



**Universidad Autónoma del Estado de Morelos
Instituto de Investigación en Ciencias Básicas y
Aplicadas
Área terminal de Física**

**Desarrollo de Potenciales de Interacción Refinados
para Simulaciones de Bicapas de POPC**

T E S I S

QUE PRESENTA:

Alejandro Prieto de los Monteros

**Para obtener el grado de
LICENCIADO EN CIENCIAS**

Director de la Tesis:

Dr. Jorge Hernández Cobos ICF UNAM

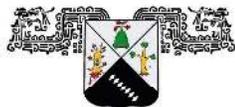
Sinodales:

Dr. Iván Ortega Blake ICF UNAM

Dr. Alejandro Ramírez Solís CInC UAEM

Dr. Humberto Saint Martín Posadas ICF UNAM

Dr. Thomas Buhse CIQ UAEM



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS

Control Escolar de Licenciatura



VOTOS DE APROBATORIOS

Secretaria ejecutiva del Instituto de Investigación en Ciencias Básicas Aplicadas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
P r e s e n t e .

Por medio de la presente le informamos que después de revisar la versión escrita de la tesis que realizó el C. **ALEJANDRO PRIETO DE LOS MONTEROS** con número de matrícula **20134007317** cuyo título es:

“Desarrollo de Potenciales de Interacción Refinados para Simulaciones de Bicapas de POPC”

Consideramos que **SI** reúne los méritos que son necesarios para continuar los trámites para obtener el título de **Licenciado Ciencias (Física)**

Cuernavaca, Mor a 23 de noviembre del 2021

Atentamente
Por una universidad culta

Se adiciona página con la e-firma UAEM de los siguientes:

DR. IVAN ORTEGA BLAKE
DR. ALEJANDRO RAMÍREZ SOLÍS
DR. JORGE HERNANDEZ COBOS
DR. HUMBERTO SAN MARTÍN POSADA
DR. THOMAS WERNER BUHSE

PRESIDENTE
SECRETARIO
VOCAL
PRIMER SUPLENTE
SEGUNDO SUPLENTE



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

HUMBERTO SAINT MARTIN POSADA | Fecha:2021-11-23 15:40:24 | Firmante

Nk927yHq4EYX9yLn8Sbg6a+Zx3dftSLOleszpSQn0Nt3VoZfFsxs7p/OcZs6GDR6vuLlBOMaAQDqeRahgkQ56gCnjbAOjPVFFW+OOFeR48XLtqhs0kRyFs7Qu+jrs/jQOlcCeHYqq73vFDDwBFcJ7CzKEtmMlXbOi01qUUC68ZDcqnbn7TSg7kxFe1dteiMiAxWZHdsBZkpBbphsKW+OKz76EqppqGU0PUMQRT1PHEL9uRuX2CoPzLhgp5eMrkKHe0fGtX9hhkH8Ly8WGLR28uCyOOWNOZBiyDKXW6gmioy0gtpf2RQ/+7pPXg7mZfit4iodkf2XCyYMAfT4xJUw==

JORGE HERNÁNDEZ COBOS | Fecha:2021-11-24 03:40:10 | Firmante

nD+MyV7beciF0xFGibeSUIa92IT4BNrfUfbVuZFiF/RE8rMjFIZku2Lhr7apQGnxF1+Mqjka7Z9CsUyLDZUAQB+3iVUap6fhM2R00LFFqYxKDG+LeOdYpiKx8jKzoNI4JC9KLBkXL7JC1M4u4GWUgWjXWurGQd1JgjhABWdCoOfpHTyzc52TyMKFgCy7Me5LXkizdVTAfhj1tUdiYyGtIO8/Vh/4KXkiyTfDk7JXAXqcoHTNWPLUNqJPZsbVrlXz4PteijTOvEIHKedEQCL8AfcMj0zYrcIHMXV9vPB0xAJzLA+1cXUGTCdellmR+45PYKANDdydrfd6f43Sfrw==

THOMAS WERNER BUHSE | Fecha:2021-11-24 19:40:27 | Firmante

djdxwlrxyjXOTF3OIUBAfnD14QOWZE0PWPdGqCalY683p3blxhOos4oG1rNezd5/zC9O1+7ldnBYf/+R9nnX0mohWSBDwI8adDhUBCMCanCU7yWcfd2SpYBN/tWHi8vrRSIRiXy0vMT7UymarcWEZaloj9Qt8p4fldGCdNRpBvW/DvPWA/pKv6B0f1KGOeTDPo/dnpyOHfs/n8FLQgUHRZLHjJjMySWmDHF3MvP2ivOugs+V4fnl/1DdduAdEeNWOHTWotwnWQIAGHN6Q9UziVSVH6Pca9EWMg/nUPJqt4w4n1L1w7G8KBYS/gH3H2qbi3UQN2ulja4DURV/Q==

ALEJANDRO RAMIREZ SOLIS | Fecha:2021-11-25 15:49:03 | Firmante

JO4jqyadyjYmCWp/rpOVweDMcy3/Or0n7v0k/IWWTQP+9gg8GFFbqFFc48rjikyZWBZGJ2p2YNXCO67wdPb5QeqilG2HMF58105Jzm6g/1fLREIQQFDKq51eEyw1hJFkpX4u1fREQFllc9gf4iusM1EEOfSOFFqCYNmix+R0LBcSxBBe3RI9Urlj2tAgNz75F3jQc7H6J5TGrkgv3Y2iJKQwLzHvQQPAYyNaQpYlaIDCQ/bCXSY95zeUDBfkRBDpNy0NvoJuHPeQQkKXB8jJURfiG8iJZ07WJW9yntnggLODFxOjyOilmnS1Vb+nzYt1i9IFyMfnpRgEOf12mEQ==

IVÁN ORTEGA BLAKE | Fecha:2021-12-07 11:42:18 | Firmante

m4mEHXmF1WdsIrbjh+H2/N0PIbdzSGmTxRX30eUW5whgeJqc4EgZAp3JzOB7RqP0pSB43sHHTzBkrRyJT+8UxFWtd9GkdmsBv4dY23tQ9F5DlreKgjVr+GW8zO584Hq/3D8TSnzHCGBEqxm4yx3BwjNSZn2nplnYP0H0tJrcolUoMel/ZzaJgh1RQ+3wTXpQVkiwlf9fsrElddKUpI9hs9U4D/yWhMcuq65hzcAwUk90qGhRRNwkuHAJjVrCXOLxQLm2C0vzfzdANZPnKSuxipMmzPjtX5jG/XAV/wx0KKMUVofhtjLYXGLgyaUUFFQngcUTXELQ1TG02J50sK44dQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



AW4VHy6Q9

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/9HH0ipw7BvIECiPs0vF9HVZzZLX53ITo>



DEDICATORIA

A Falkor y Winnie

AGRADECIMIENTOS

Todo mi agradecimiento a la Dra. Wendy Itzel Escobedo Hinojosa por su apoyo infinito, por estar siempre conmigo y por iluminar mi camino.

A mi tutor Dr. Jorge Hernández Cobos muchas gracias por ayudarme a salvar todas las dificultades y mostrarme como se debe blandir la espada en la ciencia.

RESUMEN

Las simulaciones de Dinámica Molecular, en los últimos años, se han posicionado como un método alternativo para visualizar el comportamiento de la membrana y las interacciones con moléculas de algún interés en especial.

En este trabajo se hizo la descripción de una bicapa lipídica de fosfatidilcolina, compatible con potenciales de AmB que actualmente se desarrollan en el grupo de Biofísica del ICF; dicho grupo estudia los mecanismos de transporte y acción de Anfotericina B en la membrana celular, con el fin de obtener análogos de Anfotericina B que sean selectivos solo para ergosterol y no sean tóxicos para los mamíferos.

Se realizaron simulaciones de Dinámica Molecular de bicapas de fosfatidilcolina en agua con el programa GROMACS y se determinaron nuevos parámetros del campo de fuerzas CHARMM, mediante cálculos cuánticos con el programa GAUSSIAN, para ajustar el campo de fuerzas de las simulaciones a los cálculos cuánticos. Posteriormente, con los resultados de las simulaciones, se calcularon los valores de las propiedades de la bicapa para compararlos con resultados experimentales reportados para validar la descripción de la bicapa lipídica. Conforme se refinaron los parámetros, para el campo de fuerzas, los resultados de algunas de las propiedades mejoraron, con respecto a los resultados experimentales.

Aunque algunas de las propiedades aún no están bien descritas, y no obstante que todavía es necesario refinar más el potencial, se ha mostrado que se pueden obtener buenos resultados a partir del ajuste a los cálculos cuánticos realizados y que, ahondando en este proceso, se confía en tener una descripción confiable de la bicapa de POPC, ya que las simulaciones realizadas con los parámetros refinados ofrecen resultados que son más apegados a los valores experimentales.

LISTA DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
RESUMEN	v
LISTA DE CONTENIDOS	vi
LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS	ix
LISTA DE TABLAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xii
1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 OBJETIVO	2
2 ANTECEDENTES	3
2.1 INFECCIONES POR HONGOS	3
2.2 ANFOTERICINA	4
2.3 MEMBRANAS BIOLÓGICAS	6
2.4 FOSFOLÍPIDOS	8
3 MÉTODOS	11
3.1 DINÁMICA MOLECULAR	11
3.1.1 Mecánica Estadística	11
3.1.2 Campo de Fuerzas	15
3.1.3 GROMACS	20
3.2 Química Cuántica Computacional	22
3.2.1 Ecuación de Scrödinger	23
3.2.2 Aproximación de Born-Oppenheimer	24
3.2.3 Energía de correlación e intercambio (Aproximación de Hartree)	30
3.2.4 Funciones Monodeterminantales (El método Hartree-Fock) . . .	33
3.2.5 Conjuntos de funciones de base.	36

3.2.6	Teoría del funcional de la densidad (DFT)	39
4	METODOLOGÍA	47
4.1	Detalles de la simulación	47
4.2	Obtención de parámetros del nuevo potencial	47
4.3	Propiedades estudiadas	50
4.3.1	Área por lípido (A_L)	50
4.3.2	Volúmen por lípido (V_L)	50
4.3.3	Módulo de compresibilidad isotérmica (K_A)	51
4.3.4	Grosor de bicapa (D_{HH})	51
4.3.5	Parámetros de orden (S_{CH})	52
5	RESULTADOS	55
5.1	Ajuste de parámetros	55
5.2	Resultado de las propiedades	57
6	DISCUSIÓN	59
7	CONCLUSIONES	67
	REFERENCIAS	68

- A_L** : Área por lípido
AmB: Anfotericina B
A21: Molécula derivada de AmB
B3LYP: Becke, Lee, Yang y Parr
B-O: Born-Oppenheimer
C-H: Enlace de un carbono con un hidrógeno
CHARMM: (Campo de Fuerzas), código paralelo de modelado molecular enfocado al estudio de moléculas biológicas y sistemas de partículas muy grandes
CINVESTAV: El Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional
DFT: Teoría del Funcional de la Densidad
 D_{HH} : Grosor de bicapa
ERG2: (Early Growth Response 2), gen codificador de proteínas
GAUSSIAN: Software que predice las energías, estructuras moleculares y frecuencias de vibración de sistemas moleculares, junto con las diversas propiedades moleculares que se derivan. Permite realizar cálculos mecanocuánticos de estructuras electrónicas tanto a nivel ab initio como a nivel semiempírico.
GGA: Aproximación del Gradiente Generalizado
GTO: Orbitales Tipo Gaussian
GROMACS: Programa de simulación de dinámica molecular
 h : Constante de Planck (Cuanto elemental de acción)
 \hbar : Constante de Plack reducida ($\hbar = \frac{h}{2\pi}$)
H-F Hatree-Fock
H+: (Ión de hidrógeno), átomo de hidrógeno que ha perdido su electrón
ICF: Instituto de Ciencias Fpicas de la UNAM
in vitro: Técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo
IR: Luz infraroja
 k_A : Módulo de compresibilidad isotérmica del área
 k_B : Constante de Boltzman
K+: (Ión de potasio), átomo de potasio que tiene carga eléctrica
LAOC: Combinación Lineal de Orbitales Atómicos
LDA: Aproximación de la Densidad Local
MD: Dinámica Molecular
Na+: (Ión de sodio), átomo de sodio que tiene carga eléctrica
pH: Variable química que permite medir el grado de acidez de una substancia
POPC: Fosfatidilcolina (Fosfolípido)
POPE: Fosfatidiletanolamina (Fosfolípido)
POPI: Fosfatidilinositol (Fosfolípido)
POPS: Fosfatidilserina (Fosfolípido)
PW: Perdew y Wang
RAMAN: Luz dispersada inelásticamente
RHF: Hartree-Fock Restringido

ROHF: Hartree-Fock Restringido capa abierta

RMN: Resonancia Magnética Nuclear

spp: Especies

S_{CH} Parámetro de orden

STO: Orbitales Tipo Slater

UAEMor: Universidad Autónoma del Estado de Morelos

UHF: Hartree-Fock No Restringido

UNAM: Universidad Nacional Autónoma de México

V_L : Volumen por lípido

LISTA DE TABLAS

4.1	Detalles del sistema	47
5.1	Resultados de las propiedades estudiadas: SCh36 (Simulación Charmm36), Sv1 (Simulación potencial v1), Sv2 (Simulación potencial v2), VE (Valor experimental reportado), VS1 (Valor simulación reportado Charmm36), VS2 (Valor simulación reportado AMBERLipid14).	57
6.1	Resultados de Módulo de compresibilidad isotérmica del área: SCh36 (Simulación Charmm36), Sv1 (Simulación potencial v1), Sv2 (Simulación potencial v2), VE (Valor experimental reportado), VS1 (Valor simulación reportado Charmm36), VS2 (Valor simulación reportado AMBERLipid14).	60
6.2	Resultados de Área por lípido: SCh36 (Simulación Charmm36), Sv1 (Simulación potencial v1), Sv2 (Simulación potencial v2), VE (Valor experimental reportado), VS1 (Valor simulación reportado Charmm36), VS2 (Valor simulación reportado AMBERLipid14).	60
6.3	Resultados de Volumen por lípido: SCh36 (Simulación Charmm36), Sv1 (Simulación potencial v1), Sv2 (Simulación potencial v2), VE (Valor experimental reportado), VS1 (Valor simulación reportado Charmm36), VS2 (Valor simulación reportado AMBERLipid14).	61
6.4	Resultados de Grosor de bicapa: SCh36 (Simulación Charmm36), Sv1 (Simulación potencial v1), Sv2 (Simulación potencial v2), VE (Valor experimental reportado), VS1 (Valor simulación reportado Charmm36), VS2 (Valor simulación reportado AMBERLipid14).	62
6.5	Alejamiento porcentual, de las propiedades estudiadas, con respecto a los valores experimentales: VE (Valor experimental reportado), SCh36 (Simulación Charmm36), Sv1 (Simulación potencial v1), Sv2 (Simulación potencial v2), VS1 (Valor simulación reportado Charmm36), VS2 (Valor simulación reportado AMBERLipid14), ls corresponde a la fase Líquido-Cristalina.	63

LISTA DE FIGURAS

2.1	Anfotericina B (AMB).	4
2.2	a) AmB provoca la formación de un poro en la membrana celular. b) AmB secuestra al Ergosterol de la membrana celular.	5
2.3	A21 Derivado de la anfotericina B[1].	6
2.4	Membrana biológica[31], colesterol en azul, POPC plateados, POPE amarillos, POPS rosa y esfingomielina rojos. Todas las colas lipídicas en cian.	7
2.5	Molécula de Fosfatidilcolina	9
3.1	Espacio fase.	12
3.2	Enlace de estiramiento lineal	16
3.3	Deformación del ángulo de enlace	17
3.4	Enlace de torsión	17
3.5	Interacciones tipo van der Waals	18
3.6	Potencial de Lennard-Jones	18
3.7	Interacciones de Coulomb	19
3.8	Superficie de energía potencial	19
3.9	Potencial generado por los núcleos en el que se mueve la nube de electrones.	26
3.10	Soluciones para sistemas de capa abierta o cerrada.	36
4.1	Bicapa 516 Lípidos y 22984 Agua	48
4.2	Perfil de densidad de lípidos.	52
4.3	A la izquierda una cadena de ácido graso saturada que mantiene su estructura lineal. A la derecha una cadena de ácido graso insaturada, su doble enlace provoca un pliegue en su estructura.	53
4.4	Vectores $S_n - 1$ y $S_n - 2$ correspondientes a las cadenas de palmitoyl y oleoyl	53
5.1	Ajuste de la energía de deformación de monómeros de POPC. Las energías están en kJ/mol.	55
5.2	Ajuste de la energía de interacción de dímeros POPC-POPC. Las energías están en kJ/mol.	56
5.3	Energías de interacción POPC-agua. Las energías están en kJ/mol.	57

6.1	Perfiles comparados de densidad de lípidos, en la bicapa. En color rojo, la simulación con parámetros de Charmm36, y en negro con parámetros del potencial v1.	61
6.2	Perfiles comparados de densidad de lípidos, en la bicapa. En color rojo, la simulación con parámetros de Charmm36, y en negro con parámetros del potencial v2.	62
6.3	Perfiles de los parámetros de orden en las cadenas de Palmitoyl.	64
6.4	Perfiles de los parámetros de orden en las cadenas de Oleoyl.	65

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

Las bicapas lipídicas son estructuras biológicas fundamentales que forman una cubierta alrededor de toda la célula y protegen su espacio intercelular. Funcionan como barreras selectivas en la difusión de moléculas, y también representan un papel preponderante en las funciones de las proteínas de membrana. Comúnmente las membranas biológicas están conformadas por moléculas de fosfatidilcolina (POPC), tienen un grupo de cabeza polar y dos cadenas hidrofóbicas de hidrocarburo. Las POPC forman espontáneamente bicapas cuando se encuentran en soluciones acuosas, sus cabezas polares quedan expuestas al agua y sus cadenas de hidrocarburo forman el núcleo hidrofóbico de la bicapa. El colesterol puede considerarse como el moderador del orden dentro de la bicapa lipídica que causa la asimetría de la membrana. A través de su cabeza voluminosa y su cola larga al mismo tiempo, el colesterol puede alterar la fase de gel y ordenar la fase líquida de los lípidos [42]. Estudiar las bicapas lipídicas con detalle es fundamental, tanto para comprender sus funciones como para ayudar al desarrollo de fármacos que actúan en la membrana de las células. Debido al alto grado de complejidad de las membranas biológicas existe un gran interés para su estudio de manera experimental, y las técnicas más comunes que se aplican son la dispersión de rayos X y neutrones, IR/Raman y espectroscopía de RMN [56].

Los hongos son organismos eucariontes y heterótrofos que representan un grupo diverso de organismos saprofitos y parásitos. Tienen un núcleo bien diferenciado y una pared celular exterior conformada por quitina de consistencia rígida, polisacáridos y polipéptidos. También presentan una membrana interior compuesta principalmente de fosfolípidos; a través de la pared y la membrana pasan por difusión sustancias simples y solubles.

Las enfermedades fúngicas humanas (micosis) se clasifican según la ubicación del cuerpo donde se produce la infección. Se denominan cutáneas cuando se alojan en la epidermis, subcutáneas cuando la infección penetra significativamente por debajo de la piel y sistémicas cuando la infección es profunda en el cuerpo o se disemina a los órganos internos. Las micosis sistémicas se pueden dividir en las que son causadas por hongos patógenos, que tienen gran capacidad de infectar a individuos sanos, y las oportunistas que infectan principalmente a individuos que presentan una predis-

posición, como inmunodeficiencia o enfermedades debilitantes.

La anfotericina B (AmB) es el medicamento mas potente con que se cuenta para el tratamiento de las infecciones fúngicas sistémicas graves, sin embargo, es muy tóxica para los mamíferos y puede producir efectos secundarios graves. Se ha propuesto mecanismos de acción de AmB, el mas conocido se basa en la unión de la molécula de AmB al ergosterol de la membrana de la célula fúngica, lo que produce un agregado que crea un canal transmembrana y permite que el contenido citoplasmático se filtre y conduzca a la muerte celular. Otro mecanismo propuesto es que AmB “secuestra” al ergosterol (como una esponja al agua) y afecta la estabilidad de la membrana[70]. Sin embargo, AmB también actúa sobre el colesterol presente en la membrana celular de los mamíferos y la hace tóxica para los humanos.

Una forma de abordar el estudio de las membranas es mediante simulaciones de Dinámica Molecular, que son complementarias a los experimentos, y se pueden estudiar exhaustivamente sus propiedades y comportamiento, ya que los estudios de las bicapas lipídicas de forma experimental son muy complejos y costosos. El objetivo es comprender completamente estos sistemas antes de pasar a membranas biológicamente más relevantes y complicadas. En las simulaciones con Dinámica Molecular (MD) se utiliza un modelo hamiltoniano, donde la función de energía potencial generalmente se conoce como Campo de Fuerzas (Force Field). Para realizar simulaciones que conduzcan a resultados confiables, el Campo de Fuerzas debe ser capaz de describir con precisión todas las interacciones (inter e intramoleculares) en el sistema. La naturaleza anfífilica de las moléculas de lípidos complica considerablemente el estudio de las bicapas lipídicas con detalle atómico[30].

En el grupo de Biofísica del Instituto de Ciencias Físicas de la UNAM (ICF) se estudian los mecanismos de transporte y acción de AmB en la membrana celular, con el fin de obtener análogos de AmB que sean selectivos solo para ergosterol y no sean tóxicos para los mamíferos. Nosotros queremos contribuir con la descripción de una bicapa lipídica de fosfatidilcolina (POPC), que desarrollaremos con simulaciones de MD y determinaremos nuevos parámetros para ajustar el campo de fuerzas, utilizado en las simulaciones, a datos calculados cuánticamente para lo cual nos trazamos el siguiente:

1.1 OBJETIVO

Lograr potenciales de interacción refinados para bicapas lipídicas de POPC. Con el fin de contar con una descripción confiable de la bicapa lipídica compatible con potenciales de AmB que actualmente se desarrollan en el grupo de Biofísica del ICF.

CAPÍTULO 2

ANTECEDENTES

2.1 INFECCIONES POR HONGOS

Los hongos son microorganismos eucarióticos, aerobios, no fotosintéticos. Presentan una pared celular que constituye el 90% del peso seco del hongo y es responsable de su forma, además de que aporta rigidez y actúa como barrera osmótica. Las infecciones fúngicas que puede padecer el ser humano se clasifican en: superficiales, cutáneas, subcutáneas y sistémicas y afectan a cerca de un billón de personas en todo el mundo [7]. Las superficiales como las de uñas, piel y urogenital afectan a la mayoría de las personas en algún momento de sus vidas, pero generalmente son curables cuando se las trata con antimicóticos [7], sin embargo, afectan la calidad de vida. Las infecciones fúngicas potencialmente mortales que invaden la sangre, los pulmones y otros órganos representan un grave riesgo para millones de personas, sobretudo a las inmunodeprimidas, y se asocian con altas tasas de mortalidad en todo el mundo, a pesar de los antimicóticos disponibles, causando un estimado de 1.5 millones de muertes cada año, muy similar al caso de la tuberculosis [7]. En los países de bajos ingresos, la falta de acceso al diagnóstico y a los antimicóticos de patente son factores tan importantes que derivan en el deterioro de la salud de muchos pacientes en todo el mundo, con altas tasas de mortalidad, a pesar de los avances en terapias antifúngicas [7]. Muchos de los antimicóticos actuales presentan limitaciones como los efectos secundarios dañinos, las interacciones negativas con otros medicamentos, la incapacidad de administrarse por vía oral o la resistencia al fármaco [7]. Si bien se necesitan nuevos medicamentos antimicóticos, pocos se encuentran actualmente en desarrollo. El desarrollo antifúngico es un desafío científico, que lleva muchos años con altos niveles de inversión. Muchas investigaciones solo se enfocan en mejorar la eficacia de las clases de drogas existentes, aunque la vacunación preventiva en algunos grupos de alto riesgo podría ser parte de la solución [8].

2.2 ANFOTERICINA

El tratamiento de las infecciones de origen fúngico se basa en la administración de agentes capaces de alterar las estructuras de la célula, ya sea como fungistáticos, que impiden su crecimiento, o fungicidas que provocan la lisis celular. El desarrollo de fármacos antifúngicos más eficaces se inicia en 1955 con la aparición de las formulaciones lipídicas de Anfotericina B (AmB) [23] en el instituto Squibb, donde se desarrolla a partir de cultivos de un aislado de *Streptomyces spp*, obtenido en el suelo del río Orinoco en Venezuela.

