SIMULACIÓN COMPUTACIONAL CON DINÁMICA MOLECULAR: OVILLAMIENTO DE SISTEMAS POLIELECTROLITOS ANIÓNICOS COMO RESERVORIO DEL METRONIDAZOL

JHONATHAN HERRERA ZÚÑIGA

UNIVERSIDAD ICESI
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS NATURALES
CALI
2016

SIMULACIÓN COMPUTACIONAL CON DINÁMICA MOLECULAR: OVILLAMIENTO DE SISTEMAS POLIELECTROLITOS ANIÓNICOS COMO RESERVORIO DEL METRONIDAZOL

JHONATHAN HERRERA ZÚÑIGA

Proyecto de grado para optar al título de:

QUÍMICO FARMACÉUTICO

DIRECTOR DEL PROYECTO:

Carlos A. Arango M, *Ph.D.*

UNIVERSIDAD ICESI
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS NATURALES
CALI
2016

Aprobado Por:

_____

Evaluador:

Constain H. Salamanca M. *Ph.D*.

_____

Evaluador:

José Guillermo López. *Ph.D*.

_____

Director del proyecto:

Carlos A. Arango M. *Ph.D.*

Entregado y aceptado:

Santiago de Cali, 2016

Marzo 2016

Agradecimientos

El presente trabajo de grado fue realizado bajo la dirección del Dr. Carlos A. Arango M., a quien me gustaría expresarle mi mayor gratitud, por hacer esto posible. Además, agradecer por su paciencia, tiempo y escucha.

Muchas gracias

CONTENIDO

Listado de tablas 7
Listado de graficas 8
Listado de figuras 9
Listado de anexos 11
1. Resumen del proyecto: 12
1. Abstract 13
2. Introducción 14
2.1. Intereses farmacéuticos 14
2.2. Aproximaciones computacionales 14
3. Descripción del trabajo 16
3.1. Planteamiento del problema: 16
4. Marco teórico: 17
5. Objetivos del proyecto: 20
5.1. Objetivo general: 20
5.2. Objetivos específicos: 20
6. Metodología: 21
6.1. Recursos computacionales: 21
6.2. Programas computacionales: 21
6.3. Tratamiento de datos y análisis de los resultados: 22
7. Resultados 23
7.3. Resultados de la minimización del dímero: 24
7.4. Resultados de la minimización de los principios activos (Metronidazol y Tinidazol) 26
7.5. Resultados de la minimización por medio de dinámica molecular del complejo formado por los diferentes dímeros de PAM y el Metronidazol. 27
7.6. Resultados de la minimización por medio de dinámica molecular del complejo formado por los diferentes dímeros de PAM y el Tinidazol. 30
7.7. Resultados de las energías totales para los sistemas moleculares formados entre los diferentes dímeros y los principios activos. 34
8. Discusión de los resultados 37

9. Conclusiones 41
10. Recomendaciones 42
11. Bibliografía 43
Anexos 45

Listado de tablas

Tabla 1: Datos experimentales del complejo formado entre el Tinidazol y el polímero PAM-n, con n=8, 10, 12, 14, 16 y 18, la constante de distribución (Ks), energía libre de transferencia (kJ/mol).....34

Tabla 2: Datos computacionales del complejo formado entre el Metronidazol y el polímero PAM-n, con n=8, 10, 12, 14, 16 y 18, y la energía de formación correspondiente a cada sistema. 35

Tabla 3: Datos computacionales del complejo formado entre el Tinidazol y el polímero PAM-n, con n=8, 10, 12, 14, 16 y 18, y la energía correspondiente a cada sistema. 35

Listado de graficas

Gráfica 1: Minimización de energía para cada dímero de PAM-n, con n=8, 10, 12, 14, 16 y 18 átomos de Carbono en la cadena lateral.....25

Gráfica 2: RMSD (en escala logarítmica) contra el número de pasos en la minimización de la energía del dímero PAM-12.....25

Gráfica 3: Minimizaciones de energía para cada complejo de PAM-n, con n=8, 10, 13, 14, 16 y 18 átomos de Carbono en la cadena lateral y el Metronidazol.....29

Gráfica 4: RMSD (en escala logarítmica) contra el número de pasos en la minimización de la energía del complejo formado por el Metronidazol y el dímero de PAM-18.....30

Gráfica 5: Minimizaciones de energía para cada complejo de PAM-n, con n=8, 10, 12, 14, 16 y 18 átomos de Carbono en la cadena lateral y el Tinidazol.....33

Gráfica 6: RMSD (en escala logarítmica) contra el número de pasos en la minimización de la energía del complejo formado por el Tinidazol y el dímero de PAM-18.....33

Gráfica 7: Energía de formación para los complejos de PAM-n y el Metronidazol, obtenido de manera computacional.....35

Gráfica 8: Energía de formación para los complejos de PAM-n y el Tinidazol, obtenido de manera computacional.....36

Gráfica 9: Energía de formación para el complejo entre el PAM-n, con n=8, 10, 12, 14, 16 y 18 y el Tinidazol, obtenido de manera experimental.....36

Listado de figuras

Figura 1: Geometría inicial (Izquierda) y Geometría optimizada del PAM8 (Derecha). 24

Figura 2: Optimización del Metronidazol (Antes – Izquierda y Después – Derecha), mediante un cálculo semi-empírico (PM6). 26

Figura 3: Optimización del Tinidazol (Antes – Izquierda y Después – Derecha), mediante un cálculo semi-empírico (PM6). 26

Figura 4: Optimización del polímero PAM-08 (Antes – Izquierda y Después – Derecha), en la parte superior se encuentra el activo (Metronidazol). 27

Figura 5: Optimización del polímero PAM-10 (Antes – Izquierda y Después – Derecha) y en la parte superior se encuentra el activo (Metronidazol). 27

Figura 6: Optimización del polímero PAM-12 (Antes – Izquierda y Después – Derecha) y en la parte superior se encuentra el activo (Metronidazol). 28

Figura 7: Optimización del polímero PAM-14 (Antes – Izquierda y Después – Derecha) y en la parte superior se encuentra el activo (Metronidazol). 28

Figura 8: Optimización del polímero PAM-16 (Antes – Izquierda y Después – Derecha) y en la parte superior se encuentra el activo (Metronidazol). 28

Figura 9: Optimización del polímero PAM-18 (Antes – Izquierda y Después – Derecha) y en la parte superior se encuentra el activo (Metronidazol). 29

Figura 10: Optimización del polímero PAM-08 (Antes – Izquierda y Después – Derecha) y en la parte superior, encerrado en un círculo, se encuentra el activo (Tinidazol). 31

Figura 11: Optimización del polímero PAM-10 (Antes – Izquierda y Después – Derecha) y en la parte superior se encuentra el activo (Tinidazol). 31

Figura 12: Optimización del polímero PAM-12 (Antes – Izquierda y Después – Derecha) y en la parte superior se encuentra el activo (Tinidazol). 31

Figura 13: Optimización del polímero PAM-14 (Antes – Izquierda y Después – Derecha) y en la parte superior se encuentra el activo (Tinidazol). 32

Figura 14: Optimización del polímero PAM-16 (Antes – Izquierda y Después – Derecha) y en la parte superior se encuentra el activo (Tinidazol). 32

Figura 15: Optimización del polímero PAM-18 (Antes – Izquierda y Después – Derecha) y en la parte superior se encuentra el activo (Tinidazol). 32

Figura 16: Interface gráfica para la construcción de nuevas moléculas. La ventana de GaussView 5.0, a la derecha. Paleta de átomos de la tabla periódica, parte superior izquierda. Interface gráfica, parte inferior izquierda. 46

Figura 17: Interface gráfica para la ejecución de cálculos en Gaussian. Ventana de GaussView 5.0, a la izquierda. Interface gráfica, parte inferior derecha. Ventana para ejecución de cálculos, parte superior derecha. 47

Listado de anexos

Anexo 1. Archivo de salida para la ejecución del cálculo de minimización del PAM8 para los 10 primeros pasos 45

Anexo 2: Tiempos de cálculo para la optimización de las geometrías de los dímeros de PAM 45

Anexo 3. Diseño de las macro-estructuras en GausView 5.0 46

1. Resumen del proyecto:

De las nuevas entidades químicas con gran potencial farmacológico, un gran porcentaje exhibe baja solubilidad en medio acuoso, lo que se traduce en una baja biodisponibilidad. La utilización de nano-agregados poliméricos para encapsular diferentes principios activos es la alternativa hacia donde apunta la industria farmacéutica.

Los nano-agregados moleculares formados entre las moléculas orgánicas Metronidazol y Tinidazol (ingredientes farmacológicamente activos) y los polielectrolitos de las sales potásicas de ácido maléico *co*-1-olefina (matriz polimérica) pueden estudiarse a nivel de Dinámica Molecular. En este proyecto se estudiaron a nivel *in silico* las interacciones y estabilidades energéticas de los principios activos con diferentes matrices poliméricas.

Se realiza la simulación computacional utilizando el software Gaussian 09 junto con una interface gráfica GaussView 5.0, los resultados computacionales realizados en vacío de los sistemas moleculares concuerdan con los resultados experimentales. Las interacciones entre el Metronidazol, el Tinidazol y los dímeros de PAM-8, -10, -12, -14, -16 y -18, exhiben afinidad por las cadenas laterales hidrofóbicas de los polímeros. No fue posible realizar la simulación incluyendo el medio acuoso puesto que se sobrepasaban los requerimientos computacionales.

Palabras clave: polielectrolitos, solubilidad de ingredientes farmacológicamente activos, dinámica molecular, cadenas laterales hidrofóbicas, biodisponibilidad.

1. Abstract

New chemical entities with great pharmacological potential, a large percentage exhibits low solubility in aqueous medium, resulting in low bioavailability. The use of polymeric nano-aggregates to encapsulate different active ingredients is the alternative to points where the pharmaceutical industry.

Nano-molecular aggregates formed between organic molecules Metronidazole and Tinidazole (pharmacologically active ingredients) and polyelectrolytes of potassium salts of maleic acid co-1-olefin (polymer matrix) can be studied at the level of molecular dynamics. This project studied in silico level interactions and energy stabilities of the active ingredients with different polymer matrices.

computer simulation is performed using the Gaussian 09 software along with a GaussView 5.0 graphical interface, the computational results performed in vacuum molecular systems consistent with the experimental results. Interactions between metronidazole, tinidazole and dimers PAM-8, -10, -12, -14, -16 and -18 exhibit affinity for the hydrophobic side chains of the polymers. It was not possible to perform the simulation including the aqueous medium since the computational requirements are exceeded.

Keywords: polyelectrolyte, solubility of pharmacologically active ingredients, molecular dynamics, hydrophobic side chains, bioavailability.

2. Introducción

2.1. Intereses farmacéuticos

La administración de medicamentos es el proceso mediante el cual se suministra a un ser humano o animal un compuesto farmacéutico con el fin de lograr un efecto terapéutico beneficioso. Los medicamentos han sido utilizados durante mucho tiempo atrás con el objetivo de mejorar la salud y prolongar la vida de las diferentes especies, pero cada vez se hace más evidente la necesidad de encontrar nuevas rutas y formas de administración de los medicamentos disponibles. Para este propósito, se han diseñado varios sistemas de liberación, dentro de los cuales se incluyen liposomas, micro-esferas, geles, entre otros. (Tiwari, y otros, 2012).

La investigación y el desarrollo de nuevas moléculas de interés farmacológico son altamente costosos, requiere grandes sumas de dinero y tiempo. La búsqueda de mecanismos que mejoren la efectividad y la seguridad de los medicamentos disponibles en el mercado es, hoy en día, hacia donde apuntan las grandes compañías farmacéuticas.

Por ejemplo, un grupo de investigadores financiados por el Instituto Nacional de Salud (INS, más conocido en inglés por las siglas NIH), creó las nano-esponjas, las cuales son redes de poliésteres con la capacidad de contener una amplia variedad de medicamentos contra el cáncer. (S, S, K, & M, 2012).

2.2. Aproximaciones computacionales

Las simulaciones computacionales de sistemas físicos han ganado importancia en los últimos años en los diferentes campos de la ciencia y la tecnología. Actualmente, es posible realizar una aproximación computacional, la cual provee diferentes datos acerca de las propiedades de diferentes sistemas moleculares al llegar a un equilibrio. A nivel farmacéutico, los estudios computacionales brindan información que permite optimizar el diseño de nuevas formulaciones. (Leach, 2001). Grupos de investigación de la Universidad Icesi han investigado aspectos conformacionales de sales potásicas de diferentes polielectrolitos, midiendo la dependencia con respecto al pH, y las longitudes de las cadenas alquílicas y monoméricas (Suarez, 2012).

2.3. Modelado molecular:

El modelado molecular es una herramienta que se basa en el uso de métodos teóricos y recursos computacionales con el objetivo de construir, simular y predecir el comportamiento de las moléculas. Los métodos de mecánica cuántica son ejecutados teniendo en cuenta los electrones del sistema de interés, cuando el número de partículas que conforman ese sistema es pequeño, es posible realizarlo mediante este método, pero cuando la complejidad de los sistemas aumenta, se hace necesario el uso de otras metodologías.

