b> | <b>Introducción.....</b>   | <b>1</b>  |
| <b>2</b> | <b>Antecedentes.....</b>   | <b>4</b>  |
|          | 2.1 Teoría de los Funcionales de la Densidad   | 12        |
|          | 2.2 Funciones de Base  | 20        |
|          | 2.3 Solvatación y Modelo de Apantallamiento para Pseudo-Conductor                                  | 23        |
| <b>3</b> | <b>Metodología.....</b>  | <b>27</b> |
| <b>4</b> | <b>Resultados y Discusión.....</b>   | <b>31</b> |
|          | 4.1 Estabilidad Energética y Termodinámica de la 6-Mercaptopurina en Fase Gas                      | 31        |
|          | 4.2 Estabilidad Energética y Termodinámica de la 6-Mercaptopurina en H <sub>2</sub> O y DMSO       | 34        |
|          | 4.3 Contribución de los Sitios Tautoméricos a los Procesos de Disociación Protónica en Medio Polar | 43        |
| <b>5</b> | <b>Conclusiones.....</b>   | <b>53</b> |
| <b>6</b> | <b>Apéndice.....</b>   | <b>55</b> |
|          | Apéndice 1   | 55        |
|          | Apéndice 2   | 60        |
| <b>7</b> | <b>Bibliografía.....</b>   | <b>65</b> |

## 1 – Introducción

El derivado azufrado de la purina, conocido como 6-Mercaptopurina (6-MP, Purinetol o 6-tiopurina) y su homólogo estructural con oxígeno, la hipoxantina, han recibido atención por parte de la comunidad científica debido a que su estructura molecular les permite estudiar el metabolismo de purinas en los seres humanos. La Mercaptopurina tiene un papel ejemplar como agente citotóxico (es decir, tóxico a nivel celular), pues se utiliza en la preparación de medicamentos que actúan contra la leucemia aguda.

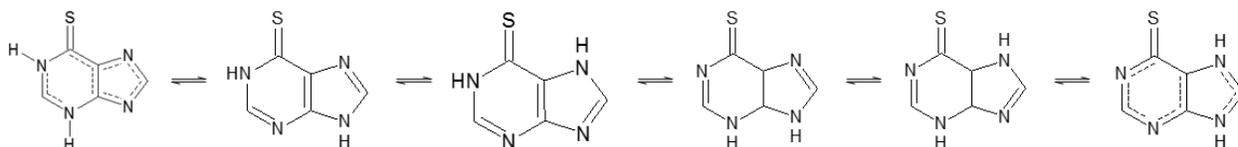


**Fig. 1** – Representación y numeración secuencial de la 6-Mercaptopurina neutra en su forma tautomérica tiona N(1)-H/N(9)-H.

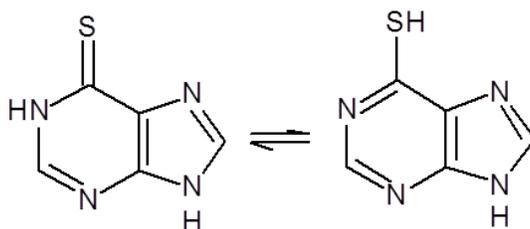
Otras aplicaciones farmacéuticas que involucran a la 6-MP son su capacidad como un agente anti-inflamatorio que fomenta la actividad de los canales esteroideos para reducir la inflamación producida por algún trastorno intestinal; además, se aplica a los pacientes que tienen un reciente trasplante de un órgano y desarrollan sintomatología de rechazo [1].

A pesar de que la administración de la Mercaptopurina se realiza utilizando complejos con metales de transición (como cadmio) que evitan la isomerización del derivado purínico, se ha observado a través de análisis farmacocinéticos que su vida media en el plasma sanguíneo es de entre 20 a 45 minutos, ocasionando una absorción pobre del medicamento. La cantidad de 6-MP que se asocia al suero proteico (ruta de acceso de los agentes activos de un fármaco) es altamente variable dependiendo del paciente, pues nunca se rebasa un 30% de asociación con las proteínas de interés [2].

Estas propiedades se deben a que la 6-Mercaptopurina posee arreglos estructurales múltiples que se encuentran en un equilibrio rápido, los cuales están asociados al intercambio de uno o varios átomos de hidrógeno dentro de la molécula a través de mecanismos de tautomerización prototrópica (Figura 2) y bajo el mecanismo tiona-tiol (Figura 3).



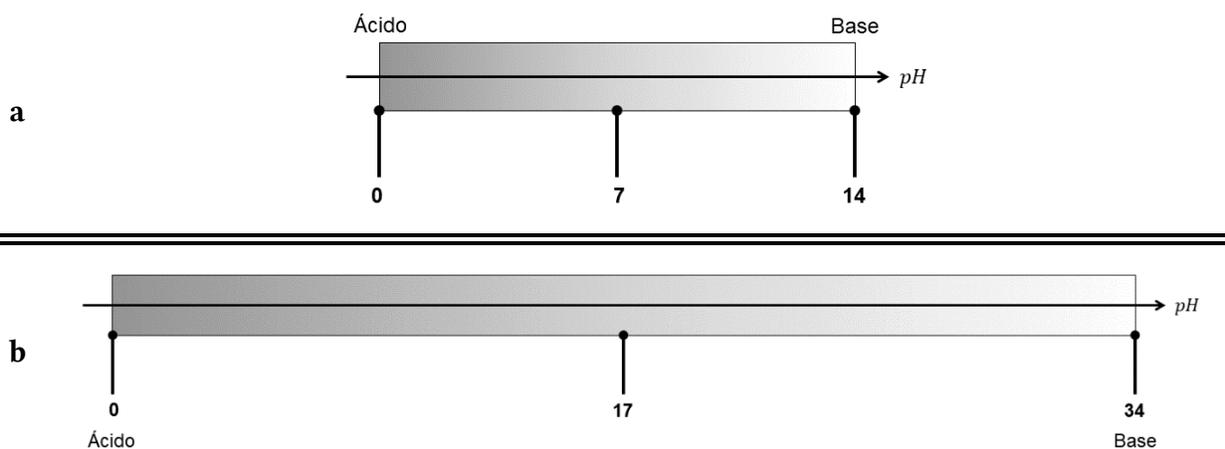
**Fig. 2** – Tautomerismo prototrópico en la 6-Mercaptopurina (arreglo tiona) en estado neutro.



**Fig. 3** – Tautomerismo tiona-tiol en la 6-Mercaptopurina, en estado neutro.

El análisis experimental de las propiedades fisicoquímicas de los distintos tautómeros de la 6-Mercaptopurina en disolución involucra varias dificultades técnicas (en particular, por su baja solubilidad en la mayoría de los disolventes y en especial en agua [41, 42, 43]), por lo que es interesante abordar el problema a través de la química computacional.

Como parte de las investigaciones que se realizan en el grupo de trabajo, se han desarrollado estudios en el formalismo DFT (por sus siglas en inglés, Teoría de los Funcionales de la Densidad), del tautomerismo de la hipoxantina, homólogo estructural de la 6-Mercaptopurina, en estado aislado y disolución acuosa, y de la estabilidad energética y termodinámica de los tautómeros de la 6-Mercaptopurina en fase gas. En este trabajo se presentan las propiedades energéticas y de disociación protónica de la 6-Mercaptopurina en los medios H<sub>2</sub>O y DMSO.



**Fig. 4** – Escalas de pH para H<sub>2</sub>O (**a**) y DMSO (**b**), que se desprenden de la Escala Unificada de Acidez de Bronsted [44].

Los resultados son de interés fundamental pues permiten identificar poblaciones tautoméricas, ya que existen controversias al respecto en distintos trabajos [3, 4], y porque existe la posibilidad de un cambio en la estabilidad de los distintos tautómeros de la 6-Mercaptopurina, al someterlos a una modificación en la constante dieléctrica del medio. Debido a la información obtenida a través de la metodología computacional utilizada, es posible proponerla para el estudio del tautomerismo prototrópico de heterociclos con estructura homóloga.

## 2 – Antecedentes

Las purinas son una familia de moléculas heterocíclicas basadas en un arreglo conocido como purina (Figura 5). Estas moléculas poseen una reactividad muy particular, ya que pueden participar en una reacción electrofílica o nucleofílica en el anillo de cinco miembros (segmento imidazol), mientras que en el anillo de seis miembros (segmento pirimidina) pueden reaccionar con un agente nucleofílico [5].

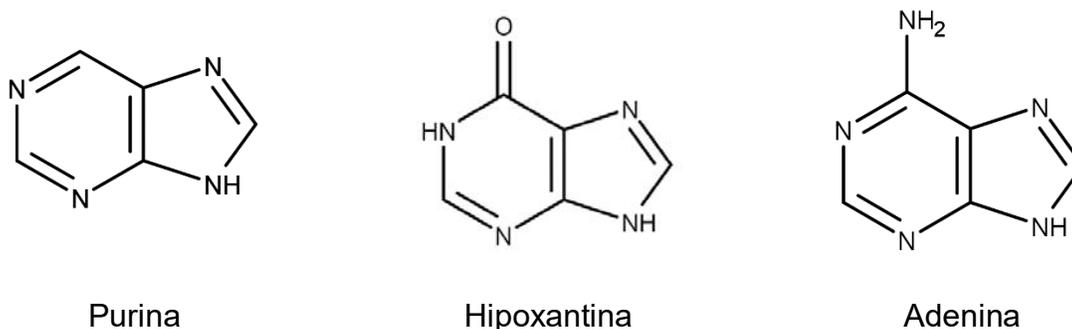


Fig. 5 – Moléculas de la familia de las purinas.

La reactividad de las purinas puede explicarse en términos simples, como la combinación de las propiedades de los grupos funcionales que las constituyen. Primero se tiene a la pirimidina, la cual se considera un sistema electro-deficiente, debido a la localización de electrones principalmente sobre los átomos de nitrógeno; en segunda instancia está el imidazol, el cual presenta una mejor distribución electrónica por aromaticidad, permitiendo que sus átomos de nitrógeno presenten enlaces sencillos y dobles.

Por lo anterior, la distribución global de electrones en una purina sin sustituyentes, se resume en el intercambio de electrones  $\pi$  entre anillos (donde uno satisface la deficiencia electrónica del otro), y dicho arreglo se puede modificar al introducir un grupo electro-atractor o electro-donador, en cualquiera de los anillos [6].

Debido al efecto de localización electrónica de los átomos de nitrógeno en las purinas, los átomos de carbono adyacentes son deficientes de densidad electrónica,

permitiendo que los átomos C(2), C(6) y C(8) sean más susceptibles a una sustitución nucleofílica. Se debe tomar en cuenta que el ataque del agente nucleofílico puede verse afectado por el estado de protonación de la purina; por ejemplo, en estado neutro el átomo con mayor reactividad es C(8), mientras que para un estado desprotonado, el ataque del nucleófilo es más favorable sobre el C(6).

Con respecto a la reactividad entre purinas y electrófilos, se observa una interacción favorable sobre la posición C(8) [5] que presenta carácter nucleofílico, y es aún mayor la reactividad si hay presente un grupo electro-donador en el segmento pirimidina. Ejemplos de dichas reacciones son la halogenación y nitración.

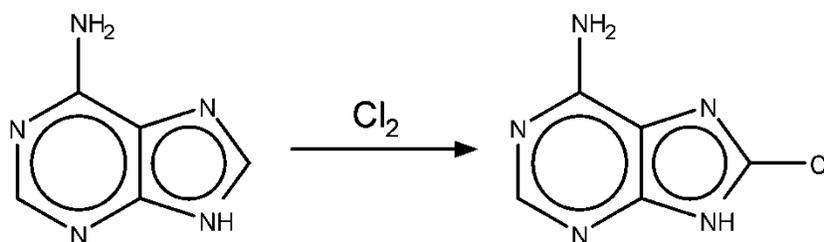


Fig. 6 – Halogenación de la adenina.

Las reacciones nucleofílicas con purinas son el método más utilizado para generar sustituciones de grupos funcionales sobre las posiciones más reactivas. Las purinas más versátiles en esta clase de reacciones son aquellas que contienen halógenos [5].

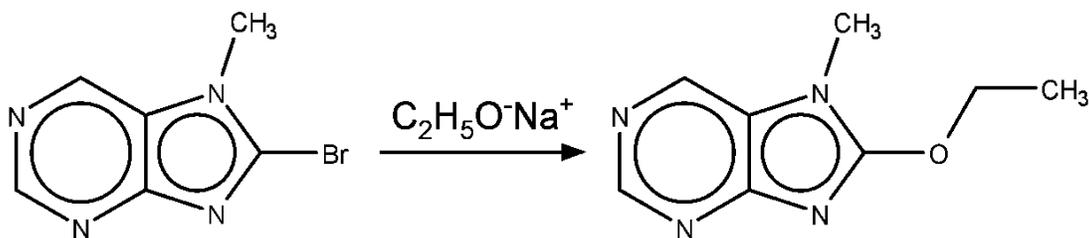


Fig. 7 – Ejemplo de una reacción de adición de un nucleófilo sobre la 7-Metil-8-bromopurina.

La 6-Mercaptopurina no es una molécula común, pues está clasificada como un profármaco; es una sustancia inocua, hasta que se introduce en el metabolismo para así presentar un efecto terapéutico [7]. Poco se conoce del medio de reacción de los diferentes procesos bioquímicos en los que la Mercaptopurina está involucrada; se ignora si existe un tautómero que se encuentre favorecido al momento de metabolizarse, y tampoco se sabe si los diferentes cambios en pH dentro del cuerpo humano inhiben su actividad farmacéutica.

Debido a los motivos anteriores, es necesario conocer el comportamiento de la 6-Mercaptopurina bajo diferentes condiciones de protonación y medios de solvatación. La necesidad de estudiar los diferentes arreglos que puede tener la Mercaptopurina, surge por la discrepancia en los resultados experimentales de las poblaciones tautoméricas entre dos equipos de trabajo: Lichtenberg y colaboradores en Israel [3] y Chenon y colaboradores en Francia [4].

El grupo de trabajo de Lichtenberg [3], había trabajado con 6-MP en estado neutro y en disolución acuosa, ellos encontraron una mayor contribución del tautómero N19 para la 6-MP en estado neutro y en disolución acuosa. El análisis se hizo utilizando espectroscopia UV-Visible y resonancia magnética nuclear de protón ( $^1\text{H-NMR}$ ).

Por otro lado, el equipo de Chenon [4], utilizaron técnicas de resonancia de protón acoplada a carbono ( $^1\text{H-}^{13}\text{C NMR}$ ) y cálculos con nivel de teoría CNDO/2, encontraron que en una disolución de 6-MP en DMSO existe una mezcla de tautómeros: 79% N17 y 21% N19.

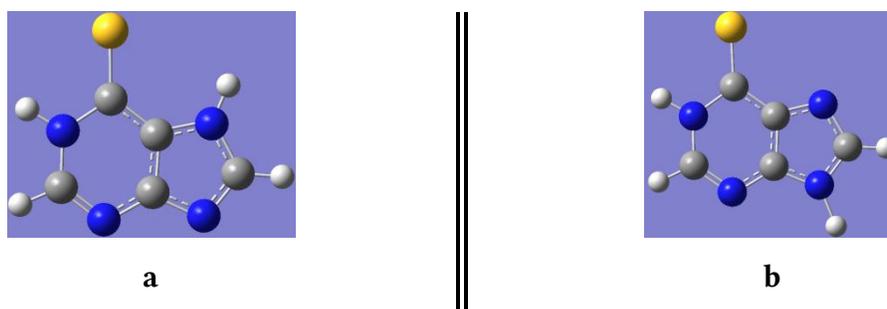


Fig. 8 – Arreglo espacial de los tautómeros neutros N17 (a) y N19 (b).

En años posteriores se continuó estudiando el tautomerismo de la 6-MP en matriz aislada (Ar y N<sub>2</sub>, a bajas temperaturas), a través de su capacidad de foto-tautomerización [8]. Se encontró que cuando la mercaptopurina en estado sólido interactúa con luz UV, existe una conversión del arreglo tiona en tiol.

Civcir [9] retomó el estudio computacional de la 6-Mercaptopurina utilizando nivel de teoría AM1 y PM3, y analizó la estabilidad energética de ocho tautómeros neutros. Observó que en fase gas ( $\epsilon = 1$ , donde  $\epsilon$  es la constante dieléctrica) la estructura N17 es más estable que la N19. También se realizó un estudio en fase acuosa ( $\epsilon = 78.4$ ) lo que reveló que el tautómero N17 es el más estable con respecto a los demás tautómeros estudiados; por lo tanto, el tautómero N19 no resultó predominante en medio acuoso.

En la década pasada el equipo de trabajo de Pazderski [10] identificó que al cristalizar la 6-Mercaptopurina, existe una conversión parcial de la especie neutra a la forma catiónica. Lo anterior permite inferir que no hay un tautómero predominante en fase sólida, y de nueva cuenta, se habla de la existencia de los tautómeros N17 y N19. Pazderski, infiere que la predicción de una mezcla tautomérica en estado sólido, puede ser simple consecuencia de la transferencia de un protón durante el proceso de cristalización.

En cuanto al comportamiento de la 6-MP en medios no-acuosos, Bartl y colaboradores [11], determinaron las poblaciones tautoméricas por <sup>13</sup>C NMR, e identificaron el comportamiento de las estructuras N17 y N19 en metanol, dimetilformamida (DMF) y dimetilsulfóxido (DMSO). A una temperatura de 206K se observa una contribución mayoritaria del arreglo N17, 92% en metanol y 90% en DMF; por otra parte, en DMSO y a una temperatura de 310K la población de la N17 es de 79%.

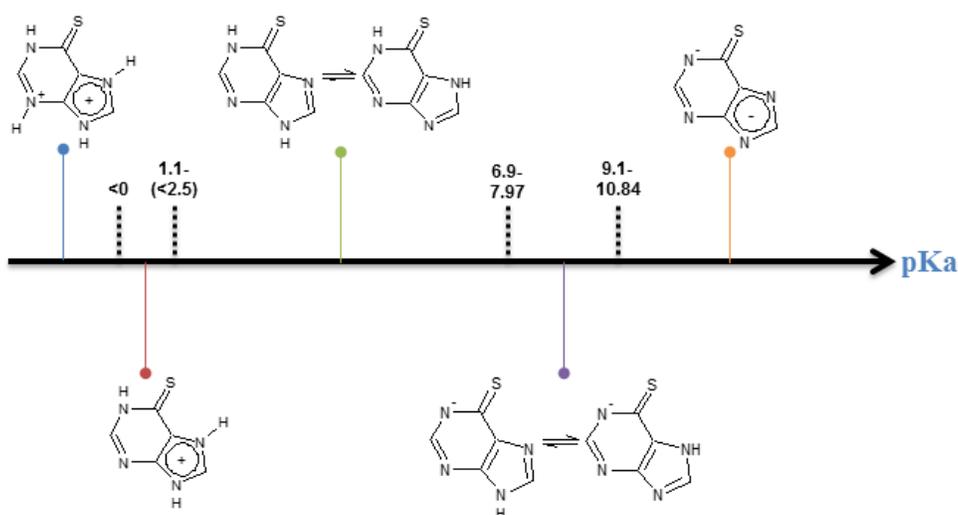
La familia de las moléculas tipo purínico en disolución acuosa y a distintas condiciones de pH, pueden presentar una modificación de la distribución de la densidad electrónica, debido a los procesos de protonación y desprotonación de los tautómeros

presentes. Por ejemplo, se ha determinado que la purina, al introducirse en un medio acuoso con  $pH < 2.5$  produce los siguientes arreglos monoaniónicos: N(1)H-N(9)H, N(3)H-N(9)H y N(7)H-N(9)H [5].

Un factor que modifica el valor de  $pK_a$  en las diferentes purinas, son los grupos funcionales en el heterociclo. Para la hipoxantina, su forma neutra N(1)H-N(9)H tiene un  $pK_a = 2.0$  y mientras tanto, el tautómero neutro N(9)H de la adenina presenta un  $pK_a = 4.2$  [5].

Para el caso de estudio de la Mercaptopurina, la determinación experimental de sus constantes de acidez no es tarea sencilla, debido a su baja solubilidad en medios polares y no polares [12].

Benezra y Foss [12] identificaron dos constantes de disociación ácida para la 6-Mercaptopurina:  $pK_{a1} = 7.77$  ( $6\text{-MP}^0 \rightarrow 6\text{-MP}^{1+}$ ) y  $pK_{a2} = 11.17$  ( $6\text{-MP}^{1+} \rightarrow 6\text{-MP}^{2+}$ ). En un estudio exhaustivo de heterociclos purínicos [13], no se identifica un valor específico de  $pK_a$  para cada proceso de protonación, así que se propone un intervalo de constantes de acidez, tomando en cuenta la coexistencia de uno o más tautómeros en un mismo estado de protonación de la Mercaptopurina.



**Fig. 9** – Diagrama unidimensional de zonas de predominio (DUZP), para la 6-Mercaptopurina en medio acuoso (Información recopilada por Acevedo-Chávez [13]).

El trabajo realizado por Cruz-Delgado [14] aborda el problema de la determinación de la constante de acidez (microscópica y global) en medio aislado, tomando en cuenta la contribución tautomérica. Como se puede observar en la Figura 10, las transiciones tautoméricas están asociadas únicamente a los arreglos más estables (y por ello, de mayor población) en cada estado de protonación.