Anfotericina B es un polieno clásico con actividad in vitro frente a *Candida spp.*, *Aspergillus spp.* y mucorales. Los polienos son moléculas macrólidas, heterocíclicas y anfipáticas, formadas por cadenas insaturadas que interactúan en la membrana citoplasmática y afectan su integridad; se unen al ergosterol presente en la membrana celular fúngica, donde se forman poros que alteran la permeabilidad de la membrana lo que permite una pérdida de proteínas, glúcidos y cationes monovalentes y divalentes, que causa la muerte celular. Actualmente, existen tres grupos de moléculas que engloban los antifúngicos más utilizados en el tratamiento de las infecciones fúngicas invasivas: polienos, azoles y equinocandinas. Aunque la aparición de resistencias es poco frecuente, se han detectado mecanismos de resistencia asociados a mutaciones en ERG2, reduciendo la interacción fármaco-esterol [54]. Anfotericina B presenta baja biodisponibilidad, baja solubilidad en agua y elevada toxicidad. Dadas estas características, no es posible su administración vía oral y es complicado obtener formulaciones intravenosas [54]. En su formulación convencional se mezcla con de-soxicolato de sodio acuoso, surfactante aniónico, logrando así una solución estable y homogénea, pero de alta toxicidad. Contiene además fosfato disódico y fosfato sódico monobásico.

La estructura química de AmB (Figura 2.1) tiene una parte hidrofóbica con siete enlaces dobles conjugados, un éster interno y grupos metilo; tiene también una parte hidrofílica con un carbonilo, un azúcar en forma de glicósido que se une a la cadena cíclica poliénica (micosamina) con un grupo amino primario y grupos hidroxilo [72][21][44].

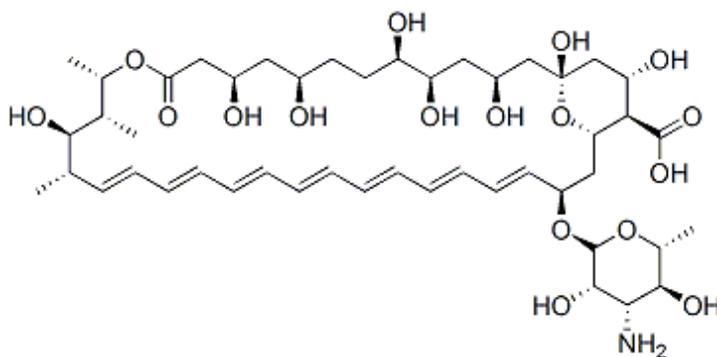


FIGURA 2.1: Anfotericina B (AMB).

Anfotericina B se comporta como anfotérica y forma sales solubles en medio ácido o en básico gracias a su estructura [10][72]. Muy probablemente los efectos biológicos de AmB se deben a su comportamiento anfotérico. Anfotericina B presenta afinidad por el esteroles de las membranas celulares de organismos como los mamíferos, protozoos y hongos, no así de las bacterias.

Uno de los mecanismos de acción propuestos, como fungicida, de AmB es la inhibición de la síntesis de ergosterol (el principal esteroles de la membrana celular en los hongos), ya que bloquea el paso de lanosterol a ergosterol, con lo cual altera la permeabilidad de la membrana celular y permite que aumente la filtración de moléculas intracelulares y cationes monovalentes como K^+ , H^+ y Na^+ , que afectan la homeostasia por desequilibrio de electrolitos y se inhibe el crecimiento celular [72][44].

Otro mecanismo propuesto es que AmB estimula a los macrófagos mediante oxidación o inmunomodulación [72][44], con la presencia de metabolitos oxidativos como peróxido de hidrógeno, en el medio, que incrementa la autooxidación y la formación de radicales libres, con lo que la permeabilidad de la membrana aumenta considerablemente. Mientras que AmB tiene una afinidad más alta por el componente de ergosterol de la membrana de la célula fúngica, también se puede unir al componente de colesterol de la célula de mamífero, lo que conduce a la citotoxicidad [53]. También se ha propuesto que AmB puede ejercer acción a través de dos mecanismos complementarios, dependiendo de la interacción de AmB y los esteroides: permeabilización de la membrana y secuestro de esteroides (Figura 2.2) [63].

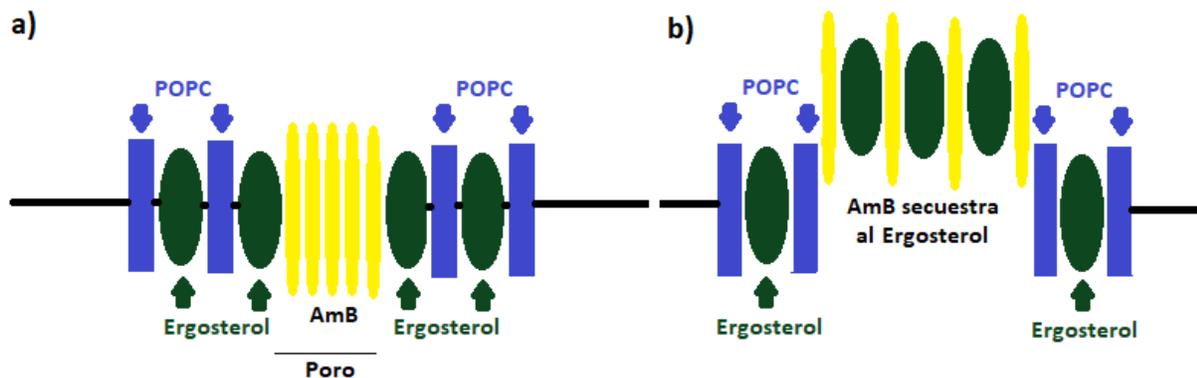


FIGURA 2.2: a) AmB provoca la formación de un poro en la membrana celular. b) AmB secuestra al Ergosterol de la membrana celular.

Se ha propuesto, como un nuevo mecanismo de AmB para combatir la leishmaniasis visceral, que el secuestro de colesterol en la membrana del huésped evita la interacción macrófago-parásito [13]. AmB forma dos tipos diferentes de poros, que difieren en sus especificidades de sustrato y que se forman en diferentes momentos. Además, participan de manera diferencial en el efecto de muerte de la célula [14]. Después de la adición de AmB a las células, el primer tipo de poros que se forman son no acuosos, permeables a los cationes monovalentes y tienen menor permeabili-

dad a los aniones monovalentes. Posteriormente, se forman poros acuosos, que son permeables a los cationes y aniones monovalentes y electrolitos grandes, como la glucosa.

A21. En un proyecto del Consorcio Nacional de Investigación en Medicina Traslacional e Innovación de la UNAM, investigadores del Instituto de Ciencias Físicas (ICF), junto con académicos de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEMor) y del Centro de Investigaciones y de Estudios Avanzados (Cinvestav), dirigidos por el Dr. Iván Ortega Blake trabajan en comprender el mecanismo de acción de AmB, y como parte de la investigación se sintetizó una molécula nueva derivada de la AMB denominada A21 (Figura 2.3) con mucha efectividad como antifúngico y con menos toxicidad colateral para los mamíferos[1].

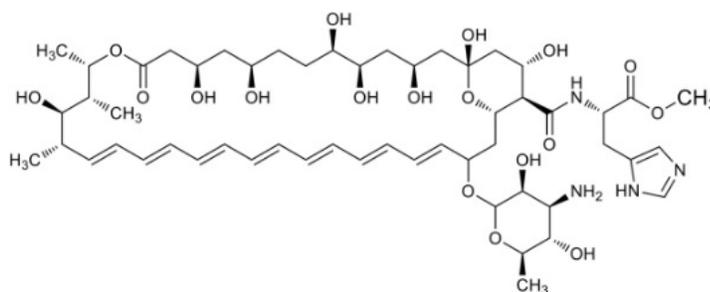


FIGURA 2.3: A21 Derivado de la anfotericina B[1].

2.3 MEMBRANAS BIOLÓGICAS

Las membranas biológicas se forman comúnmente por una bicapa lipídica de fosfolípidos (Figura 2.4), que representa su principal elemento estructural, al que se unen o intercalan proteínas, esteroides y péptidos principalmente por interacciones no covalentes, como lo demostraron Gorter y Grendel en 1925 [62]. Fluctúa entre los 3.5 y 5.6 nm de grosor [50], su función es cubrir todo el exterior de la célula y mantener su integridad, su composición iónica y el pH apropiado del citosol, así como el control de las interacciones entre la célula y su entorno, la separación de los compartimentos intracelulares y las señales de recepción y transducción necesarias para el funcionamiento de la célula [20].

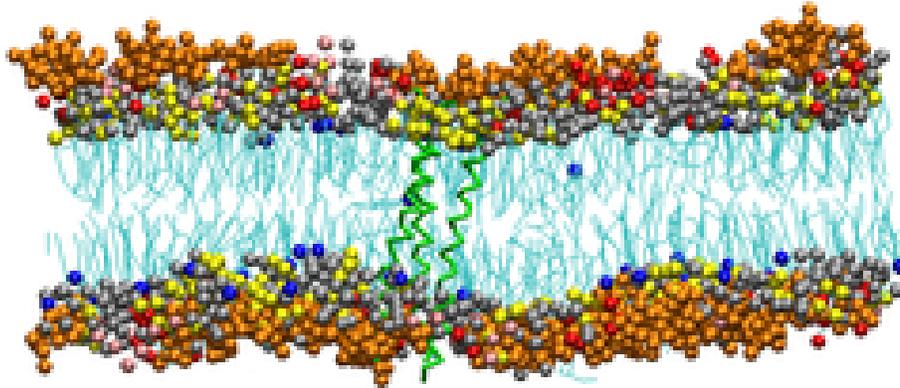


FIGURA 2.4: Membrana biológica[31], colesterol en azul, POPC plateados, POPE amarillos, POPS rosa y esfingomielina rojos. Todas las colas lipídicas en cian.

Son tres las fases que la membrana lipídica puede adoptar:

- La fase de gel, cuando las bicapas lipídicas están en estado sólido. El empaque de las moléculas de lípidos es muy apretado y ordenado, con poco movimiento de lípidos a través de la superficie de la membrana.
- La fase líquida desordenada, cuando hay estados altamente fluidos en los que los lípidos individuales pueden moverse sin obstáculos a través de la superficie de la membrana. El empaquetamiento de los lípidos es altamente irregular y los lípidos en sí mismos a menudo se tuercen debido a los ácidos grasos insaturados.
- La fase líquido-cristalina es un estado entre la fase de gel y la fase líquida desordenada. Todavía existe el movimiento relativamente fácil de las moléculas de lípidos a través de la membrana, pero la membrana en sí está más compacta, lo que lleva a una estructura más sólida. Esta fase se produce a través de la presencia de moléculas de esteroles dentro de la membrana.

Uno de los factores que determinan el proceso de difusión, a través de la membrana, es su composición ya que no todas las membranas tienen la misma composición química. Los lípidos de las membranas biológicas tienen generalmente 16, 18 ó 20 carbonos de largo y presentan de 0 a 3 dobles enlaces. Estos ácidos grasos se unen a los hidroxilos del glicerol, y este a su vez va unido a un grupo fosfato. El fosfato se une mediante un enlace fosfodiéster a otro grupo de átomos que suele ser un grupo serina, etanolamina o una colina. Muy frecuentemente la bicapa de las membranas celulares eucarióticas se forma con moléculas de fosfatidilcolina (POPC), que es anfipática y tiene un grupo de cabeza polar y dos cadenas hidrofóbicas de hidrocarburo [20]. Las POPC forman espontáneamente bicapas, cuando se encuentran en soluciones acuosas, sus cabezas polares quedan expuestas al agua y sus cadenas de hidrocarburo forman el núcleo hidrofóbico de la bicapa [20].

La capacidad de un compuesto para permear una membrana, por difusión pasiva, depende de varios factores relacionados con las propiedades físico-químicas de la membrana. Las sustancias que se disuelven en los lípidos (moléculas hidrófobas,

no polares) penetran con facilidad en la membrana, dado que está compuesta en su mayor parte por fosfolípidos. La mayor parte de las moléculas de gran tamaño no pasan a través de la membrana, sólo las moléculas no polares de pequeñas dimensiones (Amstrongs) pueden atravesar la capa de fosfolípido con facilidad. Las moléculas cargadas y los iones no pueden pasar, en condiciones normales, a través de la membrana y para hacerlo requieren de un transportador activo. Otros factores importantes en la regulación del paso de la molécula que influyen en la capacidad para atravesar la membrana, de un lado a otro, son la masa molecular y la capacidad de formar puentes de hidrógeno con los componentes de la membrana. Un fármaco que no es capaz de atravesar las membranas celulares, tiene una biodisponibilidad muy baja, lo que resulta en un incremento de dosis para obtener el efecto terapéutico. Para comprender la función de la membrana es necesario conocer en detalle lo que son los fosfolípidos.

2.4 FOSFOLÍPIDOS

Los fosfolípidos son moléculas anfipáticas compuestas de una “cabeza” hidrofílica unida a un glicerol, este a su vez unido a un fosfato cargado que también se une, covalentemente, a una molécula orgánica[55]. Los fosfolípidos son los componentes principales de las bicapas lipídicas en las membranas celulares. Al igual que los ácidos grasos, los fosfolípidos favorecerán la agrupación de las colas hidrofóbicas para excluir el agua tanto como sea posible. Sin embargo, a diferencia de los ácidos grasos, la presencia de dos colas favorece la formación de una membrana más plana porque el área de la sección transversal de los grupos de cabeza y cola es similar, formando una bicapa de forma cilíndrica que se empaqueta más eficientemente. En la bicapa, las colas hidrofóbicas interactúan entre sí, mientras que los grupos de cabeza hidrofílica interactúan con el ambiente acuoso a ambos lados de la bicapa. Si bien la bicapa es más práctica como una estructura plana bidimensional, puede plegarse sobre sí misma para formar una vesícula cerrada llamada liposoma. A diferencia de la micela, el liposoma tiene una pared de bicapa que encierra una cavidad acuosa hueca que utilizan organismos como mecanismo de transporte para cualquier cantidad de sustancias. Los lípidos de la membrana no están distribuidos simétricamente en toda la bicapa de la membrana, por lo que es más probable que ciertos fosfolípidos se encuentren en la monocapa interna, mientras que los otros tienen más probabilidades de encontrarse en la valva externa. Por otro lado, las propiedades físicas de los diferentes grupos de cabeza dictan las interacciones de cada fosfolípido con el ambiente acuoso, y dan como resultado el movimiento de los lípidos a través de la bicapa en las direcciones vertical y horizontal, cambiando continuamente la forma y organización de fosfolípidos. Existe una variedad de fosfolípidos con diferentes grupos de cabeza y colas de hidrocarburos y los más comunes son fosfatidilcolina (POPC), fosfatidiletanolamina (POPE), fosfatidilserina (POPS) y fosfatidilinositol (POPI). Los nombres de los fosfolípidos tienen un código de cuatro letras, así para el POPC, las dos primeras

letras PO corresponden a las cadenas (Palmitoil-Oleoil) y las dos últimas letras PC corresponden a la cabeza de grupo (Fosfatidil-Colina) [51]. En el Laboratorio de Biofísica del ICF se ha estudiado experimentalmente la acción de la Anfotericina B con el modelo de la molécula de POPC. El presente trabajo se realizará también con el modelo de la molécula de POPC (Figura 2.5).

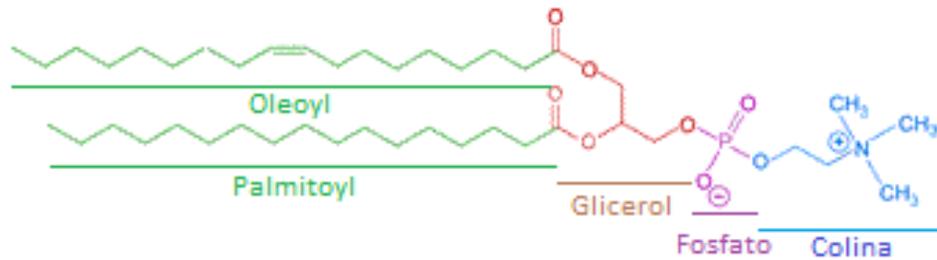


FIGURA 2.5: Molécula de Fosfatidilcolina

CAPÍTULO 3

MÉTODOS

- Se realizarán simulaciones de Dinámica Molecular (DM) de bicapas de POPC en agua con el programa GROMACS.
- Se determinarán nuevos parámetros del campo de fuerzas tipo CHARMM, mediante cálculos cuánticos con el programa GAUSSIAN, para ajustar el campo de fuerzas de las simulaciones a los cálculos cuánticos.

3.1 DINÁMICA MOLECULAR

Resulta muy difícil y laborioso estudiar experimentalmente a las biomembranas, debido a sus propiedades electrostáticas y químicas únicas, de manera que se muestre su naturaleza dinámica. Con base en lo anterior, las simulaciones de Dinámica Molecular se han posicionado como un método alternativo para estudiar el comportamiento de la membrana y las interacciones con las moléculas de interés.

3.1.1 Mecánica Estadística

La Dinámica Molecular por medio de la mecánica estadística, que le proporciona el sustento teórico, da la posibilidad de explorar las propiedades macroscópicas de un sistema a través de simulaciones microscópicas. Genera información a nivel microscópico, incluidas las posiciones y velocidades atómicas, y esta información microscópica se traduce en observables macroscópicos, como presión, energía, capacidades térmicas, entre otras.

Un sistema es una parte del universo que se aísla para poder estudiarlo. El estado de un sistema clásico se puede describir completamente con solo especificar las posiciones y los momentos de todas las partículas que lo componen. El espacio en que se encuentra el sistema es tridimensional, entonces cada partícula tiene asociadas seis coordenadas: tres espaciales $\mathbf{q}(x, y, z)$ y tres de momento $\mathbf{p}(p_x, p_y, p_z)$. Así un sistema de \mathbf{N} partículas se caracteriza por tener $6\mathbf{N}$ coordenadas. El espacio de $6\mathbf{N}$ dimensiones definido por estas coordenadas se denomina “espacio fase” del sistema

(Figura 3.1). En cualquier momento determinado, en el tiempo, el sistema ocupa un punto en el espacio de fase, que se denota como:

$$\mathbf{X} = (\mathbf{q}, \mathbf{p}) \quad (3.1)$$

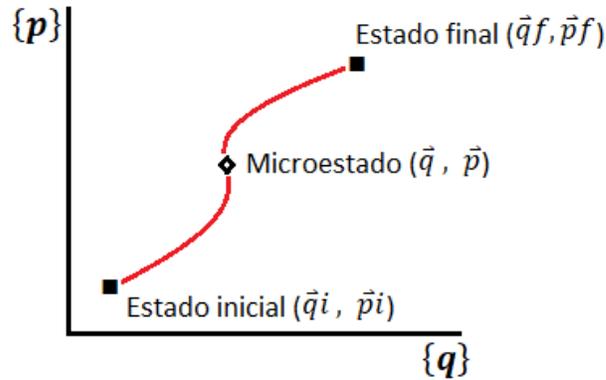


FIGURA 3.1: Espacio fase.

El espacio fase contiene todos los estados posibles de un sistema, entonces el valor promedio, o valor esperado, de una propiedad (**A**) en equilibrio para un sistema que tiene una temperatura (**T**), un volumen (**V**) y número constante de partículas, se puede escribir como una integral sobre el espacio de fase

$$\langle A \rangle = \int \int A(\mathbf{q}, \mathbf{p}) P(\mathbf{q}, \mathbf{p}) d\mathbf{q} d\mathbf{p} \quad (3.2)$$

- * donde **P** es la probabilidad de estar en un punto de fase particular que depende de la energía asociada con el punto de fase conforme a:

$$P(\mathbf{q}, \mathbf{p}) = Q^{-1} e^{-E(\mathbf{q}, \mathbf{p})/k_B T} d\mathbf{q} d\mathbf{p} \quad (3.3)$$

- * **E** es la energía total (la suma de las energías cinética y potencial que dependen de \mathbf{p} y \mathbf{q} , respectivamente).
- * k_B es la constante de Boltzmann.
- * **T** es la temperatura.
- * **Q** es la función de partición del sistema (suma sobre todos los estados posibles del factor de Boltzmann, que puede considerarse como la constante de normalización para **P**).

$$Q = \int \int e^{-E(\mathbf{q}, \mathbf{p})/k_B T} d\mathbf{q} d\mathbf{p} \quad (3.4)$$

Para obtener los promedios (de la propiedad **A**) se define el ensamble:

- Usar un sistema real como modelo de estado macroscópico.
- Preparar n sistemas en el mismo estado macroscópico.
- Al tiempo $t = t'$, aislar a todos eliminando los alrededores.

En un sistema complejo, las integrales de las ecuaciones (3.2) y (3.4) probablemente no tengan solución analítica, sin embargo, se pueden evaluar numéricamente. Se requiere de un medio para elegir puntos de alta probabilidad. Si iniciamos un sistema en algún punto de fase de baja energía, su trayectoria (evolución lo largo del tiempo) probablemente muestree regiones relevantes del espacio de fases. En ese caso, una manera razonable de calcular el promedio de una propiedad es simplemente calcular el valor de la propiedad en intervalos de tiempo y suponer un promedio

$$\langle A \rangle = \frac{1}{M} \sum_i^M A(t_i) \quad (3.5)$$

* donde M es el número de veces que se muestrea la propiedad.

En el límite de muestreo continuo y siguiendo la trayectoria indefinidamente, esta ecuación se convierte en:

$$\langle A \rangle = \lim_{t \rightarrow \infty} \frac{1}{t} \int_{t_0}^{t_0+t} A(\tau) d\tau \quad (3.6)$$

La hipótesis ergódica asume que la ecuación. (3.6) es válida, independientemente de la elección de t_0 y que las ecuaciones (3.2) y (3.6) son equivalentes [75].

La DM permite generar una trayectoria de puntos que evolucionan con el tiempo siguiendo la segunda ley de Newton. Se trata por tanto de un método determinista, es decir, el estado de un punto de la trayectoria permite predecir el estado del siguiente.

Los núcleos atómicos son suficientemente pesados como para ser considerados como partículas clásicas cuya dinámica sigue la ecuación de Newton:

$$F = ma \quad \Rightarrow \quad \frac{d^2 y}{dt^2} = \frac{F_{q_i}}{m_i} \quad (3.7)$$

* donde F_{q_i} es la fuerza que se aplica a la partícula i en la posición $q(x, y, z)$ en el tiempo t .

La energía total del sistema, suma de las energías potencial y cinética, se determina a partir de las coordenadas iniciales $q_0(x_0, y_0, z_0)$ y las velocidades iniciales v_0 .

La evolución temporal del sistema se puede seguir al aplicar métodos de integración numérica. De este modo se obtienen pequeñas etapas sucesivas separadas en el tiempo por un intervalo fijo δt_i (tiempo de integración).

La fuerza que actúa sobre cada partícula, en un instante de tiempo t , se determina mediante la derivada de la energía potencial con respecto a las coordenadas:

$$F = - \frac{\partial E_{potencial}}{\partial q} \quad (3.8)$$

Las posiciones iniciales se pueden obtener de manera aleatoria, o a partir de estructuras experimentales y la distribución inicial de las velocidades se determina a partir de una distribución aleatoria, con las magnitudes que se ajustan a la temperatura requerida y se corrige, de modo que no hay un momento general:

$$P = \sum_{i=1}^N m_i v_i = 0 \quad (3.9)$$

las velocidades v_i se eligen al azar de una distribución de Maxwell-Boltzmann a una temperatura dada, lo que da la probabilidad de que una partícula i tenga una velocidad v_x en la dirección x a una temperatura T

$$P(v_{ix}) = \left(\frac{m_i}{2\pi k_b T} \right)^{3/2} \exp \left[-\frac{1}{2} \frac{m_i v_{ix}^2}{k_b T} \right] \quad (3.10)$$

Algoritmo de Verlet

Una vez que se han calculado las fuerzas, en la configuración de los átomos en el tiempo t , se genera una configuración al tiempo $t + \Delta t$ para integrar con pasos pequeños. La solución de las ecuaciones de Newton se hace utilizando el algoritmo Verlet, que se basa en una expansión de la serie de Taylor al expandir la posición de la i -ésima partícula r_i en el tiempo $t + h$ y $t - h$

$$r_i(t + h) = r_i(t) + hr'_i(t) + \frac{h^2}{2!} r''_i(t) + \frac{h^3}{3!} r'''_i(t) + O(h^4) \quad (3.11)$$

$$r_i(t - h) = r_i(t) - hr'_i(t) + \frac{h^2}{2!} r''_i(t) - \frac{h^3}{3!} r'''_i(t) + O(h^4) \quad (3.12)$$

Al sumar estas dos ecuaciones se obtiene:

$$r_i(t + h) + r_i(t - h) = 2r_i(t) + h^2 r''_i(t) + O(h^4) \quad (3.13)$$

$r'_i(t)$ es equivalente a la velocidad de la partícula $v_i(t)$ y $r''_i(t)$ es la aceleración de la partícula $a_i(t)$. Al substituir la aceleración en la ecuación (3.13) se obtiene:

$$r_i(t + h) + r_i(t - h) = 2r_i(t) + h^2 a_i(t) + O(h^4) \quad (3.14)$$

se resuelve para $r_i(t + h)$ y se utiliza $a_i = F_i/m_i$ para obtener:

$$r_i(t + h) = 2r_i(t) - r_i(t - h) + \frac{h^2}{m_i} F_i(t) + O(h^4) \quad (3.15)$$

El tiempo es una variable continua, pero para implementar la ec. (3.15) en un programa de cómputo se requiere que la solución se genere para pasos de tiempo discretos tales que:

$$h = t_{n+1} - t_n \quad (3.16)$$

* donde h es el tamaño de paso para la variable de tiempo.

