



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES

ESTUDIO DEL COMPORTAMIENTO DEL FÁRMACO METOTREXATO EN PRESENCIA DE AGUA Y
DIMETIL SULFÓXIDO: UN ENFOQUE CON DINÁMICA MOLECULAR

TESIS QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES

PRESENTA
FIS. ITZEL ILEANA JULIO BORJA

TUTOR
DR. HÉCTOR DOMÍNGUEZ CASTRO
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES

COMITÉ TUTOR
DRA. PATRICIA GUADARRAMA ACOSTA
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN MATERIALES
DRA. MARGARITA RIVERA HERNÁNDEZ
INSTITUTO DE FÍSICA

MÉXICO D.F. JUNIO 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Índice general

1. Introducción	1
1. Conceptos generales	1
1.1. Macromoléculas	2
1.1.1. Macromoléculas empleadas como vehículos	2
1.2. Fármacos en terapias contra el cáncer	4
1.2.1. Metotrexato	4
1.3. Formación de conjugados fármaco-vehículo	6
2. Principios de simulación computacional	9
2.1. Dinámica molecular	10
2.1.1. Algoritmos de integración	10
2.1.2. Condiciones iniciales	12
2.1.3. Condiciones periódicas de frontera	13
2.1.4. Truncamiento del potencial	14
2.2. Termostato de Berendsen	15
2.3. Barostato de Berendsen	16
3. Potenciales de interacción	17
3.1. Potenciales intramoleculares	18
3.1.1. Potencial de enlace	18
3.1.2. Restricciones para la distancia	18
3.1.3. Potencial de ángulo	19
3.1.4. Potencial de ángulos dihedrales	19
3.2. Potenciales intermoleculares	20
3.2.1. Potencial de Lennard-Jones (LJ)	21
3.2.2. Potencial de Coulomb	21

ÍNDICE GENERAL

4. Campos de fuerzas	25
4.1. Campo de fuerzas para la molécula de agua	25
4.2. Campo de fuerzas para la molécula de DMSO	26
4.3. Potenciales de interacción para el metotrexato	28
4.4. Parámetros para el campo de fuerzas del metotrexato	30
4.4.1. Parámetros para los potenciales de enlace	30
4.4.2. Parámetros para los potenciales de ángulo	30
4.4.3. Parámetros para los potenciales de ángulos dihedrales	31
4.4.4. Parámetros para el potencial de Lennard-Jones	32
4.4.5. Cargas para el potencial de Coulomb	33
4.4.6. DLPOLY2	35
5. Resultados	37
5.1. Perfil de densidad	43
5.2. Función de distribución radial de pares	55
5.3. Coeficientes de difusión	64
6. Conclusiones	69

Agradecimientos

A Mamá por enseñarme a ser quien soy
a Papá por ser un buen papá.

Al Dr.Héctor Domínguez por la paciencia.

A mis amigos por las burlas, los ratos
y ser como son Endy, Denisse, Gus y Abuelo.
Gracias

”Su ausencia era para mí todavía un espejismo, un silencio a gritos que aún
no había aprendido a acallar con palabras”. Para ti Lupe

Carlos Ruíz Zafón

Resumen

Las terapias modernas enfocadas al tratamiento de enfermedades degenerativas se encuentran enmarcadas en un nuevo concepto denominado *terapias dirigidas*, en las cuales se emplean macromoléculas como vehículos para transportar los fármacos dentro del torrente sanguíneo. Una característica muy importante de este tipo de macromoléculas es la capacidad de reconocimiento hacia las células patógenas, así mismo, una gran ventaja de esta nueva terapia es el hecho de que la toxicidad debido al mismo fármaco dentro del organismo humano disminuye notablemente. Un enfoque que se le está dando a esta nueva terapia es su estudio mediante simulaciones computacionales con dinámica molecular, la cual permite conocer la dinámica de los fármacos y de las macromoléculas empleadas como vehículos.

Conocer la dinámica de los fármacos en solventes similares a los fisiológicos es importante, y para ello utilizamos una herramienta conocida como campos de fuerza; ya que estos campos de fuerza describen las interacciones entre los átomos que conforman la molécula y las interacciones entre la molécula con otras moléculas. Por lo que, pueden describir adecuadamente el comportamiento de los fármacos en ambientes fisiológicos.

En el presente trabajo se estudia la dinámica del fármaco metotrexato, ya que este fármaco se emplea en el tratamiento de artritis reumatoide, carcinomas de cuello y cabeza, leucemia, etc. La dinámica del metotrexato se estudió mediante la construcción del campo de fuerzas propuesto en esta tesis, el cual trata a esta molécula como una sola estructura rígida constituida por 51 átomos. Este campo de fuerzas utiliza enlaces angulares, enlaces dihedrales, enlaces van der Waals y mantiene fijas las distancias entre los átomos.

Para establecer las bases que nos permitan el estudio del sistema planteado, en el capítulo 2 se introducen los aspectos generales de la terapia dirigida, así como una breve descripción de las macromoléculas empleadas como vehículos y también se habla de los fármacos, en particular nos referimos al metotrexato. En el capítulo 3 se establecen conceptos básicos referentes a las simulaciones computacionales y se estudia el método que emplea la dinámica molecular para describir la dinámica de todo el sistema. En el capítulo 4 se describen matemáticamente los potenciales de interacción tanto potenciales intermoleculares (de largo y corto alcance) como intramoleculares. En el capítulo 5 se presentan los campos de fuerza empleados para simular los dos solventes estudiados en este trabajo (agua y DMSO) y reportados en otros trabajos, así mismo se presenta el campo aquí propuesto para el metotrexato.

Finalmente en el capítulo 6 se presentan los resultados obtenidos para nuestro campo de fuerzas cuyo resultado más significativo es mostrar la solubilidad del metotrexato en dimetil sulfóxido mientras que no lo es en agua, ésta es una de las predicciones experimentales más relevantes de la tesis. En el capítulo 7 se presentan las conclusiones.

ÍNDICE GENERAL

Capítulo 1

Conceptos generales

Una de las principales preocupaciones de la medicina moderna es el poder lograr una mayor esperanza de vida unida a una calidad de vida óptima. Enfermedades terminales degenerativas como la diabetes, el cáncer, el VIH nos recuerdan que aún hay mucho trabajo por hacer. Ya que si bien, se cuenta con tratamientos médicos para estas enfermedades también es cierto que estos no son curativos y en algunos casos son hasta agresivos para el paciente.

Con base en lo anterior, actualmente se están desarrollando nuevas terapias enfocadas en el empleo de medicamento eficiente, y lo que se busca con medicamento eficiente es aquel fármaco capaz de aniquilar únicamente a las células patógenas. La técnica utilizada para lograr este fin es la llamada **terapia dirigida**.

La terapia dirigida consiste en utilizar macromoléculas (Fig.1.1) como vehículos para el transporte de medicamento en el cuerpo humano [1, 2], además estas macromoléculas pueden ser capaces de reconocer a las células patógenas [3].

Una de las ventajas del conjugado “vehículo-fármaco” es que este disminuye la cantidad de droga en el metabolismo y reduce la toxicidad en el sistema, a su vez mantiene en un rango óptimo los niveles de fármaco dentro del torrente sanguíneo con lo que se reducen daños colaterales propios de las terapias convencionales [4]. Por otro lado estos complejos son capaces de estimular al sistema inmune para la destrucción de células enfermas.

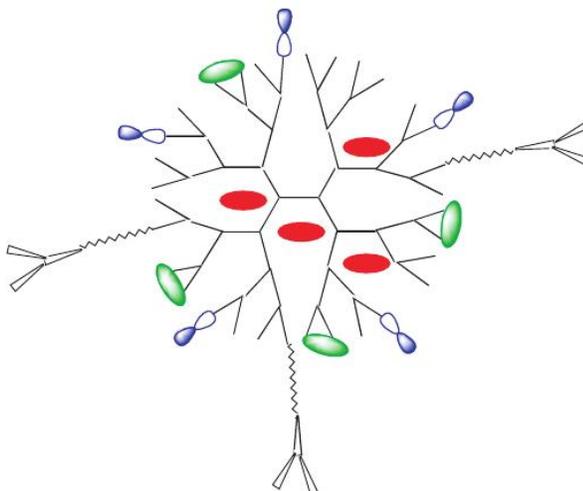


Figura 1.1: Esquema de un vehículo-fármaco multifuncional, donde las líneas en zigzag son partes flexibles de la molécula que permite conexiones, las formas ovaladas rojas son moléculas capaces de emitir luz debido a reacciones biológicas, las formas azules son fármacos y las verdes son sensores de la muerte celular (Adaptada de [4]).

1.1. Macromoléculas

En la terapia dirigida no sólo el vehículo es una macromolécula, el fármaco en si mismo también lo es. Una de las ventajas de las macromoléculas empleadas en la terapia dirigida es que pueden ser sintetizadas en un laboratorio por lo que éstas son adaptadas a las necesidades que se nos presenten.

Entre las características que deben poseer las macromoléculas en la terapia dirigida cabe mencionar que sus tamaños y diseños deben ser semejantes a las de las biomoléculas (Fig.1.2) ya que con estas propiedades son capaces de interactuar con una gran variedad de las mismas.

1.1.1. Macromoléculas empleadas como vehículos

Según las estructuras de las macromoléculas, éstas pueden dividirse en dos tipos, las lineales y las ramificadas. En la experimentación son mucho más utilizadas las estructuras ramificadas [6] ya que en la naturaleza estas estructuras son utilizadas para realizar funciones que necesitan ser potencializadas. Por ejemplo, el sistema nervioso central y el cerebro consisten en una gran cantidad de células con estructuras dendríticas cuya finalidad es

obtener el mayor intercambio posible de material e información provenientes del cuerpo [5].

La razón por la cual las estructuras ramificadas son mucho más estudiadas que cualquier otro vehículo está sustentada en la propiedad de que un tipo específico de ellas (los dendrímeros, de los cuales se hablará más adelante) poseen estructuras globulares bastante parecidas a las de varias biomoléculas (Fig.1.2), además son muy eficaces al momento de crear enlaces estables con los fármacos.

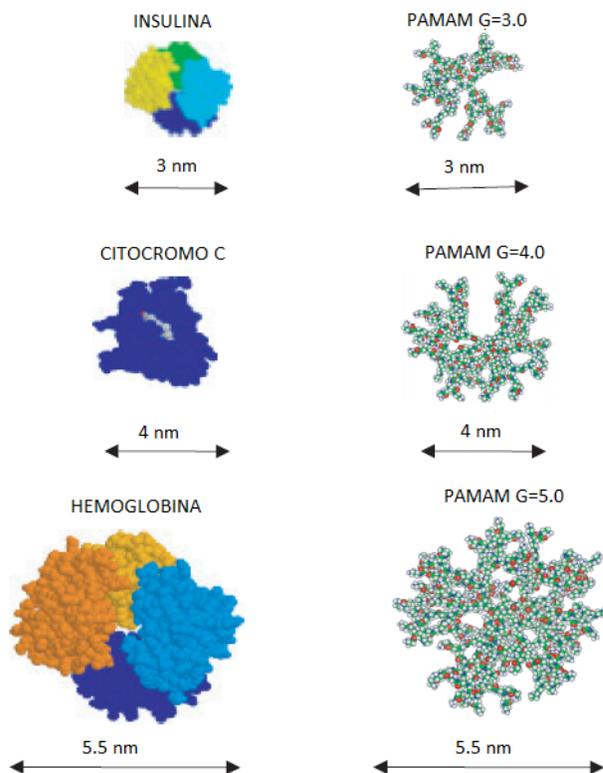


Figura 1.2: El tamaño de los dendrímeros puede ser controlado por medio de la ingeniería molecular para lograr que se parezcan en tamaño a enzimas, anticuerpos y proteínas globulares. Las generaciones (G) 3.0, 4.0 y 5.0 del dendrímero Poly(amidoamina) (PAMAM) coinciden en tamaño y forma a la insulina, citocromo C y la hemoglobina respectivamente (Adaptada de [4]).

1.2. Fármacos en terapias contra el cáncer

Las terapias actuales contra el cáncer incluyen fármacos que eliminan células de rápida replicación ya sean cancerígenas o sanas. Dentro de las células sanas encontramos células del cabello, revestimiento de estómago, médula ósea, etc. La muerte de las células no cancerígenas puede ser extremadamente dolorosa para el paciente, por lo que al unir este tipo de fármacos a un vehículo (macromolécula) para su transporte se busca dirigir los efectos del fármaco únicamente a las células patógenas [4].

Existe una gran variedad de fármacos utilizados en los conjugados fármaco-dendrímico por mencionar algunos, encontramos el Paclitaxel (Taxol) el cual induce la apoptosis mediante su unión a microtúbulos; por lo anterior una gran variedad de conjugados ha sido sintetizada y así aumentar la especificidad del Taxol a células cancerígenas. El dendrímico más utilizado para formar conjugados con el Taxol es el dendrímico PAMAM [4].

Otro ejemplo de mucha importancia clínica es el antígeno T, el cual es un antígeno producido por las células tumorales que provoca respuesta inmune; niveles en sangre por encima de la media del antígeno T pueden ser indicadores de cáncer. El antígeno T ha sido unido a varios dendrímicos, por ejemplo al PAMAM G1-G4, formando conjugados con el fin de producir un fármaco que pudiera interactuar con los receptores del antígeno T presentes en las células cancerígenas y de este modo poder interferir con su crecimiento haciendo reaccionar anticuerpos contra el antígeno T [5].

El metotrexato es otro fármaco muy utilizado para la formación de conjugados que generalmente se suele unir al PAMAM y es sobre este fármaco que enfocamos nuestro estudio [7].

1.2.1. Metotrexato

El metotrexato (MTX) es un antimetabolito de la familia de los folatos (Fig.1.3). Este inhibe competitivamente a la enzima dihidrofolato reductasa la cual es responsable de convertir el ácido fólico a tetrahidrofolato, que es un cofactor necesario para la transferencia de un carbono en muchas reacciones metabólicas. Algunas de estas reacciones afectan la proliferación celular, incluyendo la síntesis de ácido timidílico y de los precursores nucleótidos del DNA y RNA.

La inhibición de la timidilato-sintasa es el efecto más importante del metotrexato, resultando una inhibición de la síntesis del DNA y la subsecuente muerte celular. Los efectos inhibidores del metotrexato dependen de sus concentraciones intracelulares, por lo que los tejidos con mayor

1.2. FÁRMACOS EN TERAPIAS CONTRA EL CÁNCER

metabolismo celular y crecimiento más rápido son los más afectados. Entre las células más afectadas encontramos a las células cancerígenas, los tejidos neoplásicos, los folículos capilares, las células epiteliales del tracto digestivo y las células de la médula ósea.

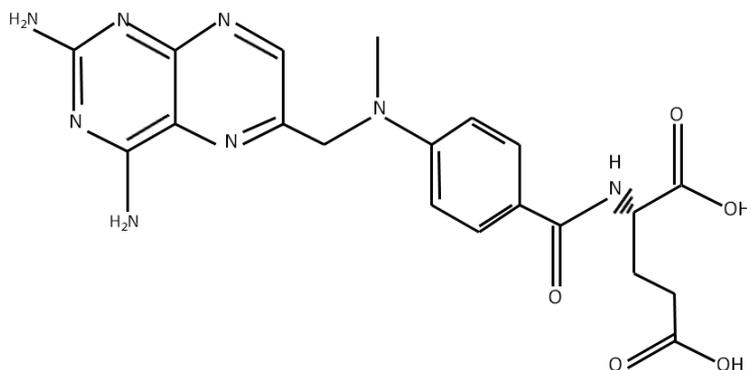


Figura 1.3: Estructura de Lewis para la molécula del metotrexato

El metotrexato es prácticamente insoluble en agua y en alcohol pero es soluble en dimetil sulfóxido (DMSO), lo que trae como consecuencia que su capacidad para una difusión pasiva sea limitada. Por ello, la introducción de iones de sustancias activas a través de la piel ha sido empleada para lograr la liberación transdermal de dicho fármaco. Sin embargo, esta administración vía electricidad causa daños irreversibles en la piel. A pesar de que el MTX ha demostrado su utilidad en tratamientos para la artritis reumatoide, carcinomas de cuello y cabeza, leucemia, etc., sus aplicaciones clínicas son limitadas debido a su toxicidad, por lo que recientemente el metotrexato ha sido conjugado a numerosos vehículos, incluyendo dextrinas, dendrímeros y nanopartículas [4, 8].

Sin embargo, para que el MTX se una a dendrímeros (por ejemplo el PAMAM es uno de los más utilizados) es necesario que los grupos aminos de la superficie del dendrímero sean glicidilatados. El dendrímero debe ser parcialmente acetilado en agua destilada cuya reacción es estimulada con glicidol. Finalmente el MTX se hace reaccionar con 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida en una mezcla de dimetilformamida seca y dimetil sulfóxido (DMSO) bajo una atmósfera de nitrógeno [4].

Esta última mezcla de dimetilformamida seca y DMSO se agrega gota por gota a una solución de agua destilada que contiene el dendrímero glicidilatado. En la última etapa de la síntesis, los grupos aminos terminales son totalmente acetilados para prevenir interacciones electrostáticas no deseadas

[4].

1.3. Formación de conjugados fármaco-vehículo

Para llevar a cabo la síntesis de los conjugados anteriormente mencionados; muchas veces es necesario realizarlas en presencia de ciertos solventes. Por ejemplo, para la síntesis del conjugado Taxol-poli(amidoamina) es necesario que sus componentes se encuentren en presencia de cloruro de metileno. Del mismo modo, el metotrexato puede utilizar como solvente al dimetil sulfóxido para que se una a otras macromoléculas.

Como el metotrexato es insoluble en agua, es necesario realizar la síntesis de sus conjugados en presencia de DMSO y ya formado el conjugado, este puede ser trasladado a medios fisiológicos.

