

DOI: 10.24275/uama.6738.8772

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD AZCAPOTZALCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

**Propiedades de transporte de co-solutos en
hidrogeles termosensibles**

TESIS

Para obtener el grado de Doctor en Ciencias e Ingeniería
de Materiales

Presenta:

Héctor Allan
PÉREZ-RAMÍREZ

Asesores:

Dr. Gerardo ODRIOZOLA

Dr. Arturo MONCHO

abril, 2022

[...] El gobernador de Como-Diablos-Se-Llame [ese lugar] quiere celebrar una pequeña fiesta, y que pensaba invitar al cuñado de su padre, el suegro de su hermano, al hermano de su suegro, y al padre de su cuñado: y nosotros tenemos que averiguar cuántos invitados habrá.

Hubo una pausa expectante.

—¿Cómo de grande dijo que sería el pudín?—preguntó Balbus por fin—. Hay que tomar el volumen cúbico, dividirlo por el volumen cúbico de lo que cada individuo podrá comer, y el cociente.

—No dijo nada acerca del pudín —le respondió Hugh— y aquí está la plaza —mientras daban la vuelta a una esquina y aparecían ante sus ojos los carteles de PISOS PARA ALQUILAR.

[...]

—¿Puede abrirse la ventana? —era siempre la primera pregunta de Balbus cuando examinaba una habitación, y —: ¿Echa humo la chimenea? —la segunda. Cuando estuvo complacido, rechazó la habitación, y de allí pasaron al número *Veinticinco*.

LEWIS CARROLL
UN CUENTO ENREDADO. NUDO II

Resumen

En este trabajo presentamos un estudio acerca de la transferencia de masa de diferentes cosolutos a través de partículas de hidrogeles de poli N-Isopropilacrilamida (pNIPAM) en soluciones acuosas. Estos cosolutos son: fenol, 5- Fluorouracilo (5FU), metano y metanol. El estudio se aborda desde distintas perspectivas: combinando cálculos teóricos, simulaciones computacionales de dinámica molecular átomo-por-átomo y grano-grueso, y comparando con reportes experimentales. Las partículas de hidrogel son diseñadas con estructuras rellenas o huecas, y en particular estudiamos los procesos de encapsulación/liberación de fenol hacia/desde ellas.

En la primer etapa del proyecto diseñamos un modelo original de tipo grano-grueso para geles de pNIPAM, el cual captura de forma adecuada la transición bobina-glóbulo y glóbulo-bobina del polímero. Con este modelo construimos arreglos poliméricos complejos aproximados a un hidrogel, como lo es una membrana, con los cuales se observa una mejora en el consumo de recursos de las simulaciones de hasta 54 veces.

Por otra parte, los cálculos teóricos son abordados mediante la teoría del funcional de la densidad dinámico (DDFT, por sus siglas en inglés), a partir de la cual obtenemos los perfiles de densidad del cosoluto y su evolución en el tiempo. La DDFT es un técnica que permite el estudio a nivel molecular de la dinámica de sistemas Fickianos en los que los modos hidrodinámicos no son relevantes, mediante la única hipótesis de que podemos aproximar las correlaciones dinámicas por las que existirían en un sistema equivalente (con igual perfil de densidad) en equilibrio. A diferencia de otros modelos que consideran una difusión ideal, la DDFT toma en cuenta la interacción efectiva entre el polímero y el cosoluto (U_{ef}) y entre moléculas de cosoluto, para calcular el potencial químico de la carga dentro del hidrogel, y a partir de esto, su flujo. Además, la DDFT requiere de una definición explícita del coeficiente de difusión efectivo del cosoluto dentro de la matriz de hidrogel (D_{ef}). Estos parámetros se extraen de simulaciones computacionales tipo átomo-por-átomo. La interacción U_{ef} se obtiene a partir de la energía libre de transporte, la cual se calcula con el método de relación de aceptación de Bennett (BAR en inglés). Por su parte, el D_{ef} se calcula a partir del desplazamiento cuadrático medio de las partículas de prueba embebidas en el hidrogel y la relación de Stokes-Einstein. La validez y la implementación del método de resolución de la DDFT es probada comparando sus resultados contra simulaciones de dinámica molecular átomo-por-átomo en condiciones análogas, esto es, para la absorción de fenol en un hidrogel hueco de pNIPAM. Las predicciones teóricas y las simulaciones muestran resultados casi idénticos para los perfiles de distribución de carga y velocidades de absorción.

Finalmente, realizamos una comparación entre los resultados de la DDFT con reportes experimentales obtenidos de la literatura para la liberación de fe-

no desde hidrogeles completamente rellenos. La longitud típica de escalado con que normalizamos las unidades en la DDFT es ajustada a las dimensiones del microgel experimental, al igual que las concentraciones iniciales. Las curvas de liberación de cosolutos obtenidas con DDFT coinciden satisfactoriamente (dentro de la misma escala temporal) con los experimentos.

Abstract

In this work, we studied the mass transport of different co-solutes, namely: phenol, 5FU, methane, and methanol, through pNIPAM hydrogel particles in aqueous solutions. The study is carried out by different approaches: combining theoretical calculations, all-atom and coarse-grained simulations, and also comparisons with experimental reports. The hydrogel particles are designed as solid and hollow hydrogels, and particularly we studied the encapsulation/release process of phenol cargo molecules to/from them.

In the first part of the project, we devised a novel coarse-grained model for pNIPAM, which adequately captures the experimentally observed coil-to-globule and globule-to-coil transitions of the polymer. With that model we build large polymer arrangements as membrane-like hydrogels and the simulation performance improves up to 54 times.

On the other hand, the theoretical calculations are conducted via the dynamic density functional theory (DDFT), from which we obtain the time-evolution cargo density profiles. DDFT is a technique for studying Fickian systems at a molecular level where the hydrodynamic modes are irrelevant. The hypothesis behind DDFT is that we can approximate the dynamic behavior by an equivalent (the same density profile) system in equilibrium. Unlike ideal diffusion models, this theory takes into account the polymer-cargo (U_{ef}) and cargo-cargo interactions to calculate the chemical potential of co-solute in the system and, from there, the flux. Also, DDFT requires an explicit definition of the effective diffusion coefficient of cargo inside the hydrogel matrix. U_{ef} is obtained from the Free Energy of transport calculated via Bennets Acceptance Ratio method, while D_{ef} is computed from the mean square displacement (MSD) of cargo molecules inside the matrix using the Stokes-Einstein relationship. We tested our implementation of the DDFT by analyzing the absorption of phenol in a hollow hydrogel and comparing its results against all-atom MD simulations in corresponding conditions, that is, the phenol absorption into a hollow pNIPAM hydrogel. Theory and simulations show almost identical cargo distribution profiles and absorption rates.

Finally, we compare the DDFT outcomes with those from experimental reports for the liberation of phenol from solid hydrogels. We change the characteristic length used to normalize the units in the DDFT code to match the same dimensions and initial cargo concentration as the experimental particles, which correspond to microgel-size ones. The DDFT release curve compares well enough within the same time scale of experiments.

Agradecimientos

Aunque oficialmente este trabajo es el resultado de 3 años de doctorado, para mí es solo la última etapa de un largo camino donde he aprendido un poco acerca de cómo hacer ciencia. Durante estos varios años, diversas instituciones me han otorgado su apoyo —me han abierto sus puertas— donde tuve la fortuna de conocer a grandes personas. También, aquellos que ya estaban antes fueron muy pacientes conmigo y continuaron apoyándome. Sería un esfuerzo fútil intentar mencionar a todas las personas que me han ayudado a concluir este trabajo y enumerar sus contribuciones. Cada uno de ellos conoce lo invaluable de su participación. Gracias Dr. Arturo Moncho, Dra. Catalina Haro, Dra. Susana Figueroa, Dr. Alberto Martín, Dr. Yuri Reyes, Paulina Montaña, Tatiana Rodríguez, Dr. Luis Pérez Mas, Miguel Gómez de Santiago, Antonio Jimenez Montiel, Dr. Eduardo Basurto, Mtro. Carlos Alejandro Vargas, Carlos Jimenez, Gerardo Hernández, Francisco Negrete, Wendy Olvera, Astrid Rodríguez Luna, Rosana Ramírez Valencia, Benito Pérez, Ingrid Pérez Ramírez, Ivan Sánchez, Erick Pérez Ramírez y Leslie Ramírez.

En especial quiero agradecer a alguien a quien admiro mucho, al Dr. Gerardo Odriozola. *Tuvimos grandes charlas juntos, largas charlas en las cuales él llevó prácticamente toda la conversación*¹. Pero, más allá de sus consejos, la confianza para participar en varios de sus proyectos, todas las enseñanzas y su paciencia, quiero agradecer su amistad durante estos años.

También quiero externar mi más sincero agradecimiento a las instituciones que me han facilitado su apoyo.

A la Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Azcapotzalco (UAM-A), en especial, a la Coordinación de Estudios de Posgrado y al área de Física de Procesos Irreversibles del Departamento de Ciencias Básicas e Ingeniería, por brindarme los recursos materiales, financieros y conocimientos necesarios (a través de cursos y críticas constructivas) para realizar mis proyectos durante este tiempo.

A la Universidad de Guanajuato, Campus León, donde todo esto comenzó.

A la Universidad de Granada, UGR (España) por la confianza y apoyo durante mi estancia.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por proporcionarme apoyo económico de manutención y para realizar una estancia de investigación en la Universidad de Granada.

¹Paul Dirac acerca de Niels Bohr

Índice general

1. Introducción	1
2. Revisión bibliográfica	7
3. Objetivos	16
3.1. General	16
3.2. Individuales	16
4. Metodología	17
4.1. Simulaciones	17
4.1.1. Átomo-por-átomo	18
4.1.2. Grano grueso	21
4.1.3. Energía libre de solvatación y coeficientes de difusión	33
4.1.4. Cargando a un hidrogel hueco	38
4.2. Teoría del Funcional de la Densidad Dinámico (DDFT)	39
4.2.1. El funcional de la energía libre	40
4.2.2. La estructura y la simetría del sistema	42
5. Análisis de resultados	46
5.1. Simulaciones	46
5.1.1. Grano grueso vs átomo-por-átomo	46
5.1.2. Energía libre de transferencia	69
5.1.3. Coeficiente de difusión	77
5.2. DDFT	80
6. Conclusiones y trabajo futuro	92
Apéndices	104
A. Publicaciones relacionadas	105

**B. Dinámica molecular de Grano Gueso. Archivos de entrada para un
30-mero 108**

Capítulo 1

Introducción

Los hidrogeles se pueden clasificar como parte de la materia condensada blanda, una rama de la ciencia que involucra conocimientos de física, química, y en algunos casos, bioquímica. Los hidrogeles se encuentran compuestos de cadenas largas de polímeros entrecruzados y que generalmente están solvatados en agua [16, 62]. Cuando el polímero se disuelve en un buen disolvente (bueno significa que las cadenas se dispersan en el seno de la disolución), el polímero expone su superficie al disolvente y adopta una conformación de tipo bobina [39]. Sin embargo, cuando el polímero se rodea de un disolvente malo, las cadenas se enrollan para exponer la menor cantidad de área posible y el polímero transita a una conformación globular [39]. Los cambios conformacionales del polímero impactan, a su vez, en el comportamiento de todo el sistema. Esto es, la red polimérica se hincha o se encoge dependiendo de la calidad del disolvente.

Es posible sintetizar hidrogeles en diferentes formas: una masa de gel formada por cadenas independientes (no entrecruzados), una masa de gel entrecruzada o partículas individuales compuestas de cadenas entrecruzadas. A su vez, en caso de tratarse de partículas individuales, se suele clasificar al hidrogel como micro o nanogel, dependiendo del tamaño típico de las partículas que lo constituyen. En este caso, al diluir al hidrogel con más disolvente las partículas no pierden su identidad, y la «solución» polimérica (la mezcla de cadenas poliméricas con el disolvente) pasa a presentar características de una suspensión coloidal. En otras palabras, la suspensión genera el llamado efecto Tindall¹, las partículas se mueven mostrando un patrón Browniano², y la estabilidad de la suspensión puede, al menos

¹Dispersión de la luz visible por una suspensión coloidal. En honor a John Tyndall quién estudió el fenómeno.

²Movimiento aleatorio que describen las partículas de tamaño micro y nanoscópico suspendidas en un fluido, y que resulta de las colisiones contra las moléculas del medio continuo. En honor a Robert Brown.

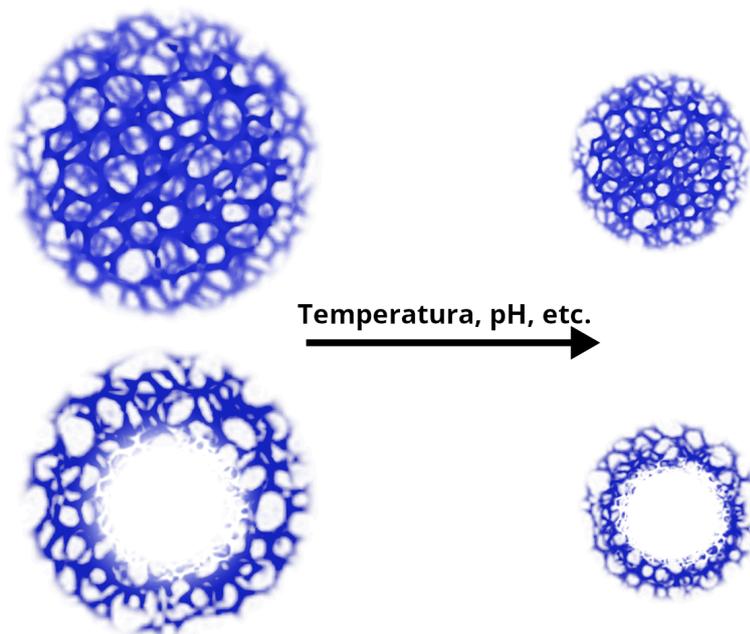


Figura 1.1: Dibujo de una red polimérica entrecruzada capaz de expandirse y contraerse dependiendo de las condiciones fisicoquímicas del disolvente. Arriba, partícula de hidrogel llena, abajo, partícula hueca.

de forma aproximada, ser modelada por la teoría DLVO³. Además, recientemente se ha logrado sintetizar partículas de hidrogel huecas, útiles como vectores para la administración controlada de fármacos.

El volumen libre que deja el hidrogel puede ser llenado por el disolvente y otras moléculas. Al agregar otras moléculas a la disolución polimérica —que aquí llamaremos cosolutos— una partícula de hidrogel puede llenarse con estas. El tamaño de los cosolutos varía, y los nano- y microgeles pueden llenarse tanto con fármacos pequeños como también con proteínas (macromoléculas). En el proceso de carga generalmente se utiliza un disolvente tal que sus propiedades promuevan la expansión de la red del microgel. Esta forma de proceder reduce los tiempos de carga. Una vez que las partículas de microgel se encuentran cargadas, se suelen cambiar las propiedades del disolvente para que se promueva la contracción de la red polimérica, y así se dificulta la difusión molecular que conlleva a la descarga. A las partículas de microgel con este tipo de uso se les conoce como encapsulantes,

³Teoría de estabilidad coloidal basada en las contribuciones electrostáticas y de van der Waals a las fuerzas que actúan sobre las macropartículas suspendidas. En honor a Boris Derjaguin, Lev Landau, Evert Verwey y Theodoor Overbeek, quiénes la desarrollaron.

y son cada vez más utilizadas para la administración de fármacos⁴.

Curiosamente, para algunos polímeros la calidad del disolvente (bueno o malo) depende de factores como el pH o la temperatura. Esto —como han de imaginar— es sumamente útil, dado que el mismo disolvente puede promover los estados bobina (estirados) y glóbulo (comprimidos) del polímero. Basta con un ajuste de pH o un cambio de unos pocos grados en la temperatura para generar esos cambios bruscos de conformación. Este es el caso de la poli-N-Isopropilacrilamida (pNIPAM), un llamado polímero inteligente termosensible⁵. Las unidades constitutivas del polímero, la N-Isopropilacrilamida (NIPAM), cuentan con un grupo polar, una amida secundaria rodeada de grupos no polares, lo que le brinda cierto carácter anfifílico⁶. Este carácter anfifílico es lo que, de algún modo, incide en la transición glóbulo-bobina del polímero. Así, a bajas temperaturas se forman puentes de hidrógeno entre las moléculas de agua que rodean a las cadenas de polímero y el grupo amida, involucrando al protón y al átomo de nitrógeno (donantes), así como al oxígeno y al protón del agua (aceptores). A su vez, el agua que rodea a la cadena se hidrata⁷ para formar varias capas de agua rodeando a la cadena de polímero, que queda así expuesta al disolvente y es separada de otras semejantes. A pesar de que las moléculas de agua no se encuentran cómodas⁸ rodeando a los grupos no polares, el exceso de energía libre implicado no es suficiente para vencer a los numerosos puentes de hidrógeno. Al incrementar la temperatura del sistema, varios puentes de hidrógeno se pierden⁹ lo que facilita el desprendimiento de agua de la superficie del polímero, y este se pliega sobre si mismo para generar una conformación globular. Al mismo tiempo, la superficie expuesta del polímero al disolvente disminuye, incrementando la entropía del agua (contribución entrópica dominante, por encima de la conformacional del polímero). La transición glóbulo-bobina es reversible en el sentido de que un cambio de temperatura en la dirección opuesta, y que contenga a la temperatura de transición, producirá la configuración polimérica original. No se observan experimentalmente ciclos de histéresis en este sentido. Este conjunto de propiedades hace que, además de ser utilizados en la síntesis de partículas encapsulantes, también encuentren usos como nanopuertas poliméricas, filtros, y componentes ópticos [53, 60, 18].

En el párrafo anterior se proporciona una descripción microscópica de lo que

⁴Hay fármacos cuya vida media es baja en el cuerpo humano y al administrarlos de esta forma se logra evitar la toma de varias dosis diarias y, a su vez, una concentración más constante.

⁵Que responde a los cambios de temperatura (lo de inteligente es una exageración, obviamente).

⁶Solubre en agua y en aceite.

⁷El agua, como cualquier otra sustancia, se puede hidratar.

⁸Permítasenos conferir ciertas aptitudes emocionales a estas simpáticas entidades de vez en cuando.

⁹Esto ocurre debido a la agitación térmica, se observa lo mismo en agua pura y para otras sustancias capaces de formar puentes de hidrógeno.

ocurre durante la transición bobina-glóbulo al incrementar la temperatura. Sin embargo, no se da una base fundamental del fenómeno. Desde este punto de vista (el fundamental), el cambio de energía libre ΔG asociado al cambio de estado del polímero (de bobina a glóbulo) a presión constante viene dada por

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S, \quad (1.1)$$

donde ΔH es el cambio de entalpía y ΔS el de entropía, ambos asociados a la transición. A la temperatura crítica, que para el pNIPAM ronda los 305 K (32°C), $\Delta G = 0$ y entonces

$$T_c = \Delta H/\Delta S. \quad (1.2)$$

Es posible suponer que tanto ΔH y ΔS no dependen de la temperatura en el entorno de la transición. Tanto ΔH como ΔS son cantidades positivas, la primera porque el estado bobina (inicial) favorece las interacciones de tipo puente de hidrógeno y el glóbulo (final) las minimiza, y este tipo de interacciones dominan sobre la entalpía total. La segunda, ΔS , es positiva porque la contribución del disolvente domina sobre la entropía configuracional del polímero, y la entropía configuracional cuando se incrementa el área expuesta. Entonces, al incrementar la temperatura ΔG cambia de signo, de positivo, favoreciendo el estado bobina, a negativo, favoreciendo el estado final (glóbulo).

A pesar de que todo apunta a que los puentes de hidrógeno juegan un papel dominante durante la transición, hay estudios de simulación que ponen en duda si es la ruptura colectiva de estos la que la rige, o si simplemente es una consecuencia de la misma [14]. En uno de estos estudios se muestra que el desprendimiento colectivo de las moléculas de agua ocurre a temperaturas muy cercanas pero por encima de la temperatura crítica [61], sugiriendo que el polímero se pliega antes de expulsar el agua de forma colectiva. También hay varios estudios que afirman que los puentes de hidrógeno son imprescindibles para que el polímero presente la transición [56, 15, 71], y que sin estas interacciones, la transición se pierde. Sin embargo —y como veremos en esta Tesis— es posible desarrollar un modelo de grano grueso que capture la transición glóbulo-bobina sin tener en cuenta explícitamente a los puentes de hidrógeno¹⁰. Probablemente se trate del modelo mínimo (el más simple) que sea capaz de capturar este fenómeno de forma realista sin emplear potenciales que dependan de la temperatura.

Como hemos mencionado, ha sido posible sintetizar partículas de hidrogel huecas. La Figura 1.1 muestra una representación esquemática de partículas de nanogel: estándar (o llenas), arriba; y huecas, abajo. En ambos casos el polímero se entrecruza para evitar la pérdida de material y mantener su forma estable. Existen diversas técnicas para generar experimentalmente estas partículas huecas, y sus

¹⁰De todas formas, sí se necesita una interacción favorable agua-polímero para que ΔH siga siendo positivo.

metodologías constan de varias etapas, pero en general se pueden clasificar en: la síntesis de dendrímeros¹¹, el autoensamblaje de partículas tipo vesícula, y las síntesis de cortezas de hidrogel a partir de un molde removible en su núcleo [37].

Para los hidrogeles empleados en la administración de fármacos, es de particular interés el conocer la capacidad de carga de equilibrio y la dinámica de los procesos de carga y descarga. Al principio del proceso de carga (descarga), las moléculas de cosoluto se encuentran fuera (dentro) de la partícula del hidrogel, generando un gradiente de potencial químico. Este gradiente es la fuerza motriz que genera la difusión del cosoluto desde fuera (dentro) de la partícula hacia dentro (fuera). El proceso de difusión hace que el gradiente de potencial químico sea cada vez menor, a medida de que las regiones del espacio sin material comienzan a llenarse, y culmina cuando el potencial químico de todo el espacio accesible se iguala. En este punto se dice que el sistema (la partícula de microgel) se encuentra en equilibrio químico con el reservorio (la disolución acuosa). Desde luego esto no implica que, en el equilibrio, la concentración de soluto dentro y fuera de la partícula alcance el mismo valor. La presencia del material polimérico se puede considerar como un campo externo que deshomogeiniza el espacio afectando la distribución del cosoluto. Un sistema análogo podría ser la atmósfera terrestre, donde la presencia de la Tierra genera un campo externo —el campo gravitatorio— que induce un perfil de concentración logarítmico de todas y cada una de las sustancias atmosféricas (nitrógeno y oxígeno, principalmente). Lo mismo —o algo muy similar dado que el campo externo no tiene la misma forma— ocurre con nuestro microgel, donde es posible, desde el punto de vista teórico, reemplazarlo por un campo externo generando así la misma respuesta del cosoluto como si la partícula polimérica estuviera presente [41]. De hecho, esta es la base de la teoría que utilizaremos para resolver la dinámica de los tiempos de carga y descarga del material.

Los tiempos de carga y descarga son afectados por la movilidad del cosoluto tanto en la disolución acuosa como en la matriz del microgel. La dinámica¹² de estos procesos, entonces, depende de varios factores. Estos son: el tamaño de la molécula de cosoluto, su forma, su flexibilidad, la temperatura, la viscosidad, la concentración del polímero, la rigidez de las cadenas poliméricas (que a su vez depende de la concentración de entrecruzante), la interacción cosoluto-solvente y, por supuesto, de su interacción con el polímero. Buena parte de esta información se resume en el coeficiente de difusión del cosoluto en la mezcla agua-polímero, como función de la concentración polimérica a una temperatura establecida. En este trabajo determinaremos esta función, así como la energía libre de transferencia

¹¹En sentido estricto, las partículas con una estructura arborescente no están huecas en su interior, pero su núcleo tiene una densidad sumamente baja lo que les permite tener una gran capacidad de almacenamiento.

¹²La dinámica se refiere a la evolución temporal del sistema y sus propiedades.

de una molécula de cosoluto desde el seno de la fase acuosa al seno de una mezcla homogénea polímero-agua, mediante técnicas de simulación molecular, para así alimentar a la teoría del funcional de la densidad dinámico (DDFT, por sus siglas en inglés) y obtener los tiempos de carga y descarga de algunas moléculas de interés de partículas encapsulantes de pNIPAM.

Capítulo 2

Revisión bibliográfica

En este capítulo se resumen varios trabajos relacionados a este proyecto de Tesis. No es una lista exhaustiva dado que la literatura completa vinculada con los nanogeles de pNIPAM es muy vasta (la búsqueda en bases de datos de artículos de investigación con la sigla pNIPAM en su título da lugar a 796 resultados). La idea de esta sección es presentar únicamente aquellos trabajos que, de alguna forma, han guiado el desarrollo de esta Tesis. También hemos resumido aquí algunos otros trabajos que nos han parecido interesantes.

El interés en los hidrogeles ha crecido durante los últimos 50 años y han sido foco de diversas investigaciones, bien para desentramar las incógnitas de sus propiedades, bien para explorar nuevas aplicaciones. Los polímeros con los que se constituyen los hidrogeles han ido evolucionando y hoy en día contamos con materiales capaces de responder a estímulos externos como la temperatura y el pH. Particularmente en nuestro grupo de trabajo nos enfocamos a los hidrogeles hechos de poli N-(Isopropilacrilamida) (pNIPAM). Para la síntesis de microgeles rellenos (no huecos), se emplea bisacrilamida (BIS) y persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$) como agente entrecruzante e iniciador, respectivamente. El proceso de polimerización se realiza en una atmósfera inerte de nitrógeno, como se describe aquí [52]. Estos hidrogeles han sido analizados con diversas técnicas experimentales y de simulación, entre los que destacan (pero no se limitan a): estudiar sus propiedades ópticas, electroestáticas y reológicas [31, 12, 47], y estudiar su cambios conformacionales en agua pura, soluciones electrolíticas y en presencia de co-solventes mediante simulaciones de dinámica molecular [3, 47, 46].

Otro tipo de estructura de hidrogeles que analizamos en esta Tesis es el de partículas huecas. Existen diversas técnicas para sintetizar estos materiales a partir de distintos polímeros, sin embargo nosotros nos enfocamos en aquellos hechos a partir de pNIPAM. Zha *et al.* preparan hidrogeles huecos termosensibles modificando la superficie de partículas de SiO_2 al añadir 3-(trimetoxisilil)propil metacrilato (MPS). El pNIPAM es entonces polimerizado por precipitación sembrada en pre-

sencia de las partículas de sílice, generando una corteza de polímero sobre su superficie. Las partículas molde de sílice son luego removidas mediante un degradado químico con ácido hidrofúorhídrico. El tamaño y la polidispersidad de los hidrogeles huecos depende del molde de sílice, y su remoción no afecta la forma esférica de las partículas, como observan los autores mediante espectrofotometría infraroja con derivada de Fourier (FT-IR) [70].

En 2005, Nayak *et al.* construyeron microgeles huecos siguiendo un procedimiento de polimerización por radicales libres en dos etapas. Primero sintetizaron microgeles de pNIPAM con el método de polimerización por precipitación, usando N, N'-(1,2-dihidroxi etileno) bisacrilamida (DHEA, sigla del inglés) como entrecruzante. Posteriormente, estos microgeles son usados como semilla en una segunda polimerización sembrada, sobre los cuales se construye una coraza de pNIPAM, esta vez con N, N'-metileno bis (acrilamida) (MBA) como entrecruzante. Una vez sintetizadas las partículas núcleo-coraza, se agrega NaIO(4) a la disolución y el enlace del 1,2-glicol de la DHEA se degrada de forma controlada. El polímero remanente es entonces removido mediante varios ciclos de centrifugación y reemulsión. Los autores luego caracterizan a las partículas huecas ya limpias mediante espectroscopía UV y visible, fluorescente, y espectroscopía de correlación fotónica [40]. Los resultados muestran partículas de forma y tamaño (hueco incluido) homogéneo.

Por su parte, McMasters *et al.* también sintetizaron partículas huecas de pNIPAM, siguiendo un método similar al descrito en el párrafo anterior. Sin embargo, ellos utilizaron N, N'-bis (acrilóilo) cistamino (BAC, del inglés) como entrecruzante degradable. Con estas partículas ellos lograron dosificar péptidos antiinflamatorios *ex vivo* en modelos osteoartíticos y lograron disminuir la inflamación del objetivo [36].

Ambos tipos de estructuras de partículas de hidrogel son empleadas para la encapsulación de cosolutos y existen numerosos reportes en la literatura que combinan diversos tipos de polímeros y cosolutos. A continuación mencionaremos aquellos que estén estrechamente relacionados con nuestro trabajo de investigación, es decir, aquellos hidrogeles formados por pNIPAM, o que sus moléculas de cargo sean las que consideramos aquí.

Un trabajo de especial interés es el realizado por Si *et al.*, debido a la comparación directa que se puede realizar con nuestro trabajo. Los autores usan partículas de hidrogeles termosensibles sólidas y molecularmente impresas¹ (T-MIHs, del inglés) para la remoción selectiva de fenol de aguas residuales. Con los hidrogeles sintetizados, los autores estudian sistemáticamente las cinéticas de absorción y

¹La diferencia entre ambos tipos de partículas es que los T-MIHs contienen receptores artificiales o sitios de reconocimiento para un tipo de molécula de prueba específica. Las comparaciones hechas contra este trabajo se enfocan únicamente a los hidrogeles sólidos.

desorción, así como la selectividad por el fenol. Además, analizan los efectos en estos procesos derivados de los cambios en la temperatura y el pH. La selectividad de fenol es comparada contra tres cosolutos distintos: 3-clorofenol (3-CP), 2,4-diclorofenol (2,4-DCP) y 2,4,6-triclorofenol (2,4,6-TCP). Para la caracterización de los hidrogeles emplean técnicas de FT-IR, microscopía electrónica de barrido (SEM) y análisis termogravimétrico (TGA). Los autores reportan una «buena» selectividad, respuesta térmica y reutilización de los hidrogeles molecularmente impresos, mientras que los hidrogeles sólidos de referencia presentan una capacidad de absorción y liberación menor, con tiempos medios de descarga alrededor de 40 minutos [55].

Otros autores también utilizan pNIPAM en la síntesis de hidrogeles para la absorción de fenol de aguas residuales. Sin embargo, ellos realizan modificaciones en la superficie de las partículas o emplean co-polímeros, por lo que sus resultados no son directamente comparables con los nuestros. Por ejemplo: diversos autores modifican a los hidrogeles de pNIPAM añadiendo tributil fosfato (TBP), el cual mejora la capacidad de absorción del pNIPAM [23, 45, 44]; o injertan pNIPAM en superficies de óxido de grafeno (GO) para formar nanocompuestos termosensibles con una gran superficie absorbente [17, 63].

Un cosoluto que también es incluido en nuestros estudios es el 5- fluororacilo (5FU), y es de gran relevancia dado su uso en el tratamiento de cáncer de páncreas, mama, intestino, estómago, esófago y piel. Paharia *et al.* prepararon emulsiones deshidratadas de pectina para sintetizar microgeles que luego cubrieron con ácido metacrílico usando el método de evaporación de disolvente. Estas partículas fueron cargadas (llenadas) con 5FU usando una relación fármaco:polímero 1:4. Posteriormente, estudiaron la liberación del fármaco en un ambiente simulado de fluidos gastrointestinales. Las velocidades de liberación reportadas son dependientes del pH del sistema; para pH ácido la liberación de 5FU es lenta, y aumenta drásticamente a pH 7.4, con un tiempo total de liberación de 8 horas [43].

Puga *et al.* encapsulan 5FU en microgeles de quitosano. Estas partículas son luego cubiertas con hasta tres capas extra de quitosano libre de cosoluto o pectina para prevenir la liberación prematura de la carga (como ocurre con hidrogeles sin cubierta externa). La velocidad de desorción mostró ser dependiente del pH, siendo menor a pH ácido que a 7.4, con tiempos de liberación totales cercanos a las 4 horas [49].

He *et al.* preparan micropartículas monodispersas de quitosano cargadas con 5FU usando microfluídica con dos tipos de entrecruzantes: tri polifosfato (TPP) y glutaraldehído (GTA). Al igual que en otros casos de encapsulación de este fármaco, la velocidad de liberación depende del pH, pero además, también es dependiente de la morfología de las partículas. Las microesferas que usan TPP como entrecruzante poseen una superficie rugosa y muestran una velocidad de liberación mayor, mientras que los que usan GTA tienen una superficie lisa que

retrasa la liberación del fármaco [20].

El pNIPAM ha mostrado ser un polímero sumamente versátil para la encapsulación de fármacos y existen numerosos reportes de su uso con co-polímeros u otros cosolutos que no son tratados en este trabajo. A continuación mencionamos algunos de estos reportes para ejemplificar esta diversidad de usos [68].

Chen *et al.* prepararon microgeles huecos compuestos por ácido poli(acrilico) (PAA) y pNIPAM, pNIPAM-co-PAA, cargados con doxorubicina (Dox). Para la síntesis formaron matrices semi-interpenetradas de hidroxipropil celulosa (HPC) cubiertas con pNIPAM-co-PAA. El HPC es selectivamente removido de la disolución mediante la ionización de las unidades de PAA y el rompimiento de puentes de hidrógeno al incrementar el pH. Los hidrogeles obtenidos muestran una gran capacidad de carga de Doxorubicin y una liberación continua del fármaco en condiciones de pH y temperatura corporales normales (7.4 y 25 C) [10].

Por su parte, Lima *et al.* obtuvieron partículas de hidrogeles de tamaño milimétrico usando sustratos de superficies superhidrófobas. En primer lugar, el pNIPAM es polimerizado con persulfato de amonio (APS) como iniciador y N,N-metilen bisacrilamida (MBIS) como entrecruzante. El cargo (albúmina o insulina), junto con un fotoiniciador son añadidos a la disolución de pNIPAM y posteriormente se disuelve en una disolución de dextrano-metacrilato (dextrano-MA). La disolución obtenida es colocada sobre el sustrato en pequeñas gotas (5 μ l) y puesto bajo luz UV a 254 nm. Después de diez minutos se obtienen partículas sólidas de hidrogel que son fácilmente removibles del sustrato. La velocidad de liberación de las biomoléculas depende de la temperatura del sistema, como es de esperarse, con tiempos totales alrededor de 30 horas [32].

Al igual que los reportes experimentales, las simulaciones computacionales que estudian el comportamiento del pNIPAM son numerosas. En particular, en nuestro grupo de trabajo hemos desarrollado simulaciones de dinámica molecular átomo-por-átomo de cadenas aisladas de polímero (de manera estricta son oligómeros ya que cuentan solo con 30 unidades de repetición) para estudiar la transición bobina-glóbulo en presencia de disolventes orgánicos [47, 46] (ver los primeros dos artículos del apéndice A). El radio de giro de los oligómeros es comparado contra el radio hidrodinámico de hidrogeles del mismo polímero en condiciones análogas de temperatura y concentración de co-solvente. Las simulaciones mostraron resultados semejantes a aquellos de los experimentos, a pesar de realizar una comparación entre distintas estructuras poliméricas. Dado que el costo computacional se incrementa con el número de partículas en el sistema, es difícil realizar una comparación directa con un hidrogel usando simulaciones con una resolución atómica. Sin embargo, hemos realizado aproximaciones para simular sistemas semejantes a una membrana de polímero construyendo un arreglo tridimensional de varias cadenas de oligómeros alineadas. El arreglo tipo membrana se dispone perpendicular a uno de los ejes principales de la caja de simulación y se embebe

en agua, una mezcla de disolventes o en disolución electrolítica, según sea el caso de estudio. A su vez, se deja espacio suficiente a los lados de la membrana para que esta se pueda considerar aislada (que no interaccionen con sus imágenes a través de las condiciones periódicas de frontera). De esta forma, podemos trazar los perfiles de densidad de equilibrio de la membrana, el agua y otras partículas presentes como función de la temperatura. La membrana, como es de esperarse, se compacta y se relaja al subir y bajar la temperatura por encima y debajo de la temperatura crítica. El modelo predice una temperatura de transición de bobina a glóbulo en agua cercana a la experimental [3].