Este tiempo discrecional en la ecuación (3.15) conduce al algoritmo de Verlet:

$$r_i(t_{n+1}) = 2r_i(t_n) - r_i(t_{n-1}) + \frac{h^2}{m_i} F_i(t_n) + O(h^4) \quad (3.17)$$

El algoritmo de Verlet es un método de cuarto orden y se basa en dos pasos de tiempo anteriores, t_{n-1} y t_n , para avanzar a la solución en el tiempo t_{n+1} . En ocasiones se presentan problemas asociados con el algoritmo de Verlet debido a la posible pérdida de precisión cuando la ecuación (3.17) se implementa. El término final en la ecuación (3.17) tiende a ser pequeño en comparación con los demás, y como resultado, este término puede perderse en el error de redondeo.

La velocidad no aparece explícitamente en el algoritmo de Verlet y esto puede ser un problema si se desean propiedades del sistema que dependen de la velocidad, como la energía cinética. Además, la velocidad en el tiempo t_n no se puede calcular hasta que se obtenga la posición en el tiempo t_{n+1} . Como resultado, la velocidad generalmente se calcula a partir de las posiciones utilizando una ecuación aproximada basada en la derivada de la posición:

$$v_i(t_n) = \frac{r_i(t_{n+1}) - r_i(t_{n-1})}{2h} \quad (3.18)$$

El algoritmo de Verlet no es de inicio automático, ya que requiere las posiciones en los dos tiempos anteriores (t_n y t_{n-1}) para obtener la posición en la próxima vez, (t_{n+1}). Esto generalmente se resuelve al completar primero un paso de un método menos preciso que solo requiere información en un paso de tiempo anterior, como el método de Euler, y luego cambiar al método Verlet para los pasos subsiguientes.

3.1.2 Campo de Fuerzas

La energía de una molécula en su estado basal, puede considerarse como una función de las coordenadas de los núcleos atómicos que se denomina Campo de Fuerzas (Force Field). Los cambios que se producen en la energía potencial de un sistema pueden representarse como una superficie de energía potencial [15]. Uno de los objetivos en Dinámica Molecular es encontrar los puntos mínimos en la superficie energética que corresponden a estructuras moleculares optimizadas. También es importante encontrar los puntos silla (puntos de pendiente igual a cero en cualquier dirección). Estos puntos se consideran barreras de mínima energía en los caminos que conectan los distintos mínimos y que corresponden a los estados de transición.

Los primeros campos de fuerzas para simulaciones biomoleculares se desarrollaron en la década de los setentas [28]. Posteriormente numerosos campos de fuerza empíricos para Mecánica Molecular (MM) se han desarrollado para simulaciones de moléculas biológicas como proteínas, ácidos nucleicos, lípidos, entre otras [83]. Los

nombres de algunos programas que se usan para simulaciones de Dinámica Molecular coinciden con los nombres de los parámetros de Mecánica Molecular, y es preciso no confundirlos. Los programas que más se utilizan en simulaciones de DM para moléculas biológicas son: AMBER [11], CHARMM [9], GROMOS [73], NAMD [66] y TINKER [68].

Las interacciones entre partículas se modelan con un campo de fuerzas aproximado que se compone de la función de energía potencial y los parámetros empíricos que se utilizan en cada uno de los términos. Un mismo campo de fuerzas se puede emplear para distintas moléculas que se relacionen entre si [48]. Comúnmente los campos de fuerzas se representa mediante una ecuación compuesta por las interacciones del sistema enlazantes (ángulos de valencia y ángulos torsionales propios e impropios) y no enlazantes (de tipo Lennard-Jones, para las fuerzas de van der Waals y un término Coulómbico para las interacciones electrostáticas de largo alcance):

$$E_{total} = \underbrace{E_{enlace} + E_{ángulo} + E_{torsional}}_{Enlazantes} + \underbrace{E_{vdW} + E_{Coulomb}}_{No\ enlazantes} \quad (3.19)$$

- * Los enlaces químicos y doblamiento de ángulos se modelan ajustando a datos espectroscópicos experimentales de pequeñas moléculas y a cálculos cuánticos.
- * Los ángulos de torsión y cargas parciales se derivan a partir de cálculos ab-initio de pequeñas moléculas.
- * Los parámetros de Van der Waals se ajustan a datos experimentales de la fase líquida (densidad, calor de vaporización).

• **Términos enlazantes** (covalentes)

- + El término de enlace de estiramiento (bond stretching) se define mediante una función del tipo ley de Hooke:

$$E_{enlace} = \frac{k_r}{2}(r - r_{eq})^2 \quad (3.20)$$

donde la energía varía en función del desplazamiento, desde una longitud de referencia del enlace r_{eq} (Figura3.2). Mantiene las longitudes de enlace cercanas a los valores experimentales de equilibrio.

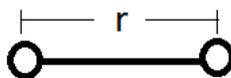


FIGURA 3.2: Enlace de estiramiento lineal

- + El término de ángulo de enlace (angle bending) representa la variación de los ángulos con respecto a sus valores de referencia θ_{eq} (Figura 3.3), también se representa mediante un potencial armónico de Hooke:

$$E_{\text{ángulo}} = \frac{k_{\theta}}{2}(\theta - \theta_{eq})^2 \quad (3.21)$$

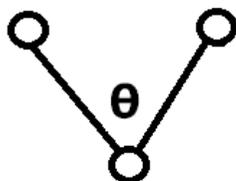


FIGURA 3.3: Deformación del ángulo de enlace

- + El término de ángulo de torsión (torsional term) describe la variación de la energía asociada a la rotación alrededor de un enlace entre dos átomos, que se encuentran dentro de una serie de cuatro átomos, como se muestra en la figura 3.4

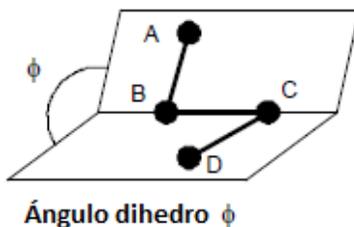


FIGURA 3.4: Enlace de torsión

tiene una periodicidad en el ángulo ϕ , si el enlace rota 360° la energía debe volver al mismo valor. Su perfil energético se expresa como una serie de Fourier:

$$E_{\text{torsional}} = \frac{V_n}{2}[1 + \cos(n\phi - \phi_0)] \quad (3.22)$$

La constante V_n determina la altura de la barrera de torsión alrededor del enlace **b-c**, **n** describe la multiplicidad (el número de mínimos en la función cuando rota 360°), ϕ el ángulo de torsión y el ángulo de fase ϕ_0 (indica en qué punto pasa la torsión por mínimo energético).

- **Términos no enlazantes**

La interacción entre átomos y moléculas independientes no depende de una relación específica de enlace entre ellos.

- + La interacción de van der Waals entre dos átomos representa el balance entre las fuerzas atractivas y repulsivas y varía en función de la distancia entre ambos átomos (Figura 3.5).

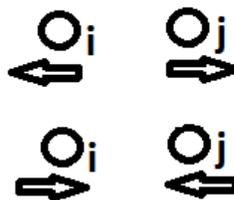


FIGURA 3.5: Interacciones tipo van der Waals

La energía de interacción es cero cuando los átomos se encuentran a una distancia infinita, conforme se acorta la distancia entre ellos la energía disminuye hasta llegar a un mínimo. Cuando los átomos se acercan aún más, a distancias interatómicas, la energía crece rápidamente hasta ser infinita. Las interacciones de van der Waals se representan mediante la función de Lennard-Jones

$$V_{LJ}(r) = 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (3.23)$$

- * ϵ es la profundidad del pozo
- * σ es la distancia a la que la energía es cero.

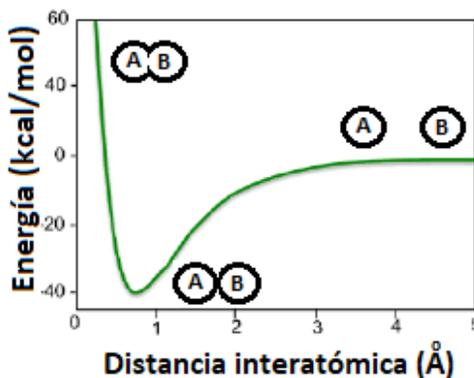


FIGURA 3.6: Potencial de Lennard-Jones

- + La interacción electrostática de una molécula se calcula como la suma de las interacciones entre pares de cargas puntuales conforme a la ley de Coulomb:

$$E_{elec}(r_{AB}) = \frac{q_A q_B}{4\pi\epsilon_0 r_{AB}} \quad (3.24)$$

- * q_A y q_B son las cargas puntuales de cada átomo
- * r_{AB} es la distancia entre átomos
- * ϵ_0 es la constante dieléctrica del medio que las separa

Si las cargas puntuales de dos átomos son contrarias éstos se atraen entre sí, pero si las cargas son del mismo signo entonces se repelen (Figura 3.7)

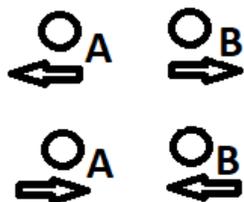


FIGURA 3.7: Interacciones de Coulomb

Si las cargas se encuentran centradas en los núcleos, se denominan cargas atómicas parciales.

Un campo de fuerzas se desarrolla con el fin de ajustar sus parámetros, para encontrar un modelo que sea capaz de aproximarse lo mejor posible a los valores experimentales de las propiedades macroscópicas del sistema, para ello muchos campos de fuerzas obtienen estos parámetros de datos experimentales, tales como los estructurales, energéticos o electrónicos. Estos datos experimentales se complementan con cálculos cuánticos *ab initio*, que son capaces de reproducir resultados experimentales en muchos sistemas, sin embargo, para la obtención de parámetros se requiere una gran cantidad de recursos computacionales para asegurarse de que los datos *ab initio* son suficientemente precisos. Otra opción que ha sido utilizada es obtener los parámetros solamente a partir de información obtenida de cálculos cuánticos.

La superficie de energía potencial de un sistema se define por la variación de la energía de las moléculas en función de sus coordenadas. En el modelado molecular se estudian los puntos mínimos en la superficie de energía potencial que corresponden a los estados estables del sistema. Cualquier cambio en esta configuración producirá una variación de la energía potencial [48]. El punto con el mínimo energético más bajo es el mínimo global mientras que los demás puntos son solo mínimos locales (Figura 3.8).

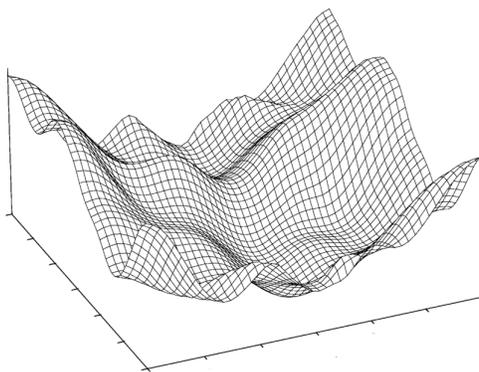


FIGURA 3.8: Superficie de energía potencial

En un punto mínimo, la primera derivada de la función de potencial V con respecto a las coordenadas cartesianas o internas (x_i) es igual a cero mientras que las segundas derivadas son positivas (Ecuaciones 3.25). El punto silla es el punto energético más elevado en el camino entre dos mínimos y corresponde al estado de transición. Un algoritmo de minimización es el proceso que permite identificar las geometrías del sistema que corresponden a los puntos de mínima energía potencial. Los métodos más empleados para la minimización de energía en modelado molecular se basan en los criterios de la primera y segunda derivadas de la función del potencial

$$\frac{\partial V}{\partial x} = 0 \quad \frac{\partial^2 V}{\partial x^2} > 0 \quad (3.25)$$

que modifican las coordenadas de los átomos mientras desplazan el sistema hacia el del punto de mínima energía. Realizan una búsqueda siguiendo la máxima pendiente.

3.1.3 GROMACS

GROMACS es un motor para minimizar energías y realizar simulaciones de dinámica molecular, es decir, resuelve las ecuaciones del movimiento de Newton para sistemas con cientos de miles de partículas, principalmente para moléculas bioquímicas como proteínas, lípidos y ácidos nucleicos que contienen complicadas interacciones; aunque también se usa para la investigación de sistemas no biológicos.

GROMACS es Software Libre, disponible en el marco del General Public License, desarrollado en 1991 por el departamento de Biophysical Chemistry de la Universidad de Groningen Holanda. Por ser de código abierto se ha reimplementado por muchos otros desarrolladores [26]. Soporta todos los algoritmos habituales en Dinámica Molecular y proporciona un rendimiento alto, en estaciones de trabajo y PCs de bajo costo, en comparación con programas similares, además su manejo es muy fácil, con topologías y archivos de parámetros escritos en formato de texto sin cifrar y muestra mensajes claros de error. Dado que se utiliza el preprocesador de C, se pueden compilar partes condicionales en función de la arquitectura o incluir otros archivos.

Protocolo para una simulación en GROMACS:

Para realizar una simulación con GROMACS, es necesario generar previamente los ficheros de entrada con los datos de las moléculas que se van a analizar. Junto con el paquete GROMACS se incluyen un conjunto de programas necesarios para las distintas etapas que se requieren para la preparación de los ficheros de entrada.

- + Todos los comandos disponen de ayuda utilizando el parámetro -h.
- + GROMACS puede utilizar como entrada ficheros .pdb del Protein Data Bank (www.pdb.org), para luego convertirlos a su formato nativo .gro y .top con el comando "pdb2gmx".

- + Este comando toma el archivo .pdb y genera dos ficheros, un .gro con los átomos y sus coordenadas (x,y,z), y un .top con las masas atómicas, sus cargas y enlaces.
- + Una vez que estos ficheros (.gro y .top) han sido creados, es necesario especificar la “caja” en la que se han de alojar los átomos. Esto se hace ejecutando el comando “editconf”.
- + Este comando tomará el fichero .gro y lo modificará añadiendo en la última línea las dimensiones de la caja que se le habrán indicado por parámetros.
- + Ahora que las dimensiones de la caja se han especificado, es posible agregar más de una de las moléculas del fichero .pdb y rellenar el resto de la caja con moléculas disolventes.
- + Ambas acciones son realizadas con el comando “genbox” que modificará el fichero .gro y .top para que contengan todos los átomos que han sido agregados en este paso.
- + En algunas circunstancias, puede ser necesario introducir iones en la solución, ya sea para neutralizar la carga total en el sistema, o para eliminar interacciones electrostáticas entre las moléculas disueltas, o para ambas cosas.
- + Estos iones se agregan al sistema mediante la utilidad “genion”.
- + Una vez preparada la solución, hay tres tipos de simulaciones. Las tres son ejecutadas de la misma manera: primero se ejecuta el comando “grompp” y a continuación el comando “mdrun”.
- + El comando “mdrun” es el motor de GROMACS, y el responsable del verdadero desplazamiento de los átomos conforme a las leyes de la física (parametrizadas en el fichero de dinámica molecular .mdp).
- + El comando “grompp” toma los ficheros .gro, .top y .mdp y genera un fichero .tpr que es la entrada del comando “mdrun”.
- + Como salida del comando “mdrun” obtenemos un fichero binario .trr de gran tamaño, que contiene el estado del sistema a intervalos de tiempo regulares y también un fichero .gro que contiene el estado final de la solución.
- + Este fichero .gro puede utilizarse para la simulación.

Hay tres tipos de simulaciones, aunque las dos primeras son opcionales, y realmente su función es la preparación de la solución para la simulación tercera, la completa.

- + La primer simulación tiene como objetivo la minimización de energías (Energy Minimization o EM) en la solución. Lo único que hace es “empujar” los átomos de las moléculas disueltas hasta que las longitudes de sus enlaces y sus ángulos se encuentren en su configuración de mínima energía potencial (ignorando por completo los átomos de otros elementos de la solución). Hacer esto es una buena manera de comprobar que los enlaces son estables (la molécula podría romperse si no lo fueran), y acelera las simulaciones posteriores. En algunas soluciones son necesarios varios pasos de minimización de energía (EM), con lo cual será necesario ejecutar varias veces el ciclo grompp → mdrun.
- + La segunda simulación tiene por objetivo la fijación de la posición del soluto dentro de la disolución. Esto fija las moléculas de soluto en una posición, y permite que el disolvente y los iones se “relajen” a su alrededor en posiciones de mínima energía potencial. Con ello se consigue que el disolvente llene la caja de manera uniforme y no se formen vacíos al inicio de la simulación completa.
- + La tercer simulación es la completa (full Molecular Dynamics o MD) y en ella se realizan los cálculos completos de la dinámica molecular en un periodo largo de tiempo (las simulaciones anteriores necesitan mucho menos tiempo en comparación). Esta simulación es la que necesita más tiempo de proceso y es la más indicada para la realización en paralelo.
- + Como resultado de la simulación se obtienen ficheros .xtc, .trr y .edr que se utilizan para el análisis de la simulación con programas como “ngmx” o “xmgrace”, entre otros.

3.2 Química Cuántica Computacional

La química computacional se utiliza para calcular de forma numérica las estructuras electrónicas e interacciones moleculares; mediante cómputo se genera información de las propiedades y estructura de moléculas, los resultados experimentales se simulan a través de la resolución de modelos matemáticos. Casi todos los aspectos de la química se han descrito en un esquema computacional cuantitativo, cualitativo o aproximado, que puede proporcionar información útil sobre la química. También es de gran ayuda para hacer predicciones antes de ejecutar experimentos reales, de manera que se puedan mejorar los procedimientos para realizar observaciones. Es la aplicación de la química, las matemáticas y la informática para la solución de problemas químicos interesantes. Es el modelado preciso de todos los aspectos de la química real que emplea cálculos en lugar de experimentos.

La química cuántica es la aplicación de la mecánica cuántica para la solución de problemas químicos. Para describir el estado de un sistema en mecánica cuántica se utiliza la función de onda o función de estado Ψ que contiene toda la información acerca del sistema y está contenida en la ecuación de Schrödinger. La Química Cuántica

describe el comportamiento fundamental de la materia a una escala atómica o molecular, para entender el comportamiento de la materia y sus propiedades desde sus primeros principios (Ab-initio). Se centra en la aplicación de los métodos para resolver la ecuación de Schrödinger y calcular propiedades a nivel molecular.

3.2.1 Ecuación de Schrödinger

Es la ecuación de las ondas materiales que se asocian a las partículas. La solución de la ecuación de Schrödinger, de un sistema, conduce a su función propia “exacta” mediante el operador hamiltoniano \hat{H} , que proviene de la función de la energía total de un sistema en la mecánica clásica. El espectro del operador es el conjunto de los valores propios E_k de los estados k del sistema y toda la información sobre el sistema está contenida en la función de onda resultante Ψ . Su significado físico (densidad de probabilidad) lo da su módulo al cuadrado $|\Psi|^2$, que se relaciona con la probabilidad de encontrar la partícula en una determinada zona del espacio.

Los electrones se comportan como partículas, pero también como si fueran una onda, en particular, en el átomo se mueven como ondas estacionarias, en un potencial esférico creado por el núcleo.

$$\hat{H}\Psi = E\Psi \quad (3.26)$$

$$\hat{H} = \underbrace{\hat{T}_n + \hat{T}_e}_{\text{energía cinética}} + \underbrace{\hat{V}_{ne} + \hat{V}_{ee} + \hat{V}_{nn}}_{\text{energía potencial}} \quad (3.27)$$

La ecuación de Schrödinger depende de las coordenadas de todos los electrones y de todos los núcleos de un sistema, y la forma del hamiltoniano para un sistema de M núcleos y N electrones es como sigue:

$$\hat{T}_n = \sum_{I=1}^M -\frac{1}{2M_I} \nabla_i^2 \quad \text{Energía cinética de los núcleos} \quad (3.28)$$

$$\hat{T}_e = \sum_{i=1}^N -\frac{1}{2} \nabla_i^2 \quad \text{Energía cinética de los electrones} \quad (3.29)$$

$$\hat{V}_{ee} = \sum_i \sum_{j<i} \frac{1}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|} \quad \text{Energía potencial entre electrones} \quad (3.30)$$

$$\hat{V}_{nn} = \sum_I \sum_{J<I} \frac{Z_I Z_J}{|\mathbf{R}_I - \mathbf{R}_J|} \quad \text{Energía potencial entre núcleos} \quad (3.31)$$

$$\hat{V}_{en} = \sum_i \sum_I \frac{Z_I}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{R}_I|} \quad \text{Energía potencial entre electrones y núcleos} \quad (3.32)$$

- \mathbf{e} y \mathbf{N} son electrones \mathbf{n} y \mathbf{M} son núcleos.
- \mathbf{R}_I coordenada del I-ésimo núcleo Z_I Carga del I-ésimo núcleo.

- r_i coordenada del i -ésimo electrón.

Para sistemas simples, con solo dos partículas, la solución de la ecuación de Schrödinger consiste en separarla en ecuaciones no acopladas (conjunto completo de funciones que resuelven la ecuación) que involucran una sola variable espacial (la dimensión). La función de onda total del sistema es el producto de las funciones de onda separadas (funciones propias), las ecuaciones se resuelven y se calculan las energías correspondientes (valores propios).

Sin embargo, para sistemas complejos, como las moléculas poliatómicas, la ecuación de Schrödinger no se puede resolver tan fácilmente, ya que depende de varios parámetros (distancias de enlace, ángulos de enlace y ángulos diedros de rotación en torno a enlaces simples), entonces la ecuación no se puede separar en sistemas desacoplados. Para superar este problema se introducen aproximaciones que permiten separar la función en variables de espacio no acopladas.

3.2.2 Aproximación de Born-Oppenheimer

Trata de simplificar la ecuación de Schrödinger mediante la separación de los movimientos del núcleo y los electrones, con base en la diferencia de las masas del núcleo y del electrón (la masa de un núcleo es miles de veces más grande que la de un electrón) se concluye que el núcleo se mueve muy lentamente con respecto a los electrones y los electrones se adaptan instantáneamente ante cualquier cambio en la configuración de los núcleos, por lo tanto, la energía electrónica en un sistema molecular depende de las posiciones del núcleo y no de su velocidad. Es decir que el movimiento de los electrones puede describirse en un campo estacionario generado por los núcleos [22].

Discusión de la diferencia de velocidades entre núcleo y electrones.