La mayoría de estos estudios se realizan de manera experimental; sin embargo un análisis interesante que se puede realizar sobre la terapia dirigida, aparte del experimental es realizar simulaciones computacionales.

Estas simulaciones se pueden ajustar a las mismas condiciones que el experimento, con lo que es posible reproducirlo y además durante la simulación podemos observar en algunas ocasiones detalles que en el experimento no nos es permitido por los instrumentos de medición con los que contamos actualmente.

Hoy en día se han estudiado simulacionalmente varios fármacos para complementar la parte experimental [4]. El apoyo hacia el estudio de este tipo de simulaciones se da gracias a que al conocer la dinámica del fármaco teóricamente es posible optimizar su rendimiento en la práctica.

Las macromoléculas empleadas en la mayoría de simulaciones del tipo vehículo-fármaco son las de estructura ramificada. La razón de lo anterior se basa en el hecho de que experimentalmente son estas las estructuras que mejores resultados brindan con respecto al reconocimiento de las células patógenas.

Dentro de las estructuras ramificadas encontramos a los polímeros y como una clase de polímeros, a los dendrímeros. Los segundos son los que cuentan con un mayor número de simulaciones [9], como ejemplo de dendrímeros estudiados computacionalmente encontramos el PAMAM [10], los dendrímeros de polialquiliésteres, los dendrímeros de poliéter alifático, etc.

En este trabajo sólo nos enfocaremos en simular el comportamiento del fármaco metotrexato en dos solventes. De las presentes simulaciones, se pretende tener más información del comportamiento de este fármaco en estos solventes para poder entender su estructura y dinámica en ambientes donde

1.3. FORMACIÓN DE CONJUGADOS FÁRMACO-VEHÍCULO

sea capaz de interactuar con otras moléculas. Al simular correctamente la dinámica del fármaco podemos determinar el tipo de macromolécula que necesita el medicamento para realizar un enlace estable y dar mayor información a los experimentos.

De este modo, al mejorar el rendimiento de los medicamentos es posible contar con terapias mucho más efectivas e incluso podría hablarse de una “cura” para enfermedades que no cuentan con una.

1.3. FORMACIÓN DE CONJUGADOS FÁRMACO-VEHÍCULO

Capítulo 2

Principios de simulación computacional

Dentro de las herramientas con las que contamos hoy en día para el estudio de sistemas experimentalmente complicados encontramos a las simulaciones computacionales, las cuales nos ayudan a estudiar problemas tanto en la física, en la química, la biología y en ciencias interdisciplinarias. Dentro de los sistemas experimentalmente complicados las simulaciones por computadora han dado resultados cada vez más importantes, por ejemplo, actualmente se ha llegado a simular la división celular, aunque de una sola célula: la *Mycoplasma genitalium* [11].

Existen dos metodologías muy usadas en las simulaciones computacionales clásicas, la dinámica molecular (DM) [12, 13, 14] y el método de Monte Carlo (MC) [13, 14]. Para estas simulaciones existen varias técnicas que nos permiten reducir el tiempo de cómputo, algunas de estas técnicas son: grano grueso (*coarse-grained* en inglés), átomo unido, etc.

La dinámica molecular es una técnica que analiza la evolución en el tiempo de los movimientos moleculares utilizando como base matemática a la mecánica clásica. La dinámica molecular puede considerar todos los átomos que conforman a las moléculas sin embargo esto resultaría costoso computacionalmente y por ello a veces se utilizan técnicas que utilizan pseudoátomos para disminuir el número de átomos, entre estos métodos encontramos el modelo de *átomo unido* [15].

Mas allá de las diferencias metodológicas que puedan existir entre las técnicas, lo que define la aproximación del modelo con la teoría es el uso de un potencial de interacción adecuado para nuestro sistema.

2.1. Dinámica molecular

El método de dinámica molecular consiste en resolver numéricamente las ecuaciones clásicas de movimiento para un sistema de N partículas con masa m_i y posiciones \mathbf{r}_i a través de la segunda ley de Newton.

$$\mathbf{F}_i = m_i \frac{d^2 \mathbf{r}_i}{dt^2} \quad (2.1)$$

donde el término $\mathbf{F}_i = \sum_{j \neq i}^N (\mathbf{F}_{ij})$ representa la fuerza sobre la partícula i debido a la partícula j . Ya que la fuerza que actúa sobre una partícula depende de la posición del resto, las ecuaciones de todas las partículas están acopladas. En general las fuerzas que actúan sobre un sistema de partículas se deben a potenciales descritos de la siguiente manera:

$$U(\mathbf{r}^N) = \sum_{i>j} u_2(\mathbf{r}_i, \mathbf{r}_j) + \sum_{i>j>k} u_3(\mathbf{r}_i, \mathbf{r}_j, \mathbf{r}_k) + \dots \quad (2.2)$$

donde el término u_2 es la contribución debida al potencial intermolecular entre dos partículas, u_3 la contribución del potencial entre tres partículas, etc. Sabemos que la mayor contribución a la energía potencial se debe al potencial entre dos partículas por lo cual los otros términos de la ec. (2.3) suelen despreciarse. Así, las fuerzas que actúan sobre las partículas del sistema se pueden tratar con potenciales por pares $U(r_{ij})$, esto es:

$$\mathbf{F}_{ij} = - \frac{dU(r_{ij})}{dr_{ij}} \frac{\mathbf{r}_{ij}}{r_{ij}} \quad (2.3)$$

La ec. (2.3) nos dice que la simulación mediante dinámica molecular depende de un adecuado potencial $U(r_{ij})$ capaz de describir eficientemente las interacciones existentes entre las partículas de todo nuestro sistema.

2.1.1. Algoritmos de integración

Para poder resolver las ecs. (2.1) y (2.3) se emplean métodos de diferencias finitas. El método de diferencias finitas consiste en calcular las posiciones y velocidades a un tiempo $t + \Delta t$, donde Δt es un intervalo de tiempo finito, durante el cual se supone que las fuerzas que actúan sobre las partículas son constantes. Por consiguiente, las ecuaciones de movimiento se resuelven paso a paso integrándolas a cada intervalo Δt .

La mayoría de los métodos de diferencias finitas tienen como base un desarrollo en serie de Taylor de la variable a propagar, por ejemplo la variable x de la posición puede expresarse como:

$$x(t + \Delta t) = x(t) + \frac{dx(t)}{dt}\Delta t + \dots + \frac{1}{n!} \frac{d^n x(t)}{dt^n} \Delta t^n \quad (2.4)$$

Esta serie debe ser acortada para poder utilizarse de modo sencillo, aunque este modo de utilizar la ec. (2.4) produce un error del orden de $(\Delta t)^{n+1}$. De este modo se observa que el error por truncamiento depende del tamaño de paso de la integración, por lo que si se tiene un tamaño de paso que no permite que los errores se amplifiquen se puede observar que las magnitudes físicas han de fluctuar en torno al valor inicial.

Uno de los algoritmos más utilizados para la integración de las ecuaciones de movimiento es el algoritmo de Verlet. Este algoritmo está basado en la expresión del vector de posición \mathbf{r}_i a los tiempos Δt y $-\Delta t$ mediante un desarrollo en serie de Taylor:

$$\mathbf{r}_i(\Delta t) = \mathbf{r}_i(0) + \mathbf{v}_i(0)\Delta t + \frac{1}{2}\mathbf{a}(0)\Delta t^2 + \dots \quad (2.5)$$

$$\mathbf{r}_i(t - \Delta t) = \mathbf{r}_i(0) - \mathbf{v}_i(0)\Delta t + \frac{1}{2}\mathbf{a}(0)\Delta t^2 - \dots \quad (2.6)$$

donde \mathbf{v}_i son las velocidades de las partículas. Al sumar las ecs. (2.5) y (2.6) tenemos:

$$\mathbf{r}_i(\Delta t) = 2\mathbf{r}_i(0) - \mathbf{r}_i(-\Delta t) + \mathbf{a}(0)\Delta t^2 + O(\Delta t^4) \quad (2.7)$$

la cual es la expresión para obtener las posiciones de las partículas. Es importante notar que este método no utiliza las velocidades para obtener las nuevas posiciones. Sin embargo, es útil disponer de ellas para calcular propiedades del sistema, tales como la energía cinética, temperatura, etc. Podemos obtenerlas restando las ecs. (2.5) y (2.6) obteniendo:

$$\mathbf{r}_i(\Delta t) - \mathbf{r}_i(-\Delta t) = 2\mathbf{v}_i(0)\Delta t + O(\Delta t^3) \quad (2.8)$$

de donde, despejando la velocidad $\mathbf{v}_i(0)$ tenemos

$$\mathbf{v}_i(0) = \frac{\mathbf{r}_i(\Delta t) - \mathbf{r}_i(-\Delta t)}{2\Delta t} \quad (2.9)$$

Varias modificaciones al método de Verlet han sido propuestas y una de ellas es el algoritmo de “Leap-Frog”, el cual es el algoritmo empleado en la realización de este trabajo. El algoritmo de “Leap-Frog” queda establecido a través de las siguientes ecuaciones:

$$\mathbf{r}(t + \Delta t) = \mathbf{r}(t) + (t + \frac{1}{2}\Delta t)\mathbf{v}\Delta t \quad (2.10)$$

2.1. DINÁMICA MOLECULAR

$$\mathbf{v}(t + \frac{1}{2}\Delta t) = \mathbf{v}(t - \frac{1}{2}\Delta t) + \mathbf{a}(t)\Delta t \quad (2.11)$$

donde la posición $\mathbf{r}(t)$, la aceleración $\mathbf{a}(t)$ y la velocidad $\mathbf{v}(t - \frac{1}{2}\Delta t)$ se suponen conocidas. La ec. (2.11) se implementa al inicio de las simulaciones y proporciona la velocidad a un tiempo posterior intermedio $\mathbf{v}(t + \frac{1}{2}\Delta t)$ (Fig.2.1). En esta etapa se puede calcular las velocidades actuales mediante:

$$\mathbf{v}(t) = \frac{1}{2} \left[\mathbf{v}(t + \frac{1}{2}\Delta t) + \mathbf{v}(t - \frac{1}{2}\Delta t) \right] \quad (2.12)$$

Con la ecuación anterior las energías cinética y potencial pueden ser calculadas en el mismo instante.

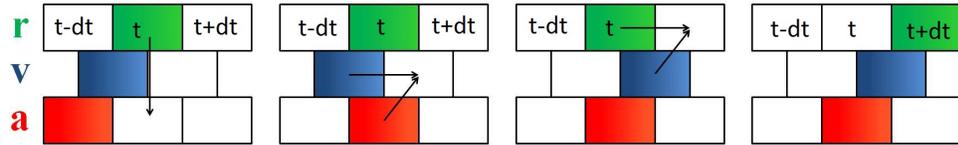


Figura 2.1: Algoritmo de “Leap-Frog”. (Adaptada de [13])

2.1.2. Condiciones iniciales

El primer paso en las simulaciones de dinámica molecular es definir las posiciones de las partículas del sistema, estas posiciones pueden ser aleatorias en un principio. Las configuraciones iniciales pueden comenzar de varias formas por ejemplo, pueden presentar una estructura regular ordenada casi cristalina o una configuración aleatoria en la cual se haya realizado una búsqueda de mínima energía del sistema.

Se ha observado que los resultados de la simulación son independientes del arreglo cristalino del cual se parta. Una vez asignadas las posiciones de todas las partículas del sistema, también deben ser especificadas las velocidades iniciales de las partículas. Las velocidades iniciales pueden ser cero o calculadas a partir de un ajuste a la distribución de Boltzmann.

2.1.3. Condiciones periódicas de frontera

Un aspecto importante de las simulaciones es el tamaño de los sistemas. Por ejemplo, cuando se realizan simulaciones con un número N pequeño de moléculas se presentan fenómenos de superficie que pueden alterar los resultados. Una forma de evitar el problema es implementando la técnica conocida como **condiciones periódicas de frontera** (Fig. 2.2).

Esta técnica coloca al sistema dentro de una celda, denominada celda central, la cual se encuentra rodeada por réplicas exactas de si misma conocidas como las celdas imágenes formando una red infinita. Las celdas imágenes contienen las mismas partículas que la celda central llamadas partículas imágenes.

Durante la simulación las partículas imágenes se mueven exactamente igual a las partículas de la celda central. De este modo, si una partícula de la celda central la abandona por alguna de sus caras, su imagen de la cara opuesta entra a la celda central (Fig.2.2). Así, el sistema no tiene paredes físicas, evitando de este modo los efectos de superficie y manteniendo el número de partículas constante. Si bien se ha creado un sistema periódico infinito sólo es necesario almacenar los datos de los átomos de la celda central, pues los de las imágenes pueden deducirse fácilmente a partir de ellos.

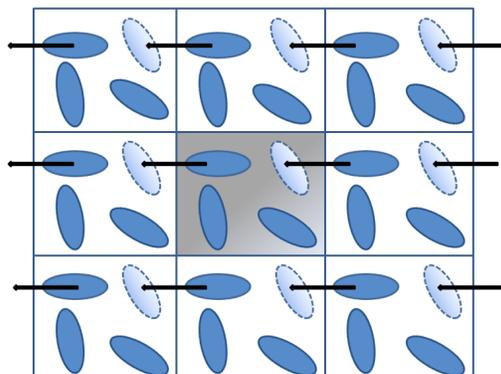


Figura 2.2: Esquema de las condiciones periódicas de frontera, la celda sombreada representa a la celda central del sistema (Adaptada de [13]).

Al implementar las condiciones periódicas de frontera se requiere evaluar la fuerza que se ejerce sobre cada partícula debido a las otras partículas. En principio se han de incluir las interacciones con las partículas imágenes. Si estas fuerzas de interacción son de corto alcance (tipo Lennard-Jones) se puede considerar que la partícula en cuestión se haya en el centro de una celda con las mismas dimensiones que la celda original y sólo interactúa con las partículas que están dentro de esta caja (Fig.2.3).

Por lo anterior tenemos que la partícula que se encuentra en el centro de

2.1. DINÁMICA MOLECULAR

la celda interactúa con las partículas imágenes más próximas dentro de una distancia que identificamos como **radio de corte**. Este método se denomina **criterio de la mínima imagen**. Para fuerzas de largo alcance no es posible aplicar esta aproximación ya que las fuerzas son todavía intensas en base a las longitudes típicas de las cajas utilizadas en las simulaciones de dinámica molecular. Para calcular tales fuerzas existen métodos eficientes como las sumas de Ewald (este método se describe en el capítulo posterior).

2.1.4. Truncamiento del potencial

Como se mencionó anteriormente, simular sistemas de muchas partículas tiene un alto costo en lo que se refiere a tiempos de cómputo. Por ello se han buscado alternativas que reduzcan los tiempos de simulación, una de las técnicas empleadas con este fin es el truncamiento del potencial.

En presencia de potenciales de corto alcance es posible disminuir el número de interacciones empleando una distancia de corte de potencial r_c de tal modo que a distancias mayores a ésta, el potencial se considera nulo o despreciable. Por lo tanto, no se evalúan las interacciones entre pares de partículas separadas por distancias mayores que la del r_c , lo que define un potencial truncado.

La elección de un r_c de cierto modo fija un valor mínimo para el tamaño de la celda central, pues por consistencia con el criterio de la mínima imagen r_c debe ser menor o igual a la mitad de la arista de la caja de simulación ($\frac{1}{2}L$).

Sin embargo, la utilización del r_c implica el cálculo de todas las distancias interatómicas y su comparación con r_c para decidir si se toma en cuenta o no dicha interacción. Un método para reducir el número de distancias a comparar es la **Lista de vecinos de Verlet**. La lista de vecinos lo que hace es definir una esfera adicional de radio r_l mayor que la esfera de corte y almacenar una lista con las posiciones de las partículas contenidas en su interior.

Donde r_l ha de ser lo suficientemente grande como para que en un cierto número de pasos de integración no penetren dentro de la esfera de la lista partículas que estaban inicialmente fuera de la misma. El r_l que suele emplearse en simulaciones de dinámica molecular es $r_l \sim r_c + 0.3\sigma$ (donde σ es el diámetro atómico). Esta lista ha de actualizarse periódicamente ya que después de cierto tiempo el movimiento de las partículas es suficiente para penetrar en la esfera de la lista.

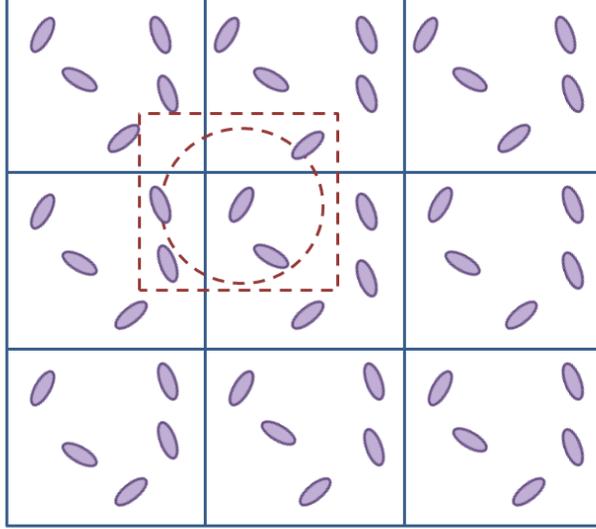


Figura 2.3: Esquema de la mínima imagen. (Adaptada de [13])

La mayoría de las cantidades físicas de interés se hallan bajo las condiciones de los ensambles termodinámicos NVT y NPT , por lo cual se utilizan algoritmos específicos para mantener en las simulaciones la presión y/o temperatura constantes.

