SIMULACIÓN CON DINÁMICA MOLECULAR DE POLÍMEROS ANFIFÍLICOS: DEPENDENCIA DEL pH, LONGITUD DE LA CADENA POLIMÉRICA Y CADENA ALQUÍLICA.

CATALINA SUÁREZ

UNIVERSIDAD ICESI
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICAS
SANTIAGO DE CALI
2013

SIMULACIÓN CON DINÁMICA MOLECULAR DE POLÍMEROS ANFIFÍLICOS: DEPENDENCIA DEL pH, LONGITUD DE LA CADENA POLIMÉRICA Y CADENA ALQUÍLICA.

CATALINA SUÁREZ

Proyecto de Grado para optar al título de

QUÍMICO

DIRECTOR DEL PROYECTO

Carlos A. Arango, Ph.D

UNIVERSIDAD ICESI
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
DEPARTAMENTO DE CIENCIA QUÍMICAS
SANTIAGO DE CALI

2013

CONTENIDO

pág.

1. INTRODUCCIÓN 1
1.1 SIMULACIÓN CON DINÁMICA MOLECULAR DE POLÍMEROS ANFIFÍLICOS 1
2. ANÁLISIS PROBLEMÁTICA 3
2.1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA 3
2.2. JUSTIFICACIÓN 3
3.1 DESARROLLO COMPONENTES DEL PROBLEMA 4
3.1.1 Importancia fármacos poco solubles 4
3.1.2 Estrategias para la liberación de fármacos poco solubles 4
3.1.2 Uso de polímeros en la liberación de fármacos 5
3.1.3 Sistemas formados por polielectrolitos 5
3.2 APROXIMACIÓN COMPUTACIONAL 8
3.2.1 Dinámica molecular 8
3.2.4 Dinámica molecular a temperatura constante 11
3.2.6 Descripción de NAMD/VMD 14
3.3 APORTE INTELECTUAL 16
4 OBJETIVOS 18
4.1 PROPÓSITO 18
4.2 OBJETIVO DEL PROYECTO 18
4.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 18
5. METODOLOGÍA 19
5.1 RECURSO COMPUTACIONAL 19
5.2 PARAMETRIZACIÓN DE UN MONÓMERO DE PAM-18K_2 19
5.2.1 Generación de los archivos .psf, .pdb y .par para la unidad monomérica 20
5.2.1.1 Preparación del sistema I: generación PSF Y PDB 20
5.2.1.3 Preparación del sistema III: optimización de geometría 21
5.2.1.4 Cargas I: Interacción con el agua y optimización de cargas 21

5.2.1.5 Términos enlazantes: cálculo de los parámetros de enlace y ángulos. 22
5.2.1.6 Búsqueda de parámetros diedros 22
5.3 PARAMETRIZACIÓN DEL HEPTÁMERO 23
5.3.1 Parametrización sin solvente 23
5.3.2 Parametrización con solvente 24
5.4 CÁLCULOS DE DINÁMICA MOLECULAR 24
5.5 ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS 26
6. RESULTADOS 28
6.1 RESULTADOS DE LA PARAMETRIZACIÓN DEL MONÓMERO Y DEL HEPTÁMERO 28
6.2 RESULTADOS DE LA DINÁMICA MOLECULAR DEL HEPTÁMERO 29
7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS 39
8. CONCLUSIONES 43
9. RECOMENDACIONES 44
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 45
7. ANEXOS 49
7.1 Tiempos de cálculo 49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 . Formación de un ionómero a partir de copolímeros que contienen anhídrido maleico en su estructura. Para el proyecto R= 8C y 16C. 7

Figura 2. Estructura química A) de la unidad co-monomérica del polímero PAM-18-K_2 , y de B) la unidad monomérica que será parametrizada. Se observa que en la estructura B, en lugar de carboxilatos hay ácidos carboxílicos. Adicionalmente, se adicionan metilos a los sitios de polimerización del monómero. 20

Figura 3. Sistema PAM_8_OH con la caja de agua. 24

Figura 4. Geometrías optimizadas del A) monómero y B) heptámero. En la figura 2b) se observa que el polímero adquiere una conformación helicoidal. 28

Figura 5. RMSD contra tiempo de simulación para los sistemas PAM16: esprotonados en disolvente (línea verde), desprotonados en vacío (línea azul), protonado en disolvente (línea negra), protonado en vacío (línea roja). 30

Figura 6. RMSD contra tiempo de simulación para los sistemas PAM8: desprotonado en disolvente (línea verde), desprotonado en vacío (línea azul), protonado en disolvente (línea negra), protonado en vacío (línea roja). 30

Figura 7. Radio de giro contra tiempo de simulación para los sistemas PAM16: desprotonado en disolvente (línea verde), desprotonado en vacío (línea azul), protonado en disolvente (línea negra), protonado en vacío (línea roja). El radio de giro en los sistemas simulados en vacío disminuye 38% mientras que, el radio de giro en los sistemas simulados en agua disminuyen en un 31% (línea negra) y 18% (línea verde)..... 31

Figura 8. Radio de giro contra tiempo de simulación para los sistemas PAM8: desprotonado en disolvente (línea verde), desprotonado en vacío (línea azul), protonado en disolvente (línea negra), protonado en vacío (línea roja). El radio de giro en los sistemas simulados en vacío presenta un comportamiento similar, disminuyendo alrededor del 23% mientras que, el radio de giro de los sistemas simulados en disolvente varía con el grado de protonación. Cuando el sistema está protonado, el radio de giro disminuye un 15%, y cuando el sistema está desprotonado, el radio de giro disminuye un 7%. 32

Figura 9. Distancia entre los extremos de la cadena principal contra el tiempo de simulación para los sistemas PAM16: desprotonado en disolvente (línea verde), desprotonado en vacío (línea azul), protonado en disolvente (línea negra), protonado en vacío (línea roja). El sistema PAM16_OH es el único que exhibe cambios significativos en la distancia extremo-extremo (20%). 33

Figura 10. Distancia entre los extremos de la cadena principal contra el tiempo de simulación para los sistemas PAM16: desprotonado en disolvente (línea verde), desprotonado en vacío (línea azul), protonado en disolvente (línea negra), protonado en vacío (línea roja). El sistema PAM16_OH es el único que exhibe cambios significativos en la distancia extremo-extremo (22%). 34

Figura 11. Representacion CPK y VDW del sistema PAM16_OH en el marco de simulación 1800. Se observa que la cadena lateral toma una conformación aglomerada y se forman microdominios hidrofóbicos. 35

Figura 12. Representación CPK y VDW del sistema PAM16_O- en el marco de simulación 1800. A pesar que no se observa una conformación aglomerada en la cadena principal, sí se pueden ver dominios hidrofóbicos. 35

Figura 13 . Representación CPK y VDW del sistema PAM8_O-. No se observa formación de microdominios hidrofóbicos en la cadena principal. 36

Figura 14. Representación CPK y VDW del sistema PAM8_OH. Se observan giros en la cadena principal, y un inicio de formación de microdominios hidrofóbicos. . 36

Figura 15. Representación CPK, VDW con agua y VDW del sistema PAM16_O-_WB. No se observan torsiones en la cadena principal, pero se puede ver la formación de nanofases..... 37

Figura 16. Representación CPK, polímero más agua y VDW del sistema PAM16_OH_WB. Se forma un microdominio hidrofóbico y la cadena principal monomérica no es totalmente recta. 37

Figura 17. Representación CPK, polímero más agua y VDW del sistema PAM8_O-_WB. No se observa la formación de dominios hidrofóbcos a pesar que las cadenas laterales buscan aglomerarse entre ellas. 38

Figura 18. Representación CPK, polímero más agua y VDW del sistema PAM8_OH_WB. No se observa la formación de dominios hidrofóbcos a pesar que las cadenas laterales buscan aglomerarse entre ellas. 38

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Asignación de los tipos de átomo en el monómero de acuerdo a CHARMM. 21

Tabla 2. Casos de estudio del heptámero*. 25

Tabla 3. Tiempos de cómputo por CPU para cada uno de los cálculos llevada a cabo durante la parametrización tanto del monómero como del heptámero..... 49

I. RESUMEN

La microencapsulación de sustancias bioactivas es una alternativa para el desarrollo en química farmacéutica, medicina, bioquímica y ciencias de materiales. Uno de los mayores intereses de la investigación en este campo es la liberación controlada de fármacos a una diana biológica específica. Se busca proteger el fármaco de su degradación, disminuir su toxicidad, aumentar su eficacia biológica, entre otros. Adicionalmente, la mayoría de los nuevos agentes químicos que se usan para diferentes tratamientos exhiben baja solubilidad en agua así como una limitada disponibilidad para el suministro oral. Así, altas dosis de este tipo de fármacos son requeridas por los pacientes. Es necesario encontrar matrices de liberación que resuelvan los problemas mencionados anteriormente. Dentro de los sistemas que se han desarrollado se encuentran las cápsulas de polímeros y polielectrolitos, las microemulsiones de fluoroalcanos, las micelas y los hidrogeles. Los poliectrolitos son polímeros que tienen grupos ionizables. Estos sistemas poliméricos exhiben propiedades únicas para su aplicación no solo en el ámbito de química farmacéutica. Las propiedades de este tipo de polímeros dependen de la fracción de grupos iónicos disociados, el tipo de solvente, la fuerza iónica, el pH y la fracción hidrofóbica del polímero.

Se han realizado simulaciones computacionales y modelos teóricos de polielectrolitos cargados para elucidar los diferentes factores que controlan sus propiedades fisicoquímicas. Sin embargo, no hay estudios detallados acerca de la influencia del pH y la longitud de las cadenas alquílicas laterales sobre los cambios conformacionales del polielectrolito. En este estudio, se analiza la influencia del grado de protonación y la longitud de las cadenas laterales sobre la conformación de las sales dipotásicas del poli(ácido maleico-*alt*-alqueno). Se realiza una simulación con dinámica molecular utilizando el software NAMD junto con su interfaz gráfica VMD. Los resultados computacionales de sistemas simulados en el vacío concuerdan con los resultados experimentales: los polímeros con cadenas laterales de 16 carbonos exhiben conformaciones aglomeradas cuando están protonados y desprotonados. Los polielectrolitos con cadenas laterales de 8 carbonos exhiben una conformación aglomerada ando están potonados y una conformación extendida cuando están desprotonados. Los resultados computacionales de sistemas simulados en solvente no coinciden con los resultados experimentales puesto que en ningún grado de protonación se favorece una conformación aglomerada para polielectrolitos con cadenas laterales de ocho carbonos. Los resultados sugieren que es necesario incrementar el número de monómeros del sistema.

Palabras clave: polielectrolitos anfipáticos, dinámica molecular, grado de protonación, longitud cadenas hidrofóbicas .

I. ABSTRACT

Microencapsulation of bioactive substances has a high priority for further development in pharmaceutical chemistry, medicine, biochemistry and materials science. Targeted delivery and controlled release of drugs are some of the main interests of this research area. The objectives include protection of drugs from degradation, decrement of their toxicity, enhancement of their biological effectiveness among others. The vast majority of new chemicals entities released for different treatments show poor solubility in water and exhibit low oral bioavailability, as a consequence high doses of these drugs must be supplied. It is necessary to find alternative delivery technologies. Polymer and polyelectrolyte devices, fluoroalcane microemulsions, micelles, and hydrogels are some of the systems that have been developed to encapsulate and transfer various materials disperse on the micro and nano level. Polyelectrolytes are charged polymers with ionizable groups. These polymeric systems show unique properties for applications not only in drug delivery. Properties of these type of polymers depend on the fraction of dissociated ionic groups, nature of the solvent, ionic strength, pH and fraction of hydrophobic groups on the polymer.

Over the years molecular simulation and theoretical models of charged polymers have proven helpful in elucidating factors controlling the physicochemical properties. However, there are no detail studies on the influence of pH and lateral chain length on conformational changes of polyelectrolytes with hydrophobic lateral chains. In this study, the influence of the degree of protonation and lateral chain length on conformational changes of poly(maleic acid-alt-alkene) dipotassium salts are determined theoretically by molecular dynamics simulation using the software NAMD with its graphical interface VMD. The computational results of systems simulated in vacuum are in good agreement with experimental results: when the system is deprotonated, polyelectrolytes with a lateral chain of eight carbons have a extended conformation and polyelectrolytes with lateral chains of sixteen carbons have a collapsed conformation; when the system is protonated, polyelectrolytes with lateral chains of eight and sixteen carbons have a collapsed conformation Computational results of systems simulated in solvent are not in good agreement with experimental results: polymers with lateral chains of eight carbons do not exhibit collapsed conformation at any degree of protonation. Results showed that it is necessary to increase the number of monomers considered in the study.

Keywords: amphiphatic polyelectrolytes, molecular dynamics, degree of protonation, hydrophobic chains length.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 SIMULACIÓN CON DINÁMICA MOLECULAR DE POLÍMEROS ANFIFÍLICOS

El desarrollo de sistemas eficientes de liberación de fármacos poco hidrosolubles es uno de los intereses de investigación en el área de Química Farmacéutica. Se busca encontrar sistemas de liberación, que no presenten efectos toxicológicos, con alta especificidad y actividad en el lugar de su acción biológica. La liberación de fármacos poco hidrosolubles presenta algunos problemas, por ejemplo, el suministro constante de los mismos y reacciones de descomposición en medio acuoso dependientes del pH, la temperatura y la fuerza iónica. Así, se necesita encontrar matrices biocompatibles que actúen como reservorios y transportadores de fármacos, disminuyendo la dosis de suministro del fármaco, aumentando la retención del mismo, y haciendo que su transporte y liberación sean eficientes (Salamanca Mejía, 2007).

Dentro de las estrategias desarrolladas para la liberación de fármacos poco hidrosolubles se encuentran: disminución de la constante dieléctrica del disolvente a través de surfactantes, acondicionadores de humedad y cosolventes; adicionalmente, conversión de principios activos en sales. Las estrategias mencionadas aumentan la solubilidad del fármaco en medio acuoso, no obstante, no contribuyen a la protección del principio activo ni a la reserva del fármaco en sangre; por lo tanto, no se observa una disminución prominente en la dosis ni un sistema de transporte eficiente.

Adicional a las estrategias mencionadas anteriormente, se ha propuesto la síntesis de matrices a través de polielectrolitos. Los polielectrolitos son polímeros con grupos electrolíticos en los monómeros. Este tipo de polímeros se puede clasificar como naturales (ej, proteínas), naturales modificados y sintéticos. Debido a la disociación del grupo electrolítico en solución, las cadenas del polielectrolito presentan cargas; dependiendo del tipo de carga, se pueden clasificar como catiónicos, aniónico y zwiteriónicos (Schanze & Shelton, 1009). Adicionalmente, se pueden clasificar, según la composición de monómeros como homopolímeros o copolimeros; estos últimos, se clasifican según la distribución de los co-monómeros como aleatoriaos, alternantes y en bloque.

Es posible adicionar grupos funcionales hidrofóbicos a dichos sistemas poliméricos, con lo que se obtienen polielectrólitos con mayores propiedades

anfipáticas. Dentro de estas propiedades se encuentra la capacidad de formar sistemas microheterogéneos similares a micela o vesículas (Salamanca Mejía, 2007). La conformación adquirida por el polímero está dada por las interacciones hidrófobas y electrostáticas dentro del polímero. En medio acuoso, con alta concentración de iones, las interacciones electrostáticas disminuyen y las hidrófobas aumentan; como resultado, el polímero adquiere una conformación aglomerada formando microdominios hidrofóbicos. En el caso contrario, se forma una conformación extendida en la cual no se forman diferencias de fases. La liberación de fármacos por polielectrolitos presenta varias ventajas: modulación del tamaño del dominio hidrofóbico, interacción del polímero con el medio acuoso, estabilidad, biocompatibilidad, liberación prolongada en la sangre, baja retención en tejidos, alta solubilidad en agua, estabilidad estructural, biodegradación y protección a los agentes farmacológicos.