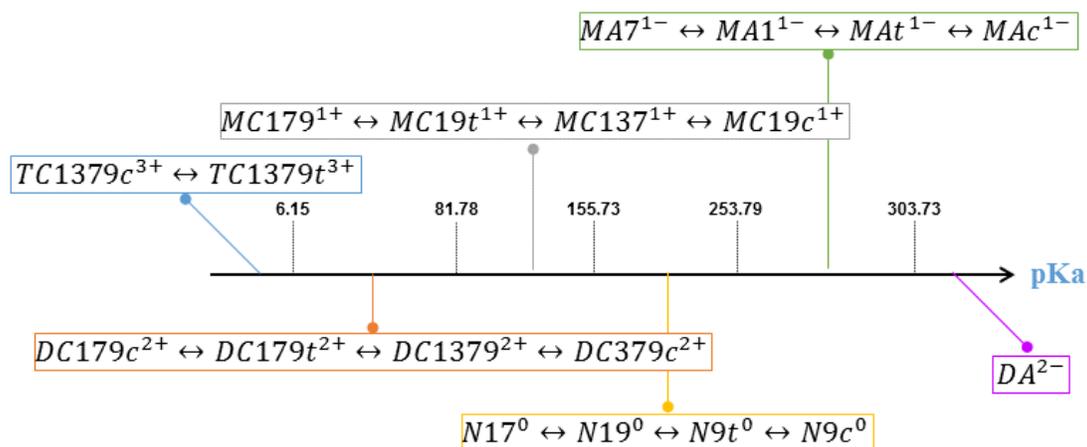
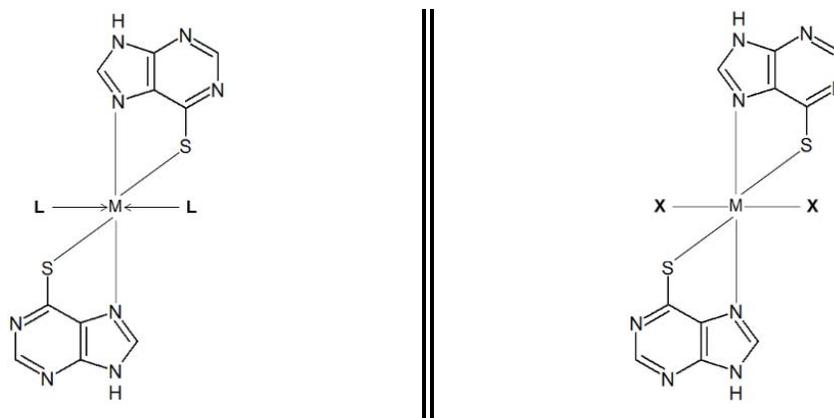


Fig. 10 – Diagrama unidimensional de zonas de predominio (DUZP), para la 6-Mercaptopurina en fase gas [14].

Existen diferentes métodos por los que se puede administrar Mercaptopurina a un paciente. Los más comunes son a través de la ingesta de compuestos de coordinación con centros metálicos (Cu, Cd) y 6-MP como ligante [15]. La utilización de la 6-MP como un agente quelante, garantiza que al introducirse en el cuerpo humano no haya procesos de tautomerización.

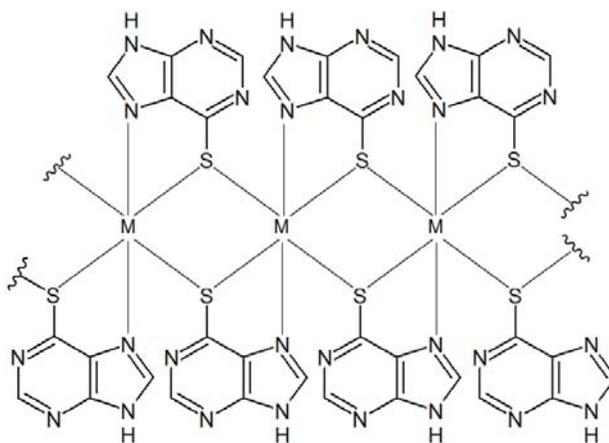
En el trabajo de Acevedo-Chávez [13], se presenta el estudio de la síntesis de un compuesto con 6-MP y Cu(II), tomando en cuenta la disponibilidad de sus diferentes tautómeros. Se encontró que bajo condiciones de síntesis ( $pH = 1$ , con diferentes contraiones en el medio), la entidad obtenida es el compuesto mononuclear Cu(II)(Mercaptopurinolato<sup>2-</sup>) (Figura 11).



**Fig. 11** – Esquemático de los modos de coordinación de la mercaptopurina sobre un núcleo metálico, donde:  $M = Cu^{2+}$ ,  $L =$  Ligante y  $X =$  Anión [13].

Otra aplicación interesante de la Mercaptopurina es su capacidad para generar capas delgadas bidimensionales cuando se introduce en una matriz de cadmio [16], mercurio [17] u oro [18, 19]; dichos materiales funcionan como medios de transferencia de carga o redes para atrapar iones. El hecho de que el material producido únicamente tenga dos dimensiones se debe, en principio, a la planaridad de la 6-MP.

Se ha observado que, al menos en fase aislada, cuando la molécula se apila para formar capas sobrepuestas, no presenta deformaciones en su estructura. Dicha estabilidad se debe a que existen interacciones entre las nubes  $\pi$  (presentes en los anillos del heterociclo) y a la formación de puentes de hidrógeno con las moléculas del mismo plano [20].



**Fig. 12** – Arreglo bidimensional de unidades 6-Mercaptopurina-Metal [20].

La literatura consultada indica que se han explorado las diferentes herramientas, que ofrece la química computacional, para abordar los diversos problemas en los que está involucrada la 6-MP.

En 2004 Barquera-Lozada [21], estudió la estabilidad energética y las propiedades electrónicas de los diferentes tautómeros de la Mercaptopurina en estado neutro (DFT, BP86/DZVP). Este trabajo retoma la controversia con respecto a la población tautomérica, pues se encontró que en medio aislado, el tautómero N17 es más estable que el N19, por una diferencia en su energía molecular total (con corrección de punto cero) de 2.924[kcal/mol].

Posteriormente, en 2009, Cruz-Delgado [14] publicó su trabajo de tesis en el que se obtuvieron cálculos (con un cambio en el nivel de teoría: DFT, B3LYP/6-31++G\*\*) de la estabilidad energética, las poblaciones tautoméricas y las constantes de acidez (microscópicas y globales) de la 6-MP en fase aislada (gas). De dicha literatura se realizaron diferentes observaciones muy interesantes:

- 1) La diferencia en energía molecular total, entre los tautómeros N17 y N19 es de 3.0177[kcal/mol], considerando nuevamente a N17 como la especie energéticamente más estable.
- 2) Las constantes de acidez global para los estados de protonación 6-MP<sup>3+</sup> a 6-MP<sup>1-</sup>, son dependientes de la concentración de más de un tautómero.
- 3) A partir del análisis del momento dipolo eléctrico de los tautómeros, se propone que en medio acuoso permanece la presencia de los tautómeros N17 y N19, favoreciendo la población de N19.

Más recientemente, en 2012, Sochacka y Pawelczak [2] utilizaron métodos de acoplamiento molecular, para conocer cuál es la molécula que tiene una mayor estabilidad energética en la relación ligante-proteína. Se encontró que, a condiciones

celulares de acidez ( $pH = 7.4$  [45]), la asociación entre el tautómero N17 y la proteína  $\alpha_1$ -Glicoproteína Ácida, es el arreglo más estable.

## ► 2.1 · Teoría de los Funcionales de la Densidad.

La Teoría de los Funcionales de la Densidad (DFT, por sus siglas en inglés) es una herramienta que permite el cálculo de la energía total de un átomo o molécula, a partir de la densidad electrónica  $\rho(\vec{r})$ . La densidad electrónica es una función que únicamente depende de la ubicación espacial de los electrones, tal que  $\rho(\vec{r}) = \rho(x, y, z)$  [32].

Se habla de  $\rho(\vec{r})$  como una variable más intuitiva para entender a la estructura electrónica de un sistema químico, ya que es un observable. Esto quiere decir que la densidad electrónica puede medirse a través de la difracción de rayos X o de la difracción de electrones [46]. Además, la densidad electrónica se puede utilizar para calcular el número total de electrones (N) del sistema [47], utilizando la siguiente relación:

$$N = \int \rho(\vec{r}) d\vec{r}$$

La ecuación anterior representa a la integral de la densidad electrónica evaluada en todo el espacio [25].

El papel estelar que juega la densidad electrónica en el cálculo de energía de un sistema químico depende de su relación directa con la energía total del sistema a través de un funcional:

$$E_0 = F(\rho_0)$$

Esta relación indica que la energía total del sistema en el estado fundamental ( $E_0$ ) es un funcional de la densidad electrónica del estado fundamental ( $\rho_0$ ). En matemáticas un funcional es una regla que relaciona una función con una cantidad escalar [48].

La conexión anterior no se debe a una coincidencia, ya que está fundamentada en el trabajo publicado por Hohenberg y Kohn en 1964 [49]. En dicho artículo los autores formulan los siguientes teoremas:

- a) Teorema de Existencia: Con una demostración *reductio ad absurdum* [25, 32] se establece que para cualquier sistema el operador Hamiltoniano electrónico ( $\hat{H}$ ) y la energía de estado fundamental ( $E_0$ ), dependen de la densidad electrónica de estado fundamental ( $\rho_0$ ).
- b) Teorema Variacional: Al calcular la energía total del sistema ( $E$ ) en función de una densidad electrónica distinta a la del estado fundamental (también conocida como densidad electrónica de prueba,  $\rho_{prueba}$ ), dicha energía está sobrevalorada con respecto a la energía de estado fundamental [46]. Esto se puede expresar utilizando la siguiente desigualdad:

$$E[\rho_{prueba}] \geq E_0[\rho_0]$$

- **Formalismo Kohn-Sham**

El problema principal que presenta el cálculo de la energía utilizando la Teoría de los Funcionales de la Densidad, es que no se puede conocer el arreglo completo del funcional de energía de estado fundamental.

En principio, se puede realizar la representación algebraica de la energía  $E_0$ , tomando en cuenta las contribuciones energéticas que ocurren debido a las interacciones entre núcleos y electrones:

$$E_0[\rho_0] = \langle T[\rho_0] \rangle + \langle V_{e-N}[\rho_0] \rangle + \langle V_{e-e}[\rho_0] \rangle$$

De tal manera que,  $\langle T[\rho_0] \rangle$  es el valor medio de energía cinética debida al movimiento de electrones,  $\langle V_{e-N}[\rho_0] \rangle$  es el valor medio de la energía potencial debido a la interacción electrón-núcleo y  $\langle V_{N-e}[\rho_0] \rangle$  es la contribución del valor medio de la energía potencial por interacciones electrostáticas electrón-electrón.

A pesar de nuestra falta de información para describir el funcional, generalmente se puede interpretar al término  $\langle V_{e-N}[\rho_0] \rangle$ , como una función del potencial externo. Según Cramer **[25]**, asumiendo que el sistema se comporta como un gas uniforme de electrones, el potencial externo ocurre por la atracción de los electrones hacia la carga positiva ( $Z_\alpha$ ) del núcleo ( $\alpha$ ), con  $\vec{r}_{i-\alpha}$  como la distancia electrón-núcleo; entonces:

$$v_{ext}(\vec{r}) = \sum_{\alpha} -\frac{Z_{\alpha}}{r_{i-\alpha}}$$

Esto significa que el valor medio por interacción electrón-núcleo se reduce a una simple interacción coulombica:

$$\langle V_{e-N}[\rho_0] \rangle = \int \rho_0(\vec{r}) v_{ext}(\vec{r}) d\vec{r}$$

Hasta ahora, se entiende que la descripción del funcional de energía ocurre en un sistema con electrones interactuantes, por lo que se dificulta elaborar una representación exacta de los términos restantes ( $\langle T[\rho_0] \rangle$  y  $\langle V_{e-e}[\rho_0] \rangle$ ). Aquí entra entonces la idea detrás del trabajo de Kohn y Sham: darle tratamiento al funcional como si se tratara de un sistema de electrones no-interactuantes **[34]**.

Se debe tener en cuenta que, cualquier término energético ( $\langle O[\rho_0] \rangle$ ) que constituye al funcional de energía en estado fundamental, tiene un valor diferente en el estado interactuante ( $\langle O[\rho_0] \rangle_{interactuante}$ ) y en el estado no-interactuante ( $\langle O[\rho_0] \rangle_{no-interactuante}$ ). Considerando lo anterior, debe existir una variable que nos

permita conocer la desviación que existe para la componente energética entre ambos estados:

$$\Delta\langle O[\rho_0]\rangle = \langle O[\rho_0]\rangle_{interactuante} - \langle O[\rho_0]\rangle_{no-interactuante}$$

Considerando los argumentos anteriores, se puede realizar una descripción aproximada del funcional de energía:

$$E_0[\rho_0] = \langle T[\rho_0]\rangle_{interactuante} - \langle T[\rho_0]\rangle_{no-interactuante} + \int \rho_0(\vec{r})v_{ext}(\vec{r})d\vec{r} \\ + \langle V_{e-e}[\rho_0]\rangle_{interactuante} - \langle V_{e-e}[\rho_0]\rangle_{no-interactuante}$$

En este punto, es necesario incluir la descripción completa de los términos energéticos en el sistema no-interactuante, pues el comportamiento físico de las partículas en dicho estado es más sencillo de interpretar.

Por un lado, se tiene que el valor medio de la energía potencial (en estado no interactuante) debida a la interacción electrón-electrón, se convierte en una interacción coulombica [47]:

$$\langle V_{e-e}[\rho_0]\rangle_{no-interactuante} = \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(\vec{r}_i)\rho(\vec{r}_j)}{r_{i-j}} d\vec{r}_i d\vec{r}_j$$

Donde  $\rho(\vec{r}_i)\rho(\vec{r}_j)$  representa la repulsión electrostática entre pares electrónicos y  $r_{i-j}$ , es la distancia entre electrones (el valor  $1/2$  se utiliza para evitar el conteo de pares idénticos  $r_{i-j} = r_{j-i}$ , con  $j > i$ ).

Otra herramienta que proponen Kohn y Sham es el construir la densidad electrónica del sistema interactuante en estado fundamental,  $\rho_0(\vec{r})$ , como la suma de las densidades de electrones individuales,  $\psi_i^2(\vec{r})$ , en un sistema no interactuante.

$$\rho(\vec{r}) = \rho_{no-interactuante}(\vec{r}) = \sum_i^N \psi_i^2(\vec{r})$$

Utilizando la relación anterior, la energía cinética en estado no-interactuante, quedaría descrita como sigue:

$$\langle T[\rho_0] \rangle_{no-interactuante} = -\frac{1}{2} \sum_i^N \int \psi_i^*(\vec{r}) (\nabla_i^2) \psi_i(\vec{r})$$

Donde  $\nabla_i^2$  es el operador Laplaciano  $(\frac{\partial^2}{\partial x_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial y_i^2} + \frac{\partial^2}{\partial z_i^2})$  sobre las coordenadas espaciales del i-ésimo electrón,  $\psi_i(\vec{r})$  es la función de onda mono-electrónica no interactuante y  $\psi_i^*(\vec{r}, s)$  es su conjugado complejo.

Hasta este punto se ha recopilado la información suficiente para tener una descripción algebraica aproximada del funcional de energía en estado fundamental:

$$E_0[\rho_0] = \langle T[\rho_0] \rangle_{interactuante} + \frac{1}{2} \sum_i^N \int \psi_i^*(\vec{r}) (\nabla_i^2) \psi_i(\vec{r}) + \int \rho_0(\vec{r}) v_{ext}(\vec{r}) d\vec{r} \\ + \langle V_{e-e}[\rho_0] \rangle_{interactuante} - \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(\vec{r}_i) \rho(\vec{r}_j)}{r_{i-j}} d\vec{r}_i d\vec{r}_j$$

Sin embargo, aún no se puede obtener el valor exacto de las contribuciones por energía cinética e interacciones electrón-electrón, en el sistema interactuante. Por lo tanto, es necesario proponer una nueva variable denominada energía de correlación e intercambio,  $E_{XC}[\rho_0(\vec{r})]$ , la cual no tiene un análogo o interpretación clásica, pero se define de la siguiente manera:

$$E_{XC}[\rho_0] \equiv \Delta \langle T[\rho_0] \rangle + \Delta \langle V_{e-e}[\rho_0] \rangle$$

Haciendo uso de este último recurso, se puede reescribir finalmente el funcional de energía en estado basal para un sistema electrónico interactuante:

$$E_0[\rho_0] = -\frac{1}{2} \sum_i^N \int \psi_i^*(\vec{r}) (\nabla_i^2) \psi_i(\vec{r}) + \int \rho_0(\vec{r}) v_{ext}(\vec{r}) d\vec{r} + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(\vec{r}_i) \rho(\vec{r}_j)}{r_{i-j}} d\vec{r}_i d\vec{r}_j + E_{xc}[\rho_0]$$

Finalmente, Kohn y Sham realizan el cálculo de la energía a través de una ecuación de valores propios (cada función de onda tiene asociada una energía,  $\varepsilon_i^{KS}$ )

$$\hat{h}^{KS} \psi_i = \varepsilon_i^{KS} \psi_i$$

Dónde el operador Kohn-Sham ( $\hat{h}^{KS}$ ) es la derivada del funcional de estado fundamental con respecto a la densidad de estado fundamental [50]:

$$\hat{h}^{KS} = \frac{\delta E_0[\rho_0]}{\delta \rho_0}$$

- **Aproximaciones a la Energía de Correlación e Intercambio**

A continuación, se explica brevemente en qué consiste (conceptualmente) cada aproximación que se utiliza para el cálculo de la energía de correlación e intercambio:

***Aproximación de Densidad Local de Espín*** (LSDA, por sus siglas en inglés) – Para determinar la energía de correlación-intercambio, se supone que la densidad electrónica es una función que crece o decrece lentamente [23], la cual no depende únicamente de la posición en el espacio de los electrones, sino también de la polarización del espín de dichas partículas.

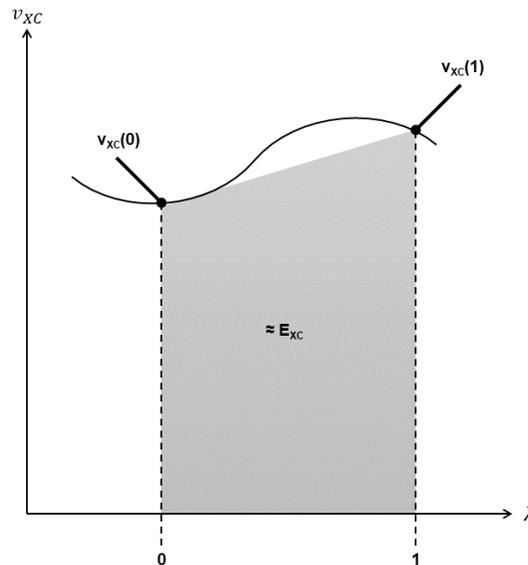
***Aproximación de Gradiente Generalizado*** (GGA, por sus siglas en inglés) – Se establece que la densidad electrónica es una función no homogénea (no está distribuida uniformemente en el espacio) [23]. El cálculo de la energía de correlación-intercambio debe tomar en cuenta dicha característica espacial de la

densidad electrónica, a través del gradiente de la función ( $\nabla\rho(\vec{r})$ ), para conocer en qué dirección crece o decrece dicha función.

**Fórmula de Conexión Adiabática** (ACF, por sus siglas en inglés) – Debido a la naturaleza no-interactuante del formalismo de Kohn y Sham, se requiere una descripción diferente para la energía de correlación e intercambio, que tome en cuenta el estado interactuante y el no-interactuante:

$$E_{XC} = \int_0^1 \psi_i^*(\lambda)[v_{XC}(\lambda)]\psi_i(\lambda)d\lambda$$

Con la relación anterior [23] se puede observar que el término de correlación-intercambio está caracterizado por la variable  $\lambda$ , que determina el tipo de sistema electrónico. La integral se evalúa entre dos valores (estados): cero y uno, donde 0 representa un sistema no-interactuante y 1 es para un sistema interactuante. Lo anterior se puede visualizar a través de la regla de integración del trapecio [51]:



**Fig. 13** – Representación gráfica del cálculo de la energía de correlación e intercambio, a partir de la regla de integración del trapecio.

Utilizando esta información es posible describir el funcional híbrido que en este trabajo se implementa para calcular la energía de correlación-intercambio:

$$E_{XC}^{B3LYP} = (1 - a)E_X^{LSDA} + aE_X^{exacta} + bE_X^{B88} + (1 - c)E_C^{LSDA} + cE_C^{LYP}$$

El funcional híbrido B3LYP (Becke, Tres Parámetros, Lee-Yang-Parr) [23], tiene tres términos que calculan el valor de la energía de intercambio por medio de las aproximaciones LSDA ( $E_X^{LSDA}$ ), ACF ( $E_X^{exacta}$ ) y GGA ( $E_X^{B88}$ ). Mientras tanto, la energía de correlación se calcula utilizando las aproximaciones LSDA ( $E_C^{LSDA}$ ) y GGA ( $E_C^{LYP}$ ).

