

ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO



FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA FISICA-MATEMATICA
ESPECIALIDAD DE BIOFISICA

“Modelación de la tasa de intercambio del agua en el agente de contraste bioactivado, [Gd (DOTA-FPG)(H₂O)], con uso en la identificación de expresión génica en células cancerígenas”

Tesis de grado

Previo a la obtención del título de:

BIOFISICA

PRESENTADO POR:
CARMEN VANESSA DEL HIERRO MOSQUERA

RIOBAMBA – ECUADOR

2013

AGRADECIMIENTO

Primero agradezco Dios por brindarme la vida y la salud que me ha permitido culminar con éxito ésta etapa de mi vida. A mi madre Judith Mosquera por su apoyo incondicional por ser mi pilar y a su vez a mis hermanos que forman mi fuerza, Los quiero.

Al PhD. Dennis Cazar como al PhD. Robert Cazar por sus votos de confianza y abrirme las puertas al grupo Ecuatoriano Experimental y Teórico de Nanosistemas – GETNano en donde realice este presente trabajo. Al PhD. Miguel Ángel Méndez en su papel de asesor y por su aporte científico para el desarrollo de este trabajo, a mis compañeros que me dieron su cariño y apoyo durante este tiempo.

Gracias Dios y mi virgen!

Gracias!

DEDICATORIA

Este presente trabajo está dedicado con todo mi cariño a mis abuelitos hermosos que desde el cielo me guían y a mi madre Judith Mosquera por ser mi fortaleza, mi ejemplo de vida.

Los quiero mucho.

HOJA DE FIRMAS

NOMBRE	FIRMA	FECHA
Dr. Silvio Álvarez Luna.
DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS		
Dra. Jheny Orbe Ordoñez.
DIRECTORA DE LA ESCUELA DE FÍSICA Y MATEMÁTICA		
Robert Cazar Ramírez Ph.D.
DIRECTOR DE TESIS		
Biof. Nataly Bonilla.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL		
Tecnólogo Carlos Rodríguez.
DIR. DEPARTAMENTO DE DOCUMENTACIÓN		
NOTA DE LA TESIS ESCRITA	

DERECHOS DE AUTORÍA

“Yo Carmen Vanessa Del Hierro declaro que soy el autor del presente trabajo de tesis el cual fue elaborado por mi persona bajo la dirección del Director Externo Miguel Angel Ph.D., Director de Tesis Dr. Robert Cazar y Asesor Biof. Nataly Bonilla., haciéndome responsable de las ideas y metodologías expuestas en esta Tesis, y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado pertenecen a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo”

INDICE DE ABREVIATURAS

1/T1	Tasa de relajación longitudinal (or spin-lattice)
1/T2	Tasa de relajación transversal
Å	Angstrom
Å³	Angstrom
Atm	Atmosferas
Ca	Calcio
CAs	Agentes de contraste
D1	Dinámica de Termalización
D2	Ensamble isobárico
D3	Dinámica de producción
DCE	Dynamic contrast-enhanced
DCE-MRI	Dynamic contrast-enhanced MR imaging
DFT	Teoría de densidad funcional
E	Energía
Fdg	Fluorodesoxiglucosa
Gb	Gyga-Byte
Gd	Gadolinio
Gd-BT-DO3A	Gadobutrol
Gd-DOTA	Gadoterate
Gd-DTPA	Gadopentetate dimeglumine
Gd-HP-DO3A	Gadoteridol
HSA	human serum albumin
IRM	Imagen de Resonancia Magnética
kcal/mol	kilo calorías/ mol
kex	Tiempo de vida media del agua
LAMMPS	Large-scale Atomic/Molecular Massively Parallel Simulator
RMSD	Raíz media cuadrática de desviación
P	Presión
q	número de moléculas de agua
r1	Relajación longitudinal (or spin-lattice)
r2	Relajación transversal
SPC	Carga de un punto simple
SPC/E	Extensión de la carga de un punto simple
T	Temperatura
TIP3P	Potencial de trasferencia intermolecular 3P
VMD	Visualización de Dinámica Molecular
τM	Tasa de intercambio

Índice de Contenido:

RESUMEN	I
ABSTRACT	II
INTRODUCCIÓN	III
ANTECEDENTES	V
JUSTIFICACION	VII
OBJETIVOS:.....	VIII
CAPITULO I	2
MARCO TEORICO.....	2
1.1. Dinámica molecular.....	2
1.1.1. Definiciones	2
1.1.2. Mecánica molecular	3
1.1.2.1. Energías.....	4
1.1.2.2. Optimización.....	6
1.1.3. Bases Físicas	7
1.1.3.1. Potencial de Lennard-Jones.....	7
1.1.3.2. El análisis numérico	8
1.1.3.3. Método Monte Carlo	8
1.1.3.4. Termalización.....	9
1.1.3.5. Equilibración	9
1.2. Agentes de contraste	10
1.2.1. Formas de magnetismo.....	10
1.2.1.1. Diamagnetismo.....	10
1.2.1.2. Paramagnetismo	11
1.2.1.3. Ferromagnetismo.....	12
1.2.2. Clasificación de los agentes de contraste:	13
1.2.2.1. Agentes de contraste Positivos	13

1.2.2.2.1	Agentes de contraste Negativos	14
1.2.3.	Medios de contraste usados en resonancia magnética.....	14
1.2.4.	Agentes de contraste Bioactivados.....	15
1.2.5.	Agentes de contraste modificados en el IRM.....	16
1.3.	MODELOS DE AGUA	19
1.3.1.	Introducción	19
1.3.2.	Descripción:	20
1.3.3.	Dinámica de los modelos de agua tip3p, spc, y spc/e a 298 °k	26
1.4	Campos de Fuerza	31
1.4.1	Forma funcional	33
1.4.1.1	Características de los campos de fuerza	35
1.4.2.	Parametrización de los campos de fuerza.....	39
1.4.3	Clasificación de los campos de fuerza	40
1.4.4.	CVFF: Campo de fuerza de valencia constante	37
1.4.5.	Campos de fuerza en Lammms	41
1.4.6.	Potenciales para H ₂ O.....	43
1.5.	RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR	44
1.5.1.	Historia.....	44
1.5.2.	Bases Físicas	47
1.5.2.1	Movimiento de precisión.....	49
1.5.2.2.	Dirección Longitudinal.....	50
1.5.2.3.	Pulso de radiofrecuencia	50
1.5.3.	Fundamentos de la Imagen por RM	51
1.5.3.1.	Formación de las imágenes de RM	51
1.5.3.2.	Localización de espines con gradientes de campo	53
1.5.3.3.	Excitación selectiva del espín.....	53
1.5.3.4.	Obtención de la imagen por eco de espín.....	54
1.5.3.5.	Obtención de la imagen por eco de gradiente	55
1.5.3.6.	Codificación espacial	56
1.5.3.7.	Definición de corte	57

1.5.3.8. Selección de corte.....	58
1.5.3.9. Obtención de la imagen completa	58
1.5.3.10. Imagen por Fourier parcial	59
1.5.3.11. Imagen por Fourier 3D.....	60
1.5.4. Ventajas y desventajas	60
CAPITULO II	57
METODOLOGIA.....	57
INTRODUCCIÓN.....	57
2.1. MATERIALES	58
BASE DE DATOS ESTRUCTURALES	59
• Protein Data Bank	59
• Formato pdb	59
.....	59
2.2. METODOS.....	60
• Construcción de la caja y aplicación del campo de fuerza.....	61
• Archivo data	61
• Aplicación del campo de fuerza	62
Creación del archivo de entrada.....	63
• Input	63
Minimización de la energía del sistema	64
Cambio de cargas	65
Modelos de agua	66
Dinámica	69
• Dinámica de termalización.....	69
• Dinámica isobárica.....	69
• Dinámica de producción.....	70
Archivo de entrada	70
Creación de la estructura del agente activado Ca- SNBD-FDG.....	72
• Estructura FDG	72
• Componente proteico	75

2.3. DATOS EXPERIMENTALES.....	78
CAPITULO III	76
RESULTADOS – DISCUSION.....	76
3.1. PROGRAMAS ESCOGIDOS	76
3.1.1. Lammmps.....	76
3.1.2. Visual molecular Dynamics:	77
3.1.4. Wolfram Mathematica:	77
3.2. CONSTRUCCION DE LA CAJA	77
3.3. Aplicación del campo de fuerza	78
3.3.1. Implementación del campo de fuerza CVFF para el sistema Gd-SNBD y solución de problemas con parámetros.....	79
3.4. MINIMIZACION DEL SISTEMA.....	81
3.4.1. PRIMERA PRUEBA	81
3.4.2. SEGUNDA PRUEBA.....	84
3.4.2.1. Estilo steepest descent (<i>Sd</i>)	85
3.4.2.2. Estilo del gradiente conjugado (<i>cg</i>).....	86
3.4.2.3. Estilo Hessian-free truncated Newton (<i>hftn</i>)	87
3.4. ESTRUCTURA MINIMIZADA	89
3.5. CAMBIO DE CARGAS.....	93
3.6. DINAMICA.....	- 100 -
3.6.1. Dinámica de Termalización	- 101 -
3.6.2. Dinámica isobárica:	- 104 -
3.6.3. Dinámica de Producción	- 109 -
3.7. ANALISIS DE TOPOLOGIA (ESTRUCTURA).....	- 113 -
3.7.1. Dinámica de Termalización	- 114 -
3.6.1.1. Enlaces	- 114 -
3.7.1.2. Ángulos	- 115 -
3.7.1.3. Diedros	- 117 -
3.7.2. Ensamblaje isobárico Vs. Dinámica de producción:.....	- 119 -
3.6.2.1. Distancias	- 119 -
3.7.2.2. Ángulos	- 121 -

3.7.2.3. DIEDROS.....	- 123 -
3.8. UNION DE ESTRUCTURAS.....	- 124 -
3.8.1. Estructura fdg.....	- 124 -
3.8.2. Estructura de la proteína.....	- 125 -
3.9. CONSTRUCCION DE LA CAJA:	- 128 -
3.9.1. Creación del archivo DATA	- 128 -
3.9.2. Minimización del complejo.....	- 128 -
3.10. DINÁMICA MOLECULAR	- 129 -
3.11. TASA DE INTERCAMBIO DEL AGUA	- 139 -
3.11.1. Dinámica de Termalización	- 140 -
3.11.2. Dinámica isobárica.....	- 142 -
3.11.3. Dinámica de producción.....	- 144 -
4.1. CONCLUSIONES	128
4.2. RECOMENDACIONES:	130
BIBLIOGRAFÍA:.....	131
ANEXOS:	143

Índice de Ilustraciones:

Capítulo I:

Marco Teórico

Ilustración 1. 1: los medios de contraste yodados formados por un anillo benceno y 3 átomos de yodo.....	13
Ilustración 1. 2: Número de hidratación (q), tiempo de vida en la molécula de agua (τ_m) y el tiempo de correlación rotacional (τ_R). Tomado de (12).....	15
Ilustración 1. 3: Los diferentes tipos de modelos de agua muestran la falta de éxito en la reproducción de las propiedades del agua real pero a pesar de ello se describe el comportamiento del agua. Los parámetros de algunos modelos son opuestos así tenemos los tres tipos de modelos en donde a, b, c son de tipo planar y d de tipo tetraédrico en donde punto medio (M) en C, lone pair sites (L) que se marca con q^2	20
Ilustración 1. 4: Modelo de agua TETRAEDRICO con lugares de pares solitarios (Lone pairs sites).....	21
Ilustración 1. 5: El concepto de campo de fuerza se usa para asignar características a cada átomo de la molécula (en este gráfico molécula de etano).Tomado de (41).....	31
Ilustración 1. 6 : Los campos de fuerza son descritos por el potencial de Leonard Jones que es aplicado tanto para enlaces, ángulos, torsión dando así una representación matemática.....	34
Ilustración 1. 7: Oscilador armónico clásico Vs Oscilador armónico cuántico, aplicado el principio de incertidumbre. Tomado de (38).....	37
Ilustración 1. 8: Los elementos del CVFF en su fórmula desenrollan los ángulos, enlaces., diedros entre otros términos descritos con sus componentes	38
Ilustración 1. 9: Una excepción a esta regla es cuando la molécula que se está simulando es de alta energía (causada, por ejemplo, por átomos o una temperatura objetivo de alta superposición), lo que podría forzar a una función de estilo Morse para permitir que los átomos unidos, es decir un átomo pesad con otro átomo más liviano. Tomada de (38)	39
Ilustración 1. 10: Representación de i,j,k,l ordenadas por 4 átomos de izquierda a derecha	43
Ilustración 1. 11: Dos átomos de hidrogeno unidos al átomo de oxigeno mediante un enlace covalente. Tomando una estructura no lineal de forma triangular entre los átomos con ángulo de 105^0 entre sí. (42).....	43
Ilustración 1. 12: Momento Magnético: causado por la orientación aleatoria del campo magnético de los electrones. Tomado de (3).....	45

Ilustración 1. 13: Estructura del átomo; en la estructura está presente tanto el núcleo, protones, electrones y se encuentra presente un claro ejemplo del átomo de hidrogeno (1)	47
Ilustración 1. 14: Mov. de RMN; en el proceso para la obtención de la IRM se produce dos tipos de movimientos que son: 1) Mov. Rotación 2) Mov. Precisión.....	48
Ilustración 1. 15: Alineación; los protones de los hidrogeno están en posición paralela o antiparalela se suman dando la magnetización. Tomado de (3).....	48
Ilustración 1. 16: Campo externo (B0) producida por el movimiento de precisión más su velocidad, alineando si los átomos que se encuentran presentes bajo el dominio del campo de fuerza B0.Tomado de (3).....	49
Ilustración 1. 17: Ec.Larmor ; Representación de la ecuación para poder esquematizarse con el campo magnético externo. Tomado de (3)	50
Ilustración 1. 18: Pulso de 90° referente tanto al tiempo longitudinal y transversal, uno en secuencia del otro por la interrupción del pulso de los protones. Tomado de (3).....	51
Ilustración 1. 19: La frecuencia de Larmor es proporcional a la intensidad del campo magnético. Si se varía la frecuencia de la señal al cambiar el campo magnético linealmente a través de la muestra, las frecuencias en diferentes posiciones también variarán linealmente. Tomada de (3).....	53
Ilustración 1. 20: Tiempo de relajación transversal; obtenida por una disminución de la magnetización transversa en un 37 %. Tomado de (3).....	54
Ilustración 1. 21: Tiempo de eco; es inversamente proporcional a la señal y por lo tanto a la intensidad. Tomado de 3.....	55
Ilustración 1. 22: Pulso de 180 ° actuando con una pared de goma para que algunos protones cambien de dirección, teniendo una secuencia en la rapidez de los protones, estos efectos se observan en T2 ya que tiene una secuencia rápida de imagen. Tomado de (3)..	55

Capítulo II:

Metodología

Ilustración 2. 1: construcción de nuestra base de simulación (caja de agua cúbica con Ca-SNBD) la misma que cuenta con 216 H ₂ O y 1 SNBD a 1.093gr/cc que es un promedio de densidad entre las dos estructuras llegando a tener una configuración homogénea para aplicar el CVFF.FRC.....	61
Ilustración 2. 2: Modelo de agua definido por su geometría, cargas atómicas y condiciones de Lennard-Jones que dan la distancia y el ángulo que forman los átomos de la molécula.	67
Ilustración 2. 3: Estructura Ca-SNFD en la cual se muestra los cambios de eliminación de átomos para la unión con el FDG. Las “U” simbolizan la eliminación (parte inferior de la “U”), para ser los lugares en donde se realice la unión y saturación respectiva de la estructura.	74

Ilustración 2. 4: Estructura del FDG en el cual se muestra evidentemente los 2 átomos de flúor de color rosado son reemplazados por átomos de hidrogeno, mientras que desde el oxígeno encerrado en el círculo hacia su derecha se eliminan para posteriormente la unión con la estructura Ca-DOTA.....	75
Ilustración 2. 5: Estructura de la proteína HSA, en la cual se puede observar cada parte que a conforma con sus dos cadena, en la forma Helicoidal propicia de una proteína.....	76
Ilustración 2. 6: Estructura a la que la denominamos complejo. Se encuentra designado con una "U" los lugares de unión de cada estructura formando así el complejo CA-DOTA-FDG-HSA-H2O.....	77
Ilustración 3. 1: Errores en la obtención dela archivo DATA para el compuesto Gd-SNBD	80

Capitulo III:

Resultados y Discusión

Ilustarción 3. 2: Ca-SNFD realizado el cambio del grupo nitrato por el grupo carboxilo señalado por "C"	80
Ilustarción 3. 4: IÓN calcio se aleja de su posición original (2.50 Å), es decir, una diferencia de 0.42 Å en presencia de los átomos de hidrógeno que impiden se ponga en acción la fuerza de atracción de los nitrógenos y a su vez los enlaces propios de esta clase de ión	82
Ilustarción 3. 5: Parámetros obtenidos d ela segúnd aprueba realizada par ala minimización del sistema	84
Ilustarción 3. 6: Criterios de minimización a cumplirse y resultados obtenidos con el estilo Sd.....	85
Ilustarción 3. 7: Parámetros del estilo cg y resultados obtenidos para la minimización	86
Ilustarción 3. 8: Estilo hftn con su respectivos mocandos d eentrados y su respuestas de ellos.....	87
Ilustarción 3. 9: Estructura minimizada cumpliendo el criterio de tolerancia con el estilo Sd de minimización, mostrando los átomos de mayor interés en comportamiento como son los nitrógenos(N), oxígenos(O) y el ión calcio (Ca), mismos que muestran un movimiento ligero reubicándose en las posiciones respecto a los demás átomos.	90
Ilustarción 3. 10: Comandos a cumplirse para la minimización del sistema que contiene 216 aguas y 1 molécula de Ca-SNBD.	90
Ilustarción 3. 11: Resultados obtenidos de la ilustración 3.10 en la minimización	91
Ilustarción 3. 12: Pasos de minimización obtenidos por el criterio Sd, en el cual se encuentra los parámetros como pasos, temperatura, energía, persión y volumen que describen con el cambio que se v arealizando en cada paso de minimización.....	91

Ilustarción 3. 13: Comparación de graficas de cargas. (A) Proporcionadas por el programa anterior y (B) cargas del programa NAMD que proporcionan las nuevas cargas a ocupar. 94

Ilustarción 3. 15: Estructura Ca-DOTA-FDG, preparada para la adición de la proteína, en donde se produce enlaces de resonancia saturando el anillo de benceno y el oxígeno pertinente. - 126 -

Ilustarción 3. 16: Estructura Ca-DOTA-FDG-H20, es la estructura final después de la unión de cada una de sus partes mostradas por una letra "U" el sitio de unión para dar origen a nuestro complejo..... - 127 -

Ilustarción 3. 17: Esqueleto de la formación de una proteína, que son producto de uniones de aminoácidos - 131 -

Ilustarción 3. 18: Estructura de nuestro hidrocarburo por medio del programa Gauss-View. - 138 -

Índice de Tablas

Capítulo I:

Marco Teórico

Tabla 1. 1: Quelatos de gadolinio.....	15
Tabla 1. 2: Parámetros de los modelos de agua de acuerdo al potencial de Buckingham con sus componentes en una superficie flexible en relación a los gráficos 1 y 2	22
Tabla 1. 3: Propiedades físicas del modelo SSD, SPC, TIP3P entre otros con condiciones de 25 grados centigrados y a una atmosfera de presión excepto Six in situ con 20 C y el modelo QCT a 27 C.....	25
Tabla 1. 4: Parámetros de no-enlace, geometría y propiedades electrostáticas de los tres modelos puntuales del agua que son TIP3P original y modificado, SPC original y modificado y el modelo SPC/E	27
Tabla 1. 5: En el sistema de simulación tenemos su periodo (ns) y a su vez la temperatura; misma que dependerá del modelo de agua a simular, para saber si se debe o no ser controlada y por cuanto tiempo.	29
Tabla 1. 6: Selft-diffusion coefficients ($10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$) para los tres modelos principales del agua usando las partes de SLOPE de MSD (t) vs tiempo (ps) teniendo en cuenta la interacción con el medio ya que provocara nonbonded (a: modelo 1 b: modelo 2).....	30
Tabla 1. 7: Términos potenciales comunes en los principales campos de fuerza (37).....	47
Tabla 1. 8: Núcleos presentes en equipos de resonancia magnética; tipos de núcleos atómicos que pueden ser ocupados para la obtención de IRM con diferentes intensidades, se detallan las frecuencias de resonancia para diferentes intensidades de campo magnético externo.	46

Capítulo II:

Metodología

Tabla 2. 1: Contenido de un archivo formato PDB, de una parte de la estructura cristalografía del quelato	59
Tabla 2. 2: Formato ejemplar de datos termodinámicos obtenidos en la dinámica de producción.	79
Tabla 2. 3: Formato ilustrado del archivo dump atom: mostrando las posiciones de algunos átomos.....	80
Tabla 2. 4: Formato del archivo dump custom.....	81

Capítulo III:

Resultados y Discusión

Tabla 3. 1: Diferencia porcentual de las cargas A y B, respecto las distancias de las minimizaciones.....	94
Tabla 3. 2: Diferencia de cargas A y B de la minimización respecto al nitrógeno	95
Tabla 3. 3: cambio porcentual proporcionado por el cambio de cargas, comparado tanto entre las dos minimizaciones (A-B) y a su vez la estructura de cristal(C).....	96
Tabla 3. 4: Cambio porcentual por cargas nuevas dado con relación a los ángulos de la estructura de cristal (C) y a su vez entre la minimización respectiva (A-B).....	97
Tabla 3. 5: Tipo de ángulo N-Ca-C cambia con relación al estructura de cristal y cambio entre la minimización por el cambio de cargas en oxígenos y carbonos.....	98
Tabla 3. 6: Con el cambio de las cargas también se efectúa modificaciones en el estilo de ángulo diedro Ca-N-C-C	- 99 -
Tabla 3. 7: Cambio porcentual del ángulo diedro Ca-N-C-C Y O-C-C-N en el cual esta implícito el elemento que tiene el cambio de valor en la carga demostrándose la comparación con la estructura cristalográfica.	- 100 -
Tabla 3. 8: Valores de distancia obtenidos en la dinámica de termalización	- 114 -
Tabla 3. 9: Distancia de los oxígenos al ión Calcio en la termalización comparados con valores de cristalografía y argumentados	- 115 -
Tabla 3. 10: Distancia de los oxígenos lejanos en la termalización	- 115 -
Tabla 3. 11: Angulo obtenidos en la termalización	- 115 -
Tabla 3. 12: Angulo C-N-C con sus valores obtenidos en la termalización.....	- 116 -
Tabla 3. 13: Valores del estilo de ángulo C-C-O obtenidos en la termalización	- 117 -
Tabla 3. 14: Angulo diedro Ca-N-C-C obtenido en la termalización.....	- 118 -
Tabla 3. 15: El segundo estilo de ángulo diedro O-C-C-N en la dinámica de termalización..	- 118 -
Tabla 3. 16: Valores de distancia Ca-N del ensamble isobárico y dinámica de producción...-	- 119 -
Tabla 3. 17: Valores del ángulo Ca-O en el ensamblaje isobárica y dinámica de producción-	- 121 -
Tabla 3. 18: Valores del ángulo N-Ca-C del ensamblaje isobárica y de la dinámica de producción	- 121 -
Tabla 3. 19: Valores comparados después de la realización del ensamblaje isobárico y de la dinámica de producción en los ángulos C-N-C	- 122 -
Tabla 3. 20: ángulo C-C-O obtenido en el ensamblaje isobárico y en la dinámica de producción	- 122 -
Tabla 3. 21: valores Ca-N-C-C obtenidos en el ensamblaje isobárico comparados con la dinámica de producción.....	- 123 -
Tabla 3. 22: O-C-C-N obtenidos tanto en el ensamblaje isobárico y en la dinámica de producción	- 123 -

Tabla 3. 23: Datos de comparación de número de hidratación, intercambio del agua, con distintas condiciones..... - 145 -

Índice de Gráficos:

Capítulo I:

Marco Teórico

Gráfico 1. 1: Potencial de Lennard- Jones compuesto de una potencia térmica repulsiva y un potencial atractivo de sexto término..... 24

Capítulo II:

Metodología

Capítulo III:

Resultados y Discusión

Gráfico 3.1: RMSD de la minimización para el ión calcio referente a la estructura de cristal, la misma que no posee adición de los hidrógenos en cada átomo de nirogeno..... 83

Gráfico 3.2: Estilo SD de la minimización mostrando la energía en el proceso de simulación..... 85

Gráfico 3.3: Energía del estilo hftn realizando la minimización durante 3525 pasos..... 87

Gráfico 3.4: Descripción de la disminución de la energía con el estilo Sd, observado que en los primeros pasos decae en mayor proporción la energía. 92

Gráfico 3.5: En la minimización se obtiene el valor del RMSD el cual se obtiene comparándolo con la con posición inicial del sistema 92

Gráfico 3.6: Energía de la termalización durante el tiempo de simulación..... - 101 -

Gráfico 3.7: En la dinámica de termalización se logró que la temperatura se mantenga alrededor de 310⁰k..... - 102 -

Gráfico 3.8: Dinámica molecular con Volumen constante durante 500 ps de termalización.- 102 -

Gráfico 3.9: RMSD obtenido en la termalización del Ca-SNBD comparado con al estructura de cristalografía, que es la posición de partida - 103 -

Gráfico 3.10 : Valor RMSD de cambio Total del sistema (Ca-DOTA-FDG-H2O) comparado con la posición de partida de la simulación..... - 103 -

Gráfico 3.11: RMSD del sistema a simular comparado con el sistema de la dinámica de termalización - 104 -

Gráfico 3.12: Valor comparado con la estructura obtenida en la termalización del ión para encontrar cuanto tiene de desplazamiento la molécula Ca-SNBD en el ensamble isobárico. -	105 -
Gráfico 3.13: Energía obtenida durante el tiempo de simulación del ensamble isobárico.....-	106 -
Gráfico 3.14: En el ensamblaje isobárico, obtenemos la variación de la temperatura durante 3000ps.....	- 107 -
Gráfico 3.15: Volumen del sistema durante simulación del ensamble isobárico.....	- 108 -
Gráfico 3.16: RMSD del sistema obtenido en la dinámica de producción en relación a la última estructura del sistema del ensamble isobárico.....	- 109 -
Gráfico 3.17: Valor RMSD de la molécula durante la dinámica de producción comparado con el de la molécula Ca-SNBD del último paso en el ensamble isobárico.....	- 110 -
Gráfico 3.18: RMSD obtenido de la dinámica de producción pero en relación al punto inicial del sistema en la minimización, obteniendo un desplazamiento durante todo su tiempo de simulación.....	- 110 -
Gráfico 3.19: Desglosamiento de la temperatura durante la dinámica de producción. -	111 -
Gráfico 3.20: Energía del sistema obtenido durante la simulación de dinámica de producción.	- 112 -
Gráfico 3.21: Volumen de la caja durante 30000ps de simulación aplicando dinámica de producción.	- 112 -
Gráfico 3.22: Movimiento del ángulo C16-C17-O36 durante 600ps de simulación en donde mantenemos la temperatura estable.	- 116 -
Gráfico 3.23: Comparación de la distancia N28- Ca durante el ensamblaje isobárico y la dinámica de producción, observando cómo se va estabilizando en el paso del tiempo. -	120 -
Gráfico 3.24: Descripción del intercambio de las moléculas de agua con referencia al ión Calcio en la termalización.	- 141 -
Gráfico 3.25: En el tiempo de ensamblaje isobárico se muestra que hay un mayor intercambio de las moléculas de agua, visualizando la tasa de intercambio del agua... -	142 -
Gráfico 3.26: La tasa de intercambio del agua durante la dinámica de producción muestra que todas las aguas tienen movimiento por el diámetro de 2.5Å	- 144 -

Índice de Anexos:

Anexo 1: Input de la minimización

Anexo 2: Cargas de NAMD

Anexo 3: Input de la dinámica de termalización

Anexo 4: Input del ensamble isobárico

Anexo 5: Input de la dinámica de producción

Anexo 6: Análisis Topológico de la minimización

Anexo 7: Análisis Topológico de la termalización

Anexo 8: Análisis Topológico del ensamble Isobárico

Anexo 9: Análisis Topológico de la dinámica de producción

RESUMEN

Este proyecto de tesis tiene como objetivo la modelación de la tasa de intercambio de agua para agentes bioactivados utilizados en resonancia magnética nuclear, técnica implementada en medicina con fines de diagnóstico y tratamiento para identificar expresiones génicas en células cancerígenas. Utilizando dinámica molecular atomística se puede extraer dos de los tres parámetros que determinan cuan eficiente es un agente de contraste. La dinámica molecular (DM) constituye una excelente herramienta para evaluar agentes de contraste *in-silico*. Se utiliza el software LAMMPS para estudiar compuestos químicos (agentes de contraste), implementado en el cluster HPCC (*High Performance Computing Clusters*) que cuenta con 8 nodos, sistema operativo GNU/Linux, capacidad de almacenamiento IDE o ATA: velocidad de 66MB/s, ubicado en la Universidad San Francisco de Quito.

En este *caso particular utilizando [Gd(DOTA-FPG)(H₂O)]*, como modelo, y substituyendo el ion de Gd por Ca se ha encontrado que el aumento de relajación de los protones está dado por el ion (calcio), campo aplicado (interno y externo), metabolismo del cuerpo humano, pH, enzima de uso y a su vez la relaxividad. En la medición de la tasa de intercambio de agua a 2.5 Å llamada primera esfera encontramos una presencia de 1 moléculas de agua que interactúan con el agente de contraste para cumplir su función. Al comparar los valores modelados de tasas de intercambio de agua con valores experimentales podemos concluir estableciendo un método de screening para nuevos agentes basados en este parámetro y en otros que se pueden calcular a partir de los mismos resultados.

Se recomienda para su cálculo simular con cuidado el movimiento de las moléculas de agua y estero alrededor del agente de contraste validando la variación de tasa de intercambio de agua de un complejo bioactivado de Gd (agente de contraste que adicionalmente de mejorar la resolución de la imagen, se activa en el sitio en el que está presente una enzima como substrato).

ABSTRACT

This thesis Project aims at the modeling of the rate of change water for agents bio-activated agents used in nuclear resonance, engineering implemented in medicine for diagnostic purposes and treatment to identify gene expression in cancer cells.

Using atomistic molecular dynamics can be remove two of the three parameters that determine how efficient is a contrast agents. Molecular dynamics (DM) is an excellent toll to evaluate contrast agents *in-silico*. Software is used the LAMMPS to study chemical compounds (contrast agents), implemented in the HPCC cluster (High Performance Computing Clusters) with 8 nodes, GNU/Linux operating system, storage capacity IDE or ATA: speeds of 66MB/s, located in the research laboratory of the University of San Francisco.

In this particular case using [Gd(DOTA-FPG)(H₂O)] as a model and by substituting ion of Gd by Ca has been found to increase the relaxation of the protons is given by ion (calcium), applied field (internal of external), metabolism of the human body, pH, enzyme of use and in turn the relaxivity. In the measurement of the rate of water exchange to 2.5 Å called first area we found a presence of 1 water molecular that interact with the contrast agent to fulfill its function.

When comparing the modeled values of rates of exchange of water with experimental values we can conclude by providing a screening method for new agents based on these parameters and in others that can be calculated from the same results.

It is recommended for its calculation carefully simulate the movement of water molecules and style around the contrast agent validating the variation of rate of exchange of water from a bio-activated complex of Gd (contrast agent that additionally improves the resolution of the image, it is active in the site in which an present as a substrate).

INTRODUCCIÓN

La nanotecnología ha tenido un gran impacto en el desarrollo de la vida humana, en especial en los campos de conocimiento como: electrónica, telecomunicación, computación, medicina, medio ambiente, biotecnología entre otros (1). Esto va desde la modelación y simulación computacional hasta el diseño y creación de nuevos materiales

Uno de los objetivos de la nanotecnología es el desarrollo de nuevos materiales y compuestos partiendo a escala atómica. Este método innovador rompe el esquema tradicional “top down” de desarrollo de materiales proponiendo un cambio llamado “botton up” al método, es decir, modelando un material a nivel atómico para que tenga ciertas características manifestadas a nivel macroscópico (2).

La nanotecnología en la medicina ha servido para el desarrollo de nuevos compuestos químicos utilizados como agentes de contraste para el diagnóstico médico mediante la resonancia magnética nuclear.

Los agentes contraste utilizados en RMN en la actualidad tienen una desventaja que radica en el gran tiempo que toma para que se pueda eliminar del cuerpo humano ya que no se localiza específicamente en la zona de interés, sino se riega por todos los tejidos del ser humano.

Tomando en cuenta estas consideraciones se pueden desarrollar nuevos nano-compuestos que mantengan el objetivo principal de los agentes de contraste pero minimicen los efectos colaterales que causan.

La simulación de los agentes de contraste para RMN son sustancias aplicadas en medicina para la realización de diagnósticos. En la última década, el uso de estos compuestos químicos en las estructuras médicas ha incrementado significativamente.

Los pacientes son inoculados con estas sustancias para mejorar la imagen de resonancia magnética en donde se pueda visualizar con mayor precisión los tejidos blandos, puesto que estos aumentan su densidad al ser inoculados por los agentes de contraste.

En este trabajo de tesis se pretende utilizar la dinámica molecular para el desarrollo de un nuevo compuesto que sirva de base para la creación de futuros agentes de contraste como agente de contraste para RMN, el cual mantenga las características principales pero con mejoras notables.

El método a utilizarse mediante dinámica molecular es *in silico*. Para este fin se emplea programas computacionales como: *LAMMPS* para realizar las simulaciones posteriormente detalladas, *VMD* para su visualización y *WOLFRAM MATHEMATICA 9.0* para el análisis de los datos obtenidos.

La variable que se ocupa para probar la hipótesis es la medición de la tasa de intercambio del agua (q). Este parámetro de los agentes de contraste es un indicador para mostrar cómo la estructura del complejo se degrada en el tiempo de simulación y además para analizar la relación que tiene con el medio acuoso de su alrededor.

Durante el desarrollo del trabajo de tesis nos encontramos con el principal conflicto el cual radica en que *LAMMPS* no provee los parámetros específicos necesarios para las simulaciones, lo que ocasiona que los resultados obtenidos son una aproximación a las situaciones reales.

La validación de los resultados se realizó mediante la comparación de trabajos de investigación precedentes. Mediante la comprobación de datos resultantes del parámetro del intercambio del agua se pudo determinar si la hipótesis es verdadera o nula. (3) (4)

ANTECEDENTES

La Imagen por Resonancia Magnética Nuclear IRM es una técnica no invasiva para obtener imágenes tridimensionales en tiempos real de células, tejidos y órganos. El proceso de producción de la imagen utiliza un campo magnético uniforme para alinear los momentos magnéticos de los átomos de hidrógeno del agua presente en el cuerpo humano, luego se aplica un corto pulso de radiofrecuencia perpendicular al campo magnético. La rapidez con la que los átomos de hidrógeno se realinean con el campo magnético, llamado tiempo de relajación T_1 , está directamente relacionado con los elementos circundantes al átomo de hidrógeno, en una imagen producida en base a T_1 .

Los agentes de contraste en IRM son usados a menudo para aumentar la resolución de las imágenes de un área específica aumentando la rapidez de T_1 en los protones del agua circundante. El Gadolinio es altamente paramagnético por lo que disminuye el tiempo de relajación (aumentando su rapidez) mediante interacciones dipolares, haciéndolo muy adecuado como agente de contraste para IRM.

El gadolinio es una tierra rara de elevada toxicidad en su forma básica, pero que, unida a quelatos, obtiene una gran seguridad en uso clínico, con una biocinética similar a otros agentes de contraste. Los agentes de contraste basados en Gadolinio se utilizan en más del 30% de los estudios de IRM. (1)

La primera generación de agentes de contraste se distribuía indiscriminadamente por todo el flujo sanguíneo y los espacios intersticiales delineando diferentes tipos de tejidos. En la actualidad, se han desarrollado una serie de agentes de contraste bioactivable (2-5). Estos agentes se activan solo en respuesta a condiciones fisiológicas específicas como el pH, determinadas actividades enzimáticas o concentraciones de iones metálicos, mejorando así la especificidad de las imágenes de IRM. Estos nuevos agentes han sido desarrollados utilizando GD-DOTA (FDG)(H₂O). DOTA es un quelato que posee una alta constante de

enlace con Gd (III) y ofrece una alta sensibilidad cuando uno de sus nitrógenos se utiliza para el proceso de activación.

El reto principal en el desarrollo de la nueva generación de agentes de contraste para IRM es el de aumentar la sensibilidad *in vivo* y la resolución. Los agentes de contraste actuales requieren ser inyectados en cantidad de gramos y la imagen es limitada a los lugares donde estos compuestos se acumulan en grandes cantidades (6). Una mayor relaxatividad del Gd(III) como agente de contraste puede conseguirse aumentando el número de moléculas de agua en la esfera interior del Gd(III) incrementando así la rapidez intercambio del agua, esto se puede lograr con la introducción del agente de contraste que pueda optimizar este proceso.

JUSTIFICACION

Las investigaciones teóricas que son posibles mediante la aplicación de métodos computacionales permiten el modelado, simulación de nano sistemas, y su caracterización para el diseño de nuevas aplicaciones tecnológicas (5). En este proyecto de titulación se propone la modelación de agentes de contraste, para Imagenología de Resonancia Magnética (MRI), (5) por medio de Dinámica Molecular. Estos compuestos químicos permiten el mejoramiento de la intensidad de señal en la imagen producida, las mismas que son utilizadas en técnicas médicas para el detalle de órganos y tejidos (sistemas blandos) (6).

Estas simulaciones de agentes de contraste se realizarán con la finalidad de poder evaluar *in silico* múltiples complejos de gadolinio para nuevas tareas de imagen basadas en RM que reflejen fenómenos fisiológicos y celulares de importancia clínica (agentes de contraste bioactivados). (6) El objetivo principal de este trabajo es la medición del intercambio del agua, que es un parámetro clave para evaluar cuán bueno es el agente de contraste a ocupar. (7) (6)

OBJETIVOS:**OBJETIVO GENERAL**

- Determinar el parámetro de tasa de intercambio del agua en , $[\text{Gd}(\text{DOTA-FPG})(\text{H}_2\text{O})]$, para comparaciones y optimización de futuros agentes de contrastes bioactivados propios de aplicación en Imágenes de resonancia magnética nuclear

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Estudiar las técnicas y principios relacionados al IRM, Agentes de contraste, incluyendo la recopilación de estructuras cristalográficas y de Resonancia Magnética Nuclear del $[\text{Gd}(\text{DOTA-FPG})(\text{H}_2\text{O})]$ y complejos relacionados.
- Identificar y validar la teoría (Modelo teórico) necesaria para la simulación y cálculo de la tasa de intercambio de agua por medio de la creación de un modelo atómico simplificado del agente de contraste.
- Minimizar la estructura molecular del $[\text{Gd}(\text{DOTA-FPG})(\text{H}_2\text{O})]$ a través de un modelo teórico validado.
- Simular el movimiento de las moléculas de agua alrededor del agente de contraste, para un análisis de datos calculados de la variación de tasa de intercambio de agua con Gd.
- Comparar los valores modelados de tasas de intercambio de agua con valores experimentales

CAPITULO I

MARCO TEORICO

1.1. Dinámica molecular

1.1.1. Definiciones

La dinámica molecular se entiende como la simulación de grandes sistemas de átomos o partículas, para lograr estudiar el comportamiento de superficies catalíticas (inhibidores, protones, metales de transición, enzimas) hasta sistemas biológicos (proteínas). (8)

Las estructuras de referencia tomadas para el estudio son obtenidas por:

- Rayos X: Obtención de fotografías estáticas
- RMN: Obtención de estructuras tomadas logrando obtener el movimiento molecular.

Estas técnicas ayudan a encontrar con gran precisión la estructura del sistema pero ninguna es capaz de acceder a todas las escalas de tiempo. A través de estas estructuras la dinámica molecular hace un análisis microscópico virtual de alta resolución espacial.

La dinámica molecular analiza sistemas que no son más que un conjunto de partículas por medio de métodos numéricos, dando así un punto intermedio entre la parte experimental y la parte teórica, conocido como, el estudio *in silico* (Experimentos computacionales).

Richard Feynman en el año de 1963 propuso que los seres vivos se podían entender por medio de movimientos y colisiones de los átomos, pero todo esto ha cambiado con la dinámica molecular ya que se ha logrado demostrar que las partículas (DNA, proteínas) son máquinas en movimiento. El desarrollo de la dinámica molecular ha logrado por medio de la Ec.de Boltzman en el siglo XIX, el movimiento y las funciones de las partículas. (8)

La dinámica molecular es un campo multidisciplinario que abarca tanto la física, matemática, química, entre otras ciencias, desarrollando en la BIOFISICA (física clásica y física cuántica); para estudiar los cuerpos animados usando las leyes de la mecánica newtoniana (Laplace) que son simulaciones de comportamiento real y exacto de un sistema molecular.

Las interacciones entre partículas se modelan a través de campos de fuerza que pueden ser adecuados o no al sistema, permitiendo estudiar el comportamiento en un medio físico. Hay muchas propiedades que resultan de interés como la ruptura o formación de los enlaces.

Las simulaciones de dinámica molecular dan como resultado la posición y la velocidad de cada átomo de la molécula en un lapso de tiempo, obteniendo así la trayectoria de los átomos o moléculas involucradas.

El uso de la modelación para lograr una visión a nivel atómico y molecular de los procesos tales como las reacciones biológicas son herramientas de interés investigativo [27]. Existen diferentes modelos que dependen de la exactitud que se desea obtener del sistema.

1.1.2. Mecánica molecular

El método de la mecánica molecular se basa en la posibilidad de transferir parámetros, es decir, la energía asociada con un movimiento molecular determinado, por ejemplo, el estiramiento de un carbono con enlace sencillo a otro carbono, será la misma de una molécula a la siguiente.

La eficiencia de esta técnica se evalúa en cuatro factores:

1. Forma funcional de la expresión de energía
2. Parametrización de la constante por medio de datos obtenidos
3. Optimización de las constantes de los datos
4. La capacidad del usuario para aplicar la técnica.

Las energías calculadas por mecánica molecular son generalmente energías conformacionales, destinada a predecir la diferencia en energía a partir de una conformación a la siguiente, excluyendo los efectos de los enlaces y ángulos.

Los métodos de la mecánica molecular pueden ser modificados para calcular la formación de parámetros como ángulos, enlaces; mediante la inclusión de un esquema de base de datos o de cálculos para producir energías de enlace que puedan añadirse a la energía conformacional, ya que en general este método no trabaja con estructuras de transición (estructuras en equilibrio).

1.1.2.1. Energías

Los campos de fuerza son usados en sistemas moleculares y pueden ser analizados por la dinámica molecular a través del medio físico (representación). La energía es descrita como la suma de términos necesarios para distorsionar la molécula en una determinada forma (9) (10):

$$E = \sum_{\text{enlaces}} E_{\text{extensión}} + \sum_{\text{ángulos}} E_{\text{rotación}} + \sum_{\text{diedros}} E_{\text{torsión}} + \sum_{\text{pares}} E_{\text{no enlazante}}$$

Ecuación 1.1

La expresión de energía consiste en la suma de las ecuaciones clásicas simples Ecuación 1.1. Estas ecuaciones describen diversos aspectos de la molécula, tales como enlace de estiramiento, enlace de flexión, torsiones, interacciones electrostáticas, fuerzas de van der Waals y enlaces de hidrógeno.

Donde tenemos:

La energía de extensión: Distancia representada entre dos átomos en contacto. (Ver Ecuación 1.2)

$$E_{\text{extensión}}(R^{AB} - R_0^{AB}) = K^{AB}(R^{AB} - R_0^{AB})^2$$

Ecuación 1.2

Energía de rotación: Proporcionada por tres átomos en contacto entre ellos para ver su movimiento del ángulo θ . (Ver Ecuación 1.3)

$$E_{\text{rotación}}(\theta^{AB} - \theta_0^{AB}) = k^{AB}(\theta^{AB} - \theta_0^{AB})^2$$

Ecuación 1.3

Energía de torsión: Viene dado por 4 átomos que forman un ángulo llamado torsión, que matemáticamente está descrito a través de la

$$E_{\text{torsión}}(w) = \sum_{n=1} V_n \cos(nw)$$

Ecuación 1.4

Energía electrostática: dada por interacciones entre los átomos por medio de la energía electrostática de dos átomos(A y B).

$$E_{electrostática}(R^{AB}) = \frac{\mu^A \mu^B}{\varepsilon (R^{AB})^3} (\cos \chi - 3 \cos \alpha_A \cos \alpha_B)$$

Ecuación 1.5

Energía de Lennard-Jones: Tipo de interacciones no enlazantes entre los átomos proporcionada por las fuerzas de Lennard Jones, obtenidas en la Ecuación 1.6

$$E_{LJ}(R) = \varepsilon \left[\left(\frac{R_0}{R} \right)^{12} - 2 \left(\frac{R_0}{R} \right)^6 \right]$$

Ecuación 1.6

Los términos en la expresión de energía que describen un solo aspecto de la forma molecular, como enlaces de estiramiento, ángulo de flexión, inversión anillo, o el movimiento de torsión, se los denomina en forma genérica como términos de valencia.

1.1.2.2. Optimización

La dinámica molecular se concreta en resolver cálculos de energía para sistemas ya sean estos uniones de moléculas orgánicas con moléculas inorgánicas como en el presente trabajo, en el que se hace la relación entre la unión anteriormente mencionada, o a su vez puede tratar con aminoácidos, proteínas, ADN, ARN. (10)

El proceso de cálculo de energía puede ser complejo ya que depende del sistema a analizar. Se debe tener en cuenta que todos los sistemas deben estar en equilibrio o a su vez provenir de una estructura estable.

Los resultados obtenidos por medio de la dinámica molecular se realizan a través de métodos *in-silico*, que pueden servir posteriormente para la comparación con datos experimentales del sistema, la estructura base tiene que ser de una geometría optimizada.

En la optimización, y en si en todos los procesos en donde se realiza dinámica molecular, se debe tomar en cuenta que se trata de procesos aleatorios con el fin de llegar al estado de menor energía (estado basal). No se debe olvidar que puede existir otro punto de menor energía, es decir, que no estamos hablando del mínimo absoluto, sino de una reubicación de enlaces, ángulos y diedros de la estructura.

1.1.3. Bases Físicas

1.1.3.1. Potencial de Lennard-Jones

El potencial de Lennard-Jones está aplicado en un par de átomos. (Ver Ecuación 1.7) Este potencial es utilizado en dinámica molecular para probar la teoría y algoritmos existentes en la estructura:

$$V(r) = 4\varepsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right]$$

Ecuación 1.7

En este potencial se puede observar la relación entre dos tipos de fuerza: una fuerza atractiva (Fuerza de Van Der Waals) y una fuerza repulsiva (repulsión de Pauli), en donde la fuerza repulsiva es una expresión exponencial de la distancia. (11)

1.1.3.2. El análisis numérico

Es la rama que se encarga de diseñar algoritmos para, a través de números y reglas matemáticas simples, simular procesos matemáticos más complejos aplicados a procesos del mundo real. (12)

El análisis numérico para sistemas complejos se realiza por ordenadores compuestos por números binarios y operaciones simples., basándose en algoritmos que permitan su simulación o cálculo en procesos más sencillos empleando números.

En general, estos métodos se aplican cuando se necesita un valor numérico como solución a un problema matemático, y los procedimientos "exactos" o "analíticos" (manipulaciones algebraicas, teoría de ecuaciones diferenciales, métodos de integración, etc.) son incapaces de dar una respuesta.

1.1.3.3. Método Monte Carlo

El método de Monte Carlo es utilizado por la física cuántica y la química cuántica ya que involucran múltiples cuerpos en un solo lugar ubicado.

La dinámica molecular elije este método ya que permite simular efectos térmicos en un sistema molecular prediciendo valores de las propiedades de las estructuras, es decir, distribución de cargas, cálculo de constantes dieléctricas, constantes cinéticas de reacción, energía libre, coeficientes de compresión capacidades caloríficas y puntos de cambio de estado. (13)

1.1.3.4. Termalización

Cuando se realiza una optimización de la energía a una estructura en estudio, encontramos las velocidades iniciales a una temperatura cero relativa (menor temperatura) para localizar las posiciones más idóneas.

La termalización es un sistema canónico (NVT), en donde, se mantienen constante el volumen y la masa, mientras que a la temperatura se la mantiene aproximada a una medida deseada, es decir, el sistema se mantiene en una temperatura alrededor de un cierto valor. (14)

La energía de transición conformacional con diferentes energías potenciales se dan por intercambio controlado de un termóstato. El objetivo de los termostatos es añadir o remover energía para mantener una temperatura promedio.

Tenemos termostatos de Langerin, Nose-Hoover, Berendsen.

1.1.3.5. Equilibración

Un sistema isoentálpico – isobárico es un sistema NPT que mantiene constante la presión durante el equilibrio térmico, así como el número de partículas y temperatura, de tal manera que el sistema puede variar. (15)

Es aplicada en una parte de la trayectoria fuertemente supervisada pero no usada para propiedades. Cuando tenemos comportamientos extraños en la trayectoria se puede deducir que falta equilibrar el sistema.

1.2. Agentes de contraste

Los medios de contraste radiológicos (MCR) son sustancias químicas compuestas por moléculas complejas que son inyectadas dentro del torrente sanguíneo, cumplen con el objetivo de mejorar la detección y caracterización de tejidos, vasos (estructuras o fluidos dentro del cuerpo), es decir, aumentan la densidad de los mismos, permitiendo que contrasten de esta forma con las estructuras vecinas. (16)

Los agentes de contraste, ocupados dentro de la resonancia magnética, cumplen el mismo objetivo ya que poseen propiedades paramagnéticas, superparamagnéticas, ferromagnéticas o de compuestos catalíticos, para acortar los tiempos de relajación de la mayoría de los protones de las aguas presentes en el cuerpo humano.

1.2.1. Formas de magnetismo

En cada nivel o subnivel de energía, habrá un número exacto limitado de electrones, estos mismos electrones ocupan con mayor tendencia los niveles de energía menor. Por ese motivo se determina las diferentes formas de magnetismo logradas con las moléculas aplicadas el campo de fuerza.

1.2.1.1. Diamagnetismo

En los átomos con número par de electrones, el apareamiento en cada subnivel de energía evita la formación de dipolos, lo que hace que el número cuántico de su momento angular (m_s) sea igual a 0 (núcleo sin espín). Sin embargo, al someter a este tipo de átomos a un campo magnético externo, es posible lograr una pequeña magnetización, cuya orientación es opuesta a la orientación del campo magnético externo, dirección conocida como

antiparalela y que implica un alto nivel energético. A este comportamiento se le conoce como diamagnetismo.

El diamagnetismo es directamente proporcional a la magnitud del campo magnético aplicado. El término Susceptibilidad Magnética expresa la capacidad que posee un campo magnético para inducir el magnetismo en una cantidad específica, en este caso de habla de la susceptibilidad diamagnética.

La susceptibilidad puede describirse como la cantidad de magnetización que recibe un material cuando es sometido a un campo magnético externo. La magnetización de los elementos diamagnéticos es independiente de su temperatura. Como ejemplo de especie diamagnética están los gases inertes, la mayoría de las moléculas orgánicas y algunos cristales de sales como el cloruro de sodio. (17)

1.2.1.2. Paramagnetismo

Muchos átomos e iones tienen electrones no apareados en su capa externa, lo que hace que posean un momento angular en reposo, un grupo de estos átomos dentro de una muestra pueden no mostrar magnetización debido a que la orientación aleatoria de sus dipolos individuales cancela dicha posibilidad. Sin embargo, al ser sometidos a un campo magnético externo, se presenta una magnetización significativa cuya orientación es paralela al campo magnético externo. Como en los materiales diamagnéticos, la magnitud de la magnetización de la muestra de átomos paramagnéticos es proporcional a la intensidad del campo magnético externo. La susceptibilidad paramagnética es mucho mayor que la susceptibilidad diamagnética.

La orientación paralela de los átomos paramagnéticos con respecto al campo magnético externo es otra diferencia de éstos con los de materiales diamagnéticos. Cuando se logra una alineación paralela de todos los átomos de la muestra paramagnética, se habla de

saturación de la magnetización, la cual es posible para algunos materiales cuando su temperatura es cercana al cero absoluto ($- 273 \text{ C}^0$). (17)

Algunos ejemplos de elementos paramagnéticos son el cromo, el cobre, el oxígeno y el hierro en estados férrico y ferroso. Una de las sustancias con mayor susceptibilidad paramagnética es el Gadolinio, característica que es aprovechada en su uso como material de contraste.

1.2.1.3. Ferromagnetismo

El ferromagnetismo es una propiedad de un grupo de átomos o moléculas dentro de un cristal sólido, organizados en una relación espacial estrecha, formando áreas conocidas como dominios, poseen magnetización neta aún en reposo.

Estos dominios pueden estar localizados en diferentes porciones de una misma estructura sólida y así cancelarse para producir un objeto no magnetizado. Al someter el cuerpo sólido a un campo magnético externo, los momentos magnéticos de cada dominio se orientan en sentido paralelo al de dicho campo, magnetizando la estructura sólida.

Los materiales ferromagnéticos retienen su magnetización aún después de suprimir la exposición al campo magnético externo, en forma de magnetización remanente.

El hierro, el níquel y el cobalto son ejemplos de materiales ferromagnéticos. Es posible desmagnetizar un imán permanente calentándolo hasta un nivel conocido como temperatura Curie, por encima de la cual no ocurre la alineación magnética de los diferentes dominios.

Los MC radiográficos se pueden dividir en positivos o negativos, estos últimos atenúan los rayos X en menor medida que los tejidos adyacentes (como el agua), mientras que los MC positivos atenúan los Rayos X más que los tejidos circundantes. Entre los MC radiográficos positivos están los MC yodados y el bario (17).

1.2.2. Clasificación de los agentes de contraste:

Dentro de radiología los medios de contraste se pueden dividir según la atenuación de los rayos X (16), en:

1.2.2.1. Agentes de contraste Positivos

Atenúan los rayos X más que los tejidos circundantes

- *Medios de contraste yodados:*

Utilizados para Tomografía Computarizada (TAC), Angiografía, fluoroscopia o radiografía convencional (Área de Imagenología), con el principal desempeño de opacificar estructuras que no son radiodensas.

