



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

LipbraryCG: Un campo de fuerza de estructuras lipídicas para simulaciones en Coarse-Grained.

PATROCINANTE

Prof. Javier O. Morales M.
Laboratorio de *Drug Delivery*
Departamento de Ciencias y Tecnología Farmacéutica
CENDHY, Center of new drugs for hypertension

DIRECTORES DE MEMORIA

Prof. Javier O. Morales M.
Laboratorio de *Drug Delivery*
Departamento de Ciencias y Tecnología Farmacéutica
CENDHY, Center of new drugs for hypertension
Dr. Osvaldo Yáñez Osses
Laboratorio de *Drug Delivery*
CENDHY, Center of new drugs for hypertension

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

JAVIER IGNACIO SANHUEZA FLORES

Santiago, Chile

2022

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Profesor Javier Morales Montecinos y al Dr. Osvaldo Yañez Osses, junto con el Laboratorio de *Drug Delivery* de la Universidad de Chile y CENDHY, por darme la oportunidad y la confianza de realizar este proyecto de tesis, además de la guía y orientación a lo largo de toda la memoria.

Agradezco también a mi familia, por siempre haber estado ahí para apoyarme, escucharme y aconsejarme cada vez que lo necesité.

Y Especialmente agradezco a mi compañera de vida, María José, que de no ser por su apoyo y ejemplo durante toda la etapa universitaria, nada de esto hubiera sido posible. Muchas gracias por ayudarme y motivarme a mejorar día tras día.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE TABLAS	x
LISTADO DE ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS	xi
RESUMEN.....	xii
SUMMARY	xiii
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Las nanopartículas como sistemas de liberación de medicamentos.....	1
1.2. Nanopartículas lipídicas.....	2
1.3. Dinámicas Moleculares (MD).....	3
1.4. Campos de Fuerza (FF).....	5
II. HIPÓTESIS	7
III. OBJETIVOS	7
3.1. Objetivo General	7
3.2. Objetivos Específicos	7
IV. METODOLOGÍA	8
4.1. Elección de moléculas lipídicas.....	8
4.1.1. Construcción de topología para el campo de fuerza.....	9
4.2. Parametrización del campo de fuerza.....	12
4.3. Implementación de los modelos en simulaciones moleculares.....	14
4.3.1. Preparación de los sistemas <i>All-atoms</i>	15
4.3.2. Dinámicas de los sistemas <i>All-atoms</i>	15
4.3.3. Preparación de los sistemas <i>Coarse-grained</i>	16
4.3.4. Dinámicas de los sistemas <i>Coarse-grained</i>	16
4.4. Comparación y validación de los modelos.....	17
4.4.1. Función de distribución radial.....	17

4.4.2. Función de radio de giro.....	18
4.5. Sistemas micelares.....	18
4.5.1. Sistema de tween 80.....	18
4.5.2. Sistema de micela híbrida de núcleo lipídico.....	19
4.5.3. Sistema de transportador lipídico nanoestructurado.....	20
4.5.3.1. Sistema NLC solo.....	20
4.5.3.2. Sistema NLC con claritromicina.....	20
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
5.1. Modelos.....	22
5.2. Comparación y validación de los modelos.....	23
5.2.1. Función de distribución radial y radio de giro.....	24
5.2.1.1. Monoglicérido de ácido láurico.....	24
5.2.1.2. Triglicérido Caprílico.....	25
5.2.1.3. Tween 80.....	26
5.3. Sistemas micelares.....	28
5.3.1. Sistema de tween 80.....	28
5.3.2. Sistema de micela híbrida de núcleo lipídico.....	30
5.3.3. Sistema de transportador lipídico nanoestructurado.....	33
5.3.3.1. Sistema NLC solo.....	33
5.3.3.2. Sistema NLC con claritromicina.....	36
VI. CONCLUSIONES.....	39
VII. REFERENCIAS.....	41
VIII. ANEXOS.....	46
8.1. Anexo I: Glosario.....	46
8.2. Anexo II: Parámetros No enlazantes utilizados en el campo de fuerza.....	48
8.3. Anexo III: <i>Scripts</i> utilizados.....	51
8.3.1. Script I: Topology.py.....	51

8.3.2. Script II: Make-CG-psf.tcl	53
8.3.3. Script III: Solvate.tcl	54
8.3.4. Script IV: Measure_Dimension_Center.tcl	55
8.3.5. Script V: Main_gyr.tcl.....	56
8.3.6. Script VI: Sasa.tcl.....	57
8.3.7. Script VII: Contactos.tcl.....	58
8.4. Anexo IV: Archivo de configuración NAMD.....	60
8.5. Anexo V: Modelos <i>all atoms / coarse grained</i>	62
8.5.1. Diglicérido de ácido láurico	62
8.5.2. PEG de ácido láurico.....	62
8.5.3. Mono glicérido de ácido láurico.....	62
8.5.4. Tri glicérido de ácido láurico	63
8.5.5. Tri glicérido cáprico	63
8.5.6. Tri glicérido caprílico.....	64
8.5.7. Tween 80.....	64
8.5.8. Span 80.....	65
8.5.9. Kolliphor HS15	65
8.5.10. Tween 20.....	66
8.5.11. Labrafac 01.....	66
8.5.12. Labrafac 02.....	67
8.5.13. Labrasol.....	67
8.5.14. Poloxamer P188	67
8.6. Anexo VI: Gráficos de RDF y radio de Giro de todas las moléculas trabajadas.	68
8.6.1. Di glicérido de ácido láurico	68
8.6.2. PEG de ácido láurico.....	68
8.6.3. Mono glicérido de ácido láurico.....	69
8.6.4. Tri glicérido de ácido láurico	69

8.6.5. Tri glicérido cáprico.....	70
8.6.6. Tri glicérido caprílico.....	70
8.6.7. Tween 80.....	71
8.6.8. Span 80.....	71
8.6.9. Kolliphor HS15	72
8.6.10. Tween 20.....	72
8.6.11. Labrafac 01.....	73
8.6.12. Labrafac 02.....	73
8.6.13. Labrasol.....	74
8.6.14. Poloxamer P188	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Ejemplos de algunos tipos de nanopartículas desarrolladas como sistemas de liberación de medicamentos.	2
Figura 2	Escalas de tiempo y tamaño típicas de diferentes técnicas de simulación, marcadas con cuadro rojo las técnicas que conforman las bases de esta memoria (AA-MD y CG-MD).	4
Figura 3	Representación de átomos de una molécula agrupados en las <i>beads</i> de un modelo CG.	4
Figura 4	Ecuación que describe las distintas interacciones que se expresan en un campo de fuerza.	5
Figura 5	Visualización de una molécula de benceno en Biovia Discovery Studio (Izquierda) y VMD (derecha).	9
Figura 6	Esquema resumen del proceso de creación de un modelo CG a partir de un modelo AA.	12
Figura 7	Esquema preparación de sistemas para AA-MD y CG-MD.	17
Figura 8	Caja de simulación de los modelos CG (Izquierda) y AA (derecha) solvatados en agua.	17
Figura 9	Modelos CG de las 14 moléculas utilizadas en esta memoria.	22
Figura 10	A. Gráfico de RDF de la simulación AA del monoglicérido de ácido láurico, B. Gráfico de RDF de la simulación CG del monoglicérido de ácido láurico, C. Gráfico de radio de giro (AA v/s CG) del monoglicérido de ácido láurico.	24
Figura 11	A. Gráfico de RDF de la simulación AA del triglicérido caprílico, B. Gráfico de RDF de la simulación CG del triglicérido caprílico, C. Gráfico de radio de giro (AA v/s CG) del triglicérido caprílico.	25
Figura 12	A. Gráfico de RDF de la simulación AA del tween 80, B. Gráfico de RDF de la simulación CG del tween 80, C. Gráfico de radio de giro (AA v/s CG) del tween 80.	26

Figura 13	<i>Snapshot</i> de tween 80 con su sección hidrofóbica (color negro) envuelta por la sección hidrofílica (color rojo y amarillo), durante la MD descrita en el punto 4.4.4.	27
Figura 14	Evolución del Sistema de tween 80 desde los 0 ns a los 10 ns. Las partículas color rojo corresponden a la sección hidrofílica (COCO, EO y EOR) de las moléculas, las partículas color negro corresponden a la porción hidrofóbica (CT4, CM y CM2) de las moléculas, y las partículas color amarillo corresponden a los hidroxilos terminales (OA) de las moléculas.	28
Figura 15	Radio de giro de la micela de tween 80 durante los 100 ns de simulación.	29
Figura 16	Vista en sección transversal de la nanopartícula de tween 80 en su último fotograma de simulación, donde el color negro corresponde a la sección hidrofóbica, el rojo a la sección hidrofílica y el amarillo a los OH terminales.	30
Figura 17	Evolución del Sistema de LCM desde los 0 ns a los 100 ns. Las partículas color rojo corresponden a la sección hidrofílica (COCO, EO y EOR) de las moléculas, las partículas color negro corresponden a la porción hidrofóbica (CT4, CM y CM2) de las moléculas, y las partículas color amarillo corresponden a los hidroxilos terminales (OA) de las moléculas.	31
Figura 18	Radio de giro de la nanopartícula LCM durante los 100 ns de simulación.	31
Figura 19	Vista en sección transversal del sistema de LCM en su último fotograma de simulación, donde el color negro corresponde a la sección hidrofóbica, el rojo a la sección hidrofílica y el amarillo a los OH terminales.	32
Figura 20	Sistema NLC en tiempo 0 versus último fotograma de simulación. Las partículas color rojo corresponden a la sección hidrofílica (COCO, EO y EOR) de las moléculas, las partículas color negro corresponden a la porción hidrofóbica (CT4, CM y CM2) de las moléculas, y las partículas color amarillo corresponden a los hidroxilos terminales (OA) de las moléculas.	33
Figura 21	Vista en sección transversal del sistema NLC en su último fotograma de simulación, donde el color negro corresponde a la sección hidrofóbica de la molécula, el rojo a la sección hidrofílica y el amarillo a los OH terminales.	34
Figura 22	Radio de giro de la nanopartícula NLC durante los 100 ns de simulación.	34

Figura 23	Evolución del Sistema de NLC desde los 0 ns a los 100 ns. Las partículas color rojo corresponden a la sección hidrofílica (COCO, EO y EOR) de las moléculas, las partículas color negro corresponden a la porción hidrofóbica (CT4, CM y CM2) de las moléculas, las partículas color amarillo corresponden a los hidroxilos terminales (OA) de las moléculas y las moléculas color cian corresponden a la claritromicina.	36
Figura 24	Modelo de claritromicina CG superpuesto a modelo AA	37
Figura 25	Sistema NLC con claritromicina en su último fotograma de simulación, el color blanco transparente corresponde a la nanopartícula y el color cian corresponde a las moléculas de claritromicina.	37
Figura 26	Gráfico del % de claritromicina que ingresa al núcleo del sistema NLC en función del tiempo en nanosegundos.	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Listado de moléculas relevantes para el desarrollo de nanopartículas lipídicas seleccionadas para esta memoria.	8
Tabla 2	Nombre de residuo de cada molécula estudiada.	11
Tabla 3	Descripción y nomenclatura de cada tipo de <i>bead</i> utilizada en esta memoria	11
Tabla 4	Parámetros de enlace definidos para el campo de fuerza.	13
Tabla 5	Parámetros de ángulo definidos para el campo de fuerza.	14
Tabla 6	Composición sistema de micela híbrida de núcleo lipídico.	19
Tabla 7	Composición sistema NLC solo.	20
Tabla 8	Tabla comparativa de número de átomos en modelo <i>all atoms</i> versus número de <i>beads</i> en modelo <i>coarse-grained</i> .	23

LISTADO DE ACRÓNIMOS Y ABREVIATURAS

AA	<i>All Atoms</i> (Atomístico).
CG	<i>Coarse Grained</i> (Grano Grueso)
CM	<i>Continuum Mechanics</i> (Mecánicas continuas)
FF	<i>Force Field</i> (Campo de Fuerza)
LDC	<i>Lipid/Drug Conjugates</i> (Conjugados Lípido/Fármaco)
LCM	<i>Lipid Core Micelles</i> (Micelas Híbridas de Núcleo Lipídico)
MD	<i>Molecular Dynamics</i> (Dinámicas Moleculares)
MM	<i>Molecular Mechanics</i> (Mecánicas Moleculares)
NLC	<i>Nanostructured Lipid Carrier</i> (Transportadores Lipídicos Nanoestructurados)
ns	nanosegundo
QM	<i>Quantum Mechanics</i> (Mecánicas Cuánticas)
RDF	<i>Radial Distribution Function</i> (Función de Distribución Radial)
SLN	<i>Solid Lipid Nanoparticles</i> (Nanopartículas Lipídicas Sólidas)

RESUMEN

Uno de los desafíos más importantes en la terapia farmacológica para el tratamiento de enfermedades es lograr que los principios activos alcancen concentraciones considerables en el órgano o sitio de acción, es decir, lograr que los fármacos exhiban una acción sitio-específica para de esta manera optimizar los tratamientos, reducir dosificaciones y evitar reacciones adversas relacionadas a su consumo. Una manera de lograrlo es mediante el uso de nanopartículas lipídicas como vehículos de transporte y liberación de medicamentos. Es posible optimizar el estudio y desarrollo de formulaciones de nanopartículas como sistemas de liberación de medicamentos mediante el uso de simulaciones por dinámicas moleculares, ya sean *all atoms* o *coarse-grained*, ya que de esta manera se utilizan los recursos computacionales disponibles para predecir el comportamiento que tendrán distintas moléculas lipídicas en un medio, observar la convergencia de estas en la conformación de la nanopartícula y así obtener una aproximación al comportamiento que tendrá cada formulación al ser ensayada experimentalmente.

En esta memoria se desarrolló un campo de fuerza en *coarse-grained* para moléculas lipídicas que están relacionadas al desarrollo de nanopartículas lipídicas como sistemas de liberación de medicamentos dentro del laboratorio de *Drug Delivery* de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile, con el propósito de obtener una manera de estudiar y predecir el comportamiento de diferentes moléculas lipídicas y observar su resultado en conformación de nanopartícula. Para esto se generaron modelos *coarse-grained* de 14 moléculas lipídicas junto con los parámetros necesarios para llevar a cabo dinámicas moleculares. Se compararon estos modelos *coarse-grained* frente a su contraparte *all-atoms* mediante el uso de simulaciones por dinámica molecular clásica, a través de las cuales se obtuvieron la función de distribución radial y radio de giro, obteniendo resultados similares entre ambos modelos, *all atoms* y *coarse-grained*.

Posteriormente, con los modelos generados, se ensayaron tres formulaciones de nanopartículas, una de tween 80, una de micela híbrida de núcleo lipídico y una de transportador lipídico nanoestructurado. Estas últimas dos han sido desarrolladas dentro del laboratorio de *Drug Delivery*, y fueron simuladas para observar su comportamiento en un medio acuoso durante el transcurso de dinámicas moleculares de 100 ns y evidenciar la formación y/o estabilidad de las respectivas nanopartículas resultantes. A partir de esto se concluyó que el campo de fuerza desarrollado en esta memoria puede ser utilizado como una herramienta para el estudio y desarrollo de formulaciones de nanopartículas lipídicas, además de también ser capaz de combinarse con otros campos de fuerza clásicos para ampliar el estudio a la interacción de estas nanopartículas con distintos medicamentos.

SUMMARY

One of the most important challenges in pharmacological therapy for the treatment of diseases is to achieve that the active principles reach considerable concentrations in the organ or site of action, i.e., to achieve that the drugs exhibit a site-specific action in order to optimize treatments, reduce dosages and avoid adverse reactions related to their consumption. One way to achieve this is through the use of lipid nanoparticles as transport and drug delivery vehicles. It is possible to optimize the study and development of nanoparticle formulations as drug delivery systems through the use of molecular dynamics simulations, whether they are all atoms or coarse-grained, thereby available computational resources are used to predict the behavior that several lipid molecules will have in a medium, observe the convergence of these in nanoparticle conformation and thus obtain an approximation of the behavior each formulation will have when experimentally tested.

In this memory project, a coarse-grained force field was developed for lipid molecules that are related to the development of lipid nanoparticles as drug delivery systems within the drug delivery laboratory of the Faculty of Chemical and Pharmaceutical Sciences of University of Chile, with the purpose of obtaining a way to study and predict the behavior of different lipid molecules and observe their result in nanoparticle conformation. For this, coarse-grained models of 14 lipid molecules were generated along with the necessary parameters to carry out molecular dynamics, these coarse-grained models were compared against their all-atoms counterpart by using classical molecular dynamics simulation, through which the radial distribution function and radius of gyration were obtained, obtaining similar results between both models, all atoms and coarse-grained.

Subsequently, with the generated models, three formulations of nanoparticles were tested, one of tween 80, a lipid-core micelle system and a nanostructured lipid carrier system, these last two systems worked within the drug delivery laboratory, to observe their behavior in an aqueous medium during molecular dynamics of 100 ns and denote the formation and/or stability of the respective resulting nanoparticles. From this it was concluded that the force field developed in this memory can be used as a tool for the study and development of lipid nanoparticle formulations, in addition to being able to be combined with other classical force fields to extend the study to the interaction of these nanoparticles with different drugs.

I. INTRODUCCIÓN

Uno de los desafíos más importantes al tratar una enfermedad es conseguir que los fármacos utilizados para el tratamiento lleguen al sitio objetivo y alcancen concentraciones terapéuticamente considerables para así maximizar la efectividad de este y evitar la aparición de reacciones adversas por la acumulación de activo en otros órganos, es decir, es necesario lograr una especificidad al sitio deseado por parte del fármaco o terapia farmacológica. Las formas farmacéuticas convencionales, es decir, formas farmacéuticas que no tienen ningún tipo de modificación en su composición para afectar a su velocidad ni sitio de liberación (comprimidos, cápsulas, jarabes o polvos), no son del todo efectivas a la hora de lograr una acción sitio-específica. (1) Esto puede ser solucionado mediante el uso de sistemas de liberación de medicamentos donde el fármaco o principio activo es transportado exclusivamente al lugar de acción. (2) Adicionalmente, los sistemas de liberación de medicamentos son capaces de proteger a los fármacos de la degradación, metabolización y eliminación maximizando de esta manera la eficacia del medicamento al permitirle alcanzar mejores concentraciones en el sitio de acción. (3)

1.1. Las nanopartículas como sistemas de liberación de medicamentos.

Las nanopartículas son definidas como dispersiones particuladas o partículas sólidas con un rango de tamaño que va desde los 1 a los 1000 nm. (4) Son ampliamente usadas para propósitos médicos, como diagnóstico y tratamiento de enfermedades, (5) ya que tienen propiedades fisicoquímicas y biológicas únicas, como por ejemplo su gran área en relación con su tamaño y su habilidad para atravesar barreras celulares y tejidos.

De acuerdo con el método de preparación utilizado, es posible obtener distintos tipos de nanopartículas. La elección de la matriz y su método de preparación dependerá de distintos factores que incluyen: (4)

- El tamaño de la nanopartícula deseado.
- Propiedades inherentes del fármaco.
- Características superficiales como la carga y la permeabilidad.
- Grado de biocompatibilidad, toxicidad y biodegradabilidad.
- Perfil de liberación del fármaco.
- Antigenicidad de la nanopartícula.

Dentro de los sistemas nanométricos que han sido probados como sistemas de liberación de medicamentos encontramos a los liposomas, nanopartículas lipídicas, dendrímeros, polímeros, materiales de carbón y silicio, nanopartículas inorgánicas y nanopartículas magnéticas (Figura 1). (3)

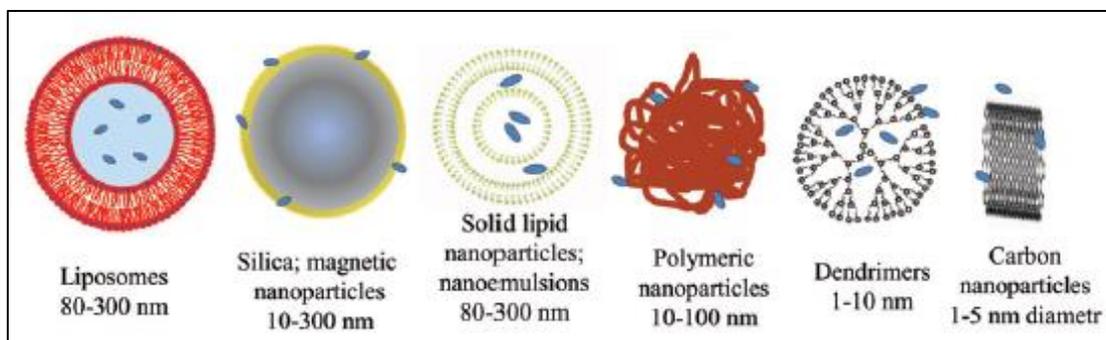


Figura 1. Ejemplos de algunos tipos de nanopartículas desarrolladas como sistemas de liberación de medicamentos. (3)

1.2. Nanopartículas lipídicas.

Existen tres tipos principales de nanopartículas lipídicas: nanopartículas lipídicas sólidas (SLN), transportadores lipídicos nanoestructurados (NLC) y conjugados lípido/fármaco (LDC).

Las SLN son partículas confeccionadas con una matriz de lípidos sólidos a temperatura ambiente con estabilizadores y tensoactivos. Estos lípidos pueden ser triglicéridos altamente purificados, mezclas de glicéridos complejos e incluso ceras. Las principales características de las SLN son su excelente estabilidad, protege a los fármacos propensos a la degradación, pueden tener liberación controlada y ser sitio-específicos. Sus desventajas más ocurrentes son que poseen poca capacidad de carga de fármaco y el fármaco es expulsado después de la transición polimórfica del lípido sólido en el núcleo durante el almacenamiento. (6)

Las NLC consisten en una matriz lipídica no estructurada hecha de una mezcla de lípidos líquidos y sólidos en una fase acuosa que contiene tensoactivos o una mezcla de ellos. (7) La incorporación de lípidos líquidos en este tipo de nanopartícula permite una mejor carga de los fármacos liposolubles, ya que estos son más solubles en lípidos líquidos que en sólidos, (6) y además se evita la transición polimórfica o la cristalización del núcleo. (8)

Por último, tenemos a los LDC, los cuales son moléculas de fármaco que han sido modificadas covalentemente con lípidos que pueden ser o no adicionadas a otros tipos de nano transportadores. Este tipo de nanopartícula ha demostrado tener varias ventajas por sobre las otras, como una biodisponibilidad oral aumentada, mejor acción sitio-específica, toxicidad reducida y mejoras en la carga de fármaco en transportadores, también permitiendo la incorporación de fármacos hidrofílicos en otros tipos de nanopartículas mediante la utilización de LDC. (9)

1.3. Dinámicas Moleculares (MD).

Como podemos suponer, el proceso para lograr llegar a una formulación de una nanopartícula ya sea lipídica o de otro tipo, es complejo, requiere de un estudio de la composición y métodos de preparación de esta que en la práctica experimental puede extenderse en el tiempo antes de llegar a la formulación deseada con las propiedades y comportamiento esperado. Es por esto que el tiempo podría verse significativamente reducido mediante el uso de MD en las etapas tempranas de formulación y ensayo de las nanopartículas.

Las MD son un método de simulación computacional utilizado para analizar el comportamiento físico de átomos y moléculas a través del movimiento de estas mediante los diferentes tipos de interacciones atómicas y moleculares que puedan presentar. Es una técnica que permite calcular las propiedades de transporte y equilibrio de sistemas clásicos de muchas partículas, la cual enfatiza que el movimiento de estas obedece a las leyes de la mecánica clásica, es decir, se sigue la evolución de un sistema en el tiempo para cada átomo o partícula conforme se resuelven las ecuaciones de movimiento de Newton. (10) Dicho esto, las MD son capaces de mostrar el comportamiento de distintas moléculas lipídicas en solución y predecir el autoensamblaje y estabilidad de diferentes composiciones de nanopartículas.