La formación de microdominios hidrofóbicos se ha evidenciado experimentalmente, especialmente a través del uso de sondas fluorescentes (Olea, 1999; Salamanca Mejía, 2007). Un estudio teórico de la formación de microdominios como función de las condiciones del medio puede servir como guía a los experimentalistas en la futura síntesis de polímeros anfifílicos a escala nano y para propósitos muy específicos de liberación controlada. Sin embargo, es necesario comprobar la existencia de estos microdominios computacionalmente, con el fin de observar las variaciones en la conformación del polímero al cambiar las condiciones del medio. Muchos estudios experimentales buscan analizar y verificar sus predicciones teóricamente. Actualmente, uno de los métodos empleados es la simulación con dinámica molecular (DM). Este tipo de simulación es una técnica que se usa para computar las propiedades de equilibrio y transporte de un sistema clásico de muchos cuerpos. Una gran parte de los estudios reportados sobre dinámica molecular en polielectrolitos utilizan la metodología *coarse grained* para estudiar especialmente la formación de monocapas, bicapas y nanopartículas .

Con este proyecto se evaluó computacionalmente la variación en la conformación de un sistema polimérico derivado de anhídrido maléico, correspondiente a la sal dipotásica del poli(ácido maléico-*alt*-octadeceno) y del poli(ácido maleico-*alt*-deceno). Se corroboró experimentalmente la variación de la formación de los microdominios con el grado de protonación del medio y la longitud de las cadenas alquílicas laterales, en sistemas en el vacío. Se realizó una simulación con dinámica molecular del polielectrolito con el fin de observar la dependencia de formación de nano-fases hidrofóbicas con el pH. La simulación se realizó a nivel atomístico, lo cual confiere una diferencia con respecto a los estudios reportados. Para el desarrollo de la dinámica se utilizó el paquete NAMD (not (just) another molecular dynamics program) junto con su interfaz gráfica VMD (Visual Molecular Dynamics).

2. ANÁLISIS PROBLEMÁTICA

2.1. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Con el fin de contribuir al desarrollo de matrices biocompatibles de reserva, transporte y liberación de fármacos con alta especificidad y actividad; logrando mejorar la liberación de fármacos de baja polaridad, su estabilidad, el suministro de las dosis, su reserva, transporte y especificidad; se realizó una simulación computacional de formación de coloides liófilos en medio acuoso a partir de los polielectrolitos para corroborar y explicar datos experimentales reportados, favoreciendo así el ahorro de tiempo y costo en la experimentación.

2.2. JUSTIFICACIÓN

Los sistemas microheterogéneos formados por polielectrolitos, han generado investigación para aplicaciones en diferentes áreas debido a su carácter anfipático. Por ejemplo, en la industria se han aplicado en procesos tecnológicos, al permitir el uso de soluciones acuosas en lugar de solventes orgánicos, esto representa un ahorro de costos y una disminución en la contaminación . También se han aplicado en la recuperación de petróleo (Lindman & Thalberg, 1993), flotación de minerales (Somasundaran & Lee, 1981), en la elaboración de productos para el cuidado del hogar (Somasundaran & Purohit, Polymer/surfactant interactions and nanostructures: current development for cleansing, release, and deposition of actives, 2011) y en la industria farmacéutica y cosmética (Adams, Lavasanifar, & Kwon, 2003; Discher & Eisenber, 2002).

Los resultados obtenidos en este trabajo son de gran interés para el grupo de nanotecnología farmacéutica de la universidad Icesi, así como para el grupo de fisicoquímica puesto que, presenta una metodología para la simulación de cadenas anfifílicas usando el software NAMD/VMD. La correcta parametrización del polímero facilita los nuevos estudios a realizar. Asimismo, la metodología diseñada para el estudio de este tipo de polímeros facilita la realización de diversos experimentos computacionales los cuales incluyen la simulación de la liberación de fármacos desde matrices poliméricas; brindando así, nuevas oportunidades de desarrollo de fármacos de baja polaridad, con un ahorro de tiempo y costo en la investigación. A su vez, la parametrización y el diseño de la metodología permiten el estudio de aplicaciones de polielectrolitos no sólo en el ámbito de química farmacéutica.

3. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

3.1 DESARROLLO COMPONENTES DEL PROBLEMA

3.1.1 Importancia fármacos poco solubles

La baja solubilidad en agua parece ser una característica intrínseca de muchos fármacos y agentes anticáncer. Como ejemplos, Paclitaxel, el componente activo de la droga anticancer taxol tiene baja solubilidad en agua; los esteroides, son una clase importante de drogas con limitada solubilidad en agua (Lukyanov & Torchilin, 2004).

La mayoría de estudios en la liberación de fármacos se han centrado en la encapsulación de moléculas grandes como péptidos, proteínas, DNA/RNA con potencial uso en el desarrollo de vacunas o formulaciones de liberación prolongada (LAR). Estas investigaciones han llevado al desarrollo de productos farmacéuticos como: Lupron Depot®, Zoladex®, Decapeptyl®, Eligard®, Enantone®, Trenantone®,Nutropin Depot®, y Profact®. No obstante, la mayoría de los nuevos agentes químicos no tienen altos pesos moleculares (Wischke & Scwendeman, 2008). Adicionalmente, se ha estimado que el 40% de los nuevos agentes químicos muestra baja solubilidad en agua (Straub, y otros, 2005). Particularmente, con el desarrollo de drogas clase IV con baja solubilidad y permeabilidad, que exhiben biodisponibilidad oral, las compañías farmacéuticas se enfrentan con la decisión de desarrollar o descartar el compuesto; de ahí que, la liberación de fármacos poco solubles es un reto en las investigaciones actuales. Generalmente, una baja solubilidad en agua está acompañada por propiedades farmacocinéticas no deseadas, poca absorción, limitada biodisponibilidad de suministro oral; el suministro intravenoso puede formar agregados que pueden producir taponamientos en las venas, incrementando el riesgo de un fallo en el sistema respiratorio. De ahí que sea importante la solubilidad y el tamaño de los compuestos en el desarrollo y liberación de fármacos (Wischke & Scwendeman, 2008) (Lukyanov & Torchilin, 2004).

3.1.2 Estrategias para la liberación de fármacos poco solubles

Se han diseñado diferentes estrategias para la liberación de fármacos poco solubles. Dentro de estas se encuentran microesferas lìpidicas (LM), cuya

preparación necesita altas presiones lo que incrementa el costo de producción (Teng, Shchukin, & Möhwald, 2008). Otras de las estrategias se basan en la emulsificación, conversión de los principios activos a sales, uso de excipientes (ej; Tween® 20 o Tween® 80), surfactantes y cosolventes (Lukyanov & Torchilin, 2004). Dentro de las técnicas de encapsulamiento más usadas se encuentran: Técnica de evaporación aceite-en-agua emulsión/disolvente (o/w), la técnica s/o/w (adicional a aceite y agua se emplean cosolventes) , método o/o, método w/o/w, por último, separación en fase/salting out (Wischke & Scwendeman, 2008). Una de las estrategias más promisorias es el uso de matrices formadas por polielectrolitos; este tipo de sistemas tiene varias ventajas que serán discutidas posteriormente

3.1.2 Uso de polímeros en la liberación de fármacos

En la búsqueda de sistemas que actúen como reservorios y transportadores de fármacos se han realizado estudios con sistemas poliméricos que facilitan la liberación y disolución de diversos fármacos. Como ejemplo, se ha estudiado el uso de polímeros polianhídrido para la liberación prolongada de agentes quimioterapéuticos en pacientes con tumores cerebrales (Pillai & Pachagnula,2001; Wang, Fraizer, & Brem, 2002). A su vez, se han sintetizado y caracterizado polímeros conjugados de polietilenglicol-fosfatidiletanolamina, y polímeros de polivinil pirrolidona (Lukyanov & Torchilin, 2004). Por último, adicional a los mencionado anteriormente, se han empleado polímeros sintéticos biodegradables de poliésteres (Poly(ácido láctico);poli(ácido glicólico); poli(dioxianonas)), poliamidas (poliaminoácidos), polímeros basados en fósforo (polifosfatos, polifosfonatos, polifosfazenos), poliuretanos, polihidropiranos, y poliacetales, entre otros (Pillai & Pachagnula, 2001).

3.1.3 Sistemas formados por polielectrolitos

Los polielectrolitos son polímeros ramificados con grupos ionizables en la cadena principal (A & M, 2005) por lo tanto en solvente, presentan cargas en su cadena principal polimérica, por esta razón comúnmente se denominan poliiones. Los polielectrolitos han permanecido como un tema atractivo para investigación debido a su importancia para tecnologías avanzadas y biología molecular (Zherenkova, Komarov, & Khalatur, 2006). Dentro de las aplicaciones en tecnología farmacéutica, como se mencionó anteriormente, se encuentra la liberación de fármacos de poca polaridad y la liberación de fármacos con una nivel de toxicidad elevado con un efecto importante en el tratamiento contra enfermedades como cáncer y tuberculosis pulmonar (Dmitry G, Dmitry a, & Helmuth, 2006). Es posible

adicionar grupos hidrofóbicos a los polielectrolitos, obteniendo así, estructuras con mayores propiedades anfipáticas en solución acuosa; permitiendo la formación de sistemas microheterogéneos similares a micelas o vesículas (Li & Dubin, 1994).

La formación de sistemas microheterogéneos se debe a la capacidad de la macromolécula de autoorganizarse en solución acuosa. Dependiendo del balance entre las interacciones electrostáticas de la cadena principal y las interacciones hidrófobas entre las cadenas laterales se han descrito dos conformaciones (Olea, Acevedo, & Martinez, 1999): aglomerada y extendida. En el caso en que la densidad de carga sea alta y la cadena lateral no sea muy hidrófoba, primarán las repulsiones electrostáticas, haciendo que la macromolécula tome una conformación extendida. Por otra parte, cuando la densidad de carga de la cadena principal es menor, y la hidrofobicidad de las cadenas laterales es alta, las interacciones hidrófobas priman sobre la repulsión electrostática haciendo que el polímero adquiera una conformación aglomerada. Así, se define una región donde coexisten segmentos del polímero y moléculas de solvente. Dependiendo del grado de hidrofobicidad de las cadenas laterales, la región formada será más o menos compacta; en el caso en que las cadenas laterales son muy hidrófobas esta región será muy compacta debido a la fuerza de atracción. Como resultado de lo anterior, se forma un microentorno apolar en la solución polimérica. Asimismo, la asociación de varias cadenas poliméricas con segmentos hidrofóbicos, puede generar un agregado polimérico intermolecular conocido como micela polimérica.

La facilidad de formación de los microentornos depende de la naturaleza iónica o catiónica del polímero. Cuando los grupos ionizables del polímero son débiles, como los ácidos carboxílicos, es posible la formación de microdominios sólo a bajos valores de pH o a una alta concentración de contraiones. Por otro lado, los polielectrolitos aniónicos con grupos laterales pequeños, forman microdominios sólo a valores de bajo pH. Cuando los grupos de la cadena lateral presentan un número mayor a ocho átomos el polímero no presenta transformación conformacional y el microentorno hidrofóbico tiende a permanecer constante en un amplio valor de pH (Salamanca Mejía, 2007).

En la industria farmacéutica y cosmética, los polielectrolitos se han utilizado como componentes de matriz o excipientes que mejoran la liberación de fármacos en fluidos corporales. Adicionalmente, se ha usado como moduladores farmacodinámicos, debido que algunos sistemas al interaccionar con la membrana plasmática activa la permeabilidad de la misma, permitiendo el ingreso eficiente del fármaco (Kabanov, Batrakova, & Miller, 2003). Los polímeros que se han

utilizado como transporte y reservorio de fármacos presentan grupos ester, lactónico, carboxilato y anhídrido, debido a que son grupos biocompatibles.

Los polielectrolitos como agentes de reserva y liberación de fármacos presentan ciertas ventajas: estabilidad y biocompatibilidad, capacidad de generar microfases en medio acuoso, modulación del tamaño, grado y estabilidad de los microentornos. Este tipo de matrices poliméricas mejora la eficacia terapéutica de fármacos de bajo y mediano peso molecular, así como de fármacos poco solubles. Otras ventajas son: obtención de sistemas de liberación prolongada en la sangre, poca retención en los tejidos, alta solubilidad en agua, alta estabilidad estructural, degradación de los grupos funcionales de los microentornos hidrófobos en unidades de bajo peso molecular que son fácilmente excretadas, protección a los agentes farmacológicos de la acción de enzimas, humedad, radiación y temperatura (Salamanca Mejía, 2007).

El grupo de nanotecnología farmacéutica de la Universidad Icesi, ha estudiado las sales potásicas de los polielectrólitos de ácido maleico con olefinas (PA-nK_2); estas sales se prepararon a partir de copolímeros comerciales: poli(anhídrido maléico-*alt*-tetradeceno) y poli(anhídrido maléico-*alt*-octadeceno); y de copolimeros previamente sintetizados: poli(anhídrido maléico-*co*-octano), poli(anhídrido maléico-*co*-deceno), poli(anhídrido maléico-*co*-dodeceno) y poli(anhídrido maléico-*co*-hexadeceno). Se ha encontrado experimentalmente que PA-nK_2 forman entornos hidrófobos en agua de tipo intramolecular, en lugar de microentornos intermoleculares. La hidrofobicidad incrementa directamente con la longitud de la cadena lateral polimérica. A su vez, los microdominios formados por polielectrólitos PA-nK_2 con cadenas laterales de mayor longitud (PA-14K_2, PA-16K_2, y PA-18K_2) son estables en todo el rango de pH. Contrario a esto, en los copolímeros con cadenas laterales más cortas, PA-8K_2, PA-10K_2, y PA-12K_2, se observa una transición inducida por el incremento del pH haciendo que la cadenas poliméricas pasen de una conformación aglomerada a una menos aglomerada, es decir, se pasa de una conformación al azar compacta a una conformación más flexible (Salamanca Mejía, 2007).

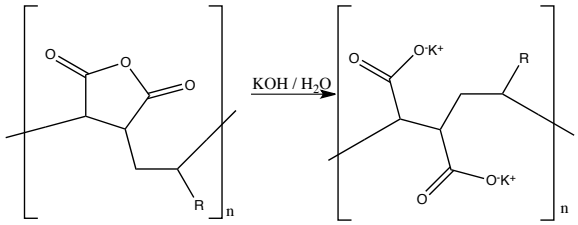

Figura 1 . Formación de un ionómero a partir de copolímeros que contienen anhídrido maleico en su estructura. Para el proyecto R= 8C y 16C.

3.2 APROXIMACIÓN COMPUTACIONAL

3.2.1 Dinámica molecular

Actualmente, muchos estudios experimentales buscan analizar y verificar sus predicciones teóricamente. Uno de los métodos empleados es la simulación con dinámica molecular (DM). Este tipo de simulación es una técnica que se usa para computar las propiedades de equilibrio y transporte de un sistema clásico muchos cuerpos. En este contexto, la palabra clásico hace referencia al hecho que el movimiento nuclear de las partículas obedece las leyes de la mecánica clásica. En este tipo de simulación se debe elegir primero un sistema modelo de N partículas y se resuelven las ecuaciones de Newton hasta que las propiedades del sistema no varíen en el tiempo, es decir, se equilibre el sistema. Después de esto, se realiza una medición; ésta, puede estar sujeta a errores similares a los experimentales; por ejemplo, la muestra no se prepara correctamente, la medición es muy corta, el sistema tiene un cambio irreversible durante el experimento. Con el fin de observar una cantidad en DM es necesario expresarlo en términos de la posición y el momento de las partículas del sistema. Como ejemplo, una definición conveniente de la temperatura en un sistema clásico de muchos cuerpos, se realiza a partir de la energía de equipartición sobre todos los grados de libertad que entran cuadráticamente en el Hamiltoniano del sistema. Así, la energía cinética promedio por grado de libertad se define:

$$\langle \tfrac{1}{2} m v_\alpha^2 \rangle = \tfrac{1}{2} k_B T \qquad (1)$$

En una simulación se usa la ecuación anterior como una definición operacional de la temperatura (Frenkel & Smit, 1996).