Utilizando el principio de incertidumbre para los electrones (m, x, v) y los núcleos (M, X, V)

$$\Delta x \Delta p = \Delta x \Delta(mv) = m \Delta x \Delta v \geq \hbar \quad (3.33)$$

$$\Delta X \Delta P = \Delta X \Delta(MV) = M \Delta X \Delta V \geq \hbar \quad (3.34)$$

si se considera que los principios son aproximadamente la unidad \hbar

$$\Rightarrow \frac{M \Delta X \Delta V}{m \Delta x \Delta v} \approx 1 \quad y \quad \frac{\Delta X \Delta V}{\Delta x \Delta v} \approx \frac{m}{M} \quad (3.35)$$

$$\text{pero } M \gg m \Rightarrow \frac{m}{M} \ll 1 \Rightarrow \frac{M \Delta X \Delta V}{m \Delta x \Delta v} \approx 1 \quad (3.36)$$

$$(3.37)$$

de la física estadística se sabe que:

$$\langle \frac{1}{2}MV^2 \rangle = \langle \frac{1}{2}mv^2 \rangle = \frac{3}{2}k_B T \quad (3.38)$$

de este resultado se puede aproximar: $\Delta V = \langle V^2 \rangle^{1/2}$ y $\Delta v = \langle v^2 \rangle^{1/2}$

$$\langle \frac{1}{2}MV^2 \rangle = \langle \frac{1}{2}mv^2 \rangle = \frac{3}{2}k_B T \Rightarrow \frac{M(\Delta V)^2}{m(\Delta v)^2} = 1 \quad (3.39)$$

$$\Rightarrow \frac{\Delta V}{\Delta v} = \left(\frac{m}{M} \right)^{1/2} \ll 1 \quad (3.40)$$

ademas del resultado previamente obtenido

$$\frac{\Delta X \Delta V}{\Delta x \Delta v} \approx \frac{m}{M} \ll 1 \Rightarrow \frac{\Delta X}{\Delta x} = \left(\frac{m}{M} \right)^{1/2} \ll 1 \quad (3.41)$$

Se puede concluir que los núcleos están mas localizados y se mueven mucho mas lento que los electrones.

La aproximación de Born-Oppenheimer considera la función $\psi(\mathbf{X}, x)$ como producto de dos funciones:

- $\psi(\mathbf{X})$ que depende solo de las coordenadas de los núcleos y
- $\psi(\mathbf{X}, x)$ que depende de las coordenadas, tanto de los núcleos como de los electrones.

así, el producto de las funciones será:

$$\psi(\mathbf{X}, x) = \psi_n(x)\psi_e(\mathbf{X}, x) \quad (3.42)$$

que se substituye en la ecuación de Scrödinger para obtener:

$$(\hat{H}_{k,e} + \hat{H}_{p,ee} + \hat{H}_{p,ne})\psi_e(\mathbf{X}, x) = E_e(x)\psi_e(\mathbf{X}, x) \quad (3.43)$$

al substituir las expresiones de los operadores en la ecuación anterior se obtiene:

$$\left[-\sum_{i=1}^N \frac{\hbar^2}{2m_e} \nabla_{r_i}^2 + \frac{1}{2} \sum_{i_1 \neq i_2=1}^N \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{e^2}{|r_{i_1} - r_{i_2}|} - \sum_{k=1}^M \sum_{i=1}^N \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{Z_k e^2}{|\mathbf{R}_k - \mathbf{r}_i|} \right] \psi_e(\mathbf{X}, x) = E_e(\mathbf{X})\psi_e(\mathbf{X}, x) \quad (3.44)$$

entonces la dependencia de ψ_e en las coordenadas nucleares es sólo a través de la interacción electrostática entre los electrones y los núcleos, por lo tanto, los núcleos generan un potencial externo (Figura3.9) en el que se mueven los electrones dado por:

$$V(\mathbf{r}) = - \sum_{k=1}^M \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{Z_k e^2}{|\mathbf{R}_k - \mathbf{r}_i|} \quad (3.45)$$

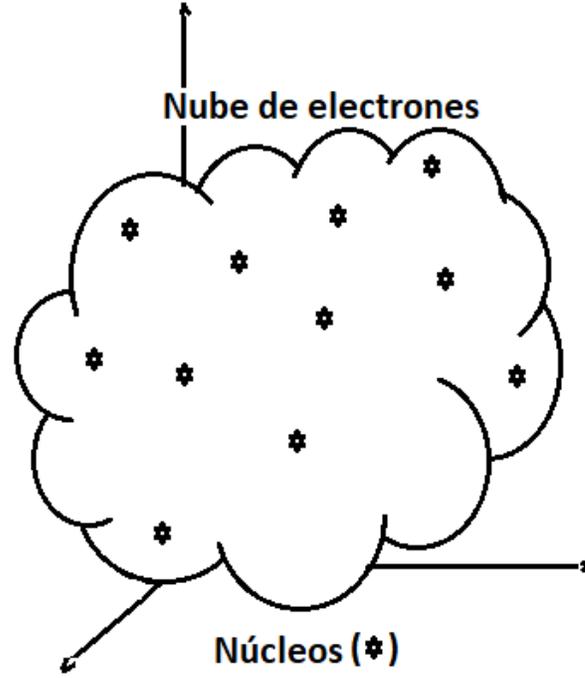


FIGURA 3.9: Potencial generado por los núcleos en el que se mueve la nube de electrones.

Aproximación De la ecuación (3.43) se obtiene:

$$\begin{aligned}
 (\hat{H}_{k,n} + \hat{H}_{p,nn})\psi_n(\mathbf{X})\psi_e(\mathbf{X}, x) + (\hat{H}_{k,e} + \hat{H}_{p,ee} + \hat{H}_{p,ne})\psi_n(\mathbf{X})\psi_e(\mathbf{X}, x) \approx \\
 \psi_e(\mathbf{X}, x)(\hat{H}_{k,n} + \psi_n(\mathbf{X})\hat{H}_{p,nn}) + \psi_n(\mathbf{X})(\hat{H}_{k,e} + \hat{H}_{p,ee} + \hat{H}_{p,ne})\psi_e(\mathbf{X}, x) = \\
 E\psi_n(\mathbf{X})\psi_e(\mathbf{X}, x)
 \end{aligned} \quad (3.46)$$

dado que los núcleos se mueven mucho mas lento que los electrones:

$$-\frac{\hbar^2}{2M_k}\nabla_{\mathbf{R}_k}^2\psi_e(\mathbf{X}, x) \quad \text{es muy pequeño} \quad (3.47)$$

y al dividir por $\psi_n(\mathbf{X})\psi_e(\mathbf{X}, x)$ se obtiene:

$$\frac{(\hat{H}_{k,n} + \hat{H}_{p,nn})\psi_n(\mathbf{X})}{\psi_n(\mathbf{X})} + \frac{(\hat{H}_{k,e} + \hat{H}_{p,ee} + \hat{H}_{p,ne})\psi_e(\mathbf{X}, x)}{\psi_e(\mathbf{X}, x)} = E \quad (3.48)$$

$$\frac{(\hat{H}_{k,e} + \hat{H}_{p,ee} + \hat{H}_{p,ne})\psi_e(\mathbf{X}, x)}{\psi_e(\mathbf{X}, x)} = E - \frac{(\hat{H}_{k,n} + \hat{H}_{p,nn})\psi_n(\mathbf{X})}{\psi_n(\mathbf{X})} \quad (3.49)$$

el lado derecho no depende de las coordenadas de los electrones (x), pero puede depender de las coordenadas nucleares (\mathbf{X}), entonces la ecuación anterior se puede

expresar como:

$$\frac{(\hat{H}_{k,e} + \hat{H}_{p,ee} + \hat{H}_{p,ne})\psi_e(\mathbf{X}, x)}{\psi_e(\mathbf{X}, x)} = E_e(\mathbf{X}) \quad (3.50)$$

$$(\hat{H}_{k,e} + \hat{H}_{p,ee} + \hat{H}_{p,ne})\psi_e(\mathbf{X}, x) = E_e(\mathbf{X})\psi_e(\mathbf{X}, x) \quad (3.51)$$

al sustituir las expresiones de los operadores se obtiene:

$$\left[-\sum_{i=1}^N \frac{\hbar^2}{2m_e} \nabla_{r_i}^2 + \frac{1}{2} \sum_{i_1 \neq i_2=1}^N \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{e^2}{|\mathbf{r}_{i_1} - \mathbf{r}_{i_2}|} - \sum_{k=1}^M \sum_{i=1}^N \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{Z_k e^2}{|\mathbf{R}_k - \mathbf{r}_i|} \right] \psi_e(\mathbf{X}, x) = E_e(\mathbf{X})\psi_e(\mathbf{X}, x) \quad (3.52)$$

- donde la dependencia de ψ_e , en las coordenadas nucleares, es sólo a través de la interacción electrostática entre los electrones y los núcleos,

por lo tanto, se concluye que los núcleos generan un potencial externo en el que se mueven los electrones:

$$V(\mathbf{r}) = -\sum_{k=1}^m \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{Z_k e^2}{|\mathbf{R}_k - \mathbf{r}_i|} \quad (3.53)$$

finalmente la energía se expresa como:

$$E = \frac{(\hat{H}_{k,n} + \hat{H}_{p,nn})\psi_n(\mathbf{X})}{\psi_n(\mathbf{X})} + E_e(\mathbf{X}) \quad (3.54)$$

$$E \approx \frac{\hat{H}_{p,nn}\psi_n(\mathbf{X})}{\psi_n(\mathbf{X})} + E_e(\mathbf{X}) \approx \hat{H}_{p,nn} + E_e(\mathbf{X}) \quad (3.55)$$

$$E \approx \frac{1}{2} \sum_{k_1 \neq k_2=1} \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{Z_{k_1} Z_{k_2} e^2}{|\mathbf{R}_{k_1} - \mathbf{R}_{k_2}|} + E_e(\mathbf{X}). \quad (3.56)$$

- Los resultados obtenidos permiten tratar a los núcleos como partículas clásicas, cuyos únicos efectos son:
- la contribución electrostática entre los núcleos a la energía total
- un campo electrostático en el cual los electrones se mueven

Sistema de unidades atómicas La ecuación de Schrödinger se puede simplificar si se utiliza el sistema de unidades atómicas de Hartree, donde:

- $\hbar = 1$
- $m_e = 1$
- $|e| = 1$
- $4\pi\epsilon_0 = 1$

y las unidades son:

- Energía: hartree, donde 1 hartree = 27.21 eV
- Longitud: bohr, donde 1 bohr = $0.5291772 \times 10^{-36}$ m Å
- $c = 1/\alpha = 1/137.036$ donde c es la velocidad de la luz y α la constante de estructura fina

al substituir lo anterior se obtiene:

$$\left[-\sum_{i=1}^N \frac{\hbar^2}{2m_e} \nabla_{r_i}^2 + \frac{1}{2} \sum_{i_1 \neq i_2=1}^N \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{e^2}{|\mathbf{r}_{i_1} - \mathbf{r}_{i_2}|} - \sum_{k=1}^M \sum_{i=1}^N \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{Z_k e^2}{|\mathbf{R}_k - \mathbf{r}_i|} \right] \psi_e(\mathbf{X}, x) = E_e(\mathbf{X}) \psi_e(\mathbf{X}, x) \quad (3.57)$$

$$\left[-\sum_{i=1}^N \frac{1}{2} \nabla_{r_i}^2 + \frac{1}{2} \sum_{i_1 \neq i_2=1}^N \frac{1}{|\mathbf{r}_{i_1} - \mathbf{r}_{i_2}|} - \sum_{k=1}^M \sum_{i=1}^N \frac{Z_k}{|\mathbf{R}_k - \mathbf{r}_i|} \right] \psi_e(\mathbf{X}, x) = E_e(\mathbf{X}) \psi_e(\mathbf{X}, x) \quad (3.58)$$

La función de onda total (3.42) se substituye en el hamiltiano completo (3.26) para obtener:

$$\hat{H} \psi \phi = E \psi \phi \quad (3.59)$$

$$\sum_{i=1}^N -\frac{1}{2} \nabla_i^2 \psi \phi + \sum_{I=1}^M -\frac{1}{2M_I} \nabla_I^2 \psi \phi + (V_{MM} + V_{MN} + V_{NN}) \psi \phi = E \psi \phi \quad (3.60)$$

ϕ depende paraméricamente de las coordenadas M y N, entonces los dos primeros términos de (3.60) se pueden escribir:

$$\sum_{i=1}^N -\frac{1}{2} \psi \phi = \phi \sum_{i=1}^N -\frac{1}{2} \nabla_i^2 \psi \quad (3.61)$$

$$\sum_{I=1}^M -\frac{1}{2M_I} \nabla_I^2 \psi \phi = \psi \sum_{I=1}^M -\frac{1}{2M_I} \nabla_I^2 \phi + \underbrace{\sum_{I=1}^M -\frac{1}{M_I} \nabla_I \psi \cdot \nabla_I \phi}_{\alpha} + \underbrace{\psi \sum_{I=1}^M -\frac{1}{2M_I} \nabla_I^2 \phi}_{\beta} \quad (3.62)$$

Como una primer aproximación se puede suponer que α y β se pueden despreciar:

$$\phi \sum_{i=1}^N -\frac{1}{2} \nabla_i^2 \phi + \psi \sum_{I=1}^M -\frac{1}{2M_I} \nabla_I^2 \phi + (V_{MM} + V_{MN} + V_{NN}) \psi \phi = E \psi \phi \quad (3.63)$$

al dividir por ϕ y agrupar se obtiene:

$$\frac{\psi}{\phi} \sum_{I=1}^M -\frac{1}{2M_I} \nabla_I^2 \phi + \left(\sum_{i=1}^N -\frac{1}{2} \nabla_i^2 + V_{MN} + V_{NN} \right) \psi + V_{NN} \psi = E \psi \quad (3.64)$$

y teniendo en cuenta (3.42) y (3.43):

$$\frac{\psi}{\phi} \sum_{I=1}^M -\frac{1}{2M_I} \nabla_I^2 \phi + \epsilon_{elec} \psi + V_{NN} \psi = E \psi \quad (3.65)$$

- al multiplicar por ϕ/ψ se obtiene (3.58), con lo cual se ha separado el movimiento nuclear del electrónico. La aproximación será viable cuanto más pequeños sean α y β , que si se consideran como una perturbación al hamiltoniano en (3.63) se puede ver su efecto.

Se hacen las correcciones, a primer y segundo orden para α y β , para encontrar que son muy pequeñas o nulas.

La corrección a primer orden para α es:

$$\begin{aligned}
 E_{\alpha}^1 &= \sum_{I=1}^M -\frac{1}{M_I} \int \int \psi^* \phi^* \nabla_I \psi \cdot \nabla_I \phi d\tau_M d\tau_N \\
 &= \sum_{I=1}^M -\frac{1}{M_I} \int \psi^* \nabla_I \psi \cdot \left[\int \phi^* \nabla_I \phi d\tau_N \right] d\tau_M \\
 &= \sum_{I=1}^M -\frac{1}{M_I} \int \psi^* \nabla_I \psi \cdot \left[\nabla_I \int \phi^* \phi d\tau_N \right] d\tau_M \\
 &= \sum_{I=1}^M -\frac{1}{M_I} \int \psi^* \nabla_I \psi \cdot \left[\nabla_I \int |\phi|^2 d\tau_N \right] d\tau_M = 0
 \end{aligned} \tag{3.66}$$

- ya que la función está normalizada

ahora se hace la corrección a segundo orden para la perturbación H' :

$$E_{\alpha}^{(2)} = \sum_{i \neq j} \frac{|\langle \psi \phi | H' | \psi_i \phi_j \rangle|^2}{E_0 - E_{ij}} \tag{3.67}$$

- donde $\psi \phi$ es la función de onda total para el estado base, y $\psi_i \phi_j$ es la función de onda total para cualquier otro estado excitado, con la excitación electrónica i y excitación nuclear j ; E_0 y E_{ij} son las energías correspondientes

En la suma (3.67) hay un término en el numerador de la forma:

$$\begin{aligned}
 &= \sum_{I=1}^M -\frac{1}{M_I} \int \int \psi^* \phi^* \nabla_I \psi \cdot \nabla_I \phi d\tau_M d\tau_N \\
 &= \sum_{I=1}^M -\frac{1}{M_I} \int \phi^* \nabla_I \phi_j \cdot \left[\int \psi^* \nabla_I \psi_i d\tau_N \right] d\tau_M \\
 &= \sum_{I=1}^M -\frac{1}{M_I} \int \phi^* \nabla_I \phi_j \cdot \left[\nabla_I \int \psi^* \psi_i d\tau_N \right] d\tau_M = 0
 \end{aligned} \tag{3.68}$$

que se anula debido a la ortogonalidad en las funciones de onda electrónicas, ya que pertenecen a distintos niveles energéticos. Así las contribuciones a primer y segundo orden de α son nulas y se justifica el haberlas despreciado.

Ahora se hace la corrección a primer orden para β :

$$\begin{aligned} E_{\beta}^{(1)} &= \sum_{I=1}^M -\frac{1}{2M_I} \int \int \psi^* \phi^* \nabla_I^2 \psi \phi d\tau_M d\tau_N \\ &= \sum_{I=1}^M -\frac{1}{M_I} \int |\phi|^2 \left[-\int \psi^* \frac{\nabla_I^2}{2} \psi d\tau_N \right] d\tau_M \end{aligned} \quad (3.69)$$

Este término corresponde al valor esperado de la energía cinética de los electrones, debida al movimiento de los núcleos y promediada en todas las posibles configuraciones nucleares. Este valor debe ser pequeño por la poca amplitud en los movimientos vibracionales, aunado al hecho de que en la suma el cociente $1/M_I$ es del orden de 10^{-19} , por lo que la contribución de éste término se puede despreciar con respecto a la energía total. Estos resultados confirman que α y β se pueden despreciar, con lo que la aproximación resulta ser viable.

3.2.3 Energía de correlación e intercambio (Aproximación de Hartree)

A partir de la aproximación de B-O se debe resolver el problema electrónico planteado por las ecuaciones (3.42) y (3.43). El término de interacción entre los electrones acopla todas las coordenadas electrónicas y hace imposible separar las variables (este término de interacción es el que da origen a la energía de correlación). Para obtener una definición de energía de correlación e intercambio se hace uso de aproximaciones de la Química Cuántica.

De no existir el término de interacción entre los electrones, el hamiltoniano electrónico (3.43) se podría escribir como la suma de hamiltonianos de una partícula

$$H_{elec} = \sum_{i=1}^N \hat{h}_i, \quad \hat{h}_i = -\frac{1}{2} \nabla_i^2 + \sum_{I=1}^M \frac{1}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{R}_I|}, \quad (3.70)$$

entonces la función de onda del sistema electrónico sería un producto de funciones de onda de un electrón (producto de Hartree o combinación lineal de orbitales moleculares)

$$\psi(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \mathbf{r}_3, \dots, \mathbf{r}_N) = \prod_{i=1}^N \psi_i(\mathbf{r}_i), \quad (3.71)$$

y los orbitales ψ_i serían soluciones de la ecuación de un electrón

$$\hat{h}\psi_i(\mathbf{r}) = \epsilon_i \psi_i(\mathbf{r}). \quad (3.72)$$

En la construcción de las configuraciones electrónicas se puede introducir el carácter fermiónico de los electrones, al construir la función de onda ψ llenando los orbitales

a lo más con dos electrones por estado energético. La densidad electrónica estará dada por la probabilidad de hallar un electrón cualquiera en \mathbf{r} , es decir, la suma de probabilidades de la forma:

$$\begin{aligned}
 P_1 &= \int \cdots \int \psi^*(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \mathbf{r}_3, \cdots, \mathbf{r}_N) \psi(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \mathbf{r}_3, \cdots, \mathbf{r}_N) d\mathbf{r}_2 d\mathbf{r}_3 \cdots d\mathbf{r}_N \\
 &= \int \cdots \int \psi_1^*(\mathbf{r}_1) \psi_2^*(\mathbf{r}_2) \psi_3^*(\mathbf{r}_3) \cdots \psi_N^*(\mathbf{r}_N) \psi_1(\mathbf{r}_1) \psi_2(\mathbf{r}_2) \psi_3(\mathbf{r}_3) \cdots \int \psi_N(\mathbf{r}_N) d\mathbf{r}_2 d\mathbf{r}_3 \cdots d\mathbf{r}_N \\
 &= |\psi_1(\mathbf{r}_1)|^2 \int |\psi_2(\mathbf{r}_2)|^2 d\mathbf{r}_2 \int |\psi_3(\mathbf{r}_3)|^2 d\mathbf{r}_3 \cdots \int |\psi_N(\mathbf{r}_N)|^2 d\mathbf{r}_N = |\psi_1(\mathbf{r}_1)|^2
 \end{aligned} \tag{3.73}$$

que en este caso corresponde a la densidad de probabilidad de encontrar al electrón 1 en \mathbf{r}_1 . Al sumar para todos los electrones se tiene:

$$n(\mathbf{r}) = \sum_{i=1}^N |\psi_i(\mathbf{r}_i)|^2. \tag{3.74}$$

Se debe hacer una aproximación que conserve la separación, en hamiltonianos, de una sola partícula y además incluya, de un modo promedio, la interacción electrón-electrón modificando \hat{h} tal que

$$\hat{h}'_i = -\frac{1}{2} \nabla_i^2 + \sum_{I=1}^M \frac{Z_I}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{R}_I|} + \sum_{j=1, j \neq i}^N \int \frac{|\psi_j(\mathbf{r}')|^2}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d\mathbf{r}', \tag{3.75}$$

donde el último término representa la interacción electrostática, entre el electrón i con la densidad de carga creada por el resto de los electrones, y la suma corre sobre $j \neq i$ para evitar la autointeracción.

Es una buena solución variacional para las ecuaciones (3.58) y (3.26), teniendo la función de onda representada por un producto de la forma (3.71). El valor esperado del hamiltoniano electrónico, de la ecuación (3.58), para esta función de onda se calcula haciendo uso de la notación de Dirac:

$$\begin{aligned}
 \langle \Psi | H | \Psi \rangle &= \sum_i \langle \phi_1(\mathbf{r}_1) \phi_2(\mathbf{r}_2) \phi_3(\mathbf{r}_3) \cdots \phi_N(\mathbf{r}_N) | -\frac{1}{2} \nabla^2 | \phi_1(\mathbf{r}_1) \phi_2(\mathbf{r}_2) \phi_3(\mathbf{r}_3) \cdots \phi_N(\mathbf{r}_N) \rangle \\
 &+ \sum_i \sum_I \langle \phi_1(\mathbf{r}_1) \phi_2(\mathbf{r}_2) \phi_3(\mathbf{r}_3) \cdots \phi_N(\mathbf{r}_N) | \frac{Z_I}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{R}_I|} | \phi_1(\mathbf{r}_1) \phi_2(\mathbf{r}_2) \phi_3(\mathbf{r}_3) \cdots \phi_N(\mathbf{r}_N) \rangle \\
 &+ \frac{1}{2} \sum_i \sum_{i \neq j} \langle \phi_1(\mathbf{r}_1) \phi_2(\mathbf{r}_2) \phi_3(\mathbf{r}_3) \cdots \phi_N(\mathbf{r}_N) | \frac{1}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|} | \phi_1(\mathbf{r}_1) \phi_2(\mathbf{r}_2) \phi_3(\mathbf{r}_3) \cdots \phi_N(\mathbf{r}_N) \rangle,
 \end{aligned} \tag{3.76}$$

al tener en cuenta que, en el i -ésimo elemento de cada suma, el operador sólo actúa

sobre las coordenadas del i -ésimo electrón, entonces se obtiene:

$$\begin{aligned} \langle \Psi | H \Psi \rangle &= \sum_i \langle \psi_i(\mathbf{r}_i) | -\frac{1}{2} \nabla_i^2 | \psi(\mathbf{r}_i) \rangle + \sum_i \sum_I \int \frac{Z_I |\psi(\mathbf{r}_i)|^2}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{R}_I|} d\mathbf{r}_i \\ &+ \frac{1}{2} \sum_i \sum_{i \neq j} \int \int \frac{|\psi_i(\mathbf{r}_i)|^2 |\psi_j(\mathbf{r}_j)|^2}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|} d\mathbf{r}_i d\mathbf{r}_j. \end{aligned} \quad (3.77)$$

Para minimizar este funcional del conjunto $\{\psi_i(\mathbf{r}_i)\}$, con respecto a cada uno de los elementos, se construye el sistema de ecuaciones de Euler-Lagrange, con la restricción:

$$\sum_i \sum_j \lambda_{ij} (\langle \psi_i(\mathbf{r}) | \psi_j(\mathbf{r}) \rangle - \lambda_{ij}), \quad (3.78)$$

para asegurar que el conjunto de orbitales sea ortonormal, los λ_{ij} son los multiplicadores indeterminados. Al aplicar el método variacional a la ecuación (3.77), con la restricción impuesta por la ecuación (3.78), se obtiene la i -ésima ecuación de Euler-Lagrange:

$$\left\{ -\frac{1}{2} \nabla_i^2 + \sum_I \frac{Z_I}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{R}_I|} + \sum_{i \neq j} \frac{|\psi_j(\mathbf{r}_i)|^2}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|} d\mathbf{r}_j \right\} \psi_i(\mathbf{r}_i) + \sum_j \lambda_{ij} \psi_j(\mathbf{r}_i) = 0. \quad (3.79)$$

Por medio de una transformación unitaria se puede transformar este conjunto de ecuaciones de forma que se pueda diagonalizar la matriz de los λ_{ij} para obtener finalmente las ecuaciones de Hartree:

$$\underbrace{\left\{ -\frac{1}{2} \nabla_i^2 + \sum_I \frac{Z_I}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{R}_I|} + \sum_{i \neq j} \frac{|\psi_j(\mathbf{r}_i)|^2}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|} d\mathbf{r}_j \right\}}_{\hat{h}'_i} \psi_i(\mathbf{r}_i) = \epsilon_i \psi_i(\mathbf{r}_i), \quad (3.80)$$

que es justamente la ecuación de autovalores del hamiltoniano electrónico (3.75). La expresión para la energía total de (3.76) es:

$$E = \sum_i \epsilon_i - \frac{1}{2} \sum_i \sum_{j \neq i} \int \int \frac{|\psi_i(\mathbf{r}_i)|^2 |\psi_j(\mathbf{r}_j)|^2}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|} d\mathbf{r}_i d\mathbf{r}_j, \quad (3.81)$$

donde del último término se resta, debido a que en la suma de autovalores se cuenta dos veces.