Dentro de las dinámicas y simulaciones moleculares existen distintos tipos de escalas de tiempo y complejidad en donde tenemos 3 principales tipos:

- Mecánicas cuánticas (QM), las cuales son modelos que buscan describir las propiedades físicas de sistemas subatómicos con escalas de tiempo que van desde los femtosegundos hasta los picosegundos y tamaños menores a nanómetros.
- Mecánicas moleculares (MM), en los cuales podemos encontrar modelos más complejos, compuestos por sistemas moleculares donde se busca describir el comportamiento inter e intramolecular con escalas de tiempo que van desde los picosegundos hasta los segundos inclusive y tamaños que llegan hasta los micrómetros.
- Mecánicas continuas (CM), donde se pueden encontrar sistemas de una escala mayor (sistemas milimétricos con tiempos de simulación de segundos) en los cuales se analiza un material como un todo y las propiedades específicas de sus componentes (moléculas – átomos) pierden importancia. (11)

Para efectos de esta memoria nos centraremos en el punto medio de la escala de las dinámicas y simulaciones moleculares (Figura 2), es decir, las MM, específicamente en los modelos *all-atoms* (AA) y *coarse-grained* (CG).

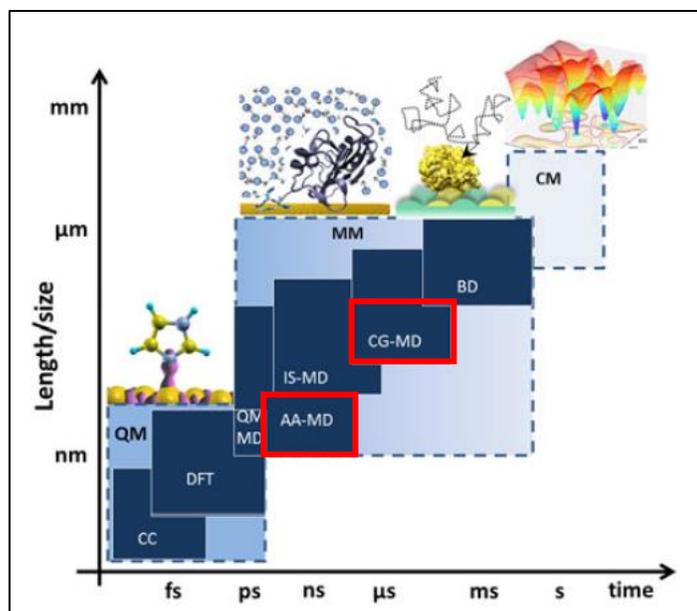


Figura 2. Escalas de tiempo y tamaño típicas de diferentes técnicas de simulación, marcadas con cuadro rojo las técnicas que conforman las bases de esta memoria (AA-MD y CG-MD). (11)

Los modelos AA proveen información estructural y dinámica en sistemas moleculares donde una molécula es descrita como una serie de esferas con carga, haciendo representación a los átomos que componen esta molécula, unidas por resortes, representando a los enlaces, en los cuales se calcula el comportamiento dependiente del tiempo del sistema. (12) Si bien las AA-MD tienen la capacidad de reproducir con mucha precisión las propiedades fisicoquímicas y termodinámicas de diversos sistemas moleculares, están limitadas por el tamaño y tiempo que pueden simular y por los recursos computacionales disponibles. Las nanopartículas y su auto agregación en formas lipídicas son campos activos de estudio los cuales se han visto complicados dado el limitado tiempo y tamaño de las simulaciones. (13)

Para optimizar estas limitaciones, se usan los modelos CG, (14) en donde se simplifican los modelos atómicos a modelos donde varios átomos son agrupados en una esfera (*bead*). Estas esferas son conectadas unas con otras por medio de resortes para representar sus enlaces, logrando que cientos de átomos en una molécula se traduzcan en unas cuantas *beads*, (15) y así el sistema molecular sea menos demandante de procesar para un mismo equipo computacional. Este proceso se realiza a través de distintas aproximaciones matemáticas, donde se

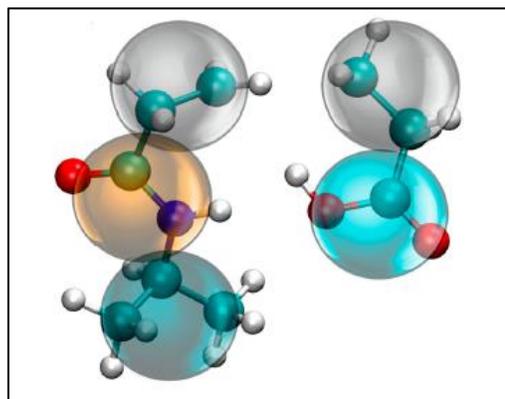


Figura 3. Representación de átomos de una molécula agrupados en las *beads* de un modelo CG. (12)

trata de conservar lo mejor posible las características del modelo AA-MD, reduciendo lo más posible los grados de libertad moleculares disminuyendo el número de partículas a simular (Figura 3) consiguiendo mayores tiempos de simulación, pasando de microsegundos a milisegundos, y reduciendo también los costos computacionales. (16) Sin embargo, esto también significa una menor precisión en la representación de las propiedades fisicoquímicas individuales mientras más se reduce la resolución del modelo. (17)

Adicionalmente, los modelos CG son bastante más versátiles que los AA ya que de acuerdo a la necesidad y propósito de estudio se puede trabajar con niveles más detallados o más gruesos para dar más detalle o simplicidad al modelo respectivamente. (18) Además, es posible también trabajar con distintos niveles de detalle a la vez, incluso en conjunto con modelos AA parcialmente implementados en una simulación CG-MD, como por ejemplo en un modelo de una proteína donde una sección está representada parcialmente por un modelo AA mientras que el resto se representa por el modelo CG. (19)

1.4. Campos de Fuerza (FF).

Durante los últimos años se han desarrollado diversos FF que son de utilidad a la hora de simular tanto modelos AA como CG, dependiendo del tipo de molécula y propósito que se quiere estudiar. En el caso de CG, los FF describen la interacción de las *beads* mediante la contribución total de los átomos enlazantes y no enlazantes (Figura 4).

$$U = \sum_{\text{enlace}} + \sum_{\text{ángulo}} + \sum_{\text{torsion}} + \sum_{L-J} + \sum_{\text{Coulomb}}$$

Figura 4. Ecuación que describe las distintas interacciones que se expresan en un campo de fuerza. (20)

Un FF es una serie de parámetros que son almacenados en una base de datos que son de utilidad cuando se desea realizar un mapeo de un modelo CG y que puede agilizar y facilitar este proceso. (21) Existen distintos FF ya implementados con distintos fines y orientados a distintos tipos de biomoléculas. Algunos ejemplos incluyen a MARTINI, inicialmente desarrollado para simulaciones de lípidos y luego extendido a varias otras moléculas (22); SIRAH, desarrollado para simulaciones del agua, ADN y proteínas (23); AMBER, desarrollado para aminoácidos y ácidos nucleicos (24); GROMOS, para sistemas biomoleculares (25), etc. La ventaja de los FF es que de acuerdo con el propósito y las moléculas en estudio pueden facilitar el mapeo y la construcción de un modelo CG o AA sin la necesidad de definir un modelo matemático exclusivo para cada molécula.

Si bien existen FF diseñados para lípidos tradicionales, en la actualidad no se encuentra disponible un FF en CG) que esté exclusivamente diseñado para moléculas lipídicas útiles en la preparación de nanopartículas que puedan ser utilizadas como sistemas de liberación de medicamentos. Por esto, en esta memoria se desarrolló un FF en CG para la plataforma NAMD que contiene la topología y parámetros necesarios para el mapeo y construcción en CG de diferentes moléculas involucradas en el desarrollo de nanopartículas como sistemas de liberación y transporte de medicamentos.

Se espera que esta memoria pueda ser de utilidad y resulte beneficiosa en futuras investigaciones relacionadas con el desarrollo de nuevas nanopartículas, ya que el uso de este FF permitiría predecir el comportamiento de los sistemas, su equilibrio en la conformación de la nanopartícula y de este modo sistematizar el desarrollo de nuevas formulaciones.

II. HIPÓTESIS

Mediante el desarrollo de un campo de fuerza *coarse-grained* es posible sistematizar el estudio y desarrollo de formulaciones de nanopartículas lipídicas mediante la predicción de la auto agregación de moléculas lipídicas hasta su conformación en nanopartículas.

III. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

Desarrollar e implementar un Campo de Fuerza (FF) en escala *Coarse-grained* (CG) para nanopartículas lipídicas y de esta manera predecir propiedades fisicoquímicas y termodinámicas a través de simulaciones por dinámica molecular, tanto *all-atoms* (AA-MD) como *coarse-grained* (CG-MD).

3.2. Objetivos Específicos

- 3.2.1. Construir la topología AA y traspasar a topología CG de moléculas lipídicas relacionadas al desarrollo de nanopartículas como sistemas de liberación de medicamentos.
- 3.2.2. Generar la parametrización del FF en CG para estas moléculas lipídicas.
- 3.2.3. Desarrollar simulaciones moleculares AA-MD y CG-MD de estas nanopartículas a través de la utilización del software NAMD y un servidor *cluster*.
- 3.2.4. Comparar y validar los modelos CG frente a su contraparte AA mediante los resultados obtenidos en las simulaciones moleculares a través del cálculo de la función de distribución radial (RDF) y su radio de giro.
- 3.2.5. Generar sistemas con estas moléculas lipídicas a través de simulaciones CG-MD para caracterizar el comportamiento y la auto agregación de las moléculas en una nanopartícula.

IV. METODOLOGÍA

4.1. Elección de moléculas lipídicas.

Las moléculas lipídicas seleccionadas para esta memoria fueron las involucradas en tres formulaciones de nanopartícula que estaban siendo estudiadas dentro del laboratorio de *Drug Delivery* de la Universidad de Chile (Tabla 1).

Tabla 1. Listado de moléculas relevantes para el desarrollo de nanopartículas lipídicas seleccionadas para esta memoria.

Compuesto comercial	Molécula	CAS	Fórmula Química	Peso molecular (g/mol)	Numero de átomos
Gelucire 44-14	Diglicérido de ácido láurico	27638-00-2	C ₂₇ H ₅₂ O ₅	457	84
	PEG de ácido láurico	106-08-1	C ₂₂ H ₄₄ O ₇	420	73
	Monoglicérido de ácido láurico	142-18-7	C ₁₅ H ₃₀ O ₄	274	49
	Triglicérido de ácido láurico	538-24-9	C ₃₉ H ₇₄ O ₆	639	119
Miglyol 812	Triglicérido Cáprico	621-71-6	C ₃₃ H ₆₂ O ₆	555	101
	Triglicérido Caprílico	538-23-8	C ₂₇ H ₅₀ O ₆	471	83
Tween 80	Polisorbato 80	9005-65-6	C ₆₄ H ₁₂₄ O ₂₆	1308	214
Span 80	Sorbitán monooleato 80	1338-43-8	C ₂₄ H ₄₄ O ₆	428	74
Tween 20	Polisorbato 20	9005-64-5	C ₅₆ H ₁₂₅ O ₂₇	1229	198
Kolliphor HS15	Hidroxiesterato de polioxyl 15	70142-34-6	C ₄₆ H ₉₂ O ₁₉	948	157
Labrafac	Triglicéridos de cadena media (labrafac01)	65381-09-1	C ₂₁ H ₃₈ O ₅	370	64
	Triglicéridos de cadena media (labrafac02)	65381-09-1	C ₂₁ H ₃₉ O ₆	387	66
Labrasol	Polioxiglicéridos	No disponible	C ₃₂ H ₆₂ O ₁₀	606	104
Poloxamer P188	Polioxietileno 188	9003-11-6	C ₇₀ H ₁₄₂ O ₃₁	1478	243

4.1.1. Construcción de topología para el campo de fuerza.

La construcción de la topología CG se basa en decidir y designar que grupos de átomos de un modelo AA formarán cada *bead* o unidad en un modelo CG. Para realizar esto, se tomaron átomos que tuvieran propiedades similares y se agruparon dentro de una misma *bead*, de manera de reducir la cantidad de grados de libertad sin afectar en mayor medida su comportamiento e interacciones tanto intermoleculares como intramoleculares.

La manera en la que se representa una molécula computacionalmente es a través de algún tipo de archivo que contenga la información necesaria de esta para poder ser visualizada en alguna interfaz gráfica, es decir, este archivo debe contener los tipos de átomos (carbono, nitrógeno, oxígeno, etc.), la cantidad de estos, sus coordenadas y enlaces dentro de un plano tridimensional. Los tipos de archivo o, mejor dicho, extensión de archivo, que fueron utilizados para la representación gráfica de moléculas en el desarrollo de esta memoria son principalmente los archivos “.pdb” (*Protein Data Bank*) y “.sdf” (*Spacial Data File*), estos archivos podían ser visualizados en una interfaz gráfica como VMD o Biovia Discovery Studio (Figura 5).

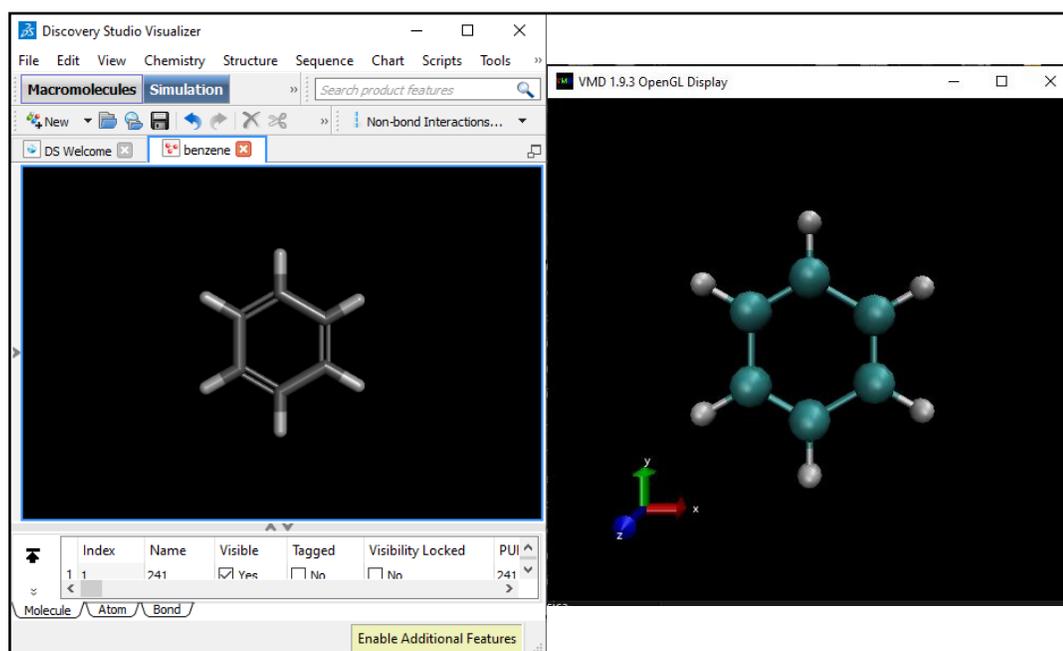


Figura 5. Visualización de una molécula de benzeno en Biovia Discovery Studio (Izquierda) y VMD (derecha)

Mediante el uso de estos archivos se llevó a cabo la construcción de la topología CG:

- Se obtuvo mediante el uso de Pubchem (26), disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>, el archivo .pdb o .sdf que contenía la estructura atómica, enlaces y coordenadas de las distintas moléculas lipídicas utilizadas.
- Las moléculas que no fueron posible obtener mediante la utilización de Pubchem fueron construidas manualmente mediante la interfaz gráfica Biovia Discovery Studio.
- Se utilizó la herramienta “CG Builder” (27), disponible en <https://jbarnoud.github.io/cgbuilder/>, para agrupar los átomos que previamente fueron designados para conformar cada *bead* en cada una de las moléculas involucradas. La ventaja de esta herramienta es que no es necesario generar el archivo .pdb manualmente, ni calcular las coordenadas de las *bead* en relación a las coordenadas atómicas de la molécula, ya que la herramienta realiza este proceso automáticamente a medida que se van seleccionando manualmente los átomos que conforman cada *bead* y luego permite obtener el archivo con las coordenadas de cada *bead*.

Cabe destacar que hasta este punto sólo se tiene la identidad de cada *bead* y sus coordenadas dentro de un plano tridimensional, pero la topología también comprende los enlaces y ángulos que tienen estas *bead* dentro de cada molécula. Para poder caracterizar esto y generar el modelo CG en base a su estructura AA, se utilizaron distintas herramientas creadas mediante Python y TCL (Anexo III). Esta herramienta (Topology.py) permitió automatizar el proceso de confección del archivo “.top” (Topología) que contenía la siguiente información necesaria para posteriormente generar el modelo CG completo, con sus enlaces y ángulos de enlace:

- Tipo de *bead* y masa de esta.
- Nombre del Residuo.
- *Beads* y numeración de cada *bead*.
- Todos los enlaces de la molécula.
- Todos los ángulos de la molécula

Se consideró la masa de la *bead* como la suma total de las masas atómicas de cada uno de los átomos pesados (no se consideró hidrógeno) que conformaban la *bead*. El nombre del residuo correspondió a una palabra de 3 caracteres que sirviera para reconocer a la molécula con la que se estuviese trabajando en ese momento. A continuación, en la Tabla 2 se muestran los nombres de residuo que se utilizaron para cada molécula.

Tabla 2. Nombre de residuo de cada molécula estudiada.

Molécula	Nombre de residuo
Diglicérido de ácido láurico	DLA
PEG de ácido láurico	P5L
Monoglicérido de ácido láurico	MLA
Triglicérido de ácido láurico	TLA
Triglicérido Cáprico	NUC
Triglicérido Caprílico	CAP
Tween 80	TWE
Span 80	SPA
Tween 20	TWE20
Kolliphor HS15	KOL
Labrafac01	LAB1
Labrafac02	LAB2
Labrasol	SOL
Poloxamer P188	POL

Para poder asignar cuales átomos corresponderían a cada *bead* se utilizó de referencia distintas publicaciones que contenían la caracterización CG de todos los grupos de átomos que estaban contenidos en las 14 moléculas en estudio (28–32). En la Tabla 3 se resumen los átomos agrupados con la nomenclatura de cada *bead*.

Tabla 3. Descripción y nomenclatura de cada tipo de *bead* utilizada en esta memoria

Tipos de átomos	
<i>All-atoms</i>	Coarse-grained
(H ₂ O) ₃	B4 & BP4
CH ₃ CH ₂ CH ₂ -	CT
CH ₃ CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	CT4
-CH ₂ CH ₂ CH ₂ -	CM
CH ₃ CH ₂ -	CT2
-CH ₂ CH=CHCH ₂ -	CM2
-CHOC=O	COCO

-CH ₂ -O-CH ₂ -	EO
-CH ₂ -O-CH ₂ - (parte de anillo)	EOR
-CH ₂ -OH	OA
-COOH	COO
-CH ₂ CH=O-CH ₂ -	PPO

Finalmente, cuando ya se tenían construidos tanto el archivo con las coordenadas de las *beads* de la molécula como el archivo que contenía la topología de esta, es decir, principalmente los tipos de *beads*, sus enlaces y ángulos de enlace, mediante un *script* de VMD (Anexo III) se generaron dos archivos que en conjunto conformaban el modelo CG de la molécula.

En la Figura 6 se resume el proceso lógico de la creación de un modelo CG a partir de su modelo AA mediante el uso de las herramientas mencionadas anteriormente.

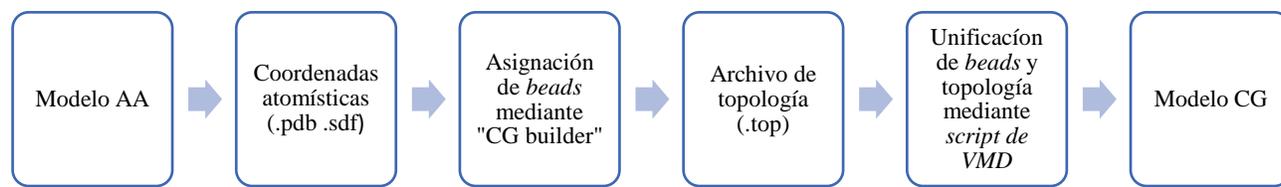


Figura 6. Esquema resumen del proceso de creación de un modelo CG a partir de un modelo AA.

4.2. Parametrización del campo de fuerza.

Para esta memoria se parametrizó específicamente el FF para todas las moléculas involucradas nombradas en la Tabla 1. Para desarrollar esta parametrización se tomaron como referencia principalmente 3 publicaciones (Brasiello et al. Amani et al. y Shinoda et al.) que contenían parámetros de enlaces, ángulos, diedros e interacciones no enlazantes de la mayoría de *beads* descritas anteriormente en la Tabla 3 (28,29,32). Si bien, las publicaciones citadas contenían la mayoría de *beads* necesarias descritas para formar la totalidad de moléculas, algunos parámetros de *beads* tuvieron que ser determinados de forma empírica mediante una relación directa entre los parámetros existentes versus la cantidad y naturaleza de los átomos contenidos en las *beads* restantes. Esto debido a que para poder determinar apropiadamente los parámetros de un FF en CG, generalmente se utiliza la inversión de Boltzmann iterativa que es un método donde se busca mediante una función de distribución radial (RDF) que el $g(r)$ (ver punto 4.5.1.) de un par de átomos sea el mismo tanto en una simulación CG-MD como en una simulación AA-MD. Esto se realiza a través de *software* que utilizan la topología AA y las trayectorias de una simulación AA-MD para generar un mapeo CG con su respectivo potencial de fuerza

a través de un proceso iterativo (33). La utilización de este método era inviable debido al tiempo limitado que se disponía y a su principal desventaja, la inversión de Boltzmann iterativa al realizarse mediante la información de una sola molécula sólo es efectiva para la parametrización de esta por lo que es menos transferible a otras moléculas (34).

Cabe destacar también que el método propuesto en esta memoria permitió ahorrar el tiempo que se debería haber destinado para generar el FF a través de la inversión de Boltzmann iterativa, sacrificando un poco la especificidad y exactitud en la parametrización del FF para las distintas moléculas lipídicas involucradas, aunque esto último podría resultar beneficioso para la transferibilidad del modelo a otras moléculas lipídicas.

Finalmente, en la Tabla 4 y Tabla 5 se describen los parámetros de enlace y ángulo definidos para este FF y en el Anexo II se describen los parámetros no enlazantes. Estos parámetros serán utilizados para llevar a cabo las simulaciones de los modelos CG.

Tabla 4. Parámetros de enlace definidos para el campo de fuerza.

Enlace		K (kcal mol ⁻¹ Å ⁻²)	r0 (Å)
CM	CM	6.16	3.64
CT	CM	6.16	3.65
CT4	CM	3.21	4.18
CT2	CM	3.21	4.18
CM	CM2	3.87	4.06
CM	COCO	6.69	3.37
COCO	COCO	11.95	2.69
COCO	OA	15.00	2.58
COCO	EO	11.95	3.35
EO	EO	4.90	3.28
EO	EOR	4.90	3.28
EOR	EOR	11.95	3.55
EO	OA	15.00	2.79
OA	OA	63.00	2.16
COO	CM	6.69	3.37
EO	PPO	7.77	3.69
PPO	PPO	5.97	3.64

Tabla 5. Parámetros de ángulo definidos para el campo de fuerza.

Ángulo			K (kcal mol ⁻¹ Å ⁻²)	Ángulo (°)
CT2	CM	CM	1.60	172
CM	CM	CM	1.19	173
CM	CM	COCO	4.50	142
CM	COCO	OA	3.20	130
CM	COCO	COCO	3.20	127
EO	EO	COCO	3.40	132
EO	EO	EO	3.40	132
EO	EO	OA	3.00	131
COCO	OA	OA	6.60	131
CT4	CM	CM2	1.19	172
CM	CM2	CM	10.75	120
CM	CM	CM2	10.75	120
CM2	CM	COCO	4.50	142
EOR	EOR	EOR	5.97	120
EO	EOR	EOR	5.97	120
EO	EO	EOR	5.97	130
EO	EOR	EO	5.97	130
CM	COCO	EO	3.20	127
COCO	OA	EO	3.00	131
EO	OA	OA	6.60	131
CT	CM	CM	1.19	175
COCO	OA	COCO	3.00	131
CT4	CM	COCO	4.50	142
OA	EO	OA	6.60	131
CM	CM	COO	4.50	142
EO	EO	CT4	3.20	127
COCO	COCO	OA	3.00	131
EO	EO	PPO	8.37	128
EO	PPO	PPO	10.80	107
PPO	PPO	PPO	10.80	140
CT4	CM	CM	1.19	172

4.3. Implementación de los modelos en simulaciones moleculares.

Se llevaron a cabo simulaciones moleculares AA-MD y CG-MD de cada una de las moléculas mencionadas en la Tabla 1, para posteriormente comparar y validar el comportamiento y de esta manera establecer una similitud entre los FF utilizados para moléculas AA y moléculas CG.