Están formados por un anillo de benceno unido a 3 átomos de yodo (Ver Ilustración 1. 1).
(18)

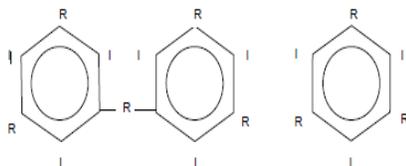


Ilustración 1. 1: los medios de contraste yodados formados por un anillo benceno y 3 átomos de yodo

Los medios de contraste yodado se clasifican según su solubilidad en iónicos y no iónicos.
(16)

- **Medios de contraste yodados iónicos** se disuelven eficientemente en el agua de iones positivos o negativos, es decir, atrayendo los iones que se encuentran en el agua.
- **Medios de contraste yodados no iónicos** mantienen su solubilidad por medio de grupos hidroxilos.

1.2.2.2.1 Agentes de contraste Negativos

Atenúan los rayos X en menor medida que los tejidos adyacentes (como el agua)

Dentro de los medios de contraste positivos encontramos los medios de contraste yodados y de bario.

Medios de contraste Baritados

Son sustancias que contienen sulfato de bario, útiles para zonas del tracto digestivo, puesto que esta sustancia es insoluble en agua y o es absorbida por la mucosa intestinal. (16) (18)

1.2.3. Medios de contraste usados en resonancia magnética

Los medios de contraste utilizados para Resonancia Magnética son paramagnéticos. Estas sustancias aceleran la relajación T_1 de los protones de agua adyacentes, dando lugar a que las estructuras donde se encuentra el agente de contraste tengan mayor intensidad de señal en secuencias ponderadas en T_1 . (16)

Los agentes de contraste utilizados para IRM en su mayoría ocupan quelatos de Gadolinio.

El Gadolinio es el elemento 64 de la tabla periódica (Lantánido - tierras raras), en la naturaleza se encuentra en estado 3+. El Ión de Gd^{3+} es poco soluble en H_2O a un pH de

7.41, es tóxico y se precipita como los fosfatos, carbonatos e hidroxilos dentro del sistema retículo endotelial (hígado, bazo) o del esqueleto, produciendo hepatotoxicidad. (19)

Resumiendo el Gadolinio es un ión paramagnético que en forma de quelato es tolerado por el cuerpo humano. (18)

Este se pueden dividir de acuerdo a su carga en iónicos o no iónicos y dependiendo de la estructura en lineales o macrocíclicos.

QUELATOS DE GADOLINIO (16)	
Quelatos iónicos Lineal	Gadopentetato dimeglumina(Gd-DTPA), Gadobenato Dimeglumina(Gd-BOTA)
Quelatos iónicos cíclicos	Gadoterato Meglumina (Gd-DOTA)
Quelatos no iónicos Lineales	Gadodiamida(Gd-DTPA-BMA) Gadoversetamida(Gd-DTPA-BIMEA)
Quelatos no iónicos cíclicos	Gadobutrol (Gd-BT-DO3A)

Tabla 1. 1: Quelatos de gadolinio

Los agentes de contraste con quelatos de gadolinio (Ver Tabla 1. 1) tienen mayor osmolaridad que los agentes de contraste yodados, los quelatos de gadolinio tienen menos carga osmótica para el paciente que los MC yodados, dada la relativa menor cantidad de MC administrado. La vida media biológica es de 1.5 horas aproximadamente y su excreción es predominantemente renal si la función renal es normal.

1.2.4. Agentes de contraste Bioactivados

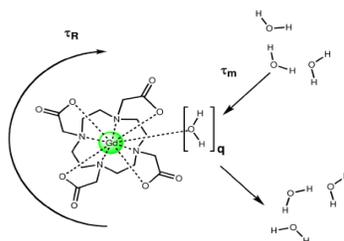


Ilustración 1. 2: Número de hidratación (q), tiempo de vida en la molécula de agua (τ_m) y el tiempo de correlación rotacional (τ_R). Tomado de (19)

A los agentes de contraste bioactivados también se los denomina “responsive”. A estos se les puede modular uno o más parámetros (q , τ_m , τ_c) que afectan el tiempo de relajación (Ver Ilustración 1. 2) para producir distintos estados de relajación ya sea antes y/o después de la activación de dicha sustancia química. (19)

Los agentes de contraste bioactivados son sensibles al pH, proteínas, temperatura, oxígeno y son excelentes agente de contraste de RM, son restringidos típicamente para el medio ambiente extracelular. Con el avance de las técnicas de formación de imágenes de RM en lo que se refiere a la resolución celular, una gran cantidad de investigación se ha centrado en el desarrollo de agentes de contraste de células permeables. El empleo de agentes de contraste de RM activados depende en gran medida de la capacidad de estos para atravesar las membranas celulares, como la mayoría de los procesos fisiológicos de interés tienen lugar en el medio ambiente intracelular. (19)

Un agente de contraste es considerado ideal cuando el intercambio de agua se produce entre 1 y 2 moléculas de agua ($q=1$ o 2) después de la activación, es decir, se duplica la capacidad de relajación cuando aumenta el número de aguas, lo que equivale a un aumento de señal observada en el IRM. (19)

1.2.5. Agentes de contraste modificados en el IRM

El primordial reto con el que se enfrenta el IRM es la inherente baja sensibilidad. Ya que en radiología principalmente dentro del área de imagenología (Medicina) se observan los hidrógenos del agua presente en el ser humano.

Los quelatos de transición de ion metálico paramagnético (Gadolinio) y nanopartículas de óxido de hierro son los principales agentes de contraste (AC) de la Imagen de Resonancia Magnética (IRM). La característica principal de los quelatos de transición es el aumento de la intensidad de la señal por disminución de la relajación longitudinal (T_1) en el agua.

Los agentes de contraste tienen la función de acortar los tiempos de relajación T1 y T2, según esta característica se los puede clasificar en dos grandes grupos basados en si la sustancia incrementa la velocidad de relajación transversal ($1/T2$) por aproximadamente la misma cantidad que incrementa la velocidad de relajación longitudinal ($1/T1$) o si $1/T2$ se altera en una medida mayor.

Así tenemos la primera categoría que trata agentes T1: representado en términos porcentuales, la alteración sobre $1/T1$ del tejido, sobre alteraciones en $1/T2$, dando lugar a una rápida relajación endógena transversal en tejido de estudio. Esta categoría tiene más secuencias de pulsos en donde está T1, logrando reducir los aumentos de intensidad de la señal llamados como agentes de contraste positivos.

Los agentes T2 en gran parte incrementan en $1/T2$ del tejido y causan una reducción de la intensidad de la señal, son agentes de contraste negativos.

Los agentes de contraste basados en gadolinio paramagnético son ejemplos de agentes T1, mientras que los de óxido de hierro ferromagnético son ejemplos de agentes T2. Aunque hay agentes de contraste de manganeso y hierro, pero la mayoría de agentes de contraste se llevan a cabo con complejos de gadolinio (en uso clínico). Más de 10 millones de estudios de resonancia magnética se realizan con gadolinio.

Como el agua está en mayor concentración que el agente de contraste, este último debe actuar como “catalizador magnético”, es decir, relaja los protones del agua en modo que se observe el efecto. Algunos compuestos son mejores catalizadores magnéticos que otros por su mayor relaxividad.

Por lo que la habilidad de los agentes de contraste para cambiar la tasa de relajación se representa cuantitativamente como relaxividad, R1 o R2, donde el subíndice se refiere tanto a la dirección longitudinal ($1/T1$) o la transversal ($1/T2$).

La relaxividad (Ver Ecuación 1. 8) es simplemente el cambio en tasa de relajación después de la introducción agente de contraste ($\Delta (1 / T) _1$) sobre la normalización de la concentración del agente de contraste o de iones metálicos (M). La

$$r_1 = \frac{\Delta(1/T_1)}{[M]}$$

Ecuación 1. 8

Los compuestos con alta relaxividad se pueden detectar a dosis bajas, o proporcionar una mayor equivalencia en dosis en compuestos con baja relaxividad.

Dos orientaciones que se toman para aumentar la relaxividad molecular:

1. La optimización de los parámetros moleculares, gobernados por relaxividad y
2. vinculación de varios complejos de gadolinio juntos.

Los elementos de los que depende la relajación son: el campo externo, las propiedades electrónicas del gadolinio, el cambio del agua, la difusión rotacional, la primera y segunda esfera de coordinación de hidratación, y el ion a distancia protón del agua.

A pesar de los esfuerzos para mejorar las velocidades de relajación de protones de Gd (III)-quelatos a través de la manipulación de los parámetros de relaxividad discutidos anteriormente, la mayoría de los agentes se limitan a la acumulación de sangre en el espacio extracelular y son constitutivamente detectables (es decir, poseer una señal de fondo). Esto limita el alcance de estos agentes, destacan las características anatómicas en lugar de eventos bioquímicos. (19)

1.3. MODELOS DE AGUA

1.3.1. Introducción

Los modelos moleculares de agua se han desarrollado con el fin de estudiar la estructura del agua. Son útiles siempre y cuando el modelo (hipotético, es decir, agua ordenada) pueda predecir con éxito las propiedades físicas del agua en estado líquido y a su vez la orientación de efectos electrostáticos y los sitios del potencial mínimo de Lennard-Jones que pueden o no coincidir con uno o más de los sitios cargados.

Las interacciones de Lennard-Jones dependen de la dimensión de las moléculas. Las interacciones son repulsivas a distancias cortas, asegurando que la estructura no colapse debido a las interacciones electrostáticas. A distancias intermedias es atractiva pero no direccional y compite con las interacciones electrostáticas atractivas.

En general, cada modelo se desarrolló para encajar bien con una estructura física particular o parámetro (por ejemplo, anomalía de densidad o parámetros críticos). A pesar de la gran potencia de cálculo computacional actual, la concordancia con los datos experimentales es aproximada y no ha sido estadísticamente comprobada.

Las pruebas realizadas para "encajar" la estructura del agua utiliza una distribución radial con datos de difracción como "estándar de oro" a pesar del mayor número de información se deriva de una estructura natural tetraédrica del agua que se integra en todos los modelos y domina sobre desacuerdos en el detalle fino.

A pesar de su precisión aún existen desacuerdos sobre algunos parámetros físicos, por ejemplo: el momento dipolar, unos muestran falta de robustez debido a su sensibilidad a los parámetros del modelo preciso, el tamaño del sistema o el método de cálculo en relación a otros.

El análisis de sensibilidad muestra que las propiedades termodinámicas de los modelos de agua son más sensibles a la repulsión de las fuerzas de Van der Waals, a las fuerzas de Coulomb de corto alcance y a los componentes de polarización del potencial.

Las moléculas de agua en una solución líquida no son equivalente (difieren en sus orbitales moleculares, su geometría y vibraciones moleculares) debido al estado del enlace de hidrógeno, que está influenciado por la disposición de moléculas circundantes del agua. Algunos modelos son polarizados para hacer equivalencias, mientras que otros tratan de reproducir las estructuras de sus medios.

1.3.2. Descripción:

Una serie de investigaciones recientes (20) muestran cerca de 46 tipos de modelos de agua (21), esto da una idea de la limitada aproximación cuantitativa de las propiedades del agua real.

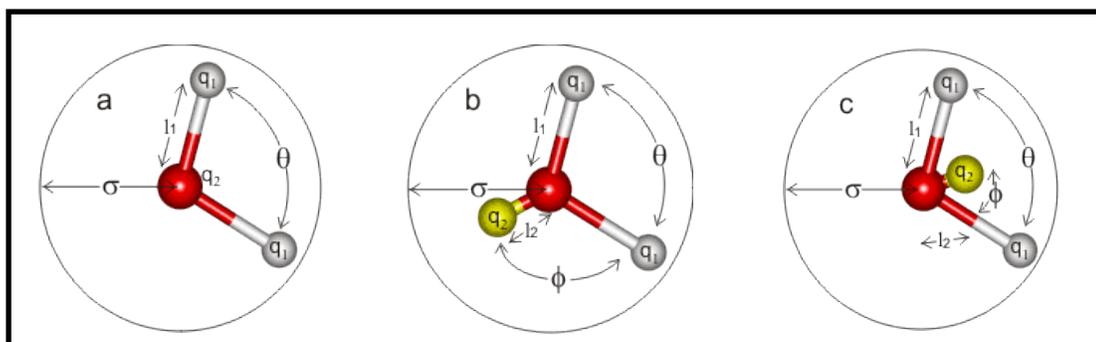


Ilustración 1. 3: Los diferentes tipos de modelos de agua muestran la falta de éxito en la reproducción de las propiedades del agua real pero a pesar de ello se describe el comportamiento del agua. Los parámetros de algunos modelos son opuestos así tenemos los tres tipos de modelos en donde a, b, c son de tipo planar y d de tipo tetraédrico en donde punto medio (M) en C, lone pair sites (L) que se marca con q^2

La polarización molecular puede ser electrónica (causada por la redistribución de sus electrones), geométrica (causada por cambios en las longitudes y ángulos de enlace) y / o de orientación (causada por la rotación de toda la molécula) (22).

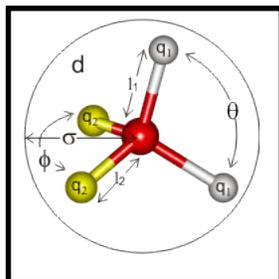


Ilustración 1. 4: Modelo de agua TETRAEDRICO con lugares de pares solitarios (Lone pairs sites)

El modelo tetraédrico de la molécula de agua es descrito únicamente en términos dipolares y con polarizabilidad de los átomos, a su vez un átomo de oxígeno cuadripolar (23)

Modelo	Tip o	σ Å	ϵ kJ/mol	l_1 Å	l_2 Å	q_1 (e)	q_2 (e)	Θ^0	Φ^0
SSD	8	3.016	15.319	-	-	-	-	109.47	109.47
SPC	un	3.166	0.650	1.000	-	0.4100	-0.82	109.47	-
SPC/E	Un	3.166	0.650	1.000	-	0.4238	-0.84	109.47	-
SPC/HW(D2O)	Un	3.166	0.650	1.000	-	0.4350	-0.87	109.47	-
SPC/FW	Un	3.166	0.650	1.012	-	0.410	-0.82	113.24	-
TIP3P	Un	3.1506	0.6364	0.957	-	0.4170	-0.83	104.52	-
TIP3P/Fw	Un	3.1506	0.6368	0.960	-	0.4170	-0.83	105.5	-
PPC	B	3.2340	0.6000	0.943	0.06	0.5170	-1.03	106	127
TIP4C	C	3.1536	06468	0.957	0.15	0.5200	-1.04	104.52	52.26
TIP4P-Ew	C	3.1643	0.6809	0.957	0.125	0.5242	-1.04	104.52	52.26
TIP4P-FQ	C	3.1536	0.6480	0.957	0.15	0.63	-1.26	104.52	52.26
TIP4P/Ice	C	3.1668	0.8822	0.957	0.1577	0.589	-	104.52	52.26

						7	1.17		
TIP4P/2005	C	3.1589	0.7749	0.957	0.1546	0.556 4	1.11 8	104.52	52.26
TIP4P/2005f	C	3.1644	0.7749	0.966	0.1555	0.556 4	- 1.11	104.75	52.37
SWFLEX AI-	C	4 términos utilizados		0.968	0.14	0.621 3	- 1.24	102.7	51.35
COS/G3	C	3.1745	0.9445	1.000	0.15	0.450 6	- 0.90	109.47	-
COS/D	C	3.4365	0.5119	0.957	0.257	0.586 3	- 1.17	104.52	-
GCPM	C	3.69	0.9146	0.957	0.27	0.611 3	- 1.22	104.52	52.26
SWM4-NDP	C	3.1839	0.8885	0.957	0.24	0.557 3	- 1.11	104.52	52.26
ST2	D	3.1000	0.3169	1.000	0.80	0.243	- 0.24	104.52	109.5
TIP5P	D	3.12	0.6694	0.957	0.70	0.241	- 0.24 1	104.52	109.5
TIP5P-Ew	D	3.097	0.7448	0.957	0.70	0.241	- 0.24 1	104.52	109.5
TTM2-F	C	5 parámetros utilizados		0.957	0.70	0.574	- 1.14 8	104.52	52.26
POL5/TZ	D	2.9883	4	0.957	0.5	Varía	- 0.42 1	104.52	109.4 7
Six-site	c/d	3.115 ₀₀ 0.673 _H H	0.715 ₀₀ 0.115 _H H	0.980	0.8892 L 0.320 _M	0.477	- 0.04 L - 0.8 _M	108	111
QCT	un	3.140	0.753	0.961 4	-	06064	- 1.12	104.06 7	-

Tabla 1. 2: Parámetros de los modelos de agua de acuerdo al potencial de Buckingham con sus componentes en una superficie flexible en relación a los gráficos 1 y 2

$q_{pol} =$ carga de polarización

$q_2 = (q_{pol} + q_2) =$ carga total,

Las cargas (no puntuales) con distribución gaussiana con ancho de 0.455 Å y 0.610 Å para q_1 y q_2 , respectivamente.

Los valores de la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** se encuentran plicando el potencial Buckingham (24) que es un potencial experimental que presenta una superficie flexible en comparación con las interacciones de Leonard-Jones (r) con la carga del oxígeno donde σ y ϵ son parámetros de Lennard-Jones.

$$V_r^{Buckingham} = \frac{\epsilon}{1 - 6/\gamma} \left[\frac{6}{\gamma} e^{\left[\gamma \left(1 - \frac{r}{\sigma} \right) \right]} - \left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^6 \right]$$

Ecuación 1.9

El diámetro es la distancia y la profundidad de la energía mínima entre dos moléculas; es así que se tienen cargas en los sitios pares solitarios (L) como en D y C punto medio (M) de la Ilustración 1.3.

El agua no es una molécula simétricamente esférica como se deduce de la variación de los radios de van der Waals (25). Los modelos de interacción de Lennard-Jones muestran un efecto repulsivo en el enlace de hidrógeno demostrando así que el agua no es simétrica (26).

El potencial de Lennard-Jones se compone de un término potencial repulsivo dependiente de la distancia a la duodécima potencia y un término de potencial atractivo dependiente de la distancia a la sexta:

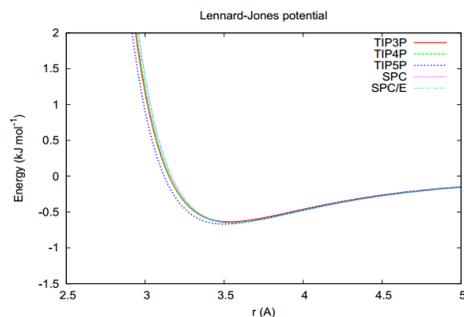


Gráfico 1. 1: Potencial de Lennard- Jones compuesto de una potencia térmica repulsiva y un potencial atractivo de sexto término

$$V_r^{ij} = 4\epsilon \left(\left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^{12} + \left(\frac{\sigma}{r_{ij}} \right)^6 \right) \quad \text{CITATION 13Ju1 \l 1033 [(27)]}$$

Ecuación 1. 10

(r_{ij} = distancia de separación de la i^a y j^{th} átomos, con σ y ϵ se define a continuación)

Modelo	Momento Dipolar	Constante Dieléctrica	Auto-Difusión, $10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$	Energía configuracional media, kJ mol^{-1}	Máxima densidad, $^{\circ}\text{C}$	Coefficiente de dilatación, $10^{-4} \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$
SSD	2.35	72	2.13	-40.2	-13	-
SPC	2.27	65	3.85	-41.0	-45	7.3**
SPC/E	2.35	71	2.49	-41.5	-38	5.14
SPC/Fw	2.39	79.63	2.32	-	-	4.98
PPC	2.52	77	2.6	-43.2	4-	-
TIP3P	2.35	82	5.19	-41.1	-91	9.2
TIP3P/Fw	2.57	193	3.53	-	-	7.81
TIP4P	2.18	53	3.29	-41.8	-25	4.4
TIP4P-Ew	2.32	62.9	2.4	-46.5	1	3.1
TIP4P-FQ	2.64	79	1.93	-41.4	7	-
TIP4P/2005	2.305	60	2.08	-	5	2.8
TIP4P/2005 f	2.319	55.3	1.93	-	7	-
SWFLEX-	2.57	116	3.66	-41.7	-	-

AI						
COS/G3**	2.57	88	2.6	-41.1	-78	7.0
COS/D	2.723	69.8	2.5	-41.8	-	-
GCPM	2.72	84.3	2.26	-44.8	-13	-
SWM4-NDP	2.461	79	2.33	-41.5	-	-
TIPSP	2.29	81.5	2.62	-41.3	4	6.3
TIP5P-Ew	2.29	92	2.8	-	8	4.9
TIM2-F	2.67	67.2	1.4	-45.1	-	-
POL5/TZ	2.712	98	1.81	-41.5	25	-
Six in situ*	1.89	33	-	-	14	2.4
QCT **	1.85	-	1.5	-42.7	10	3.5

Tabla 1. 3: Propiedades físicas del modelo SSD, SPC, TIP3P entre otros con condiciones de 25 grados centígrados y a una atmosfera de presión excepto Six in situ con 20 C y el modelo QCT a 27 C

En la Tabla 1. 3 se muestra que no existe un modelo universal que se pueda identificar automáticamente. Teniendo en cuenta que hay simulaciones que se llevan a cabo para un porcentaje inferior de moléculas de agua en cajas periódicas rectangulares en un tiempo de 2.5 nm a lo largo de cada borde, este tiempo a unos pocos picosegundos.

El modelo TIP4P subestima el entorno de la molécula de agua tetraédrica, lo que explica su baja estimación de la constante dieléctrica, pero es muy bueno describiendo cualitativamente el diagrama de fase del agua (28); esto se desarrolla más en el modelo TIP4P/Ice (29) y TIP4PQ/2005, donde se requieren 16 CPU con cálculo de años (30). Los modelos SPC, SPC/E, TIP3P y TIP4P producen poca concordancia con el punto de fusión del agua (se obtienen puntos de fusión de 190 K, 215 K, 146 K y 232 K, respectivamente) y la SPC, SPC / E, TIP3P y TIP5P no dan 1H-ice como una fase estable, reemplazándolo con ice-II (31), o estructuras cristalinas poco realistas e improbables y se dice que muchos modelos predicen erróneamente el carácter antiferroeléctrico para las fases ordenadas de hielo.

1.3.3. Dinámica de los modelos de agua tip3p, spc, y spc/e a 298 °k

La dinámica molecular de 5 modelos de agua que son: potencial de transferencia intermolecular 3P original y modificado (TIP3P); modelo de agua de carga de un punto simple original y pulido (SPC); y por último modelo de agua de Extensión de la carga de un punto simple (SPC/E) se pueden realizar usando el programa de simulación CHARMM.

Las simulaciones se realizan en el sistema microcanónico (NVE) a 298K con 911 moléculas de agua periódicas, logrando obtener: el coeficiente de auto-difusión (D); funciones de distribución radial (g_{OO} , g_{OH} y g_{HH}). Mientras que la parte experimental se realiza con interacciones de los componentes del potencial de Lennard-Jones y Coulombico.

Las propiedades macroscópicas del agua están bien estudiadas pero hace falta una complementariedad, por lo que su estudio y las estructuras se obtienen por técnicas de rayos X (32) (33) y difracción de neutrones (32) (34).

La difracción de neutrones con sustitución isotópica da medidas usando la función de correlación parcial de la molécula de agua: resultando así el coeficiente de auto difusión de 2.3×10^{-9} usando la técnica del diagrama celular o del gradiente de pulso en RMN (35)

Los diferentes aguas pueden ser tratadas como monómeros rígidos y flexibles permitiendo ver todos los grados de libertad de los enlaces OH y de los ángulos HOH. Para modelos rígidos se usa la contracción de longitudes de enlace incluyendo la función de enlace H-H.

TIP3P (potencial de transferencia intermolecular 3P); SPC (carga de un punto simple); SPC/E (Extensión de la carga de un punto simple) son descritos por los componentes del potencial de Lennard-Jones y términos de Coulomb.

El campo de evaluación está dominado computacionalmente por interacciones de largo alcance en particular interacciones electrostáticas.

El sistema está constituido como ya se mencionó con 901 moléculas de agua a lo largo de la simulación de pequeñas biomoléculas, mas fragmentos de ácidos nucleicos o aminoácidos, en donde las interacciones no enlazantes se truncan por la fuerza; el cálculo de la fuerza y la energía son desplazadas a cero por las distancias de los cutoff, es decir son propiedades dinámicas para el uso de la simulación de Edward.

Parámetros	Unidades	TIP3P modified	TIP3Pmodified	SPC original	SPC refined	Spc /e original
Dipole	debye	2.347	2.347	2.274	2.237	2.351
r_0^{∞}	Å	3.5365	3.5365	3.5533	3.5257	3.5533
ϵ^{∞}	Kcal/mol	0.1521	0.1521	0.1553	0.1553	0.1553
r_0^{HH}	Å	0.449	0	0	0	0
ϵ^{HH}	Kcal/mol	0	0.046	0	0	0
r_0^{OH}	Å	0	1.993	0	0	0
ϵ^{OH}	Kcal/mol	0	0.084	0	0	0
q^o	e units	-0.834	-0.834	-0.82	-0.8068	-0.8476
q^H	e units	0.417	0.417	0.41	0.4034	0.4238
b_0^{OH}	Å	0.9572	0.9572	1.0	1.0	1.0
θ_0^{HOH}	Deg	104.52	104.52	109.47	109.47	109.47
k_b	Kcal/molÅ ²		450.0			
k_{θ}	Kcal/molrad ²		55.0			

Tabla 1. 4: Parámetros de no-enlace, geometría y propiedades electrostáticas de los tres modelos puntuales del agua que son TIP3P original y modificado, SPC original y modificado y el modelo SPC/E

Las distancias de los cutoff están dadas en dos listas: 13Å siendo a utilizarse cada 20 pasos y de 14 Å para que actualice los datos mediante la prueba de Heurística, en un total de 10 simulaciones (tabla 2)

El interés en esta parte del trabajo es el volumen de concentración de la estructura del agua y su dinámica que son destacadas en las funciones de distribución radial (q_{00} , q_{0H} , q_{hh}) y el coeficiente de difusión de corte (D). Estos parámetros son específicos del modelo de agua TIP3P (36).

El SPC solo se engloba en el coeficiente de difusión de corte (D) ya que aparta la función de distribución radial.

Los coeficientes de auto difusión para el TIP3P original están entre 5.2 y 7.0 ($10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$) (37), mientras en el TIP3P modificado están entre 2.3 y 5.2 ($10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$), en el modelo de SPC entre 3.6 y 5.2 ($10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$), y en el modelo SPC/E entre 2.2 y 4.4 ($10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$), pero en este caso los coeficientes de auto difusión no se reportan, por lo que la simulación es calcular por medio de los datos de una simulación anterior.

Los valores del coeficiente de auto difusión hallados por medio de la medida de desplazamiento cuadrático (MSD) de los átomos de oxígeno utilizando la relación de Einstein (38):

$$\lim_{t \rightarrow \infty} \langle |r(t' + t) - r(t')|^2 \rangle = 6Dt$$

Ecuación 1.11

Donde

$r(t)$ = posición de los oxígenos

T = tiempo

D = coeficiente de auto difusión

t' = tiempo original

El cálculo del coeficiente de auto difusión bajo la condición indicada al inicio y con variación de las medidas presenta los efectos de cambio de la velocidad en el control de la temperatura.

La validación para los 5 modelos del agua son los datos experimentales de van der Spoel en agua líquida (37)

Simulation	Wáter model	Simulation period (ns)	Temperatura ^e (K)	Temperature control ^f
1 ^a	TIP3P original	0.6 ^c /0.5 ^d	301.4(1.7)	Si 42/500 ps
2 ^b	TIP3P original	0.6/0.5	297.0(0.9)	No
3 ^a	TIP3P modified	1.1/1.0	301.2(1.8)	Si 95/1000 ps
4 ^b	TIP3P modified	1.7/1.0	209.2(1.0)	No
5 ^a	SPC original	0.6/0.5	301.0(1.7)	Si 33/500 ps
6 ^b	SPC original	1.0/0.5	298.6(1.1)	No
7 ^a	SPC refined	1.1/1.0	301.0(1.8)	Si 66/1000 ps
8 ^b	SPC refined	1.2/1.0	297.7(1.2)	No
9 ^a	SPC/E	4.1/1.0	300.4(1.9)	Si 40/1000 ps
10 ^b	SPC/E	4.1/1.0	298.2(1.4)	no

Tabla 1. 5: En el sistema de simulación tenemos su periodo (ns) y a su vez la temperatura; misma que dependerá del modelo de agua a simular, para saber si se debe o no ser controlada y por cuanto tiempo.

Partes del SLOPE(ps)	TIP3P ^a modified	TIP3P ^b modified	SPE/E ^a original	SPE/E ^b original	SPE/E ^c refined	SPE/E ^d refined
4-100	5.88	5.88	2.88	2.79	4.44	4.31
100-200	5.96	5.86	2.87	2.77	4.33	4.31
200-300	6.12	5.75	2.88	2.77	4.31	4.40
300-400	6.29	5.83	2.94	2.70	4.23	4.43
400-500	6.23	5.91	30.2	2.74	4.18	4.42

Tabla 1. 6: Self-diffusion coefficients ($10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$) para los tres modelos principales del agua usando las partes de SLOPE de MSD (t) vs tiempo (ps) teniendo en cuenta la interacción con el medio ya que provocara nonbonded (a: modelo 1 b: modelo 2)

Se debe aclarar que el uso de una simulación macrocanónica (NVE) o (NVT) es por la convergencia de las interacciones y la geometría inicial. La simulación se hace a una densidad de 0.998 g/cm^3 en una caja periódica de longitud de 30 \AA .

Para un sistema NVT, su margen de error es de $\pm 5\text{K}$, su primera velocidad promedio debe ser tomada a los 2ps. Las moléculas de agua están rígidas por el SHAKE (logaritmo de Verlet); logrando un cambio en la constante dieléctrica que es 1 y ahora para las interacciones no enlazantes es cero por un cutoff de 12 \AA .

Los datos obtenidos en la tabla 1.6 fueron obtenidos a partir de la pendiente lineal a tiempos de largo alcance. La parte inicial está influenciada por la inercia por lo cual no se toma en cuenta.

Puesto que D es dependiente de la temperatura y esta no se mantiene estable, ajustamos a la difusión que se registra a temperatura estándar, por medio de:

$$D(298) = D(T) + 0.06 \times 10^{-9} m^2 s^{-1} K^{-1} (298 - T)$$

Ecuación 1. 12

Con T la temperatura durante la simulación.

1.4 Campos de Fuerza

En el contexto de la modelación molecular, el concepto de campo de fuerza se refiere a la forma y parámetros de las funciones matemáticas necesarias para describir la energía potencial de un sistema de partículas (compuesto de moléculas y átomos). (39)

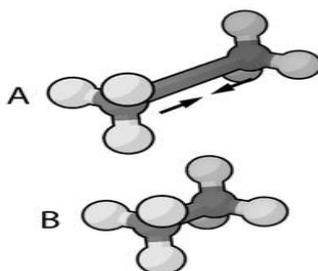


Ilustración 1. 5: El concepto de campo de fuerza se usa para asignar características a cada átomo de la molécula (en este gráfico molécula de etano). Tomado de (78)

Las funciones y los conjuntos de parámetros del campo de fuerza, se derivan de datos experimentales así como de cálculos mecánico – cuánticos. Campos de fuerza de tipo “All-atoms” proporcionan parámetros para cada tipo de átomo del sistema, incluido el hidrógeno, mientras que campos de fuerza de tipo “United-atom” usan el hidrógeno y el carbono como si fuesen un único centro de un sistema de interacción.

El concepto de Campo de Fuerza en química y en biología computacional es un sistema de funciones de energía potencial más no un gradiente de un potencial escalar, tal como se define en física.

En general, definir un campo de fuerza, involucra elegir una forma funcional y un conjunto de parámetros para el sistema en estudio. Los campos de fuerza generalmente se parametrizan para representar propiedades estructurales y también para predecir otras propiedades, como por ejemplo, energías relativas, o propiedades espectroscópicas no incluidas en la parametrización.

En un cálculo mecánico cuántico este concepto sería inútil, ya que basta con dar el número atómico y el método de estructura electrónica que tiene en cuenta el entorno del átomo. En cambio en los modelos sencillos (átomo pesado enlazado con hidrogeno), es preciso aclarar su entorno por ejemplo, si se trata de un átomo de carbono unido a otros 4 grupos, o a 3 grupos, a un C de un grupo carboxílico (como se menciona en páginas posteriores), etc.

La forma funcional general de un campo de fuerza es:

$$E(R) = \sum_{\text{bonded}} \frac{k_i}{2} (d_i - d_{i,0})^2 + \sum_{\text{angle}} \frac{k_i}{2} (\theta_i - \theta_{i,0})^2 + \sum_{\text{torsion}} \frac{V_n}{2} (1 + \cos(n\omega + \gamma)) + E_{\text{nonbonded}}$$

Ecuación1. 13

Donde

$$E_{nonbonded} = \sum_i \sum_j \left(4 \epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \right) + \sum_i \sum_j \frac{q_i q_j}{r_{ij}}$$

Ecuación1. 14

El primero y segundo término de la Ecuación1. 13 describen las energías asociadas a estiramiento y doblamiento de enlaces covalentes. El tercer término está relacionado con movimientos de torsión.

Por último, la energía de no-bonded (Ver Ecuación1. 14) se aplica a los átomos distantes a más de 3 enlaces covalentes, y usualmente se describe mediante un potencial electrostático sumado al de Lennard-Jones.

1.4.1 Forma funcional

La forma funcional del campo de fuerza encapsula dos términos, los relacionados con átomos enlazados (bonded o enlaces covalentes), y los de átomos no enlazados, “non bonded” (también llamados "no covalente") que se describen en términos de interacciones electrostáticas de largo alcance y fuerzas de Van der Waals.

La descomposición específica de estos términos depende de la forma de la energía total, en un campo de fuerza aditivo resulta

$$E_{total} = E_{bonded} + E_{nonbonded}$$

Ecuación1. 15

donde los componentes de las contribuciones “bonded” y “non bonded” están dados por :

$$E_{bonded} = E_{bond} + E_{angle} + E_{dihedral}$$

Ecuación 1. 16

$$E_{nonbonded} = E_{electrostatic} + E_{vanderWaals}$$

Ecuación 1. 17

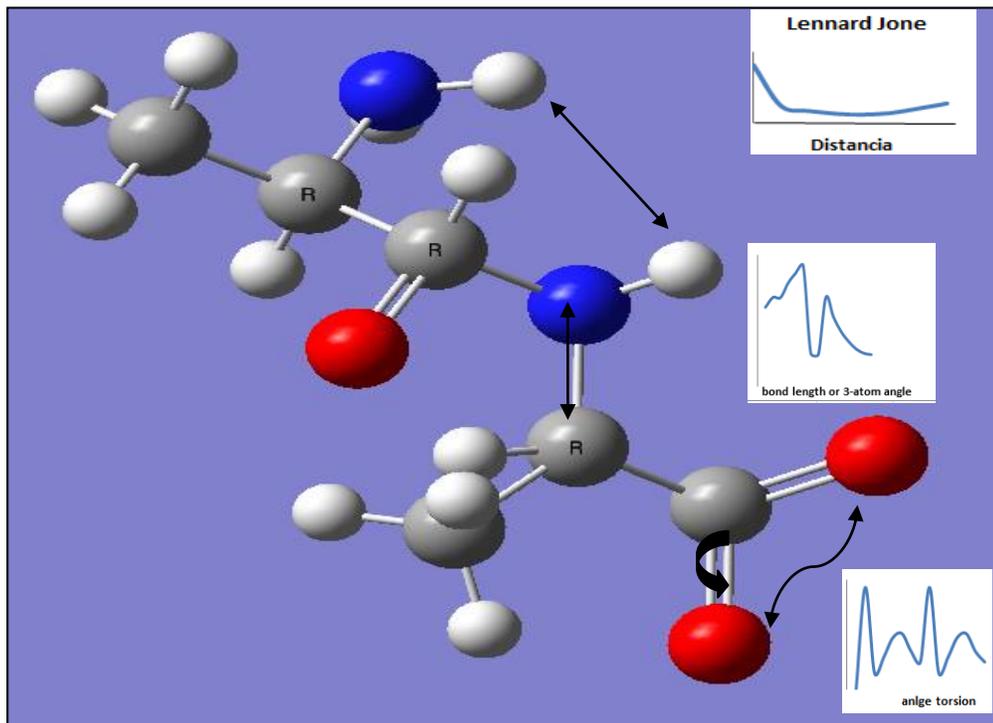


Ilustración 1. 6 : Los campos de fuerza son descritos por el potencial de Leonard Jones que es aplicado tanto para enlaces, ángulos, torsión dando así una representación matemática.

Los términos de enlace (bond) y de ángulo (angle) utilizan el modelo del oscilador armónico en modelos que no permiten la ruptura de enlaces. Una descripción más precisa

de un enlace covalente en el punto de máximo estiramiento se puede conseguir con el potencial de Morse (40)

La energía potencial puede ser escrita como una función cuadrática en las coordenadas internas, por lo que también se puede escribir en términos de fuerzas generalizadas. Los coeficientes resultantes se denominan constantes de cumplimiento.

La forma funcional para el resto de los términos enlazados es muy variable, como para diedros, torsiones que incluyen los términos cruzados en sistemas conjugados. Términos que describen el acoplamiento de diferentes variables internas, tales como ángulos y longitudes de enlace. Cabe aclarar que algunos campos de fuerza también incluyen términos explícitos de enlaces de hidrógeno.

El término de Van der Waals generalmente se calcula con un potencial de Lennard-Jones y el término electrostático con la ley de Coulomb, aunque ambos pueden ser unidos escalados por un factor constante para tomar en cuenta la polarizabilidad electrónica y producir una mejor concordancia con las observaciones experimentales (41).

1.4.1.1 Características de los campos de fuerza

Los campos de fuerza tienen componentes básicos que sirven para el cálculo de la energía y de la fuerza del sistema, entre ellos están:

- Lista de los tipos de átomos
- Lista de la carga atómica respectiva
- Forma funcional de los componentes de la energía
- Parámetros de los términos funcionales
- Para algunos campos de fuerza se definen reglas para calcular los parámetros no definidos de forma explícita

- Para algunos campos de fuerza, se define la asignación de las formas funcionales y parámetros como componentes que están implícitos en la energía potencial del campo de fuerza.

Los campos de fuerza generalmente utilizados para describir moléculas usan un sistema combinado de coordenadas internas y términos como distancias, enlaces, ángulos, ángulos de enlace, torsiones, etc. para describir parte de la superficie de la energía potencial por efecto de los términos enlazantes y por efecto de los no enlazantes se usan las interacciones de Van der Waals entre los átomos que van desde funciones cuadráticas simples de Morse, expansiones de Fourier, potenciales de Leonard-Jones, etc. (42)

El objetivo de un campo de fuerza es describir clases enteras de moléculas con una precisión razonable. En cierto sentido, el campo de fuerza interpola y extrapola a partir de los datos empíricos de una pequeña serie de los modelos utilizados para parametrizar el campo de fuerza a un conjunto más amplio de modelos relacionados (41)

El significado físico de la mayoría de los tipos de interacciones en un campo de fuerza se entiende fácilmente, ya que describe los grados internos de libertad de un modelo en términos de enlaces, ángulos y torsiones. La analogía con el modelo de esferas conectadas por resortes para describir el movimiento vibracional molecular es igualmente familiar. Sin embargo, hay que recordar que estos modelos tienen limitaciones. Considere, por ejemplo, la diferencia entre tal modelo mecánico y un enlace cuanto mecánico.

Los enlaces covalentes pueden ser descritos, en primera aproximación, utilizando el modelo del oscilador armónico, tanto en la teoría de la mecánica cuántica como en la clásica. Una esfera colocada en el punto de intersección de las líneas grises comienza a rodar hacia abajo, su energía potencial se va convirtiendo en energía cinética y logra de una velocidad máxima a medida que pasa el mínimo convirtiéndose en energía potencial, hasta que, a la misma altura exacta como había empezado, se detenía un momento antes de retroceder. (41) El intercambio de energía cinética y potencial en un sistema de este tipo mecánico es familiar e intuitivo.

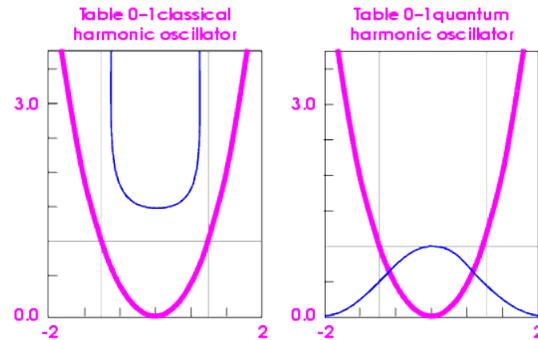


Ilustración 1. 7: Oscilador armónico clásico Vs Oscilador armónico cuántico, aplicado el principio de incertidumbre. Tomado de (45)

La energía se indica mediante las líneas rosadas y probabilidad por las líneas azules. La energía total del sistema se indica mediante la línea gris horizontal. La probabilidad clásica (mecánica) es más alta cuando la partícula llega a su máxima energía potencial (velocidad cero) y cae a cero entre estos puntos. La probabilidad de la mecánica cuántica es más alta donde la energía potencial es más bajo, y la probabilidad finita de que la partícula se puede encontrar fuera de los límites clásicos (líneas verticales pálidas).

La descripción de "trayectoria" en mecánica cuántica es imposible, ya que el principio de incertidumbre impide que la especificación simultánea exacta de la posición y el momento. Sin embargo, la probabilidad de que el cuerpo se encuentre en un punto dado de la parábola se puede cuantificar. La función de probabilidad de la mecánica cuántica se representa en el panel derecho del Ilustración 1. 7 es muy diferente del sistema mecánico clásico. En primer lugar, la probabilidad más alta se encuentra en el mínimo de energía, que es lo contrario de la caja mecánica. En segundo lugar, el balón mecánico cuántico tiene probabilidad no nula de encontrarse más allá de los límites clásicos impuestos por la energía total del sistema (efecto túnel). Ambas propiedades pueden atribuirse al principio de incertidumbre.

1.4.1.2. Limitaciones de la aproximación de campo de fuerza

Las aplicaciones que van más allá de la capacidad de descripción de los métodos de campo de fuerza incluyen:

- Transiciones electrónicas (absorción de fotones).
- Fenómenos de transporte de electrones.
- La transferencia de protones (reacciones ácido / base)

1.4.1.3. Potencialidades de la aproximación de campo de fuerza

La verdadera ventaja de trabajar con la descripción atomística de un sistema englobada en la energía se manifiesta en estos tres aspectos:

- Las simulaciones basadas en campos de fuerza manejan grandes sistemas, son varios órdenes de magnitud más rápidas y de menor costo computacional comparadas con las simulaciones basadas sobre cálculos mecánico-cuánticos; por lo que se pueden utilizar para el estudio de moléculas de fase condensada, macromoléculas, morfología de cristales, interfaces inorgánicas y orgánicas, etc.; es decir donde las propiedades de interés no se vean afectadas por efectos cuánticos.
- Se pueden realizar análisis de las contribuciones de energía a nivel individual o por clases de interacción. Por ejemplo, se puede descomponer la energía a energías de enlace, energías de no enlace, etc. Incluso para un enlace de hidrógeno se puede especificar el nivel de enlace mismo o de la fuerza de contacto de van der Waals; la finalidad es la de comprender las propiedades del observable físico o para hacer una predicción.
- Se pueden introducir limitaciones y restricciones para modificar la expresión de energía que se utiliza en un determinado cálculo. Se pueden introducir restricciones (condiciones absolutas), tales como la de fijar un átomo en el espacio y no permitir que se mueva. También se pueden añadir limitaciones como aumentar un campo de

fuerza extra de torsión a un potencial de enlace para forzar el valor del ángulo de enlace a una cantidad específica.

1.4.2. Parametrización de los campos de fuerza

El campo de fuerza a más de asignar funcionalidad otorga parámetros característicos para cada tipo de átomo. Un campo de fuerza incluiría parámetros distintos para el oxígeno en un átomo de carbonilo y en un hidroxilo.

El conjunto de parámetros incluye los valores de masa atómica, radio de van der Waals y carga parcial de átomos individuales, también valores de equilibrio de longitudes de enlaces, ángulos y ángulos diedros de pares, tríos, cuádrupletes y de átomos unidos, pero los valores correspondientes a la eficacia constante de resorte para cada potencial.

Campos de fuerza más actuales utilizan una "carga fija" que asigna a cada átomo un valor único para la carga atómica que no se ve afectado por el medio electrostático local, los desarrollos propuestos en los campos de fuerza de próxima generación son los de incorporar modelos de polarizables en el que la carga de una partícula se ve influida por las interacciones electrostáticas con sus vecinos. Por ejemplo la polarizabilidad se puede aproximar por la introducción de dipolos inducidos, o también puede ser representado por las partículas de Drude, o sin masa-carga que transportan, puntos virtuales conectados por un potencial de oscilador armónico a cada átomo polarizable. La introducción de la polarizabilidad en un campo de fuerza ha sido inhibido por el alto costo computacional asociado cuando se trata de calcular el campo electrostático local.

Aunque muchas simulaciones moleculares de sistemas biológicos implican macromoléculas tales como proteínas, ADN y ARN, los parámetros para un tipo de átomo dado se derivan generalmente de observaciones en moléculas orgánicas pequeñas que son más manejables para los estudios experimentales y los cálculos cuánticos.

Los diferentes campos de fuerza pueden ser derivados de diferentes tipos de datos experimentales, tales como la entalpía de vaporización (Optimized Potential for Liquid

Simulations (OPLS)), entalpía de sublimación, momentos dipolares, o varios parámetros espectroscópicos.

1.4.3 Clasificación de los campos de fuerza

Los campos de fuerza se clasifican de acuerdo a diferentes criterios que son:

1. Por su propósito
2. Por su generación
3. Por su energía
4. Por sus datos de parametrización

1.4.3.1 Según su propósito:

Uno de los criterios en que se pueden encontrar en los campos de fuerza es su propósito encontrándose en estos dos tipos de campos de fuerza:

MM2 fue desarrollado por Norman Allinger principalmente para el análisis conformacional de hidrocarburos y otras moléculas orgánicas pequeñas. Está diseñado para reproducir la geometría de equilibrio covalente de moléculas con la mayor precisión posible. Se implementa un gran conjunto de parámetros que se refinan y se actualizan para muchas clases diferentes de compuestos orgánicos (MM3 y MM4). (41)

CFF fue desarrollado por el grupo de Warshel y Lifson como un método general para la unificación de los estudios de energías, las estructuras y la vibración de las moléculas generales y cristales moleculares. El programa de CFF, desarrollado por Levitt y Warshel, se basa en la representación cartesiana de todos

los átomos, y sirvió como la base de muchos programas de simulación posteriores.
(41)

ECEPP fue desarrollado específicamente para el modelado de péptidos y proteínas. Se utilizan geometrías fijas de residuos de aminoácidos para simplificar la superficie de energía potencial. Por lo tanto, la minimización de la energía se lleva a cabo en el espacio de los ángulos de torsión de proteínas. (41)

Tanto MM2 y ECEPP incluyen potenciales de enlaces de H y potenciales de torsión para describir rotaciones alrededor de los enlaces simples.