2.2. Termostato de Berendsen

Para mantener constante la temperatura del sistema se utiliza la técnica de un termostato, el cual se introduce como un término adicional en las ecuaciones de movimiento del sistema. Por ejemplo la rutina de “Leap-Frog” (sección 2.1.1) con la implementación de este termostato queda como:

$$\mathbf{v}(t + \frac{1}{2}\Delta t) \leftarrow \left[\mathbf{v}(t - \frac{1}{2}\Delta t) + \mathbf{a}(t)\Delta t \right] \chi(t) \quad (2.13)$$

Para nuestros sistemas utilizamos el algoritmo de Berendsen [16] en el que la temperatura se lleva hasta un valor deseado mediante un escalamiento de las velocidades:

$$\chi(t) \leftarrow \left[1 + \frac{\Delta(t)}{\tau_T} \left(\frac{T_0}{T(t) - 1} \right) \right]^{\frac{1}{2}} \quad (2.14)$$

2.3. BAROSTATO DE BERENDSEN

donde τ_T es una constante de tiempo y $T(t)$ tiene la forma de la temperatura instantánea del sistema en el tiempo t . Este algoritmo corrige la desviación del sistema con respecto a una temperatura T_0 según la ec. (2.15):

$$\frac{dT}{dt} = \frac{T_0 - T}{\tau} \quad (2.15)$$

donde τ es la constante característica de decaimiento exponencial. En este método la magnitud del acoplamiento se puede variar y adoptar según el problema que se esté tratando; para equilibrar el sistema τ puede variar entre 0.001 *ps* hasta 0.5 *ps* lo cual depende del potencial molecular y del sistema. El termostato de Berendsen conserva el momento pero no la energía.

2.3. Barostato de Berendsen

Para mantener constante la presión del sistema, al igual que experimentalmente se emplea un barostato. Para nuestras simulaciones utilizamos el barostato de Berendsen [16]. Este algoritmo reescala las coordenadas y el vector base de la caja de simulación cada n_{pc} pasos de integración, con una matriz μ , que lleva a cabo una relajación de la presión a primer orden con respecto a una presión de referencia \mathbf{P}_0 según la ec. (2.16)

$$\frac{d\mathbf{P}}{dt} = \frac{\mathbf{P}_0 - \mathbf{P}}{\tau_p} \quad (2.16)$$

La matriz de escalamiento μ está dad por

$$\mu_{ij} = \delta_{ij} - \frac{n_{pc}\Delta t}{3\tau_p}\beta_{ij}\{P_{0ij} - P_{ik}(t)\} \quad (2.17)$$

donde β es la compresibilidad isotérmica del sistema; en general, es suficiente considerar una aproximación razonable al valor de β y en el caso isotrópico la matriz es diagonal.

Capítulo 3

Potenciales de interacción

Como ya se mencionó la principal contribución a la energía potencial se debe al potencial intermolecular entre dos partículas (Capítulo 2.1). Por lo tanto, la energía potencial total de un sistema de N partículas esféricas, sin estructura interna, está dada por

$$U(\mathbf{r}^N) \approx \sum_{i>j} u_2(r_{ij}) \quad (3.1)$$

donde $r_{ij} = |\mathbf{r}_{ij}|$ es la distancia relativa y $\mathbf{r}_{ij} = \mathbf{r}_j - \mathbf{r}_i$ es el vector de posición relativa.

Para sistemas complejos donde se simulan moléculas con sus átomos no sólo se consideran potenciales entre las moléculas sino que también se consideran los potenciales entre los átomos de una misma molécula. Lo anterior da como resultado que los potenciales de interacción suelen dividirse en dos tipos de contribución:

$$U(\mathbf{r}) = U_{intra}(\mathbf{r}, \theta, \phi) + U_{inter}(\mathbf{r}) \quad (3.2)$$

donde U_{intra} es el potencial intramolecular que representa la interacción entre átomos de una misma molécula, mientras que U_{inter} es el potencial intermolecular que representa la interacción entre moléculas diferentes. Existen varios potenciales intramoleculares e intermoleculares utilizados para determinar la energía configuracional total de un sistema molecular. La representación de estos potenciales es lo que se conoce como **campos de fuerzas**. Los potenciales utilizados en este trabajo fueron los siguientes:

3.1. POTENCIALES INTRAMOLECULARES

$$\begin{aligned} U(r_1, r_2, \dots, r_N) = & \sum_{i_{bond}=1}^{N_{bond}} U_{bond}(i_{bond}, r_a, r_b) + \sum_{i_{angle}=1}^{N_{angle}} U_{angle}(i_{angle}, r_a, r_b, r_c) \\ & + \sum_{i_{dihed}=1}^{N_{dihed}} U_{dihed}(i_{dihed}, r_a, r_b, r_c, r_d) + \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j>i}^N U_{pair}(i, j, |r_i - r_j|) \end{aligned} \quad (3.3)$$

donde los primeros tres términos de la derecha representan el potencial intramolecular y el último término representa el potencial intermolecular. Gracias a los potenciales intramoleculares tenemos moléculas más próximas a la realidad.

3.1. Potenciales intramoleculares

Los grados de libertad considerados para estos potenciales son, la distancia de enlace, el ángulo de enlace que se forma entre tres átomos adyacentes y el ángulo de torsión que se forma entre los planos de cuatro átomos consecutivos de una molécula.

3.1.1. Potencial de enlace

Estos potenciales describen explícitamente los enlaces entre dos átomos específicos y se encuentran únicamente en función de la distancia (Fig.3.1). Existe una gran variedad de potenciales de enlace [16] como por ejemplo: el potencial armónico, cuya ec. se presenta a continuación:

$$U(r_{ij}) = \frac{k}{2}(r_{ij} - r_0)^2 \quad (3.4)$$

donde r_{ij} es la distancia entre los átomos i y j , r_0 es su distancia de equilibrio y k es la constante de vibración.

3.1.2. Restricciones para la distancia

Cuando la molécula que se está simulando presenta una rigidez alta y por lo tanto se pueden despreciar las vibraciones entre átomos los potenciales de enlace se pueden fijar a un valor de r_0 , con lo que el par de átomos siempre se encontrará a la misma distancia. Esto se aplica únicamente a átomos de la misma molécula. Las fuerzas tipo van der Waals y electrostáticas entre el par de átomos aún está presente.

3.1.3. Potencial de ángulo

Estos potenciales describen el enlace flexible entre tres átomos específicos y se encuentran en función del ángulo que forman los enlaces en los átomos. Los potenciales de ángulo están relacionados con la estructura de la molécula (Fig. 3.1). Existe una gran variedad de potenciales de ángulo como lo son como por ejemplo el potencial armónico [16] cuya ec. es:

$$U(\theta_{ijk}) = \frac{k}{2}(\theta_{ijk} - \theta_0)^2 \quad (3.5)$$

donde θ_{ijk} es el ángulo de enlace entre los átomos i , j y k , θ_0 es el ángulo de equilibrio y k es la constante de vibración.

3.1.4. Potencial de ángulos dihedrales

Estos potenciales describen las interacciones derivadas de las fuerzas de torsión en las moléculas, por lo que también son conocidos como potenciales de torsión. Estos requieren la especificación de cuatro posiciones atómicas. Los potenciales de torsión son incluidos con el propósito de conservar la geometría molecular en conformaciones predeterminadas (Fig.3.1). Existe una gran variedad de potenciales de torsión como por ejemplo el potencial coseno cuya ecuación es:

$$U(\phi_{ijkn}) = A[1 + \cos(m\phi_{ijkn} - \delta)] \quad (3.6)$$

donde ϕ_{ijkn} es el ángulo de torsión entre los átomos i , j , k y n .

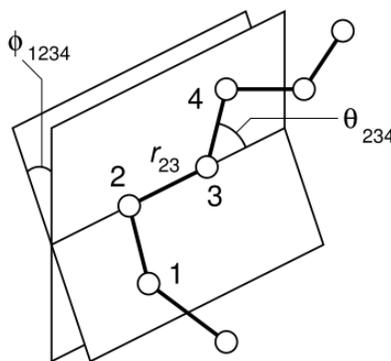


Figura 3.1: Geometría de una cadena simple molecular, se ilustra la definición de distancia interatómica r_{23} , enlace angular θ_{234} , y el ángulo de torsión ϕ_{1234} . (Tomada de [17]).

3.2. Potenciales intermoleculares

De manera general, las fuerzas intermoleculares por pares dependen de la distancia y de la orientación relativa entre las moléculas. Los potenciales intermoleculares presentan varios tipos de contribución al potencial total del sistema y las contribuciones que empleamos para nuestro sistema son:

1. *Potencial de corto alcance.* El origen de estas interacciones es puramente cuántico. Cuando dos moléculas se juntan lo suficiente como para que sus nubes electrónicas se superpongan se observa que los electrones no ocupan el mismo estado cuántico, por lo cual se presenta un fenómeno de repulsión. Además, al reducirse el apantallamiento de los núcleos cargados positivamente estos se repelen entre si.

Las fuerzas de corto alcance presentan la característica de que son repulsivas a distancias cortas, atractivas a grandes distancias y cero cuando la distancia intermolecular es infinitamente grande [18]. En la Fig. 3.2 se aprecian los parámetros característicos de estos potenciales: la energía mínima (ϵ) también conocida como la profundidad del potencial, la separación a la cual la energía potencial es cero (σ).

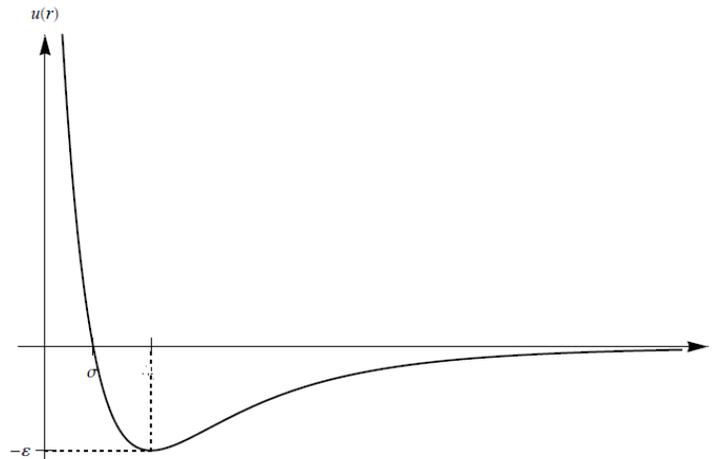


Figura 3.2: Esquema que muestra el potencial de interacción por pares para moléculas esféricas. Donde δ_m es la distancia a la cual se encuentra el mínimo de potencial, σ es la distancia a la que el potencial es cero y ϵ es la profundidad del potencial.

2. *Potencial de largo alcance.* Electrostáticas, se originan en las fuerzas

de Coulomb e incluyen a las interacciones entre cargas, dipolos permanentes, cuadrupolos, octupolos, etc.

3.2.1. Potencial de Lennard-Jones (LJ)

Es un tipo de potencial de corto alcance, se trata del potencial más empleado en las simulaciones ya que describe razonablemente bien las interacciones moleculares y las interacciones tipo van der Waals.

$$U(r_{ij}) = 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (3.7)$$

donde el significado de σ y de ϵ se discutieron anteriormente (Fig. 3.2) y r_{ij} es la distancia entre sitios distintos de átomos distintos.

3.2.2. Potencial de Coulomb

Es un tipo de potencial de largo alcance, este potencial decae lentamente con la distancia alcanzando valores apreciables incluso en posiciones muy alejadas. Esto hace que el alcance de este potencial sea mayor que la mitad de la arista de las cajas comúnmente utilizadas en las simulaciones. La energía potencial electrostática o de Coulomb entre dos cargas moleculares está dada por:

$$U_c = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{q_{ia}q_{jb}}{r_{iajb}} \quad (3.8)$$

donde ϵ_0 es la permitividad en el vacío y r_{iajb} la distancia relativa entre la carga q_{ia} del átomo a en la molécula i , y q_{jb} la carga del átomo b en la molécula j .

Debido a que el alcance de este potencial es mayor que la mitad de la arista de las cajas habituales de simulación no es posible realizar un truncamiento del potencial. Sin embargo, existe un método eficiente para calcular las interacciones electrostáticas en un sistema periódico infinito conocido como sumas de Ewald.

El método de sumas de Ewald consiste en transformar una serie lenta y condicionalmente convergente en la suma de dos series que convergen rápidamente más un término constante:

$$\frac{1}{r} = \frac{G(r)}{r} + \frac{1 - G(r)}{r} + Cte \quad (3.9)$$

3.2. POTENCIALES INTERMOLECULARES

donde G es una distribución gaussiana de cargas, $\frac{G(r)}{r}$ representa al espacio real (\mathbf{r}) y $\frac{1-G(r)}{r}$ representa al espacio de Fourier (\mathbf{k}), esta ecuación decae rápidamente con \mathbf{r} y \mathbf{k} . La ecuación 3.8 puede reescribirse según el método de Ewald como:

$$\begin{aligned}
 U_c = & \frac{1}{2} \sum_i \sum_a \sum_{j \neq i} q_{ia} \sum_b q_{jb} \text{erfc}(\kappa r_{iajb}) / r_{iajb} \\
 & - \frac{1}{2} \sum_i \sum_a \sum_{b \neq a} q_{ia} q_{ib} \text{erf}(\kappa r_{iaib}) / r_{iaib} \\
 & + \frac{2\pi}{V} \sum_{h \neq 0} Q(h) S(\mathbf{h}) S(-\mathbf{h}) \\
 & - \frac{\kappa}{\sqrt{\pi}} \sum_i \sum_a q_{ia}^2
 \end{aligned} \tag{3.10}$$

donde $\text{erf}(x)$ es la función error y $\text{erfc}(x)$ es la función error complementaria, κ es un parámetro de convergencia arbitrario. La elección adecuada del parámetro κ permite utilizar un número moderado de vectores \mathbf{k} para modelar el espacio recíproco.

Los dos primeros términos de la ecuación 3.10 se deben al potencial del sistema de cargas puntuales apantalladas que se calculan en el espacio real. El tercer término se debe a la distribución compensadora y se calcula en el espacio recíproco sumando sobre los vectores $\mathbf{h} = 2\pi\mathbf{n}/L^2$. El último término es conocido como la autocorrección de la energía. Una descripción física de esta ecuación es que cada punto con carga en el sistema se ve apantallado por una distribución de carga gaussiana de igual magnitud pero de signo contrario. Para contra-restar esta distribución de carga, una segunda distribución de carga gaussiana del mismo signo y magnitud que la distribución original es agregada a cada carga. Los términos del espacio están definidos como:

$$\begin{aligned}
 S(\mathbf{h}) &= \sum_i \sum_a q_{ia} e^{i\mathbf{h} \cdot \mathbf{r}_{ia}} \\
 Q(\mathbf{h}) &= e^{-h^2/4\kappa^2} / h^2 \\
 \mathbf{r}_{iajb} &= \mathbf{r}_{ia} - \mathbf{r}_{jb}
 \end{aligned} \tag{3.11}$$

En este trabajo se utilizó el método *Smoothed Particle Mesh Ewald*, el cual es una modificación de las sumas de Ewald. En el método SPME los términos en el espacio real son calculados de la misma manera que en el método normal de las sumas de Ewald. En cambio, la suma en el espacio

3.2. *POTENCIALES INTERMOLECULARES*

recíproco está representada en una celda rectangular tridimensional y requiere una Transformada de Fourier Rápida en 3D (FFT) la cual debe ser distribuida sobre todos los procesos.

3.2. POTENCIALES INTERMOLECULARES

Capítulo 4

Campos de fuerzas

En este capítulo se presentan los campos de fuerza que empleamos en la construcción de nuestros sistemas. En un principio hablamos de los campos del agua y del DMSO, los cuales ya son conocidos y se encuentran reportados en la literatura. Después de que se presentan estos campos, utilizamos el formalismo discutido anteriormente para construir el campo de fuerzas del fármaco metotrexato.

El metotrexato es un sistema que involucra un número relativamente “grande” de partículas ya que se trata de una macromolécula constituida por 55 átomos. Entre las características de esta molécula encontramos que es soluble en DMSO y capaz de disminuir la concentración de ácido fólico en el organismo humano provocando así la muerte celular, en particular se emplea para provocar la apoptosis de células cancerígenas y de esto podemos deducir la importancia de su estudio. El propósito de este trabajo es mostrar que el campo de fuerzas propuesto aquí, es lo suficientemente adecuado como para reproducir la dinámica del metotrexato en distintos solventes ya que se planea utilizarlo en futuros proyectos involucrando polímeros conjugados como vehículos moleculares.

4.1. Campo de fuerzas para la molécula de agua

En el presente trabajo se utilizó el modelo *simple point charge model* (SPC) [19] para simular las interacciones entre las moléculas de agua, aunque existe una gran variedad de modelos TIP3P [20], SPC/E [21], etc. En este modelo la molécula de agua presenta tres sitios de carga concentrada en donde los átomos de hidrógeno se encuentran cargados positivamente y el átomo de oxígeno está cargado negativamente [19]. Este modelo tiene po-

4.2. CAMPO DE FUERZAS PARA LA MOLÉCULA DE DMSO

tenciales ajustados a datos experimentales, es bueno en predecir la densidad del agua en estado líquido y gaseoso. Así mismo es de los modelos que mejor predice la presión de vapor y líquido.

Los parámetros del SPC se presentan en la Tabla 4.1 a su vez un esquema de este modelo puede verse en la Fig.4.1

Tabla 4.1: Tabla que muestra los parámetros para el modelo SPC.

Átomo	<i>O</i>	<i>H</i>
Distancia a <i>H</i>	1.000	1.633
ϵ ($\frac{Kcal}{mol}$)	0.155	0.000
σ (Å)	3.166	1.7818
q_e	-0.820	0.410

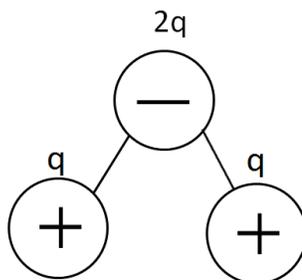


Figura 4.1: Esquema de la molécula de agua para el modelo SPC (Adaptada de [19].)