Una de esas metodologías, es la simulación de sistemas moleculares mediante dinámica molecular (DM). Este tipo de simulación permite evaluar el movimiento de partículas en un periodo de tiempo. La DM resuelve las ecuaciones de movimiento de Newton, evaluando la variación de las propiedades del sistema hasta que estas se equilibren.

3. Descripción del trabajo

3.1. Planteamiento del problema:

La biodisponibilidad de un medicamento es la fracción y la velocidad a la cual la dosis suministrada llega a la diana farmacológica (Vila, 2008). La acción farmacológica de la mayoría de los medicamentos depende de este parámetro. Gran parte de los principios activos son moléculas orgánicas que usualmente presentan una baja biodisponibilidad (Ketan T. Savjani, 2012).

Estrategias empleadas para resolver la baja biodisponibilidad de principios activos incluyen el uso de micelas y micro-esferas de origen polimérico las cuales ayudan a solubilizar el fármaco, y lo protegen de la degradación física y química que puede ocurrir antes de su llegada al sitio de acción terapéutica (Vogelson, 2001).

Los sistemas polielectrolitos aniónicos (polímeros con grupos ionizables) han mostrado resultados prometedores en investigaciones donde son usados como nano-reservorios de medicamentos; en medio acuoso estos polielectrolitos forman micelas con un interior apolar y una capa externa polar que permite su solubilidad. La parte interna, al ser de naturaleza hidrofóbica permite albergar moléculas orgánicas insolubles en agua como el Metronidazol (Salamanca Mejía, 2007).

En este proyecto se buscó evaluar a nivel *in silico* la estabilidad de los sistemas moleculares poliméricos de sales potásicas (PA-8, 10, 12, 14, 16 y18). Adicionalmente se incorporaron las moléculas de Metronidazol y Tinidazol, y se estudió la estabilidad del complejo formado con las diferentes matrices poliméricas.

Este proyecto pretendía, mediante el uso de herramientas computacionales, obtener información de la interacción entre el Metronidazol y el Tinidazol con las diferentes matrices poliméricas *in silico*, con el objetivo de comparar dichos resultados con los reportados en la literatura, que a largo plazo, pueda prever información específica sobre diferentes sistemas macromoleculares.

4. Marco teórico:

La solubilidad es el fenómeno de disolución de un soluto en un disolvente para dar un sistema homogéneo; este es uno de los parámetros importantes en términos farmacocinéticos y farmacodinámicos. Para que se dé el efecto farmacológico, es necesario que el fármaco se solubilice, pueda ser absorbido y por último, llegue a su lugar de acción (Vila, 2008).

La baja solubilidad en medio acuoso es el principal problema encontrado en las nuevas entidades químicas (NEQ), así como para el desarrollo de las diferentes formas farmacéuticas. Más del 40% de las NEQ desarrolladas en la industria farmacéutica, son prácticamente insolubles en agua (Ketan T. Savjani, 2012).

Entre las diferentes estrategias para mejorar la solubilidad de los activos podemos mencionar el recubrimiento del principio activo con matrices poliméricas basadas en poliésteres, polianhídridos, poliacetales, nanogeles, hidrogeles, electrogeles, entre otras (Svenson, 2006). Adicionalmente, se ha investigado el uso de esas matrices como agentes para modificar y modular la liberación del fármaco (Yao Fu, 2010).

Dichas investigaciones han concluido en el desarrollo y producción de algunos medicamentos como: Trofanil® (antidepresivo tricíclico), Zoladex® (antineoplásico hormonal), Paclimer® (antineoplásico), entre otros, los cuales presentan baja solubilidad en medio acuoso y han sido encapsulados en matrices poliméricas para mejorar su biodisponibilidad.

Los polielectrolitos son sistemas macromoleculares ramificados (con una cadena principal y cadena lateral) que poseen grupos susceptibles a ionización dentro de su estructura (Salamanca Mejía, 2007). Se pueden dar transiciones conformacionales del polímero y cambiar de sus formas extendidas o aglomeradas, dependiendo de la naturaleza química de la cadena principal y las laterales, y también de las interacciones que ésta presente con un medio acuoso.

Si a lo largo de la cadena principal se presentan una alta densidad de grupos cargados y las cadenas laterales son cortas, primarán las interacciones repulsivas entre los grupos polares y el polímero se extenderá, con el fin de minimizar esas fuerzas.

Por otro lado, cuando existe una baja densidad de grupos cargados y las cadenas laterales son largas, las interacciones entre cadenas laterales primarán sobre la repulsión electrostática de la cadena principal y el polímero adquiere una estructura aglomerada.

Cabe señalar que, cuando los polímeros se encuentran en un medio de disolución polar (acuoso), se ve favorecida la forma aglomerada, en el centro de dicha estructura, se da la formación de un micro-dominio hidrofóbico que, a su vez, tiene la capacidad de interactuar con moléculas orgánicas apolares (generalmente los medicamentos poseen esta característica) (Salamanca Mejía, 2007).

La formación de micro-dominios apolares va a depender de la naturaleza química del polímero. Se observa que variables como el pH, la longitud de la cadena alquílica y las cadenas laterales, influyen en las transiciones conformacionales de los polímeros (Salamanca Mejía, 2007); por lo tanto, se debe estudiar la influencia de estos parámetros con el objetivo de obtener una descripción del proceso para futuros proyectos relacionados con este tema.

Salamanca *et al*. Estudiaron experimentalmente utilizando sondas fluorescentes las sales potásicas de los polielectrolitos de ácido maléico *co-1*-olefinas (PA-nK_2). Ellos concluyen que dichos polielectrolitos, poseen la capacidad de formar micro-entornos hidrófobos en medio acuoso, por lo que estos polielectrolitos pueden solubilizar medicamentos comerciales como Ornidazol, Metronidazol y Tinidazol. Los resultados indican que la solubilidad de esos compuestos, en los polímeros mencionados anteriormente, depende moderadamente del tamaño de la cadena alquílica (Salamanca, Barraza, Acevedo, & Olea, 2007).

Antes de emprender un proyecto experimental, los investigadores buscan analizar y obtener algunas predicciones de manera computacional. Para lograrlo, se hace uso de un método de cálculo conocido como Dinámica Molecular que permite calcular clásica y estadísticamente el comportamiento dependiente del tiempo de un sistema molecular. La mecánica molecular implica el uso de mecánica clásica y mecánica newtoniana para describir el comportamiento de los diferentes sistemas, a diferencia de la mecánica cuántica, los modelos moleculares describen los átomos (núcleos y electrones) como cargas puntuales con parámetros específicos al tipo de átomo.

Los parámetros mencionados incluyen distancias de enlace, ángulos de enlace, cargas y constantes de fuerza, estos parámetros son conocidos como campos de fuerza, las interacciones entre los átomos de una gran cantidad de moléculas han sido parametrizados en campos de fuerza. Estos parámetros son trasferibles de acuerdo a la similitud del entorno químico en moléculas de interés bioquímico y farmacéutico (Leach, 2001).

La mayoría de los campos de fuerza utilizados en modelamiento molecular se interpretan en términos de cuatro tipos de interacciones inter e intra moleculares, estiramiento del enlace, flexiones de ángulo, rotaciones de un enlace (torsiones), e interacciones no enlazantes. Dentro de estas últimas, se encuentran las de tipo electrostático y las de Van der Waals.

Existen varios tipos de campos de fuerza como: MM1, MM2, MM3, MM4, CHARM, y AMBER, entre otros. La ventaja que ofrecen los campos MM es que se encuentran ampliamente parametrizados. CHARMM, se usa ampliamente en pequeñas y grandes moléculas. Por otro lado, el uso de AMBER y CHARMM es muy común en el estudio de macromoléculas. AMBER, en comparación con CHARMM, es un campo de fuerza más detallado. Tanto CHARMM como AMBER son propicios para trabajar con Gaussian 09, ya que, sólo es necesario modelar el polímero sin necesidad de describir el tipo de interacciones. (Lewars, 2011)

Con base en lo anterior, para el presente proyecto se decide trabajar bajo el campo de fuerza CHARMM, en Gaussian 09. Este campo abarca una gran cantidad de grupos químicos presentes en las biomoléculas, incluido los medicamentos, y está diseñado para cubrir todas las combinaciones de los grupos químicos. (K. Vanommeslaeghe, 2010).

5. Objetivos del proyecto:

5.1. Objetivo general:

Estudiar a nivel *in silico* la estabilidad del agregado molecular formado entre el Metronidazol y los polímeros de sales potásicas (PAM-8,10, 12,14, 16, 18-K_2).

5.2. Objetivos específicos:

5.2.1. Determinar las configuraciones estructurales de mínima energía de los polímeros de las sales potásicas de poli (ácido maléico-*co*-olefinas), (PAM-8,10, 12,14, 16, 18- K_2).

5.2.2. Identificar las conformaciones energéticamente más estables del agregado formado entre el Metronidazol y los polímeros de sales potásicas (PAM-8,10, 12,14, 16, 18- K_2).

5.2.3. Comparar y relacionar los resultados computacionales con los publicados experimentalmente.

6. Metodología:

6.1. Recursos computacionales:

El presente proyecto se realizó en las instalaciones de la Universidad Icesi, en el área de Investigación en Fisicoquímica (GIFQ). En ese lugar se cuenta con cinco computadores, de los cuales se utilizó el siguiente:

- Un computador de escritorio:
    - 4,00GB de Memoria RAM instalada
    - Dos procesadores Intel® Core™ Duo E8400 3,00 GHz
    - Disco Duro de 100GB
    - Sistema operativo Windows 7 Professional

6.2. Programas computacionales:

- Gaussian 09

Gaussian 09 es un software computacional que, a partir de las leyes fundamentales de la mecánica cuántica, predice las energías, estructuras moleculares, frecuencias de vibración y las propiedades moleculares de las moléculas y reacciones en una amplia variedad de entornos químicos. (Frisch, y otros, 2009)

Este software, realiza cálculos computacionales mediante la resolución de ecuaciones de movimiento las cuales describen el comportamiento de los sistemas físicos en términos de su movimiento como una función del tiempo. Para esto utiliza el método numérico (integrador) conocido como *Velocity Verlet*.

El *algoritmo de Verlet*, utiliza las posiciones y las aceleraciones de las moléculas en el tiempo *(t),* y el cambio de las posiciones al cambiar el tiempo (t-δt) para calcular las nuevas posiciones (t+δt). La desventaja de este método es que tiene una precisión moderada, por otro lado es utilizado por ser sencillo y no utilizar gran cantidad de memoria en la ejecución de cálculos. (Standard, 2015).

- GaussView 5.0:

Este programa permite construir mediante la utilización de interface gráfica, el sistema molecular de interés y a su vez, genera el archivo de entrada (Input file) necesario para la realización de cálculos en *Gaussian 09*.

Una vez se realizan los cálculos necesarios para un trabajo en particular, el programa arroja un archivo de salida (Output file), que permite obtener información del sistema molecular sin necesidad de visualizar en sí, un archivo de salida, el cual es extenso y puede ser difícil encontrar información.

6.3. Tratamiento de datos y análisis de los resultados:

Para analizar los resultados se empleó el archivo de salida (.log) que provee la ejecución del cálculo de *Gaussian 09.* Los archivos .log contienen toda la información de interés del sistema molecular estudiado. Un archivo de salida está conformado por bloques de diferente información, la sección de interés muestra la información en 12 columnas, en donde es de relevancia las columnas 1 y 11, que indica el número de pasos (Steps) y la energía total del sistema molecular (Energy), respectivamente.

Se tabularon dichas columnas en la herramienta de office, Excel 2010, se pasaron a un archivo de terminación *.txt, el cual es el formato que puede ser leído por GNUplot, el cual es un programa que permite visualizar datos de manera interactiva.

Basados en la información experimental publicada en (Salamanca, Barraza, Acevedo, & Olea, 2007), donde se estudia la solubilización de tres medicamentos comerciales en una matriz polimérica mediante la medición del coeficiente de partición (Ks) y la energía libre estándar ($\Delta\mu°t$), y la información obtenida de manera experimental, en el presente trabajo, se puede realizar la comparación de algunos datos.

6.4. Propiedades a analizar:

En el presente estudio se analizaron los diferentes tipos de energía asociados al proceso de minimización de los sistemas macromoleculares tales como: Van de Waals, Stretching, Bending, Torsión, y Out of plane. Cada tipo de energía está asociado al tipo de movimiento o interacción entre los diferentes átomos que conforman un sistema. El tipo de energía da una idea del tipo de interacción, ya se atractiva o repulsiva, que se presenta dentro del sistema evaluado.