Las ecuaciones (3.80) y (3.81) son las ecuaciones de Hartree para el cálculo de energías de átomos. El conjunto de ecuaciones (3.81) se deben resolver de manera iterativa, debido a los orbitales que intervienen en el término de interacción electrónica del hamiltoniano, hasta lograr que la energía o alguna otra propiedad no cambie hasta un valor dado entre dos iteraciones sucesivas. Este proceso se denomina autoconsistencia.

Hasta ahora las aproximaciones realizadas, para llegar a este conjunto de ecuaciones, consideran a la función de onda, del conjunto de electrones interactuantes, como un producto de funciones de onda de un electrón y no se tiene en cuenta el principio de exclusión de Pauli (la función de onda no es antisimétrica con respecto al intercambio de las coordenadas de dos electrones, y de momento se ha ignorado el efecto del intercambio entre los electrones). Además el producto de funciones de onda, de un electrón, es válido sólo para un sistema de electrones independientes (se ha despreciado la correlación entre los electrones, que lejos de ser independientes interactúan en un potencial coulombico). A pesar de haber tenido en cuenta, de forma promediada, esta interacción, el hamiltoniano no contiene explícitamente las coordenadas de los demás electrones. Entonces la energía de Hartree tiene un error, con respecto a la energía real del sistema, que se denomina: Energía de correlación e intercambio (E_{xc}). También se ha omitido la necesidad de desarrollar los orbitales en algún tipo de base, que en principio debe ser un conjunto completo de alguna especie, sin embargo, en la práctica es imposible trabajar con bases de dimensión infinita, por lo que el conjunto no es completo. Este hecho introduce un nuevo error en las energías.

3.2.4 Funciones Monodeterminantales (El método Hartree-Fock)

Hartree introdujo un método, que posteriormente Fock y Slater modificaron para incluir los términos de intercambio (la consideración de las funciones antisimétricas), lo que derivó en el método Hartree-Fock.

Hartree intenta obtener un operador monoeléctrico, ya que parte de funciones que son producto de funciones monoeléctricas, (Modelo de Partículas Independientes)

$$\Psi = \phi_1(r_1)\phi_2(r_2) \cdots \phi_n(r_n), \quad (3.82)$$

que no tienen por que ser funciones hidrogenoides (en general son combinaciones de funciones de Slater o gaussianas), e introduce el modelo de "nube de carga" para el orbital atómico (distribución de carga, densidad de carga), donde para el electrón definido por un orbital ϕ_j , considera que se comporta como si se tuviera una carga distribuida en el espacio de acuerdo con la probabilidad de encontrar al electrón:

$$dq_j = \phi_j^*(r)\phi_j(r)d\tau \quad (3.83)$$

y la densidad de carga:

$$\rho_j = \int \phi_j^*(\mathbf{r})\phi_j(\mathbf{r})d\mathbf{r} \quad (3.84)$$

Entonces la energía potencial del electrón i en el campo del electrón j es:

$$E_{p_i}^j = e \int_V \frac{\phi_j(r_j)\phi_j(r_j)}{r_{ij}} d\tau_j = V_{ij}^{effect} \quad (3.85)$$

el potencial efectivo de un electrón (i) que se mueve en el campo de muchos electrones:

$$V_i^{effect} = \sum_{j \neq i}^n \int \frac{\phi_j \phi_j}{r_{ij}} d\mathbf{r}_j = \sum_{j \neq i}^n \mathbf{J}_j(\vec{r}_i) \quad (3.86)$$

entonces se tiene un nuevo hamiltoniano H^H :

$$H^H = \sum_{i=1}^n h_i \quad / h_i = h_i^0 + V_i^{effect} = h_i^0 + \sum_{j \neq i}^n \mathbf{J}_j(\vec{r}_i), \quad (3.87)$$

$$h_i^0 = -\frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_k^{n_n} \frac{Z_k}{r_{ik}}, \quad (3.88)$$

que no es el real del sistema, pero tiene la ventaja respecto al no perturbado H^0 que considera, de alguna manera, las repulsiones interelectrónicas.

Los electrones son partículas indistinguibles y sus funciones tienen que ser anti-simétricas, entonces se considera la función de onda de Slater, que cumple con estas condiciones.

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{n!}} | \phi_1 \phi_2 \dots \phi_n |, \quad (3.89)$$

donde los ϕ_i son funciones espín-orbital.

La expresión de la energía, para un sistema de capa cerrada, se define por la función:

$$\Psi = \frac{1}{\sqrt{n!}} | \phi_1(1) \overline{\phi_1(2)} \phi_2(3) \overline{\phi_2(4)} \dots \phi_{n/2}(n-1) \overline{\phi_{n/2}(n)} |, \quad (3.90)$$

que se representa por la expresión:

$$E = 2 \sum_{i=1}^{n/2} \epsilon_i^0 + \sum_{i=1}^{n/2} \sum_{j=1}^{n/2} 2J_{ij} - K_{ij} = 2 \sum_{i=1}^m \epsilon_i^0 + \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^m 2J_{ij} - K_{ij} \quad (3.91)$$

donde

$$\epsilon_i^0 = \langle \phi_i(\mu) h_\mu^0 \phi_i(\mu) \rangle \quad (3.92)$$

$$J_{ij} = \langle \phi_i(\mu) \phi_i(\mu) \frac{1}{r_{\mu\nu}} \phi_j(\nu) \phi_j(\nu) \rangle$$

(3.93)

$$K_{ij} = \langle \phi_i(\mu) \phi_j(\mu) \frac{1}{r_{\mu\nu}} \phi_j(\nu) \phi_i(\nu) \rangle$$

(3.94)

además, se tienen que :

$$0 < K_{ij} \leq J_{ij}. \quad (3.95)$$

Aquí aparecen las integrales de Coulomb (J_{ij}) y las de intercambio K_{ij} .

Al aplicar el método variacional ($\frac{\partial \langle E \rangle}{\partial \phi_i} = 0$) se llega a un conjunto de ecuaciones de pseudoautovalores monoeléctricas:

$$\{\hat{F}_i \phi_i = \epsilon_i \phi_i\} \quad (3.96)$$

donde \hat{F}_i el operador de Fock es:

$$\hat{F}_i = \hat{h}_i^0 + \sum_{j=1}^{n/2} (\hat{J}_j(i) - \hat{K}_j(i)) \quad (3.97)$$

tal que

$$\hat{h}_i^0 = -\frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_k^{n_n} \frac{Z_k}{r_{ik}} \quad (3.98)$$

$$\hat{J}_j(i) \phi_i(\mu) = \phi_i(\mu) \int \frac{\phi_j(1) \phi_j(1)}{r_{\mu 1}} d\mathbf{r}_1 \quad (3.99)$$

$$\hat{K}_j(i) \phi_i(\mu) = \phi_j(\mu) \int \frac{\phi_j(1) \phi_i(1)}{r_{\mu 1}} d\mathbf{r}_1 \quad (3.100)$$

y ϵ_i es la energía HF del orbital iesimo:

$$\epsilon_i = \langle \phi_i | \hat{F}_i | \phi_i \rangle = \epsilon_i^0 + \sum_{j=1}^{n/2} 2J_{ij} - K_{ij} \quad (3.101)$$

Para sistemas de capa abierta, la formulación más utilizada es la UHF de Pople y Nesbet, donde se tienen dos conjuntos de ecuaciones, uno por cada espín:

$$\{F_\alpha \phi_i^\alpha = \epsilon_i^\alpha \phi_i^\alpha\} \quad (3.102)$$

$$\{F_\beta \phi_i^\beta = \epsilon_i^\beta \phi_i^\beta\} \quad (3.103)$$

donde F_α y F_β dependen de los orbitales ocupados α y β .

$$F_\alpha = h + \sum_{i_\alpha}^{N_\alpha} J_{i_\alpha} + \dots \dots \alpha^{N_\beta} J_{i_\beta} - \sum_{i_\alpha}^{N_\alpha} K_{i_\alpha} \quad (3.104)$$

$$F_\beta = h + \sum_{i_\alpha}^{N_\alpha} J_{i_\alpha} + \dots \dots \beta^{N_\beta} J_{i_\beta} - \sum_{i_\beta}^{N_\beta} K_{i_\beta} \quad (3.105)$$

Según se trate el sistema como de capa cerrada o abierta, y dependiendo de la distribución de espines se tienen tres soluciones restricted (RHF o ROHF) o unrestricted (UHF).

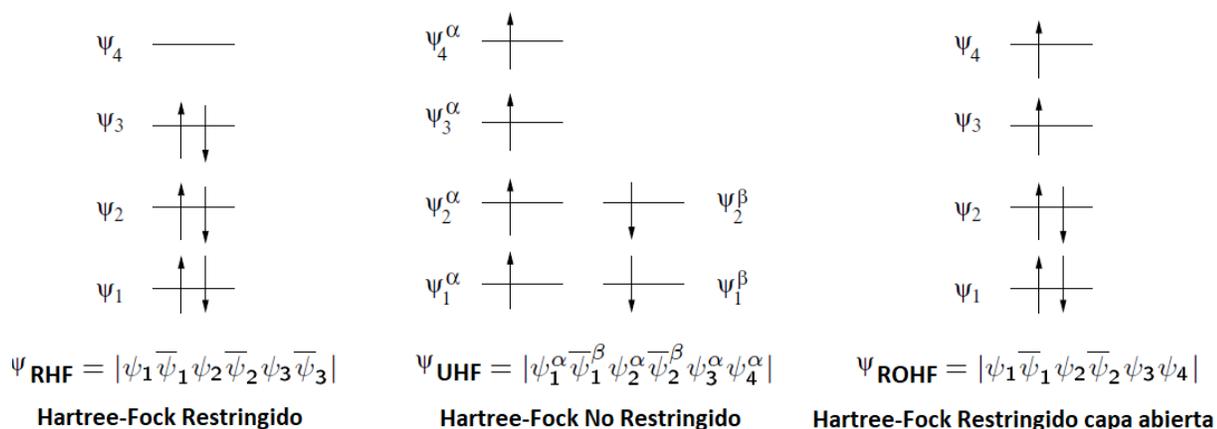


FIGURA 3.10: Soluciones para sistemas de capa abierta o cerrada.

Al fijar la parte de espín de los espín-orbitales, tanto la energía como las ecuaciones de Fock para los tres métodos se expresan en términos de los orbitales. Es frecuente expresar los orbitales como una combinación lineal de funciones de base, de manera que las ecuaciones adoptan una forma matricial, lo que facilita su implementación y resolución mediante programas de cómputo.

3.2.5 Conjuntos de funciones de base.

El método de Hartree-Fock se puede extender a moléculas poliatómicas si los orbitales moleculares se expresan como combinaciones lineales de un conjunto de funciones de base:

$$\phi_i = \sum_{\mu=1}^m c_{i\mu} \chi_{\mu} \quad (3.106)$$

donde los coeficientes $c_{i\mu}$ son los coeficientes de la expansión del orbital molecular. En general las funciones de base χ_{μ} están centradas en los átomos, y se les denomina orbitales atómicos del método de la combinación lineal de orbitales atómicos (LAOC).

Cuando m tiende al infinito se alcanza el límite de base completa y el orbital obtenido no es un orbital aproximado. Sin embargo, en los cálculos m es finito y representa un orbital aproximado. La selección de las funciones de base tiene como condición que los orbitales deben ser físicamente adecuados y que las integrales del método HF deben ser poco costosas de integrar. Los dos tipos de orbitales son tipo Slater (STO) y tipo Gaussian (GTO).

Orbitales de Slater (STO).

$$\chi_{nlm}^{STO} = N_{\zeta} r^{n-1} e^{-\zeta r} Y_l^{m_l} \quad (3.107)$$

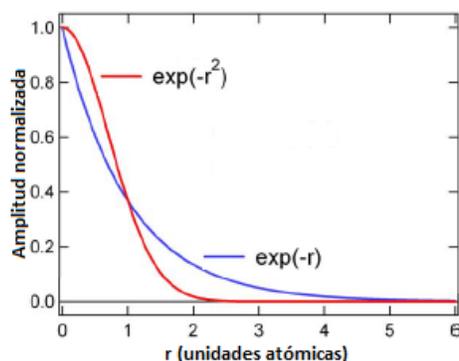
donde ζ es un parámetro que se puede determinar variacionalmente y N_ζ la constante de normalización.

La forma de la dependencia exponencial, con la distancia, es similar a un orbital hidrogenoide. De hecho cuando $\zeta = 1$ coincide con los orbitales hidrogenoides 1s, 2p y 3d. Tienen la desventaja de que a diferencia de los orbitales hidrogenoides, la forma del término polinomial en r supone que los orbitales no son ortogonales, ya que no presentan nodos en la función de distribución radial y que las integrales bielectrónicas son computacionalmente muy costosas de evaluar. Se utilizan en cálculos precisos de sistemas atómicos y diatómicos y en métodos semiempíricos.

Orbitales gaussianos (GTO).

$$g_{nlm}^{GTO} = N_\alpha r^{n-1} e^{-\alpha r^2} Y_l^{m_l} \quad (3.108)$$

donde α es un parámetro que se puede determinar variacionalmente y N_α la constante de normalización.



La diferencia en el término exponencial produce importantes diferencias respecto de un orbital de Slater que tampoco son ortogonales.

Un orbital de Slater se puede representar como una combinación lineal de gaussianas GTO (primitivas).

$$CGTO \quad \chi_{nlm}^{CGTO} = \sum_{p=1}^L d_p g_p^{GTO} \quad (3.109)$$

$$GTO \quad g_{nlm}^{GTO} = N_\alpha r^{n-1} e^{-\alpha r^2} Y_l^{m_l} \quad (3.110)$$

En general, los coeficientes de la combinación lineal (o contracción) de un orbital de tipo CGTO se determinan en cálculos atómicos y sus valores se mantienen fijos en el cálculo molecular.

GTO en coordenadas cartesianas.

$$g_{\alpha,n,l_x,l_y,l_z}^{GTO}(x,y,z) = N_{\alpha} x^{l_x} y^{l_y} z^{l_z} r^{2n-2-l} e^{-\alpha r^2} \quad (3.111)$$

En coordenadas cartesianas, la dependencia angular de los GTO se computa a partir de la suma l_x, l_y y l_z ($l_x + l_y + l_z = 1$, orbital tipo p).

Hay seis orbitales de tipo $d(x^2, y^2, z^2, xy, xz, yz)$. Estas pueden expresarse en coordenadas polares como cinco armónicos esféricos de tipo $d(l = 2)$ y una función extra de tipo $s(x^2 + y^2 + z^2)$.

Hay 10 orbitales de tipo f que pueden transformarse en 7 orbitales f puros y 3 funciones de tipo p.

Tipos de bases CGTO. Base mínima. Se utiliza una función de la base por cada orbital atómico ocupado en el estado fundamental del átomo correspondiente. Consta de un GTO para cada orbital atómico de capa interna y de capa de valencia de cada átomo.

Bases extendidas. Base doble zeta. se obtiene reemplazando cada GTO de una base mínima por dos GTO que difieren en sus exponentes orbitales zeta (ζ). Un tipo especial de este tipo de bases son las bases extendidas de valencia en las que los orbitales internos se describen con una única función y los orbitales de valencia se presentan mediante más de una función.

- **6-31G** es el orbital interno se representa mediante una función de seis gaussianas, y los orbitales de valencia por dos funciones de 3 gaussianas y otra de 1 gaussiana.
- **6-311G** es el orbital interno se representa mediante una función de seis gaussianas, y los orbitales de valencia por tres funciones de 3 gaussianas, 1 gaussiana y 1 gaussiana respectivamente.

Funciones polarizadas. Incluyen funciones de polarización (funciones correspondientes a un número cuántico angular superior) para poder describir correctamente los cambios de densidad electrónica de un átomo en su entorno molecular. Las funciones de polarización suelen estar descritas mediante una sola gaussiana.

- **6-31G(d)** es como la base 6-31G pero añadiendo un conjunto de funciones de tipo d para los átomos del segundo periodo. Esta notación equivale a 6-31G*
- **6-31G(d,p)** es como la base 6-31G pero añadiendo un conjunto de funciones de tipo d para los átomos del segundo periodo, y un conjunto de orbitales p para los hidrógenos. Esta notación equivale a 6-31G**

Funciones difusas. Estas funciones tienen el mismo número cuántico angular que las funciones de la capa de valencia pero son más extendidas en el espacio, es decir, son funciones gaussianas con exponentes pequeños. Estas funciones son especialmente importantes en sistemas en los que la distribución electrónica expandida, como en los aniones.

- **6-31+G** es como la base 6-31G pero una función difusa s y p a los átomos pesados ($Z > 2$).
- **6-31++G** es como la base 6-31+G pero añadiendo también una función difusa a los átomos de hidrógeno.

3.2.6 Teoría del funcional de la densidad (DFT)

La solución directa de la ecuación de Schrödinger no es viable para sistemas conformados por un gran número de partículas, lo que motiva al desarrollo de la teoría del funcional de la densidad (DFT), que se basa en la premisa de que la energía de un sistema poliatómico se puede calcular directamente a partir de la densidad electrónica y no necesariamente a partir de las funciones de onda ya que considera a la densidad electrónica como un funcional. El operador hamiltoniano está conformado por las interacciones, entre el núcleo y un solo electrón, y las interacciones entre dos electrones, esto se refleja en operadores que solo participan en las coordenadas de uno o dos electrones. Entonces, para calcular la energía total, solo se requiere conocer la densidad de probabilidad de dos partículas (la probabilidad de encontrar un electrón en r_1 y un electrón en r_2) simultáneamente, en vez de conocer la función de onda en tres dimensiones como en el método de Hartree-Fock. Antes de hacer el análisis de funciones de energía de correlación e intercambio es pertinente considerar métodos que usen matrices de densidad reducida, en lugar de la densidad electrónica [35]. Primero se define el operador matriz densidad γ_N como el cuadrado de la función de un sistema de N electrones:

$$\gamma_N = \Psi(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_N) \Psi^*(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_N) \quad (3.112)$$

Entonces la matriz reducida de orden p se define como:

$$\gamma_p(\mathbf{r}'_1, \mathbf{r}'_2, \dots, \mathbf{r}'_p; \mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_N) \equiv \binom{N}{p} \int \dots \int \psi^*(\mathbf{r}'_1, \mathbf{r}'_2, \dots, \mathbf{r}'_p, \mathbf{r}_{p+1}, \dots, \mathbf{r}_N) \Psi(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_N) d\mathbf{r}_{p+1} \dots d\mathbf{r}_N \quad (3.113)$$

donde $\binom{N}{p} = \frac{N!}{p!(N-p)!}$. Al integrar con respecto a las coordenadas de espín se obtiene la matriz densidad reducida de segundo orden:

$$p_2(\mathbf{r}'_1, \mathbf{r}'_2; \mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2) = \frac{N(N-1)}{2} \int \psi^*(\mathbf{r}'_1, \mathbf{r}'_2, \dots, \mathbf{r}'_N) \Psi(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_N) d\mathbf{r}_3, d\mathbf{r}_4, \dots, d\mathbf{r}_N \quad (3.114)$$

donde se debe integrar desde r_3 hasta r_N y $y = \frac{N(N-1)}{2}$ son los números de pares de electrones que se pueden formar para un valor deseado de N . La integral es la probabilidad de encontrar un electrón en la posición r_1 y otro electrón en la posición r_2 , y el prefactor $N_{elec}(N_{elec} - 1)$ garantiza que ρ_2 se integre en el número de pares de electrones. Al integrar sobre r_1 y r_2 se obtienen los elementos diagonales de p_2 (densidad de pares):

$$p_2(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2) = p_2(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2; \mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2) = \frac{N(N-1)}{2} \quad (3.115)$$

es la función de probabilidad que se requiere para determinar completamente los dos operadores de partículas y se debe cumplir que $p_2(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2) = 0$ por el principio de exclusión de Pauli.

Aquí solo los elementos diagonales de la matriz tienen significado físico

$$p_2(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2; \mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2) = p_2(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2) \quad (3.116)$$

y la traza da el número total de pares de electrones

$$tr p_2 = \int p_2(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2; \mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2) d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2 = \int p_2(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2) d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2 = \frac{N(N-1)}{2} \quad (3.117)$$

La matriz densidad de primer orden se representa por:

$$p_1(\mathbf{r}'_1, \mathbf{r}_1) = N \int \Psi^*(\mathbf{r}'_1, \mathbf{r}'_2 \dots, \mathbf{r}'_N) \Psi(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_N) d\mathbf{r}_2 d\mathbf{r}_3 \dots, d\mathbf{r}_N \quad (3.118)$$

Al integrar con respecto a la coordenada de espín r_1 se obtiene la matriz densidad reducida de primer orden:

$$\int p_1(\mathbf{r}_1) = N \int \Psi^*(\mathbf{r}'_1, \mathbf{r}'_2 \dots, \mathbf{r}'_N) \Psi(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_N) d\mathbf{r}_2 d\mathbf{r}_3 \dots, d\mathbf{r}_N = N \quad (3.119)$$

que representa el número de electrones contenidos en un elemento de volumen $d\mathbf{r}_1$. La matriz densidad de primer orden en términos de p_2 se obtiene de la siguiente manera:

$$\int \int p_2(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2; \mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2) d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2 = \frac{N(N-1)}{2} \quad (3.120)$$

$$\Rightarrow N = \frac{2}{N-1} \int \int p_2(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2; \mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2) d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2 \quad (3.121)$$

$$\text{pero } p_1(\mathbf{r}'_1, \mathbf{r}_1) d\mathbf{r}_1 = N$$

$$\Rightarrow p_1(\mathbf{r}'_1, \mathbf{r}_1) = \frac{2}{N-1} \int \int p_2(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2; \mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2) d\mathbf{r}_2 \quad (3.122)$$

Los elementos de la matriz no tienen significado físico, sin embargo la diagonal coincide con la densidad electrónica, y la traza (suma de los elementos de la diagonal) de el número total de electrones.

$$\text{tr}(p_1) = \int p_1(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_1) d\mathbf{r}_1 = N \quad (3.123)$$

Si se conocen ρ_1 (ecuación 3.119) y ρ_2 (ecuación 3.115), la energía total se puede determinar de manera exacta:

$$E = \text{tr}(\hat{H}\hat{\rho}) = \int \left[\left(-\frac{1}{2}\nabla_1^2 - \sum_{\alpha} \frac{Z_{\alpha}}{|\mathbf{r}_1 - \mathbf{R}_{\alpha}|} \right) \rho_1(\mathbf{r}'_1, \mathbf{r}_1) \right]_{\mathbf{r}_1=\mathbf{r}'_1} d\mathbf{r}_1 + \int \frac{\rho_2(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2)}{|\mathbf{r}_1 - \mathbf{r}_2|} d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2 \quad (3.124)$$

Se concluye que los elementos diagonales de las matrices de densidad de primer y segundo orden determinan completamente la energía total, con lo que no se requiere resolver completamente la ecuación de Schrödinger para Ψ , y solo es suficiente determinar ρ_1 y ρ_2 y el problema en un espacio de coordenadas $3N$ se reduce a un problema en un espacio de 6 dimensiones. Sin embargo la ecuación 3.124 no garantiza ser un método confiable para calcular la energía total sin tener que recurrir al cálculo de la función de onda de muchos cuerpos, ya que la minimización directa de la energía, dependiente de ρ_1 y ρ_2 no asegura que las matrices de densidad sean válidas, pues deben construirse a partir de una función asimétrica. La imposición de esta restricción no es trivial y actualmente no está resuelto este problema [6,7]. Afortunadamente no es necesario recurrir a la matriz de densidad de segundo orden ρ_2 para encontrar la energía, ya que la teoría del funcional de la densidad asegura que la energía del estado fundamental está completamente determinada por los elementos diagonales de la matriz de densidad de primer orden, esto es, la densidad de carga. En 1964, Hohenberg y Kohn demostraron dos teoremas [8]:

Primer teorema: Para cualquier sistema de partículas interactuantes, en presencia de un potencial externo, el potencial se determina, excepto por una constante, por la densidad del estado base. Esto quiere decir que la densidad determina el potencial externo (excepto por una constante), entonces la densidad electrónica también determina el hamiltoniano, ya que el hamiltoniano se especifica por el potencial externo y el número total de electrones N . Además, la densidad electrónica determina, de manera única, las posiciones y cargas de los núcleos. Por tanto la densidad determina al hamiltoniano, debido a que la densidad tiene una cúspide en el núcleo.