ECEPP / 3 se llevó a cabo (con algunas modificaciones) en Mecánica de coordenadas internas y FANTOM. (41)

AMBER, CHARMM y GROMOS se han desarrollado principalmente para la dinámica molecular de macromoléculas, aunque también se aplican comúnmente para la minimización de la energía. Por lo tanto, las coordenadas de todos los átomos son considerados como variables libres. (41)

1.4.3.2 Según su Generación:

Para este estilo de campo de fuerza tenemos:

Clásica:

AMBER (Assisted Model Building with Energy Refinement) - ampliamente utilizado para las proteínas y el ADN. (41)

CHARMM (Chemistry at HARvard Macromolecular Mechanics) - originalmente desarrollado en Harvard, ampliamente utilizado tanto para moléculas pequeñas y macromoléculas (41)

CHARMm versión comercial de CHARMM, disponible por medio de Accelrys, con la misma funcionalidad. (41)

CVFF Se utiliza ampliamente para las pequeñas moléculas y macromoléculas. (41)

COSMOS-RMN – campo de fuerza híbrido QM / MM adaptado a una variedad de compuestos inorgánicos, compuestos orgánicos y macromoléculas biológicas, incluyendo el cálculo semi-empírico de cargas atómicas y de las propiedades para RMN. (41)

GROMACS el campo de fuerza optimizado para el paquete de dinámica molecular del mismo nombre. (41)

GROMOS es un campo de fuerza para la simulación con dinámica molecular desarrollado por la universidad de GRONINGER y el grupo del laboratorio de química AIDED con el grupo de química y física ETH Zurich con el propósito general de estudio de sistemas biomolecular. Es un campo de fuerza que ha sido desarrollado para su aplicación en soluciones acuosas o apolares de proteínas, nucleótidos y azúcares. Sin embargo existe una versión B que simula en fase gaseosa para simulaciones de moléculas aisladas (41)

OPLS (Optimized Potentials for Liquid Simulations) (variaciones incluyen OPLS-AA, OPLS-UA, OPLS-2001, OPLS-2005) ; desarrollado por William L. Jorgensen en el Departamento de Química de la Universidad de Yale. (41)

ENZYMIX - un campo de fuerza polarizable para reacciones químicas de modelado en las moléculas biológicas. Este campo de fuerza se lleva a cabo con el método de enlace de valencia empírica (EVB) y también se combina con el enfoque PDL semimacroscopico en el programa Molaris. (41)

ECEPP/2 Primer campo de fuerza para las moléculas polipeptídicas; desarrollado por FA Momany, HA Scheraga y colegas (41)

QCFF/PI Un campo de fuerza general para moléculas conjugadas (41)

UFF Un campo de fuerza general, con los parámetros de la tabla periódica completa hasta e incluyendo los actínidos; desarrolladas en la Universidad Estatal de Colorado. (41)

Segunda generación

CFE (campo de fuerza constante) - una familia de campos de fuerza adaptadas a una amplia variedad de compuestos orgánicos, incluye campos de fuerza para los polímeros, metales, etc. (41)

COMPASS (Potencial optimizado de fase condensada para estudios de simulación atomística); desarrollado por H. Sun en Simulación Molecular, parametrizado para una variedad de moléculas en la fase condensada. (41)

MMFF (Merck Molecular Force Fields) - desarrolló en Merck, para una amplia gama de moléculas. (41)

QVBMM - desarrollado por Vernon GS, parametrizado para todas las biomoléculas y una amplia gama de moléculas orgánicas, e implementado en StruMM3D (STR3DI32). (41)

1.4.3.3. Por su energía

- Clase I: No contienen términos cruzados y los términos de flexión y tensión vienen en funciones armónicas; ejemplo. AMBER, CHARMM, MM2 y CVFF, estos dos últimos poseen algunos términos cruzados pero son en esencia clase I. (43)

- Clase II: se añaden términos cúbicos y superiores así como términos cruzados de todas formas no se indica cuántos y qué tipo de términos deben adicionarse para pasar de un campo de fuerza clase I a un campo de fuerza clase II. (43)

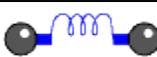
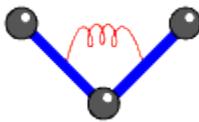
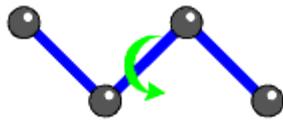
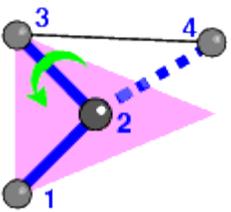
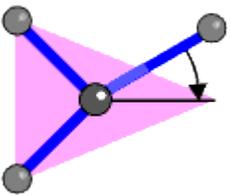
Un campo de fuerza del tipo II debe reproducir adecuadamente las propiedades de moléculas aisladas pequeñas (propiedades estructurales, termodinámicas, datos espectroscópicos y momentos dipolares), de fases condensadas (energías de sublimación, calores de vaporización de líquidos) y sistemas macromoleculares (ej. MM3, CFF93). (43)

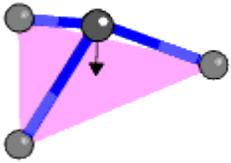
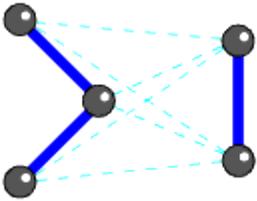
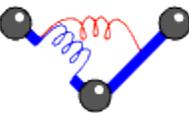
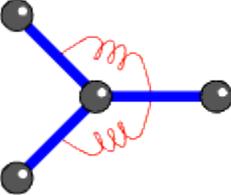
- Clase III: esta subclasificación en relación a la energía considera no sólo los términos mecánicos señalados en el campo de fuerza de clase II, sino que también considera efectos químicos como la electronegatividad y la hiperconjugación (ej. MM4). (43)

1.4.3.4. Según origen de los datos a parametrizar:

Se pueden distinguir fundamentalmente dos tipos de campos de fuerza:

- Campos de Fuerza Experimentales: Se caracterizan porque la mayoría de datos utilizados para determinar las diferentes constantes de fuerza de la expresión de la energía provienen de medidas experimentales. (43)
- Campos de Fuerza Mecano Cuánticos: se caracterizan porque los datos utilizados para determinar las diferentes constantes de fuerza de la expresión de la energía son obtenidos a partir de cálculos ab initio. (43)

Nombre	Ilustración	Formula	Cam
Quadratic bond-stretching		$k(r - r_0)^2$	AMBER,
Quadratic bond-stretching		$k_2(r - r_0)^2 + k_3(r - r_0)^3 + k_4(r - r_0)^4$	CFF
Morse bond-stretching		$k \left[1 - e^{-\alpha(r_b - r_b^0)} \right]^2$	CVFF,ES
Quadratic angle-bending		$k(\theta - \theta_0)^2$	AMBER,
Quartic angle-bending		$k_2(\theta - \theta_0)^2 + k_3(\theta - \theta_0)^3 + k_4(\theta - \theta_0)^4$	CFF
cosine angle-bending		variedad	ESFF,UF
Single-cosine torsion		$k(1 + \cos(n\phi - \phi_0))$ o similar	AMBER,
Three-term cosine torsion		$k_1[1 - \cos(\phi - \phi_{01})] + k_2[1 - \cos(2\phi - \phi_{02})] + k_3[1 - \cos(3\phi - \phi_{03})]$	CFF
Cosine-Fourier torsion		$k(1 \pm \cos n\phi)$	UFF
Sin-cos torsión		$k_\phi \left(\frac{\sin^2 \theta_1 \sin^2 \theta_2}{\sin^2 \theta_1^0 \sin^2 \theta_2^0} + \text{sign} \frac{\sin^n \theta_1 \sin^n \theta_2}{\sin^n \theta_1^0 \sin^n \theta_2^0} \cos[n\phi] \right)$	ESFF
Improper cosine out of plane		$k[1 + \cos(n\chi - \chi_0)]$ o similar	AMBER,
Improper quadratic out of plane		$k(\chi - \chi_0)^2$	CHARM
Improper square out of plane		$k\chi^2$	CVFF
Wilson (or umbrella) out of plane		$k\chi^2$	CFF,ESF
		$k(\cos \chi - \cos \chi_0)^2$	UFF

Pyramid height out of plane		No se utiliza	Ninguno
6-9 van der waals		$\left[\frac{A_{ij}}{r_{ij}^9} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right] \text{ o } \epsilon \left[2 \left(\frac{r^*}{r} \right)^9 - 3 \left(\frac{r^*}{r} \right)^6 \right]$	CFF, ESF
6-12 van der waals		$\left[\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right] \text{ o } \epsilon \left[\left(\frac{r^*}{r} \right)^{12} - 2 \left(\frac{r^*}{r} \right)^6 \right]$	AMBER, CVFF
Electrostatic		$\frac{q_i q_j}{\epsilon r_{ij}}$ o similar	AMBER, CHARM, UFF
Quadratic bond-bond		$k(r - r_0)(r' - r'_0)$	CFF, CVI
Quadratic bond-angle		$k(r - r_0)(\theta - \theta_0)$	CFF, CVI
Angle -angle		$k(\theta - \theta_0)(\theta' - \theta'_0)$	CFF, CVI
End bond- torsion		$(b - b_0)[k_1 \cos \phi + k_2 \cos 2\phi + k_3 \cos 3\phi]$	CFF

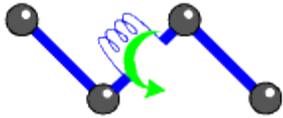
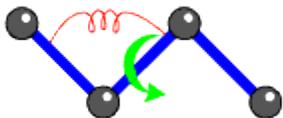
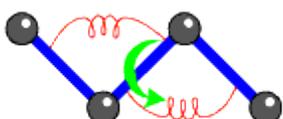
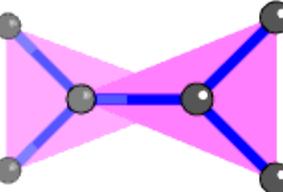
Center bond-torsion		$(b' - b'_0)[k_1 \cos \phi + k_2 \cos 2\phi + k_3 \cos 3\phi]$	CFF
Ángulo – Torsión		$(\theta - \theta_0)[k_1 \cos \phi + k_2 \cos 2\phi + k_3 \cos 3\phi]$	CFF
Ángulo – Ángulo de Torsión		$k \cos \phi (\theta - \theta_0) (\theta' - \theta'_0)$	CFF, CVFF
Improper out of plane out of plane		$k[1 - \cos 2\chi]^{1/2}[1 - \cos 2\chi']^{1/2}$	CVFF

Tabla 1. 7: Términos potenciales comunes en los principales campos de fuerza (44)

1.4.4. CVFF: Campo de fuerza de valencia constante

La forma analítica de la expresión de energía utilizada por el CVFF se da en la ecuación. La mayoría de otros campos de fuerza en la literatura utilizan un subconjunto de los términos incluidos en CVFF, a menudo sólo los términos diagonales.

$$\begin{aligned}
 E_{pot} = & \sum_b D_b [1 - e^{-\alpha(b-b_0)}] \\
 & + \sum_{\theta} H_{\theta} (\theta - \theta_0)^2 \\
 & + \sum_{\phi} H_{\phi} [1 + s \cos(n\phi)] \\
 & + \sum_{\chi} H_{\chi} \chi^2 \\
 & + \sum_b \sum_{b'} F_{bb'} (b - b_0)(b' - b'_0) \\
 & + \sum_{\theta} \sum_{\theta'} F_{\theta\theta'} (\theta - \theta_0)(\theta' - \theta'_0) \\
 & + \sum_b \sum_{\theta} F_{b\theta'} (b - b_0)(\theta - \theta_0) + \sum_{\phi} F_{\phi\theta\theta} \cos \phi (\theta - \theta_0)(\theta' - \theta'_0) \\
 & + \sum_{\chi} \sum_{\chi'} F_{\chi\chi'} \chi\chi' + \sum \varepsilon [(r^*/r)^{12} - 2(r^*/r)^6] + \sum q_i q_j / \varepsilon r_{ij}
 \end{aligned}$$

Ecuación1. 18

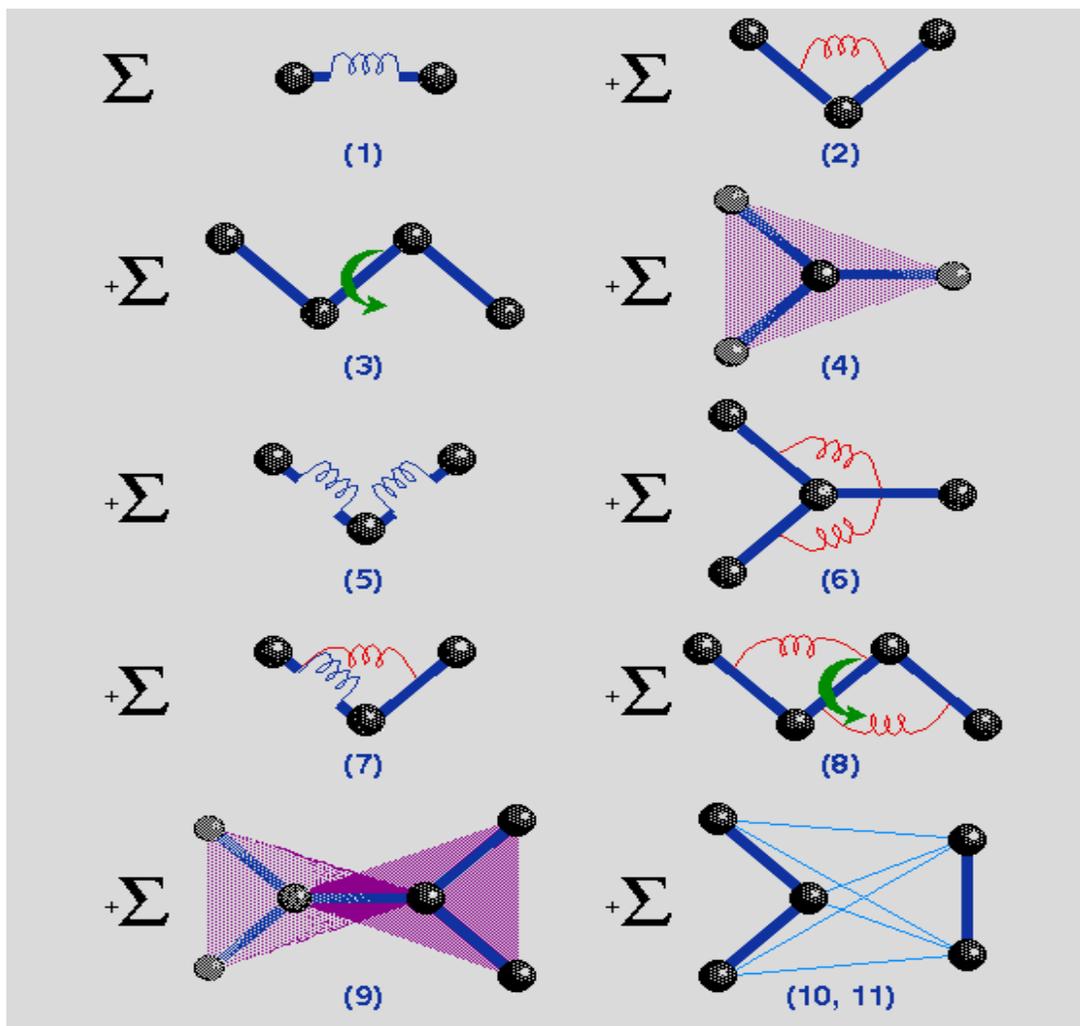


Ilustración 1. 8: Los elementos del CVFF en su fórmula desenrollan los ángulos, enlaces., diedros entre otros términos descritos con sus componentes

Los términos 1-4 en la Ilustración 1. 8 se conocen comúnmente como “diagonal terms of the valence force fields” y representan la energía de deformación de longitudes de enlace, ángulos de enlace, ángulos de torsión, y las interacciones fuera de plano, respectivamente. Tenga en cuenta que un potencial de Morse se utiliza para el término enlace de estiramiento. La forma Morse es computacionalmente más rara que la forma armónica.

Dado que el número de interacciones de enlaces es generalmente insignificante en relación con el número de interacciones no enlazantes, el costo adicional de utilizar el potencial de Morse más preciso es insignificante, por lo que esta es la opción por defecto.

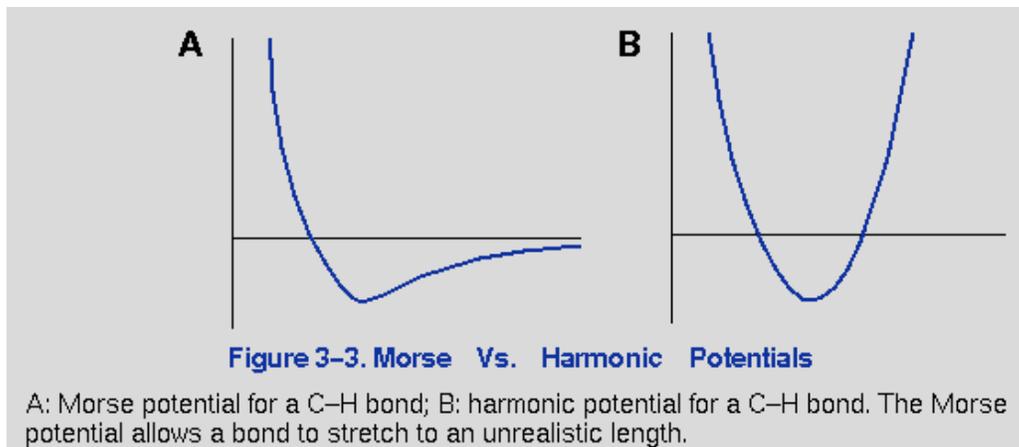


Ilustración 1. 9: Una excepción a esta regla es cuando la molécula que se está simulando es de alta energía (causada, por ejemplo, por átomos o una temperatura objetivo de alta superposición), lo que podría forzar a una función de estilo Morse para permitir que los átomos unidos, es decir un átomo pesado con otro átomo más liviano. Tomada de (45)

El términos 5 y 9 de la Ilustración 1. 8 son términos fuera de la diagonal (o cruz) y representan acoplamientos entre las deformaciones de las coordenadas internas. Por ejemplo, el término 5 describe el acoplamiento entre el estiramiento de enlaces adyacentes. Estos términos son necesarios para reproducir con precisión las frecuencias vibracionales experimentales y, por lo tanto, las propiedades dinámicas de las moléculas. En algunos casos, la investigación también ha demostrado que este término es importante en la contabilización de deformaciones estructurales. Sin embargo los términos cruzados pueden llegar a ser inestables cuando la estructura está lejos de un mínimo.

Los términos 10-11 describen las interacciones no enlazantes. Término 10 representa las interacciones de van der Waals con una función de Lennard-Jones. Término 11 es la

representación de Coulomb de interacciones electrostáticas. La constante dieléctrica puede hacer dependiente de la distancia (es decir, una función de r_{ij}).

En el campo de fuerza CVFF, los enlaces de hidrógeno son una consecuencia natural de los de van der Waals estándar y los parámetros electrostáticos, y funciones especiales de enlace de hidrógeno no mejoran el ajuste de CVFF a los datos experimentales

- *Punto de corte:* o cutoff; es un ajuste de precisión ocupado para un grupo de átomos, es decir, se realiza un corte al realizar la minimización y este puede cambiar cuando se efectúe la dinámica. Poniendo así una discontinuidad si no se aplica.
- *Grupo:* Usado para definir un conjunto de átomos específicos que contengan igual similitud y a su vez que ayuden al objetivo predispuesto.

El campo de fuerza CVFF es bastante antiguo, al principio destinado a simulaciones de proteínas. Como implemento, se utilizaron punto de corte basado en el grupo, los grupos de átomos neutrales se tratan como una unidad, y basta con uno de los átomos definidos como el punto de corte del átomo. Las interacciones entre todos los átomos en relación a las distancias, en los dos grupos se incluyen o excluyen, o, dentro del rango de conmutación se incluyen, pero sin problemas en la curva de interacción a distancia cero de corte. Una vez más, la suavización se basa en la distancia entre los átomos de conmutación, no los pares individuales entre los dos grupos. Cabe aclarar ya que en este estudio se realiza las simulaciones con el programa LAMMPS no admite puntos de corte basados en el grupo.

Así concentrándonos en el campo de fuerza CVFF o cualquier otro campo de fuerza donde hay cargas importantes en los átomos se pueden definir grupos neutrales, todo este problema desaparece si se utilizan puntos de corte basados en el grupo, pero sin embargo, aumenta el gasto computacional y la complejidad, como sería el caso de las sumas de Ewald.

Sin embargo, no es fácil ni posible generar automáticamente grupos neutros en general, aunque es bastante simple para estructuras regulares, tales como las proteínas para las que el campo CVFF es dirigido, es decir, un campo que aporta restricciones propias para cada átomo.

LAMMPS no maneja puntos de corte basados en grupos como ya se mencionó antes, sino en `pair_style` que incluyen interacciones electrostáticas de largo alcance, utilizando el modelo de Ewald o métodos de celdillas (Kspace), como Ewald y Ewald/n o PPPM. Ewald/n funcionará para las celdas no ortorrómbicas, que puede ser una consideración en función de sus sistemas.

1.4.5. Campos de fuerza en Lammmps

(`pair style`, `bond style`, `angle style`, `dihedral style`, `improper style`, `kspace style`) (46)

- Pares de potentials: Lennard-Jones, Buckingham, Morse, Born-Mayer-Huggins, Yukawa, soft, clase 2 (COMPASS), enlace de hidrógeno.
- Pares de potenciales cargados: Coulombicas, dipolo.
- Potencial de muchos cuerpos: EAM, Finnis/Sinclair EAM, modificación del ión incorporado EAM (MEAM), (EIM), EDIP, ADP, Stillinger-Weber, Tersoff, REBO, AIREBO, ReaxFF, COMB
- Campo de fuerza de electrones (eFF, AWPMMD)
- Potenciales de grano grueso: DPD, GayBerne, REsquared, coloidal, DLVO
- Potencial mesoscopico: granular, Peridynamics, SPH
- Potencial de Enlace: harmónico, FENE, Morse, No lineal, Clase 2, Cuadrático(frágil)
- Potenciales de ángulo: harmónico, CHARMM, coseno, coseno cuadrático, coseno periódico, clase 2 (COMPASS)
- Potencial de diedro: Harmónico, CHARMM, Harmónico múltiple, hélice, clase 2 (COMPASS), OPLS.

- Potenciales Impropios: Harmonico, CVFF, sombrilla, clase 2(COMPASS).
- Potenciales de polímeros: Todos los átomos, átomos unidos,
- Potenciales de agua: TIP3P, TIP4P, SPC
- Potenciales con solvente implícito : lubricación hidrodinámica, Debye.
- Archivo KIM del potencial Coulombics de largo alcance y de dispersión: Ewald, Wolf, PPPM, Ewald/N para Lennard-Jones de largo alcance.
- Campos de fuerza compatibles con opciones comunes de CHARMM, AMBER, DREIDING, OPLS, GROMACS, opciones de COMPASS.
- Potenciales híbridos: pares múltiples, enlaces, ángulos, diedros e impropios.

El estilo CVFF en LAMMPS utiliza el potencial donde phi es un ángulo diedro impropio siempre y cuando se ordenan los 4 átomos en un cuadrado impropio (I, J, K, L), entonces el ángulo diedro es impropio o fuera del plano entre el plano de I, J, K y el plano de J, K, L.

$$E = K[1 + d \cos(n\phi)]$$

Ecuación1. 19

dónde: K (energía)

D (+1 o -1)

N (0,1,2,3,4,6)

Tenga en cuenta que debido a esto es efectivamente un ángulo diedro, la fórmula para este estilo inadecuada es el mismo que para el estilo diedro armónico, pero la definición de 4 átomos no significa que los enlaces necesariamente existen entre IJ, JK, o KL, como lo harían en un diedro lineal.

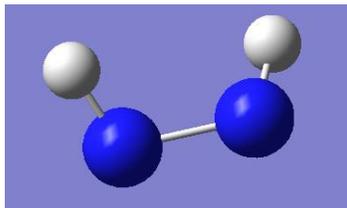


Ilustración 1. 10: Representación de i,j,k,l ordenadas por 4 átomos de izquierda a derecha

Los siguientes coeficientes deben ser definidos para cada tipo impropio inadecuado a través de los coeficientes impropios

1.4.6. Potenciales para H₂O

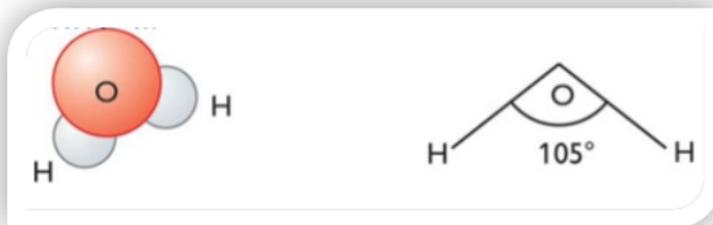


Ilustración 1. 11: Dos átomos de hidrogeno unidos al átomo de oxigeno mediante un enlace covalente. Tomando una estructura no lineal de forma triangular entre los átomos con ángulo de 105° entre sí. (79)

Como el H₂O es un solvente de enorme interés en Química y Biología es posiblemente el sistema que más interés ha despertado en el área de la simulación computacional. Además por existir una enorme cantidad de resultados experimentales, es posible validar cuidadosamente los modelos empleados.

Para modelar el H₂O se emplean en general potenciales que incluyen 3 o 4 sitios. En los modelos de 3 sitios, a cada átomo se le asigna una carga, de manera de reproducir aproximadamente el momento dipolar de una molécula de H₂O en H₂O líquida.

Además se utiliza un potencial de Lennard-Jones centrado en el átomo de oxígeno. El potencial más común de estas características es el llamado SPC (Single Point Charge).

Un modelo algo más sofisticado, el llamado TIP4P, es un modelo en el cual la carga negativa asociada al oxígeno se ubica en una posición desplazada. Esto permite ciertas mejoras en la descripción de las propiedades del líquido. Ambos modelos se llaman de campo medio, ya que se han parametrizado de manera tal de reproducir las propiedades del líquido.

1.5. RESONANCIA MAGNETICA NUCLEAR

La Resonancia Magnética Nuclear RMN es parte de la familia de los métodos científicos utilizados para el estudio de moléculas (espectroscopia de RMN), macromoléculas (RMN biomolecular), así como también tejidos y organismos completos (imagen por resonancia magnética). En sí la resonancia magnética nuclear (RMN) es un fenómeno físico basado en las propiedades mecánico-cuánticas de los núcleos atómicos (47).

1.5.1. Historia

La RMN fue descubierta en 1946, en forma independiente Bloch (Stanford) y por Purcell (Harvard); trabajo por el que se les otorgó el premio nobel de Física en el año de 1952. (48) Es un fenómeno que se relaciona con los campos magnéticos y ondas electromagnéticas de radiofrecuencia (RF) y su interacción con la materia. Este descubrimiento es utilizado en varios campos de la ciencia, como por ejemplo, química analítica y bioquímica.

En los años 80 se desarrolló el uso de la RMN para aplicaciones médicas, especialmente para producir imágenes de tejidos humanos útiles para diagnóstico de diversas patologías; se puede considerar un fenómeno muy reciente y que va evolucionado eficientemente y lo seguirá haciendo (48). En 1985 inicia el uso en la industria. Mientras que en el 2003, el físico Peter Mansfield y el Químico Enerst reciben el premio nobel de medicina por el desarrollo de la imagen con resonancia magnética IRM.

El fenómeno de la resonancia magnética se produce por el magnetismo que tiene su origen en el movimiento de rotación de las partículas cargadas eléctricamente. Refiriéndose a un fenómeno causado por una orientación no aleatoria del campo magnético de los electrones.

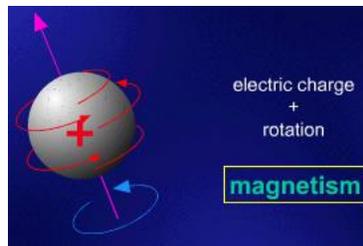


Ilustración 1. 12: Momento Magnético: causado por la orientación aleatoria del campo magnético de los electrones. Tomado de (49)

Esta orientación da lugar a una magnetización macroscópica neta, que puede ser producida no solo por los electrones sino también por la mayoría de los núcleos atómicos que poseen momento magnético, esta característica se utiliza en la obtención imágenes por RM (resonancia magnética).

El magnetismo nuclear tiene su origen en el espín nuclear y el valor del momento angular asociado a él, que se encuentra directamente relacionado tanto con el número atómico (número de protones) como con el número másico (número de protones más números de neutrones) o con el número de neutrones.

Existen dos situaciones en las que se origina un momento magnético nuclear neto: (50)

1. Cuando el número de protones y el número másico son impares (o el número de neutrones es par), como en el ^1H , ^{15}N , ^{19}F , ^{23}Na y ^{31}P .
2. Cuando el número de protones es par y el número másico impar (o el número de neutrones impar) como en el ^{13}C .

El núcleo del hidrógeno (^1H), siendo el núcleo más simple de todos los elementos, es un buen isotopo para la obtención de imágenes al ser el más abundante en el cuerpo humano y poseer un momento magnético grande. (49)

Núcleos	$F_0(0.23\text{T})$	$F_0(0.5\text{T})$	$F_0(1.0\text{T})$	$F_0(1.5\text{T})$	$F_0(3.0\text{T})$
^1H	9.8MHz	21.3MHz	42.6MHz	63.9MHz	127.8MHz
^{19}F	9.2MHz	20.0MHz	40.0MHz	60.1MHz	120.1MHz
^{31}P	3.9MHz	8.6MHz	17.1MHz	25.7MHz	51.4MHz
^{23}Na	2.6MHz	5.6MHz	11.3MHz	16.9MHz	33.8MHz
^{13}C	2.5MHz	5.4MHz	10.7MHz	16.1MHz	32.1MHz

Tabla 1. 8: Núcleos presentes en equipos de resonancia magnética; tipos de núcleos atómicos que pueden ser ocupados para la obtención de IRM con diferentes intensidades, se detallan las frecuencias de resonancia para diferentes intensidades de campo magnético externo.

Las frecuencias a las cuales resuena un núcleo atómico a utilizar son directamente proporcionales al campo externo aplicado, lo que implica que a mayor campo se obtiene una mayor resolución espectral, hay que tomar en cuenta el efecto de *chemical shift* (51) el efecto Zeeman (52).

Durante la IRM, el cuerpo humano se expone a un intenso campo magnético, mediante el uso de pulsos de ondas de radiofrecuencia se obtiene una imagen basada en la forma en que

los átomos de hidrógeno del cuerpo reaccionan ante el campo magnético y las ondas de radiofrecuencia.

Debido a la abundancia de moléculas de agua en el organismo, el hidrógeno presente en ellas es muy sensible a las ondas electromagnéticas, ya que posee un elevado momento magnético que es la característica que se utiliza en esta técnica (53). La IRM muestra de manera muy precisa las diferencias de contenido de agua entre los diversos tejidos del cuerpo. Es particularmente importante para detectar tumores y encontrar la presencia de problemas en los tejidos blandos del cuerpo, como el cerebro, la médula espinal, el corazón y los ojos.

Durante el examen, las ondas de radiofrecuencia modifican la orientación magnética de los átomos del organismo, lo cual es detectado por una antena y enviado a una computadora que procesa la señal. La computadora realiza millones de cálculos que crean imágenes claras de cortes transversales del organismo. Estas imágenes se pueden convertir en fotos tridimensionales (3D) de la zona analizada.

1.5.2. Bases Físicas

El átomo consta de un núcleo y una corteza, la que está formada por electrones y el núcleo de protones los cuales tienen carga eléctrica positiva.

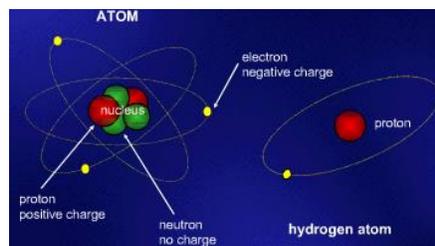


Ilustración 1. 13: Estructura del átomo; en la estructura está presente tanto el núcleo, protones, electrones y se encuentra presente un claro ejemplo del átomo de hidrógeno (47)

El protón está girando o realizando un movimiento de espín, lo que genera una corriente eléctrica acompañada de un campo magnético.

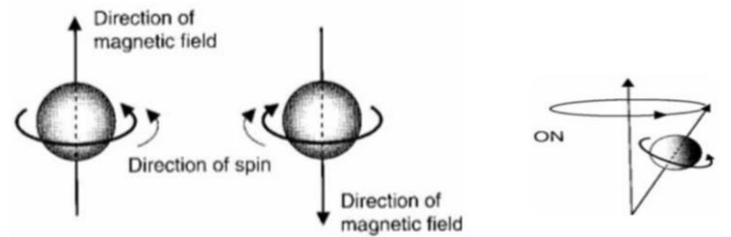


Ilustración 1. 14: Mov. de RMN; en el proceso para la obtención de la IRM se produce dos tipos de movimientos que son: 1) Mov. Rotación 2) Mov. Precisión.

Los protones se alinean en dos formas con el campo magnético externo: paralelo a él (menor energía) y antiparalelo (mayor energía), estos tipos de alineación corresponden a diferentes niveles de energía y el de mayor importancia es el que ocupa menor energía. La intensidad del campo magnético está dada por la diferencia.

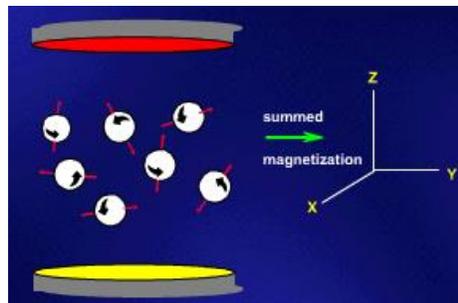


Ilustración 1. 15: Alineación; los protones de los hidrogeno están en posición paralela o antiparalela se suman dando la magnetización. Tomado de (49)

1.5.2.1 Movimiento de precesión

Este movimiento es propio de los protones. Es el movimiento asociado con el cambio de dirección en el espacio, que experimenta el eje instantáneo de rotación de un cuerpo.

A su velocidad se la denomina frecuencia de precesión y es directamente proporcional a la intensidad del campo magnético por lo que cuanto más intenso el campo más rápida será la velocidad de precesión y mayor la frecuencia de precesión.

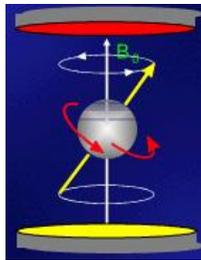


Ilustración 1. 16: Campo externo (B_0) producida por el movimiento de precesión más su velocidad, alineando si los átomos que se encuentran presentes bajo el dominio del campo de fuerza B_0 . Tomado de (49)

La frecuencia del campo de fuerza está dada por medio de la ecuación de Larmor: (54)

$$W_0 = \gamma B_0 \quad (\text{Hz o MHz})$$

Ecuación 1. 20

Dónde:

γ : constante giromagnética

B_0 : Campo Magnético externo (T)

Utilizando un sistema de coordenadas que permita representar el movimiento del protón en el campo magnético donde en el eje Z se encuentran las líneas del campo magnético. Los protones pueden representarse como vectores con magnitud igual a la intensidad del campo que actúa en cierta dirección.

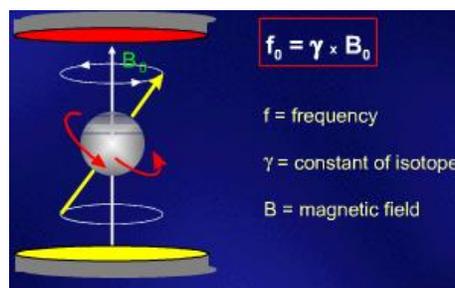


Ilustración 1. 17: Ec.Larmor ; Representación de la ecuación para poder esquematizarse con el campo magnético externo. Tomado de (49)

1.5.2.2. Dirección Longitudinal

Los vectores individuales de cada protón se suman dando lugar a un vector magnético en dirección al campo, conocida también como *dirección longitudinal*, esta es la dirección en la cual se obtiene la señal de RM. La dirección longitudinal no se puede medir directamente por eso es necesaria una magnetización que no sea longitudinal sino *transversal* al campo magnético.

1.5.2.3. Pulso de radiofrecuencia

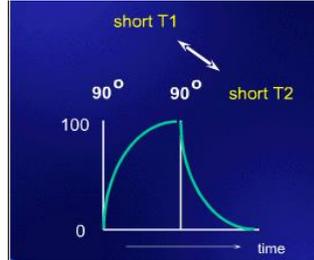


Ilustración 1. 18: Pulso de 90° referente tanto al tiempo longitudinal y transversal, uno en secuencia del otro por la interrupción del pulso de los protones. Tomado de (49)

Para la obtención de la magnetización longitudinal se envía un *pulso corto de radiofrecuencia RF* con el propósito de perturbar a los protones que están alineados al campo magnético externo, el pulso de RF puede intercambiar energía con los protones provocando que la magnetización a lo largo del eje Z disminuya (54).

Cuando el pulso de RF y los protones tienen la misma frecuencia estos pueden captar algo de energía del impulso RF, fenómeno llamado *Resonancia*. Al captar energía el protón pasa de un estado de menor a otro de mayor energía.

1.5.3. Fundamentos de la Imagen por RM

1.5.3.1. Formación de las imágenes de RM

La obtención de las imágenes de resonancia magnética se da por la "técnica de reconstrucción", obteniéndose punto por punto, línea por línea, en cortes o en cortes calculados a partir de un volumen completo.

Las técnicas de formación de imágenes por RM son:

- Técnicas volumétricas: Las técnicas que codifican espacialmente todo el volumen se denominan técnicas de adquisición en tres dimensiones o técnicas 3D.
- Técnicas por cortes: Se limita a un solo corte obtenido a partir de la muestra y se describe a menudo como adquisición de dos dimensiones (2D), ya que sólo se tienen que codificar dos dimensiones espaciales.

En la formación de la imagen siguen los siguientes procedimientos:

- Localización de los espines de interés;
- Excitación de los espines seleccionados;
- Codificación espacial de su señal.
- Detección y reconstrucción de la señal.

La resonancia magnética en la medicina es de suma importancia en la obtención de la imagen de un paciente, la señal de resonancia magnética de los núcleos tiene que contener información acerca su posición en el paciente.

En la espectroscopia por RM se coloca un modelo que tiene que ser lo más adecuado en el campo magnético, de forma que una molécula particular dará una señal de la misma frecuencia en cualquier punto del modelo. Por lo tanto, cambios de frecuencia observados en la señal transformada de Fourier reflejarán cambios químicos dentro de la muestra, permitiendo realizar un análisis espectral.

1.5.3.2. Localización de espines con gradientes de campo

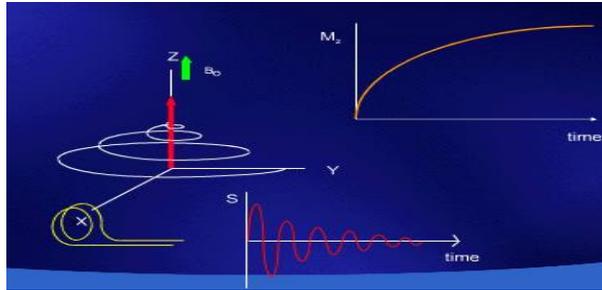


Ilustración 1. 19: La frecuencia de Larmor es proporcional a la intensidad del campo magnético. Si se varía la frecuencia de la señal al cambiar el campo magnético linealmente a través de la muestra, las frecuencias en diferentes posiciones también variarán linealmente. Tomada de (3)

En la explicación de la formación de la imagen se relaciona con el desplazamiento químico y con la información espacial que es la que nos indica donde se origina una cierta señal dentro de nuestro modelo.

La frecuencia de Larmor es proporcional a la intensidad del campo magnético. Si se varía la frecuencia de la señal al cambiar el campo magnético linealmente a través de la muestra, las frecuencias en diferentes posiciones también variarán linealmente. Esta técnica se conoce como la aplicación de un gradiente de campo. Hoy en día, todas las técnicas de RM utilizan dichos gradientes de campo magnético para la codificación espacial.

1.5.3.3. Excitación selectiva del espín

Aplicando gradientes se puede localizar los núcleos de la muestra, pero también se puede aplicar un gradiente después del pulso de RF, este hecho reduce significativamente la magnitud de la señal de resonancia magnética de la muestra, es decir, la señal permanecerá alineada a lo largo del eje Y y decaerá a una tasa determinada por T2.

Se toma en cuenta que pequeñas imperfecciones en el campo magnético causan un desfase en la magnetización produciendo amplificación por los gradientes de campo que queremos utilizar para localizarlos. La eliminación de este problema se da cuando se aplica en presencia del gradiente el campo magnético, logrando eliminar pulsos eco de espín o eco de gradiente para evitar tener señal erradas; permitiendo su detección y codificación espacial.

1.5.3.4. Obtención de la imagen por eco de espín

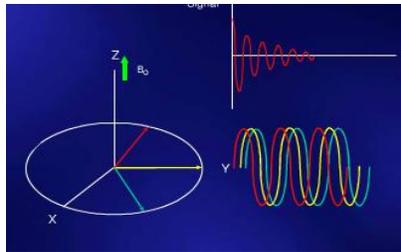


Ilustración 1. 20: Tiempo de relajación transversal; obtenida por una disminución de la magnetización transversa en un 37 %. Tomado de (49)

Un eco de espín se forma mediante la aplicación de un pulso de 180° un tiempo τ después de un pulso de 90° . Tras el pulso de 90° , los vectores de magnetización disminuyen debido a las variaciones en la frecuencia de resonancia causadas por heterogeneidad del campo (ΔB_0). Aplicando el pulso de 180° se invierte el desfase, de modo que un tiempo τ después del pulso de 180° los efectos de ΔB_0 se anulan y se forma un eco. Sólo el decaimiento T_2 reduce la intensidad del eco.

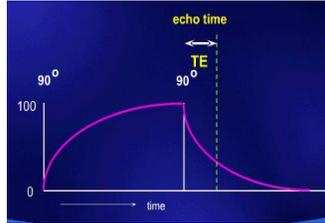


Ilustración 1. 21: Tiempo de eco; es inversamente proporcional a la señal y por lo tanto a la intensidad. Tomado de 3

La secuencia eco de espín también edifica los efectos de desplazamiento químico en el centro del eco, de forma que las señales del agua y de la grasa estarán en fase. En una adquisición basada en eco de espín que no sea de imagen los efectos de desfase en las dos mitades de la secuencia antes y después del pulso de 180° son iguales.

1.5.3.5. Obtención de la imagen por eco de gradiente

Un eco se puede generar por un pulso de 180° y por gradientes de campo utilizados para secuencias rápidas.

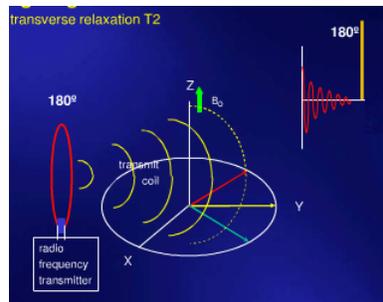


Ilustración 1. 22: Pulso de 180° actuando con una pared de goma para que algunos protones cambien de dirección, teniendo una secuencia en la rapidez de los protones, estos efectos se observan en T2 ya que tiene una secuencia rápida de imagen. Tomado de (49)

Tras un pulso de RF, la señal decae por la acción combinada del efecto T2 y de la heterogeneidad local de campo, esto es descrito por T2. Cuando se altera polaridad del gradiente se obtiene el cambio de dirección en precesión inducida, los espines empiezan a ponerse de nuevo en fase, y tras un tiempo de eco TE forman un eco de gradiente.

Un eco de gradiente (EG) se corresponde con una versión retardada y reformada de la FID. Esto es necesario debido a la conmutación del gradiente. A diferencia de los ecos de espín, con los ecos de gradiente no se anulan los efectos heterogéneos de campo. La señal decae más rápidamente, por lo que los EG requieren un tiempo de eco relativamente corto.

1.5.3.6. Codificación espacial

Para centrarnos en una región de interés es necesario introducir los diferentes métodos de codificación espacial divididos en dos grupos: codificación de frecuencia y codificación de fase.

- ***Codificación de frecuencia***

En la codificación de frecuencia, el sistema se excita cuando ningún gradiente está presente y la señal se registra a continuación en presencia de un gradiente.

Si se coloca una muestra en un campo homogéneo, no hay información relativa a la localización espacial en la señal de resonancia magnética, ya que todas las regiones de la muestra tienen la misma frecuencia de Larmor. Sin embargo, cuando se impone un gradiente, la señal de resonancia magnética contiene información acerca de la ubicación espacial de los espines resonantes. Si se aplican gradientes en las tres dimensiones, podemos diferenciar tejidos distintos en el cuerpo y localizarlos espacialmente.

- ***Codificación de fase***

La codificación de fase de la señal se lleva a cabo antes de que la señal se registre, pero de nuevo en presencia de un gradiente}, es decir, inmediatamente después de la excitación, los espines procesan en fase. Si esperamos, los procesos T2 y la heterogeneidad de campo comenzarán a actuar sobre la muestra, produciendo un desfase progresivo. Sin embargo, si se activa un gradiente, se añadirá una fuente adicional de desfase, cuyo efecto dependerá de la ubicación del espín individual y la intensidad del gradiente.

La fase de los espines contiene información espacial. La codificación de fase compara la fase con una señal de RM de la misma frecuencia. La información se puede recuperar mediante el uso adecuado de la transformada de Fourier.

El gradiente de fase se incrementa progresivamente en cada repetición. Estos cambios se pueden conseguir mediante la modificación de la duración o la amplitud del gradiente de fase. El cambio en la duración fue lo primero que surgió, pero tiene el inconveniente de proporcionar ponderaciones T2 distintas en cada repetición. Por ello, es preferible utilizar el método de variación de la amplitud del gradiente de fase.

Las codificaciones de frecuencia y de fase están relacionadas muy estrechamente. La principal diferencia entre los dos métodos es que la codificación de fase se completa antes de empezar a medir la señal, mientras que la codificación de frecuencia se aplica durante el proceso de medición. En la codificación de frecuencia, podemos utilizar la evolución de la señal con el tiempo para obtener el número deseado de puntos, mientras que en la dirección de codificación de fase no se tiene esta opción, siendo necesario repetir la adquisición del eco.

1.5.3.7. Definición de corte

En estudios analíticos de RM, la máxima potencia de RF se aplica durante un tiempo suficientemente largo para obtener el ángulo deseado (pulso rectangular). En adquisiciones

más complejas es necesario ajustar la amplitud del pulso con el tiempo a fin de dar un contenido de frecuencia mejor definido (pulso tipo "gaussiano").

La fase del pulso de RF se aplica en fases de 0° , 90° , 180° o 270° . Los pulsos de excitación resultantes pueden ser tan cortos como 10 ms para pulsos rectangulares no selectivos, y típicamente de unos pocos milisegundos para pulsos selectivos en frecuencia utilizados en RM con amplitudes pico-a-pico de hasta varios cientos de voltios.

1.5.3.8. Selección de corte

La intensidad del gradiente se puede expresar en mT/m o en Hz/m. Dado que el pulso tiene un ancho de banda fijo (pulso constante), aumentando la intensidad del gradiente se incrementa el número de Hz/m, lo que resulta en una disminución del espesor del corte.

Para un pulso de RF a la frecuencia de resonancia, la excitación se producirá en el centro del imán, donde el gradiente no tiene ningún efecto. Fuera del centro, los núcleos no se pueden excitar con pulsos de RF a la frecuencia de Larmor.

1.5.3.9. Obtención de la imagen completa

En imagen por RM 2D sólo se excita un corte mediante la aplicación de un pulso selectivo de RF en presencia del gradiente Z, por ejemplo. Hay dos métodos diferentes para obtener información espacial para las otras dos dimensiones:

- Sólo codificación de frecuencia. Los otros dos gradientes (X e Y) se combinan en un gradiente resultante de una cierta intensidad y dirección espacial. La FID se registra en la presencia de este gradiente.
- El gradiente combinado se gira un cierto ángulo y, una vez más, la FID se registra. Este proceso continúa hasta que se recoge suficiente información.

Utilizando los espectros de frecuencia una imagen puede reconstruirse mediante

- Método de retroproyección.
- Método de la TF bidimensional. es una combinación de las codificaciones de fase y frecuencia y es el método estándar de formación de la imagen en la actualidad.

Cuando un gradiente, por ejemplo el gradiente Y, se activa, los espines empiezan a desfasarse. Después de un cierto tiempo, el gradiente en Y se desactiva y la FID o, alternativamente, el eco de espín, se registra en la presencia del gradiente en X. Por lo tanto, el gradiente en Y se utiliza como gradiente de codificación de fase (denominado también gradiente de preparación) y el gradiente X codifica la información de frecuencia (gradiente de lectura).

Cuando se vuelve a excitar el sistema, se modifica la duración o, más comúnmente, la intensidad del gradiente Y. Todo el proceso se repite n veces para una resolución de n píxeles en la dirección Y, utilizando un gradiente de codificación de fase diferente para cada excitación. Dado que los efectos de la falta de homogeneidad de campo serán los mismos en cada repetición, no tienen efecto sobre la imagen final, sino que simplemente representan una línea base.

La matriz 2D de datos brutos resultante se procesa utilizando una transformada de Fourier 2D para producir una imagen 2D.

1.5.3.10. Imagen por Fourier parcial

Para reducir el tiempo de exploración es posible omitir algunos de los pasos de codificación de fase y utilizar los datos adquiridos para estimar los datos que faltan, dado que el conjunto de datos tiene simetría conjugada. Idealmente, sólo sería necesario adquirir la mitad del conjunto de datos, pero pueden producir errores de fase. Para compensar estos errores, es necesario recoger un poco más de la mitad del conjunto de datos y aplicar posteriormente una corrección de fase.

Si se usa esta técnica en una secuencia de eco de espín, sólo es necesario adquirir el 55% de las líneas de codificación de fase para poder reconstruir con precisión la imagen. En secuencias eco de gradiente se requiere un porcentaje mayor, debido a la presencia de más errores de fase causados por la heterogeneidad del campo.

En ambos casos, las imágenes finales tendrán menor relación señal-ruido en comparación con las imágenes adquiridas utilizando todas las líneas de codificación de fase, ya que el ruido en las dos mitades de la imagen por Fourier parcial estará correlacionado.

1.5.3.11. Imagen por Fourier 3D

Para obtener información espacial en lo que antes era la dirección de corte, tenemos que aplicar un segundo gradiente de codificación de fase. Para obtener la codificación espacial completa del volumen es necesario aplicar este gradiente en todas sus amplitudes posibles para cada valor del primer gradiente de codificación de fase.

La desventaja de esta técnica es que a menos que el tiempo de repetición sea muy corto, el tiempo de exploración completo será excesivamente largo. La principal ventaja de la técnica 3D es que mejora la relación señal a ruido en comparación con las técnicas 2D (si el tamaño de vóxel se mantiene constante, la relación señal-a-ruido mejora en un factor igual a la raíz cuadrada del número de cortes).

1.5.4. Ventajas y desventajas

Entre las ventajas del uso de la RM se pueden nombrar las siguientes:

- No utiliza radiación ionizante, reduciendo riesgos de mutaciones celulares o cáncer.
- Permite Cortes muy finos (1/2 mm o 1mm) e imágenes muy detalladas permitiendo observar detalles anatómicos no apreciables con otro tipo de estudio.

- Permite la adquisición de imágenes multiplanares (axial, sagital, coronal), simplificando por ejemplo el estudio tridimensional Del encéfalo, sin necesidad de cambiar de postura al paciente.
- Detecta muy rápidamente los cambios en el contenido tisular de agua.
- No causa dolor.
- El paciente tiene en todo momento comunicación con el médico. La calidad de las imágenes obtenidas se puede mejorar utilizando medios de contraste paramagnéticos por vía intravenosa (se suministran previo estudio, inyecciones de un fluido llamado gadolinio). Esto hace que las áreas anormales se iluminen en la RNM y sean más fáciles de distinguir luego.

Por el lado contrario las *desventajas* o su limitación del uso son:

- La larga duración del examen (la mayor parte de las RNM llevan entre 30 y 60 minutos).
- El costo económico (superior a los de otros estudios similares).
- Los problemas planteados en lo que respecta a dispositivos de soporte vital (apoyo ventilatorio mecánico, marcapasos), materiales ferromagnéticos presentes en el paciente (proyectiles de arma de fuego, material de osteosíntesis) y sistemas de tracción esquelética o de inmovilización, que pueden interferir en la calidad de la imagen o incluso conllevar riesgo para la vida del paciente por movilización de dichos componentes.
- Sensación de claustrofobia cuando se está adentro del túnel. El mayor porcentaje de imposibilidad para realizar la exploración se debe a este tipo de problemas, llevando a la necesidad de sedar al paciente en algunas ocasiones.

CAPITULO II

METODOLOGIA

INTRODUCCIÓN

La metodología es el conjunto de procedimientos utilizados para alcanzar un objetivo dentro de la investigación científica, es decir, es la elección de métodos.

Los métodos son estrategias aplicadas a la ciencia que pueden ser inductivos y deductivos. Así teniendo dentro de estos el principal método que se ocupa en este proyecto de tesis, el método científico con el acoplamiento del método *in-silico* ocupado para la realización de simulaciones.

El método *in-silico* es la incorporación de técnicas informáticas, es decir, por vía de simulación computacional, logrando una predicción y validación de técnicas y estrategias como el pronóstico de los efectos sobre la salud humana.

Este método no es nada más que el cálculo matemático y la organización de datos relacionados con sustancias a través de un análisis en un ordenador. Usa herramientas informáticas para el análisis de datos por medio de algoritmos computacionales en diversas áreas como química, matemática y biología.

Técnicas de predicción *in-silico*:

Las técnicas se pueden dividir en diversos métodos donde los modelos bioquímicos sobresalen, así tenemos:

- Modelado molecular: trata de la interacción de moléculas pequeñas con macromoléculas biológicas, llegando a ajustar el sitio de activo del receptor. Se ocupa principalmente para investigación farmacéutica encontrando o evaluando nuevos compuestos.
- Sistemas expertos: evalúa el nivel de toxicidad en un programa de ordenador, necesita una constante actualización de los usuarios.
- Driven data systems: da lugar a métodos de extracción de modelos de predicción directa a partir de datos experimentales, utiliza análisis de QSAR utilizando técnicas de regresión para la predicción de otros compuestos con estructura y mecanismos similares.

2.1. MATERIALES

En este proyecto de tesis se utiliza software importantes, como: LAMMPS ("Large-scale Atomic/Molecular Massively Parallel Simulator"), Wolframs Mathematic 8 y VMD. El programa LAMMPS para su uso se encuentra implementado en:

- Clúster: HPCC (*High Performance Computing Clusters*) consta de 5 nodos de 32 procesadores, su sistema de almacenamiento es de 160 GB, de sistema operativo GNU/Linux.
- Roetti: es un frontend que consta de 2 nodos, cada uno con 4 procesadores de 32 bits, de capacidad de 500 Gb cada uno, de sistema operativo GNU/Linux.
- Epoch: está formado de 8 procesadores de 64 bits de sistema operativo Ubuntu, y almacenamiento 1 TB.

Wolfram Mathematica 8 y VMD son ocupados en una computadora portátil Toshiba, procesador CORE I3, sistema operativo Windows 7, y de capacidad de 500 Gb.

BASE DE DATOS ESTRUCTURALES

- **Protein Data Bank**

El banco de datos de proteínas o en inglés The protein data bank es una base de datos de la estructura tridimensional de proteínas y ácidos nucleicos (estructura macromoleculares), generados mediante cristalografía de rayos X (55) o de resonancia magnética nuclear.

Estos datos son generados por biólogos y bioquímicos de todo el mundo para disponibilidad gratuita y publica de la comunidad global.

La sustentación de Protein Data Bank es dado por la universidad Rutgers reconocida como la sede principal desde el año de 1988 que lo toma a cargo por el Research Collaboratory for Structural Bionformatics (RCSB) (56).

Protein data bank, representado por las siglas PDB. De esta base de datos se pueden descargar varios archivos de las estructuras en diferentes formatos. El formato que nosotros descargamos es el formato PDB. (Ver Tabla2.1)

- **Formato pdb**

ATOM	1	Gd1	DOT A	1	6.94	1.17	3.02	0.00	0.00	Gd
ATOM	2	N1	DOT A	1	5.09	1.49	3.63	0.00	0.00	N
ATOM	3	N2	DOT A	1	6.25	3.25	3.3	0.00	0.00	N
ATOM	4	N3	DOT A	1	6.42	2.65	2.13	0.00	0.00	N
ATOM	5	N4	DOT A	1	5.28	1.03	2.48	0.00	0.00	N
ATOM	6	O1	DOT A	1	6.71	-0.53	3.46	0.00	0.00	O
ATOM	7	O3	DOT A	1	7.55	1.22	3.91	0.00	0.00	O
ATOM	8	O5	DOT A	1	8.34	2.06	2.75	0.00	0.00	O
ATOM	9	C1	DOT A	1	4.92	2.50	3.93	0.00	0.00	C

Tabla 2. 1: Contenido de un archivo formato PDB, de una parte de la estructura cristalografía del quelato

Este archivo tiene 11 columnas que se describen por:

1. Tipo de estructura: Atom y Hetatm
2. Secuencia del átomo dentro del archivo
3. Estilo del átomo: nombres característicos de cada átomo
4. Resid_name: nombre del residuo, división de la estructura por secciones llamados residuos, máximo 3 letras
5. Seg_name: nombre del segmento
6. Rest_number: numeración por cada resid_name
7. Coordenadas: Valor de la coordenada de las X
8. Coordenada: Valor de la coordenada de las y
9. Coordenada: Valor de la coordenada de las z
10. Ocupancia: Fracción de la celda que contiene el átomo, por lo general ocupa el valor de 1.00
11. Factor de temperatura: Indica la incertidumbre de la posición del átomo por las vibraciones
12. Nombre del elemento.

2.2. METODOS

La simulación de un agente de contraste parte principalmente de la obtención de la estructura el “SNBD”, que es el derivado de nuestro compuesto DOTA.

En la estructura del “SNBD” obtenida por difracción de rayos X se procede a la hidrogenación de la estructura que se hizo a través del programa GAUSS VIEW. Se debe recordar que debido a la naturaleza de la cristalografía de rayos X, no se puede obtener la posición de los átomos de hidrógeno en la estructura. Sin embargo, la posición de TODOS los átomos son necesarios para poder realizar las simulaciones atómicas de dinámica molecular que se realizaron en el presente proyecto.

En la saturación de la molécula con hidrógenos, se debe revisar que luego de este procedimiento automático se haya solo añadido los hidrógenos necesarios, por ejemplo no se pueden añadir hidrógenos a los nitrógenos quelantes, para que no pierdan la función de atracción con el ión (Calcio). De igual manera se deben verificar los oxígenos que se encuentran más cercanos al ión, siendo estos parte de los carboxilatos de los extremos del SNBD.

- **Construcción de la caja y aplicación del campo de fuerza**

- **Archivo data**

En líneas de investigaciones anteriores de la misma rama, más recopilación bibliográfica para estudios relacionados a agentes de contraste en base de gadolinio con quelato DOTA o derivados; se recomienda a usar el campo de fuerza de CLASS I, el mismo que tiene que estar incluido en los programas a usar como son: MATERIALS, LAMMPS, VMD los principales.

El campo de Fuerza CLASS I es un estilo que no contiene términos cruzados y dentro de esta clase, se encuentra el CVFF, mismo que se utiliza con el programa Materials Studio para la construcción de la caja de agua con el agente de contraste.

En la construcción de nuestra caja se ocupa: 216 moléculas de agua con 1 DOTA

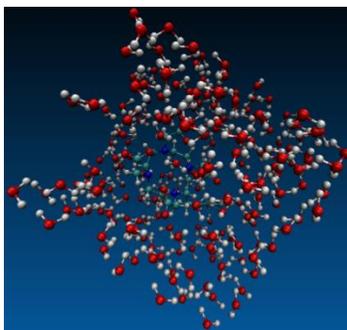


Ilustración 2. 1: construcción de nuestra base de simulación (caja de agua cúbica con Ca-SNBD) la misma que cuenta con 216 H₂O y 1 SNBD a 1.093gr/cc que es un

promedio de densidad entre las dos estructuras llegando a tener una configuración homogénea para aplicar el CVFF.FRC

Se toma en consideración que el trabajo de tesis no se realiza con el agente DOTA en sí, a lo contrario trabajamos con un derivado de él llamado “SNBD” al inicio para las posteriores modificaciones en el programa MATERIALS STUDIO. La diferencia de estas dos estructuras se ve por el aumento del anillo benceno y el nitrato en un extremo de la estructura del “DOTA”.

El agente de contraste a modelar se encontraba basado en gadolinio. El campo de fuerza no contiene los parámetros necesarios que describen de manera correcta al elemento GADOLINIO, por lo cual se decide el cambio de este elemento por CALCIO.