Dentro de DM es necesario establecer las formas de interacción entre los átomos que componen el sistema, con el fin de calcular la energía del sistema en función de las coordenadas internas del sistema. Este procedimiento se realiza a través del uso de mecánica molecular.

3.2.3 Mecánica molecular

La mayoría de los problemas a los cuales se desea realizar una aproximación usando modelamiento molecular, están constituidos por sistemas muy grandes para ser considerados con mecánica cuántica. Los métodos en mecánica cuántica

trabajan con los electrones de un sistema, por tanto, a pesar de usar una aproximación semi-empírica, el número de partículas con el cual se debe trabajar es muy alto y los cálculos son altamente demandantes de tiempo y poder computacional. Los campos de fuerza (mecánica molecular) ignoran el movimiento electrónico y calculan la energía del sistema como una función de las posiciones nucleares. En algunos casos, los campos de fuerza proveen respuestas que pueden ser igual de precisas que las obtenidas por cálculos cuánticos; sin embargo, a través del uso de mecánica molecular no se pueden calcular propiedades dependientes de la distribución electrónica de la molécula (Leach, 2001).

Para trabajar con mecánica molecular es necesario utilizar diversas aproximaciones. La primera es la de Born-Oppenheimer. La segunda, los enlaces entre átomos no se describen por un potencial de morse, sino por un potencial harmónico dado por la ley de Hooke. Por último, la transferibilidad es una característica clave de un campo de fuerza puesto que permite que un conjunto de parámetros desarrollado y probado en varios casos pueda ser aplicado a un rango amplio de problemas (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. Se establecen penalizaciones de energía asociados con la desviación de los ángulos y enlaces de su valor de referencia o equilibrio. Comúnmente, la interacciones de Van der Waals se calculan con un potencial de Lennard Jones 6-12, aunque en algunos campos de fuerza se han introducido modificaciones a este potencial (Leach, 2001). Adicional a las interacciones mencionadas, en el momento de realizar una simulación se debe decidir qué método se utilizará para evaluar los enlaces de hidrógeno, y el agua.

La función de energía potencial dada por las interacciones descritas anteriormente, depende del tipo de campo de fuerza que se emplee. Existen varios tipos de campos de fuerza como: MM1, MM2, MM3, MM4, CHARM,X-PLOR, OPLS y AMBER. La ventaja que ofrecen los campos MM es que se encuentran ampliamente parametrizados. CHARMM, se usa ampliamente en pequeñas y grandes moléculas. X-PLOR presenta un uso general en moléculas biológicas. OPLS se utiliza para simulaciones de y en disolvente (Lewars, 2011). 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 NAMD/VMD ya que, sólo es necesario parametrizar el polímero sin necesidad de describir el tipo

de interacciones. El grupo de fisicoquímica de la Universidad Icesi ha implementado el uso de CHARMM en el estudio de materiales poliméricos absorbentes de agua (Borca, 2012) . El potencial para este campo de fuerza tiene la forma (Leach, 2001):

$$U(R) = \sum_{Enlaces} K_b (b - b_0)^2 \quad + \sum_{Kub} K_{ub} (s - s_0)^2$$

$$+ \sum_{Ángulos} K_\theta (\theta - \theta_0)^2 + \sum_{torsiones} K_X (1 + cos(nX - \delta))$$

$$+ \sum_{impropios} K_{imp} (\varphi - \varphi_0)^2 + \sum_{No\ enlazantes} \epsilon \left[\left(\frac{R_{min_{ij}}}{r_{ij}}^{12} \right) - \left(\frac{R_{min_{ij}}}{r_{ij}}^{6} \right) \right] \quad (2)$$

En este campo de fuerza se utiliza un potencial de lennard-jones 6-12 para simular interacciones de Van der Waals, y se incluyen interacciones Urey-Bradley.

Resumiendo, cuando se va a realizar un estudio de dinámica molecular es necesario computar las fuerzas sobre todas las partículas usando potenciales de mecánica molecular. Posteriormente se debe aplicar el colectivo correspondiente a las condiciones de simulación, por ejemplo canónico (NVT) y el colectivo NPT. Luego, se integra el movimiento de los átomos aplicando las ecuaciones de Newton. Por último, se deben computar las cantidades medias con el fin de realizar un análisis de resultados, en éste, se puede aplicar mecánica estadística.

3.2.4 Dinámica molecular a temperatura constante

Desde el punto de vista de la mecánica estadística, se puede imponer una temperatura en un sistema al ponerla en contacto térmico con baño de calor grande. Bajo esas condiciones la probabilidad de encontrar al sistema en un estado con una energía específica está dado por la distribución de Boltzmann. La relación entre la temperatura impuesta y la energía cinética translacional por partícula se describe en la ecuación 1. Es importante aclarar que la condición de temperatura constante no equivale a una condición en la cual la energía cinética de cada partícula es constante (Frenkel & Smit, 1996). Para el control de la temperatura se usan diferentes termostatos: el termostato de Andersen, el termostato de Nosé-Hoovert y el de Langevin. Para el desarrollo de este proyecto se eligió trabajar con el termostato de Langevin.

En la dinámica Langevin se busca controlar la energía cinética del sistema y así controlar la temperatura y/o la presión del mismo. Se trata a cada átomo por separado, balanceando el término de fricción con el ruido Gaussiano para controlar la temperatura. Este método usa la ecuación de Langevin para una partícula (NAMD, 2012):

$$m_i \frac{d^2 x_i(t)}{dt^2} = F_i\{x_i(t)\} - \gamma_i \frac{dx_i(t)}{dt} m_i + R_i(t) \qquad (3)$$

En la ecuación 3 se adicionan dos términos a la fuerza ordinaria que siente una partícula. El segundo término da cuenta de la parte friccional proporcional a la velocidad de la partícula y el tercer término da cuenta de la parte debida a las colisiones continuas y al azar de la molécula del disolvente . Para la fuerza friccional se asume la forma $-mv\gamma$, y para la fuerza aleatoria una función estocástica R(t). Una constante de amortización muy alta puede hacer que la dinámica del sistema sea muy lenta, por esta razón es necesario encontrar el coeficiente de amortización mínimo para mantener la temperatura; un valor de 1.0 es un buen punto de partida.

3.2.5 Simulación computacional de cadenas anfifílicas

Simulaciones moleculares y modelos teóricos de sistemas poliméricos que exhiben cargas, han ayudado a elucidar diferentes factores que controlan sus propiedades. Dentro de las propiedades que se han estudiado se incluyen: hinchamiento de geles formado por polielectrolitos, transformaciones conformacionales de dendrímeros cargados, formación de complejos entre

macromoléculas cargadas, absorción de polímeros cargados en superficies e interfaces y ensambles de multicapas en sistemas de polielectrolitos (Dobrynin A. , 2008).

En soluciones diluidas de sal, por debajo de la concentración de superposición de cadenas, las interacciones electrostáticas intra-cadena priman sobre las interacciones intercadena. El estiramiento no uniforme de las cadenas de polielectrolitos se probó mediante simulaciones de dinámica molecular por Liao *et al* (2003). La longitud de la cadena polimérica disminuye conforme la concentración de polímero aumenta en la solución diluida. Esta reducción de tamaño se da como resultado de una reducción de la carga neta del polímero dada por contraiones.

En solventes que presentan baja afinidad por la cadena principal del polimero existe una atracción entre monómeros lo cual hace que la cadena neutra del polímero colapse en glóbulos esféricos para maximizar los contactos favorables polímero-polímero y minimizar los contactos desfavorables polímero-solvente. Simulaciones con dinámica molecular de polímeros cargados parcialmente con contraiones en disolvente poco afines con la cadena polimérica se han llevado a cabo por el grupo MPIP (Limbach, Holm, & Kremer, 2002; Limbach, Holm & Kremer,2004; Limbach & Holm, 2002; Limbach & Holm, 2003) y por Liao ett al (2006) . Estas simulaciones han confirmado que las cadenas de polielectrolitos, a concentraciones bajas del polimero, forman “collares de perlas” conectados por resortes. Estudios acerca del efecto de los interacciones electrostáticas de corto y largo alcane en soluciones diluidas de polielectrolitos se llevaron a cabo por Limbach y Holm (2003) y por Jeon y Dobrynin (2007). Estos estudios mostraron las cadenas del polimero adoptan una conformación en forma de “collar”, únicamente en un rango estrecho de los parámetros de interacción. Resultados similares se observaron en simulaciones Monte Carlo de titulación de polielectrolitos hidrofóbicos (Ulrich, Laguecir, & Stoll, 2005). Dependiendo del valor del pH y del pK_0, la cadena polimérica puede estar en cinco estados conformacionales: espiral, glóbulo esférico colapsado, glóbulo en forma de collar, agregados, y cadena estirada.

Simulaciones con disolvente explícito de cadenas cortas de polielectrolito han mostrado que la estructura en forma de collar no es muy estable dado que los efectos adicionales entrópicos de solvente, debilitan las atracciones monómero-monómero (Chang & Yethiraj, 2006).

Simulaciones computacionales de soluciones de polielectrolitos han mostrado que a diferencia de lo que asumen los modelos de unión y adsorción de iones, los

contraiones no están unidos a los grupos con cargas opuestas; los contraiones se localizan cerca de la cadena polimérica y son libres de moverse adentro de la misma (Dobrynin & Rubinstein, 2005). La localización de estas cargas adentro del volumen de la cadena puede llevar a interacciones atractivas, dadas por la distribución heterogenea de la carga a lo largo de la cadena. El efecto de la fluctuación de las atracciones atractivas se estudió por dinámica molecular (Chang & Yethiraj, 2006; Jeon & Dobrynin, 2007; Limbach & Holm, 2003). Se encontró que las fluctuacio causan un colapso adicional en la cadena, el cual puede ser resultado de dos mecanismos. En el primero los valores de la longitud de Bjerrum es igua a 1σ o 2σ, y la esructura en forma de collar aparece como resultado de la competencia entre atracciones monómero-monómero de corto alcance y la repulsión electrostática de cargas que no presentan contraiones. En el segundo caso, la longitud de Bjerrum es mayor a 3σ y la estructura en forma de collar está controlada por la condensación de contraiones, y se da por la optimización de la atracción inducida entre monomeros y contraiones, y las cargas no compensadas de la cadena polimérica (Jeon & Dobrynin, 2007; 2006).

Cuando se adicionan iones multivalentes a la solución de polielectrolitos, la fuerte atracción elctrostática entre los iones y los monómeros cargados favorece la condensación de los iones sobre la cadena polimérica. Cada ión con una valencia Z puede neutralizar un monómero con una carga Z, así, la atracción es Z-veces más eficiente que la atracción de iones monovalentes (Dobrynin A. , 2008). Usando simulaciones Monte carlo se estudió el efecto de la concentración de sal sobre una cadena sencilla de polielectrolito. Se encontró que en presencia de iones multivalentes, se presenta un colapso en la estructura polimérica acompañado por una reducción en la energía del sistema y la carga efectiva de la cadena del polielectrolito (Klos & Pakula, Computer simulations of a polyelectrolyte chain with a mixture of multivalent salts, 2005).

Para el estudio de sistemas de polielectrolitos se utiliza comúnmente el modelo de monómeros de lennard jones (Lin, Liao, & Jin, 2007), así como el modelo *bead-spring* (Jeon et al., 2007; Kosovan et al., 2009). En estos modelos un grupo de átomos se considera como una sola partícula con determinadas características, puede ser que un monómero se considere como una partícula o un grupo de monómeros. Lin et al (2007), modelan polielectrolitos dendríticos con espaciadores flexibles en soluciones libres de sal. En este estudio los polielectrolitos se modelaron como un ensamble de cadenas espaciadas consistiendo e n-monómeros de Lennard-Jones con una fracción de carga f; f es cero para los átomos neutros y ½ para los átomos cargados. Kosovan *et al* (2009) realizó un estudio de copolímeros anfifílicos. En el estudio reportado se hacen simulaciones variando la longitud de las cadenas laterales y de la cadena principal. Cada partícula puede contener más de una unidad monomérica dependiendo del mapeo

del modelo a un polímero real. El polimero contiene dos tipos de unidades monoméricas: hidrofóbicas e hidrofílicas.

Los estudios computacionales de polímeros a nivel atomístico son menores a los reportados con anterioridad debido al tiempo de cómputo que se requiere. A nivel atomístico se estudió la adsorción de polielectrolitos al analizar la energía de interacción entre las cadenas hidrofóbicas de las sales dipotásicas del poli(ácido maleico-*alt*-1-alqueno) con cadenas de hidrocarburos. Se estudiaron polímeros con cadenas laterales de 4, 6, 8 y 10 carbonos. Se encontró que la eficiencia de adsorción para un polielectrolito con una determinada longitud en las cadenas laterales disminuye conforme la longitud del hidrocarburo aumenta. En la misma interface de hidrocarburos la eficiencia de adsorción aumenta al aumentar la longitud de la cadena lateral del polielectrolito.

3.2.6 Descripción de NAMD/VMD

NAMD (not (just) another molecular dynamics program) es un código en paralelo de dinámica molecular diseñado para simulaciones de alto desempeño de sistemas biomoleculares grandes. El código fuente está en C y C++, disponible para modificaciones por parte del usuario. Una de las ventajas de NAMD es su escalabilidad. NAMD tiene una interfaz gráfica llamada VMD (Visual Molecular Dynamics) , a su vez, es estable y compatible con otros programas o campos de fuerza como CHARMM, AMBER, X-PLOR Y OPLS. A parte de ser compatible con los campos de fuerza mencionados anteriormente, NAMD da al usuario la posibilidad de crear un propio campo de fuerza (NAMD, 2012).

Para correr una simulación en NAMD es necesario tener los siguientes archivos: .pdb, topologías, .psf, parámetros y configuración (Phillips, et al., 2012).

Archivo .pdb: en este tipo de archivo se encuentran los diferentes tipos de residuos y sus coordenadas cartesianas. Algunos archivos pdb incluyen múltiples conjuntos de coordenadas para varios o todos los átomos. Igualmente, se encuentran las coordenadas de las moléculas de agua, iones y cualquier átomo presente en el sistema.

Archivo .psf: contiene toda la información necesaria para aplicar un campo de fuerza en particular a un sistema molecular. Este tipo de archivos contiene generalmente seis secciones; átomos, enlaces, ángulos, diedros, impropios y términos cruzados.

Archivo de topología (.top): define el tipo de átomos usados en el campo de fuerza, los nombres, los enlaces, cargas parciales y los parches necesarios para unir o mutar residuos. Este tipo de archivos contiene coordenadas internas que permiten la asignación de coordenadas a los hidrógenos y otros átomos que faltan en el archivos PDB.

Archivo de parámetros (.par): este tipo de archivo contiene un mapeo entre las interacciones enlazantes y las no enlazantes; estas incluyen las combinaciones de tipos de átomos encontradas en el archivo de topologías, las constantes de fuerza para los enlaces, ángulos, diedros, impropios e interacciones de Van der Waals en términos del campo de fuerza CHARMM.

Archivo de configuración NAMD (.conf): en este archivo se especifica todo lo necesario de la simulación a realizar. Ejemplo, temperatura, tiempo, restricciones a aplicar, la estructura molecular, la frecuencia de reinicio, el tipo de campo de fuerza, presión, aplicación del termostato de Langevin, entre otros.

Con el archivo pdb y el de topología, se construye el archivo .psf. Éste, junto con el archivo de parámetros, se utiliza en la construcción del archivo de configuración NAMD, el cual será el input directo para la simulación. Es importante mencionar que no es necesario generar el archivo .psf a partir del de topologías y el pdb; VMD cuenta con plug-ins, programas de apoyo, que permiten generar manualmente este tipo de archivos y facilitan la parametrización de residuos. Dentro de estos plugins se encuentran *Force Field Toolkit (ffTK) y Molefacture. ffTK* consiste en un conjunto de herramientas que ayudan al usuario en el desarrollo de parámetros compatibles con el campo de fuerzas CHARMM, incluyendo cargas, enlaces, ángulos y dihedros. El proceso de parametrización consiste en ocho pasos: primero, generación de los archivos PSF y PDB usando *Molefacture;* segundo, ajuste de los parámetros no enlazantes por analogía; tercero, optimización de geometría; cuarto, generación de la información sobre interacciones con el agua; quinto, optimización de cargas; sexto, cálculo de los parámetros de enlace y ángulos; séptimo, generación de la información para la realización del fit de ángulos diedros, y octavo, realización del fit de los ángulos diedros (Gumbart & Mayne, 2012).