4.3.1. Preparación de los sistemas *All-atoms*.

Para las simulaciones AA se utilizaron los modelos obtenidos mediante Pubchem, es decir, se utilizaron los archivos .sdf recopilados que contenían las coordenadas y tipos de átomos del modelo AA. Se modificó la extensión del archivo a .mol2 mediante el *software* Biovia Discovery Studio para posteriormente ser utilizado en la obtención de los parámetros del FF que se utilizó en las simulaciones AA-MD mediante la herramienta Swissparam (35), disponible en <https://www.swissparam.ch/>, la cual obtiene los parámetros de los FF *Merck Molecular ForceField* (36) y CHARMM22 (37). El modo de obtención de estos parámetros es el siguiente:

- Se accede a la página web “swissparam.ch” y se carga el archivo .mol2 con la molécula a estudiar.
- Dentro del mismo sitio se analiza el archivo y se genera un directorio .zip que contiene los parámetros necesarios para llevar a cabo la simulación: la estructura en .pdb, la topología de la molécula y los parámetros de enlaces, ángulos de enlace y diedros de esta.

Con la estructura de la molécula AA y su topología se generaron los archivos .pdb y .sdf que contenían toda la información estructural de la molécula mediante la utilización de un *script* de VMD. Luego, se generó una caja de solvatación (Figura 8) con agua, mediante la utilización de otro *script* de VMD. Cabe destacar que el tamaño de la caja de solvatación dependió del tamaño de la molécula, de manera que tuviera el espacio de agua suficiente para que esta fuera capaz de interactuar libremente sin escapar del área de simulación.

4.3.2. Dinámicas de los sistemas *All-atoms*.

Para llevar a cabo las dinámicas moleculares tanto AA-MD como CG-MD, se utilizó el *software* NAMD (38), para esto fue necesario generar un archivo de configuración (Anexo IV). Este archivo de configuración contenía toda la información necesaria para ejecutar la dinámica:

- Estructura y coordenadas de la molécula a simular.
- Temperatura y presión del sistema.
- Archivo de parámetros a utilizar.
- Paso de integración de las ecuaciones de movimiento.
- *Cutoff* de la dinámica.
- Tamaño de la caja de simulación y centro de masa de esta.
- Tiempo de minimización, equilibrado y de simulación.

Por lo tanto, las dinámicas moleculares de los sistemas AA se llevaron a cabo por 2 ns de equilibrado en el *ensemble* canónico (NVT) y 20 ns de simulación en el *ensemble* isobárico (NPT) a una temperatura de 300 K y a 1 atm de presión, acoplando la temperatura y presión al termostato y baróstato de Berendsen. Se utilizó un paso de integración de las ecuaciones de movimiento de 10 fs con la finalidad de mantener la integridad de los sistemas. El *cutoff* utilizado para las interacciones no covalentes fue de 12 Å, mientras que para las interacciones electrostáticas de largo alcance se calcularon mediante el método *Particle Mesh Ewald*.

4.3.3. Preparación de los sistemas *Coarse-grained*.

El método de preparación de los sistemas CG fue bastante parecido al de los sistemas AA, la única diferencia reside en que el archivo estructural que se utilizó para conformar el sistema fue el generado en el punto 4.2 de la metodología y los parámetros utilizados fueron los descritos en el punto 4.3 de la metodología. Luego, estos sistemas fueron solvatados (Figura 8) mediante la utilización del *script* en VMD utilizando un modelo de agua CG donde, como se describió previamente en la Tabla 3, una unidad de agua CG equivale a 3 moléculas de H₂O. En este caso el tamaño de la caja de solvatación coincidió con su contraparte AA.

4.3.4. Dinámicas de los sistemas *Coarse-grained*.

Al igual que en las AA-MD, las CG-MD fueron llevadas a cabo a través del *software* NAMD mediante la utilización de un archivo de configuración que contenía toda la información necesaria para ejecutar la dinámica (misma información mencionada en el punto 4.4.2. de la metodología).

Finalmente, en la Figura 7 se resume el esquema de preparación de los sistemas AA y CG para llevar a cabo las simulaciones moleculares.

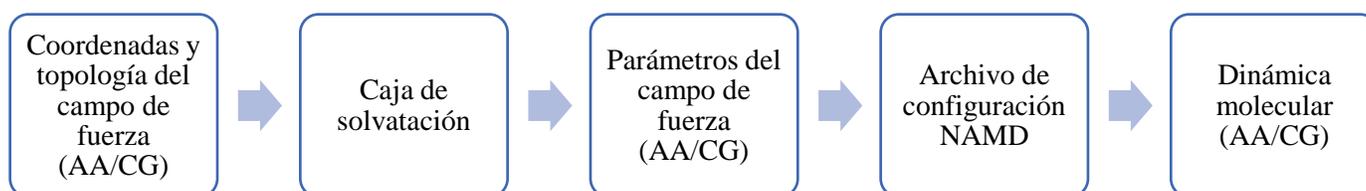


Figura 7. Esquema preparación de sistemas para AA-MD y CG-MD.

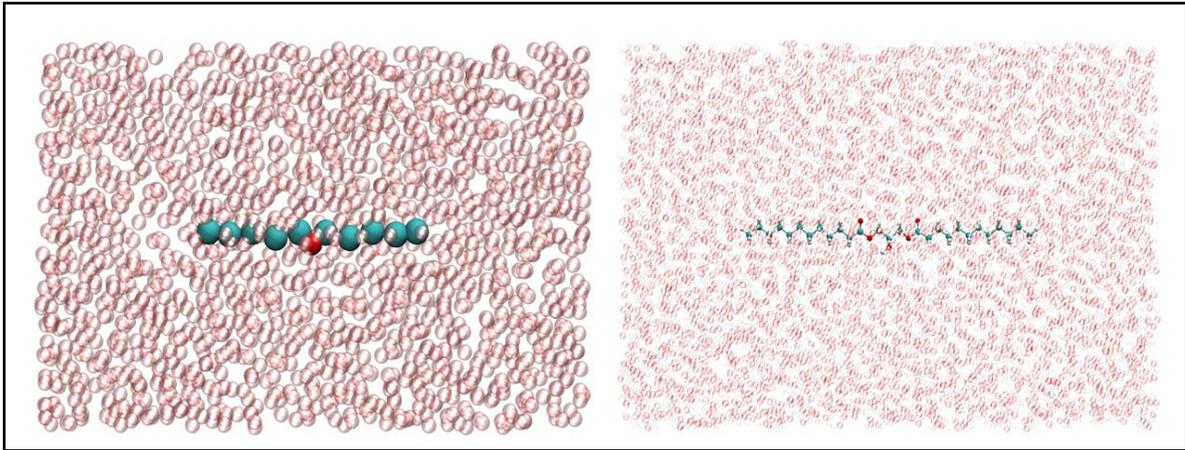


Figura 8. Caja de simulación de los modelos CG (Izquierda) y AA (derecha) solvatados en agua.

4.4. Comparación y validación de los modelos.

La comparación de los resultados obtenidos en la simulación de los modelos CG con su contraparte AA se realizó principalmente a través de la RDF y el radio de giro. La RDF se calculó con el $g(r)$ GUI Plugin, Versión 1.3 (39) y el radio de giro se determinó mediante el uso de un script en VMD (Anexo III).

4.4.1. Función de distribución radial.

La RDF, $g(r)$, se define en su ecuación general como,

$$g(r) = \lim_{dr \rightarrow 0} \frac{p(r)}{4\pi(N_{\text{pares}}/V)r^2 dr}$$

Donde r es la distancia entre un par de partículas, $p(r)$ es el número promedio de pares de átomos encontrados en una distancia entre r y $r+dr$, V es el volumen total del sistema y N_{pares} es el número de pares únicos de átomos donde un átomo se encuentra desde cada uno de dos conjuntos (39). Por lo tanto, la RDF es una función que da cuenta de la factibilidad de encontrar pares de átomos a una cierta distancia. Esta función es útil para determinar casi cualquier parámetro termodinámico de acuerdo con el par de átomos que se determine calcular.(40–42)

En el caso de esta memoria, se determinó la RDF para cada tipo de *bead* que compone la molécula frente a una molécula de agua hasta una distancia de 10 Å, de manera de obtener un gráfico de $g(r)$ versus distancia que demuestre el comportamiento de cada *bead* frente al medio solvatado en agua (hidrofilia), para luego ser comparado con el gráfico de $g(r)$ obtenido del modelo AA mediante la

aplicación de la RDF del átomo que correspondía al centro de masa de la *bead* en el modelo CG con agua hasta la misma distancia de 10 Å.

4.4.2. Función de radio de giro.

El radio de giro r_{RG} es un parámetro que describe la conformación de equilibrio de un sistema total (43). Mide la distribución de átomos o *beads* en una estructura molecular con respecto a su centro de masa y su cálculo se basa en la siguiente ecuación (44):

$$r_{RG}^2 = \frac{\sum_{i=1}^N m_i (r_i - r_{CM})^2}{\sum_{i=1}^N m_i}$$

Donde m corresponde a la masa, r corresponde a la distancia y CM corresponde al centro de masa del sistema. En el caso de esta memoria el radio de giro se determinó mediante un script de VMD que calculó el radio de giro tanto del modelo CG como del modelo AA durante los 2102 pasos (20 ns) de duración de la MD, de manera de generar un gráfico que evidencie las distintas interacciones inter e intramoleculares que provocan fluctuaciones en el tamaño de la molécula en relación a su centro de masa. Se calculó el promedio y desviación estándar del radio de giro de cada modelo para facilitar la comparación de ambos gráficos.

4.5. Sistemas micelares.

De manera de poder visualizar de mejor forma el comportamiento que tienen las moléculas lipídicas y también evidenciar de manera práctica los resultados obtenidos en el modelado y desarrollo del FF, se generaron 3 sistemas micelares más complejos:

- Sistema de tween 80
- Sistema de micela híbrida de núcleo lipídico (LCM)
- Sistema de transportador lipídico nanoestructurado (NLC)

4.5.1. Sistema de tween 80.

Para este sistema se utilizó únicamente la molécula de tween 80. El sistema se desarrolló de acuerdo a lo descrito en la literatura (29,30).

Mediante la utilización del *software* PACKMOL, disponible en: <http://m3g.iqm.unicamp.br/packmol/> (45), una solución creada para generar sistemas moleculares utilizados en MD mediante la creación de un archivo .inp que contiene la configuración de la caja de

simulación, se generó un sistema que contenía 60 moléculas de tween 80 solvatadas con agua dentro de una caja de simulación de 12x12x12 nm. El sistema se simuló mediante el Computador de alto rendimiento YOLTLA (46), en México, durante 100 nanosegundos con la misma configuración utilizada en el punto 4.4.2., esto de manera de poder visualizar la convergencia de las moléculas en una nanopartícula y posteriormente calcular el radio de giro de esta y compararla con lo descrito en la literatura.

4.5.2. Sistema de micela híbrida de núcleo lipídico.

Este es un sistema trabajado y desarrollado en el laboratorio de *Drug Delivery* de la Universidad de Chile (47), por lo que para generarlo primero se hizo la conversión de las cantidades utilizadas en la fabricación de esta nanopartícula en mg a moléculas. Para esto se utilizó de referencia el trabajo ya realizado anteriormente por miembros del laboratorio de *Drug Delivery* y CENDHY (48), donde portaron la formulación de una nanopartícula a un modelo AA para luego ser simulado por MD, resultando la siguiente composición del sistema:

Tabla 6. Composición sistema de micela híbrida de núcleo lipídico.

Molécula CG	Cantidad (unidades)
PEG de Ácido Láurico	525
Monoglicérido de Ácido Láurico	45
Diglicérido de Ácido Láurico	45
Triglicérido de Ácido Láurico	45
Tween 20	105
Span 80	30

Como se observa en la Tabla 6, un total de 795 moléculas CG fueron solvatadas en agua dentro de una caja de simulación de 20x20x20 nm mediante la utilización de PACKMOL, generando un total de 107.000 *beads* a simular.

La simulación se llevó a cabo durante 100 ns utilizando la misma configuración que en el punto 4.4.2 a una temperatura de 358 K.

4.5.3. Sistema de transportador lipídico nanoestructurado.

Este sistema también corresponde a un sistema trabajado y desarrollado en el laboratorio de *Drug Delivery* de la Universidad de Chile (48), por lo que de igual manera se realizó la conversión de cantidades utilizadas en la fabricación de mg a moléculas.

Para trabajar con este sistema se generaron 2 MD:

- La primera MD constó del sistema NLC solo y ya conformado en una esfera, emulando una nanopartícula. Se decidió generar de esta manera la MD como una forma de ahorrar poder computacional ya que este sistema era más grande que el sistema LCM y de no hacerse de esta manera las simulaciones serían inviables.
- La segunda MD constó del sistema NLC conformado en una esfera junto con un modelo de Claritromicina CG generado exclusivamente para este sistema utilizando las herramienta “CG builder”, “automartini”(49) y el FF MARTINI.

4.5.3.1. Sistema NLC solo.

En la Tabla 7 se puede ver la composición del sistema NLC solo, donde a través de PACKMOL, se generó un sistema con 6500 moléculas solvatadas en agua dentro de una caja de 50x50x50 nm, resultando en 420.000 *beads* a simular, el sistema se simuló por 100 ns con la configuración descrita en el punto 4.4.2. a una temperatura de 358 K para de esta manera visualizar la estabilidad de la micela mediante el uso del FF desarrollado en esta memoria.

Tabla 7. Composición sistema NLC solo.

Molécula CG	Cantidad (unidades)
Triglicérido Cáprico	75
Triglicérido Caprílico	75
Tween 80	200
PEG de Ácido láurico	5000
Monoglicérido de Ácido Láurico	425
Diglicérido de Ácido Láurico	425
Triglicérido de Ácido Láurico	425

4.5.3.2. Sistema NLC con claritromicina.

Para esta MD se utilizó la misma composición descrita en la Tabla 7 y mismo tamaño que el utilizado en el sistema NLC solo, pero al sistema se le añadieron 150 moléculas de claritromicina CG.

La MD de este sistema se llevó a cabo de la misma forma que lo descrito en el punto 4.4.2. a una temperatura de 358 K durante 100 ns para ver el comportamiento de la claritromicina con esta micela.

La generación del modelo de claritromicina CG fue el mismo que lo descrito en el esquema de la Figura 6, la única diferencia es que la topología y los parámetros utilizados para el desarrollo de este modelo fueron los descritos en el FF MARTINI, es decir, durante la MD el comportamiento de las moléculas que componían el sistema NLC estaba descrito por el FF desarrollado en esta memoria, y el comportamiento de las moléculas de claritromicina CG estaba descrito por el FF MARTINI.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Modelos.

A continuación, en la Figura 9, se presentan los modelos CG generados mediante lo mencionado en el punto 4.2. superpuestos a su respectivo modelo AA (ver anexo V para mayor detalle).

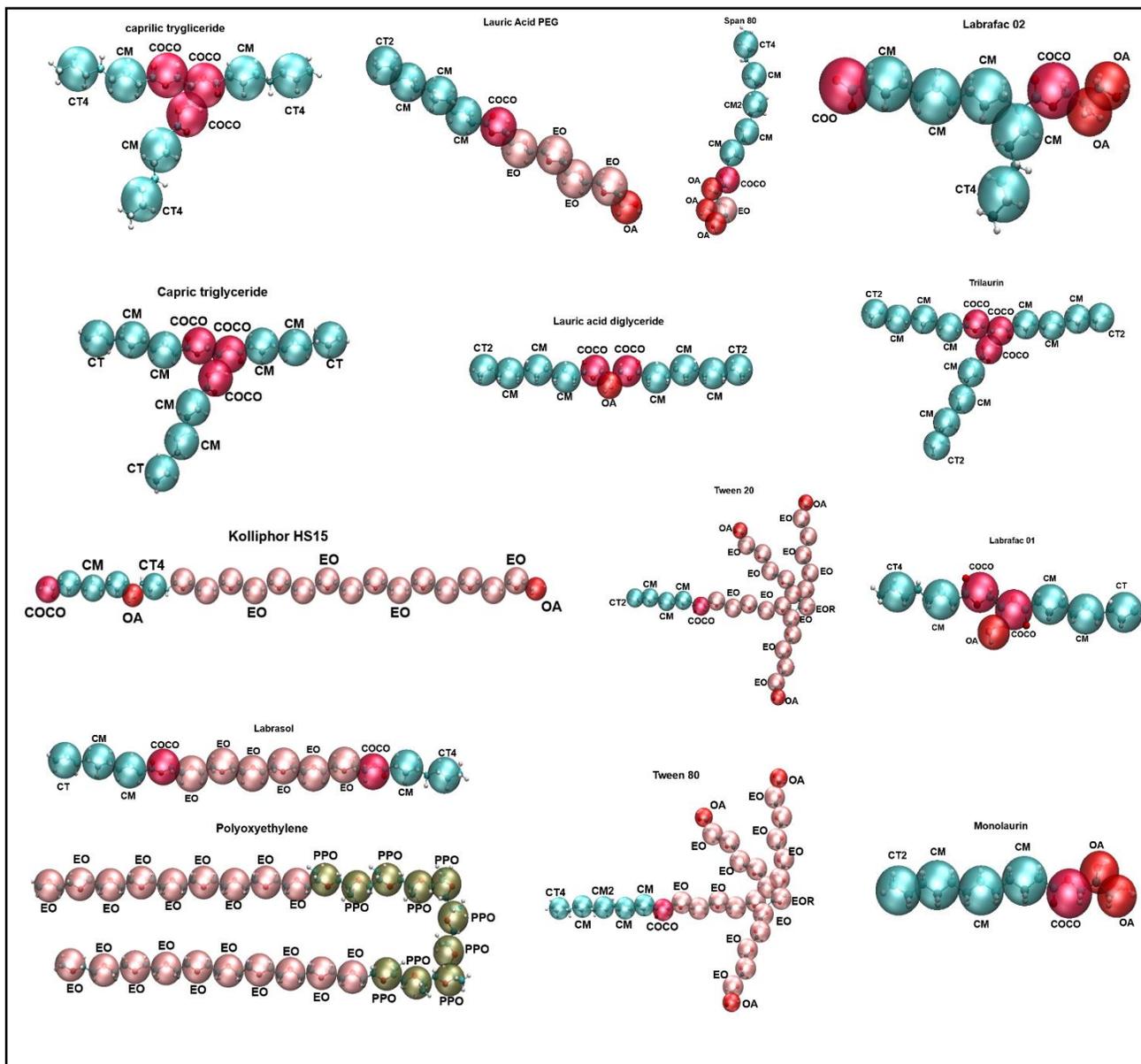


Figura 9. Modelos CG de las 14 moléculas utilizadas en esta memoria.

Por otro lado, como se puede observar en la Tabla 8, mediante el desarrollo de un modelo CG a partir de un modelo AA se puede conseguir una reducción sustancial del número de partículas a simular por parte de un sistema computacional a la hora de llevar a cabo MD, lo que reduce en gran medida el poder computacional necesario y aumenta los tiempos y tamaños posibles de los sistemas a simular.

Tabla 8. Tabla comparativa de número de átomos en modelo *all atoms* versus número de *beads* en modelo *coarse-grained*.

Compuesto comercial	Molécula	Número de átomos	Número de beads
Gelucire 44-14	Diglicérido de ácido láurico	84	11
	PEG de ácido láurico	73	10
	Monoglicérido de ácido láurico	49	7
	Triglicérido de ácido láurico	119	15
Miglyol 812	Triglicérido Cáprico	101	12
	Triglicérido Caprílico	83	9
Tween 80	Polisorbato 80	214	30
Span 80	Sorbitán monooleato 80	74	10
Tween 20	Polisorbato 20	198	29
Kolliphor HS15	Hidroxiesterato de polioxyl 15	157	22
Labrafac	Triglicéridos de cadena media (labrafac01)	64	8
	Triglicéridos de cadena media (labrafac02)	66	9
Labrasol	Polioxiglicéridos	104	13
Poloxamer P188	Polioxietileno 188	243	29

5.2. Comparación y validación de los modelos.

Se llevaron a cabo **28 dinámicas moleculares**, correspondientes a las 14 moléculas seleccionadas en el punto 4.1. tanto en su modelo AA como en su modelo CG. A partir de estas dinámicas se obtuvieron los gráficos de RDF y radio de giro que sirvieron como una manera de comparar ambos modelos para dejar en evidencia que el FF desarrollado en esta memoria era viable y cumplía con las expectativas en términos del comportamiento de las moléculas.

5.2.1. Función de distribución radial y radio de giro.

A continuación, en las Figuras 10, 11 y 12 se muestran los gráficos obtenidos a partir de las MD de tres modelos cuyos gráficos representan la tónica de la totalidad de los resultados obtenidos (en el anexo VI se pueden ver todos los gráficos para las 14 moléculas trabajadas):

- Monoglicérido de ácido láurico
- Ácido Caprílico
- Tween 80

5.2.1.1. Monoglicérido de ácido láurico.

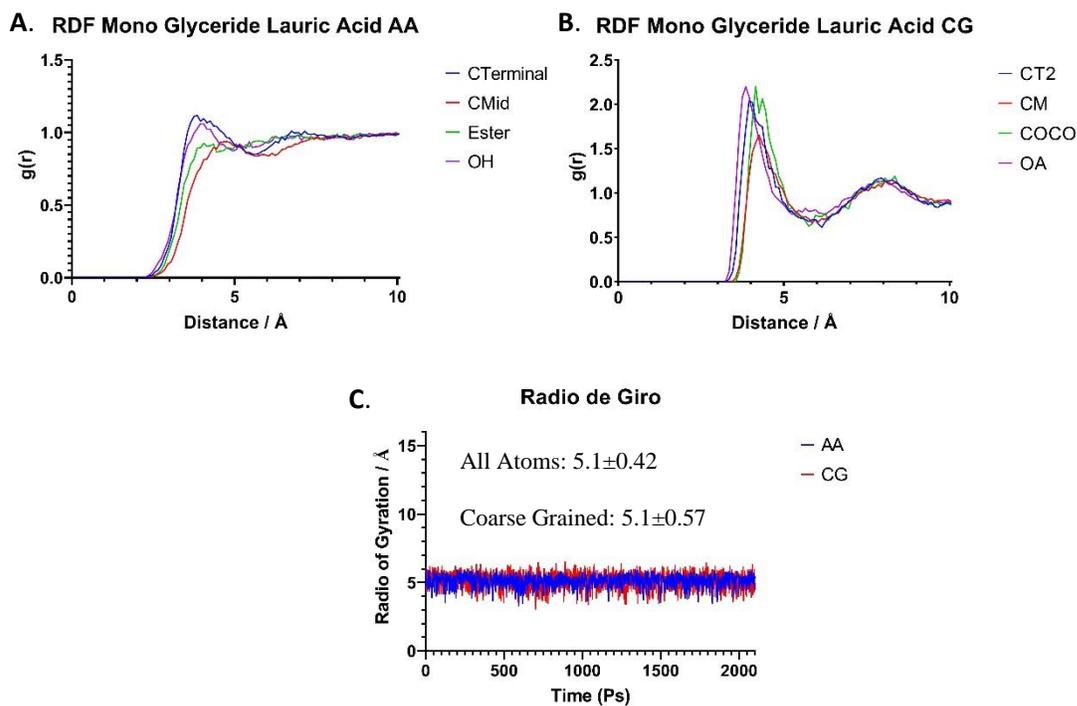


Figura 10. A. Gráfico de RDF de la simulación AA del monoglicérido de ácido láurico, B. Gráfico de RDF de la simulación CG del monoglicérido de ácido láurico, C. Gráfico de radio de giro (AA v/s CG) del monoglicérido de ácido láurico.