Una alternativa para realizar simulaciones de polímeros con estructuras más grandes y complejas (como los hidrogeles) son las llamadas aproximaciones de grano grueso, donde se agrupan varios átomos pesados y sus hidrógenos covalentes en sitios que concentran toda la masa y reducen los grados de libertad, bajando así el costo computacional. Un ejemplo de este tipo de aproximación es la empleada por Quesada-Pérez y Martín-Molina [51]. En su modelo, las moléculas de agua se reemplazan por un medio continuo con cierta constante dieléctrica. Esto representa una ganancia importante en tiempos de cómputo y permite incrementar el tamaño del sistema. Es necesario notar que la cantidad de monómeros de pNIPAM que componen a una partícula real de nanogel se cuentan por miles. El precio a pagar por esta sobresimplificación del problema es que ahora el modelo polimérico pierde su naturaleza termosensible. Esto ocurre justamente porque el disolvente juega un papel mayor en el balance entálpico-entrópico que explica la transición glóbulo-bobina. La forma en la cual Quesada y Martín recobran el comportamiento termosensible es mediante la imposición de un potencial monómero-monómero que es función de la temperatura. Se trata de una aproximación empírica que no es justificable desde un punto de vista fundamental, pero funciona. Su modelo es capaz de reproducir la distribución electrolítica y de carga de una partícula de nanogel con carga negativa². De hecho, hemos tomado de referencia estas simulaciones para comparar sus resultados con los de un modelo de grano grueso que sí toma en cuenta al disolvente explícitamente y que sí muestra la transición glóbulo-bobina sin la necesidad de incluir potenciales que dependan de la temperatura. Estos resultados no se incluyen en este trabajo y aún no se encuentran publicados.

Existen otros estudios donde, en lugar de simular propiamente al pNIPAM, se emplea un modelo genérico de polímero y se estudia así un comportamiento que también se espera sea general, independientemente de los detalles químicos de cada polímero en particular. Siguiendo esta línea, Chudoba *et al.* desarrollaron un modelo de este tipo, que toma en cuenta el agua de forma implícita y un cosoluto

²Nos referimos aquí a la carga eléctrica que poseen los nanogeles como consecuencia de las moléculas de iniciador. A lo largo de la tesis haremos lo posible para distinguir la carga eléctrica que poseen algunos grupos covalentemente unidos al nanogel de la carga (no eléctrica) o cargamento de moléculas de cosoluto inmersas en la corteza de la partícula o en su hueco.

de forma explícita [11]. Los autores argumentan que la interacción efectiva entre cosoluto y polímero podría dar lugar al colapso de la cadena polimérica. Es decir, plantean que la transición glóbulo-bobina se puede inducir mediante la interacción con un cosoluto a una temperatura fija. De hecho, este comportamiento se observa experimentalmente con mezclas de pNIPAM y agua en presencia de pequeñas cantidades de cosolutos como metanol [66, 6, 72, 54], etanol [72, 22], 1-propanol, y acetona [13]. Ellos observan que hay dos mecanismos que dan lugar a este comportamiento. Para interacciones fuertemente repulsivas entre el cosoluto y el polímero, el colapso de las cadenas disminuye el área expuesta al cosoluto mientras incrementa su volumen accesible. El primer efecto da lugar a una contribución entálpica favorable y el segundo a una contribución entrópica del mismo signo. Por el contrario, para cosolutos y polímeros atractivos, el colapso se produce por la formación de puentes polímero-cosoluto-polímero, que favorecen a la conformación globular de las cadenas y a la agregación de diferentes cadenas.

Camara *et al.* [9] desarrollaron simulaciones de dinámica molecular del tipo átomo-por-átomo de poli(N-vinil caprolactama) (pNVCL) en el seno de una disolución acuosa o confinada entre láminas de montmorillonita sódica, y evaluaron la dinámica de solvatación del polímero con el incremento de temperatura. Cabe destacar la similitud en el comportamiento termosensible del pNVCL con el pNIPAM. Sus resultados muestran que el confinamiento del polímero por las láminas del mineral higroscópico inhiben el colapso de las cadenas aún a temperaturas muy por encima de la crítica. Los autores argumentan que las moléculas de agua libre hidratan a los cationes de sodio, y estos permanecen cerca del polímero incluso cuando ya no se forman puentes de hidrógeno entre el polímero y las moléculas de agua.

Song *et al.* publicaron varios estudios acerca de aplicaciones de los polímeros termosensibles. Ellos desarrollaron un modelo de grano grueso para su implementación en dinámica molecular y aseguran que éste es capaz de capturar la conducta termosensible del pNIPAM [57, 58]. Las interacciones del tipo no covalente son modeladas con un potencial de pares de tipo Morse. Este potencial tiene la forma

$$V_{\text{Morse}}(r_{ij}) = \begin{cases} k_{ij}e^{[-2\lambda(r_{ij}-r_0)]} - 2e^{[-\lambda(r_{ij}-r_0)]} & r_{ij} < r_m \\ 0 & r_{ij} > r_m \end{cases} \quad (2.1)$$

donde r_{ij} , r_0 y r_m son la distancia entre los sitios, el radio de equilibrio y el de corte, respectivamente, mientras que k_{ij} y λ son parámetros de ajuste. Nótese que k_{ij} representa la fuerza de atracción entre los sitios cuando $r_{ij} = r_0$, y tiene la forma

$$k_{ij} = \frac{\Delta A_{ij}}{1.0 + e^{-\alpha_{ij}(T^* - T_c^*)}} \quad (2.2)$$

donde T^* y T_c^* es la temperatura del sistema y la crítica, respectivamente. Este potencial, similar al modelo de grano grueso empleado por Quesada y Martín, incluye un parámetro dependiente de la temperatura y por lo tanto el modelo es artificialmente termosensible. Es importante tener en cuenta que las interacciones de tipo van der Waals y coulombicas que modelan las fuerzas no covalentes entre los diferentes sitios, no dependen de la temperatura por lo que no existe fundamento físico para justificar la ecuación (2.2). En este caso, A_{ij} y α_{ij} son más parámetros que se ajustan para que el polímero haga lo que se observa experimentalmente (la transición glóbulo-bobina). Aún cuando el modelo captura la transición, lo hace de forma forzada y no sigue los mecanismos basados en el balance entálpico-entrópico que se presenta naturalmente para las cadenas reales de pNIPAM. De esta forma, tampoco hay garantía de que las predicciones que resulten de este modelo al interactuar con otras moléculas, por ejemplo un cosoluto, sean correctas.

Por otra parte, cuando se busca estudiar el comportamiento de una molécula específica en contacto con un hidrogel (como sería el caso de los fármacos para encapsulación), es preferible hacerlo mediante simulaciones de tipo átomo-por-átomo, donde no se omiten detalles de la interacción. Por ejemplo, Kandûc *et al.* realizaron estudios de dinámica molecular para abordar la afinidad de las cadenas sueltas de pNIPAM para varios cosolutos, mediante técnicas enfocadas en calcular la energía libre [25]. Se consideraron diferentes tipos de cadenas libres que varían en tamaño y tacticidad³. Además, al considerar temperaturas por encima y debajo de la crítica, las cadenas se encontrarán extendidas (conformación bobina) o comprimidas (glóbulo). Los autores de este trabajo encuentran que la energía libre de adsorción⁴ se encuentra fuertemente vinculada a la naturaleza química del polímero y el cosoluto, esto es, a interacciones de grupos mutuamente atractivos que a su vez dan lugar a una adsorción cooperativa, como es el caso del nitrobenzeno. Por el contrario, los grupos mutuamente repulsivos reducen la adsorción, como ocurre con el 4-nitrofenolato.

Posteriormente, Kandûc *et al.* también publicaron simulaciones de dinámica molecular tipo átomo-por-átomo, donde se estudia una matriz de pNIPAM en contacto con un reservorio acuoso. A partir de eso, los autores calcularon la energía libre de transferencia⁵ en un hidrogel muy compactado (a alta temperatura). La distribución de cosolutos en la caja de simulación resulta ser inhomogénea, donde

³Del griego *takticos*, que significa orden o arreglo. Se refiere a la estereoquímica del polímero que ocurre cuando presenta átomos quirales en su cadena principal. El carbono que es parte de la cadena principal del pNIPAN y se encuentra unido al grupo amida también se une a un hidrógeno, por lo que es quiral.

⁴La energía libre necesaria para insertar una molécula de cosoluto desde el vacío hacia el interior de la disolución.

⁵la diferencia entre la energía libre de adsorción del cosoluto en agua pura y dentro de la matriz de polímero

las moléculas polares agregan preferentemente en las regiones ricas en agua dentro de la matriz polimérica. En comparación con cadenas de polímero aisladas, la energía libre de absorción dentro del hidrogel es casi siempre el doble, debido quizá a que el cosoluto expone toda su superficie en contacto con el polímero cuando se encuentra dentro de la matriz [26].

Otro aspecto de gran relevancia para conocer la distribución de cargo al interior de un hidrogel es su movilidad. Durante décadas, se han propuesto numerosos modelos que intentan explicar cómo ocurre la difusión de partículas dentro de una disolución de polímeros, y en mayor o menor medida se ajustan a los datos experimentales [4]. En general, los modelos se pueden categorizar entre aquellos que consideran una matriz flexible de polímero (hidrogeles homogéneos) y los que emplean un arreglo rígido de cadenas (hidrogeles heterogéneos). Además de realizar comparaciones con experimentos, las simulaciones son un complemento útil para determinar la validez de estos modelos.

Hansing y Netz realizan una extensión al método de dinámica de Stokes para incluir interacciones hidrodinámicas en la difusividad de partículas dentro de una matriz de hidrogel. Los autores muestran no únicamente la importancia de incluir los efectos no estéricos, como la electrostática e hidrofobicidad, además muestran como el tipo de interacción (atractiva o repulsiva) afecta al coeficiente de difusión de la partícula. Para interacciones cargo-gel atractivas, el efecto hidrodinámico en la difusividad aumenta (en comparación con modelos puramente estéricos), mientras que para interacciones repulsivas las interacciones hidrodinámicas decrecen [19].

Kanduc *et al.* realizaron simulaciones de dinámica molecular tipo átomo-por-átomo para calcular el coeficiente de difusión de varios tipos de partículas penetrantes en una membrana de pNIPAM. Para un hidrogel muy denso como el que emplean los autores, la difusión de la partícula penetrante se da mediante «saltos» entre regiones locales con mayor concentración de agua. Para realizar estos saltos, la partícula penetrante debe vencer una barrera energética que depende de su radio hidrodinámico, la temperatura y la cantidad de agua en la matriz. El coeficiente de difusión se calcula a partir del desplazamiento cuadrático medio de la partícula penetrante, al cual debe ser restado el desplazamiento del centro de masa del hidrogel. A pesar de la remoción del centro de masa, los autores reportan la existencia de dos regímenes difusivos: el primero, un régimen balístico o superdifusivo a tiempos cortos, seguido de una región de estancamiento, para finalmente dar paso a un régimen de difusión Browniana a tiempos muy largos. Es por ello que los autores reportan la necesidad de realizar simulaciones sumamente extensas, desde cientos de nanosegundos hasta varios microsegundos, para observar al menos algunos saltos entre regiones locales por parte de las partículas de prueba y alcanzar el régimen de difusividad Browniana [26].

En este capítulo hemos enumerado algunos de los numerosos estudios que

tratan aspectos particulares de polímeros en disolución, hidrogeles en masa, partículas de hidrogeles, además del comportamiento de cosolutos dentro y fuera de hidrogeles. Sin embargo, son pocos los reportes que tratan de ofrecer una visión global acerca de la encapsulación y liberación de cosolutos en partículas de hidrogeles. La teoría del funcional de la densidad dinámico (DDFT) desarrollada por Marconi y Tarazona es una opción importante para abordar este problema [33]. Fang *et al.* usaron esta teoría para modelar la absorción de proteínas en disolución sobre superficies planas. Posteriormente, Angioletti-Uberti *et al.* fueron los primeros en emplear esta teoría para estudiar la absorción de proteínas en nanopartículas cubiertas con hidrogeles de pNIPAM. Como parámetros de entrada para la resolución numérica de la teoría se utilizan datos calorimétricos de isothermas de adsorción para sistemas análogos. Los resultados obtenidos con DDFT muestran una mejoría importante respecto a modelos más simples que consideran una difusión ideal. Los autores además, varían sistemáticamente distintos parámetros como la valencia de las proteínas o su concentración. Este reporte muestra como la generalidad de la teoría DDFT la hace extensiva a una gran variedad de casos de estudio, incluyendo distintos tipos de polímeros y cosolutos [5]

Por su parte, Adroher-Benitez *et al.* también estudiaron la absorción y distribución de cosoluto en nanopartículas de hidrogel cargadas mediante DDFT. Por un lado, usaron un perfil de densidad homogéneo para la distribución de masa del polímero y calcularon algo similar a un diagrama de fase para el cosoluto absorbido en diferentes regiones del microgel. En el estudio se varían tres parámetros de control: la concentración de electrolitos, el signo de las cargas y la repulsión estérica del cosoluto. Además de esto, calcularon la cinética de absorción de proteínas en microgeles tipo núcleo-coraza [2].

Capítulo 3

Objetivos

3.1. General

Desarrollar modelos capaces de describir los procesos de encapsulación y descarga de cosolutos en nano y microgeles poliméricos.

3.2. Individuales

- Estudiar la interacción efectiva entre cosolutos y polímeros.
- Estudiar el efecto de la temperatura en la estructura de los microgeles.
- Cuantificar las concentraciones de equilibrio de cosolutos y otras especies iónicas (si se encuentran presentes) en matrices de hidrogel en equilibrio.
- Cuantificar las tasas de absorción y desorción de diferentes cosolutos mediante simulaciones de dinámica molecular y teoría DDFT.
- Validar los resultados de la teoría DDFT con simulaciones.
- Comparar las predicciones de la dinámica de carga y descarga de la teoría DDFT con datos experimentales disponibles en la literatura para polímeros termosensibles y sensibles al pH.

Capítulo 4

Metodología

En términos de la metodología, el proyecto se divide en dos secciones: simulaciones y teoría. Primero, describiremos las simulaciones en el apartado 4.1 y a la teoría en el subsecuente. Intentaremos mantener una estructura similar también para para la presentación de resultados y su discusión.

4.1. Simulaciones

Se han utilizado e implementado diferentes tipos de simulaciones a lo largo de este proyecto. Algunos de los métodos son interdependientes y otros un poco menos. En este apartado vamos a presentar las diferentes técnicas de simulación siguiendo el orden en el que aparecen en la sección de resultados.

Todas las simulaciones tienen en común que se han implementado haciendo uso de la última versión del paquete Gromacs [59]. Este software se elige por ser libre, gratuito, abierto, flexible, y además, muy eficiente. Además, hace uso de plataformas híbridas de CPUs y GPUs¹, de las cuales disponemos en el laboratorio, y estas características lo hacen a la medida de nuestras necesidades. Existen muchos otros códigos de dinámica molecular disponibles, y varios de ellos también merecen atención por poseer características similares. Sin embargo, para este trabajo, nos hemos centrado exclusivamente en Gromacs.

Para generar los archivos de entrada y analizar los archivos de salida, se han utilizado tanto las herramientas de Gromacs como códigos propios. Por lo mismo, haremos referencia al manual de Gromacs de forma recurrente [59], dado que no tiene mucho caso reescribir lo que allí ya se dice de forma clara y detallada. De

¹Unidad de Procesamiento Gráfico. Son procesadores de un solo chip integrado en tarjetas de vídeo que realizan principalmente tareas gráficas. Las primeras GPUs, inventadas en 1999, eran capaces de procesar 10 millones de polígonos por segundo; las GPUs modernas procesan hasta 20 billones de polígonos por segundo.

todas formas, el objetivo de esta sección es el de ilustrar cómo y por qué hemos utilizado ciertas herramientas de Gromacs y, en general, su motor de resolución de dinámica molecular. Además, daremos a conocer las bases de las técnicas de simulación empleadas para hacer de esta Tesis un estudio autocontenido.

4.1.1. Átomo-por-átomo

Como se ha comentado, este proyecto se enfoca en el estudio de nanopartículas de hidrogel a base de poli N-isopropil-acrilamida, pNIPAM. Entonces, es necesario construir un modelo de pNIPAM que sea capaz de proveer información a escalas espacio-temporales relativamente grandes, desde el punto de vista atomístico. En otras palabras, necesitamos desarrollar un modelo mesoscópico donde los detalles atomísticos sean tomados en cuenta únicamente de forma implícita, y así reducir los grados de libertad contenidos en el sistema. De lo contrario, dadas las limitaciones computacionales, únicamente podremos estudiar oligómeros aislados de pNIPAM, que de poco y nada servirán para lograr una descripción de los fenómenos de carga y descarga de cosolutos de partículas nanoencapsulantes. Sin embargo, para el desarrollo de nuestro modelo mesoscópico, es necesario contar con un modelo atomístico que brinde resultados compatibles con las observaciones experimentales como referencia.

Las simulaciones de dinámica molecular consisten en resolver las ecuaciones de movimiento para todas las partículas del sistema y predecir sus posiciones y velocidades finales después de un tiempo t . El sistema de ecuaciones diferenciales debe ser resuelto numéricamente y para ello empleamos el algoritmo de integración principal incluido en Gromacs denominado `gmX mdrun`. Nuevamente, el uso de este algoritmo (así como el de todas las otras numerosas opciones que incluye para modificar a las simulaciones) está amplia- y profundamente descrito en el manual de Gromacs [59], así que aquí solo describiremos brevemente en qué consiste y lo que se requiere para llevar a cabo nuestro estudio.

Como mínimo, `gmX mdrun` requiere de 3 archivos de entrada: la estructura (`.gro`), la topología (`.top`) y las opciones de dinámica (`.mdp`). El archivo de estructura incluye las posiciones (y a veces las velocidades) iniciales de cada una de las partículas (átomos o cuentas) que conforman al sistema ², así como las dimensiones de la caja de simulación. En la topología se encuentra la información acerca de la naturaleza del sistema; a qué tipo de átomo o molécula pertenecen las partículas del archivo `.gro`, el campo de fuerzas y los tipos de interacciones a utilizar, etc. Finalmente, en las opciones `.mdp` se especifican todos los parámetros

²Las velocidades iniciales son necesarias solo para comenzar la simulación, después serán recalculadas en cada paso. Si el archivo de estructura no contiene esta información, las velocidades son generadas de acuerdo a una distribución de Maxwell por el compilador de Gromacs `gmX grompp`.

de la simulación entre los que se encuentran el tipo de integrador, el paso de tiempo Δt , el número total de pasos, la frecuencia de escritura, algunos algoritmos acoplados a la simulación (como termostatos y barostatos), etc.

Por defecto, el motor de simulación de Gromacs usa el algoritmo conocido como *leap-frog*³ para integrar las ecuaciones de movimiento [21]. En este algoritmo, se usan las posiciones \mathbf{r} al tiempo t y las velocidades \mathbf{v} al tiempo $t - \frac{1}{2}\Delta t$, las cuales se actualizan según las siguientes ecuaciones:

$$\begin{aligned} \mathbf{v}(t + \frac{1}{2}\Delta t) &= \mathbf{v}(t - \frac{1}{2}\Delta t) + \frac{\Delta t}{m}\mathbf{F}(t) \\ \mathbf{r}(t + \Delta t) &= \mathbf{r}(t) + \Delta t\mathbf{v}(t + \frac{1}{2}\Delta t), \end{aligned} \quad (4.1)$$

donde $\mathbf{F}(t)$ es la fuerza en cada partícula al tiempo t . Cabe recordar que la fuerza sobre una partícula es igual al negativo de la derivada posicional del potencial en la forma: $\mathbf{F}_i = -\frac{\partial V}{\partial \mathbf{r}_i}$. Este potencial V es la suma de todas las interacciones (de enlace y no enlazadas) actuando sobre la partícula i y depende del tipo de partícula (átomo o cuenta). Toda la información de la interacción V entre dos tipos de partículas específicas, se encuentra contenida en los llamados «campos de fuerza». Básicamente, el campo de fuerzas dicta que en nuestras simulaciones un átomo de oxígeno se comporte como tal en presencia de otros oxígenos, carbonos, hidrógenos, etc. Existen diversos campos de fuerzas, los cuales están parametrizados y optimizados para que las especies que los conforman reproduzcan correctamente ciertas propiedades observadas en los experimentos.

De forma muy simplista, el sistema evoluciona siguiendo este algoritmo. Las velocidades y posiciones de las partículas son escritas cada cierto número de pasos en un archivo de trayectoria. Hasta este punto, solo se tiene información de un sistema minúsculo y único durante una ventana de tiempo ínfima. Para relacionar las propiedades de esta pequeña simulación con aquellas de los sistemas macroscópicos observadas en los experimentos, es necesario emplear herramientas de la mecánica estadística. Principalmente, la mecánica estadística nos permite obtener la función de partición \mathcal{Z} del sistema, que es un funcional de las funciones de estado en equilibrio, es decir, a partir de ella se puede describir por completo el estado termodinámico del sistema. En la colectividad canónica⁴, la función de partición toma la forma:

³La traducción literal es «salto de rana» y se conoce así porque los vectores \mathbf{r} (que incluye las posiciones de todas las partículas en el sistema) y \mathbf{v} (todas las velocidades) se calculan de forma alternada, como dando saltos entre ellos.

⁴Formalismo de la mecánica estadística en el que el conjunto de posibles microestados del sistema intercambia energía térmica con los alrededores pero no materia, es decir, es un sistema cerrado.

$$\mathcal{Z} = \frac{1}{N! h^{3N}} \int \exp[-\beta H(p_i, x_i)] d^3 p_i d^3 x_i, \quad (4.2)$$

donde N es el número de partículas, h se sustituye por la constante de Planck, β el inverso de la temperatura, y $H(p_i, x_i)$ es el Hamiltoniano del sistema en función de las posiciones x_i y momentos p_i de cada partícula i . d^3 se usa para representar que la integral se realiza en tres dimensiones. De esta forma, a partir del conjunto de posiciones y velocidades de cada partícula obtenidas en las simulaciones, es posible estimar el estado macroscópico de un sistema equivalente.

A continuación, para desarrollar el archivo de estructura de nuestro modelo, comenzamos por definir tres tipos de monómeros de N-isopropil acrilamida (NI-PAM): dos terminales y uno central. Los terminales únicamente poseen un enlace libre de unirse a otros monómeros y el central está unido a dos de estos. Además, los monómeros terminales difieren ligeramente entre sí, el principio y fin de la cadena no es exactamente simétrico. La topología de los residuos se diseña de acuerdo al campo de fuerza *OPLS-All-Atom*. Haciendo uso de un código casero, escribimos un archivo en formato `pdb`⁵ que contiene la información espacial y los nombres de los átomos contenidos en un 30-mero atáctico de pNIPAM. Este archivo, a su vez, se utiliza como entrada de la herramienta `pdb2gmx` para generar archivos compatibles con el motor de dinámica molecular de Gromacs (para más detalles ver el manual de Gromacs [59]). El archivo de salida luego se manipula con otras herramientas de Gromacs para solvatar al polímero, en nuestro caso con el modelo de agua TIP4P, que es aquel recomendado y compatible con *OPLS-All-Atom*. Así mismo, se define una caja dodecaédrica con una distancia entre imágenes $d = 7.2$ nm, suficiente como para evitar la interacción del oligómero consigo mismo. Dado que la posición inicial del polímero y las moléculas de agua se encuentran ligeramente traslapadas, el primer paso a seguir es la relajación del sistema para evitar divergencias numéricas durante los primeros pasos de la dinámica molecular. Para ello se realiza una pequeña simulación usando el algoritmo de «el descenso más abrupto» (*steepest descent*), incluido en Gromacs. El sistema se reacomoda, con movimientos de las posiciones atómicas muy pequeños, y así logra minimizar las fuerzas actuantes sobre los sitios (minimización de la energía potencial total). La salida de esta simulación se utiliza, a su vez, como entrada para el proceso de termalización a la temperatura de 298 K y presión de 1 bar haciendo uso primero de la colectividad canónica (*NVT*) y luego de la isotérmica-isobárica (*NPT*). Este último paso tiene por objetivo obtener una configuración de equilibrio, esto es, una configuración compatible con la colectividad canónica (o isotérmica-isobárica) y

⁵Es un formato que utilizan las bases de datos de proteínas (*Protein Data Bank*) para establecer su estructura tridimensional. Así se dan las posiciones y nombres de cada uno de los átomos que las componen.

las condiciones termodinámicas establecidas. Este proceso de termalización se lleva a cabo durante 50 ns en cada paso.

Las corridas de producción, aquellas donde analizaremos las trayectorias producidas para obtener promedios, se realizan durante 200 ns, con un paso de tiempo $\Delta t = 1$ fs, a las temperaturas de 298 K y 323 K. El muestreo de la colectividad isobárica se realiza utilizando el barostato de Berendsen (para mantener la presión constante) y el algoritmo de rescalamiento de velocidades (para mantener la temperatura cercana a la objetivo). Las constantes de acoplamiento para la presión y la temperatura se fijan en $\tau_p = 1.0$ ns y $\tau_t = 0.1$ ns, respectivamente. Las interacciones electrostáticas se calculan haciendo uso de las sumas de Ewald resueltas mediante el método de transformadas rápidas de Fourier y la conversión malla a partícula (SPME), con una distancia de corte de la parte real de 1.2 nm, y un tamaño de malla de 0.12 nm. Al igual que la parte real de la contribución electrostática, las interacciones dispersivas (van der Waals) de largo alcance ($1/r^6$) se truncan a los 1.2 nm.

Con estos parámetros se captura la transición glóbulo-bobina del pNIPAM y se obtiene una temperatura de transición de (302.2 ± 0.7) K, muy cercana a la transición experimental de entre 303.65 K y 305.45 K [64, 67]. Cabe decir que la transición se captura al dar seguimiento principalmente al promedio del radio de giro del polímero.

4.1.2. Grano grueso

Idealmente, las simulaciones de grano grueso deben conducir a los mismos resultados que aquellas átomo-por-átomo. Por este motivo, para ajustar el modelo de grano grueso es necesario disponer de resultados previos atomísticos para utilizarlos como referencia. A este tipo de enfoque se le conoce como de abajo hacia arriba (de pequeño a grande). Por el contrario, también existe el enfoque de arriba hacia abajo (de grande a chico), donde el sistema de referencia es directamente aquel experimental (macroscópico). En ambos casos el objetivo sigue siendo el mismo, obtener un modelo basado en sitios, cada uno representando a un grupo de tres o cuatro átomos pesados junto con sus hidrógenos, y capaz de reproducir el comportamiento experimental (o del modelo atomístico, que a su vez, si hace lo que debe, copia el comportamiento experimental). Aquí seguiremos el primer enfoque, que como veremos, tiene la ventaja de permitir comparaciones muy directas y además permite el mapeo de las coordenadas atomísticas al nuevo esquema. Nosotros utilizamos las trayectorias de las simulaciones descritas en la sección anterior que ya se encuentran publicadas (ver los primeros dos artículos del apéndice A). El modelo de grano grueso que implementamos se basa en el campo de fuerzas Martini [34] y su tutorial se encuentra disponible en su página web [35]. Cabe decir que Martini ofrece, a su vez, dos enfoques para representar

al disolvente: implícito (*Dry Martini*) y explícito. El primero tiene la enorme ventaja de ser mucho más económico (computacionalmente hablando) y así hace posible el estudio de sistemas de mayor tamaño. El segundo ofrece mayor detalle de las interacciones soluto-solvente, pero paga un precio alto a la hora de estudiar sistemas relativamente grandes. Aquí, como explicaremos un poco más adelante, utilizaremos el segundo enfoque.

Mapeo

Se denomina mapeo al proceso por el cual se transforman los varios sitios del modelo atómico en un modelo de grano grueso, reduciendo así los grados de libertad. Entonces, lo primero que hay que decidir es qué conjunto de átomos será representado por cuentas (sitios) gruesas. Hay ciertas directrices a seguir —que son casi de sentido común— pero varios detalles quedan a criterio de quién realiza el modelo. Por ejemplo, hay que discernir entre los átomos que forman un grupo polar de aquellos que no. Un átomo pesado no puede ser parte de un grupo polar y otro apolar, y no puede haber átomos que no se encuentren considerados por alguna cuenta del modelo. Sin embargo, sí puede haber átomos que sean parte de dos cuentas del mismo tipo (polares o apolares). El campo de fuerza Martini provee de diferentes parámetros a las cuentas que representan grupos de diferente polaridad. Entonces, una forma razonable de proceder para agrupar los átomos del monómero de NIPAM sería utilizando tres cuentas, dos apolares rodeando a una polar. La figura 4.1 ilustra el mapeo seleccionado, donde la cuenta del extremo final engloba al grupo isopropilo, la cuenta siguiente toma en cuenta al grupo acrilamida, y la tercera toma en cuenta a los carbonos que forman la columna vertebral del polímero. Los tipos de cuentas Martini correspondientes, en el mismo orden, son SC3 con nombre **Prop**, SNda llamada **Nda**, y SC1 llamada **B**.

Cabe resaltar las siguientes características del esquema de mapeo adoptado. Para comenzar, no es posible seleccionar cuentas que incluyan a cuatro o más átomos pesados, como lo recomienda Martini, sin violar otros criterios importantes como la separación de grupos según su polaridad. Por este motivo, utilizamos cuentas más pequeñas que también se incluyen en el campo de Fuerzas (estas llevan el prefijo S). En segundo lugar, es necesario notar que un átomo de carbono de la cadena principal del polímero se comparte entre diferentes monómeros, para así completar el grupo de tres átomos pesados. Esto, a su vez, genera cierta desalineación entre el grupo **B** y los grupos **Nda** y **Prop**. Aquí es necesario aclarar que los centros geométricos de las cuentas coinciden, porque así lo definimos, con los centros de masa de los conjuntos de átomos que representan. Además, la mencionada desalineación también da lugar a ciertas anomalías de los monómeros terminales. Aún así, esto no afecta al comportamiento general del oligómero.

En tercer lugar, es necesario tomar en cuenta el mecanismo de plegado del

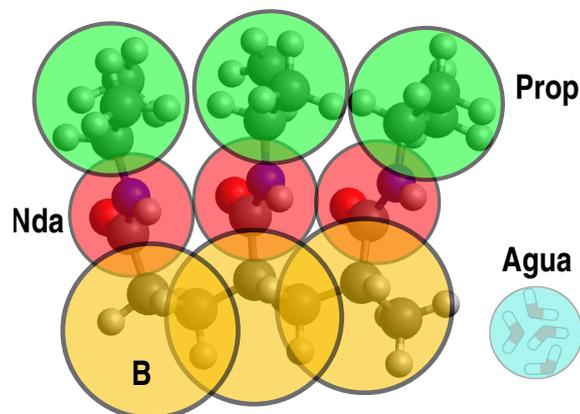


Figura 4.1: Esquema donde se muestra el mapeo (la correspondencia) entre los sitios (átomos) del modelo atómico y el nuevo modelo de grano grueso. Las cuentas **Prop**, **Nda** y **B**, corresponden a los grupos isopropilo, amida secundaria y a los átomos que forman la cadena principal del polímero. A su vez, a las cuentas **Prop**, **Nda** y **B** se le asignan los parámetros de los grupos SC3, SNda y SC1 de Martini. El sitio Martini que corresponde al disolvente representa a un cúmulo de cuatro moléculas de agua.

modelo. Como se explica en la siguiente referencia [61], el mecanismo por el cual ocurre la transición bobina a glóbulo del pNIPAM con el incremento de la temperatura está íntimamente relacionado con la desorción cooperativa de las moléculas de agua de la superficie del polímero. A bajas temperaturas, las moléculas de agua rodean a los grupos acrilamida formando puentes de hidrógeno y luego estas se desprenden conjuntamente para favorecer el colapso de la cadena. Es necesario entonces, por principio de cuentas, utilizar un disolvente explícito en el modelo. Esto encarecerá el costo computacional, a diferencia de los modelos de disolvente implícito. Sin embargo, sin agua explícita no será posible capturar el mecanismo de plegado. Es necesario recordar que la mayor contribución entrópica del sistema proviene de las moléculas de agua, simplemente porque es la especie más abundante. Por otro lado, justo durante la transición, la energía libre de tránsito es cero, lo que implica que los cambios entrópicos igualan a los entálpicos divididos por la temperatura crítica. En otras palabras, la entropía juega un rol fundamental en el colapso del polímero y esta, a su vez, está dominada por el comportamiento del disolvente. Entonces, no hay forma de capturar la transición sin un modelo de agua explícita. Para el modelo Martini de agua explícita, una cuenta representa a cuatro moléculas de agua (cuatro átomos pesados).

Por último, de alguna forma debemos de capturar el efecto de los puentes de hidrógeno, ausentes por construcción (no hay átomos de hidrógeno) en un modelo de grano grueso, con cierta interacción intensa entre las cuentas de agua y el

grupo polar del monómero. Para ello se utiliza una cuenta especial que incluye cargas parciales, generando un dipolo orientable unido al centro geométrico del grupo **Nda**. Este tipo de cuentas fueron usadas por primera vez por Yesylevskyy *et al.* [69] para generar un modelo de agua polarizable⁶ para Martini, y la idea fue extendida a otros grupos moleculares por de Jong *et al.* [24]. A este tipo de cuentas se les agrega un par de sitios cargados con carga idéntica (parcial) pero signos opuestos, de tal forma que sus posiciones y la del centro geométrico de la cuenta se encuentran alineadas. Así mismo, la distancia entre un sitio cargado y el otro es el doble que la distancia de una carga al centro geométrico. Aún con estas restricciones, los sitios cargados pueden orbitar alrededor del centro geométrico de la cuenta polar, y así alinearse con el campo eléctrico local, tal cual lo haría un dipolo libre. Nuestro modelo utiliza esta adaptación para el grupo amida junto con el modelo de agua polarizable originalmente propuesto por Yesylevskyy *et al.*. Creemos que este ingrediente será necesario para suplir, de alguna forma, a los puentes de hidrógeno que se forman tanto entre el agua y el polímero como aquellos intramoleculares que ocurren entre diferentes monómeros del polímero.

Parametrización del modelo de grano grueso

Una vez que se tiene el mapeo completo, es necesario ajustar los valores de varios parámetros libres que afectan a su comportamiento. Para ello se comienza por proveerles de valores razonables para que sea posible generar la dinámica del sistema. Técnicamente, esto se logra a través de la generación de varios archivos de entrada requeridos por el motor de Gromacs, cuya preparación se detalla de forma extensiva en el manual de Martini. Aquí únicamente mencionaremos cómo se ajusta a nuestro caso.