Este funcional híbrido depende de tres parámetros empíricos: **a**, **b** y **c**; calculados a través del ajuste de datos experimentales. Dichos parámetros son indicadores del cálculo de la energía de correlación e intercambio [61]:

**a** – representa la contribución del estado no-interactuante en el cálculo de la energía

**b** – representa el efecto de la corrección GGA

**c** – está referido únicamente como un “parámetro de flexibilidad”

A pesar de que actualmente se disponen de funcionales que permiten calcular con mayor exactitud las propiedades energéticas y estructurales de una molécula (por ejemplo, los funcionales Minnesota desarrollados por Zhao y Truhlar [52]), B3LYP ha probado ser un funcional adecuado para la optimización y el cálculo de diferentes propiedades moleculares en derivados purínicos [55, 56, 57, 58].

Según Lewars y Sousa [46, 53]: a pesar de la existencia de funcionales que permiten un mejor análisis cuantitativo del sistema químico, “B3LYP permanece como una alternativa válida y particularmente eficiente para el problema promedio en la química cuántica” [53].

## ► 2.2 · Funciones de Base.

Como una definición simplificada, una función base es cualquier función matemática con la que se puede construir una función de onda [25]. Físicamente, una función base permite describir el comportamiento de un electrón en un átomo o molécula [40, 46].

A pesar de la definición anterior, esto no quiere decir que se utilicen únicamente orbitales atómicos hidrogenoides (es decir, orbitales atómicos que sean “una solución a la ecuación de Schrödinger” [40]) como funciones base. En general, se utiliza una combinación lineal de funciones matemáticas, para calcular orbitales atómicos y moleculares. Dichas funciones deben satisfacer las siguientes condiciones [40, 46]:

- Deben tener la misma cantidad y el mismo tipo de variables (es decir, deben contener coordenadas espaciales y de espín).
- Las funciones deben ser suaves y diferenciables.
- Deben presentar comportamiento asintótico, que permita describir al electrón a medida que se aleja del núcleo.

En un caso particular, es posible utilizar una función Gaussiana como función base, bajo la siguiente relación (en coordenadas cartesianas) [23]:

$$\chi(x, y, z) = x^{l_x} \cdot y^{l_y} \cdot z^{l_z} \cdot e^{-\zeta r^2}$$

Donde,  $l_x, l_y, l_z$  determinan la geometría de la función,  $\zeta$  es un coeficiente que controla qué tan rápido decrece la función Gaussiana a medida que se aleja del origen, y  $r$  es la distancia núcleo-electrón.

A pesar de que dicho tipo de función tiene una descripción matemática simple, desafortunadamente su implementación cuenta con diversas desventajas [46]. Cuando se utiliza una sola función Gaussiana para describir un orbital atómico se observa que, debido a su comportamiento suave, es difícil determinar la posición del núcleo ( $r = 0$ ). Además, a medida que aumenta la distancia núcleo-electrón, el decaimiento rápido de la

Gaussiana impide la descripción adecuada del comportamiento del electrón al alejarse del núcleo.

La solución a los inconvenientes que derivan de la implementación de funciones Gaussianas, se pueden reducir al utilizar un conjunto de funciones Gaussianas para reproducir un orbital atómico hidrogenoide [24]. La herramienta matemática que permite satisfacer estas condiciones, es la combinación lineal de funciones:

$$\chi_r = \sum_u d_{ur} g_u$$

donde  $g_u$  son Gaussianas (conocidas como primitivas) centradas en el mismo núcleo y con la misma geometría, pero con decaimiento diferente. Los coeficientes de contracción  $d_{ur}$  se utilizan para controlar la forma de la función  $\chi_r$  (conocida como función Gaussiana contraída) y garantizan la normalización de la densidad electrónica [32].

Se puede clasificar a los conjuntos de base dependiendo de la cantidad de funciones Gaussianas contraídas que se utilizan para describir los orbitales atómicos de un sistema. Por ejemplo, cuando se utiliza una función Gaussiana contraída para describir cada orbital atómico interno y externo, se está implementando un conjunto de base mínima. En consecuencia, cuando se utilizan dos funciones Gaussianas contraídas para describir cada orbital atómico, se está utilizando un conjunto de base doble zeta [23].

Debido a la necesidad de generar un método de cálculo que brinde resultados cuantitativos, pero con una baja demanda de recursos de cómputo, es necesario utilizar las siguientes herramientas para la construcción de un conjunto de bases:

**Aplicación de Conjuntos de Base de Valencia Dividida** – Utilizando la definición de Cramer [25]: la valencia dividida es una herramienta que permite

describir a los estados electrónicos de capa interna, con una mayor cantidad de funciones por estado electrónico, generando así un análisis cuantitativo del sistema, mientras que los estados electrónicos de capa externa, pueden describirse por una menor cantidad de funciones.

**Uso de Funciones Difusas** – Un conjunto de bases difusas, es aquel que utiliza una combinación lineal de funciones, las cuales decrecen lentamente (es decir, donde  $\zeta \rightarrow 0$ ) [25]. Se utilizan para describir estados electrónicos poco ligados, como los que se presentan en sistemas aniónicos o excitados.

**Uso de Funciones Polarizadas** – Un conjunto de bases polarizadas, es aquel que utiliza una combinación lineal de funciones, las cuales describen estados electrónicos virtuales con mayor momento angular, con respecto a las funciones que representan a los estados electrónicos de valencia [25]. Este tipo de funciones permite una mejor descripción de los fenómenos no-clásicos de correlación e intercambio.

Con la información anterior, se puede decodificar los elementos que constituyen al orbital que se utiliza en el presente trabajo. De tal manera que 6-31++G(d,p) está descrito por:

- a) La parte numérica (6-31), señala que se utilizan seis funciones primitivas para construir las funciones Gaussianas contraídas que describen a los orbitales de core, mientras que se utilizan tres funciones primitivas para construir las funciones Gaussianas contraídas que describen a los orbitales de capa interna y finalmente, una función primitiva para construir las funciones Gaussianas contraídas que describen a los orbitales de capa externa.
- b) Los dos signos de adición (++), indican que se están utilizando funciones difusas para describir átomos pesados y átomos de hidrógeno.

- c) Las dos letras que aparecen entre paréntesis (d,p), señalan que se utiliza una base con orbitales tipo *d* para la polarización de orbitales tipo *p*. Por otro lado, se aplica una base con orbitales tipo *p* para la polarización de orbitales tipo *s*.

### ► 2.3 · Solvatación y Modelo de Apantallamiento para Pseudo-Conductor.

Según la IUPAC, el proceso de solvatación es “cualquier interacción estabilizadora de un soluto y del disolvente” [35]. Dependiendo del soluto y del disolvente, el mecanismo de solvatación puede ocurrir por diferentes mecanismos. Sin embargo, usualmente se presenta la formación de una capa de disolvente, llamada esfera de solvatación, la cual rodea al soluto. En dicha esfera de solvatación ocurren interacciones de tipo electrostático o van der Waals entre soluto y disolvente [35], entre otras interacciones.

La espontaneidad del proceso de solvatación depende del cambio en la energía libre de Gibbs de solvatación ( $\Delta\bar{G}_{solvatación}^0$ ) [38, 59], que está representada en la siguiente ecuación:

$$\Delta\bar{G}_{solvatación}^0 = \bar{G}_{i,Disolvente}^0 - \bar{G}_{i,Aislado}^0$$

El  $\Delta\bar{G}_{solvatación}^0$  se determina como: la diferencia entre el valor de la energía libre de Gibbs (del componente *i*), en fase aislada ( $\bar{G}_{i,Aislado}^0$ ) y en disolución ( $\bar{G}_{i,Disolvente}^0$ ), considerando que el estado inicial de la sustancia *i* es en fase aislada, y su estado final es en el disolvente.

El modelo de solvatación que se utilizó para la elaboración del presente trabajo, se denomina Modelo de Apantallamiento para Pseudo-Conductor (COSMO, por sus siglas en inglés). Este modelo permite describir el comportamiento del soluto dentro de un medio continuo (infinito) que está caracterizado por el valor de la constante dieléctrica del disolvente [29, 38].

Todo modelo teórico de solvatación tiene un impacto en el cálculo de la energía total del sistema bajo estudio. En este caso, COSMO tiene una contribución energética que únicamente depende de interacciones electrostáticas entre el medio continuo dieléctrico (disolvente) y el soluto, este último queda representado por una función denominada cavidad.

La cavidad es una construcción geométrica que permite representar el volumen ocupado por una molécula, dentro del medio dieléctrico continuo [37]. Lo anterior queda expresado por la siguiente función:

$$\Gamma = \{m_1(\vec{t}_1, s_1), \dots, m_j(\vec{t}_j, s_j)\}$$

Donde la cavidad  $\Gamma$ , es un término de volumen que depende del conjunto de segmentos de superficie ( $m_j$ ). Por otro lado,  $m_j$ , está descrito por las coordenadas espaciales ( $\vec{t}_j$ ) y el área ( $s_j$ ) de cada átomo que constituye al soluto.

Para el caso particular de COSMO, se dice que la cavidad es penetrante (también llamada cavidad de superficie accesible) [26, 54] debido a que existen segmentos de superficie en los que interactúa el medio dieléctrico con el ambiente electrostático al interior de la cavidad.

La descripción electrostática del soluto y el disolvente depende de la ecuación de Poisson [26]:

$$\nabla^2 \varphi(\vec{t}) = \begin{cases} 4\pi\rho(\vec{t}); & \vec{t} \in \Gamma \\ 0; & \vec{t} \in \Gamma^c \end{cases}$$

Donde  $\varphi(\vec{t})$  es el potencial electrostático y  $\rho(\vec{t})$  es la densidad de carga de la cavidad, en el sistema de solvatación.

El cálculo de la contribución energética ( $E_{solvatación}$ ) que se obtiene a partir de COSMO, depende de la solución de un problema de condiciones a la frontera [26, 54]:

**Primera Condición a la Frontera** – Condición de conductor ( $\vec{t} \in \Gamma$ ), dentro de la cavidad: La energía potencial por contribución electrostática queda en función de la polarización de las cargas dentro de la cavidad, y la constante dieléctrica ( $\varepsilon$ ) que caracteriza al disolvente. La dependencia con  $\varepsilon$  se introduce como un factor de proporcionalidad, tal que:

$$E_{solvatación} = f(\varepsilon) \cdot \frac{1}{2} \int \rho(\vec{t}) (\varphi(\vec{t}) - \varphi_0(\vec{t})) d\vec{t}$$

De la relación anterior se desprende que:  $\varphi_0(\vec{t})$  es el potencial electrostático generado por  $\rho(\vec{t})$  en el vacío. Por otra parte,  $f(\varepsilon)$  es un factor de proporcionalidad que indica cuánto se modifica la polarización del ambiente electrostático dentro de la cavidad, por efecto del disolvente. La descripción de  $f(\varepsilon)$ , es la que sigue:

$$f(\varepsilon) = \frac{\varepsilon - 1}{\varepsilon + x}$$

Donde  $x$  es una constante, cuyo valor cambia dependiendo del sistema bajo estudio. Por ejemplo,  $x$  es 0.5 para sistemas de capa cerrada, mientras que para sistemas ionizados  $x$  toma el valor de 0.0 [37].

**Segunda Condición a la Frontera** – Condición de dieléctrico ( $\vec{t} \in \Gamma^c$ ), fuera de la cavidad: La energía potencial por contribución electrostática queda únicamente en función del campo eléctrico generado sobre los segmentos de superficie de la cavidad ( $\vec{t} \in \Gamma^c$ ).

El análisis experimental de las propiedades fisicoquímicas de los distintos tautómeros de la 6-Mercaptopurina en disolución involucra varias dificultades técnicas (como se ha mencionado en la **Sección 1** del presente trabajo).

Se busca realizar el estudio de este derivado purínico, a través de la Teoría de los Funcionales de la Densidad para determinar las propiedades energéticas y moleculares de todos los tautómeros presentes en cada estado de protonación. Además, se desea aprovechar la información recopilada por el modelo de solvatación implícita para determinar de qué manera cambian los mecanismos de protonación en función del disolvente.

Tomando en cuenta que existe la relación entre la energía libre de Gibbs, la constante de equilibrio y la población tautomérica (en fracción mol) se espera determinar los arreglos tautoméricos más estables. Con lo anterior también se busca aportar información al debate que involucra las poblaciones tautoméricas de la 6-Mercaptopurina en estado neutro.

### 3 – Metodología

Para el estudio de los diferentes tautómeros de la Mercaptopurina, en fase H<sub>2</sub>O y DMSO, se utilizó el nivel de teoría implementado por Cruz-Delgado [14], B3LYP/6-31++G(d,p), para la optimización de las estructuras moleculares y el cálculo de propiedades energéticas tales como la energía molecular total, la energía del punto cero y la energía libre de Gibbs, esta última a través del cálculo de frecuencias vibracionales, bajo un modelo de disolvente.

En el presente este trabajo, se reproducen íntegramente la optimización de la geometría molecular y el cálculo de propiedades energéticas (a 298.15K y en condiciones ideales) que realizó Cruz Delgado [14], para todos los posibles tautómeros de la Mercaptopurina en fase gas al nivel de cálculo B3LYP/6-31++G(d,p). También se comprobó que las estructuras de los tautómeros son estados estacionarios (ausencia de frecuencias de vibración imaginarias). Estos datos se incluyen por la necesidad de facilitar la comparación entre los resultados para los tautómeros en fase gas y en disolvente.

A lo largo de este trabajo se habla de que el cálculo se realizó en fase gas o en fase aislada. Ambos términos se utilizan de manera intercambiable, ya que, se lleva a cabo el cálculo computacional de la energía de la molécula, en condiciones de baja densidad, sin efecto de apantallamiento por dieléctrico y sin interacciones con otras moléculas a su alrededor.

De los resultados obtenidos, para los tautómeros de 6-MP en fase gas, se identificaron los tautómeros más estables en un intervalo de energía molecular total de 10[kcal·mol<sup>-1</sup>] para cada estado de protonación (3+, 2+, 1+, 0, 1-, 2-). Esta cota es suficiente para afirmar que, los tautómeros con una diferencia de energía libre de Gibbs molar (con respecto al tautómero más estable) mayor que 10[kcal·mol<sup>-1</sup>], difícilmente se encontrarán entre los más estables en los modelos de disolvente a utilizar [28].

Las estructuras moleculares seleccionadas se optimizaron bajo un esquema de campo reactivo auto-consistente (SCRF, por sus siglas en inglés) con el modelo de disolvente CPCM, utilizando los valores de constante dieléctrica del  $\text{H}_2\text{O}_{(l)}$  ( $\epsilon = 78.39$ ) y  $\text{DMSO}_{(l)}$  ( $\epsilon = 46.7$ ), con un tamaño de cavidad estándar que es 1.2 veces el radio de van der Waals.

A partir de los resultados obtenidos del proceso de optimización de geometría, bajo el esquema de modelo de disolvente (con agua y DMSO), se comprobó que las estructuras de los tautómeros son estados estacionarios, es decir, no presentan frecuencias de vibración imaginarias. También se obtuvieron los valores de energía molecular total, la energía del punto cero y la energía libre de Gibbs, cuyo cálculo mecánico-estadístico se realiza a 298.15K y en condiciones ideales.

El análisis de los valores de la energía libre de Gibbs molar de los tautómeros en cada estado de protonación, permite determinar la secuencia de estabilidad energética y termodinámica de los mismos; el tautómero más estable es el que muestra la energía libre molar más baja de todos los tautómeros en cada estado de protonación (la estabilidad energética va de la mano con la estabilidad termodinámica). A partir de los valores de energía libre de Gibbs, se calcularon las constantes de equilibrio tautomérico  $K_{eq}$  (tautómero de referencia  $j \Leftrightarrow$  tautómero  $i$ ). Las poblaciones tautoméricas para cada estado de protonación heterocíclica (como fracciones mol,  $x_i$ ) se obtuvieron en función de los valores de las constantes de equilibrio  $K_{eq}$ .

Consecuentemente, para cada proceso de disociación protónica y cada disolvente, se determinó la constante de acidez microscópica (tautomérica) y macroscópica (global), así como los respectivos pKa. Además, se calculó el  $\Delta\bar{G}^0$  de solvatación de las distintas especies (para el proceso:  $Tautómero_{i, Aislado} = Tautómero_{i, Disolvente}$ ), como la diferencia de los valores de:  $\bar{G}^0$  del tautómero en el disolvente y  $\bar{G}^0$  del tautómero en fase gas (véase la **Sección 2.3** del presente trabajo).

A partir de la información recabada con respecto a las propiedades energéticas de los distintos tautómeros estudiados, es posible describir el proceso de desprotonación de los tautómeros como:



El cambio en la energía libre de Gibbs para el equilibrio de desprotonación queda de la siguiente manera:

$$\Delta \bar{G}^{\circ}_{Disociación} = (G^{\circ}_{Tautómero j, Disolvente} + G^{\circ}_{H^+, Disolvente}) - G^{\circ}_{Tautómero i, Disolvente}$$

Donde  $G^{\circ}_{Tautómero j}$  es el valor de la energía libre del tautómero desprotonado y  $G^{\circ}_{Tautómero i}$  es el valor de la energía libre del tautómero en su estado protonado.

Los valores de la energía libre de Gibbs de  $H^+$ , en fase gas y en medios polares, se obtuvieron de la literatura y son los siguientes: aislado:  $-6.28[\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}]$  [29]; en  $H_2O$ :  $-265.9[\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}]$  [30]; en DMSO:  $-273.3[\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}]$  [31]. Cabe señalar que, aunque se utilizan en este trabajo valores de energía libre de Gibbs molar del protón en medio acuoso y en DMSO obtenidos con otras metodologías (es decir, con diferente nivel de teoría), al ser una constante en el medio, no altera las tendencias cualitativas encontradas.

Tomando en cuenta el cambio en la energía libre de Gibbs de la desprotonación, se puede calcular la constante microscópica de disociación protónica ácida,  $Ka^{ij}$ , de la siguiente forma

$$Ka^{ij} = Ka_{Microscópica,ij} = \exp \left\{ -\frac{\Delta \bar{G}^{\circ}_{Disociación,ij}}{RT} \right\}$$

Donde R es el valor de la constante de los gases ideales ( $8.31447 [\text{J/molK}]$ ) y T es la temperatura a la que ocurre el proceso de desprotonación ( $298.15\text{K}$ ).

La constante de disociación protónica global ( $Ka_{ij}^*$ ) se calcula considerando las poblaciones tautoméricas de las especies involucradas en el proceso [60]:

$$pKa_{ij}^* = pKa^{ij} - \log_{10}(x_i) + \log_{10}(x_j)$$

En la ecuación anterior  $pKa^{ij}$  es el operador  $p$  (tal que  $p = -\log_{10}[z]$ ) aplicado al valor de la constante de disociación protónica ácida microscópica, mientras tanto el  $\log_{10}(x_i)$  y  $\log_{10}(x_j)$  son las contribuciones de la fracción mol de los tautómeros involucrados en el proceso de desprotonación.

La nomenclatura con la que se representan a los tautómeros, en sus diferentes estados de protonación es: **TC**, tricatió; **DC**, dicatió; **MC**, monocatió; **MA**, monoanió; **DA**, dianió. Por otra parte, cuando la molécula tiene el grupo funcional tiol (SH), puede tener la configuración *c*, cis al átomo N(1); o la configuración *t*, trans al átomo N(1). Los números en el nombre del tautómero, indican los átomos de hidrógeno enlazados a nitrógeno en posiciones endocíclicas.

Todos los cálculos teóricos se desarrollaron con el conjunto de programas Gaussian09 en sistemas PC-Linux en el laboratorio de modelado del grupo de trabajo, Departamento de Físicoquímica, UNAM.

## 4 – Resultados y Discusión

### ► 4.1 · Estabilidad Energética y Termodinámica de la 6-Mercaptopurina en Fase Gas.

La Figura 14 esquematiza a todos los tautómeros posibles de la 6-Mercaptopurina en los distintos estados de protonación, en medio aislado.