Las dimensiones de la caja construida es de: 19.52 Å, en condiciones periódicas, aplicando una densidad promedio de las estructuras de 1.093 gr/cc para aplicar el campo CVFF.FRC. Esta densidad promedio es el cálculo a un 50% entre los dos tipos de estructura que serían el agua y la molécula de agente de contraste como se puede observar en el Ilustración 2. 1

- **Aplicación del campo de fuerza**

La construcción de la caja aplicando el campo de fuerza CVFF en el programa MATERIALS STUDIO nos aporta dos tipos de archivos llamados CAR y MDF, en estos archivos se encuentra:

- Lista de átomos
- Coordenadas de los átomos
- Características de cada tipo de átomo específico.
- Cargas de los átomos etc.

Estos dos tipos de archivos (CAR y MDF) son importantes para la creación del archivo DATA, por medio del principal programa a realizar dinámica molecular llamado

LAMMPS; el archivo DATA que se obtiene de la recopilación de la información de estos archivos y los parámetros del campo CVFF.

El archivo DATA nos sirve de información inicial de los átomos para proceder a realizar la minimización del sistema.

Creación del archivo de entrada

- **Input**

El archivo input es un documento de texto, que consta de una secuencia de comandos de entrada. Hay que tener en cuenta que algunos comandos tienen configuraciones predeterminadas y siguen las siguientes reglas:

- La lectura es sensible a espacios y a secuencia de comandos, para tener efecto, es decir, va línea a línea. Por ejemplo, el comando `read_data` inicia el sistema mediante la creación de la caja de la simulación y la asignación de los átomos.

El archivo input está compuesto por 4 partes:

1. Inicialización

Se establece los parámetros ya sea para la creación o lectura de átomos establecidos como es en este proyecto de tesis. Los comandos a utilizarse: `unit`, `dimension`, `boundary`, `atom_style`, `atom_modify`. Así como parámetros para el campo de fuerza como: `pair_style`, `bond_style`, `angle_style`, `dihedral_style`, `improper_style`.

2. Definición de átomos

Se realiza por tres medios: lectura de base de datos, reiniciación (`read_data`) o por archivos de resguardo (`read_restart`). Estos medios de definición contienen información de topología.

3. Configuración

Es un detalle de cada comando mencionado en la inicialización, estos pueden ser: coeficientes del campo de fuerza (pair_coeff, bond_coeff, angle_coeff, dihedral_coeff, improper_coeff, kspace_style, dielectric, special_bonds.), parámetros de simulación (neighbor, neigh_modify, group, timestep, reset_timestep, run_style, min_style, min_modify.), opciones de salida fijados (thermo, dump y restart)

4. Ejecución de la simulación

Trata de la simulación atomística por medio de la minimización de energía, dinámica molecular, etc.

Este archivo es único o particular para cada caso ya sea minimización o dinámica molecular. En el caso de las distintas etapas de dinámica molecular se debe partir de los resultados obtenidos en la optimización de la estructura (minimización).

Minimización de la energía del sistema

La minimización de la energía del sistema, trata de ejecutar las coordenadas atómicas de acuerdo a los criterios de minimización fijados por el programa LAMMPS. Esperando que se pueda llegar al potencial local mínimo de energía que se debe aproximar al punto crítico de la estructura a simular, que puede ser o no el mínimo local de la unión de átomos que estamos analizando.

Los criterios para la minimización definidos en el programa LAMMPS son 4 criterios:

- Cambio de energía entre las iteraciones exteriores es menor que la tolerancia de energía
- Vector fuerza total es menor que la Fuerza de tolerancia
- Máximo de iteraciones: iteraciones exteriores supera el número fijado.
- Supera el máximo de evaluaciones de la fuerza total.

A su vez la minimización consta de estilos, matemáticamente representados por algoritmos. La minimización es una breve búsqueda de la mínima energía del sistema vía una serie de iteraciones a lo largo del cambio de las coordenadas atómicas; así tenemos:

- CG: es el algoritmo de gradiente conjugado de Polak-Ribiere; trata de la combinación de la iteración del gradiente de fuerza con la iteración anterior para poder llegar a la dirección perpendicular.
- SD: Algoritmo de máxima pendiente, la dirección a encontrarse se establece en la dirección de descenso correspondiente al vector fuerza.
- HFTN: es el algoritmo truncado de Newton libre de Hessianas (Hessian-free truncated Newton algorithm) se da en cada iteración de modelo cuadrático de la energía potencial resuelto por un gradiente conjugado de repetición interna. Cerca del mínimo de energía el algoritmo se comporta como un modelo de newton.

El objetivo de realizar minimizaciones con los tres estilos es ver cual de ellos es el algoritmo de minimización más optimo para encontrar la estructura minimizada de los agentes de contraste.

El encuentrrro del estilo de minimización ***Sd***, mismo que es el mejor en convergencia de la energía, ayudandose de los comandos adicionales como `min_modify` para llograr obtener una disminución de energía, meta d ela minimización, EL estilo ***Sd*** despues despues de sus comprobaciones, es el escogido para realizar la simualción de minimización definitiva.

Cambio de cargas

Las cargas colocadas por el programa Materials por medio del campo de fuerza y otros componentes son erradas ya que la molécula por bases teóricas tiene una carga de -3.

Para resolver este inconveniente se realiza en Gaussean 0.9 un cálculo de Single Point (Cálculo de energía de la estructura), por medio de nivel de teoría B3LYP y un conjunto baseG_311 G (d,p). Esto es un cálculo utilizando la teoría del DFT (anexo 1).

En el archivo data se realiza el cambio con las cargas proporcionadas por el DFT en los átomos de carbono y oxígeno. Las nuevas cargas son:

$$\begin{array}{rcl} \text{O} & = & 0.405753 \\ \text{C} & = & -0.695001 \end{array}$$

Este cambio se realiza a los carbonos que están formando un grupo carboxilato, es decir a los carbonos extremos conectados con los oxígenos. El resultado de este cambio nos da que la molécula está cargada con -2.92123, logrando obtener el resultado deseado.

Modelos de agua

Los modelos de agua para estudios de simulación son de suma importancia ya que solventan la molécula para mejorar la modelación, bajo las condiciones periódicas de contorno, logrando optimizar la red de enlace del hidrógeno (constituyen la mitad del sistema a simular). En el proyecto de tesis, el objetivo principal es el cálculo de la tasa de intercambio del agua (k_{ex}) teniendo así gran importancia las moléculas de agua.

El modelo de agua que se escoge es el TIP3P - potencial de transferencia intermolecular 3P escogido en variedad de estudios de agentes de contraste en resonancia magnética (57) (58)

Este tipo de modelo de agua visualizado en la Ilustración 2. 2 tiene las siguientes características, motivo por el cual se encuentra elegido en este caso, una distancia de enlace O-H de 95.84 pm, un ángulo HOH de 104.45 °.

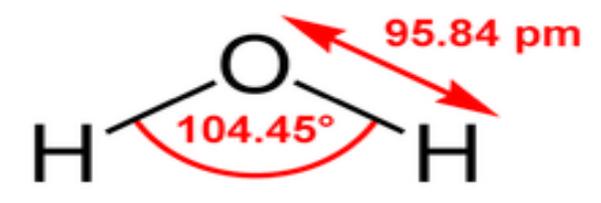


Ilustración 2. 2: Modelo de agua definido por su geometría, cargas atómicas y condiciones de Lennard-Jones que dan la distancia y el ángulo que forman los átomos de la molécula

LAMMPS es el programa que va a realizar las simulaciones que se hagan en el trabajo de tesis. Al ocupar este programa tenemos factores que se encuentran automáticamente definidos al usar uno u otro comando. Así es el caso de que el modelo de agua TIP3P se encuentra ya definido por defecto cuando se ocupa en el comando `pair_style` el campo CHARMM.

En nuestro input está definido el campo de fuerza `lj/charmm/coul/charmm`, donde se encuentra pre definido el modelo que necesitamos “TIP3P”, por lo tanto no hay necesidad de hacer cambios o modificaciones adicionales.

El modelo TIP3P implícito en CHARMM ofrece parámetros de Lennard-Jones para los átomos de hidrógeno y oxígeno. Por lo cual este modelo tiene cargas propias de este tipo de agua

El potencial para los TIP3P y TIP4P están definidos por la siguiente Ecuación 2. 1

$$E_{ab} = \sum_i^{on\ a} \sum_j^{on\ b} \frac{k_c q_i q_j}{r_{ij}} + \frac{A}{r_{\infty}^{12}} - \frac{B}{r_{\infty}^6}$$

Ecuación 2. 1

Donde

k_C = constante electrostática, tiene un valor de $332,1 \text{ \AA} \cdot \text{kcal} / \text{mol}$

q_i = cargas parciales relativas a la carga del electrón,

r_{ij} = distancia entre dos átomos o de los sitios cargados,

A y B son los parámetros de Lennard-Jones.

Los parámetros para definir las moléculas de agua, con el modelo TIP3P son los siguientes:

Masa:

O masa = 15.9994

H masa = 1.008

Carga:

O carga = -0.834

H carga = 0.417

Parámetros de Lennard-Jones

LJ epsilon entre OO = 0.1521

LJ sigma entre OO = 3.1507

LJ epsilon entre HH = 0.0460

LJ sigma del HH = 0.4000

LJ epsilon del OH = 0.0836

LJ sigma Del OH = 1.7753

Enlace

K de OH enlace = 450

r_0 de OH enlace = 0.9572

Ángulo:

K de HOH ángulo = 55

Angulo theta del HOH = 104.52

Dinámica

En las simulaciones de dinámica molecular las desglosamos por medio de tres procesos sugeridos después de la construcción de la caja y su minimización respectiva, teniendo así tres fases que son:

- **Dinámica de termalización**

A la primera dinámica (D1) se la conoce con el nombre de *TERMALIZACION (NVT)*.

El objetivo de esta dinámica es conservar la temperatura constante, en todo el proceso, logrando así la distribución de las moléculas por toda la caja. La temperatura de nuestro agente de contraste no puede ser la del ambiente (298 ⁰K) puesto que en la vida real está sustancia química se inyecta en el cuerpo humano y allí la temperatura es de 310 ⁰k.

El tiempo promedio para la realización de la termalización es de 500 ps. En el cual el objetivo de esta dinámica es conservar la temperatura estable, en todo el proceso, alcanzando la distribución de las moléculas por toda la caja.

- **Dinámica isobárica**

La segunda dinámica (D2) o segundo ensamble isobárico simula el resultado de la termalización para efectuar la dinámica *“NPT”*.

El propósito de la segunda dinámica es el de generar la densidad adecuada del sistema, ajustando las dimensiones de la caja (disminuyendo o aumentando las distancias). Este es la razón por lo cual tanto la presión, temperatura, y las moles del sistemas se mantiene estable (constante) para variar el volumen del sistema.

Los pasos establecidos mínimos para observar estos cambios son de 2 000 000 de pasos. En este caso, es decir, con el Ca- SNBD con 216 moléculas de agua se realiza 3 000 000 de pasos esto transformado a tiempo equivale a 3000 ps de simulación NPT.

- **Dinámica de producción**

La tercera dinámica (D3) es la NVT conocida como la dinámica de producción.

La finalidad de la tercera dinámica es el cálculo de las fuerzas que se encuentran envueltas en el sistema de simulación después de pasar por la termalización y la dinámica de ajuste de tamaño de la caja.

En esta dinámica se recomienda realizar por lo menos 2 000 000 pasos de simulación equivaliendo a 2000ps de tiempo, pero en esta ocasión se realizó 60 000 000 pasos. Se ha definido en el archivo input que cada 1000 pasos se escribirán parámetros como energía y temperatura y otros parámetros esenciales resultados de los cálculos.

Archivo de entrada

El archivo INPUT, archivo de entrada, (anexo 4) para la realización de la primera dinámica molecular conocida como NVT.

Para este input tenemos la adición y la disminución de las siguientes líneas de comando con respecto al input utilizado para la minimización:

Líneas adicionales:

```
pair_style lj/charmm/coul/long 8.0 10.0 10.0
kpace_style pppm 0.0001
```

El estilo del campo de fuerza a aplicarse es cambiado para medir interacciones de largo alcance, y poder visualizar los movimientos de las moléculas de agua. Este estilo de potencial necesita de la adición de la línea de comando llamada `Kspace_style`, útil para el cálculo de las interacciones Coulomb de largo alcance en relación de las iteraciones de Lennard-Jones en cada paso del tiempo.

```
group fijo id 5
fix 1 fijo move linear 0.0 0.0 0.0 units box
```

Estas líneas muestran la asignación de un sub grupo conformado por el átomo C_{24} . El efecto de este comando es que el átomo C_{24} no tenga la misma libertad de movimiento que el resto de átomos del sistema. En la práctica, lo que se consigue es que la molécula de contraste no se mueva (difunda) por toda la caja para facilitar posteriores cálculos de los parámetros del agente de contraste. Por otra parte la estructura del agente de contraste se va a mover en referencia a la posición fijada del nuevo sub grupo, pero esta restricción no evita que la estructura se mueva libremente (distancia entre átomos, ángulos entre átomos, rotación global de la molécula).

```
fix 2 all nvt temp 310.0 310.0 100.0 tchain 1
variable t equal temp
variable e equal pe

run 600000 every 1000 "print 'temperature = $t' " print 'Final potential energy = $e'"
```

Esta lista de comandos son específicas para efectuar la dinámica molecular, en donde se especifica el tipo de dinámica a ocuparse (NVT), a su vez el tiempo que debe simular (el

número luego del comando “run”) y cada cuando imprimir los valores de las variables que se encuentran especificadas como son: temperatura (variable t) y energía (variable pe).

Esta parte es la única que se va a modificar mientras transcurren las tres diferentes dinámicas (NVT-NPT-NVT). (Ver anexo 4.1, 4.2, 4.3)

Líneas suprimidas en comparación al input de la minimización:

En la eliminación de las líneas de comando no hay necesidad de suprimirlas, sino que simplemente se las puede transformar en “comentarios”, líneas que el programa no ejecuta. Para esto se antepone a la línea de interés el signo “#”;este signo representará que dicha línea es comentada y no cuenta como una orden.

```
#min_style sd
#min_modify dmax 0.001
#minimize 1.0e-4 1.0e-6 10000 1000000
```

Estas líneas ya no son necesarias puesto que cumplieron con su propósito realizando la minimización del campo de fuerza elegido.

Creación de la estructura del agente activado Ca- SNBD-FDG

- **Estructura FDG**

Teniendo ya la simulaciones de la dinámica molecular y conseguir que nuestro agente se encuentre correctamente simulado, se procede a la unión de la molécula del agente de contraste a un grupo denominado FDG, que no es más que un análogo de la glucosa (2-fluoro-2desoxi-D-glucosa) abreviado con las siglas FDG.

Esta azúcar cumple la función de un marcador ya que se requiere para identificar la funcionalidad de una enzima específica presente en los tejidos de interés. Permite localizar un grupo celular con la posibilidad de realizar una evaluación cuantitativa, aportando perfiles de expresión génica, que se puede utilizar para el diagnóstico médico por imagen.

En la práctica el FDG es incorporado por células con gran contenido de glucosa (como riñón, cerebro, células cancerígenas), sin entrar a la ruta glicolítica antes del decaimiento del radioisótopo que contiene esta molécula (59). La estructura del FDG fue construida átomo por átomo a través del programa GAUSS-VIEW para realizar las modificaciones establecidas en la unión del FDG con el “Ca- SNBD”.

Las modificaciones hechas para cada estructura son:

- Eliminación del anillo benceno con su nitrato que formaba parte de la estructura Ca-SNBD, en su lugar se coloca un átomo de hidrógeno para la saturación el carbono que queda cargado. (Ver Ilustración 2. 3)
- Se elimina un oxígeno de cualquiera de uno de los grupos carboxilatos que contiene el anillo Ca- SNBD para colocar un hidrógeno que será el lugar de conexión con el azúcar FDG en pasos subsecuentes de preparación de este sistema.

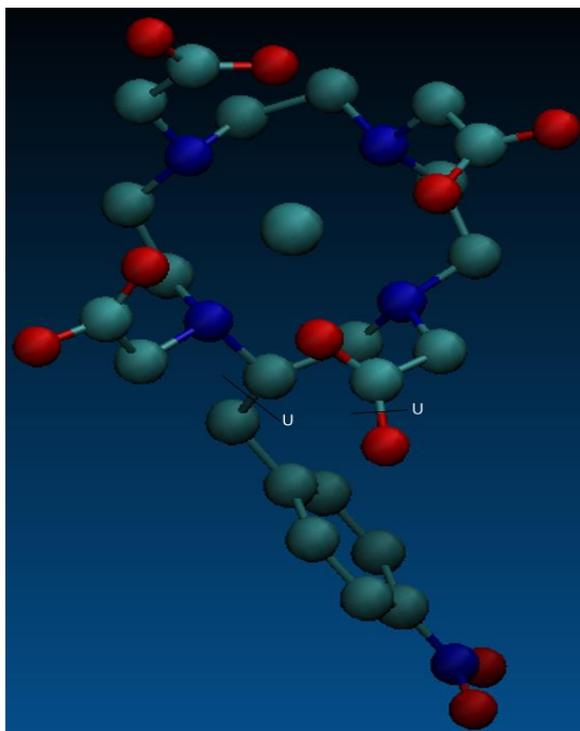


Ilustración 2. 3: Estructura Ca-SNFD en la cual se muestra los cambios de eliminación de átomos para la unión con el FDG. Las “U” simbolizan la eliminación (parte inferior de la “U”), para ser los lugares en donde se realice la unión y saturación respectiva de la estructura.

Las modificaciones realizadas en la estructura FDG son:

- Reemplazo de los dos átomos de Flúor por dos átomos de hidrogeno, realizadas porque no existen los parámetros pre establecidos por el campo CVFFF.FRC ocupado para las simulaciones.
- En el extremo izquierdo de Ilustración 2. 4 se satura al nitrógeno y al carbono para tener una estructura hidrogenada.

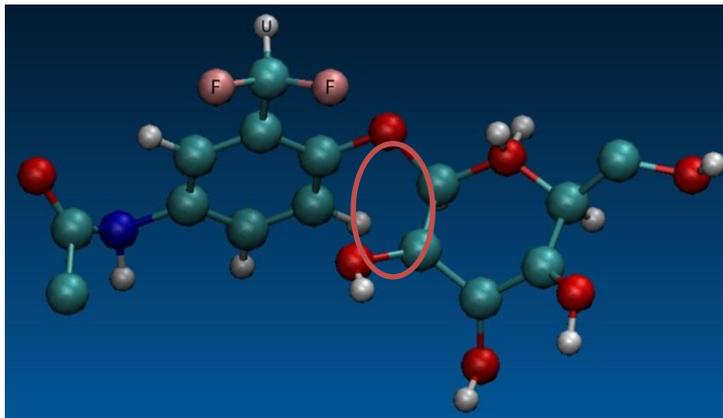


Ilustración 2. 4: Estructura del FDG en el cual se muestra evidentemente los 2 átomos de flúor de color rosado son reemplazados por átomos de hidrogeno, mientras que desde el oxígeno encerrado en el círculo hacia su derecha se eliminan para posteriormente la unión con la estructura Ca-DOTA.

La unión de las dos estructuras en el método *in-vitro* se da por proceso de síntesis química, pero en el método *in-silico* se procede a la eliminación del anillo benceno con el nitrato de la molécula de Ca-SNBD y de un átomo de oxígeno cualquiera de los 4 carboxilatos que conforman el SNBD para en su lugar colocar la estructura FDG modificada. Esta unión da lugar nuestro modelo para el estudio de la tasa de intercambio de agua (k_{ex}) de un marcador llamado Ca- SNBD-FDG.

- **Componente proteico**

Las imágenes moleculares obtenidas con estrategias de aumento usando agentes de contraste inteligentes requeridos para producir una sensibilidad más alta en la técnica de resonancia magnética nuclear (60). Teóricamente son complejos que exigen una fuerte señal con interacciones específicas visualizando si hay un efecto bioactivado o no. Esto los hace candidatos perfectos para la proyección de imagen molecular por su alta SNR para la identificación de objetivos moleculares.

Los agentes de contraste de RM inteligentes llevar a cabo cambios estructurales tras interacciones específicas, que cambian significativamente sus propiedades de la señal, por ejemplo el aumento del número de moléculas de agua del centro de la esfera (q) (61). Las interacciones específicas están dadas por medio de las proteínas que han sido desarrolladas y caracterizadas según su funcionalidad (60) (62).

Las proteínas manipuladas en agentes de contraste inteligentes son usadas por el fin de lograr una conjugación y a su vez una mayor relajación producidas por un aumento de peso molecular en la obtención de la imagen

La elección de proteína es: albumina sérica humana (HUMAN SERUM ALBUMIN, HSA), mostrada en el Ilustración 2. 5. Se escogió la proteína por ser la más abundante en el ser humano y por tanto la probabilidad de formación del conducto HSA – agente de contraste bioactivado Ca-DOTA-FDG. La HSA es una proteína globular distribuida en todo el torrente sanguíneo (63)

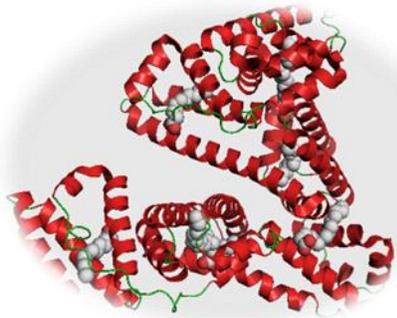


Ilustración 2. 5: Estructura de la proteína HSA, en la cual se puede observar cada parte que conforma con sus dos cadenas, en la forma Helicoidal propicia de una proteína

De toda la proteína HSA se escogió 15 aminoácidos de la cadena B, porque forman una elipse alfa completa de la proteína de fácil acceso, estos aminoácidos son:

1. Fenilalanina
2. Alanina
3. Glutamina
4. Glutamina
5. Glicina
6. Lisina
7. Lisina
8. Leucina
9. Valina
10. Alanina
11. Alanina
12. Serina
13. Glutamina
14. Alanina
15. Alanina

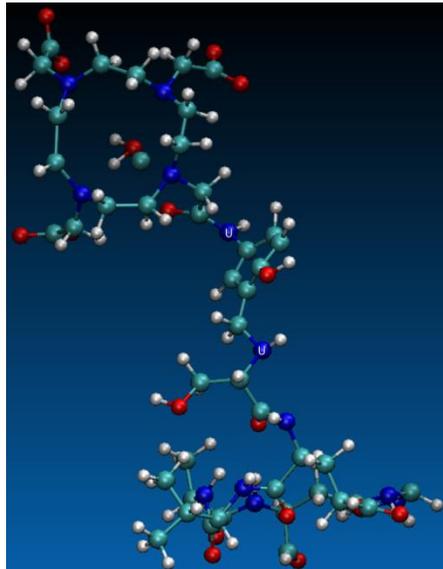


Ilustración 2. 6: Estructura a la que la denominamos complejo. Se encuentra designado con una "U" los lugares de unión de cada estructura formando así el complejo CA-DOTA-FDG-HSA-H2O

La unión de la estructura Ca-DOTA-FDG con el fragmento de la proteína HSA escogido se da por la eliminación del azúcar, quedando suelto un oxígeno que es saturado con un hidrógeno y en uno de los dos átomos de flúor que contiene la estructura Ca-DOTA-FDG se reemplaza por el fragmento de la proteína HSA escogido, a través del extremo c-terminal del aminoácido para crear el modelo del producto de una reacción de condensación como se da experimentalmente en la presencia de la proteína HSA en ese lugar.

La unión del agente de contraste, el FDG y la proteína da lugar a la estructura completa [Ca (DOTA-FDG-HSA)(H₂O)] (agente de contraste bioactivado), Ilustración 2. 6.

Esta forma completa deberá presentar un mayor contraste que el Ca (DOTA) por una variedad de razones mencionadas anteriormente. A este mismo complejo que se va a proceder a modelar su comportamiento vía dinámica molecular.

En la optimización de la energía del sistema que contiene el complejo [Ca (SNBD-FPG-HSA)(H₂O)] se utiliza el mismo archivo de entrada (input) que fue ocupado para la estructura del SNBD, con ligeras modificaciones aplicadas a las tres dinámicas posteriores. Cada una se realiza por diversos medios explicados en la sección de resultados y a su vez se tiene una segunda opción que consiste en el reemplazo de la proteína por un hidrocarburo (tetradecano).

2.3. DATOS EXPERIMENTALES

Los datos experimentales nos brindan la información de las simulaciones realizadas al sistema que contiene el complejo y las moléculas de agua. Estos se encuentran en el archivo de salida conocido como output resultado de los cálculos basados en los parámetros definidos en el archivo de entrada input.

El programa de dinámica molecular LAMMPS, en su archivo log.lammps, nos da la información de:

- Datos de salida termodinámicos:

Esta base de datos ya se encuentra considerada al momento de colocar el comando thermo_style, en donde uno como usuario describe que tipo de parámetros termodinámicos se requieren y además el intervalo de tiempo en el cual se imprimirán los resultados cada cierto número de pasos definido por el usuario (Tabla 2. 2). Así obtenemos la información detallada a continuación:

Steps de simulación: Pasos realizados en la simulación en el momento en que se está escribiendo los resultados en el archivo de salida (log.lammps)

Temperatura: es una magnitud escalar relacionada con la energía interna de un sistema termodinámico.

Energía: Las energías que se imprimen en el archivo log.lammps (archivo de salida) son: energía potencial y energía total del sistema simulado impreso a las necesidades del usuario.

Volumen: es una magnitud escalar definida como la extensión en tres dimensiones de describe de qué explícitamente en este cálculo.

Step	Temp	PotEng	TotEng	Press	Volume
0	313.95	-2910.85	-2238.98	-1793.68	7112.09
10000	327.09	-2934.09	-2234.05	2395.45	7112.09
100000	309.51	-2955.48	-2293.05	962.23	7112.09
200000	320.16	-2931.86	-2246.64	-793.28	7112.09
5000000	307.99	-2915.56	-2256.39	2180.92	7112.09
19800000	313.70	-2921.32	-2249.93	1946.35	7112.09
33880000	313.59	-2938.05	-2266.91	1146.07	7112.09
39900000	306.78	-2938.94	-2282.36	-284.04	7112.09
46850000	327.83	-2926.83	-2225.19	-1214.39	7112.09
51290000	309.42	-2928.01	-2265.78	-6292.45	7112.09
60000000	305.54	-2960.84	-2306.92	2913.91	7112.09

Tabla 2. 2: Formato ejemplar de datos termodinámicos obtenidos en la dinámica de producción.

- Archivos DUMP: dan información sobre valores átomo –átomo y definición de frecuencia para imprimir los diferentes instantáneas.

Sí tenemos tres impresiones personalizadas de archivos dump, que dan información de:

1. Dump atom: Da información de las posiciones de los átomos expresados en coordenadas (x,y,z) en cada paso de simulación, una muestra del contenido del archivo se puede observar en la Tabla 2. 3

ATOMS				
id	type	xs	ys	zs
89	2	0.0195504	0.114203	0.339718
143	2	0.266704	0.105215	0.236595
550	2	0.110987	0.224766	0.176032
85	2	0.218441	0.196051	0.399474
222	1	0.0788853	0.189548	0.0919782
100	2	0.150667	0.153872	0.234526
534	1	0.219603	0.177995	0.0846998
332	2	0.348929	0.00907319	0.235924

Tabla 2. 3: Formato ilustrado del archivo dump atom: mostrando las posiciones de algunos átomos

2. Dump dcd: es un archivo binario que contiene las velocidades de las moléculas en cada instante definido en la exportación de datos especificado por el usuario. Los archivos dump.dcd se encontraran adjuntos en el CD de la tesis.
3. Dump custom: Da información de las cargas de los átomos durante la simulación. Un ejemplo de este output está en la Tabla 2. 4 y el contenido completo se encuentra en la sección anexos.

ATOMS q
0.41
0.41
0.41
0.41
-0.82
0.41
-0.82
0.41
-0.82
0.41
0.41

Tabla 2. 4: Formato del archivo dump custom

CAPITULO III

RESULTADOS – DISCUSION

3.1. PROGRAMAS ESCOGIDOS

3.1.1. Lammgs

LAMMPS, "Large-scale Atomic/ Molecular Massively Parallel Simulator" por sus siglas en inglés, es un programa de código abierto, distribuido libremente bajo los términos de la Licencia Pública GNU (GPL), aplicado para dinámica molecular que trata tanto a escala atómica como molecular, haciendo los procedimientos escogidos en menor tiempo ya que tiene la posibilidad de utilizar procesadores individuales o utilizarlos en paralelo. Este software es mayormente utilizado para el estudio y modelado de sistemas atómicos, biológicos, polímeros, metálicos, granulares y de grano grueso con una variedad de campos de fuerza y condiciones de contorno.

En forma breve, LAMMPS integra las ecuaciones de movimiento de Newton para las agrupaciones de átomos, moléculas, o partículas macroscópicas que interactúan a través de fuerzas de corto o de largo alcance.

LAMMPS utiliza listas de átomos vecinos con la finalidad de dar una mejor eficiencia en sus simulaciones y realizar un seguimiento de las partículas cercanas. Las listas están optimizadas para sistemas con partículas que son repulsivos a distancias cortas, de forma que la densidad no se ve afectada de una forma significativa.

3.1.2. Visual molecular Dynamics:

VMD es un programa computacional gratuito y de código libre que visualiza el modelado molecular. Su objetivo es analizar el resultado de simulaciones de dinámica molecular gráficamente, en este caso, realizadas por el programa LAMMPS.

Incluye herramientas para trabajar con datos de volumen, secuencias y objetos gráficos arbitrarios como conos, cilindros o esferas. Los usuarios pueden ejecutar sus propios scripts en lenguaje de programación Tcl o Python, dado que VMD también incluye intereses para estos lenguajes.

3.1.4. Wolfram Mathematica:

El programa MATHEMATICA 9 Home Edition es reconocido mundialmente como una de las mejores aplicaciones computacionales ya que realiza todo tipo de trabajo, específicamente en el análisis de datos y procesamiento matemático de los resultados del presente proyecto de tesis.

El programa MATHEMATICA 9 fue utilizado para el análisis gráfico obtenido, proporcionando gráficos de cajas, diagramas, gráficos de barras e histogramas para datos emparejados con la automatización y flexibilidad que proporciona el programa.

Aparte de estos programas principales tenemos a GAUSS-VIEW, el mismo que fue utilizado como programa secundario tanto para la visualización de estructuras como para crear una estructura FDG, como se mencionará posteriormente.

3.2. CONSTRUCCION DE LA CAJA

La caja de partida para los cálculos es construida para analizar el comportamiento del agente Gd-DOTA estudiado vía simulaciones de dinámica molecular para medir los parámetros de interés para un buen agente de contraste de IRM. Para este motivo se coloca

la molécula de Gd-DOTA a analizar con 216 moléculas de H₂O (el solvente) teniendo una mezcla homogénea. Las moléculas de agua actúan representando al medio que las rodearía en el uso práctico.

Para poder simular o describir una mezcla homogénea se realizó un cálculo de la densidad total del sistema incluyendo tanto moléculas de agua como la molécula del SNBD para encontrar el valor estándar de la densidad respondiendo al valor de 1.096 gr/cc.

3.3. Aplicación del campo de fuerza

Una contribución significativa para este proyecto de tesis es la elección del campo de fuerza. El campo de fuerza debe estar implementado en los programas a ocupar y además debe describir de una forma correcta las interacciones de los átomos presentes en el sistema.

El campo de fuerza aplicado es de clase uno (Class I) donde los términos armónicos son restringidos y no existen términos cruzados ya que no necesitamos que nuestro agente de contraste (Ca-SNFD) se deforme. Estos parámetros se encuentran incluidos en el archivo de campo de fuerza CVFF.FRC que viene incluido en la carpeta de herramientas msi2lmp y dentro de ella en Biosym_frc_files de LAMMPS.

Una consideración importante de este proyecto es evaluar si utilizando dinámica molecular se puede obtener el parámetro de la tasa de intercambio de agua y que esto se correlacione con datos experimentales. Estos resultados son utilizados para saber si se puede predecir este parámetro para nuevos agentes o modificaciones de los existentes.

El quelante DOTA tiene algunos derivados, entre ellos el Gd-SNBD, que posee la misma base estructural del quelante DOTA más el grupo aromático benceno y su nitrato. Desde el punto de vista funcional estos dos compuestos son idénticos, por lo que se ha decidido usar el quelante Gd-SNBD para el trabajo de simulación.

El campo de fuerza CVFF.FRC utilizado para este sistema fue definido y utilizado en la construcción de la caja. Posteriormente este sistema fue analizado con LAMMPS para

poder crear el archivo DATA donde constan el tamaño de la caja, tipo de átomos con sus cargas y coordenadas, tipo de enlaces y ángulos además de ángulos diedros con sus respectivos coeficientes.

3.3.1. Implementación del campo de fuerza CVFF para el sistema Gd-SNBD y solución de problemas con parámetros

Se debe recordar que un campo de fuerza está construido a partir de un set de moléculas de prueba y tiene definiciones para ciertos átomos e interacciones más comunes. Sin embargo la tarea de asignar los parámetros para una nueva molécula fuera a pesar de estar parcialmente automatizado debe ser verificada por el investigador sección por sección. Por tanto se lanzaron varios cálculos de prueba para ir poco a poco encontrando y corrigiendo posibles secciones donde los parámetros, tipos de átomos, ángulos, diedros y enlaces fueron incorrectamente asignados por los programas durante la generación del archivo data. Por ejemplo, entre las depuraciones necesarias se tienen las siguientes:

- El campo de fuerza no contiene parámetros para el átomo GADOLINIO

Para solucionar este problema se realiza el cambio del Gd^{3+} a Ca^{2+} . Se cuenta con información completa del átomo de calcio en el campo de fuerza utilizado, en contraste con el ión del gadolinio del cual no se contaba con información topológica. A su vez el ión escogido posee propiedades paramagnéticas, superparamagnéticas, entre otras lo cual permite que sea aplicado en resonancia magnética nuclear (64).

- La estructura de Ca-SNBD con el campo de fuerza CVFF.FRC tiene ligeras dificultades al reconocer al nitrato ubicado en la parte terminal del benceno, produciendo estas líneas de error:

```

Unable to find vdw data for o$
Unable to find bond data for c- o$
Unable to find angle data for cp c- o$
Unable to find angle data for o$ c- o$
Unable to find oop data for c1 n3 c2 c2
Unable to find oop data for c2 n3 c2 c2
Unable to find oop data for cp c- o$ o$

```

Ilustración 3. 1: Errores en la obtención del archivo DATA para el compuesto Gd-SNBD

La solución para eliminar esta limitación es el cambio del grupo nitrato original en la estructura por un grupo carboxilo realizando un cambio de átomo para poder encontrar los parámetros faltantes mostrados anteriormente.

Los ángulos, enlaces, diedros fuera del plano (oop) son el producto de una mala designación entre diversos tipos de carbono y oxígeno que contiene el campo de fuerza. Para esto se designan con otro tipo de átomo. (depuración manual de los tipos de átomos en el archivo data). El nitrato conformado por un nitrógeno (N_{28}) representado por N_2 y los oxígenos (O_{37}, O_{38}) reciben el siguiente cambio: N_2 a C y O por O\$ y O'

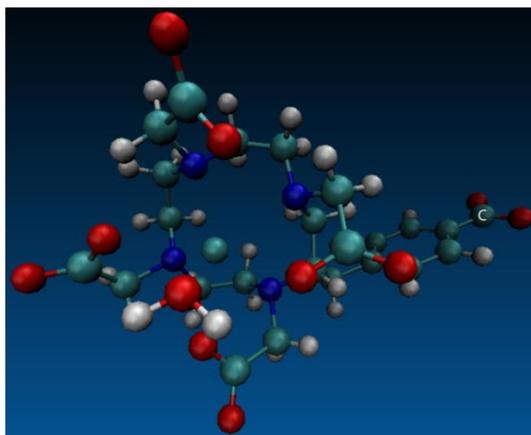


Ilustración 3. 2: Ca-SNFD realizado el cambio del grupo nitrato por el grupo carboxilo señalado por "C"

De las líneas de errores mostradas en la ilustración.3.2 encontramos que no se encuentra incluido en la base de datos el ángulo cp c- o-, para lo cual este valor se lo encontró manualmente midiéndolo de la estructura cristalográfica a través del programa VMD y

posteriormente este valor se lo introdujo en la base de datos del archivo DATA. Los valores obtenidos son:

cp c- o-	=>	122.70000	122.80000
----------	----	-----------	-----------

3.4. MINIMIZACION DEL SISTEMA

La definición de la estructura minimizada brinda la pauta para realizar las simulaciones de dinámica molecular del sistema. Se debe tomar en cuenta las palabras clave que se debe incluir en el input para poder realizar una minimización adecuada donde se cumplan los criterios tomados en consideración.

Para la realización de la minimización se realizó una serie de pruebas con el objetivo de analizar el comportamiento del ión y estilos de minimización.

3.4.1. PRIMERA PRUEBA

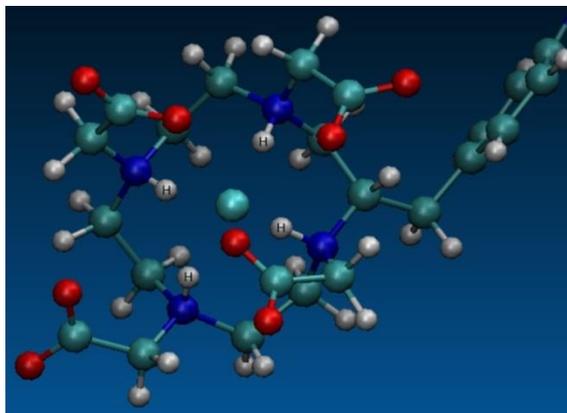


Ilustración 3. 3: La estructura de la gente de contraste se encuentra con la adición de 4 átomos de hidrógenos en los nitrógenos que actúan como fuerza de atracción para el ión

La prueba uno tiene la función de mostrar las propiedades que caracterizan al ión (calcio) y a su vez comprobar la fuerza de atracción generada por los átomos de nitrógeno hacia el ión para evitar su desplazamiento.

El primer paso en esta prueba consiste en colocar un átomo de hidrógeno en cada uno de los 4 nitrógenos presentes en el anillo mostrado en la ilustración 3.3. Este procedimiento sirve para poder tener una idea de cómo será la atracción al ión calcio, además de probar que este ión de calcio poseen enlaces electrostáticos no dissociables.

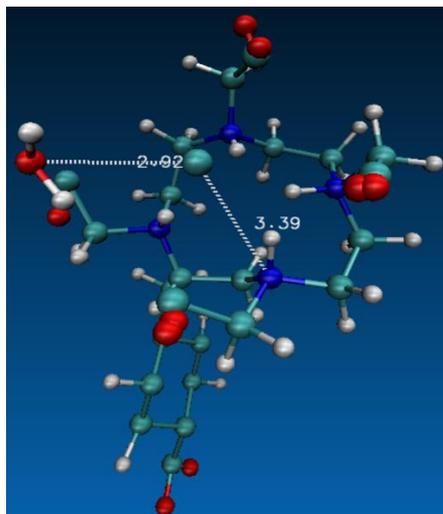


Ilustración 3. 4: Ión calcio se aleja de su posición original (2.50 Å), es decir, una diferencia de 0.42 Å en presencia de los átomos de hidrógeno que impiden se ponga en acción la fuerza de atracción de los nitrógenos y a su vez los enlaces propios de esta clase de ión

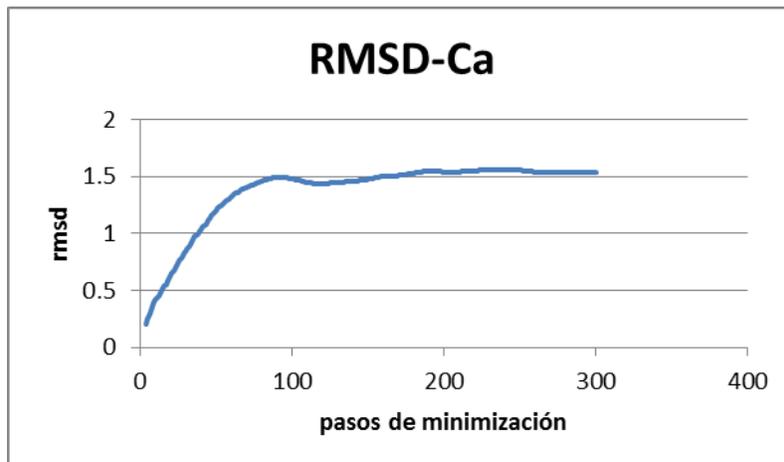


Gráfico 3.1: RMSD de la minimización para el ión calcio referente a la estructura de cristal, la misma que no posee adición de los hidrógenos en cada átomo de nirogeno.

Mediante esta prueba de simulación mostrado en el Gráfico 3.1 se encuentra que nuestro ión calcio tiene un valor den al raíz media cuadrática es de 1.53 \AA al que se calcula una desviación estándar del 0.07 \AA . Estos valores logran probar la teoría, que la falta de interacción H-N hace que el ión calcio no se mantenga en su geometría original, existiendo así solo una fuerza de repulsión entre la los átomos de hidrógenos y el ión calcio.

Al relacionar los resultados presentados en la Ilustración 3. 4 con los datos de la primera prueba y segunda prueba se puede demostrar que la energía de la primera prueba son demasiado alta indicando que la estructura es inestable o no muy favorable, pero siempre cumpliendo un criterio de tolerancia impuesto por el programa LAMMPS sin que se pueda decir que la estructura se llegó a minimizar, es decir, disminuya la energía. Mientras que en la segunda prueba el sistema con la estructura llega a detenerse la minimización cumpliendo el criterio de energía (Ver ilustración 3.5) de tolerancia porque la longitud del vector fuerza es menor que la carga de energía entre las iteraciones interna.

```
Minimization stats:  
Stopping criterion = energy tolerance  
Energy initial, next-to-last, final =  
    12040.1822827  -10460.4300841  -10461.2596572  
Iterations, force evaluations = 262 550
```

Ilustración 3. 5: Parámetros obtenidos de la segunda prueba realizada para la minimización del sistema

En cuanto al movimiento de los átomos, se observó que la estructura del agente se encuentra relativamente inmóvil comparado con el movimiento de las aguas que se encuentran rodeándole, es decir, las aguas tienen una vibración en su posición, siendo este comportamiento inadecuado para el cálculo de nuestro principal parámetro que es tasa de intercambio del agua.

3.4.2. SEGUNDA PRUEBA

El objetivo de la segunda prueba es ver cual de los tres estilos de minimización es el que proporciona el algoritmo de minimización adecuado para encontrar la estructura más estable para la estructura inicial que se está estudiando y por tanto de menor energía, para lo cual utilizo el archivo input (anexo 2) de la primera prueba de minimización con ciertas modificaciones aumentando nuevas líneas de comando.

A la estructura de la primera prueba (ver sección anterior) se eliminó los 4 hidrógenos aumentados y se procedió a realizar minimización. Se realizaron varias minimizaciones en las que se probó distintos estilos (métodos) de minimización disponibles en LAMMPS buscando obtener una disminución de energía favorable) para nuestro agente.

Los estilos a analizarse en esta segunda prueba fueron los siguientes:

3.4.2.1. Estilo steepest descent (*Sd*)

```
min_style sd
min_modify dmax 0.001
minimize      1.0e-4 1.0e-6 10000 1000000
      Loop time of 51.4803 on 8 procs for 2760 steps with 719 atoms

Minimization stats:
  Stopping criterion = energy tolerance
  Energy initial, next-to-last, final = 18861.82  -89913.98  -89922.97
  Force two-norm initial, final = 125701 2027.52
  Force max component initial, final = 71472.3 457.202
  Final line search alpha, max atom move = 2.1855e-06 0.000999216
```

Ilustración 3. 6: Criterios de minimización a cumplirse y resultados obtenidos con el estilo Sd

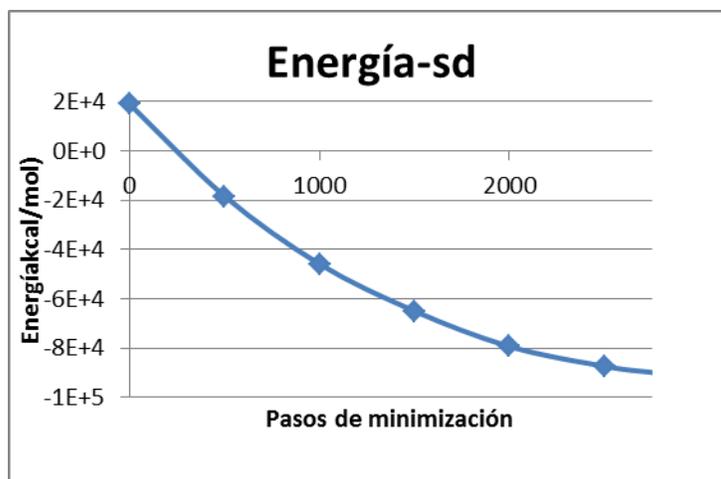


Gráfico 3.2: Estilo SD de la minimización mostrando la energía en el proceso de simulación

Con el estilo de minimización *Sd*, mostrado en el Gráfico 3.2, se logra cumplir el criterio de tolerancia (Ver ilustración 3.6) de energía obteniendo una energía final de -89922.97 kcal/mol.

Este valor de la energía indica que el estilo de minimización *sd* da un cambio evidente en 2760 pasos que se realizaron logrando la reubicación de los átomos en sus posiciones adecuadas sin llegar a la temperatura de cero grados.

3.4.2.2. Estilo del gradiente conjugado (*cg*)

```
min_style cg
min_modify dmax 0.001
minimize      1.0e-4 1.0e-6 10000 1000000
Loop time of 51.6841 on 8 procs for 2760 steps with 719 atoms

Minimization stats:
Stopping criterion = energy tolerance
Energy initial, next-to-last, final = 18861.8163375  -89913.9799941  -89922.9710655
Force two-norm initial, final = 125701 2027.52
Force max component initial, final = 71472.3 457.202
Final line search alpha, max atom move = 2.1855e-06 0.000999216
```

Ilustración 3. 7: Parámetros del estilo *cg* y resultados obtenidos para la minimización

El algoritmo de gradiente conjugado, CG es el segundo estilo de minimización analizado. El *cg* es similar al estilo *sd* con ciertos parámetros adicionales, puesto que este estilo no toma en cuenta las restricciones de distancias como el comando `min_modify` (65). Por ello con el estilo *cg* se alcanzan 2760 pasos de minimización logrando una disminución de energía a -89922.97 kcal/mol, igual al estilo *sd*.

El estilo *sd* es un algoritmo de máxima pendiente, con dirección de descenso en cada iteración correspondiendo al vector de fuerza mientras que el estilo *cg* converge rápidamente teniendo una distribución heterogénea en la estructura a minimizar.

3.4.2.3. Estilo Hessian-free truncated Newton (*hftn*)

Con el algoritmo Hessian-free truncated Newton (*hftn*) se realizó 3525 pasos de minimización con lo cual se logran los siguientes resultados (Ver Ilustración 3. 8)

```
min_style hftn
min_modify dmax 0.001
minimize      1.0e-4 1.0e-6 10000 1000000
```

Minimization stats:
 Stopping criterion = energy tolerance
 Energy initial, next-to-last, final = 18861.8163375 -48624.4832404 -48652.1958928
 Force two-norm initial, final = 125701 6430.86
 Force max component initial, final = 71472.3 897.342
 Final line search alpha, max atom move = 0 0
 Iterations, force evaluations = 3525 18447

Ilustración 3. 8: Estilo *hftn* con su respectivos Comandos de entradas y su respuestas de ellos.

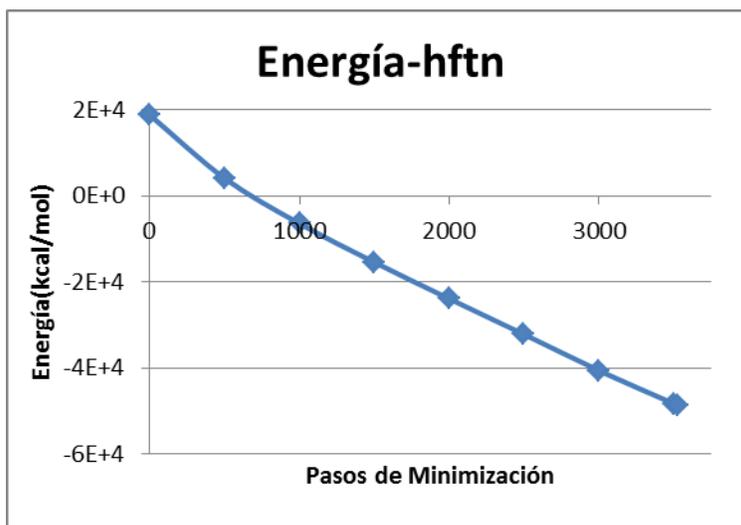


Gráfico 3.3: Energía del estilo *hftn* realizando la minimización durante 3525 pasos

El comportamiento del estilo *hftn* ofrece un cambio con el estilo *cg*, El mismo que no ocupa el comando adicional (*min_modify*)

Estos valores obtenidos en la minimización con el estilo *hftn* muestran una estructura que podría ser comparable con un cristal, es decir que llega a una geometría lograda a bajas temperaturas. Estos resultados son expuestos en el Gráfico 3.3 donde se muestra una disminución considerable de energía por lo tanto este estilo no es aconsejable porque se produce un disolución sobresaturada que no son estables y con el tiempo un parte se convierte en cristal, razón por la que este tipo de estilo de minimización no es aconsejable para ser utilizado en la dinámica, ya que para alcanzar la temperatura en la dinámica de termalización ($310\text{ }^{\circ}\text{K}$) desde temperatura muy baja , tomaría mayor tiempo de cálculo para mantener una temperatura estable durante la dinámica de termalización

Los tres estilos de minimización muestran un aportan en la disminución de la energía del sistema, unos brindando información más precisa en la deducción de la energía del sistema como se muestra en cada estilo. Sin embargo la diferencia que se puede observar entre cada uno radica en los siguientes puntos:

- El *hftn* llega a un punto en donde la estructura llega a un nivel de compresión total a temperatura aproximada a la de la cristalización por formar una disolución sobresaturada que no son estables durante el tiempo. En otras palabras el estilo *hftn* en cada iteración un modelo cuadrático de la energía potencial se resuelve mediante un gradiente conjugado de repetición interna. Los Hesse (segundas derivadas) de la energía no es formado directamente, pero aproximada en cada dirección de búsqueda conjugado por una diferencia finita derivada direccional y cuando se acerca de un mínimo de energía, el algoritmo se comporta como un método de Newton.
- El *Cg* es un estilo que no toma en cuenta los comandos adicionales de la minimización, siendo este un algoritmo que el que cada iteración del gradiente de la

fuerza se combina con la información iteración anterior para calcular una nueva dirección de búsqueda perpendicular (conjugado). La variante de los comandos adicionales (min_modify) afecta cómo se elige la dirección y la forma en que el método de CG es reiniciado cuando deja de progresar.

El Sd reúne las mejores características de los estilos anteriores. En cada iteración, la dirección de búsqueda se establece en la dirección de descenso correspondiente al vector de fuerza (gradiente negativo de la energía). Por lo general, el descenso es más pronunciado pero no converge tan rápido como el estilo Cg.

Las pruebas anteriormente analizadas muestran que el estilo *sd* (logaritmo de máxima pendiente) cumple con los requerimientos de la molécula para obtener una estructura minimizada, ayudándose con los parámetros adicionales de la minimización; el mismo que tiene mejor convergencia de la energía llegando a evidenciar una energía homogénea en todo el sistema.

3.4. ESTRUCTURA MINIMIZADA

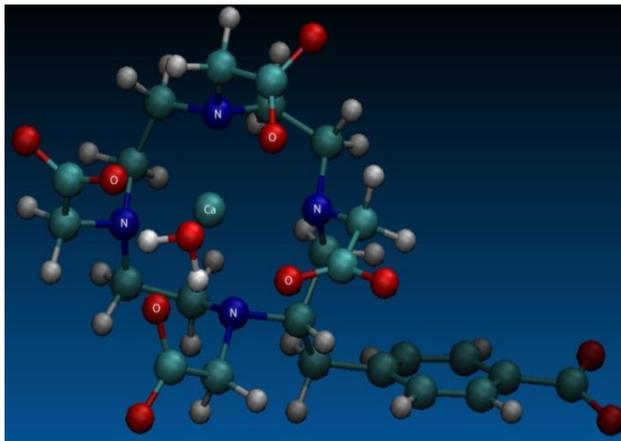


Ilustración 3. 9: Estructura minimizada cumpliendo el criterio de tolerancia con el estilo Sd de minimización, mostrando los átomos de mayor interés en comportamiento como son los nitrógenos(N), oxígenos(O) y el ión calcio (Ca), mismos que muestran un movimiento ligero reubicándose en las posiciones respecto a los demás átomos.

En la estructura cristalografica a la que se realiza la minimización de la estructura (Ver Ilustración 3. 9) esta bajo los siguientes criterios (Ver Ilustración 3. 10) mostrados en el input:

```
min_style sd
min_modify dmax 0.001
minimize      1.0e-4 1.0e-6 10000 1000000
Memory usage per processor = 12.0535 Mbytes
```

Ilustración 3. 10: Comandos a cumplirse para la minimización del sistema que contiene 216 aguas y 1 molécula de Ca-SNBD.