Varios de estos parámetros libres tienen que ver con las posiciones relativas de equilibrio de las cuentas que se han definido. Estas posiciones se establecen a través de la definición de enlaces (que vinculan las posiciones de dos cuentas), ángulos (que vinculan las posiciones de tres cuentas), y ángulos diedros (que vinculan las posiciones de cuatro cuentas). Para ello, primero es necesario retomar el mapeo para definir las posiciones de los centros geométricos de las cuentas. Como se comentó con anterioridad, estos se localizan en el centro de masa del modelo átomo-por-átomo que agrupa a los átomos que componen a cada cuenta. Se definen entonces las posiciones de las cuentas en el modelo átomo-por-átomo, haciendo uso de la herramienta `gmx-traj` de Gromacs y códigos propios⁷ para

⁶En el caso del agua, las cargas parciales pueden moverse libremente alrededor del centro de la cuenta y generar un dipolo variable. En cambio, para la cuenta **Nda**, las cargas parciales se encuentran fijas en las posiciones que corresponderían aproximadamente a los átomos de oxígeno y nitrógeno, por lo que se genera un dipolo fijo pero orientable.

⁷Usamos *scripts* de FORTRAN para estas tareas, pero se puede utilizar cualquier otro lenguaje de

la generación de archivos de índice. Así, las trayectorias atomísticas también nos brindan información acerca de las posiciones que deberían ocupar nuestras cuentas del modelo de grano grueso. Entonces, la parametrización tendrá un objetivo claro, reproducir el comportamiento de los centros de masa de los grupos definidos en las simulaciones de grano grueso.

Es necesario definir un polímero de grano grueso similar al simulado con el detalle atomístico, es decir, una cadena formada por 30 monómeros. Otra vez, se hace uso de un programa casero para llevar generar los ficheros de estructura (.gro) y topología (.top) de entrada a Gromacs. El código replica al monómero en una celda de simulación vacía tantas veces como se le indique (30 en este caso) mientras genera los enlaces, ángulos y diedros contemplados por el modelo. En nuestro caso, la topología utiliza únicamente enlaces del tipo 1 (un potencial armónico), con la forma

$$V_b(r_{ij}) = \frac{1}{2}K_{ij}^b(r_{ij} - b_{ij})^2, \quad (4.3)$$

donde K_{ij}^b es una constante de fuerza, r_{ij} es la distancia entre los sitios i y j enlazados, y b_{ij} es la distancia de equilibrio (no hay aporte energético cuando $r_{ij} = b_{ij}$). Nótese que esta contribución a la energía potencial es siempre positiva.

Las interacciones angulares se dan en términos de las tres partículas involucradas. También se utiliza un potencial armónico pero basado en el coseno del ángulo (que es menos costoso computacionalmente al evitar incluir el arc cos del ángulo θ en cálculo de la fuerza) y toma la forma (tipo 2)

$$V_a(\theta_{ijk}) = \frac{1}{2}K_{ijk}^\theta(\cos(\theta_{ijk}) - \cos(\theta_{ijk}^\theta))^2, \quad (4.4)$$

donde θ_{ijk} es el ángulo que forman las cuentas i , j y k , y donde j se encuentra enlazada a los sitios i y k . Aquí, K_{ijk}^θ es la constante de fuerza y θ_{ijk}^θ es el ángulo de equilibrio (la expresión es análoga a la ecuación 4.3).

Al igual que los campos de fuerza atómicos, en Martini también es posible definir potenciales que son función de ángulos diedros. En este caso se utiliza una función tipo Ryckaert-Bellemans definida como:

$$V_{rb}(\phi_{ijkl}) = \sum_{n=0}^5 C_n(\cos(\phi_{ijkl}))^n, \quad (4.5)$$

donde ahora el ángulo involucra a la posición de cuatro sitios, los i , j , k y l , donde i y j , j y k , y k y l forman enlaces y el enlace central vincula a j y a k . El ángulo diedro ϕ_{ijkl} es aquel formado por los planos que contienen a los sitios i , j , k , y j ,

programación. El tutorial en línea de Martini incluye algunos ejemplos programados en PYTHON

k, l . El potencial es un polinomio de grado 5 del $\cos(\phi_{ijkl})$, cuyos coeficientes C_n son parámetros de ajuste.

Como puede observarse de las ecuaciones (4.3), (4.4) y (4.5), el número de parámetros libres que debemos ajustar es grande, teniendo en cuenta que hay que definir varios enlaces para el monómero de NIPAM. Además, a estos parámetros es necesario sumarle las cargas parciales y la distancia que conforman el dipolo de la cuenta **Nda**. Para reducir el número de parámetros libres, las distancias de enlace, b_{ij} de la ecuación (4.3), se determinan directamente de las distancias promedio que aparecen entre los centros de masa definidos en las simulaciones atomísticas. Lo mismo aplica para los ángulos de equilibrio θ_{ijk}^θ que aparecen en la ecuación (4.4): se miden los promedios y se trasladan los valores al modelo de grano grueso. Además, como una primera aproximación, las constantes de fuerza K_{ij}^b y K_{ijk}^θ se hacen iguales a las sugeridas por el tutorial Martini. Por último, ha sido necesario definir únicamente una interacción del tipo Ryckaert-Bellemans en el monómero de NIPAM que involucra al grupo amida.

Las interacciones del tipo no enlazante aplican de forma muy similar en todos los campos de fuerza. Físicamente corresponden a las interacciones coulómbicas, de van der Waals y de repulsión de corto alcance⁸. La contribución electrostática viene dada por

$$V_{\text{Col}}(r_{ij}) = f \frac{q_i q_j}{\epsilon_r r_{ij}}, \quad (4.6)$$

donde $f = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} = 138.935458 \text{ KJ mol}^{-1} \text{ nm e}^{-2}$, ϵ_0 y ϵ_r son las permitividades del vacío y la relativa del medio, respectivamente, q_i y q_j son las cargas parciales de los sitios i y j , y r_{ij} es la distancia que los separa. Inicialmente fijamos los valores de las cargas parciales del sitio **Nda** a 0.45 (y -0.45) y la distancia entre los mismos la fijamos a 0.26 nm. Existen varios métodos para estimar las cargas parciales y hemos tomado unos valores intermedios a estos resultados. Además, la separación de 0.26 nm corresponde aproximadamente a la distancia existente entre el oxígeno y el nitrógeno de la amida del monómero. Los parámetros iniciales deben tener valores razonables, pero estos se irán ajustando para lograr que el modelo se comporte lo más similar posible al modelo atomístico, por lo que no es crítico definirlos con precisión en esta etapa.

Las contribuciones repulsivas de corto alcance y dispersivas de largo alcance se modelan con un potencial de Lennard-Jones 12-6 (LJ) estándar, que se puede escribir de la forma

$$V_{\text{LJ}}(r_{ij}) = \frac{C_{ij}^{(12)}}{r_{ij}^{12}} - \frac{C_{ij}^{(6)}}{r_{ij}^6} \quad (4.7)$$

⁸También conocida como repulsión de Pauli que sigue su principio de exclusión de las nubes electrónicas.

donde $C_{ij}^{(12)}$ y $C_{ij}^{(6)}$ son parámetros que se incluyen en el campo de fuerza Martini y vienen definidos para cada tipo de sitio. A su vez, las interacciones cruzadas se determinan a partir de las siguientes reglas de combinación

$$\begin{aligned} C_{ij}^{(6)} &= \left(C_{ii}^{(6)} C_{jj}^{(6)} \right)^{1/2} \\ C_{ij}^{(12)} &= \left(C_{ii}^{(12)} C_{jj}^{(12)} \right)^{1/2} \end{aligned} \quad (4.8)$$

con $C_{ii}^{(6)} = 4\epsilon_{ii}\sigma_{ii}^6$ y $C_{ii}^{(12)} = 4\epsilon_{ii}\sigma_{ii}^{12}$, donde ϵ_{ii} es la profundidad del potencial y σ_{ii} la distancia de equilibrio para las interacciones directas entre sitios iguales. Nótese que es posible reescribir la ecuación (4.7) de la siguiente forma

$$V_{LJ}(r_{ij}) = 4\epsilon_{ij} \left(\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right), \quad (4.9)$$

tal como es más habitual de encontrar en la literatura.

Al igual que para las simulaciones atomísticas, se procede a solvatar a la cadena de 30 monómeros del modelo de grano grueso. Luego se procede a relajar el sistema utilizando el mismo algoritmo que minimiza la energía y evita la aparición de fuerzas excesivas sobre las cuentas. De esta forma se logra generar, además de la topología, un archivo *.gro* que contiene las posiciones de todos y cada uno de los sitios definidos y que a su vez, es apto como condición inicial para realizar una primera simulación numérica estable. Dado que nos enfocaremos en la respuesta termoresponsiva de nuestro modelo, todas las simulaciones se realizarán a las temperaturas de 283 K y 323 K, por debajo y por encima de la temperatura crítica T_c (≈ 305 K). El modelo deberá mostrar radios de giro amplios a baja temperatura y compactos a elevada temperatura, y además, similares a los obtenidos mediante las simulaciones átomo-por-átomo. Previo a las simulaciones formales, los sistemas se termalizan durante 50 ns en la colectividad canónica y luego se realizan simulaciones de 200 ns de duración en la colectividad isotérmica-isobárica. Las constantes de acoplamiento para la presión y la temperatura son $\tau_p = 3.0$ ps y $\tau_t = 1.0$ ps, respectivamente. El paso de tiempo utilizado es de 20 fs⁹. La celda de simulación tiene forma dodecaédrica y se le aplican condiciones de borde periódicas en todas las direcciones, satisfaciendo que la imagen más cercana

⁹Esto es entre 10 y 20 veces mayor al utilizado en simulaciones atomísticas! El paso de tiempo se ajusta para mantener la energía razonablemente constante al realizar simulaciones en la colectividad NVE, a energía constante. A su vez, esta condición se logra cuando es posible seguir en el tiempo el movimiento de los átomos más livianos del modelo. Para el caso átomo-por-átomo, quienes limitan el paso de tiempo son los átomos de hidrógeno que poseen una masa muy inferior a la de sus vecinos. Esto no ocurre en las simulaciones de grano grueso donde las cuentas presentan masas similares.

no se encuentre a una distancia inferior a 7 nm. Las interacciones electrostáticas se calculan haciendo uso de las sumas de Ewald y el método SPME, con radios de corte idénticos a las simulaciones atomísticas, 1.2 nm. Para las interacciones de van der Waals, el potencial de LJ se modifica en la región de 0.9 a 1.2 nm para que decaiga a cero (de esta forma se conserva mejor la energía en la colectividad microcanónica, NVE). Además, la permitividad dieléctrica relativa del medio se considera igual a 2.5^{10} .

Las trayectorias obtenidas con el modelo de grano grueso con el motor de dinámica molecular de Gromacs se analizan para obtener diferentes promedios, que podremos comparar con aquellos correspondientes al modelo atomístico. De esta forma comienza un arduo trabajo de ajuste de los parámetros con el objetivo de reproducir de la mejor forma posible la transición glóbulo-bobina del pNIPAM. Para este propósito, nos enfocamos principalmente en dos aspectos centrales del comportamiento de la cadena de polímero: el radio de giro y las funciones de distribución radial. El primero, así como otras propiedades relacionadas como lo son la distancia punta a punta y el área expuesta al disolvente, son cantidades que fluctúan en el tiempo. Además, dado que comenzamos las simulaciones siempre con una conformación del tipo bobina (estirada), el radio de giro debe fluctuar pero mantenerse estable a la temperatura de 283 K, mientras que debe de reducirse fuertemente a la temperatura de 323 K. Por su parte, las funciones de distribución radial ($g(r)$) y las diferentes funciones de densidad de probabilidad (PDFs) también son función de la temperatura dado que son afectadas por la transición. Estas distribuciones se obtienen con las herramientas de Gromacs `gmx rdf` y `gmx angle`, y permiten comparar directamente los comportamientos de los dos modelos.

La figura 4.2 compara las $g(r)$ y PDFs de ambos modelos que se obtienen para una de las primeras rondas de ajustes de los parámetros. Como puede observarse, todos los máximos se encuentran desplazados tanto en posición como en altura. Como las $g(r)$ dan información acerca de la distribución espacial de las partículas de un tipo que rodean a las de otro tipo, incluye tanto a las interacciones enlazantes como las no enlazantes. Sin embargo, las contribuciones enlazantes y las de corto alcance afectan sobre todo a los primeros picos de las distribuciones y las de largo alcance al comportamiento a valores de r mayores.

Para partículas enlazadas aparecen picos en la $g(r)$ localizados aproximadamente a valores $r = nb_{ij}$, donde n es un número entero positivo y b_{ij} es la longitud de enlace. La altura de estos picos decrece con n . Además de estos picos, aparecen otros que están vinculados a los mínimos del potencial LJ, y que dependen de

¹⁰El campo de fuerza Martini aconseja este valor para que el modelo de agua reproduzca de mejor forma al agua real. Para las simulaciones atomísticas que incluyen modelos de agua mucho más detallados este valor es 1.

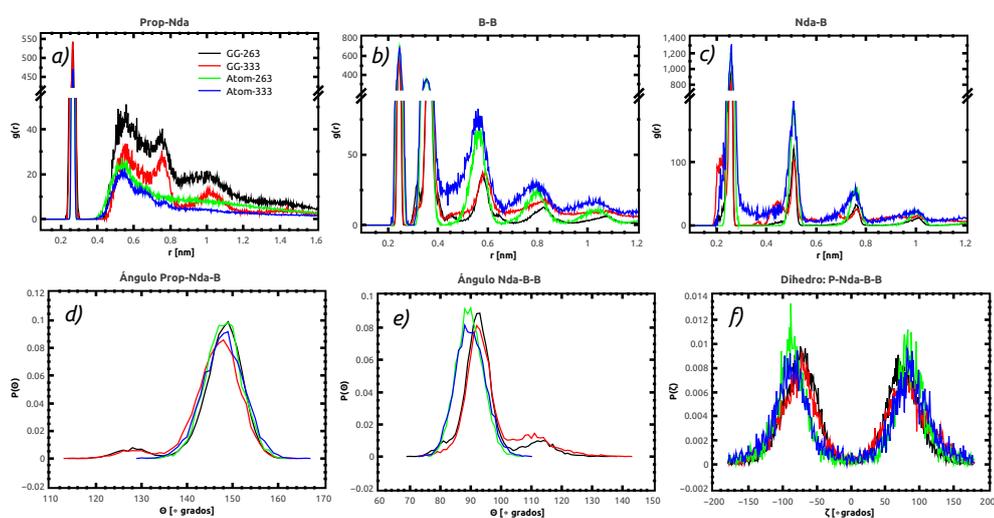


Figura 4.2: Comparación de las funciones de distribución radial, $g(r)$, y de las diferentes tipos de funciones de densidad de probabilidad, PDFs, entre los modelos atómico y de grano grueso. En todos los casos, las líneas negras y rojas corresponden al modelo de grano grueso a las temperaturas de 283 K y 323 K, respectivamente. Las líneas verdes y azules corresponden al modelo atómico para las temperaturas de 283 K y 323 K, respectivamente. Los paneles a), b) y c) comparan las $g(r)$ para los pares de sitios **Prop-Nda**, **B-B**, y **Nda-B**. Los paneles d), e) y f) corresponden a las PDFs para los ángulos formados entre los sitios **Prop-Nda-B**, **Nda-B-B**, y el diedro **Prop-Nda-B-B**.

su profundidad. Sin embargo, estos son menos altos y menos agudos, y además, son influenciados por las complejas interacciones presentes de varios cuerpos. Al incrementar los valores de r todas las contribuciones afectan de una forma no trivial produciendo un comportamiento de la $g(r)$ difícil de analizar.

Las PDFs definidas para un ángulo en particular muestran la probabilidad de que éste tome un valor dado en cierto intervalo¹¹. Se observa que las funciones armónicas basadas en el coseno del ángulo se ajustan bastante bien para algunas interacciones, como en el caso del ángulo definido por los sitios **Prop-Nda-B** (ver el panel b) de la figura 4.2). Para este caso, el ángulo de equilibrio se encuentra alrededor de 160° y se ha ajustado una constante de fuerza lo suficientemente pequeña para permitir que el ángulo produzca valores menores a 120° . Sin embargo, algunos ángulos presentan más de un máximo en la distribución, como resultado de las complejas interacciones entre los muchos átomos definidos en el modelo atomístico —lo que complica las cosas—. Tal es el caso del ángulo formado por los sitios **Prop-B-B**, que involucra a la unión entre dos monómeros consecutivos de la cadena (ver el panel e) de la figura 4.2). En tales casos, cambiamos la interacción armónica por un potencial cuártico de la forma

$$V_q(\theta_{ijk}) = \sum_{n=0}^5 C_n (\theta_{ijk} - \theta_{ijk}^0)^n, \quad (4.10)$$

donde se remplazan los dos parámetros de ajuste K_{ijk}^θ y θ_{ijk}^θ por los cuatro parámetros de ajuste C_n .

Una vez ajustados los parámetros, se vuelve a simular el sistema formado por el modelo de grano grueso. Esto se repite de forma iterativa hasta que las funciones $g(r)$ y PDFs se ajustan lo mejor posible a las obtenidas mediante simulaciones atomísticas. A su vez, para cada iteración, verificamos que el polímero muestre la conformación correcta para la temperatura establecida y que se conserve la energía en la colectividad microcanónica. Los parámetros finales se dan en forma de tablas en la sección de resultados.

Dinámica molecular de intercambio de réplicas (REMD)

La dinámica molecular de intercambio de réplicas (REMD en inglés) es una técnica utilizada para facilitar que se alcance el equilibrio en sistemas que presentan un perfil montañoso de energía libre. Esto es, existen mínimos locales de energía en los que el sistema puede quedar atrapado y para transitar entre ellos debe superar una barrera de energía. En nuestro caso, el polímero debe ser capaz de cambiar su conformación, y para ello debe atravesar ciertos máximos de energía libre en

¹¹La probabilidad es la integral de la curva para un intervalo establecido. La integral sobre todo el dominio debe ser la unidad.

el espacio configuracional; la frecuencia con la que ocurren estas transiciones es baja. Para implementar REMD, otra vez, hacemos uso del motor de Gromacs que proporciona la opción para desarrollar este tipo de cálculos.

La técnica hace uso de la definición de N_r réplicas en paralelo, cada una muestrea una colectividad isotérmica-isobárica a diferentes temperaturas. Cada determinado número de pasos se realiza un intento de intercambio entre dos réplicas adyacentes. Si se cumplen ciertas condiciones —que veremos en el siguientes párrafo— se acepta el intercambio y las configuraciones cambian de colectividad¹². De esta forma, una configuración tipo bobina a baja temperatura, por ejemplo, podría subir de temperatura y así cambiar a una configuración globular. Lo mismo podría ocurrir con una configuración globular, que al explorar el espacio fase a una temperatura menor, podría pasar a una configuración tipo bobina. Al imponer ciertas reglas a estos movimientos se preserva la condición de balance detallado, lo que asegura no romper el equilibrio del conjunto total de réplicas, si es que ya el conjunto de estas lo ha alcanzado previamente. De todas formas, al igual que en las dinámicas convencionales, no hay garantía de alcanzar el equilibrio al partir de un conjunto de réplicas fuera del equilibrio. Sin embargo, la convergencia hacia el equilibrio es más rápida al implementar esta técnica.

La condición para la aceptación del intercambio entre dos réplicas vecinas 1 y 2 es la siguiente:

$$P(1 \rightarrow 2) = \min \left(1, \exp \left[(\beta_1 - \beta_2) (U_1 - U_2) + (\beta_1 P_1 - \beta_2 P_2) (V_1 - V_2) \right] \right), \quad (4.11)$$

donde $\beta = 1/(k_B T)$ y P son la temperatura recíproca y la presión, k_B es la constante de Boltzmann, U es la energía potencial y V es el volumen. En la expresión (4.11), los subíndices 1 y 2 hacen referencia a las condiciones termodinámicas de las respectivas colectividades, para las variables β y P , y a las correspondientes réplicas para las variables U y V . En nuestro caso $P_1 = P_2 = 1$ bar, en todo momento, por lo que la expresión (4.11) se simplifica un poco.

De la expresión (4.11) se observa que la probabilidad de aceptar un intento de intercambio es 1 siempre que, a presión constante, $U_1 \geq U_2$ cuando $T_1 < T_2$ (las temperaturas de las colectividades están fijas). En caso contrario, para $U_2 > U_1$, la probabilidad de aceptación decrece con la diferencia $U_2 - U_1$ y también con la diferencia $\beta_2 - \beta_1$. Por este motivo es necesario establecer temperaturas suficientemente cercanas entre las diferentes colectividades para tener tasas de aceptación razonables (por norma general entre 0.2 y 0.3) [50]. También es importante notar que al incrementar el tamaño del sistema, también se incrementan, en general, las diferencias de energía $U_2 - U_1$. Esto ocurre simplemente porque la energía es una propiedad extensiva, y trae como consecuencia que al incrementar el tamaño del

¹²Nótese que intercambiar la temperatura entre dos réplicas es equivalente a intercambiar la configuración de dos sistemas a temperatura adyacente

sistema se reducen las tasas de aceptación. Por ello, a mayor tamaño de sistema, mayor deberá ser el número de colectividades a muestrear (mayor N_r).

A presión constante, el segundo sumando dentro de la exponencial de la ecuación (4.11) suele ser despreciable con respecto al primero. De todas formas el cálculo se lleva a cabo con ambos sumandos, dado que es posible que afecte cuando la diferencia de energías sea muy pequeña. También es posible que una fluctuación en la densidad (que provoque una diferencia de volúmenes relativamente importante) haga necesario evaluar a la expresión (4.11) teniendo en cuenta ambos sumandos. Entonces, dado que el primer término es el dominante en la probabilidad de aceptación de la mayoría de los intentos de intercambio, es muy importante establecer la ventana de temperaturas y un número de réplicas que resulte en una tasa de aceptación razonable. En nuestro caso, hemos establecido la ventana de temperatura desde $T_{\text{baja}} = 273$ K a $T_{\text{alta}} = 323.8$ K, y el número de réplicas $N_r = 25$. Para las temperaturas intermedias, se suele seguir una progresión geométrica, lo que tiende a generar tasas de aceptación uniformes entre los diferentes pares de colectividades. La progresión se expresa matemáticamente de la siguiente manera,

$$T_i = T_{\text{baja}}(T_{\text{alta}}/T_{\text{baja}})^{i/N_r-1}, \quad (4.12)$$

donde i va de 0 a $N_r - 1$ y T_i es la temperatura de la colectividad i . Los intentos de intercambios de réplica se realizan una vez cada 500 pasos.

Una vez obtenido el modelo de grano grueso termosensible y reversible, también verificamos su escalabilidad. Para ello realizamos simulaciones de este tipo (REMD) para cadenas de 30, 35 y 40 monómeros, y comparamos los resultados y la temperatura crítica de transición bobina glóbulo obtenida en cada caso.

Finalmente, construimos una especie de membrana hecha con varias cadenas de polímero (30-meros) dispuestas en un arreglo tridimensional (similar a lo descrito en la subsección 4.1.4 para las simulaciones de pNIPAM del tipo atomístico). En este arreglo, las cadenas principales de los 30-meros se encuentran alineadas con el eje z de una caja prismática, con lados en las direcciones x e y de menor tamaño, $L_x = L_y < L_z$. La membrana cuenta con un par de capas, y en cada una de estas las cadenas forman un arreglo cuadrado de 3x3 vistos en el plano xy . Los arreglos 3x3 de cada capa se desfasan en xy y se traslapan en la dirección z , de tal forma que se genera en esta región de traslape una mayor densidad (el doble) que en los lados alejados del centro de la membrana. La Figura 1 del primer artículo del apéndice A muestra el arreglo. La membrana se simula a dos temperaturas, 288 K y 323 K, por debajo y encima de la crítica, 305 K, respectivamente.

4.1.3. Energía libre de solvatación y coeficientes de difusión

Una forma alternativa a las simulaciones de grano grueso para escalar el sistema y así abordar el estudio de la encapsulación, su equilibrio, y la dinámica de carga y descarga, es a través de cálculos teóricos. Como hemos mencionado, se hará uso de la teoría del funcional de la densidad dinámico (DDFT). Esta teoría depende de parámetros de entrada como lo son la interacción efectiva entre las cadenas de microgel y el cosoluto, así como del coeficiente de difusión del cosoluto. Ambos parámetros son, en principio, función de la temperatura y la densidad polimérica. En este apartado describiremos las simulaciones de dinámica molecular átomo-por-átomo¹³ que utilizaremos para obtener dichas funciones.

Tanto para el cálculo de la energía libre de solvatación como del coeficiente de difusión, es necesario partir de un sistema de polímero en agua sin interfaces. Además, como queremos evaluar las mencionadas propiedades termodinámicas y dinámicas como función de la concentración de polímero, tendremos que preparar varias cajas de simulación. En el siguiente apartado describiremos cómo obtenemos estas condiciones iniciales que, como se explicó, son comunes para la determinación de ambas propiedades. Como siempre, utilizaremos la última versión disponible del paquete Gromacs [59].

Preparación del sistema

Realizaremos simulaciones de un seno¹⁴ de hidrogel. Como se ha mencionado previamente, los hidrogeles muestran una transición volumétrica con la temperatura, lo que implica cambios en la fracción de volumen ocupado por las cadenas del polímero. Además, al modelar teóricamente una partícula de nanogel, existen regiones del espacio donde la fracción de volumen ϕ_m del polímero cambia con la posición: las interfaces. Dado que las propiedades termodinámicas (como la energía libre de solvatación) y las dinámicas (como el coeficiente de difusión), dependen de la concentración polimérica, necesitamos preparar varios sistemas de la mezcla pNIPAM en agua, a diferentes concentraciones. La energía libre de solvatación de una molécula se define como el trabajo reversible necesario para llevarla desde el vacío hasta el seno de la mezcla. A su vez, este trabajo depende de las interacciones entre la molécula y el medio (en el vacío no hay interacción). La

¹³Necesitamos determinar estas cantidades con precisión, por lo que preferimos utilizar el modelo detallado. Los modelos de grano grueso no reproducen correctamente las propiedades dinámicas.

¹⁴En inglés se suele utilizar la palabra *bulk*, que se define como una masa basta y continua que no está dividida en partes. En español se traduce por **seno**, aunque su acepción más cercana a lo que nos referimos en el Diccionario de la Lengua Española es «parte interna de algo». Por practicidad, definiremos **seno** como la parte interna de una sustancia en la región lejos de paredes o interfaces, donde sus propiedades son continuas en cualquier dirección.

diferencia entre las energías libres de solvatación de una molécula en dos medios diferentes produce la energía libre asociada a la remoción de la molécula solvatada en el primer medio y trasladada al seno del segundo. Esta última cantidad es la que necesitamos calcular, y depende tanto de las interacciones de la molécula con el primer medio como con el segundo. Tomaremos como referencia el seno de agua pura, y el sistema objetivo será el pNIPAM hidratado a cierta concentración. Naturalmente, la diferencia de energía libre debe aumentar con la concentración de pNIPAM. A su vez, se espera un decaimiento en el coeficiente de difusión de las moléculas al incrementar la concentración de pNIPAM, dado que este también depende de la compleja interacción molécula-medio. El rango de fracción de volumen ocupado por las cadenas de polímero, o por los monómeros que la componen, ϕ_m , será de 0.00 a 0.48. Es necesario decir que el pNIPAM se encuentra siempre hidratado, aún en el caso colapsado.

Independientemente del valor de ϕ_m siempre seguimos el mismo procedimiento. Definimos una caja de simulación cúbica y vacía de 6 nm de lado, donde se inserta una cantidad de cadenas de 30-meros del modelo atómico suficiente para producir la fracción de volumen ocupado objetivo. Luego se solvata al sistema, con el modelo SPC/E de agua¹⁵, y se termaliza durante 50 ns en la colectividad macrocanónica seguidos de otros 50 ns en la isotérmica-isobárica a la temperatura objetivo y a 1 bar. Se mide la fracción de volumen final de polímero y, si fuera necesario, se agrega o remueve agua para ajustar (en dado caso se vuelve a termalizar).

Las simulaciones se desarrollan con el modelo atómico para tomar en cuenta las complejas interacciones que ocurren entre todos los átomos, incluyendo los puentes de hidrógeno. El modelo utilizado es el mismo que hemos usado con anterioridad¹⁶, y que nos ha brindado buenos resultados. Es decir, se utiliza el campo de fuerza OPLS-AA y el modelo de agua SPC/E. Al igual que en ocasiones anteriores, utilizamos la colectividad isotérmica-isobárica y un paso de tiempo de 1 fs. Se utiliza el barostato de Berendsen y el algoritmo de rescalamiento de velocidades para mantener la presión y temperatura objetivos, respectivamente. El tiempo de acoplamiento para el barostato y el termostato es de $\tau_t = 0.1$ ps. Las temperaturas objetivo son de 288 K y 323 K, y la presión se mantiene en 1 bar en todos los casos. Para realizar simulaciones de cualquier medio continuo es necesario imponer condiciones de frontera periódicas en todas las direcciones con el fin de minimizar los efectos de borde, y eso es lo que se ha hecho. Las diferentes fracciones de volumen que se han considerado son: $\phi = 0.00, 0.07, 0.17,$

¹⁵En este caso decidimos cambiar de modelo de agua, simplemente porque se pretende reproducir algunos valores de referencias importantes que lo usan [25, 26, 27]. Aún así, no esperamos que el modelo de agua afecte los resultados de forma importante.

¹⁶Cabe mencionar que no todos los modelos atómicos capturan correctamente la transición glóbulo-bobina del pNIPAM.

0.19, 0.23, 0.28, 0.36, 0.44 y 0.48. Estas cajas de simulación, ya termalizadas a las condiciones termodinámicas objetivo, servirán de condiciones iniciales para las siguientes simulaciones.

Energía libre de solvatación

Se hace uso del método del cociente de aceptación de Bennet (BAR, su siglas en inglés) para realizar los cálculos de energía libre de solvatación de varios cosolutos: metano, metanol, fenol y 5-fluorouracilo (5FU). Los dos primeros son pequeños y presentan diferente polaridad y afinidad por el agua, luego el fenol es relativamente pequeño y polar pero tiene un tamaño mayor al metanol, y finalmente, el 5FU es una droga de carácter polar de amplio uso en tratamientos anticancerígenos.

Como se comentó, nos interesa calcular la energía libre asociada a la transferencia de una molécula de cosoluto desde el seno de agua al seno de la mezcla pNIPAM-agua. Esta energía viene dada por

$$\Delta G_{AB} = \Delta G_{Sol,B} - \Delta G_{Sol,A} \quad (4.13)$$

donde $\Delta G_{Sol,B}$ y $\Delta G_{Sol,A}$ son las energías libres de solvatación a presión constante en el medio B (pNIPAM hidratado) y A (agua). Nótese que la incertidumbre en la determinación de ΔG_{AB} es la suma de las incertidumbres en las determinaciones de $\Delta G_{Sol,B}$ y $\Delta G_{Sol,A}$, por lo que determinar con buena precisión $\Delta G_{Sol,A}$ es muy importante, dado que afectará a todas las energías libres de transferencia.

Debido a que la probabilidad de éxito de insertar una molécula en un seno denso de fluido es baja, usamos el camino inverso, es decir, calculamos el trabajo reversible de remover una molécula de cierto seno y llevarla al vacío, y luego invertimos el signo¹⁷. Entonces, antes de realizar el cálculo es necesario realizar un paso previo, esto es, necesitamos incluir las moléculas que van a ser removidas. Aquí la idea es que la remoción de una molécula no sea afectada por la presencia de otras. Lo ideal, entonces, sería incluir una única molécula. Sin embargo, este proceder da lugar a una pobre estadística que impacta fuertemente en la incertidumbre de las determinaciones. Por otro lado, insertar varias moléculas mejora la estadística pero introduce una desviación sistemática dado que el medio ya no tiene la composición objetivo, es otro, y está alterado por la presencia de estas moléculas. Se ha decidido incluir 15 moléculas para los tipos más pequeños, y 5 u 8 para los dos cosolutos más grandes. Sin embargo, con el objetivo de minimizar la influencia de estas moléculas sobre las otras, se insertan intentando de maximizar las distancias entre ellas.

¹⁷Esto es posible ya que en este caso el trabajo es reversible; insertar o remover una partícula tiene el mismo valor absoluto per con signo opuesto.

El método implica la definición de dos topologías, una inicial y una final, así como las topologías de varios estados intermedios. Cada uno de estas topologías se simula de forma independiente siguiendo una dinámica estocástica y cada punto debe de encontrarse en equilibrio. Un nuevo parámetro, λ , denominado de acoplamiento y que toma valores entre cero y uno, conecta a los estados inicial y final a través de la serie de estados que presentan valores intermedios de λ . A su vez, λ afecta al campo de fuerza y a la energía cinética del sistema y así a la interacción entre las moléculas de cosoluto y el seno de hidrogel. La derivada parcial del Hamiltoniano del sistema con respecto a λ se calcula para cada valor de λ , esto es, para cada uno de los diferentes estados intermedios. Utilizando la herramienta `gmx bar` de Gromacs, se calcula el promedio pesado de la diferencia de los Hamiltonianos entre los estados adyacentes, que iguala a la probabilidad de aceptación de la transición entre estos estados. En nuestro caso, al estado inicial se le asigna el valor $\lambda = 0$ y corresponde al seno de hidrogel que contiene las moléculas de cosoluto disperso (todas las interacciones encendidas). Por otro lado, el valor $\lambda = 1$ es asignado al sistema final, donde se han removido las moléculas de cosoluto (la interacción del cosoluto con el resto del sistema se encuentra apagada). De esta forma, la energía libre de solvatación que viene dada por la integral

$$\Delta G_{sol} = - \int_0^1 \left\langle \frac{\partial H}{\partial \lambda} \right\rangle_{NPT} d\lambda, \quad (4.14)$$

se calcula como una suma de contribuciones dadas por las diferencias de los puntos intermedios, donde H es el Hamiltoniano del sistema.

Tanto las contribuciones electrostáticas como las de tipo LJ se desacoplan de forma independiente a lo largo de estos 47 diferentes puntos. Las interacciones electrostáticas son las primeras en desacoplarse (24 puntos) y le siguen las del tipo LJ (los restantes 23) ¹⁸ tomando en cuenta la referencia del seno de hidrogel sin cosoluto. Este desacoplamiento se da de forma suave, donde λ varía desde 0.0 a 1.0 con incrementos fijos de 0.043. La parcial del Hamiltoniano solo se calcula para simulaciones con valores de λ que difieren en 0.043. Nótese que cuando $\lambda \rightarrow 1$ y las moléculas de cosoluto se encuentran próximas a desaparecer, el potencial LJ puede dar lugar a divergencias para $r \rightarrow 0$, lo que genera inestabilidades numéricas. Para evitar este problema, se sustituye el potencial LJ por interacciones suaves para los núcleos de los átomos y así evitar fluctuaciones de las medidas [59]. El archivo de opciones de dinámica molecular de Gromacs (.mdp) incluye opciones para definir las interacciones suaves, mediante: *sc-alpha* que se fija en 0.5 con un exponente *sc-power* de 1.0, y un diámetro *sc-sigma* de 0.3 (este diámetro en realidad es $(C_6/C_{12})^{1/6}$) [59]. No es necesario utilizar esta transformación del potencial para

¹⁸El último punto de desacoplamiento de las interacciones electrostáticas es igual al primer punto de desacoplamiento de LJ, por lo que no tiene sentido duplicar este punto y se descarta.

las interacciones de tipo electrostáticas, dado que cuando desaparecen aún están las interacciones LJ completas. Las simulaciones de producción se realizan abarcando 3 ns sobre los sistemas ya termalizados. Esta termalización, que involucra insertar a las moléculas de cosoluto y relajar el sistema, se realizan durante 500 ps en las colectividades NPT y NVT.