7. Resultados

7.1. Elección de tipo de cálculo:

Los programas utilizados en química computacional están basados en diferentes métodos de la química cuántica que resuelven la ecuación de Schrödinger. Los métodos que no incluyen ningún parámetro empírico o semi-empírico en sus ecuaciones (siendo derivadas directamente de principios teóricos, sin la inclusión de datos experimentales), son llamados métodos *ab initio*, los cuales son muy precisos, pero así mismo demandan grandes cantidades de tiempo de computo y memoria. Con base en lo anterior, se decide emplear un modelo semi-empírico, teniendo en cuenta las limitaciones en cuanto a la pérdida de precisión.

En contraste con los cálculos *ab initio,* los cálculos semi-empíricos realizan una serie de aproximaciones y utilizan parámetros obtenidos de manera semi-empírica (pruebas llevadas a cabo mediante experimentación científica), lo que disminuye notablemente los requerimientos computacionales. (Clifford E. Dykstra, 2005).

Para este tipo de cálculo se tienen diferentes tipos de parámetros, tales como: MNDO, AM1, SAM1, 6-21G, 6-31g, PM3-5-6, entre otros. Estos archivos poseen las bases para realizar el cálculo; PM6 es el último archivo de parámetros desarrollado, incluyendo un número amplio de átomos que están presenten en los sistemas de interés en el presente proyecto. Las ventajas de la utilización de PM6 son que viene incorporado en la configuración de *Gaussian 09*, acorta el tiempo de cálculo. Por otro lado está la perdida de precisión en los cálculos, no se describen con precisión los orbitales moleculares de los sistemas, sino que determina la geometría y la entalpía de formación. (Stewart, 2007).

7.2. RMSD para la determinación del mínimo local o global:

El RMSD, (*Root Mean Square Deviation)*, mide la variación de la posición en un espacio definido. Teniendo en cuenta el objetivo de la minimización, que es buscar el valor mínimo de energía del sistema, cada variación que se dé en la posición tridimensional de cada átomo, lleva asociado un cambio en la energía del sistema. Por lo tanto, la cuantificación de dicho cambio es medido por el RMSD. Un valor grande del RMSD significa que las estructuras tridimensionales, al pasar de un ciclo de cálculo al siguiente, están presentando un cambio brusco en el valor de la energía. Por otro lado, cuando es cercano a cero significa que el sistema no presenta cambios significativos, por ende, se asume que el sistema ha llegado a un mínimo local energético.

7.3. Resultados de la minimización del dímero:

Al dibujar átomo por átomo la estructura tridimensional de cada dimero, es necesario realizar una optimización de geometría. En la figura 3 se muestra la geometría de partida, con una cadena lateral de 8 átomos de carbono y al lado de esta se encuentra la geometría final, la cual ya ha alcanzado el mínimo de energía. Los resultados obtenidos para cada dímero de cadenas laterales de 10, 12, 14, 16 y 18, son similares a lo presentado para el PAM-8; donde lo único que cambia es la longitud de la cadena lateral.

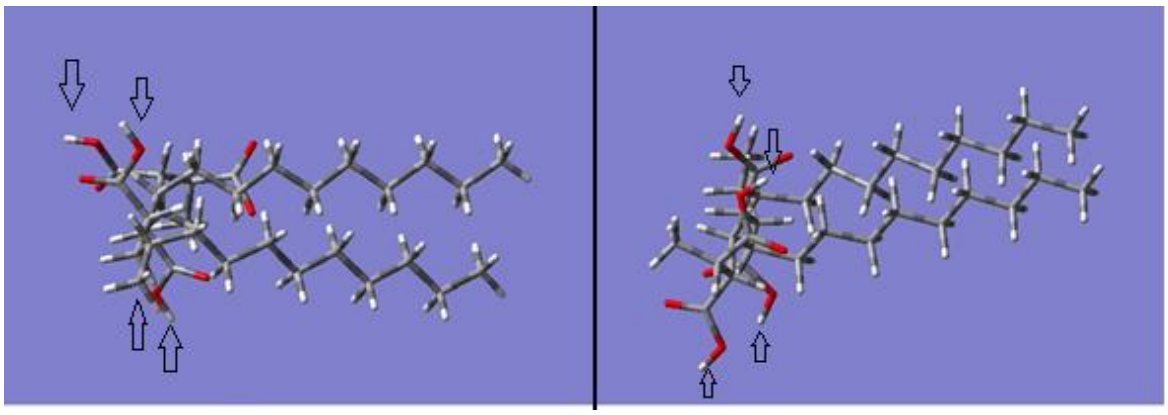
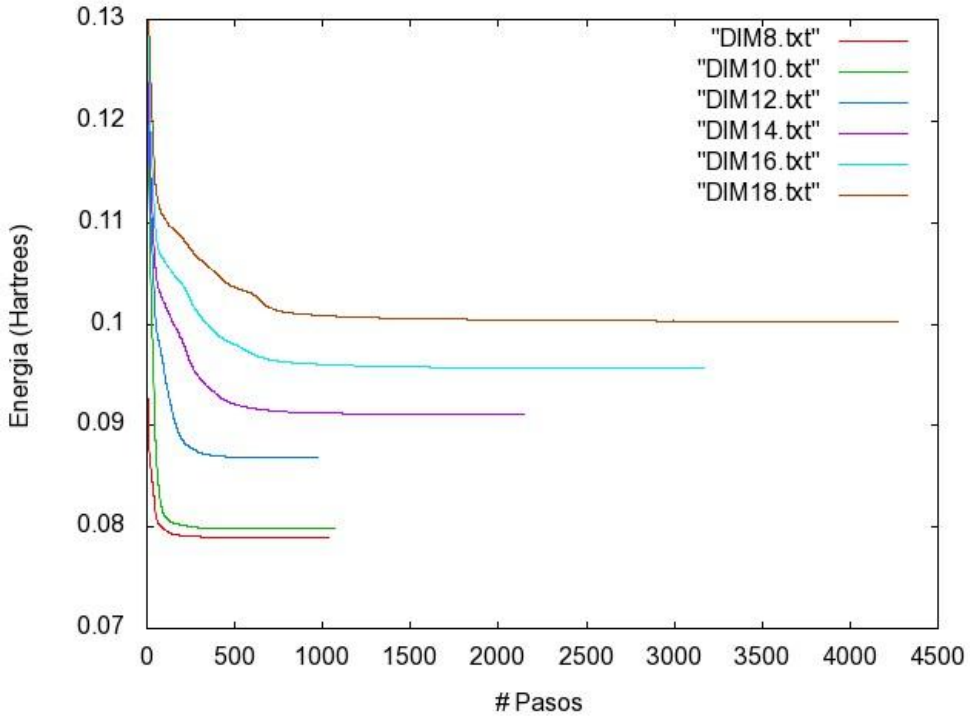


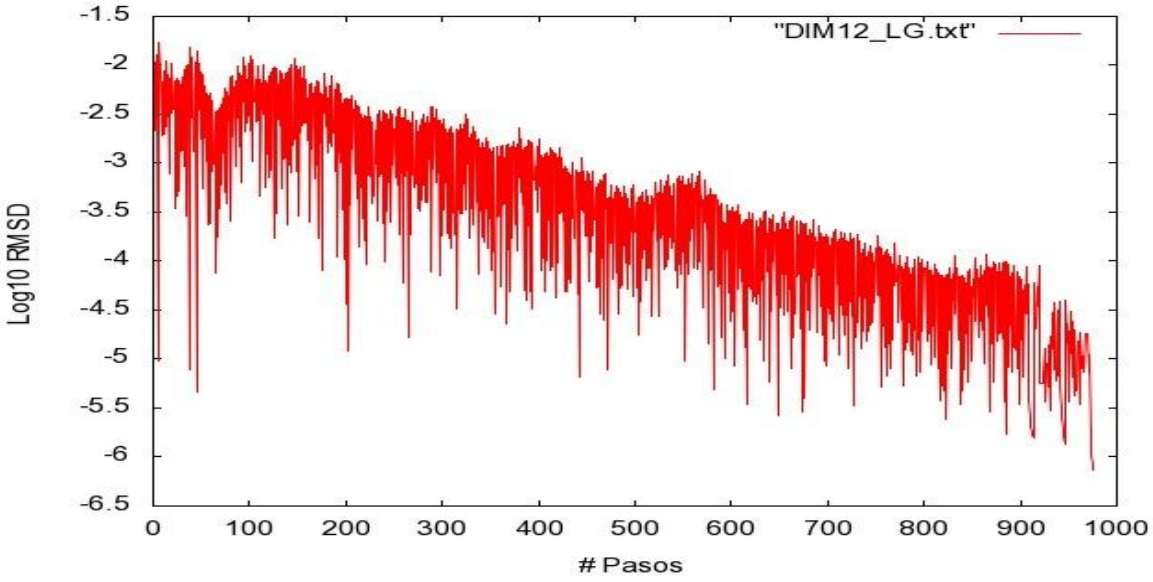
Figura 1: Geometría inicial (Izquierda) y Geometría optimizada del PAM8 (Derecha).

Para obtener una buena aproximación, se realizó un cálculo semi-empírico con una base PM6, para todos los dímeros de partida, que posteriormente serán utilizados en la búsqueda de la conformación más estable del agregado formado por el sistema polimérico (dímeros) y los principios activos (Metronidazol y Tinidazol), cuyas estructuras se encuentran en el repositorio virtual de la universidad Icesi. (ftp://ftp.icesi.edu.co/caarango/)

A continuación, en la gráfica 1, se muestra el resultado de las minimizaciones de energía en donde se gráfica el valor de la energía contra el número de pasos. Se observa que en la mayoría de los casos, conforme aumenta la cantidad de grupos metilenos (CH_2) de la cadena lateral, el tiempo de cálculo y el número de pasos incrementa. Luego, en la gráfica 2, se muestra el Root-mean-square deviation (RMSD) en contra del número de pasos de minimización, dicho valor permite saber si el cálculo de minimización alcanzó un mínimo local o global (valor mínimo de energía), se gráfica en escala logarítmica, ya que esta permite visualizar los resultados en una mejor escala.



Gráfica 1: Minimización de energía para cada dímero de PAM-n, con n=8, 10, 12, 14, 16 y 18 átomos de Carbono en la cadena lateral.



Gráfica 2: RMSD (en escala logarítmica) contra el número de pasos en la minimización de la energía del dímero PAM-12.

7.4. Resultados de la minimización de los principios activos (Metronidazol y Tinidazol)

Al igual que el caso anterior, es necesario optimizar la estructura tridimensional de cada activo, en las figuras 4 y 5, se muestran las geometrías de partida y final, para el Metronidazol y el Tinidazol, respectivamente. Las estructuras optimizadas fueron utilizadas en el cálculo de la energía de formación de cada complejo.

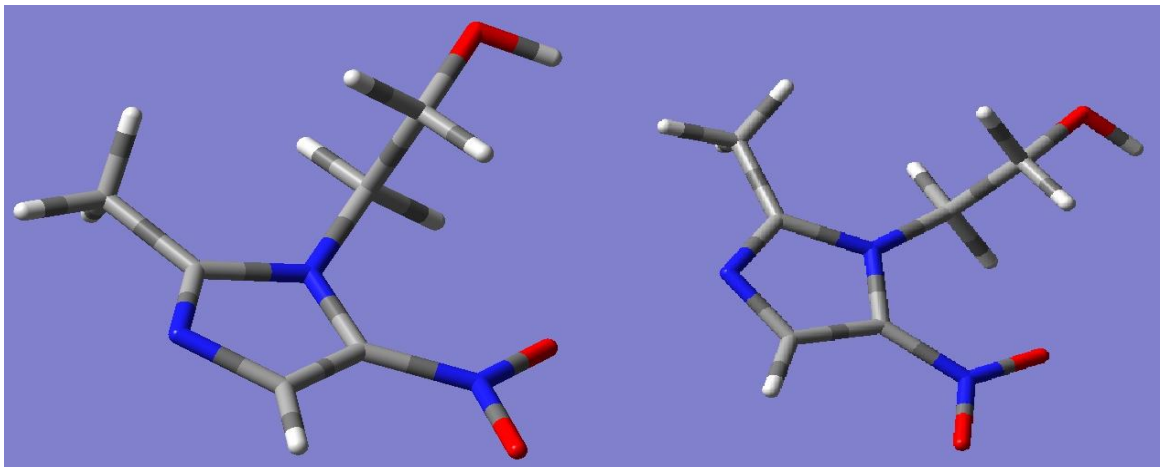


Figura 2: Optimización del Metronidazol (Antes – Izquierda y Después – Derecha), mediante un cálculo semi-empírico (PM6).