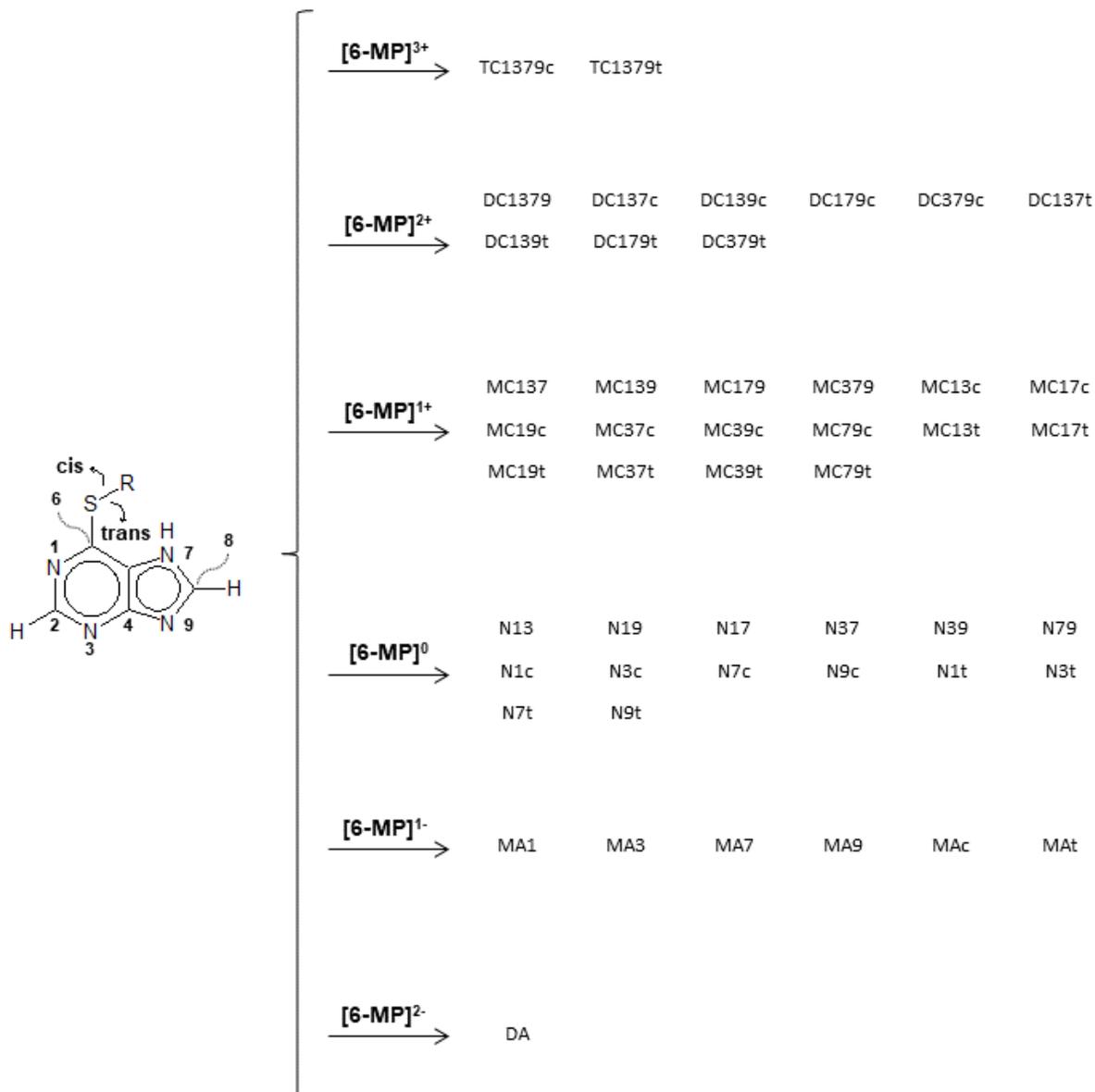


Fig. 14 – Tautómeros posibles de la 6-Mercaptopurina (en fase gas), para cada estado de protonación.

Los datos recopilados del estudio de los tautómeros en fase gas, permiten discernir a los tautómeros más estables para cada uno de los estados de protonación (véase criterio en la **Sección 3** del presente trabajo).

En la Tabla 1 se muestran los valores de la diferencia de energía molecular total (incluyendo la energía de punto cero) y la diferencia de energía libre de Gibbs con respecto al tautómero más estable en cada estado de protonación en fase gas. En ella se muestran también los valores de la fracción mol ( $x_i$ ) y de la constante de equilibrio tautomérico ( $K_{eq,i}$ ) para la transformación: Tautómero Más Estable  $j \rightarrow$  Tautómero  $i$ .

El estudio anterior de la Mercaptopurina en fase gas [14], permitió identificar los sitios más importantes donde ocurre la disociación protónica, siendo estos: 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 pKa tautoméricos son también, los que contribuyen preponderantemente al correspondiente valor de pKa global. Los valores de pKa global muestran que los heterociclos resultantes a cada paso de disociación protónica son termodinámicamente más inestables que sus predecesores.

**Tabla 1** Valores de: la diferencia de energía molecular total, la diferencia de energía libre de Gibbs ( $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) [con respecto al tautómero más estable], las constantes de equilibrio tautomérico ( $K_{eq,i}$ ) y las fracciones mol ( $x_i$ ); para tautómeros selectos de 6-Mercaptopurina en fase gas, para sus diferentes estados de protonación.

| Tautómero                                 | $\Delta\bar{E}^0$<br>( $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) <sup>a</sup> | $\Delta\bar{G}^0$<br>( $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) | $K_{eq,i}$           | $x_i$                |
|---|---|--|----------------------|----------------------|
| <b>(a) 6-Mercaptopurina Tricatiónica</b>  |   |  |                      |                      |
| TC1379c                                   | 0.00  | 0.00   | -                    | 0.960                |
| TC1379t                                   | 1.92  | 1.88   | $4.20\times 10^{-2}$ | $4.03\times 10^{-2}$ |
| <b>(b) 6-Mercaptopurina Dicatiónica</b>   |   |  |                      |                      |
| DC179c                                    | 0.00  | 0.00   | -                    | 0.922                |
| DC179t                                    | 1.71  | 1.56   | $7.23\times 10^{-2}$ | $6.67\times 10^{-2}$ |
| DC1379                                    | 2.55  | 2.64   | $1.16\times 10^{-2}$ | $1.07\times 10^{-2}$ |
| DC379c                                    | 4.02  | 4.07   | $1.05\times 10^{-3}$ | $9.66\times 10^{-4}$ |
| <b>(c) 6-Mercaptopurina Monocatiónica</b> |   |  |                      |                      |
| MC179                                     | 0.00  | 0.00   | -                    | 0.875                |
| MC19t                                     | 1.38  | 1.29   | 0.114                | $9.98\times 10^{-2}$ |
| MC37c                                     | 2.32  | 2.15   | $2.66\times 10^{-2}$ | $2.33\times 10^{-2}$ |
| MC137                                     | 3.86  | 3.81   | $1.61\times 10^{-3}$ | $1.41\times 10^{-3}$ |
| MC19c                                     | 4.64  | 4.44   | $5.57\times 10^{-4}$ | $4.87\times 10^{-4}$ |
| <b>(d) 6-Mercaptopurina Neutra</b>        |   |  |                      |                      |
| N17                                       | 0.00  | 0.00   | -                    | 0.988                |
| N19                                       | 3.02  | 3.00   | $6.34\times 10^{-3}$ | $6.26\times 10^{-3}$ |
| N9t                                       | 3.41  | 3.31   | $3.77\times 10^{-3}$ | $3.73\times 10^{-3}$ |
| N9c                                       | 3.88  | 3.74   | $1.81\times 10^{-3}$ | $1.78\times 10^{-3}$ |
| <b>(e) 6-Mercaptopurina Monoaniónica</b>  |   |  |                      |                      |
| MA7                                       | 0.00  | 0.00   | -                    | 0.727                |
| MA1                                       | 0.58  | 0.59   | 0.370                | 0.269                |
| MAt                                       | 3.15  | 3.06   | $5.68\times 10^{-3}$ | $4.13\times 10^{-3}$ |
| MAc                                       | 4.76  | 4.59   | $4.30\times 10^{-4}$ | $3.13\times 10^{-4}$ |
| <b>(f) 6-Mercaptopurina Dianiónica</b>    |   |  |                      |                      |
| Tautómero                                 | $\bar{E}^0$<br>( $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) <sup>a</sup>       | $\bar{G}^0$<br>( $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ )       | $K_{eq,i}$           | $x_i$                |
| DA  | -507584.14  | -507604.26   | -                    | -                    |

<sup>a</sup>Incluye la contribución de energía vibracional de punto-cero.

## ► 4.2 · Estabilidad Energética y Termodinámica de la 6-Mercaptopurina en H<sub>2</sub>O y DMSO.

La Tabla 2 muestra los valores obtenidos de: diferencia de energía molecular total, la diferencia de energía libre de Gibbs, constante tautomérica y fracción mol, asociados a cada tautómero analizado en los medios H<sub>2</sub>O y DMSO, incluyendo los diversos estados de protonación disponibles para la 6-Mercaptopurina. Las diferencias energéticas que se obtienen por cada estado de protonación quedan referidas al tautómero más estable presente en la disolución.

Por otro lado, la Figura 15 es una representación de los tautómeros más estables para la 6-MP en los medios H<sub>2</sub>O y DMSO, en todos los estados de protonación posibles.

**Tabla 2** Valores de: la diferencia de energía molecular total, la diferencia de energía libre de Gibbs ( $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) [con respecto al tautómero más estable], constantes de equilibrio tautomérico ( $K_{eq,i}$ ) y fracciones mol ( $x_i$ ); a 298.15K, para tautómeros selectos de 6-Mercaptopurina en agua ( $\epsilon = 78.3553$ ) y en DMSO ( $\epsilon = 46.826$ ), para sus diferentes estados de protonación.

| Disolvente                                | Tautómero | $\Delta\bar{E}^0$<br>( $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) <sup>a</sup> | $\Delta\bar{G}^0$<br>( $\text{kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) | $K_{eq,i}$           | $x_i$                |
|---|-----------|---|--|----------------------|----------------------|
| <b>(a) 6-Mercaptopurina Tricatiónica</b>  |           |   |  |                      |                      |
| <b>H<sub>2</sub>O</b>                     | TC1379c   | 0.00  | 0.00   | -                    | 0.626                |
|   | TC1379t   | 0.49  | 0.30   | $5.98\times 10^{-1}$ | 0.374                |
| <b>DMSO</b>                               | TC1379c   | 0.00  | 0.00   | -                    | 0.629                |
|   | TC1379t   | 0.62  | 0.31   | $5.89\times 10^{-1}$ | 0.371                |
| <b>(b) 6-Mercaptopurina Dicatiónica</b>   |           |   |  |                      |                      |
| <b>H<sub>2</sub>O</b>                     | DC1379    | 0.00  | 0.00   | -                    | 0.936                |
|   | DC179c    | 2.04  | 1.99   | $3.45\times 10^{-2}$ | $3.23\times 10^{-2}$ |
|   | DC179t    | 2.43  | 2.02   | $3.29\times 10^{-2}$ | $3.08\times 10^{-2}$ |
|   | DC379c    | 4.39  | 4.30   | $7.01\times 10^{-4}$ | $6.57\times 10^{-4}$ |
| <b>DMSO</b>                               | DC1379    | 0.00  | 0.00   | -                    | 0.928                |
|   | DC179c    | 2.10  | 1.91   | $3.99\times 10^{-2}$ | $3.70\times 10^{-2}$ |
|   | DC179t    | 2.68  | 1.95   | $3.70\times 10^{-2}$ | $3.44\times 10^{-2}$ |
|   | DC379c    | 4.50  | 4.25   | $7.65\times 10^{-4}$ | $7.10\times 10^{-4}$ |
| <b>(c) 6-Mercaptopurina Monocatiónica</b> |           |   |  |                      |                      |
| <b>H<sub>2</sub>O</b>                     | MC179     | 0.00  | 0.00   | -                    | 0.998                |
|   | MC137     | 3.66  | 3.63   | $2.19\times 10^{-3}$ | $2.18\times 10^{-3}$ |
| <b>DMSO</b>                               | MC179     | 0.00  | 0.00   | -                    | 0.999                |
|   | MC137     | 3.71  | 3.63   | $2.18\times 10^{-3}$ | $2.18\times 10^{-3}$ |
| <b>(d) 6-Mercaptopurina Neutra</b>        |           |   |  |                      |                      |
| <b>H<sub>2</sub>O</b>                     | N17       | 0.00  | 0.00   | -                    | 0.776                |
|   | N19       | 0.71  | 0.74   | $2.89\times 10^{-1}$ | 0.224                |
| <b>DMSO</b>                               | N17       | 0.00  | 0.00   | -                    | 0.787                |
|   | N19       | 0.75  | 0.79   | $2.70\times 10^{-1}$ | 0.213                |
| <b>(e) 6-Mercaptopurina Monoaniónica</b>  |           |   |  |                      |                      |
| <b>H<sub>2</sub>O</b>                     | MA7       | 0.00  | 0.00   | -                    | 0.958                |
|   | MA9       | 2.02  | 2.08   | $2.97\times 10^{-2}$ | $2.84\times 10^{-2}$ |
|   | MA1       | 2.53  | 2.55   | $1.36\times 10^{-2}$ | $1.30\times 10^{-2}$ |

|      |     |      |      |                       |                       |
|------|-----|------|------|-----------------------|-----------------------|
|      | MA3 | 4.41 | 4.41 | $5.90 \times 10^{-4}$ | $5.65 \times 10^{-4}$ |
| DMSO | MA7 | 0.00 | 0.00 | -                     | 0.696                 |
|      | MA1 | 0.48 | 0.58 | 0.373                 | 0.260                 |
|      | MA9 | 1.63 | 1.63 | 0.064                 | $4.43 \times 10^{-2}$ |

(f) 6-Mercaptopurina Dianiónica

| Disolvente       | Tautómero | $\bar{E}^0$<br>(kcal·mol <sup>-1</sup> ) <sup>a</sup> | $\bar{G}^0$<br>(kcal·mol <sup>-1</sup> ) | $K_{eq,i}$ | $x_i$ |
|------------------|-----------|---|--|------------|-------|
| H <sub>2</sub> O | DA        | -507771.70  | -507791.75                               | -          | 1.000 |
| DMSO             | DA        | -507760.83  | -507785.07                               | -          | 1.000 |

<sup>a</sup>Incluye la contribución de energía vibracional de punto-cero.

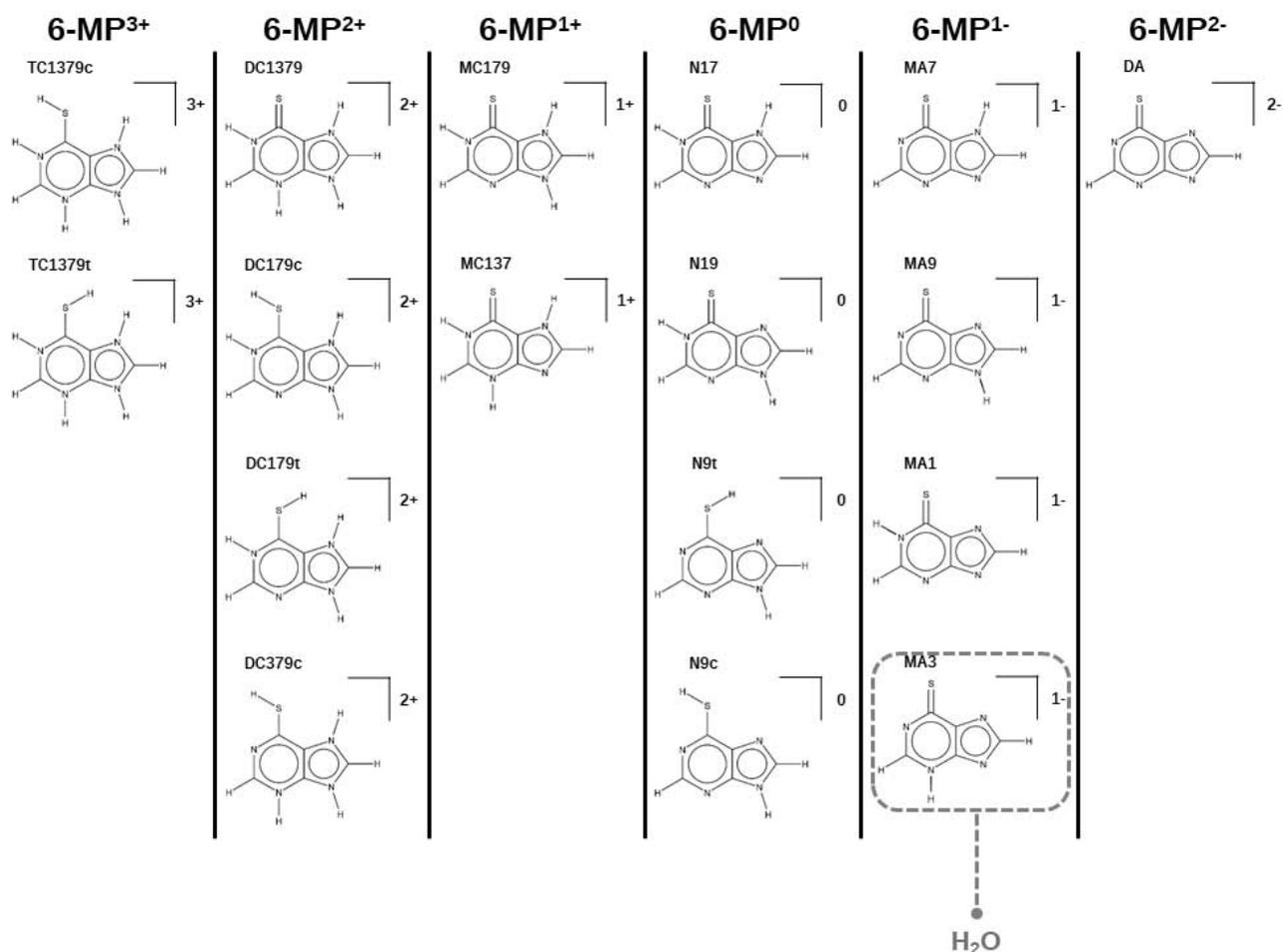


Fig. 15 – Esquematización y nomenclatura de los tautómeros más estables de la 6-Mercaptopurina, en H<sub>2</sub>O y DMSO.

- **Medio H<sub>2</sub>O**

***6-Mercaptopurina Tricatiónica***

Al comparar con el estudio en fase aislada, se mantiene el orden de estabilidad con respecto a la posición del protón sobre el núcleo de azufre: S-cis > S-trans. Al cambiar la constante dieléctrica del medio (es decir, de fase aislada a fase acuosa), el tautómero TC1379t se vuelve más estable. A pesar de esto, no es suficiente para lograr que la población de TC1379c sea menos predominante, pues la relación molar entre tautómeros es ~2:1 (TC1379c:TC1379t).

Para los tautómeros de la 6-MP tricatiónica, los valores del  $\Delta\bar{G}^0$  de solvatación a 298.15K, son: TC1379c, -400.04; y TC1379t, -401.61 [kcal·mol<sup>-1</sup>].

***6-Mercaptopurina Dicatiónica***

Para este estado de protonación se tiene un conjunto de tautómeros muy particular, pues hay una mayor cantidad de arreglos tiol estables (en orden de estabilidad DC179c > DC179t > DC379c). Sin embargo, no son lo suficientemente estables como para tener una contribución tan significativa como la del arreglo DC1379 (x = 0.936).

El cambio en la constante dieléctrica es suficiente para permitir una mayor estabilidad energética sobre la estructura tiona. Lo anterior queda confirmado por el  $\Delta\bar{G}^0$  de solvatación a 298.15K: DC1379, -188.99; DC179c, -184.36; DC179t, -185.88; y DC379c, -186.11 [kcal·mol<sup>-1</sup>].

***6-Mercaptopurina Monocatiónica***

Cuando la mercaptopurina se encuentra en estado 1+, únicamente prevalecen las estructuras de tipo tiona, MC179 y MC137, siendo la población del primer tautómero la preponderante. En similitud a lo anterior, y para su análogo hipoxantina en el mismo estado de protonación y en fase acuosa, las estructuras predominantes son los arreglos ceto con la misma configuración: K179 y K137 [28].

Tomando en cuenta el  $\Delta\bar{G}^0$  de solvatación a 298.15K: MC179, -58.20; y MC137, -58.38 [kcal·mol<sup>-1</sup>], es posible percatarse que dicha variable no cuenta la historia completa. Lo anterior quiere decir que el tautómero con el proceso de solvatación más espontáneo, no siempre es el arreglo más estable (energéticamente hablando), sino que, existen otros factores que estabilizan a una molécula al cambiar la constante dieléctrica del medio. También se tienen que considerar además, las energías mismas de los tautómeros en la fase gaseosa.

### ***6-Mercaptopurina Neutra***

Se hace patente que, a pesar del cambio en el medio de estudio de la Mercaptopurina, prevalece la contribución mayoritaria del tautómero N17, aunque también se incrementa la población de la estructura N19 ( $x = 0.224$ ). Otro fenómeno importante es que, todas las especies tautoméricas neutras tipo tiol pierden estabilidad.

Así como se ha mencionado que al cambiar los grupos funcionales en heterociclos purínicos se modifica su reactividad, nos podemos percatar que también es responsable de la conformación tautomérica más estable. Cuando la posición 6 de la molécula está ocupada por un átomo de oxígeno (hipoxantina), se favorece el enlace N(9)H; por otra parte, si se reemplaza por un átomo de azufre, se estabiliza el enlace N(7)H.

Los valores de  $\Delta\bar{G}^0$  de solvatación a 298.15K para los tautómeros neutros, son: N17, -12.62; y N19, -14.88 [kcal·mol<sup>-1</sup>]. Los datos anteriores nos permiten inferir el porqué de la poca solubilidad de la 6-MP en agua, ya que, en ambos casos se trata de un proceso poco espontáneo.

### ***6-Mercaptopurina Monoaniónica***

En este caso, es la estructura MA7 la que posee una contribución notablemente elevada; además, solamente tienen alguna contribución las estructuras tipo tiona. Al considerar que la relación molar con respecto al siguiente arreglo más estable (MA9) es de ~34:1, es evidente el efecto de estabilización que genera el núcleo de azufre con respecto al enlace N(7)H, inclusive con carga deslocalizada en el heterociclo.

Los valores de  $\Delta\bar{G}^0$  de solvatación a 298.15K para los tautómeros en estado monoaniónico son: MA7, -58.79; MA9, -63.99; MA1, -56.84; y MA3, -65.21 [kcal·mol<sup>-1</sup>]. Los valores reflejan una solubilidad comparativamente mayor de la forma monoaniónica, respecto a la neutra

### ***6-Mercaptopurina Dianiónica***

Solamente existe una especie en el medio, DA, cuyo valor de  $\Delta\bar{G}^0$  de solvatación a 298.15K es de -187.49 [kcal·mol<sup>-1</sup>]. Lo anterior nos indica que al incluir un medio polar prótico, resulta una especie con mayor estabilidad energética.