Las posiciones r de los electrones, donde la densidad presenta máximos, casi siempre coinciden con las posiciones R_{α} de los núcleos, en éstos puntos es donde una densidad electrónica $\rho(\mathbf{r})$ satisface la condición de cúspide electro-nuclear tipo Kato:

$$\rho(\mathbf{r}) \approx e^{-Z_{\alpha}r} \Rightarrow -\frac{1}{2Z_{\alpha}} \frac{d\rho(\mathbf{r})}{d\mathbf{r}} \Big|_{r=0} = 1 \quad (3.125)$$

$$\Rightarrow \lim_{r \rightarrow R_{\alpha}} \left[\left(\frac{\partial}{\partial r} + 2Z_{\alpha} \right) \rho_{prom}(\mathbf{r}) \right] = 0 \quad (3.126)$$

donde $\rho_{prom}(\mathbf{r}) = \frac{1}{4\pi} \int d\theta d\phi \rho(r, \theta, \phi)$ es el promedio sobre los ángulos de la densidad electrónica

$$\frac{\partial \rho(\mathbf{r})}{\partial r} + 2Z_\alpha \rho_{prom}(\mathbf{r}) = 0$$

$$2Z_\alpha \rho_{prom}(\mathbf{r}) = -\frac{\partial \rho(\mathbf{r})}{\partial r} \quad (3.127)$$

$$Z_\alpha = \frac{-1}{2\rho_{prom}(\mathbf{r})} \left[\frac{\partial \rho(\mathbf{r})}{\partial r} \right]$$

$$\Rightarrow Z_\alpha = \frac{-1}{2\rho_0(\mathbf{r}_\alpha)} \left[\frac{\partial \rho(\mathbf{r})}{\partial r_\alpha} \right] \quad (3.128)$$

De la discusión anterior se puede concluir que la energía es funcional de la densidad.

Segundo teorema: Para cualquier densidad de prueba, del mismo sistema, definida positiva $\rho_t \neq \rho_0$ diferente de la densidad del estado fundamental

$$E[\rho_t] \geq E[\rho_0] \quad (3.129)$$

- con la restricción: $\int \rho_t(\mathbf{r}) d(\mathbf{r}) = N$

Del segundo teorema se sabe que $E[\rho]$ tiene un mínimo para la ρ_0 , cumpliendo $N = \int d(\mathbf{r}) \rho_t(\mathbf{r})$, lo que conduce a la afirmación fundamental de la DFT:

$$E[\rho] - \mu \left(\int d(\mathbf{r}) \rho_t(\mathbf{r}) - N \right) \quad (3.130)$$

- donde μ es el potencial químico e indica la variación de la energía con respecto a la densidad $\mu = \frac{\partial G}{\partial \rho}$ ó $\mu = \frac{\partial E[\rho]}{\partial \rho(\mathbf{r})}$

$$\delta \left[E[\rho] - \mu \left(\int d(\mathbf{r}) \rho_t(\mathbf{r}) - N \right) \right] = 0 \quad (3.131)$$

Entonces debe existir una energía funcional universal $E[\rho]$ que no depende del potencial externo que, si se conociera su forma, se podría insertar en la ecuación 3.131 para que al minimizarla se obtenga la densidad y energía exactas del estado fundamental. La pregunta que surge obligadamente es: ¿Como se construye el funcional $E[\rho]$?

De la forma de la ecuación de schrödinger se puede ver que el funcional de energía está compuesto por:

- Energía cinética
- Interacción con el potencial externo
- Intercación electrón-electrón

de donde el funcional $E[\rho]$ se puede representar como:

$$E[\rho] = T[\rho] + V_{ext}[\rho] + V_{ee}[\rho] \quad (3.132)$$

- donde $V_{ext}[\rho] = \int \hat{V}_{ext}(\rho) d\mathbf{r}$
- pero $T[\rho]$ y $V_{ee}[\rho]$ no son conocidos

Entonces, si se conocieran buenas aproximaciones a estos funcionales se podría hacer una minimización directa de la energía.

Kohn y Sham introducen un sistema ficticio de N electrones, no interactuantes, que se describen en una función de onda como determinante único en N orbitales ϕ_i , y la densidad $\rho(\mathbf{r}) = \sum_i^N |\phi_i|^2$ se puede construir a partir de una función Ψ atisimétrica.

En este sistema, T y V_{ee} se conocen exactamente de los orbitales ϕ_i

$$T_s[\rho] = -\frac{1}{2} \sum_i^N \langle \phi_i | \nabla^2 | \phi_i \rangle \quad (3.133)$$

- el subíndice (s) indica que no es la verdadera energía cinética (sistema de electrones que no interactúan, pero que reproducen la densidad del estado fundamental verdadero) $\langle \phi_i | \nabla^2 | \phi_i \rangle = \int \phi_i^* \nabla^2 \phi_i d\tau$.

Se sabe que una componente de la V_{ee} es la interacción de Coulomb o energía de Hatree:

$$\left(\frac{1}{2} \sum_{ij}^N \int \frac{\phi_i^*(\mathbf{r}_1) \phi_i(\mathbf{r}_1) \phi_j^*(\mathbf{r}_2) \phi_j(\mathbf{r}_2)}{|\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_j|} d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2 \right) \quad (3.134)$$

que escrito en términos de la densidad queda como:

$$V_H[\rho] = \frac{1}{2} \int \frac{\rho(\mathbf{r}_1) \rho(\mathbf{r}_2)}{|\mathbf{r}_1 - \mathbf{r}_2|} d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2 \quad (3.135)$$

con lo que la ecuación 3.132 se puede reorganizar como:

$$E[\rho] = T[\rho] + V_{ext}[\rho] + V_H[\rho] + E_{xc}[\rho] \quad (3.136)$$

- donde se introduce $E_{xc}[\rho]$ que es la suma del error en el uso de la energía cinética que no interactúa y el error en el tratamiento clásico de V_{ee}

Ahora al escribir la ecuación 3.132 en términos de:

$$\rho(\mathbf{r}) = \sum_i^N |\phi_i|^2 \quad (3.137)$$

y aplicando el teorema variacional (ecuación 3.131) $\delta [E[\rho] - \mu(\int d(\mathbf{r}) \rho_t(\mathbf{r}) - N)] = 0$, se llega a que los orbitales que minimizan la energía satisfacen las ecuaciones de Kohn y Sham:

$$\left[-\frac{1}{2} \nabla^2 + v_{ext}(\mathbf{r}) + \int \frac{\rho(\mathbf{r}')}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|} d\mathbf{r}' + v_{xc}(\mathbf{r}) \right] \phi_i(\mathbf{r}) = \epsilon_i \phi_i(\mathbf{r}) \quad (3.138)$$

- donde se introduce un potencial multiplicativo local:

$$v_{xc}(\mathbf{r}) = \frac{\delta E_{xc}[\rho]}{\delta \rho} \quad (3.139)$$

- que es la derivada funcional de la energía de correlación e intercambio con respecto a la densidad.

La dificultad fundamental en la DFT reside en encontrar expresiones adecuadas para $E_{xc}[\rho]$. Pero de asumirse que el funcional se conoce, entonces la solución es muy similar a la del método de Hartree-Fock, es decir, se debe determinar el conjunto de orbitales ϕ_i que minimicen la energía, con la condición de que éstos sean ortogonales. Las ecuaciones que resultan son las denominadas ecuaciones de Kohn-Sham:

$$\hat{h}_{KS}\phi_i = \left[-\frac{1}{2}\nabla^2 + \hat{V}_{ef} \right] \phi_i = \epsilon_i \phi_i \quad (3.140)$$

$$\hat{V}_{ef} = \hat{V}_{en} + 2 \sum_{i=1}^N \hat{J}_i + \hat{V}_{xc}[\rho] \quad (3.141)$$

donde \hat{V}_{ef} es un potencial efectivo que incluye el potencial de atracción electrón-núcleo \hat{V}_{en} , el potencial de repulsión electrón-electrón clásico, y el potencial de correlación e intercambio ecuación (3.139). Dado que \hat{V}_{ef} depende de la densidad electrónica total, la determinación de los orbitales ϕ_i se debe realizar de forma iterativa. Si se conociera exactamente $E_{xc}[\rho]$, la solución de estas ecuaciones encontraría la energía exacta del estado fundamental de un sistema, incluyendo también toda la correlación electrónica. Los métodos del funcional de la densidad incluyen la correlación electrónica a diferencia del método de Hartree-Fock, aunque de forma aproximada porque el funcional no es el exacto, pero el costo es muy similar en ambos casos. Las ecuaciones de Kohn-Sham se convierten en las ecuaciones de Hartree-Fock cuando:

$$\hat{V}_{xc}(\rho) = - \sum_{i=1}^N \hat{K}_i \quad (3.142)$$

El conjunto de ecuaciones de Kohn-Sham describe el comportamiento de los electrones, que no interactúan, en un potencial local efectivo, entonces se logra una correspondencia exacta con la densidad y la energía del estado fundamental de un sistema de fermiones, no interactivos y el sistema de muchos cuerpos "real", descrito por la ecuación de Schrödinger. Esta correspondencia solo es exacta si se conoce la funcionalidad exacta.

Para determinar las propiedades exactas de la funcionalidad universal en varios sistemas, se desarrollan y utilizan aproximaciones de la funcionalidad.

Se han desarrollado distintos tipos de funcionales, tanto para el término de correlación como para el de intercambio, que se pueden agrupar según las aproximaciones que se realizan para estimar una fórmula final para $E_{xc}[\rho]$.

Aproximación de la Densidad Local (LDA). El término $E_{xc}[\rho]$ se separa en dos contribuciones:

$$E_{xc}[\rho] = E_x[\rho] + E_c[\rho] \quad (3.143)$$

donde $E_c[\rho]$ es la energía de correlación y $E_x[\rho]$ es la energía de intercambio.

LDA asume que el funcional sólo depende de la densidad, tratada como la de un gas uniforme de electrones. La energía de intercambio de un gas uniforme de electrones se denota por la fórmula de Dirac:

$$E_x^{LDA}[\rho] = -\frac{3}{2} \left(\frac{3}{4\pi} \right) \int \rho^{4/3}(r) dr \quad (3.144)$$

Aproximación de gradiente generalizado. El modelo del gas uniforme de electrones es una referencia muy simplificada para ser utilizada en un sistema molecular. Para corregir las deficiencias de LDA, el funcional de correlación e intercambio $E_{xc}[\rho]$ se debe determinar considerando un sistema de referencia más sofisticado donde las energías de correlación e intercambio dependan no sólo de la densidad ρ , sino también del módulo del gradiente de la densidad $|\nabla\rho|$. La incorporación de estas correcciones de gradiente da lugar a los llamados métodos de gradiente generalizado (GGA). Cabe señalar que una simple expansión de Taylor no mejora los resultados LDA. Se deben usar distintas formas del funcional que sean más apropiadas. En general, estos métodos parten del funcional LDA añadiendo términos de corrección de gradiente.

- Funcional intercambio $E_x[\rho]$ (Becke 1991 (B))
- Funcional de correlación $E_c[\rho]$ (Perdew y Wang 1991 (PW91) Lee, Yang y Parr (LYP))

Funcionales híbridos. Los métodos de funcionales híbridos incorporan parte de la energía de intercambio exacta de Hartree-Fock (E_x^{HF}) en el funcional de intercambio. El más utilizado estos funcionales es el propuesto por Becke (B3) en 1993:

$$E_{xc}^{B3} = E_x^{LDA} + a_0(E_x^{HF} - E_x^{LDA}) + a_x\Delta E_x^B + E_c^{LDA} + a_c\Delta E_c^{PW91} \quad (3.145)$$

donde a_x , a_0 y a_c son tres coeficientes que se obtienen a partir de un ajuste a datos experimentales termodinámicos. El funcional de correlación utilizado para el ajuste es el PW91. A menudo, este funcional de intercambio se combina con el funcional de correlación LYP, con lo que el método toma el nombre de B3LYP.

En muchos casos, con los funcionales GGA y los híbridos se pueden conseguir resultados con una precisión muy similar a la obtenida con métodos post-Hartree-Fock, pero con un costo computacional significativamente menor. Por ello, estos

métodos se han posicionado como una buena alternativa para estudiar sistemas con un número elevado de electrones.

CAPÍTULO 4

METODOLOGÍA

4.1 Detalles de la simulación

Los archivos de entrada para la simulación de los sistemas se generaron con Charmm-Gui (Input Generator)[36][85] para GROMACS[29]. Las simulaciones de Dinámica Molecular se realizaron con GROMACS versión 5.1 [29]. Los sistemas fueron sometidos a minimización de energía y luego se equilibró a NPT durante 1 ns a 150 K y 303 K, El acoplamiento de presión semi-isotrópico [78][77][60] se llevó a cabo utilizando el barostato Berendsen [3] para el equilibrio y el barostato Parrinello-Rahman [64] para ciclos de producción. Se realizaron simulaciones de sistemas 4.1 consistentes en 512 moléculas de POPC con un total de 68608 átomos, 22984 moléculas de agua pura con un total de 68952 átomos, y no se añadieron iones Tabla[4.1].

Tabla 4.1: Detalles del sistema

Sistema	$N_{Lipidos}$	N_{atomos}	N_{agua}	N_{atomos}	N_{iones}
POPC	512	68608	22984	68952	0

4.2 Obtención de parámetros del nuevo potencial

Para obtener los parámetros del potencial derivado, a partir de cálculos cuánticos, se generaron diferentes configuraciones de:

- Monómeros de POPC deformados

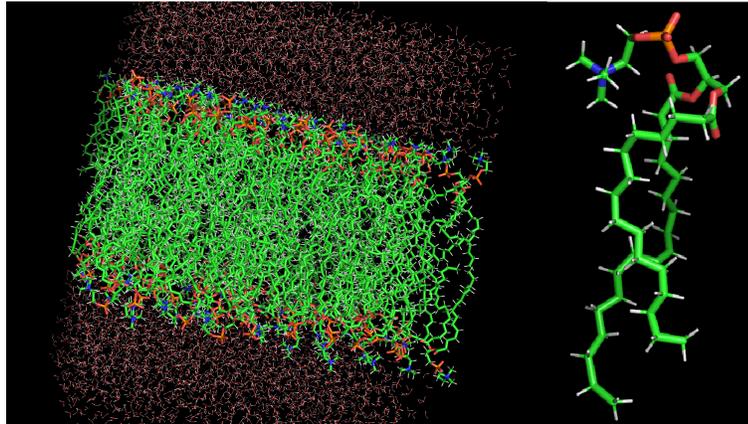


Figura 4.1: Bicapa 516 Lípidos y 22984 Agua

- Dímeros POPC-POPC
- Agregados POPC-agua

con el fin de calcular la energía de estos agregados, cuánticamente, y posteriormente intentar reproducir estas energías, mediante el potencial CHARMM36 y modificando los parámetros del mismo. Para los cálculos cuánticos se utilizó el método de funcionales de la densidad. En particular se utilizó el funcional *B3LYP*, agregando términos de dispersión con el método *GD3* de Grimme con la función de amortiguamiento *D3* [25]. Se utilizó una base doble zeta $6-31G$ para el Carbono y el Hidrogeno, y una base $6-31+G^*$ para los demás átomos. En un trabajo anterior [69] se demostró que este método da buenos resultados comparables con cálculos *MP2* en cuanto a energías de interacción relativas.

Para generar las configuraciones anteriores se realizaron simulaciones cortas de una bicapa con 128 moléculas de POPC en agua, a diferentes temperaturas (150 K y 300 K), y de una molécula de POPC en agua, también a temperaturas (150 K y 300 K).

De diferentes snapshots de estas simulaciones se extrajeron los agregados mencionados anteriormente. Para el caso de los monómeros de POPC se tomó el monómero, de mínima energía, extraído de la simulación y se hizo una optimización completa con el método ya descrito. A partir de aquí se calcularon las energías de deformación de los monómeros de POPC.

$$E_{\text{def}} = E_{\text{mon}} - E_{\text{mon opt}} \quad (4.1)$$

- E_{def} es la energía de deformación del monómero
- E_{mon} es la energía calculada con método ab initio
- $E_{\text{mon opt}}$ es la energía del monómero optimizado

Para las interacciones POPC-POPC se extrajeron dímeros de POPC de la bicapa de POPC en agua y se calculó la energía de interacción, sin corrección de Counterpoise. Esto se debe a que en un trabajo anterior [69] se demostró que este procedimiento es el que más se acerca a las energías obtenidas con métodos más refinados (*MP2*). Se obtuvo la energía de interacción definida como:

$$E_{\text{int}} = E_{\text{dim}} - 2E_{\text{mon opt}} \quad (4.2)$$

- E_{int} es la energía de interacción
- E_{dim} es la energía calculada con método ab initio
- $E_{\text{mon opt}}$ es la energía del monómero optimizado

Por último para las interacciones POPC-agua se extrajeron, de la simulación de una molécula de POPC en agua, configuraciones de POPC rodeada por un cluster de agua (alrededor de 12 moléculas) en diferentes regiones de la molécula. Este número de aguas se escogió para no incrementar demasiado el tiempo de cálculo de la energía de interacción. Después se calculó la energía de interacción del agregado como:

$$E_{\text{int}} = E_{\text{agregado}} - E_{\text{POPC opt}} - nE_{\text{agua opt}} \quad (4.3)$$

- E_{int} es la energía de interacción
- E_{agregado} es la energía total del agregado
- $E_{\text{POPC opt}}$ es la energía del POPC optimizado
- $E_{\text{agua opt}}$ es la energía de la molécula de agua optimizada
- n es el número de moléculas de agua

la molécula de agua se optimizó con el mismo método y base.

Con estos cálculos se obtuvieron superficies de energía potencial que se intentaron reproducir variando los parámetros del campo de fuerzas CHARMM36. Para ello se utilizó la subrutina VA05 que realiza un ajuste de parámetros utilizando como función de error la suma de las diferencias entre los valores calculados con el potencial y los valores obtenidos cuánticamente.

$$Error = \sum (E_{\text{pot}} - E_{\text{abi}})^2 \quad (4.4)$$

- E_{pot} es la energía calculada con el potencial
- E_{abi} es la energía calculada cuánticamente

Se tomaron como punto de partida los parámetros de Charmm36 y se utilizó el mismo programa gromacs para realizar el cálculo de las energías llamándolo como un procedimiento externo.

Con este procedimiento se obtuvo un conjunto de parámetros que se utilizaron

para la simulación número 1 con el nuevo potencial. Dado que algunos resultados no eran del todo satisfactorios se realizó un segundo ajuste donde ahora se tomaron configuraciones de la simulación número 1 y se calcularon nuevos puntos de las tres superficies de potencial, es decir, POPC deformado, energías de interacción POPC-POPC y energías de interacción POPC-agua. Con estos nuevos puntos se llegó a un total de 645 puntos para la superficie de energías de deformación, 404 puntos de energías de interacción POPC-POPC y 777 de energías de interacción POPC-agua.

4.3 Propiedades estudiadas

Para realizar la descripción de la bicapa lipídica se tomaron los resultados de las simulaciones con Charmm36, con el potencial v1 y con el potencial v2, y se calcularon las siguientes propiedades:

4.3.1 Área por lípido (A_L)

Las bicapas lipídicas se configuraron a lo largo del plano XY, con el eje Z de forma perpendicular a la membrana. El área por lípido (A_L) se define como el área de la sección transversal (A_{XY}) de todo el sistema a lo largo del plano de la superficie de la bicapa (plano XY), dividido por la mitad del número total de lípidos (N_L) presentes en la bicapa, es decir:

$$A_L = \frac{A_{XY}}{N_L/2} \quad (4.5)$$

El Área por lípido es una de las propiedades fundamentales para la descripción de la estructura de la membrana. Conocer con precisión el área lipídica es crucial para evaluar las interacciones intermoleculares que tienen lugar dentro de las biomembranas. La dinámica estructural compleja que se encuentra en las membranas implica un equilibrio de fuerzas, donde el área es el producto de estas fuerzas en la dirección lateral de el plano[32].

4.3.2 Volúmen por lípido (V_L)

El volumen por lípido V_L , para bicapas lipídicas inmersas en agua, es el dato físico más preciso que se relaciona con la estructura de la bicapa. Los resultados obtenidos por diferentes investigadores, y con diferentes métodos de medición, son muy precisos y tienen muy buen acuerdo [43]. Estos datos son muy importantes y se complementan con análisis estructural por difracción de rayos X [46].

El V_L también se obtiene fácilmente de las simulaciones de dinámica molecular (MD) y la comparación con los datos experimentales proporciona una prueba importante de los potenciales utilizados en las simulaciones [2]. El volumen por lípido (V_L) se calculó a partir del volumen total de la caja de simulación (V_{box}) como:

$$V_L = \frac{V_{box} - V_w/n_w}{N_L} \quad (4.6)$$

- V_w es el volumen por molécula de agua y se calcula a partir de la simulación de una caja de agua pura a 303 K y 1 atm
- n_w es el número de moléculas de agua

4.3.3 Módulo de compresibilidad isotérmica (K_A)

Describe la propiedad elástica de la membrana

$$K_A = \frac{K_B \langle T \rangle \langle A_L \rangle}{n'_L \sigma_A^2} \quad (4.7)$$

- K_B Cte Boltzman, $\langle T \rangle$ Temperatura promedio, n'_L Número de lípidos dividido entre dos, σ_A^2 Varianza asociada al A_L
- $\langle A_L \rangle$ es el promedio de A_L

Las bicapas de fosfolípidos, cuando se exponen a una tensión mecánica, cambian sus propiedades morfológicas, es muy común que bajo una tensión su área o curvatura superficial se deforme un poco después de una expansión desigual de las dos mitades de la bicapa, además, pueden aparecer anisotropías (diferentes características según la dirección) de curvatura local, como protuberancias o invaginaciones (plegamiento de un área de la lámina exterior de células hacia el interior) aisladas de la bicapa, en el caso de diferencia de área positiva y negativa, respectivamente [18]. La magnitud de estos efectos depende en gran medida del módulo de compresibilidad del área (isotérmica) K_A de cada bicapa lipídica, que para las fosfatidilcolinas se considera un intervalo de (180 – 900) mNm^{-1} entre las fases líquida y gel, respectivamente [12][59].

4.3.4 Grosor de bicapa (D_{HH})

La información cuantitativa más confiable que se puede obtener del perfil de densidad de electrones es el espesor de bicapa D_{HH} figura 4.2, del espaciado de grupos de cabeza (en el perfil de densidad de lípidos, es la distancia entre los dos picos.)[17]. D_{HH} es el parámetro estructural mejor determinado que proporcionan los métodos de rayos X. Otra forma de obtener el grosor de la bicapa es por medio de la dispersión de neutrones en las vesículas unilamelares[58].

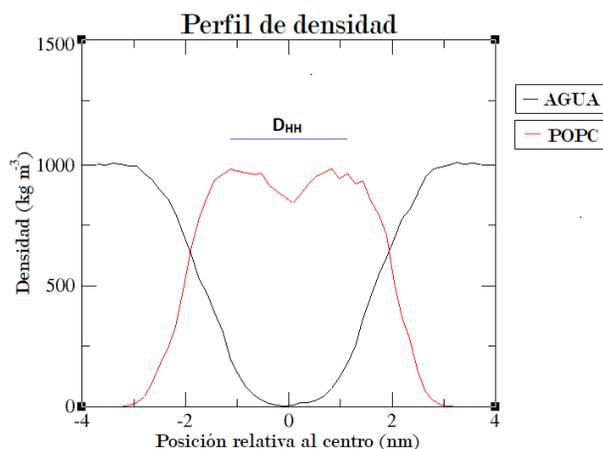


Figura 4.2: Perfil de densidad de lípidos.