El criterio de minimización que se cumple en este caso : energía de tolerancia ($1.0e^{-4}$ kcal/mol), alcanzada con 3635 iteraciones. (Ver Ilustración 3. 11)En este punto la evaluación de fuerza llegó a una energía de modulo 117.796 kcal/mol, y vectorialmente de 71472.3 kcal/mol en el eje de las abscisas(x) mientras en el eje de las ordenadas (y) 1526 kcal/mol. En modo visual esto se puede observar en el Gráfico 3.4

```

Minimization stats:
Stopping criterion = energy tolerance
Energy initial, next-to-last, final = 24934.17 -8986.97 -8987.86
Force two-norm initial, final = 125298 117.796
Force max component initial, final = 71472.3 15.52
Final line search alpha, max atom move = 6.45381e-05 0.0010018
Iterations, force evaluations = 3635 3635

```

Ilustración 3. 11: Resultados obtenidos de la ilustración 3.10 en la minimización

El desglose de la minimización en cada paso (Ver Ilustración 3. 12) efectúa cambios tanto en la temperatura, energía potencial, energía total, presión y volumen que son los principales parámetros de análisis o de interés, teniendo:

Step	Temp	PotEng	TotEng	Press	Volume
0	0	24934.17	24934.17	417721.52	7747.67
500	0	2124.64	2124.64	35196.60	7747.67
1000	0	-1951.83	-1951.83	40367.03	7747.67
1500	0	-4553.44	-4553.44	32781.54	7747.67
2000	0	-6431.60	-6431.60	29110.70	7747.67
2500	0	-7384.22	-7384.22	29430.17	7747.67
3000	0	-8181.70	-8181.70	29084.61	7747.67
3500	0	-8849.20	-8849.20	18185.08	7747.67
3635	0	-8987.86	-8987.86	15198.52	7747.67

Loop time of 67.2685 on 8 procs for 3635 steps with 719 atoms

Ilustración 3. 12: Pasos de minimización obtenidos por el criterio Sd, en el cual se encuentra los parámetros como pasos, temperatura, energía, presión y volumen que describen con el cambio que se va realizando en cada paso de minimización.

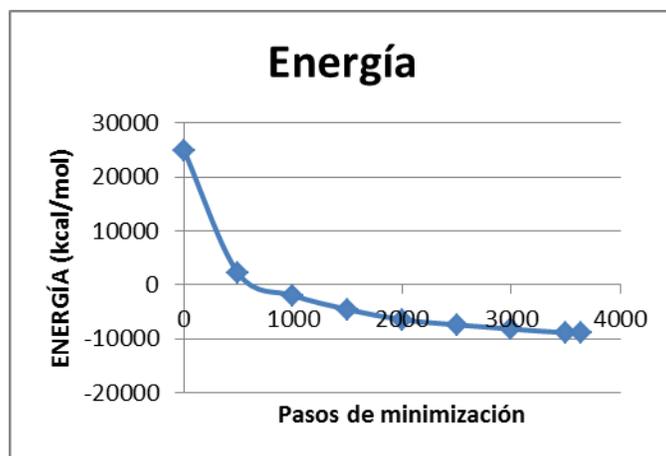


Gráfico 3.4: Descripción de la disminución de la energía con el estilo Sd, observado que en los primeros pasos decae en mayor proporción la energía.

La Gráfico 3.4 de la energía muestra cómo se va estabilizando con la secuencia de pasos de minimización para llegar al mínimo de la energía del sistema, manteniéndose este mínimo relativamente estable, llegando a un valor de energía de -8987.86 kcal/mol.

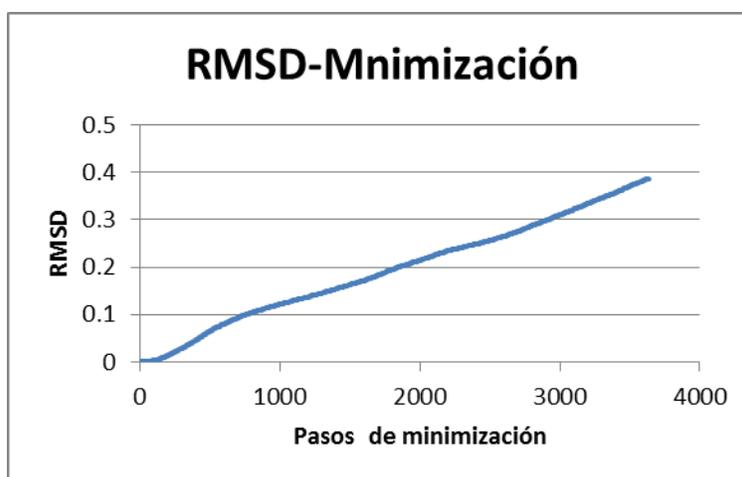


Gráfico 3.5: En la minimización se obtiene el valor del RMSD el cual se obtiene comparándolo con la con posición inicial del sistema

El cálculo de la raíz cuadrada de la desviación cuadrática media del Gráfico 3.5 es la manera más utilizada de estimar la movilidad de las moléculas del sistema, dándonos como resultado que se tiene un 0.35 Å de movilidad media de todos los átomos involucrados con relación al sistema compuesto por las estructuras cristalográficas.

3.5. CAMBIO DE CARGAS

En el análisis de los resultados de los archivos salientes en la minimización orientada a ser la decisiva define cargas erradas por lo cual se realiza cambios, para lograr:

- Que la molécula este cargada con -3 (Ca- SNBD).

Para sacar el valor de las cargas deseadas o el cambio respectivo de ellas para cada átomo se realizó un cálculo de Single Point (Calculo de energía de la estructura).El mismo que proporciona el valor de cargas para los grupos carboxilos, ubicados a cada extremo del SNBD.

En el archivo data se realiza el cambio de cargas por:

Cargas Materials (A)		Cargas Gaussean (B)
-0.5	C	0.41
1.31	O	-0.69

Las cargas obtenidas por los programas anteriores cargas antiguas, (A) tienen error por lo cual son sustituidas por Cargas del programa gasussean, cargas nuevas, (B), las mismas que ese efectúan en los carboxilos del anillo del Ca-SNBD.

El cambio de estas cargas nos da el resultado que la molécula está cargada con -2.92, logrando obtener la carga del Ca-SNBD.

Se ejecuta una comparación con los resultados de la anterior minimización, la misma que contenía las cargas erradas, con una nueva minimización realizada con las nuevas cargas (Ver Ilustración 3. 13).

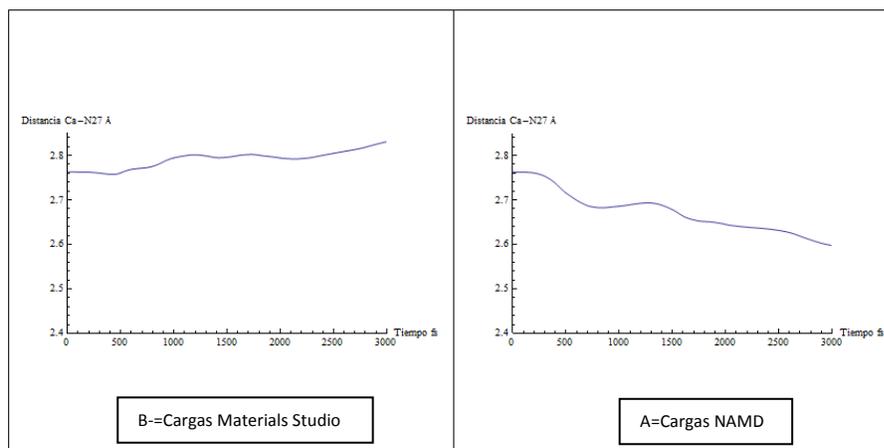


Ilustración 3. 13: Comparación de graficas de cargas. (A) Proporcionadas por el programa anterior y (B) cargas del programa NAMD que proporcionan las nuevas cargas a ocupar.

Átomos	Material	Namd		
Distancia	Carga A(Å)	Carga B(Å)	$\Delta d \pm(B-A)$ (Å)	% de Δ
Ca-N27	2.58	2.83	0.25	8.83
Ca-N28	2.58	2.68	0.1	3.81
Ca-N29	2.43	2.42	-0.01	-0.42
Ca-N30	2.44	2.67	0.23	8.62
Ca-O32	2.72	2.34	-0.38	-16.24
Ca-O33	4.63	4.52	-0.11	-2.44
Ca-O34	2.72	2.62	-0.1	-3.85
Ca-O35	4.7	4.47	-0.23	-5.15
Ca-O36	2.84	2.39	-0.45	-18.83
Ca-O37	4.65	4.39	-0.26	-5.93
Ca-O38	2.65	2.36	-0.29	-12.29
Ca-O39	4.64	4.28	-0.36	-8.42

Tabla 3. 1: Diferencia porcentual de las cargas A y B, respecto las distancias de las minimizaciones

En la tabla 3.1 tenemos la distancia Ca - N27 en la estructura B es el 8 % más larga en relación a la estructura de carga A, la distancia C partiendo de 2.50 Å a - N28, crece un 3% en la estructura de carga B en correspondencia a la estructura que tiene las cargas A (cargas antiguas) como se puede observar en el gráfico mientras que la distancia Ca - N29 tiene un porcentaje de decrecimiento de un valor del - 0.4%, lo que nos dice que la estructura de carga B es menos larga con un 0.5% de la estructura de carga A, Y por último la distancia Ca - N30 tiene un alargamiento mayor del 8% en comparación a la estructura de carga A.

Ca-N27	2.58	2.83	0.25	8.84
Ca-N28	2.58	2.68	0.1	3.74
Ca-N29	2.43	2.42	-0.01	-0.42
Ca-N30	2.44	2.67	0.23	8.62

Tabla 3. 2: Diferencia de cargas A y B de la minimización respecto al nitrógeno

El desenlace de las distancias mostrado en la tabla 3.2, es un incremento alrededor de un porcentaje del 8 % en alargamiento en relación de la estructura de carga B con la estructura de carga A, con excepción de la distancia del Ca - N29 que se ve un decrecimiento no muy significativo en relación a los otros nitrógenos – Ca.

Distancia	E.Cristal	E.Carga(A)	E.Carga(B)	$\Delta(C-A)$ D	$\Delta(C-B)$ E	% D	% E
Ca-N27	2.59	2.58	2.83	0.01	-0.24	0.39	-9.27
Ca-N28	2.59	2.58	2.68	0.01	-0.09	0.39	-3.48
Ca-N29	2.59	2.43	2.42	0.16	0.17	6.18	6.57
Ca-N30	2.59	2.44	2.67	0.15	-0.08	5.80	-3.10
Ca-O32	2.45	2.72	2.34	-0.27	0.11	-11.03	4.49
Ca-O33		4.63	4.52	-4.63	-4.52		
Ca-O34	2.45	2.72	2.62	-0.27	-0.17	-11.02	-6.94
Ca-O35		4.7	4.47	-4.7	-4.47		
Ca-O36	2.45	2.84	2.39	-0.39	0.06	-15.92	2.46
Ca-O37		4.65	4.39	-4.65	-4.39		
Ca-O38	2.45	2.65	2.36	-0.2	0.09	- 8.16	3.68
Ca-O39		4.64	4.28	-4.64	-4.28		

Tabla 3. 3: cambio porcentual proporcionado por el cambio de cargas, comparado tanto entre las dos minimizaciones (A-B) y a su vez la estructura de cristal(C)

Los oxígenos cercanos que son O₃₂ -O₃₄ -O₃₆-O₃₈ tienen una 3.75% de diferencia de distancia entre la estructura de cristalografía y la estructura B que contiene las estructuras con las nuevas cargas, mientras que se ocupa una distancia del -11.5% entre la estructura de cristalografía y la estructura anterior (cargas principales erradas) visualizado en la

Tabla 3. 3: cambio porcentual proporcionado por el cambio de cargas, comparado tanto entre las dos minimizaciones (A-B) y a su vez la estructura de cristal(C)

- En Ángulos.

ANGULOS	Carga A(Å)	Carga B(Å)	$\Delta d \pm(B-A)$	% de Δ
N27-Ca-C4	21.3	21.5	0.2	0.94
N27-Ca-C11	43.4	24	-19.4	-80.84
N28-Ca-C5	22	21.3	-0.7	-3.29
N28-Ca-C6	23.5	79.5	56	70.45
N29-Ca-C8	27	25	-2	-8
N29-Ca-C7	21.2	22	0.8	3.64
N30-Ca-C10	25	21.5	-3.5	-16.28

N30-Ca-C9	30	24.5	-5.5	-22.46
C12-N27-C4	109	109	0	0
C5-N28-C14	115	113	-2	-1.77
C8-N29-C16	110	110	0	0
C18-N30-C9	113.5	112	-1.5	-1.34
C12-C13-O32	121	120	-1	-0.84
C12-C13-O33	117	117	0	0
C14-C15-O34	121	128	7	5.45
C14-C15-O35	118	114	-4	-3.51
C16-C17-O36	119.5	120	0.5	0.42
C16-C17-O37	118.5	117	-1.5	-1.29
C18-C19-O38	120	123	3	2.44
C18-C19-O39	118.5	117	-1.5	-1.29

Tabla 3. 4: Cambio porcentual por cargas nuevas dado con relación a los ángulos de la estructura de cristal (C) y a su vez entre la minimización respectiva (A-B)

Los ángulos que se presenta entre el primer tipo de ángulo que es N-Ca-C tienen -24% en promedio de diferencia entre el ángulo de la estructura A con los ángulos de la estructura B (nuevas cargas). Un ejemplo de ello es que el ángulo entre N27-Ca-C4 no manifiesta mayor cambio representado por el 0.9%, mientras un ejemplo extremo es entre N27-Ca-C11 que tiene una diferencia porcentual del 80% entre las dos estructuras.

El segundo tipo de ángulo es entre los átomos de tipo C-N-C tienen un promedio de cambio del ángulo de comparación entre los ángulos de las dos estructuras de un 1.5%, es decir, la hidratación en este tipo de ángulo es ligero cambiando insignificante.

El tercer tipo de ángulo de interés es el que se forma entre C-C-O teniendo un promedio del 1.87%, cambiando la estructura en esa importancia, mostrándose todos estos valores en la Tabla 3. 4: Cambio porcentual por cargas nuevas dado con relación a los ángulos de la estructura de cristal (C) y a su vez entre la minimización respectiva (A-B)

ANGULOS	E.Cristal(C)	E.Carga(A)	E.Carga(B)	$\Delta(C-A)$ D	% D	$\Delta(C-B)$ E	% E
N27-Ca-C4	107.7	21.3	21.5	86.4	80.23	86.2	80.04
N27-Ca-C11	107.7	43.4	24	64.3	59.71	83.7	77.72
N28-Ca-C5	107.7	22	21.3	85.7	79.58	86.4	80.23
N28-Ca-C6	107.7	23.5	79.5	84.2	78.18	28.2	26.19
N29-Ca-C8	107.7	27	25	80.7	74.94	82.7	76.79
N29-Ca-C7	107.7	21.2	22	86.5	80.32	85.7	79.58
N30-Ca-C10	107.7	25	21.5	82.7	76.79	86.2	80.04
N30-Ca-C9	107.7	30	24.5	77.7	72.15	83.2	77.26
C12-N27-C4	110.6	109	109	1.6	1.45	1.6	1.45
C5-N28-C14	110.6	115	113	-4.4	-3.98	-2.4	-2.17
C8-N29-C16	110.6	110	110	0.6	0.55	0.6	0.54
C18-N30-C9	110.6	113.5	112	-2.9	-2.63	-1.4	-1.27
C12-C13-O32	117.7	121	120	-3.3	-2.81	-2.3	-1.95
C12-C13-O33		117	117	-117		-117	
C14-C15-O34	117.7	121	128	-3.3	-2.81	-10.3	-8.75
C14-C15-O35		118	114	-118		-114	
C16-C17-O36	117.7	119.5	120	-1.8	-1.53	-2.3	-1.95
C16-C17-O37		118.5	117	-118.5		-117	
C18-C19-O38	117.7	120	123	-2.3	-1.96	-5.3	-4.50
C18-C19-O39		118.5	117	-118.5		-117	

Tabla 3. 5: Tipo de ángulo N-Ca-C cambia con relación al estructura de cristal y cambio entre la minimización por el cambio de cargas en oxígenos y carbonos.

El ángulo de cambio expresada en porcentaje es altamente visible ya que está dentro del 80% en la mayoría de los átomos que forman los ángulos a excepción de los ángulos formados con los oxígenos, pues estos tienen un porcentaje entre el 1% al 8% que es el cambio más grande propuesto por el O34. Se saca de conclusión en la grafica que los ángulos conformados con los oxígenos O32-O36-O38 mantienen una concordancia proporcional entre ellos, mientras que el ángulo formado con el O34 tiene una diferencia promedio con los tres anteriores de un 6%. Esta información se encuentra descrita en la Tabla 3. 5: Tipo de ángulo N-Ca-C cambia con relación al estructura de cristal y cambio entre la minimización por el cambio de cargas en oxígenos y carbonos.

- Diedros:

Diedro	Carga A(Å)	Carga B(Å)	$\Delta d \pm(B-A)$	% de Δ
Ca-N27-C12-C13	25	26	1	4
Ca-N28-C14-C15	35	31	-4	2.86
Ca-N29-C16-C17	56	56.5	0.5	1.77
Ca-N30-C18-C19	39	33	-6	2.57
O32-C13-C12-N27	31	-8	-39	3.23
O34-C15-C14-N28	9	-15	-24	11.11
O36-C17-C18-N29	42	-55	-97	2.38
O38-C19-C18-N30	13	-42	-55	7.70

Tabla 3. 6: Con el cambio de las cargas también se efectúa modificaciones en el estilo de ángulo diedro Ca-N-C-C

Diedro	E.Cristal	E.Carga (A)	E.Carga (B)	$\Delta(C-A)$ D	% D	$\Delta(C-B)$ E	% E
Ca-N27-C12-C13	27.87	25	26	2.87	10.30	1.87	6.71
Ca-N28-C14-C15	38	35	31	3	7.90	7	18.42
Ca-N29-C16-C17	17	56	56.5	-39	-229.41	-39.5	-232.36
Ca-N30-C18-C19	44.47	39	33	5.47	12.30	11.47	25.80
O32-C13-C12-N27	38.13	31	-8	7.13	18.70	46.13	120.99
O34-C15-C14-N28	-14.46	9	-15	-23.46	162.24	0.54	-3.74
O36-C17-C18-N29	-38.06	42	-55	-80.06	210.35	16.94	-44.51
O38-C19-C18-N30	23.1	13	-42	10.1	43.72	65.1	281.82

Tabla 3. 7: Cambio porcentual del ángulo diedro Ca-N-C-C Y O-C-C-N en el cual esta implícito el elemento que tiene el cambio de valor en la carga demostrándose la comparación con la estructura cristalográfica.

Los ángulos diedros están representando o relacionados con la vibración de igual forma, puesto que rotan y es al azar. Teniendo que los ángulos diedros son las sensibles a cambios como se observa en las

Tabla 3. 6: Con el cambio de las cargas también se efectúa modificaciones en el estilo de ángulo diedro Ca-N-C-C

Los ángulos diedros que aportan mayor información a la formación de la estructura son los formados con los oxígenos que son más flexibles (móviles) demostrando que son heterogéneos entre dos ángulos, mientras uno de ellos muestra igualdad entre las dos estructuras pero diferente a la de cristal puesto que son valores de una molécula con gadolinio y no con un ion e calcio una similitud entre los ángulos diedros formados con los oxígenos

3.6. DINAMICA

En las simulaciones de dinámica molecular la desglosamos en tres fases o procesos que se calculan después de la construcción de la caja y su minimización respectiva.

3.6.1. Dinámica de Termalización

La dinámica de *TERMALIZACION (NVT)* la denominaremos como la primera dinámica representada por D1 resultados que se obtuvieron de la termalización.

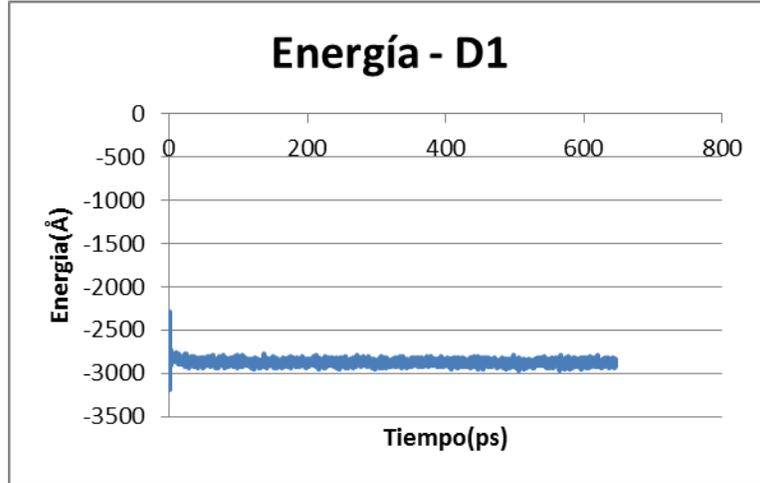


Gráfico 3.6: Energía de la termalización durante el tiempo de simulación.

La energía potencial del sistema para la termalización tiene un salto al principio de la simulación pero luego se mantiene en una media de 2874.5 kcal/mol que fluctua con una desviación estándar de ± 14.7 kcal/mol del valor promedio mostrado (ver Gráfico 3.6)

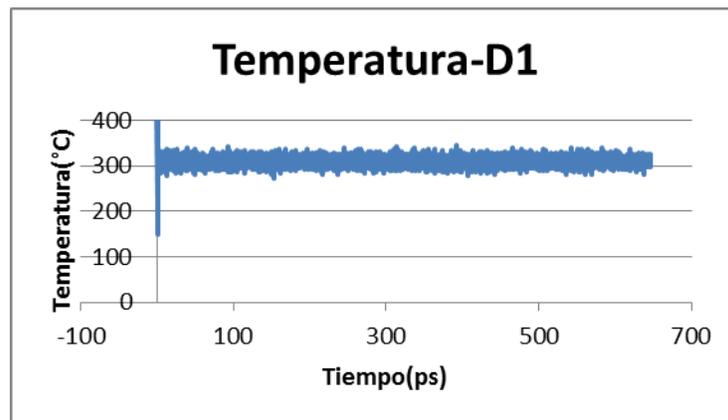


Gráfico 3.7: En la dinámica de termalización se logró que la temperatura se mantenga alrededor de 310⁰k.

Esta simulación mantiene constante la temperatura (ver

Gráfico 3.7). En esta temalización se alcanza una media de 310^0K para todo el sistema con una pequeña variación del $\pm 2.6^0\text{k}$, llegando a tener una medida estable. Lo que es más importante es que todas las moléculas ahora tienen una energía cinética considerable y habrán ocupado todo el espacio definido por la caja de simulación. Ahora el siguiente punto es definir si las dimensiones de la caja son las apropiadas dado el número de partículas y su energía cinética. Para ello en la siguiente fase se dejará que el volumen cambie libremente hasta que llegue a una situación de equilibrio. Se debería llegar a un valor de densidad que se aproxime bastante al experimental para el solvente.

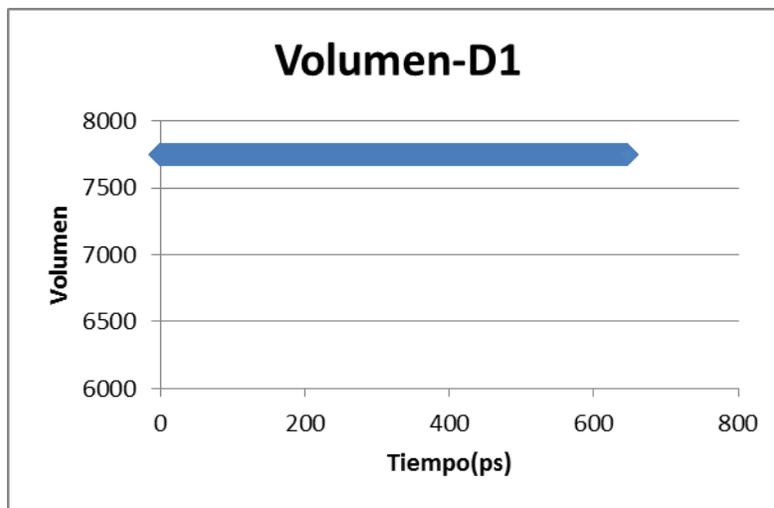


Gráfico 3.8: Dinámica molecular con Volumen constante durante 500 ps de termalización.

El volumen es el parámetro más estable que se obtuvo con una mínima variación de $8.9\text{E}-10^3 \text{Å}^3$, es decir, casi cero total, observado en el

Gráfico 3.8

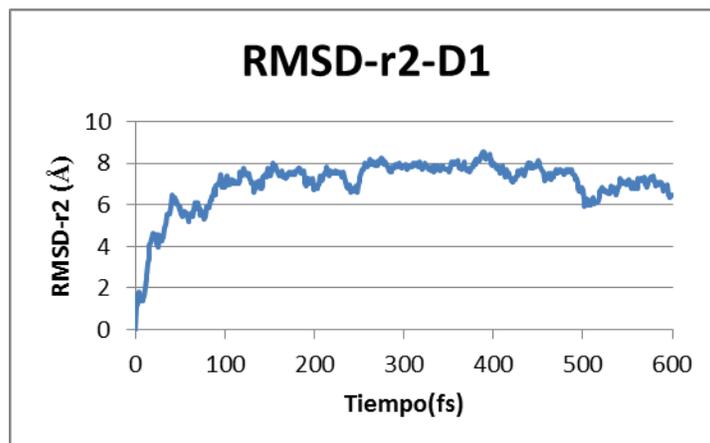


Gráfico 3.9: RMSD obtenido en la termalización del Ca-SNBD comparado con la estructura de cristalografía, que es la posición de partida

El

Gráfico 3.9 muestra el RMSD de la estructura Ca-SNBD en comparación entre la estructura cristalográfica y la última estructura en la dinámica de termalización (D1) con un valor medio de 7.03Å y una desviación de 1.2 Å.

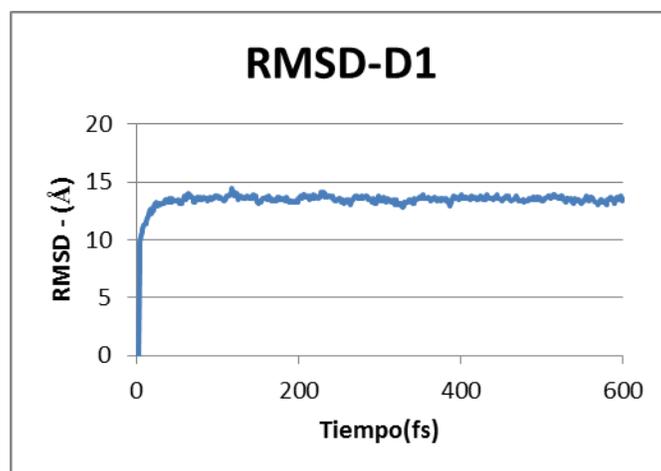


Gráfico 3.10 : Valor RMSD de cambio Total del sistema (Ca-DOTA-FDG-H2O) comparado con la posición de partida de la simulación

La raíz cuadrática de la desviación estándar tiene un valor promedio de 13.4Å en relación al sistema cristalográfico con una desviación estándar de 0.7Å todas las moléculas en la caja de simulación. (Ver

Gráfico 3.10)

3.6.2. Dinámica isobárica:

Los resultados obtenidos con la segunda dinámica *NPT* representada por “D2” que se reportan aquí son los siguientes: cambios en la energía potencial, temperatura, presión, volumen.

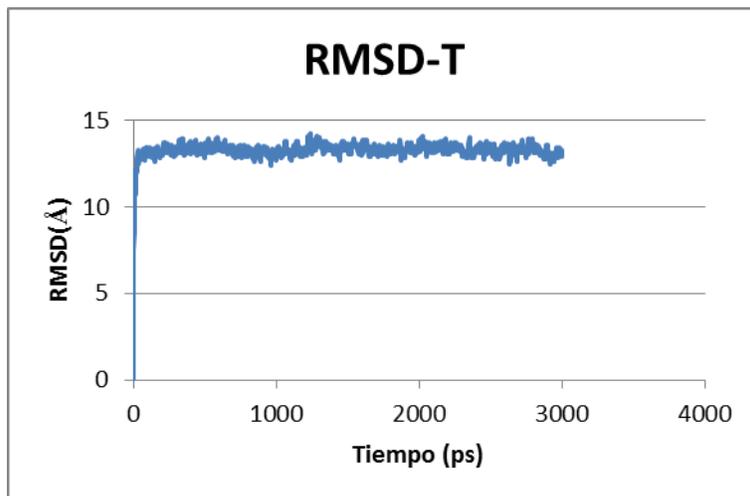
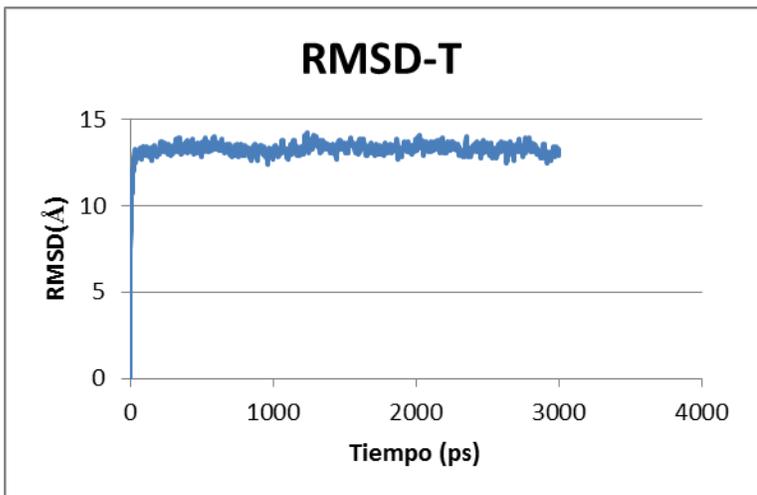


Gráfico 3.11: RMSD del sistema a simular comparado con el sistema de la dinámica de termalización



El

Gráfico 3.11 muestra la Raíz cuadrática de la desviación estándar de la estructura obtenida de la termalización del sistema, su media es de 13.3 Å con una desviación estándar el 0.5 Å.

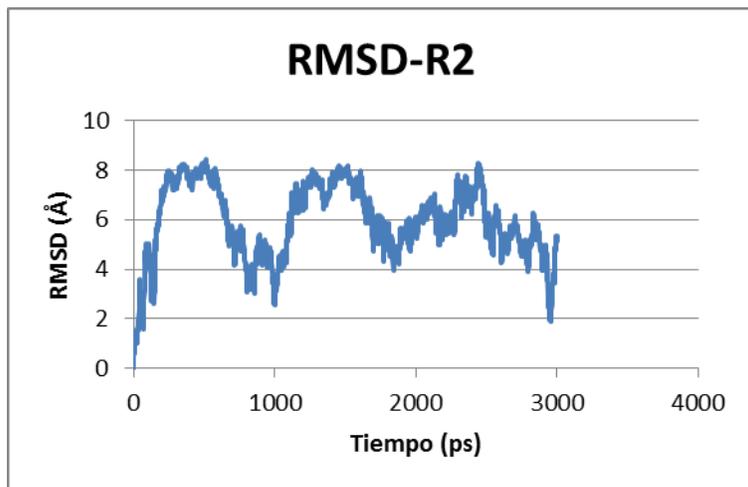


Gráfico 3.12: Valor comparado con la estructura obtenida en la termalización del ión para encontrar cuanto tiene de desplazamiento la molécula Ca-SNBD en el ensamble isobárico.

Para la estructura de la molécula Ca-SNBD de interés la Raíz cuadrática de la desviación estándar (RMSD) tiene un valor promedio de 6 Å al que le corresponde una desviación estándar del 1.5 Å, calculado comparando las fluctuaciones del sistema con respecto a la estructura de la termalización, ver

Gráfico 3.12.

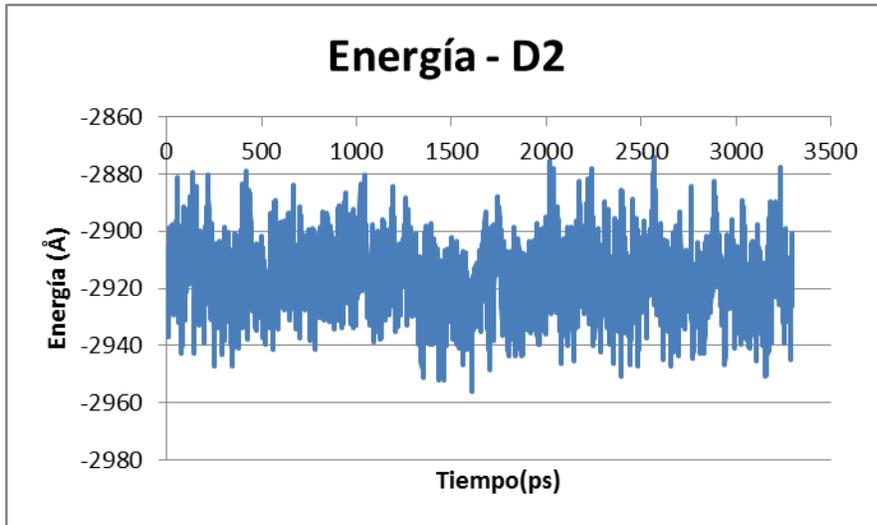
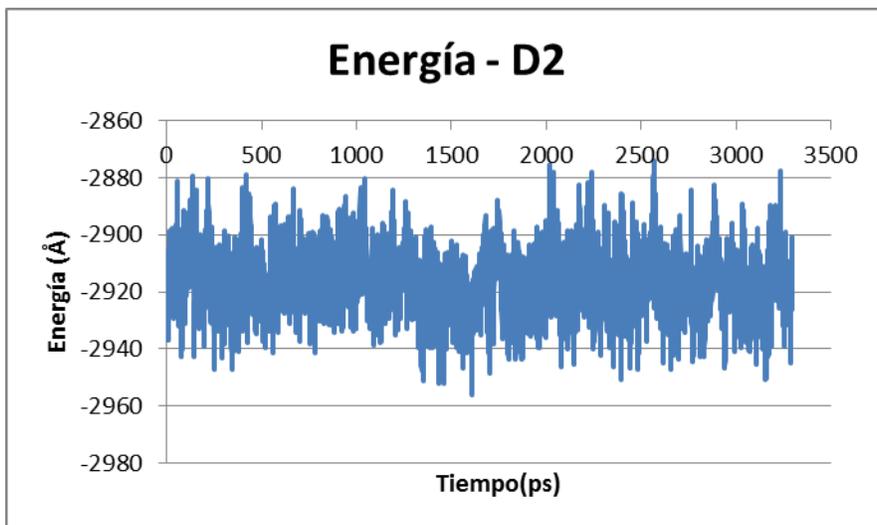


Gráfico 3.13: Energía obtenida durante el tiempo de simulación del ensamble isobárico



La energía potencial para el NVT, se muestra en el

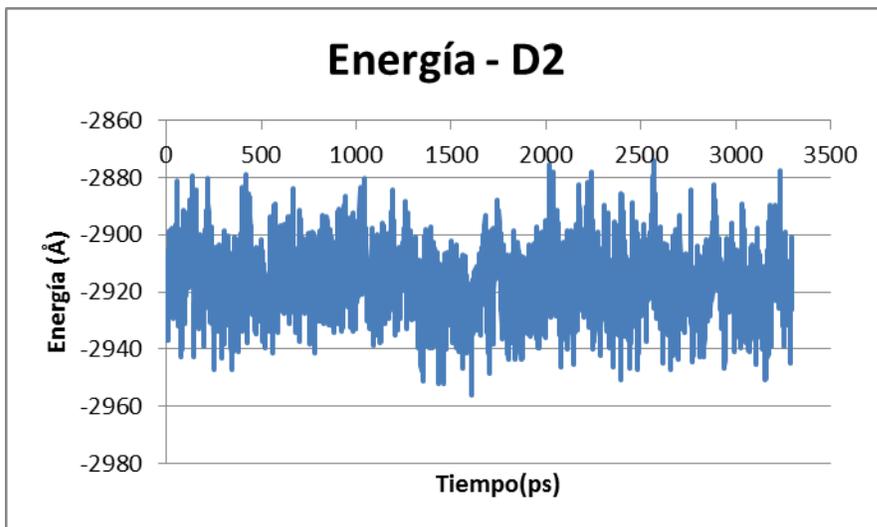


Gráfico 3.13 y tiene un promedio de 2916 kcal/mol con una desviación estándar de 11 kcal/mol; durante los 3000 ps de simulación.

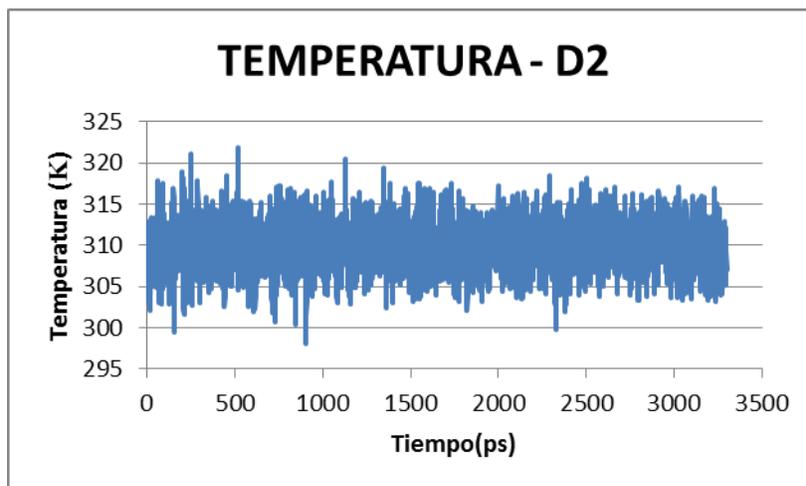


Gráfico 3.14: En el ensamblaje isobárico, obtenemos la variación de la temperatura durante 3000ps.

La temperatura es un parámetro establecido como constante en la simulación, y su valor de medio mantenido por el termostato es de 310.1 ⁰K con una desviación estándar de 2.5 ⁰K. Esto muestra que el termostato mantiene la temperatura del sistema como se desea con un rango de fluctuación bastante pequeño y aceptable para esta clase de simulaciones (ver gráfico 3.14)

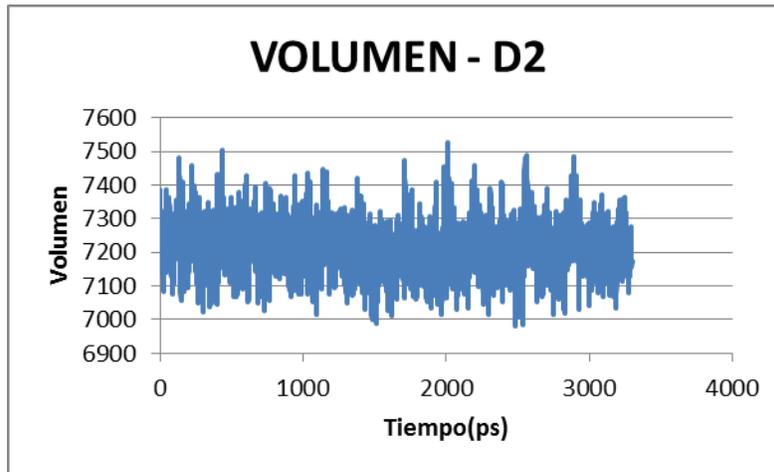


Gráfico 3.15: Volumen del sistema durante simulación del ensamble isobárico.

Como se dijo al inicio de la descripción de la dinámica NVT el volumen

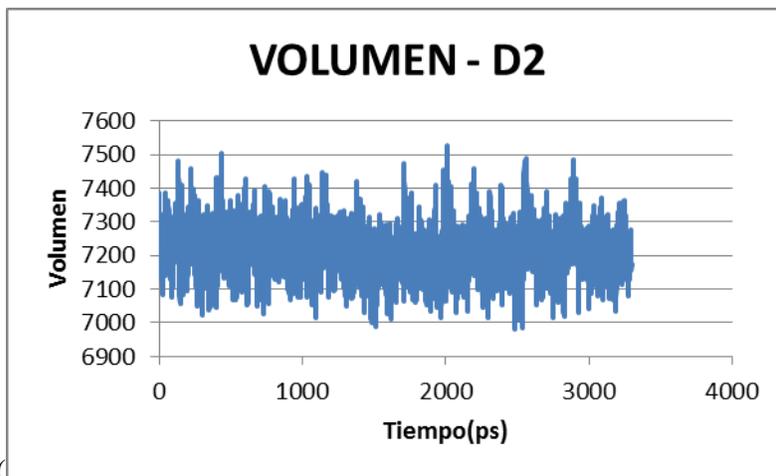


Gráfico 3.15) es el principal parámetro que se debe analizar aquí puesto que está inmerso en el control de la densidad de todo el sistema. Se encontró que tiene un valor de medio del 7210 \AA^3 con desviación estándar del 71.6 \AA^3 , demostrando que no hubo cambio significativo en las dimensiones de la caja,

En los primeros pasos de simulación (500ps) se muestra una desviación estándar del 116.72 \AA^3 , mostrando que el cambio se realiza al inicio de la simulación, y este valor comparado con la desviación estándar de todo el tiempo de simulación (3000ps) muestra que no hubo un cambio significativo ya que parte de un volumen inicial de 7747.67 \AA^3 para llegar a

7210 Å³, este cambio porcentualmente equivale al 6% de cambio durante toda la simulación

3.6.3. Dinámica de Producción

La tercera dinámica es la NVT conocida como la dinámica de producción. Se realizó por 60 000 000 pasos equivaliendo a 60 000 ps de tiempo de simulación, a la dinámica de producción se la denominara “D3”, a continuación se presentan los resultados obtenidos.

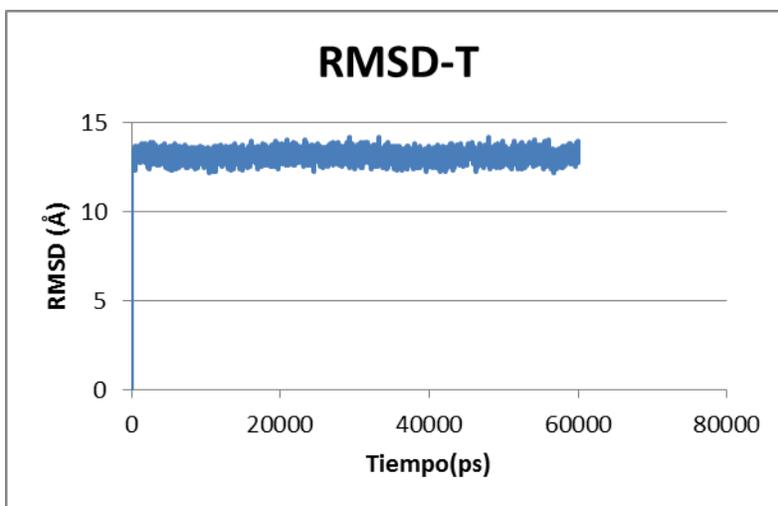


Gráfico 3.16: RMSD del sistema obtenido en la dinámica de producción en relación a la última estructura del sistema del ensamble isobárico.

En la dinámica de producción ver Gráfico 3.16 para todo el sistema se encuentra, que la raíz cuadrática de la desviación estándar tiene una media de 13.2 Å una desviación estándar de 0.3 Å. El RMSD se calculó con relación a la última estructura obtenida en el ensamble isobárico.

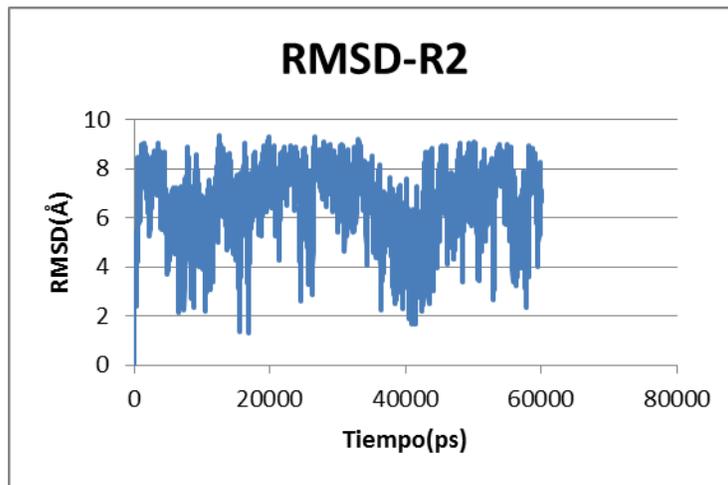


Gráfico 3.17: Valor RMSD de la molécula durante la dinámica de producción comparado con el de la molécula Ca-SNBD del último paso en el ensamble isobárico

La raíz cuadrática de la desviación estándar para la estructura Ca-SNBD en la dinámica de producción se muestra en el Gráfico 3.17 con una media del 9.69 Å de y una desviación estándar de 1.511 Å, en relación con la última estructura obtenida en el ensamble isobárico

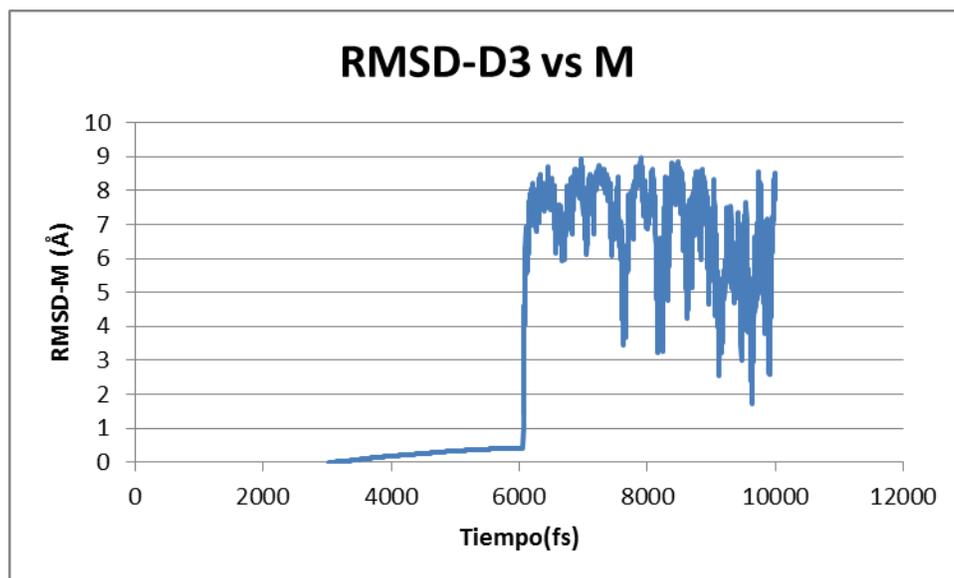


Gráfico 3.18: RMSD obtenido de la dinámica de producción pero en relación al punto inicial del sistema en la minimización, obteniendo un desplazamiento durante todo su tiempo de simulación

El RMSD de la dinámica de producción (D3) en el Gráfico 3.18 respecto a la estructura minimizada tiene un valor promedio de 4.01 Å, que le corresponde a 3.47 Å de desviación estándar, es decir que tiene un gran cambio como se puede evidenciar en los valores numéricos y del cambio en relación a la estructura minimizada.

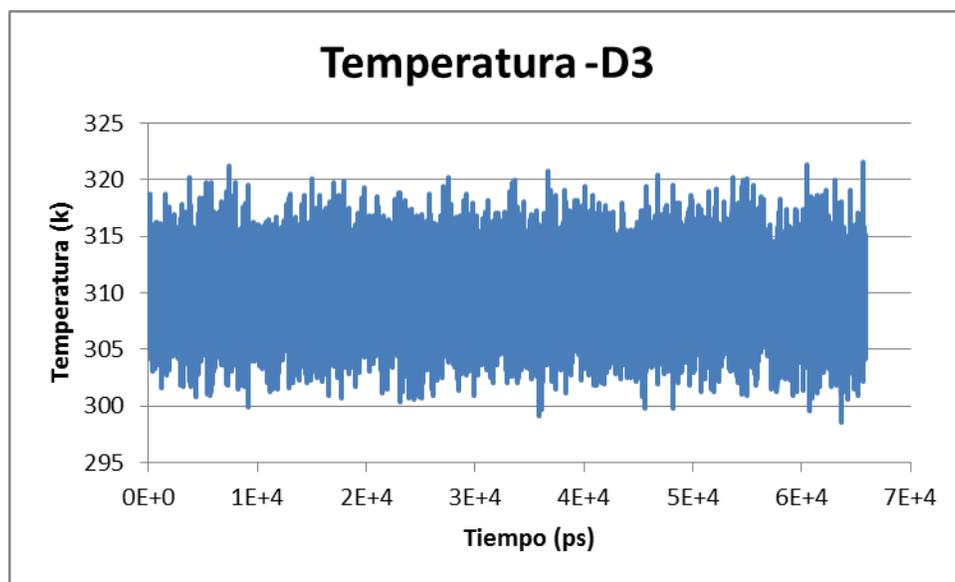


Gráfico 3.19: Desglosamiento de la temperatura durante la dinámica de producción.

La temperatura ver Gráfico 3.19 tiene un promedio de 310.03 ⁰K y una desviación de 2.85 durante los 60 000 ps de simulación

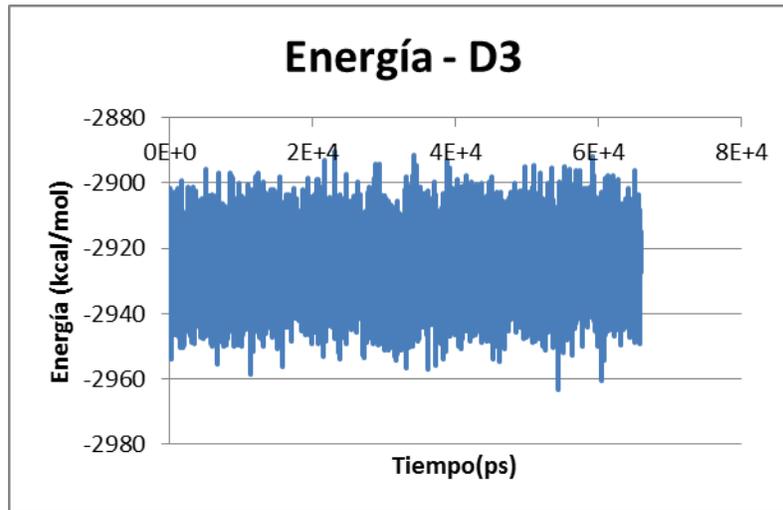


Gráfico 3.20: Energía del sistema obtenido durante la simulación de dinámica de producción.

La Producción de energía de la tercera dinámica muestra el Gráfico 3.20 un valor medio de -2924.99 Kcal/mol con una desviación estándar del 8.6 kcal/mol

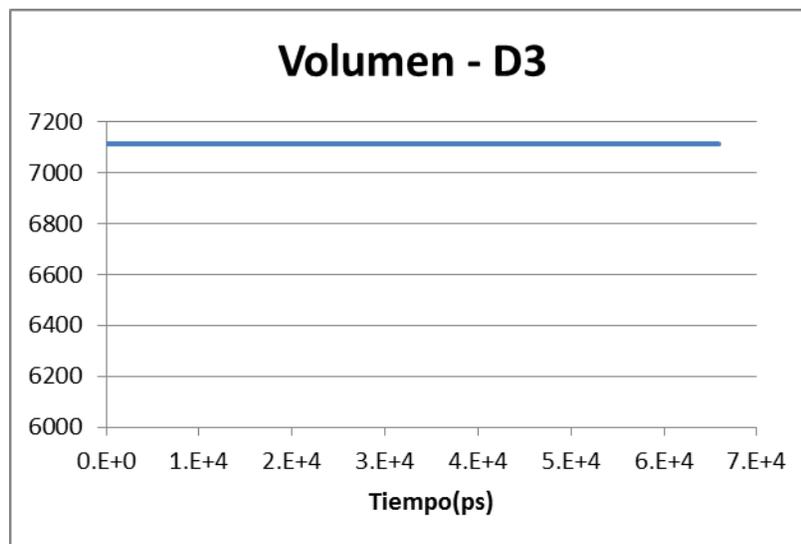


Gráfico 3.21: Volumen de la caja durante 30000ps de simulación aplicando dinámica de producción.

El volumen tiene un valor medio del 7112.1 \AA^3 con una desviación estándar del 3.8^9 \AA^3 es decir su valor es cero para la desviación. Concretando que el volumen se mantiene durante todo el proceso constante, obtenido en el Gráfico 3.21

3.7. ANALISIS DE TOPOLOGIA (ESTRUCTURA)

Para análisis topológico de ángulos, distancias y ángulos diedros de la estructura Ca-SNBD procesada en tres dinámicas (NVT, NPT, NVT), proporciona información sobre sobre estos datos. Pero de la cual solo nos centramos en el anillo.

El anillo se lo representa por el Ca-DOTA, es un compuesto orgánico $(\text{CH}_2 \text{CH}_2 \text{NCH}_2 \text{CO}_2 \text{H})_4$, da una gran adquisición para la localización del ión metálico (Ca) y el cálculo del parámetro intercambio del agua (q), que son de mayor interés para el desarrollo del tema.

El anillo está formado por un ciclo de 12 átomos centrados, tetra aza, por contener 4 nitrógenos que cumplen la función de aportan una fuerza de atracción hacia el ión, evitando que se desplace (centro del anillo). Una segunda fuerza atracción o soporte para el no desplazamiento del ión son los carboxilos.

Los ángulos, distancias y diedros incluyen elementos que aportan gran información para verificar los parámetros de prioridad (posición del ión calcio y tasa del intercambio del agua) en la sustancia química a tratar, mejora la relajación de los protones del tejido, correlacionando con la concentración del agente de contraste.

Estas razones nos indican la existencia de 3 tipos de ángulos, 2 de distancias y 2 de ángulos diedros, para la realización del análisis por medio de comparación tanto con la estructura cristalográfica (punto de partida) (66) (67) (68).

Para el análisis de estos parámetros se debe tomar en cuenta que se parte de la estructura cristalográfica con ión gadolinio, por lo cual los parámetros cristalográficos tienen valores más grandes, en relación a los valores del artículo que son exactos para el ión calcio.

3.7.1. Dinámica de Termalización

3.6.1.1. Enlaces

- Ca-N₂₇ /Ca- N₂₈ /Ca-N₂₉ /Ca- N₃₀

	d ₀ (Å)	d _f (Å)	V. cristal (Å)	V. artículo (Å)
Ca-N ₂₇	2.78	2.8	2.76	Expe / Teor 2.5 0 / 2.45
Ca- N ₂₈	2.70	2.70	2.73	
Ca-N ₂₉	2.64	2.7	2.68	
Ca- N ₃₀	2.68	2.76	2.67	

Tabla 3. 8: Valores de distancia obtenidos en la dinámica de termalización

La tabla3.8 muestra los 4 nitrógenos llegan a ejecutar los 600 ps para un promedio de distancia de 2.75 Å, sin que ninguna de las 4 distancias se estabilice, es decir, falta tiempo en la dinámica de termalización, así este valor obtenido tiene gran similitud con la estructura de cristalografía y con los valores del artículo.