Analizando los procesos de solvatación para los tautómeros de los estados 6-MP<sup>3+</sup>, 6-MP<sup>2+</sup> y 6-MP<sup>2-</sup>, se puede inferir que los estados más ionizados poseen arreglos más estables en disolución acuosa; los heterociclos en estado ionizado son más solubles en dicho medio.

- **Medio DMSO**

### ***6-Mercaptopurina Tricatiónica***

Se puede observar que existe una contribución predominante del tautómero TC1379c, sin embargo, el efecto del disolvente estabiliza relativamente a la especie TC1379t (cuya fracción mol es menor en fase gas). Debe de notarse que la relación molar entre las especies TC1379c:TC1379t es ~24:1 en fase gas, mientras que en DMSO este valor es ~2:1.

Los valores de  $\Delta\bar{G}^0$  de solvatación a 298.15K para los tautómeros tricatiónicos son: TC1379c, -396.52; y TC1379t, -398.08 [kcal·mol<sup>-1</sup>].

Con respecto a su homólogo, es decir, la hipoxantina (en medio acuoso), se observa que los tricationes en su arreglo enol no mantienen la tendencia de estabilidad termodinámica, ya que, E1379-trans es más estable que E1379-cis [28].

### ***6-Mercaptopurina Dicatiónica***

En cuanto al estado de protonación 2+, se tiene que los tautómeros con mayor contribución poblacional son: DC1379 > DC179c ≈ DC179t > DC379c, donde la fracción mol de la primera especie es notablemente mayor a la de los tautómeros subsecuentes que están en el mismo estado de protonación. Bajo un primer análisis se puede notar que la especie predominante se refiere a un arreglo tipo tiona, mientras que en fase gas la especie más estable es el arreglo tiol DC179c; esto indica que una mayor constante dieléctrica del medio permite una estabilización de la estructura tipo tiona.

Sus valores respectivos de  $\Delta\bar{G}^0$  de solvatación a 298.15K son: DC1379, -187.28; DC179c, -182.73; DC179t, -184.25; y DC379c, -184.46 [kcal·mol<sup>-1</sup>].

Realizando una comparación con la hipoxantina en solvatación con H<sub>2</sub>O, se mantiene la tendencia de estabilidad termodinámica, debido a que K1379 es más estable que E179-trans [28].

### ***6-Mercaptopurina Monocatiónica***

Al cambiar el medio en el que ocurre el proceso de desprotonación, con respecto al estado aislado, ha generado que únicamente dos tautómeros predominen en disolución con DMSO: MC179 y MC137, donde el último compuesto tiene una fracción mol muy baja. Por su parte, la población tautomérica de este mismo estado de protonación en fase gas, tiene una contribución relativamente mayor de diferentes tautómeros: MC179, MC19t, MC37c; como se puede observar, coexisten especies tiona y tiol, mientras que en una fase polar aprótica únicamente son estables las contribuciones tipo tiona. Para este estado de protonación, los valores de  $\Delta\bar{G}^0$  de solvatación a 298.15K son: MC179, -57.65; y MC137, -57.83 [kcal·mol<sup>-1</sup>].

Al elaborar una comparación con la hipoxantina en medio acuoso, se mantiene la tendencia de estabilidad termodinámica, ya que, K179 es más estable que K137 [28].

### ***6-Mercaptopurina Neutra***

Para el estado de protonación neutro, los tautómeros más estables son: N17 y N19, pero el arreglo N17 es el que prevalece. Durante años precedentes se han observado una serie de discrepancias relevantes con respecto al análisis poblacional de los tautómeros de la 6-MP neutra en diferentes medios, sin embargo, tras la revisión de diferente literatura (mencionada anteriormente en el presente texto) y los resultados obtenidos durante la realización de este trabajo, se puede afirmar que, no importando el medio líquido, la contribución del tautómero N17 es mayor ante N19, pues mantienen una relación ~4:1.

A pesar de dicha información, que indica la presencia del estado neutro, como una mezcla de dos tautómeros, existen aún trabajos que utilizan al tautómero N19 como referencia de estabilidad en medio polar [20]. Los valores de  $\Delta\bar{G}^0$  de solvatación a 298.15K para los tautómeros en estado neutro son: N17, -12.48; y N19, -14.70 [kcal·mol<sup>-1</sup>].

Cuando se compara con los datos obtenidos para la hipoxantina en disolución acuosa, no se mantiene la tendencia de estabilidad, puesto que K19 es más estable que K17 [28]. Es muy probable que se favorecen los arreglos con el protón en la posición N(9), debido al efecto del átomo de oxígeno.

### ***6-Mercaptopurina Monoaniónica***

Cuando la 6-Mercaptopurina se hace deficiente de un protón en el medio DMSO, se nota una mayor estabilización en las estructuras tautoméricas tipo cetona, prueba de ello es que los tres arreglos más estables son: MA7, MA1 y MA9; en este estado de protonación no es absoluta la población de un único tautómero. Al hacer una comparación con el estudio del monoanión en fase gas, en este caso las moléculas más estables refieren a los arreglos MA7 y MA1, pero existe una contribución también de los tios MA<sup>t</sup> y MA<sup>c</sup>. Por último, para el estado monoanión, se tiene que los valores de  $\Delta\bar{G}^0$  de solvatación a 298.15K son: MA7, -56.27; MA1, -62.97; y MA9, -55.23 [kcal·mol<sup>-1</sup>].

Tras comparar con los datos de estabilidad energética de la hipoxantina en medio  $\text{H}_2\text{O}$ , se puede observar que no se mantiene la tendencia de estabilidad, para este estado de protonación la forma K1 es más estable que la forma K7 [28].

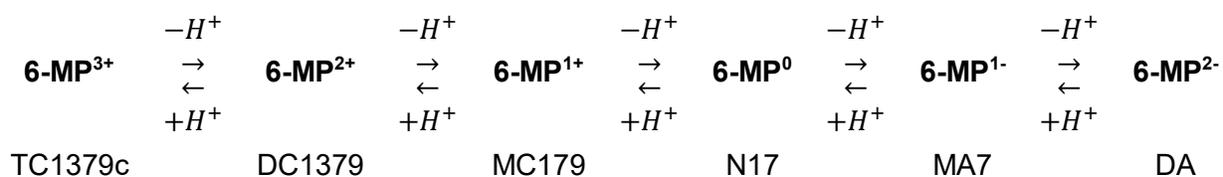
### ***6-Mercaptopurina Dianiónica***

Siendo el tautómero DA la única especie disponible en el medio, se tiene que la energía libre de solvatación asociada para la molécula es de  $-180.81 \text{ [kcal}\cdot\text{mol}^{-1}]$ , lo cual indica que el cambio de la constante dieléctrica del medio, favorece la estabilidad energética del tautómero con respecto a su estado aislado. Curiosamente, su análogo en la hipoxantina genera una energía libre de cambio de fase muy semejante, lo que indica que, ambos derivados purínicos en su estado 2- presentan una mayor estabilidad al someterse a un medio polar.

Los datos obtenidos por el análisis de estabilidad energética y termodinámica de la 6-MP, son suficientes para asegurar que el incremento en el valor de la constante dieléctrica del medio, promueve la poca estabilidad de los arreglos tipo tiol.

Se observa que los estados ionizados de la 6-MP (3+, 2+, 1+, 1-, 2-) tienen procesos de solvatación marcadamente espontáneos, sin embargo, se tiene que el proceso de solvatación (tanto en  $\text{H}_2\text{O}$ , como en DMSO) es consistentemente menos espontáneo para las especies neutras (6-MP<sup>0</sup>) respecto a sus contrapartes iónicas. Esta tendencia coincide con resultados experimentales, pues se ha encontrado que la Mercaptopurina neutra tiene una baja solubilidad en diferentes medios polares, incluyendo  $\text{H}_2\text{O}$  [41, 42, 43].

A continuación, se presenta la distribución del tautómero más estable con respecto a su estado de protonación, tomando en cuenta los dos medios de solvatación ( $\text{H}_2\text{O}$  y DMSO):



### ►4.3 · Contribución de los Sitios Tautoméricos a los Procesos de Disociación Protónica en Medio Polar.

En las Tablas 3, 4 y 5, se presentan los valores de las constantes de disociación ácida y sitios de desprotonación, en función de los diferentes estados de protonación (3+, 2+, 1+, 0, 1- y 2-) de la 6-Mercaptopurina, para el estado aislado, medio acuoso y DMSO.

Tras recopilar la información obtenida del análisis de los equilibrios tautoméricos y los estados de protonación de los tautómeros predominantes, se construyeron esquemas de disociación protónica los cuales se muestran en el **Apéndice**.

**Tabla 3.** Valores teóricos de la constante de disociación ácida microscópica y global, para los tautómeros más estables de la Mercaptopurina en medio **aislado**, en todos sus estados de protonación.

| Nivel de Protonación | Tautómero Inicial, i | Tautómero Final, j | Sitio de Disociación Protónica | pKa <sup>ij</sup> | $\overline{pKa}_{Global}^0$ |
|----------------------|----------------------|--------------------|--------------------------------|-------------------|-----------------------------|
| [TC] <sup>3+</sup>   | TC1379c              | DC179c             | N(3)                           | 6.17              | 6.15                        |
|                      |                      | DC1379             | S-cis                          | 8.11              |                             |
|                      |                      | DC379c             | N(1)                           | 9.15              |                             |
|                      | TC1379t              | DC179t             | N(3)                           | 5.93              |                             |
|                      |                      | DC1379             | S-trans                        | 6.73              |                             |
| [DC] <sup>2+</sup>   | DC179c               | MC179              | S-cis                          | 81.80             | 81.77                       |
|                      |                      | MC19c              | N(7)                           | 85.06             |                             |
|                      | DC179t               | MC179              | S-trans                        | 80.66             |                             |
|                      |                      | MC19t              | N(7)                           | 81.61             |                             |
|                      | DC1379               | MC179              | N(3)                           | 79.87             |                             |
|                      |                      | MC137              | N(9)                           | 82.66             |                             |
| DC379c               | MC37c                | N(9)               | 80.39                          |                   |                             |
| [MC] <sup>1+</sup>   | MC179                | N17                | N(9)                           | 155.67            | 155.72                      |
|                      |                      | N19                | N(7)                           | 157.87            |                             |
|                      | MC19t                | N19                | S-trans                        | 156.93            |                             |
|                      |                      | N9t                | N(1)                           | 157.15            |                             |
|                      | MC137                | N17                | N(3)                           | 152.87            |                             |
|                      | MC19c                | N19                | S-cis                          | 154.61            |                             |
| N9c                  |                      | N(1)               | 155.16                         |                   |                             |
| [N] <sup>0</sup>     | N17                  | MA7                | N(1)                           | 235.93            | 235.79                      |
|                      |                      | MA1                | N(7)                           | 236.36            |                             |
|                      | N19                  | MA1                | N(9)                           | 234.16            |                             |
|                      | N9t                  | MA <sub>t</sub>    | N(9)                           | 235.75            |                             |
|                      | N9c                  | MA <sub>c</sub>    | N(9)                           | 236.55            |                             |
| [MA] <sup>1-</sup>   | MA7                  | DA                 | N(7)                           | 303.60            | 303.73                      |
|                      | MA1                  | DA                 | N(1)                           | 303.16            |                             |
|                      | MA <sub>t</sub>      | DA                 | S-trans                        | 301.64            |                             |
|                      | MA <sub>c</sub>      | DA                 | S-cis                          | 300.23            |                             |

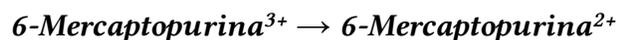
**Tabla 4.** Valores teóricos de la constante de disociación ácida microscópica y global, para los tautómeros más estables de la Mercaptopurina en medio **acuoso**, en todos sus estados de protonación.

| Nivel de Protonación | Tautómero Inicial, i | Tautómero Final, j | Sitio de Disociación Protónica | pKa <sup>ij</sup> | $\overline{pKa}_{Global}^0$ |
|----------------------|----------------------|--------------------|--------------------------------|-------------------|-----------------------------|
| [TC] <sup>3+</sup>   | TC1379c              | DC1379             | S-cis                          | -27.54            | -27.36                      |
|                      |                      | DC179c             | N(3)                           | -26.08            |                             |
|                      |                      | DC379c             | N(1)                           | -24.38            |                             |
|                      | TC1379t              | DC1379             | S-trans                        | -27.76            |                             |
|                      |                      | DC179t             | N(3)                           | -26.28            |                             |
| [DC] <sup>2+</sup>   | DC1379               | MC179              | N(3)                           | -14.67            | -14.64                      |
|                      |                      | MC137              | N(9)                           | -12.01            |                             |
|                      | DC179c               | MC179              | S-cis                          | -16.14            |                             |
|                      | DC179t               | MC179              | S-trans                        | -16.16            |                             |
|                      | DC379c               | MC37c              | N(9)                           | -12.53            |                             |
| [MC] <sup>1+</sup>   | MC179                | N17                | N(9)                           | -1.40             | -1.51                       |
|                      |                      | N19                | N(7)                           | -0.86             |                             |
|                      | MC137                | N17                | N(3)                           | -4.06             |                             |
| [N] <sup>0</sup>     | N17                  | MA7                | N(1)                           | 11.52             | 11.61                       |
|                      |                      | MA1                | N(7)                           | 13.39             |                             |
|                      | N19                  | MA1                | N(9)                           | 12.85             |                             |
|                      |                      | MA9                | N(1)                           | 12.51             |                             |
| [MA] <sup>1-</sup>   | MA7                  | DA                 | N(7)                           | 18.63             | 18.65                       |
|                      | MA9                  | DA                 | N(9)                           | 17.10             |                             |
|                      | MA1                  | DA                 | N(1)                           | 16.76             |                             |
|                      | MA3                  | DA                 | N(3)                           | 15.40             |                             |

**Tabla 5.** Valores teóricos de la constante de disociación ácida microscópica y global, para los tautómeros más estables de la Mercaptopurina en medio **DMSO**, en todos sus estados de protonación.

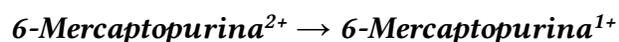
| Nivel de Protonación | Tautómero Inicial, i | Tautómero Final, j | Sitio de Disociación Protónica | pKa <sup>ij</sup> | $\overline{pKa}_{Global}^0$ |
|----------------------|----------------------|--------------------|--------------------------------|-------------------|-----------------------------|
| [TC] <sup>3+</sup>   | TC1379c              | DC1379             | S-cis                          | -34.59            | -34.36                      |
|                      |                      | DC179c             | N(3)                           | -33.19            |                             |
|                      |                      | DC379c             | N(1)                           | -31.47            |                             |
|                      | TC1379t              | DC1379             | S-trans                        | -34.82            |                             |
|                      |                      | DC179t             | N(3)                           | -33.39            |                             |
| [DC] <sup>2+</sup>   | DC1379               | MC179              | N(3)                           | -21.25            | -21.21                      |
|                      |                      | MC137              | N(9)                           | -18.59            |                             |
|                      | DC179c               | MC179              | S-cis                          | -22.65            |                             |
|                      | DC179t               | MC179              | S-trans                        | -22.69            |                             |
|                      | DC379c               | MC37c              | N(9)                           | -19.12            |                             |
| [MC] <sup>1+</sup>   | MC179                | N17                | N(9)                           | -7.42             | -7.52                       |
|                      |                      | N19                | N(7)                           | -6.86             |                             |
|                      | MC137                | N17                | N(3)                           | -10.09            |                             |
| [N] <sup>0</sup>     | N17                  | MA7                | N(1)                           | 7.55              | 7.63                        |
|                      |                      | MA1                | N(7)                           | 7.98              |                             |
|                      | N19                  | MA1                | N(9)                           | 7.41              |                             |
|                      |                      | MA9                | N(1)                           | 8.18              |                             |
| [MA] <sup>1-</sup>   | MA7                  | DA                 | N(7)                           | 15.96             | 15.98                       |
|                      | MA1                  | DA                 | N(1)                           | 15.53             |                             |
|                      | MA9                  | DA                 | N(9)                           | 14.76             |                             |

- **Medio H<sub>2</sub>O**



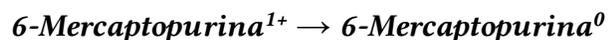
En este caso, la conformación que tiene el protón (cis o trans) del grupo S-H con respecto al átomo N(1), no altera significativamente la acidez de tipo Bronsted-Lowry de los tautómeros en este estado de protonación.

Ambos tautómeros tiol al desprotonarse, arrojan como tautómero preponderante la forma tiona 1379. En esta etapa de disociación protónica, el grupo S-H es el más ácido.



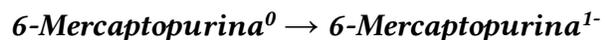
En esta etapa de disociación protónica, el tautómero tiona 1379 es el de mayor contribución a dicho proceso, resultando como especie preponderante la forma tiona 179.

Para esta etapa, el sitio N(3) es el de mayor contribución a la disociación protónica del heterociclo.



En esta etapa de disociación protónica, el tautómero monocatiónico de contribución preponderante, es la forma tiona 179, para dar origen a las formas neutras tiona 17 y 19.

De esta forma, los átomos de nitrógeno del anillo imidazólico, son los sitios ácidos participantes. Entre ellos, el grupo N(7)-H es el de acidez relativamente más baja.



En esta etapa, participan los tautómeros tiona N17 y N19, para formar como especie monoaniónica preponderante la forma tiona MA7.

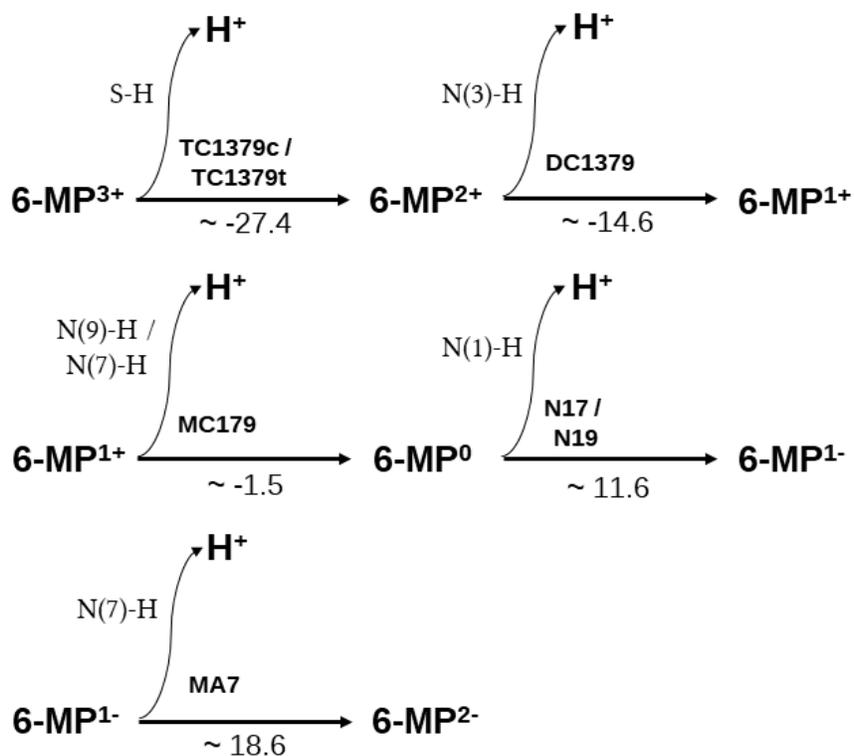
Por tanto, el sitio de disociación protónica en ambas especies neutras, es el grupo N(1)-H.

***6-Mercaptopurina<sup>1-</sup> → 6-Mercaptopurina<sup>2-</sup>***

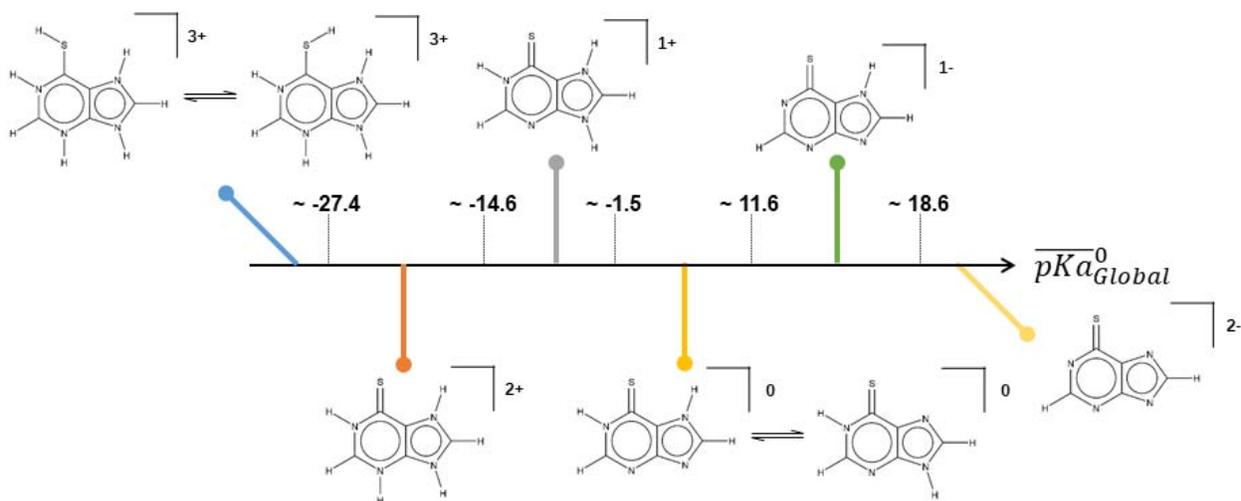
En esta etapa de disociación protónica participa predominantemente el sitio N(7)-H, y en mucho menor contribución, el grupo N(9)-H.