4.2. Campo de fuerzas para la molécula de DMSO

El dimetil sulfóxido (DMSO) es un líquido orgánico altamente polar y miscible en un amplio rango de solventes orgánicos como el agua, alcohol, cetonas, etc [22]. Se trata de un solvente polar que disuelve tanto compuestos polares como compuestos no polares y tiene un punto de ebullición relativamente alto de 189 °C, a su vez puede formar complejos en sistemas biológicos. Otras de sus características son: bajo nivel de toxicidad, y es inodoro. Presenta una densidad de 1.1004 g/cm³.

4.2. CAMPO DE FUERZAS PARA LA MOLÉCULA DE DMSO

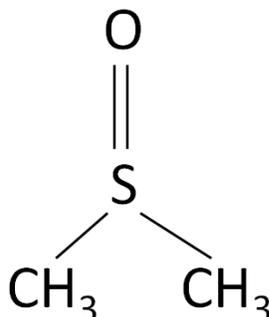


Figura 4.2: Estructura de Lewis para la molécula de dimetil sulfóxido

Como el DMSO es un solvente muy utilizado en química y en bioquímica este aparece en muchas simulaciones de sistemas bioquímicos. El modelo que utilizamos en este trabajo es una modificación del modelo llamado *1995* [23], el cual es capaz de reproducir las propiedades termodinámicas en simulaciones con campos de reacción o cuando se utilizan sumas de Ewald para tratar las interacciones electrostáticas [24]. Sin embargo existen otros campos de fuerza para el DMSO: P2 [25], GROMOS87 [26], OPLS [25], NPS [25], GROMOS96 [27].

Este modelo utiliza la técnica de *átomo unido* aplicado a los grupos CH_3 por lo que en lugar de tener 10 sitios cuenta solamente con 4 sitios. Se trata de un modelo rígido que no cuenta con grados de libertad intramoleculares por lo que la energía potencial total es igual a la energía no enlazante, mediante este campo se pueden calcular propiedades termodinámicas y de transporte para el DMSO líquido. Los parámetros del campo se presentan en la tabla 4.2.

Tabla 4.2: Esta tabla fue adaptada de [24], para la construcción de esta molécula se utilizó el modelo de cuerpo rígido. Las distancias corresponden a ángulos de enlace de 106.75° (O-S- CH_3) y 97.4° (CH_3 -S- CH_3).

Átomo	S	O	CH_3
Distancia a O (Å)	1.53		
Distancia a CH_3 (Å)	1.95	2.80	2.93
ϵ ($\frac{Kcal}{mol}$)	0.309	0.409	0.225
σ (Å)	3.56	2.63	3.74
q_e	0.117	-0.437	0.160

4.3. Potenciales de interacción para el metotrexato

En el Capítulo 3 se mencionan de manera general los potenciales que se usan en moléculas que requieren varios grados de libertad como el sistema estudiado en este trabajo. El metotrexato se trata de un modelo en donde los enlaces entre átomos se mantienen rígidos por lo que el potencial de enlace se omite. A continuación se presentan explícitamente los potenciales intramoleculares e intermoleculares que se usan para la molécula de metotrexato:

$$U(r_{ijk}) = \sum \frac{k}{2} (\theta_{jik} - \theta_0)^2 + \sum A [1 + \cos(m\phi_{ijkn} - \delta)] + \sum 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \sum \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{q_i q_j}{r_{ij}} \quad (4.1)$$

donde el primer término hace referencia al potencial de ángulo, el segundo representa al potencial de torsión, el tercero es el potencial de Lennard-Jones y el último es el potencial de Coulomb.

Para poder resolver las ecuaciones de movimiento se determinaron los parámetros necesarios para cada potencial. Los parámetros que establecimos fueron tomados de trabajos anteriores en los cuales se construyen **Campos de fuerza** para ácidos nucleicos, proteínas y moléculas orgánicas [13, 14]. Para poder definir una correspondencia entre las moléculas de estos trabajos y la de metotrexato se utilizaron las clasificaciones de átomos que presentan ambos artículos. En la Tabla 4.3 se muestra los criterios que se toman en cuenta para determinar cada tipo de átomo.

Con la clasificación mostrada en la tabla 4.3, la molécula de metotrexato quedó definida como se presenta en la Fig. 4.3. En esta figura se puede apreciar la presencia de dos cuerpos rígidos, esta suposición está basada en el hecho de que los anillos confieren rigidez a esas áreas.

Tabla 4.3: Tabla que muestra los diferente tipos de átomos. Aquí sólo se presentan los tipos que se utilizaron para el metotrexato. Tomada de [29].

átomo	tipo	descripción
carbono	C2	carbono con hibridación sp^3 y dos hidrógenos
	C3	carbono con hibridación sp^3 y tres hidrógenos
	CA	carbono aromático sp^2 en un anillo de seis miembros con un sustituyente

4.3. POTENCIALES DE INTERACCIÓN PARA EL METOTEXATO

	CI	carbono sp^2 en un anillo de seis miembros entre dos nitrógenos "NC"
	CB	carbono aromático sp^2 en la intersección de un anillo de cinco miembros y uno de seis miembros
	CD	carbono aromático sp^2 en un anillo de seis miembros con un hidrógeno
	CH	carbono con hibridación sp^3 y un hidrógeno
	C	carbono carbonil sp^2 y carbono aromático con un sustituyente hidroxil
nitrógeno	N2	nitrógeno sp^2 en grupos NH_2
	NC	nitrógeno sp^2 en anillos de seis miembros con pares libres
	N	nitrógeno sp^2 en grupos amida
oxígeno	O	oxígeno carbonílico
	O2	carbóxilo
hidrógeno	H	hidrógenos en amidas
	HO	hidrógenos en hidroxil u oxígenos de agua
	H2	hidrógeno del grupo NH_2
	HC	hidrógeno atado a carbono

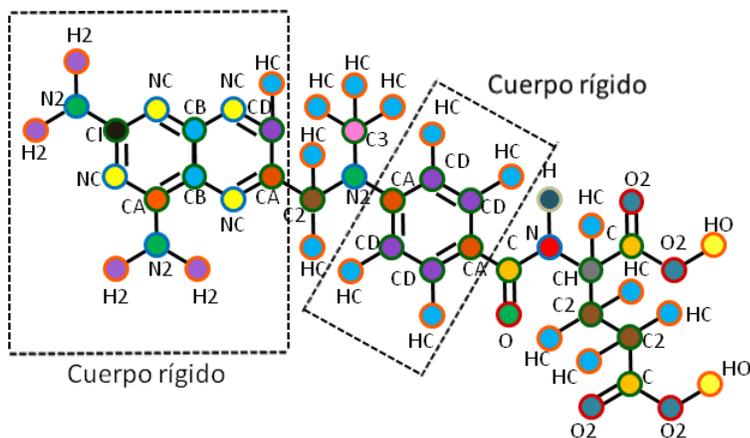


Figura 4.3: Figura en donde se muestran los diferentes tipos de átomos para el metotrexato. Dentro de la molécula existen dos cuerpos rígidos.

4.4. PARÁMETROS PARA EL CAMPO DE FUERZAS DEL METOTREXATO

4.4. Parámetros para el campo de fuerzas del metotrexato

Con los átomos ya clasificados se buscaron los parámetros correspondientes para la molécula, al igual que la clasificación de átomos los parámetros se obtuvieron de las referencias [29, 30]. Más adelante se muestran estos parámetros para cada uno de los potenciales empleados en el metotrexato.

4.4.1. Parámetros para los potenciales de enlace

En general nosotros consideramos a la molécula de metotrexato como una sola estructura rígida por lo cual las distancias entre los átomos se mantuvieron fijas. En la Tabla 4.4 se muestran los valores que se utilizaron para las distancias entre los átomos de la molécula.

Tabla 4.4: Valores para las distancias entre los átomos de la molécula de metotrexato. (Tomada de [29, 30])

enlaces	$r_0(\text{Å})$	enlaces	$r_0(\text{Å})$
CA-C2	1.510	C2-HC	1.090
C2-N2	1.463	C3-N2	1.463
C3-HC	1.090	CA-N2	1.340
C-O	1.229	C-N	1.335
N-H	1.010	CH-N	1.449
CH-HC	1.090	CH-C	1.522
C-O2	1.250	O2-H2	0.960
CH-C2	1.526	C2-C2	1.526
C2-C	1.522		

4.4.2. Parámetros para los potenciales de ángulo

Los parámetros utilizados para los potenciales de ángulo (primer término de la ecuación 4.1) se presentan en la Tabla. 4.5. En la elección de estos parámetros se buscó mantener la flexibilidad de las partes de la molécula que no fueron definidas como cuerpo rígido (Fig.4.3).

4.4. PARÁMETROS PARA EL CAMPO DE FUERZAS DEL METOTREXATO

Tabla 4.5: Se presentan los parámetros para los enlaces tipo angular donde k es la constante de vibración de la ecuación armónica y $\theta_{eq} = \theta_{jik} - \theta_0$ (Tomada de [29, 30]).

enlace	$k(\frac{\text{kcal}}{\text{mol}\cdot\text{rad}^2})$	θ_{eq}	enlace	$k(\frac{\text{kcal}}{\text{mol}\cdot\text{rad}^2})$	θ_{eq}
CD-CA-C2	140.0	120.0	N2-CA-CD	140.0	116.6
CA-C2-HC	100.0	109.5	HC-C2-N2	60.0	118.0
CH-C2-C2	126.0	112.4	C-C2-C2	126.0	112.4
C2-N2-C3	100.0	118.0	C2-N2-CA	100.0	123.2
CA-N2-C3	100.0	123.2	N2-C3-HC	60.0	118.0
HC-C3-HC	70.0	109.5	O-C-N	160.0	122.9
CH-C-O2	130.0	117.0	O2-C-O2	160.0	126.0
C-N-H	70.0	119.8	H-N-CH	76.0	118.4
N-CH-C	126.0	110.1	N-CH-HC	60.0	118.0
C2-HC-C	126.0	111.1	N-CH-C2	160.0	109.7

4.4.3. Parámetros para los potenciales de ángulos dihedrales

Los parámetros utilizados para los potenciales de torsión (segundo término de la ecuación 4.1) se presentan en la Tabla. 4.6. En la elección de estos parámetros nuevamente se buscó mantener la flexibilidad de las partes de la molécula que no fueron definidas como cuerpo rígido (Fig.4.3).

Tabla 4.6: Parámetros para los enlaces de torsión donde A tiene relación con los componentes de Fourier, m es la multiplicidad y X representa cualquier tipo de átomo (Adaptada de [13, 14]).

potencial dihedral	$A(\frac{\text{kcal}}{\text{mol}\cdot\text{rad}^2})$	δ	m
X-CA-C2-X	0.0000	0.0000	2.0000
X-C2-N2-X	0.0000	0.0000	3.0000
X-N2-CA-X	6.8000	180.00	2.0000
X-C-N-X	10.000	180.00	2.0000
X-N-CH-X	0.0000	0.0000	3.0000
X-CH-C-X	0.0000	0.0000	2.0000
X-C-O2-X	1.8000	180.00	2.0000
X-CH-C2-X	2.0000	0.0000	3.0000
X-C2-C2-X	0.0000	0.0000	3.0000
X-C2-C-X	0.0000	180.00	3.0000
X-C-O2-X	1.8000	180.00	2.0000

4.4. PARÁMETROS PARA EL CAMPO DE FUERZAS DEL METOTREXATO

4.4.4. Parámetros para el potencial de Lennard-Jones

Los parámetros utilizados para el potencial tipo Lennard-Jones se presentan en la Tabla. 4.7. De igual manera que los parámetros correspondientes a los potenciales intramoleculares, los parámetros para este potencial se obtuvieron de las ref. [13, 14].

Dentro de los potenciales de Lennard-Jones encontramos los parámetros relacionados a los términos cruzados, los cuales ejemplifican la interacción entre diferentes “clases” de átomos. En nuestro caso representan las interacciones entre los distintos grupos de átomos que tenemos. Para calcular los términos cruzados se utilizaron las reglas de Lorentz-Berthelot:

$$\begin{aligned}\sigma_{ij} &= \frac{1}{2}(\sigma_{ii} + \sigma_{jj}) \\ \epsilon_{ij} &= (\epsilon_{ii}\epsilon_{jj})^{1/2}\end{aligned}\tag{4.2}$$

Para los términos cruzados se utiliza las reglas de Lorentz-Berthelot, en la Tabla. 4.7 se muestran los parámetros de Lennard-Jones correspondientes a los grupos que utilizamos. No es el propósito de este trabajo mostrar todos los términos cruzados ya que son 136 términos y esto sólo nos ocuparía bastante espacio.

Tabla 4.7: Parámetros para el potencial de Lennard-Jones (Adaptada de [29, 30]).

potencial de LJ	$\epsilon(\frac{kcal}{mol})$	$\sigma(\text{Å})$
CA	0.120	3.700
C2	0.120	3.850
C3	0.150	4.000
CI	0.120	3.700
CB	0.120	3.700
CD	0.120	3.700
CH	0.090	3.700
C	0.120	3.700
NC	0.160	3.500
N	0.160	3.500
O	0.200	3.200
O2	0.200	3.200

4.4. PARÁMETROS PARA EL CAMPO DE FUERZAS DEL METOTREXATO

H	0.020	2.000
HO	0.020	2.000
H2	0.020	2.000
HC	0.038	2.750

4.4.5. Cargas para el potencial de Coulomb

Para el potencial de Coulomb no se contó con ninguna referencia ya que en la literatura no se encuentra reportado ni un solo campo de fuerzas que describa al metotrexato. Para resolver este problema se calcularon las cargas parciales de la molécula mediante el software “Gaussian 09”, en particular se utilizó el análisis orbital de enlace natural (NBO).

Se seleccionó este método pensando en que sólo se buscaba una primera aproximación para las cargas. Aunque “Gaussian 09” por defecto proporciona las cargas de Mulliken se prefirió utilizar las NBO ya que las primeras acarrearán más errores pues sobrestiman el carácter covalente de los enlaces y los valores de las cargas cambian si se hace variar la base (este concepto se define más adelante) utilizada para el cálculo.

El análisis orbital de enlace natural consiste en estudiar todas las posibles interacciones entre los orbitales ocupados y vacíos, estimando su importancia energética con la teoría de perturbaciones de segundo orden. La distribución de las cargas parciales es calculada a partir de las ocupaciones de los distintos orbitales, estas configuraciones se aproximan a estados atómicos ideales en los que pueden observarse configuraciones excitadas.

Gaussian 09

Gaussian 09 (G09) es un programa de química computacional mediante el cual podemos calcular varias propiedades. Para indicarle a G09 qué es lo que buscamos es necesario especificarlo en el archivo de entrada, este archivo de entrada contiene varias características del cálculo que deseamos obtener pero en este trabajo sólo nos enfocamos en la elección del método y la base que se emplearon para calcular las cargas parciales del metotrexato.

Para el metotrexato se utilizó el método MP2 [31] el cual realiza cálculos mediante Hartree-Fock y la base 6-31g que es la base que usualmente se emplea en moléculas orgánicas .

Finalmente al estudiar las cargas parciales se observó que en los grupos CH_2 la suma general de las mismas era casi cero, por lo que en estos grupos se utilizó el modelo de átomo unido que consiste en crear un pseudo átomo C en lugar del grupo CH_2 , lo anterior se pudo realizar gracias a que este

4.4. PARÁMETROS PARA EL CAMPO DE FUERZAS DEL METOTREXATO

grupo es inerte. Con lo anterior se redujo la molécula de metotrexato de 55 átomos a 51 (Fig.4.4).

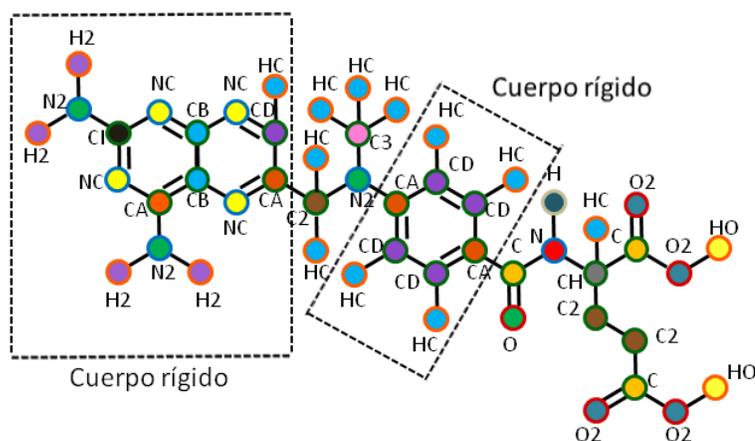


Figura 4.4: Representación esquemática de los 51 átomos para el metotrexato.

4.4.6. DL_POLY2

Es un paquete de subrutinas, programas y archivos de datos, diseñado para facilitar las simulaciones dinámicas moleculares de macromoléculas, polímeros, sistemas iónicos, soluciones y otros sistemas moleculares en una distribución de memoria paralela. Algunos de los sistemas que DL_POLY2 es capaz de simular son: sistemas atómicos simples, mezclas, iones no polarizables, iones y moléculas polarizables, moléculas rígidas simples, iones rígidos, polímeros con enlaces rígidos, macromoléculas, sistemas biológicos, moléculas con enlaces flexibles, metales simples y aleaciones, sistemas covalentes, etc.

Como DL_POLY2 se trata de una paquetería hay que tener en consideración que necesita de ciertas partes para tener un funcionamiento correcto, entre las cosas que necesita tener se encuentran: un sistema molecular, un campo de fuerzas para el sistema molecular en cuestión y condiciones de frontera. Las funciones del campo de fuerzas tienen una amplia variedad de formas analíticas y por esta razón, el campo de fuerzas de DL_POLY2 está diseñado para ser adaptado a diferentes sistemas [16].