- *Ca-O32 / Ca-O33 / Ca-O34/ Ca-O35 / Ca-O36/ Ca-O37 / Ca-O38/ Ca-O39*

Distancia que toma en cuenta los oxígenos cercanos y lejanos al ión para servir de soporte secundario, sin dejar que se vaya de su ubicación.

	d ₀ (Å)	d _f (Å)	E.cristal (Å)	V.artículo (Å)
Ca-O32	2.28	2.28	2.44	Teor /Exp 2.27 / 2.37
Ca-O34	2.36	2.30	2.40	
Ca-O36	2.25	2.28	2.77	
Ca-O38	2.34	2.30	2.53	

Tabla 3. 9: Distancia de los oxígenos al ión Calcio en la termalización comparados con valores de cristalografía y argumentados

Estructura de cristalografía muestra un valor promedio de los oxígenos cercanos de 2.53 Å, mientras la información proporcionada en el artículo da valores de 2.37 Å y el valor promedio de los 4 oxígenos es de 2.27 Å de distancia mostrado en la Tabla 3. 9: Distancia de los oxígenos al ión Calcio en la termalización comparados con valores de cristalografía y **argumentados**.

	d_0 (Å)	d_f (Å)
Ca-O33	4.38	4.28
Ca-O35	4.34	4.18
Ca-O37	4.26	4.18
Ca-O39	4.24	4.28

Tabla 3. 10: Distancia de los oxígenos lejanos en la termalización

Estos valores son los obtenidos en el análisis de las gráficas para los oxígenos lejanos, teniendo un valor promedio de 4.20 Å de distancia. Es decir, el doble del valor distancia para los oxígenos que se encargan de sostener al ión.

3.7.1.2. Ángulos

En la termalización (primera dinámica) se reconoce tres tipos de ángulos que sobresalen; así tenemos:

	θ_0 (°)	θ_f (°)	E. Cristal (θ °)	V. artículo (θ °)
N ₂₇ -Ca-C ₄	22.6	22.6	20.86	27.3
N ₂₇ -Ca-C ₁₁	24	23	27.42	
N ₂₈ -Ca-C ₅	23.6	20.8	20.17	
N ₂₈ -Ca-C ₆	24.4	22.5	19.35	
N ₂₉ -Ca-C ₈	23.6	22.4	18.36	
N ₂₉ -Ca-C ₇	23.6	21.8	17.93	
N ₃₀ -Ca-C ₉	22.2	22	20.25	
N ₃₀ -Ca-C ₁₀	23.8	22	24.16	

Tabla 3. 11: Angulo obtenidos en la termalización

Este tipo de ángulo toma en cuenta a los átomos aledaños al nitrógeno para formar el anillo, mostrándose en la tabla 3.11, en sí comienzan en un valor medio estándar de 23.5 ° para llegar a un valor del 22.13°, es decir, los 8 ángulos que pertenecen a este tipo disminuyen con 1° en relación con la estructura cristalográfica, pero en comparación con los valores del artículo tomado de referencia tenemos una disminución del 18.78 por ciento.

	θ_0 (°)	θ_f (°)	E. Cristal (θ °)	V. Artículo (θ °)
C ₁₂ -N ₂₇ -C ₄	109.5	109	109.5	107.7
C ₅ -N ₂₈ -C ₁₄	109.5	108	107.32	
C ₈ -N ₂₉ -C ₁₆	107.5	108	105.61	
C ₁₈ -N ₃₀ -C ₉	110	110.5	108.69	

Tabla 3. 12: Ángulo C-N-C con sus valores obtenidos en la termalización

El estilo del ángulo conformado con C-N-C de la tabla 3.12, formando el ángulo respectivo para medir la variación angular que toman los pliegues laterales del anillo, los mismos que contienen a los grupos carboxilos que como se dijo viene diciendo sirven de soporte secundario para el ión.

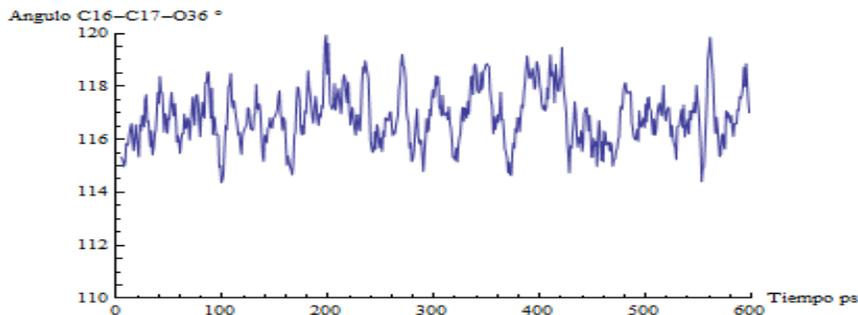


Gráfico 3.22: Movimiento del ángulo C16-C17-O36 durante 600ps de simulación en donde mantenemos la temperatura estable.

N₂₇-Ca-C₄ /N₂₇-Ca-C₁₁

Estos dos ángulos visibles en el

Gráfico 3.22 son proporcionales uno del otro, los dos llegan a un valor de 22.5⁰, aunque e segundo sufre un cambio del valor inicial de 2⁰.

Los valores obtenidos son de similares a los valores de la estructura cristalográfica y con los valores del artículo, teniendo que los ángulos de este estilo tomaron los valores establecidos por estos dos medios, durante los 600 ps de simulación.

	θ_0 (°)	θ_f (°)	E. Cristal (θ °)	V. Artículo (θ °)
C ₁₂ -C ₁₃ -O ₃₂	117	117.5	118.10	117.7
C ₁₂ -C ₁₃ -O ₃₃	120	120.5		
C ₁₄ -C ₁₅ -O ₃₄	116.5	117	118.55	
C ₁₄ -C ₁₅ -O ₃₅	116.5	117		
C ₁₆ -C ₁₇ -O ₃₆	115	117	116.37	
C ₁₄ -C ₁₅ -O ₃₇	122.5	122		
C ₁₈ -C ₁₉ -O ₃₈	117	117.5	118.12	
C ₁₈ -C ₁₉ -O ₃₉	120	121		

Tabla 3. 13: Valores del estilo de ángulo C-C-O obtenidos en la termalización

A diferencia del tipo de ángulo anterior, tabla 3.12, estos ángulos de la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, se concentran en especial en el ángulo con los oxígenos de los 4 carboxilos, comparando con la estructura cristalográfica tenemos una variación mínima del 0.05 % y 0% con los valores del artículo.

3.7.1.3. Diedros

Los ángulos diedros en la dinámica de producción

	θ_0 (°)	θ_f (°)	E. Cristal (θ °)
Ca-N ₂₇ -C ₁₂ -C ₁₃	-24	-39	31.60
Ca-N ₂₈ -C ₁₄ -C ₁₅	-24	-39	42.59

Ca-N ₂₉ -C ₁₆ - C ₁₇	-20	-29	57.62
Ca-N ₃₀ -C ₁₈ - C ₁₉	-20	-34	43.61

Tabla 3. 14: Angulo diedro Ca-N-C-C obtenido en la termalización

	θ_0 (°)	θ_f (°)	E. Cristal (θ °)
O ₃₂ -C ₁₃ -C ₁₂ - N ₂₇	-20	-34	17.29
O ₃₄ -C ₁₅ -C ₁₄ - N ₂₈	-10	0	-44.27
O ₃₆ -C ₁₇ -C ₁₆ - N ₂₉	-4	25	33.79
O ₃₈ -C ₁₉ -C ₁₈ - N ₃₀	-8	10	19.10

Tabla 3. 15: El segundo estilo de ángulo diedro O-C-C-N en la dinámica de termalización

Los ángulos diedros conformados con O-C-C-N de tabla 3.15 muestran una rotación en los 600 ps de simulación, comenzando en un valor medio de -10.5° para llegar a un valor de 17.25° y este valor estimado comparado con la estructura cristalográfica muestra desigualdad.

	θ_0 (°)	θ_f (°)
O ₃₃ -C ₁₃ -C ₁₂ - N ₂₇	-10	-150
O ₃₅ -C ₁₅ -C ₁₄ - N ₂₈	-10	50
O ₃₇ -C ₁₇ -C ₁₆ - N ₂₉	10	-10
O ₃₉ -C ₁₉ -C ₁₈ - N ₃₀	-10	10

Como complementariedad de los ángulos diedros formados con los oxígenos se realiza también el cálculo con los oxígenos lejanos que muestran que se abren, por este motivo se ve que el anillo cambia de forma, expandiéndose.

El análisis de tanto de distancias y ángulos respecto a los oxígenos mientras que son los responsables del movimiento del ión calcio, por su rotación demostrada en el valor de los ángulos. La estructura después del tiempo (600ps) no sufre mayor cambio con la regulación de la temperatura que es el parámetro de se estima que se regule en la primera dinámica.

3.7.2. Ensamblaje isobárico Vs. Dinámica de producción:

En estas dos dinámica al ajustar la presión (tamaño del sistema) y la dinámica de producción analizamos la similitud entre las dos y su a vez con los valores de la estructura cristalográfica y en algunos casos que existen datos con los del artículo tomado de referencia.

3.6.2.1. Distancias

- Ca-N₂₇ /Ca- N₂₈ /Ca-N₂₉ /Ca- N₃₀

	d ₀ (Å)	d _f (Å)	V. cristal (Å)	V. artículo (Å)	D3 -> d _f
Ca-N ₂₇	2.8	2.8	2.76	Expe / Teor 2.5 0 / 2.45	2.72
Ca- N ₂₈	2.72	2.72	2.73		2.74
Ca-N ₂₉	2.78	2.74	2.68		2.74
Ca- N ₃₀	2.75	2.74	2.67		2.74

Tabla 3. 16: Valores de distancia Ca-N del ensamble isobárico y dinámica de producción.

Las distancias entre el ion y los nitrógenos del anillo del DOTA reflejan la vibración a la que se encuentran sometidas durante la segunda dinámica y la tercera de producción mostrados en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia. 3.16**, es decir, durante 15 000 ps de simulación.

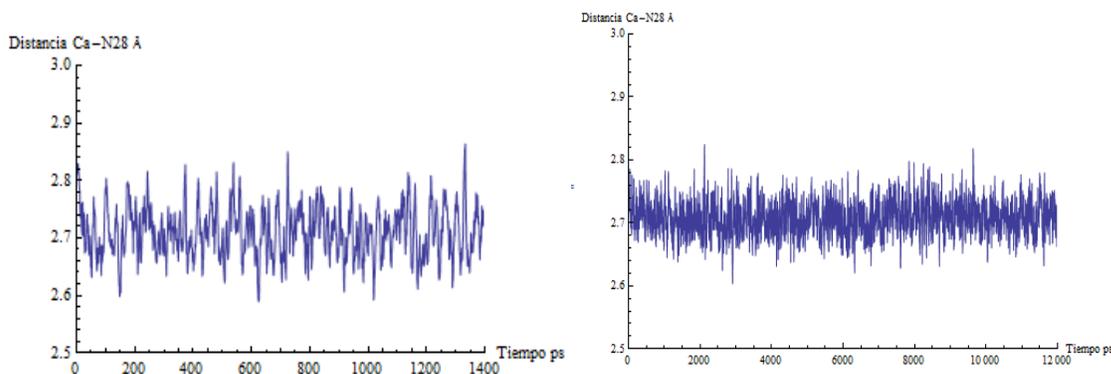


Gráfico 3.23: Comparación de la distancia N28- Ca durante el ensamblaje isobárico y la dinámica de producción, observando cómo se va estabilizando en el paso del tiempo.

Dinámica 2 / Dinámica 3

Las distancias entre los nitrógenos y el calcio muestran un comportamiento de estabilidad en las dos dinámicas manteniéndose los valores o con cambios que no tienen significancias, como de los N28-N29-N30 que cambian con de la dinámica 2 a la dinámica 3 con 0.02 Å, como se puede ver en el

Gráfico 3.23. Comparando con el valor cristalográfico decimos que llegamos a encontrar los valores deseados con el paso del tiempo en estas dinámicas, en cambio se tiene una diferencia del 8% con los valores del artículo

- Ca-O32 / Ca-O33 / Ca-O34/ Ca-O35 / Ca-O36/ Ca-O37 / Ca-O38/ Ca-O39

	d_0 (Å)	d_f (Å)	E.cristal (Å)	V.artículo (Å)	D3 -> d_f (Å)
Ca-O32	2.27	2.29	2.44	Teor /Exp 2.27 / 2.37	2.28
Ca-O34	2.26	2.25	2.40		2.28
Ca-O36	2.28	2.28	2.77		2.27
Ca-O38	2.27	2.30	2.53		2.28

Tabla 3. 17: Valores del ángulo Ca-O en el ensamblaje isobárica y dinámica de producción

La vibración proporcionada por los oxígenos hacia el ión Ca muestra que se mantiene constante los valores del ensamblaje isobárico y de la dinámica de producción como esta en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, con los valores del artículo pero tiene una variación ya estimada por el uso de la estructura cristalográfica de Gd.

	d_0 (Å)	d_f (Å)	D3 -> d_f (Å)
Ca-O33	4.31	4.21	4.24
Ca-O35	4.33	4.30	4.24
Ca-O37	4.1	4.22	4.26
Ca-O39	4.32	4.21	4.26

3.7.2.2. Ángulos

	θ_0 (°)	θ_f (°)	E.cristal (θ °)	V.artículo (θ °)	D3 -> θ_0 (°)
N ₂₇ -Ca-C ₄	23.15	22.4	20.86	27.3	22.8
N ₂₇ -Ca-C ₁₁	24	23	27.42		22.6
N ₂₈ -Ca-C ₅	22	22.2	20.17		22.2
N ₂₈ -Ca-C ₆	24	22.6	19.35		22.8
N ₂₉ -Ca-C ₈	23.1	22.1	18.36		22.4
N ₂₉ -Ca-C ₇	23.4	21.8	17.93		22.4
N ₃₀ -Ca-C ₉	22.5	21.5	20.25		22
N ₃₀ -Ca-C ₁₀	23.8	22.1	24.16		22.6

Tabla 3. 18: Valores del ángulo N-Ca-C del ensamblaje isobárica y de la dinámica de producción

Los valores obtenidos del ensamblaje isobárico cambian en relación a la dinámica de producción por 0.30 décimas como se puede ver en la tabla 3.18 manteniéndose sin

fluctuación durante el tiempo de simulación; mientras que con los valores de la estructura de cristal para llegar al valor medio de 21.06° se pasa con 1.8 °, teniendo una gran similitud de datos obtenidos pero gran cambio se da con los valor puesto del artículo de 27° varían con 17.67%.

	θ_0 (°)	θ_f (°)	E. cristal (θ °)	V. artículo (θ °)	D3 -> θ_0 (°)
C ₁₂ -N ₂₇ -C ₄	109.5	109	109.5	107.7	110
C ₅ -N ₂₈ -C ₁₄	109	108	107.32		107.5
C ₈ -N ₂₉ -C ₁₆	107.5	108	105.61		108.5
C ₁₈ -N ₃₀ -C ₉	119.5	109	108.69		108

Tabla 3. 19: Valores comparados después de la realización del ensamblaje isobárico y de la dinámica de producción en los ángulos C-N-C

En las dos dinámicas tenemos un valor medio de 108.5° lo que comparado con la estructura cristalográfica y los valores del artículo tenemos que varían con un grado pasándose del valor propuesto, pero este valor no nos da mayor diferencia como se muestra en la tabla3.19.

	θ_0 (°)	θ_f (°)	E. Cristal (θ °)	V. Artículo (θ °)	D3 -> θ_0 (°)
C ₁₂ -C ₁₃ -O ₃₂	116.5	117	118.10	117.7	117
C ₁₂ -C ₁₃ -O ₃₃	120	120			
C ₁₄ -C ₁₅ -O ₃₄	116	117	118.55		116.5
C ₁₄ -C ₁₅ -O ₃₅	116.5	117			
C ₁₆ -C ₁₇ -O ₃₆	115	117	116.37		117
C ₁₄ -C ₁₅ -O ₃₇	122.5	122.5			
C ₁₈ -C ₁₉ -O ₃₈	117	117.5	118.12		117
C ₁₈ -C ₁₉ -O ₃₉	120.5	119			

Tabla 3. 20: ángulo C-C-O obtenido en el ensamblaje isobárico y en la dinámica de producción

Los valores de las dos dinámicas, de la estructura de cristal y de los valores de referencia tenemos que se mantienen en 117, resultando que los oxígenos han rotado lo necesario en la termalización para mantenerse estables en las 2 dinámicas siguientes evitando que el ión calcio se mueva, observada esta descripción en la tabla3.20.

3.7.2.3. DIEDROS

	θ_0 (°)	θ_f (°)	E. Cristal (θ °)	D3 -> θ_0 (°)
Ca-N ₂₇ -C ₁₂ - C ₁₃	-42	-37	31.60	-38
Ca-N ₂₈ -C ₁₄ - C ₁₅	-42	-39	42.59	-38
Ca-N ₂₉ -C ₁₆ - C ₁₇	-39	-45	57.62	-38
Ca-N ₃₀ -C ₁₈ - C ₁₉	-42	-37	43.61	-37

Tabla 3. 21: valores Ca-N-C-C obtenidos en el ensamblaje isobárico comparados con la dinámica de producción.

Los ángulos diedros de la tabla3.21 muestran gran diferencia con los valores de la estructura de cristal en un 21% , pero la dinámica de producción logra estabilizar a los ángulos diedros en un valor de -38° .

	θ_0 (°)	θ_f (°)	E. Cristal (θ °)	D3 -> θ_0 (°)
O ₃₂ -C ₁₃ -C ₁₂ - N ₂₇	-42	-35	17.29	-36
O ₃₄ -C ₁₅ -C ₁₄ - N ₂₈	-10	10	-44.27	20
O ₃₆ -C ₁₇ -C ₁₆ - N ₂₉	-2	20	33.79	14
O ₃₈ -C ₁₉ -C ₁₈ - N ₃₀	-25	22	19.10	-60

Tabla 3. 22: O-C-C-N obtenidos tanto en el ensamblaje isobárico y en la dinámica de producción

Para este tipo de ángulo diedro que se agrupan en pares entre O34-C15-C14-N28 con O36-C17-C16-N29 y O32-C13-C12-N27 con O38-C19-C18-N30 manteniéndose entre ellos proporcionales los cambios.

3.8. UNION DE ESTRUCTURAS

3.8.1. Estructura fdg

La estructura FDG como se mencionó en el capítulo de metodología, fue construida manualmente en el programa GAUSS VIEW, por la razón que no se encontró una estructura cristalográfica pre-definida.

La unión de Ca- SNBD con el FDG mostrada en el **¡Error! No se encuentra el origen de a referencia.** se da por motivo, que nuestro agente de contraste necesita de una azúcar para cumplir con la función de un marcador requerido para identificar la funcionalidad de alguna proteína específica que posteriormente se analiza.

Para esta unión se realiza:

- En el Ca-SNBD se da la eliminación del benceno y su respectivo carboxilo colocando un Hidrógeno para saturar y así poder obtener la estructura específica para las posteriores uniones (Ca-DOTA).
- En la estructura FDG se elimina el grupo extremo del NH para posteriormente ser sustituido por un átomo de hidrogeno que indicara el sitio de encuentro entre el anillo del Ca-DOTA con la azúcar FDG.

En los lugares colocados hidrógenos para la saturación, representan el sitio de encuentro del anillo y de la azúcar formando el Ca-DOTA-FDG.

3.8.2. Estructura de la proteína

Se escogida la proteína Human serum albumin (HSA) (69) para este proyecto puesto que es la más abundante en el torrente sanguíneo (sangre), siendo sintetizada en el hígado.

De la estructura general de la HSA contiene una hélice alfa propia de la proteína y una lámina beta, se toma solo 15 aminoácidos de la hélice alfa. En cada extremo del segmento se satura con un Hidrógeno tanto en el grupo N-terminal y en el grupo C-terminal que esa es la característica por lo cual se escogió estos segmentos. Otro cambio que se da en el segmento es el aumento automático en el programa Materials Studio en el aminoácido denominado Histidina, puesto que es un aminoácido cargado y con el hidrogeno se neutraliza la carga.

El segmento (15 aminoácidos) después de estos arreglos mencionados se encontró lista para proceder a unirlo con el Ca-DOTA-FDG.

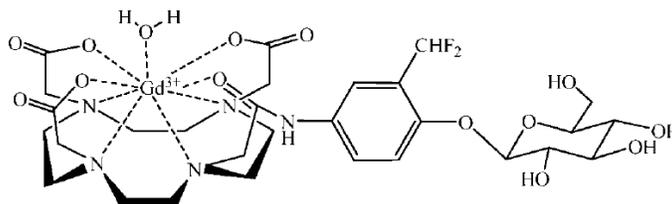
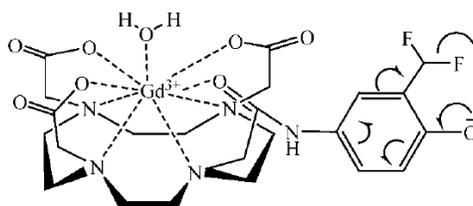


Ilustración 3.14: estructura Ca-DOTA-FDG obtenida por la unión de nuestro quelato y nuestra azúcar para formar un compuesto para funcionar como marcador

En el mostramos la estructura obtenida hasta ahora Ca-DOTA-FDG, sufre unas modificaciones:

- Eliminación de la azúcar.
- Cambios de los átomos de flúor por hidrógenos
- Saturación de la estructura con hidrógenos en los lugares que sean necesarios.

La saturación en lugar del azúcar eliminada en la estructura Ca-DOTA-FDG, dejando un oxígeno cargado negativamente, se produce una desgate de los flúor que convierte este oxígeno cargado en Oxígeno¹⁸, el cual tiene la capacidad de captar un catión de hidrogeno y así convertirse en la GLUCOSA-6-FOSFATO mostrado en el Ilustarción 3. 14, marcada con un oxígeno pesado (O¹⁸) siendo totalmente inocua en la posición 2 que podría ser metabolizado normalmente por cualquiera de las rutas utilizadas por la glucosa (70).



Ilustarción 3. 14: Estructura Ca-DOTA-FDG, preparada para la adición de la proteína, en donde se produce enlaces de resonancia saturando el anillo de benceno y el oxígeno pertinente.

Después de las modificaciones hechas, ese lugar representara el lugar de unión para este evento a suceder (condensación) descrito en párrafos posteriores.

La posición de un flúor representara el extremo de unión con la amina del segmento para que se produzca el proceso de condensación, quedando el aminoácido histidina al otro extremo del segmento representando el extremo final de mi estructura (complejo) Ca-DOTA-FDG-HSA-H₂O. Mostrado en la Ilustarción 3. 15

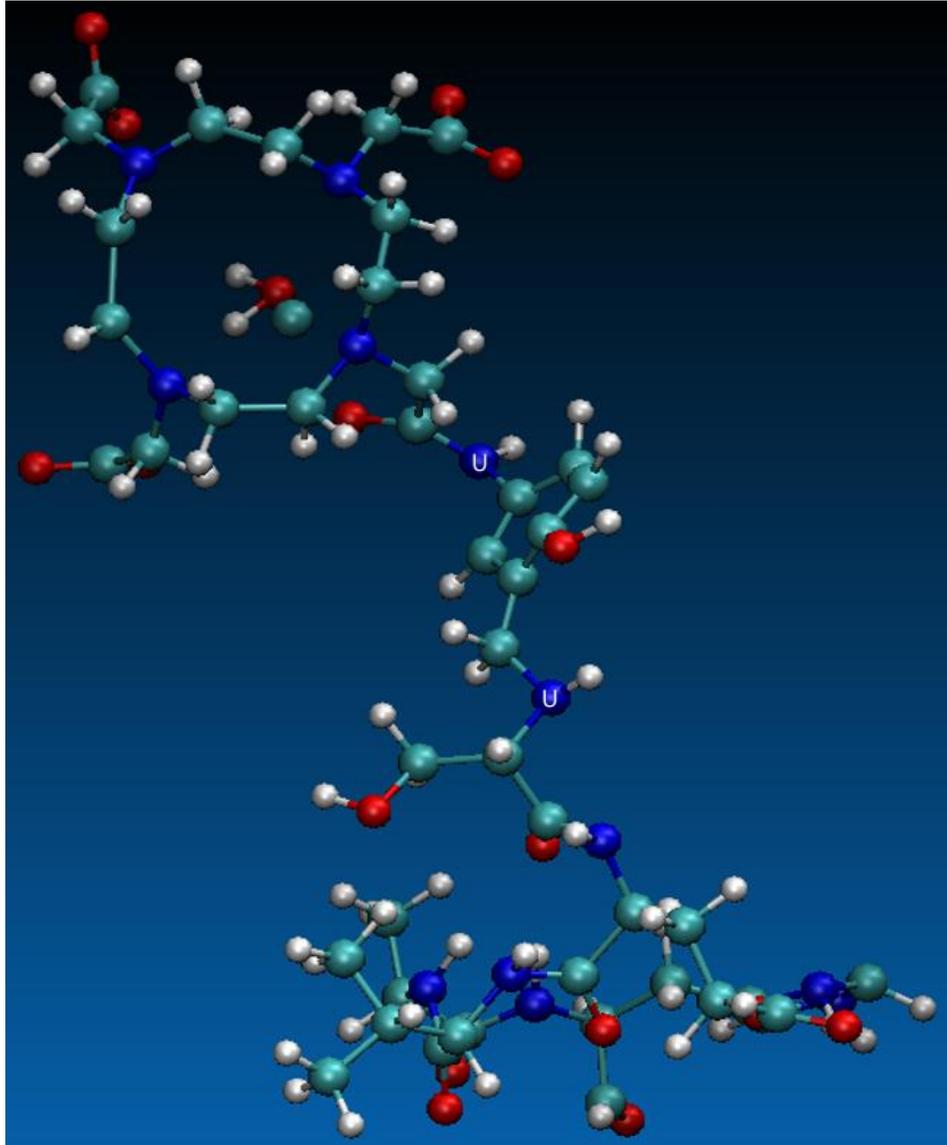


Ilustración 3. 15: Estructura Ca-DOTA-FDG-H₂O, es la estructura final después de la unión de cada una de sus partes mostradas por una letra "U" el sitio de unión para dar origen a nuestro complejo.

La obtención de este complejo se realizó de dos formas:

1. A partir de estructuras cristalográficas de las tres estructuras bases: Ca-SNBD, FDG, HSA
2. A partir de estructuras aplicadas con dinámica molecular, es decir unidas después de la realización del ensamblaje de producción (dinámica 3).

A partir de esta estructura hecha a base de estructuras cristalográficas, procedemos a las simulaciones de dinámica molecular paso a paso:

3.9. CONSTRUCCION DE LA CAJA:

La caja contiene:

- 1Ca-DOTA-FDG-HSA-H₂O
- 3110 moléculas de agua

Este contenido proporciona unas dimensiones del 44.46 Å por cada lado, teniendo condiciones periódicas, y a su vez recordando que es una caja cuadrática. La densidad de la caja es igual a la caja anterior (1 molécula de Ca-SNBD +219 moléculas de H₂O) de 1.093 gr/cc.

3.9.1. Creación del archivo DATA

La creación de este archivo proporciona varios parámetros tanto de la parte orgánica e inorgánica del complejo, especialmente en las parte de uniones.

El campo de fuerza que esta descrito por tener características más para compuestos orgánicos que para compuestos inorgánicos, no contiene la información necesaria de las interacciones producidas en su entorno y este se encuentra descrito por enlaces, ángulos, diedros, etc.

Se realizó modificaciones con datos conocidos con el fin de completar información en el archivo data, pero a través de estos cambios se obtuvieron un número mayor de errores.

3.9.2. Minimización del complejo

En esta parte se realizó dos tipos de pruebas, recordando que el objetivo aquí es llegar a que la estructura del complejo llegue a optimizar su geometría y con esto proceder a la simulación del movimiento de las aguas que están rodeando al complejo para poder calcular el parámetro de la tasa de intercambio del agua.

Estas pruebas tratan de encontrar pair_style propicios para el complejo que logren que se pueda minimizar con éxito el sistema. Por ejemplo, pair_style para la caja como style_bond, style_angle, etc. Estos estilos tienen que regir de igual manera a todo el complejo, es decir, tanto a la parte orgánica e inorgánica.

- **PRUEBA 1:**

Aplicación del pair_style: lj/charmm/coul/charm

- **PRUEBA2:**

Aplicación del pair_style: pair_style lj/charmm/coul/long

El resultado de las pruebas para la minimización es que se logró obtener que la estructura se acomode a su forma estable (optimización), pero solo con el pair_style de la segunda prueba se obtiene el movimiento de las aguas, ya que este campo contiene interacciones a largo alcance.

La minimización utilizando el pair_style logra alcanzar su mínimo de energía para el complejo con las 3110 aguas puestas en la caja, es decir, se realiza 1512 pasos de minimización para obtener una estructura con energía de -30692.41 kcal/mol.

3.10. DINÁMICA MOLECULAR

Para las simulaciones aplicando la dinámica molecular (NVT-NPT), se pasa simultáneamente los errores de falta de información de las interacciones entre los átomos no reconocidos, produciendo:

- La no existencia de enlaces, ángulos simples como es el caso de un carbono y un hidrogeno que forman el carbono central de los aminoácidos.
- Se destruye el complejo, que no se culmina ni la tercera parte de la termalización por lo cual no hay como pasar al siguiente paso.
- La no hay un rango de valores pertinentes de Cut-off para el pair_style
- El no reconocimiento del espacio que caracterice adecuado las interacciones de Coulomb de largo alcance denominado: Kspace, siendo este un proceso delicado y se realice iterativamente (uso de script).

Para resolver estos inconvenientes se trata de buscar soluciones por lo cual se realiza una serie de intentos:

1. Se realizó la termalización, la primera dinámica molecular en los sistemas anteriores, partiendo de la estructura cristalográfica, es decir, nos saltamos de la minimización.

Se realizó esto para verificar que no existen parámetros de enlace, y ángulos por motivo de la posición inicial de los átomos del complejo. Esto logro demostrar que el razonamiento de la causa de que en el sistema (unión de estructuras cristalográficas de cada compuesto) desde su punto de partida no podía minimizar su causa que contenía varios átomos muy cercanos uno a otro era incorrecto, o al menos no era la única causa porque a pesar de que corre 2000 pasos de termalización con este nuevo sistema de partida, se produce otro error que detiene la minimización (que se genera un mensaje que cierto enlace no existe).

Para los siguientes intentos es necesario recordar que las proteínas es un polímero de aminoácidos. Existen 20 tipos de aminoácidos, que su secuencia de unión puede ser en cualquier orden dependiendo de la proteína específica que analizamos.

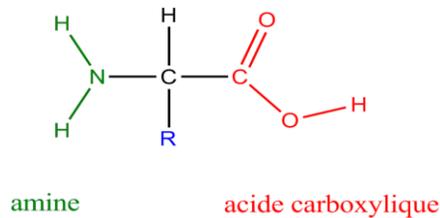


Ilustración 3. 16: Esqueleto de la formación de una proteína, que son producto de uniones de aminoácidos

Cada aminoácido tiene una composición porcentual en masa de los elementos que los forman es constante, 50 a 55% C, 7% H, 23% O, 16% N y 12% S, así tenemos la unidad funcional de las proteínas que son los aminoácidos que contienen un grupo amino (-NH₂) y un grupo carboxílico (-COOH) y un grupo amina mostrado en la Ilustración 3. 16

El primer paso en la síntesis de la molécula de proteína es una reacción de condensación entre el grupo amino de un aminoácido y un grupo carboxilo de otro. Cualquier extremo del péptido puede participar en una reacción de condensación con otro aminoácido con su producto final una molécula de proteína (polímero de aminoácido). La secuencia de aminoácidos de una cadena polipeptídica se escribe por conversión, de izquierda a derecha, comenzando con el residuo amino terminal y terminando con el residuo carboxilo terminal.

2. Inmovilización de los carbonos alfa

Esto se realiza para evitar que se choquen entre átomos y la secuencia seleccionada de aminoácidos (segmento) pierda la conformación que tendría como parte de la proteína

completa explote la caja en proceso de simulación. Este choque se da entre los átomos del segmento de la proteína (nitrógenos con hidrógenos de otro grupo), se da porque no tiene interacciones clave con otros aminoácidos de alrededor que mantienen a este segmento de la proteína en su conformación actual que tomamos de la estructura cristalográfica o NMR.

A través del comando *move* que cumple con una inmovilización de los átomos mencionados pero sin evitar que tenga un desplazamiento de su localización.

El resultado de esta proceso es que de consiguió avanzar al paso 5000 para finalizar con el comentario de que no existe parámetros para dos átomos.

3. Inmovilización de la cadena principal de los aminoácidos incluidos los hidrógenos del nitrógeno.

El hidrogeno de los nitrógenos (amina) son los que producen los choques con los átomos más cercanos.

La ejecución de esta restricción se da igual por medio del comando *move*, sin conseguir algún resultado productivo, más que el razonamiento de que el segmento de las proteínas se encuentra con una estructura que necesita arreglo en la posición de sus átomos, puesto que según estos intentos realizados esta se encuentra con los elementos muy cercanos produciendo que se destruya la caja.

4. Otro tipo de restricción es el de fijar las distancias (NH-NC-CC-CO), ángulos (HNC-CCO-OCN) y ángulos diedros (OCNH).

Resultando que quedan libre todas las ramificaciones e hidrógenos que saturan la proteína, es decir, son los únicos que contiene movimiento del segmento de la proteína escogido. Con esta prueba se trata de igual manera probar la posición de los átomos restringiéndoles a una movimiento de cero, sin encontrar cambios productivos a más del alargamiento de los enlaces para producción que se detenga el sistema que se está tratando de simular.

Recordemos también que en la dinámica de termalización (NVT) tiene la facilidad de variar la posición de los átomos.

Por esta razón antes de proceder a mayores cambios se procede a realizar:

5. Calentamiento del sistema:

El sistema tratar se decide realizar un calentamiento paulatino, de 10 a 60 grados en pasos de 10 pero al llegar a la temperatura de 30 grados nos encontramos con nuestro error variando el número de átomos.

Por lo que se resuelve que no es problema que los átomos en cuanto explotan por alta temperatura (energías altas) puesto que también se hizo un enfriamiento al sistema para volverlo a calentar proporcionalmente pero a pesar de ello, aparece el mismo error.

6. Timestep

La variación de este parámetro disminuyendo de un fs por paso a 0.5 f por paso, produciendo un aumento de tiempo de simulación con mayor número de pasos, lo que ocasiona que se realiza el doble de tiempo en correr es decir, llega hasta 150000 de pasos representando un gran avance para proporcionar el mismo error, sin producir avances. Ya que este nos demuestra que a pesar que el tiempo aumento o disminuya el problema de iteración entre átomos se seguirá dando al inicio, en el medio o al final de la molécula, y que la proteína no se encuentra formando una elipse igual en toda su longitud.

7. Aumento de los cutt-off del pair_style

pair_style	lj/charmm/coul/long	8.0	10.0	10.0
------------	---------------------	-----	------	------

Los parámetros a modificar son conocidos como cut-off que representan la distancia de alcance del potencial de Lennard-Jones y de las fuerzas coulomb, refiriéndose a una distancia mínima de cálculo y a otra distancia máximo de cálculo de distancia en donde se puede calcular todos los procesos que suceden dentro de este diámetro. Se realiza un cambio de 10.0 10.0 12.0 llegando a que el tiempo de simulación es más extenso y produce un cálculo más detallado de los acontecimientos que ocurren en cada paso de simulación, por lo cual este intento suelta resultados del mismo tipo de los anteriores, es decir, estiramiento de los enlaces.

8. Segmento de proteína con solo 6 aminoácidos:

En la proteína se realizó un recorte de 15 aminoácidos con los cuales se ha venido trabajando hasta ahora para darnos el mismo resultado, ahora se recorta este segmento en otro más pequeño que contiene 6 aminoácidos probando así la forma de helicoidal que tiene la secuencia de aminoácidos la que provoca este error con los choques de átomos, concluyendo que a pesar del recorte se llega al mismo error con los hidrógenos que al giran en el proceso de la termalización provocando un desenrollamiento y el encuentro con otro átomos cercano.

9. Construcción de cadenas de alaninas:

Se conoce que el aminoácido más simple es la alanina ya que su radical es un átomo de hidrogeno, por lo que se decide realizar una secuencia de ellas, para probar si el problema son los radicales de los aminoácidos ya que son radicales de gran número de átomos, pero a pesar de esta solución se sigue apuntando al mismo error que es el estiramiento de enlace.

10. Proteína en NAMD:

El segmento de 15 aminoácidos de la proteína se toma su estructura para ser analizada por ayuda del programa NAMD en el cual se realizó:

Una minimización de 100000 pasos a temperatura 0 °k partiendo de su estructura cristalográfica recortada para lograr obtener una reubicación en las posiciones de cada uno de los átomos que lo conforman.

Posteriormente se realiza de la estructura obtenida con la minimización un calentamiento que consta de subir su temperatura cada 25 °k desde cero hasta llegar a la temperatura correcta de 310 °k por 100000 pasos, provocando que la proteína por ayuda de la minimización realizada se obtenga una estructura estable a la temperatura propuesta.

Por último se realiza una equilibración conocida por nosotros como dinámica en el cual se realiza 500000 pasos de simulación para lograr obtener una correcta disposición de todo el sistema simulado incluyendo el segmento de la proteína.

La finalidad encontrada es que la estructura de la proteína por sus características propias tenga forma de helicoidal, con las mismas dimensiones en todo su contorno, es decir, el mismo grosor al inicio, medio y final.

11. Repetición de intentos:

Después de encontrar la forma adecuada y correcta del segmento de la proteína se trata de comenzar desde cero, es decir, uniéndole nuevamente para realizar la minimización con el campo de fuerza que mide interacciones de largo alcance así queriendo encontrar los parámetros necesarios en el proyecto de tesis.

Se debe tomar en cuenta que aquí la realizada de la minimización no es necesario puesto que en el programa secundario NAMD ya se realizó este paso, motivo el cual se suprime de

realizar este camino para proseguir con la realización de la dinámica molecular que actualmente es de mayor importancia lograr correr las simulaciones.

La termalización que es la primera dinámica a realizarse variando el parámetro de la presión logra realizar el mayor tiempo de simulaciones de 2500 fs en el cual sus uticas restricciones eran los carbonos alfas del segmento de la proteína, después de este tiempo el sistema en trabajo se cae por motivos del no reconocimiento de enlaces entre átomos como carbono, con hidrogeno, carbono carbono, etc. Demostrando que la técnica realizada con NAMD es la más correcta a utilizar ya que cae en el mismo error.

12. Retroceso de campo de fuerza:

Al encontrar el mismo error en todos los intentos que se ha hecho, se analiza que el posible problema es la elección del pair_style que realiza análisis de largo alcance provocando que los enlaces se estiren por la fuerza aplicada por este mismo.

Se realiza el cambio de pair_style

pair_style	lj/charmm/coul/charmm 9.0 11.0 8.0 10.0
------------	---

Se realiza unos ligeros cambios que son incrementos de los valores de cut-off. A partir de este cambio se comienza a mandar la minimización.

Encontrados los valores resueltos en la minimización visualmente se analiza que no existe movimiento de las moléculas de agua, que se atribuye que no son notorios por el poco tiempo de simulación que se efectúa en la minimización.

Razón por la cual se ejecuta la termalización o la primera dinámica terminando de correr sin detenerse por algún factor, pero en el archivo de expulsión de datos nos topamos que los valores en general permanecen estables sufriendo ligeras modificaciones que pueden ser

despreciadas es decir, no hay aplicación correcta de los pedidos, mientras visualmente tenemos que no hay desplazamiento de las moléculas de agua a más que vibración en su posición, resultándonos invalido para el cálculo del parámetro tasa de intercambio del agua.

13. Creación personalizada de los segmentos en el programa MATERIALS STUDIO

La selección del segmento de la proteína es duplicada manualmente con las herramientas que consta el programa MATERIALS STUDIO. A través de estas herramientas se logra reproducir la secuencia del segmento de aminoácidos, disminuidos a 10 unidades de aminoácidos.

Este nuevo segmento no está cargado y consta con las propiedades químicas de saturación para cada elemento (número correcto de enlaces para cada situación que se presente ya sea con enlaces simples, dobles, enlaces de resonancia. Todo esto se tubo sumamente cuidado puesto que un enlace demás afectaría para procesos posteriores a ejecutarse como modo de prueba.

Con esta construcción hecha en este programa se halla que la exportación de datos hacia el programa MATERIALS STUDIO, está mal efectuado por lo que se produce errores en el reconocimiento de iteraciones de átomos al aplicar el campo de fuerza, esto fue comprobado por comparación de estructuras y a su vez en la creación nuevamente con las mismas condiciones de la primera caja aplicando el campo de fuerza CVFF.FRC en el cual se elimina los errores principales para la creación del archivo DATA, resultando esta creación del archivo eficiente.

Se reanuda con el campo de fuerza de inicio con el cual se obtenía el movimiento de los átomos, principalmente de las moléculas de agua.

Se realiza las simulaciones pertinentes paso a paso hasta encontrarnos en la termalización conocida como la primera dinámica a realizar en la cual arroja resultados de tiempo de

simulación mayor que los anteriores pero con error en el estilo del Kspace que bien conectado con el pair_style, para lo cual se comienza a probar cada estilo que le pertenece a al comando kspace, los principales son:

- Ewald
- Pppm

Los mismos que tienen sus derivados, pero en conjunto todos los estilos proporcionados en este comando son inadecuados por más simultáneamente se modifique los valores de los coeficientes cut-off. Esto nos arroja a concluir que no hay reconocimiento correcto de cada interacción que se efectúa con los átomos que conforman el sistema, principalmente con la parte del segmento de la proteína.

Agotadas todas las posibilidades que puede existir para solucionar estos tipos de errores, se busca una segunda opción que se pueda sustituir la proteína, y a su vez sea un compuesto orgánico simple como el caso de un hidrocarburo, al cual vamos a someter a las mismas condiciones, parámetros aplicados al segmento de la proteína, pues así tenemos:

14. Tetra decano

El hidrocarburo escogido es el tetra decano, mostrado en la Ilustración 3. 17, el cual va a cumplir con ser el compuesto inorgánico que sustituya a la proteína en su ubicación pero jamás en su funcionalidad.

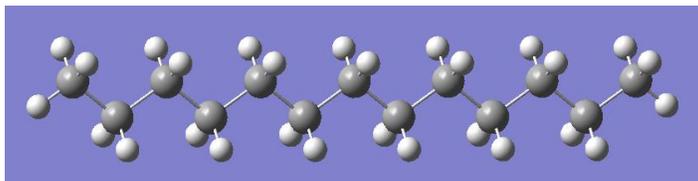


Ilustración 3. 17: Estructura de nuestro hidrocarburo por medio del programa Gauss-View.

La estructura del n-tetra decano tiene una densidad de 0.79gr/cc a 310⁰k, la misma que se va a utilizar para la creación de la caja con el sistema a analizar.

La unión de la estructura C₁₃H₂₆ del es unida al Ca-DOTA-FDG se da en el mismo lugar por donde se dio la unión del segmento de la proteína, es decir, por donde se produce condensación (sale H₂O) para proceder a la simulación.

La simulación aplicando dinámica molecular arroja los mismos resultados errados que se ha conseguido hasta ahora a pesar que estamos trabajando actualmente con un compuesto más simple en estructura en comparación a 15 aminoácidos. El error es que el style_kspace, el mismo que se encarga de asignar una distancia idónea a las iteraciones de largo alcance (fuerza de coulomb) a pesar que se vuelve a probar con los estilos existente, simultáneamente sucede que nuestro ión Calcio se retira se su posición inicial para desplazarse.

Resultando que él no existen parámetros pre establecidos para compuestos orgánicos simulados al mismo tiempo con compuestos inorgánicos. Se han realizado 14 intentos, siendo un número significativos podemos dar resolución a ellos diciendo: el programa LAMMPS ocupado para las simulaciones de compuesto Ca-DOTA-FDG-HSA-H₂O, no es el más apropiado para tratar este tipo de fármaco, puesto que está formado de un parte orgánica y una parte inorgánica.

El campo de fuerza aplicado en común en todos los programas no contiene los parámetros necesarios para los datos requeridos para la simulación, en especial con LAMMPS ya que este se tiene que acoplar a los parámetros que asigna el campo de fuerza para reconocer las iteraciones entre los átomos.

3.11. TASA DE INTERCAMBIO DEL AGUA

La tasa de intercambio del agua es un parámetro, o factor de interés puesto que aumenta la relajación de los protones del agua (71). Con este factor vamos a ver la capacidad de los protones adyacentes para acercarse a la región paramagnética y que interactúan con ella.

Este parámetro está regido de acuerdo a la Ecuación 1:

$$\tau_M = \frac{1}{K_{ex}}$$

Ecuación 1

Dónde:

τ_M = Tiempo de resistencia media del agua (ns)

K_{ex} = tasa de intercambio del agua (ns⁻¹)

Así tenemos el análisis de este parámetro en las simulaciones de dinámica molecular con la estructura CA-SNBD, se utilizó la definición que un agua se encontraba coordinada al ion metálico si se encontraba a una distancia igual o menor a 2.5 Å, a esta(s) agua(s) se denominada primera esfera de coordinación

3.11.1. Dinámica de Termalización

Recordemos que se realizó una simulación de 500 ps de tiempo.

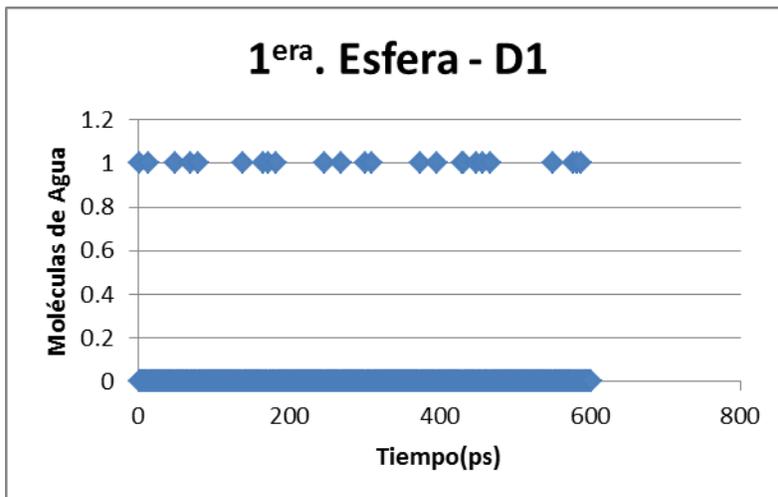


Gráfico 3.24: Descripción del intercambio de las moléculas de agua con referencia al ión Calcio en la termalización.

En este tiempo encontramos que 25 moléculas de agua (del total de 216 que se encuentran en el sistema,) estuvieron presentes en la primera esfera de coordinación en algún momento de la simulación. Por tanto el porcentaje de tiempo de residencia total de cualquier molécula de agua a 2.5 Å de distancia en referente al ión calcio es de 4.16 %, mientras el tiempo de residencia de una molécula agua específica para la dinámica de termalización es menor o igual a 1ps

En el

Gráfico 3.24, las moléculas de agua presentes a una distancia menor o igual a 2.5 Å son:

102,62,132,197,186,13,215,54,215,103,190,36,125,95,95,160,24,124,117,214,63,197,24,66

A estas moléculas les corresponden las siguientes posiciones (en la escala de tiempo):
15,50,71,81,140,168,174,185,248,270,303,312,376,398,432,432,434,450,459,469,552,579,
585,590

En estos dos datos encontrados y simultáneamente juntados tenemos la repetición de la molécula de agua 24, 95 y 215 en el tiempo de:

Molécula 24 en el tiempo de 434ps y de 585 ps

Molécula 215 en el tiempo de 174 ps y 248 ps

Molécula 95 en el tiempo 398 y 432 ps

3.11.2. Dinámica isobárica

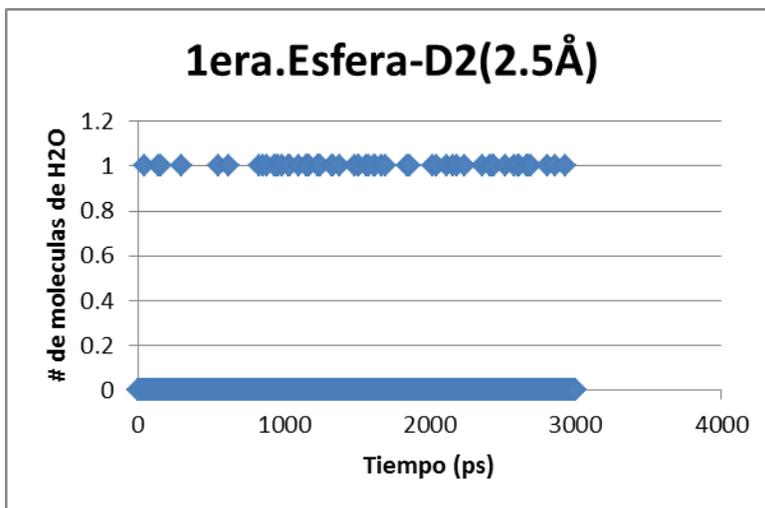


Gráfico 3.25: En el tiempo de ensamblaje isobárico se muestra que hay un mayor intercambio de las moléculas de agua, visualizando la tasa de intercambio del agua.

La dinámica isobárica se realizó por un tiempo de 3000 ps de simulación, en el cual se encuentra presentes 60 moléculas de agua a una distancia de 2.5 o menos con referencia al calcio. Ver

Gráfico 3.25 Se calculó para la primera esfera el tiempo de residencia del agua es de 8 en esta simulación, mientras que para una agua cualquiera su tiempo de residencia es menor o igual a 2 ps de permanencia en la región de la primera esfera de cálculo.

Moléculas de agua (60)

98,44,108,91,159,138,163,181,144,97,205,181,6,6,106,16,51,145,206,90,117,47,22,59,127,33,176,137,95,146,178,208,208,129,200,166,63,120,68,172,111,57,78,0,124,39,191,105,110,114,133,200,138,138,35,29,119,144,144,81.

Posiciones:

40,142,158,361,550,626,830,858,886,938,944,964,992,1036,1038,1100,1158,1160,1170,1176,1238,1240,1246,1259,1334,1338,1380,1490,1514,1518,1566,1586,1618,1626,1668,1694,1846,1886,2018,2052,2120,2158,2190,2242,2364,2418,2436,2442,2518,2580,2604,2616,2676,2672,2674,2698,2812,2814,2860,2928.

Mostradas las moléculas de agua con sus respectivas posiciones encontramos que:

La molécula 138 se repite dos veces en 626ps, 2676ps

La molécula 181 se repite dos veces en 858 ps y ,964ps,

La molécula 144 se repite tres veces en el tiempo 886ps ,2812ps ,2860ps

La molécula 6 se repite dos veces en 992ps y a su vez en el tiempo de 1036ps

La molécula 208 se repite dos veces en el tiempo de 1586 ps ,1618 ps

La molécula 200 se repite dos veces en 1668ps ,2616ps

La molécula 138 se repite dos veces en el tiempo de 2670ps, y 2672ps, siendo la molécula de agua que permanece el doble de tiempo en relación a las demás, es decir, que se encuentra presente su tiempo de residencia de 2 a 4ps.

3.11.3. Dinámica de producción

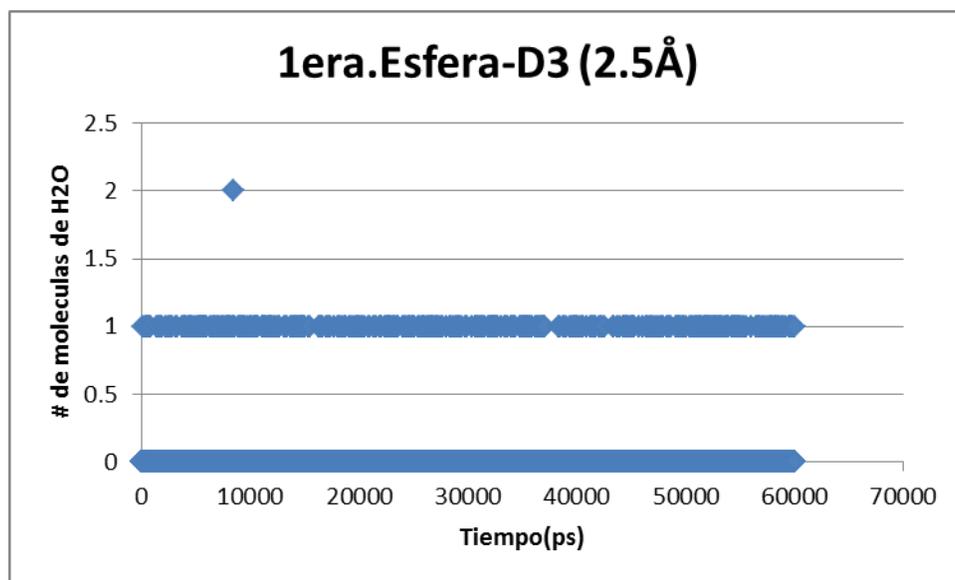


Gráfico 3.26: La tasa de intercambio del agua durante la dinámica de producción muestra que todas las aguas tienen movimiento por el diámetro de 2.5Å

En el Gráfico 3.26 la dinámica de producción designada por D3 se realizan 60 000 ps de simulación en donde se encuentra que hay 459 moléculas de agua presentes dentro del diámetro de 2.5Å alrededor del calcio, es decir, que todas las 216 moléculas de agua estuvieron presentes durante la simulación coordinándose al ion de calcio. Es más, su presencia en la primera esfera se debió repetir dos veces por lo mínimo. Unas pocas

moléculas de agua se repiten más veces por lo cual el tiempo de residencia del agua para la dinámica de producción es de 3.82 % y mientras que para una sola molécula de agua tiene menor o igual 5 ps de tiempo de residencia.