Los pasos básicos de una dinámica molecular incluyen preparación, minimización y equilibración del sistema. La etapa de preparación consiste en la generación de los archivos mencionados anteriormente. La minimización y equilibración difieren entre sí en la forma en que implementan el campo de fuerza de la dinámica molecular. La minimización de energía incluye la búsqueda por un mínimo local de energía, al variar sistemáticamente las posiciones de los átomos. La equilibración

involucra dinámica molecular, donde la resolución de las ecuaciones de Newton dicta la trayectoria de cada uno de los átomos. El equilibrio se mide al analizar la distribución de velocidades, presión, etc. en el sistema durante un intervalo de tiempo determinado. (Phillips, et al., 2005)

3.2.7 Análisis de resultados en VMD: RMSD y Radio de Giro.

El RMSD, *Root Mean Square Deviation*, caracteriza la cantidad en la que una selección dada de la molécula se desvía de una posición definida en el espacio. Es una medida numérica de la diferencia entre dos estructuras (NAMD, 2012):

$$RMSD_{\alpha}(t_j) = \sqrt{\frac{\sum_{\alpha=1}^{N_\alpha}(\vec{r}_\alpha(t_j)-\langle\vec{r}_\alpha\rangle)^2}{N_\alpha}} \quad (4)$$

N_α es el número de átomos cuyas posiciones se comparan, N_t es el número de pasos sobre los cuales se comparan las posiciones atómicas, $\vec{r}_\alpha(t_j)$ es la posición del átomo α en un tiempo t_j, y $\langle\vec{r}_\alpha\rangle$ es el valor promedio de la posición del átomo α el cual se usa como referencia para comparar las posiciones $\vec{r}_\alpha(t_j)$.

$$\langle\vec{r}_\alpha\rangle = \frac{1}{N_t}\sum_{j=1}^{N_t}\vec{r}_\alpha(t_j) \quad (5)$$

El radio de giro es una de las variables más usadas para describir teóricamente la estructura de un polímero. Se calcula como la media cuadrática de las partículas de un sistema con respecto a su centro de masas o un determinado eje. El radio de giro se define como (Borca, 2012):

$$R^2_{Gyration} \equiv \frac{\sum_i m_i(\vec{r}_i-\vec{r}_{cm})^2}{\sum_i m_i} \quad (6)$$

Donde, m_i es la masa de la partícula i, $\vec{r}_i$ es la posición de la partícula i, y $\vec{r}_{cm}$ es la posición del centro de masas.

3.3 APORTE INTELECTUAL

Los estudios conocidos sobre dinámica molecular en polielectrolitos utilizan metodologías de coarse grained como lo es el modelo de partículas explicado anteriormente. En este proyecto se realizó una simulación a nivel atomístico. Por

otro lado, se han estudiado la formación de capas, bicapas o multicapas por parte de polímeros anfifílicos; no obstante, para el conocimiento de la autora no se ha estudiado la dependencia directa de la conformación y formación de microdominios por parte de las sales dipotásicas del poli (ácido maleico –alt-alqueno) con el grado de protonación del medio y la longitud de las cadenas laterales. Observar y analizar la formación de microdominios por simulación computacional presentó un enriquecimiento a los estudios teóricos de polielectrolitos.

Por otra parte, el uso de NAMD no es común en la simulación de polielectrolitos y no se conoce un estudio reportado que lo emplee, por tanto, el desarrollo del proyecto permitió construir una nueva metodología para el empleo de este software en el estudio de dinámica molecular de polímeros; complementando los estudios previamente realizados por el grupo de fisicoquímica con materiales absorbentes de agua (Borca, 2012).

4 OBJETIVOS

4.1 PROPÓSITO

Contribuir al desarrollo de matrices biocompatibles de reserva, transporte y liberación de fármacos con alta especificidad y actividad a través de simulación computacional.

4.2 OBJETIVO DEL PROYECTO

Realizar una simulación computacional con Dinámica Molecular de la formación de nodominios hidrofóbicos en medio acuoso, a partir de los polímeros de sales dipotásicas del poli(ácido maleico-*alt*-octadeceno) y poli(ácido maleico-*alt*-deceno) con el fin de corroborar y explicar fenómenos experimentales.

4.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

4.3.1 Determinar el conjunto de parámetros que describen la estructura de las sales dipotásicas del poli(ácido maleico-alt-octadeceno) y del poli(ácido maleico-*alt*-deceno), denominados PAM-18-K_2 y PAM-10-K_2, respectivamente.

4.3.2 Evaluar la facilidad de formación de nanodominios hidrofóbicos al variar la longitud del polímero y la longitud de la cadena alquílica en sistemas completamente protonados y deprotonados.

4.3.3 Encontrar las conformaciones más estables de coloides liófilos para diferentes condiciones del entorno.

4.3.4. Comparar los resultados obtenidos computacionalmente sobre la formación de nanodominios heterogéneos, con resultados reportados experimentalmente.

5. METODOLOGÍA

5.1 RECURSO COMPUTACIONAL

El proyecto se realizó en la Universidad Icesi, en el lugar de trabajo asignado para el grupo de Fisicoquímica. En este salón se cuenta con cinco computadores adicionales al computador personal de la autora. De los equipos anteriores se utilizaron los siguientes:

- 1x Desktop:
    - Memoria RAM 8GB (4GB de intercambio)
    - Cuatro procesadores Intel® Core™ i3-2100 CPU @ 3.10GHz
    - 500GB HDD
    - Sistema operativo: kernel linux 3.0.0-32 generic

- 1x Laptop:
    - Memoria RAM 8GB 1600 MHz DDR3 (4GB de intercambio)
    - Cuatro procesadores: 2.9 GHz Intel Core i7
    - 750GB HDD
    - Sistema operativo: kernel linux 3.0.0-32 generic

- 1x Desktop
    - Memoria RAM 8GB (4GB de intercambio)
    - Dos procesadores Intel ® Core™2 E8400 @3.00GHz
    - 500GB HDD
    - Sistema operativo: OS X 10.8.4

5.2 PARAMETRIZACIÓN DE UN MONÓMERO DE PAM-18-K_2

Para la parametrización se utilizaron los plugins de NAMD: *Force Field Toolkit (ffTK) y Molefacture* (Gumbart & Mayne, 2012)*;* la interfaz gráfica Gabedit (Allouche, 2010), y el programa para química computacional Gamess (Schimdt, et al., 1993). Se siguió la metodología propuesta por Vannommeslaeghe *et.al* (2009).

Con el fin de encontrar los parámetros que describen al polímero se realizó la parametrización de un solo monómero. Teniendo en cuenta que las unidades co-monoméricas son idénticas en el polímero, los parámetros encontrados se pueden transferir a cada uno de los monómeros, obteniendo así una parametrización completa de la estructura polimérica.

Para la parametrización del monómero se realizaron algunos cambios en la estructura química del mismo, como se muestra en la figura 2. Se adicionó un grupo metilo a cada uno de los extremos (círculo azul en la figura 2) para encontrar los parámetros que describen la unión entre monómeros: distancia de enlace, constantes de fuerza, ángulos, entre otros. Adicionalmente, los grupos carboxilatos se cambian por ácidos carboxílicos, evitando así realizar cálculos *ab initio* de capa abierta, optimizando el tiempo de cómputo.

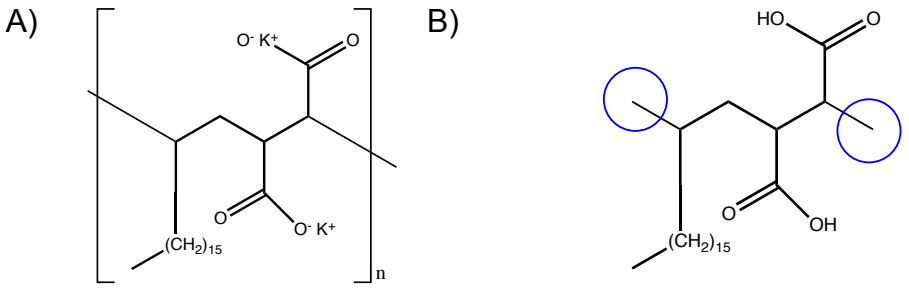

Figura 2. Estructura química A) de la unidad co-monomérica del polímero PAM-18-K_2 , y de B) la unidad monomérica que será parametrizada. Se observa que en la estructura B, en lugar de carboxilatos hay ácidos carboxílicos. Adicionalmente, se adicionan metilos a los sitios de polimerización del monómero.

5.2.1 Generación de los archivos .psf, .pdb y .par para la unidad monomérica

5.2.1.1 Preparación del sistema I: generación PSF Y PDB

Se realizó una representación gráfica del monómero en Gabedit generando un archivo .pdb. Este archivo se cargó en VMD y se modificó utilizando Molefacture. Primero, a cada átomo se le asignó un nombre y un tipo teniendo en cuenta el campo de fuerza CHARMM (Vanommeslaeghe, et al., 2009), ver tabla 1. Segundo, por convención de los campos de fuerza CHARMM, a los hidrógenos alifáticos se les asignó una carga predeterminada de +0.09. Por último, se generaron los archivos .top, .psf y .pdb con Molefacture.

Tabla 1. Asignación de los tipos de átomo en el monómero de acuerdo a CHARMM.

Átomo	Grupo	Tipo
C	CH_2	CG321
C	CH_3	CG331
C	CH	CG311
H	CH	HGA1
H	CH_2	HGA2
H	CH_3	HGA3
O	- COOH	OG2D1
O	- COOH	OG311
H	- COOH	HGP1

5.2.1.2 Preparación del sistema II: ajuste de parámetros no enlazantes por analogía.

En ffTK, en la pestaña “BuildPar” se cargó el .psf generado anteriormente. Se creó un archivo PAR inicial con todos los parámetros inicializados en cero. Se identificaron los parámetros no enlazantes del monómero, posteriormente, estos parámetros se buscaron en archivos de parámetros de referencia –*par_all_prot.inp y par_all36_carb.inp* - y se transifirieron los valores. Por último, el .par se actualizó con los nuevos valores.

5.2.1.3 Preparación del sistema III: optimización de geometría

Se realizó un cálculo *ab initio* para la optimización de geometría del monómero. Se usó el método Hartree Fock Restringido, con una base 6-31g(d) y un criterio de convergencia ajustado. El resultado se escribió en un nuevo archivo pdb.

5.2.1.4 Cargas I: Interacción con el agua y optimización de cargas

En el plugin ffTK, en la pestaña “Water Int”, se cargan los archivos PSF y PDB. Posteriormente, se seleccionan los átomos dadores y aceptores; los primeros interactúan con el oxígeno del agua y los segundos con el hidrógeno del agua. Se corrió cada cálculo de interacción con el agua, para esto, se realizó una

optimización de geometría, utilizando el método RHF con una base 6-31g(d) y matriz Z. Este cálculo se llevó a cabo para cada uno de los dadores y aceptores identificados. Se comprobó visualmente en VMD que en cada trayectoria la molécula de agua encontrara un mínimo de energía. Adicionalmente, se realizó un cálculo de energía en un solo punto (SPE) para el agua y para el monómero; utilizando el método RHF con una base 6-31g(d).

En la pestaña "Opt.Charges" del plugin ffTK, se cargaron los archivos PDB y PSF, adicionalmente, se cargó el archivo de parámetros en progreso y el archivo *par_all22_prot.inp,* el cual contiene los parámetros del agua TIP3P. VMD utiliza un algoritmo de simetría para asignar los grupos cargados. A cada uno de estos grupos se le asignó una carga inicial diferente de cero, la cual se encontraba dentro del rango predeterminado. Teniendo en cuenta que los hidrógenos alifáticos tiene una carga predeterminada, éstos, se excluyeron de la optimización de cargas. Se cargaron los archivos LOG de los cálculos SPE del agua y el monómero, así como los resultados de la optimización de cada átomo dador y aceptor. Con la información anterior se corrió una optimización de cargas con annealing simulado. Con esta optimización se busca reproducir la información de interacción con el agua dada por cálculos cuánticos, usando cáculos de mecánica molecular. Por último, se actualizó el archivo PSF con las cargas encontradas.

5.2.1.5 Términos enlazantes: cálculo de los parámetros de enlace y ángulos.

Se cargó el archivo .chk de la optimización de geometría en la pestaña "Calc.Bonded" de ffTK. Con este archivo se construyó el input para obtener la matriz Hessiana: con el método RHF, base 6-31g(d), con un criterio de convergencia ajustado. Con el LOG de este último cálculo, junto con los archivos PSF, PDB y PAR se calculan los parámetros de enlace usando NAMD. Por último, se actualiza el archivo PAR en progreso, obteniendo así valores en las secciones de ángulos y enlaces.

5.2.1.6 Búsqueda de parámetros diedros

En la pestaña "Scan Torsions" de ffTK se cargaron los archivos PSF y PDB. A partir de estos archivos se encuentran los diedros que serán escaneados. Se generaron los input para realizar un scanning de los ángulos diedros en Gaussian. Para cada uno de los ángulos diedros, se realizó un optimización de geometría con el método RHF y la base STO-3g.

Con los resultados del cálculo anterior, y los archivos PSF y PDB se corre una optimización en NAMD. Previo a esta optimización se modificó la periodicidad de los ángulos diedros. El resultado de la optimización se refina teniendo en cuenta el RMSE y la similitud entre la energía calculada por métodos *ab-initio* y la energía calculada por mecánica molecular. Se realizaron dos refinamientos utilizando annealing simulado con un cutoff de 8 y una tolerancia de 0.01. El último refinamiento se realizó usando el método *downhill* con una tolerancia de 0.0001. Por último, se actualiza el archivo PAR, completando así todos los campos exceptuando los ángulos impropios.

5.3 PARAMETRIZACIÓN DEL HEPTÁMERO

5.3.1 Parametrización sin solvente

Para realizar los cálculos de dinámica molecular se decidió trabajar con un heptámero pues permite observar fenómenos fisicoquímicos de la cadena polimérica y el tiempo de cálculo no es muy extenso en tiempo de cpu.

Empleando Gabedit se unieron siete monómeros previamente parametrizados. En cada uno de los sitios de polimerización se adicionó un grupo metilo, al igual que se hizo para la unidad repetitiva mínima básica (Figura 2). Se realizó en Gaussian una optimización de geometría utilizando el método semiempírico AM1. Con base en este resultado, se realizó una optimización de geometría ab-initio utilizando el método RHF con la base 3-21G.

Con el resultado de la optimización se generó el archivo PDB en Gabedit. Posteriormente, este archivo se cargó en VMD. Con Molefacture se generaron los archivos PDB y PSF. Estos últimos, se modificaron teniendo en cuenta la parametrización del monómero. En el archivo PAR se adicionaron los parámetros que describen la unión entre monómeros. Es importante aclarar que esta parametrización incluye los ácidos carboxílicos en lugar de los carboxilatos. Con el fin de incluir los carboxilatos, se eliminaron los hidrógenos de los ácidos carboxílicos, se generaron nuevamente los archivos PDB y PSF, y se modificaron de acuerdo a los resultados de la parametrización del monómero. Fue necesario cambiar tipos de átomos: el oxígeno OG2D1 pasó a OG2D2, y el OG311 pasó a OG312; al realizar estos cambios fue necesario incluir las modificaciones pertinentes en el archivo PAR.

5.3.2 Parametrización con solvente

Para la inclusión de disolvente tanto para el caso con ácido carboxílicos como carboxilatos, se construyó una caja de agua tipo TIP3P alrededor del oligómero. Para la construcción de la caja se tomó el átomo más distante en cada una de las direcciones cartesianas y se adicionaron 15Å.