Capítulo 5

Resultados

La dinámica molecular del metotrexato fue estudiada mediante la aplicación del campo de fuerzas cuya construcción se mencionó en el Capítulo 4. Los aspectos que se analizaron de esta dinámica fueron: densidades, coeficientes de difusión y funciones de distribución radial obtenidas de las simulaciones realizadas en este trabajo. De las propiedades anteriores nuestros resultados fueron comparados con valores ya reportados. El principal objetivo de este análisis es construir la molécula de MTX capaz de mostrar su comportamiento observado experimentalmente como lo es el hecho de que es soluble en DMSO.

Los resultados que obtuvimos fueron producto de simulaciones con dinámica molecular cuyo tiempo total de cálculo abarcó $7 ns$. Estas simulaciones comenzaron una vez que el sistema se encontraba ya en equilibrio. Las simulaciones se realizaron a partir de dos sistemas. En el primero se introdujeron 9 moléculas de metotrexato en una caja cúbica de 70 \AA por lado llena de agua (11,432 moléculas de agua) cuya configuración inicial se muestra en la Fig. 5.3. Para el segundo se introdujeron 9 moléculas de fármaco nuevamente en una caja cúbica de 70 \AA por lado llena de dimetil sulfóxido (2,744 moléculas) y su configuración inicial se muestra en la Fig 5.6.

Ambas simulaciones se llevaron a cabo a temperatura y presión constantes NPT utilizando el paquete de dinámica molecular DL_POLY_2 [16]. La temperatura $T=298 K$ y la presión $P=1 atm$ se mantuvieron constantes utilizando el método de Berendsen y se utilizó un radio de corte de 10 \AA para las interacciones de van der Waals.

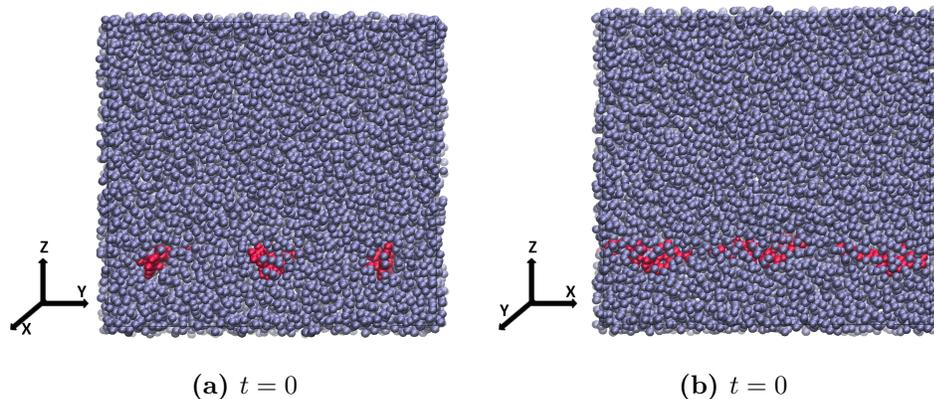


Figura 5.1: Configuración inicial para el sistema con agua y los 9 fármacos. Se presentan dos diferentes vistas, como se puede apreciar en los ejes mostrados. En estas figuras se omiten los átomos de hidrógeno del agua para apreciar el arreglo de las moléculas de metotrexato.

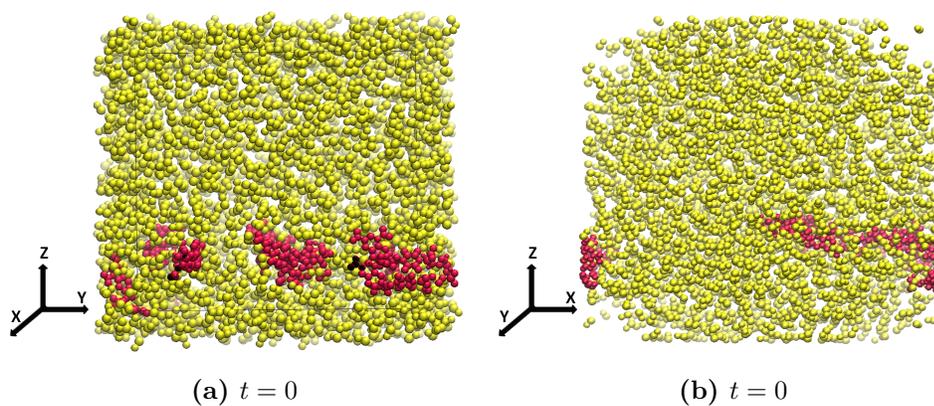


Figura 5.2: Configuración inicial para el sistema con DMSO y los 9 fármacos. En estas representaciones se omitieron los grupos CH_3 del DMSO para apreciar mejor las moléculas de metotrexato. Se presentan dos diferentes vistas, como se puede apreciar en los ejes mostrados.

Así mismo, se construyeron otras dos estructuras con los mismos parámetros de los sistemas anteriores pero con posiciones iniciales diferentes para los fármacos (Figs. 5.9 y 5.12). Con ello se busca mostrar la independencia de los resultados con respecto a las condiciones iniciales del sistema.

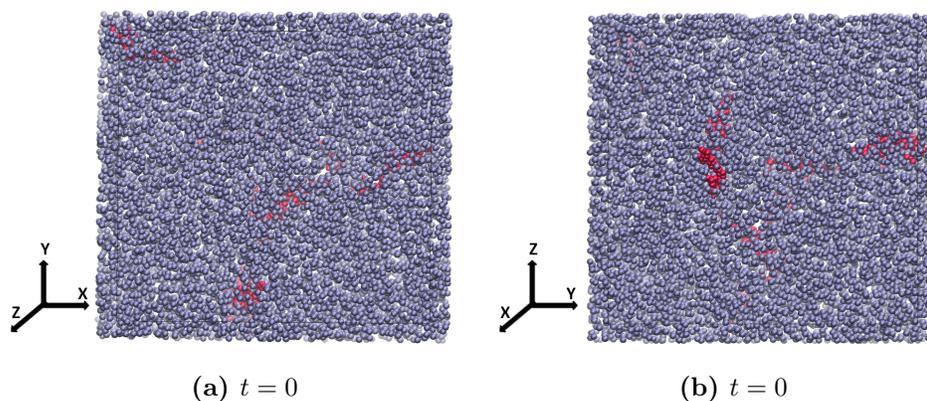


Figura 5.3: Nueva configuración inicial para el sistema con agua y los 9 fármacos. Se presentan dos diferentes vistas, como se puede apreciar en los ejes mostrados. En estas figuras se omiten los átomos de hidrógeno del agua para apreciar el arreglo de las moléculas de metotrexato.

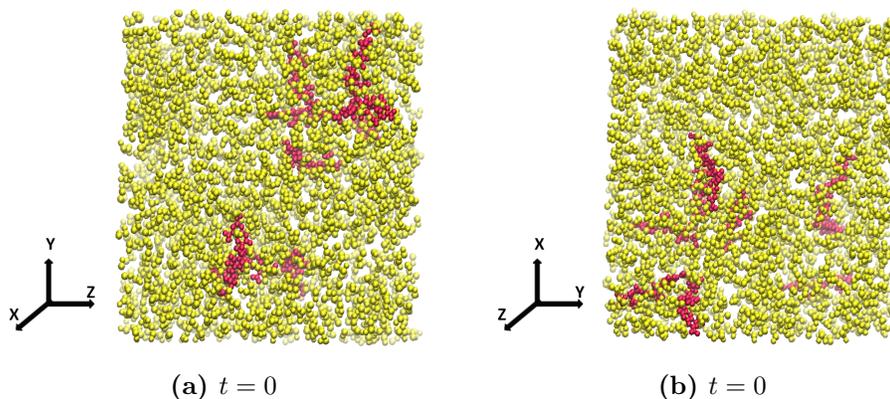


Figura 5.4: Nueva configuración inicial para el sistema con DMSO y los 9 fármacos. Se presentan dos diferentes vistas, como se puede apreciar en los ejes mostrados. En estas figuras se omiten el grupo CH_3 del DMSO para apreciar el arreglo de las moléculas de metotrexato.

5.1. Perfil de densidad

En este apartado se describirán los datos obtenidos al calcular los perfiles de densidad de masa en las direcciones “X”, “Y” y “Z” con la finalidad de obtener información acerca del comportamiento del metotrexato en los dos solventes: agua y DMSO.

5.1. PERFIL DE DENSIDAD

Para fines prácticos se establece el procedimiento para calcular el perfil en el eje “Z”, el mismo procedimiento se extiende para las otras dos direcciones. Este perfil se determina calculando la densidad local a lo largo de la longitud de la caja de simulación en la dirección “Z” para lo cual se divide al sistema en intervalos de tamaño Δz . Si la especie para la cual nos interesa conocer el perfil de densidad es “a” entonces, una vez que se ha dividido el sistema, se cuenta el número de átomos “a” en cada una de las secciones de corte y este número se divide entre el volumen del intervalo. Este cálculo se realizó sobre 1000 configuraciones, finalmente se promedian los valores obtenidos para cada rebanada entre todas las configuraciones ec. (5.1).

$$\rho_n(z) = \frac{\phi}{NL_xLy\Delta z} \sum_{i=1}^N n_i(z) \quad (5.1)$$

donde N es el número total de configuraciones, $n_i(z)$ es el número de átomos en cada una de los intervalos de tamaño Δz del sistema, L_x y L_y son las dimensiones de las aristas de la celda de simulación en los ejes “X” y “Y” respectivamente. Por último, es necesario multiplicar por un factor para convertir esta densidad numérica en una densidad de masa utilizando el número de avogadro y la masa molecular de la especie, este factor está incluido en ϕ .

En nuestro caso los valores de ϕ que se emplearon fueron: 29.92 para el caso del agua el cual se multiplicó por la densidad numérica del átomo de oxígeno. En el DMSO se utilizó la densidad numérica del átomo de azufre (debido a la simetría de la molécula) y se multiplicó por una ϕ de 129.737. Para el metotrexato se utilizaron las densidades numéricas del átomo de carbón CA y del átomo de nitrógeno N2, cada una de éstas fue multiplicada por una ϕ de 753.9. Como las densidades de masa de los tipos de átomos mencionados anteriormente difieren muy poco entre ellas, se terminó por emplear un promedio. En la Fig. 5.13 se muestran explícitamente los átomos que se tomaron:

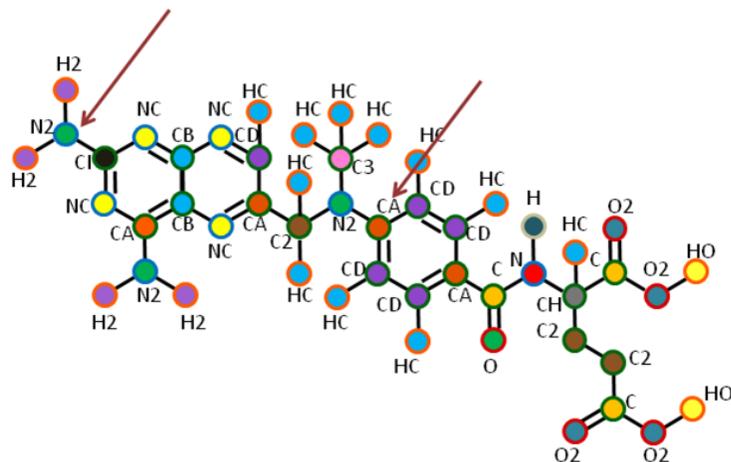


Figura 5.5: Figura en donde se muestran los átomos que se tomaron para calcular la densidad de la molécula del metotrexato.

A continuación se muestra el análisis realizado para los perfiles de densidades de los dos sistemas estudiados en este trabajo. Este análisis abarca las dos configuraciones mencionadas anteriormente (Figs. 5.3, 5.6, 5.9 y 5.12). Para calcular la densidad del agua se utilizó el modelo SPC (descrito en la sección 4.1) cuyo valor reportado es de 1.0 g/cm^3 a 300 K [19], el cual es igual a la densidad experimental. En el caso del DMSO se empleó el modelo descrito en la sección 4.2 [24], el cual alcanza un valor de 1.097 g/cm^3 para la densidad a una temperatura de 298 K y ésta es un poco menor a la experimental con un valor de 1.100 g/cm^3 . Nuestros resultados fueron comparados con estos valores.

En la Fig. 5.14 se muestran los perfiles de densidad sobre el eje “Z” del agua con los fármacos (línea continua) y de las moléculas de metotrexato (línea punteada) a $t=0$. De la gráfica podemos ver que el comportamiento de la densidad del agua muestra un descenso asociado a la presencia de los fármacos. Al calcular su densidad cuantitativamente se obtuvo un valor promedio de 0.970 g/cm^3 este promedio se midió para los tres ejes del sistema. Mientras tanto, la línea punteada representa la densidad del fármaco sobre el mismo eje.

5.1. *PI*

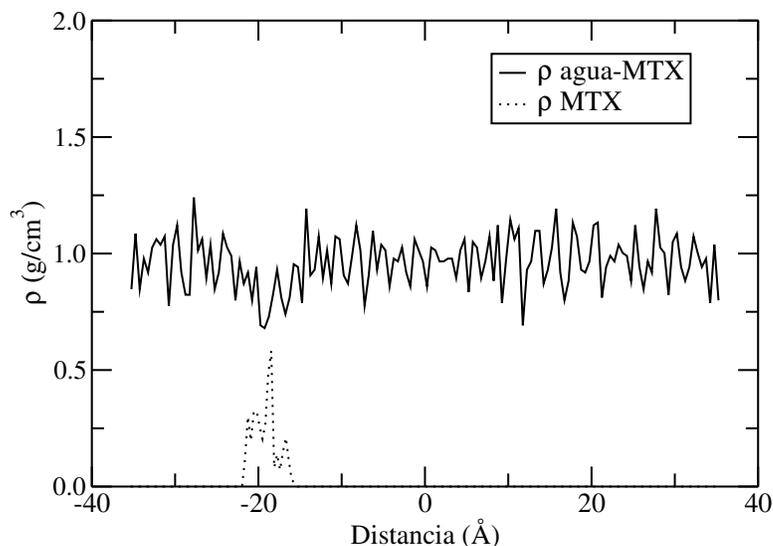


Figura 5.6: Gráfica que muestra los perfiles de densidades en el eje “Z” del agua con fármacos (línea continua) y el perfil de densidad de las moléculas de metotrexato (línea punteada). Ambos perfiles se encuentran en un tiempo $t=0$

En la Fig. 5.15 se muestra el perfil de densidad del agua en bulto a $t=7 \text{ ns}$ (línea discontinua) obtenido mediante el modelo computacional SPC, el cual presenta un valor promedio de 0.953 g/cm^3 bajo una temperatura constante de $T=298 \text{ K}$. Este valor difiere en un 4.8% del valor reportado para el modelo SPC. Para nuestros fines se toma esta diferencia como pequeña y con ello consideramos que el sistema se comporta como agua. Esta densidad promedio es medida sobre los tres ejes del sistema.

La línea continua nos muestra el perfil de densidad del agua con las 9 moléculas de metotrexato; la cual muestra un descenso debido a la presencia de los fármacos. Es importante ver que el descenso es menor al que se tiene en la configuración inicial, ya que ahora los fármacos están mejor distribuidos. Así mismo, hay que notar que el perfil de densidad de los metotrexatos se encuentra más distribuido y es menor en comparación con la configuración inicial del sistema. Al calcular la densidad se obtuvo un valor promedio de 0.975 g/cm^3 . Con esto podemos ver que la densidad realmente no ha variado con respecto a la que tiene la configuración inicial. De lo anterior concluimos que la densidad del agua aumentó en general un 2.3% cuando el fármaco se encuentra presente con respecto al agua en bulto. Esto podría indicarnos que las moléculas de tienden a unirse más entre si ya que ahora el sistema es más denso.

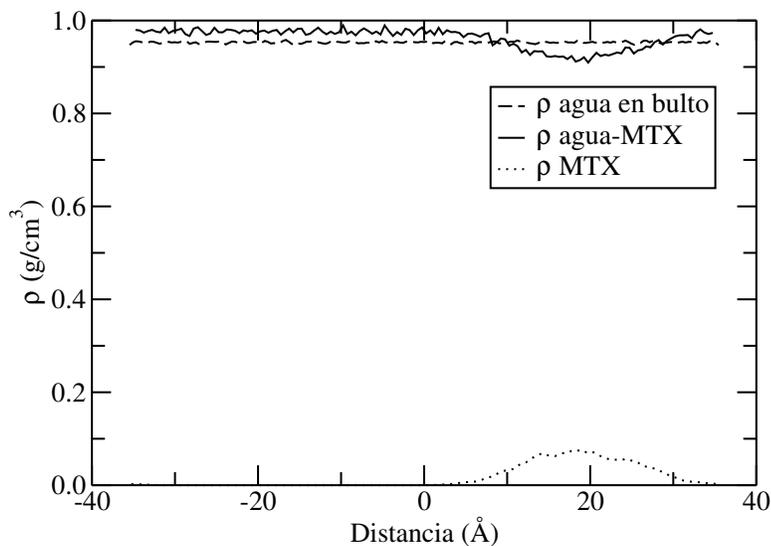


Figura 5.7: Gráfica que muestra los perfiles de densidades en el eje “Z” del agua en bulto (línea discontinua), del agua con fármaco (línea continua) y de las moléculas de fármaco (línea punteada). Estos perfiles fueron tomados a $t=7 \text{ ns}$.

La configuración final del sistema se aprecia en las Figs. 5.18 y 5.21 donde se puede ver que las moléculas de fármaco forman agregados. En estas figuras se muestran la dinámica del sistema a $t=7 \text{ ns}$ para las dos configuraciones iniciales mostradas anteriormente (Figs. 5.3 y 5.9).