5.2.1.2. Triglicérido Caprílico.

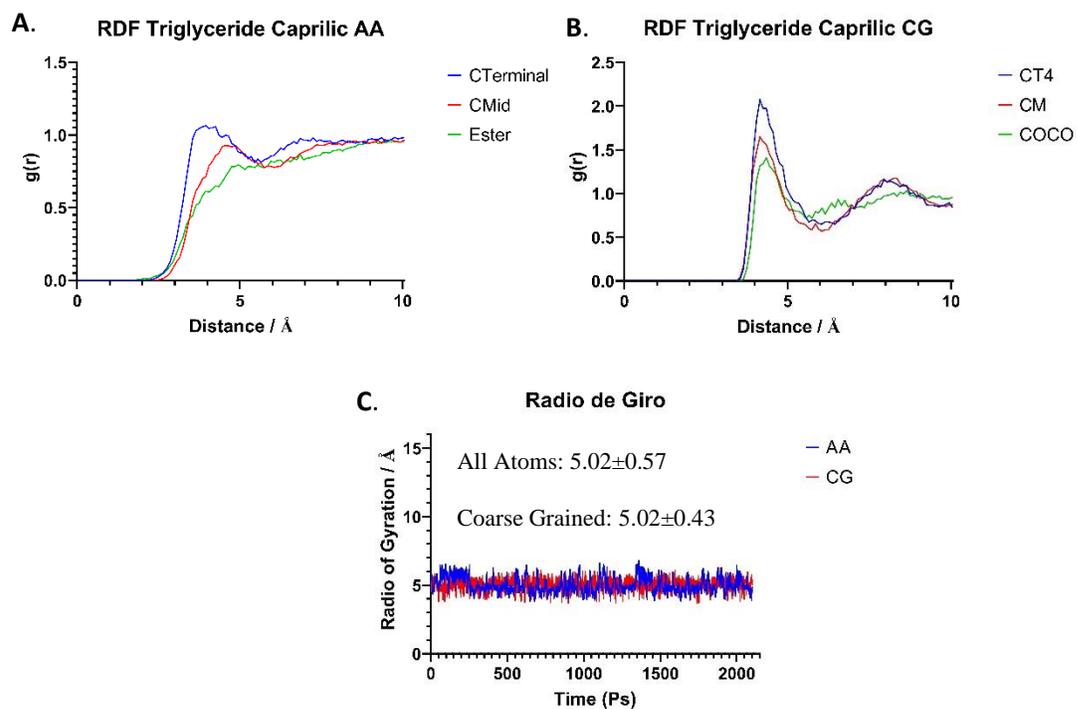


Figura 11. A. Gráfico de RDF de la simulación AA del triglicérido caprílico, B. Gráfico de RDF de la simulación CG del triglicérido caprílico, C. Gráfico de radio de giro (AA v/s CG) del triglicérido caprílico.

5.2.1.3. Tween 80.

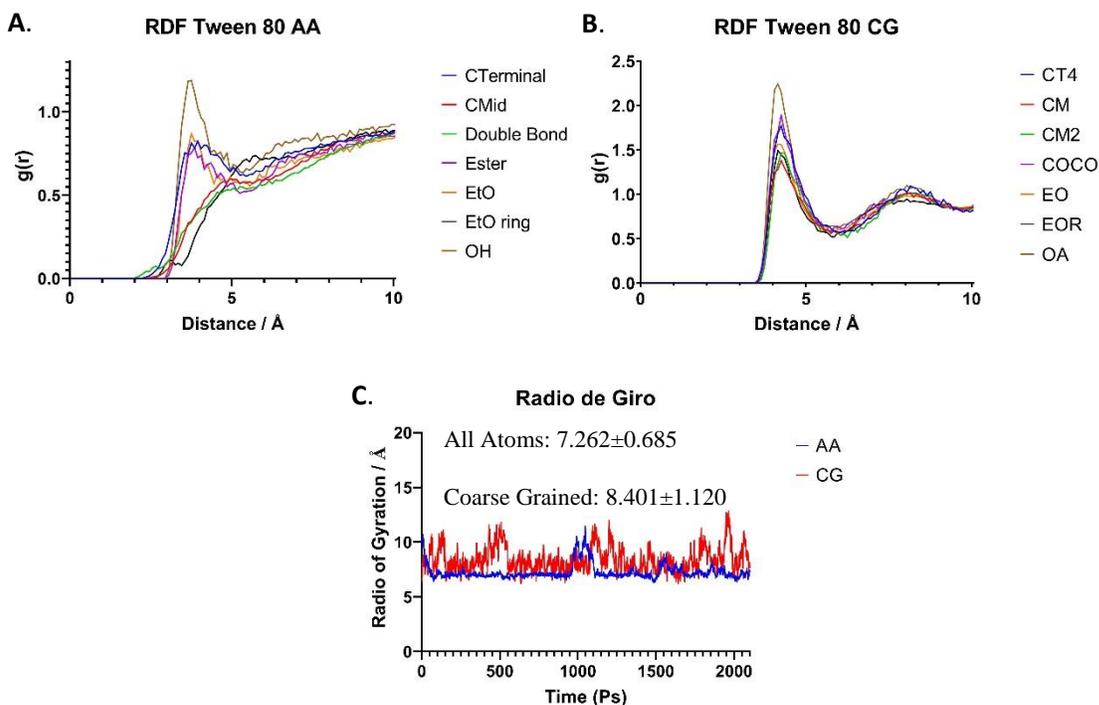


Figura 12. A. Gráfico de RDF de la simulación AA del tween 80, B. Gráfico de RDF de la simulación CG del tween 80, C. Gráfico de radio de giro (AA v/s CG) del tween 80.

A partir de los gráficos de RDF presentados en las figuras anteriores podemos encontrar una estrecha relación entre la hidrofilia de la *bead* en CG o del átomo de su contraparte AA y la altura de cada *peak*, esto es debido a que el otro átomo/*bead* evaluado en el par de este gráfico es agua, por lo tanto, se evalúa la cercanía de cada partícula de la molécula en estudio al agua a través del tiempo de simulación. Este fenómeno queda mejor representado en el gráfico de RDF tween 80 CG, donde podemos ver que el mayor *peak* es el generado por el par OA-agua y el menor *peak* lo comparten los pares CM-agua, CT4-agua y CM2-agua, esto ocurre porque el tween 80, al ser una molécula de mayor tamaño y con mayor movilidad, esconde su cadena hidrofóbica (CT4, CM y CM2) entre las ramificaciones hidrofílicas de la misma (EO, OA) de manera de permitir a la sección hidrofóbica encontrar un estado de menor energía en su medio de solvatación (Figura 13). (29).

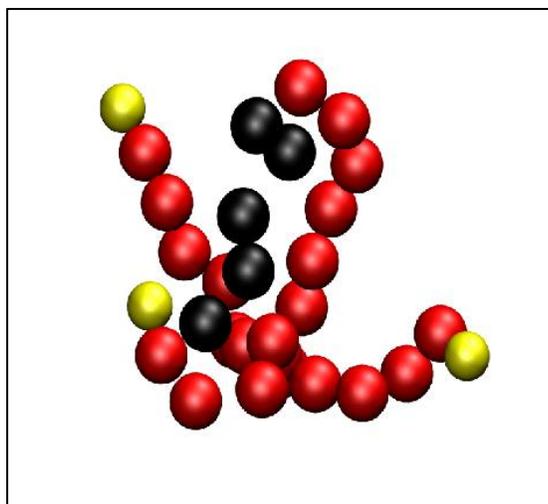


Figura 13. *Snapshot* de tween 80 con su sección hidrofóbica (color negro) envuelta por la sección hidrofílica (color rojo y amarillo), durante la MD descrita en el punto 4.4.4.

Aquella diferencia tan marcada en la altura de estos *peaks* no se evidencia de la misma forma en los gráficos de RDF de las Figuras 10 y 11, porque, al tratarse de moléculas más pequeñas y al ser solo una molécula simulada en un medio acuoso, esta es incapaz de flexionar su sección hidrofóbica para escapar de alguna manera al medio (50). Por esta razón, se evaluó también el radio de giro de las moléculas durante la MD, ya que así se evalúan las fuerzas de *bending* y *stretching* que están ocurriendo en la molécula a causa del medio. Aunque es común ver que en la mayoría de las publicaciones sólo se evalúe la RDF para validar la parametrización de un FF, otras veces es necesario aportar otras determinaciones como radio de giro, probabilidad de distribución o área de accesibilidad al solvente para reafirmar los resultados que se obtienen. (30,51,52)

A diferencia del RDF, el radio de giro mantiene una similitud prácticamente exacta entre las partes AA y CG del monoglicérido de ácido láurico y del triglicérido caprílico, no así en el caso del tween 80. Esto ocurre principalmente debido a la simplificación de la molécula en su modelo CG, ya que se pierden ciertos tipos de interacciones inter e intramoleculares que estaban presentes en el modelo AA. Esto genera que la superficie de energía potencial se aplane en el modelo CG provocando una menor estabilidad de sus enlaces y una mayor fluctuación en torno a su centro de masa. (53) Esta diferencia en los radios de giros de los modelos AA y CG no es tan evidente en moléculas de menor tamaño, ya que estas contienen menor cantidad de interacciones, átomos y enlaces, y al momento de migrar al modelo CG no sufren en mayor medida una simplificación de su estructura principal. (54)

En el anexo VI se puede observar de mejor manera esta situación, moléculas grandes como tween 80, tween 20, Kolliphor HS15 y Poloxamer P188 tienen gráficos de radio de giro con ciertas diferencias,

pero es importante recalcar que aun así la tendencia en el radio de giro de los modelos CG y AA no se pierde en ningún caso.

Finalmente, la interpretación de los gráficos de RDF y radio de giro de las moléculas en estudio permitió determinar la validez y viabilidad del FF desarrollado en esta memoria. Ya que los modelos CG cumplían con lo esperado en su comportamiento en un medio acuoso, se pudo pasar a la siguiente etapa de la memoria, la simulación por MD de sistemas más complejos con varias de estas moléculas y así observar el comportamiento y autoensamblaje de las mismas.

5.3. Sistemas micelares.

5.3.1. Sistema de tween 80.

A continuación, en la Figura 14 se puede ver la progresión de la MD de este sistema durante los primero 10 ns de simulación dando cuenta del comportamiento de sus moléculas en el medio y de su autoensamblaje en conformación de nanopartícula. Pasado este tiempo las moléculas se mantienen estables en su conformación.

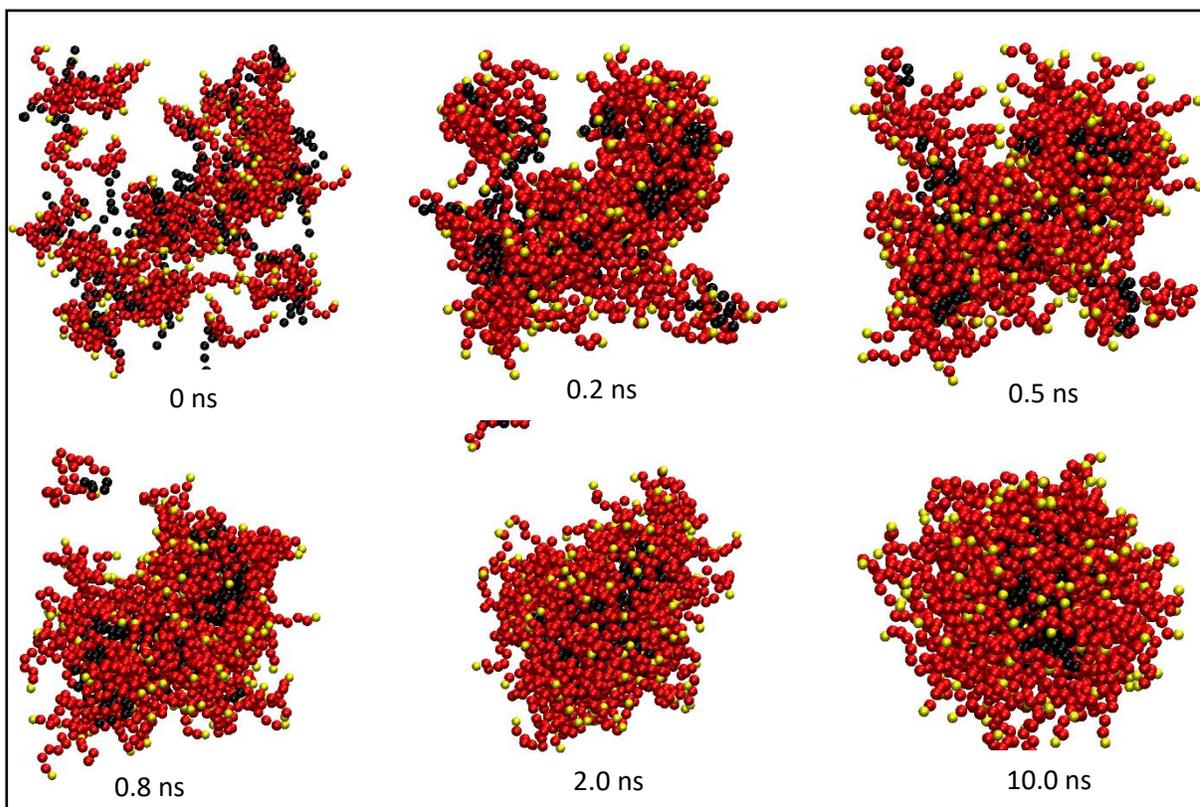


Figura 14. Evolución del Sistema de tween 80 desde los 0 ns a los 10 ns. Las partículas color rojo corresponden a la sección hidrofílica (COCO, EO y EOR) de las moléculas, las partículas color negro

corresponden a la porción hidrofóbica (CT4, CM y CM2) de las moléculas, y las partículas color amarillo corresponden a los hidroxilos terminales (OA) de las moléculas.

En la Figura 15 se puede observar un gráfico del radio de giro de la nanopartícula de tween 80 durante la progresión de los 100 ns de simulación, este radio de giro se estabiliza llegando a los 50 ns lo que significa que a este tiempo la micela se consolida y ocurren menos cambios de posición y conformación de las moléculas dentro de la estructura de la nanopartícula. El valor promedio de radio de giro obtenido en esta MD fue de $27.40 \pm 1.06 \text{ \AA}$, este valor se puede contrastar con lo encontrado en la literatura (29) que estipula un radio de giro de 27.55 \AA .

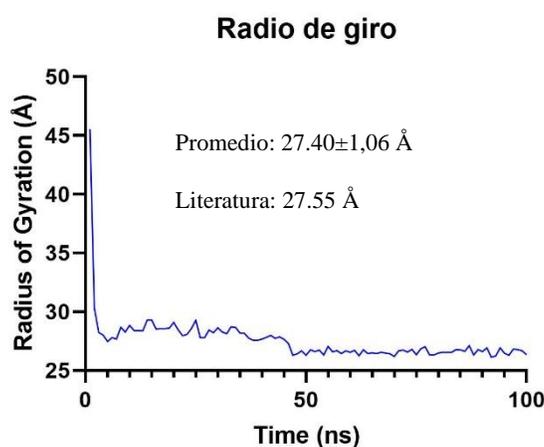


Figura 15. Radio de giro de la nanopartícula de tween 80 durante los 100 ns de simulación.

La Figura 16 representa un corte en sección transversal de la nanopartícula exhibiendo así la conformación interna que adquiere luego del auto ensamblado de sus moléculas, donde se puede observar que la porción hidrofóbica de las moléculas se ubica al centro de la nanopartícula y la sección hidrofílica la envuelve para así aislarla del contacto con el agua.

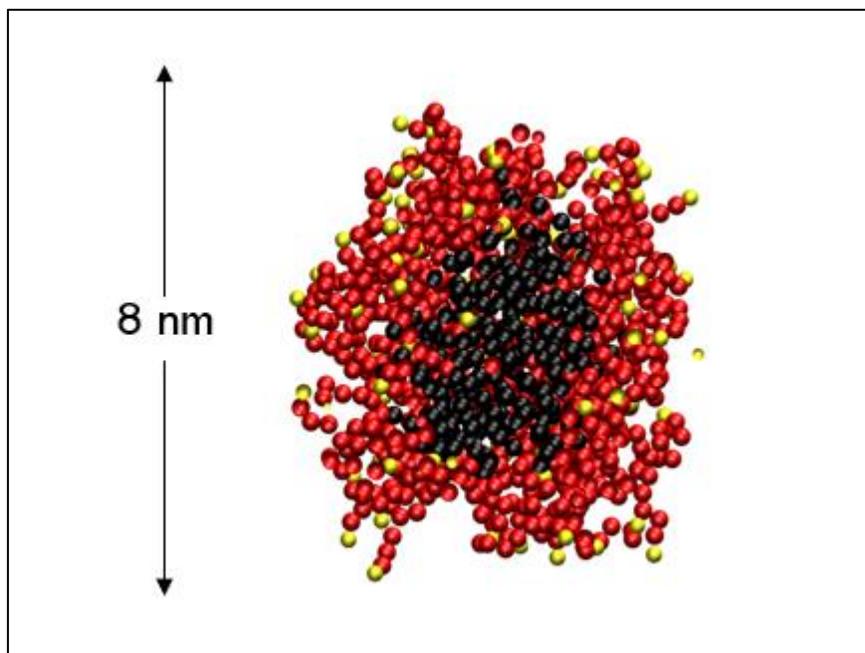


Figura 16. Vista en sección transversal de la nanopartícula de tween 80 en su último fotograma de simulación, donde el color negro corresponde a la sección hidrofóbica, el rojo a la sección hidrofílica y el amarillo a los OH terminales.

5.3.2. Sistema de micela híbrida de núcleo lipídico.

A continuación, en la Figura 17 se encuentra la progresión de la simulación del sistema de LCM durante 100 ns. En este sistema es posible notar que las moléculas al cabo de 10 ns ya se encuentran dispuestas en conformación de nanopartícula y en los nanosegundos posteriores se produce el ordenamiento y estabilización de la conformación.

Lo anteriormente mencionado puede ser observado con mayor detalle en la Figura 18 en el gráfico de radio de giro de este sistema durante la MD, donde en los primeros nanosegundos el radio de giro cae abruptamente desde los 100 Å, para después estabilizarse en aproximadamente los 50 Å pasados los 20 nanosegundos, esto significa que pasado este tiempo la nanopartícula se encuentra bien cohesionada y la fluctuación causada por la interacción entre las distintas moléculas que la componen disminuye.

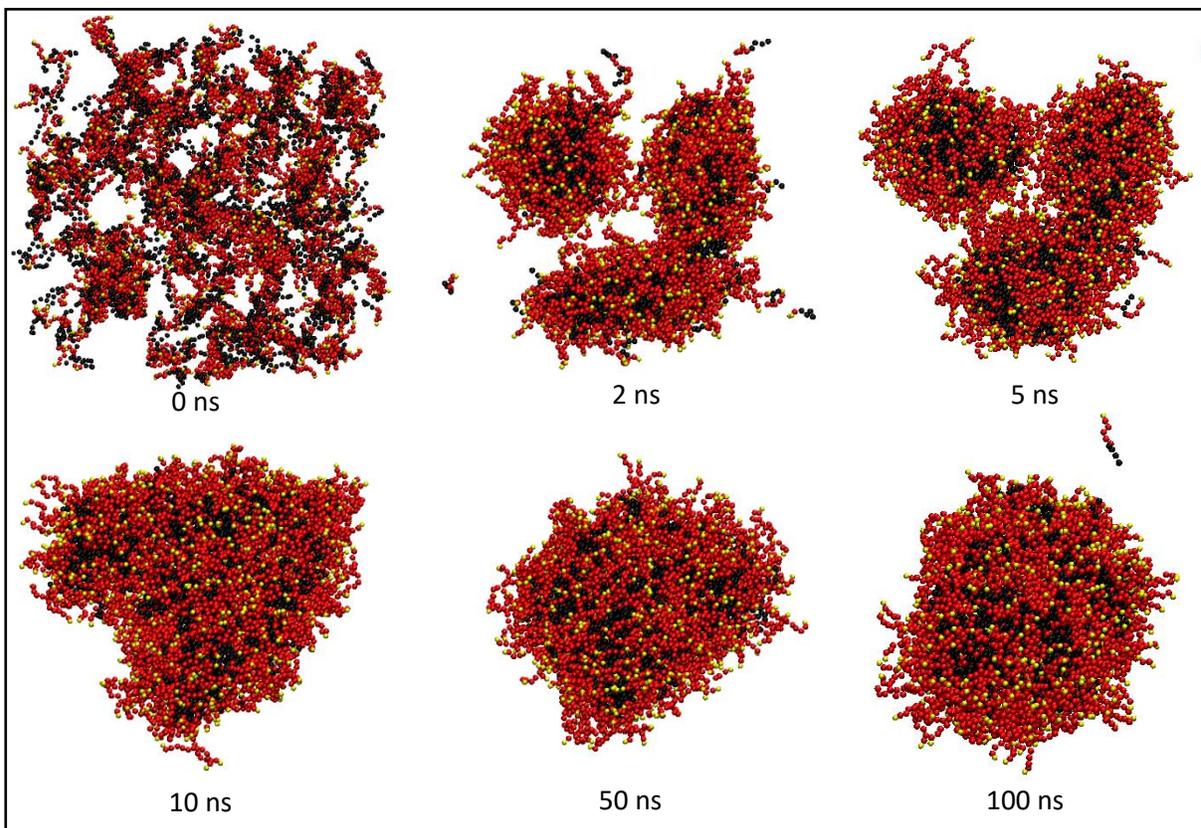


Figura 17. Evolución del Sistema de LCM desde los 0 ns a los 100 ns. Las partículas color rojo corresponden a la sección hidrofílica (COCO, EO y EOR) de las moléculas, las partículas color negro corresponden a la porción hidrofóbica (CT4, CM y CM2) de las moléculas, y las partículas color amarillo corresponden a los hidroxilos terminales (OA) de las moléculas.

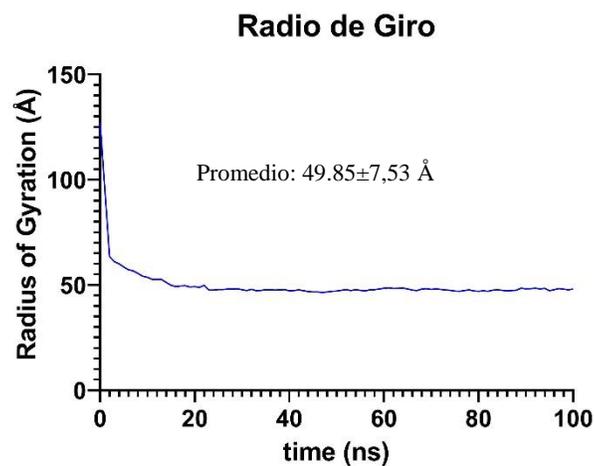


Figura 18. Radio de giro de la nanopartícula LCM durante los 100 ns de simulación.

Cabe destacar que al tratarse de una formulación de nanopartícula que nunca se ha desarrollado ni simulado en CG o algún otro modelo de MD no existen referentes de radio de giro experimentales o en literatura. Aunque se puede establecer que existe una relación directa entre el tamaño de una nanopartícula y su respectivo radio de giro (55), en esto yace la diferencia en el radio de giro entre el sistema de tween 80 y este sistema de LCM.

En la Figura 19 se puede observar un corte en sección transversal de la nanopartícula donde, al igual que en el sistema de tween 80, la sección hidrofóbica se concentra en el centro de la nanopartícula y la sección hidrofílica forma un recubrimiento externo.

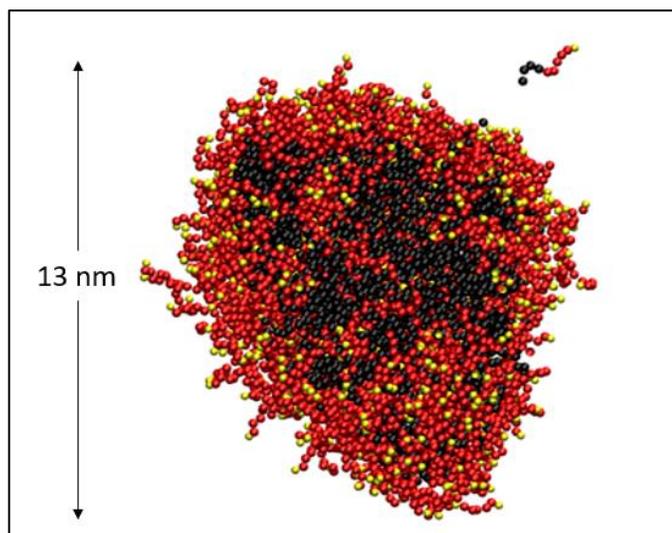


Figura 19. Vista en sección transversal del sistema de LCM en su último fotograma de simulación, donde el color negro corresponde a la sección hidrofóbica, el rojo a la sección hidrofílica y el amarillo a los OH terminales.

5.3.3. Sistema de transportador lipídico nanoestructurado.

5.3.3.1. Sistema NLC solo.

El sistema NLC sin claritromicina fue modelado en disposición esférica de manera que al transcurrir el tiempo de simulación las moléculas que componen este sistema se reordenen de acuerdo a las distintas interacciones moleculares dentro del sistema, esto se ve reflejado en la Figura 20, donde se puede apreciar que en el estado final de la simulación las moléculas se reordenaron siguiendo la misma tendencia que habíamos visto en los anteriores sistemas, quedando la sección hidrofílica de la nanopartícula en la zona externa de esta y la sección hidrofóbica oculta en el núcleo, pero sin modificar en mayor medida la estructura inicial del sistema.