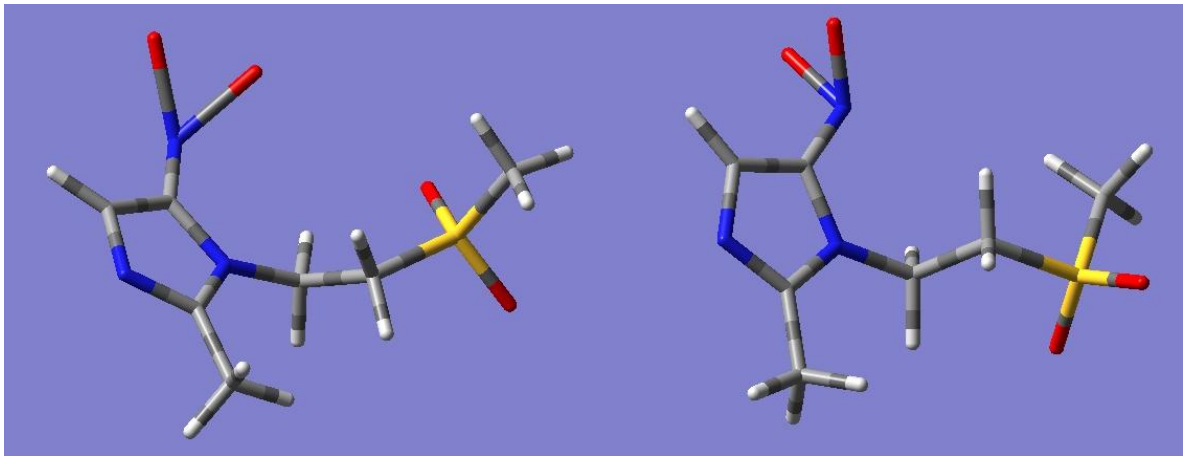


Figura 3: Optimización del Tinidazol (Antes – Izquierda y Después – Derecha), mediante un cálculo semi-empírico (PM6).

7.5. Resultados de la minimización por medio de dinámica molecular del complejo formado por los diferentes dímeros de PAM y el Metronidazol.

Para cada uno de los sistemas evaluados en este documento, se realizó la optimización de las estructuras tridimensionales de los complejos. Con las optimizaciones de los sistemas moleculares se busca tener una configuración en el espacio que tenga la menor energía posible, en otras palabras, que el sistema alcance mayor estabilidad.

El cálculo de la energía del sistema en cada paso de la optimización permite saber si se alcanzó un mínimo de energía estable, cuando se tiene una desviación del valor de energía cercano a 0, se puede decir que el sistema alcanzo el equilibrio y ese valor de energía es un mínimo local o global del sistema.

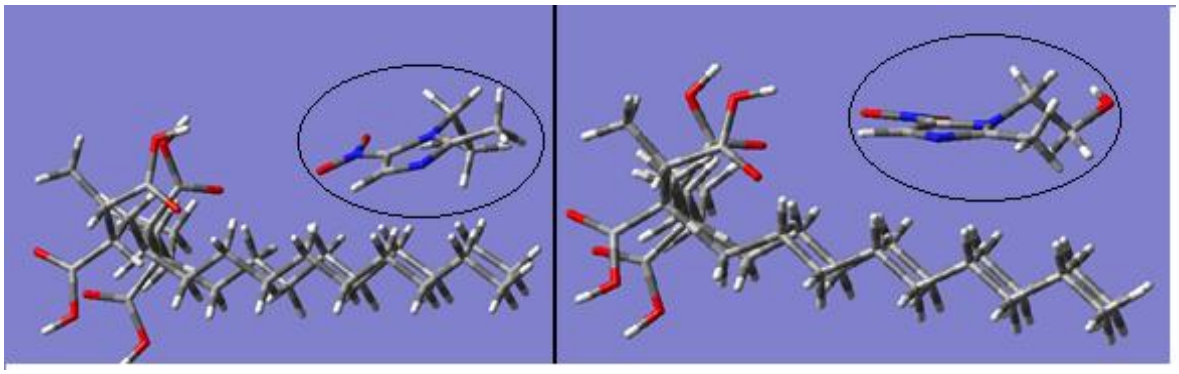


Figura 4: Optimización del polímero PAM-08 (Antes – Izquierda y Después – Derecha), en la parte superior se encuentra el activo (Metronidazol).

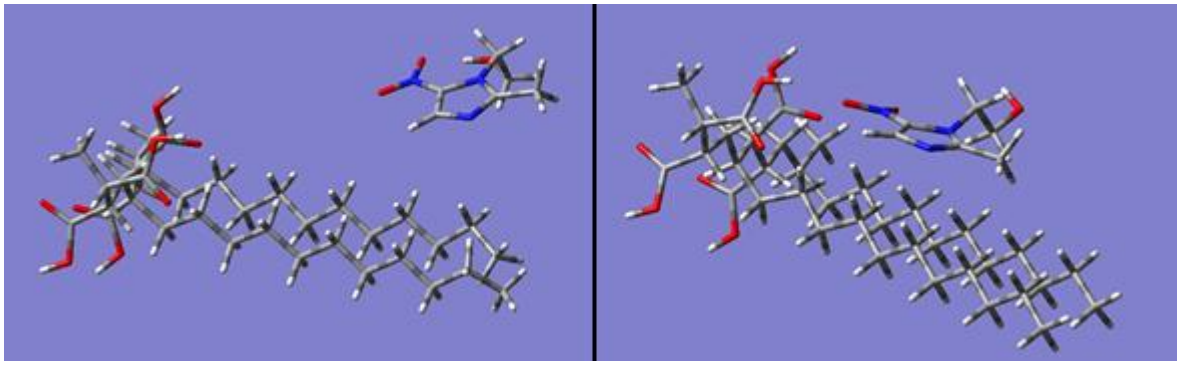


Figura 5: Optimización del polímero PAM-10 (Antes – Izquierda y Después – Derecha) y en la parte superior se encuentra el activo (Metronidazol).

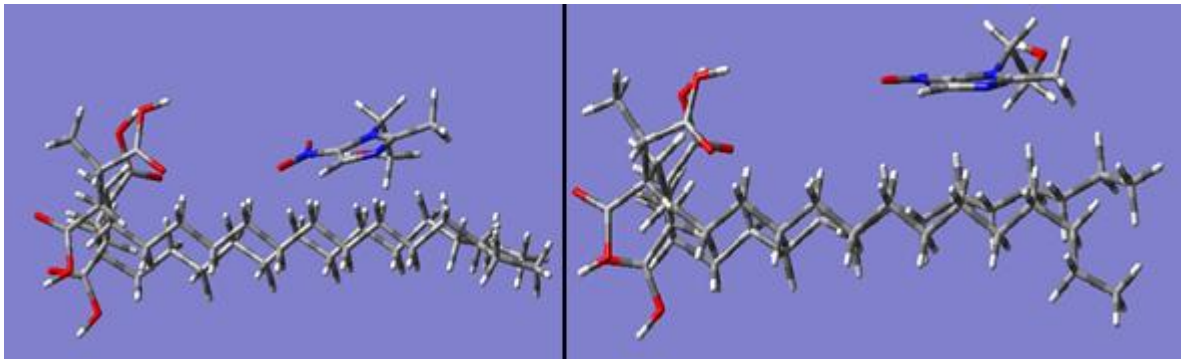


Figura 6: Optimización del polímero PAM-12 (Antes – Izquierda y Después – Derecha) y en la parte superior se encuentra el activo (Metronidazol).

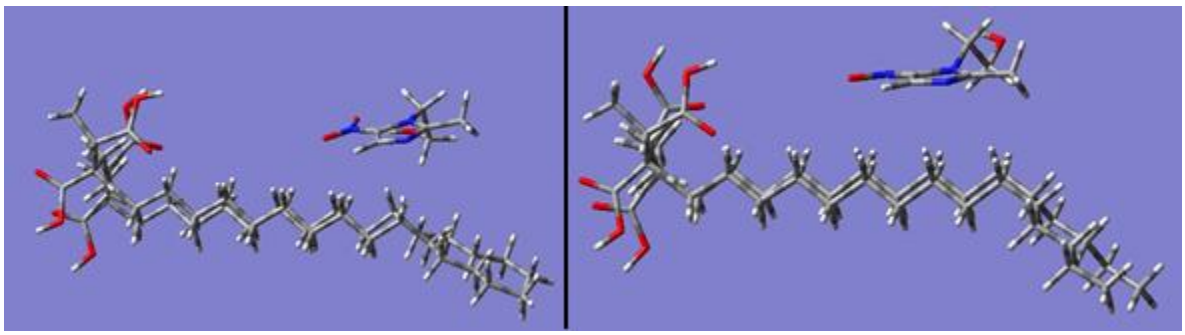


Figura 7: Optimización del polímero PAM-14 (Antes – Izquierda y Después – Derecha) y en la parte superior se encuentra el activo (Metronidazol).

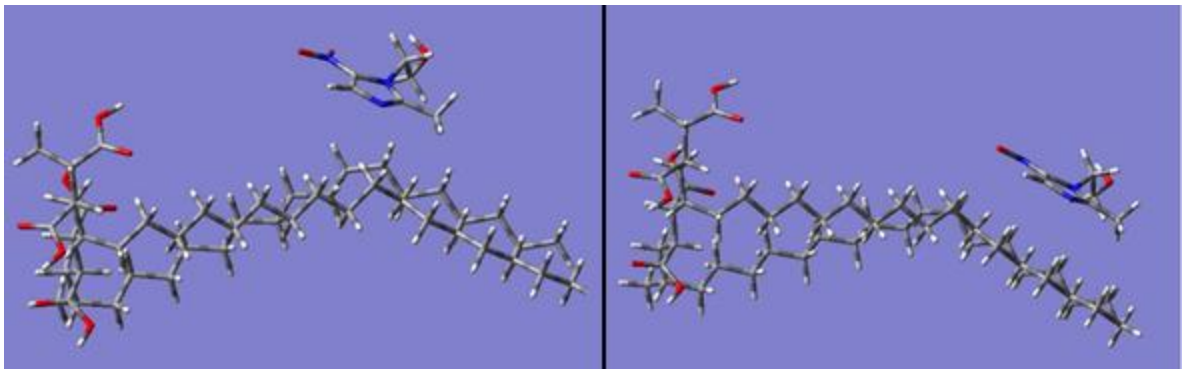


Figura 8: Optimización del polímero PAM-16 (Antes – Izquierda y Después – Derecha) y en la parte superior se encuentra el activo (Metronidazol).

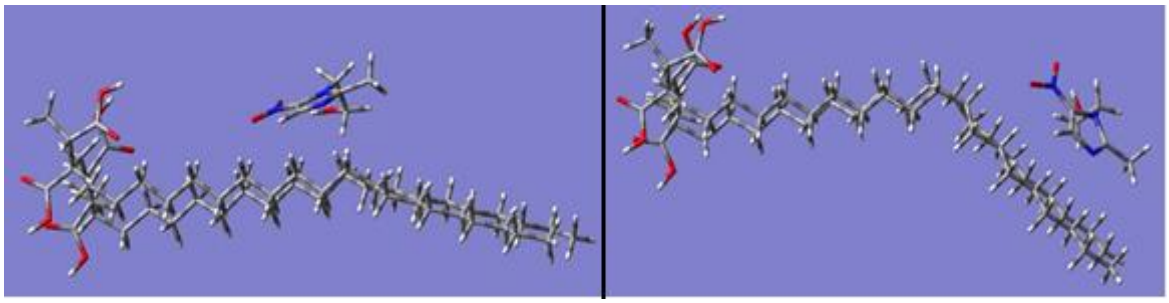
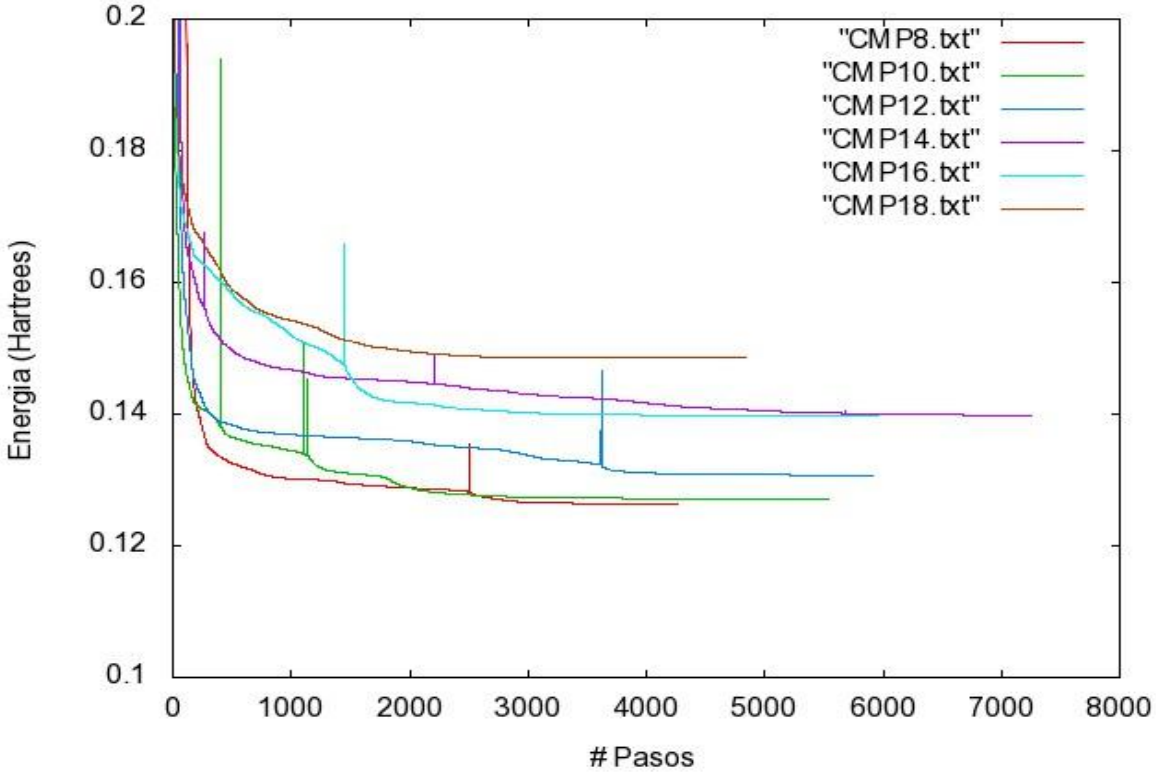