De lo comentado anteriormente, se puede agregar que el tratamiento permite describir cuantitativamente la acidez relativa de los diferentes sitios del heterociclo, en función de sus grados de disociación protónica global. Sin embargo, los valores teóricos de los pKa globales discrepan numéricamente de los experimentales, sobre todo, a medida que se incrementa el estado iónico del heterociclo.

Como complemento a lo anterior, a continuación, se presentan dos esquemas ilustrativos (Figuras 16a y 16b) de la disociación protónica del heterociclo en el modelo de disolución acuosa.

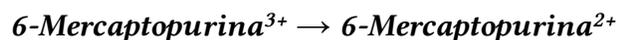


**Fig. 16a** – Esquema de los pasos de disociación protónica de la 6-Mercaptopurina en disolución con  $\text{H}_2\text{O}(\text{l})$ , a 298.15K. Se indican únicamente los tautómeros más representativos de cada equilibrio.

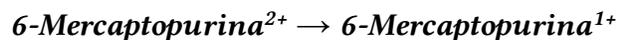


**Fig. 16b** – Diagrama unidimensional de zonas de predominio (DUZP) para la 6-Mercaptopurina en medio acuoso. Se indican solamente los tautómeros de mayor contribución en cada estado de protonación.

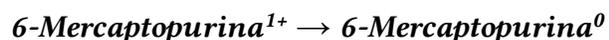
- **Medio DMSO**



Ambos tautómeros tiol y bajo la disociación protónica, generan como especie predominante a la forma tiona 1379 dicatiónica. No existe una diferencia significativa en la acidez del grupo S-H respecto a la orientación relativa del sitio N(1)-H.

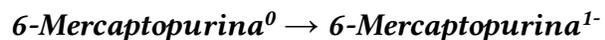


En esta etapa de disociación protónica, la especie predominante de partida es la forma tiona 1379 dicatiónica, y da origen al tautómero monocatiónico tiona 179 como especie preponderante resultante. En dicha etapa, el sitio N(3)-H (que es el de participación central en la disociación) presenta un carácter ácido comparativamente menor respecto al grupo S-H exocíclico.



En esta etapa, el tautómero tiona 179 monocatiónico es la especie preponderante de inicio, y da origen a las especies neutras tipo tiona 17 y 19, con una relación molar  $17/19 \approx 3.7:1$ .

De esta etapa se desprende que en la disociación de MC179, participan ambos sitios N-H del anillo imidazólico. De los dos, el sitio N(9)-H presenta un carácter ácido relativamente mayor que el N(7)-H



En esta etapa, participan como tautómeros de partida, N17 y N19. De dicho proceso de disociación protónica, resulta como especie tautomérica predominante MA7, y en menor contribución a la población tautomérica en equilibrio, MA1 seguida por último de MA9.

En esta etapa, el sitio N(1)-H es el de participación mayoritaria en la disociación protónica de los tautómeros neutros, seguido de los grupos N-H del anillo imidazólico.

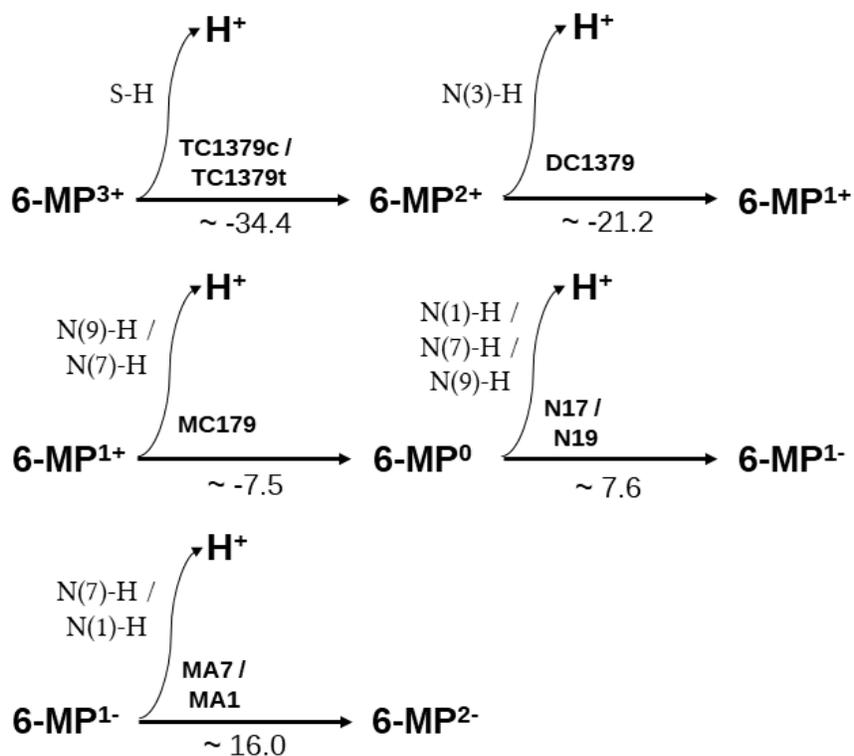
***6-Mercaptopurina<sup>1-</sup> → 6-Mercaptopurina<sup>2-</sup>***

En esta etapa participan como especies más abundantes iniciales, MA7 y MA1, con una contribución mayoritaria de la primera. De esta manera, y en la formación de la especie dianiónica del heterociclo, participan (en orden decreciente) los sitios N(7)-H, N(1)-H y N(9)-H.

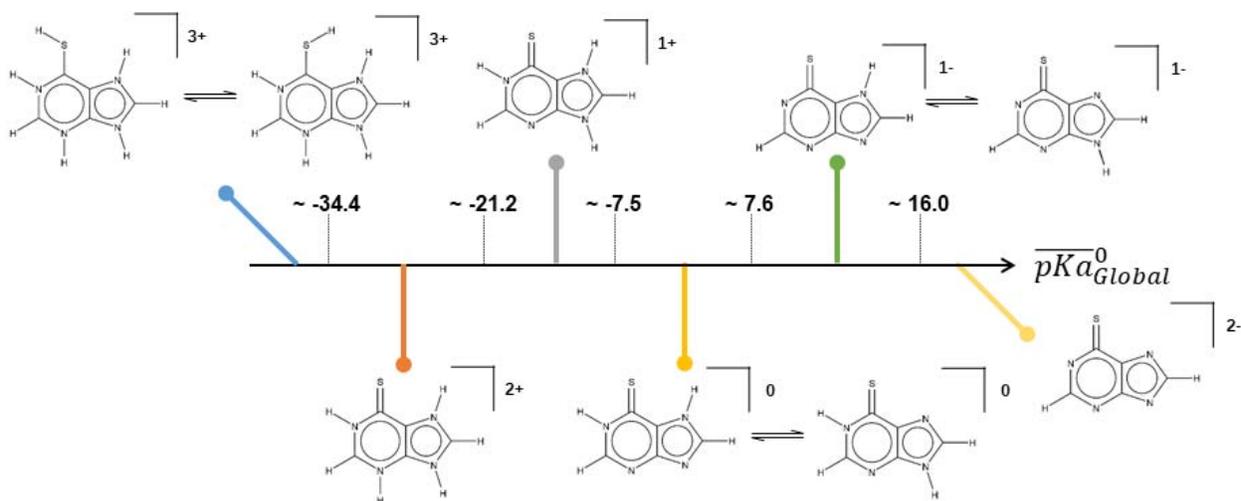
De los valores de  $pK_{a\text{Globales}}$  obtenidos, también se desprende que están sobrevalorados, respecto a los esperados en dicho medio. No obstante a lo anterior, el tratamiento permite establecer una escala relativa de acidez para los sitios del heterociclo, donde el grupo S-H es el más ácido, seguido del N(3)-H, los sitios N-H del anillo de cinco miembros, y del sitio N(1)-H.

En gran medida, dicha secuencia se aplica también para el modelo de disolución acuosa.

Como complemento a lo anterior, a continuación se presentan dos esquemas ilustrativos (Figuras 17a y 17b) de la disociación protónica del heterociclo en el modelo de disolución con DMSO.



**Fig. 17a** – Esquema de los pasos de disociación protónica de la 6-Mercaptopurina en disolución con  $\text{DMSO}_{(l)}$ , a 298.15K. Se indican únicamente los tautómeros representativos de cada equilibrio.



**Fig. 17b** – Diagrama unidimensional de zonas de predominio (DUZP) para la 6-Mercaptopurina en medio  $\text{DMSO}$ . Se indican solamente los tautómeros de mayor contribución en cada estado de protonación.

## 5 – Conclusiones

El estudio realizado permitió calcular las energías moleculares totales y las energías libres de Gibbs (a 298.15K), de todos los tautómeros posibles de la 6-Mercaptopurina bajo seis estados diferentes de protonación heterocíclica bajo la condición de estado aislado y optimización completa de geometrías.

Aquellos tautómeros más estables fueron seleccionados, y las mismas propiedades fueron calculadas, bajo el esquema de campo reactivo auto-consistente, para dos modelos de disolvente (H<sub>2</sub>O y DMSO).

El estudio resultante bajo tres condiciones de ambiente heterocíclico ( $\epsilon_{Vacío}$ ,  $\epsilon_{Agua}$  y  $\epsilon_{DMSO}$ ), permitió calcular: tanto los valores de  $\Delta\bar{G}^0$  de disociación protónica de los diferentes sitios tautoméricos participantes en cada etapa global de disociación protónica del heterociclo, y los valores respectivos de pKa<sup>0</sup> microscópico (tautomérico), así como los correspondientes valores de pKa<sup>0</sup> globales (macroscópicos).

Así también, el estudio permitió esclarecer, para cada medio heterocíclico, la acidez relativa de los sitios heterocíclicos, en el proceso global de disociación protónica de la 6-MP.

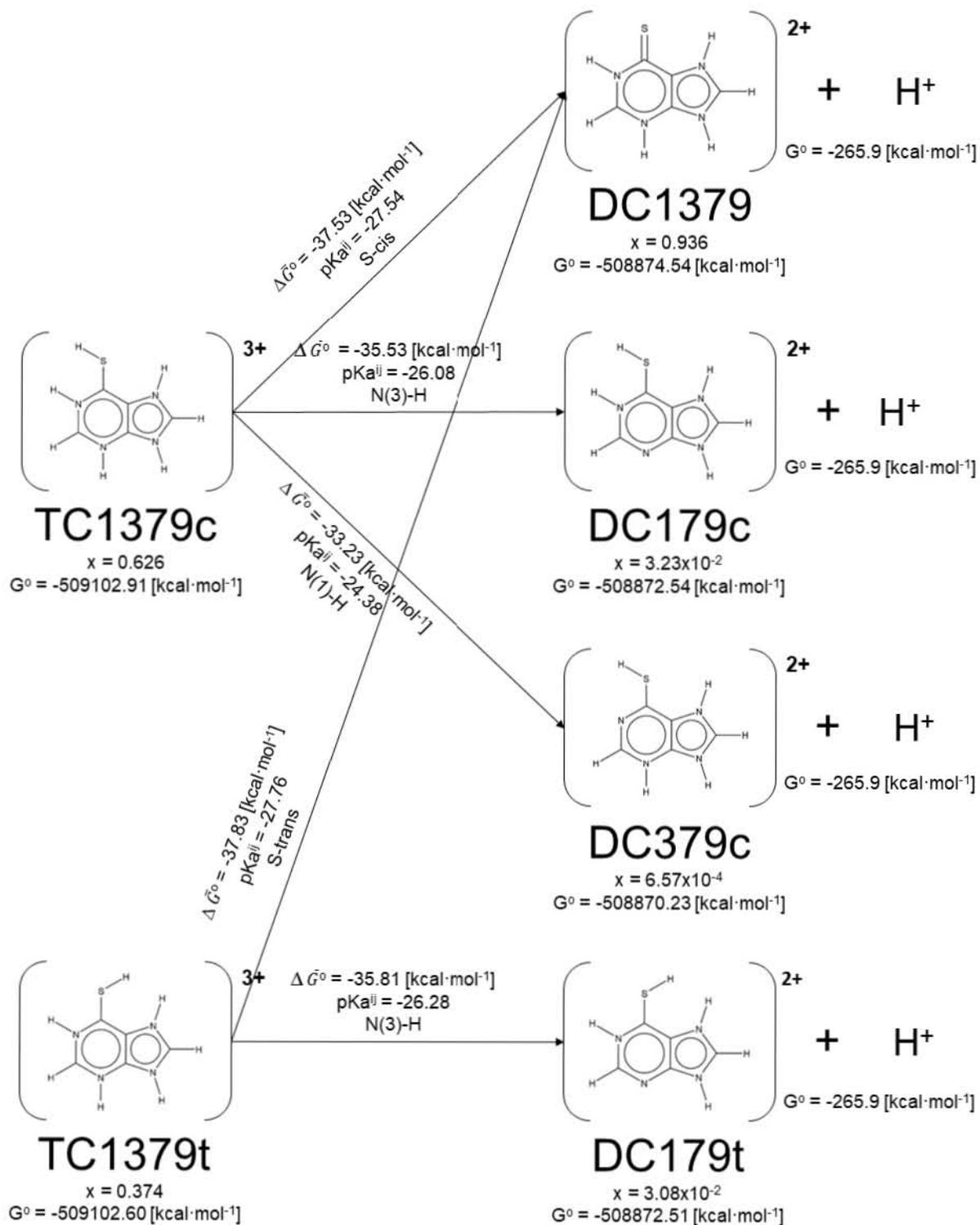
El estudio en su conjunto, permitió conocer cuáles son las poblaciones tautoméricas principales de la 6-MP bajo estados diferentes de disociación protónica, para tres medios del heterociclo. Así también, permitió conocer qué sitios tautoméricos son los más contribuyentes a cada etapa de disociación protónica, y cuál es su acidez relativa.

Los resultados obtenidos para los tres medios (fase gas, modelo H<sub>2</sub>O y modelo DMSO), permiten detectar *grosso modo* lo siguiente:

- a) Para los estados 3+, 1+, 0 y 1-, el tautómero energéticamente más estable para cada estado, sigue siendo el mismo, independientemente del valor de la constante dieléctrica del medio. Estos son: TC1379c, MC179, N17 y MA7.
- b) Para el estado 2+, existe una inversión en la naturaleza del tautómero más estable, al pasar de fase gas a los medios en fase condensada. Para la fase gas, el arreglo tautomérico más representativo es un tiol; para los medios condensados es la forma tiona.
- c) El incremento en el valor de la constante dieléctrica ( $\epsilon$ ) provoca un incremento también, en la estabilización de las formas tiona. Así es para H<sub>2</sub>O y DMSO, las formas tiol solamente se presentan en la [6-MP]<sup>3+</sup>; para los estados restantes (2+ → 2-), las formas tiona son las preponderantes.
- d) El estudio permite ratificar la naturaleza de aquellos tautómeros más estables termodinámicamente en cada estado de protonación del heterociclo (3+ → 2-) y en dos disolventes polares. Lo anterior, permitiría contribuir al análisis experimental de las poblaciones de 6-Mercaptopurina en disolución (con H<sub>2</sub>O y DMSO), en diferentes estados de protonación.

## 6 – Apéndice

**Apéndice 1.** Esquemas sucesivos de disociación protónica de la 6-Mercaptopurina en el modelo de disolución acuosa, y que incluyen los valores teóricos de  $\Delta\bar{G}^0$  y  $pK_{a^{ij}}$  correspondientes a cada proceso de disociación protónica.



**Fig. 18a** – Proceso de disociación protónica del estado 3+ → 2+, en medio H<sub>2</sub>O.

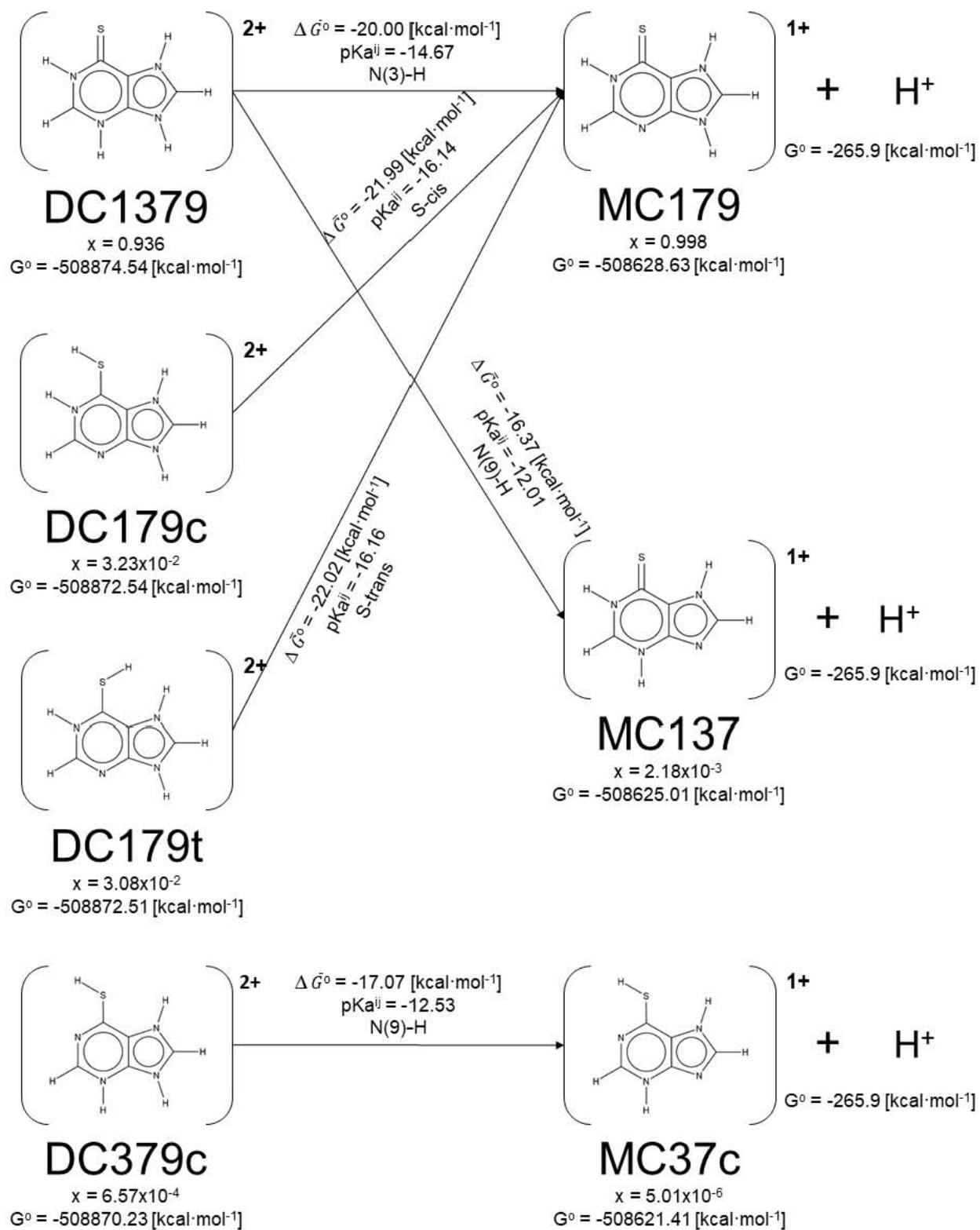
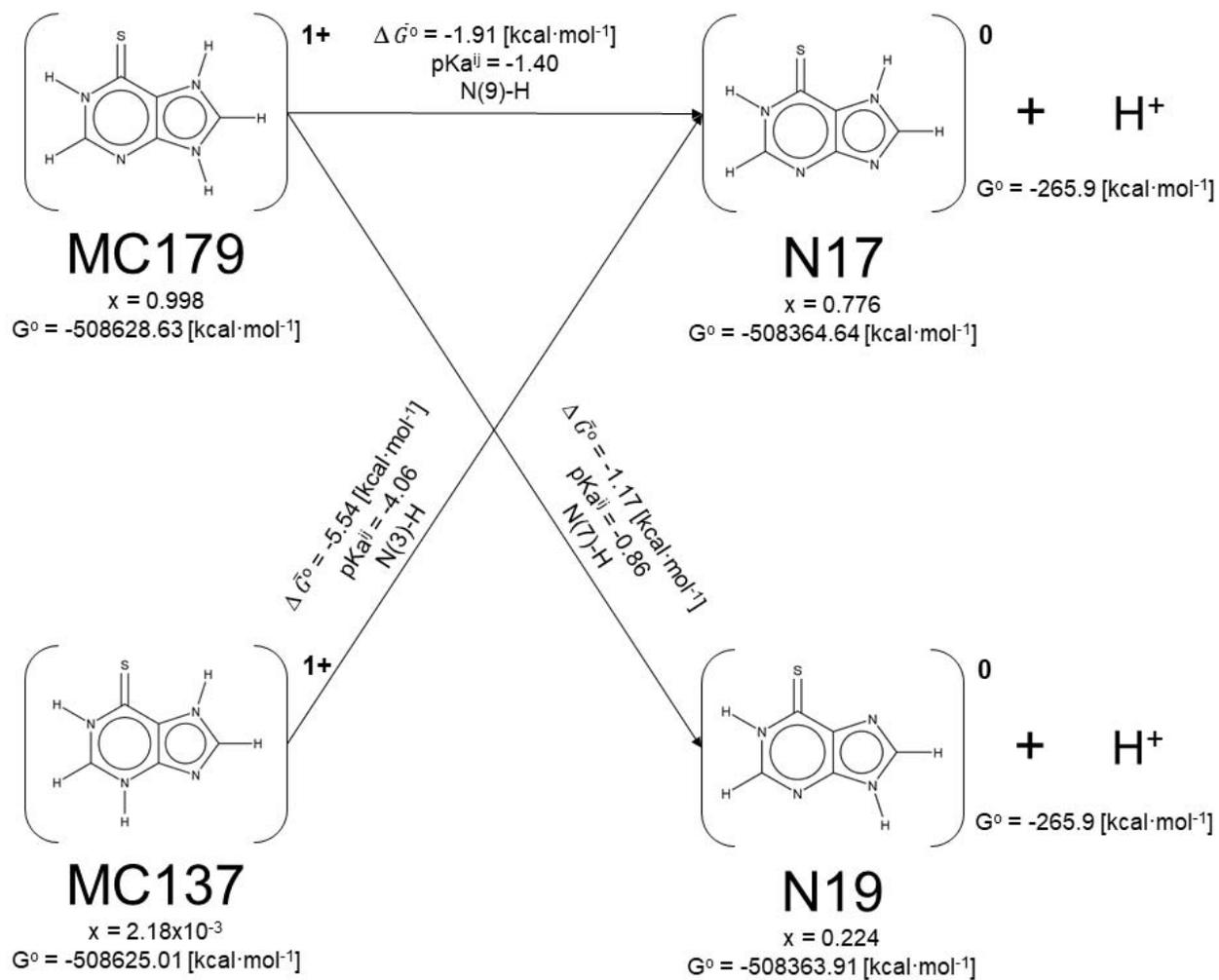


Fig. 18b – Proceso de disociación protónica del estado  $2+ \rightarrow 1+$ , en medio  $\text{H}_2\text{O}$ .