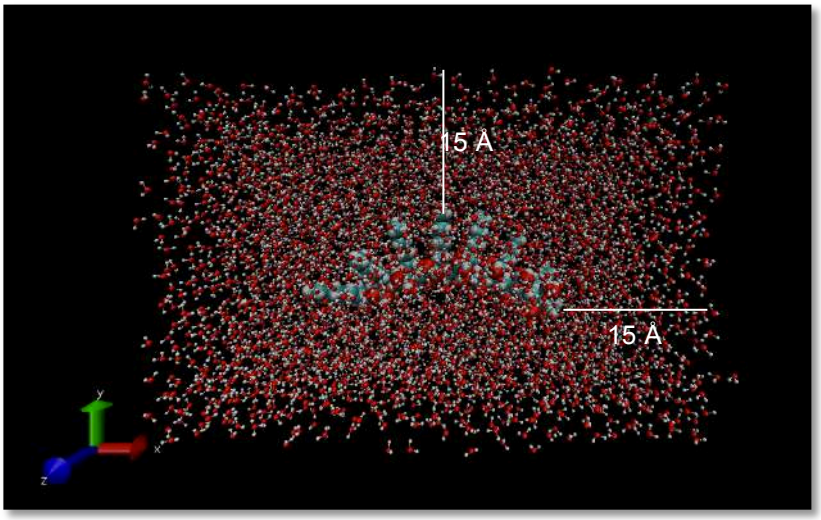

Figura 3. Sistema PAM_8_OH con la caja de agua.

NAMD/VMD genera automáticamente un archivo PDB y PSF para el oligómero en solvente. Fue necesario modificar el archivo PAR, adicionando los parámetros que describen la molécula de agua.

Se realizó la parametrización tanto del heptámero con cadenas laterales de 16 carbonos como con cadenas laterales de 8 carbonos. Para estas últimas se tomaron los archivos generados para 16 carbonos y se adaptaron a un menor número de átomos.

5.4 CÁLCULOS DE DINÁMICA MOLECULAR

Para los cálculos de dinámica molecular se evaluaron diferentes casos, como se muestra en la tabla 2, se variaron el número intervalos y el tamao de estos intervalos de tiempo para los diferentes casos. Se evaluó un nivel de protonación

alto y bajo, y cadenas laterales de 8 y 16 carbonos. Se escogieron estos casos con el fin de analizar los comportamientos en condiciones extremas y de ahí inferir qué puede pasar en condiciones intermedias.

Primero se realizó una minimización de 100000 pasos para garantizar la estabilidad de las siguientes simulaciones. Posteriormente los sistemas fueron equilibrados usando el colectivo NVT, el tiempo varió dependendiendo de cada caso. Las simulaciones se corrieron a 298K, con un cutoff[1] de 12 Å, y para el control constante de la temperatura se usó el termostato de Langevin sin aplicarlo a los hidrógenos durante la simulación.

Tabla 2. Casos de estudio del heptámero*.

Sistema	Cadena Lateral	-COOH	$-COO^-$	H_2O	Tiempo Simulación
PAM16_OH	16 carbonos	x			1 ns
PAM16_O-	16 carbonos		x		1 ns
PAM16_OH_WB	16 carbonos	x		x	1 ns
PAM16_O-_WB	16 carbonos		x	x	1 ns
PAM8_OH	8 carbonos	x			1.5 ns
PAM8_O-	8 carbonos		x		1.5 ns
PAM8_OH_WB	8 carbonos	x		x	1.5 ns
PAM8_O-_WB	8 carbonos		x	x	1.5 ns

*En los sistemas PAM 16 cada simulación se corrió durante 1000000 de pasos (1 fs/ paso), los marcos de simulación fueron 2000 (500 pasos/marco). En los sistemas PAM8 cada simulación se corrió durante 3000000 pasos (0.5 fs/paso), los marcos de simulación fueron 6000 (500 pasos/ marco). Las siglas WB significan Water Box.

[1] Distancia en Å a partir de la cual se suspende las interacciones electrostáticas y de van der Waals.

5.5 ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Para analizar los resultados se emplearon el RMSD (*Root Mean Square Deviation)*, el radio de giro y la distancia extremo-extremo de la cadena principal. Esta última se midió manualmente en VMD cada 50-100 marcos de simulación. Para graficar los resultados se utilizó el programa Plot, versión 0.997.

Para calcular el RMSD se utilizó el siguiente script:

```
### RMSD calculation

set outfile [open rmsd.dat w];

set nf [molinfo top get numframes]

set frame0 [atomselect top * frame 0]

set sel [atomselect top *]

# rmsd calculation loop

for {set i 1 } {$i < $nf } { incr i } {

    $sel frame $i

    $sel move [measure fit $sel $frame0]

    puts $outfile "[measure rmsd $sel $frame0]"

}

close $outfile
```

En donde se encuentra un * se escribió el nombre de la selección.

Para el cálculo del radio de giro , se utilizó el comando del VMD `rgyr`, el cual ejecuta el cálculo del radio de giro para una determinada selección de átomos en un determinado paso de la simulación. Usando este comando se generó el script para calcular el radio de giro en cada uno de los casos:

```
### Radius of gyration
```

```
set outfile [open rog.dat w];
set nf [molinfo top get numframes]
set sel [atomselect top "not water"]
# rmsd calculation loop
for { set i 1 } { $i < $nf } { incr i } {
    $sel frame $i
    $sel update
    puts $outfile "[measure rgyr $sel]"
}
close $outfile
```

6. RESULTADOS

6.1 RESULTADOS DE LA PARAMETRIZACIÓN DEL MONÓMERO Y DEL HEPTÁMERO

Para la parametrización del co-monómero y el heptámero fue necesario realizar una optimización de geometría. En la figura 4 se muestran las geometrías optimizadas para el monómero y el heptámero con cadenas laterales de 16 carbonos. En cálculos nuestros no reportados se observa que la conformación de la cadena principal y la orientación de cada una de las cadenas laterales, de los sistemas con 8 carbonos en su cadena lateral es similar a lo observado en las estructuras con 16 carbonos en las cadenas laterales; únicamente varía la longitud de las cadenas laterales en cada uno de los sistemas.

A) B)

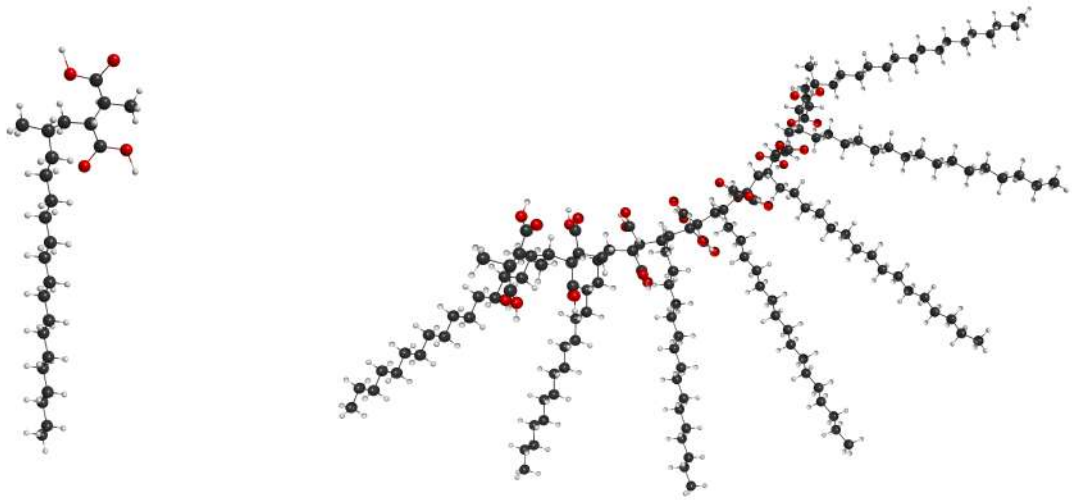

Figura 4. Geometrías optimizadas del A) monómero y B) heptámero. En la figura 2b) se observa que el polímero adquiere una conformación helicoidal.

En la parametrización del monómero y el heptámero fue necesaria la ejecución de cálculos *ab initio* y semiempiricos, como se explicó en la sección anterior. En el anexo 1 se encuentra un resumen del tiempo de cómputo de cada uno de estos cálculos.

6.2 RESULTADOS DE LA DINÁMICA MOLECULAR DEL HEPTÁMERO

Para cada uno de los sistemas en estudio se calculó la distancia entre extremos, el radio de giro y el RMSD. El RMSD permite saber si la etapa de equilibración fue exitosa o si es necesario incrementar el tiempo de la simulación para alcanzar el equilibrio. El radio de giro junto con la distancia entre extremos de la cadena principal, permite saber si el polímero adquiere una conformación aglomerada; es importante analizar estos dos indicadores conjuntamente porque en ocasiones el radio de giro disminuye por aglomeración de las cadenas laterales sin embargo, la cadena principal no exhibe flexibilidad.

Los resultados se reportan conjuntamente para los sistemas con cadenas laterales de 16 carbonos (PAM16) y los sistemas con cadenas laterales de 8 carbonos (PAM8). En la figura 5 se observa que la equilibración de los sistemas PAM16_O- y PAM16_OH es más rápida que la de los sistemas PAM16_O-_WB y PAM16_OH_WB; para los dos primeros sistemas a partir de los 3000 fs la variación en la conformación se aproxima a un valor constante. La equilibración de los sistemas PAM16 en disolvente requiere más tiempo que para estos sistemas en vacío, como se observa en la figura 5, aproximadamente a las 4000 fs la variación en la conformación del polímero comienza a tender a un valor constante para los sistemas PAM16_O-_WB y PAM16_OH_WB.

A diferencia de los sistemas PAM16, para los sistemas PAM8, la equilibración tanto en el vacío como en el disolvente se da antes de los 500 fs (figura 6). Al igual que para los sistemas PAM16, en los sistemas PAM8 la variación conformacional (diferencia entre la conformación final e inicial) es mayor en el vacío que en el disolvente (figura 5 y 6). En la figura 6 se observa que los sistemas en disolvente presentan mayores fluctuaciones en el RMSD que en el vacío, coincidiendo con lo observado en la figura 5.

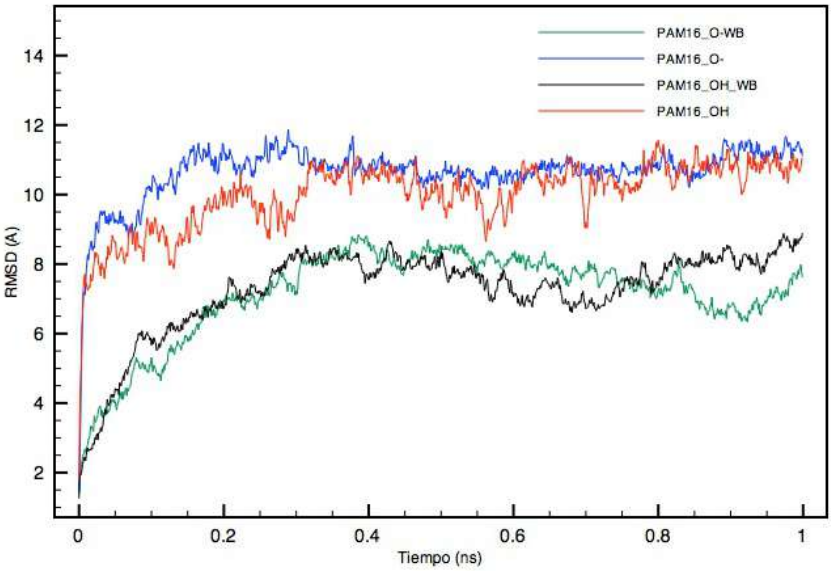

Figura 5. RMSD contra tiempo de simulación para los sistemas PAM16: esprotonados en disolvente (línea verde), desprotonados en vacío (línea azul), protonado en disolvente (línea negra), protonado en vacío (línea roja).

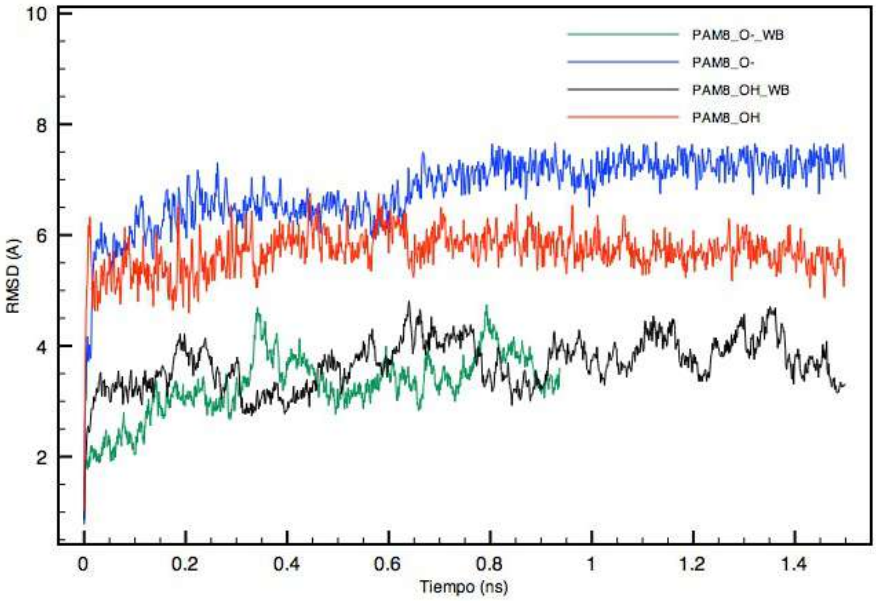

Figura 6. RMSD contra tiempo de simulación para los sistemas PAM8: desprotonado en disolvente (línea verde), desprotonado en vacío (línea azul), protonado en disolvente (línea negra), protonado en vacío (línea roja).

El radio de giro en los sistemas PAM16, protonados y desprotonados, en vacío disminuye aproximadamente 38% (fiigura 7), indicando la formación de microdominios heterogéneos en todo el rango de pH. Al considerar el solvente, se observa que el radio de giro disminuye tanto para los sistemas PAM16_OH_WB (azul) y PAM16_O-_WB (verde); sin embargo, para el primer sistema la disminución es aproximadamente del 31% mientras que, para el segundo es del 18%; indicando que la formación de microdominios se favorece cuando el sistema está protonado. Por otro lado, si se compara el sistema PAM16_O- con el sistema PAM16_O-_WB, y el PAM16_OH con el PAM16_OH_WB se observa que la disminución del radio de giro es mayor en el vacío que en solvente.

El radio de giro en los sistemas PAM8 en el vacío, disminuye aproximadamente 23%. Sin embargo, en agua, se observa que en el sistema protonado, PAM8_OH_WB, el radio de giro disminuye hasta un 15% mientras que, en el sistema PAM_O-_WB el radio de giro disminuye hasta un 7%. Lo anterior indica que en sistemas con disolvente la formación de dominios hidrofóbicos se favorece a un pH bajo, cuando el sistema se encuentra protonado; sin embargo, en sistemas en el vacío es necesario comparar los resultados del radio de giro con los resultados de la longitud entre extremos de la cadena principal, con el fin de conocer por qué el radio de giro disminuye cuando el sistema está protonado y desprotonado.