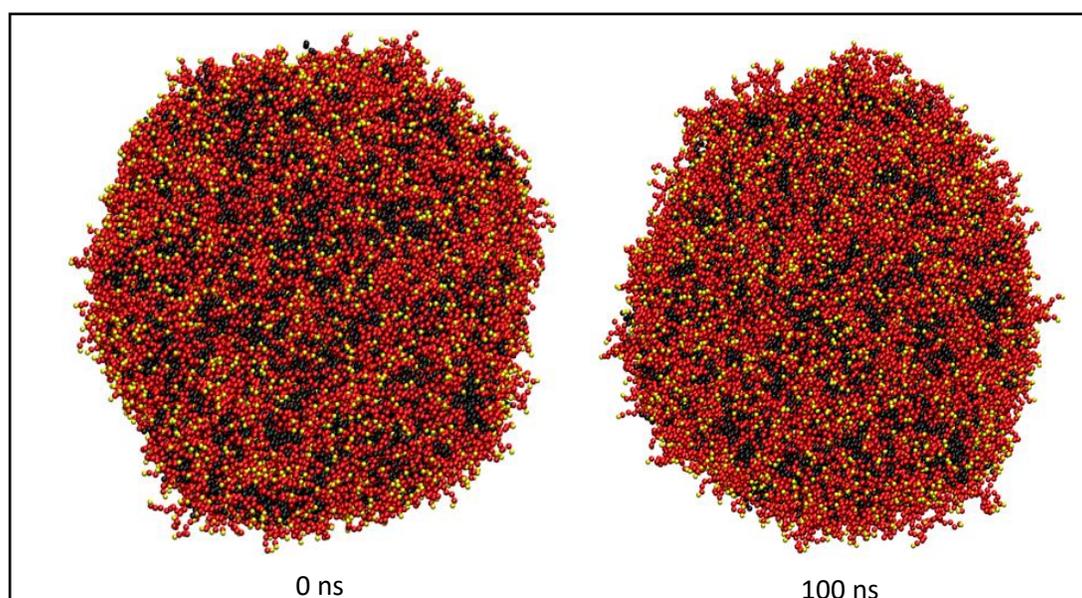


Figura 20. Sistema NLC en tiempo 0 versus último fotograma de simulación. Las partículas color rojo corresponden a la sección hidrofílica (COCO, EO y EOR) de las moléculas, las partículas color negro corresponden a la porción hidrofóbica (CT4, CM y CM2) de las moléculas, y las partículas color amarillo corresponden a los hidroxilos terminales (OA) de las moléculas.

Lo anteriormente mencionado también se puede observar en la Figura 21, la cual muestra un corte en sección transversal de la nanopartícula en su último fotograma de simulación donde la mayor parte de partículas hidrofóbicas (color negro) se concentran en la zona central o núcleo de la nanopartícula, obviamente esta tendencia del reordenamiento no se nota tan marcada como en los sistemas anteriores (Figuras 16 y 19), esto se debe a que este sistema es más grande que los otros dos sistemas (22 nm versus 8 y 13 nm respectivamente), entonces las moléculas individualmente no son capaces de ocupar completamente el radio transversal de la nanopartícula (de superficie a núcleo), por

lo que se forman estas especies de áreas con mayor densidad de partículas hidrofóbicas estabilizadas con las respectivas partículas hidrofílicas que componen a cada molécula.

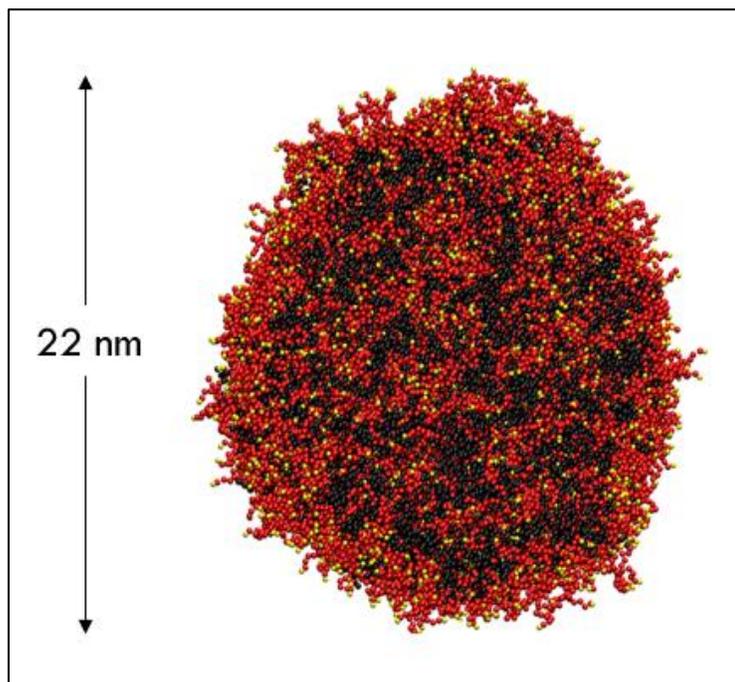


Figura 21. Vista en sección transversal del sistema NLC en su último fotograma de simulación, donde el color negro corresponde a la sección hidrofóbica de la molécula, el rojo a la sección hidrofílica y el amarillo a los OH terminales.

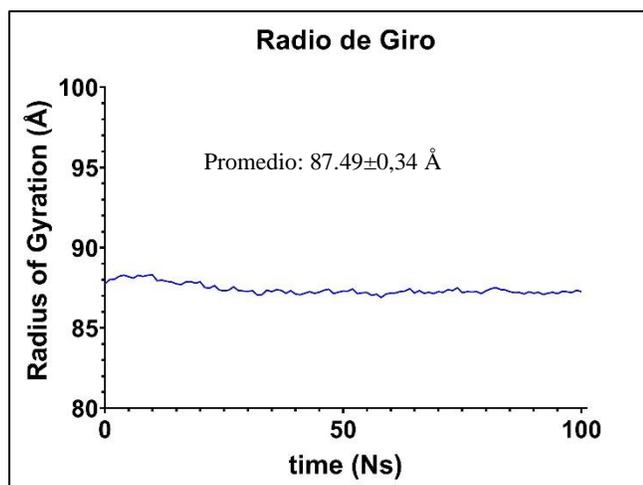


Figura 22. Radio de giro de la nanopartícula NLC durante los 100 ns de simulación.

El objetivo principal de la simulación de este sistema era evidenciar la estabilidad estructural de la nanopartícula previamente modelada en forma esférica a través del tiempo en una MD. La Figura 22 muestra el gráfico de radio de giro en relación al tiempo de este sistema dejando en evidencia que, aunque exista un reordenamiento interno de la posición estructural de sus componentes, no hay una modificación sustancial en la forma y tamaño de la nanopartícula.

Este gráfico de radio de giro también refleja lo anteriormente mencionado sobre la relación que existe entre el tamaño de la nanopartícula y el respectivo radio de giro que se observa. Es importante recalcar que la simulación de este sistema se realizó durante 100 ns solamente, pero de acuerdo a la tendencia del gráfico en la Figura 22 se esperaría que la estabilidad de la nanopartícula en su forma y tamaño se mantuviera en tiempos mayores de simulación.

5.3.3.2. Sistema NLC con claritromicina.

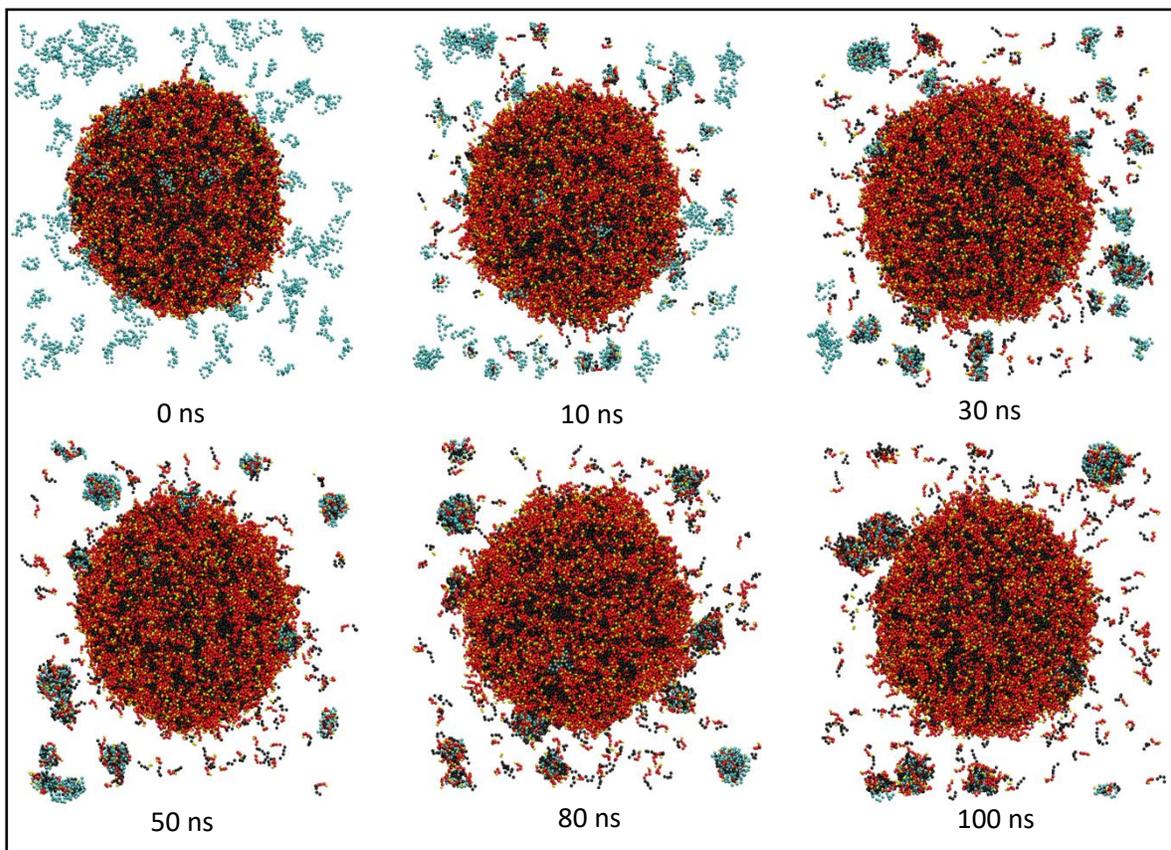


Figura 23. Evolución del Sistema de NLC desde los 0 ns a los 100 ns. Las partículas color rojo corresponden a la sección hidrofílica (COCO, EO y EOR) de las moléculas, las partículas color negro corresponden a la porción hidrofóbica (CT4, CM y CM2) de las moléculas, las partículas color amarillo corresponden a los hidroxilos terminales (OA) de las moléculas y las moléculas color cian corresponden a la claritromicina.

La Figura 23 muestra la evolución del sistema NLC con claritromicina durante 100 ns donde se puede observar cómo va disminuyendo la cantidad de claritromicina del medio ya que va ingresando poco a poco al interior de la nanopartícula. Esto ocurre porque la claritromicina es una molécula principalmente hidrofóbica por lo que encuentra estabilidad en el núcleo de la nanopartícula donde se encuentra la mayor cantidad de partículas hidrofóbicas. Por otro lado, la Figura 25 muestra el último fotograma de la simulación (100 ns) donde se puede observar que la mayor cantidad de claritromicina se encuentra en el núcleo de la nanopartícula, confirmando así la tendencia de la claritromicina de ingresar y mantenerse en el núcleo de la nanopartícula.

La Figura 24 muestra el modelo CG de claritromicina desarrollado para esta memoria superpuesto a su contraparte AA. Es importante tener en consideración que este modelo fue parametrizado mediante el uso del FF MARTINI, por lo que no existe una convergencia con el campo de fuerza desarrollado en esta memoria, por lo tanto, el comportamiento que exhibe esta molécula y que se presenta en la Figuras 23, 25 y 26 está determinado principalmente por las interacciones entre el sistema y el agua presente en el medio.

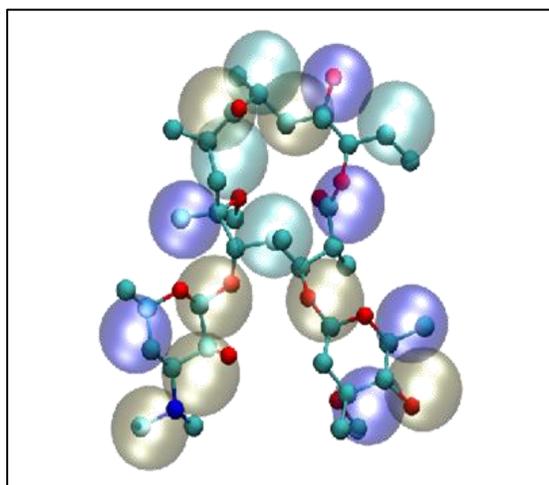


Figura 24. Modelo de claritromicina CG superpuesto a modelo AA.

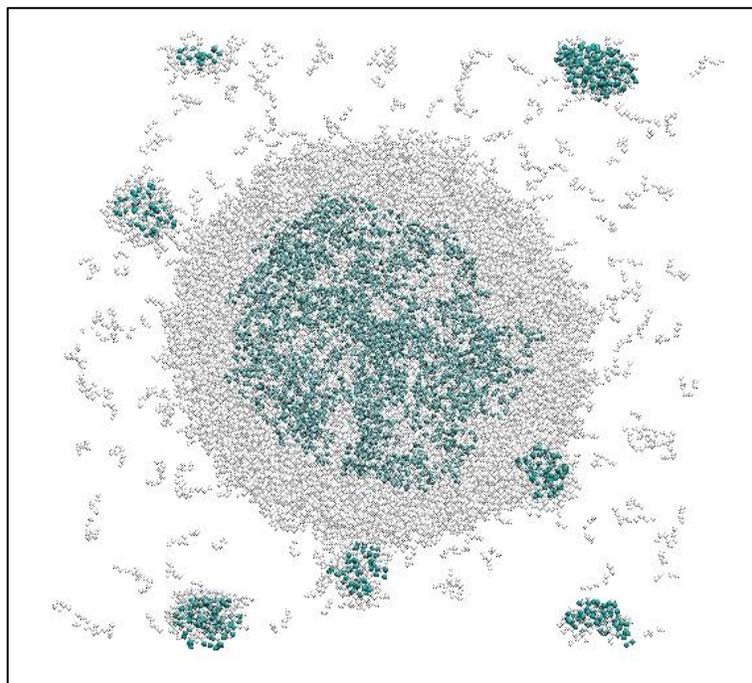


Figura 25. Sistema NLC con claritromicina en su último fotograma de simulación, el color blanco transparente corresponde a la nanopartícula y el color cian corresponde a las moléculas de claritromicina.

A continuación, en la Figura 26 podemos ver el gráfico de % de claritromicina que se encuentra en el núcleo de la nanopartícula en función del tiempo que transcurre durante la MD. Como podemos observar hay una marcada tendencia de la claritromicina a entrar a la nanopartícula, pero también se evidencia una especie de equilibrio donde algunas moléculas están ingresando a la nanopartícula, pero también otras están saliendo de esta. De este gráfico se puede obtener que el máximo de claritromicina que ingresó al núcleo de la nanopartícula fue un 73,3% de la totalidad de moléculas de claritromicina, lo que equivale a 110 de un total de 150 moléculas. Si bien experimentalmente este sistema exhibe un ingreso del 98% de claritromicina al núcleo de la nanopartícula (publicación en proceso), el sistema es de un tamaño considerablemente mayor en comparación con el modelo propuesto (120 nm versus 22 nm), esta diferencia de tamaño puede ser significativa en la capacidad que tiene la nanopartícula de albergar a la claritromicina en su núcleo. Además, como se mencionó anteriormente la parametrización de la claritromicina fue basada en el FF MARTINI por lo que este sistema ignora todas las posibles interacciones intermoleculares entre la claritromicina y los demás componentes del sistema que no están relacionadas a la hidrofilia de esta, por lo tanto, es esperable que si se optimiza este FF para agregar a la claritromicina dentro de sus parámetros y topología, los resultados de carga de esta en el núcleo de la nanopartícula serán mucho más favorables que los presentados en esta instancia.

Si bien esta dinámica se realizó durante 100 ns, es posible predecir que a medida que los tiempos aumentan también lo hará el porcentaje de claritromicina que ingresa y que se mantiene en el núcleo de la nanopartícula.

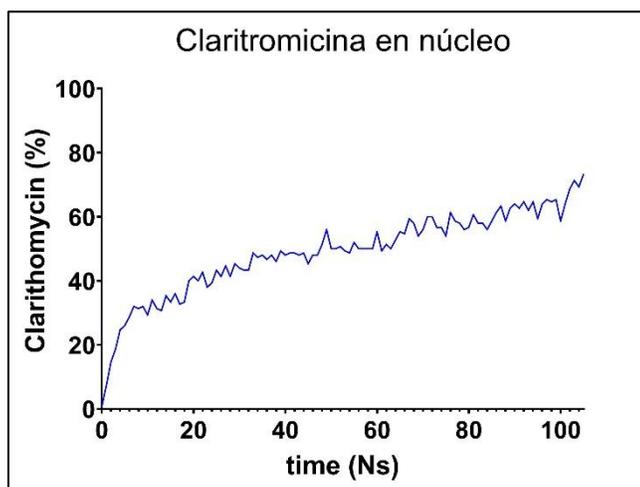


Figura 26. Gráfico del % de claritromicina que ingresa al núcleo del sistema NLC en función del tiempo en nanosegundos.

VI. CONCLUSIONES

Se seleccionaron 14 moléculas lipídicas relacionadas al desarrollo de nanopartículas lipídicas como sistemas de liberación de medicamentos y a partir de su topología AA se logró definir la topología del FF para modelos CG de cada una de ellas, el uso de esta topología CG logró disminuir en aproximadamente un 87% la cantidad de partículas a simular en una MD.

Se generó un FF en CG donde estuvieron definidos los parámetros de energía de enlace, ángulos de enlace, diedros e interacciones no enlazantes para las 14 moléculas seleccionadas, el FF resultó útil para la simulación molecular de cualquiera de las moléculas, aisladas o en sistemas.

A través de la simulación molecular AA-MD y CG-MD de las 14 moléculas y su posterior comparación mediante la utilización de la RDF y el radio de giro, se logró establecer que existía una similitud entre ambos modelos (AA y CG) referente a su comportamiento hidrofílico/hidrofóbico y a las distintas fuerzas de *bending* y *stretching* que existen en la molécula cuando esta es simulada en un ambiente acuoso.

Fue posible observar el comportamiento otorgado por el FF desarrollado en esta memoria de los distintos modelos dentro de un sistema complejo, se observó la auto agregación de las moléculas lipídicas desde un estado desordenado hasta la convergencia en *clusters* y la subsecuente conformación de nanopartícula, principalmente en dos sistemas, uno compuesto por tween 80 y otro sistema de micela híbrida de núcleo lipídico compuesto por distintas moléculas lipídicas.

Además, se logró establecer que el FF desarrollado en esta memoria es apropiado para la simulación mediante dinámica molecular clásica de nanopartículas lipídicas más complejas, como lo son los transportadores lipídicos nanoestructurados, y también el uso y combinación de este FF junto con otros FF, como MARTINI. permite estudiar la interacción que pueden tener estas nanopartículas lipídicas con algunos fármacos, pudiendo de esta manera observar y a su vez cuantificar la cantidad de fármaco que es capaz de ingresar al núcleo de una nanopartícula (capacidad de carga).

A partir de lo anteriormente mencionado se puede concluir que la utilización de modelos y campos de fuerza CG pueden ser de mucha ayuda a la hora de estudiar el comportamiento de distintos tipos de moléculas, en este caso moléculas lipídicas utilizadas principalmente en el desarrollo de nanopartículas como sistemas de liberación de medicamentos, pero lamentablemente aún existen grandes limitantes para este tipo de sistemas en donde entran en cálculo una gran cantidad de partículas/átomos, ya que se requieren grandes cantidades de recursos computacionales para llevar a cabo estas MD y que muchas veces no se encuentran disponibles, aunque con la velocidad a la que evoluciona la tecnología hoy en día no sería excesivo pensar que en el cercano plazo sea posible llevar a cabo simulaciones incluso más grandes y complejas que las presentadas en esta memoria en equipos computacionales destinados para uso personal o de oficina.

De todas maneras, el desarrollo de este campo de fuerza puede ser de gran utilidad como una manera de contrastar y entender a nivel molecular cuales son los mecanismos y resultados que se obtienen a la hora de estudiar y ensayar distintas formulaciones de nanopartículas junto con la interacción de estas con diferentes fármacos.

VII. REFERENCIAS

1. Laffleur F, Keckeis V. Advances in drug delivery systems: Work in progress still needed? *Int J Pharm.* noviembre de 2020;590:119912.
2. Lopez FL, Ernest TB, Tuleu C, Gul MO. Formulation approaches to pediatric oral drug delivery: benefits and limitations of current platforms. *Expert Opin Drug Deliv.* 2 de noviembre de 2015;12(11):1727-40.
3. Wilczewska AZ, Niemirowicz K, Markiewicz KH, Car H. Nanoparticles as drug delivery systems. *Pharmacol Rep.* 2012;64(5):1020-37.
4. Mohanraj VJ, Chen Y. Nanoparticles - A review. *Trop J Pharm Res.* 2007;5(1):561-73.
5. Crucho CIC, Barros MT. Polymeric nanoparticles: A study on the preparation variables and characterization methods. *Mater Sci Eng C.* 2017;80:771-84.
6. Wissing SA, Kayser O, Müller RH. Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2004;56(9):1257-72.
7. Beloqui A, Solinís MÁ, Rodríguez-Gascón A, Almeida AJ, Préat V. Nanostructured lipid carriers: Promising drug delivery systems for future clinics. *Nanomedicine Nanotechnol Biol Med.* 2016;12(1):143-61.
8. Helgason T, Awad TS, Kristbergsson K, McClements DJ, Weiss J. Influence of Polymorphic Transformations on Gelation of Tripalmitin Solid Lipid Nanoparticle Suspensions. *J Am Oil Chem Soc.* junio de 2008;85(6):501-11.
9. Irby D, Du C, Li F. Lipid-Drug Conjugate for Enhancing Drug Delivery. *Mol Pharm.* 2017;14(5):1325-38.
10. Singh S, Chopra M, De Pablo JJ. Density of states-based molecular simulations. *Annu Rev Chem Biomol Eng.* 2012;3:369-94.
11. Ozboyaci M, Kokh DB, Corni S, Wade RC. Modeling and simulation of protein-surface interactions: Achievements and challenges. *Q Rev Biophys.* 2016;49:1-45.
12. Kukul A. Molecular modeling of proteins: Second edition. *Mol Model Proteins Second Ed.* 2014;1215(Md):1-474.
13. Joshi SY, Deshmukh SA. A review of advancements in coarse-grained molecular dynamics simulations. *Mol Simul.* 2020;0(0):1-18.
14. MacDermaid CM, Kashyap HK, Devane RH, Shinoda W, Klauda JB, Klein ML, et al. Molecular dynamics simulations of cholesterol-rich membranes using a coarse-grained force field for cyclic alkanes. *J Chem Phys.* 2015;143(24).
15. Knotts TA, Rathore N, Schwartz DC, De Pablo JJ. A coarse grain model for DNA. *J Chem Phys.* 2007;126(8).
16. Moradzadeh A, Motevaselian MH, Mashayak SY, Aluru NR. Coarse-Grained Force Field for Imidazolium-Based Ionic Liquids. *J Chem Theory Comput.* 2018;14(6):3252-61.