Coefficiente de difusión

Además de determinar los cambios de energía libre asociados a desplazar reversiblemente a una molécula de cosoluto desde el seno de agua al seno de polímero como función de la concentración polimérica, también necesitamos determinar el coeficiente de difusión para poder llevar a cabo los cálculos teóricos DDFT. Para ello se realizan simulaciones donde se siguen las trayectorias de las partículas de cosoluto a partir de las cuales se calcula el desplazamiento cuadrático medio (MSD), siguiendo la relación de Einstein $MSD = \lim_{t \rightarrow \infty} \langle \|r_i(t) - r_i(0)\|^2 \rangle_{i \in A} = 6D_A t$, donde r_i es el vector desplazamiento de la partícula i de la especie A al tiempo t . En este caso, nos enfocaremos únicamente en el cosoluto fenol. La razón para limitarnos a un único cosoluto tiene que ver con que estos cálculos consumen mucho poder de cómputo, dado que se necesita explorar ventanas temporales cercanas al microsegundo. Además, elegimos al fenol porque, por un lado, es una molécula relativamente pequeña y eso reduce la ventana de tiempo por cubrir, y por otro, cuenta con un anillo aromático como el 5FU.

El punto de partida de este tipo de simulación es el mismo que para los cálculos de energía libre: el seno de hidrogel de diferente fracción de volumen ocupado. A estas cajas les insertamos 8 moléculas de fenol, al azar y separadas entre sí para evitar su interacción directa.

A estos sistemas se los termaliza durante 10 ns para llevarlos a sus temperaturas y presión objetivo, 298 K y 343 K a 1 bar. Al igual que antes, la presión y la temperatura se mantienen en sus objetivos haciendo uso del barostato y termostato de siempre, y utilizando sus mismos parámetros. También se usan los mismos parámetros y métodos para las sumas de Ewald, incluyendo los radios de corte. Con el paso de tiempo usual, 1 fs, las simulaciones de producción se corren por 1 μ s haciendo uso de la colectividad microcanónica y removiendo los desplazamientos del centro de masa de la caja. Dado que estas simulaciones largas generan mucha información, únicamente se guardan las trayectorias de los centros de masa de las moléculas de fenol. Luego, las trayectorias se analizan haciendo uso de la herramienta `gmx msd` de Gromacs, donde realiza un ajuste lineal a tiempos largos del MSD, de donde se obtiene el coeficiente de difusión, D .

4.1.4. Cargando a un hidrogel hueco

Finalmente, para validar los cálculos teóricos DDFT, se han realizado simulaciones de dinámica molecular del tipo átomo-por-átomo. La idea aquí es simple: si introducimos en la teoría DDFT la información de la energía libre y los coeficientes de difusión calculados con las simulaciones del modelo atomístico, deberíamos obtener los mismos resultados para la carga y descarga de un microgel (usando el mismo modelo). De obtener los mismos resultados, estaríamos validando los cálculos teóricos. Sin embargo, el lector atento ya habrá notado el problema; si fuese posible simular la carga y descarga de los microgeles con el modelo atomístico, ¿cuál es la necesidad de hacer cálculos teóricos? Podríamos, simplemente, olvidarnos de los cálculos DDFT. La respuesta a esta pregunta es: el tiempo de cálculo.

¿Es posible simular la carga del fenol al nanogel? La respuesta es un rotundo no. No disponemos del poder de cómputo necesario para hacerlo, y posiblemente no haya laboratorio en el mundo que lo tenga. ¿Qué se puede hacer, entonces? La intención ahora es simplificar el problema al máximo y así realizar cálculos DDFT y de simulación no en un nanogel, sino en un sistema representativo. Consideramos a una membrana que separa a un par de regiones del espacio, y que el cosolvente deba atravesar para igualar su potencial químico en ambos subespacios. Para ello se debe, por un lado, cambiar las ecuaciones DDFT para calcular en una geometría rectangular, en lugar de esférica. Por el otro, debemos generar una caja de simulación prismática donde una membrana de pNIPAM separe a las regiones de sección cuadrada que se encuentran a sus lados. Al colocar el fenol inicialmente a uno de los lados de la membrana, y manteniendo vacío en el otro, se podrá seguir la difusión de estas moléculas si se omiten las condiciones periódicas en la dirección perpendicular a la membrana.

De esta forma, podremos simular la carga del fenol en el hueco del hidrogel (representado por la parte situada a la izquierda de la membrana). Para ello, utilizaremos una membrana similar a la que ya hemos construido con anterioridad (ver figura 1 del primer artículo del apéndice A). Sin embargo, esta vez, cada cadena de polímero cuenta únicamente con 20 monómeros, y el arreglo es de 3 x 4 en lugar de 3 x 3. Se hidrata la membrana y se llena el resto de la caja con agua del modelo TIP4P. Se encienden las condiciones de borde periódicas en x e y , y se agregan paredes paralelas a las superficies de la membrana en $z=0$ y $z = L$, donde L es la altura del prisma (que se encuentra horizontal). De esta forma, la membrana representaría una pequeña porción de la pared de la partícula de microgel hueca, donde su cavidad queda separada del seno externo por esta. Se insertan las moléculas de fenol a la derecha de la membrana (pudo ser la izquierda, el sistema es simétrico hasta que rompemos esta condición con la posición inicial de las moléculas de fenol), y simulamos a condiciones de temperatura y presión

constantes. A medida que evoluciona el sistema, las moléculas de fenol difundirán a través de la membrana para llegar al otro lado para igualar su potencial químico. Se trata, evidentemente, de una simulación fuera del equilibrio.

Se utiliza el campo de fuerza OPLS-AA para el polímero y el fenol y el modelo SPC/E para el agua. Se realizan unas termalizaciones cortas de 20 ns para relajar al sistema sin dar tiempo a que los perfiles de fenol cambien. Las corridas de producción se llevan a cabo de forma indefinida para que el perfil del fenol avance lo que se pueda hacia el equilibrio con un paso de tiempo de 1 fs. Como veremos, no será posible alcanzarlo pero aún así, la información que se obtenga será de utilidad. Se analizarán los perfiles de polímero, disolvente y cosoluto en función del tiempo.

4.2. Teoría del Funcional de la Densidad Dinámico (DDFT)

Empleamos la teoría del funcional de la densidad dinámico (DDFT) para calcular la evolución temporal (por eso es dinámica) del perfil de la densidad de las especies químicas involucradas en la carga y descarga de cosoluto por las partículas de microgel. Los cálculos se implementan en un código híbrido C++/CUDA, para hacer uso tanto de las núcleos físicos del CPU como de los GPU (tarjetas gráficas). La teoría se describe en detalle en la referencia [2], y también viene dada en el cuarto artículo del apéndice A de esta Tesis. Sin embargo, en esta sección mencionaremos las bases para que la Tesis quede autocontenida.

La DDFT se basa en la ecuación de continuidad

$$\frac{\partial \rho_c(\mathbf{x}, t)}{\partial t} = -\nabla \cdot \mathbf{J}_c(\mathbf{x}, t), \quad (4.15)$$

que es una de las tantas formas de escribir la conservación de la materia. Aquí, $\mathbf{J}_c(\mathbf{x}, t)$ es el flujo vectorial del cargo (o cosoluto), c , que depende del tiempo, t , y la posición, \mathbf{x} . ∇ es el operador vectorial nabla, ρ_c es la concentración de cargo (número de partículas por unidad de volumen), y \mathbf{x} representa las coordenadas espaciales donde se está llevando a cabo el balance. Esta ecuación expresa que la acumulación temporal de partículas, término escalar a la izquierda, iguala al negativo del producto punto entre los vectores nabla y \mathbf{J}_c , que representan el balance de egreso e ingreso a las coordenadas \mathbf{x} .

Suponiendo un proceso Fickiano¹⁹, el flujo es proporcional al gradiente del potencial químico escalado por el recíproco de la temperatura, esto es

$$\mathbf{J}_c(\mathbf{x}, t) = -D_{ef}(\mathbf{x})\rho_c(\mathbf{x}, t)\nabla\beta\mu_c(\mathbf{x}, t), \quad (4.16)$$

¹⁹Aquel que cumple con la ecuación de difusión de Fick, ecuación 4.16.

donde $\beta = 1/k_B T$, k_B es la constante de Boltzmann, T es la temperatura, y la constante de proporcionalidad D_{ef} es el coeficiente de difusión efectivo de la especie c . Combinando las ecuaciones 4.15 and 4.16 se obtiene

$$\frac{\partial \rho_c(\mathbf{x}, t)}{\partial t} = -D_{\text{ef}}(\mathbf{x}) \rho_c(\mathbf{x}, t) \nabla \beta \mu_c(\mathbf{x}, t). \quad (4.17)$$

que es la ecuación que se implementa en forma de diferencias finitas en el código.

4.2.1. El funcional de la energía libre

Es necesario complementar la ecuación 4.17 con una expresión para calcular el potencial químico de la especie c para todo el espacio a un tiempo dado. Sin esta función, la ecuación 4.17 no nos es útil. Una forma de hacerlo es a través del funcional²⁰ de la energía libre del sistema en equilibrio local²¹, $\mathfrak{F}[\rho_c(\mathbf{x}, t)]$. Este se relaciona con el potencial químico a través de

$$\mu_c(\mathbf{x}, t) = \frac{\partial \mathfrak{F}[\rho_c(\mathbf{x}, t)]}{\partial \rho_c(\mathbf{x}, t)}. \quad (4.18)$$

donde se observa que el potencial químico en cierto punto del espacio a tiempo t depende de la función $\rho_c(\mathbf{x}, t)$ a través del funcional \mathfrak{F} . De hecho, depende de la derivada del funcional con respecto a la función $\rho_c(\mathbf{x}, t)$ ²². El supuesto fundamental de la teoría DDFT es justamente que la ecuación 4.18 sigue siendo válida para sistemas fuera del equilibrio, dadas las condiciones de equilibrio local. Esto implica que los campos externos deben ser constantes o relajarse mucho más rápidamente que la concentración de la especie c . En nuestro caso, el campo externo viene dado por la pared de la partícula del microgel. Esto es, se reemplaza el microgel por un campo²³. A continuación se plantea que el funcional tiene la forma:

$$\beta \mathfrak{F}[\rho_c(\mathbf{x}, t)] = \int \rho_c(\mathbf{x}) [\ln(\rho_c(\mathbf{x}) \Lambda_c^3) - 1] d\mathbf{x} + \int \rho_c(\mathbf{x}) \beta u_{\text{ef}}(\mathbf{x}) d\mathbf{x} + \int \beta f_{\text{HS}}(\mathbf{x}) d\mathbf{x}, \quad (4.19)$$

²⁰Un funcional es una función de una función. Por ejemplo, una integral definida de una función en cierto intervalo, es un funcional.

²¹Es cierto que el propósito calcular los perfiles en función del tiempo, y por lo tanto no podemos hablar de un equilibrio. El truco se encuentra en la palabra «local». Si aceptamos que localmente exista un equilibrio, aunque a otras escalas espacio-temporales mayores no lo haya, esta es una aproximación con buenos resultados.

²²En efecto, es posible derivar el funcional con respecto a su variable, la función. Esto se conoce como variación de un funcional, y su estudio se da con el cálculo variacional.

²³Campos y partículas son, efectivamente, intercambiables [38].

donde Λ_c es la llamada longitud de onda del cosoluto y las integrales se realizan sobre todo el volumen del sistema.

El primer término en la ecuación 4.19 es la contribución ideal de las moléculas de cosoluto²⁴. El segundo término toma en cuenta la interacción del cosoluto con el hidrogel, esto es, con un potencial externo constante en el tiempo dado por $u_{ef}(\mathbf{x})$ ²⁵. Finalmente, el último término toma en cuenta la interacción no-ideal de las moléculas de cosoluto consigo mismas.

La precisión de la teoría depende estrechamente de la definición del funcional de la energía libre, que a su vez depende del sistema a estudiar. Para nuestro sistema, que no posee especies cargadas de ningún tipo, se desprecian las interacciones electrostáticas²⁶, con lo que el funcional se simplifica. Nótese que $u_{ef}(\mathbf{x})$ puede ser tanto atractivo como repulsivo, dependiendo de la naturaleza del polímero y del cosoluto. Si un cosoluto tiene más (menos) afinidad por la fase acuosa que por la polimérica, entonces será repulsivo (atractivo). A su vez, la afinidad vendrá determinada por varios parámetros como lo son el tamaño, la repulsión estérica, las fuerzas hidrófobas, los puentes de hidrógeno, etc. La idea es, justamente, hacer uso de las simulaciones para calcular esta función e incluirla tal cual en la teoría sin hacer más supuestos. También es necesario notar que $u_{ef}(\mathbf{x})$ es una función de las coordenadas espaciales \mathbf{x} , pero esto es así simplemente porque u_{ef} depende de la concentración de polímero, y esta a su vez depende de \mathbf{x} . Además, claramente, cuando no hay polímero no hay campo, y entonces $u_{ef} = 0$, que es lo que ocurre en aquellos puntos del espacio donde la concentración polimérica es cero (esto es cierto solo para cosolutos sin carga).

Dada la función $u_{ef}(\mathbf{x})$, vinculada al perfil polimérico, aún nos queda por definir el coeficiente de difusión que aparece en la ecuación 4.17, $D_{ef}(\mathbf{x})$. Al igual que $u_{ef}(\mathbf{x})$, $D_{ef}(\mathbf{x})$ depende de \mathbf{x} a través del perfil polimérico. Donde no hay polímero, el coeficiente de difusión será aquel que presente el cosoluto en agua, y donde sí haya, dependerá de su concentración. También obtenemos esta función a través de simulaciones atomísticas para evitar así hacer otros supuestos²⁷. Sin embargo, existen modelos de difusión de partículas en medios porosos en la literatura que también se podrían utilizar [4].

²⁴Si dejásemos únicamente este término, entonces el cosoluto se comporta como un gas ideal en un contenedor en la ausencia de campo externo.

²⁵Si quisiéramos estudiar los efectos del potencial gravitatorio sobre la atmósfera, por ejemplo, aquí sería donde lo incluiríamos.

²⁶Mejor dicho, se toman en cuenta de forma implícita, a través del coeficiente de difusión y del potencial $u_{ef}(\mathbf{x})$.

²⁷De hecho estamos suponiendo que las simulaciones producen el valor correcto de esta propiedad dinámica.

4.2.2. La estructura y la simetría del sistema

Los polímeros de hidrogel pueden utilizarse para formar varios tipos de estructuras, como cápsulas, partículas núcleo-coraza, partículas huecas, cepillos donde las cadenas se unen de forma covalente a una superficie, etc [28, 8, 7, 29]. En esta Tesis nos enfocamos únicamente en partículas huecas y llenas, siendo las primeras las que dan lugar a una mayor capacidad de carga de fármacos.

Vamos a hacer uso de un par de simetrías espaciales para el estudio de la carga y la descarga de fármacos: esférica y rectangular. La primera la utilizaremos para estudiar las partículas huecas, y la segunda para comparar las predicciones de la teoría con simulaciones, donde por conveniencia se ha utilizado una caja prismática con una membrana que separa las regiones vacía y llena de cosoluto. Nótese que, en ambos casos, el flujo de cosoluto únicamente tiene lugar en una única dirección, que podremos llamar $\mathbf{x} = r$ (radial) o $\mathbf{x} = z$ (perpendicular a la membrana), dependiendo del caso. También se podría hacer uso de una simetría cilíndrica, si la partícula tuviera forma de cilindro (como ocurre con algunas micelas).

Tanto para el caso esférico como el rectangular, supondremos que el polímero se distribuye de tal forma en el espacio que su concentración únicamente depende de \mathbf{x} , siendo esta variable un escalar. A su vez, la concentración de hidrogel será prácticamente una constante en la coraza de la partícula, con valor ϕ_m^{in} , y nula fuera y en la parte hueca. Así mismo, su concentración no decaerá a cero de forma abrupta, sino que seguirá un perfil suave. Matemáticamente, supondremos que la forma del perfil de densidad viene definida por la combinación de este par de funciones de error,

$$g(\mathbf{x}) = \frac{1}{2}[\text{erf}(2(\mathbf{x} - R_1)/\delta) - \text{erf}(2(\mathbf{x} - R_2)/\delta)], \quad (4.20)$$

donde R_1 y R_2 son el radio interno y externo de la coraza y δ es el ancho de la interfase. Entonces, $\phi_m(\mathbf{x}) = \phi_m^{\text{in}} \cdot g(\mathbf{x})$. Definimos a $a = R_1 + \delta$ y a $b = R_2 + \delta$ como los límites interno y externo, respectivamente, que definen la región del espacio donde se encuentra el polímero.

Para coordenadas esféricas, la ecuación 4.17 se reescribe de la siguiente manera,

$$\frac{\partial \rho_c(r, t)}{\partial t} = -\frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r}(r^2 J(r, t)), \quad (4.21)$$

donde ahora $\rho_c(r, t)$ y $J(r, t)$ dependen únicamente de r y t , y además $J(r, t)$ es una función escalar. Como se mencionó, esta ecuación se utiliza para describir la carga y descarga de partículas esféricas huecas, por lo que es útil para comparar las predicciones de la teoría con experimentos [38] (ver el cuarto artículo del apéndice A).

Para comparar los resultados de la teoría con simulaciones, se usan las coordenadas rectangulares. En este caso la ecuación 4.17 toma la forma

$$\frac{\partial \rho_c(z, t)}{\partial t} = -\frac{\partial J(z, t)}{\partial z}, \quad (4.22)$$

donde ahora las funciones espacio-temporales dependen de z en lugar de r .

Para la resolución numérica de las ecuaciones DDFT es necesario definir una malla discreta y así implementar el método de las diferencias finitas, donde las derivadas parciales toman la forma

$$\frac{\partial F(x, y, \dots)}{\partial z} = \frac{F(x + \Delta z, y, \dots) - F(x, y, \dots)}{\Delta z}, \quad (4.23)$$

y se evalúan en cada punto de la malla. Las derivadas parciales temporales toman una forma similar, donde ahora la variable discreta es el tiempo, por lo que es necesario definir un paso de tiempo, Δt . Para evitar inestabilidades numéricas Δt no puede ser arbitrariamente grande, por lo que la eficiencia del método de resolución depende fuertemente de esta variable. Es necesario tener en cuenta que algunos procesos de liberación de fármacos tienen lugar con tiempos de descarga del orden de minutos, horas, e incluso días [49, 43, 63, 23, 55, 45] (ver el cuarto artículo del apéndice A), por lo que se selecciona el mayor paso de tiempo que no produce inestabilidades numéricas. El valor máximo de Δt a su vez depende de Δz . Cuanto menor es Δz mayor puede ser Δt , pero decrecer Δz también conlleva a un costo computacional. Aunque complica un poco el código, vale la pena utilizar diferentes valores de Δz , dependiendo de la posición del espacio, z . Δz puede ser relativamente grande en aquellas regiones del espacio donde las derivadas parciales producen valores pequeños, mientras que conviene hacerlo pequeño en aquellas regiones donde las funciones cambian fuertemente. Esto ocurre en las interfaces, y por este motivo allí utilizamos valores de Δz menores a los que utilizamos en las regiones donde el perfil del polímero, el campo externo, es prácticamente constante.

Las unidades de distancia se reescalan con $l_0 = 1$ nm, y para el tiempo con $\tau_0 = l_0^2/D_0$, donde D_0 es el coeficiente de difusión del cosoluto en el seno de agua, calculado mediante simulaciones. El espaciado de la malla sobre las interfases es $\Delta z_{\min} = 0.02l_0$ y fuera del hidrogel es mayor y satisface $(\Delta z_{\min})^2/2D_0 > \Delta t$, donde Δt es el paso de tiempo. Para evitar inestabilidades numéricas, el paso de tiempo se ajusta en el intervalo $10^{-4}\tau_0 < \Delta t < 4^{-4}\tau_0$ para obtener el mayor Δt que produce perfiles de concentración suaves en todo momento.

Proceso de encapsulación

Finalmente, además de la discretización del espacio-tiempo, para resolver las ecuaciones DDFT necesitamos definir ciertas condiciones iniciales y de frontera.

Definiremos dos casos para las condiciones iniciales, para estudiar la carga y la descarga de las partículas. En este apartado nos concentraremos en el proceso de carga.

Dada la simetría del sistema, el flujo neto en el interior de la partícula es nulo en todo momento. Esto se expresa de la siguiente manera,

$$J_c(\mathbf{x} = 0, t) = 0 \quad \forall t. \quad (4.24)$$

Además, al comienzo, todas las moléculas de cosoluto se encuentran fuera del hidrogel, siguiendo un perfil uniforme

$$\rho_c(\mathbf{x}) = \begin{cases} 0 & \mathbf{x} < b \\ \rho_c^{\text{seno}} & \mathbf{x} > b, \end{cases} \quad (4.25)$$

donde ρ_c^{seno} es la concentración de cosoluto fuera de la partícula. Además, suponiendo que la concentración de partículas de hidrogel es muy baja (dilución infinita), lejos de la partícula, la concentración de cosoluto será una constante e igual a la concentración del seno, ρ_c^{seno} . Para los cálculos consideramos que esta concentración se alcanza para $\mathbf{x} = 5b$,

$$\rho_c(\mathbf{x} = 5b, t) = \rho_c^{\text{seno}}, \quad (4.26)$$

lo que constituye la última condición de frontera.

Cabe notar que las condiciones de frontera impuestas hacen que, al difundir el material desde fuera hacia dentro de la partícula, no se conserve la masa. Es decir, con el paso del tiempo, se van agregando partículas al sistema a través de la frontera lejana a la partícula, que a su vez difunden hacia el interior del microgel. El proceso se detiene únicamente cuando el potencial químico del cosoluto al interior de la partícula iguala al externo, que ocurre cuando las concentraciones se igualan (el potencial externo es nulo dentro y fuera de la partícula).

Para poder comparar nuestros cálculos con las simulaciones, dado que estas trabajan a masa constante, se impone una condición de borde de flujo nulo lejos de la partícula. De esta forma los sistemas son comparables.

Proceso de descarga

Para el proceso de descarga se mantiene la primera condición de borde, esto es, no hay flujo en el punto central de la partícula encapsulante. Por otro lado, el cosoluto se distribuye homogéneamente a lo largo de todo el volumen de la partícula de hidrogel con una concentración, ρ_c^{dentro} , entonces

$$\rho_c(\mathbf{x}) = \begin{cases} 0 & \mathbf{x} > b \\ \rho_c^{\text{dentro}} & \mathbf{x} < b. \end{cases} \quad (4.27)$$

Al igual que para el proceso de carga, supondremos que la suspensión de partículas de hidrogel sea muy diluida, por lo que la liberación de cosoluto no va a afectar la concentración fuera de la partícula, manteniéndose nula en todo momento a una distancia suficientemente lejana,

$$\rho_c(\mathbf{x} = 5b, t) = 0 \quad \forall t. \quad (4.28)$$

Contrariamente al caso de carga, ahora el flujo másico de cosoluto se da desde dentro hacia afuera, y el proceso termina cuando todas las partículas hayan sido liberadas.

Capítulo 5

Análisis de resultados

En este capítulo presentamos y analizamos los diferentes resultados del modelo de grano grueso, de los cálculos de la energía libre de transferencia y coeficientes de difusión, y los cálculos de la DDFT. El capítulo se reparte en tres secciones, cada una abordando un tema.

5.1. Simulaciones

5.1.1. Grano grueso vs átomo-por-átomo

Luego de varias iteraciones, finalmente se logra converger a los valores de los parámetros que se muestran en las tablas de 5.1 a 5.5. Con estos valores finales, se llevaron a cabo simulaciones para verificar la reversibilidad y escalabilidad del modelo. A su vez, en el apéndice B, se incluyen los archivos de estructura (.gro) y topología (.itp), a partir de los cuales es posible reproducir los resultados de una cadena de 30 unidades.

i	j	b_{ij} (nm)	k_{ij}^b (kJ mol ⁻¹)
SC3	SNda	0.268	20500
SNda	SC1	0.242	25000
SC1	SC1	0.254	20000

Tabla 5.1: Valores de los parámetros que definen a los potenciales de enlaces armónicos entre diferentes pares. Ecuación (4.3).

Recordemos que el objetivo del modelo de grano grueso es el de reproducir las propiedades termodinámicas (tomadas de los experimentos) y microscópicas (tomadas de los modelos átomo-por-átomo) del pNIPAM. En particular, nos enfocamos en reproducir la temperatura crítica $T_c \approx 305\text{K}$, y en las diferentes

i	j	k	θ (°)	k (kJ mol ⁻¹)
SC3	SNda	D+	60.0	200
D+	SNda	D-	180.0	150
D+	SNda	SC1	90.0	150
SC3	SNda	D+	120.0	150

Tabla 5.2: Valores de los parámetros que definen a los potenciales angulares armónicos entre diferentes tríos. Ecuación (4.4).

i	j	k	θ (°)	C_0	C_1	C_2	C_3	C_4
SC1	SC1	SC1	166.158	6.718	-40.527	-1.000	176.41	179.44
SC3	SNda	SC1	138.520	3.650	-29.060	-32.860	350.93	650.93
SNda	SC1	SC1	98.090	3.950	37.900	-38.200	-575.70	1400.70

Tabla 5.3: Valores de los parámetros que definen a los potenciales angulares cuárticos entre diferentes tríos. Ecuación (4.10).

i	j	k	l	C_0	C_1	C_2	C_3	C_4	C_5
SC3	SNda	SC1	SC1	1.35	4.3	1.3	-5.8	1.3	1.6
SNda	SC1	SC1	SNda	-1.2	8.5	17.7	-27.7	-17.1	25.5

Tabla 5.4: Valores de los parámetros que definen a los potenciales tipo Ryckaert-Bellemans (diedros) definidos sobre diferentes cuartetos. Ecuación (4.5).

i	j	σ (nm)	ϵ (kJ mol ⁻¹)
SC3	SC3	0.45	2.2
SNda	SNda	0.37	3.0
SC1	SC1	0.43	2.4
SC3	SNda	0.45	1.3
SC3	SC1	0.43	2.3
SC1	SNda	0.40	1.2
Wat	SC3	0.40	3.5
Wat	SNda	0.40	2.0
Wat	SC1	0.39	2.0

Tabla 5.5: Valores de los parámetros que definen a los potenciales tipo Lennard-Jones. Ecuación (4.7).

funciones de distribución radial ($g(r)$) y angular PDFs. Nótese que la transición conformacional del pNIPAM afecta a estas distribuciones.

En primer lugar estudiamos la transición conformacional de un oligómero de

30 unidades del modelo grano grueso como función de la temperatura y lo comparamos con simulaciones atomísticas. La figura 5.1 muestra el promedio en la colectividad isotérmica-isobárica del radio de giro, $\langle R_g \rangle$, de ambos tipos de simulaciones, para un rango amplio de temperaturas. Estos valores se normalizan con el valor máximo de radio de giro promedio, que se obtiene a la mínima temperatura, y que corresponde a la configuración tipo bobina $\langle R_g^{\text{bobina}} \rangle$. Además, también se incluye la transición experimental, que se obtiene a partir del radio hidrodinámico normalizado, $\langle R_H \rangle / \langle R_H^{\text{bobina}} \rangle$, de partículas de nanogel. A su vez, el radio hidrodinámico experimental se mide mediante la técnica de dispersión de luz dinámica ¹. A pesar de que el radio de giro de una cadena polimérica y el radio hidrodinámico de una partícula de nanogel no son la misma cosa, sus normalizaciones con los valores respectivos del estado bobina presentan comportamientos similares.

Como se mencionó en la metodología, tanto para las simulaciones atomísticas como para las de grano grueso, la configuración inicial de la cadena es la tipo bobina. Entonces, si la temperatura permanece por debajo de la crítica, $T < T_c$, independientemente del modelo, las cadenas permanecen estiradas, y si $T > T_c$, entonces el radio de giro disminuye y se produce el colapso de la cadena. Además, en los alrededores de la temperatura crítica, se observa una mayor dispersión de los valores del radio de giro, dado que, aún estando por debajo de la temperatura crítica, la cadena puede, por breves momentos, encontrarse en una configuración tipo glóbulo.

Más allá del modelo, existen otras diferencias entre las simulaciones atomísticas y las de grano grueso. Una, bastante evidente, es el paso de tiempo. Ese es 20 veces mayor para las de grano grueso. La otra es que para las simulaciones de grano grueso hemos hecho uso de la técnica de intercambio de réplicas, y este no fue el caso para las simulaciones atomísticas². Esto afecta, como se muestra en la figura, a las incertidumbres en las determinaciones y la correlación entre puntos a diferentes temperaturas. La curva obtenida con la técnica de intercambio de réplicas es mucho más suave por este motivo.

Es posible estimar la temperatura crítica de transición a partir de las curvas de la figura 5.1. Esto lo hacemos a partir del punto de inflexión de una curva de ajuste

¹El decaimiento de la correlación temporal de la intensidad de luz a bajos ángulos es proporcional al coeficiente de difusión de las partículas. Al determinar dicho decaimiento se obtiene el coeficiente de difusión, que a su vez proporciona un valor para el radio hidrodinámico de la partícula, suponiéndola esférica, que se cumple la relación de Stokes-Einstein, y dado un valor de viscosidad (que también se puede medir). Los resultados completos de estas mediciones se encuentran en los primeros dos artículos del apéndice A

²También es posible hacer uso de esta técnica con este tipo de simulaciones, pero se necesita concentrar todo nuestro poder de cómputo en una única máquina para poder realizarlo. Las máquinas del laboratorio son varias e independientes.

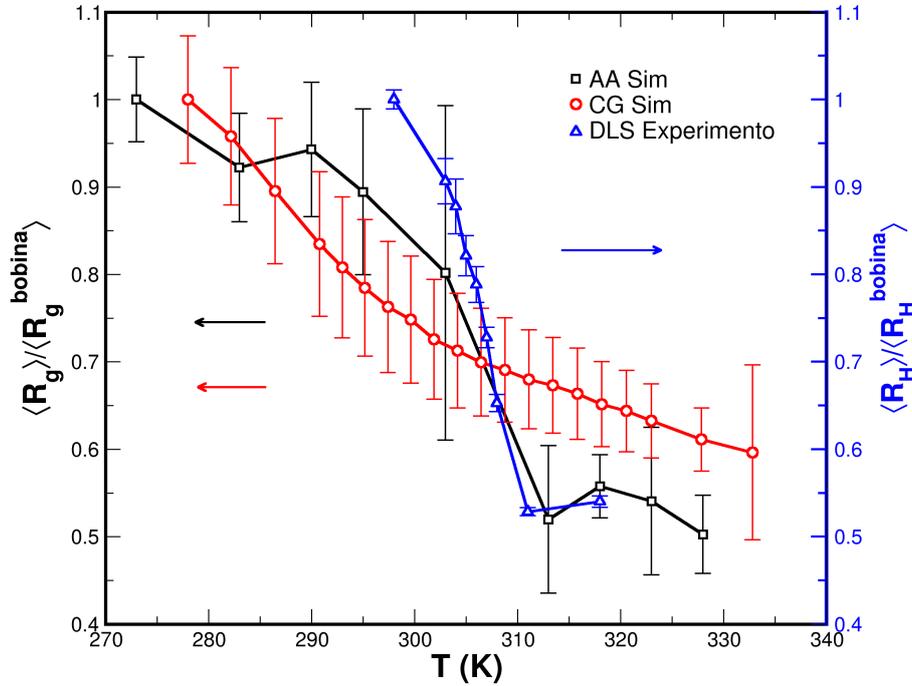


Figura 5.1: Promedio del radio de giro normalizado de un 30-mero de pNIPAM comparado con el radio hidrodinámico normalizado a partir de experimentos de dispersión de luz. Curvas roja y negra, simulaciones de grano grueso y átomo-por-átomo. Curva verde, experimentos tomados de [47].

con forma sigmoide, cuya expresión es

$$\frac{R_g(T)}{R_g^{bobina}} = \frac{1 - R_g^{glob}/R_g^{bobina}}{1 + \exp[(T - T_c)/b]} + \frac{R_g^{glob}}{R_g^{bobina}} \quad (5.1)$$

donde T_c , R_g^{glob} y b son parámetros de ajuste y la temperatura, T , es la variable independiente. Además, T_c , R_g^{glob} y b controlan la localización del punto de inflexión, el valor de saturación de la curva a temperaturas grandes, y que tan abruptamente se transita del estado bobina al globular, respectivamente. La misma expresión, pero sustituyendo los radios de giro por radios hidrodinámicos, también permite determinar el valor de T_c experimental. Los valores ajustados para la temperatura crítica son (306.4 ± 0.2) K, (300.0 ± 2.6) K, para los modelos atomístico y de grano grueso, y (304.6 ± 0.9) K para los experimentos.

Como se puede observar, el modelo de grano grueso reproduce de forma cualitativa el comportamiento de las simulaciones atomísticas. A su vez, las simulaciones atomísticas reproducen casi cuantitativamente a los experimentos. Aquí

es preciso tener en cuenta que las simulaciones y los experimentos no estudian al mismo sistema, por lo que no sería razonable esperar un acuerdo completo entre ellos. No se espera el mismo comportamiento para una partícula de nanogel (o, mejor dicho, muchas), que para un oligómero. Por lo mismo, el acuerdo logrado entre las simulaciones atomísticas y los experimentos es bastante sorprendente. Sin embargo, la forma de la curva que produce el modelo de grano grueso tiene un comportamiento apreciablemente distinto. Tanto para las simulaciones atomísticas como en los experimentos se observa una transición abrupta definiendo muy claramente un valor de T_c , mientras que esto no ocurre con nuestro modelo de grano grueso, donde se observa un tránsito suave desde el estado estirado al colapsado.

En nuestro parecer este problema puede ir más allá de nuestro modelo particular de grano grueso. Posiblemente se trate de un problema fundamental relacionado con el mecanismo de desorción del agua de la superficie del polímero. Creemos que los efectos colectivos de hidratación cooperativa, y deshidratación cooperativa, no pueden ser capturados por un modelo que no toma en cuenta explícitamente a los puentes de hidrógeno. Si este fuera el caso, no únicamente nuestro modelo de grano grueso, sino todos los modelos de grano grueso, presentarían un problema similar. La hidratación cooperativa ocurre cuando una molécula de agua que se adhiere a una superficie formando un puente de hidrógeno, acarrea a más moléculas de agua a hacer lo propio. Es necesario tener en cuenta que la molécula de agua se hidrata con mucha facilidad, esto es, se tiende a rodear de otras. La deshidratación cooperativa observa el mismo principio, pero con dirección opuesta. Si una molécula de agua rompe su vínculo con la superficie, entonces acarrea a sus compañeras desde la superficie hacia el seno de la disolución —donde muchas más moléculas de agua las reciben afectuosamente—. Okada y Tanaka realizan un estudio teórico de este efecto sobre la transición que muestra el pNIPAM [42]. Ellos observan que si los efectos cooperativos del disolvente son fuertes entonces la transición es muy marcada, y si son menores, lo que se logra incluyendo otros cosolventes, la transición se vuelve menos abrupta.