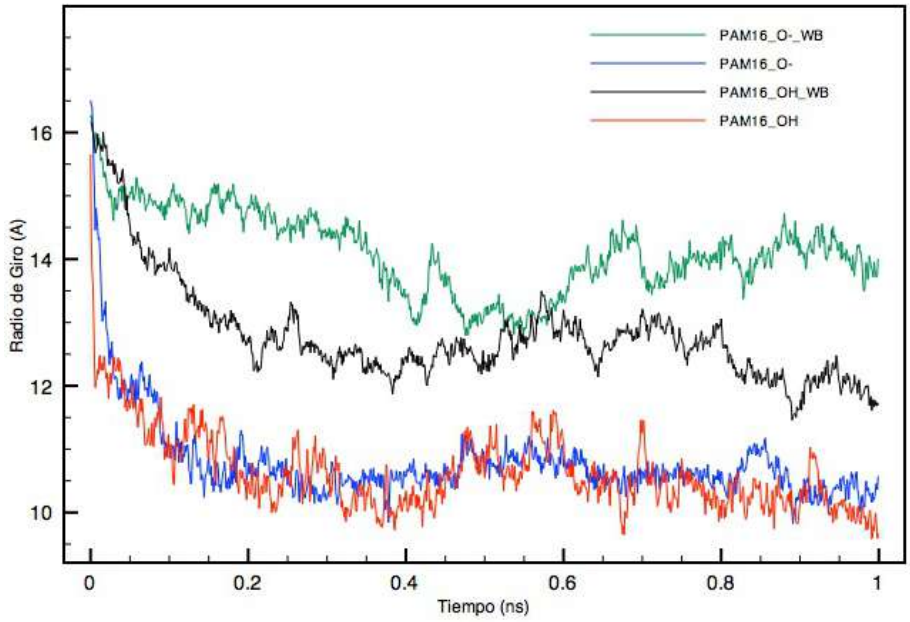

Figura 7. Radio de giro contra tiempo de simulación para los sistemas PAM16: desprotonado en disolvente (línea verde), desprotonado en vacío (línea azul), protonado en disolvente (línea negra), protonado en vacío (línea roja). El radio de giro en los sistemas simulados en vacío disminuye 38% mientras que, el radio de

giro en los sistemas simulados en agua disminuyen en un 31% (línea negra) y 18% (línea verde).

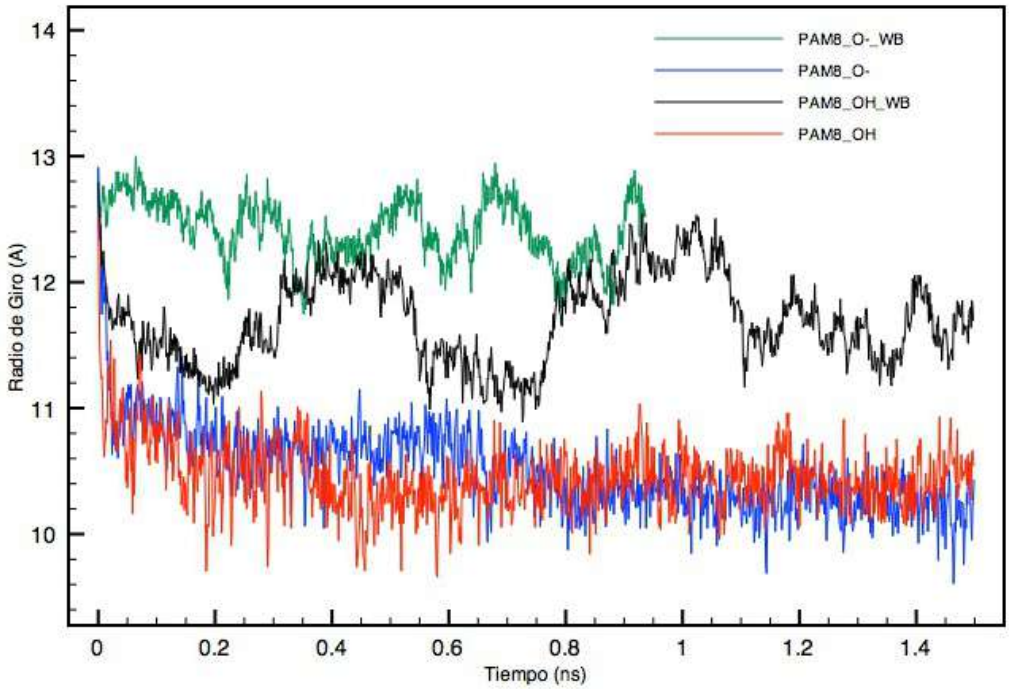

Figura 8. Radio de giro contra tiempo de simulación para los sistemas PAM8: desprotonado en disolvente (línea verde), desprotonado en vacío (línea azul), protonado en disolvente (línea negra), protonado en vacío (línea roja). El radio de giro en los sistemas simulados en vacío presenta un comportamiento similar, disminuyendo alrededor del 23% mientras que, el radio de giro de los sistemas simulados en disolvente varía con el grado de protonación. Cuando el sistema está protonado, el radio de giro disminuye un 15%, y cuando el sistema está desprotonado, el radio de giro disminuye un 7%.

La medida de la distancia entre extremos de la cadena principal indica el grado de flexibilidad de la misma. Cuánto más flexible, la probabilidad de la formación de microdominios heterogéneos incrementa. Asi mismo, esta medida ayuda a analizar si los microdominios hidrofóbicos son resultado de un cambio conformacional en la cadena principal, o de una agregación de las cadenas laterales. Se observa que la distancia entre extremos disminuye aproximadamente un 20% para el sistema PAM16_OH; esta disminución se da en los primeros 3000 fs (figura 9). Los sistemas PAM16_O- y PAM16_OH_WB no presentan variaciones mayores al 9%; a diferencia de los anteriores, el sistema PAM16_O-_WB presenta variaciones en la distancia entre extremos hasta del 16%. Lo anterior muestra que la flexibilidad de la cadena principal, cuando el el sistema está desprotonado, es

mayor en disolvente que en vacío. Adicionalmente, cuando el sistema está protonado, la flexibilidad es mayor en vacío que en solvente.

Para el sistema PAM8_OH (figura 10), la distancia entre extremos cambia aproximadamente 22%, exhibiendo un comportamiento similar al sistema PAM16_OH (figura 9). En la figura 10 se observa que el sistema PAM8_O-_WB tiene mayor flexibilidad en la cadena principal que el sistema PAM8_O-; el primero exhibe cambios 13%, mientras que el segundo hasta 8%, el mismo resultado se observó para PAM16_O- y PAM16_O-_WB. En la figura 10 se observa que el cambio en la distancia entre extremos de la cadena principal para el sistema PAM_OH_WB es menor al 6%.

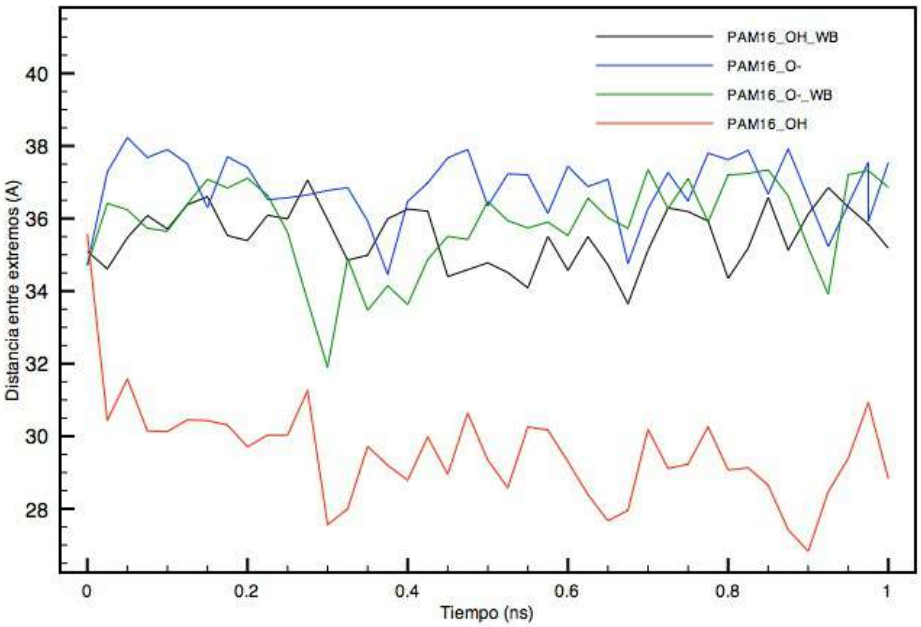

Figura 9. Distancia entre los extremos de la cadena principal contra el tiempo de simulación para los sistemas PAM16: desprotonado en disolvente (línea verde), desprotonado en vacío (línea azul), protonado en disolvente (línea negra), protonado en vacío (línea roja). El sistema PAM16_OH es el único que exhibe cambios significativos en la distancia extremo-extremo (20%).

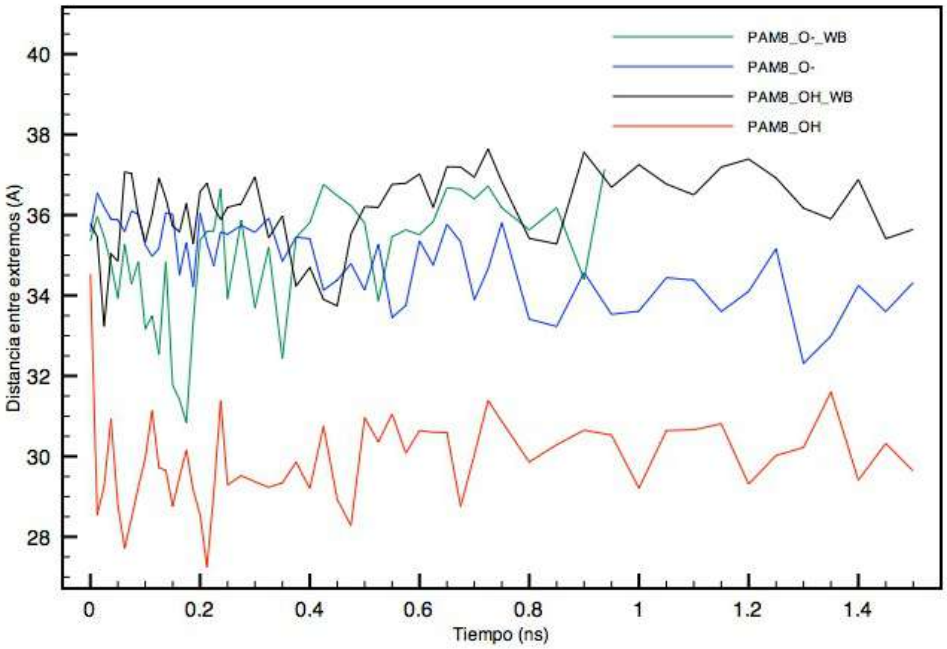

Figura 10. Distancia entre los extremos de la cadena principal contra el tiempo de simulación para los sistemas PAM16: desprotonado en disolvente (línea verde), desprotonado en vacío (línea azul), protonado en disolvente (línea negra), protonado en vacío (línea roja). El sistema PAM16_OH es el único que exhibe cambios significativos en la distancia extremo-extremo (22%).

Para completar la descripción de cada uno de los sistemas, se presentan imágenes tomadas de las simulaciones. Al comparar los sistemas PAM16_OH con el sistema PAM16_O-, se puede observar que la cadena principal del sistema protonado exhibe una mayor flexibilidad que la cadena principal del sistema no protonado (figura 11 y 12). Sin embargo, en los dos sistemas se observa la formación de dominios hidrofóbicos, la diferencia recae en la forma en que estos dominios se están formando.

Al comparar el sistema PAM8_OH con el sistema PAM8_O- (Figura 13 y 14) , se encuentra que en el sistema protonado la flexibilidad de la cadena es mayor. En el sistema desprotonado, 5 monómeros se encuentran totalmente fijos y se comienza a formar un dominio hidrofóbico al final de la cadena. En el sistema PAM8_OH se observa que la molécula se ovilla para acercar las cadenas laterales y favorecer la formación de microdominios. Los sistemas PAM16_O-_WB (Figura 15) y PAM16_OH_WB (Figura 16), presentan formación de microdominios. La cadena principal del segundo sistema es más flexible que la del primero. Adicionalmente, cuando el sistema está desprotonado se comienzan a formar dos dominios hidrofóbicos mientras que, cuando está protonado se favorece la formación de uno

solo. En los sistemas PAM8 (Figura 17 y 18), no se observa claramente la formación de dominios hidrofóbicos. La flexibilidad de la cadena principal es mayor cuando esta, se encuentra protonada.

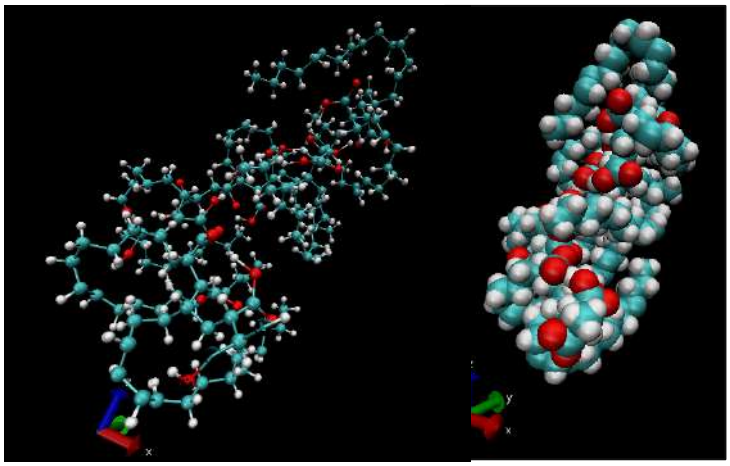

Figura 11. Representacion CPK y VDW [2] del sistema PAM16_OH en el marco de simulación 1800. Se observa que la cadena lateral toma una conformación aglomerada y se forman microdominios hidrofóbicos.

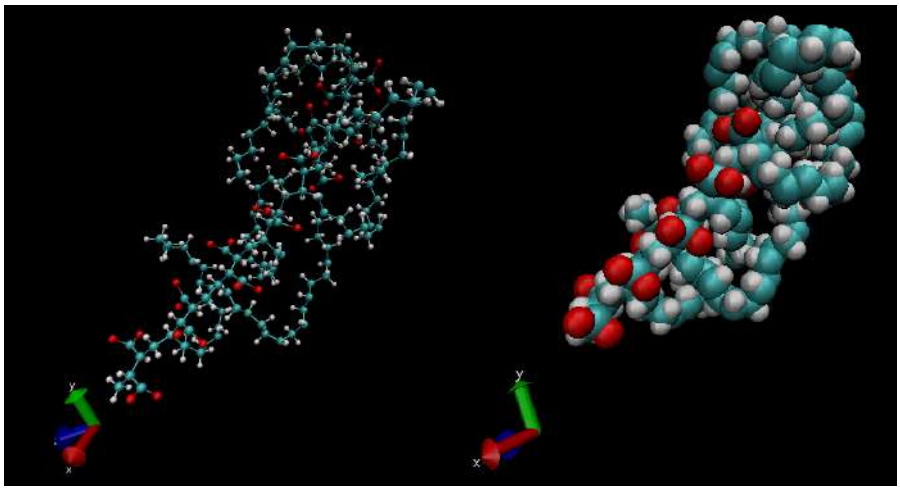

Figura 12. Representación CPK y VDW del sistema PAM16_O- en el marco de simulación 1800. A pesar que no se observa una conformación aglomerada en la cadena principal, sí se pueden ver dominios hidrofóbicos.

[2] CPK: modelo de relleno de superficies, donde se dibujan barras y esferas y los colores son propios de cada uno de los elementos. El radio y la distancia entre esferas es proporcional al radio atómico y distancias internucleares. VDW: en esta representación se muestra el radio de van der Waals de cada uno de los átomos.

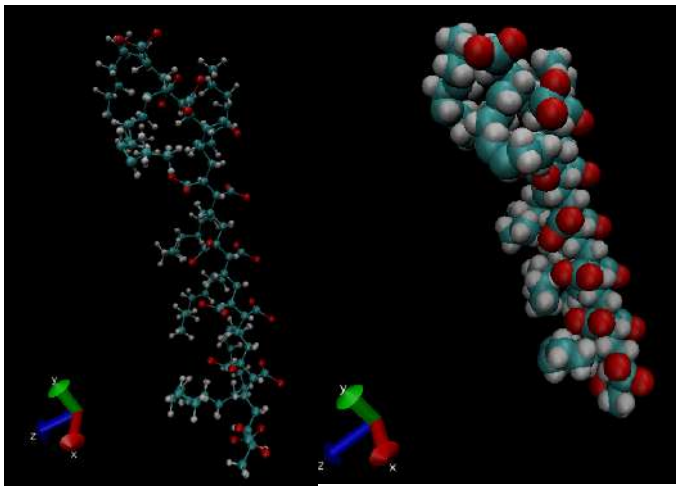

Figura 13 . Representación CPK y VDW del sistema PAM8_O-. No se observa formación de microdominios hidrofóbicos en la cadena principal.