**Fig. 18c** – Proceso de disociación protónica del estado  $1+ \rightarrow 0$ , en medio  $\text{H}_2\text{O}$ .

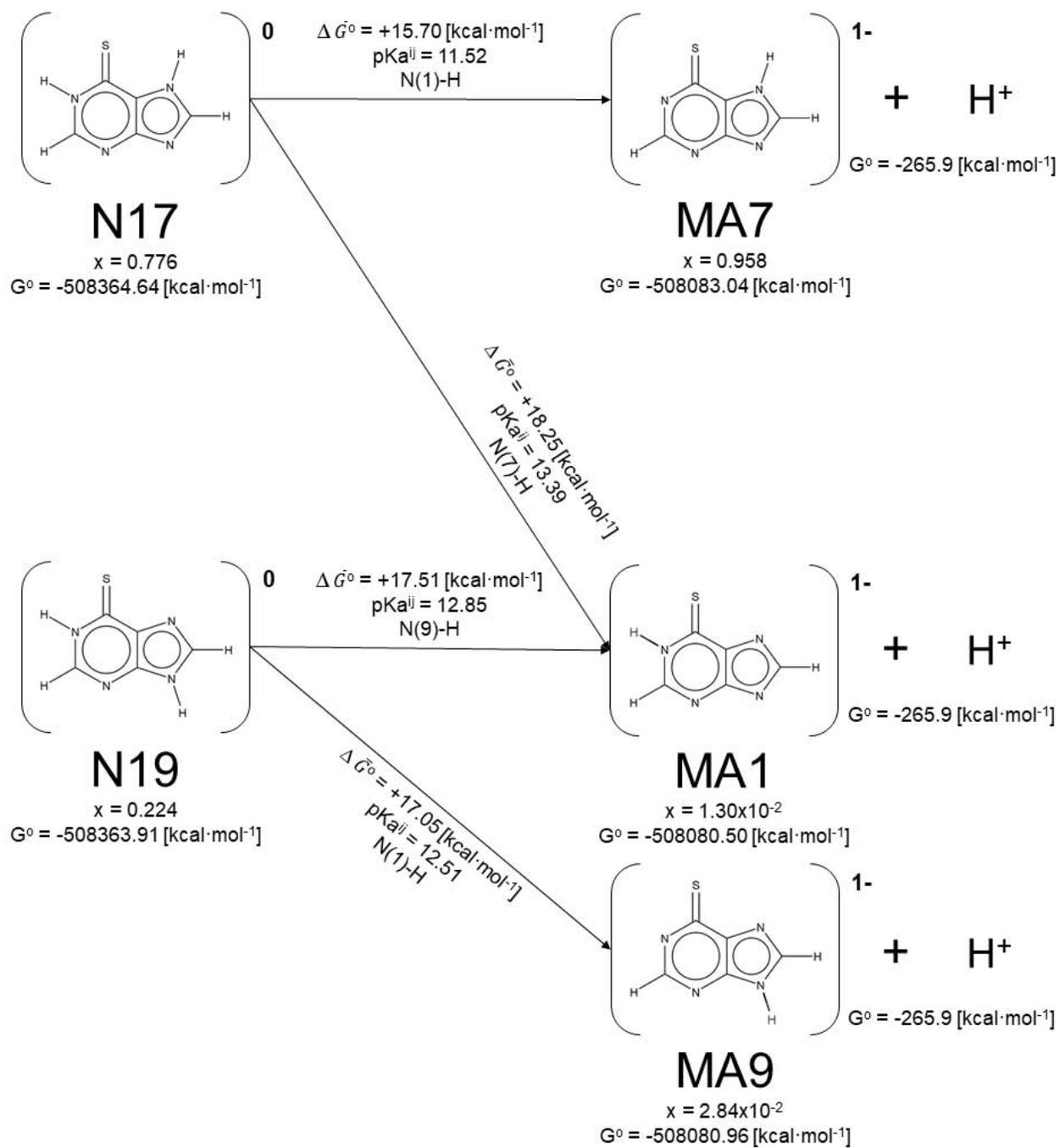
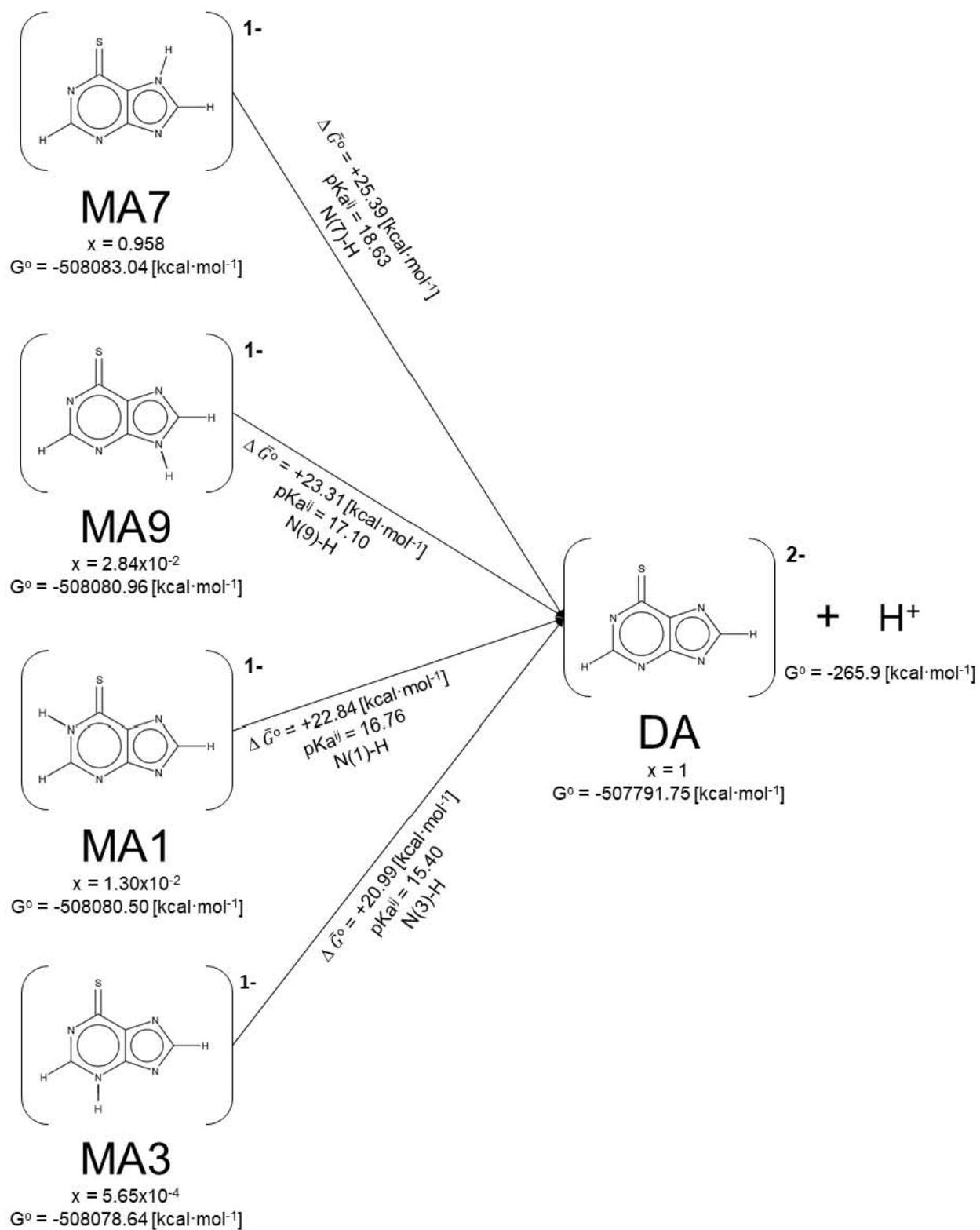
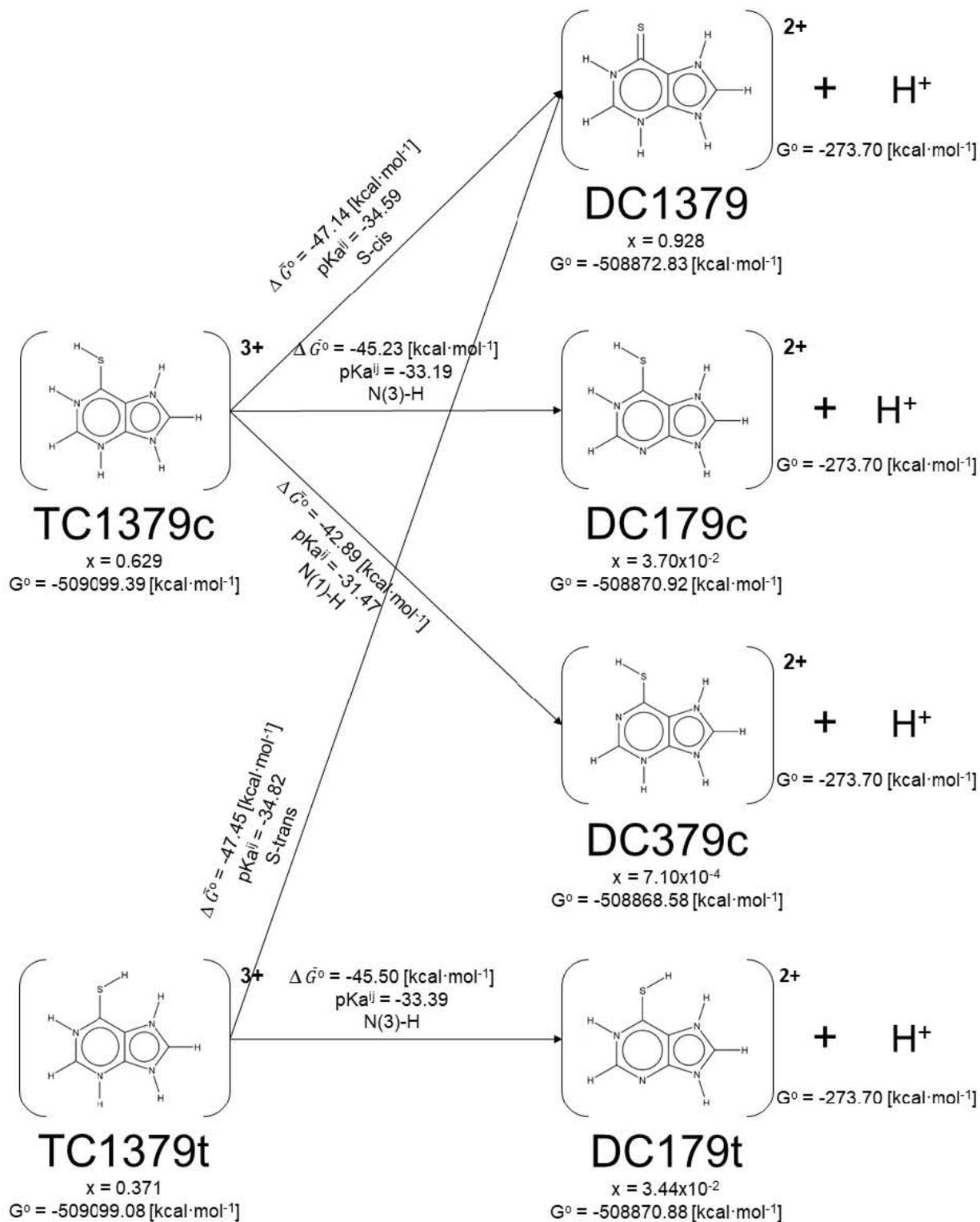


Fig. 18d – Proceso de disociación protónica del estado 0→1-, en medio H<sub>2</sub>O.



**Fig. 18e** – Proceso de disociación protónica del estado 1<sup>-</sup>→2<sup>-</sup>, en medio H<sub>2</sub>O.

**Apéndice 2.** Esquemas sucesivos de disociación protónica de la 6-Mercaptopurina en el modelo de disolución en dimetilsulfóxido (DMSO), y que incluyen los valores teóricos de  $\Delta\bar{G}^0$  y  $pK_{a^{ij}}$  correspondientes a cada proceso de disociación protónica.



**Fig. 19a** – Proceso de disociación protónica del estado 3+ → 2+, en medio DMSO.

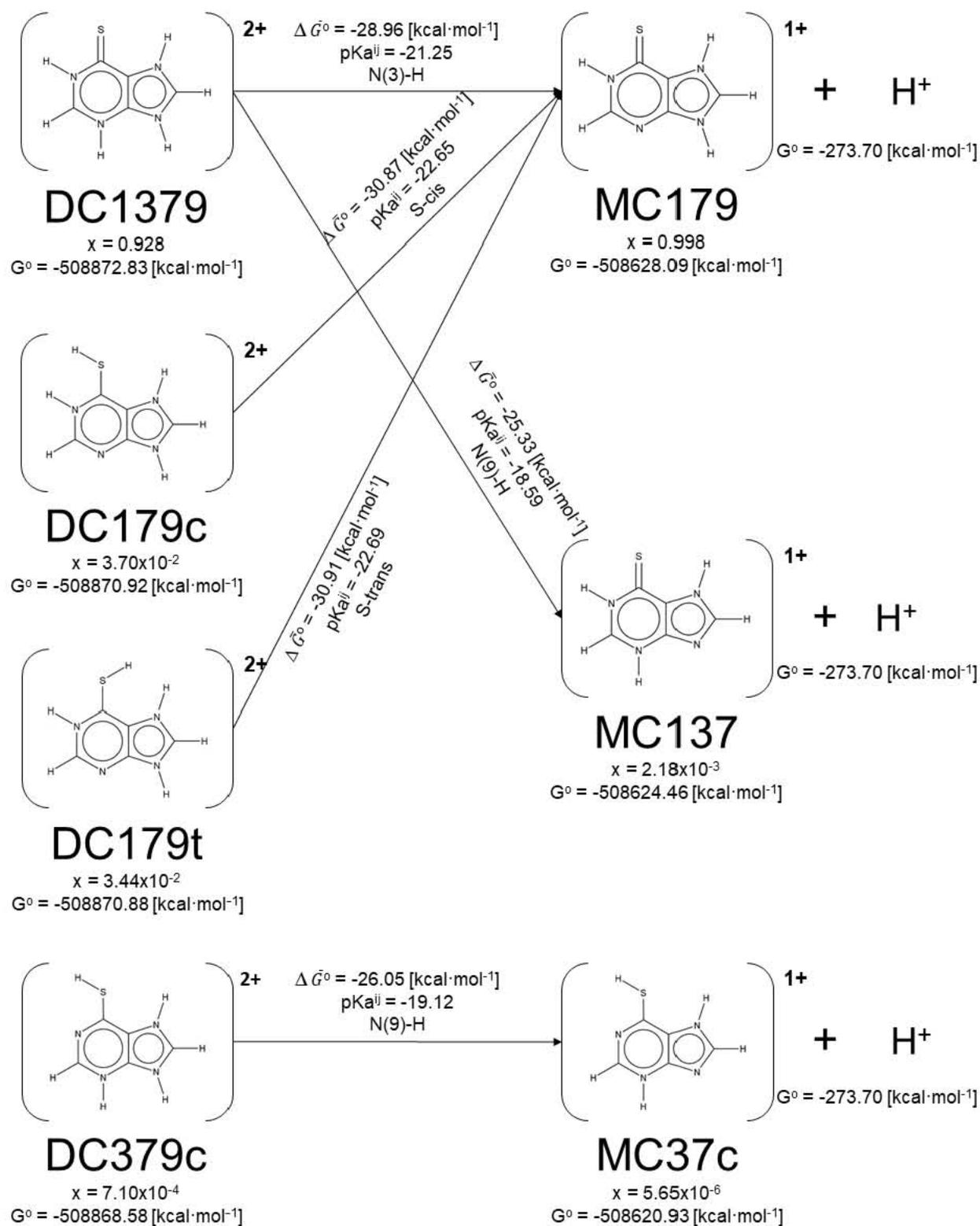


Fig. 19b – Proceso de disociación protónica del estado  $2+ \rightarrow 1+$ , en medio DMSO.

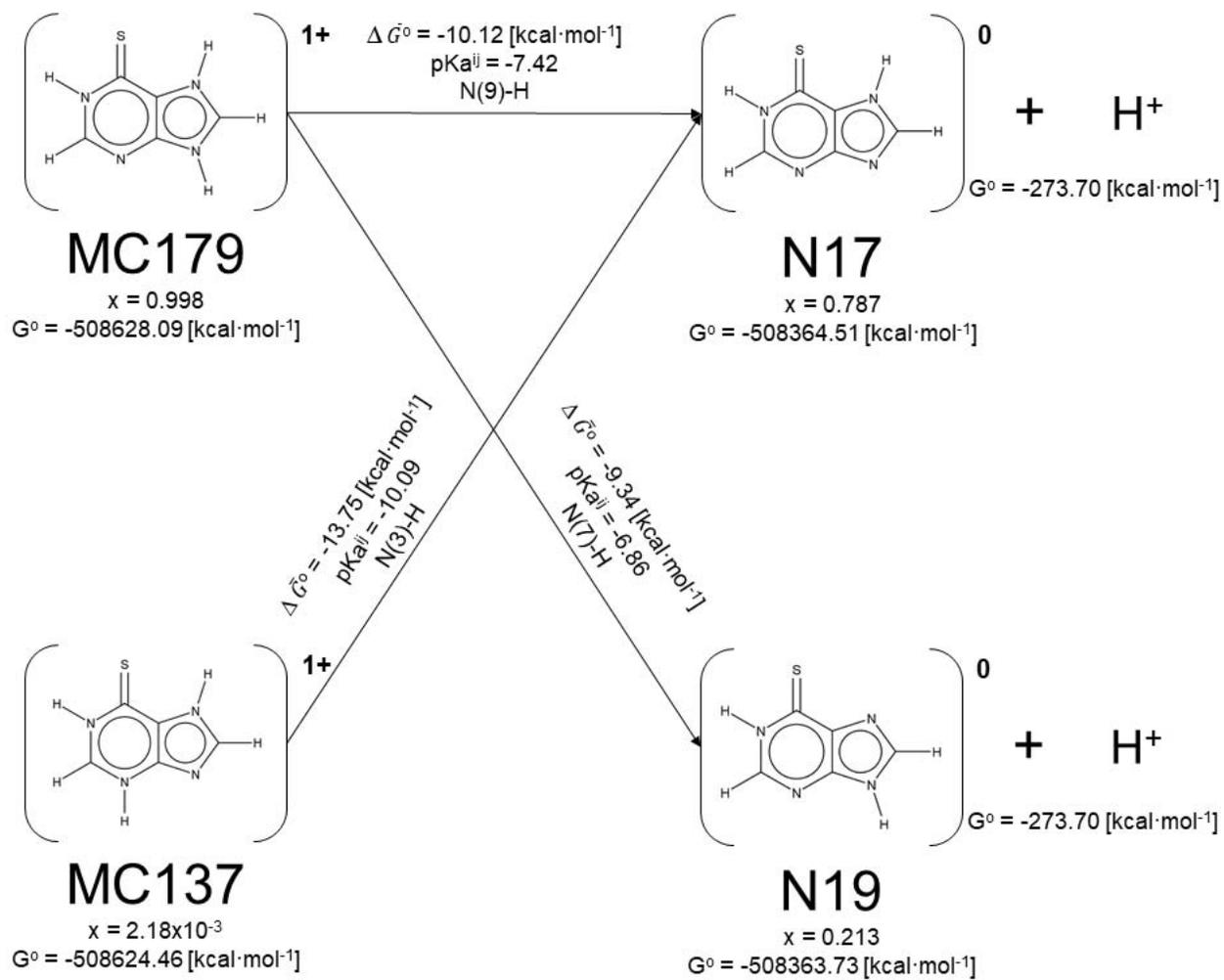


Fig. 19c – Proceso de disociación protónica del estado  $1+ \rightarrow 0$ , en medio DMSO.