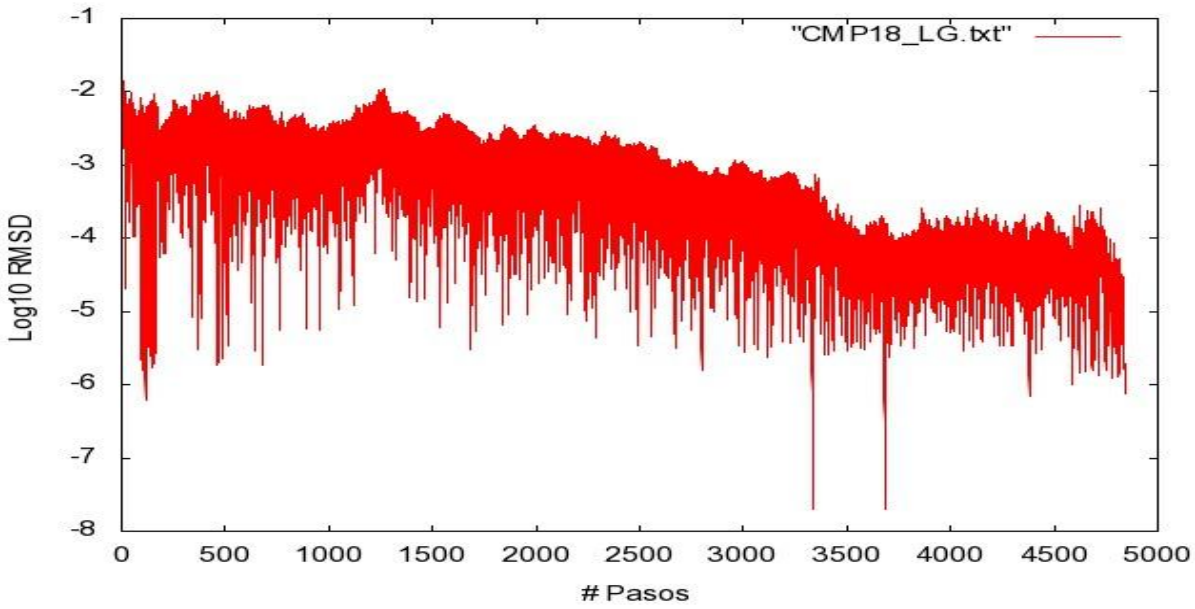
Figura 9: Optimización del polímero PAM-18 (Antes – Izquierda y Después – Derecha) y en la parte superior se encuentra el activo (Metronidazol).

De la figura 6 a la 11, se muestran los resultados en la interface gráfica para la optimización de los complejos de PAM-08, -10, -12, -14, -16 y -18, respectivamente.

En la gráfica 3 y 4, se muestran los resultados para la minimización de energía de cada complejo formado entre los diferentes dímeros y el Metronidazol.



Gráfica 3: Minimizaciones de energía para cada complejo de PAM-n, con n=8, 10, 13, 14, 16 y 18 átomos de Carbono en la cadena lateral y el Metronidazol.



Gráfica 4: RMSD (en escala logarítmica) contra el número de pasos en la minimización de la energía del complejo formado por el Metronidazol y el dímero de PAM-18.

7.6. Resultados de la minimización por medio de dinámica molecular del complejo formado por los diferentes dímeros de PAM y el Tinidazol.

En esta parte del estudio, lo único que varía es el principio activo, para este nuevo sistema se realizan los mismos cálculos. Se determinan las configuraciones tridimensionales de mínima energía para los diferentes sistemas y se muestran los resultados.

Con el objetivo de poder comparar los resultados computacionales, se realizan los cálculos de la formación del complejo con el principio activo Tinidazol, puesto que en la literatura se muestran los resultados obtenidos para este mismo activo.

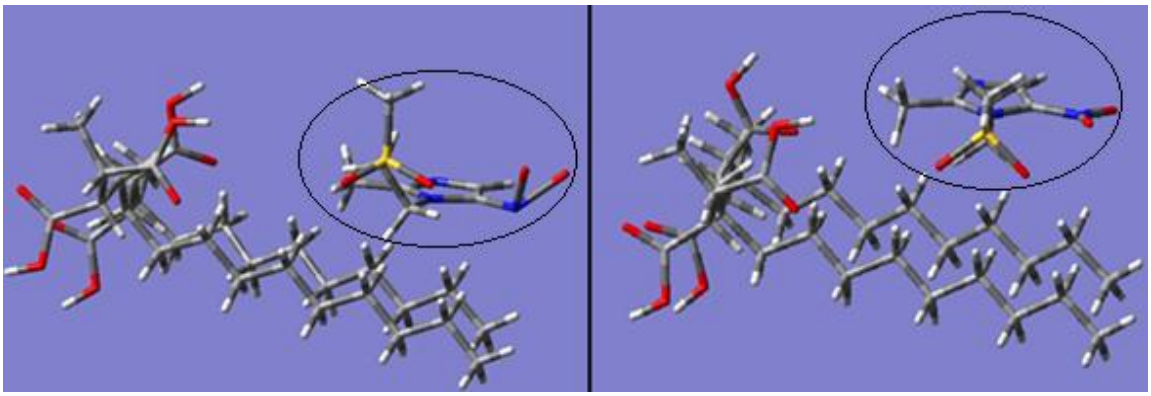


Figura 10: Optimización del polímero PAM-08 (Antes – Izquierda y Después – Derecha) y en la parte superior, encerrado en un círculo, se encuentra el activo (Tinidazol).

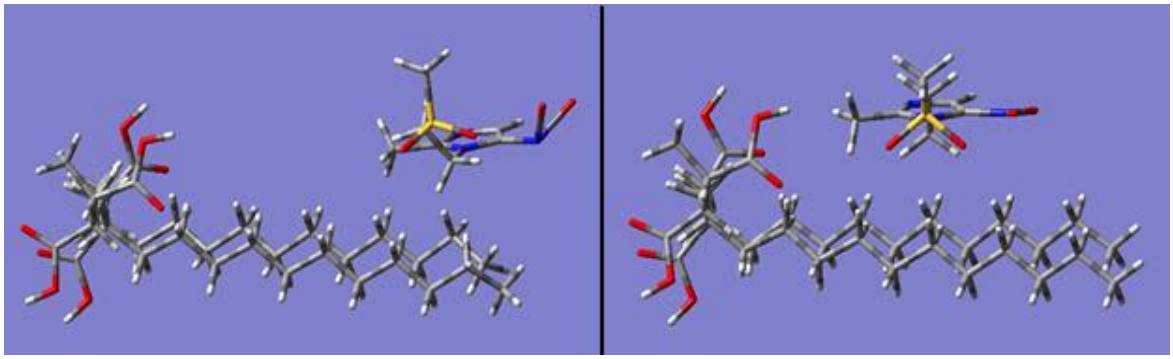


Figura 11: Optimización del polímero PAM-10 (Antes – Izquierda y Después – Derecha) y en la parte superior se encuentra el activo (Tinidazol).

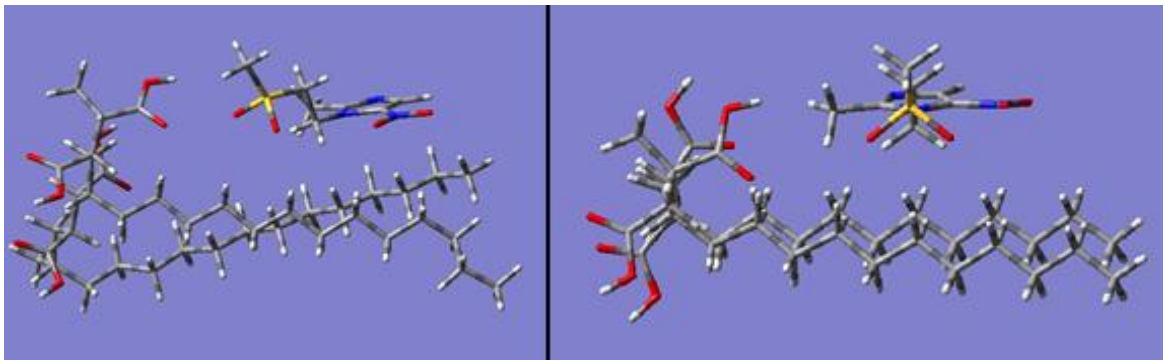


Figura 12: Optimización del polímero PAM-12 (Antes – Izquierda y Después – Derecha) y en la parte superior se encuentra el activo (Tinidazol).

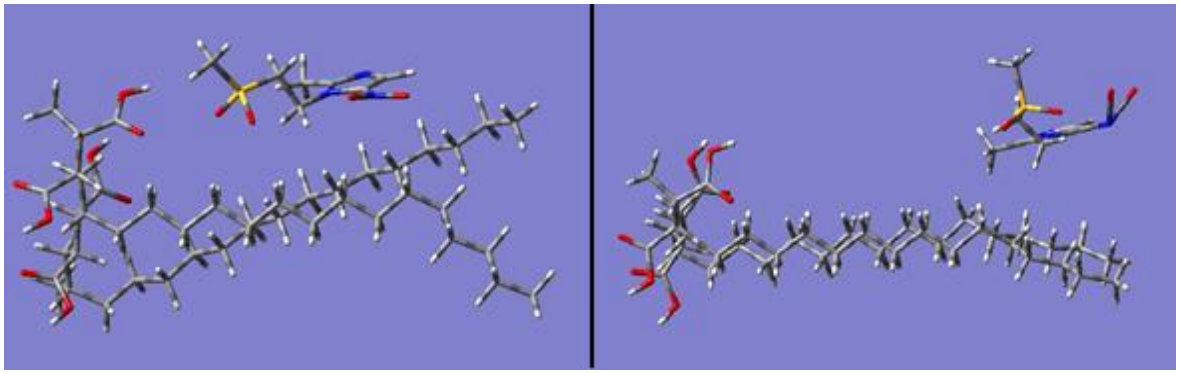


Figura 13: Optimización del polímero PAM-14 (Antes – Izquierda y Después – Derecha) y en la parte superior se encuentra el activo (Tinidazol).

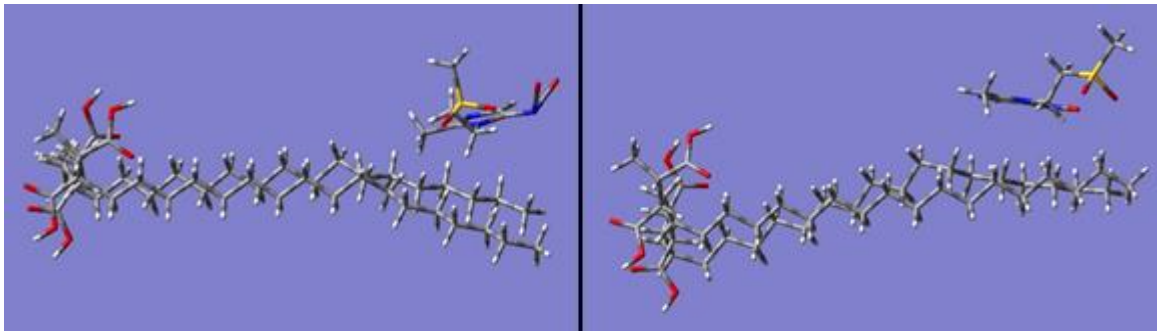


Figura 14: Optimización del polímero PAM-16 (Antes – Izquierda y Después – Derecha) y en la parte superior se encuentra el activo (Tinidazol).