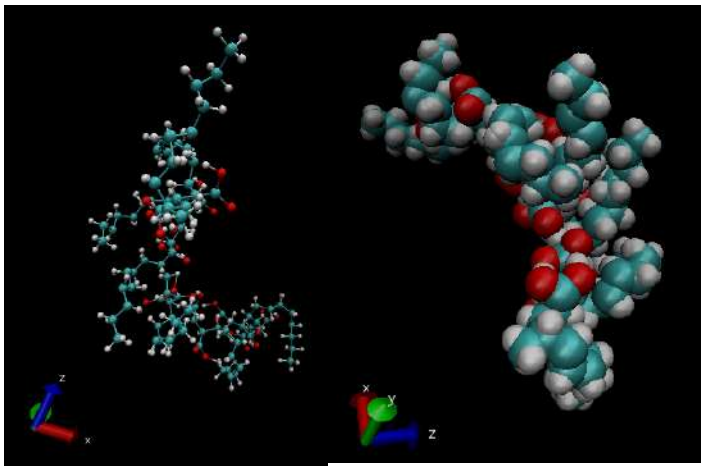

Figura 14. Representación CPK y VDW del sistema PAM8_OH. Se observan giros en la cadena principal, y un inicio de formación de microdominios hidrofóbicos.

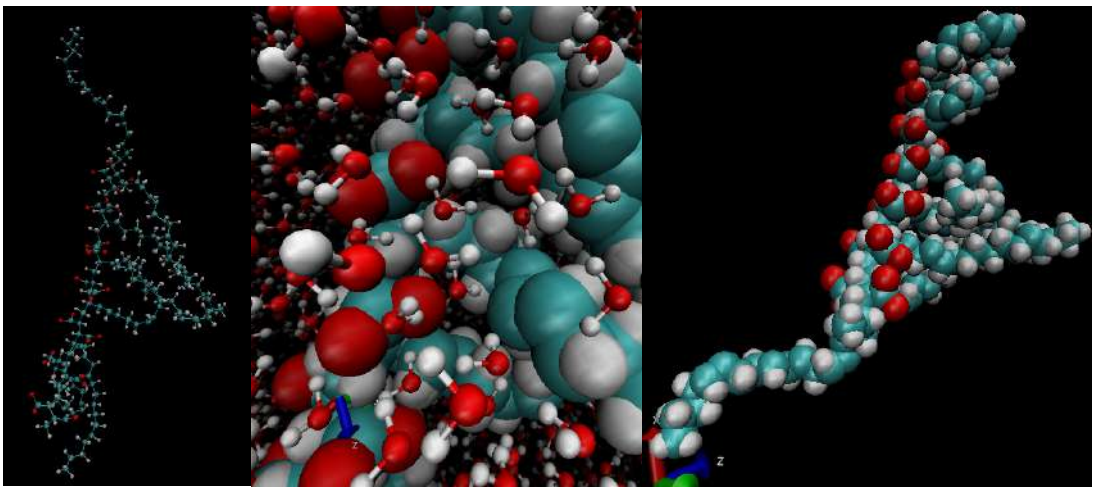

Figura 15. Representación CPK, VDW con agua y VDW del sistema PAM16_O-_WB. No se observan torsiones en la cadena principal, pero se puede ver la formación de nanofases.

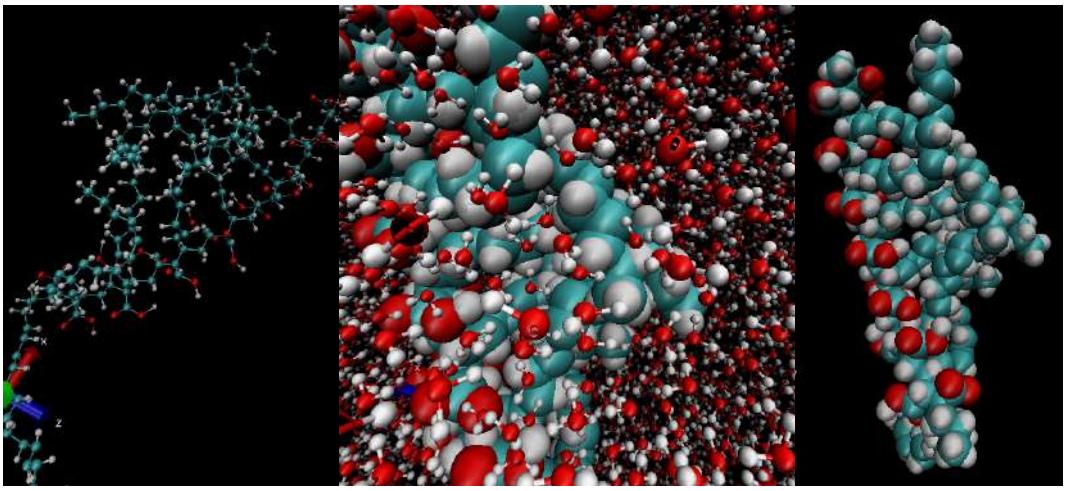

Figura 16. Representación CPK, polímero más agua y VDW del sistema PAM16_OH_WB. Se forma un microdominio hidrofóbico y la cadena principal monomérica no es totalmente recta.

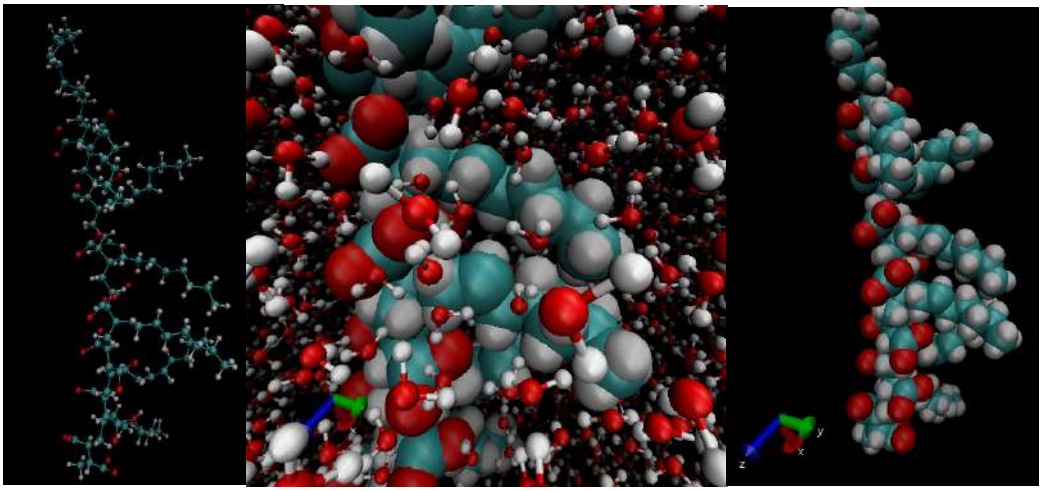

Figura 17. Representación CPK, polímero más agua y VDW del sistema PAM8_O-_WB. No se observa la formación de dominios hidrofóbcos a pesar que las cadenas laterales buscan aglomerarse entre ellas.

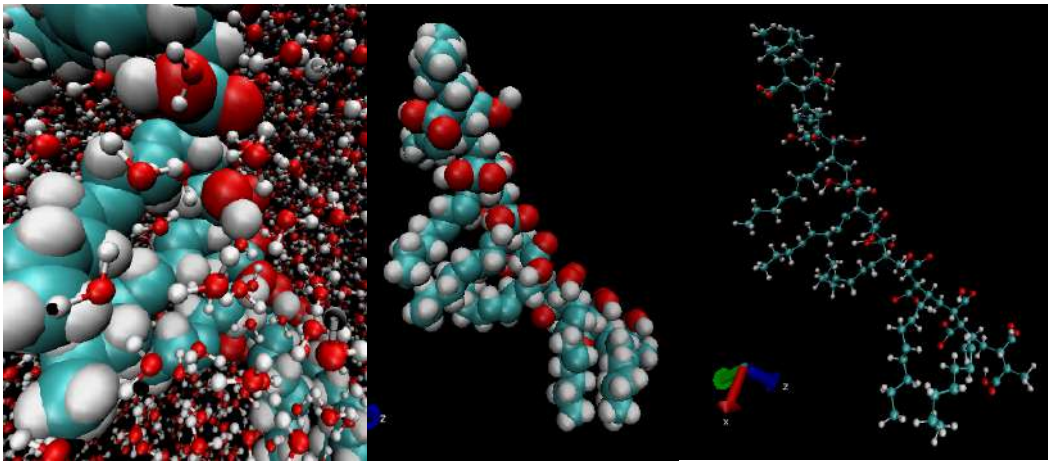

Figura 18. Representación CPK, polímero más agua y VDW del sistema PAM8_OH_WB. No se observa la formación de dominios hidrofóbcos a pesar que las cadenas laterales buscan aglomerarse entre ellas.

7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Al analizar los resultados en vacío para los sistemas con 8 carbonos en la cadena lateral: PAM8_O- y PAM8_OH; se observa que la formación de microdominios hidrofóbicos se favorece cuando el sistema está protonado. A pesar que en la figura 8 se muestra que en los dos sistemas se presenta una disminución similar del radio de giro, en la figura 8 se observa que la disminución de la distancia entre extremos de la cadena principal es mayor para el sistema protonado. Lo anterior indica que el sistema PAM8_OH presenta una mayor flexibilidad en su cadena principal, por tanto, se espera que se favorezca la formación de microdominios. En las figuras 13 y 14, se puede ver que en el sistema protonado se favorece la formación de microdominios. La disminución del radio de giro para el sistema desprotonado se debe a que en uno de los extremos la cadena principal presenta una desviación de la linealidad (figura 14), esto, lleva a formar un pequeño microdominio hidrofóbico.

A diferencia de los dos sistemas analizados anteriormente, en los sistemas PAM16_O- y PAM16_OH, se observa la formación de microdominios independiente del grado de protonación de la estructura. Por un lado, en los dos sistemas se presenta una disminución similar en el radio de giro. Por otro lado, a pesar que la figura 9 muestra una disminución mayor en la distancia extremo-extremo de la cadena polimérica para el sistema PAM16_OH, en las figura 11 y 12 se observan microdominios para el sistema desprotonado y protonado. La diferencia radica en que los microdominios en el sistema PAM16_O- se forman por aglomeración de las cadenas laterales y no exhibe un cambio conformacional significativo en la cadena principal.

Los sistemas compuestos por polielectrolitos presentan dos tipos de interacciones, excluyendo las interacciones con solvente: electrostáticas e hidrofóbicas. La conformación adquirida es un resultado entre el balance entre interacciones repulsivas y electrostáticas (Košovan, Kuldová, Limpouchová, Procházka, Zhulina, & Borisov, 2009) . En el caso de los sistemas PAM8 las interacciones hidrofóbicas son menores que en los sistemas PAM16 puesto que, las cadenas alifáticas presentan mayor longitud en estos últimos. Así, en los sistemas PAM16, las interacciones hidrofóbicas siempre van a tener peso sobre el balance; mientras que, en los sistemas PAM8, las interacciones hidrofóbicas se pueden contrarrestar fácilmente por la repulsión electrostática. Por un lado, en los sistemas PAM8 cuando la cadena principal está cargada, la repulsión electrostática es mayor que las interacciones hidrofóbicas, lo que explica una conformación extendida cuando el sistema está desprotonado; cuando las cargas se contrarrestan, las

interacciones hidrofobicas priman favoreciendo una conformación aglomerada cuando el sistema está protonado Por otro lado, en los sistemas PAM16 a pesar de que la cadena principal esté cargada, las interacciones hidrofóbicas tienen peso; esto explica el hecho que a pesar de que la cadena principal esté rígida, se formen microdominios.

En los sistemas PAM16_O-_WB y PAM16_OH_WB a pesar que el cambio en la longitud de extremo a extremo no es mayor al 13%, se presenta una disminución en el radio de giro (figura 7). Adicionalmente, en las figuras 15 y 16 se observa la formación de microdominios hidrofóbicos en cada uno de los casos. Por lo anterior, se afirma que aun considerando la interacción con disolvente se observa la formación de microdominios en todo el rango de protonación. Para el sistema PAM8_O-_WB tanto el radio de giro como la distancia extremo a extremo no presentan variación significativa en el tiempo, por lo tanto, no se favorece la formación de microdominios heterogéneos. Por el contrario, el sistema PAM8_OH_WB a pesar de no presentar variaciones en la distancia extremo-extremo, presenta variaciones en el radio de giro en un 17%, como se observa en las figuras 8 y 10. Es importante aclarar, que a pesar de presentar variaciones, el radio de giro del sistema PAM8_OH_WB no tiende a un valor constante. Al revisar las figuras 17 y 18, sumado con la información anterior, se puede inferir que la formación de microdominios no se ve favorecida en disolvente para los sistemas PAM8.

En los sistemas PAM16 y PAM8 desprotonados simulados en el vacío (PAM16_O-_* y PAM8_O-_*), la movilidad de la cadena lateral es mayor en disolvente que en el vacío, como se muestra en las figuras 9 y 10. La fuerza de la interacción electrostática se controla por el valor de la longitud de Bjerrum $I_B = e^2/\varepsilon k_B T$, definidido como la longitud en la cual la interacción de Coulomb entre dos cargas *e*, en un medio dieléctrico con una constante dieléctrica **ε** es igual a la energía térmica (Dobrynin A. , 2008). La permitividad relativa del vacío es 1.0 y la del agua es de 80.4, por lo tanto, se espera que la interacción electrostática sea menor en el agua que en el vacío, lo cual explica por qué la flexibilidad de las cadenas principales tanto para sistemas PAM8 como PAM16 desprotonados, es mayor en disolvente que en vacío. Adicionalmente, en agua hay solvatación, lo cual disminuye la repulsión electrostática. A pesar que la cadena principal tiene mayor movilidad, en los sistemas PAM8_O-_WB no se observa la formación de microdominios, puesto que la interacción hirofóbica no es muy alta y existe repulsión electrostática en la cadena principal.

En los sistemas PAM16 y PAM8 protonados (PAM16_OH_* y PAM8_OH_*), se observa que el cambio en el radio de giro y en la distancia extremo-extremo es menor cuando están en disolvente que cuando se encuentran en vacío. En

disolvente los ácidos carboxílicos forman puentes de hidrógeno con el agua, este tipo de interacción intermolecular causa que las interacciones hidrofóbicas inter cadena no induzcan fácilmente la aglomeración de la cadena principal; en el vacío la distancia que existe entre los ácidos carboxílicos no es suficiente para la formación de puentes de hidrógeno, por tanto, las interacciones hidrofóbicas compiten únicamente con la repulsión electrostática y no con la formación de puentes de hidrógeno, favoreciendo la formación de microfases heterogéneas.

A pesar que la movilidad de la cadena lateral es mayor en el sistema PAM16_O-_WB que en el sistema PAM16_O-, el radio de giro disminuye en un 18% para el sistema en agua y un 31% para el sistema en vacío. Esta diferencia se explica teniendo en cuenta el efecto hidrófobo del heptámero. Este último punto se analiza a continuación.