En la simulación tanto de la dinámica de termalización, ensamblaje isobárico y dinámica de producción se encuentra que el número de hidratación (q) es de 1 moléculas de agua, tal como se puede comparar en la

Tabla 3. 23: Datos de comparación de número de hidratación, intercambio del agua, con distintas condiciones

El número de moléculas de agua presentes en la primera esfera tiene efecto en el tiempo de residencia del agua o a su inversa la tasa de intercambio del agua. Así tenemos que en este proyecto la tasa de intercambio de agua es de ≤ 5 ns, valor comparado con diferentes investigaciones anteriormente realizadas en donde hay que tomar en cuenta las condiciones y el tipo de quelato con el que se realizó la simulación. Estos valores están expuestos en la tabla 3.23.

	D_{Ex} p	P1(a) (68)	P2(b) (72)		P3(c) (73)	P4(d) (64)	P5(e) (71)	P6 (f) (74) DOTA/ DOTMA		P7(g) (75)
Isómeros	0	Gd (DOTA- FPG)	SAP	TSAP		DO3 A	DTPA	SAP	TSAP	DTPA
q	1	2	1	1	2	2	2	1	1	2
τ_M (ns)	≤ 5	0.2083	70 \pm 5	6 \pm 0.4	72.7 \pm 9.9	305ps	2-30	261 \pm 1.3 / 360 \pm 1.5	8.5 \pm 5 / 50 \pm 4	0.001 0
K_{ex} (10 ⁶ s ⁻¹)	≤ 0.2	4.8 \pm 0.4	0.014	0.16	0.013	0.000 32	10 ⁷	0.00038 / 0.00027	0.117 / 0.02	102

Tabla 3. 23: Datos de comparación de número de hidratación, intercambio del agua, con distintas condiciones detalladas a continuación: (a) pH 6.5 / T 278-323 0k / a través del programa SCIENTIST for WINDOWS by micromath, versión 2.0 / método NMR¹⁷O (b) pH 5.5 / T328⁰K / método NMR¹⁷O / Gd⁺² (c) pH 7.5 / T 298- 310⁰K / método ¹⁷ONMR

data of a 22.9 mM (d) pH 7.5 / T 310⁰ K / concentración de rango de 0.1 a 10 μ M / método NMR ¹⁷O (e) pH 7.5 / T 315⁰ K / campo de fuerza de 1.5 T / método NMRD ¹⁷O (f) pH 7.2/T 298⁰K/método NMRD ¹⁷O (g) pH 7.5 / T 298⁰ K/campo de fuerza amoeba / método NMRD ¹⁷O.

Los valores obtenidos de comparación están realizados con ión Gadolinio por cual motivo variaran en relación a los datos experimentales ya que están realizados con el ión calcio. Se debe recordar que para tener un mejor agente de contraste, el tiempo medio de residencia del agua debe tener valores óptimos de 10 ns (72)

El cambio de isomería de nuestro agente de contraste Ca-SNBD no puede suceder dentro de la escala de tiempo de estas simulaciones puesto uno se reporta en la literatura que el tiempo de isomerización en el compuesto se da dentro del tiempo de 30 y 50 μ s (74) (76), mientras que en las presentes simulación realizo un máximo de 60ns de tiempo, por tanto no se tendrá cambios en las posiciones de la estructura para dar lugar a isómeros.

En algunos casos reportados en la literatura se ha visto que la tasa de intercambio de agua es muy rápida, para ser detectado por la técnica de resonancia magnética nuclear, y el instrumento solo daría valores promedio de la tasa de intercambio entre varios isómeros o simplemente no se podrían medir. Caso que también se podría presentar en el desarrollo de mejores agentes de contraste inteligente.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES –RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

La computación de alto rendimiento es una herramienta válida para realizar investigación en ciencias como la biofísica desde un punto de vista molecular por lo cual se adoptó simulaciones de dinámica molecular para extraer un parámetro que determine la eficiencia del agente de contraste (Gd-DOTA-FDG-H₂O).

Para la comparación de resultados obtenidos usando el método *in-silico* es fundamental relacionarlos con los datos experimentales, con el fin de validar los modelos y posteriormente producir datos significativos para el estudio.

A partir de los resultados de las simulaciones de dinámica molecular ya realizadas también se podría calcular el segundo parámetro (τ_r) conocido como tasa de rotación de las moléculas. Así el cálculo de estos dos parámetros nos permitirá

predecir cuál es un agente de contraste que proporcione una mayor eficiencia en la imagen de resonancia magnética (IRM).

Los valores encontrados de la simulación de la tasa de intercambio del agua comparados con valores experimentales sirven para establecer un método screening para nuevos agentes de contraste tomando como referencia la tasa de intercambio del agua.

Las modificaciones realizadas en el compuesto Gd-SNBD, en particular la sustitución del ión Gd por Ca y a su vez el grupo nitrato del quelato SNBD por un grupo carboxilo se da con la finalidad de tener todos los parámetros de nuestra molécula en el campo de fuerza.

En la simulación de dinámica de producción se encuentra que el tiempo de residencia del Agua estimado para el Gd-DOTA es menor o igual a 5 ns (5000ps) representando un valor inferior al tiempo indicado (10ns) como idóneo para un buen agente de contraste.

4.2. RECOMENDACIONES:

- Es necesario realizar la parametrización del átomo Gadolinio (Gd) para obtener los parámetros necesarios en la implementación del campo de fuerza más eficiente para una correcta utilización futura en estudios relacionados con este átomo.
- Se puede repetir las simulaciones aplicando dinámica molecular cambiando el uso del campo de fuerza por tipo CLASS III, lo que lograría reforzar los datos obtenidos aumentando así la precisión en los valores de parámetros de interés en el trabajo.
- Se recomienda utilizar el programa de simulación NAMD porque contiene características específicas de dinámica molecular propicias para proteínas y otros compuestos de interés.
- El ión calcio utilizado con el quelato debe poseer características electromagnéticas como paramagnetismo, diamagnetismo, etc., aparte de ser portador de enlaces electromagnéticos no dissociables para evitar el desplazamiento del ión simulado.

BIBLIOGRAFÍA:

1. **BURCHAM.W.**, Física nuclear., Estados Unidos-New York., Reverte., 2003., cap 12 ,Pp. 287.
2. **DAVID. W.**, Espectroscopia Rotacional y vibracional- *Fisicoquímica.*, Mexico-Distrito Federal., Digittal oriental S.A., 2005 ., Pp.188
3. **LEACH.R**, *Molecular Modelling: Principles and Applications.*, 2 ed., Person Education EMA., 2001., Pp.-11-46
4. **LEWARS. E.**, *Computational Chemistry: Introduction to the Theory and Applications of Molecular and Quantum Mechanics.*, 1era., Springer., 2003., Pp. 125
5. **S.N.**, *Mecanica Cuantica.*, UIB. QFC., 2000., CAP 2., Pp. 13-14.

6. **SHEN EN. CH.**, *Modeling Desing and Development of Potencial Inhibitors of Gamma-glutamylamine Cyclotransferase and Inhibitors of Cruzain as Therapeutic Agents for Chagas Disease.*, 3^{era} ed., ProQuest., 2008., Pp.26
7. **PRAWDA. J.**, *Métodos y Modelos de Investigación de operaciones.*, Mexico-Distrito Federal., Limusa., 2004., Pp.59
8. **VASIDEVAN. D y OTROS.**, *Texto de Bioquimica.*, 6^{ta} ed., Panamá - Panamá., Jaypee-Highlights., 2011., Pp2. 56
9. **ABASCAL. J y OTROS.**, A potential model for the study of ices and amorphous water:TIP4P/Ice., J.Chem. Phys., 2005., Vol. 122., Pp.234-511.
10. **AIME. S, y OTROS.**, *Properties, Solution State Behavior, and Crystal Structures of Chelates of DOTMA.*, Estados Unidos-Washington., Inorganic Chemistry., 2011., Vol. 50., Pp.7955-1966.
11. **ALDER. B y WAINWRIGHT. T.**, "Studies in Molecular Dynamics. I. General Method"., Chem.Phys., 1959., Vol. 2., Pp.31.

12. **ALLEN. M y TILDESLEY.D.**, *Computer simulations of liquids.*, *oXford sciencie.*, Reino Unido-Inglaterra., 1987., Pp.11-23
13. **BARNETT. B y OTROS.**, *Structural Investigations of Calcium-Binding Molecules. 4. Calcium Binding to Aminocarboxylates. Crystal Structures of Ca(CaEDTA)*7H2O and Na(CaNTA).*, S.I., American Chemical Society., 1979., Vol. 18.
14. **BELTRAN. A.**, *Quimica teorica y computacional. Quimica teorica y computacional.*, Editorial Univeersitat Jame., 2000., Pp. 521.
15. **BRAVO. J.**, *Cristalografía de rayos X de macromoléculas.*, España-Valencia : Sociedad Española De Bioquímica y Biología Molecular., 2012., Vol. 10., Pp.29
16. **BOGDANOV. A y OTROS.**, *Oligomerization of paramagnetic substrates result in signal amplification and can be used for MR imaging of molecular targets.*, *Mol. Imaging.*, Vol. 1., 2002., Pp. 16-23.
17. **CAO G.**, *"Nanostructures & Nanomaterials. Synthesis, Properties & Applications"*., *Inglaterra -Londres.*, Imperial Colleague Press., 2004., Pp. 135-138.

18. **CARAVAN. P.**, *Strategies for increasing the sensitivity of Gadolinium bases MRI contrast agents.*, Chemical Society Reviews., 2006., Vol. 35., Pp. 512-523.
19. **CHANG Y, y OTROS.**, *Synthesis and Characterization of a new bioactivated Paramagnetic Gadolinium(III) Complex [Gd(DOTA-FPG)(H₂O)] for Tracing Gene Expression.*, 6ta., American Chemical Society., 2007, Vol. 18., Pp. 1716-1727.
20. **CLAVAGUERIA. C y OTROS.**, *Gd(III) polyaminocarboxylate chelate: realistic manybody molecular dynamics simulations for molecular.*, Chile - Santiago de Chile., J.Inorg, 2000., Vol. 3., Pp. 399.
21. **COLMENTER. R Y OTROS .**, *Comportamiento de la glucosa y la 18F-FDG en tumores malignos, con enfoque en el cáncer de pulmón.*, Argentina-Buenos Aires., Alasbimn Journal., 2011., Vol. 13., Pp.52
22. **CORONGUI. G y CLEMENTI. E.**, *Técnicas de rayos X para encontrar estructura de agua cristalina.*, J.Chem.Phys., 1992., Pp.20-30.
23. **DIMELOW. R, y OTROS.**, *The dynamics of water exchange in gadolinium DOTA complexes studied by transition path sampling and potential of mean force methods.*, Journal, The owner Societies., 2007., Vol. 9., Pp.1318-1323

24. **FINNEY. J.**, The water molecule and its interactions:the interaction between theory, modelling and experiment., *J.Mol.Liq.*, 2001., Vol. 90., Pp. 303-312.
25. **GUILLOT. B.**, *A reappraisal of what we have learnt during three decades of computer simulations on water.*, *Journal of MOLECULAR LIQUIDS.*, 2002., Vol. 101., Pp 219-260.
26. **GUNSTEREN. H, y VAN. H.**, Accounting for polarization in molecular simulation., *Comput,Phys. Comm.*, 2005., Vol. 172., Pp. 68-85.
27. **HENRY. M.**, Nomenpirical quantification of molecular iteractions in supramolecular assemblies., *ChemPhysChem.*, 2002., Vol. 3., Pp.561-569.
28. **JONES. E.**, *Cohesion. Proceodings of the Physics Society.*, Physics Society., 1931., Vol. 143., Pp. 461-482.
29. **JORGENSEN. W y TIRADO.R.**, *Potential enErgy fuctions for atomic-level simulations of water and organic and biomolecular systems. Estados Unidos-New York.*, Columbia University., 2005., Vol. 102., Pp. 6520-8107.

30. **MARK. P, y NILSSON. L .,** *Structure and Dynamics of the TIP3P, SPC, AND SPC/E water Models at 298 K.* Estados Unidos-Washington : American Chemical Society, 2001, Vol. 105. Pp.9955.
31. **MCBRIDE. C y OTROS.,** The phase diagram of water from quantum simulations., *Phys.Chem.*, 2012., Vol. 14., Pp. 10140-10146.
32. **MAJOR. J y MEADE. T,** *Bioresponsive, Cell-Penetrating and Multimeric MR Contrast Agents.*, National Institutes of health, Publics Access., 2009, Vol. 42., Pp 7
33. **MOAT. R y OTROS.,** “ *A smart*” *magnetic resonance imaging agent that reports on specific enzymatic activity.*, *Angew. Chem Int.*, Inglaterra-Londres., 1997., Vol. 36., Pp. 728-729.
34. **MORILLO. J y OTROS.,** Medios de contraste en resonancia magnética., Colombia-Bogota :, Departamento de Imágenes Diagnóstico Radiólogo., Pp.390-393
35. **NARTEN. A y CLEMENTI.,** *Cristalografía del agua por medio de técnica de rayos X.*, *J.Chem.Phys.*, 1971., Vol. 55., Pp. 22-63.
36. **NEILSON. A y LEVY. H.,** *Técnicas para encontrar la estructura mas estable del agua.*, *Phys.Chem.*, 1996., Vol. 100., Pp. 13-17.

37. **TANG. J.**, Macromoleculr MRI contrat Agents: structures, Properties and Applications., Progress in Polymer Science., 2010., Pp. 754.
38. **TSIPER. E.**, Polarization forces in water deduced from single molecule data., Phys. Rev., 2005., Vol. 94., Pp. 130-204.
39. **PARICAUD. P y OTROS.**, From dimer and condensed phases at extreme conditions:Accurate predictions of the properties of water by a Gaussian charge polarize model., J.Chem. Phys., 2005., Vol. 122., Pp. 244-511.
40. **PEBET. N.**, *Resonancia Nuclear MAGNÉTICA.*, Uruguay-Montevideo., XIII Seminario de Ing.Biomédica.Universidad de Uruguay., 2001.
41. **PHILIP.J y OTROS.**, *Picosecond Dynamics of Simple Monosaccharides As Probed* *Picosecond Dynamics of Simple Monosaccharides As Probed.*, Estados Unidos-Washington., Department of Chemistry-University of Wisconsin., 1993., Vol. 115., Pp.9196-9201.
42. **PRICE, W.S. y H.ARATA.**, *Gradiente de pulso en RMN.*, J.Phys.Chem., 1999., Vol. 103., Pp. 448.

43. **POLLET. R, y DOMINIK. M.,** *Water Exchange of a ProHance MRI Contrast Agent: Isomer-Dependent Free-Energy Landscapes and Mechanisms.*, India- Nueva Delhi., Inorganic Chemistry., 2011., Vol. 50., Pp. 10-25
44. **POLLET. R, Y OTROS.,** *Ab initio simulation of a gadolinium-based magnetic resonance imaging contrast agent in aqueous solution.,* España-Germany., American Institute of Physics., 2007., Vol. 126.
45. **QUEROL. M y OTROS .,** *DTPA-bisamide-based MR sensor agents for peroxidase imaging.,* S.l., 2005., Vol. 7., Pp. 1719-1722.
46. **RANJAN. D, y TRIPATHI. A.,** *"Computational Nanotechnology: an Assessment".*, Estados Unidos-Washington., Journal of Nanomaterials and Biostructures ., 2009., Pp. 233-241.
47. **SANZ. E y OTROS.,** *Tracing the phase diagram of the four-site water potential(TIP4P).*, J.Chem. Phys., 2004., Pp. 1165-1166.
48. **SCHUHLE. D y OTROS.,** *Densely packed Gd(III)-chelates with fast water exchange on a calixarene scaffold: a potential MRI contrast agent.,* Estados Unidos -Dalton., Journal- The Royal Society of Chemistry., 2009., Vol. 29., Pp.185-191.

49. **SHIMIZU. T, OHTO. U, y OTROS.,** *Crystal structure of human beta- galactosidase in complex with galactoside in complex galactose.,* Protein DATA bank - RCSB PDB, Journal: J.Biol,Chem., 2013., Vol. 3THC Structure Summary. 01.
50. **SPOEL.V y OTROS.,** *Coeficientes de auto difusión para TIP3P.,* J.Chem Phys., 1998., Vol. 108., Pp 10-22.
51. **VEGA.C y OTROS.,** *The melting temperature of the most common models of water.,* J.Chem.Phys., 2005., Vol. 122., Pp. 114-507.
52. **WOODS. M, y OTROS.,** *Towards the rational design of MRI contrast agents: a practical approach to the synthesis of gadolinium complexes that exhibit optimal water exchange.,* Estados Unidos-Texas., This journal - The royal society of chemistry., 2005., Pp. 3829-3837.
53. **FORERO,C.** *GUÍA DE PRÁCTICA CLÍNICA: PREVENCIÓN, DIAGNÓSTICO y MANEJO DE EVENTOS ADVERSOS A MEDIOS DE CONTRASTE INTRAVASCULARES.,* Colombia-Bogota ., Universidad Nacional de Colombia., Facultad de medicina., 2010., Pp 597-785.
54. *Reacciones adversas a medios de contraste radilógicos:criteios y conductas.* **Asociación Argentina de Alergia e Inmunología Clínica y**

Sociedad Argentina de Radiología. 3, Argentina-Buenos aires., 2001., Vol. 32.

55. **MANUAL DEL PROGRAMA LAMMPS.**, Software del programa Lammps., s.l., 2011., 1088 P.

56. **MANUAL DE ACCERELYS.**, Software del programa Accerelys., Estados Unidos-Washington., 2003., Pp.58-285

57. **PEREZ. L y MARTINEZ. P.**, *Espectrómetro de Resonancia Magnética Nuclear.*, España-Barcelona., Escola Técnica Superior d'Enginyeria de Telecomunicació de Barcelona., 2009

58. Campos de Fuerza

http://northstar-www.dartmouth.edu/doc/insightII/ffbs/2_Forcefields.html#563703.

Julio 25, 2013.

59. Campo de fuerza CVFF

<http://www.uoxray.uoregon.edu/local/manuals/biosym/discovery/General/Forcefields/CVFF.html>.

julio 30, 2013.

60. Dinámica molecular-equilibración

http://stark.udg.edu/~perico/docencia/curs_11_12/BIA_03_Equilibrado_MD.pdf
f.

9 de septiembre de 2013

61. Efecto Zeeman.

<http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbasees/quantum/zeeman.html>.

Julio 28, 2013

62. Monte carlo

<http://www.luventicus.org/laboratorio/MonteCarlo/index.html>.

Septiembre 12, 2013.

63. Modelos de Agua

http://xray.bmc.uu.se/~calle/md_phd/water_models.pdf.

Junio 19, 2013.

64. Propiedades fisico-quimicas del agua

<http://www.slideshare.net/frankespulpo/propiedades-fisico-quimicas-del-agua>.

18 de Abril de 2013

65. Principios físicos de la resonancia aplicando agentes de contraste

<http://gadolinio-radiografias.blogspot.com/p/principios-fisicos-de-la-resonancia.html>.

2 Agosto de 2013.

66. Principios físicos Resonancia Magnética

<http://www.fundacion-barcelo.com.ar/medicina/diagnostico%20por%20imagenes%20medicina/resonancia%20principios%20fisicos.pdf>.

28 de julio de 2013.

67. Resonancia Magnética Nuclear

<http://www.netdoctor.es/articulo/resonancia-magnetica-o-rmn/b>.

Septiembre 5, 2013.

68. Simulaciones mediante Dinámica Molecular

http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/publicaciones/ing_quimica/v08_n1/pdf/a05v8.pdf.

Septiembre 9, 2013.

ANEXOS:ANEXO 1: INPUT DE LA MINIMIZACION

```

units          real
atom_style     full

boundary       p p p
#lattice fcc 10
#region        box block 0 22 0 22 0 22

pair_style lj/charmm/coul/charmm 8.0 10.0 7.0 9.0
#pair_coeff 1 1 100.0 2.0 150.0 3.5
bond_style     harmonic
angle_style    harmonic
dihedral_style harmonic
improper_style cvff

neighbor       0.5 bin
neighbor_modify delay 0 every 1 check yes

read_data      cargas_CO.data

dump          1 all atom 1 dump.mini_q_CO
dump          2 all dcd 1 dump.mini_q_CO.dcd
dump          3 all custom 1 dump.mini_q_CO_pe q

#velocity      all create 298.0 5
#fix 1 viscous
#pair_style soft 2.5
#pair_coeff * * 10.0
#pair_coeff 1 1 10.0 3.0

compute       1 all pe

thermo        100
thermo_style   custom step temp pe etotal press vol
thermo_modify format float %15.14g

restart 1000 restart.*.equil
#write_ restart poly.%.*

```

```
min_style sd
min_modify dmax 0.001
minimize      1.0e-4 1.0e-6 10000 1000000

#fix 1 all nvt temp 310.0 310.0 100.0
#variable t equal temp
#variable e equal pe

#run 1000 every 100 "print 'temperature = $t' " " print 'Final potential energy = $e'"
```

ANEXO 2: CARGAS EN NAMD

Condensed to atoms (all electrons):

Mulliken atomic charges

1					
1	C	-0.123746	45	H	0.216708
2	C	-0.070429	46	H	0.209222
3	C	-0.154495	47	H	0.179259
4	C	-0.098322	48	H	0.181482
5	C	-0.120338	49	H	0.159280
6	C	-0.150150	50	H	0.185536
7	C	-0.115039	51	H	0.188547
8	C	-0.151401	52	H	0.203681
9	C	-0.169215	53	H	0.150156
10	C	0.399819	54	H	0.188082
11	C	-0.166442	55	H	0.198196
12	C	0.411356	56	H	0.211904
13	C	-0.201881	57	H	0.157618
14	C	0.391865	58	H	0.192128
15	C	-0.151417	59	H	0.203614
16	C	0.420563	60	H	0.131759
17	C	-0.138737	61	H	0.186938
18	C	-0.129578	62	H	0.212349
19	C	-0.020192	63	H	0.158339
20	C	0.033180	64	H	0.156052
21	C	-0.235144	65	H	0.176094
22	C	0.033506	66	H	0.172952
23	C	-0.041491	67	H	0.148782
24	N	-0.467033	68	O	-0.403043
25	N	-0.398030	69	H	0.315635
26	N	-0.529631	70	H	0.307147
27	N	-0.512227	71	Ca	1.2556
28	C	0.568163			
29	O	-0.359523			
30	O	-0.134965			
31	O	-0.359299			
32	O	-0.110228			
33	O	-0.288349			
34	O	-0.120926			
35	O	-0.368763			
36	O	-0.085770			
37	O	-0.078739			
38	O	-0.089556			
39	H	0.203113			
40	H	0.183970			
41	H	0.225274			
42	H	0.184220			
43	H	0.212108			
44	H	0.229898			

Sum of Mulliken atomic charges = 3.00000

Mulliken charges with hydrogens summed into heavy atoms:

1
1 C 0.055513
2 C 0.270333
3 C 0.219588
4 C 0.255516
5 C 0.265940
6 C 0.219372
7 C 0.280702
8 C 0.167296
9 C 0.217868
10 C 0.399819
11 C 0.243052
12 C 0.411356
13 C 0.240125
14 C 0.391865
15 C 0.274512
16 C 0.420563
17 C 0.231951
18 C -0.129578
19 C 0.135860
20 C 0.209274
21 C -0.235144
22 C 0.206458
23 C 0.107291
24 N -0.467033
25 N -0.398030
26 N -0.529631
27 N -0.512227
28 C 0.568163
29 O -0.359523
30 O -0.134965
31 O -0.359299
32 O -0.110228
33 O -0.288349
34 O -0.120926
35 O -0.368763
36 O -0.085770

37 O -0.078739
38 O -0.089556
68 O 0.219738
71 Ca 1.2556

ANEXO 3: INPUT D1

```

units          real
atom_style     full

boundary       p p p
#lattice fcc 10
#region        box block 0 22 0 22 0 22

pair_style     lj/charmm/coul/long 8.0 10.0 10.0
#pair_coeff 1 1 100.0 2.0 150.0 3.5
bond_style     harmonic
angle_style    harmonic
dihedral_style harmonic
improper_style cvff
kspace_style   pppm 0.0001

neighbor       0.5 bin
neigh_modify   delay 0 every 1 check yes

read_data      carga_CO.data

dump           1 all atom 1000 dump.dina1_CO
dump           2 all dcd 1000 dump.dina1_CO.dcd
dump           3 all custom 1000 dump.dina_CO_pe q

#velocity      all create 298.0 5
#fix 1 viscous
#pair_style    soft 2.5
#pair_coeff * * 10.0
#pair_coeff 1 1 10.0 3.0

compute        1 all pe

thermo         100
thermo_style   custom step temp pe etotal press vol
thermo_modify  format float %15.14g

restart 5000 restart.*.equil
#write_ restart poly.%.*

#min_style     sd
#min_modify    dmax 0.001

```

```

#minimize    1.0e-4 1.0e-6 10000 1000000

group  fijo id 5
fix    1 fijo move linear 0.0 0.0 0.0 units box

fix    2 all nvt temp 310.0 310.0 100.0 tchain 1
variable t equal temp
variable e equal pe

run 600000 every 1000 "print 'temperature = $t'" " print 'Final potential energy = $e'"

```

ANEXO 4: INPUT D2

```

units        real
atom_style    full

boundary      p p p
#lattice fcc 10
#region       box block 0 22 0 22 0 22

pair_style    lj/charmm/coul/long 8.0 10.0 10.0
#pair_coeff 1 1 100.0 2.0 150.0 3.5
bond_style    harmonic
angle_style   harmonic
dihedral_style harmonic
improper_style cvff
kpace_style   ppm 0.0001

neighbor      0.5 bin
neighbor_modify delay 0 every 1 check yes

read_data     dina2_qCO.data

dump         1 all atom 3000 dump.dina2_qCO
dump         2 all dcd 2000 dump.dina2_qCO.dcd
dump         3 all custom 3000 dump.dina2_qCO_pe q

#velocity     all create 298.0 5
#fix 1 viscous
#pair_style   soft 2.5
#pair_coeff   * * 10.0
#pair_coeff   1 1 10.0 3.0

```

```

compute    1 all pe

thermo     300
thermo_style  custom step temp pe etotal press vol
thermo_modify  format float %15.14g

restart 20000 restart.equil
#write_ restart poly.%.*

#min_style sd
#min_modify  dmax 0.001
#minimize    1.0e-4 1.0e-6 10000 1000000

group  fijo id 5
fix    1 fijo move linear 0.0 0.0 0.0 units box

fix    2 all npt temp 310.0 310.0 100.0 tchain 1 iso 1.0 1.0 1000.0
variable t equal temp
variable e equal pe

run 3000000 every 3000 "print 'temperature = $t' " print 'Final potential energy = $e'"

```

ANEXO 5: INPUT D3

```

units      real
atom_style full

boundary   p p p
#lattice fcc 10
#region    box block 0 22 0 22 0 22

pair_style lj/charmm/coul/long 8.0 10.0 10.0
#pair_coeff 1 1 100.0 2.0 150.0 3.5
bond_style harmonic
angle_style harmonic
dihedral_style harmonic
improper_style cvff
kspace_style pppm 0.0001

neighbor   0.5 bin

```

```
neigh_modify delay 0 every 1 check yes

read_data      dina3_q.data

dump          1 all atom 5000 dump.dina3_qCO
dump          2 all dcd 5000 dump.dina3_qCO.dcd
dump          3 all custom 5000 dump.dina3_qCO_pe q

#velocity      all create 298.0 5
#fix 1 viscous
#pair_style soft 2.5
#pair_coeff * * 10.0
#pair_coeff 1 1 10.0 3.0

compute       1 all pe

thermo        1000
thermo_style  custom step temp pe etotal press vol
thermo_modify format float %15.14g

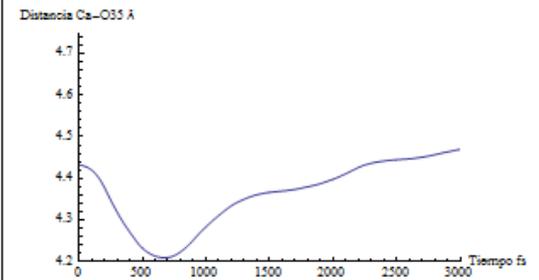
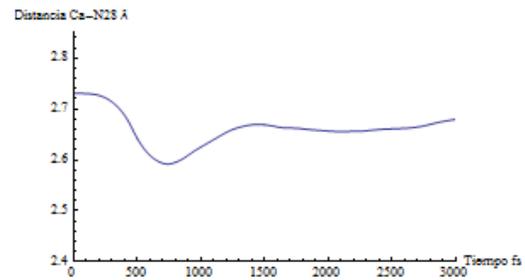
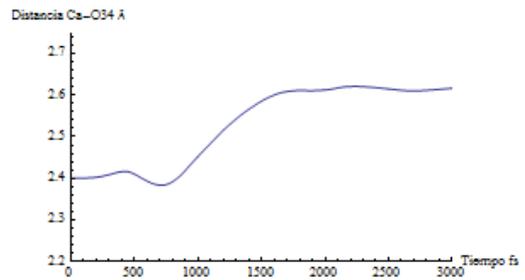
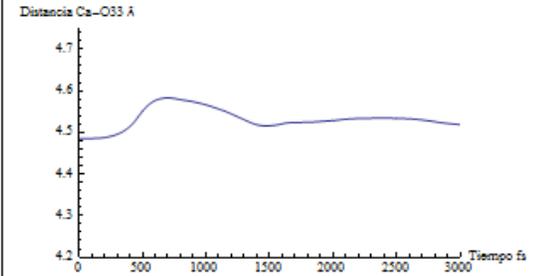
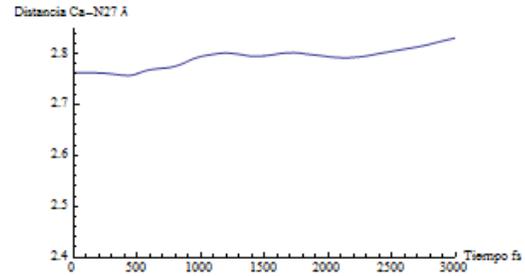
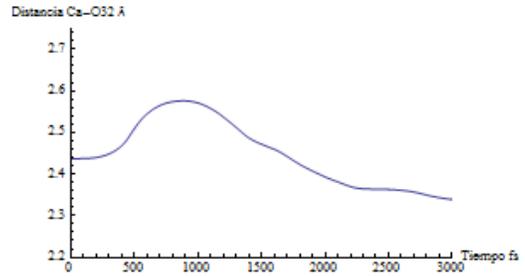
restart 20000 restart.equil
#write_ restart poly.%.*

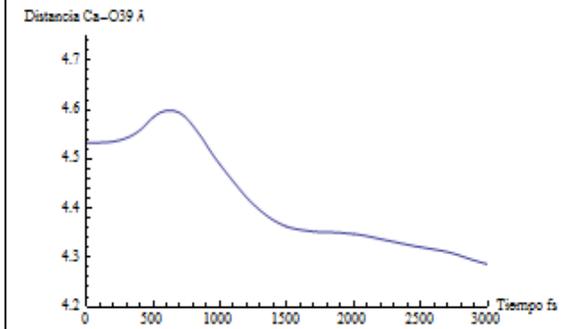
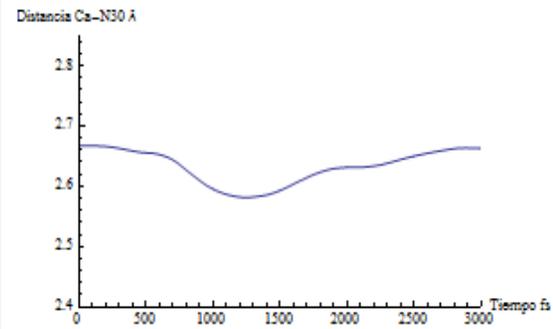
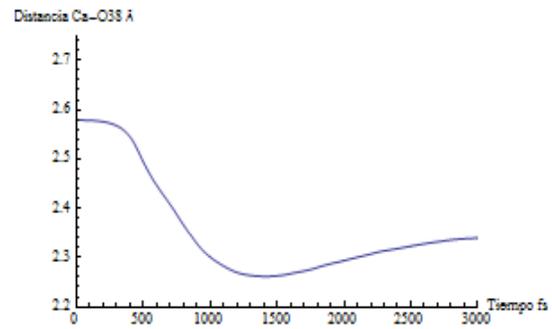
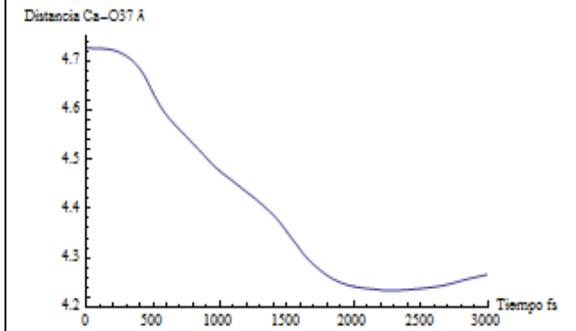
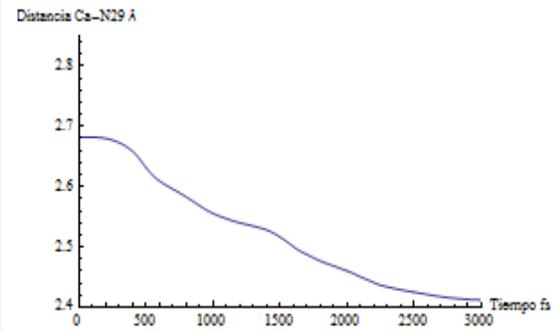
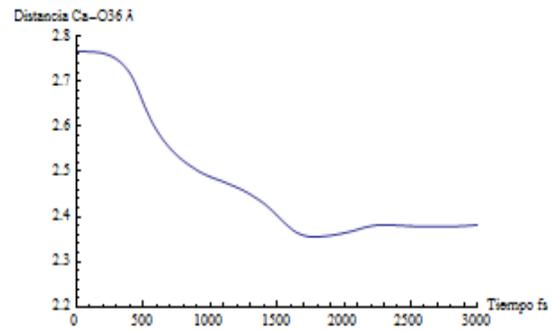
#min_style sd
#min_modify dmax 0.001
#minimize     1.0e-4 1.0e-6 10000 1000000

group fijo id 5
fix 1 fijo move linear 0.0 0.0 0.0 units box

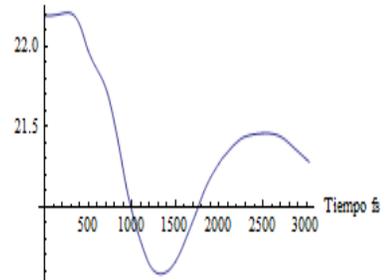
fix 2 all nvt temp 310.0 310.0 100.0 tchain 1
variable t equal temp
variable e equal pe

run 60000000 every 10000 "print 'temperature = $t'" " print 'Final potential energy = $e'"
```

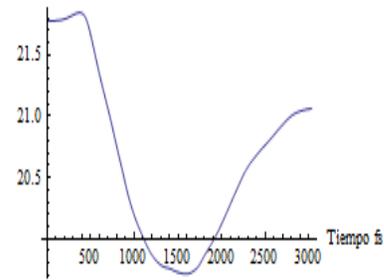
ANEXO 6: ANALISIS TOPOLOGICO DE M



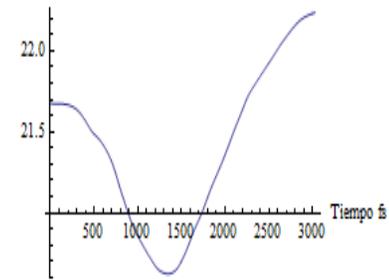
Angulo N27-Ca-C4 °



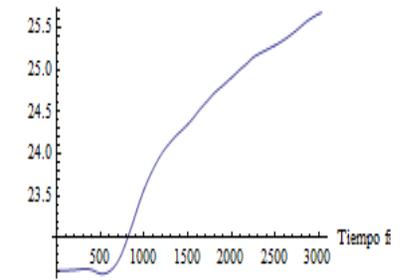
Angulo N28-Ca-C5 °



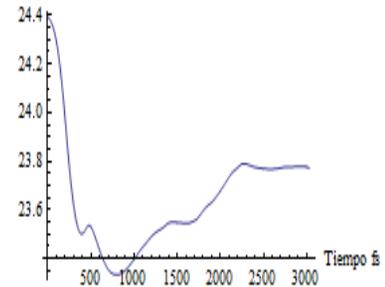
Angulo N29-Ca-C7 °



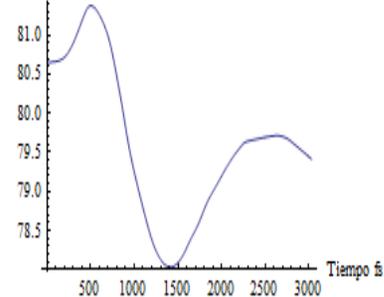
Angulo N30-Ca-C9 °



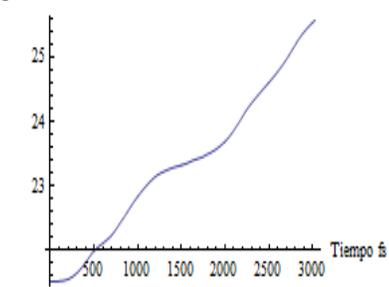
Angulo N27-Ca-C11 °



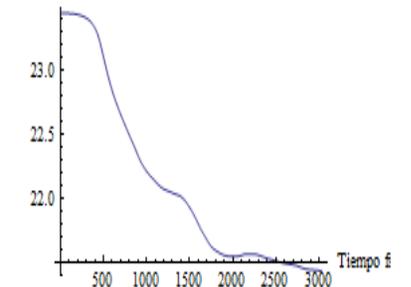
Angulo N28-Ca-C6 °



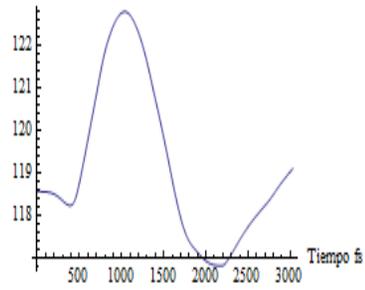
Angulo N29-Ca-C8 °



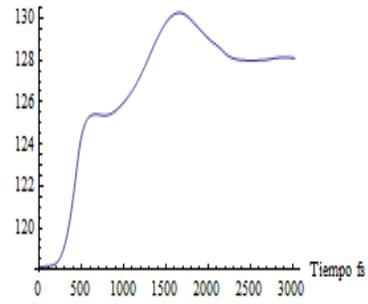
Angulo N30-Ca-C10 °



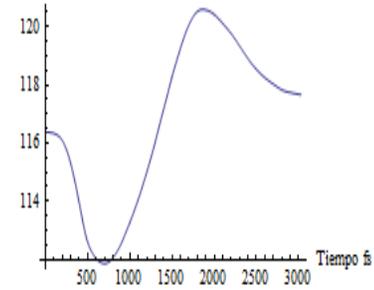
Angulo C12-C13-O32 °



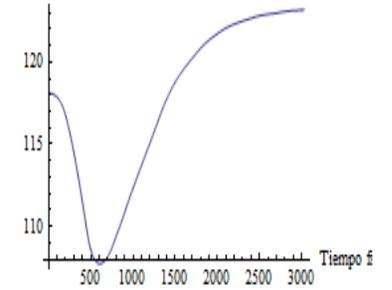
Angulo C14-C15-O34 °



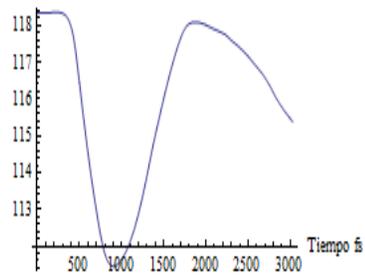
Angulo C16-C17-O36 °



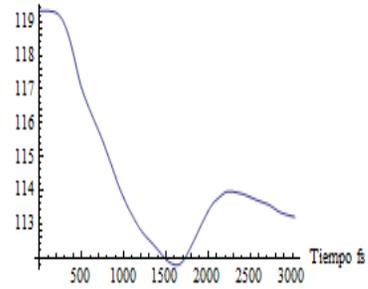
Angulo C18-C19-O38 °



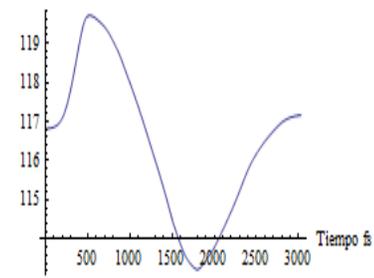
Angulo C12-C13-O33 °



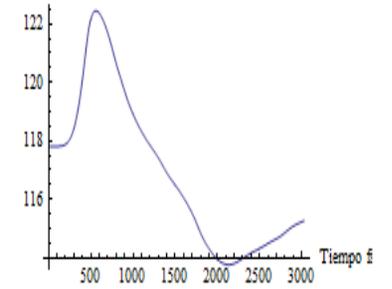
Angulo C14-C15-O35 °

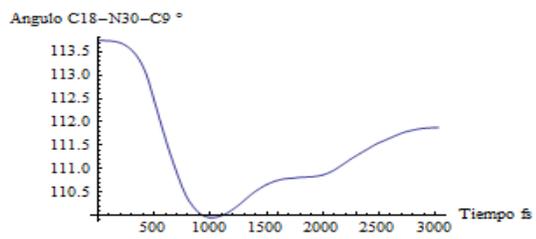
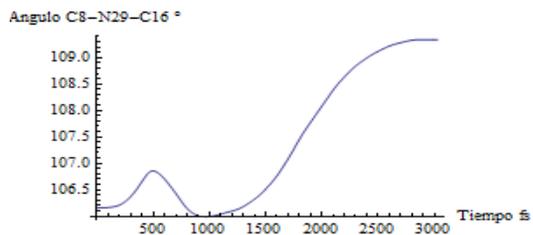
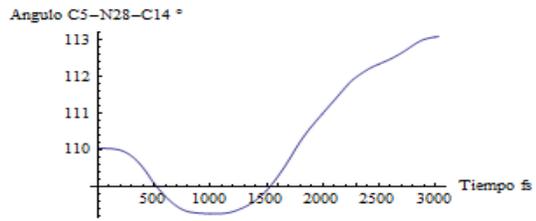
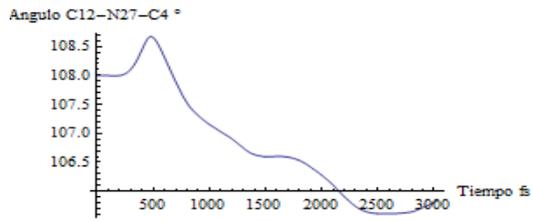


Angulo C16-C17-O37 °

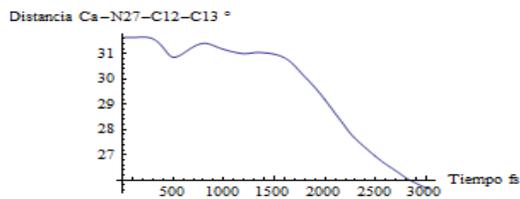
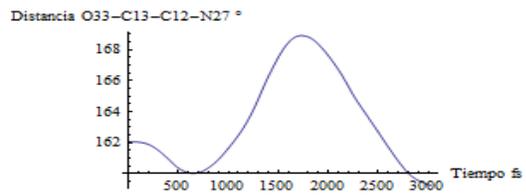
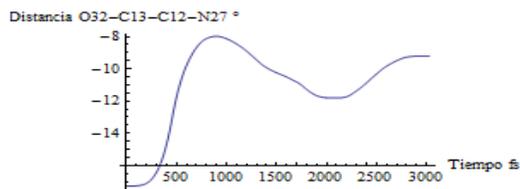


Angulo C18-C19-O39 °

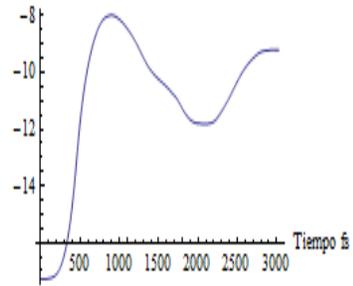




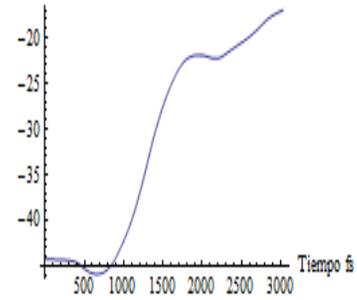
Diedro



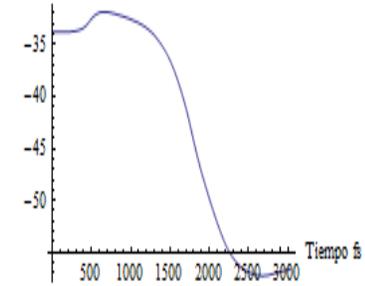
Distancia O32-C13-C12-N27 °



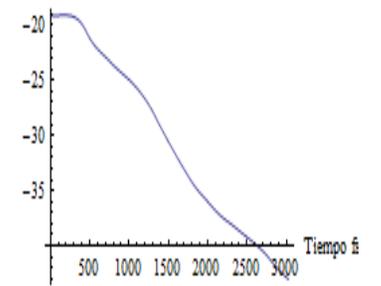
Distancia O34-C15-C14-N28 °



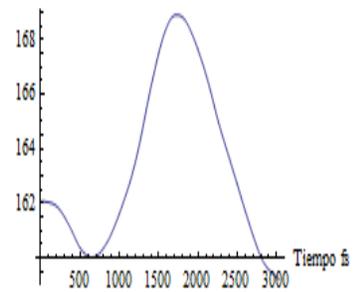
Distancia O36-C17-C16-N29 °



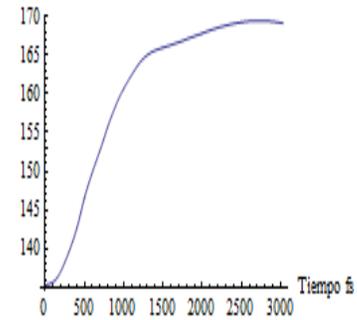
Distancia O38-C19-C18-N30 °



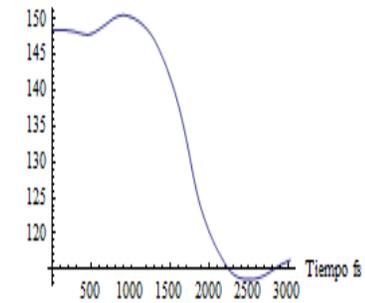
Distancia O33-C13-C12-N27 °



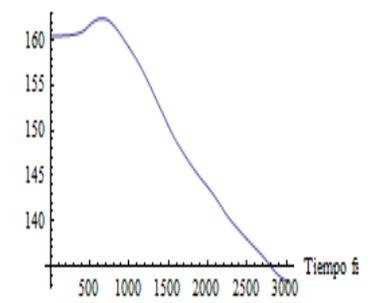
Distancia O35-C15-C14-N28 °



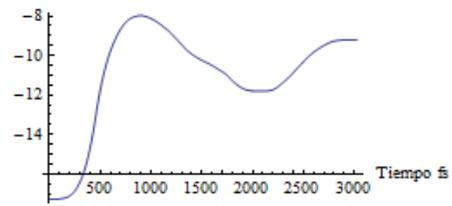
Distancia O37-C17-C16-N29 °



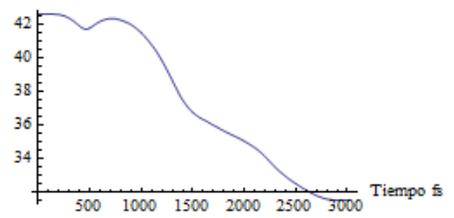
Distancia O39-C19-C18-N30 °



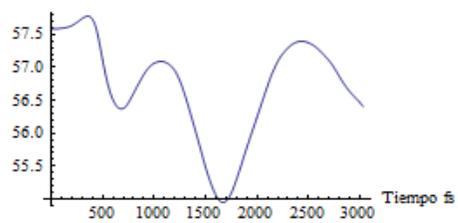
Distancia O32-C13-C12-N27 °



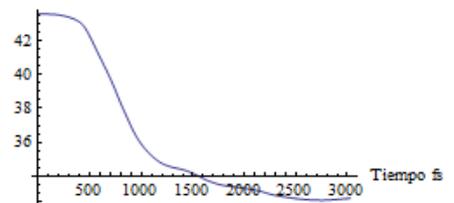
Distancia Ca-N28-C14-C15 °



Distancia Ca-N29-C16-C17 °

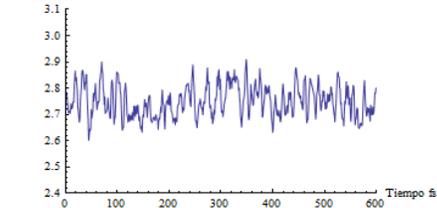


Distancia Ca-N30-C18-C19 °

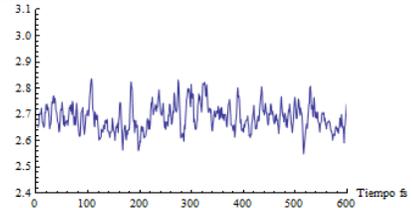


ANEXO 7: ANALISIS TOPOLOGICO DE D1

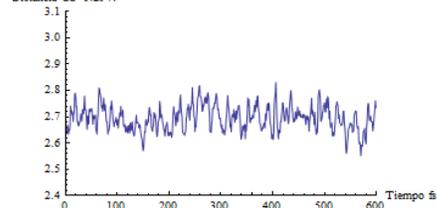
Distancia Ca-N27 A



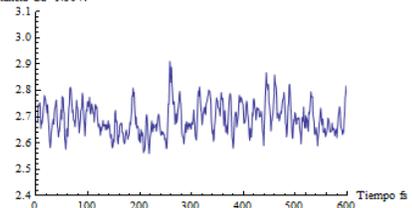
Distancia Ca-N28 A

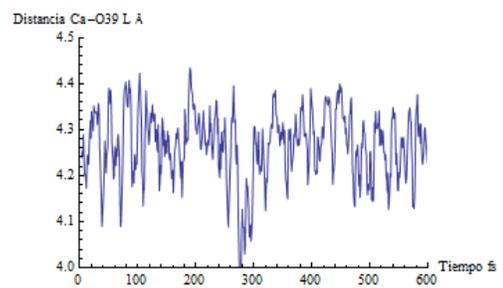
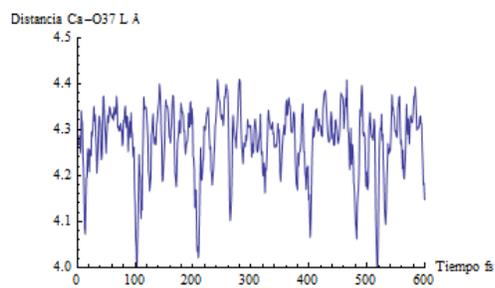
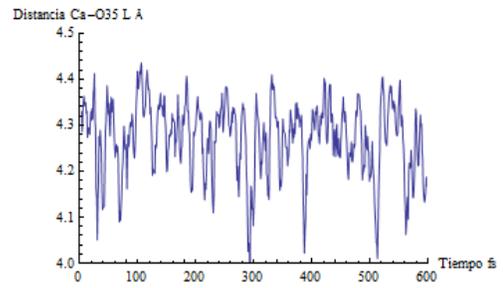
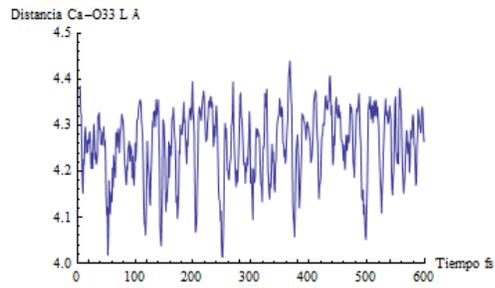
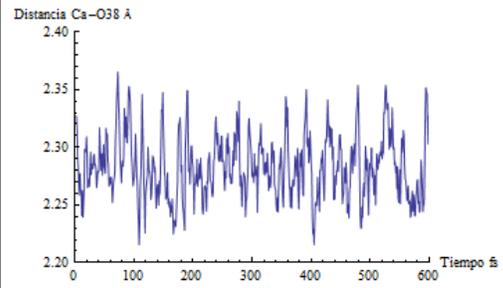
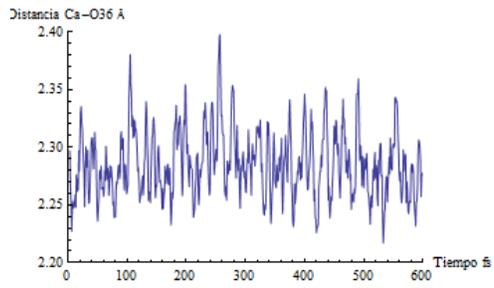
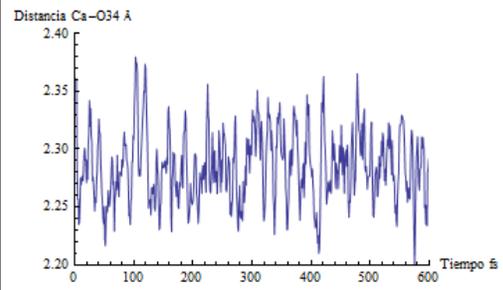
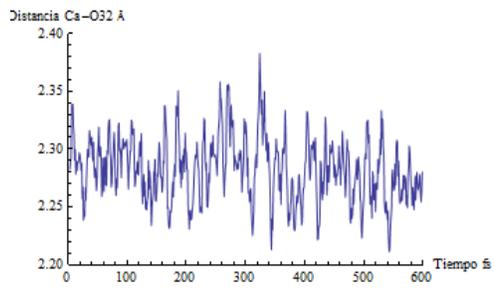