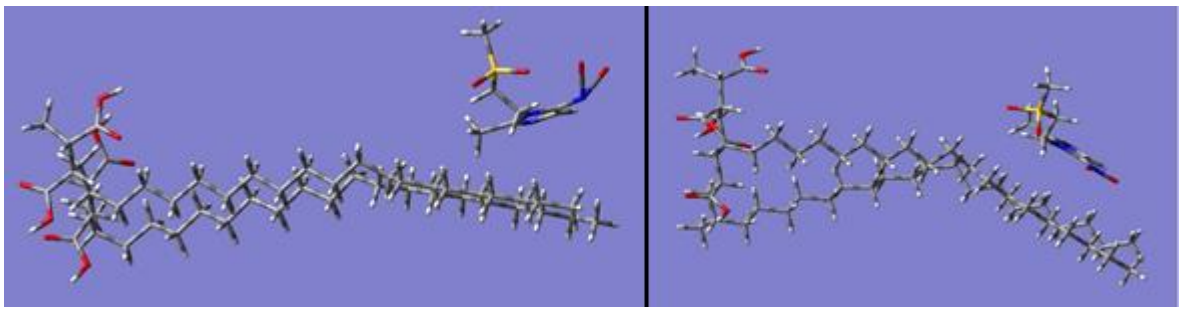
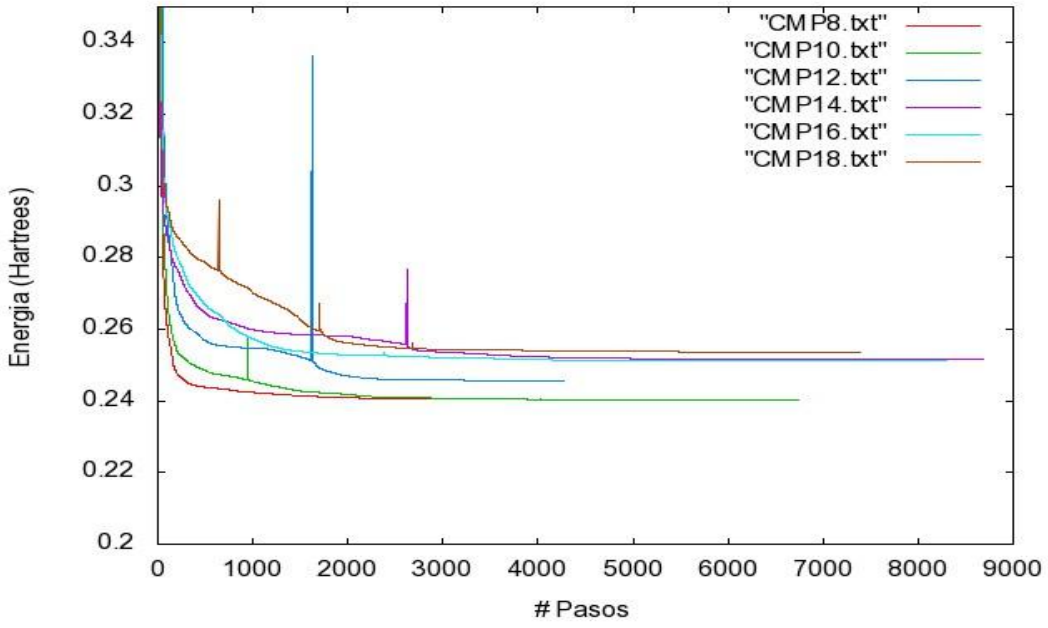


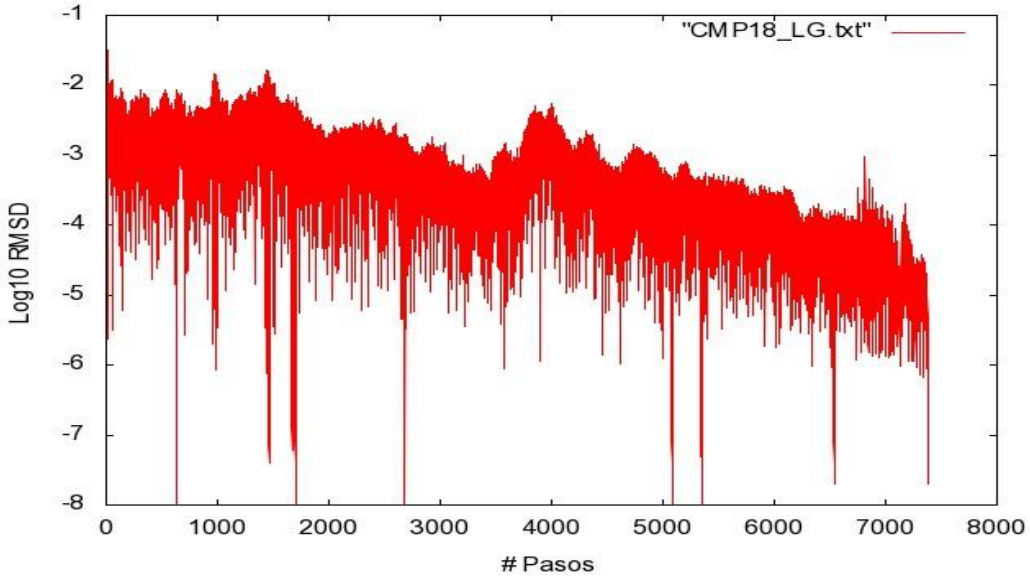
Figura 15: Optimización del polímero PAM-18 (Antes – Izquierda y Después – Derecha) y en la parte superior se encuentra el activo (Tinidazol).

De la figura 12 a la 17, se muestran los resultados en la interface gráfica para la optimización de los complejos formados entre el activo (Tinidazol) y los dímeros de PAM-08, -10, -12, -14, -16 y -18, respectivamente.

En la gráfica 5, se muestran los resultados para la minimización de energía de cada complejo formado entre los diferentes dímeros y el Tinidazol.



Gráfica 5: Minimizaciones de energía para cada complejo de PAM-n, con n=8, 10, 12, 14, 16 y 18 átomos de Carbono en la cadena lateral y el Tinidazol.



Gráfica 6: RMSD (en escala logarítmica) contra el número de pasos en la minimización de la energía del complejo formado por el Tinidazol y el dímero de PAM-18.

7.7. Resultados de las energías totales para los sistemas moleculares formados entre los diferentes dímeros y los principios activos.

Como se ha mostrado antes, se calculó la energía por separado de cada dímero (PAM-08, 10, 12, 14,16 y 18) y los activos (Metronidazol y Tinidazol), luego se calcula la energía de formación de cada complejo (Dímero + Activo). Para determinar el cambio en la energía formación de cada sistema, se calcula la diferencia entre el complejo y la suma de las energías del dímero y el activo. Con base en ello, se grafica el cambio en la energía de formación de cada sistema contra el número de metilenos de la cadena lateral.

En la gráfica 7 y 8, se muestran las gráficas de la energía total para el complejo formado entre el Metronidazol y Tinidazol, respectivamente. En la tabla 1 que se muestra más adelante, se presentan los resultados obtenidos experimentalmente reportados por (Salamanca, Barraza, Acevedo, & Olea, 2007), dichos datos son el punto de comparación con los datos obtenidos en este estudio. Para hacer más visible la comparación se grafican los valores de energía medida experimentalmente para cada sistema, en donde varía la longitud de la cadena lateral. (Ver gráfica 9).

La energía libre de transferencia es un valor de energía medido experimentalmente, cuyo significado evidencia el grado de afinidad del soluto con el medio que lo rodea. Mark *et. al.* estudian el significado químico de este parámetro y concluyen que los valores se relacionan únicamente con el tipo de interacciones atractivos entre el soluto y el solvente. (Mark F. Vitha, 2000).

Tabla 1: Datos experimentales del complejo formado entre el Tinidazol y el polímero PAM-n, con n=8, 10, 12, 14, 16 y 18, la constante de distribución (Ks), energía libre de transferencia (kJ/mol).

n	Ks	-kJ/mol	Energía (Hartrees)
8	844	26,6	-0,010108
10	523	25,5	-0,009690
12	346	24,4	-0,009272
14	253	23,6	-0,008968
16	197	23,0	-0,008740
18	153	22,5	-0,008550

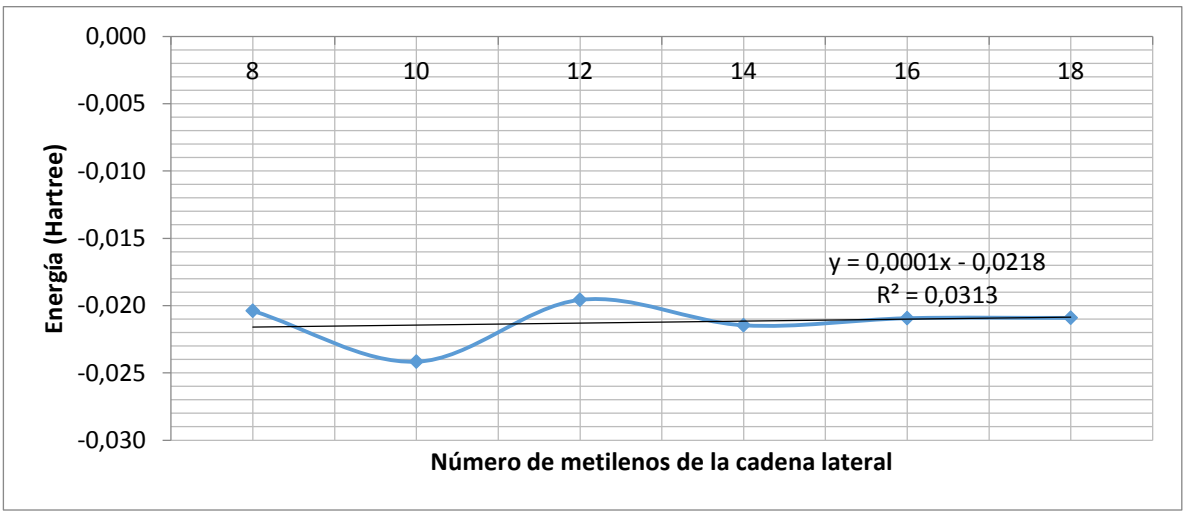
Tabla 2: Datos computacionales del complejo formado entre el Metronidazol y el polímero PAM-n, con n=8, 10, 12, 14, 16 y 18, y la energía de formación correspondiente a cada sistema.

n	Energía (Hartree)
8	-0,0203857
10	-0,0241638
12	-0,0195664
14	-0,0214561
16	-0,0209314
18	-0,0209069

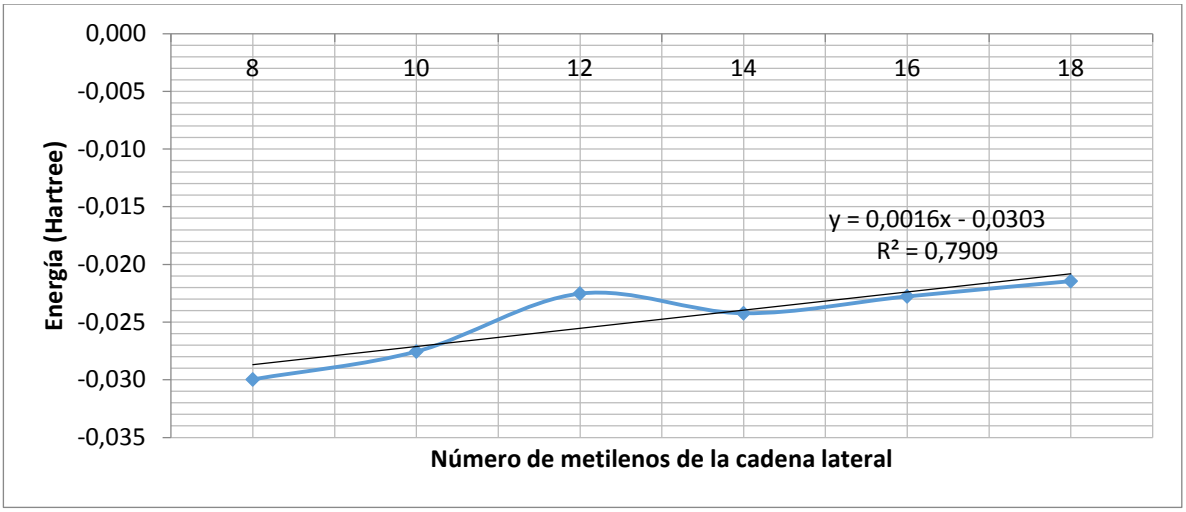
Tabla 3: Datos computacionales del complejo formado entre el Tinidazol y el polímero PAM-n, con n=8, 10, 12, 14, 16 y 18, y la energía correspondiente a cada sistema.

n	Energía (Hartree)
8	-0,0299670
10	-0,0275470
12	-0,0225235
14	-0,0242287
16	-0,0227697
18	-0,0214442

Gráfica 7: Energía de formación para los complejos de PAM-n y el Metronidazol, obtenido de manera computacional.