4.3.5 Parámetros de orden (S_{CH})

Los parámetros de orden (S_{CH}), de las cadenas lipídicas de fosfolípidos de membrana, es una de las propiedades que con más frecuencia se utilizan para comparar los resultados de una simulación con los datos obtenidos de manera experimental. Son de gran importancia para validar y comparar el desarrollo de campos de fuerza. En la fase líquido cristalina, de las membranas, las cadenas de ácidos grasos se encuentran desordenadas. Dentro de una membrana, el grado de orden se puede probar mediante los parámetros de orden (S_{CH}) que se calculan a partir de experimentos de RMN de deuterio[19] [41] y proporcionan información sobre el orden general de la membrana, una medida de la orientación relativa de los enlaces C–H individuales con respecto a la normal a la bicapa, y detalles específicos de las conformaciones de los átomos que adoptan las colas lipídicas. Además, estas diferentes técnicas experimentales de RMN proporcionan resultados tan consistentes que resultan en mediciones experimentales precisas de esta propiedad lipídica. El orden de la cadena es una medida del ángulo de enlace de cola C-H y la normal a la bicapa. Esto se puede definir para un solo lípido. El parámetro de orden se calcula mediante la ecuación:

$$S_{CH} = \frac{1}{2} \langle 3\cos^2\theta - 1 \rangle \quad (4.8)$$

– θ es el ángulo entre el enlace C-H y la normal a la bicapa.

El orden de la cadena da una idea de lo apretadas que pueden estar las cadenas de lípidos dentro de la bicapa, lo que tiene implicaciones para la fase (gel o líquida), la temperatura de fusión y la fluidez de la bicapa. Una cadena de lípidos completamente saturada se agruparía fuertemente (fase gel) y tendría un movimiento restringido, pero las cadenas con enlaces insaturados tendrían torceduras en la cadena que lo harían agruparse menos apretadamente (fase

líquida). El parámetro de orden varía de -0.5 a 1 . Un valor de -0.5 implica que

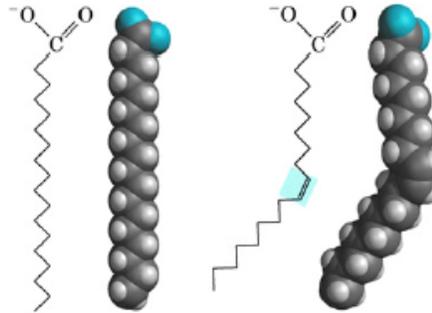


Figura 4.3: A la izquierda una cadena de ácido graso saturada que mantiene su estructura lineal. A la derecha una cadena de ácido graso insaturada, su doble enlace provoca un pliegue en su estructura.

los vectores S_{n-1} y S_{n-2} considerados son perpendiculares entre sí, mientras que un valor de 1 implica que los dos vectores considerados son paralelos.

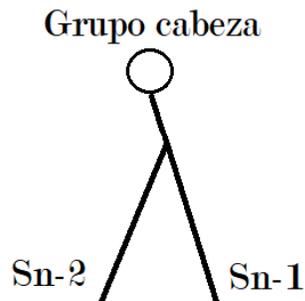


Figura 4.4: Vectores S_{n-1} y S_{n-2} correspondientes a las cadenas de palmitoyl y oleoyl

CAPÍTULO 5

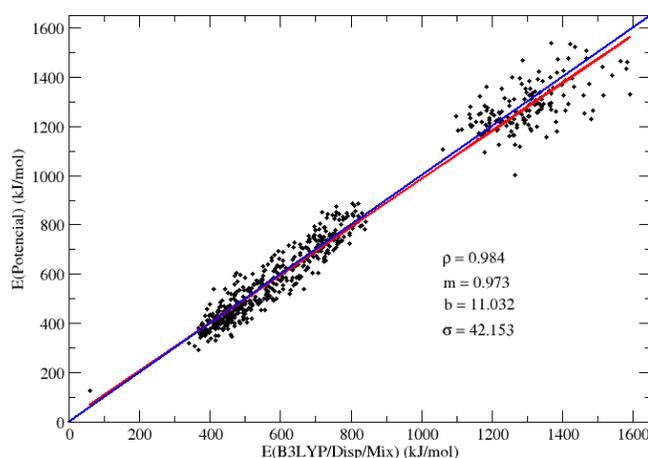
RESULTADOS

5.1 Ajuste de parámetros

En las gráficas se muestran los resultados del ajuste de los parámetros del potencial a las superficies de energía potencial.

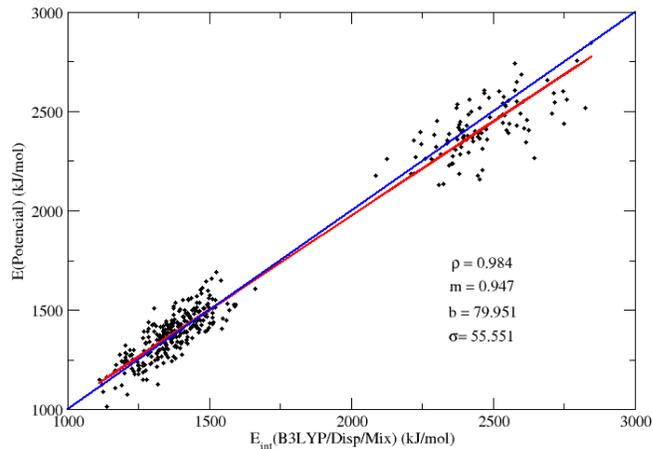
Como puede verse en la gráfica 5.1 el ajuste de las energías de deformación es bastante bueno, con un coeficiente de correlación y pendientes cercanos a 1.0 y una ordenada al origen relativamente pequeña (≈ 2.6 kcal/mol). Si bien la desviación estandar parece un poco alta (10.15 kcal/mol) dada la magnitud de las energías ajustadas representa aproximadamente el 5.3 % de desviación de las energías promedio utilizadas. Estas configuraciones fueron extraídas de una simulación a 150 K y 303 K por lo que son configuraciones típicas del lípido a esa temperatura.

La calidad del ajuste de la energía de interacción de dímeros POPC-POPC,



Gráfica 5.1: Ajuste de la energía de deformación de monómeros de POPC. Las energías están en kJ/mol.

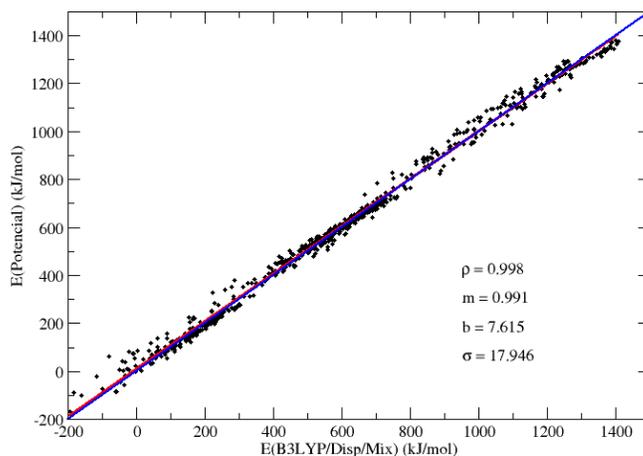
en la gráfica 5.2 la energía de interacción de dímeros POPC-POPC) es similar a la gráfica anterior, con un coeficiente de correlación y pendiente cercanas a 1.0. La ordenada al origen ahora es un poco mas grande (19.2 kcal/mol) sin embargo, como puede apreciarse en la figura la tendencia general de los puntos es bastante aceptable. La desviación estandar es ahora de ≈ 13.3 kcal/mol que parece un poco mas grande pero representa aproximadamente un 3.4% de las energías ajustadas. De nuevo las configuraciones utilizadas fueron extraídas de simulaciones de dinámica molecular a 150 K y 303 K. Los valores positivos se deben a que, por la definición de la energía de interacción, no se han restado las energías de deformación de los monómeros siendo esta la que produce el valor positivo obtenido. Por último se presenta el resultado del ajuste de la energía de



Gráfica 5.2: Ajuste de la energía de interacción de dímeros POPC-POPC. Las energías están en kJ/mol.

interacción de POPC con un cluster de aguas rodeando al POPC.

En la gráfica 5.3 se presentan las energías de interacción de una molécula de POPC con un cluster de moléculas de agua a su alrededor. Como puede verse el ajuste es excelente con coeficiente de correlación y pendiente prácticamente iguales a 1.0. La ordenada al origen es de tan solo ≈ 1.8 kcal/mol y la desviación estandar de ≈ 4.3 kcal/mol. El número promedio de moléculas de agua que se utilizaron es de aproximadamente 12 por lo que se considera que el ajuste obtenido es muy bueno ya que representaría una desviación de aproximadamente 0.5 kcal/mol por agua. La desviación estandar es de aproximadamente 3.0% de los valores utilizados para el ajuste. De nuevo los valores positivos obtenidos en muchas configuraciones provienen de que no se ha restado la energía de deformación de las moléculas involucradas.



Gráfica 5.3: Energías de interacción POPC-agua. Las energías están en kJ/mol.

5.2 Resultado de las propiedades

Los resultados de las propiedades calculadas se presentan en la Tabla 5.1. La primera columna corresponde a las diferentes propiedades estudiadas: Área por lípido A_L , Volumen por lípido V_L , Grosor de bicapa D_{HH} , y módulo de compresibilidad isotérmica del área K_A . La segunda columna corresponde a los valores obtenidos con los resultados de la simulación realizada con el campo de fuerzas Charmm36 (SCh36), la tercera columna corresponde a los resultados de la simulación realizada con el ajuste del potencial v1 (Sv1) y la cuarta columna corresponde a los resultados obtenidos con la simulación realizada con el potencial v2 (Sv2). La quinta columna corresponde a los valores experimentales, reportados, de las diferentes propiedades, y las últimas dos columnas corresponden a los valores obtenidos por Shahane y col.[76] con el potencial Charmm36 y los obtenidos por Skjevic y col. [79] con el potencial AMBERLipid14.

Tabla 5.1: Resultados de las propiedades estudiadas: SCh36 (Simulación Charmm36), Sv1 (Simulación potencial v1), Sv2 (Simulación potencial v2), VE (Valor experimental reportado), VS1 (Valor simulación reportado Charmm36), VS2 (Valor simulación reportado AMBERLipid14).

Propiedad	SCh36	Sv1	Sv2	VE	VS1	VS2
A_L [\AA^2]	63.9	63.6	63.6	64.3[47]	63.1[76]	65.5[40]
V_L [\AA^3]	1285.2	1204.8	1202.8	1256[45]	1231.2[76]	1191.9[79]
D_{HH} [\AA]	30.4	18.2	27.3	37[45]	37.5[76]	38[79]
K_A [mNm^{-1}]	952	100	186	(180-330)[4]	298[34]	188[71]

CAPÍTULO 6

DISCUSIÓN

Conforme se refinó el potencial de las simulaciones realizadas, los valores de las propiedades calculadas con los resultados de las simulaciones se acercan cada vez mas a los valores experimentales. Sin embargo, aún no se acercan lo suficiente a los valores reportados por otros autores. Podría pensarse que se hace necesario refinar el potencial de manera exhaustiva, pero lo mas probable es que sea preciso hacer simulaciones mas largas para obtener resultados mas consistentes con los de otros autores.

Módulo de compresibilidad isotérmica del área Para la fase líquido-cristalina el valor experimental considera un intervalo entre $(180 - 330) \text{ mNm}^{-1}$ y entre $(330 - 900) \text{ mNm}^{-1}$ para la fase gel [16].

Con los resultados de la simulación con Charmm36 se calculó un valor de: 952 mNm^{-1} , para el módulo de compresibilidad isotérmica, lo que indica que Charmm36 reproduce la fase gel por arriba de los 900 mNm^{-1} , sin embargo, lo que queremos es que reproduzca la fase líquido-cristalina, entre los $(180 \text{ y } 330) \text{ mNm}^{-1}$. Posteriormente se obtuvieron los nuevos parámetros (Potencial v1), para ajustar el campo de fuerzas, y se realizó una simulación, con sus resultados se calculó un valor de 100 mNm^{-1} , para el módulo de compresibilidad isotérmica, esto indica que el sistema está en fase líquida por debajo de los 180 mNm^{-1} . Otra vez se obtuvieron nuevos parámetros (Potencial v2) para ajustar el campo de fuerzas, y se realizó otra simulación y con sus resultados se calculó un valor de 186 mNm^{-1} , para el módulo de compresibilidad isotérmica, lo que nos asegura que ya se reproduce la fase líquido-cristalina, dentro del rango del valor experimental $(180 - 330) \text{ mNm}^{-1}$. En simulaciones reportadas se encontraron valores de 298 mNm^{-1} por por Shahane y col.[76], y 188 mNm^{-1} por Skjevic y col. [79] ambos dentro del intervalo de los resultados experimentales.

Tabla 6.1: Resultados de Módulo de compresibilidad isotérmica del área: SCh36 (Simulación Charmm36), Sv1 (Simulación potencial v1), Sv2 (Simulación potencial v2), VE (Valor experimental reportado), VS1 (Valor simulación reportado Charmm36), VS2 (Valor simulación reportado AMBERLipid14).

Propiedad	SCh36	Sv1	Sv2	VE	VS1	VS2
$K_A[mNm^{-1}]$	952	100	186	(180-330)[4]	298[34]	188[71]

Área por lípido Para área por lípido se calculó un valor de 63.9 \AA^2 con los resultados obtenidos de la simulación realizada con Charmm36, muy cercano al valor experimental 64.3 \AA^2 , con solo cuatro décimas de diferencia. Con los resultados de las simulaciones realizadas con los potenciales v1 y v2 se calculó un valor de 63.6 \AA^2 que se aleja un poco del valor experimental, con siete décimas de diferencia. Para las simulaciones reportadas se obtuvieron valores de 63.1 \AA^2 por Shahane y col.[76], y 65.5 \AA^2 por Skjevic y col. [79] ambos mas alejados al valor experimental con doce décimas de diferencia cada uno.

Tabla 6.2: Resultados de Área por lípido: SCh36 (Simulación Charmm36), Sv1 (Simulación potencial v1), Sv2 (Simulación potencial v2), VE (Valor experimental reportado), VS1 (Valor simulación reportado Charmm36), VS2 (Valor simulación reportado AMBERLipid14).

Propiedad	SCh36	Sv1	Sv2	VE	VS1	VS2
$A_L [\text{Å}^2]$	63.9	63.6	63.6	64.3[47]	63.1[76]	65.5[40]

Volumen por lípido Para el volumen por lípido se reporta el valor experimental de 1256 \AA^3 . Con los resultados de la simulación realizada con Charmm36 se calculó un valor de 1285.2 \AA^3 muy cercano al valor experimental con 29 unidades y dos décimas de diferencia. Con los resultados de la simulación realizada con el potencial v1 se calculó un valor de 1204.8 \AA^3 , un poco alejado del valor experimental con 51 unidades y dos décimas de diferencia.

Con el potencial v2 se obtuvo un valor de 1202.8 \AA^3 , también un poco alejado del valor experimental con 53 unidades y dos décimas de diferencia. Los dos últimos valores se encuentran alejados en 4.23% y 4.07% respectivamente del valor experimental, y dado que el valor del área por lípido es muy bueno esto

Tabla 6.3: Resultados de Volumen por lípido: SCh36 (Simulación Charmm36), Sv1 (Simulación potencial v1), Sv2 (Simulación potencial v2), VE (Valor experimental reportado), VS1 (Valor simulación reportado Charmm36), VS2 (Valor simulación reportado AMBERLipid14).

Propiedad	SCh36	Sv1	Sv2	VE	VS1	VS2
$V_L [\text{Å}^3]$	1285.2	1204.8	1202.8	1256[45]	1231.2[76]	1191.9[79]

sugeriría que hay una diferencia en el grosor de la bicapa, como se verá a continuación. Para las simulaciones reportadas se obtuvieron valores de 1231.2 Å^3 por por Shahane y col.[76] muy cercano al valor experimental, y 1191.9 Å^3 por Skjevic y col. [79] un poco alejado del valor experimental.

Perfiles de densidad Los perfiles de densidad de los lípidos figura 6.1 muestran que la simulación con Charmm36 en rojo se corresponde con la fase gel, ya que la profundidad del pozo en el centro de la bicapa es muy pronunciada.

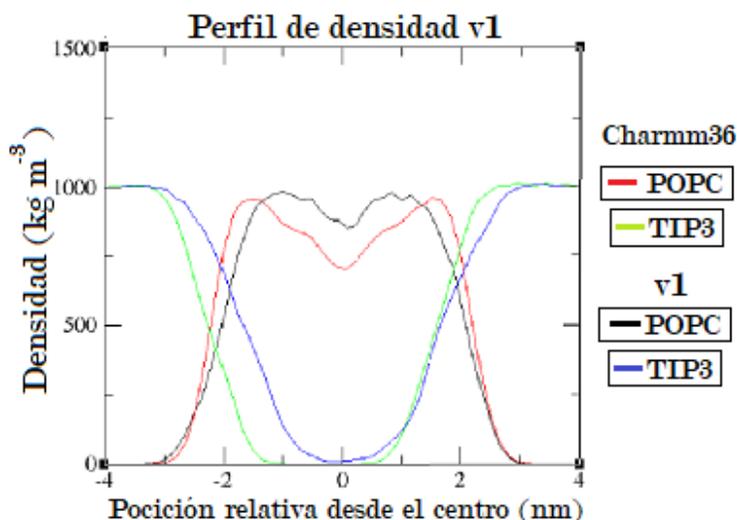


Figura 6.1: Perfiles comparados de densidad de lípidos, en la bicapa. En color rojo, la simulación con parámetros de Charmm36, y en negro con parámetros del potencial v1.

Cuanto mas profundo es el pozo en el centro de la membrana, mas se acerca a la fase gel. Mientras que la simulación con el potencial v1 en negro, no tiene tan profundo el pozo pero la distancia entre los picos es muy estrecha, lo que indica una fase muy líquida [67].

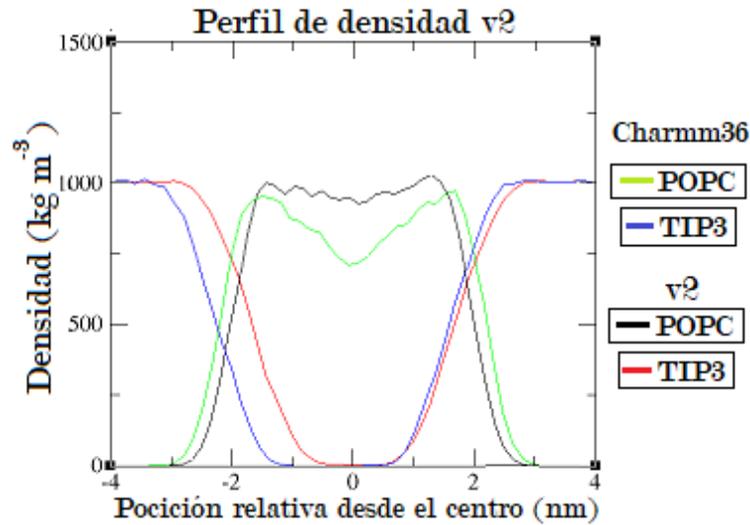


Figura 6.2: Perfiles comparados de densidad de lípidos, en la bicapa. En color rojo, la simulación con parámetros de Charmm36, y en negro con parámetros del potencial v2.

La Figura 6.2 muestra que la simulación con el potencial v2 en negro se corresponde con la fase líquido cristalina, ya que en el centro de la bicapa no se aprecia profundidad en el pozo y la distancia entre los picos es bastante ancha. Mientras menos profundidad en el centro de la bicapa, la membrana se acerca a la fase líquido-cristalina [67].

Grosor de bicapa Para el grosor de bicapa se reporta el valor experimental de 37 Å. Con los resultados de la simulación con el potencial Charmm36 se calculó un valor, para grosor de bicapa, de 30.4 Å, muy alejado del valor experimental con seis unidades y seis décimas de diferencia. Con los resultados de la simulación con el potencial v1 se calculó un valor de 18.2 Å aún mas alejado del valor experimental con 18 unidades y ocho décimas de diferencia.

Tabla 6.4: Resultados de Grosor de bicapa: SCh36 (Simulación Charmm36), Sv1 (Simulación potencial v1), Sv2 (Simulación potencial v2), VE (Valor experimental reportado), VS1 (Valor simulación reportado Charmm36), VS2 (Valor simulación reportado AMBERLipid14).

Propiedad	SN	Sv1	Sv2	VE	VS1	VS2
D_{HH} [Å]	30.4	18.2	27.3	37[45]	37.5[76]	38[79]

Con los resultados de la simulación con el potencial v2 se calculó un valor de 27.3 Å un poco menos alejado del valor experimental nueve unidades y siete décimas de diferencia. En ambos casos el grosor de la bicapa es menor que el obtenido con el potencial Charmm36, lo que explica el mayor volumen por lípido obtenido con Charmm36. Para las simulaciones reportadas se encontraron valores de 37.5 Å por Shahane y col.[76], y 38 Å por Skjevic y col. [79], ambos muy cercanos al valor experimental con cinco décimas y una unidad de diferencia respectivamente.

Porcentaje de alejamiento de las propiedades con respecto al valor experimental En la tabla 6.5 se muestran los porcentajes con los que se alejan las diferentes propiedades estudiadas, con respecto a los valores experimentales, para tener una mejor referencia de el acuerdo o discrepancia que puedan tener. Para los resultados calculados con la simulación realizada con el potencial Charmm36, los porcentajes del Área por lípido y Volumen por lípido son muy pequeños, lo que muestra que los resultados son muy cercanos a los valores experimentales, sin embargo, para el grosor de bicapa el porcentaje es muy considerable y muestra que el resultado está alejado del valor experimental. Por lo que respecta al Módulo de compresibilidad isotérmica del área, definitivamente muestra que el potencial Charmm36 reproduce la fase gel. Para los resultados

Tabla 6.5: Alejamiento porcentual, de las propiedades estudiadas, con respecto a los valores experimentales: VE (Valor experimental reportado), SCh36 (Simulación Charmm36), Sv1 (Simulación potencial v1), Sv2 (Simulación potencial v2), VS1 (Valor simulación reportado Charmm36), VS2 (Valor simulación reportado AMBERLipid14), ls corresponde a la fase Líquido-Cristalina.

Propiedad	VE	SCh36	Sv1	Sv2	VS1	VS2
$A_L [\text{Å}^2]$	64.3	0.62%	1.09%	1.09%	1.86%	1.86%
$V_L [\text{Å}^3]$	1256	2.32%	4.07%	4.23%	1.97%	5.1%
$D_{HH} [\text{Å}]$	37	17.83%	50.81%	26.21%	1.35%	2.7%
$K_A [mNm^{-1}]$	(180-330)	gel	líquida	ls	ls	ls

calculados con la simulación realizada con el potencial v1, los porcentajes del Área por lípido y Volumen por lípido también son muy pequeños, lo que muestra que los resultados también son muy cercanos a los valores experimentales, sin embargo, para el grosor de bicapa el porcentaje es considerablemente mayor y muestra que el resultado está muy alejado del valor experimental. Por lo que respecta al Módulo de compresibilidad isotérmica del área, definitivamente muestra que el potencial v1 reproduce la fase líquida.

Para los resultados calculados con la simulación realizada con el potencial v2, los porcentajes del Área por lípido y Volumen por lípido también son muy pequeños, lo que muestra que los resultados también son muy cercanos a los valores experimentales, sin embargo, para el grosor de bicapa el porcentaje aún es muy considerable y muestra que el resultado también está alejado del valor experimental. Por lo que respecta al Módulo de compresibilidad isotérmica del área, muestra que el potencial v2 reproduce la fase líquido-cristalina.