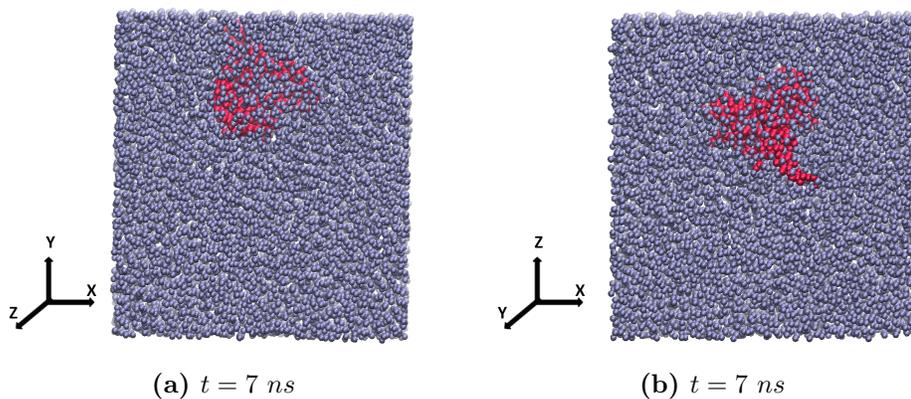


Figura 5.8: Configuración final para el sistema con agua y los 9 fármacos (primera configuración inicial Fig. 5.3). En la figura se omitieron los átomos de hidrógeno de la molécula de agua para que se aprecien mejor las moléculas de metotrexato. Estas figuras presentan condiciones periódicas

5.1. PERFIL DE DENSIDAD

De estas figuras concluimos que las moléculas de metotrexato tienden a juntarse entre si, sin importar su configuración inicial. Para los datos cuantitativos en las dos configuraciones se encontraron valores similares.

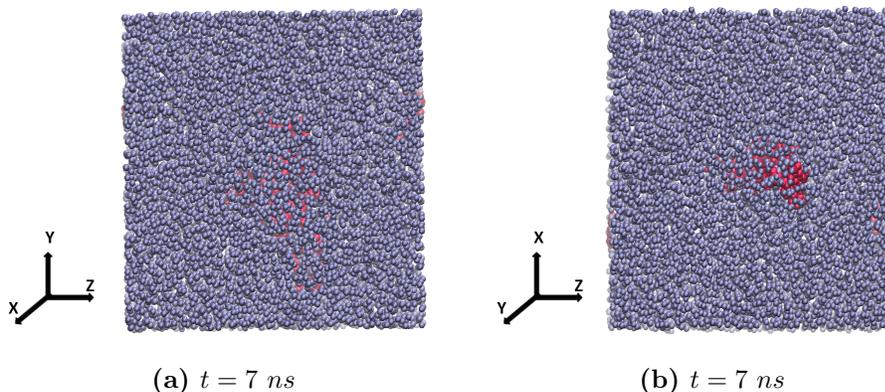


Figura 5.9: Configuración final para el sistema con agua y los 9 fármacos (segunda configuración inicial Fig. 5.9) . En la figura se omitieron los átomos de hidrógeno de la molécula de agua para que se aprecien mejor las moléculas de metotrexato. Estas figuras presentan condiciones periódicas

En la Fig. 5.22 se muestran los perfiles de densidad sobre el eje “Z” del DMSO con los fármacos (línea continua) y de las moléculas de metotrexato (línea punteada) a $t=0$.

De la gráfica podemos ver que la densidad del DMSO con los fármaco muestra un leve descenso el cual coincide con la presencia del metotrexato. Al calcular su densidad cuantitativamente se obtuvo un valor promedio de 1.153 g/cm^3 este promedio se midió para los tres ejes del sistema. Mientras tanto, la línea punteada representa la densidad del fármaco sobre el mismo eje.

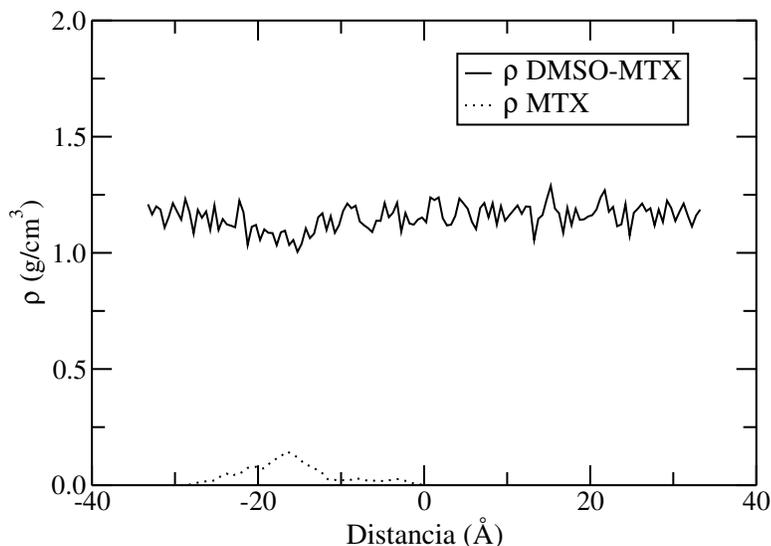


Figura 5.10: Gráfica que muestra los perfiles de densidades en el eje “Z” del DMSO con fármacos (línea continua) y el perfil de densidad del metotrexato (línea punteada). Ambos perfiles se encuentran a $t=0$

En la Fig. 5.23 se muestra el perfil de densidad del DMSO en bulto a $t=7$ ns (línea discontinua) obtenido mediante el modelo computacional descrito en la sección 4.2. Este presenta un valor promedio de 1.087 g/cm^3 bajo una temperatura constante de $T=298 \text{ K}$ indicano que difiere en un 0.92 % del valor reportado para este modelo. Esta diferencia es pequeña y por lo tanto se puede considerar que nuestro sistema se comporta aceptablemente como DMSO. Esta densidad promedio es medida sobre los tres ejes del sistema.

La línea continua nos muestra el perfil de densidad del DMSO con las 9 moléculas de metotrexato. En este perfil se nota la ausencia de descensos lo cual podría indicarnos que los fármacos se encuentran mucho más distribuidos a lo largo de todo el sistema. De hecho, su comportamiento es muy similar al del DMSO en bulto excepto en que su densidad con los fármacos es mayor. Al calcular la densidad se obtuvo un valor promedio de 1.154 g/cm^3 , con esto podemos ver que la densidad realmente no ha variado con respecto a la que tiene la configuración inicial. De lo anterior resulta que la densidad del DMSO aumentó un 6.2 % cuando el fármaco se encuentra presente con respecto al DMSO en bulto. Esto nos indica que el sistema con fármacos tiene una mayor densidad.

5.1. PI

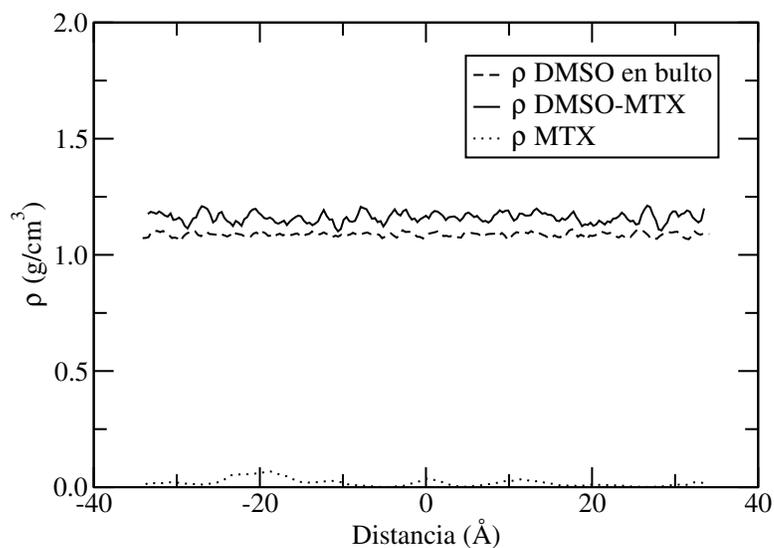


Figura 5.11: Gráfica que muestra los perfiles de densidades en el eje “Z” del DMSO en bulto (línea discontinua), del DMSO con fármaco (línea continua) y de las moléculas de fármaco (línea punteada).

La configuración final del sistema se aprecia en las Figs. 5.26 y 5.29 donde se puede ver que las moléculas de fármaco están distribuidas a lo largo de todo el volumen. En estas figuras se muestran la dinámica del sistema a $t=7$ ns para las dos configuraciones iniciales mostradas anteriormente (Figs. 5.6 y 5.12).

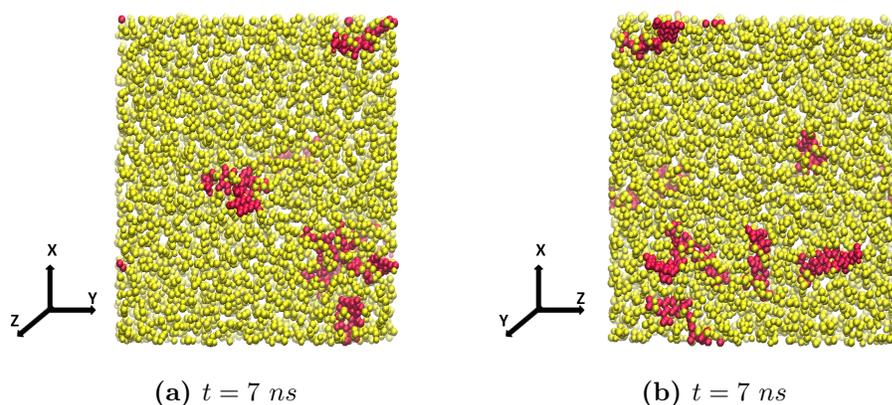


Figura 5.12: Configuración final para el sistema con DMSO y los 9 fármacos (primera configuración inicial Fig. 5.6). En la figura se omitieron los grupos CH_3 de la molécula de DMSO para que se aprecien mejor las moléculas de metotrexato.

5.2. FUNCIÓN DE DISTRIBUCIÓN RADIAL DE PARES

De estas figuras concluimos que las moléculas de metotrexato no se juntan entre si, sin importar su configuración inicial. Para los datos cuantitativos de las densidades se encontraron valores similares para ambas configuraciones. Finalmente podemos concluir que el DMSO es un buen solvente para el fármaco metotrexato.

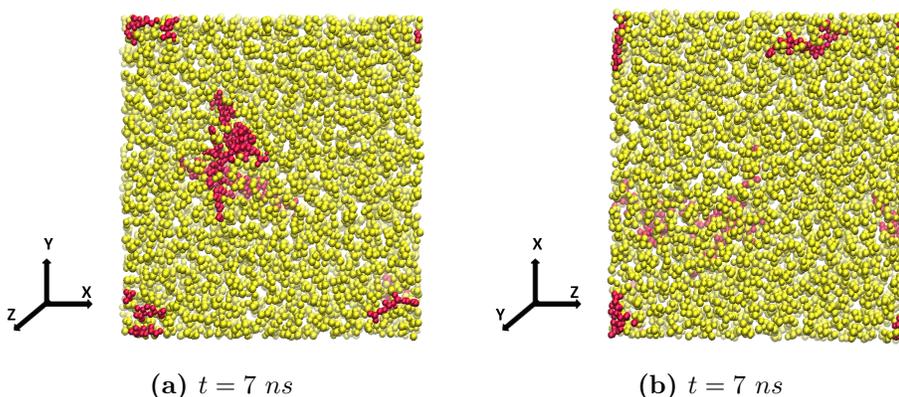


Figura 5.13: Configuración final para el sistema con DMSO y los 9 fármacos (primera configuración inicial Fig. 5.12). En la figura se omitieron los grupos CH_3 de la molécula de DMSO para que se aprecien mejor las moléculas de metotrexato.

5.2. Función de distribución radial de pares

La **Función de distribución radial** $g(r; \rho, T)$ o **función de correlación de pares** abreviada como $g(r)$ se encuentra definida como la razón de la densidad numérica local a una distancia r desde la molécula central hacia la mayor densidad numérica,

$$g(r) = \frac{\rho(r)}{\rho} \quad (5.2)$$

La función $g(r)$ da la probabilidad de encontrar otras moléculas en un elemento de volumen dado a una distancia fija desde una molécula i (Fig.5.30). El número diferencial de moléculas dN en un elemento de volumen esférico $d\mathbf{r} = 4\pi r^2 dr$ a una distancia entre r y $r + dr$ desde una molécula central es

$$dN = \rho g(r) 4\pi r^2 dr \quad (5.3)$$

5.2. FUNCIÓN DE DISTRIBUCIÓN RADIAL DE PARES

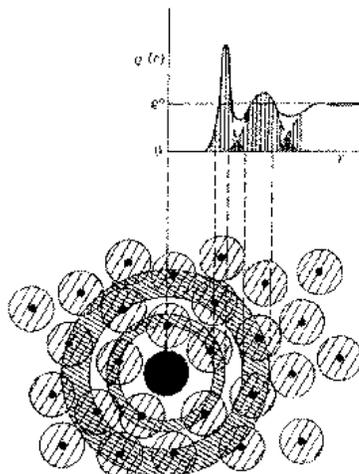


Figura 5.14: Esquema que representa la función de distribución radial (Tomada de [32]).

La $g(r)$ y $\rho(r)$ son esencialmente cero para valores r más pequeños que $\alpha\sigma$ (donde α es cualquier número entero mayor que cero), las separaciones entre moléculas cercanas a este valor son muy probables energéticamente y a esta distancia se presenta un pico para $g(r)$. En los líquidos se observan pequeños picos adicionales a grandes valores de r , los cuales corresponden a posiciones de alta probabilidad. Debido a que no hay ordenes de largo alcance, $g \rightarrow 1$ cuando $r \rightarrow \infty$ [33].

La Fig. 5.31 muestra la $g(r)$ de los átomos de oxígeno para el sistema con agua en bulto (línea continua) y para el de agua con las 9 moléculas de metotrexato (línea discontinua). Analizando las gráficas vemos que el primer pico es más grande en el caso del agua con fármaco además se observa que el pico en ambos sistemas se presenta a valores de r muy similares. De esto es posible concluir que las moléculas de agua están más juntas entre si cuando se les agregan las moléculas de metotrexato lo cual es un hecho esperado ya que la densidad total del sistema aumenta. También se observa la presencia de picos secundarios cuya amplitud es mayor en el caso del agua con metotrexato, lo cual apoya la conclusión mencionada anteriormente e incluso nos indica que hay un orden ligeramente mayor. Así mismo es apreciable una estructura más definida cuando están presentes los fármacos en el agua.

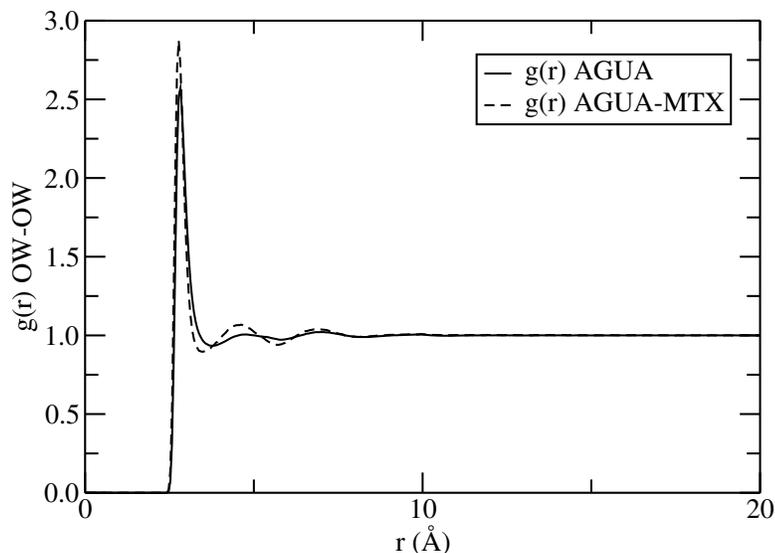


Figura 5.15: Gráfica que muestra las $g(r)$'s para el agua en bulto (línea continua) y el agua con las 9 moléculas de fármaco (línea discontinua).

La Fig.5.32 muestra la $g(r)$ de los átomos de azufre para el sistema de DMSO en bulto (línea continua) y para el sistema de DMSO con fármaco (línea discontinua). En la función de distribución para el DMSO en bulto se observan dos picos en lugar de uno solo como en el caso del DMSO con metotrexato. La presencia de estos dos picos está dada por el modelo que estamos empleando [24] el cual predice correctamente la posición de los dos picos comparado con el experimento [34] pero falla en la intensidad del primer pico ya que experimentalmente este es menor.

De hecho es importante notar que los dos picos cubren la misma región que cubre el pico del sistema con metotrexato. Con ello tenemos que en el DMSO en bulto los átomos de azufre están más cerca entre si. Lo cual nos indica que hay un reacomodo de moléculas en el sistema cuando se agrega el fármaco. Finalmente podemos observar que las gráficas presentan ligeramente más estructura cuando hay fármacos.