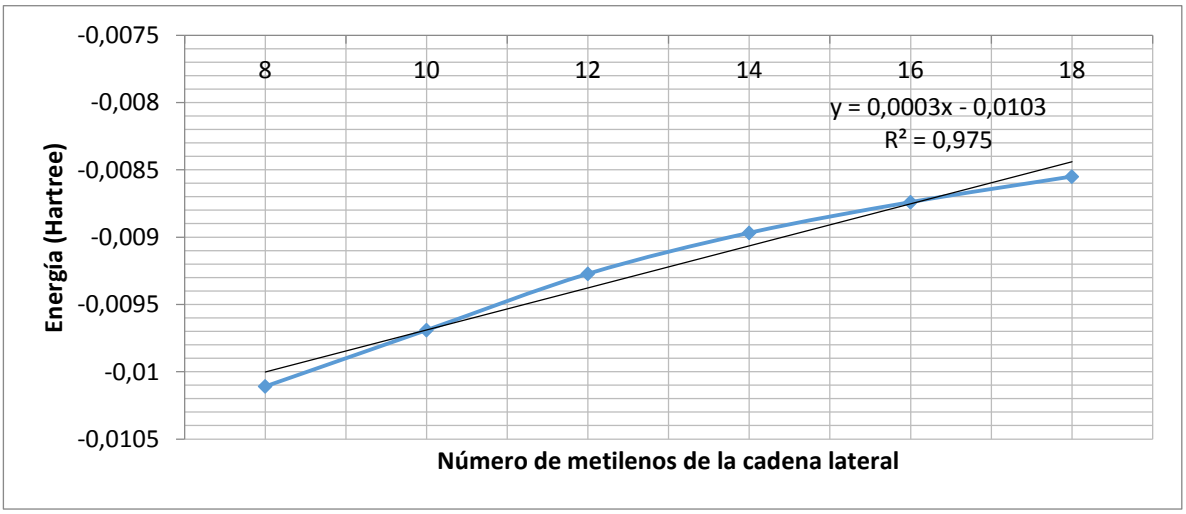


Gráfica 8: Energía de formación para los complejos de PAM-n y el Tinidazol, obtenido de manera computacional.



Basado en los resultados experimentales publicados por el Salamanca, se extraen los siguientes resultados y se grafican (Salamanca, Barraza, Acevedo, & Olea, 2007).

Gráfica 9: Energía de formación para el complejo entre el PAM-n, con n=8, 10, 12, 14, 16 y 18 y el Tinidazol, obtenido de manera experimental.



8. Discusión de los resultados

Se planteó como objetivo de este proyecto estudiar a nivel *in silico* la estabilidad del agregado molecular formado entre el Metronidazol y los polímeros de sales potásicas (PAM-8, 12, y 18-K2). Se estudiaron, adicionalmente, los sistemas formados entre el Tinidazol y los polímeros (PAM-10, 14, 16-K2). Como se menciona en los objetivos, nuestra intención es obtener resultados computacionales de la formación de los complejos antes mencionados y comparar estos resultados con los experimentos reportados de sistemas similares.

Se modelaron computacionalmente dímeros de PAM con el principio activo, obteniendo minimización de geometría molecular. Aunque se logró la optimización del octámero de PAM-8, -16-K_2 al formar el complejo con los principios activos se observó inestabilidad numérica lo que no permitió llegar a la geometría de mínima energía para el complejo. Hasta donde se logró observar, la interacción importante entre los activos y el polímero se daba sobre dos cadenas laterales adyacentes. Por esta razón se decide modelar un dímero y continuar con los cálculos.

Los cálculos semi-empíricos utilizados resultaron ser apropiados en el estudio. Como método de partida se utilizó la base semiempírica PM6. Se empleó este método para la minimización de cada uno de los dímeros. En la figura 3, se muestran los resultados de la minimización del dímero PAM-8, los átomos de potasio fueron sustituidos por hidrógenos en las posiciones señaladas, ya que, al realizar el cálculo en vacío, no se observaba un cambio con respecto al potasio en la estructura final de la minimización. Se observa que las cadenas laterales se extienden, y la cadena principal se curva de manera helicoidal. Como se enuncia en la sección de resultados, se obtuvieron resultados similares para los dímeros de 10, 12, 14, 16 y 18 grupos metilenos (-CH_2-) en la cadena lateral.

En la gráfica 1 se muestra el comportamiento que tiene el valor de la energía de cada dímero conforme incrementa la complejidad del polímero. A medida que aumenta el número de metilenos que conforman la cadena lateral, el valor de la energía aumenta y el número de ciclos de cálculo necesarios para lograr la convergencia en el valor de esta, también. Los dímeros alcanzan un mínimo energético que brinda estabilidad local, i.e., los enlaces y ángulos de enlaces presentaran pequeñas oscilaciones alrededor de esta geometría de equilibrio.

En la gráfica 2, se muestra la variación del gradiente de energía para la minimización del PAM-18, cuando es modificada la configuración tridimensional del sistema, mediante el cálculo del logaritmo en base 10 del RMSD. Este se obtiene al tomar la medida del valor de la energía entre dos pasos del cálculo. Como se está buscando la configuración espacial más estable, cada cambio en la

configuración lleva asociado un cambio en la energía del sistema, y esta puede tomar diferentes magnitudes. El objetivo de este cálculo es encontrar la estructura de mínima energía, que sería la más estable, y que esta no presente una gran variación. En este caso, para el dímero de PAM-18, la minimización concluyó cuando se dio una variación en el quinto decimal (10^{-5}) que representa una variación del 0,1% en el valor de la energía. De la misma manera se determinó la configuración tridimensional más estable de los demás dímeros.

Los principios activos (Metronidazol y Tinidazol) utilizados en este proyecto tienen un carácter apolar al igual que las cadenas hidrocarbonadas de los polímeros, por lo tanto, ambos tendrán escasa solubilidad en medio acuoso. En el estudio realizado por el grupo de investigación se concluyó que los polímeros derivados del ácido maléico formaban centros hidrófobos que favorecerían la solubilización de principios activos en dichos centros. Por lo tanto, se esperaba que en la simulación de la formación del complejo entre los activos y los polímeros, la interacción de estos, se diera por medio de las cadenas laterales y el activo como tal.

De la figura 6 a la 11 se observa que el activo Metronidazol interactúa más fuertemente con la cadena lateral (parte apolar) que con la cadena principal (parte polar) del polímero. Además, se observa que el activo se posiciona de manera paralela con respecto a la cadena lateral del dímero, lo que probablemente maximiza la interacción entre dichas estructuras formando un complejo energéticamente estable.

Al igual que en la minimización de los dímeros, en las gráficas 3 y 4 se muestran los resultados para la minimización de energía de cada complejo. Se observó que en todos los sistemas, el valor de la energía aumenta conforme lo hace el tamaño del sistema. De la figura 12 a la 17 se observan los resultados de la optimización del complejo formado entre el PAM 8, 10, 12, 14, 16 y 18, y el Tinidazol. El activo interactuaba mayormente con la cadena lateral del polímero. De forma similar al comportamiento del Metronidazol, el Tinidazol se orienta de manera paralela a la cadena lateral del dímero, lo que maximiza la interacción con dicha estructura formando un complejo energéticamente estable.

En la gráfica 6, al igual que para el dímero de PAM-18, se muestra la variación del gradiente de energía para la minimización del complejo formado entre el PAM-18 y el Tinidazol, cuando es modificada la configuración tridimensional del sistema, mediante el cálculo del logaritmo en base 10 del RMSD. En este caso, la minimización del complejo concluyó cuando se dio una variación en el quinto decimal (10^{-5}) que representa una variación del 0,1% en el valor de la energía. De la misma manera se determinó la configuración tridimensional más estable de los demás complejos.

Experimentalmente se ha encontrado que los polímeros de PAM-nK_2 forman aglomerados intramoleculares en medio acuoso, a medida que se aumenta el carácter apolar de los polímeros aumentando la longitud de la cadena lateral, se ve favorecida la formación de dichos aglomerados (Salamanca Mejía, 2007). Basándose en la información obtenida de manera experimental, en la tabla 1 se evalúa el comportamiento de la constante de distribución de los Nitroimidazoles entre las micelas y el medio acuoso, también se evalúa la energía libre de transferencia, la cual da una idea del tipo de interacciones entre las moléculas no polares y el medio.

Experimentalmente se observa algo interesante, a medida que el carácter apolar de los polímeros aumenta, la constante de distribución o afinidad del activo (Tinidazol) por el polímero se ve disminuida (Salamanca, Barraza, Acevedo, & Olea, 2007). Por otro lado, la energía libre de transferencia aumentaba conforme lo hacia la cadena lateral, lo que significa que a medida que el carácter apolar de las moléculas (como activos y cadenas laterales) aumentaba, estas sentían mayor repulsión por el medio acuoso y tendían a aglomerarse, reduciendo así la superficie de exposición al medio. Ese aumento fue cuantificado para cada uno de los sistemas evaluados y refieren un incremento en la energía del complejo con el Tinidazol de aproximadamente 0,0003 Hartree por cada par de CH_2 adicional en la cadena lateral; para el complejo con el activo Ornidazol, cuya estructura es muy similar a la del Metronidazol, ese valor es de 0.0001 Hartree por par de grupos metileno.

Computacionalmente se determinó la energía de formación de los complejos, y se encontró que esta tenía una relación directa con el tamaño de las cadenas laterales de los dímeros, es decir, a medida que el número de grupos metileno de la cadena lateral se hacía mayor, el valor de la energía aumentaba. Comparando los datos computacionales con los experimentales, se tiene que para ambos casos, tanto la energía de formación del complejo con el Metronidazol y el Tinidazol aumenta conforme lo hace la cadena lateral.

Se observó que la energía de formación de los complejos era mayor (más negativa) que los resultados experimentales. También se observó que la disminución de la energía de formación al aumentar la longitud de la cadena lateral era positiva para ambos casos: computacional y experimental, sin embargo, la pendiente computacional suele ser 5 veces mayor que la experimental.

La diferencia de energías de formación entre lo computacional y lo experimental se debe a que los cálculos computacionales fueron llevados a cabo en vacío. Cuando se realiza el cálculo en vacío no se tienen en cuenta la energía de las repulsiones electrostáticas entre las cargas que se generan, tampoco se tiene en cuenta los efectos de solvatación del polímero y los activos. Además, en solvente, la presencia de moléculas de agua obstaculizaría la aproximación entre los principios activos y polímero disminuyendo la energía de formación.

Con base en lo anterior, y teniendo en cuenta las diferentes limitaciones computacionales del presente proyecto, la utilización de cálculos semi-empiricos proveen aproximaciones a la realidad cuántica del sistema, por ende la precisión, con este tipo de cálculos, es menor al compararla con los cálculos *ab initio.*

Sistemas formados por polímeros muy grandes (octámeros) y principios activos como los tratados aquí requieren de una parametrización del campo de fuerza y simulaciones ejecutadas en programas como el NAMD. Aunque estas simulaciones son de gran interés en el campo de la tecnología y fisicoquímica farmacéutica, la magnitud de los cálculos las hace imposibles para este proyecto de grado. NO obstante la sola parametrización de las interacciones no enlazantes entre los polímeros y los activos por sí mismo sería un proyecto de grado interesante.

9. Conclusiones

Se determinaron las configuraciones estructurales más estables de los dímeros de PAM-8, -10, -12, -14, -16 y -18, mediante el uso de software Gaussian 09, el cual resultó ser una herramienta bastante interactiva, puesto que no se hace necesario el uso de comandos complejos para ejecutar un cálculo, por otro lado se realizó la simulación de la formación de complejos entre los polímeros de PAM-8, -10,- 12, -14, -16 y -18, Metronidazol y Tinidazol.

Con base en la información obtenida, se concluye que hay relación entre los datos obtenidos de manera experimental y computacional. Se encuentra una relación entre los datos de energía libre de transferencia (experimentales) y la energía de formación (computacional), en ambos casos el valor de la energía aumenta a medida que el polímero se hace más grande.

No es posible concluir si existe una relación entre la constante de distribución, que experimentalmente muestra que, a medida que aumenta el tamaño de la cadena lateral, la afinidad de los activos se ve disminuida. En contraste, los datos de energía de formación de cada complejo obtenidos computacionalmente, muestran que a medida que se incrementa el tamaño de las cadenas laterales de los polímeros el valor de la energía aumenta. El valor de la energía de formación da cuenta de cuanta energía se necesita para alejar el activo de las cadenas laterales, es decir, a mayor valor de la energía mayor afinidad siente el activo por el sitio apolar.

10. Recomendaciones

Se recomienda incluir nuevas guías para el manejo de los nuevos programas de cómputo, con el fin de permitir explorar todas las funciones que estos traen.

Realizar la parametrización completa de sistemas poliméricos que involucren las nuevas interacciones no enlazantes que se dan en este tipo de sistemas, y así mismo, explorar la posibilidad de obtener resultados computaciones que se acerquen aún más a los experimentales.

11. Bibliografía

Ahmed Abdalla, S. K. (2008). A new self-emulsifying drug delivery system (SEDDS) for poorly soluble drugs: Characterization, dissolution, in vitro digestion and incorporation into solid pellets. *Pharmaceutical Sciences*, 457–464.