Reversibilidad

Los experimentos realizados sobre partículas de nanogel muestran que estas se hinchan y se encogen a temperaturas por debajo y por encima de la crítica, de forma tal que las curvas de ida y vuelta (con la temperatura como variable de control) dibujan exactamente la misma curva. En otras palabras, no se observa el fenómeno de histéresis, lo que a su vez implica que el estado de la partícula de nanogel no depende de su historia. A esto también se le conoce como comportamiento reversible, dado que, en todo punto de la curva de hinchado (o deshinchado), el

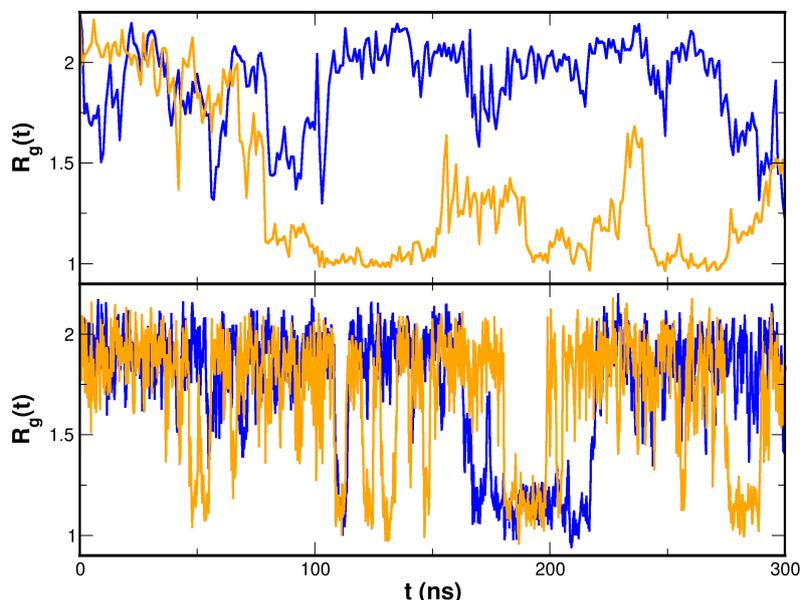


Figura 5.2: Evolución temporal del radio de giro de la cadena de polímero a temperaturas cercanas pero por encima (curvas naranjas) y debajo (curvas azules) de la temperatura crítica de transición. En el panel superior se muestra el comportamiento del modelo de grano grueso y en el inferior el de las simulaciones atomísticas.

sistema se encuentra en un estado de equilibrio³. Es preciso notar que la condición de reversibilidad tiene mucho que ver con los tiempos de observación, por un lado, y los tiempos típicos de relajación del sistema, por el otro. Si los tiempos de observación son similares o menores a los de relajación del sistema, entonces los procesos serán irreversibles. Por el contrario, si son mucho mayores, entonces no seremos capaces de detectar los estados fuera del equilibrio (que siempre están ahí) y concluiremos que nuestro sistema se comporta de forma reversible (aunque esto sea solo una ilusión, los procesos reversibles, de hecho, no existen).

Una forma de verificar la reversibilidad del modelo es la de observar su comportamiento a temperaturas cercanas a la crítica. Aquí se espera que las fluctuaciones sean mucho más importantes, como lo son en la cercanía de cualquier punto crítico⁴. Entonces, debemos observar que los modelos producen tanto la configuración

³En termodinámica, se denomina proceso cuasiestático a aquel que en el que en todo momento sus variables se encuentran perfectamente definidas y en equilibrio con sus alrededores. Que un proceso sea cuasiestático es condición necesaria para que sea reversible (además se debe cumplir que tanto el sistema como los alrededores sean capaces de regresar al estado original).

⁴Para los equilibrios líquido-vapor, por ejemplo, son las fluctuaciones en la densidad las que

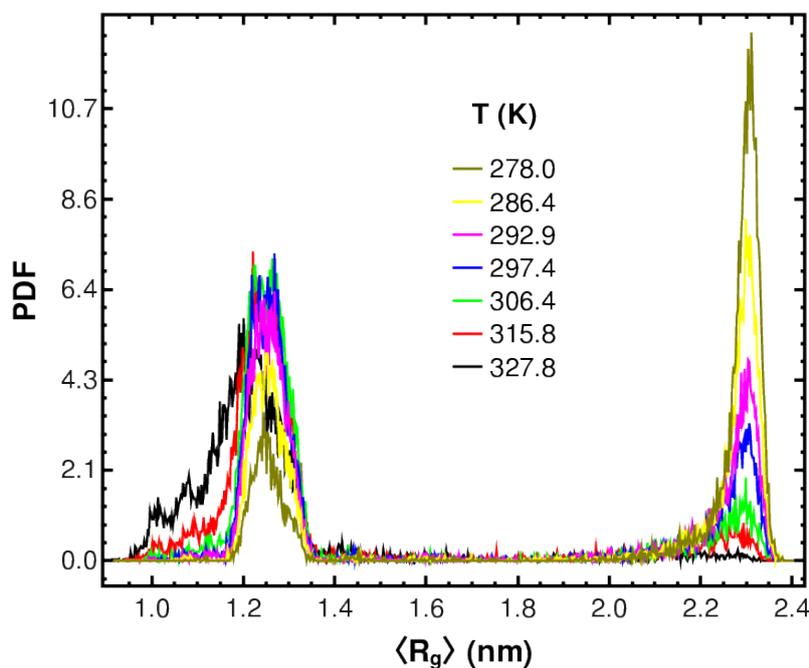


Figura 5.3: Funciones densidad de probabilidad del radio de giro que se obtienen a diferentes temperaturas con el modelo de grano grueso.

glóbulo como la bobina, dada cierta ventana temporal. La figura 5.2 muestra la evolución temporal de las cadenas de polímero a temperaturas algo por encima y por debajo de la crítica, tanto para el modelo atomístico (panel inferior) como de grano grueso (panel superior). Se observa que ambos modelos prefieren la configuración bobina o glóbulo, pero evitan estados intermedios donde las cadenas se encuentran medio estiradas o medio colapsadas. Esta información no se observa directamente con los promedios mostrados en la figura 5.1, donde uno podría pensar que los valores intermedios obtenidos a temperaturas cercanas a la crítica podrían corresponder a configuraciones intermedias entre la bobina y el glóbulo. Esto se confirma con las funciones densidad de probabilidad que se muestran en la figura 5.3. También se observa que los estados bobina y glóbulo de ambos modelos tienen radios de giro entorno a 2.3 nm y a 1.2 nm, respectivamente. Entonces, la relación de compresión del polímero es de 2, que es muy cercana a la compresión que se observa para el radio hidrodinámico experimental (ver la figura 5.1). Por último, se observa una diferencia entre los modelos en los tiempos típicos de residencia en los estados bobina y glóbulo. En otras palabras, el modelo de grano grueso cambia de estado mucho menos frecuentemente que el modelo atomístico.

muestran este tipo de comportamiento.

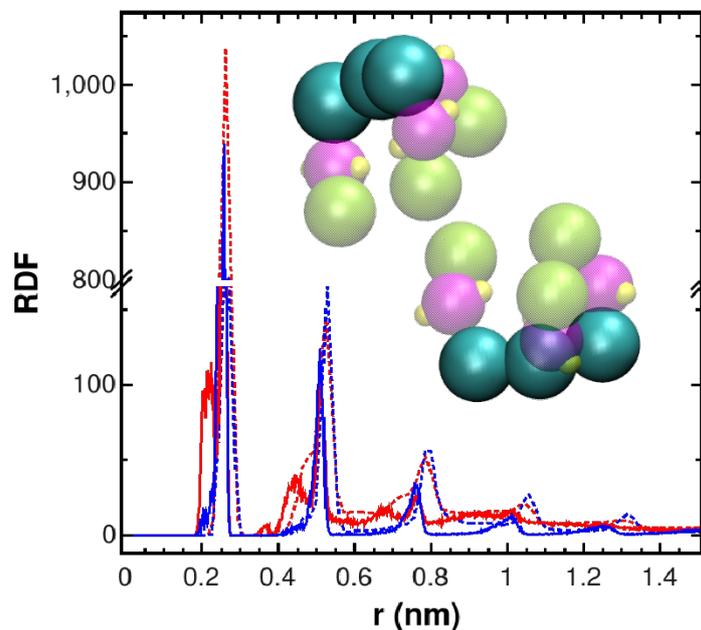


Figura 5.4: Funciones de distribución radial, $g(r)$, entre las cuentas **B** (las imágenes insertadas destacan estas cuentas), que forman la cadena principal del polímero. Las curvas continuas corresponden al modelo de grano grueso y las punteadas al atomístico. Las curvas rojas corresponden a la temperatura alta y las azules a la baja.

Como se mencionó en el párrafo anterior, la figura 5.3 muestra las funciones densidad de probabilidad para el radio de giro del polímero. Estas curvas corresponden a las simulaciones de intercambio de réplicas. Las diferentes funciones se obtienen a diferentes temperaturas, y todas corresponden al modelo de grano grueso. Observe que, casi a cualquier temperatura, existen dos picos muy marcados a los 2.3 nm y a los 1.25 nm. La altura de estos picos, sin embargo, sí depende de la temperatura. Al incrementar la temperatura vemos que el pico que aparece a los 1.25 nm se hace más grande en detrimento del pico ubicado en 2.3 nm. A la temperatura crítica, T_c , las áreas de los picos se vuelven similares y luego, a temperaturas por encima de la crítica, el pico a 2.3 nm termina por desaparecer. Curiosamente, el pico de 1.25 nm no desaparece para las temperaturas aquí estudiadas. También se observa que el pico correspondiente a la configuración glóbulo (1.25 nm) es más ancho que el correspondiente a la bobina, y que la región existente entre los picos presenta poca frecuencia. Esta baja frecuencia constituye una diferencia con el modelo atomístico, donde la región en cuestión se observa más poblada (no se muestra). Además, esto hace que sea necesario muestrear ventanas temporales mayores para el modelo de grano grueso que para el atomístico, si uno pretende

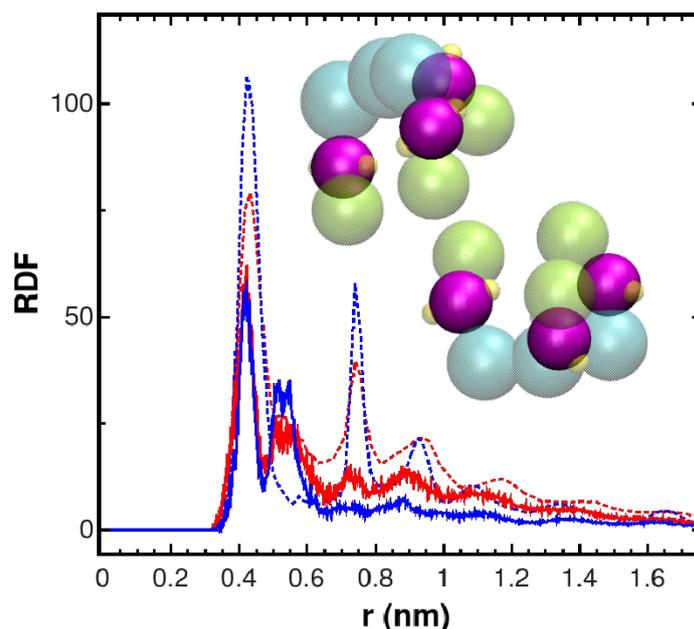


Figura 5.5: Funciones de distribución radial, $g(r)$, entre las cuentas **Nda** (las imágenes insertadas destacan estas cuentas), que representan a los grupos polares amida. Las curvas continuas corresponden al modelo de grano grueso y las punteadas al atomístico. Las curvas rojas corresponden a la temperatura alta y las azules a la baja.

explorar el espacio configuracional con estadística suficiente⁵.

De manera separada realizamos simulaciones estándar de dinámica molecular a baja temperatura en la colectividad NPT a una temperatura $T < T_c$ (es decir, sin muestrear una colectividad extendida mediante intercambio de réplicas), partiendo de una configuración globular. En este caso, no observamos que el modelo de grano grueso se hidrate y transite al estado bobina en las ventanas de tiempo a las que tenemos acceso. Este resultado contrasta con las simulaciones atomísticas, que sí logran cambiar de configuración (no se muestra) aunque con cierta dificultad. Es lógico que los eventos de tránsito de glóbulo a bobina, que se esperan a bajas temperaturas, no se den con tanta frecuencia simplemente porque la agitación térmica es menor. Por el mismo motivo, es necesario esperar más tiempo para que ocurran.

¿Porqué el modelo de grano grueso no es capaz de hidratarse y deshidratarse con la misma facilidad en que lo hace el modelo atomístico? Hay muchas razones posibles. Por un lado, las moléculas de agua de grano grueso son mucho más

⁵Esto es necesario para que los promedios temporales coincidan con los promedios de la colectividad, lo que se conoce como condición de ergodicidad.

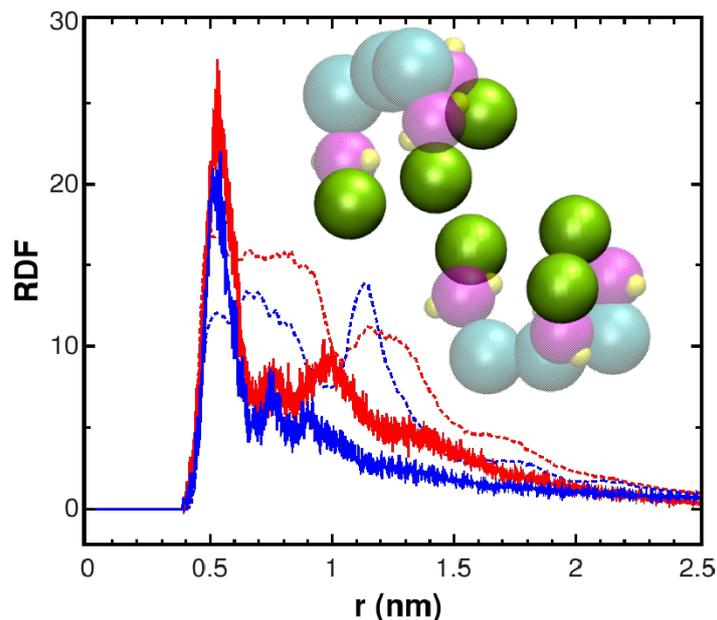


Figura 5.6: Funciones de distribución radial, $g(r)$, entre las cuentas **Prop** (las imágenes insertadas destacan estas cuentas), que representan a los grupos apolares isopropilo. Las curvas continuas corresponden al modelo de grano grueso y las punteadas al atomístico. Las curvas rojas corresponden a la temperatura alta y las azules a la baja.

grandes que las del modelo atomístico. Entonces, pequeños huecos existentes en la conformación cerrada del modelo atomístico pueden ser ocupados por estas moléculas pequeñas, y así facilitar su entrada que a su vez promueva el cambio de conformación. Además, este razonamiento también aplica a la misma estructura polimérica, dado que las cuentas de grano grueso son esféricas y no presentan las irregularidades propias de las superficies de los grupos atómicos que se pretenden modelar. Aquí, otra vez, una pequeña molécula de agua podría también escabullirse por alguno de estos recovecos. La otra posibilidad a la cual ya nos hemos referido —y que probablemente lo volvamos a hacer— podría tener que ver con la capacidad del agua de comportarse de forma cooperativa, tanto para la hidratación como para la deshidratación. No creemos posible capturar este fenómeno con un modelo tan burdo de agua⁶.

Para ganar más detalles sobre el comportamiento de ambos modelos, es conveniente comparar las diferentes funciones de distribución radial y PDFs, a la misma

⁶Los modelos de grano grueso tienen un precio, y el modelado correcto del agua es uno que puede salir caro. Esta sustancia es omnipresente en todos los sistemas vivos, y en muchos otros de interés científico y técnico.

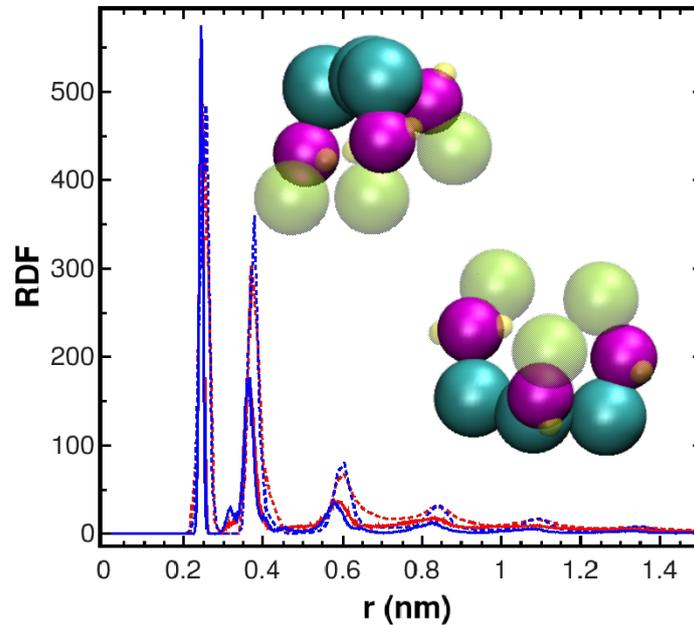


Figura 5.7: Funciones de distribución radial, $g(r)$, entre las cuentas **B** y **Nda** (las imágenes insertadas destacan estas cuentas), que representan a los grupos que forman la cadena principal y los grupos polares amida. Las curvas continuas corresponden al modelo de grano grueso y las punteadas al atomístico. Las curvas rojas corresponden a la temperatura alta y las azules a la baja.

temperatura. Esto se hace en la siguiente serie de figuras, que van de la 5.4 a la 5.14. Esto es similar a lo mostrado por la figura 4.2, pero ahora lo hacemos con los parámetros ya ajustados. Si nuestro proceso iterativo de ajuste de parámetros fue correcto, la similitud de estas gráficas debe ser mejor. Las comparaciones se realizan a dos temperaturas diferentes, una por encima y la otra por debajo de la crítica.

Como se ha comentado ya en el capítulo 4.1.2, las distribuciones de los dos modelos coinciden en las posiciones de los principales máximos. Este es el resultado del ajuste de varios parámetros que se han mantenido fijos en el modelo, como lo son las distancias de enlace y algunos ángulos de enlace. Sin embargo, la altura y el ancho de los picos dependen no únicamente de los parámetros que gobiernan directamente a los pares o tríos correspondientes, sino que también a las interacciones no-enlazantes a dos, tres y más cuerpos. A pesar de esto, las figuras 5.4 a la 5.14 muestran claras mejoras tanto en la posición como en los anchos y alturas de los picos. Por ejemplo, la figura 5.11 logra capturar no sólo el máximo principal de la distribución angular entre las cuentas enlazadas **B**, **B** y **Nda**, sino también los máximos que se encuentran a la derecha del máximo principal. Los

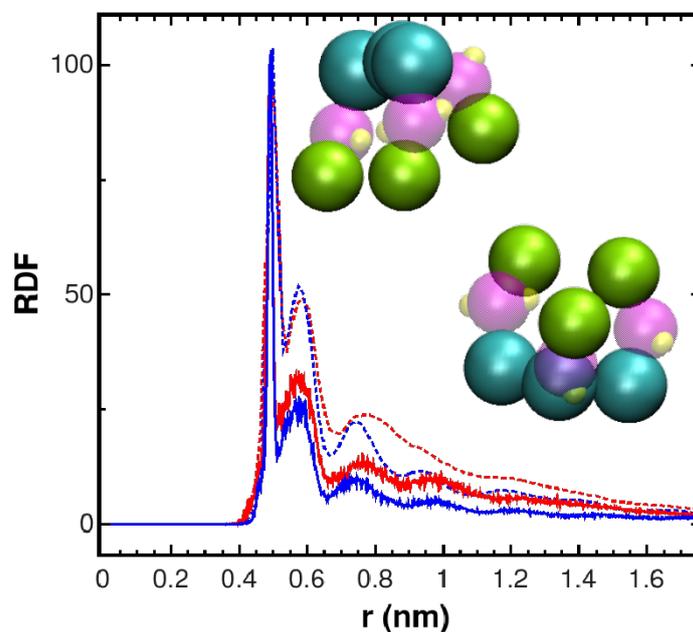


Figura 5.8: Funciones de distribución radial, $g(r)$, entre las cuentas **B** y **Prop** (las imágenes insertadas destacan estas cuentas), que representan a los grupos que forman la cadena principal y los grupos apolares isopropilo. Las curvas continuas corresponden al modelo de grano grueso y las punteadas al atomístico. Las curvas rojas corresponden a la temperatura alta y las azules a la baja.

diedros formados por las cuentas enlazadas **B**, **B**, **Nda** y **Prop**, figura 5.13, calcan a la perfección las PDFs atomísticas, y los diedros dados por **Nda**, **B**, **B** y **Nda**, muestran un comportamiento complejo y muy similar (ver la figura 5.14). Nótese que ambos ángulos diedros muestran un comportamiento simétrico entorno a un ángulo nulo, donde la frecuencia de estos estados se torna pequeña pero no nula. Es importante que haya configuraciones con ángulos diedros nulos, porque son estas las que permiten transitar de ángulos positivos a negativos, y así que la cadena se acomode de acuerdo a su entorno. Es decir, esto permite muestrear más fácilmente el espacio configuracional de la cadena. También es conveniente notar que estos estados de alta energía (con ángulos diedros cercanos a cero) son bastante más poblados a temperaturas altas, tanto para las simulaciones de grano grueso como para las atomísticas.

La hidratación de la cadena y por ende las funciones $g(r)$ correspondientes, son afectadas por la esfericidad impuesta para las cuentas de agua, que además representan a un cúmulo de cuatro moléculas. Como se comentó, una molécula de agua puede acercarse mucho más a la superficie polimérica que un agregado de cuatro de estas irremediablemente juntas. Peor aún, las moléculas TIP4P puede

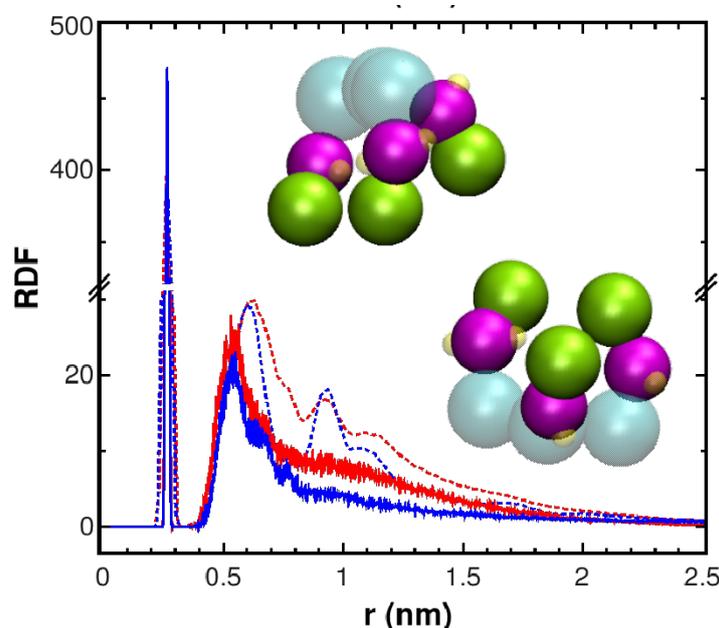


Figura 5.9: Funciones de distribución radial, $g(r)$, entre las cuentas **Nda** y **Prop** (las imágenes insertadas destacan estas cuentas), que representan a los grupos polares amida y los grupos apolar isopropilo. Las curvas continuas corresponden al modelo de grano grueso y las punteadas al atómico. Las curvas rojas corresponden a la temperatura alta y las azules a la baja.

acercarse lo suficiente como para formar puentes de hidrógeno con los grupos amida del pNIPAM, y así alterar la propia configuración espacial del polímero. Esto simplemente no puede ocurrir con un modelo de grano grueso. Para incrementar, así sea parcialmente, la atracción entre las cuentas **agua** y **Nda** así como controlar al resto de las interacciones agua-pNIPAM, hemos definido parámetros de LJ cruzados entre las cuentas de agua y las cuentas que conforman el polímero que no siguen las reglas de mezclado dadas por las ecuaciones (4.8). Esto lo hemos hecho únicamente para las interacciones específicas agua-polímero, pero en general seguimos haciendo uso de las ecuaciones (4.8) en el resto de los casos. El potencial LJ 12-6 cambia de signo en σ_{ij} , siendo positivo para distancias menores y negativo para mayores. Aquí, σ_{ij} es la suma de los radios de las cuentas i y j , de acuerdo a la primera de las ecuaciones (4.8). Al decrecer $\sigma_{\text{agua-Nda}}$, se permite que las moléculas de agua se traslapen un poco con el grupo amida, y así se favorezca su hidratación. A su vez, la interacción dipolar se vuelve más intensa, dado que los dipolos de las cuentas pueden acercarse más.

Otro problema relacionado con la capacidad de la cadena por cambiar de conformación tiene que ver con su rigidez. La figura 5.12 muestra las PDFs

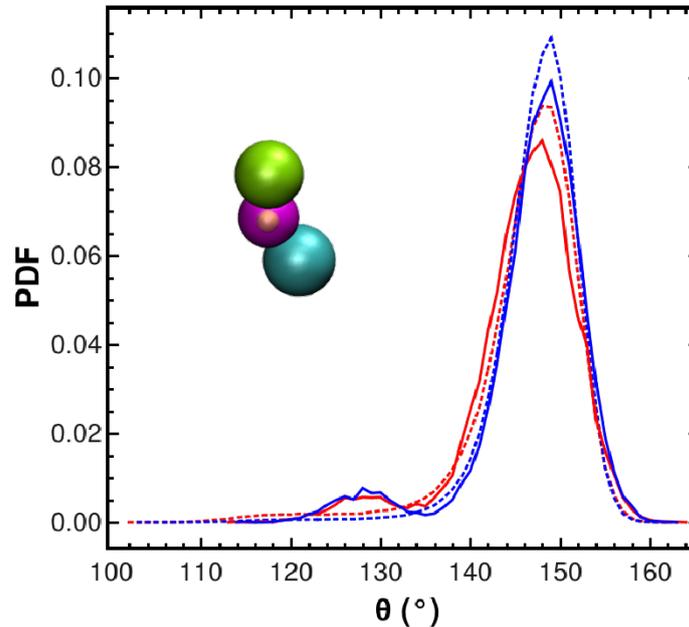


Figura 5.10: Funciones de densidad de probabilidad, PDFs, correspondientes a la distribución de ángulos que forman las cuentas enlazadas **B**, **Nda** y **Prop** (la imagen insertada destaca estas cuentas), que representan a los tres grupos del monómero de NIPAM. Las curvas continuas corresponden al modelo de grano grueso y las punteadas al atomístico. Las curvas rojas corresponden a la temperatura alta y las azules a la baja.

del ángulo formado entre tres cuentas de la cadena principal. El pico más alto se localiza cerca de los 180° para ambas temperaturas y se ajusta bien a las simulaciones atomísticas, no sólo en su localización sino también en su altura y ancho. Sin embargo, las simulaciones atomísticas muestran un segundo máximo, cuya localización depende de la temperatura y están relacionados con su cambio conformacional. Este segundo máximo no aparece con el modelo de grano grueso al imponer un potencial armónico, por lo que lo hemos sustituido con un potencial cuártico, dado por la ecuación (4.10), que constituye a un polinomio de cuarto orden.

El panel superior de la figura 5.15 muestra la función ajustada, ecuación (4.10), con los parámetros dados en la tabla 5.3, que produce el comportamiento angular mostrado en el panel inferior, para temperaturas por encima y debajo de la crítica. Nótese que el mínimo en el potencial es cercano al máximo de la distribución. En otras palabras, el ángulo más probable (casi) minimiza a la función⁷. Para

⁷No coincide exactamente debido al resto de las contribuciones.

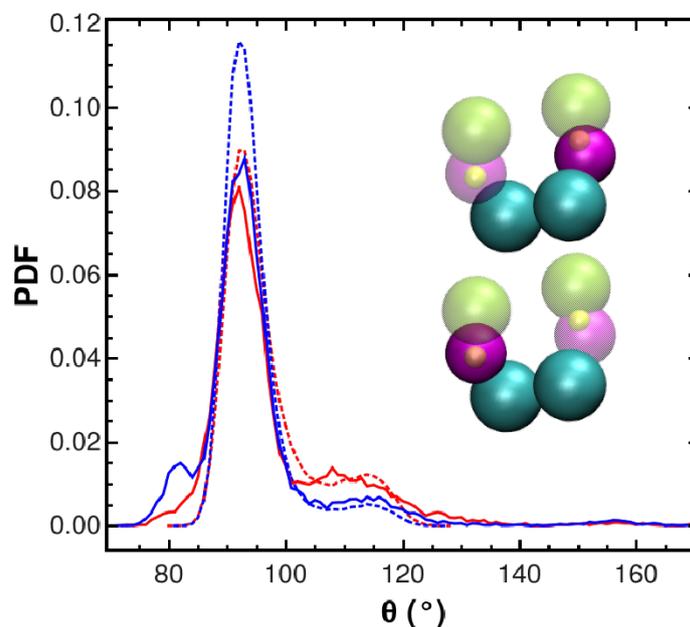


Figura 5.11: Funciones de densidad de probabilidad, PDFs, correspondientes a la distribución de ángulos que forman las cuentas enlazadas **B**, **B** y **Nda** (la imagen insertada destaca estas cuentas), que representan a dos grupos (apolares) que son parte de la cadena y a otro que es polar (amida). Las curvas continuas corresponden al modelo de grano grueso y las punteadas al atomístico. Las curvas rojas corresponden a la temperatura alta y las azules a la baja.

reproducir los picos secundarios de la PDFs, deberíamos poner un potencial que fuera función de la temperatura, para así lograr el cambio de su posición. Pero justamente esto es lo que queremos evitar, queremos potenciales bien definidos e independientes de las condiciones termodinámicas impuestas. En su lugar, hemos impuesto un mínimo local muy poco profundo en 130° , que es el que se observa a temperaturas altas en las simulaciones atomísticas. A su vez, definimos una barrera energética con su máximo localizado en 115° , evitando que el sistema de baja temperatura tenga predisposición por plegarse. A su vez, la barrera energética vista desde la posición de 130° para pasar a la de 180° no es muy pronunciada, haciendo que, en principio, la rehidratación fuera posible al disminuir la temperatura por debajo de la crítica.

Existe un problema técnico con la ecuación (4.10) cuando las cuentas consecutivas se encuentran formando ángulos cercanos a 180° , dada la simetría de la función alrededor de este ángulo. Esto resulta en que la fuerza, que se calcula en cada paso del método de dinámica molecular y que es menos el gradiente del potencial, cambie de signo en 180° . Entonces, si la fuerza no es nula en 180° , apa-

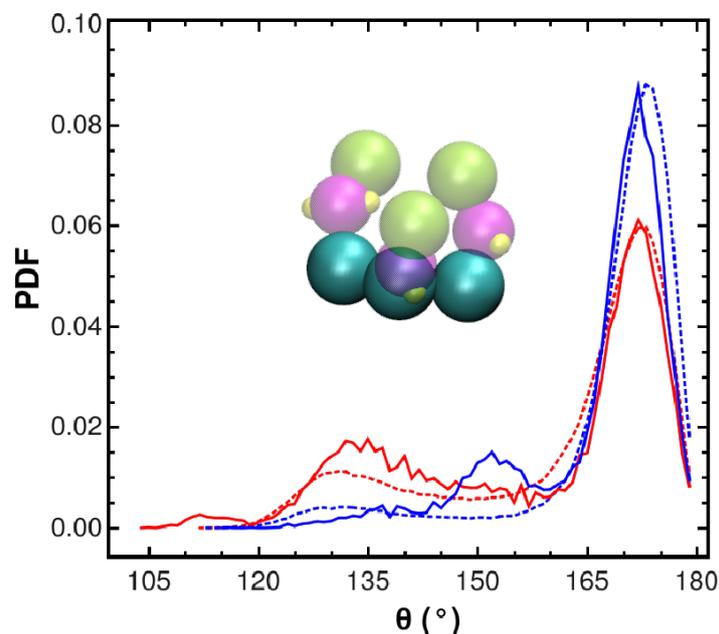


Figura 5.12: Funciones de densidad de probabilidad, PDFs, correspondientes a la distribución de ángulos que forman las cuentas enlazadas **B**, **B** y **B** (la imagen insertada destaca estas cuentas), que representan a tres grupos contiguos (apolares) que forman la cadena principal. Las curvas continuas corresponden al modelo de grano grueso y las punteadas al atomístico. Las curvas rojas corresponden a la temperatura alta y las azules a la baja.

rece una discontinuidad. Normalmente el potencial cuártico se parametriza de tal forma que aparezca una divergencia (positiva) en 180° y así evitar configuraciones con ángulos cercanos a este valor. El problema es que, en nuestro caso particular, la distribución de ángulos obtenidos por simulaciones atomísticas tiene un pico muy cercano a 180° , lo que implicaría un crecimiento de la función (4.10) muy abrupto. Siempre es deseable definir funciones suaves para evitar inestabilidades numéricas, lo que hace posible conservar la energía en la colectividad microcanónica con pasos de tiempo mucho mayores. En otras palabras, definir una función con pendientes de gran magnitud (fuerzas grandes) va en contra del espíritu del modelado de grano grueso en dinámica molecular⁸. Nosotros hemos optado por el camino alternativo, es decir, que la fuerza sea nula en 180° , o dicho lo mismo con otras palabras, que lo sea la derivada del potencial. Entonces, no son cuatro los parámetros libres de la función (4.10), sino tres.

Una vez que ajustamos los parámetros para mejorar la reversibilidad del mode-

⁸Esto no sería un problema con la técnica de Monte Carlo, que no calcula fuerzas, por lo que es muy recurrida incluso para el estudio de potenciales discontinuos.

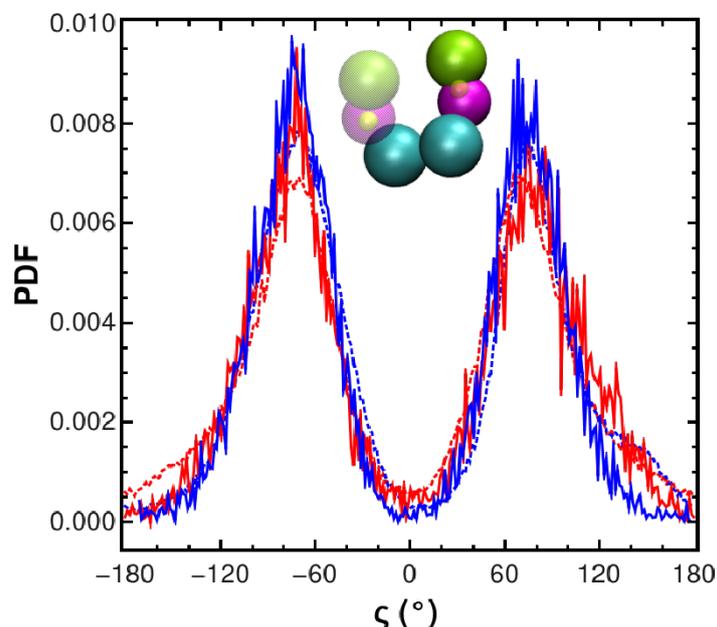


Figura 5.13: Funciones de densidad de probabilidad, PDFs, correspondientes a la distribución de ángulos diedros que forman las cuentas enlazadas **B**, **B**, **Nda** y **Prop** (la imagen insertada destaca estas cuentas), que representan a dos grupos contiguos (apolares) que forman parte de la cadena principal, y a los grupos amida y isopropilo de un monómero de NIPAM. Las curvas continuas corresponden al modelo de grano grueso y las punteadas al atomístico. Las curvas rojas corresponden a la temperatura alta y las azules a la baja.

lo, volvemos a someterlo a pruebas. Al igual que en los experimentos, una forma de verificar el comportamiento reversible del modelo pasa por producir el mismo estado final a partir de condiciones iniciales diferentes. De cumplirse esta condición, entonces el estado de equilibrio también sería independiente de la historia del sistema⁹. Vamos a trabajar con varias cajas de simulación siguiendo el método de intercambio de réplicas definido en la sección 4.1.2. Entonces, definiremos una condición inicial donde todas las cajas parten de una configuración bobina de la cadena, y la otra donde todas lo hacen de una configuración globular. Las simulaciones las correremos por un tiempo indeterminado, hasta que observemos que ambos conjuntos de réplicas convergen al mismo estado de equilibrio colectivo¹⁰. Para que esta condición se establezca, es necesario obtener la misma curva $R_g(T)$,

⁹Sin embargo, aquí, a diferencia de lo que ocurre con los experimentos reales, podemos ver en escalas espacio-temporales terriblemente pequeñas, y somos capaces de ver estados fuera del equilibrio con mucha mayor facilidad.