17. Khot A, Shiring SB, Savoie BM. Evidence of information limitations in coarse-grained models. *J Chem Phys.* 28 de diciembre de 2019;151(24):244105.
18. Souza PCT, Alessandri R, Barnoud J, Thallmair S, Faustino I, Grünewald F, et al. Martini 3: a general purpose force field for coarse-grained molecular dynamics. *Nat Methods.* 2021;18(4):382-8.
19. Rzepiela AJ, Louhivuori M, Peter C, Marrink SJ. Hybrid simulations: Combining atomistic and coarse-grained force fields using virtual sites. *Phys Chem Chem Phys.* 2011;13(22):10437-48.
20. Brandner LA, Pantano DS, Melo DF. DESARROLLO DE METODOLOGÍAS PARA EL ESTUDIO DE MODELOS SIMPLIFICADOS DE ADN-PROTEÍNA. :98.
21. Wang J, Wolf RM, Caldwell JW, Kollman PA, Case DA. Development and testing of a general amber force field. *J Comput Chem.* 2004;25(9):1157-74.
22. Marrink SJ, Risselada HJ, Yefimov S, Tieleman DP, De Vries AH. The MARTINI force field: Coarse grained model for biomolecular simulations. *J Phys Chem B.* 2007;111(27):7812-24.
23. Darré L, Machado MR, Brandner AF, González HC, Ferreira S, Pantano S. SIRAH: A structurally unbiased coarse-grained force field for proteins with aqueous solvation and long-range electrostatics. *J Chem Theory Comput.* 2015;11(2):723-39.
24. Meagher KL, Redman LT, Carlson HA. Development of polyphosphate parameters for use with the AMBER force field. *J Comput Chem.* 2003;24(9):1016-25.
25. Schmid N, Eichenberger AP, Choutko A, Riniker S, Winger M, Mark AE, et al. Definition and testing of the GROMOS force-field versions 54A7 and 54B7. *Eur Biophys J.* 2011;40(7):843-56.
26. PubChem. PubChem [Internet]. [citado 13 de diciembre de 2021]. Disponible en: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
27. CG Builder [Internet]. [citado 13 de diciembre de 2021]. Disponible en: <https://jbarnoud.github.io/cgbuilder/>
28. Brasiello A, Crescitelli S, Milano G. Development of a coarse-grained model for simulations of tridecanoin liquid-solid phase transitions. *Phys Chem Chem Phys.* 2011;13(37):16618-28.
29. Amani A, York P, De Waard H, Anwar J. Molecular dynamics simulation of a polysorbate 80 micelle in water. *Soft Matter.* 2011;7(6):2900-8.
30. Mobasheri M, Attar H, Sorkhabadi SMR, Khamesipour A, Jaafari MR. Solubilization behavior of polyene antibiotics in nanomicellar system: Insights from molecular dynamics simulation of the amphotericin B and Nystatin interactions with polysorbate 80. *Molecules.* 2016;21(1).
31. Katiyar P, Singh JK. A coarse-grain molecular dynamics study of oil-water interfaces in the presence of silica nanoparticles and nonionic surfactants. *J Chem Phys.* 2017;146(20).
32. Shinoda W, Devane R, Klein ML. Coarse-grained molecular modeling of non-ionic surfactant self-assembly. *Soft Matter.* 2008;4(12):2454-62.

33. Li Z, Bian X, Yang X, Karniadakis GE. A comparative study of coarse-graining methods for polymeric fluids: Mori-Zwanzig vs. iterative Boltzmann inversion vs. stochastic parametric optimization. *J Chem Phys.* 28 de julio de 2016;145(4):044102.
34. Gutenberg Open Science: Coarse-graining and quantum-classical adaptive coupling in soft matter [Internet]. [citado 26 de octubre de 2021]. Disponible en: <https://openscience.ub.uni-mainz.de/handle/20.500.12030/4791>
35. Zoete V, Cuendet MA, Grosdidier A, Michielin O. SwissParam: A fast force field generation tool for small organic molecules. *J Comput Chem.* agosto de 2011;32(11):2359-68.
36. Halgren TA. Merck molecular force field. I. Basis, form, scope, parameterization, and performance of MMFF94. *J Comput Chem.* 1996;17(5-6):490-519.
37. Vanommeslaeghe K, Hatcher E, Acharya C, Kundu S, Zhong S, Shim J, et al. CHARMM general force field: A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields. *J Comput Chem.* 2010;31(4):671-90.
38. Nelson MT, Humphrey W, Gursoy A, Dalke A, Kale L V., Skeel RD, et al. NAMD: A parallel, object-oriented molecular dynamics program. *Int J High Perform Comput Appl.* 1996;10(4):251-68.
39. Levine BG, Stone JE, Kohlmeyer A. Fast analysis of molecular dynamics trajectories with graphics processing units—Radial distribution function histogramming. *J Comput Phys.* mayo de 2011;230(9):3556-69.
40. Kirkwood JG, Boggs EM. The Radial Distribution Function in Liquids. *J Chem Phys.* junio de 1942;10(6):394-402.
41. Li F, Lannin JS. Radial distribution function of amorphous carbon. *Phys Rev Lett.* 8 de octubre de 1990;65(15):1905-8.
42. Wilhelm J, Frey E. Radial Distribution Function of Semiflexible Polymers. *Phys Rev Lett.* 16 de septiembre de 1996;77(12):2581-4.
43. Lobanov MYu, Bogatyreva NS, Galzitskaya OV. Radius of gyration as an indicator of protein structure compactness. *Mol Biol.* agosto de 2008;42(4):623-8.
44. Analysis scripts [Internet]. [citado 25 de febrero de 2022]. Disponible en: <http://www.ks.uiuc.edu/Research/vmd/vmd-1.7.1/ug/node182.html#12406>
45. Martínez L, Andrade R, Birgin EG, Martínez JM. PACKMOL: A package for building initial configurations for molecular dynamics simulations. *J Comput Chem.* octubre de 2009;30(13):2157-64.
46. Clúster de Supercómputo Yotla – LANCAD [Internet]. [citado 13 de diciembre de 2021]. Disponible en: http://www.lancad.mx/?page_id=96
47. Chou W-H, Galaz A, Jara MO, Gamboa A, Morales JO. Drug-Loaded Lipid-Core Micelles in Mucoadhesive Films as a Novel Dosage Form for Buccal Administration of Poorly Water-Soluble and Biological Drugs. *Pharmaceutics.* 30 de noviembre de 2020;12(12):1168.

48. Ortiz AC, Yañez O, Salas-Huenuleo E, Morales JO. Development of a Nanostructured Lipid Carrier (NLC) by a Low-Energy Method, Comparison of Release Kinetics and Molecular Dynamics Simulation. *Pharmaceutics*. 10 de abril de 2021;13(4):531.
49. Bereau T, Kremer K. Automated Parametrization of the Coarse-Grained Martini Force Field for Small Organic Molecules. *J Chem Theory Comput*. 9 de junio de 2015;11(6):2783-91.
50. Hanke CG, Atamas NA, Lynden-Bell RM. Solvation of small molecules in imidazolium ionic liquids: a simulation study. *Green Chem*. 16 de abril de 2002;4(2):107-11.
51. Ma S-M, Zhao L, Wang Y-L, Zhu Y-L, Lu Z-Y. The Coarse-Grained Models of Poly(Ethylene Oxide) and Poly(Propylene Oxide) Homopolymers and Polox- amers in Big Multipole Water (BMW) and MARTINI Framework. *Phys Chem Chem Phys*. :12.
52. Vögele M, Holm C, Smiatek J. Coarse-grained simulations of polyelectrolyte complexes: MARTINI models for poly(styrene sulfonate) and poly(diallyldimethylammonium). *J Chem Phys*. 28 de diciembre de 2015;143(24):243151.
53. Kmiecik S, Gront D, Kolinski M, Wieteska L, Dawid AE, Kolinski A. Coarse-Grained Protein Models and Their Applications. *Chem Rev*. 2016;39.
54. Kmiecik S, Kouza M, Badaczewska-Dawid AE, Kloczkowski A, Kolinski A. Modeling of Protein Structural Flexibility and Large-Scale Dynamics: Coarse-Grained Simulations and Elastic Network Models. *Int J Mol Sci*. 2018;19.
55. Krüger DM, Kamerlin SCL. Micelle Maker: An Online Tool for Generating Equilibrated Micelles as Direct Input for Molecular Dynamics Simulations. *ACS Omega*. 31 de agosto de 2017;2(8):4524-30.
56. Lee B, Richards FM. The interpretation of protein structures: Estimation of static accessibility. *J Mol Biol*. 14 de febrero de 1971;55(3):379-IN4.
57. Shrake A, Rupley JA. Environment and exposure to solvent of protein atoms. Lysozyme and insulin. *J Mol Biol*. 15 de septiembre de 1973;79(2):351-71.
58. Illustrated Glossary of Organic Chemistry - Bending mode [Internet]. [citado 11 de febrero de 2022]. Disponible en: http://www.chem.ucla.edu/~harding/IGOC/B/bending_mode.html
59. What is server clustering and how does it work? [Internet]. Apachebooster Blog: Showcasing the tech blogs written by our writers. 2018 [citado 11 de febrero de 2022]. Disponible en: <https://apachebooster.com/blog/what-is-server-clustering-and-how-does-it-work/>
60. Fotograma. En: Wikipedia, la enciclopedia libre [Internet]. 2022 [citado 11 de febrero de 2022]. Disponible en: <https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Fotograma&oldid=141159370>
61. hydrophilicity. En: The Free Dictionary [Internet]. [citado 11 de febrero de 2022]. Disponible en: <https://www.thefreedictionary.com/hydrophilicity>
62. ASALE R-, RAE. mapeo | Diccionario de la lengua española [Internet]. «Diccionario de la lengua española» - Edición del Tricentenario. [citado 11 de febrero de 2022]. Disponible en: <https://dle.rae.es/mapeo>

63. Roy K, Kar S, Das RN. Computational Chemistry. En: Understanding the Basics of QSAR for Applications in Pharmaceutical Sciences and Risk Assessment [Internet]. Elsevier; 2015 [citado 11 de febrero de 2022]. p. 151-89. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128015056000053>
64. Ash RB. Basic probability theory. Dover ed. Mineola, N.Y: Dover Publications; 2008. 337 p.
65. What is Python? Executive Summary [Internet]. Python.org. [citado 11 de febrero de 2022]. Disponible en: <https://www.python.org/doc/essays/blurb/>
66. What is script? - Definition from WhatIs.com [Internet]. WhatIs.com. [citado 11 de febrero de 2022]. Disponible en: <https://whatis.techtarget.com/definition/script>
67. What is Software? Definition, Types and Examples [Internet]. SearchAppArchitecture. [citado 11 de febrero de 2022]. Disponible en: <https://www.techtarget.com/searchapparchitecture/definition/software>
68. Illustrated Glossary of Organic Chemistry - Bond stretch [Internet]. [citado 11 de febrero de 2022]. Disponible en: http://www.chem.ucla.edu/~harding/IGOC/B/bond_stretch.html
69. 4 - Trayectoria - Física y Química 4º [Internet]. [citado 11 de febrero de 2022]. Disponible en: <http://eso4fyq.cellavinaria.org/temas/los-movimientos/posicin/trayectoria>

VIII. ANEXOS

8.1. Anexo I: Glosario.

Área de accesibilidad al solvente: Es el área superficial de una biomolécula que es accesible para un solvente, (56) es calculada comúnmente usando el algoritmo de la esfera giratoria, este algoritmo utiliza una esfera de solvente de un radio específico para ser “probada” en la superficie de la molécula. (57)

Bending: Vibración molecular donde los ángulos de enlace se expanden y comprimen. (58)

Cluster: Dos o más equipos computacionales que trabajan entre si al mismo tiempo, compartiendo recursos y pudiendo acceder a estos recursos a través del internet bajo un *host name* y una IP. (59)

Fotograma: (Equivalente a cuadro) Se puede considerar como una imagen estática de un video o reproducción. Originalmente las películas de cine y televisión eran reproducidas bajo la sucesión de un número de fotograma en una tasa de tiempo. (60)

Hidrofilia: Que tiene o presenta afinidad al agua. (61)

Mapeo: Proviene del término mapear y se refiere a la acción de asignar y representar gráficamente la distribución relativa de las partes de un todo. (62) En el caso de esta memoria, por ejemplo, asignar una representación gráfica (*bead*) a un grupo o conjunto de átomos en una molécula.

Minimización: Es el proceso de encontrar un arreglo en el espacio de un grupo de átomos donde, de acuerdo a un modelo computacional, la energía interatómica de cada átomo es aceptablemente cercana a cero y la posición en el potencial de energía superficial es un punto estacionario. (63)

Probabilidad de distribución: En estadística la probabilidad de distribución es una función matemática que da cuenta de la probabilidad de ocurrencia de diferentes resultados posibles en un experimento o ensayo. (64)

Python: Lenguaje de programación de alto nivel interpretado, orientado a objetos y con semántica dinámica. (65)

Script: Programa o secuencia de instrucciones que es interpretado o llevado a cabo por otro programa. (66)

Snapshot: Fotografía o captura de pantalla.

Software: Es un grupo de instrucciones, datos o programas usados para operar en computadores y ejecutar tareas específicas. (67)

Stretching: Vibración molecular donde los largos de enlace se expanden y comprimen. (68)

Trayectoria: Conjunto de puntos que sigue un cuerpo en movimiento, en términos de esta memoria, un átomo o *bead* en movimiento. (69)

8.2. Anexo II: Parámetros No enlazantes utilizados en el campo de fuerza

Enlace		K (kcal mol ⁻¹ Å ⁻²)	r0 (Å)
P4	P4	-0.895	4.371
BP4	BP4	-0.895	4.371
P4	CT	-0.36	4.478
BP4	CT	-0.36	4.478
P4	CM	-0.34	4.4385
BP4	CM	-0.34	4.4385
P4	CT2	-0.29	4.296
BP4	CT2	-0.29	4.296
P4	CT4	-0.36	4.478
BP4	CT4	-0.36	4.478
P4	CM2	-0.478	4.4385
BP4	CM2	-0.478	4.4385
P4	EO	-0.57	4.31
BP4	EO	-0.57	4.31
P4	OA	-0.7	3.95
BP4	OA	-0.7	3.95
P4	EOR	-0.72	4.31
BP4	EOR	-0.72	4.31
P4	COCO	-0.813	4.31
P4	COO	-0.813	4.31
BP4	COCO	-0.813	4.31
BP4	COO	-0.813	4.31
P4	PPO	-0.8365	4.7
BP4	PPO	-0.8365	4.7
CT	CT	-0.469	4.585
CT	CM	-0.444	4.5455
CT	CT2	-0.444	4.585
CT	CT4	-0.469	4.585
CT	CM2	-0.765	4.3
CT	EO	-0.41	4.34
CT	OA	-0.4372	4.033
CT	EOR	-0.41	4.34
CT	COCO	-0.5975	4.3
CT	COO	-0.5975	4.3
CT	PPO	-0.50375	4.3
CM	CM	-0.42	4.506
CM	CT2	-0.362	4.3635
CM	CT4	-0.362	4.3635
CM	CM2	-0.42	4.506

CM	EO	-0.377	4.274
CM	OA	-0.365	3.987
CM	EOR	-0.377	4.274
CM	COCO	-0.377	4.274
CM	COO	-0.377	4.274
CM	PPO	-0.377	4.274
CT2	CT2	-0.312	4.221
CT2	CT4	-0.312	4.221
CT2	CM2	-0.362	4.3635
CT2	EO	-0.37	4.14
CT2	OA	-0.38	3.84
CT2	EOR	-0.37	4.14
CT2	COCO	-0.37	4.14
CT2	COO	-0.37	4.14
CT2	PPO	-0.37	4.14
CT4	CT4	-0.469	5.585
CT4	CM2	-0.444	5.5455
CT4	EO	-0.41	4.34
CT4	OA	-0.4372	4.033
CT4	EOR	-0.41	4.34
CT4	COCO	-0.41	4.34
CT4	COO	-0.41	4.34
CT4	PPO	-0.41	4.34
CM2	CM2	-0.42	4.5
CM2	EO	-0.38	4.3
CM2	OA	-0.37	4.3
CM2	EOR	-0.38	4.3
CM2	COCO	-0.38	4.3
CM2	COO	-0.38	4.3
CM2	PPO	-0.38	4.3
EO	EO	-0.405	4.25
EO	OA	-0.44	3.89
EO	EOR	-0.405	4.25
EO	COCO	-0.405	4.25
EO	COO	-0.405	4.25
EO	PPO	-0.8174	4.5
OA	OA	-0.4491	3.713
OA	EOR	-0.44	3.89
OA	COCO	-0.44	3.89
OA	COO	-0.44	3.89
OA	PPO	-0.44	3.89

EOR	EOR	-0.405	4.25
EOR	COCO	-0.405	4.25
EOR	COO	-0.405	4.25
EOR	PPO	-0.405	4.25
COCO	COCO	-0.405	4.25
COCO	COO	-0.405	4.25
COCO	PPO	-0.405	4.25
COO	COO	-0.405	4.25
COO	PPO	-0.405	4.25
PPO	PPO	-0.82457	4.7

8.3. Anexo III: *Scripts utilizados.*

8.3.1. Script I: *Topology.py*

```
from sys import argv
script, filename = argv
file1=open(filename,"r")
result=[] sub=[] mass=[] atoms={} masses={'c':12,'C':12,'O':16,'o':16,'N':14,'n':14} summas=0
sumalist=[] smi=[] count=1 countlist=0
print('!Generic types')
for line in file1:
    result.append(line)
for item in result:
    word=item.split()
    sub.append(word)
for term in sub:
    if len(term)==9 and not 'id' in term:
        if not term[1] in mass:
            mass.append(term[1])
for term in sub:
    if len(term)==9 and not 'id' in term:
        if not term[8] in smi:
            smi.append(term[8])
for smile in smi:
    smiatoms= list(smile)
    for atom in smiatoms:
        if atom in masses.keys():
            summas=summas+masses.get(atom)
    sumalist.append(summas)
    summas=0
for item in mass:
    print('MASS',count,item,sumalist[countlist],!)
    count=count+1
    countlist=countlist+1
print("")
for term in sub:
    if len(term)==2:
        print('!molecula\nRESI',term[0],0.0,'\nGROUP')
for term in sub:
    if len(term)==9 and not 'id' in term:
        print('ATOM',term[4],term[1],0.0,'!',term[8])
        atoms[term[0]] = term[4]
print('!\n!')
for term in sub:
    if len(term)==5 and not 'length' in term:
        print('BOND',atoms.get(term[0]),atoms.get(term[1]))
    if len(term)==4:
        print('BOND',atoms.get(term[0]),atoms.get(term[1]))
print('!\n!')
for term in sub:
    if len(term)==6 and not 'force.c.' in term:
        print('ANGLES',atoms.get(term[0]),atoms.get(term[1]),atoms.get(term[2]))
```

```
print('\n!')
for term in sub:
    if len(term)==7 and not ';' in term:
        print('DIHEDRAL',atoms.get(term[0]),atoms.get(term[1]),atoms.get(term[2]),atoms.get(term[3]))
```

8.3.2. Script II: Make-CG-psf.tcl

```
package require cgtools

# load new coarse-grained system
set cgmol [mol new molecule.pdb]

#####
# make preliminary psf
package require psfgen
resetpsf
topology molecule.top

segment L {
  pdb molecule.pdb
  first none
  last none
}
coordpdb molecule.pdb L
#
guesscoord
writepdb molecule_out.pdb
writepsf molecule_out.psf

# recentering the patch (for convenience)
mol load pdb molecule_out.pdb
set all [atomselect top all]
$all moveby [vecinvert [measure center $all]]
$all writepdb molecule_out.pdb
```

8.3.3. Script III: Solvate.tcl

```
source ../../05-scripts/solvate.tcl
```

```
solvate molecule.psf molecule.pdb -o molecule_solvated -s WT -x 27 -y 27 -z 27 +x 27 +y 27 +z 27 -b  
5 -spdb cgwaterbox-90W-10WAF-100A-QQQ.pdb -spsf cgwaterbox-90W-10WAF-100A-QQQ.psf -  
stop martini-water.top -ws 100 -ks {name W WAF}
```

```
file delete combine.pdb
```

```
file delete combine.psf
```

```
file delete solvated.log
```

```
exit
```

8.3.4. Script IV: Measure_Dimension_Center.tcl

```
mol load pdb molecule_H2O.pdb

set sel [atomselect top all]
set minmax [measure minmax $sel]
set min_x [lindex [lindex $minmax 0] 0]
set max_x [lindex [lindex $minmax 1] 0]
set min_y [lindex [lindex $minmax 0] 1]
set max_y [lindex [lindex $minmax 1] 1]
set min_z [lindex [lindex $minmax 0] 2]
set max_z [lindex [lindex $minmax 1] 2]

### Resultado
set lenght_x [expr $max_x - $min_x]
set lenght_y [expr $max_y - $min_y]
set lenght_z [expr $max_z - $min_z]

puts "$lenght_x\t$lenght_y\t$lenght_z\n"
set center [measure center $sel]
puts "$center\n"
```

8.3.5. Script V: Main_gyr.tcl

```
source gyr_radius.tcl
source center_of_mass.tcl

set outfile [open radius_of_gyration.txt w]
puts $outfile "i rad_of_gyr"

set nf [molinfo top get numframes]
set i 0
set prot [atomselect top "noh resname DLA"]
while {$i < $nf} {
    $prot frame $i
    $prot update
    set i [expr {$i + 1}]
    set rog [gyr_radius $prot]
    puts $outfile "$i $rog"
}
close $outfile
```

8.3.6. Script VI: Sasa.tcl

```
set n [molinfo top get numframes]
set outfile [open sasa.dat a]

for { set i 0 } { $i < $n } { incr i } {
    set all [atomselect top "resname DLA" frame $i]
    set r [measure sasa 1.4 $all]
    #puts [list $i $r]
    puts $outfile [format " %d\t%.4f" $i $r]
}

puts "Revisar archivo sasa.dat"
close $outfile
```

8.3.7. Script VII: Contactos.tcl

```
# noh protein and same residue as within 4 of resname UNL
set selec1 "resname CLR and same residue as within 5 of resname DLA"
#
#
set num_steps [molinfo top get numframes]
# total list
set a_out [list]
#
puts "Frame\tNumero"
for {set frame 0} {$frame < $num_steps } {incr frame} {
    # Get the correct frame
    set sel [atomselect top $selec1 frame $frame]
    # To get the residue and id
    set d_out [lsort -unique [$sel get {resname resid}]]
    #
    set num_length [llength $d_out]
    puts "$frame\t$num_length"
    #
    for {set j 0} {$j < $num_length} {incr j} {
        set residname [lindex $d_out $j]
        #
        set name [lindex $residname 0]
        set resid [lindex $residname 1]
        #
        set all "$name$resid"
        lappend a_out $all
    }
    #
    # delete variable
    $sel delete
    unset sel
}
# Count number of unique element in a list
set outfile [open contact.txt w]
```

```

set counters {}
foreach item $a_out {
    dict incr counters $item
}
set xx 0
set lol 0
dict for {item count} $counters {
    set frac_num [expr { $count * 1.0/$num_steps } ]
    set perce_num [expr { $count * 1.0/$num_steps } * 100 ]
    puts $outfile "${item}\t$count\t$count/$num_steps\t$frac_num\t$perce_num"
    #
    incr xx
    incr lol $count
}
set total [expr { $xx * $num_steps } ]
set total_frac [expr { $lol * 1.0 / $total } ]
set total_frac_perce [expr { $lol * 1.0 / $total } * 100 ]

puts $outfile " "
puts $outfile " "
puts $outfile " Numero claritromicina : $xx "
#puts $outfile " Total capturada : $lol/$total = $total_frac = $total_frac_perce"

close $outfile

```

8.4. Anexo IV: Archivo de configuración NAMD.

```
set inputname run_1
set outputname run_1

set temperature 358.00
cosAngles on

structure molecule.psf
coordinates molecule.pdb
#temperature $temperature

if {1} {
binCoordinates $inputname.restart.coor
binVelocities $inputname.restart.vel
extendedSystem $inputname.restart.xsc
COMMotion yes
}

firsttimestep 0

#####
## SIMULATION PARAMETERS ##
#####

# Input
paraTypeCharmm on
parameters proyect-bonds-angles.par
parameters proyect-all-nonb.par
#

# Force-Field Parameters
exclude 1-2
1-4scaling 1.0
cutoff 15.0
switching on
martiniSwitching on
PME off
switchdist 9.0
pairlistdist 15.0
dielectric 15.0

# Integrator Parameters
timestep 2.0
nonbondedFreq 1
stepspercycle 10

# Constant Temperature Control
```

```
langevin      yes  ;# do langevin dynamics
langevinDamping 1    ;# damping coefficient (gamma) of 1/ps
langevinTemp   $temperature
langevinHydrogen off ;# don't couple langevin bath to hydrogens
```

```
# Periodic Boundary Conditions
if {0} {
cellBasisVector1 295.34 0 0
cellBasisVector2 0 303.49 0
cellBasisVector3 0 0 285.90
cellOrigin -2.12 1.60 -5.16
}
```

```
margin 6.0
wrapAll on
```

```
# Constant Pressure Control (variable volume)
useGroupPressure no
useFlexibleCell no
useConstantArea no
useConstantRatio no
```

```
langevinPiston yes
langevinPistonTarget 1.01325 ;# in bar -> 1 atm
langevinPistonPeriod 2000. #usually 2000 for RBCG system
langevinPistonDecay 1000. #usually 1000 for RBCG system
langevinPistonTemp $temperature
```