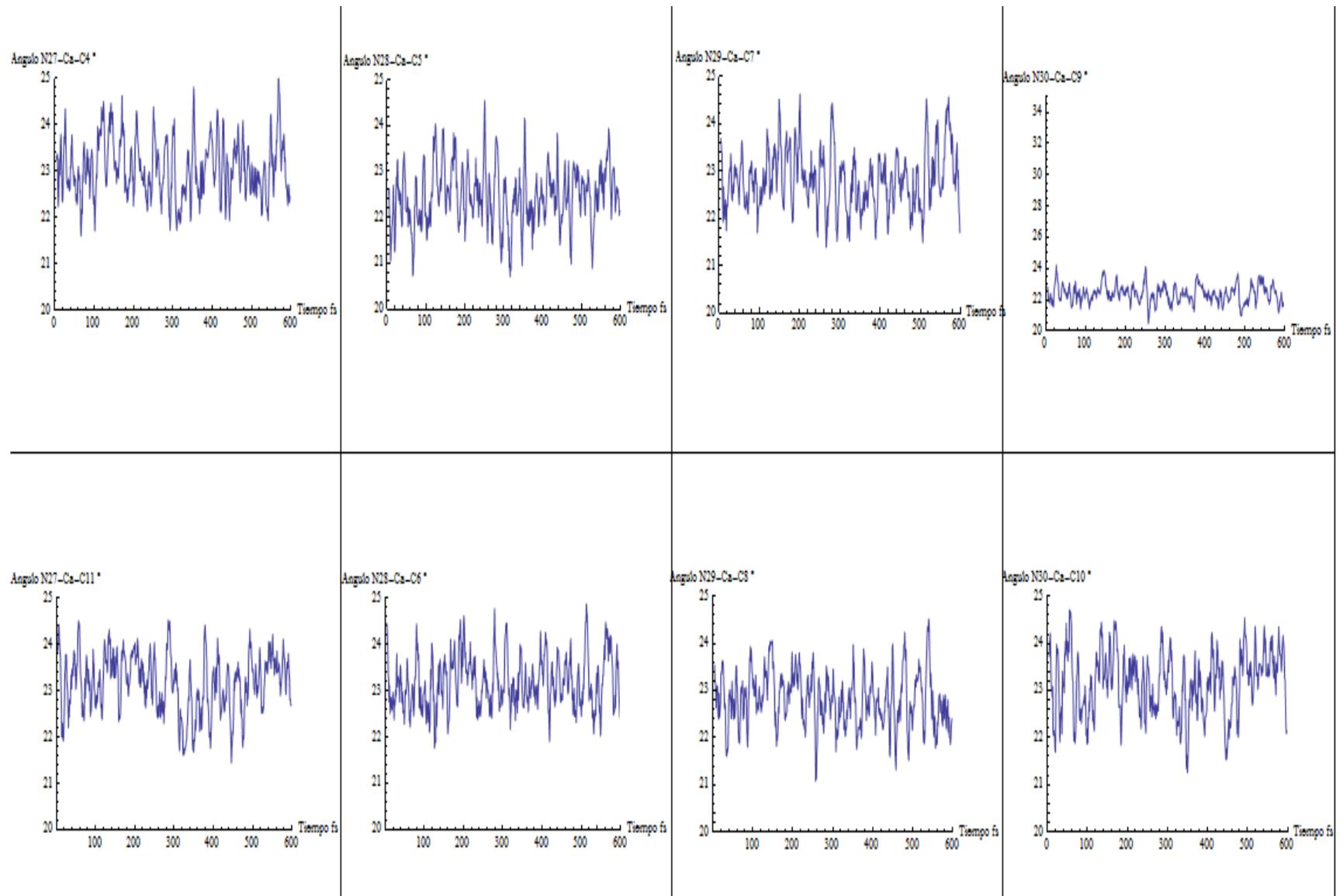
Distancia Ca-N29 A

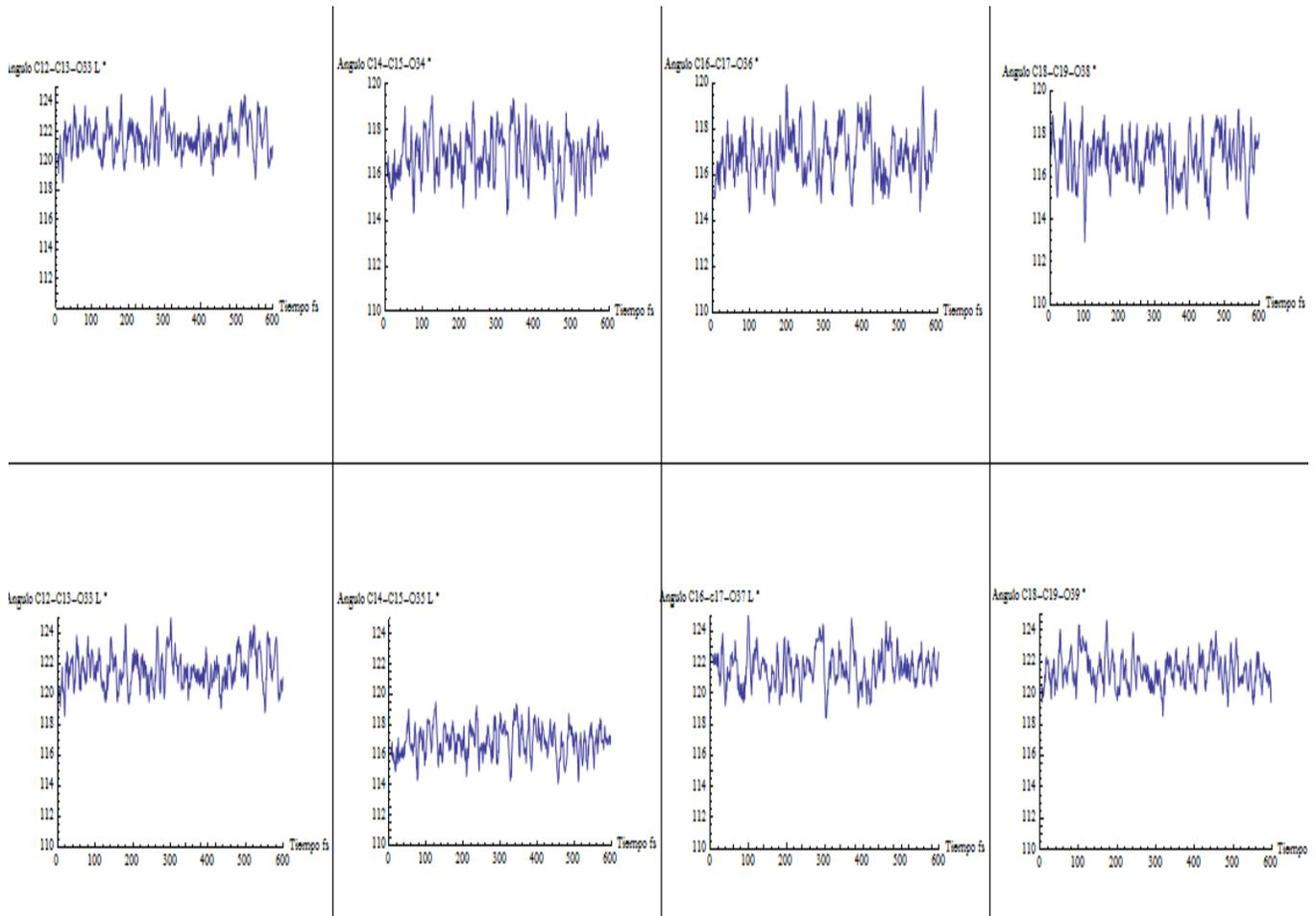
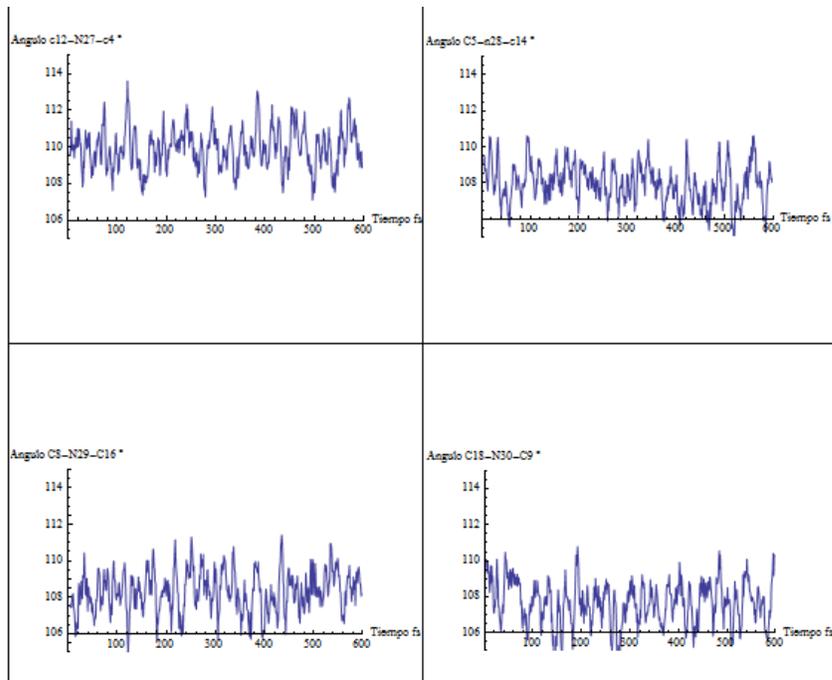


Distancia Ca-N30 A

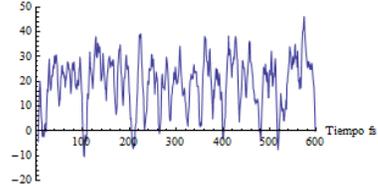




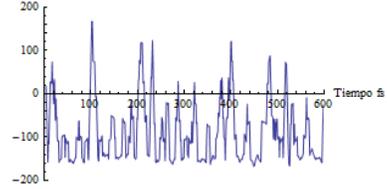




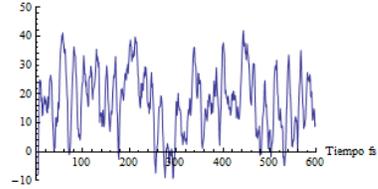
A.dihedro O36-C17-C16-N29 °



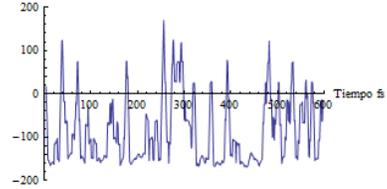
A.dihedro O37-C17-C16-N29 °



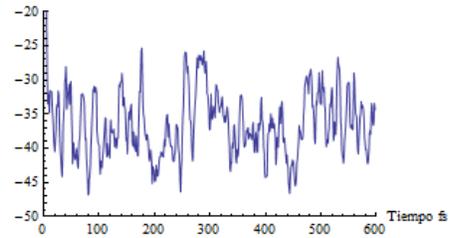
A.dihedro O38-C19-C18-N30 °



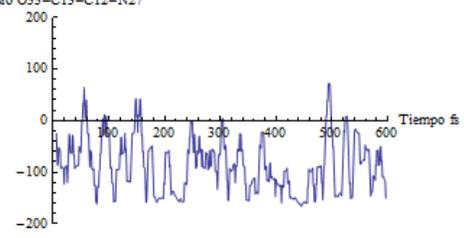
A.dihedro O39-C19-C18-N30 °



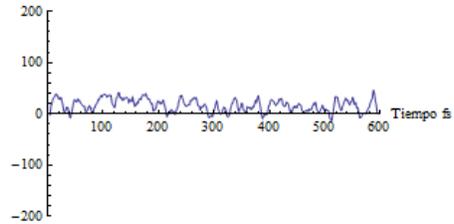
A.dihedro O32-C13-C12-N27 °



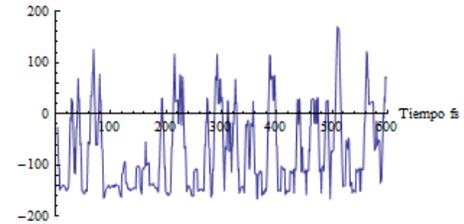
A.dihedro O33-C13-C12-N27 °

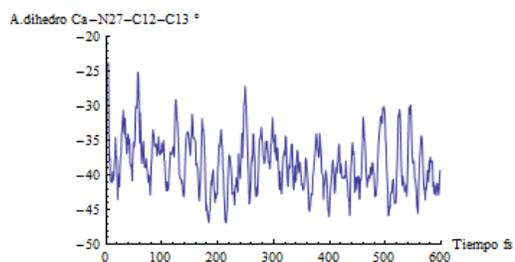
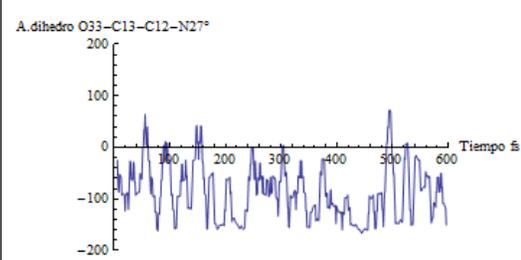
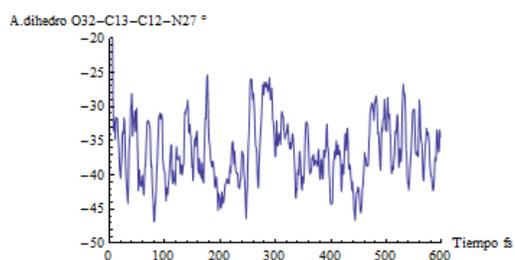
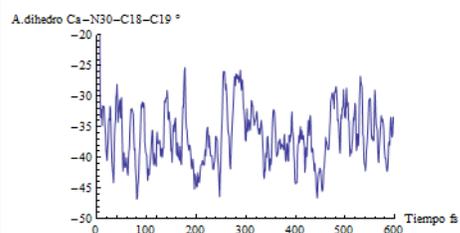
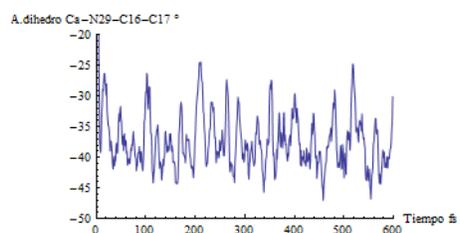
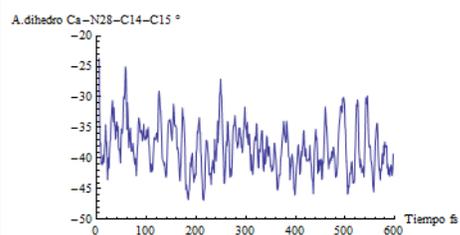
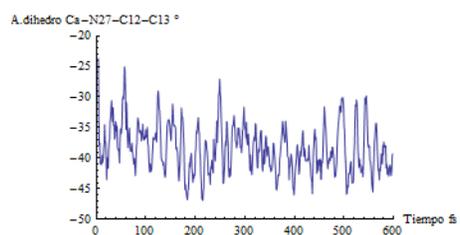


A.dihedro O34-C15-C14-N28 °

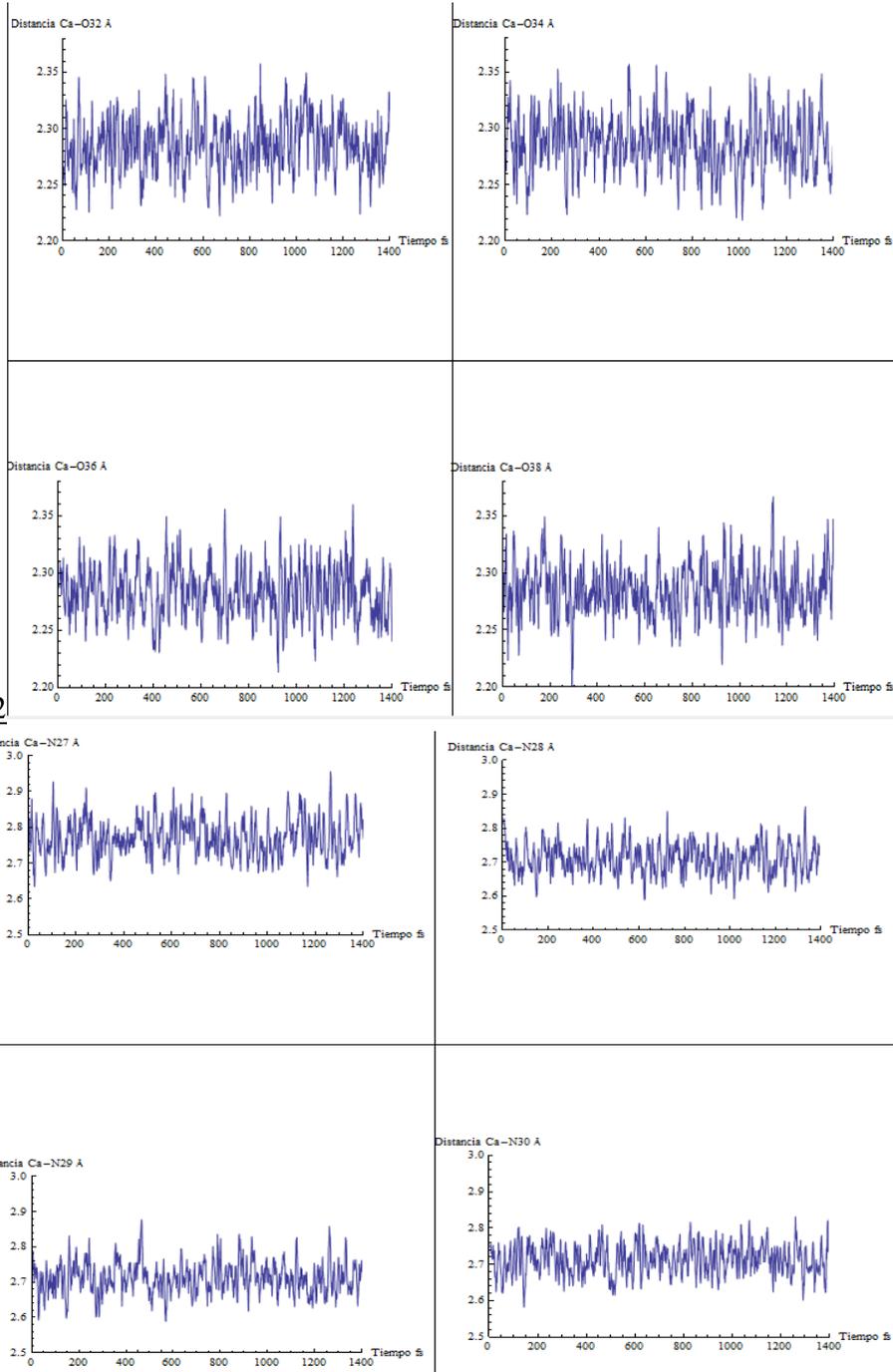


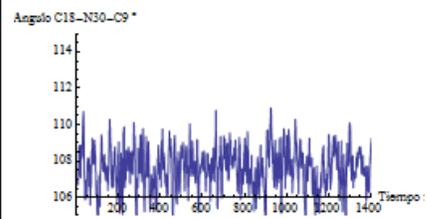
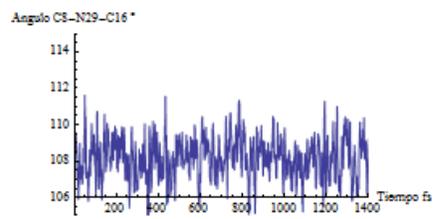
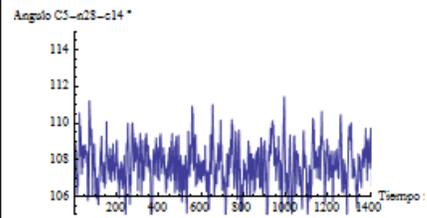
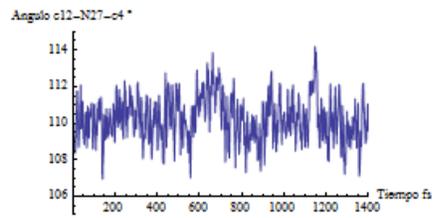
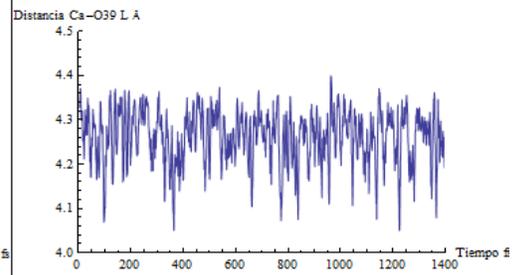
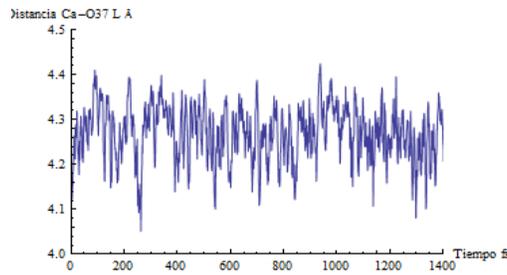
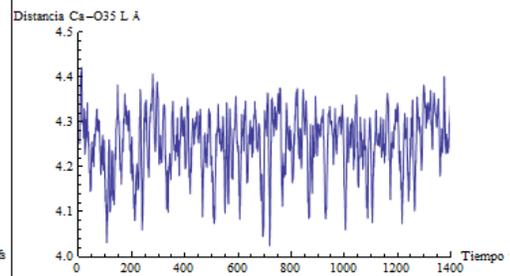
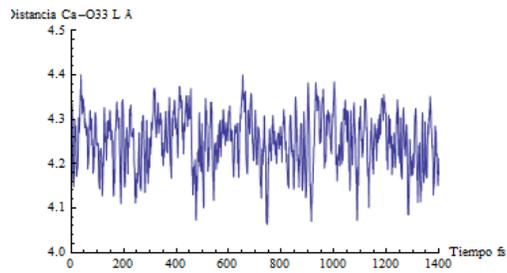
A.dihedro O35-C15-C14-N28 °

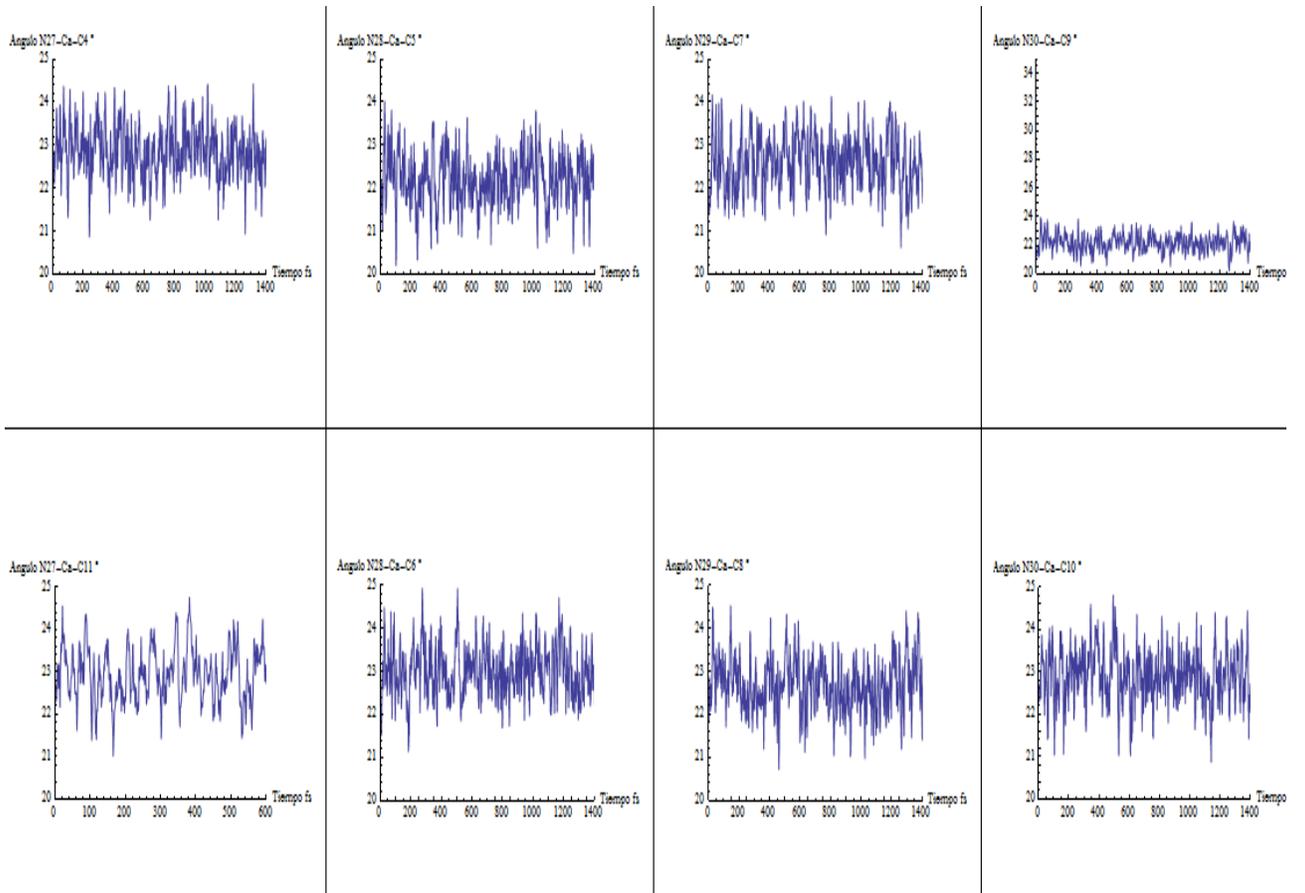


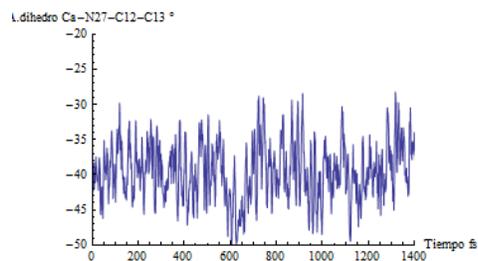
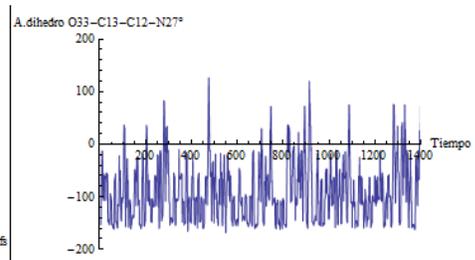
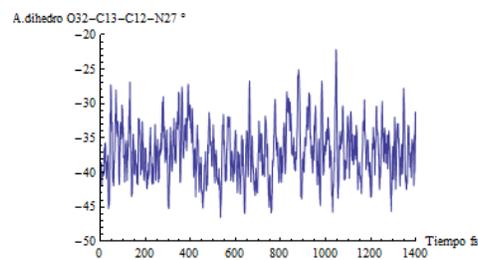
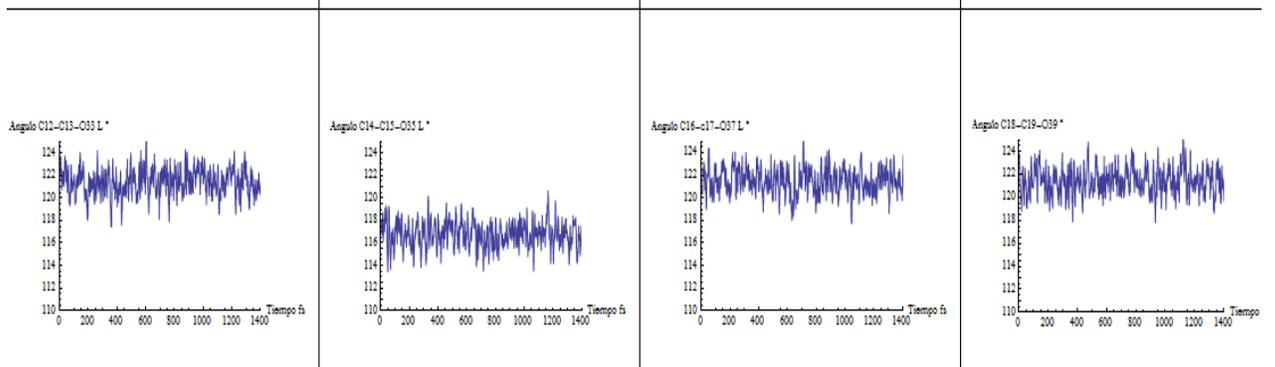
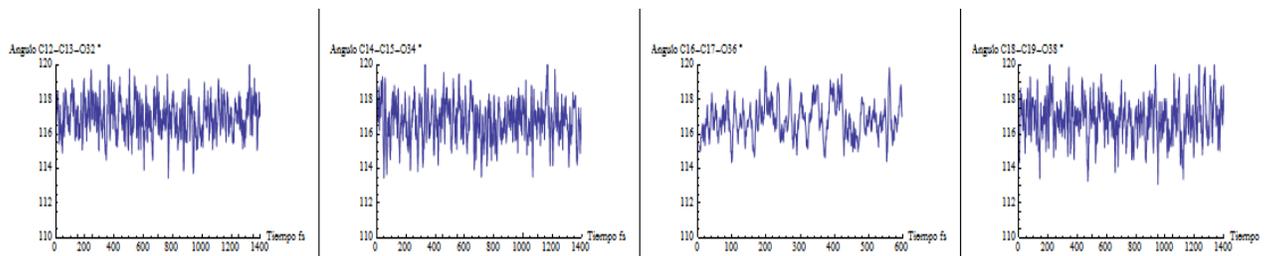


ANEXO 8: ANALISIS TOPOLOGICO DE

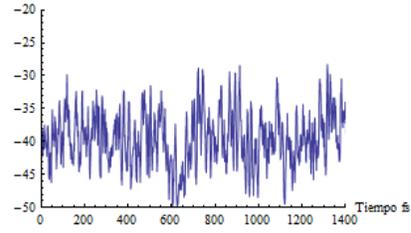




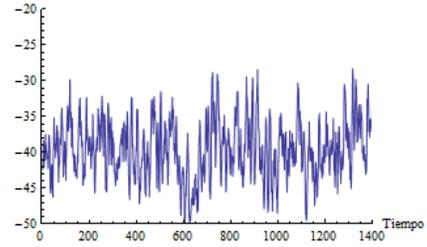




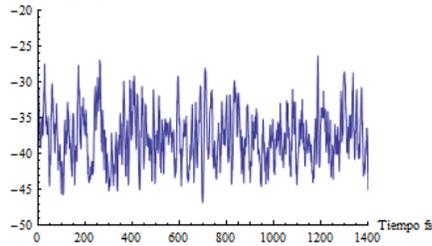
A. dihedro Ca-N27-C12-C13 °



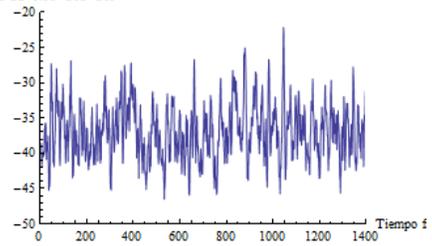
A. dihedro Ca-N28-C14-C15 °



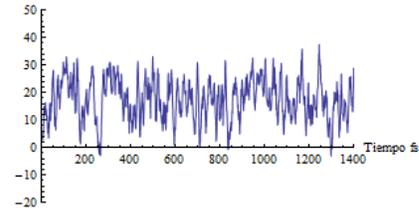
. dihedro Ca-N29-C16-C17 °



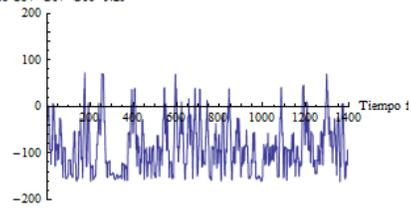
A. dihedro Ca-N30-C18-C19 °



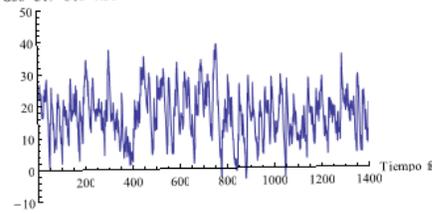
A. dihedro O36-C17-C16-N29 °



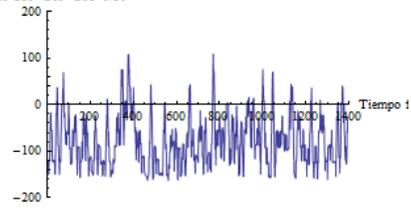
A. dihedro O37-C17-C16-N29 °

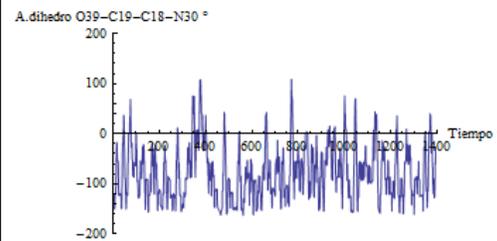
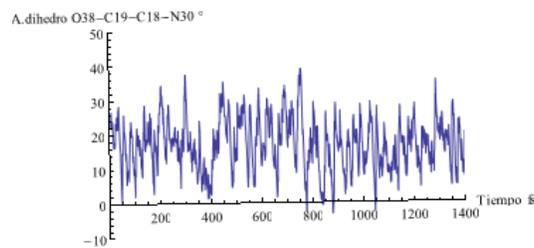
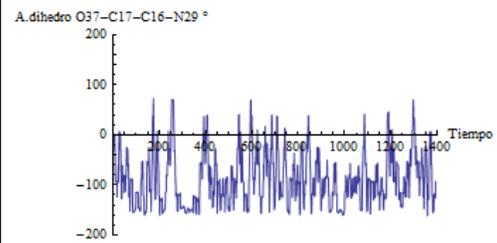
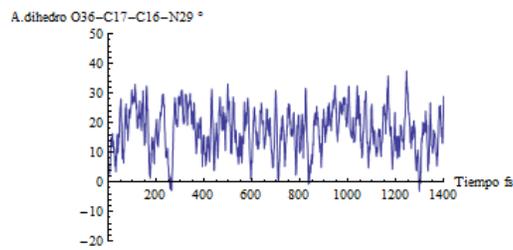
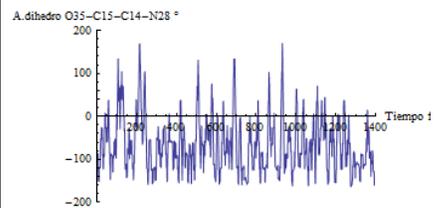
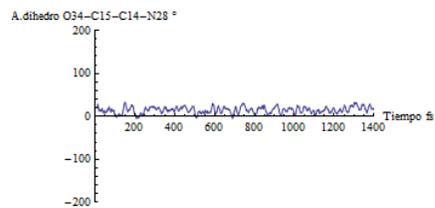
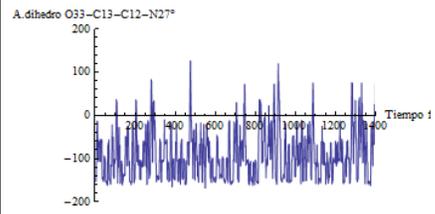
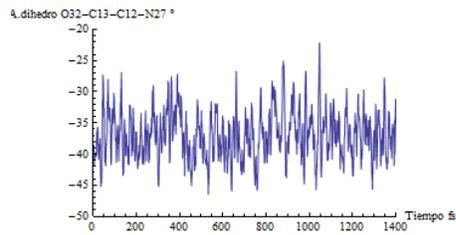


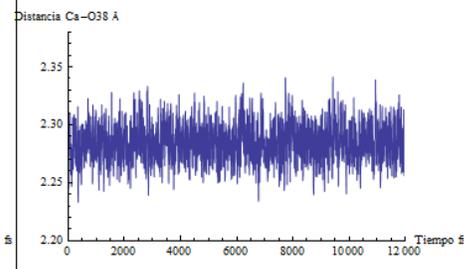
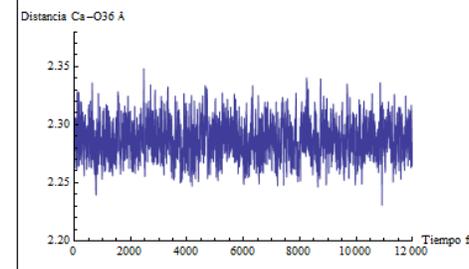
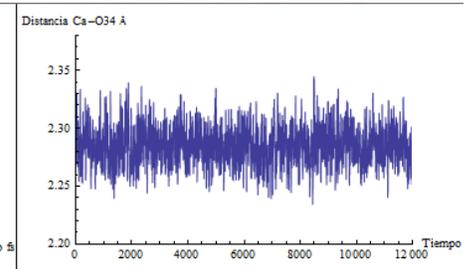
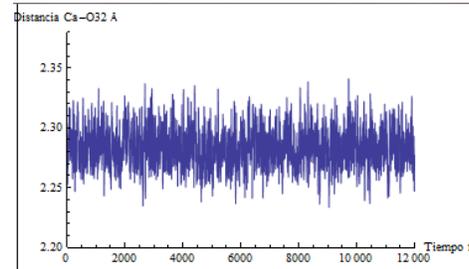
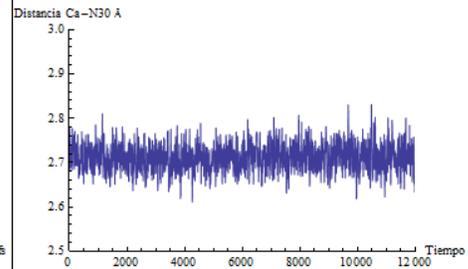
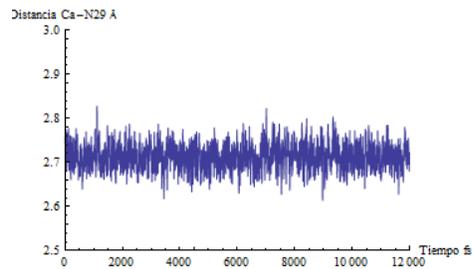
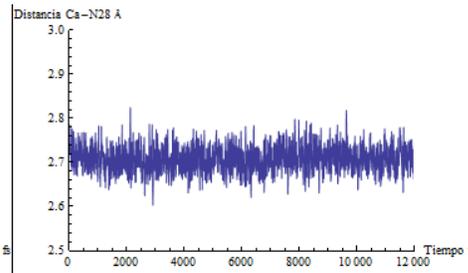
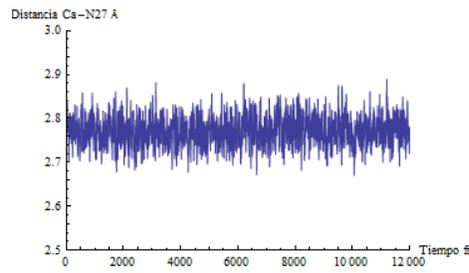
A. dihedro O38-C19-C18-N30 °

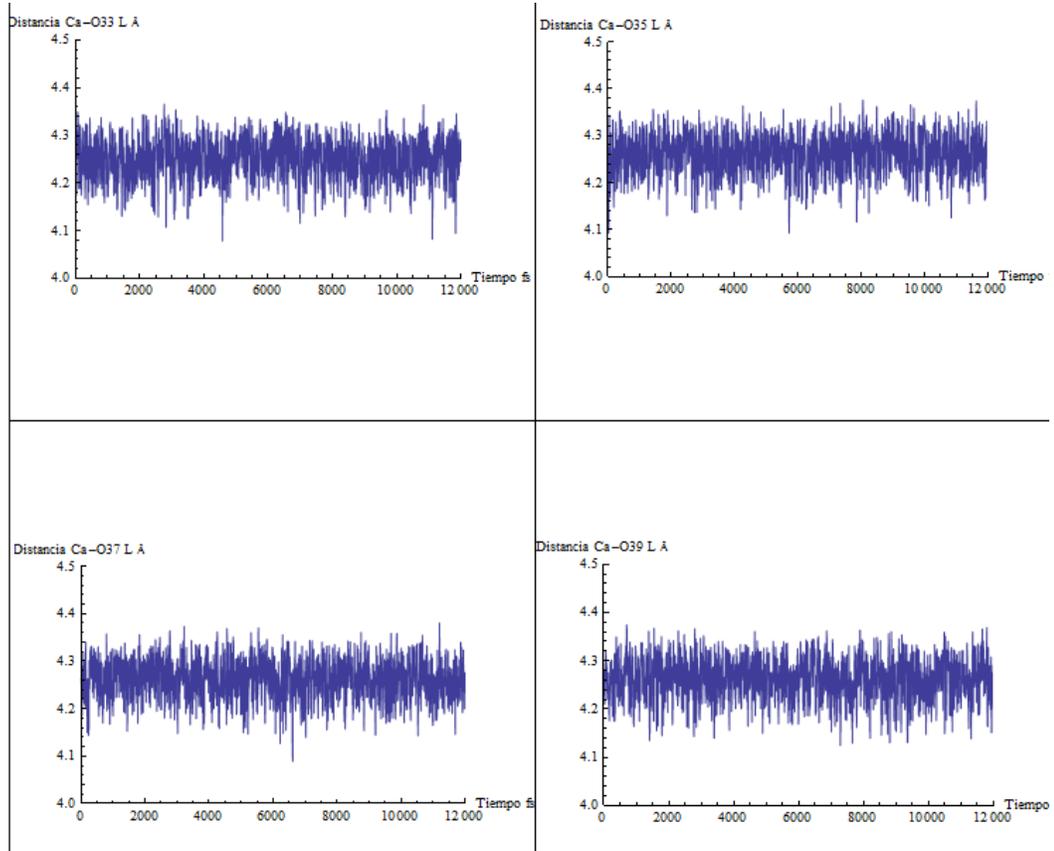


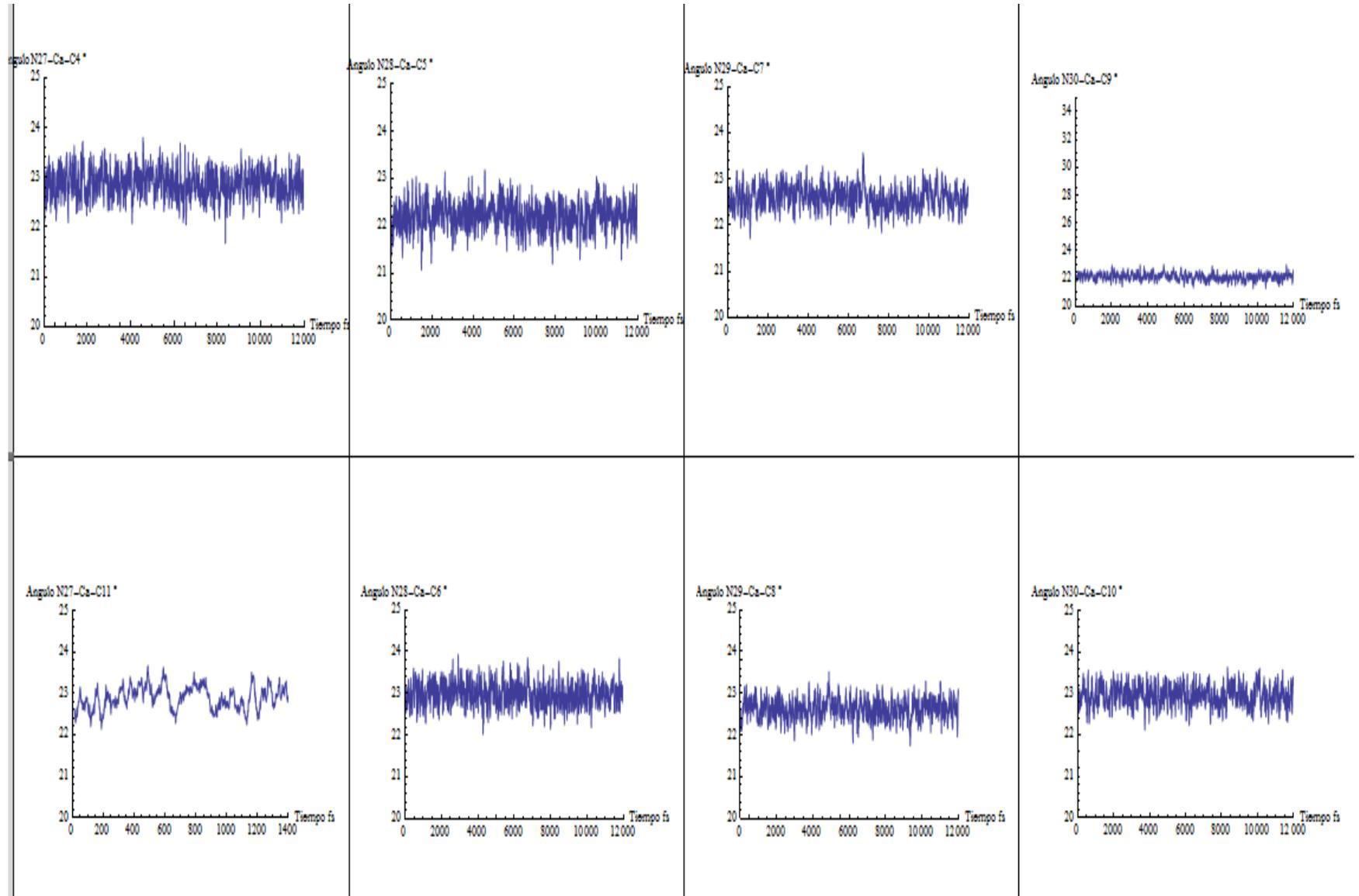
A. dihedro O39-C19-C18-N30 °



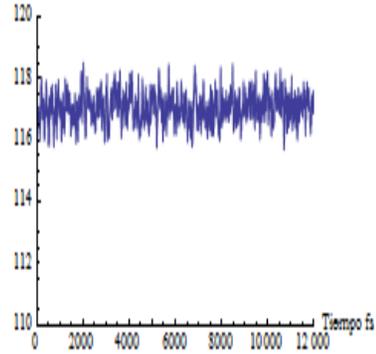


ANEXO 9: ANALISIS TOPOLOGICO DE D3

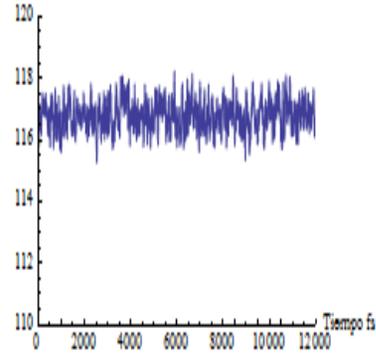




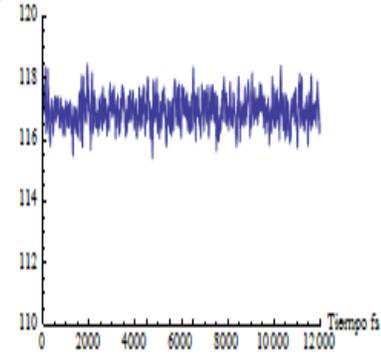
Angulo C12-C13-O32 *



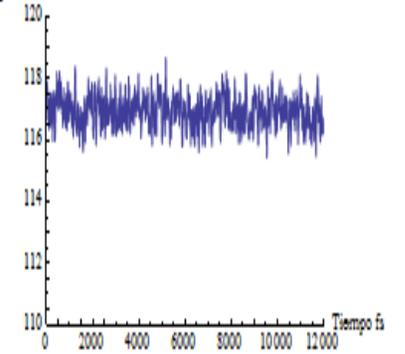
Angulo C14-C15-O34 *



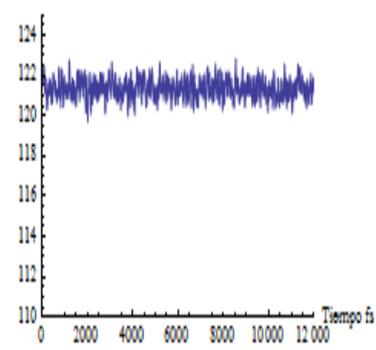
Angulo C16-C17-O36 *



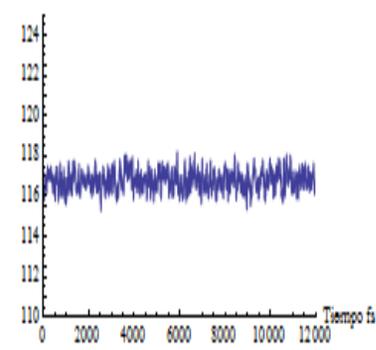
Angulo C18-C19-O38 *



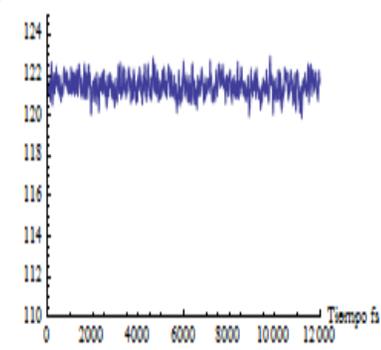
Angulo C12-C13-O33 L *



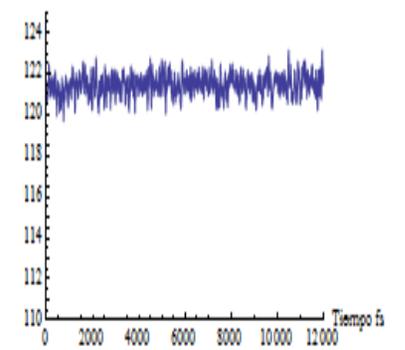
Angulo C14-C15-O35 L *



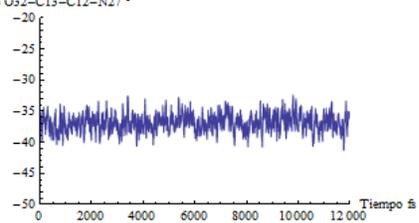
Angulo C16-C17-O37 L *



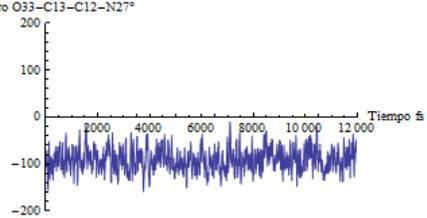
Angulo C18-C19-O39 *



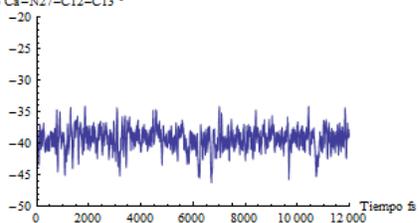
A.dihedro O32-C13-C12-N27 °



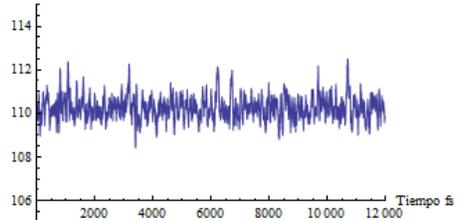
A.dihedro O33-C13-C12-N27°



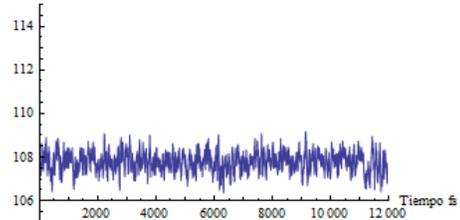
A.dihedro Ca-N27-C12-C13 °



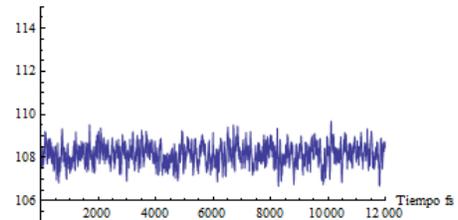
Angulo c12-N27-c4 °



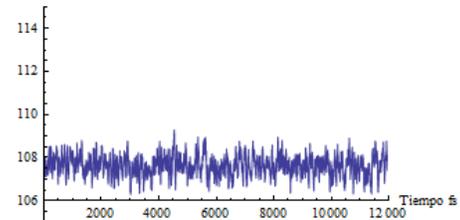
Angulo C5-n28-c14 °



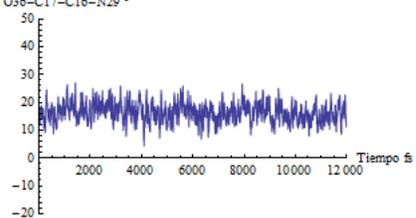
Angulo C8-N29-C16 °



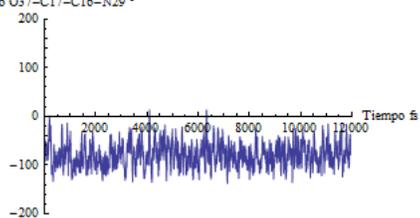
Angulo C18-N30-C9 °



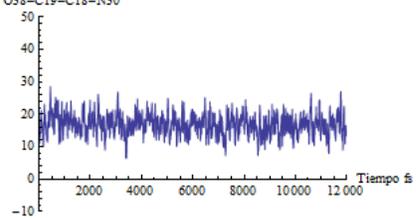
A.dihedro O36-C17-C16-N29 °



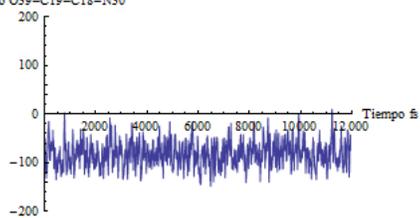
A.dihedro O37-C17-C16-N29 °



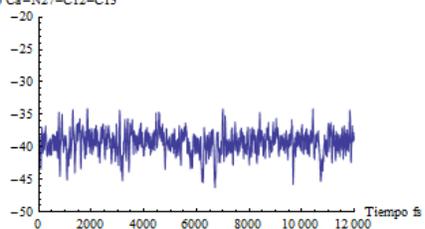
A.dihedro O38-C19-C18-N30 °



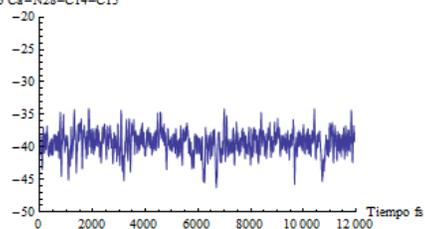
A.dihedro O39-C19-C18-N30 °



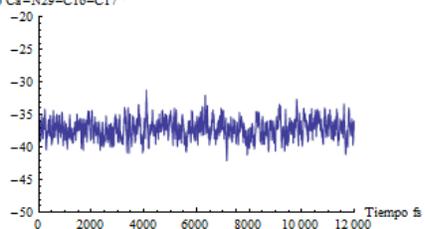
A.dihedro Ca-N27-C12-C13 °



A.dihedro Ca-N28-C14-C15 °



A.dihedro Ca-N29-C16-C17 °



A.dihedro Ca-N30-C18-C19 °