¹⁰Recordemos que estamos muestreando una colectividad extendida $\prod NPT_i$.

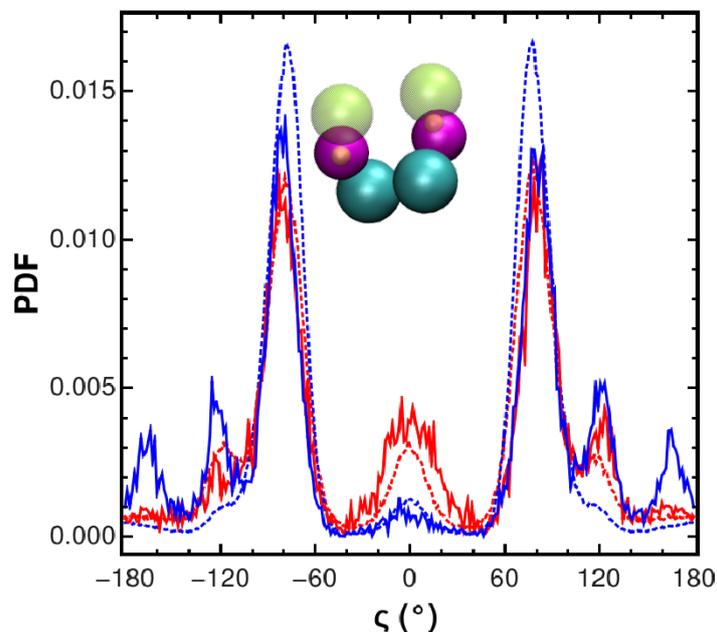


Figura 5.14: Funciones de densidad de probabilidad, PDFs, correspondientes a la distribución de ángulos diedros que forman las cuentas enlazadas **Nda**, **B**, **B** y **Nda** (la imagen insertada destaca estas cuentas), que representan a dos grupos contiguos de dos monómeros NIPAM vecinos. Las curvas continuas corresponden al modelo de grano grueso y las punteadas al atomístico. Las curvas rojas corresponden a la temperatura alta y las azules a la baja.

independientemente de las condiciones iniciales. La figura 5.16 muestra la evolución temporal de las curvas $R_g(T)$, donde se observa que las simulaciones que comienzan con la configuración bobina rápidamente desarrollan una pendiente negativa. Contrariamente, les toma más de $2 \mu s$ a las simulaciones que comienzan desde la configuración globular en generar configuraciones tipo bobina, incluso para las temperaturas más bajas. Aún así, luego de transcurridos unos $10 \mu s$, las dos curvas casi convergen a la misma curva, probando la ergodicidad del sistema. Cabe decir que simular $10 \mu s$ consume tiempo de cómputo importante, incluso para modelos de grano grueso. Por otro lado, los cambios conformacionales de sistemas poliméricos, como lo son por ejemplo las proteínas, pueden ocurrir con tiempos característicos de este orden.

Con el propósito de acelerar la convergencia del método, y así reducir los tiempos de simulación, hemos considerado una condición inicial donde la mitad de las réplicas parten de la configuración bobina y la otra mitad de la configuración globular. No es necesario que las configuraciones bobina las asignemos a temperaturas por debajo de la crítica y las globulares por encima, dado que el

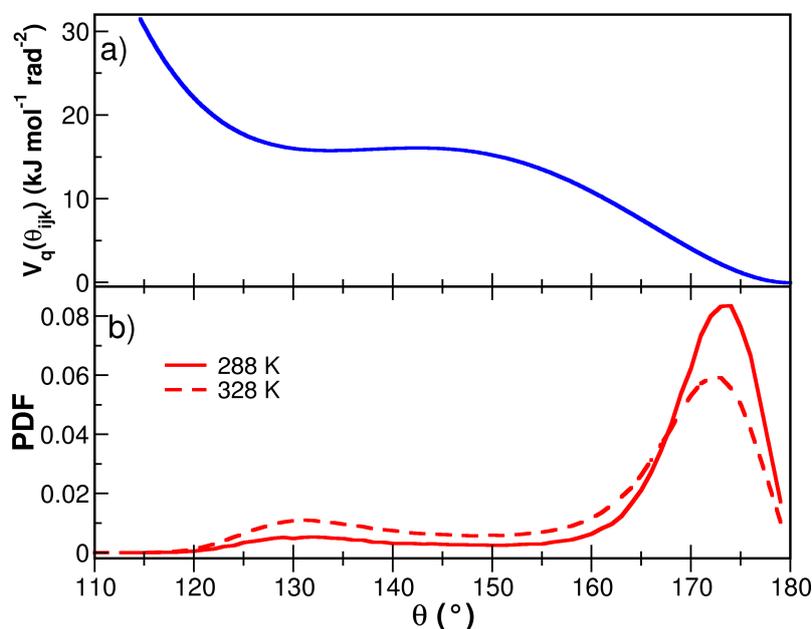


Figura 5.15: Arriba) Función potencial ajustada dada por la ecuación (4.10). Abajo) Funciones de densidad de probabilidad, PDFs, correspondientes a la distribución de ángulos que forman las cuentas enlazadas **B**, **B** y **B**, para temperaturas baja (curva llena) y alta (curva a trazos). Las curvas coinciden con las mostradas en la figura 5.12 para grano grueso.

método ordena a las cajas mediante los intentos de intercambio, y ubica a aquellas configuraciones de menor energía potencial a la menor temperatura. Si nuestro modelo de grano grueso captura correctamente la esencia de las interacciones atomísticas, las configuraciones bobina, que presentan la menor entalpía gracias a los puentes de hidrógeno, deberán ubicarse rápidamente con temperaturas por debajo de la crítica, y esto es justamente lo que ocurre. Los resultados se incluyen en la figura 5.16, para promedios obtenidos en el rango de 3 a 5 μs , como puntos verdes. Esta curva parece definir la convergencia de las otras dos, dado que justo se encuentra entre las curvas obtenidas al promediar en los rangos de 8 a 10 μs para ambas condiciones iniciales homogéneas. Las simulaciones que se mostrarán en el siguiente apartado comienzan desde esta configuración inicial para reducir los costos computacionales.

Aumentando el tamaño del sistema

Una vez que logramos hacer funcionar a nuestro 30-mero de pNIPAM de grano grueso, el siguiente paso consiste en explorar estructuras más complejas y verificar

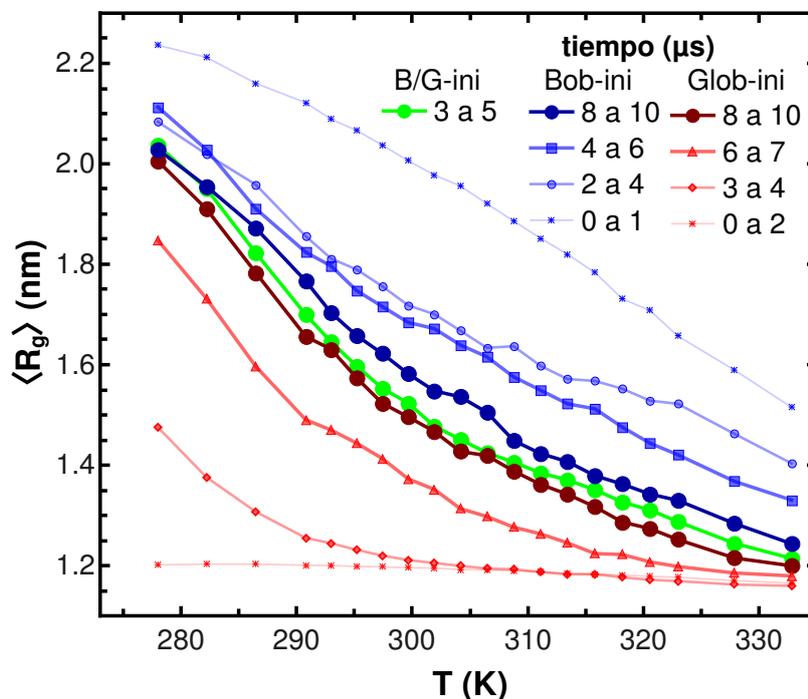


Figura 5.16: Radio de giro promedio como función de la temperatura y el tiempo para simulaciones de intercambio de réplicas que parten de la configuración bobina (curvas y puntos con tonos azules) y globular (curvas y puntos con tonos rojos). La curva verde se obtiene al promediar los radios de giro en el intervalo de tiempo 3 a 5 μs cuando se impone una condición inicial donde la mitad de las réplicas tienen una configuración inicial bobina y la otra mitad, globular.

que el modelo continúe comportándose de manera correcta. No hay que olvidar que el objetivo de este tipo de aproximación, es el de estudiar la encapsulación y liberación de partículas encapsulantes¹¹. En primer lugar, vamos a extender el tamaño del oligómero que estamos trabajando, hasta 35 y 40 monómeros. Cabe decir que algunos estudios de simulaciones atómicas sugieren que 30 es el tamaño mínimo de oligómero que logra capturar correctamente la transición bobina glóbulo [1]. Mejor dicho, 30 es el límite inferior para el cual la temperatura crítica de transición no cambia. Los experimentos muestran justamente este comportamiento, independientemente del peso molecular del polímero, la transición se observa a la misma temperatura [30]. Por este motivo nosotros también queremos

¹¹Es un objetivo muy ambicioso, y por lo mismo, no vamos a poder cumplirlo en esta Tesis. Aunque esto podía ocurrir, aprendimos mucho en el intento; acerca de la técnica de simulación y, sobre todo, del comportamiento del sistema y se ha reportado satisfactoriamente en el tercer artículo del apéndice A.

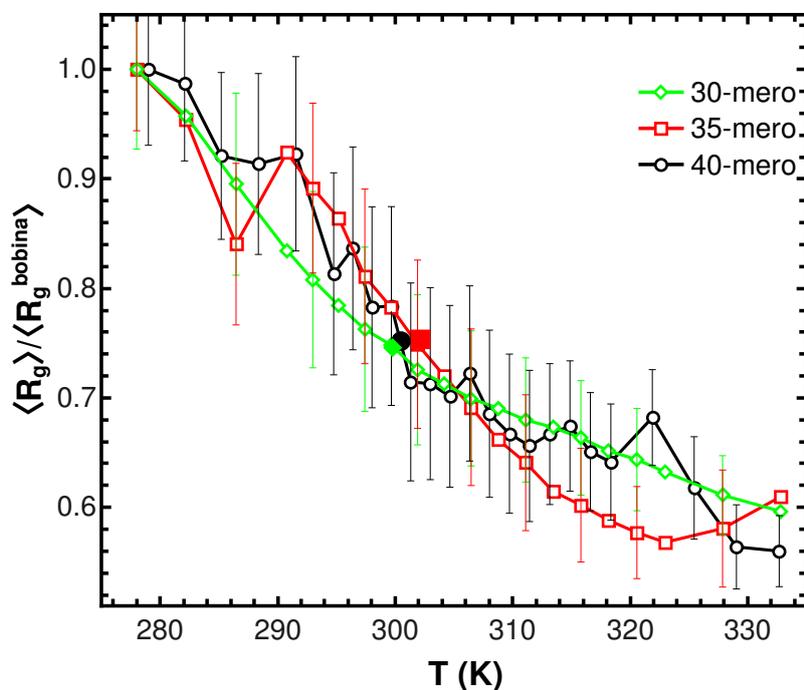


Figura 5.17: Promedio del radio de giro normalizado de oligómeros de pNIPAM de diferentes tamaños. Curvas roja y negra, simulaciones de grano grueso y átomo-por-átomo. Las curvas y símbolos verdes, rojos, y negros corresponden a tamaños de 30, 35 y 40 unidades. Los puntos sólidos muestran la temperatura crítica estimada en cada caso.

comprobar la independencia de la temperatura de transición con el incremento en el largo de la cadena. Los resultados del método de intercambio de réplicas para el radio de giro normalizado como función de la temperatura se muestran en la figura 5.17. Para todos los casos, el polímero transita del estado bobina al globular al incrementar la temperatura. Además, las cadenas, independientemente de su tamaño, dividen su radio de giro a la mitad al transitar. Por último, y quizás lo más importante, la temperatura de transición, que se obtiene del ajuste de la ecuación 5.1, prácticamente no cambia. En síntesis, las curvas mantienen su forma y emulan así el comportamiento experimental. Pero hay más buenas noticias que estas. En nuestro parecer, existe una tendencia de las curvas a transitar más abruptamente conforme crece el tamaño de la cadena polimérica. Aquí vale la pena volver a revisar la figura 5.1. Allí se muestra el comportamiento experimental obtenido para el radio hidrodinámico normalizado de partículas de nanogel, y de hecho, dibuja un comportamiento mucho más abrupto que el obtenido mediante simulaciones, tanto atomísticas como de grano grueso, para el tamaño como fun-

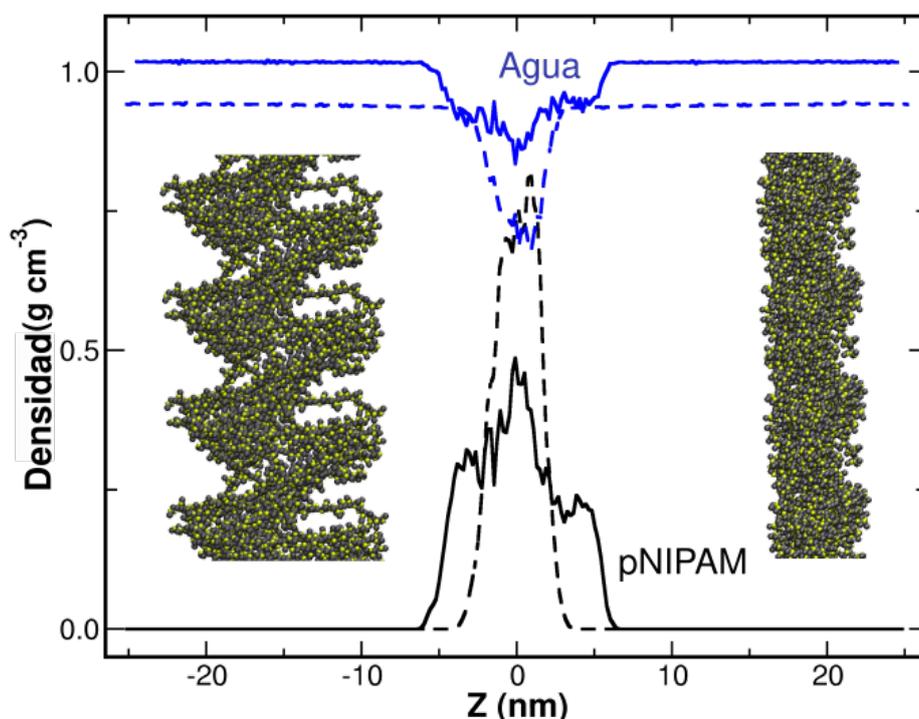


Figura 5.18: Perfiles de densidad del polímero y el agua obtenidos a lo largo de la dirección perpendicular a la membrana. El modelo utilizado es el de grano grueso basado en el campo de fuerza Martini. Las temperaturas consideradas son 298 K (curvas llenas) y 333K (curvas punteadas). Las imágenes insertadas corresponden a las instantáneas de la membrana (varias copias y por eso la periodicidad de la imagen) a la temperatura baja (izquierda) y alta (derecha).

ción de la temperatura. Por este motivo, creemos que hay una tendencia en esta dirección lo que confirmaría la utilidad del modelo.

Más allá de incrementar el número de unidades monoméricas en la cadena, también es posible construir sistemas formados por varias cadenas. De esta forma, no sólo se consideran las interacciones intracadena, sino también las que provienen de dos cadenas poliméricas diferentes. De hecho, se sabe que las partículas de nanogel de pNIPAM, no sólo se comprimen al incrementar la temperatura, sino que también agregan, produciendo un efecto Tindall¹² más notorio.

En particular, construiremos una membrana delgada constituida por cadenas de nuestro modelo de grano grueso, tal como se describe en la sección de metodología 4.1.2. Esta configuración da lugar a un sistema más complejo y más grande,

¹²Se trata de la dispersión de luz en la región visible dadas por las fluctuaciones en el índice de refracción del medio que atraviesa. Estas son más intensas conforme aumenta el tamaño de las partículas, en este caso debido su agregación.

por lo que no nos será posible realizar varias simulaciones como función de la temperatura. En este caso únicamente estudiaremos la estructura de la membrana a las temperaturas de 298 K y 333 K, bien por debajo y encima de la crítica. Una vez alcanzado un estado estacionario para todas las propiedades, presumiblemente equilibrio, se procedió a estudiar el perfil de densidades de las componentes del sistema, polímero y agua. Estos perfiles se muestran en la figura 5.18. Aquí es posible notar en regiones apartadas de la membrana, que la densidad del modelo de agua Martini captura correctamente los valores experimentales, produciendo valores menores a temperaturas más elevadas. Cabe decir que se ha ajustado una presión de 1 bar y que la densidad es una variable independiente (o el volumen, quién a su vez fija la densidad). Lo importante para nosotros, sin embargo, no es el correcto comportamiento del modelo de agua Martini, sino el de la membrana. Esta permanece hidratada y expandida a baja temperatura, manteniendo una estructura de núcleo-coraza impuesta por las condiciones iniciales. A pesar de no haber impuesto entrecruzantes que restrinjan los grados de libertad de las cadenas, esta mantiene su estructura original, al menos en la ventana temporal a la cual tenemos acceso¹³. Al incrementar la temperatura, la membrana colapsa expulsando agua en el proceso, dando a lugar a una estructura más compacta. De todas formas, la deshidratación no es completa, como ocurre para los sistemas de pNIPAM experimentales y las simulaciones atomísticas [61]. La figura 5.18 incluye una vista de la conformación que toma la membrana a las temperaturas estudiadas. Se observa una respuesta significativa de la misma a los cambios de temperatura, como era de esperar.

El siguiente paso para la construcción de las partículas nanoencapsulantes sería la inclusión en el modelo de entrecruzantes y sitios cargados. Tanto los primeros como los segundos son elementos importantes en cualquier proceso de síntesis de nanogeles. El más recurrido de los primeros es la N,N'-metilbisacrilamida, que forma enlaces covalentes entre las cadenas. Los sitios cargados, por otro lado, provienen del iniciador de la reacción de polimerización, y también quedan unidos de forma covalente a las partículas finales. El hecho de que las partículas finales presenten cierta carga hace que exista un juego entre estas y los posibles electrolitos de la disolución acuosa que las rodea. Estas partículas difieren del comportamiento típico coloidal, debido a que son permeables a la disolución y también a las diferentes especies iónicas presentes. Al tener en cuenta el efecto electrostático, por ejemplo, es posible colapsar las partículas de microgel incrementando la temperatura por encima de la crítica sin que estas agreguen y se separen en fases. Al momento de escribir esta tesis, estamos realizando estudios con este tipo de sistemas con resultados prometedores. Sin embargo, por cuestiones de tiempo,

¹³No esperamos que esta condición se mantenga para ventanas temporales 10^2 , o quizás 10^3 veces más grandes. Ni hablar para ventanas del orden de segundos, minutos, u horas.

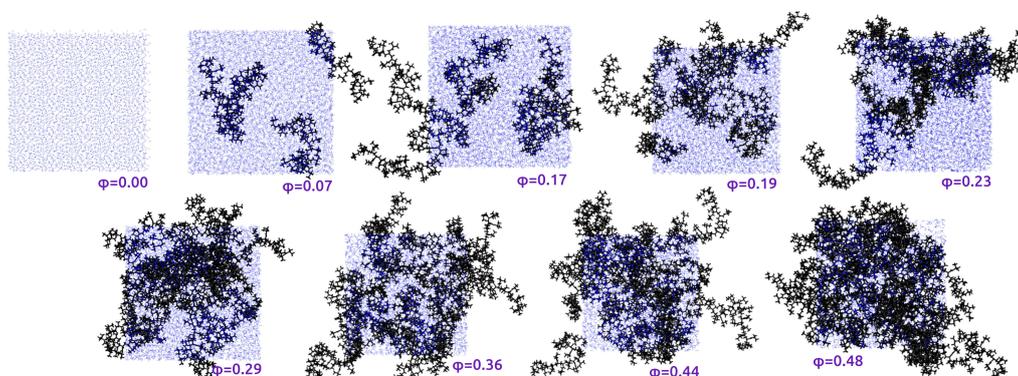


Figura 5.19: Cajas de simulación con diferentes concentraciones de pNIPAM. La concentración aumenta de izquierda a derecha y de arriba a abajo. Las condiciones periódicas hacen que algunas cadenas se vean parcialmente fuera de las cajas.

estos estudios no forman parte de esta Tesis.

5.1.2. Energía libre de transferencia

Además de dirigirnos lentamente, mediante el modelado con técnicas de simulación de grano grueso, hacia el estudio de la carga y descarga de nanogeles huecos, hemos contemplado otras rutas para lograr este propósito. Como se ha mencionado con anterioridad, una de estas posibles rutas lo constituyen el modelado teórico mediante técnicas DDFT. Sin embargo, esta técnicas necesitan como parámetros de entrada tanto a las energías libres de transferencia como a los coeficientes de difusión. Para tal fin, procederemos al diseño de nuevas simulaciones moleculares atomísticas (simplemente porque dan mejores resultados).

Como se ha explicado en el capítulo 4, el cálculo de la energía libre de solvatación, con las cuales luego calcularemos la energía libre de transferencia, requiere en primer lugar la generación de cajas de simulación con diferentes concentraciones poliméricas. Los perfiles de estas cajas se muestran en la figura 5.19, donde la fracción de volumen polimérica, ϕ_m , crece hacia la derecha y hacia abajo. Todas estas cajas se encuentran ya equilibradas a la temperatura y presión objetivos. Inicialmente se preparan las cajas con una concentración aproximada de pNIPAM, pero luego se calcula ϕ_m a partir del volumen promedio de cada caja y la cantidad de polímero contenida. La tabla 5.6 muestra estas cantidades. Es preciso notar que aquí la concentración polimérica no viene establecida por la temperatura ni por la transición bobina-glóbulo, sino que se fija de manera arbitraria. De todas formas, la temperatura sí afecta la estructura del polímero dentro de la celda de simulación, dado que este sigue siendo termosensible. El uso de la colectividad isotérmica-isobárica en conjunto con condiciones periódicas en todas las direcciones y cajas

de simulación cúbicas, hace que el seno de material sea relativamente homogéneo.

Nº de cadenas	Nº moléculas de agua	ϕ_m
0	7000	0.00
4	6550	0.07
8	6037	0.17
11	5560	0.19
15	5225	0.23
17	4600	0.29
20	3865	0.36
23	3156	0.44
27	2313	0.48

Tabla 5.6: Número de cadenas de polímero de 20 unidades monoméricas y número de moléculas de agua alojadas en las cajas de simulación cuyas instantáneas se muestran en la figura 5.19.

Para calcular la energía libre de transporte, $\Delta G_{\text{trans}}(\phi_m)$, de cierto cosoluto entre el seno de agua (estado inicial) y el seno de polímero hidratado (estado final) a concentración ϕ_m , es necesario calcular antes la energía libre de solvatación en cada uno de estas cajas de simulación. La ecuación que utilizaremos es la siguiente

$$\Delta G_{\text{trans}}(\phi_m) = \Delta G_{\text{pol}}(\phi_m) - \Delta G_{\text{solv}}^{\text{agua}}, \quad (5.2)$$

donde $\Delta G_{\text{pol}}(\phi_m)$ es la energía libre de solvatación de la molécula en cuestión (cosoluto) en el seno que contiene cierta fracción de volumen ocupada por el polímero, ϕ_m , y $\Delta G_{\text{solv}}^{\text{agua}}$ es la correspondiente al agua. Vamos a calcular estas propiedades a las temperaturas de 298 K y 343 K.

A pesar de que la concentración polimérica se encuentra fija en cada una de las cajas de simulación, siempre existen inhomogeneidades locales, lugares donde la concentración polimérica es mayor o menor. Por este motivo, para disminuir el ruido estadístico entre repeticiones, es muy conveniente colocar tantas moléculas de cosoluto en el sistema como sea posible, y así muestrear la mayor parte del sistema. Sin embargo, como ya se ha mencionado en el capítulo de Metodología, tampoco es posible hacer esto sin alterar la composición química del seno de hidrogel, que ahora tendría más cosoluto que agua. Se debe de buscar un compromiso razonable, que a su vez, depende del tamaño del cosoluto. Hemos realizado los cálculos incluyendo entre 5 y 10 moléculas de prueba para cada repetición, dependiendo de su tamaño, para así también evitar interacciones entre estas. Nótese que, para sistemas ergódicos, si se corre la simulación durante suficiente tiempo, se termina por muestrear todo el espacio fase y esto también ayuda a minimizar el número

de moléculas de prueba necesarias. Sin embargo, al incrementar la concentración polimérica, las moléculas de prueba son más vulnerables a quedar atrapadas en alguna cavidad polimérica por largos períodos de tiempo y así romper con esta condición de ergodicidad. Las repeticiones de los experimentos, además, deberán entonces partir de cajas con diferentes distribuciones de estas partículas de prueba¹⁴. Sólo se puede obtener un buen muestreo al contemplar condiciones iniciales diferentes y corridas largas.

Estamos realizando al menos 5 repeticiones para cada cálculo de energía libre de solvatación, de donde sacamos un promedio y la desviación estándar. Las moléculas de prueba (de cosoluto) las insertamos al azar en posiciones iniciales nuevas para cada simulación. Para los sistemas que cuentan con una concentración de polímero alta, $\phi_m \geq 0.4$, dada la dispersión de los datos, encontramos necesario realizar 10 repeticiones. Un caso particularmente difícil de resolver es el del cosoluto metanol, dado que las diferencias entre $\Delta G_{\text{pol}}(\phi_m)$ y $\Delta G_{\text{solv}}^{\text{agua}}$ son tan pequeñas que es difícil incluso determinar correctamente su signo. En estos casos hemos repetido los cálculos 15 veces. Los resultados finales se muestran en la figura 5.20 para cuatro cosolutos, donde las barras de error corresponden a la desviación estándar de la media (σ/\sqrt{n} , donde σ es la desviación estándar y n el número de repeticiones).

La evaluación de la energía libre depende del punto de referencia, dado que únicamente es posible medir sus cambios. Para medir la energía libre asociada al transporte de una molécula, la referencia será aquel estado donde la molécula se encuentra solvatada en un seno de agua. Entonces, valores negativos de $\Delta G_{\text{trans}}(\phi_m)$ indican la preferencia del cosoluto por el seno de polímero hidratado, y por el contrario, valores positivos apuntan a una preferencia por el seno de agua. En el primer caso, el trabajo reversible necesario para trasladar una molécula de cosoluto desde el agua al polímero hidratado es negativo, mientras que en el segundo, positivo. Esto, a su vez, se traduce en un potencial efectivo atractivo o repulsivo entre el cosoluto y la matriz de polímero hidratado.

Analizaremos ahora lo que ocurre con cada molécula de cosoluto. La molécula de fenol (panel a) de la figura 5.20) presenta valores negativos para la energía libre de transferencia en todos los casos, excepto para $\phi_m = 0$, donde la transferencia se realiza entre dos sistemas idénticos de agua. Además, el valor absoluto de la energía libre crece continuamente y de forma prácticamente lineal al incrementar la fracción ocupada por el polímero, ϕ_m . Para $\phi_m = 0.6$, la energía libre de transferencia ronda los $-6kT$, el valor más negativo que se observa entre los cuatro cosolutos que hemos considerado. Todo esto ocurre tanto para 295 K como

¹⁴Las repeticiones, para que tengan valor estadístico, deben contemplar todo el procedimiento y no nada más una parte. De no ser así, el impacto de aquella parte del procedimiento que no se repite no se reflejaría en la dispersión final de las medidas.

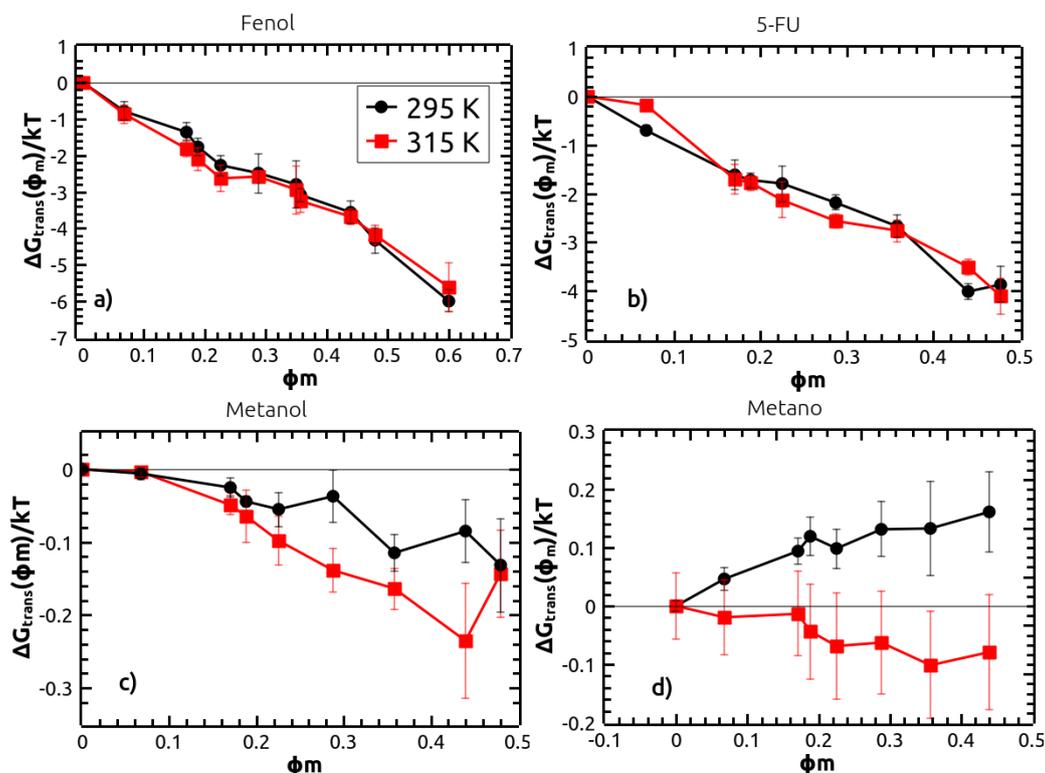


Figura 5.20: Cambio de energía libre de transferencia entre el seno de agua y el seno de polímero hidratado a fracción de volumen ocupado ϕ_m , para diferentes cosolutos: a) fenol, b) 5-Fu, c) metanol y d) metano, como se indica en la figura. Las líneas negras y rojas corresponden a sistemas por debajo y por encima de la temperatura crítica T_c , respectivamente.

para 315 K, dado que las curvas apenas muestran diferencias. Entonces, existe una atracción efectiva del fenol por el seno de pNIPAM hidratado, que puede atribuirse parcialmente a la formación de puentes de hidrógeno entre el grupo amida del monómero de NIPAM y el hidroxilo del fenol. La interacción del polímero con el anillo aromático del fenol también juega un papel importante, dado que esta molécula interactúa más fuertemente con el pNIPAM que, por ejemplo, el metanol (ver el panel c) de la figura 5.20). La preferencia del pNIPAM por alcoholes y otros tipos de compuestos orgánicos polares ha sido previamente reportada [66, 6, 72, 54, 13]. Además, Kandûc *et al.* publicaron la energía libre de transporte para diferentes compuestos polares y apolares para hidrogeles de pNIPAM con composición constante, y encontraron que esta depende linealmente del área del compuesto. Tanto si el compuesto presenta una atracción preferente por el pNIPAM como repulsión, la interacción mantiene su signo y crece con

el área que expone el cosoluto. Para comprender esto es necesario notar que los términos energéticos y entrópicos involucrados en la transferencia dependen de este parámetro de forma lineal. La interacción directa polímero-cosoluto depende del número átomos del segundo, y esto a su vez impacta directamente en el área expuesta para moléculas pequeñas. La energía a pagar por la remoción de moléculas de agua adsorbidas sobre la superficie polimérica también crece linealmente con el área del cosoluto, dado que el número de moléculas de agua promedio a quitar depende de este parámetro. La entropía que ganan las moléculas de agua removidas también incrementa linealmente con el número de moléculas removidas, por lo que el área del cosoluto se encuentra, al final, directa y linealmente vinculada a la energía libre de transferencia. Todo lo expuesto es en esencia una consecuencia de que tanto la entalpía como la entropía son propiedades extensivas.

El agua es un mal disolvente del pNIPAM a temperaturas por encima de la crítica, y es menos malo¹⁵ a bajas temperaturas. La capacidad del agua para generar puentes de hidrógeno con la cadena polimérica se vuelve más importante que la entropía perdida por rodear tales cadenas únicamente a temperaturas menores que la crítica, lo que mejora un poco su capacidad por solvatar al polímero. Por el contrario, el fenol es siempre un buen disolvente del pNIPAM, dado que no solo es capaz de producir puentes de hidrógeno, sino que además su estructura aromática es capaz de interactuar de forma favorable con la amida y también (aunque un poco menos favorablemente) con los grupos apolares. A diferencia del agua, el fenol no genera esa pérdida de entropía o estrés por rodear la cadena polimérica y no existe esa fuerza impulsora por liberar en cuanto se pierdan unos pocos puentes de hidrógeno. Entonces, la temperatura no juega ningún papel que afecte la calidad del fenol como disolvente del pNIPAM, lo que se refleja en el comportamiento de las curvas del panel a) de la figura 5.20.