5.2. Fl

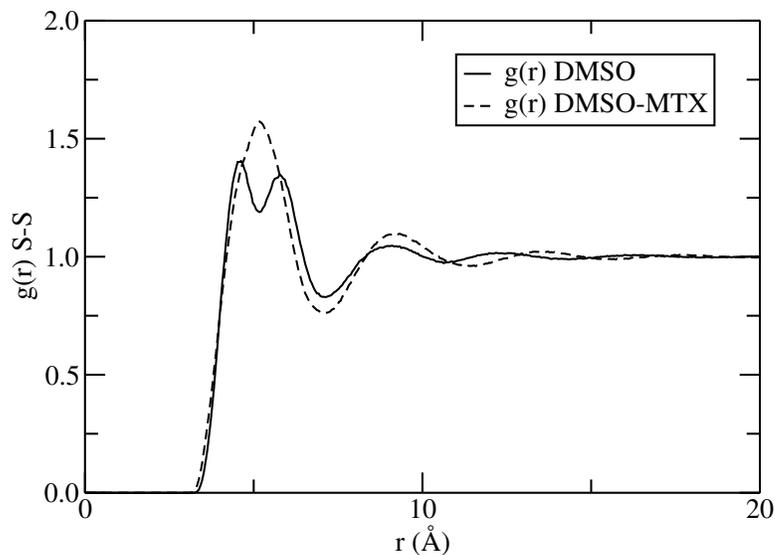


Figura 5.16: Gráfica que muestra las $g(r)$'s para el DMSO en bulto (línea continua) y el DMSO con las 9 moléculas de fármaco (línea discontinua).

De las gráficas 5.31 y 5.32 podemos ver un aumento más apreciable en la función de distribución para el caso del agua con los fármacos de lo cual nos es posible concluir que el agua prefiere alejarse del fármaco siendo así el DMSO un mejor solvente para el metotrexato.

En la Fig. 5.33 se muestra la $g(r)$ del centro de masa de las 9 moléculas de metotrexato tanto en el agua (línea continua) como en el DMSO (línea discontinua) para $t=0$. Aquí podemos apreciar que originalmente las moléculas del fármaco en el agua no estaban tan juntas aunque se observa la presencia de un primer pico muy alto, sin embargo este pico aparece a una distancia mayor con respecto al primer pico que aparece para el DMSO lo cual nos dice que en el DMSO el metotrexato se encontraban mucho más unido pero esto se da cuando el sistema aún no ha interactuado entre sí. Hay que notar que ambas $g(r)$'s tienden a 1 aunque debido a la escala esto no se puede apreciar muy bien.

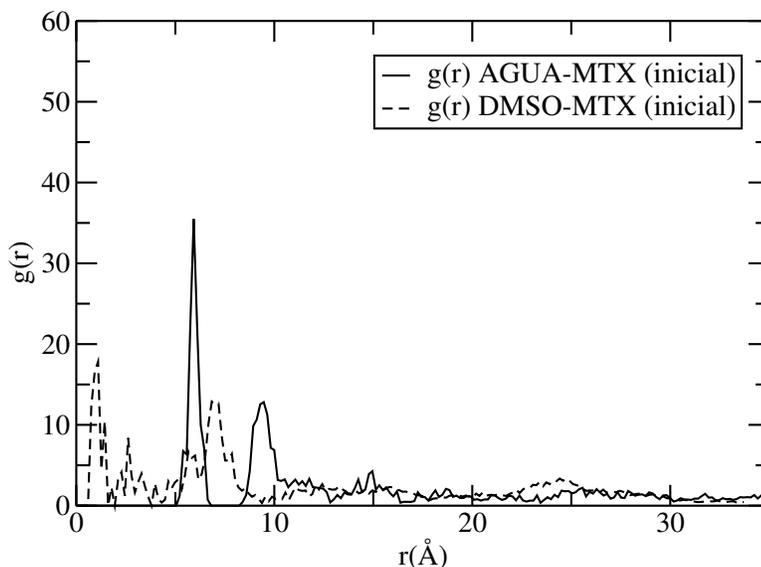


Figura 5.17: Gráfica que muestra la $g(r)$ correspondiente al centro de masas de las moléculas de metotrexato en agua (línea continua) y en DMSO (línea discontinua) para $t=0$.

La Fig. 6.4 muestra la $g(r)$ del centro de masa de las 9 moléculas de metotrexato tanto en el agua (línea continua) como en el DMSO (línea punteada) a $t=7$ ns. Lo que se puede observar de esta función en el caso del agua es que las moléculas de fármaco están muy cerca entre si ya que su gráfica presenta más picos y en particular un pico muy alto cerca de $r \approx 4$ Å. En el caso del DMSO casi no hay picos y los pocos que hay presentan una amplitud muy pequeña además estos comienzan a aparecer a valores de r muy grandes. De lo anterior es posible asumir que el DMSO se distribuye más y es mejor solvente para el metotrexato que el agua. Hay que notar que ambas $g(r)$'s tienden a 1 aunque debido a la escala esto no se puede apreciar muy bien.

De comparar las Figs. 5.33 y 6.4 tenemos que después de que el sistema ha interactuado, el metotrexato se reacomoda de tal modo que se encuentra mejor distribuido en el DMSO mientras que en el agua tiende a juntarse ya que ésta no es un buen solvente para el mismo.

5.2. FI

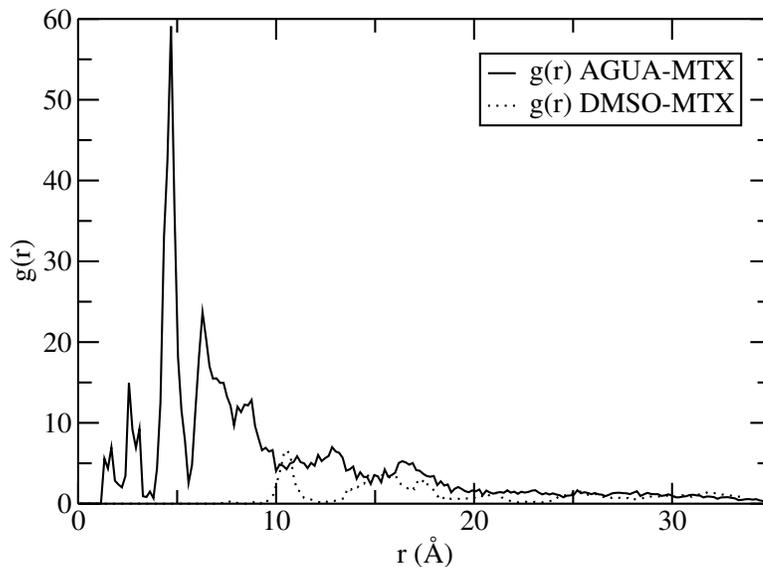


Figura 5.18: Gráfica que muestra la $g(r)$ correspondiente al centro de masas de las moléculas de metotrexato en agua (línea continua) y en DMSO (línea punteada) para $t=7$ ns.

La Fig.5.35 muestra la $g(r)$ del átomo de azufre del DMSO con el átomo de hidrógeno HO (línea punteada) del metotrexato el cual se puede ver en la Fig. 5.13 y la $g(r)$ del átomo de oxígeno del agua con el átomo de hidrógeno HO del metotrexato (línea continua). La curva punteada nos muestra que a un valor de $r \approx 2$ Å encontramos varios átomos de azufre, después de este pico se presentan otros dos de menor amplitud; este comportamiento nos deja ver que el fármaco se encuentra cercano al DMSO y que es probable la formación de puentes de hidrógeno dada la naturaleza de los átomos. La curva continua también presenta un pico en $r \approx 2$ Å aunque de muy baja intensidad, este hecho nos indica que el fármaco está alejado de las moléculas de agua. Nuevamente podemos ver que estos resultados sugieren que el DMSO es un mejor ambiente para el metotrexato.

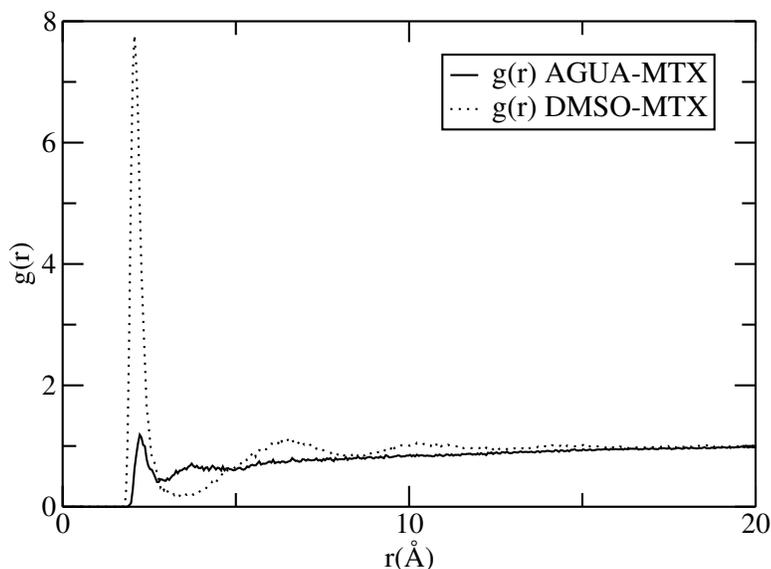


Figura 5.19: Gráfica que muestra la $g(r)$ correspondiente al átomo de oxígeno del agua con el átomo de hidrógeno HO del metotrexato (línea continua) y la $g(r)$ del átomo de azufre del DMSO con el átomo de hidrógeno HO del metotrexato (línea punteada).

La Fig.5.36 muestra la $g(r)$ del átomo de azufre del DMSO con el átomo de hidrógeno H2 (línea punteada) del metotrexato (Fig. 5.13) y la $g(r)$ del átomo de oxígeno del agua con el átomo de hidrógeno H2 del metotrexato (línea continua).

Para el caso del DMSO observamos un pico con una amplitud grande y definido seguido de otro pico de amplitud mucho más pequeña, con esto vemos que hay una gran cantidad de moléculas del DMSO cerca de las moléculas de metotrexato. Además es muy probable la formación de puentes de hidrógeno entre ambas especies de moléculas. En el caso del AGUA observamos la ausencia de picos bien definidos lo cual nos refiere que el agua se encuentra alejada del fármaco. De nueva cuenta reafirmamos que el DMSO es mejor solvente que el agua para el metotrexato.

5.2. 1

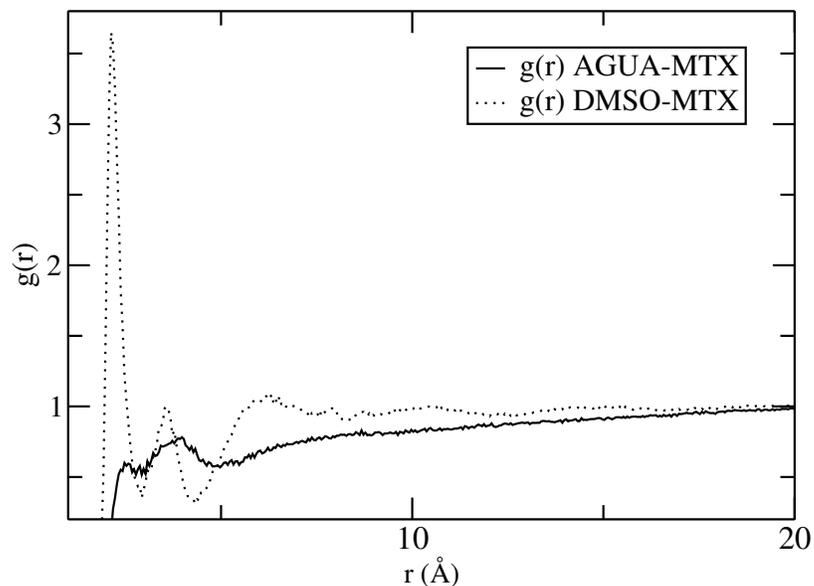


Figura 5.20: Gráfica de la $g(r)$ del átomo de oxígeno del agua con el átomo de hidrógenos H2 del metotrexato (línea continua) y la $g(r)$ del átomo de azufre del DMSO con el átomo de hidrógeno H2 del metotrexato (línea punteada).

La Fig.5.37 muestra la $g(r)$ del átomo de hidrógeno de la molécula de agua con el átomo N del metotrexato (Fig. 5.13). En esta imagen es claro que las moléculas de agua están alejadas de las moléculas del metotrexato y con ello nuevamente notamos la poca solubilidad del metotrexato en este medio. Además observamos que a pesar de los tipos de átomos escogidos no se da la formación de puentes de hidrógeno.

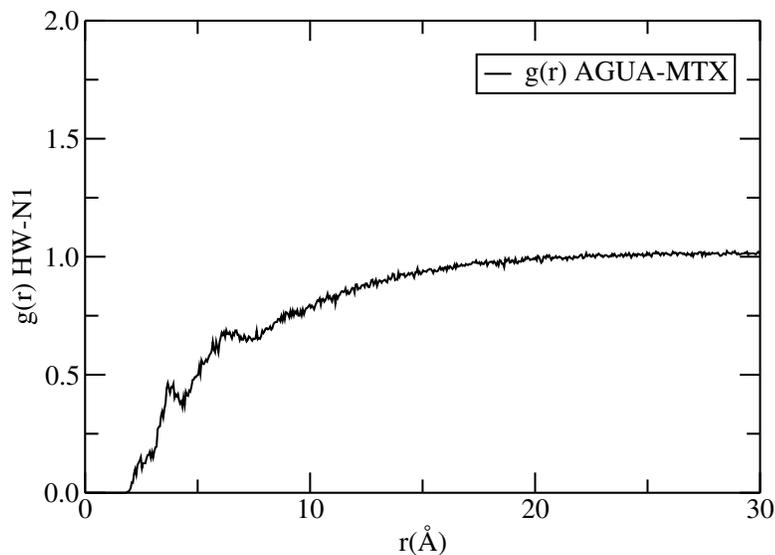


Figura 5.21: Gráfica que muestra la $g(r)$ correspondiente al átomo de hidrógeno del agua con el átomo de nitrógeno N del metotrexato.

La Fig.5.38 muestra la $g(r)$ del átomo de oxígeno del agua con el átomo de carbono CA del metotrexato (línea continua) y la $g(r)$ del átomo de azufre del DMSO con el átomo de carbono CA del metotrexato (línea punteada).

En la gráfica del DMSO con el metotrexato vemos que la mezcla se encuentra uniforme y que presenta una estructura muy parecida a las gráficas representativas de funciones de distribución para líquidos. Además, nuevamente podemos apreciar la cercanía de las moléculas del DMSO con el fármaco. En el caso del agua la gráfica nos muestra muy poca uniformidad en la mezcla y la ausencia de picos bien definidos. Con todo esto vemos que el agua está lejos de los fármacos siendo así un mal solvente para el metotrexato.

5.2. Fl

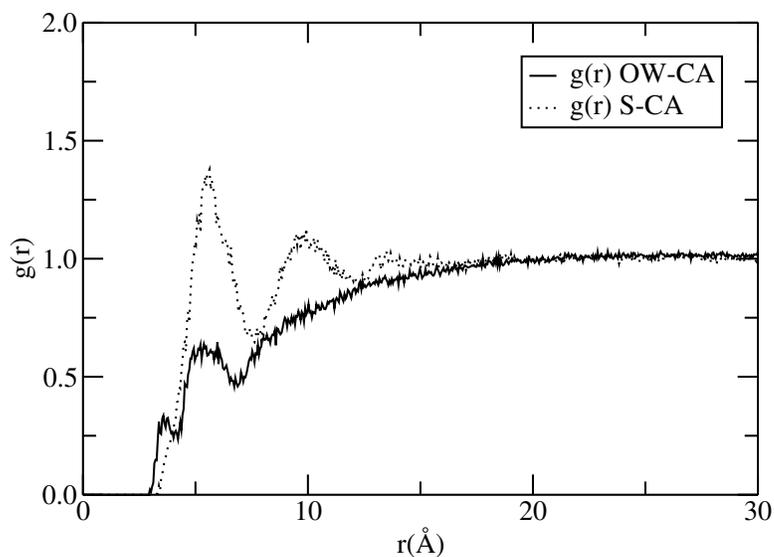


Figura 5.22: Gráfica que muestra las $g(r)$'s correspondientes al átomo de carbono CA con el átomo de oxígeno del agua (línea continua) y con el átomo de azufre del DMSO (línea punteada).

La Fig.5.39 muestra la $g(r)$ de los átomos de carbón C2 pertenecientes al metotrexato cuando el fármaco está en agua (línea continua) y en DMSO (línea punteada).

Los picos de la línea continua nos dicen que los fármacos están cercanos entre sí porque el agua es un mal solvente para el metotrexato ya que las moléculas de este permanecen juntas en regiones específicas mientras que al mirar la línea discontinua observamos la presencia de un pico de muy poca amplitud y cuya presencia aparece para un valor de r muy alto, con esto es claro que los fármacos están mejor distribuidos en DMSO.

5.3. Coeficientes de difusión

En los fluidos que se encuentran en equilibrio termodinámico existen propiedades de transporte tales como: el coeficiente de difusión, coeficiente de conductividad térmica y coeficiente de viscosidad. El coeficiente difusivo se calcula mediante la relación de Einstein:

$$2D_x = \frac{\langle \Delta X^2(t) \rangle}{t} \quad (5.4)$$

donde $\langle \Delta X^2(t) \rangle = \langle (X(0) - X(t))^2 \rangle$ representa el desplazamiento cuadrático medio en la dirección “X”. La ecuación 5.4 calcula el coeficiente de difusión en la dirección “X”, para las direcciones en “Y” y en “Z” existen ecuaciones similares.

En este trabajo se analizaron los coeficiente de difusión de los últimos átomos de la parte derecha del metotrexato, comenzando del átomo de nitrógeno N hasta el átomo de hidrógeno HO (Fig. 5.40), la selección de estos átomos se basó en que pertenecen a la parte de la molécula que es la parte móvil del metotrexato (Capítulo 4). En principio se estudiaron los coeficientes que estos átomos presentan en el agua y en el DMSO, los valores obtenidos se presentan en la tabla 5.1.

De esta misma tabla podemos ver que los coeficientes tienen valores más altos cuando el metotrexato se encuentra dentro del agua lo cual indica que al fármaco no le gusta este medio y por ello tiene una alta movilidad. Con lo anterior nos es posible concluir que la mezcla no es homogénea, esta conclusión también encuentra apoyo en los perfiles de densidad mostrados en las Figs. 5.38 - 5.39 los cuales además nos dicen que los fármacos se están moviendo juntos. Vemos que en este caso los átomos que presentan una mayor movilidad son: O2, C, C2 y HO de esto vemos que el primero y el último podrían formar puentes de hidrógeno.