Anatoly N. Lukyanov, V. P. (2003). Micelles from lipid derivatives of water-soluble polymers as delivery systems for poorly soluble drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1273–1289.

António J. Almeidaa, E. S. (2007). Solid lipid nanoparticles as a drug delivery system for peptides and proteins. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 478–490.

Clifford E. Dykstra, G. F. (2005). *Theory and Applications of Computational Chemistry: The First Forty Years.* Elsevier Science.

Frisch, M. J., Trucks, G. W., Schlegel, H. B., Scuseria, G. E., Robb, M. A., Cheeseman, J. R., . . . Sonnenb. (2009). *Gaussian 09*. Obtenido de http://www.gaussian.com/g_prod/g09.htm

K. Vanommeslaeghe, E. H. (2010). CHARMM General Force Field (CGenFF): A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields. *Journal Comput Chem*, 671–690.

Ketan T. Savjani, A. K. (2012). Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques. *ISRN Pharmaceutics*, 1 - 10.

Leach, A. R. (2001). *Molecular Modelling, principles and applications. Second edition.* Pearson-Prentice Hall.

Lewars, E. G. (2011). *Computational Chemistry: Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics.* Springer Netherlands: Kluwer Academic .

Mark F. Vitha, P. W. (2000). The Chemical Meaning of the Standard Free Energy of Transfer: Use of van der Waals Equation of State To Unravel the Interplay between Free Volume, Volume Entropy, and the Role of Standard States . *Journal. Phys. Chem*, 5343-5349.

NAMD. (09 de Junio de 2015). *THEORETICAL and COMPUTATIONAL BIOPHYSICS GROUP.* Obtenido de NIH resource for macromolecular

modelling and bioinformatics. University of Illinois at Urbana-Champaign: http://www.ks.uiuc.edu/Research/namd/

S, S., S, A., K, K., & M, R. (2012). Nanosponges: a novel class of drug delivery system. *Journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 103-111.

Salamanca Mejía, C. H. (2007). Estudio de propiedades fisicoquímicas de polielectrólitos aniónicos en solución como potenciales reservorios de sustratos farmacológicos. *Tesis de grado: Doctorado en Química*. Santiago, Cali: Universidad de Chile.

Salamanca, C. H., Barraza, R. G., Acevedo, B., & Olea, A. F. (2007). Hydrophobically modified polyelectrolytes as potential drugs reservoirs of n-alkyl-nitroimidazoles. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 1115-1119.

Standard, D. J. (09 de 11 de 2015). *Department of Chemistry Illinois State University.* Obtenido de http://chemistry.illinoisstate.edu/standard/che38037/handouts/380.37verlet.pdf

Stewart, J. J. (2007). Optimization of Parameters for Semiempirical Methods V: Modification of NDDO Approximations. *Journal Mol Moden*, 1173–1213.

Suarez, C. (2012). *SIMULACIÓN CON DINÁMICA MOLECULAR DE POLÍMEROS ANFIFÍLICOS: DEPENDENCIA DEL pH, CADENA MONOMÉRICA Y CADENA ALQUÍLICA.* Cali: Universidad Icesi.

Svenson, S. (2006). *Polymeric Drug Delivery II: Polymeric Matrices and Drug Particle Engineering.* Washington, DC: ACS Symposium Series; American Chemical Society.

Tiwari, G., Tiwari, R., Birendra, S., L, B., P, P., & Bannerjee, S. K. (2012). Drug Delivery systems: An updated review. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 2-11.

Vila, J. L. (2008). *Aspectos fundamentales de los sistemas farmacéuticos y operaciónes básicas (Volumen I).* Madrid, España: Editorial Síntesis S.A.

Vogelson, C. T. (2001). Advances in drug delivery systems. *Modern drug discovery from concept to development*, 49-50, 52.

Yao Fu, W. J. (2010). Drug release kinetics and transport mechanisms of non-degradable and degradable polymeric delivery systems. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 429-444.

Anexos

Anexo 1. Archivo de salida para la ejecución del cálculo de minimización del PAM8 para los 10 primeros pasos

Step	NS	ND	R	OKQ	Scale	Max. Force	RMS Force	Max. Disp.	RMS Disp.	Energía	Flag
1	0	0	F	T	1.00D+00	0.03331703	0.00708975	0.03331703	0.00708975	0.1095453	----
2	0	0	F	F	5.99D-01	0.03331703	0.00708975	0.01994034	0.00424323	0.0993872	----
3	0	0	F	T	2.45D+00	0.02607344	0.00402521	0.05705779	0.01133298	0.0977302	----
4	0	0	F	F	-1.30D-01	0.02607344	0.00402521	0.00741281	0.00147235	0.0927908	----
5	0	0	F	T	2.70D+00	0.01918360	0.00282502	0.05459796	0.00986063	0.0926794	----
6	0	0	F	F	-4.75D-01	0.01918360	0.00282502	0.02594469	0.00468572	0.0923697	----
7	0	0	F	T	1.38D+00	0.01805487	0.00246687	0.02921739	0.00517490	0.0910214	----
8	0	0	F	F	3.27D-01	0.01805487	0.00246687	0.00956458	0.00169405	0.0894856	----
9	0	0	F	T	2.72D+00	0.00783203	0.00171148	0.04137334	0.00686896	0.0893867	----
10	0	0	F	F	-2.49D-01	0.00783203	0.00171148	0.01030244	0.00171045	0.0886058	----

Anexo 2: Tiempos de cálculo para la optimización de las geometrías de los dímeros de PAM

Dímero	Tiempo de calculo
PAM08	4 h 3min 35s
PAM10	9h 13min 3s
PAM12	10h14min 29s
PAM14	13h 2min 22s
PAM16	20h 4min 35s
PAM18	23h 9min 17s

Anexo 3. Diseño de las macro-estructuras en GausView 5.0

Para este proyecto no se disponía de un modelo de una base de datos como Protein Data Bank (PDB), para cargarlo directamente al programa. Por lo tanto, se diseñaron los polímeros, átomo por átomo, utilizando el "Builder" del programa. (Ver figura 1).

GaussView 5.0 ofrece una paleta de todos los átomos de la tabla periódica (Ventana superior izquierda), en el ejemplo mostrado se ha seleccionado el átomo de Carbono, cuando este es seleccionado, en esa misma ventana en la parte inferior, aparecen las diferentes configuraciones en las que puede unirse ese átomo, seleccionada, en azul, se encuentra la configuración tetraédrica. Por último, un clic en la ventana inferior izquierda, que es la interfaz gráfica, plasma la selección realizada anteriormente.

De esta manera se realiza el diseño de cada polímero utilizado en el presente trabajo. Una de las ventajas de este programa, es que directamente desde la interface gráfica se pueden ejecutar los cálculos.

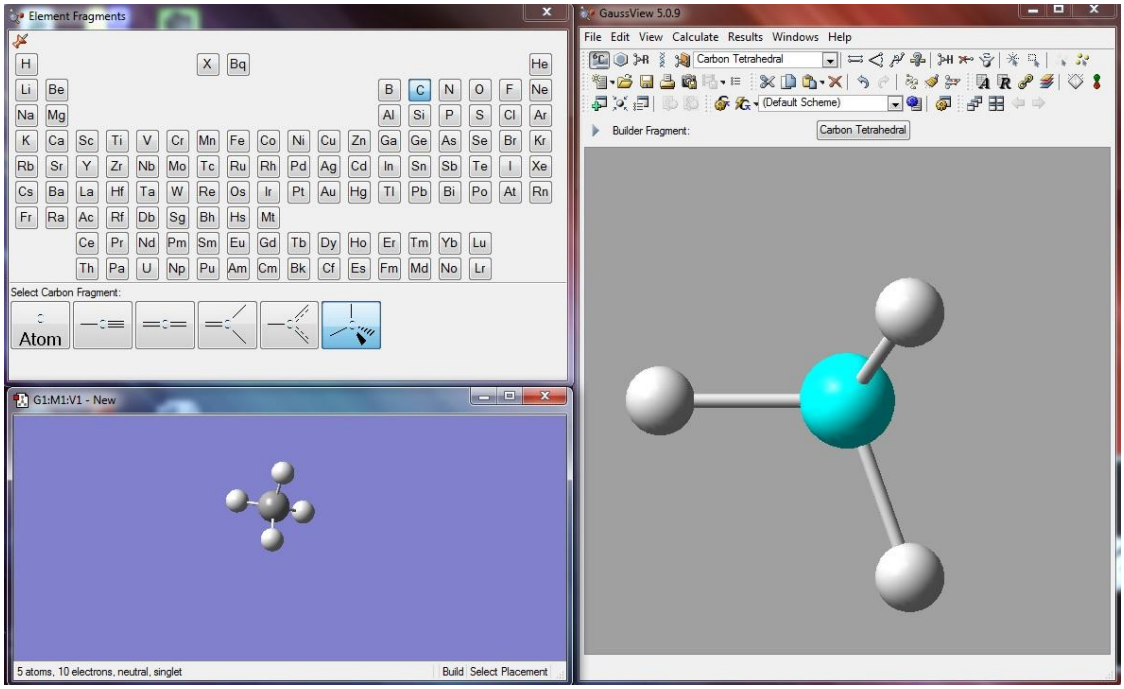


Figura 16: Interface gráfica para la construcción de nuevas moléculas. La ventana de GaussView 5.0, a la derecha. Paleta de átomos de la tabla periódica, parte superior izquierda. Interface gráfica, parte inferior izquierda.

- Ejecución de cálculos en GaussView 5.0:

Una vez llevado a cabo el “dibujo” del sistema, la misma interface gráfica, mediante un clic abre un cuadro de dialogo que permite realizar la configuración del cálculo de Gauss, allí se proporcionan las diferentes opciones de cálculo y funciones del programa. En este cuadro es posible escoger entre optimizaciones, frecuencias, espectros de resonancia magnética nuclear (RMN), entre otros. Al finalizar toda la configuración es posible correr *Gaussian* para generar un Output file. (Ver figura 2)

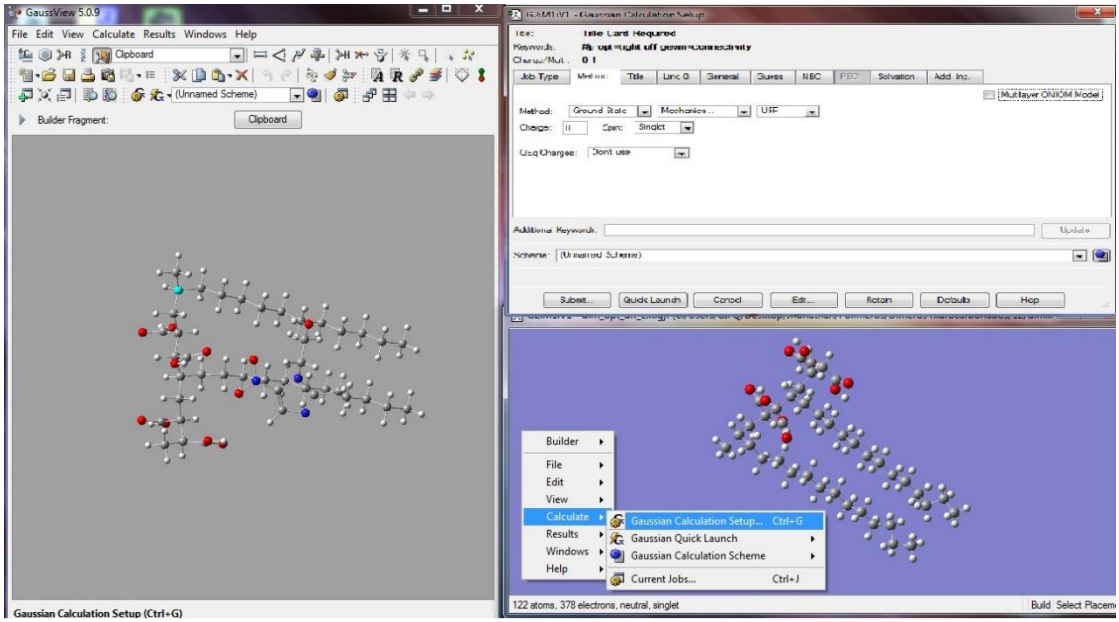


Figura 17: Interface gráfica para la ejecución de cálculos en *Gaussian*. Ventana de GaussView 5.0, a la izquierda. Interface gráfica, parte inferior derecha. Ventana para ejecución de cálculos, parte superior derecha.

- Obtención de archivos de salida de GaussView:

Una vez haya concluido el tiempo de ejecución del cálculo seleccionado, se producen dos tipos de archivos, *.chk (checkpoint) y un archivo *.log (log file). El primero de ellos es un archivo de chequeo en donde se almacena las geometrías y energías, entre otros, bajo un formato binario que se va actualizando conforme avanza el cálculo. Por otro lado, el archivo .log es el archivo de registro en donde se contiene el resultado final del cálculo realizado.