Perfiles de los parámetros de orden En los perfiles de los parámetros de orden de las cadenas de palmitoyl Figura 6.3, se aprecia un buen acuerdo entre los resultados obtenidos con la simulación realizada con Charmm36, en rojo, y los resultados experimentales en negro. Los parámetros de orden obtenidos con la simulación realizada con el potencial Charmm36, en rojo, se encuentran por arriba de los obtenidos experimentalmente, en negro, lo que indica que las cadenas de Palmitoyl en la simulación con Charmm36 se encuentran mas ordenadas y se corresponden con la fase gel; mientras que las cadenas de palmitoyl en la simulación con el potencial v1, en verde, que se encuentran muy por debajo de los resultados experimentales, en negro, muestran que las cadenas de Palmitoyl se encuentran muy desordenadas y se corresponden a una fase líquida. Los resultados obtenidos con la simulación realizada con el potencial v2, en azul, está en muy buen acuerdo con los resultados experimentales, en negro, y se corresponden con la fase líquido-cristalina.

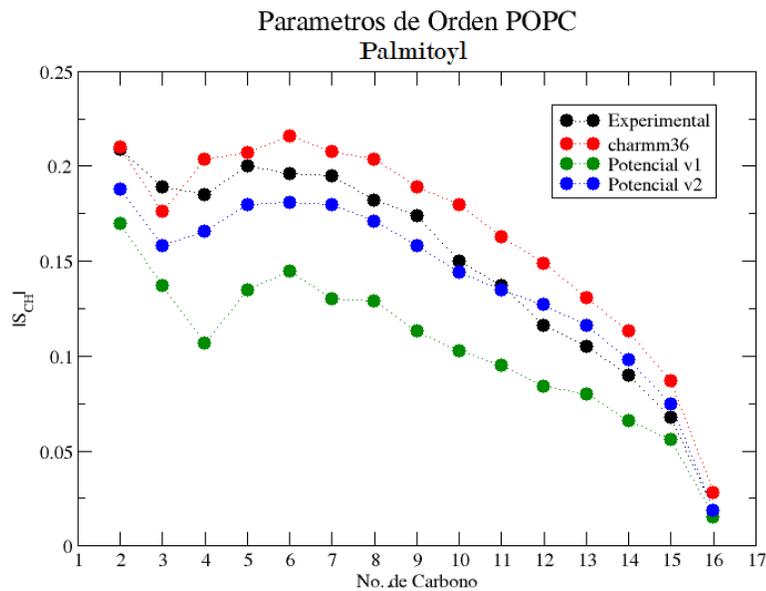


Figura 6.3: Perfiles de los parámetros de orden en las cadenas de Palmitoyl.

En los perfiles de los parámetros de orden en las cadenas de oleoyl Figura 6.4 se aprecia también que los resultados obtenidos con la simulación realizada con el potencial Charmm36, en rojo, no presentan gran discrepancia con los resultados experimentales, en negro. Los resultados obtenidos con la simulación realizada con el potencial v1, en verde, se alejan un poco de los resultados experimentales, y los resultados obtenidos con la simulación realizada con el potencial v2, en azul, se alejan más de los resultados experimentales. Al parecer se deben refinar los parámetros más exhaustivamente para obtener mejores resultados.

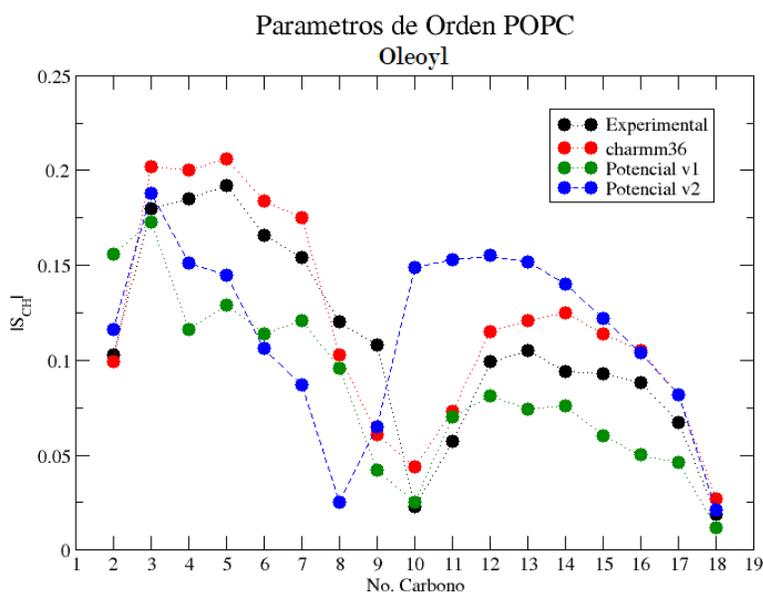


Figura 6.4: Perfiles de los parámetros de orden en las cadenas de Oleoyl.

CAPÍTULO 7

CONCLUSIONES

La comparación de los resultados experimentales con los obtenidos por simulaciones de DM, nos da una idea de la calidad del modelo de simulación. Los resultados de las diferentes propiedades estudiadas con el potencial Charmm36 muestran que los valores obtenidos para Area por lípido y Volumen por lípido son muy cercanos a los valores experimentales, que el valor del grosor de bicapa se encuentra alejado del valor experimental y que, tanto el resultado del Módulo de compresibilidad isotérmica del área como los parámetros de orden de las cadenas de Palmitoyl muestran que el potencial Charmm36 reproduce la fase gel.

Los resultados de las diferentes propiedades estudiadas con el potencial v1 muestran que los valores obtenidos para Area por lípido y Volumen por lípido también son muy cercanos a los valores experimentales, que el valor del grosor de bicapa se encuentra muy alejado del valor experimental y que, tanto el resultado del Módulo de compresibilidad isotérmica del área como los parámetros de orden de las cadenas de Palmitoyl muestran que el potencial Charmm36 reproduce la fase líquida.

Los resultados de las diferentes propiedades estudiadas con el potencial v2 muestran que los valores obtenidos para Area por lípido y Volumen por lípido también son muy cercanos a los valores experimentales, que el valor del grosor de bicapa se encuentra mas alejado del valor experimental y que, tanto el resultado del Módulo de compresibilidad isotérmica del área como los parámetros de orden de las cadenas de Palmitoyl muestran que el potencial Charmm36 reproduce la fase líquido-cristalina. Conforme se refinaron los parámetros, para el campo de fuerzas, los resultados de algunas de las propiedades mejoraron, con respecto a los resultados experimentales. Algunas de las propiedades aún no están bien descritas, como el Grosor de bicapa y los Parámetros de orden de la cadena oleoyl, donde al parecer el efecto de la insaturación es mas difícil de reproducir y es aquí donde aún se debe explorar mucho mas la superficie de energía potencial.

No obstante que todavía es necesario refinar mas el potencial y realizar simulaciones mas largas se ha mostrado que se pueden obtener buenos resultados a partir de el ajuste a los cálculos cuánticos realizados y que ahondando en este proceso se confía en tener una descripción confiable de la bicapa de POPC, ya que las simulaciones realizadas con los parámetros refinados ofrecen resultados que son mas apegados a los valores experimentales.

REFERENCIAS

- [1] ANTILLÓN, A., DE VRIES, A.H. & ESPINOSA-CABALLERO, M. (2016). *An Amphotericin B Derivative Equally Potent to Amphotericin B and with Increased Safety*. PLoS One. ;11(9):e0162171. Published Sep 28. doi: 10.1371/journal.pone.0162171.
- [2] ARMEN, R.S., UITTO, O.D. & FELLER, S.E. (1998). *Phospholipid component volumes: determination and application to bilayer structure calculations*. Biophys J. Aug; 75(2): pp.734-44.
- [3] BERENDSEN, H.J.C., POSTMA, J.P.M., VAN GUNSTEREN, W.F., DINOLA, A. & HAAK, J.R. (1984). *Molecular dynamics with coupling to an external bath*. J Chem Phys 81(8): pp.3684–3690
- [4] BLINDER, H, GAWRISCH, K.J. (2001), Phys. Chem. B. 105, 12378-12390.
- [5] BLOOM, M., (1991). *Physical properties of the fluid lipid-bilayer component of cell membranes: a perspective*, Q. Rev. Biophys. 24 pp.293–397.
- [6] BOHDANOWICZ, M., (2013). *Role of phospholipids in endocytosis, phagocytosis, and macropinocytosis*, Physiol. Rev. 93, pp.69–106.
- [7] BONGOMIN, F., (2017). *Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases—Estimate Precision*, Journal of Funji.
- [8] BRANDT, M.. (2013) *Think Fungus—Prevention and Control of Fungal Infections*, Emerging Infectious Diseases, www.cdc.gov/eid, Vol. 19, No. 10.
- [9] BROOKS, B.R. & KARPLUS, M., (1983). *Charmm: A program for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations.*, J. Comput. Chem., 4(2), pp.187-217.
- [10] CANNON, R., (2007). *Candida albicans drug resistance-another way to cope with stress.*, Microbiology, 153, pp.3211-3217.
- [11] CASE, D.A. & CHEATHAM III, T.E., (2005). *The amber biomolecular simulation programs*. Journal.
- [12] CEVE, G, (1993). *Phospholipids handbook*, Congress Cataloging in Publication Data.

- [13] CHATTOPADHYAY, A. & JAFURULLA, M., (2011). *A novel mechanism for an old drug: amphotericin B in the treatment of visceral leishmaniasis*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 416, pp.7–12.
- [14] COHEN, B.E., (2010). *Amphotericin B membrane action: role for two types of ion channel sineliciting cell survival and lethal effects*. *J. Membr. Biol.* 238, pp.1–20.
- [15] CRAMER, C.J., (2004). *Essentials of Computational Chemistry: Theories and Models*. Wiley, 2 edition, pp.6-10.
- [16] BACIA, K., SCHWILLE, P., & VKURZCHALIA, T. (2005). *Sterol structure determines the separation of phases and the curvature of the liquid-ordered phase in model membranes*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(9), pp.3272-3277.
- [17] DING W., PALAIOKOSTAS, M. WANG, W. & ORSI, M., (2015). *Effects of Lipid Composition on Bilayer Membranes Quantified by All-Atom Molecular Dynamics* *J. Phys. Chem. B*, 119, pp.15263-15274.
- [18] DOKTOROVA, M., LEVINE, M.V., KHELASHVILI, G. & WEINSTEIN H., (2018). *A new computational method for membrane compressibility: Bilayer mechanical thickness revisited* bioRxiv.
- [19] DOULIEZ, J.P., LEONARD, A. & DUFOURC, E.J. (1995). *Restatement of Order Parameters in Biomembranes: Calculation of C-C Bond Order Parameters from C-D Quadrupolar Splittings*. *Biophys. J.* 68 (5), pp.1727-1739.
- [20] EDIDIN, M., (2014). *Lipids on the frontier: a century of cell-membrane bilayers*. *Nature reviews molecular cell biology*, Chapter10 pp.565-596.
- [21] FINKELSTEIN, A. & HOLZ, R., (1973). *Aqueous pores created in thin lipid membranes by the polyene antibiotics nystatin and amphotericin B*. *Membranes*, 2, pp.377-408.
- [22] FLORES-HOLGUÍN, N., (2001). *Computational simulation of the molecular structure and properties of oligothiadiazoles* VII International Conference on Advanced Materials, Cancún, México.
- [23] <http://www.life-worldwide.org/esp/fungal-diseases/amphotericin-B>
- [24] GARROTE, A., (2002). *MICOSIS CUTÁNEAS OFFARM VOL 21 NÚM 8 SEPTIEMBRE* Elsevier.
- [25] GRIMME, S., ANTONY, J., Ehrlich, S. & KRIEG, H., (2010). *A consistent and accurate ab initio parameterization of density functional dispersion correction (DFT-D) for the 94 elements H-Pu* *J. Chem. Phys.*, 132 154104. DOI: 10.1063/1.3382344
- [26] <http://manual.gromacs.org/documentation/2016/manual-2016.pdf>
- [27] <https://vdocuments.site/gromacs-md-flowchart.html>

- [28] HAGLER, A.T., HULER, E. & LIFSON, S., (1974). *Energy functions for peptides and proteins. i. derivation of a consistent force field including the hydrogen bond from amide crystals*. Journal of the American Chemical.
- [29] HESS, B. KUTZNER, C. VAN DER SPOEL, D. & LINDAHL, E.J. (2008). *GROMACS 4: Algorithms for Highly Efficient, Load-Balanced, and Scalable Molecular Simulation* Chem. Theory Comput., 4, pp.435-447.
- [30] HOGBERG, C-J., NIKITIIN, A.M. & LYUBARTSEV, A.P., (2008). *Modification of the CHARMM force field for DMPC lipid bilayer* J. Comput. Chem. 29, pp.2359-2369.
- [31] HOLDBROOK, D., PARKIN, J., BERGLUND, N., LEUNG, Y., KHALID, S. WILLIAMSON, P. (2010). *Probing the oligomeric state and interaction surface of Fukutin Transmembrane Domain in lipid bilayer via Molecular Dynamics simulations* Computational Modelling Group, Southampton University.
- [32] JACOB, J., KINNUN, K.J., MALLIKARJUNAIAH, HORIA, I., PETRACHE, MICHAEL, F. & BROWNB, (2015). *Area Per Lipid and Elastic Deformation of Membranes: Atomistic View From Solid-State Deuterium NMR Spectroscopy* Biochim Biophys Acta pp.246–259.
- [33] JACOBS, R.E., (1981). *NMR of membranes*, Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc. 14, pp.113–136.
- [34] JÄMBECK, J. & LYUBARTSEV, A. (2012) *An extension and further validation of an all atomistic force field for biological membranes*. Journal of Chemical Theory and Computation.
- [35] JENSEN, F., (2007). *Introduction to Computational Chemistry*, Second Edition, Department of Chemistry, University of Southern Denmark, Odense, Denmark, John Wiley Sons Ltd., pp.236-237.
- [36] JO, S., KIM, T., IYER, V.G., & IM, W. (2008) *CHARMM-GUI: A Web-based Graphical User Interface for CHARMM*. J. Comput. Chem. 29: pp.1859-1865
- [37] KATSARAS, J., GUTBERLET, T., (2001). *Lipid Bilayers Structure and Interactions*. Biological physics series, Springer Ed.
- [38] KINNUNEN, P.K., (2009). *Amyloid formation on lipid membrane surfaces* Open Biol. J. 2, pp.163–175.
- [39] KINNUNEN, P.K., (2012). *Protein-oxidized phospholipid interactions cellular signaling for cell death: from biophysics to clinical correlations* Biochim. Biophys. Acta (1818), pp.2446–2455.
- [40] KLAUDA, J.B., VENABLE, R.M., ALFREDO F.J., O'CONNOR, J.W., TOBIAS, D.J., MONDRAGON- RAMIREZ, C., VOROBYOV, I., MACKERELL, A.D. JR. & PASTOR, R.W. (2010). *Update of the CHARMM all-atom additive force field for lipids: validation on six lipid types*. J Phys Chem B 114(23): pp.7830–7843.

- [41] KLAUDA, J.B., BROOKS, B.R., PASTOR, R.W. (2006). *Dynamical Motions of Lipids and a Finite Size Effect in Simulations of Bilayers*. *J. Chem. Phys.* 125 (14), 144710.
- [42] KOMURA, S. & VANDELMAN, D. (2014). *Physical aspects of heterogeneities in multi-component lipid membranes*. *Adv Colloid Interface Sci.* 208C: pp.34-46.
- [43] KOENIG, B.W., GAWRISCH, K. (2005). *Specific volumes of unsaturated phosphatidylcholines in the liquid crystalline lamellar phase*. *Biochim Biophys Acta.* 1715(1): pp.65-70.
- [44] DE KRUIJFF, B., (1974). *Demel, R. A. in membranes of Acholeplasma laidlawii cells and lecithin liposomes. III. Molecular structure of polyene antibiotic-cholesterol complexes*. *Biochim. Biophys. Acta, Biomembr.*, 339, pp.57-70.
- [45] KUVČERKA, N., TRISTRAM-NAGLE, S. & NAGLE, J.F. (2005). *Structure of fully hydrated fluid phase lipid bilayers with monounsaturated chains*. *J. Membr. Biol.* 208(3): pp.193–202.
- [46] KUCERKA, N., NAGLE, J.F., SACHS, J.N., FELLER, S.E., PENCER, N., JACKSON, A., & KATSARAS, J. (2008). *Lipid Bilayer Structure Determined by the Simultaneous Analysis of Neutron and X-Ray Scattering Data*. *Biophys. J.* 95(5): pp.2356–2367.
- [47] KUVČERKA, N., NIEH, M-P. & KATSARAS, J. (2011). *Fluid phase lipid areas and bilayer thicknesses of commonly used phosphatidylcholines as a function of temperature*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1808(11): pp.2761–2771.
- [48] LEACH, A., (2001). *Molecular Modelling: Principles and Applications* (2nd Edition). Prentice Hall.
- [49] LEE, A.G., (2004). *How lipids affect the activities of integral membrane proteins*, *Biochim. Biophys. Acta* (1666), pp.62–87.
- [50] LODISH, H., (2008). *Molecular Cell Biology, Biomembrane Structure* W.H. Freeman and Company, Chapter 10.
- [51] LÓPEZ, A., (2012). *Liposomas de PC-PEG-TRAVAPROST para el tratamiento sostenido de la presión intraocular en la enfermedad de glaucoma*, CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN MATERIALES AVANZADOS, S. C. POSGRADO, Hermosillo, Sonora..
- [52] MATHAI, J.C., TRISTRAM-NAGLE, S., NAGLE, J.F. & ZEIDEL, M.L., (2008). *Structural determinants of water permeability through the lipid membrane*. *J. Gen. Physiol.* 131 (1) pp.69–76.
- [53] MAZERSKI, J., BOLARD, J. & BOROWSKI, E., (1982). *Self-association of some polyene macrolide antibiotics in aqueous media*. *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.*, 719, pp.11-17.

- [54] MAZERSKI, J., (1990). *Influence of net charge on the aggregation and solubility behaviour of amphotericin B and its derivatives in aqueous media* Eur. Biophys. J., 18, pp.159-164.
- [55] MURRAY, R., (2009). *Harper's Illustrated Biochemistry*, McGraw-Hill, Chap. 15.
- [56] NAGLE, J.F. & TRISTRAM-NAGLE, S., (2000). *Biochim. Biophys. Acta*, 1469, pp.159-195.
- [57] NAGLE, J. & TRISTRAM-NAGLE, S., (2000). *Biochim. Biophys. Acta*, 1469, p.159.
- [58] NAGLE J.F., (2013) *Introductory Lecture: Basic quantities in model biomembranes* The Royal Society of Chemistry. Faraday Discuss. 161, 11–29 — 11
- [59] NEEDHAM, D., MCINTOSH, T.J. & EVANS, E., (1998) *Thermomechanical and transition properties of didyristoylphosphatidylcholine/cholesterol bilayers*. *Biochemistry* 27; pp.4668-4673.
- [60] ORSI, M., (2014). *Comparative assessment of the ELBA coarsegrained model for water*. *Mol. Phys.* 112: pp.1566–1576.
- [61] PABST, G., (2010). *Applications of neutron and X-ray scattering to the study of biologically relevant model membranes*. *Chem. Phys. Lipids* 163, pp.460–479.
- [62] PACHECO, M.M. & MOLIST, P.G., (2017). *Atlas de histología vegetal y animal. La célula. Ampliaciones MODELO DE MEMBRANA*. Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud. Facultad de Biología. Universidad de Vigo, España, cap.3.
- [63] PALACIOS, D.S., DAILEY, I., SIEBERT, D.M., WILCOCK, B.C. & BURKE, M.D., (2011). *Synthesis enabled functional group deletions reveal key underpinning of amphotericin B ion channel and antifungal activities*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108, pp.6733–6738.
- [64] PARRINELLO, M. & RAHMAN, A., (1981). *Polymorphic transitions in single crystals: a new molecular dynamics method*. *J. Appl. Phys.*, 52(12): pp.7182–7190.
- [65] PASTOR, R.W., (1988). *A simulation based model of NMR T1 relaxation in lipid bilayer vesicles*. *J. Chem. Phys.*, 89 pp.1128–1140.
- [66] PHILLIPS, J.C. & SCHULTEN, K., (2005). *Scalable molecular dynamics with namd*. *J. Comput. Chem.*, 26(16), pp.1781-1802.
- [67] POGER, D., AN GUNSTERN, W., MARK, A., (2009). *A new Force Field for Simulating Phosphatidylcholine Bilayers*. Wiley InterScience, *Journal of Computational Chemistry*, p.1121.
- [68] PONDER, J.W. & RICHARDS, F.M., (1987). *An efficient newton-like method for molecular mechanics energy minimization of large molecules*. *J. Comput. Chem.*, 8(7), pp.1016-1024.

- [69] RONCES, M. HERNÁNDEZ, J., (2019). *Asociación de Anfotericina en Solución Acuosa*. Tesis para obtener la Licenciatura en Ciencias (Física) Centro de Investigación en Ciencias UAEM Morelos.
- [70] RIVERA-TOLEDO, E., JIMÉNEZ-DELGADILLO, A. & MANZANO-GAYOSSO, P., (2020). *Antifúngicos poliénicos. Mecanismos de acción y aplicaciones*. Revista de la Facultad de Medicina ISSN 2448-4865: p.11.
- [71] SAEEDIMASINE, M., MONTANINO, A., KLEIVEN, S. & VILLA, A., (2019). *Role of lipid composition on the structural and mechanical features of axonal membranes: a molecular simulation study*. www.nature.com/scientificreports.
- [72] SABRA, R. & BRANCH, R., (1990). *Amphotericin B nephrotoxicity*. Drug Saf., 5, pp.94-108.
- [73] SCOTT, W.R.P. & VAN GUNSTEREN, W.F., (1999). *The gromos biomolecular simulation program package*. J. Phys. Chem. A, 103(19), pp3596-3607.
- [74] SEELIG, J., (1977). *Deuterium magnetic resonance: theory and application to lipid membranes*, Q. Rev. Biophys. 10, pp.353–418.
- [75] SCHWARZ, U., (2018). *Statistical Physics*. HEIDELBERG UNIVERSITY DEPARTMENT OF PHYSICS AND ASTRONOMY, p.2.
- [76] SHAHANE, G., DING, W., PALAIOKOSTAS, M. & ORSI, M., (2019). *Physical properties of model biological lipid bilayers: insights from all-atom molecular dynamics simulations*. J. Mol. Model 25: 76: 77.
- [77] SHINODA, K., SHINODA, W., BABA, T. & MIKAMI M, (2004). *Comparative molecular dynamics study of ether and ester-linked phospholipid bilayers*. J. Chem. Phys. 121(19): pp.9648–9654.
- [78] SWI, S., VACHA, R., JUNGWIRTH, P. & BÖCKMANN, R.A., (2008). *Biomolecular simulations of membranes: physical properties from different force fields*. vol 128.
- [79] SKJEVIK, A.A., MADEJ, B.D., DICKSON, C.J., TEIGEN, K., WALKER, R.C. & GOULD, I.R., (2015). *All-atom lipid bilayer self-assembly with the AMBER and CHARMM lipid force fields*. Chem. Commun. 51(21): pp.4402–4405.
- [80] SUN, W.J., SUTER, R.M., KNEWTSON, M.A., WORTHINGTON, C.R., TRISTRAM-NAGLE, S., ZHANG, R. & NAGLE, J.F., (1994). *Order and disorder in fully hydrated unoriented bilayers of gel-phase dipalmitoylphosphatidylcholine*. Phys. Rev. E, 49, 4665.
- [81] TIELEMAN, D., MARRINK, S. & BERENDSEN, H., (1997). *A computer perspective of membranes: molecular dynamics studies of lipid bilayer systems.*, Biochim. Biophys. Acta, 1331, p.235.
- [82] TRISTRAM-NAGLE, S., LIU, Y., LEGLEITER, J. & NAGLE, J.F., (2002). *Structure of Gel Phase DMPC Determined by X-ray Diffraction*. Biophys, J, 83, p.3324.

- [83] VAN DER KAMP, M.W. & MULHOLLAND, A.J., (2008). *Computational enzymology: insight into biological catalysts from modelling*. Nat. Prod. Rep., 25(6): pp.1001.
- [84] VAN DER PLOEG, P., (1982). *Molecular dynamics simulation of a bilayer membrane*. J. Chem. Phys. 76, pp.3271–3276.
- [85] WU, E.L., CHENG, X., JO, S., RUI, H., SONG, K.C., DÁVILA-CONTRERAS, E.M., QI, Y., LEE, J., MONJE-GALVAN, V., VENABLE, R.M., KLAUDA, J.B., & IM, W., (2014). *CHARMM-GUI Membrane Builder Toward Realistic Biological Membrane Simulations*. J. Comput. Chem. 35: pp.1997-2004