En el caso del DMSO el fármaco tiene una menor movilidad pues este medio no le “incomoda” y no tiende a alejarse de las moléculas de DMSO. Por eso tenemos una mezcla homogénea para el sistema y nuevamente podemos apoyarnos en los perfiles de densidad para corroborar esta hipótesis. Así mismo vemos que los átomos con mayor coeficiente de movilidad son: HO, O2, y N los cuales están en la “cola” de la molécula y hay que notar que todos estos átomos son capaces de formar puentes de hidrógeno con la molécula de DMSO. De estos resultados concluimos que aunque nuestro modelo para el DMSO utiliza átomo unido para el CH_3 nos está describiendo posibles interacciones entre los átomos de hidrógeno de este grupo y el metotrexato.

5.3. COEFICIENTES DE DIFUSIÓN

De estos resultados podemos concluir que es el DMSO el que está interactuando con el metotrexato ya que están formando enlaces entre si. Por lo tanto es este un mejor solvente que el agua.

Tabla 5.1: Coeficientes de difusión para los átomos de la parte derecha del metotrexato en presencia del agua y del DMSO. En la tabla se muestra el coeficiente de difusión total.

átomo	coeficiente en agua	coeficiente en DMSO
N	6.4363E-10 m^2/s	0.6204E-10 m^2/s
H	6.1397E-10 m^2/s	0.5756E-10 m^2/s
CH	6.8858E-10 m^2/s	0.5101E-10 m^2/s
HC	7.0066E-10 m^2/s	0.5719E-10 m^2/s
C	7.6038E-10 m^2/s	0.5475E-10 m^2/s
O2	7.9978E-10 m^2/s	0.6414E-10 m^2/s
HO	7.5042E-10 m^2/s	0.7571E-10 m^2/s
C2	7.6092E-10 m^2/s	0.47195E-10 m^2/s

En la tabla 5.2 se presentan los coeficientes de difusión reportados para el agua y el DMSO provenientes de los modelos empleados respectivamente [19] y [24]

Tabla 5.2: Coeficientes de difusión para el DMSO con MTX y del agua con MTX. En la tabla se muestra el coeficiente de difusión total.

átomo	coeficiente reportado	átomo	coeficiente reportado
agua	3.60E-09 m^2/s	DMSO	0.88E-09 m^2/s

En la tabla 5.3 se presentan los coeficientes de difusión para las moléculas del agua cuando ésta se encuentran en bulto y para cuando ya contiene las moléculas del fármaco. De manera general los datos de la tabla dejan ver que la movilidad del agua en bulto se mantiene muy similar cuando se le agregan las moléculas de metotrexato, aumentando muy poco para el átomo HW el cual podría formar puentes de hidrógeno con la molécula del metotrexato. También de la tabla vemos que el valor obtenido por nuestras simulaciones es mayor que al reportado para el mismo modelo

5.3. COEFICIENTES DE DIFUSIÓN

Tabla 5.3: Coeficientes de difusión para los átomos de la molécula del agua en bulto y con MTX. En la tabla se muestra el coeficiente de difusión total.

átomo	coeficiente en bulto	coeficiente con MTX
OW	4.464-09 m^2/s	4.2393E-09 m^2/s
HW	4.463-09 m^2/s	4.5591E-09 m^2/s

En la tabla 5.4 se presentan los coeficientes de difusión para las moléculas del DMSO cuando se encuentran en bulto y para cuando ya contiene las moléculas del fármaco. Los datos de la tabla dejan ver que la movilidad del DMSO disminuye un orden de magnitud cuando se le agregan las moléculas de metotrexato, de lo que podemos pensar que el sistema se encuentra muy homogeneizado. Para esta molécula tenemos que el átomo con mayor movilidad es el CH_3 y que es este el que probablemente está formando más enlaces con el metotrexato, sin embargo hay que notar que los coeficientes de difusión de los distintos tipos no difieren mucho. Finalmente hay que mencionar que nuestras simulaciones obtuvieron un coeficiente un poco menor al reportado para el modelo del DMSO.

Tabla 5.4: Coeficientes de difusión para el DMSO en bulto y con MTX. En la tabla se muestra el coeficiente de difusión total.

átomo	coeficiente en bulto	coeficiente con MTX
CH3	1.0780E-09 m^2/s	0.6730E-09 m^2/s
S	1.0757E-09 m^2/s	0.6708E-09 m^2/s
O	1.0847E-09 m^2/s	0.6672E-09 m^2/s

En la tabla 6.1 se muestran los coeficientes de movilidad de ambos solventes. De aquí es un poco más claro ver que el agua se mueve más que el DMSO cuando están los fármacos. Finalmente de los resultados obtenidos a partir de los coeficientes de difusión podemos concluir que el metotrexato se disuelve en DMSO y que el DMSO es mejor solvente que el agua.

Tabla 5.5: Coeficientes de difusión para el DMSO con MTX y del agua con MTX. En la tabla se muestra el coeficiente de difusión.

átomo	coeficiente con MTX	átomo	coeficiente con MTX
CH3	6.7303E-10 m^2/s	OW	42.39E-10 m^2/s
S	6.7083E-10 m^2/s	HW	45.59E-10 m^2/s
O	6.6725E-10 m^2/s		

Capítulo 6

Conclusiones

Se realizaron simulaciones por computadora con dinámica molecular del fármaco metotrexato para el cual no hemos encontrado ningún campo de fuerzas en la literatura hasta ahora. Lo anterior se realizó con la finalidad de determinar la solubilidad del fármaco en el DMSO.

El campo de fuerzas empleado para estas simulaciones fue propuesto por nosotros en esta tesis. A partir de las propiedades medidas en el capítulo anterior se puede concluir que la molécula del metotrexato es soluble en DMSO lo cual es algo importante para la validez del campo de fuerzas propuesto por nosotros.

Con el cálculo de las densidades pudimos observar que las moléculas de metotrexato se juntan cuando se encuentran presentes en agua y esto sin importar cual sea su configuración inicial. En el caso del DMSO siempre observamos que los fármacos se distribuyen de una mejor manera en todo el volumen (Fig. 6.3).

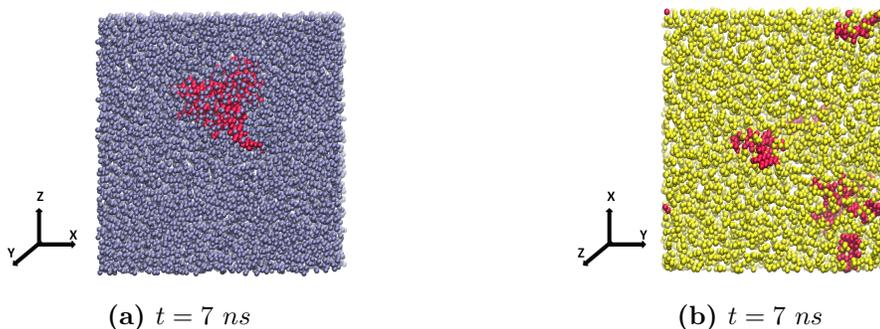


Figura 6.1: Imágenes en donde se aprecia que el fármaco tiende a formar agregados en presencia del agua.

Y gracias a las funciones de distribución por pares fue más claro observar que no sólo los fármacos tienden a juntarse sino que también se alejan de las moléculas de agua, caso contrario al comportamiento que presentan cuando están en DMSO. En la gráficas de las $g(r)$'s de los centros de masa de las moléculas alcar

Fig. 6.4).

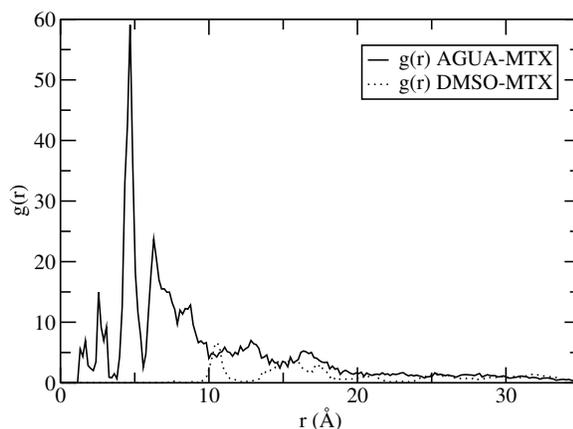


Figura 6.2: Gráfica que muestra la $g(r)$ correspondiente al centro de masas de las moléculas de metotrexato en agua (línea continua) y en DMSO (línea punteada) para $t=7$ ns.

Finalmente los coeficientes de difusión nos permitieron observar que en presencia de los fármacos el DMSO casi no tienden a moverse por lo que se concluye que en este medio se tiene una mezcla más uniforme. La solubilidad en DMSO para nuestro modelo nos permite considerarlo como un buen intento para estudiar la dinámica del metotrexato (Tabla 6.1).

Tabla 6.1: Coeficientes de difusión para el DMSO con MTX y del agua con MTX. En la tabla se muestra el coeficiente de difusión.

átomo	coeficiente con MTX	átomo	coeficiente con MTX
CH3	$6.7303E-10 \text{ m}^2/s$	OW	$42.39E-10 \text{ m}^2/s$
S	$6.7083E-10 \text{ m}^2/s$	HW	$45.59E-10 \text{ m}^2/s$
O	$6.6725E-10 \text{ m}^2/s$		

Con lo anterior tenemos que el comportamiento del fármaco varía de acuerdo al medio en el que se encuentre. Ya que el medio va a determinar la efectividad con la que el metotrexato puede formar enlaces con otras macromoléculas y para la *terapia dirigida* conocer las condiciones en que se

da formación de conjugado fármaco-macromolécula es muy importante.

Trabajos a futuro

Como complemento a este trabajo se busca añadir un dendrímero de polialquiliésteres de generación tres a las moléculas de fármaco en un medio de DMSO para definir la dinámica de la formación de este conjugado y estudiar la parte de termoestadística.

Posteriormente este conjugado se colocará en ambientes con propiedades similares a los ambientes fisiológicos para observar la dinámica del conjugado y el transporte del fármaco a otras entidades de naturaleza biológica.

Bibliografía

- [1] Anne-Marie Caminade, Cédric-Olivier Turrin, Régis Laurent, Armelle Ouali and Béatrice Delavaux-Nicot, *Dendrimers. Towards Catalytic, Material and Biomedical Uses*. Wiley (2011) pp. 440.
- [2] Malik N, Evagorou EG, Duncan R. *Dendrimer-Platinate: a novel approach to cancer chemotherapy*. PubMed-NCBI, 10:767(1999).
- [3] Fritz Vögtle, Gabriele Richardt and Nicole Werner, *Dendrimer Chemistry*. Wiley-VCH (2009) pp. 311
- [4] Istvan J. Majoros and James R. Baker Jr., *Dendrimer-Based Nanomedicine*. Pan Stanford (2008) pp.VI-X.
- [5] U Boas et al., *Dendrimers in Medicine and Biotechnology*. Cap. Dendrimers: Design, Synthesis and Chemical Properties. RSC Publishing (2005).
- [6] Elizabeth R. Gillies and Jean M.J. Fréchet. *Designing Macromolecules for Therapeutic Applications: Polyester Dendrimer-Poly(ethylene oxide) "Bow-Tie"Hybrids with Tunable Molecular Weight and Architecture*. Journal American Chemistry Society, 124:14137-14146(2002).
- [7] Jonathan Grote, Gangamani Beligere, Sushil Rege. *Methodology for the regiospecific synthesis and characterization of methotrexate conjugates*. Science Direct, 53(2012)5331-5334.
- [8] Delia Soto-Castro, Jorge A. Cruz-Morales, María Teresa Ramírez Apan, Patricia Guadarrama Acosta *Solubilization and anticancer-activity enhancement of Methotrexate by novel dendrimeric nanodevices synthesized in one-step reaction*. Science Direct, 41-42(2012)13-21.
- [9] Wen-de Tian and Yu-qiang Ma. *Coarse-grained molecular simulation of interacting dendrimers*. The Royal Society of Chemistry, 7(2011)500-5005.

BIBLIOGRAFÍA

- [10] Hwankyu Lee and Ronald G. Larson. *Coarse-grained molecular dynamics studies of the concentration and size dependence of fifth- and seventh-generation PAMAM dendrimers on pore formation in DMPC bilayer*. The Journal of Physical Chemistry B, 112:7778-7784(2008).
- [11] Jonathan R. Karr, Jayodita C. Sanghvi, Jared M. Jacobs, Derek N. Macklin, Markus W. Covert. *A Whole Cell Model of Mycoplasma Genitalem Elucidates Mechanisms of Bacterial Replication* Biophysical Journal, 102(2012)731a.
- [12] D. C. Rapaport, *The Art of Molecular Dynamics Simulation*. Cambridge (2004).
- [13] M. P. Allen and D.J. Tildesley. *Computer Simulation of Liquids*. Cap. Molecular Dynamics. Clarendon Press Oxford (1990).
- [14] Daan Frenkel and Berend Smit *Understanding Molecular Simulation. From Algorithms to Applications*. Cap Molecular Dynamics in Various Ensembles. Academic Press (1996).
- [15] David Alejandro Hernández Velázquez. Tesis de Doctorado *Simulación computacional de alcanos y perfluoroalcanos en interfaces líquido/vapor y líquido/líquido* (2013).
- [16] W. Smith, T.R Forester and I.T Todorov. *The DL_POLY_2 user manual*. 2.20 (2009).
- [17] M. Allen *Introduction to Molecular Dynamics Simulation*. Computational Soft Matter: From Synthetic Polymers to Proteins. 23:1-28 (2004).
- [18] Tonalli Rodríguez López. Tesis de Doctorado *Una descripción molecular del escalamiento termodinámicos en fluidos* (2013).
- [19] H.J.C. Berendsen, J.P.M. Postma, W.F. van Gunsteren and J. Hermans. *Interaction models for water in relation to protein hydration*. Intermolecular Forces, 1981,106,331-342.
- [20] William L. Jorgensen, Jayaraman Chandrasekhar, Jeffrey D. Madura, Roger W. Impey and Michael L. Klein. *Comparison of simple potential functions for simulating liquid water*. The Journal of Chemical Physics. 79(2):926-935,1983.
- [21] H. J. C. Berendsen, J. R. Grigera and T. P. Straatsma. *The missing term in effective pair potentials*. The journal of Physical Chemistry, 91(24):6269-6271, 1987.

-
- [22] D. H. Rasmussen and A. P. Mackenzie. *Phase Diagram for the System Water-Dimethylsulphoxide*. Nature, 220, 1315-1317(1968).
- [23] Haiyan Liu, Florian Müller-Plathe y Wilfred F. van Gunsteren. *A Force Field for Liquid Sulfoxide and Physical Properties of Liquid Dimethyl Sulfoxide Calculated Using Molecular Dynamics Simulation* Journal of the American Chemical Society, 117(1995)4363.
- [24] Patrice Bordat, Javier Sacristan, Dirk Reith, Séverine Girard, Alice Glättli, Florian Müller-Plathe. *An improved dimethyl sulfoxide force field for molecular dynamics simulations*. Chemical Physics Letters, 374(2003)201-205.
- [25] Vishnyakov, A.; Lyubartsev, A. P.; Laaksonen A. *Molecular Dynamics Simulations of Dimethyl Sulfoxide and Dimethyl Sulfoxide Water Mixture*. The Journal of Physical Chemistry A 105:1702(2001).
- [26] Liu, H.; Müller-Plathe,F.; van Gunsteren, W.F. *A Force Field for Liquid Dimethyl Sulfoxide and Physical Properties of Liquid Dimethyl Sulfoxide Calculated Using Molecular Dynamics Simulation*. Journal of the American Chemical Society 117:4363(1995).
- [27] Daan P. Geerke, Chris Oostenbrink, Nico F. A. van der Vegt and Wilfred F. van Gunsteren. *An Effective Force Field for Molecular Dynamics Simulations of Dimethyl Sulfoxide and Dimethyl Sulfoxide-Water Mixture*. Journal Physical Chemistry, 108:1436-1445(2004).
- [28] Matthew L. Strader and Scott E. Feller. *A flexible All-Atom Model of Dimethyl Sulfoxide for Molecular Dynamics Simulations*. The journal of Physical Chemistry, 2002,106,1074-1080.
- [29] Scott J. Weiner, Peter A. Kollman, David A. Case, U. Chandra Singh, Caterina Ghio, Giuliano Alagona, Salvatore Profeta Jr. and Paul Weiner. *A New Force Field Molecular Mechanical Simulation of Nucleic Acids and Proteins*. Journal of the American Chemical Society, 106:765-784 (1984).
- [30] Wendy D. Cornell, Piotr Cieplak, Christopher I. Bayly, Ian R. Gould, Kenneth M. Merz Jr., David M. Ferguson, David C. Spellmeyer, Thomas Fox, James W. Caldwell and Peter A. Kollman. *A Second Generation Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids, and Organic Molecules*. Journal of the American Chemical Society .,117:5179-5197 (1995).

BIBLIOGRAFÍA

- [31] Anna Tomberg *Gaussian 09W Tutorial. An Introduction to Computational Chemistry Using G09W and Avogadro Software*. Macgill University(2012).
- [32] Sam Allen, Edwin L. Thomas *The Structure of Materials*. Wiley(1999)
- [33] Thomas M. Reed y Keith E. Gubbins *Applied Statistical Mechanics*. Cap. Distribution-function Theory of Equilibrium Fluids. McGraw-Hill(1973).
- [34] Alenka Luzar, A. K. Soper, David Chandler *Combined neutron diffraction and computer simulation study of liquid dimethyl sulphoxide*. The Journal of Chemical Physics, 99, 6836(1993)