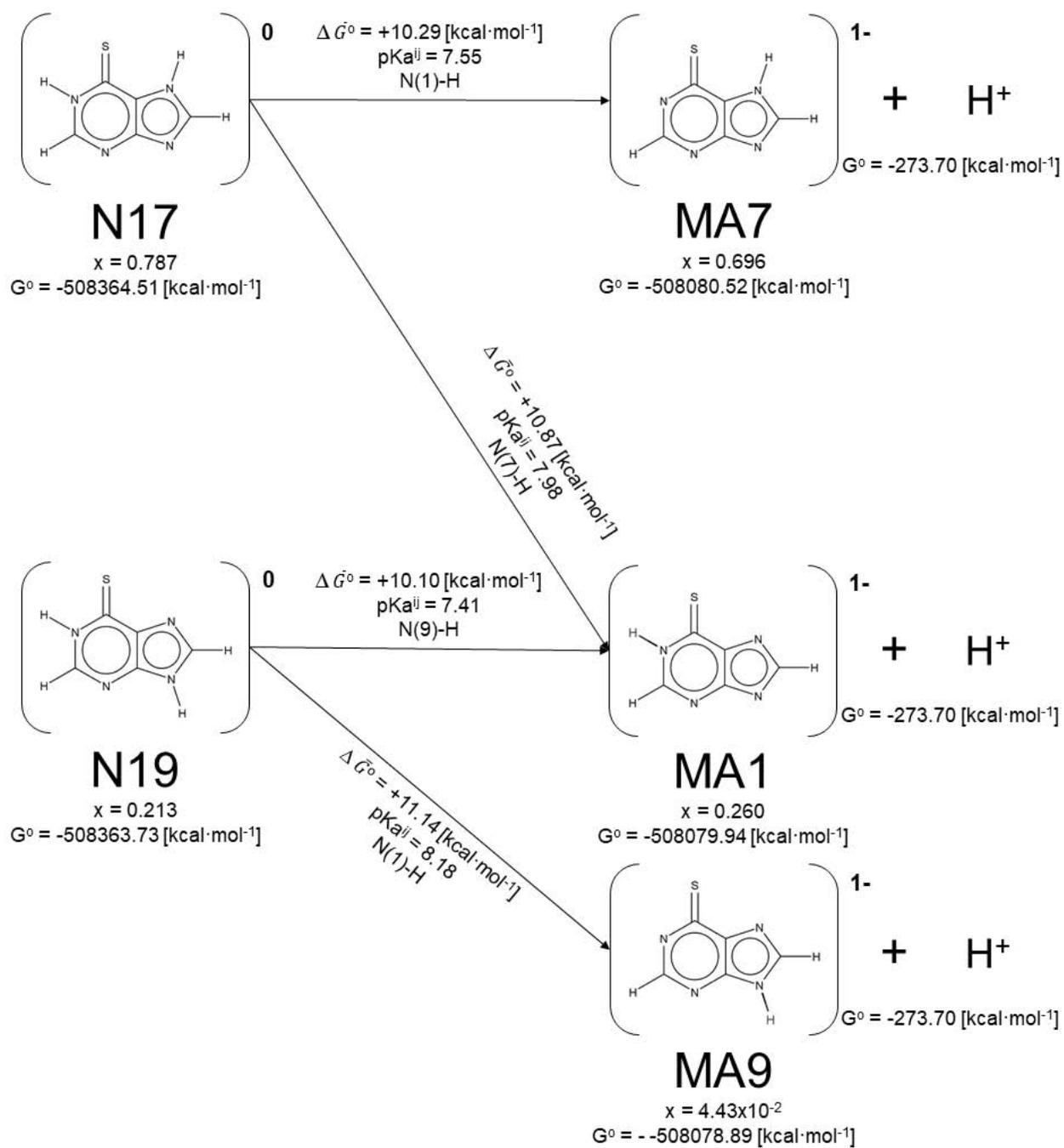
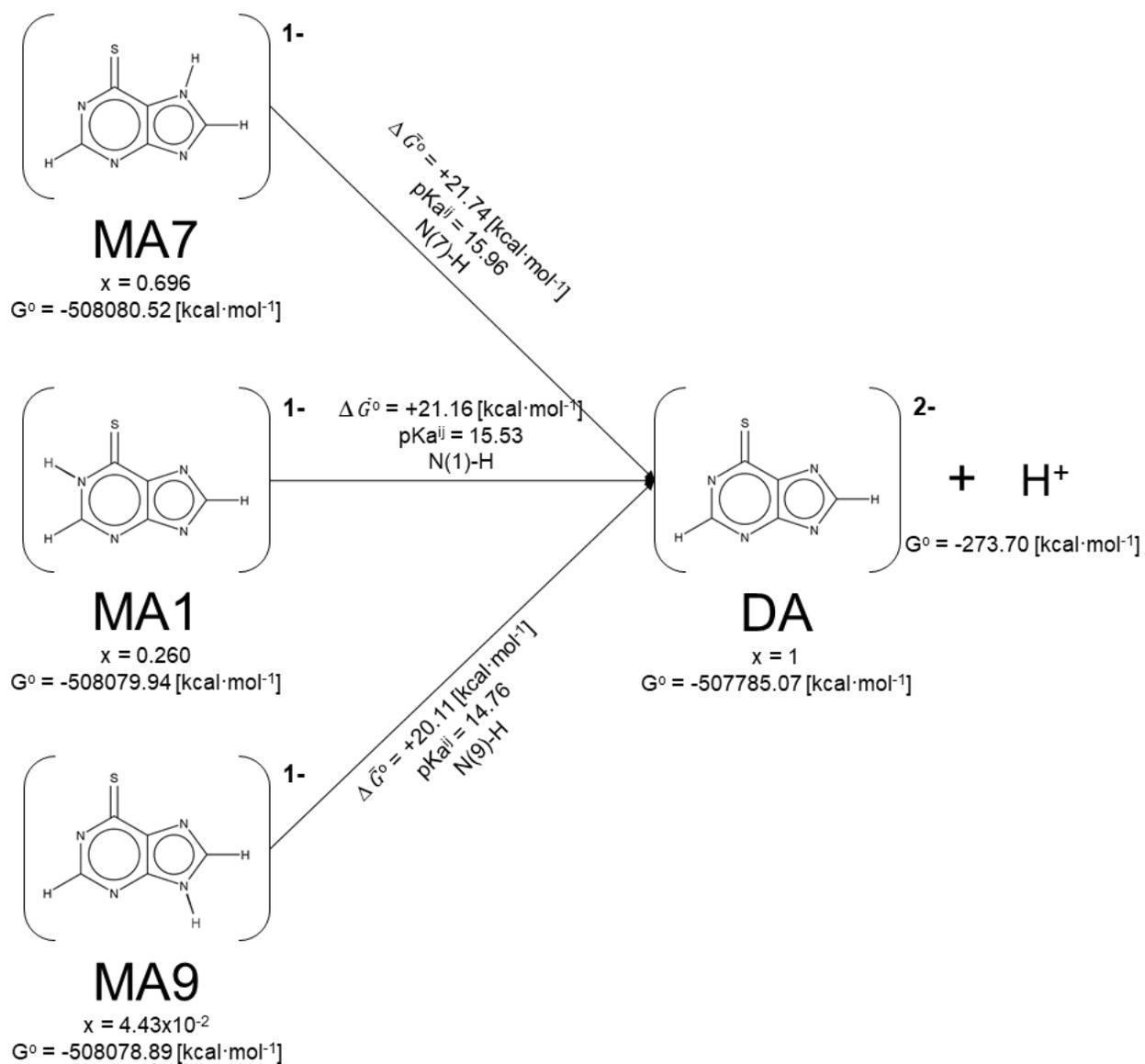


Fig. 19d – Proceso de disociación protónica del estado 0→1-, en medio DMSO.



**Fig. 19e** – Proceso de disociación protónica del estado 1 $\rightarrow$ 2-, en medio DMSO.

## 7 – Bibliografía

1. Malinakova, K., Novosadova, L., Lahtinen, M., Kolehmainen, E., Brus, J., & Marek, R. (2010). <sup>13</sup>C Chemical Shift Tensors in Hypoxanthine and 6-Mercaptopurine: Effects of Substitution, Tautomerism and Intermolecular Interactions. *The Journal of Physical Chemistry A*, 114, 1985-1995.
2. Sochacka, J., & Pawelczak, B. (2012). Characterization of 6-Mercaptopurine Binding Site on Human Alpha-1-Acid Glycoprotein (Orosomucoid) using Molecular Docking. *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research*, 69 (1), 161-166.
3. Lichtenberg, D., Bergmann, F., & Neiman, Z. (1972). New Observations on Tautomerism and Ionization Processes in Hypoxanthines and 6-Thiopurines. *Israel Journal of Chemistry*, 10, 805-8017.
4. Chenon, M. T., Pugmire, R. J., Grant, D. M., Panzica, R. P., & Townsend, L. B. (1975). Carbon-13 Magnetic Resonance. XXVI. A Quantitative Determination of the Tautomeric Populations of Certain Purines. *Journal of the American Chemical Society*, 97 (16), 4636-4642.
5. Joule, J. A., & Mills, K. (2010). *Heterocyclic Chemistry* (5a ed.). Reino Unido: John Wiley & Sons Ltd.
6. Lister, J. H. (1971). *The Chemistry of Heterocyclic Compounds. Fused Pyrimidines, Part II: The Purines*. Canadá: John Wiley & Sons, Inc.
7. Rodwell, V. W., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., & Weil, P. A. (2015). *Harper's Illustrated Biochemistry* (30a ed.). EE.UU.: The McGraw-Hill Education.
8. Lapinski, L., Nowak, M. J., Kwiatkowski, J. S., & Leszczynski, J. (1999). Phototautomeric Reaction, Tautomerism, and Infrared Spectra of 6-Thiopurine. Experimental Matrix Isolation and Quantum-Mechanical (Conventional ab Initio and Density-Functional Theory) Studies. *The Journal of Physical Chemistry A*, 103, 280-288.
9. Civcir, P. Ü. (2001). A Theoretical Study of Tautomerism of 6-Thiopurine in the Gas and Aqueous Phases using AM1 and PM3. *Journal of Molecular Structure (Theochem)*, 535, 121-129.
10. Pazderski, L., Lakomska, I., Wojtczak, A., Szlyk, E., Sitkowski, J., Kozerski, L., Kamienski, B., Kozminski, W., Tousek, J., & Marek, R. (2006). The Studies of

- Tautomerism in 6-Mercaptopurine Derivatives by  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  NMR and  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  CPMAS-Experimental and Quantum Chemical Approach. *Journal of Molecular Structure*, 786, 205-215.
11. Bartl, T., Zacharova, Z., Seckarova, P., Kolehmainen, E., & Marek, R. (2009). NMR Quantification of Tautomeric Populations in Biogenic Purine Bases. *European Journal of Organic Chemistry*, 2009 (9), 1377-1383.
  12. Benezra, S. A., & Foss, P. R. B. (1978). 6-Mercaptopurine. En Florey, K. (Ed.), *Analytical Profiles of Drug Substances, Volume 7* (pp. 343-357). EE. UU.: Academic Press.
  13. Acevedo-Chávez, R. (1997). *Compuestos de Cu(II) con los Heterociclos Alopurinol, Hipoxantina, 6-Mercaptopurina, Pirazol, 3,5-Dimetilpirazol* (Tesis de Doctorado). UNAM, Facultad de Química, Ciudad Universitaria, México.
  14. Cruz Delgado, J. D. (2009). *Estudio Teórico de las Estabilidades Energética y Termodinámica de los Tautómeros de la 6-Mercaptopurina en Fase Gas bajo Diferentes Estados de Protonación* (Tesis de Licenciatura). UNAM, Facultad de Química, Ciudad Universitaria, México.
  15. Dubler, E., & Gyr, E. (1988). New Metal Complexes of the Antitumor Drug 6-Mercaptopurine. Syntheses and X-ray Structural Characterization of Dichloro(6-mercaptopurinium)copper(I), Dichlorotetrakis(6-mercaptopurine)cadmium(II), and Bis(6-mercaptopurinato)cadmium(II) Dihydrate. *Inorganic Chemistry*, 27, 1466-1473.
  16. Amo-Ochoa, P., Rodríguez-Tapiador, M. I., Castillo, O., Olea, D., Guijarro, A., Alexandre, S. S., Gómez-Herrero, J., & Zamora, F. (2006). Assembling of Dimeric Entities of Cd(II) with 6-Mercaptopurine to Afford One-Dimensional Coordination Polymers: Synthesis and Scanning Probe Microscopy Characterization. *Inorganic Chemistry*, 45, 7642-7650.
  17. Sevilla, J. M., Pineda, T., Madueño, R., Román, A. J., & Blázquez, M. (1998). Characterization of 6-Mercaptopurine Monolayers on Hg Surfaces. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 442, 107-112.
  18. Viudez, A. J., Madueño, R., Pineda, T., & Blázquez, M. (2006). Stabilization of Gold Nanoparticles by 6-Mercaptopurine Monolayers. Effects of the Solvent Properties. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110, 17840-17847.

19. Rashidpour, N., Kashid, V., & Shah, V. (2013). Effect of Tautomerism on Au-6-Mercaptopurine Nanocluster Stability. *AIP Conference Proceedings*, 1512, 390-391.
20. Latosinska, J. N., Seliger, J., Zagar, V., & Burchardt, D. V. (2009). Hydrogen Bonding and Stacking  $\pi$ - $\pi$  Interactions in Solid 6-Thioguanine and 6-Mercaptopurine (Antileukemia and Antineoplastic Drugs) Studied by NMR-NQR Double Resonance Spectroscopy and Density Functional Theory. *The Journal of Physical Chemistry A*, 113, 8781-8790.
21. Barquera Lozada, J. E. (2004). *Estudio Teórico de Propiedades de Estructura Molecular y Electrónica en 6-Mercaptopurina* (Tesis de Licenciatura). UNAM, Facultad de Química, Ciudad Universitaria, México.
22. Cuevas, G., & Cortés, F. (2003). *Introducción a la Química Computacional*. México: Fondo de Cultura Económica.
23. Jensen, F. (2007). *Introduction to Computational Chemistry* (2a ed.). Inglaterra: John Wiley & Sons Ltd.
24. Engel, T. (2013). *Quantum Chemistry and Spectroscopy* (3a ed.) EE. UU.: Pearson Education, Inc.
25. Cramer, C. J. (2004). *Essentials of Computational Chemistry: Theories and Models* (2a ed.). EE.UU.: John Wiley & Sons, Inc.
26. Tomasi, T., Mennucci, B., & Cammi, R. (2005). Quantum Mechanical Continuum Solvation Models. *Chemical Reviews*, 105, 2999-3093.
27. Klamt, A., & Schüürmann, G. (1993). COSMO: A New Approach to Dielectric Screening in Solvents with Explicit Expressions for the Screening Energy and its Gradient. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, 1993, 799-805.
28. Costas, M. E., & Acevedo-Chávez, R. (2012). Density Functional Theory Study of Hypoxanthine Tautomerism in Both the Isolated State and a Modeled-Ideal Aqueous Solution at Several Heterocyclic Protonation Levels. *Journal of Solution Chemistry*, 41, 864-878.
29. Moser, A., Range, K. & York, D. M. (2010). Accurate Proton Affinity and Gas-Phase Basicity Values for Molecules Important in Biocatalysis. *The Journal of Physical Chemistry B*, 114 (43), 13911-13921.

30. Camaioni, D. M. & Schwerdtfeger, C. A. (2005). Comment on "Accurate Experimental Values for the Free Energies of Hydration of H<sup>+</sup>, OH<sup>-</sup>, and H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>". *The Journal of Physical Chemistry A*, 109 (47), 10795-10797.
31. Kelly, C. P., Cramer, C. J., & Truhlar, D. G. (2007). Single-Ion Solvation Free Energies and the Normal Hydrogen Electrode Potential in Methanol, Acetonitrile, and Dimethyl Sulfoxide. *The Journal of Physical Chemistry B*, 111 (2), 408-422.
32. Levine, N. I. (2001). *Química Cuántica* (5a ed.). Madrid: Pearson Educación, S.A.
33. Fiolhais, C., Nogueira, F., & Marques, M. (2003). *A Primer in Density Functional Theory* (1a ed.). Alemania: Springer.
34. Capelle, K. (2006). A Bird's-Eye View of Density-Functional Theory. *Brazilian Journal of Physics*, 36 (4A), 1318-1343.
35. McNaught, A. D. & Wilkinson, A. (1997). *Compendium of Chemical Terminology* (2a ed.). Oxford: Blackwell Scientific Publications.
36. Tawa, G. J., Topol, I. A., Burt, S. K., Caldwell, R. A., & Rashin, A. A. (1998). Calculation of the Aqueous Solvation Free Energy of the Proton. *The Journal of Chemical Physics*, 109 (12), 4852-4863.
37. Klamt, A. (2011). The COSMO and COSMO-RS Solvation Models. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 1 (5), 699-709.
38. Cramer, C. J., & Truhlar, D. G. (1999). Implicit Solvation Models: Equilibria, Structure, Spectra, and Dynamics. *Chemical Reviews*, 99 (8), 2161-2200.
39. Atkins, P., & De Paula, J. (2010). *Physical Chemistry* (9a ed.). Nueva York: W. H. Freeman and Company.
40. Cook, D. B. (1998). *Handbook of Computational Chemistry* (1a ed.). EE. UU.: Oxford University Press.
41. Yalkowsky, S. H., He, Y., & Jain, P. (2010). *Handbook of Aqueous Solubility Data* (2a ed.). Florida: CRC Press.
42. Larrañaga, M. D., Lewis, R. J. Sr., & Lewis, R. A. (2016). *Hawley's Condensed Chemical Dictionary* (16a ed.). Nueva Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
43. International Agency for Research on Cancer (1981). *Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans* (Vol. 26). Ginebra: Organización Mundial de la Salud.

44. Himmel, D., Goll, S. K., Leito, I., & Krossing, I. (2010). A Unified pH Scale for All Phases. *Angewandte Chemie*, 49, 6885-6888.
45. Wilks, J. C., & Slonczewski, J. L. (2007). pH of the Cytoplasm and Periplasm of *Escherichia coli*: Rapid Measurement by Green Fluorescent Protein Fluorimetry. *Journal of Bacteriology*, 189 (15), 5601-5607.
46. Lewars, E. G. (2011). *Computational Chemistry: Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics* (2a ed.). EE. UU.: Springer.
47. Koch, W., Holthausen, M. C. (2001). *A Chemist's Guide to Density Functional Theory* (2a ed.). Alemania: Wiley-VCH Verlag GmbH.
48. Bachrach, S. M. (2014). *Computational Organic Chemistry* (2a ed.). Nueva Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
49. Hohenberg, P., & Kohn, W. (1964). Inhomogeneous Electron Gas. *Physical Review*, 136 (3B), B864-B871.
50. Parr, R. G., & Yang, W. (1989). *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules*. Nueva York: Oxford University Press.
51. Seminario, J. M., & Politzer, P. (1995). *Modern Density Functional Theory: A Tool for Chemistry*. Países Bajos: Elsevier.
52. Zhao, Y., & Truhlar, D. G. (2008). Density Functionals with Broad Applicability in Chemistry. *Accounts of Chemical Research*, 41 (2), 157-167.
53. Sousa, S. F., Fernandes, P. A., & Ramos, M. J. (2007). General Performance of Density Functionals. *The Journal of Physical Chemistry A*, 111, 10439-10452.
54. Quan, C. (2017). *Mathematical Methods for Implicit Solvation Models in Quantum Chemistry* (Tesis de Doctorado). UPMC, Laboratoire Jacques-Louis Lions, Paris, Francia.
55. Villegas-Ortega, R., Costas, M. E., & Acevedo-Chávez, R. (2000). Density Functional Study of the Monocationic Allopurinol Tautomers. *Journal of Molecular Structure*, 504 (1-3), 105-118.
56. Costas, M. E., & Acevedo-Chávez, R. (2002). Density Functional Study of the Diprotonated Allopurinol<sup>2+</sup> Tautomers. *Journal of Molecular Structure*, 587 (1-3), 129-146.

57. Costas, M. E., & Acevedo-Chávez, R. (1997). Density Functional Study of the Neutral Hypoxanthine Tautomeric Forms. *The Journal of Physical Chemistry A*, 101, 8309-8318.
58. Barquera-Lozada, J. E., Costas, M. E., Acevedo-Chávez, R. (2007). 6-Mercaptopurine Physicochemical and Chemical Behavior. A Density Functional Theory Study. *Trends in Heterocyclic Chemistry*, 12, 47-65.
59. Ben-Naim, A. (1987). *Solvation Thermodynamics*. Springer. Nueva York: Science+Business Media.
60. Jang, Y. H., Goddard, W. A. III, Noyes, K. T., Sowers, L. C., Hwang, S., & Chung, D. S. (2003). pKa Values of Guanine in Water: Density Functional Theory Calculations Combined with Poisson-Boltzmann Continuum-Solvation Model. *The Journal of Physical Chemistry B*, 107, 344-357.
61. Becke, A. D. (1993). Density Functional Thermochemistry. III. The Role Of Exact Exchange. *The Journal of Chemical Physics*, 98 (7), 5648-5652.