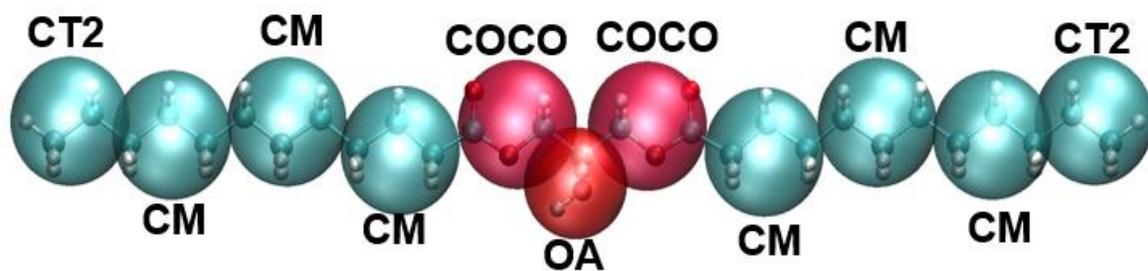
```
# Output
outputName $outputname
restartfreq 100
dcdfreq 100000
xstFreq 100
outputEnergies 100
outputPressure 100
```

```
#####
## EXECUTION SCRIPT ##
#####
```

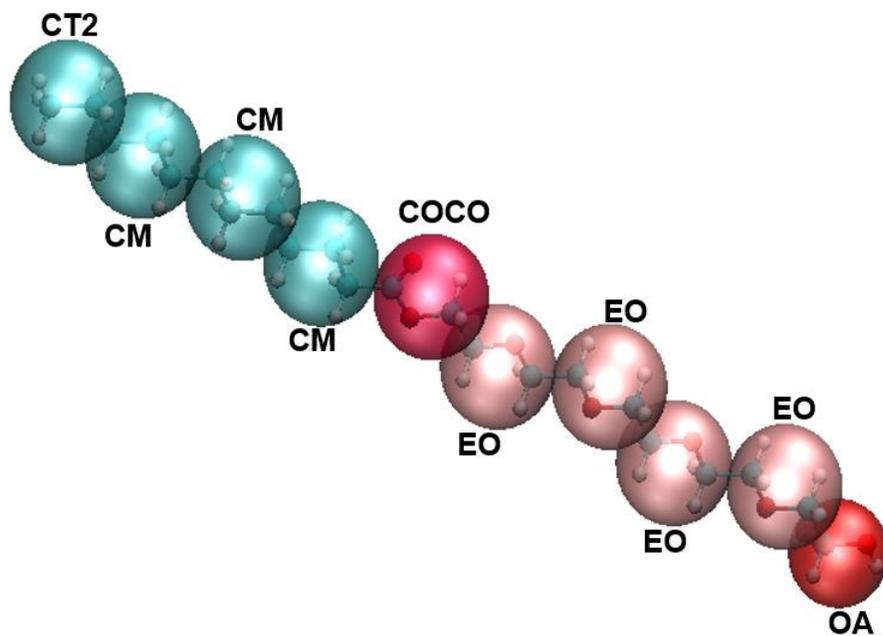
```
#minimize 100000
run 500000000
```

8.5. Anexo V: Modelos *all atoms* / *coarse grained*.

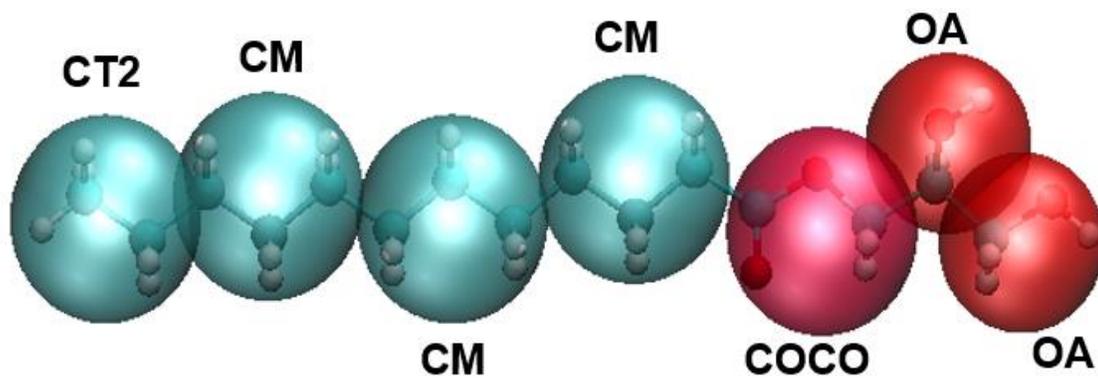
8.5.1. Diglicérido de ácido láurico



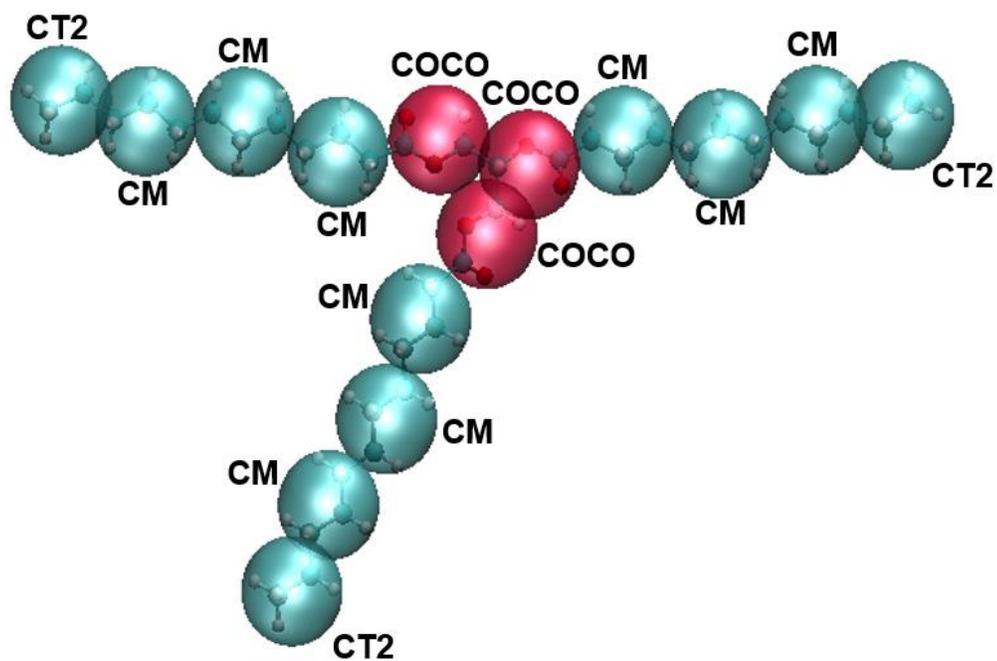
8.5.2. PEG de ácido láurico



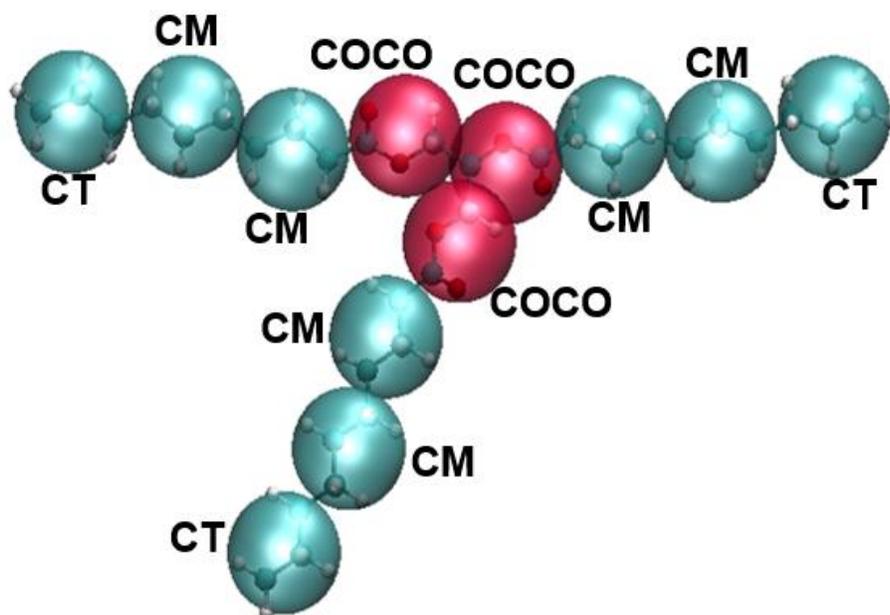
8.5.3. Mono glicérido de ácido láurico



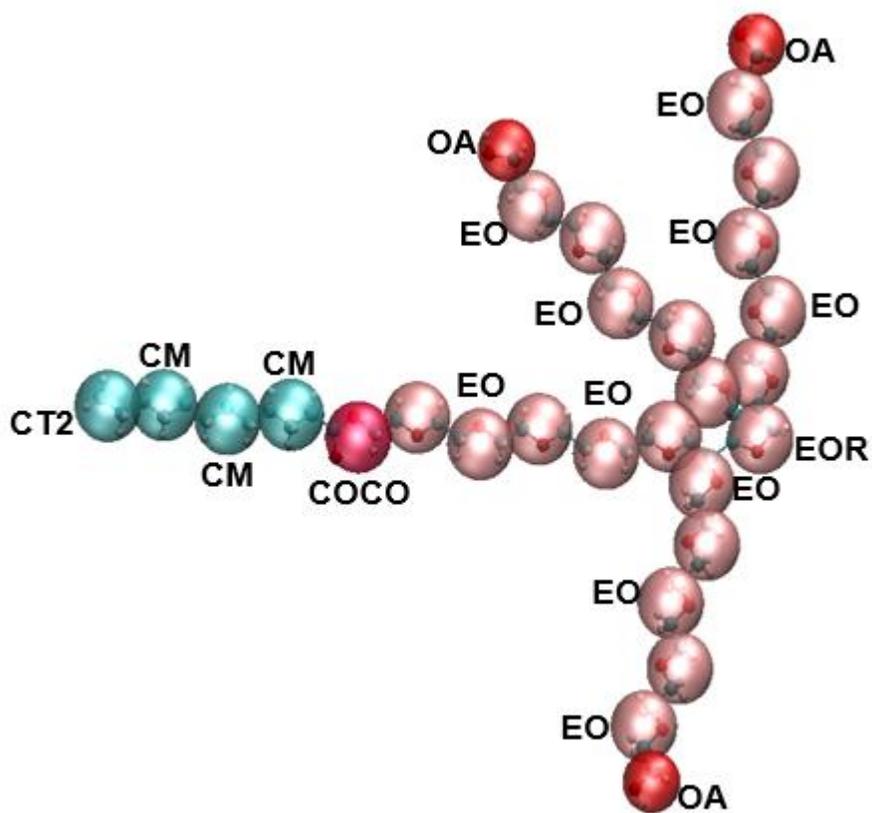
8.5.4. Tri glicérido de ácido láurico



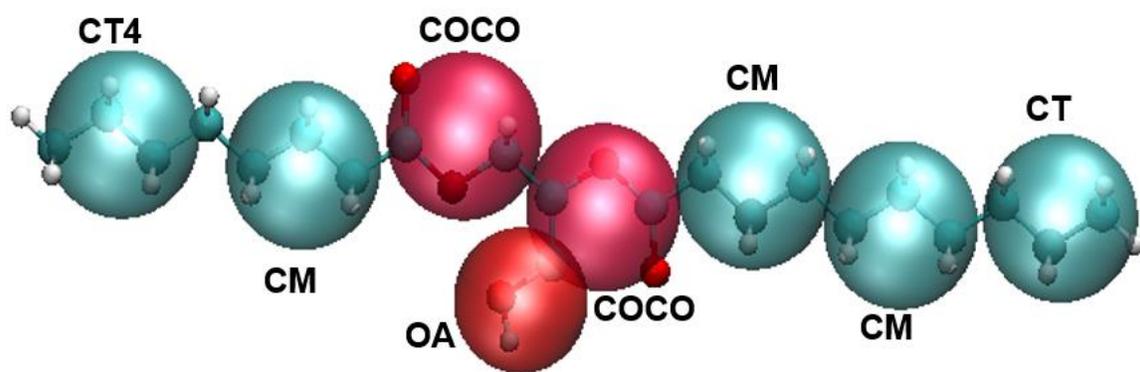
8.5.5. Tri glicérido cáprico



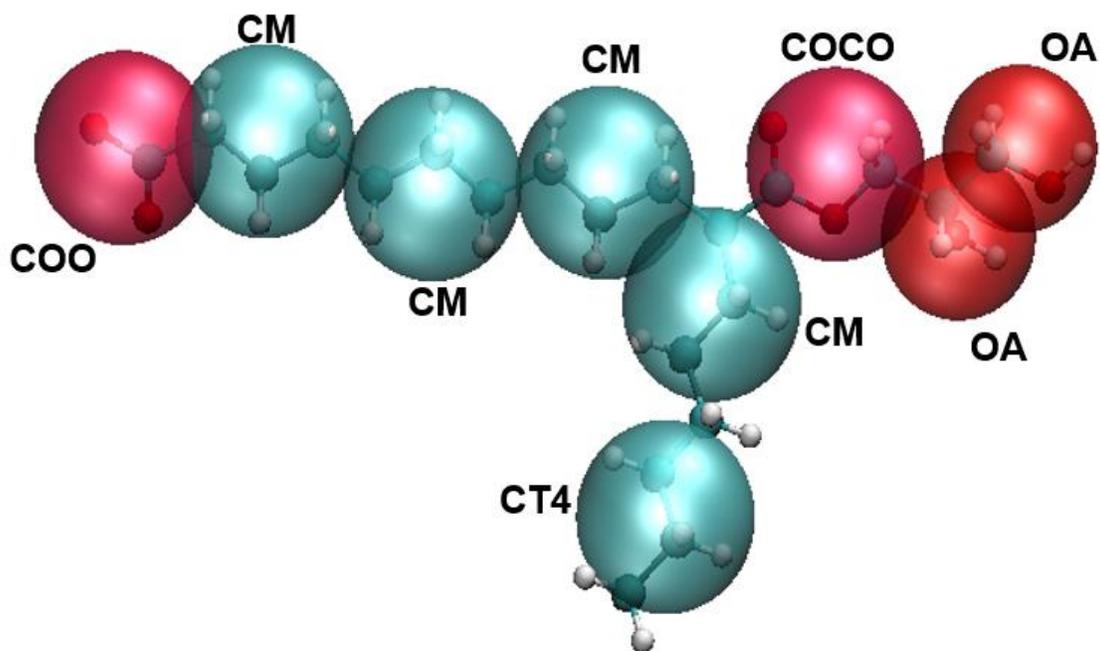
8.5.10. Tween 20



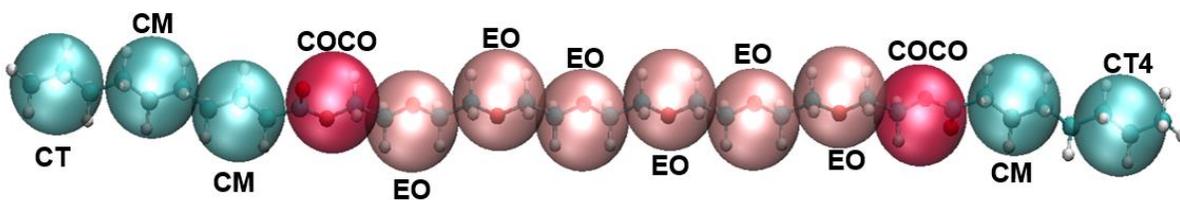
8.5.11. Labrafac 01



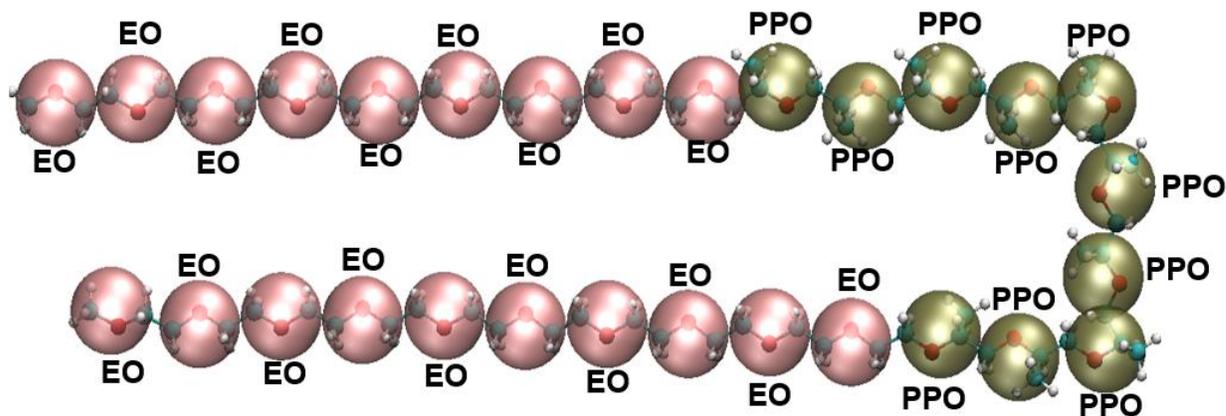
8.5.12. Labrafac 02



8.5.13. Labrasol

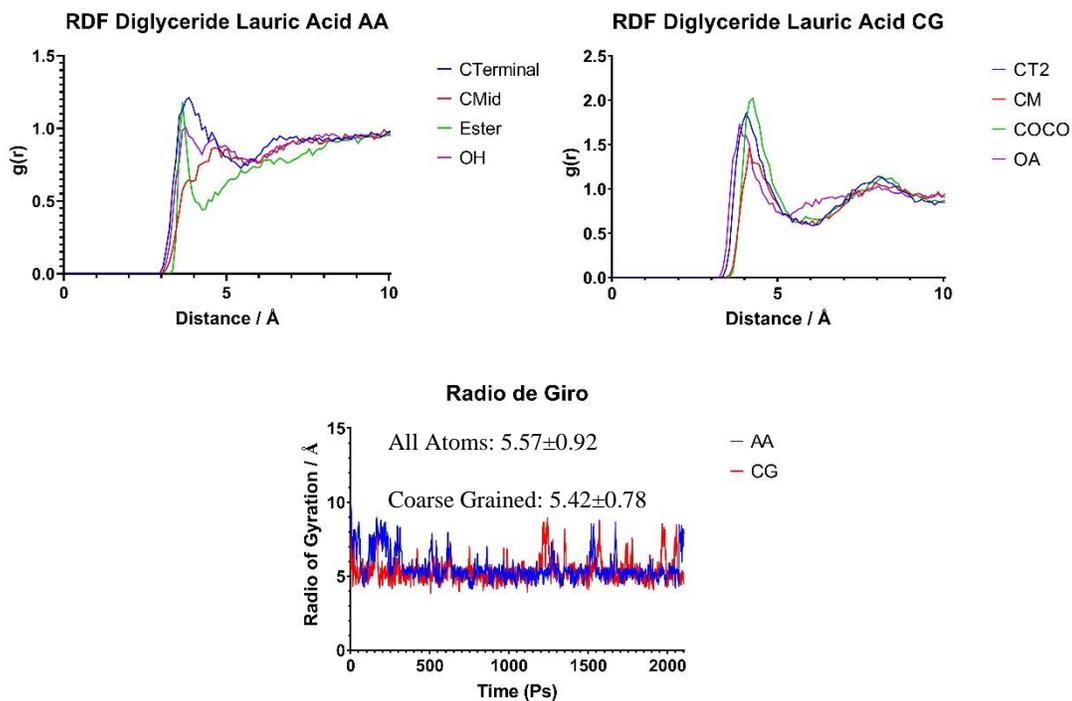


8.5.14. Poloxamer P188