Experimentalmente se ha encontrado que los PAM-nK_2 forman entornos hidrófobos en agua de tipo intramolecular, en lugar de microentornos intermoleculares. La hidrofobicidad incrementa directamente con la longitud de la cadena monomérica. A su vez, los microdominios formados por polectrolitos con cadenas laterales de mayor longitud (PAM-14K_2, PAM-16K_2 y PAM-18K_2) son estables en todo el rango de pH. Contrario a esto, en los copolimeros con cadenas laterales más cortas, PAM-8K_2, PAM-10K_2 y PAM-12K_2, se observa una transición inducida por el incremento del pH haciendo que las cadenas poliméricas pasen de una conformación aglomerada a menos aglomerada, es decir, se pasa de una conformación al azar compacta a una conformación más flexible (Salamanca Mejía, 2007). Los resultados obtenidos en vacío concuerdan con los resultados experimentales, no obstante, cuando se considera el solvente, la coincidencia entre los dos resultados es menor: en el sistema PAM8_OH_WB no se observa la formación de microfases, y en los sistemas PAM16_*_WB los microdominios se forman por agregación de cadenas laterales y no por una conformación aglomerada. Como se mencionó anteriormente, adquirir una conformación aglomerada en los sistemas de estudio en disolvente es más complicado que en vacío debido a la existencia de puentes de hidrógeno. Si el número de monómeros se incrementa, las interacciones hidrofóbicas serán suficientes para favorecer conformaciones aglomeradas.

Asimismo, bajo condiciones de disolvente se da una competencia entre las interacciones atractivas dadas por la baja solubilidad de la estructura y la repulsión electrostática entre las cargas (Limbach & Holm, 2003). En los sistemas estudiados el número de monómeros considerados no permite que la solubilidad sea muy baja, por tanto, las interacciones atractivas no serán muy altas. Probablemente, si se incrementa el número de monómeros, la solubilidad será menor, por tanto las interacciones atractivas serán mayores favoreciendo una

conformación aglomerada. Por otro lado, cuando el soluto no polar es voluminoso, los enlaces de hidrógeno de las moléculas de agua se reorientan, y se forma una especie de caja alrededor de las cadenas apolares, como resultado las moléculas de agua alrededor de las superficies hidrofóbicas tienen movilidad limitada; así, hay una pérdida significativa en la entropía translacional y rotacional del agua, haciendo que el proceso sea desfavorable en términos de energía libre (Tanford, 1980); en consecuencia, cuando el tamaño y número de cadenas laterales aumenta, la formación de microentornos hidrofóbicos se favorece termodinámicamente para producir un aumento entrópico, este fenómeno se conoce como el efecto hidrofóbico. En los sistemas PAM8, la interrupción en la dinámica de los enlaces de hidrógeno entre moléculas de agua no es muy alta, por tanto, la pérdida de movilidad por parte de las moléculas de disolvente tampoco lo es, así, la disminución en la entropía no es significativa; lo que explica que no se favorezca la formación de microdominios en disolvente de los sistemas PAM8. Por otro lado, en los sistema PAM16, las longitudes laterales son mayores, por eso se observa la formación de microdominios por agregación de cadenas sin necesidad de que la cadena lateral sea flexible; sin embargo, la longitud de las cadenas laterales en los sistemas PAM16 facilita la formación de microdominios sin necesidad de un cambio en la cadena principal; seguramente, cuando el número de monómeros a estudiar sea mayor, se hará necesario un cambio conformacional en la cadena principal para favorecer la formación de los microdominios. Como resultado de lo anterior, es recomendable trabajar con modelos de más de 7 monómeros.

Los sistemas estudiados aportan a los objetivos general y específicos del proyecto ya que se observaron las diferencias conformacionales que se dan como resultado de la longitud de la cadena lateral y el pH (grado de protonación alto equivale a valores bajos de pH y un grado de protonación bajo equivale a valores altos de pH). Con el fin de obtener una descripción más precisa del sistema es necesario incrementar la longitud de la cadena monomérica, y ver cómo influye la variación de la misma en los cambios conformacionales.

8. CONCLUSIONES

La adaptación de los programas VMD/NAMD para la simulación de polímeros, diferentes a proteínas, fue exitosa. Se realizó una parametrización adecuada del sistema lo cual permitió analizar propiedades fisicoquímicas del mismo. Los resultados de los sistemas simulados en vacío: PAM8_O-, PAM8_OH, PAM16_O- y PAM16_OH coinciden con los resultados reportados experimentalmente. En sistemas con cadenas laterales de 16 carbonos, se favorece la formación de dominios hidrofóbicos en todo el rango del pH (es decir en todos los grados de protonación); la formación de estos dominios varía dependiendo de la movilidad de la cadena principal, cuando el sistema se encuentra desprotonado, PAM16:O-, la formación se debe especialmente a agregaciones inter cadena y cuando el sistema está protonado, se presenta aglomeración inter-cadena así como flexión en la cadena polimérica principal. En los sistemas con cadenas laterales de 8 carbonos, hay una transición conformacional dependiente de pH, haciendo que se pase de una conformación aglomerada a una extendida; los resultados muestran que los sistemas PAM8 exhiben una conformación más aglomerada cuando el sistema está protonado, y extendida cuando está desprotonado.

Al considerar los efectos del solvente, se encuentran diferencias entre los resultados experimentales y los computacionales. Por un lado, se predice que la formación de microfases se favorece en todo el rango de pH para los sistemas PAM16; no obstante, se observa que al considerar el solvente, la repulsión electrostática disminuye, por tanto se favorece la formación de microdominios debido a la mayor movilidad de la cadena principal sin embargo, el número de monómeros en el sistema de estudio es muy bajo para observar claramente la formación de esos microdominios, observando únicamente los que son resultado de la agregación intercadena. En el caso de los sistemas PAM8 no se observa claramente la formación de microdominios cuando el sistema está protonado, debido a la formación de enlaces de hidrógeno, y al tamaño de las cadenas laterales que no permite que el efecto hidrófobo sea significativo.

9. RECOMENDACIONES

Para el análisis de resultados se recomienda cuantificar la morfología del polímero mediante el factor η , el cual se define como la razón entre el cuadrado medio de la distancia extremo-extremo y el cuadrado medio del radio de giro (Hsiao, 2006). Esta nueva forma de cuantificación simplifica el análisis.

Es necesario aumentar el número de monómeros a considerar. Para un nivel atomístico sería adecuado considerar hasta 20 monómeros, debido al tiempo de cómputo requerido para cada cálculo. Se puede implementar un modelo coarse-grained y así, considerar un mayor número de monómeros, obteniendo una descripción más precisa del sistema. Por último, el número de monómeros se puede incorporar como una variable dentro de los experimentos.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A, d., & M, R. (2005). Theory of polyelectrolytes in solutions and at surfaces. *Progress in Polymer Science* , 1049-1118.

Adams, M., Lavasanifar, A., & Kwon, G. (2003). Amphiphilic block copolymers fro drug delivery. *Journal of pharmaceutical sciences* , 1343-55.

Allouche, A.-R. (2010). Gabedit-A graphical user interface for computational chemistry softwares. *Journal of Computational Chemistry* .

Borca, C. H. (2012). *Report on Molecular Modelling of Water Absorbent Nanoscale Materials.* Universidad Icesi, Departamento de Química. Cali: En preparación.

Chang, R., & Yethiraj, A. (2006). Dilute solutions of strongly charged flexible polyelectrolyres in poor solvents: molecular dynamics simulations with explicit solvent. *Macromolecules* , 821-8.

Discher, D., & Eisenberg, A. (2002). Polymer vesicles . *Science* , 967-73.

Dmitry G, S., Dmitry a, G., & Helmuth, M. (2006). Ultrasonically induced opening of polyelectrolyte microcontainers. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids* , 7400-7404.

Dobrynin, A. (2008). Theory and Simulations of charged polymers: From solution properties to polymeric nanomaterials. *Current Opinion y Colloid and Interface Science* , 376-388.

Dobrynin, A., & Jeon, J. (2007). Necklace globule and counterion condensation. *Macromolecules* , 1920-38.

Dobrynin, A., & Rubinstein, M. (2005). Theory of polyelectrolytes in solutions and at surfaces. . *Progress in polymer science* , 1049-118.

Frenkel, D., & Smit, B. (1996). *Understanding Molecular Simulation.* Amsterdam: Academic Press.

Gumbart, J., & Mayne, C. (2012). *Manuscript in preparation. .*

Hsiao, P.-Y. (2006). Chain Morphology, Swelling Exponent, Persistence Length, Like-Charge Attraction, and Charge Distribution around a Chain in Polyelectrolyte Solutions: Effects of Salt Concentration and Ion Size Studied by Molecular Dynamics Simulations . *Macromolecules* , 7125-7137.

Jeon, J., & Dobrynin, A. (2006). Molecular Dynamics simulations of polyelectrolyte-polyampholyte complexes. Effect of dolvent quality and salt concentration. *Journal of Physical Chemistry B* , 24652-65.

Jeon, J., Pachagnula, V., Pan, J., & Dobrynin, A. (2006). Molecular dynamics simulations of multilayer films of polyelectrolytes and nanoparticles. *Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids.* , 1629-37.

Kabanov, A., Batrakova, E., & Miller, D. (2003). Pluronic block copolymers as modulators of drug efflux transporter activity in the blood-brain barrier. *Advanced drug delivery reviews* , 151-64.

Klos, J., & Pakula, T. (2005). Computer simulations of a polyelectrolyte chain with a mixture of multivalent salts. *Journal of Physics: Condensed matter* , 5635-45.

Klos, J., & Paula, T. (2005). Monte Carlo simulations of a polyelectrolyte chain with added salt: effect of temperature and salt valence. *Journal of Chemical Physics* , 134908.

Košovan, P., Kuldová, J., Limpouchová, Z., Procházka, K., Zhulina, E., & Borisov, O. (2009). Amphiphilic Graft Copolymers in Selective Solvents: Molecular Dynamics Simulations and Scaling Theory. *Macromolecules* , 6748-6760.

Leach, A. R. (2001). *Molecular Modelling: Principles and Applications.* Gran bretaña: Prentice Hall.

Lewars, E. (2011). *Computational Chemistry: Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanis.* (Segunda ed.). Springer.

Li, Y., & Dubin, P. (1994). Polymer-Surfactant Complexes. *Structure and Flow in Surfactant Solutions* , 320-336.

Liao, Q., Dobrynin, A., & Rubinstein, M. (2006). Counterion-corelation-induced attraction and necklce formation in polyelectrolyte solutions:theory and simulations. . *Macromolecules* , 1920-38.

Liao, Q., Dovrynin, A., & Rubinstein, M. (2003). Molecular Dynamics Simulation of Polyectrolyte Solutions: Nonuniform Stretching of Chains and Scaling behavior. *Macromolecules* , 3386-3398.

Limbach, H., & Holm, C. (2002). Conformational properties of poor solvent . *Computers Physics Communications* , 321-4.

Limbach, H., & Holm, C. (2003). Single-chain Properties of Polyelectrolytes in Poor Solvent. *Journal of Physical Chemistry* , 8041-8055.

Limbach, H., Holm, C., & Kremer, K. (2004). Conformation and soution structure of polyelectrolytes in poor solvent. *Macromolecules* , 43-53.

Limbach, H., Holm, C., & Kremer, K. (2002). Structure of polyelectrolytes in poor solvent. *Europhysics Letters* , 566-72.

Lin, Y., Liao, Q., & Jin, X. (2007). Molecular dynamics simulations of dendritic polyelectrolytes with flexible spacers in salt free solution. *The journal of physical chemistry* , 5819-28.

Lindman, B., & Thalberg, K. (1993). Polymer-surfactant interactions - Recent Developmets". En E. Goddard, *Interactions of Surfactants with Polymers and Proteins.* Boca Raton: CRC Press.

Lukyanov, A., & Torchilin, V. (2004). Micelles from lipid derivatives of water-soluble polymers as delivery systems for poorly soluble drugs. *Advanced drug delivery reviews* , 1273-89.

NAMD. (02 de Mayo de 2012). *THEORETICAL and COMPUTATIONAL BIOPHYSICS GROUP.* Recuperado el 03 de Mayo de 2012, de NIH resource for macromolecular modelling and bioinformatics. University of Illinois at Urbana-Champaign: http://www.ks.uiuc.edu/Research/namd/

Olea, A., Acevedo, B., & Martinez, F. (1999). Effect of Hydrophobic Bonding on the Conformational Transition and Properties of Intramolecular Micelles Formed by Copolymers of Maleic Acid and Styrene. *Journal of Physical Chemistry* , 9306-9313.

Phillips, J., Braun, R., Wang, W., Gumbart, J., Tajkhorshid, E., Villa , E., y otros. (2005). Scalable molecular dynamic with NAMD. *Journal of Computational Chemistry* , 1781-1802.

Phillips, J., Villa , E., Yu, H., Tanner , D., Liu, Y., Sotomayor, M., y otros. (Febrero de 2012). NAMD Tutoria. Windows Version. Urbana-Champaign, Ilinois, Estados Unidos.

Pillai, O., & Pachagnula, R. (2001). Polymers in drug delivery. *Current Opinion in Chemical Biology* , 447-451.

Salamanca Mejía, C. (2007). Estudio de propiedades fisicoquímicas de polielectrólitos aniónicos en solución como potenciales reservorios de sustratos farmacológicos. . *Tésis Doctoral* . Santiago, Chile: Universidad de Chile.

Schanze, K., & Shelton, A. (1009). Functional polyelectrolytes. *Langmuir* , 13698-702.

Schimdt, M., Baldrige, K., Boatz, J., Elbert, S., Gordon, M., Jensen, J., y otros. (1993). GAMESS Version 21 Nov. 1995. *Journal of Computational Chemistry* , 1347-1363.

Somasundaran, P., & Lee, L. (1981). Polymer-surfactant interactions in Flotation of Quartz. *Separation Science and Technology* , 1475-1490.

Somasundaran, P., & Purohit, P. (2011). Polymer/surfactant interactions and nanostructures: current development for cleansing, release, and deposition of actives. *Journal of cosmetic science* , 251-8.

Straub, J., Chickering, D., Lovely, J., Zhang, H., Shah, B., Waud, W., y otros. (2005). Intravenous Hydrophobic Drug Delivery: A Porous Particle Formulation of Paclitaxel (AI-850). *Pharmaceutical Research* , 347-355.

Tanford, C. (1980). *THE HYDROPHOBI EFFECT:Formation of micelles and biological membranes.* New York: John Wiley & Sons.

Teng, X., Shchukin, D., & Möhwald, H. (2008). A novel drug carrier: lipophilic drug-loaded polyglutamate/polyelectrolyte nanocontainers. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids* , 383-9.

Theory and simulations of charged polymers: From solution properties to polymeric materials. (2008). *Current Opinion in Colloid & Interface science* , 376-388.

Ulrich, S., Laguecir, A., & Stoll, S. (2005). Titration of hydrophoic polyelectrolytes using Monte Carlos simulations. *Journal of Chemical Physics* .

Vanommeslaeghe, K., Hatcher, E., Acharya, C., Kundu, S., Zhong, S., Shim, J., y otros. (2009). CHARMM general force field: A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields. *Journal of Computational Chemistry* .

Wang, P., Frazier, J., & Brem, H. (2002). Local drug delivery to the brain. *Advanced drug delivery reviews* , 987-1013.

Wischke, C., & Scwendeman, S. (2008). Principles of encapsulating hydrophobic drugs in PLA/PLGA microparticles. *International journal of pharmaceutics* , 298-327.

Zherenkova, L., Komarov, P., & Khalatur, P. (2006). Effective intramolecular interactions in weakly charged polyelectrolytes: Relation to structural behavior of solution. *Polymer Science Series A* , 859-869.

7. ANEXOS

7.1 Tiempos de cálculo

Tabla 3. Tiempos de cómputo por CPU para cada uno de los cálculos llevada a cabo durante la parametrización tanto del monómero como del heptámero.

Cálculo	Tiempo de cómputo por CPU
Optimización geometría monómero	1 h 20 min 1.3 seg
Cálculo de interacción con agua	2 h 35 min -7 h 18 min
Cálculos SPE monómero	7 min 37.2 seg
Cálculo SPE agua	0.8 seg
Cálculo del hessiano	5 h 55 min 15.8 seg
Cálculo ángulos diedros	1 h 15 min - 2 h 59 min
Optimización geometría heptámero (AM1)	21 h 39 min 47.7 seg
Optimización geometría heptámero (RHF)	3 días 6 h 7 min 9.0 seg