Teniendo en cuenta la discusión anterior, es evidente que las regiones concentradas de pNIPAM atraen más al fenol que aquellas diluidas. Esto explica la relación lineal encontrada entre $-\Delta G_{\text{trans}}(\phi_m)$ y ϕ_m . Sin embargo, la relación parece no ser simplemente directa, sino que además proporcional (lineal) al menos en el intervalo de ϕ_m estudiado. Cabe aquí decir que existen modelos teóricos que predicen una interacción efectiva que decrece de forma aproximadamente lineal para valores de ϕ_m relativamente bajos, para luego dibujar un mínimo y crecer para valores de ϕ_m más elevados (ver la figura 10 del cuarto artículo del apéndice A [38]). El modelo no toma en cuenta explícitamente el disolvente, y el término que domina a valores altos de ϕ_m tiene que ver con la exclusión de volumen del soluto por la alta concentración de cadenas de polímero. Este, es un

¹⁵Por debajo de la temperatura crítica, las mezclas pNIPAM agua se separan en dos fases, una rica en polímero y otra de baja concentración, definiendo una curva de coexistencia. Los buenos disolventes son capaces de generar soluciones homogéneas a cualquier concentración de las componentes.

término positivo que termina por imponerse siempre a elevadas concentraciones. Sin embargo, la curva mostrada en el panel a) de la figura 5.20 no muestra indicio ninguno de mínimo para $\Delta G_{\text{trans}}(\phi_m)$. Nosotros pensamos que este término no se ve reflejado simplemente porque con $\phi_m = 0.6$ aún queda mucha agua que remover y las cadenas son lo suficientemente flexibles como para reacomodarse alrededor de la nueva molécula de cosoluto. Cada vez que dos cadenas se juntan destruyen volumen excluido, o dicho más directamente, generan nuevo volumen accesible para alojar más soluto (ver la figura 9 del cuarto artículo del apéndice A que muestra estos volúmenes contemplados por el modelo teórico). Creemos que el modelo teórico no toma en cuenta la capacidad de la matriz polimérica por incrementar el volumen accesible, dado que las cadenas poliméricas se suponen distribuidas al azar¹⁶, lo que genera esta discrepancia con lo obtenido mediante las simulaciones.

El fenol es un contaminante de aguas y se ha planteado el uso de membranas y microgeles como una posible forma de remoción [23, 45]. Además, es una molécula relativamente simple, fácil de modelar, y que presenta cierto parecido químico y en tamaño con el 5FU, un fármaco anticancerígeno que podría ser administrado mediante el uso de partículas encapsulantes [43, 20]. La molécula de fenol y su comportamiento en soluciones acuosas se ha estudiado ampliamente mediante simulaciones y experimentos, por lo que es posible comparar nuestros resultados con aquellos reportados en la literatura. El fenol es, por decirlo de alguna manera, una molécula modelo. Debido a este parecido físico (tamaños similares) y químico (los dos cuentan con un anillo plano y grupos formadores de puentes de hidrógeno), se esperan resultados para el 5FU similares a los obtenidos con el fenol, que se corroboran en el panel b) de la figura 5.20. En ambos casos observamos una pendiente negativa de $\Delta G_{\text{trans}}(\phi_m)$ como función de ϕ_m , una relación prácticamente lineal, y curvas que no dependen de la temperatura. Sin embargo, las pendientes no son exactamente iguales, siendo mayor la del fenol. Este resultado puede resultar un poco inesperado, dado que el 5FU cuenta con dos grupos oxo, aceptores para la formación de puentes de hidrógeno, y dos aminas secundarias, donantes y aceptores para la formación de puentes de hidrógeno, que compiten con el único grupo hidroxilo del fenol para la formación de estos puentes. Entonces, la habilidad de la molécula por formar puentes de hidrógeno con el pNIPAM no es el factor dominante en este caso. De hecho, es posible que la referida habilidad juegue en contra en lugar de a favor. Hay que recordar que estamos calculando la diferencia de energía libre de solubilidad, por lo que la capacidad de formar puentes de hidrógeno también favorece la interacción en el seno de agua. De hecho, $\Delta G_{\text{sol}}^{\text{agua}}$ es (-8.23 ± 0.1) kT para el fenol y (-43.5 ± 0.2)

¹⁶No hay nada azaroso en acomodarse a un lado para hacerle lugar a la nueva molécula de cosoluto.

kT para el 5FU (a 295 K)¹⁷. La otra diferencia tiene que ver con los anillos, que si bien ambos son planos, uno es aromático¹⁸ (el del fenol) y el otro no (el del 5FU, que tan sólo tiene un doble enlace localizado). Por lo visto, la interacción de los enlaces deslocalizados del anillo aromático con el pNIPAM, ya sea con el grupo polar como con los no polares, juega también un papel preponderante para explicar la fuerte interacción efectiva existente entre el fenol y el pNIPAM¹⁹.

Analizaremos ahora la energía de transferencia de los cosolutos más pequeños, comenzando con el metanol. El metanol, por su tamaño, polaridad, y capacidad de formar puentes de hidrógeno, es completamente soluble en agua. El valor obtenido para $\Delta G_{\text{solv}}^{\text{agua}}$ es (-7.45 ± 0.55) kT, un valor negativo y relativamente grande considerando su tamaño. Por lo tanto, su afinidad por el pNIPAM compite con un seno de agua en donde la molécula más pequeña de la serie de alcoholes alifáticos primarios se encuentra ya muy a gusto. Pese a esto, el pNIPAM es capaz de imponerse por el gusto del metanol y la molécula muestra energías libres de transferencia pequeñas pero negativas. De hecho, estos valores son tan pequeños que fueron necesarias muchas repeticiones tan sólo para reproducir el signo correcto de $\Delta G_{\text{trans}}(\phi_m)$. Comparados con el 5FU y el fenol, la atracción efectiva de la molécula de metanol es prácticamente nula, donde tan sólo se miden -0.23 kT para ϕ_m 0.4 siendo este el valor más negativo.

Pese a este valor tan pequeño de energía de transferencia, el metanol es capaz de reducir sensiblemente la temperatura crítica de transición bobina glóbulo del pNIPAM al agregar pequeñas cantidades de este en la mezcla. Este efecto lo comparte con otras moléculas pequeñas como lo es la acetona (ver el primer artículo del apéndice A), y otros alcoholes de la serie como lo son el etanol y el 1-propanol (ver el segundo artículo del apéndice A). La preferencia efectiva del alcohol por la cadena de pNIPAM, aunque pequeña, hace que se remplacen moléculas de agua de su superficie. Luego, basta con un incremento de temperatura para que el resto de las moléculas de agua se aparten de la cadena polimérica y así se produzca la configuración glóbulo. En este punto, la proporción de moléculas de alcohol que aún se encuentran adheridas a la superficie del polímero crece en comparación con las de agua.

Para el caso del metanol, se observa una diferencia sutil entre los casos de alta temperatura y de baja. Sin embargo, no estamos muy seguros de que esta diferencia sea estadísticamente significativa, dado que varios de los puntos traslapan sus barras de incertidumbre. Cabe decir que cuando la temperatura es mayor a la

¹⁷El 5Fu es un sólido a temperatura ambiente y presenta una solubilidad de 12.2 mg/ml en agua.

¹⁸Aunque aromático viene de aroma (varios de estos compuestos tienen aromas dulces y agradables), la definición moderna de este tipo de estructuras tiene que ver con la presencia de electrones π deslocalizados.

¹⁹La regla empírica que se suele cumplir a grandes rasgos es que los iguales se atraen: las interacciones $\pi - \pi$, polar-polar y apolar-apolar son favorecidas frente a las interacciones cruzadas.

crítica, la caja de simulación se vuelve más inhomogénea, lo que dificulta el muestreo correcto del espacio fase.

Finalmente analizaremos el comportamiento del cosoluto más pequeño y apolar, el metano. Para esta molécula, el $\Delta G_{\text{solv}}^{\text{agua}}$ es (-3.75 ± 0.85) kT, lo que indica que es más costosa la pérdida de energía debido a la necesidad de crear un hueco en la estructura de agua que lo que compensa la interacción directa entre el metano y el disolvente. Ahora, ¿dónde se paga más energía libre de solubilización, en el agua pura o en la mezcla agua-pNIPAM? La respuesta es, de acuerdo al panel d) de la figura 5.20, dependiente de la temperatura. Aquí sí se observa una clara diferencia entre las curvas $\Delta G_{\text{trans}}(\phi_m)$ obtenidas a temperaturas baja y alta. A baja temperatura, ΔG_{trans} es positivo, y a temperaturas por encima de la crítica, ΔG_{trans} es negativo. El aumento en la concentración polimérica sólo hace que se pronuncien más estos valores, haciendo que diverjan las curvas $\Delta G_{\text{trans}}(\phi_m)$. El hecho de que estas curvas muestren una respuesta térmica para el metano pero no para el 5FU, fenol y metanol, es bastante curiosa, y señala que los cambios en la interacción efectiva entre el pNIPAM y el cargo pueden o no tener que ver con la conformación del polímero. La diferencia de comportamiento, creemos, tiene que ver con el hecho de que las primeras son capaces de sustituir moléculas de agua de la superficie polimérica, dada su capacidad de formar puentes de hidrógeno y así sustituir unos por otros, mientras que el metano no presenta esta capacidad. El metano, como molécula apolar que es, es excluido por las moléculas de agua que prefieren interactuar consigo mismas. Con temperaturas por debajo de la crítica, son las moléculas de agua las que rodean al pNIPAM, y estas impiden la interacción directa pNIPAM-metano. Para que suceda esta interacción, la molécula de metano debe excluir a varias moléculas de agua que forman la caja que rodea al pNIPAM²⁰. Si bien estas moléculas de agua son bien recibidas por el seno de disolvente, que a su vez es feliz de expulsar a la molesta molécula de metano de su interior, esto no compensa el impacto negativo que tiene el metano sobre la interfaz pNIPAM-agua. Ambos sistemas, digamos, se pelean por excluir al metano de su interior y la disputa la gana, apenas, el que contiene al pNIPAM. Sin embargo, estas fuerzas motrices opuestas cambian de intensidad con el incremento de la temperatura y la configuración polimérica, que ahora tiene menos agua embebida y presenta regiones donde el pNIPAM interactúa directamente consigo mismo. En ese caso, el metano puede rodearse de una localidad apolar dominada por los grupos que forman la cadena principal y algunos grupos isopropilo, y la fuerza motriz de expulsión del metano del seno de agua es mayor que la ofrecida por el pNIPAM. Podríamos decir que a temperaturas por encima de la crítica el pNIPAM acentúa su carácter apolar, mientras que hace lo contrario por debajo de esta.

²⁰El metano, a pesar de ser pequeño, es más grande que el agua.

5.1.3. Coeficiente de difusión

Nuestra intención era calcular el coeficiente de difusión para las cuatro especies estudiadas en la sección anterior, pero los recursos de cómputo limitados y el número de repeticiones necesarias para los cálculos de energía libre consumieron más tiempo del planeado²¹. Por este motivo únicamente nos concentraremos en el cálculo del coeficiente de difusión del fenol. Como lo expusimos en la sección anterior, el fenol es una molécula muy estudiada tanto por simulación como por experimentos, y mantiene un parecido tanto físico (tamaño) como químico con el 5FU. Además, también presenta su propia problemática como contaminante de aguas por lo que la encapsulación mediante el uso de microgeles para su posterior remoción podría ser una estrategia viable para combatir el problema. Por estos motivos vamos a concentrarnos en este compuesto.

También hemos comentado antes que es necesario contar con el coeficiente de difusión como función de la concentración de pNIPAM y la temperatura para poder alimentar la teoría DDFT. Para ello, haremos uso de las cajas de simulación cúbicas y de fracción de volumen ocupado del polímero, ϕ_m , variable, desarrolladas para la determinación de la energía libre de solvatación y la energía libre de transferencia. La figura 5.22 muestra el coeficiente de difusión normalizado con el correspondiente al agua pura, como función de ϕ_m para dos temperaturas, 298 K y 343 K, las mismas estudiadas en el apartado anterior.

El coeficiente de difusión se calcula a partir de un ajuste lineal a tiempos largos del desplazamiento cuadrático medio. La figura 5.21 muestra esta cantidad para una caja con un valores de $\phi_m=0.07$ y 0.44 . Como se observa, la segunda curva (azul) desarrolla desplazamientos cuadráticos mucho menores que la primera, lo que se traduce en menores coeficientes de difusión. Es importante notar que no siempre se establece una relación lineal entre el desplazamiento cuadrático promedio y el tiempo, a diferencia de lo que ocurre en agua pura y para sistemas diluidos. Hay curvas, como la correspondiente a $\phi_m=0.44$, que muestran tres regiones. A tiempos cortos, la molécula solo puede explorar la región local que la rodea, por lo que el desplazamiento cuadrático medio crece de acuerdo con este microentorno. En estas escalas espacio-temporales se suele establecer un régimen difusivo²² con cierta pendiente hasta que la molécula comienza a explorar las fronteras donde aparecen inhomogeneidades. Cuando esto ocurre, es posible observar un régimen subdifusivo que puede incluso dar lugar a un estancamiento del desplazamiento cuadrático medio con el tiempo. En sistemas poliméricos

²¹Nuestras estimaciones se basaban en datos de la literatura, pero a veces los reportes son más optimistas que la realidad. En ocasiones hemos requerido más del triple de repeticiones que las reportadas en la literatura para obtener barras de error de tamaño razonable.

²²Se conoce como régimen difusivo cuando el desplazamiento cuadrático medio crece linealmente con el tiempo.

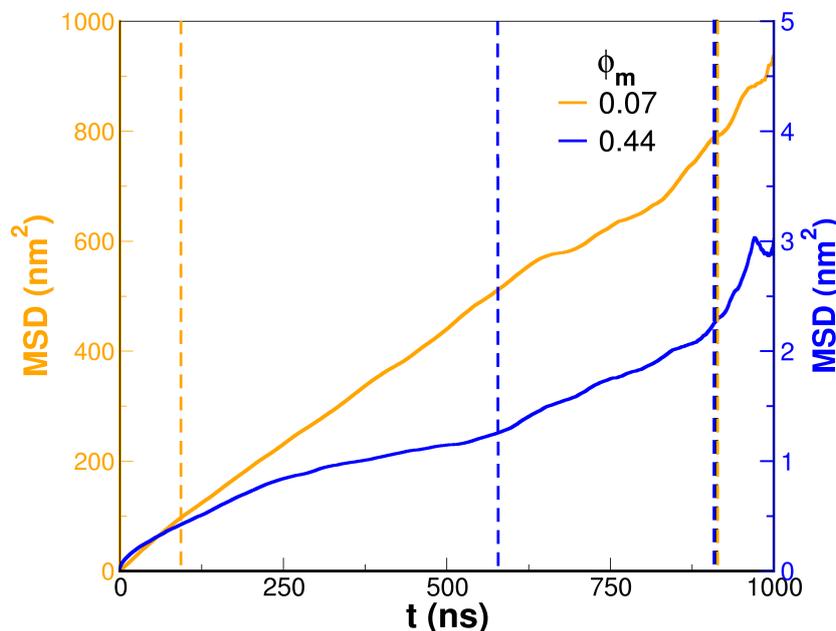


Figura 5.21: Desplazamiento cuadrático medio (MSD) de fenol en una matriz de hidrogel. A baja fracción de volumen del polímero $\phi_m = 0.07$ (naranja) el comportamiento es siempre lineal, sin embargo al aumentar ϕ_m hasta 0.44 (azul), el desplazamiento muestra tres regiones distintas. Las líneas punteadas demarcan la región usada para realizar el ajuste lineal en cada caso. Nótese la diferencia en la escala de la izquierda (cientos de nm^2) y derecha (unidades de nm^2).

concentrados este régimen puede perpetuarse durante tiempos que pueden ser varios órdenes de magnitud mayores que la ventana difusiva inicial, y se explica con la adsorción de las moléculas a las cadenas poliméricas y tiempos de estancia significativamente mayores que los difusivos originales. Normalmente, también en este tipo de sistemas poliméricos concentrados, el proceso subdifusivo termina y se retoma un crecimiento lineal, pero con una pendiente menor a la correspondiente a tiempos cortos. Este último paso ocurre para tiempos de observación mayores a los tiempos característicos de adsorción sobre las cadenas poliméricas. Es necesario entonces acceder a estos tiempos por lo que las ventanas de simulación han de ser grandes.

Como es de esperarse, el coeficiente de difusión incrementa con la temperatura debido al aumento de la agitación térmica. Para el fenol en agua pura los coeficientes de difusión que hemos obtenido son $(0.96 \pm 0.45) \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ y $(2.45 \pm 0.76) \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$, a las temperaturas de 298 K y 343 K, respectivamente. Estos valores se comparan bastante bien con los valores experimentales de $(1.013 \pm 0.012) \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ y $(3.38 \pm 0.07) \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ a 298.65 K y 373.54 K, reportados

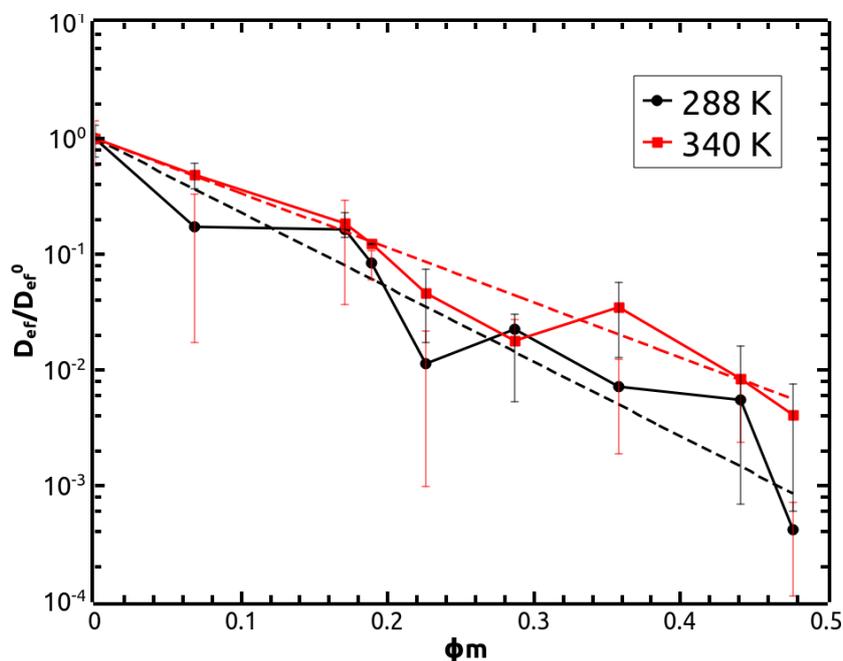


Figura 5.22: Coeficiente de difusión normalizado con el obtenido para el agua pura como función de la fracción de volumen ocupado por el polímero, ϕ_m . Las curvas negra y roja corresponden a 298 K y 343 K, respectivamente. Las líneas punteadas corresponden al ajuste exponencial $D_{ef} = D_{ef}^0 \cdot \exp(-a \cdot \phi_m)$. Nótese la escala logarítmica en el eje de las ordenadas.

en la literatura (el valor del coeficiente de difusión experimental para 343.15 K se estima mediante una interpolación segmentaria cúbica) [48, 65]. Es costumbre normalizar las curvas para los coeficientes de difusión con una referencia, en este caso con el seno de agua pura. Estas curvas se muestran en la figura 5.22 para las dos temperaturas y como función de ϕ_m . Aquí se observa que el coeficiente de difusión decae rápidamente (nótese la escala logarítmica) con el incremento de ϕ_m , dado que las cadenas entorpecen la movilidad de las moléculas de prueba. De hecho, no sólo la obstaculizan, sino que además se adhieren a las moléculas lo que conlleva al régimen subdifusivo que hemos comentado, lo que implica tener en cuenta ventanas temporales mucho más amplias que contemplen dicha interacción. Este hecho hace que se incremente la incertidumbre en la determinación del coeficiente de difusión al incrementar ϕ_m , porque habrá que promediar varios eventos de adsorción-desorción para producir resultados estadísticamente confiables.

Las dos curvas de la figura 5.22 muestran un decaimiento exponencial del coeficiente de difusión con ϕ_m , pero este es más profundo a baja temperatura. Nótese que la agitación térmica ya se ha tenido en cuenta con el proceso de

normalización, dado que afecta a toda la curva. Por este motivo, la diferencia de las curvas no puede explicarse simplemente aludiendo a este factor, debe de haber algo más. Como ocurre con otras propiedades, la diferencia se puede atribuir al cambio de estado del polímero. Si bien la cantidad de agua y polímero son las mismas en la cajas con igual ϕ_m a baja y alta temperatura, su colocación no lo es. Cuando la temperatura es elevada, la cadena se pliega sobre sí misma produciendo incluso algunos puentes de hidrógeno internos, y así ofrece menos sitios de amarre a las moléculas de fenol. Estos sitios tienden a estar más disponibles cuando la conformación es tipo bobina y las cadenas se encuentran bien hidratadas y separadas las unas de las otras. Los parámetros obtenidos del ajuste exponencial con la forma $D_{\text{ef}} = D_{\text{ef}}^0 \cdot \exp(-a \cdot \phi_m)$ produce los valores de las pendientes $a = 10.88 \pm 0.38$ y 14.80 ± 4.23 .

5.2. DDFT

La teoría del funcional de la densidad dinámico da información de la evolución temporal de los perfiles, en particular, los de la molécula de cosoluto, como función del coeficiente de difusión y el potencial químico. Con los datos obtenidos de simulación, estudiamos el caso específico para la adsorción y descarga de fenol en nanopartículas de pNIPAM huecas. Para este caso, utilizaremos la geometría esférica dada por la ecuación 4.15.

Estamos considerando el caso donde las partículas de nanogel se encuentran muy diluidas, al punto en que estudiaremos el comportamiento de una única partícula y supondremos que al resto le sucede exactamente lo mismo. A este caso límite se le conoce como de dilución infinita y el seno de la disolución que rodea a la partícula actúa como un reservorio²³. Entonces, lejos de la superficie externa de la partícula la concentración del seno permanece invariante. Esta condición impone una frontera que viola la conservación de la masa, dado que esta ingresa al sistema para el caso de carga y sale continuamente para el caso de descarga.

El estado colapsado o expandido del hidrogel entra en las ecuaciones simplemente al fijar ϕ_m , la fracción de volumen ocupado. Esta toma los valores de $\phi_m = 0.15$ y 0.5 , para temperaturas por debajo y por encima de la crítica, respectivamente. Las dimensiones de la partícula encapsulante vienen dadas por los radios internos y externos de $a=30$ nm y $b=50$ nm, mientras se toma un ancho de la interfase, $\delta = 1$ nm. La concentración inicial de fenol se supone en 0.25 M, ya sea en la parte interior de la partícula para el estudio de la descarga, o en el seno exterior para el estudio de la carga. El diámetro de la molécula de fenol se toma de

²³Los reservorios termodinámicos son aquellos alrededores que, por poseer una gran masa comparada con la del sistema, su interacción mutua no produce cambios en sus propiedades.

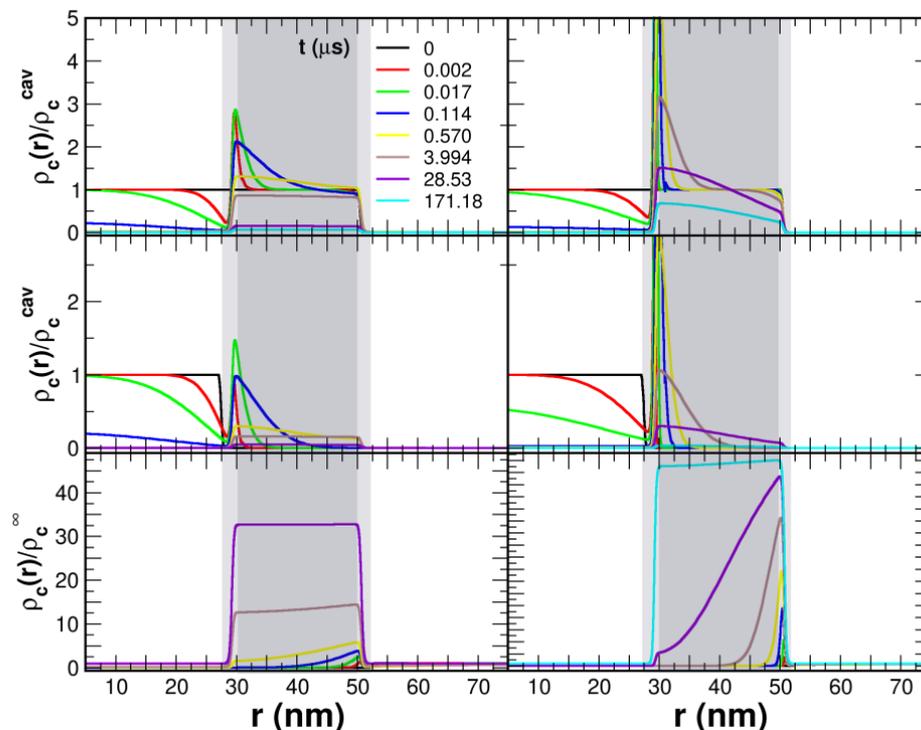


Figura 5.23: Resultados DDFIT para la descarga (filas de arriba) y la carga (fila de abajo) de fenol, a las temperaturas de 288 K (izquierda) y 343 K (derecha). En la fila de arriba todo el nanogel se encuentra embebido con la misma concentración de fenol al inicio, mientras que la de en medio únicamente llena el hueco de la partícula. Las regiones grises oscuro y claro corresponden a la pared de nanogel y a las interfaces, respectivamente. Los diferentes colores se utilizan para discernir el avance del tiempo, tal como se indica en la figura. Todos los perfiles se encuentran normalizados.

5.6 . El código avanza hasta que el potencial químico dentro y fuera del nanogel se iguala.

La figura 5.23 muestra los perfiles que se obtienen para la descarga y la carga de fenol de la partícula de microgel, donde se resalta la región del espacio donde se encuentra la pared de microgel (gris oscuro) y sus interfaces (gris claro). Los paneles izquierdos se encuentran a baja temperatura (alta concentración de pNIPAM) y los derechos a una temperatura por encima de la crítica (baja concentración de pNIPAM) . Los paneles ubicados en la primera fila corresponden a una condición inicial (curvas negras en todos los paneles) donde toda la partícula se encuentra embebida en fenol, mientras que aquellos de la fila de en medio comienzan con el fenol llenando únicamente al hueco de la partícula. Dependiendo de la afinidad

del cosoluto con el polímero, una condición inicial puede ser más apropiada que la otra. Se espera que la interacción efectiva favorable existente entre el fenol y el pNIPAM hagan de la primer condición inicial la más cercana a la realidad. Por último, los paneles de la fila inferior corresponden a la carga de la partícula. Los perfiles evolucionan rápido en el tiempo, a tiempos cortos, y luego lo hacen más lentamente al final de los cálculos. Esto es así porque el potencial químico tiende a igualarse con el paso del tiempo, y es su gradiente quien rige la rapidez con la que evoluciona el sistema. Se utiliza un conjunto arbitrario de colores para representar los perfiles a diferentes tiempos. Recordando los resultados observados para el fenol dados por la figura 5.20, existe una interacción atractiva efectiva muy importante entre el fenol y el polímero, por lo que esta tenderá a acumularse en la pared de la nanopartícula.

Describiremos lo que ocurre en el panel de arriba y a la izquierda de la figura 5.20. Se comienza con un perfil plano a concentración 0.25 M de fenol, que abarca el hueco y la pared de la partícula (curva negra). Este perfil cambia rápidamente para dar lugar a la curva roja que muestra el mismo panel, donde la pared absorbe material del hueco de la partícula, mientras se pierde muy poco fenol hacia el exterior (no se observa). Dado que el coeficiente de difusión es mayor en la cavidad que en la pared, el fenol se acumula cerca de la interfaz interna de la pared, produciendo incluso una especie de bloqueo²⁴. Esta evolución ocurre en $0.002 \mu\text{s}$, por lo que aún no se da tiempo a que exista una difusión importante del material desde el centro del hueco hacia la interfaz interna, por lo que se genera una zona de vaciado. Durante los siguientes $0.015 \mu\text{s}$, la zona de vaciado se hace aún más grande, dado que la adsorción de material por la pared interna es más rápida que la difusión desde el centro hacia la pared. Además, ya se observa algo de difusión dentro del material polimérico, por lo que el pico de la curva verde se observa más ancho que el de la curva roja. Pasados $0.114 \mu\text{s}$ desde el comienzo, la concentración de fenol en el centro del hueco ya ha caído de forma importante, y el perfil de concentración, si bien baja hacia la pared, ya presenta gradientes menores (curva azul). Dentro de la pared, el fenol también ha difundido notablemente, haciendo que el pico cercano a la interfaz interna baje de altura. Es necesario notar que, en todo momento, la concentración de la interfaz externa es prácticamente constante. Esto indica que el flujo de partículas hacia esta interfaz desde la pared iguala al flujo de salida desde la interfaz hacia el seno de la disolución. Como se ha impuesto una concentración nula de fenol como condición de borde, la concentración fuera de la partícula siempre es muy pequeña, y baja desde la superficie externa hacia afuera. Estas concentraciones son

²⁴Si la concentración en la membrana fuera demasiado grande, la repulsión de volumen excluido del fenol impediría la llegada de más moléculas. Ocurre algo similar en la salida de eventos masivos, por ejemplo después de un clásico en los estadios, lo que empeora drásticamente si le sumamos una situación de pánico.

tan pequeñas que apenas se notan en la figura 5.20. Pasado más tiempo, el hueco prácticamente se vacía de fenol y únicamente la cantidad remanente en la pared contribuye a la descarga. En este punto, el perfil de concentración de la pared se vuelve prácticamente plano, y la salida de material hace que el perfil baje de forma casi homogénea. Como se ha explicado, los cálculos terminan cuando se igualan los potenciales químicos, y esto ocurre cuando ya no hay más fenol en toda la región estudiada, para así igualar la condición de borde impuesta.

Tal como se hizo para el panel de arriba y a la izquierda de la figura 5.20, sería posible describir lo que ocurre en cada uno de los paneles, pero resultaría tedioso. En su lugar, describiremos solo las diferencias. En el panel de arriba a la derecha, se observa lo que ocurre al incrementar la concentración de polímero. Esta situación correspondería a una partícula a mayor temperatura, pero diferente de la anterior, dado que su pared contiene más pNIPAM. La mayor concentración de pNIPAM genera un campo mucho más intenso para el fenol que en el caso anterior, y a su vez, un coeficiente de difusión menor. Esto hace que se pronuncien mucho más las características observadas en el párrafo anterior. Los picos de absorción iniciales, por ejemplo, se hacen más altos, generando un cuello de botella para el arribo de más material. Para el tiempo $3.994 \mu s$, cuando el perfil de la izquierda ya es prácticamente plano dentro de la pared, en el panel derecho aún se observa un pico pronunciado, lo que indica una descarga más lenta. Además, ahora sí se observa una caída notable en la concentración de la membrana externa, lo que a su vez implica un menor gradiente y un flujo menor. De hecho, a los $171.18 \mu s$, cuando ya no se observa material en la figura izquierda, aún queda material por descargarse en el panel derecho.

Como se explicó, los paneles ubicados en la fila central de la figura 5.20 parten de una condición inicial diferente, donde únicamente el hueco se llena con fenol. Esto altera la evolución de los perfiles, donde ahora en todo momento se observa una concentración menor en la pared, sobre todo en las regiones lejanas a la interfaz interna.

Los paneles ubicados en la última de las filas, no sólo presenta una condición inicial diferente, sino también una condición de borde distinta, que impone un flujo de fenol desde el seno hacia la partícula. La condición inicial corresponde a un perfil plano en la parte exterior de la partícula, y la condición de borde establece que esta concentración permanece constante lejos de esta, dado que el seno de disolución se supone que actúa como reservorio. De forma similar a lo ya descrito en párrafos anteriores, durante los primeros tiempos aparecen cambios bruscos, donde se observa un vaciado cerca y por fuera de la superficie externa, y un pico también cercano a esta interfaz pero del lado interno a la pared. Dado que ahora el material no se acaba, se establece un flujo entrante que es capaz de saturar tanto la pared de la membrana como el interior hueco de la partícula encapsulante. Entonces, el pico ubicado cerca de la interfaz externa de la pared, se

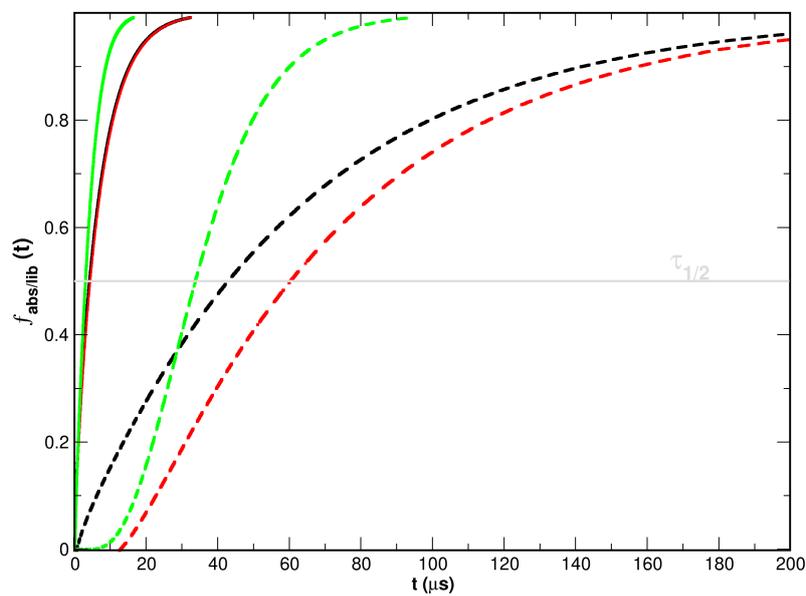


Figura 5.24: Liberación (curvas negras y rojas) y carga (verdes) de fenol para las diferentes condiciones iniciales y de frontera correspondientes a la figura 5.23. Tanto la liberación como la carga se expresa en términos de la evolución temporal de la fracción de fenol que sale o llena la partícula, con respecto a la cantidad total de fenol a vaciar (o llenar). Las curvas punteadas corresponden a una concentración de pNIPAM elevada (alta temperatura) mientras que las curvas continuas corresponden a una concentración baja (baja temperatura).

ensancha continuamente hasta generar un perfil homogéneo de alta concentración. Este ensanchamiento deja de evolucionar cuando el perfil ya se encuentra plano y no se observan ya diferencias en el potencial químico del fenol.

La figura 5.24 muestra la evolución temporal de la fracción de moléculas de fenol con respecto a la cantidad total a descargar o llenar, $f(t)$. Esta función es nula al comienzo (en ambos casos) y tiende asintóticamente a 1 a tiempos largos. Las curvas continuas corresponden al caso donde la concentración de pNIPAM es baja mientras que para las discontinuas la concentración de pNIPAM es alta. Como se observa, los tiempos de carga y descarga son mucho menores cuando la pared de la partícula encapsulante tiene una densidad menor, lo que impacta en el coeficiente de difusión.

Independientemente de la densidad de la pared, la carga es siempre más rápida que la descarga. Esto se debe a que la condición de borde a concentración de seno constante mantiene un gradiente mayor que en el caso de la descarga, donde la concentración de fenol baja continuamente en el interior de la partícula. Esta condición tiene un impacto mayor a tiempos largos, cuando la diferencia de concentración entre el interior y el exterior de la partícula tiende a cero. Por otro lado, las diferencias en las descargas atribuibles a la condición inicial en la distribución de fenol son importantes a tiempos cortos, pero tienden a suavizarse a tiempos largos. A tiempos cortos, las partículas que tienen fenol en todo su interior, incluida la pared, liberan material inmediatamente. Por el contrario, se observa cierto tiempo de respuesta de las partículas que no tienen fenol en la pared para comenzar a liberar material. También es necesario tener en cuenta que el 100 % en los procesos de descarga y carga no corresponden a las mismas cantidades de fenol total. Es decir, para la descarga, el 100 % o $f(t) = 1$ significa que la cantidad de fenol en el interior del hueco, o en el interior de toda la partícula, se ha descargado, pero no son las mismas cantidades. Obviamente, hay más material en el segundo caso. Similarmente, la condición final para el proceso de carga llena a toda la partícula, e incluso lo hace más a mayor densidad polimérica, porque el equilibrio final depende de esta condición.