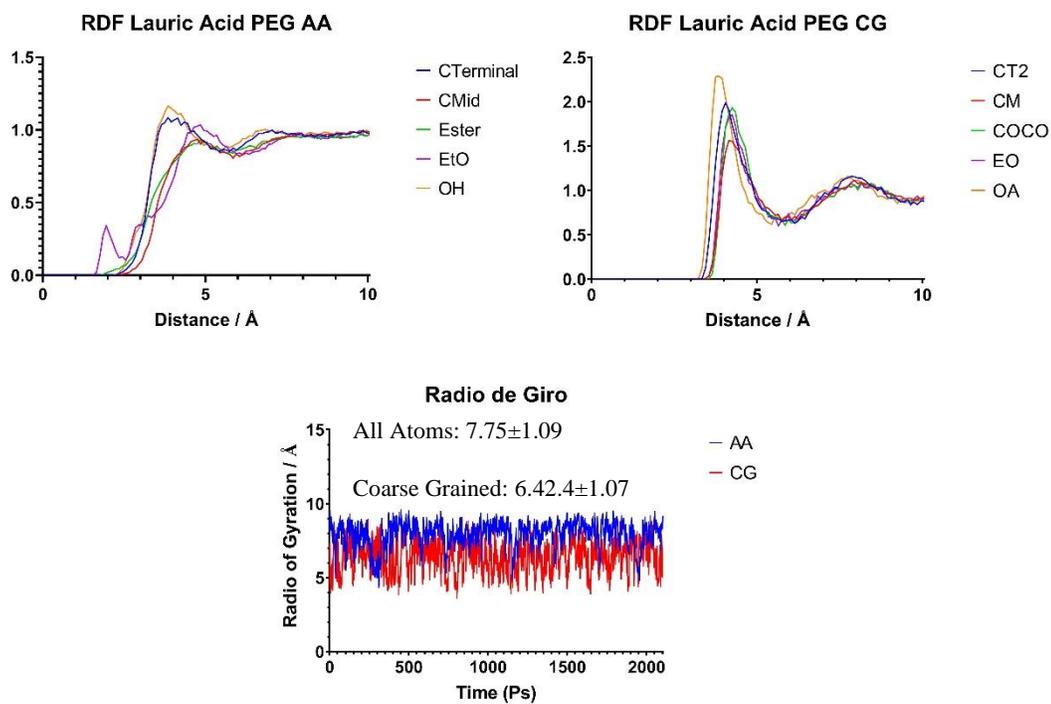


8.6. Anexo VI: Gráficos de RDF y radio de Giro de todas las moléculas trabajadas.

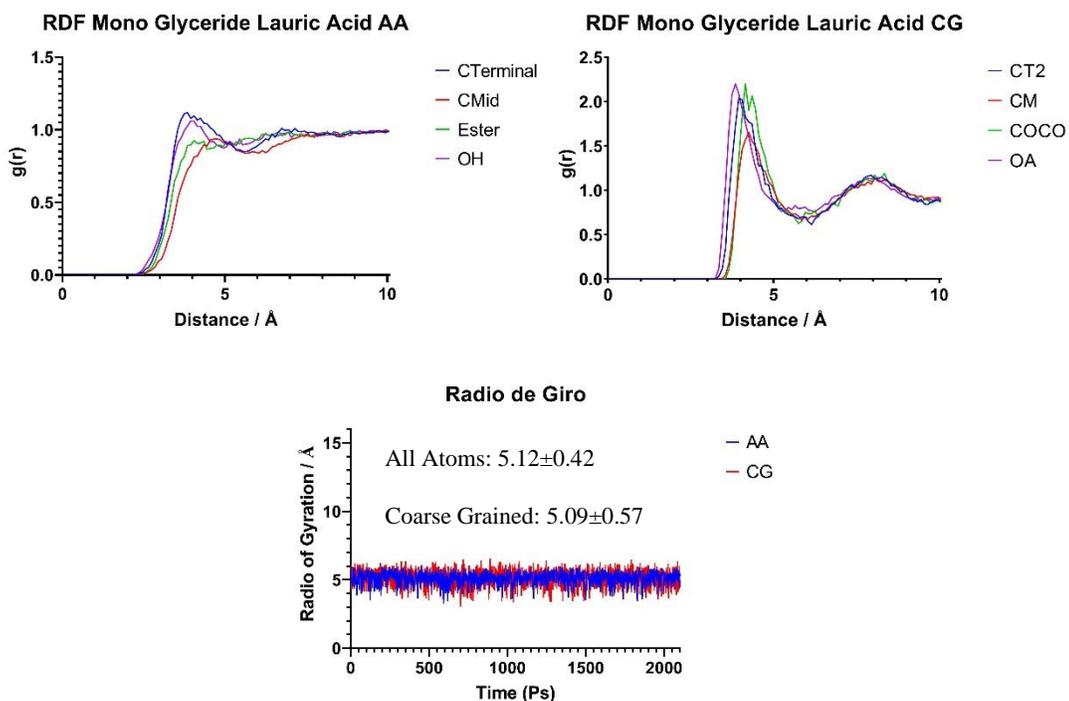
8.6.1. Diglicérido de ácido láurico



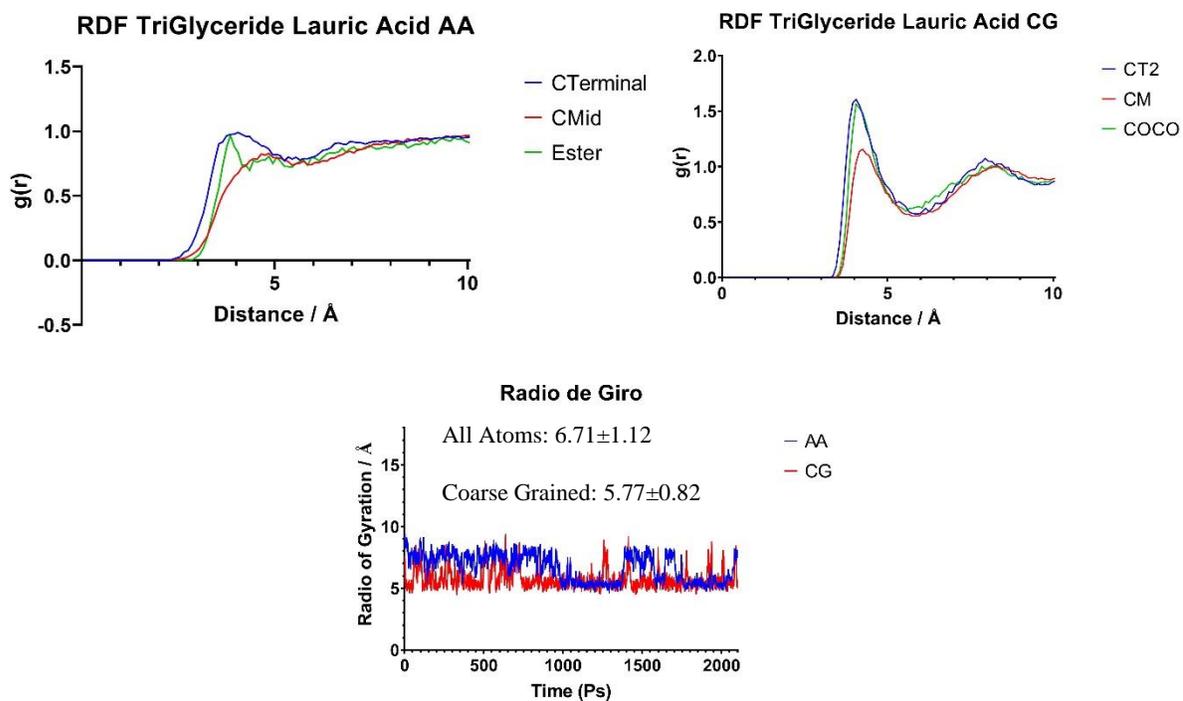
8.6.2. PEG de ácido láurico



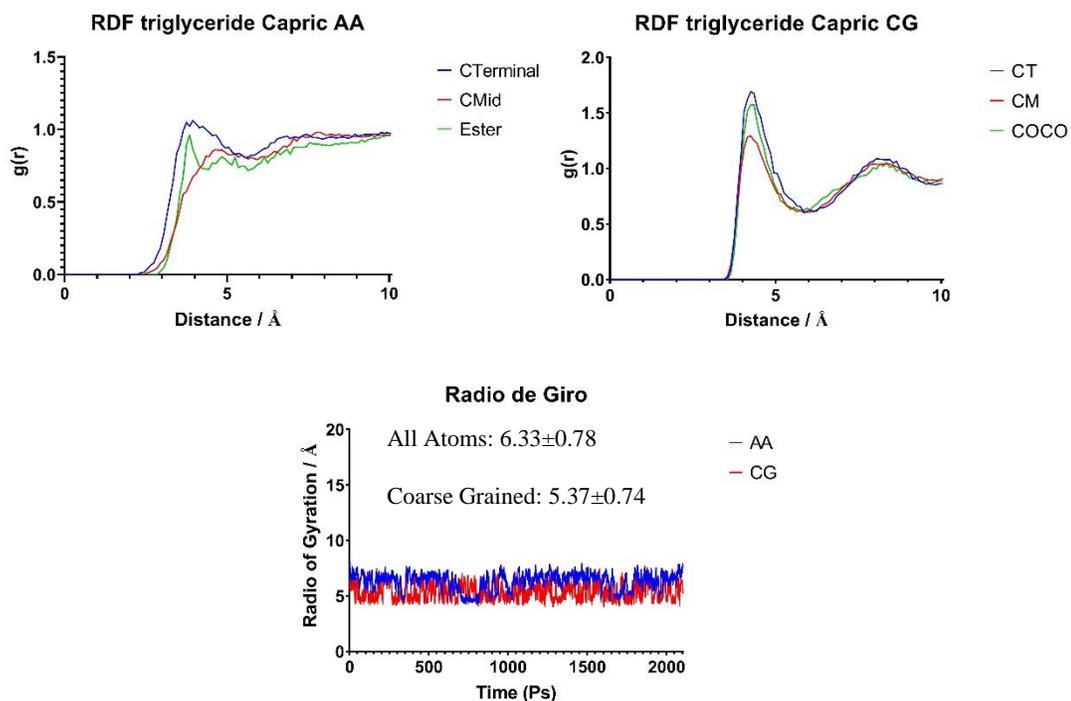
8.6.3. Monoglicérido de ácido láurico



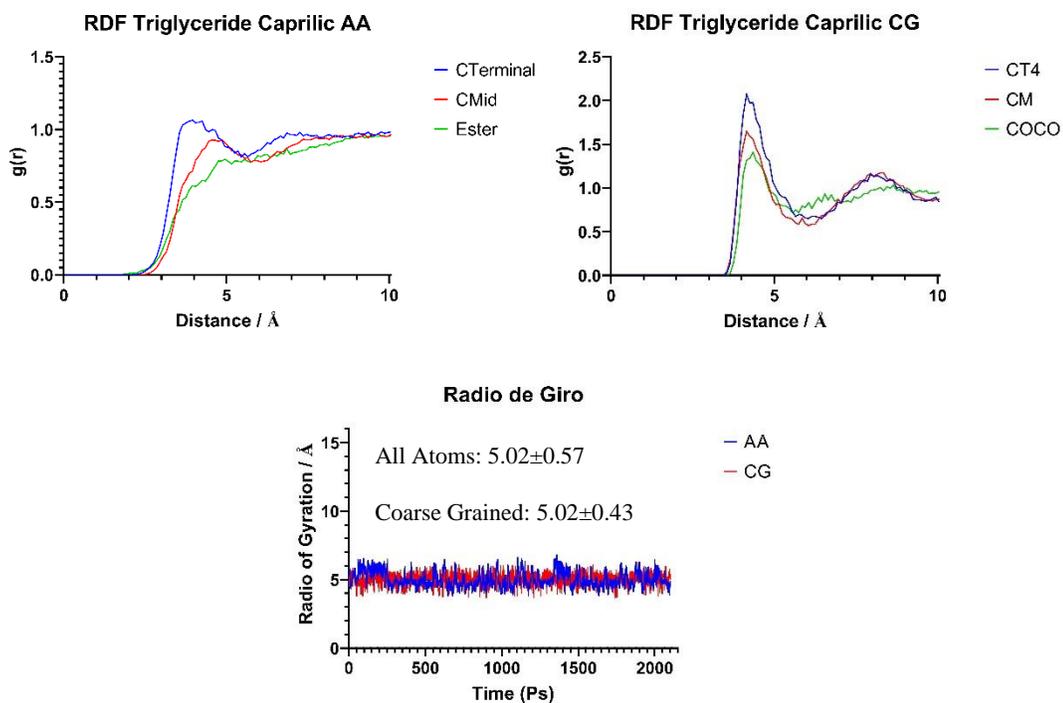
8.6.4. Triglicérido de ácido láurico



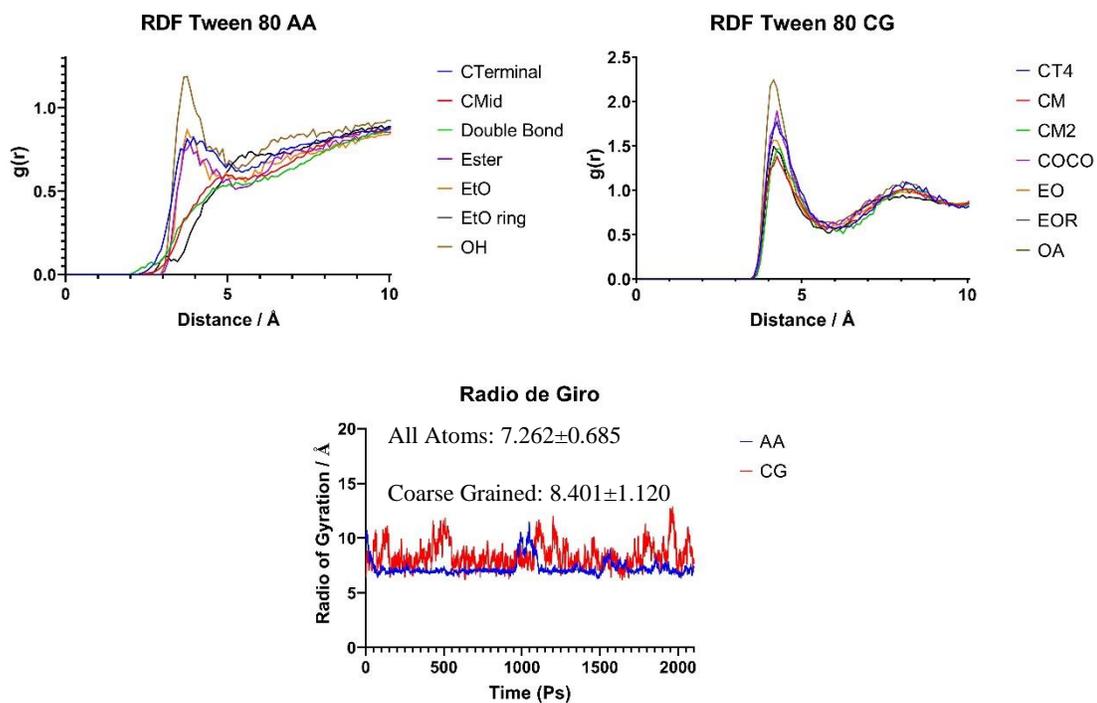
8.6.5. Triglicérido cáprico



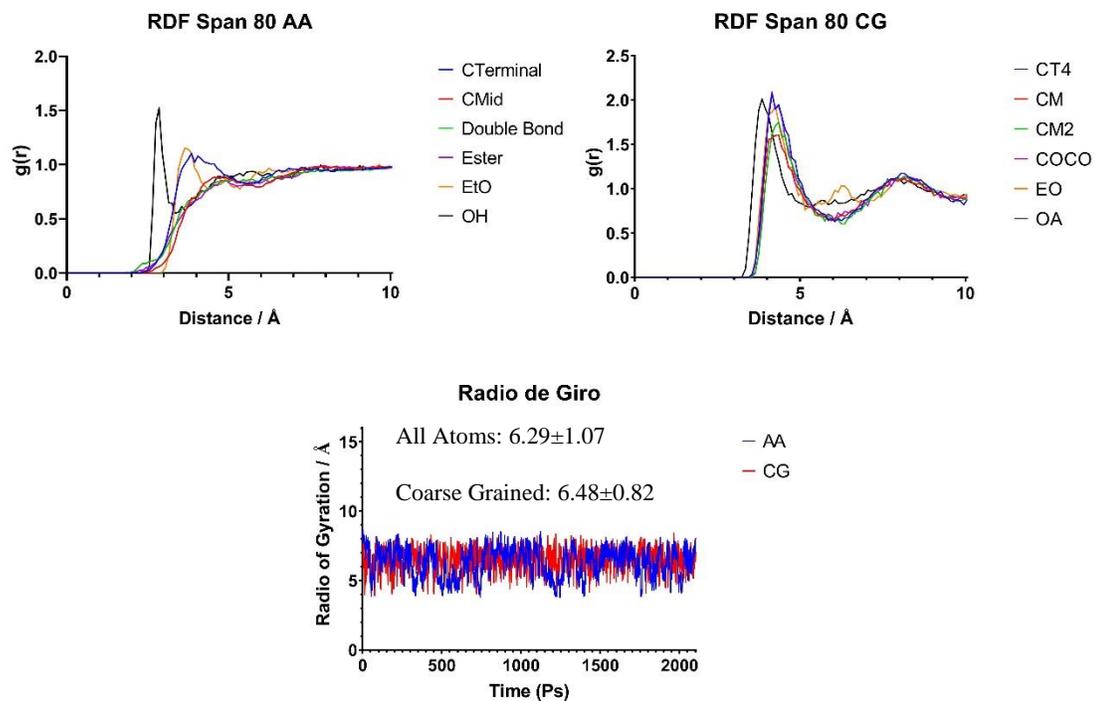
8.6.6. Triglicérido caprílico



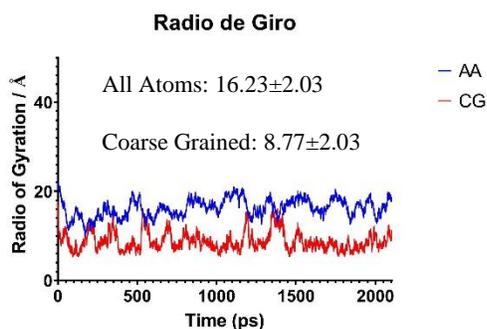
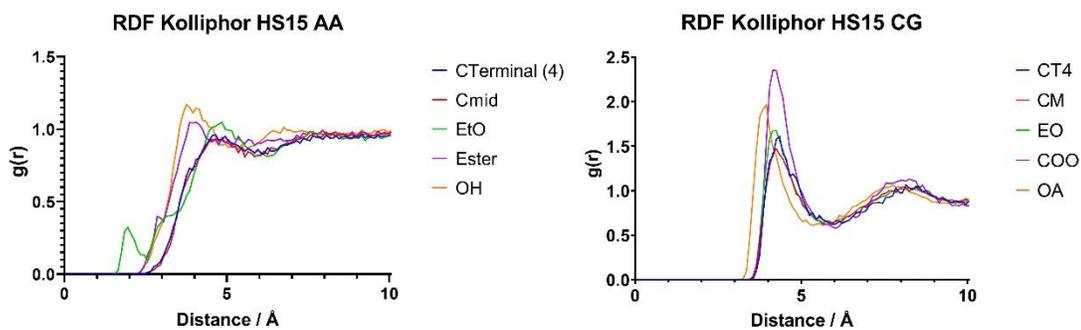
8.6.7. Tween 80



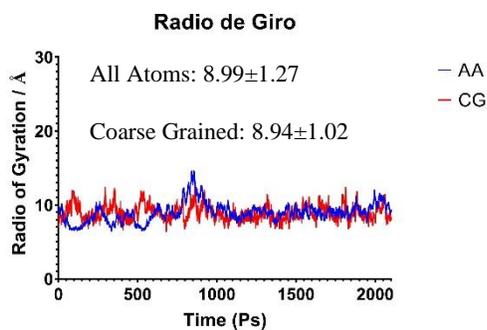
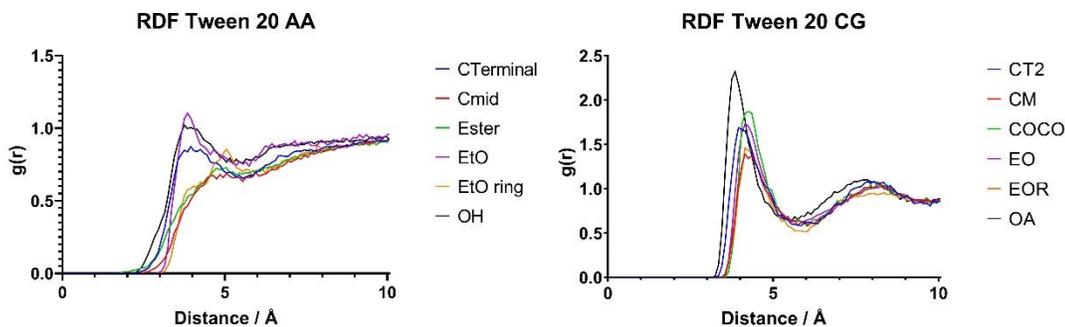
8.6.8. Span 80



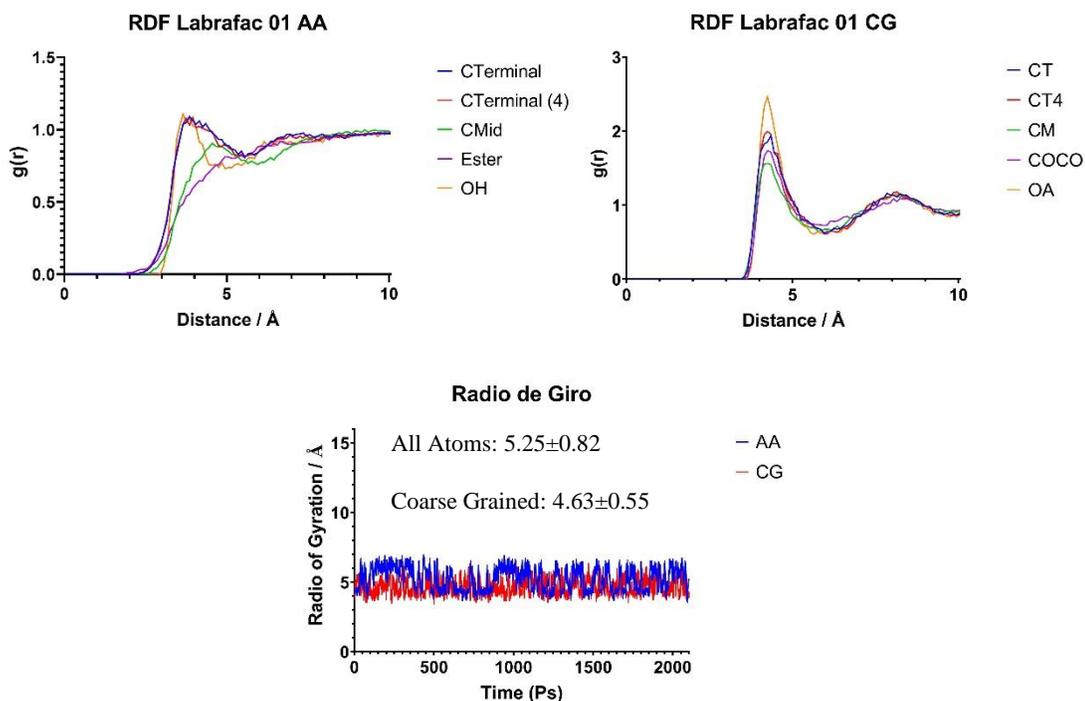
8.6.9. Kolliphor HS15



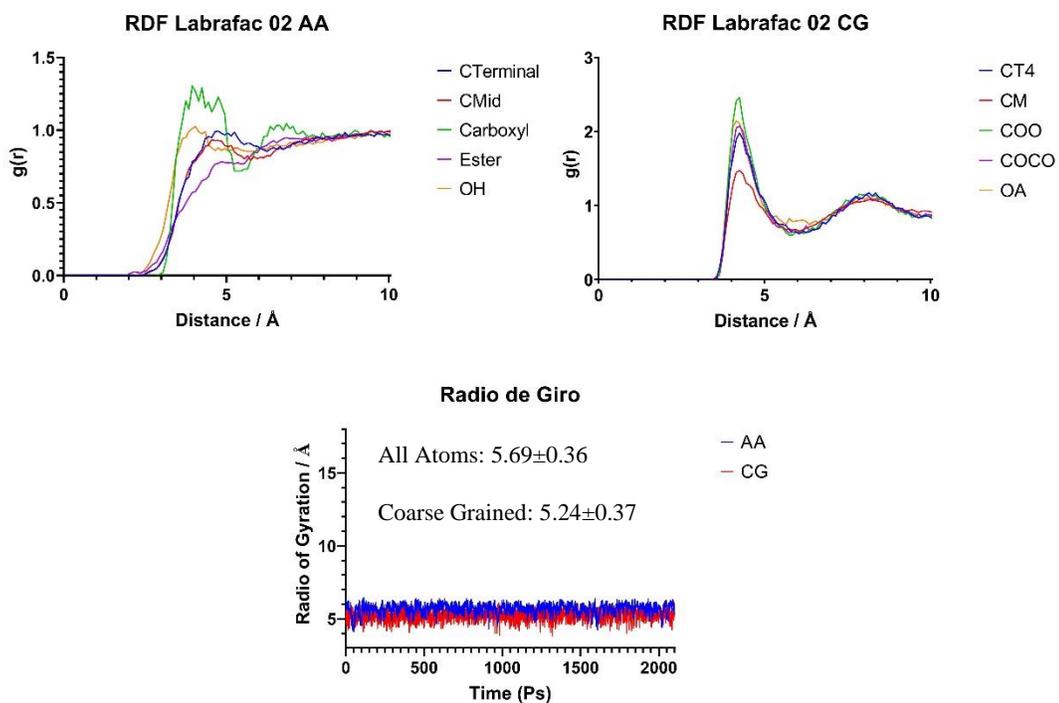
8.6.10. Tween 20



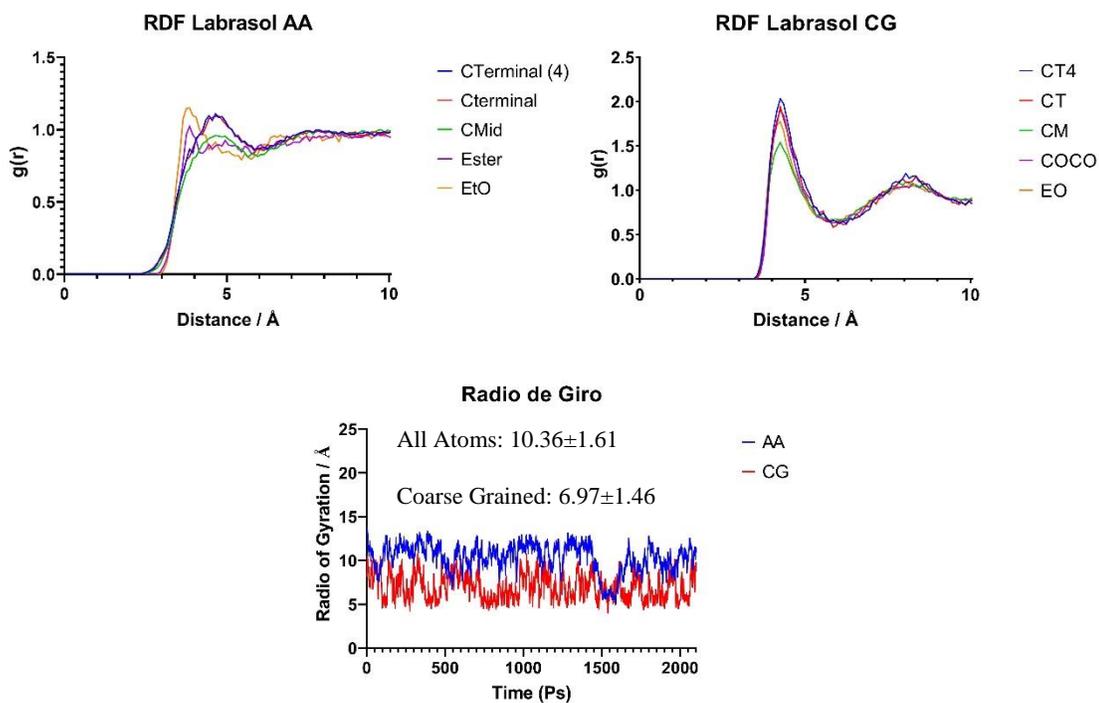
8.6.11. Labrafac 01



8.6.12. Labrafac 02



8.6.13. Labrasol



8.6.14. Poloxamer P188