Es útil definir el tiempo medio de liberación, $\tau_{1/2}$, como un parámetro que caracteriza las curvas de carga y descarga. Este es el tiempo necesario para que el nanogel se cargue o descargue a la mitad de su contenido inicial (o final). La definición de $\tau_{1/2}$ permite a su vez realizar estudios sistemáticos en función de varios parámetros, como lo pueden ser: la densidad de la pared, el tamaño del fármaco, las dimensiones de la partícula encapsulante, la atracción efectiva fármaco-polímero, la difusión efectiva, entre otras. En el cuarto artículo del apéndice A se muestran algunas leyes de escalado que se observan al variar estas cantidades.

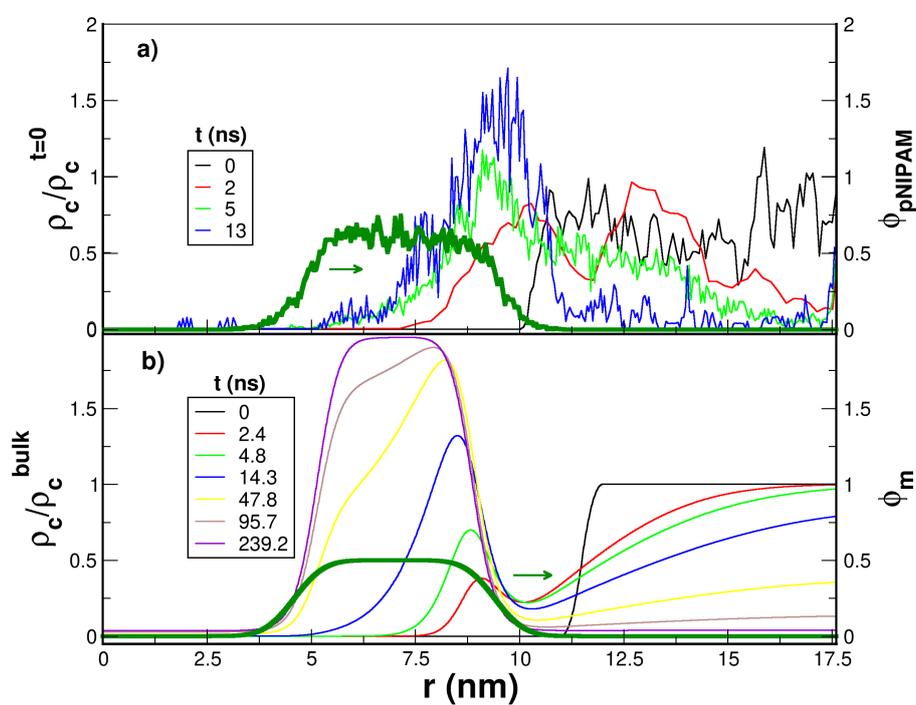


Figura 5.25: Evolución temporal de los perfiles normalizados de fenol para las simulaciones (arriba) y DDFT (abajo). Como referencia, también se incluyen los perfiles de pNIPAM en un tono verde oscuro.

Teoría vs simulación

Más allá de lo razonable que puedan parecer los resultados de la sección anterior, siempre es conveniente verificar la implementación de los métodos. Podría, por ejemplo, existir algún factor que afecte a todas las curvas mostradas de igual forma, por lo que no podríamos detectar el incorrecto funcionamiento del código. Una forma de hacerlo, sería comparando los resultados con otra técnica ya validada, las simulaciones. Esto lo haremos reduciendo el problema y el tamaño del sistema al mínimo posible, para poder correr las simulaciones en tiempos razonables.

Como se explica en la sección 4.1.4, se define una caja de simulación prismática con una membrana en su centro que la separa en dos regiones, y donde se apagan las condiciones periódicas en la dirección perpendicular a la membrana. De esta forma, las moléculas que se encuentren a un lado de la membrana deberán difundir a la otra región para igualar su potencial químico. Además, el sistema conserva la masa en todo momento. Para que el sistema sea comparable al resuelto con DDFT, usaremos coordenadas rectangulares e impondremos una condición de ausencia de flujo a ambos lados de la membrana, pero lejos de esta. Inicialmente, para ambos sistemas, todo el fenol lo concentraremos a un lado de la membrana de forma homogénea, con una concentración de 0.5 M. Además, la fracción de volumen ocupado por el polímero se fija en $\phi_m = 0.5$. La temperatura, tanto en la simulación como en el cálculo DDFT, se fija en 293 K, por lo que la simulación preserva a la membrana extendida en todo momento.

La comparación entre los resultados que arroja la simulación y los cálculos DDFT se muestra en la figura 5.25. En el panel superior se muestra la evolución de los perfiles de fenol normalizados en el tiempo tal como se obtienen de la simulación, mientras que en el panel inferior se muestran los resultados de la teoría. Las simulaciones únicamente cubren los primeros 13 ns, que como se observa corresponden únicamente a los estadios iniciales del proceso de difusión. Aquí, el fenol apenas es capaz de alcanzar la región vacía al otro lado de la membrana, y su concentración a la mitad de la membrana aún es relativamente baja. De todas formas, creemos que este último perfil es suficiente para realizar una comparación cuantitativa con las predicciones de DDFT.

Para el mismo tiempo de 13 ns, el perfil correspondiente a la DDFT se observa como la curva amarilla del panel inferior de la figura 5.25, donde se observan un par de similitudes importantes. Primero, existe un máximo cercano a la interfaz externa pNIPAM/agua, que es similar en altura al presentado por las simulaciones. Seguido, la difusión dentro de la matriz polimérica se observa similar, dado que la difusión del fenol hacia el hueco genera una concentración en la mitad de la membrana parecida a la observada con las simulaciones. La única diferencia de los perfiles aparece en la región externa a la partícula, es decir, fuera de la membrana. Aquí, las simulaciones muestran una anchura del pico de adsorción y un perfil

monótono decreciente hacia el exterior de la partícula, mientras que la teoría DDFT genera un claro mínimo en el perfil y una anchura del pico de adsorción mucho menor. Esto, sin embargo, tiene poco que ver con el coeficiente de difusión en la matriz polimérica y con la atracción pNIPAM-fenol, que son parámetros que afectan lo que ocurre dentro de la membrana. Eso parece estar bien. Lo que definitivamente no está bien es que la DDFT²⁵ no captura esta tendencia del fenol por concentrarse en la cara exterior de la membrana.

Esta discrepancia es correcta pues evidencia diferencias en la consideración del comportamiento del cosoluto entre ambos modelos. El fenol no es perfectamente miscible en agua, tan sólo lo es parcialmente. A 0.5 M de fenol, este genera una fase rica y otra pobre de fenol en agua. Una membrana atractiva para el fenol, induce esta separación de fases que se conoce como condensación capilar. La fase rica en fenol se adhiere a la membrana, mientras la fase más pobre se aleja de la superficie. Este comportamiento es capturado por las simulaciones, porque allí se hacen explícitas todas las interacciones átomo por átomo, y sería un fallo del campo de fuerza si no lograrse reproducir la separación de fases. Sin embargo, la teoría DDFT no incluye la interacción atractiva fenol-fenol que resulta de la mezcla fenol/agua. Lo único que incorpora es el efecto repulsivo por la exclusión de volumen que generan las moléculas, tomada en cuenta por la famosa expresión de Carnahan Starling para la interacción de esferas duras. Obviamente, la DDFT no puede capturar aquel ingrediente que no se ha considerado.

La DDFT nos permite predecir los perfiles que deberían mostrar las simulaciones a tiempos largos. En el equilibrio, DDFT produce un perfil simétrico, dado que esta condición no se altera en ningún momento. La caja de simulación y el perfil polimérico son simétricos, por lo que no existe nada, más allá de la condición inicial impuesta, que haga que la parte izquierda y derecha sean tomadas como dentro y fuera de la partícula. Este perfil de fenol es una copia del perfil polimérico, multiplicado por un número mayor a la unidad, y sumado a una constante. A mayor atracción fenol-pNIPAM, mayor será el factor de escala del perfil del fenol, y menor será la constante a sumar. En otras palabras, a mayor atracción, habrá una mayor cantidad de fenol retenida en la matriz polimérica y menos fenol quedará fuera de la membrana. También merece la pena observar los tiempos para los cuales se alcanza el equilibrio. Incluso en este caso, donde hemos simplificado el sistema al máximo, el tiempo para alcanzar el equilibrio es de ≈ 240 ns, 18 veces más grande que los modestos 50 ns resueltos con las simulaciones. Este es el poder de escalamiento de la teoría.

Existe también otra diferencia entre las simulaciones y la DDFT. Hemos detec-

²⁵Debemos desconfiar primero de la DDFT y luego de las simulaciones, necesariamente en ese orden. Esto es así simplemente porque Gromacs ha sido puesto a prueba de forma exhaustiva, y nuestro código DDFT no.

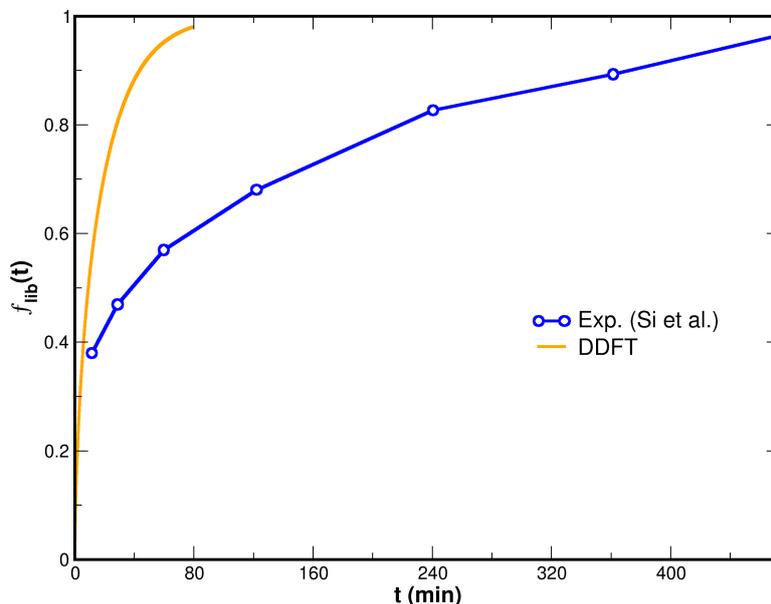


Figura 5.26: Liberación de fenol de una micropartícula de pNIPAM, según DDFT (curva naranja), comparada con la liberación de fenol de una dispersión de micropartículas encapsulantes de pNIPAM medida experimentalmente.

tado en las simulaciones, aunque no se muestra en la figura, un ligero corrimiento del centro de masa de la membrana hacia la derecha conforme transcurre el tiempo. Así mismo, la membrana también tiende a extenderse en esta dirección, generando una ligera asimetría. Recordando la atracción efectiva existente entre pNIPAM y fenol, este efecto parece razonable dada la asimétrica condición inicial impuesta. Por lo visto, aparece una diferencia de presión en la membrana desde la cavidad acuosa y dirigida hacia la mezcla fenol agua, que es consecuencia de este desbalance inicial. Otra vez, los cálculos DDFT no pueden incorporar este efecto, simplemente porque se fija el campo externo²⁶, se fija el perfil polimérico.

Teoría vs experimentos

Como hemos mencionado, una ventaja muy particular de la teoría DDFT es su escalabilidad espacio-temporal. Esto hace posible la comparación entre sus predicciones y los experimentos. Se podría decir que, en este caso, la DDFT establece un puente entre los detallados pero inescalables cálculos de simulación y

²⁶Nos gusta recalcar el hecho de que no se puede mover el polímero en el cálculo DDFT, simplemente porque no existe tal cosa. *Do not try to bend the spoon, that's impossible. Instead, only try to realize the truth... there is no spoon.—The Matrix—*.

los experimentos reales, algunos de los cuales producen tiempos medios del orden de minutos, horas, y días²⁷.

En la literatura existen varios reportes que abarcan varias combinaciones de tipos de partícula encapsulante y cosolutos, entre las cuales se encuentran al pNIPAM y sus copolímeros, chitosan, pectin, ácido poliacrílico, del lado de la composición de la partícula, y 5FU, doxorubicin, fenol, insulina, entre otros muchos, del lado de los cosolutos. En particular, Si *et al.* sugieren (y estudian) el uso de partículas de pNIPAM para la remoción del fenol del agua contaminada. Una parte relevante para nosotros de sus resultados se incluyen en la figura 5.26, donde se muestra la liberación de fenol de una suspensión de micropartículas encapsulantes de pNIPAM.

Hemos realizado cálculos DDFT de la liberación de fenol de una partícula cuya geometría y características se han tomado del experimento. Esto es, la partícula no es hueca y se considera que presenta un perfil polimérico homogéneo. La partícula tiene un radio externo de $26 \mu\text{m}$ (muy grande, incluso más de lo que aún se considera un coloide), y la concentración inicial de fenol es de 0.7 mM , de acuerdo a la capacidad de absorción reportada por los autores. Los experimentos de descarga se realizaron a 308.5 K , lo que daría lugar a un hidrogel colapsado. Dado que no se reporta la densidad polimérica de la partícula, vamos a suponer que es $\phi_m = 0.6$, correspondiente a un polímero colapsado²⁸ El resto de los parámetros, como la energía libre de interacción polímero-fenol y coeficiente de difusión, los supondremos iguales a los que hemos calculado de las simulaciones y utilizado en los cálculos previos de DDFT.

La figura 5.26 compara la salida de la teoría DDFT con los resultados experimentales. Los cálculos DDFT predicen un valor de $\tau_{1/2}$ de 14 minutos, mientras que el correspondiente valor para los experimentos es de 40 minutos. En otras palabras, nuestros cálculos predicen una descarga 2.86 veces más rápida que la observada experimentalmente —esto puede parecer desastroso pero intentaremos convencer al lector de que no es así—. Para comenzar, son varios los reportes teóricos que predicen tiempos de descarga del orden de milésimas segundo y menores [5, 38], por lo que, en comparación, un factor 2.86 ya nos parece un acierto. Para continuar, tendremos que prestar atención en las diferencias existentes entre lo modelado y la realidad que se pretende describir.

Primero, la dispersión de partículas experimental no se encuentra a dilución infinita, esto no existe en la realidad, eso es tan sólo una idealización. De hecho, la concentración de partículas reportada es de 1 mg L^{-1} . Esto afecta a las condiciones de borde, en especial la condición que dice que en el seno de fluido la concentración

²⁷ 10^{10} veces mayores que los ridículos 50 ns accedidos con los cálculos realizados en la sección previa.

²⁸Esta densidad depende de las condiciones de síntesis de la partícula, que incluye, por ejemplo, la cantidad de entrecruzante utilizado.

del material liberado (el fenol) es nula. La realidad es que esta concentración si aumenta debido a la presencia de las otras muchas partículas, y esto, en mayor o menor medida ralentiza el proceso de descarga dado el menor gradiente de concentración de fenol. Este efecto, además, podría intensificarse si las partículas se concentraran más en el fondo del recipiente, como cabría de esperar dado su gran tamaño.

Segundo, el entrecruzante desaparece a un par de grupos isopropilo y esto debe de influir, en mayor o menor medida, en el cálculo de energía libre de transferencia. Algo similar ha de ocurrir con el iniciador de la reacción polimérica, que siempre deja carga residual unida covalentemente a la partícula.

Tercero, como se comentó en la sección 5.1.3, el desplazamiento cuadrático medio establece tres regímenes cuando la concentración polimérica es grande. Estamos interesados en determinar la pendiente del tercero de ellos, esto es, a tiempos largos. Los tiempos de observación deben ser bastante mayores que los tiempos típicos de residencia de una molécula de fenol en cierta localidad, y los segundos dependen de la atracción fenol-pNIPAM. Como vimos, el fenol y el pNIPAM tienen afinidad el uno por el otro, y esto genera la adsorción del fenol sobre las cadenas. Para que el fenol difunda en escalas espaciales grandes, entonces, debe de desorberse de la cadena, avanzar entre las cadenas e ir a parar a otro sitio de adsorción, donde se detendrá otro rato. Para que la estadística sea suficiente en la determinación del coeficiente de difusión, necesitamos promediar varios, idealmente muchos, de estos eventos. Lo deseable sería acceder a ventanas de decenas o centenas de microsegundos y lo que se puede es acceder a un microsegundo, si tenemos la paciencia y disponemos del tiempo necesario²⁹. Entonces, si debiéramos desconfiar de algún valor obtenido mediante simulaciones, comenzaríamos por los coeficientes de difusión.

Cuarto, una molécula de fenol adherida a un oligómero puede difundir con él sin romper el vínculo. Esto contrasta fuertemente con los experimentos donde las cadenas del pNIPAM reales son órdenes de magnitud más grandes que las consideradas en nuestras simulaciones y, además, se encuentran entrecruzadas. Entonces, este mecanismo difusivo no existe en el experimento, por lo que nuestros coeficientes sobrestiman la realidad.

De la lista de posibles culpables para explicar las discrepancias, creemos que las dadas en los puntos tres y cuatro son las que debieran tener un impacto mayor. Podríamos medir el coeficiente de difusión de las cadenas para evaluar su importancia. También podríamos fijar los centros de masa de las cadenas para evitar tomar en cuenta este mecanismo de difusión. Posiblemente hagamos las dos cosas.

²⁹Para avanzar un microsegundo necesitamos cálculos de varias semanas, dependiendo del tamaño de la partícula y del poder de cómputo de la máquina que utilizemos.

Capítulo 6

Conclusiones y trabajo futuro

En esta Tesis se presentan diferentes aproximaciones con el objetivo de estudiar la carga y descarga de cosolutos hacia y desde partículas encapsulantes de pNIPAM. Para ello realizamos simulaciones atomísticas, de grano grueso y cálculos DDFT (dinámica de funcionales de la densidad). Dado que los tiempos característicos de carga y descarga de nanopartículas pueden ser del orden de segundos, minutos, e incluso horas, no es posible en la actualidad realizar cálculos atomísticos que permitan una comparación directa con los experimentos.

La aproximación de grano grueso permite disminuir los grados de libertad de los sistemas atomísticos y así incrementar tanto el tamaño como la escala temporal accesible con las simulaciones. Si bien sigue siendo imposible acceder a escalas de segundos o minutos, sí es posible multiplicar por un factor cercano a 50 la ventanas de tiempo de las simulaciones atomísticas. Creemos que este factor podría permitir el estudio de pequeñas nanopartículas encapsulantes. En este trabajo se lograron avances en esa dirección. Hemos sido capaces de capturar, mediante el campo de fuerza Martini, y teniendo en cuenta modelos polares de agua y de los grupos amida del pNIPAM, la transición bobina-glóbulo característica del pNIPAM. Dado que las simulaciones atomísticas han demostrado que la adhesión y desapego de las moléculas del agua de la superficie del pNIPAM ocurre de forma cooperativa e involucra la formación y ruptura de puentes de hidrógeno, no estaba para nada claro que fuera posible capturar este fenómeno con un modelo de grano grueso. No hay que olvidar que este tipo de modelos no toma en cuenta explícitamente a los puentes de hidrógeno, y que las moléculas de agua son modeladas como una esfera que representa a un cúmulo de cuatro moléculas. Para lograrlo, hemos utilizado un modelo de agua explícita (creemos que no es posible capturar la transición con un modelo de agua implícita), hemos ajustado las interacciones cruzadas tipo Lennard Jones, y se han impuesto ciertas funciones angulares algo complejas, incluyendo también funciones de ángulos diedros. Todo esto para permitir la hidratación y deshidratación reversible de la cadena, que además debe ocurrir a la temperatura

que dictan los experimentos. Luego de ajustar los varios parámetros libres, el modelo logra capturar la transición glóbulo-bobina experimental, aunque requiere de tiempos más largos para lograr equilibrar al sistema que las simulaciones atomísticas. El modelo se escaló para cadenas de 35 y 40 unidades que muestran un comportamiento similar. También se procedió al estudio de una membrana que muestra la respuesta termosensible esperada. Con una ganancia en el paso de tiempo en un factor 20, y una reducción importante del número de partículas que conforman la cadena polimérica y el número de sitios que componen el disolvente, nosotros estimamos una eficiencia 54 veces superior a la presentada por las simulaciones átomo-por-átomo. Sin embargo, aún nos queda incorporar sitios entrecruzantes y sitios cargados para el diseño de nanoestructuras similares a las experimentales. Con este trabajo creemos que el estudio mediante simulaciones de grano grueso de la carga y descarga de cosolutos están un paso más cerca que antes.

Además de mostrar algunos avances en la modelación de grano grueso de cadenas de pNIPAM, esta Tesis presenta algunos resultados de la teoría DDFT para la descripción de la carga y descarga de material de partículas nanoencapsulantes. La DDFT resulta ser una herramienta poderosa para escalar los resultados de la simulación y así poder realizar comparaciones directas con los experimentos. Si bien estas comparaciones se enfocan en las curvas de carga y descarga del material encapsulado, la DDFT también produce la evolución temporal de los perfiles del cosoluto. Así mismo, podemos obtener otro parámetro importante para la comparación con los experimentos, el tiempo de descarga a la mitad. Sin embargo, la DDFT necesita información de la interacción efectiva entre el la matriz de la partícula encapsulante y el cosoluto como valores para el coeficiente de difusión. Estos parámetros pueden obtenerse de modelos teóricos o simulaciones. En esta Tesis, se realizan simulaciones para acceder a los insumos de la DDFT.

Específicamente, calculamos la interacción cosoluto-polímero, U_{ef} , y el coeficiente de difusión efectivo, D_{ef} , utilizando la técnica de integración termodinámica y ajustes a la dependencia temporal del desplazamiento cuadrático medio, respectivamente. Para ello, se definieron cajas de simulación conteniendo diferentes concentraciones de pNIPAM y se realizaron los cálculos a dos temperaturas, una por encima de la crítica de transición bobina glóbulo, y otra por debajo. Los cálculos de U_{ef} , que se nombran energía libre de transferencia en las simulaciones, ΔG_{trans} , pero se refieren a la misma cosa, muestran la preferencia de varios cosolutos (metanol, fenol, 5FU) por la matriz polimérica sobre el agua pura. La única excepción la muestra el metano que, dependiendo de la temperatura, cambia su preferencia por una u otra disolución. Curiosamente, esta pequeña molécula apolar presenta una ligera tendencia en preferir solubilizarse en agua que en la matriz polimérica a baja temperatura. La naturaleza química del monómero NIPAM, que incluye grupos apolares y polares, siendo este último capaz de funcionar como

aceptor y donador de puentes de hidrógeno, hace que sea capaz de interactuar favorablemente tanto con grupos apolares como con polares. A su vez, el pNIPAM es capaz de plegarse sobre sí mismo, dando lugar a la configuración globular, donde disminuye su área expuesta al disolvente y maximiza la interacción propia. De esta forma, el signo de la interacción efectiva metano-pNIPAM depende de su configuración, y por consiguiente, de la temperatura.

Como se mencionó, el resto de las moléculas estudiadas presentan grupos polares y formadores de puentes de hidrógeno, además de grupos apolares o con menor polaridad. Esto las hace químicamente más similares al monómero NIPAM, por lo que, de acuerdo con la regla de que los químicamente parecidos tienden a atraerse, todas muestran una atracción efectiva con respecto al seno de agua. Por ejemplo, el metanol (así como el etanol y el propanol) son conocidos por disminuir la temperatura crítica de transición del pNIPAM cuando se agregan pequeñas cantidades a la mezcla pNIPAM-agua. El mecanismo por el cual estas moléculas producen este efecto está relacionado con la sustitución de moléculas de agua de la primera capa de solvatación del polímero. Cada molécula de alcohol reemplaza a varias moléculas de agua, dependiendo del tamaño de la molécula de alcohol, y eso facilita la salida cooperativa de más moléculas de agua de coordinación.

Dada la existencia de teorías que predicen un incremento de la energía libre de transferencia para altas concentraciones poliméricas, debido al efecto de la exclusión de volumen, esperábamos encontrar un mínimo de energía libre a fracciones de volumen ϕ_m de pNIPAM cercanas a 0.5. Esto debería, además, ser un factor común independiente del tipo de molécula de cosoluto, dado que este tipo de interacción no tiene que ver con la naturaleza química de ninguna de las especies. Sin embargo, no se encontró tal cosa, ahora creemos que estas teorías desprecian un factor clave en los modelos teóricos. Creemos que la adaptabilidad y flexibilidad de las cadenas de pNIPAM hacen posible la generación de volumen accesible a demanda, sacrificando un poco de entropía configuracional, por lo menos a concentraciones de pNIPAM no muy elevadas, digamos menores a 0.7. Cabe señalar que los modelos teóricos suponen una distribución azarosa de las cadenas, y es esto justamente lo que resulta en una sobrestimación del volumen excluido.

Observamos, tanto para los cálculos de energía libre de transferencia como para los coeficientes de difusión, algunas dificultades técnicas en los muestreos a altas concentraciones de polímero debido a la tendencia de los cosolutos por permanecer localmente atrapados en regiones de baja energía hasta escapar debido a la aparición espontánea de alguna fluctuación importante. Esto hace mucho más difícil el muestreo correcto del espacio configuracional, impactando en la estadística de las determinaciones. Es necesario promediar varios eventos de escape para producir valores aceptables de energía libre de transferencia y coeficientes de difusión. Para disminuir la incertidumbre en los cálculos de ΔG_{trans} , es posible realizar repeticiones partiendo de configuraciones iniciales donde las moléculas

de cosoluto se encuentran repartidas al azar en todo el volumen de la celda de simulación. Hemos observado una convergencia mayor de las medidas al imponer estas condiciones. Sin embargo, esto no es posible para el cálculo de los coeficientes de difusión. Aquí no es posible acortar la ventana de tiempo de simulación para en su lugar realizar varias repeticiones, simplemente porque se necesita información a tiempos largos. Hemos notado que los valores de descarga de tiempo mitad, $\tau_{1/2}$, son muy sensibles al ΔG_{trans} y a D_{ef} .

Las comparaciones que hemos realizado entre las simulaciones y los cálculos DDFT son alentadoras. Observamos que los perfiles de fenol evolucionan de forma muy similar en los primeros 14 ns, que es la ventana temporal accesible con las simulaciones. La única diferencia observada tiene que ver con el hecho de que los cálculos DDFT no incluyen una atracción efectiva fenol-fenol en agua, y esto hace que no capture una separación de fases capilar, inducida por la superficie de la membrana. Esto ocurre, además, porque se ha fijado una concentración relativamente alta de fenol que cae dentro de la campana binodal experimental. Este efecto debería de perderse a concentraciones de fenol bajas que tienen más relevancia en la aplicación de la remoción de fenol de aguas contaminadas.

Pese al buen acuerdo entre DDFT y simulaciones, el valor obtenido de $\tau_{1/2}$ teórico es 2.9 veces menor que aquel obtenido experimentalmente con micropartículas de pNIPAM. Si bien hay varias razones que pueden explicar esta diferencia, creemos que nuestros cálculos para el coeficiente de difusión son la fuente de discrepancia más importante. Esto es así porque puede existir una contribución al coeficiente de difusión en las simulaciones que se encuentra ausente en el experimento. Esta contribución corresponde al movimiento conjunto de las cadenas y del fenol, cadenas que no tienen en cuenta el entrecruzante ni el tamaño gigantesco (relativo a la simulación, claro) del polímero. Hay reportes en la literatura que afirman que esta contribución es despreciable, pero dados nuestros resultados, creemos que no es así. En cualquier modo, el factor 2.9 es relativamente pequeño si tenemos en cuenta que otras predicciones teóricas no son capaces de producir tiempos de descarga del orden de minutos, quedándose frecuentemente por debajo de los milisegundos. Este hecho refuerza nuestra idea de que la DDFT es una vía posible para hacer de puente entre procesos que presentan tiempos característicos del orden de microsegundos, y segundos, minutos, u horas, muchos órdenes de magnitud por encima de lo accesible mediante simulaciones atómicas.

Bibliografía

- [1] Lauren J. Abbott y Mark J. Stevens. «A temperature-dependent coarse-grained model for the thermoresponsive polymer poly(N-isopropylacrylamide)». En: *Journal of Chemical Physics* 143 (24 2015).
- [2] I Adroher-Benítez, A Martín-Molina, S Ahualli, M Quesada-Pérez y A Odriozola G. Moncho-Jordá. «Competition between excluded-volume and electrostatic interactions for nanogel swelling: effects of the counterion valence and nanogel charge». En: *Physical Chemistry Chemical Physics* 19 (2017), págs. 6838-6848.
- [3] Irene Adroher-Benítez, Arturo Moncho-Jordá y Gerardo Odriozola. «Conformation change of an isotactic poly (N-isopropylacrylamide) membrane: Molecular dynamics». En: *The Journal of Chemical Physics* 146 (19 2017), pág. 194905.
- [4] B. Amsden. «Solute Diffusion within Hydrogels. Mechanisms and Models.» En: *Macromolecules* 31 (1998), págs. 8382-8395.
- [5] S Angioletti-Uberti, M Ballauff y J Dzubiella. «Dynamic density functional theory of protein adsorption on polymer nanoparticles». En: *Soft Matter* 10 (40 2014), págs. 7899-8134.
- [6] Makoto Asano, Françoise M Winnik, Takashi Yamashita y Kazuyuki Horie. «Fluorescence Studies of Dansyl-Labeled Poly(N-isopropylacrylamide) Gels and Polymers in Mixed Water/Methanol Solutions». En: *Macromolecules* 28 (17 1995), págs. 5861-5866.
- [7] Ki Hyun Bae, Li-Shan Wang y Motoichi Kurisawa. «Injectable biodegradable hydrogels: progress and challenges». En: *J. Mater. Chem. B* 1 (40 2013), págs. 5371-5388.
- [8] Jaydee Cabral y Stephen Carl Moratti. «Hydrogels for biomedical applications». En: *Future Medicinal Chemistry* 3 (15 2011). PMID: 22023032, págs. 1877-1888.

- [9] Moussa Camara, Hualin Liao, Jiafang Xu, Jun Zhang y Rogers Swai. «Molecular dynamics study of the intercalation and conformational transition of poly (N-vinyl caprolactam), a thermosensitive polymer in hydrated Namontmorillonite». En: *Polymer* 179 (28 2019), pág. 121718.
- [10] Ying Chen, Yongbing Chen, Jingya Nan, Chunpeng Wang y Fuxiang Chu. «Hollow poly(N-isopropylacrylamide)-co-poly(acrylic acid) microgels with high loading capacity for drugs». En: *Journal of Applied Polymer Science* (2011), págs. 4678-4685.
- [11] Richard Chudoba, Jan Heyda y Joachim Dzubiella. «Temperature-Dependent Implicit-Solvent Model of Polyethylene Glycol in Aqueous Solution». En: *Journal of Chemical Theory and Computation* 13 (12 2017). PMID: 29032685, págs. 6317-6327.
- [12] Gaurasundar M. Conley, Sofi Nöjd, Marco Braibanti, Peter Schurtenberger y Frank Scheffold. «Superresolution microscopy of the volume phase transition of pNIPAM microgels». En: *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 499 (2016), págs. 18-23.
- [13] Ricardo O R Costa y Roberto F S Freitas. «Phase behavior of poly(N-isopropylacrylamide) in binary aqueous solutions». En: *Polymer* 43 (22 2002), págs. 5879-5885.
- [14] Cahit Dalgicdir, Francisco Rodríguez-Ropero y Nico F A Van Der Vegt. «Computational calorimetry of PNIPAM cononsolvency in water/methanol mixtures». En: *Journal of Physical Chemistry B* 121 (32 2017), págs. 7741-7748.
- [15] Moritz H. Futscher, Martine Philipp, Peter Müller-Buschbaum y Alfons Schulte. «The Role of Backbone Hydration of Poly(N-isopropyl acrylamide) Across the Volume Phase Transition Compared to its Monomer». En: *Scientific Reports* 7 (1 2017), pág. 17012.
- [16] Pierre-Gilles de Gennes. «Soft Matter (Nobel Lecture)». En: *Angewandte Chemie International Edition in English* (1992).
- [17] Zailin Gong, Shujin Li, Weifang Han, Jiaping Wang, Jun Ma y Xiangdong Zhang. «Recyclable graphene oxide grafted with poly(N-isopropylacrylamide) and its enhanced selective adsorption for phenols». En: *Applied Surface Science* 362 (2016), págs. 459-468.
- [18] Avraham Halperin, Martin Kröger y Françoise M Winnik. «Poly(N-isopropylacrylamide) Phase Diagrams: Fifty Years of Research». En: *Angewandte Chemie - International Edition* 54 (51 2015), págs. 15342-15367.
- [19] Johann Hansing y Roland R. Netz. «Hydrodynamic Effects on Particle Diffusion in Polymeric Hydrogels with Steric and Electrostatic Particle-Gel Interactions». En: *Macromolecules* 51 (19 2018), págs. 7608-7620.

-
- [20] Tianxi He, Wenbin Wang, Benshou Chen, Jiu Wang, Qionglin Liang y Boshui Chen. «5-Fluorouracil monodispersed chitosan microspheres: Microfluidic chip fabrication with crosslinking, characterization, drug release and anticancer activity». En: *Carbohydrate Polymers* 236 (2020), pág. 116094.
- [21] R.W Hockney, S.P Goel y J.W Eastwood. «Quiet high-resolution computer models of a plasma». En: *Journal of Computational Physics* 14.2 (1974), págs. 148-158.
- [22] Michael J A Hore, Boualem Hammouda, Yuyan Li y He Cheng. «Cononsolvency of poly(n -isopropylacrylamide) in deuterated water/ethanol mixtures». En: *Macromolecules* (2013).
- [23] Keiji Igarashi, Yukata Yamada y Ken-ichi Kurumada. «Removal of Phenol from an Aqueous Solution Using Hydrogel Incorporated with Extractant Tributyl Phosphate». En: *Journal of Chemical Engineering of Japan* 37 (10 2004), págs. 1279-1283.
- [24] Djurre H de Jong, Gurpreet Singh, W F Drew Bennett, Clement Arnarez, Tsjerk A Wassenaar, Lars V Schafer, Xavier Periole, D Peter Tieleman y Siewert J Marrink. «Improved Parameters for the Martini Coarse-Grained Protein Force Field». En: *Journal of Chemical Theory and Computation* 9 (1 2013), págs. 687-697.
- [25] Matej Kanduč, Richard Chudoba, Karol Palczynski, Won Kyu Kim, Rafael Roa y Joachim Dzubiella. «Selective solute adsorption and partitioning around single PNIPAM chains». En: *Physical Chemistry Chemical Physics* 19 (8 2017), págs. 5906-5916.
- [26] Matej Kanduč, Won Kyu Kim, Rafael Roa y Joachim Dzubiella. «Selective Molecular Transport in Thermoresponsive Polymer Membranes: Role of Nanoscale Hydration and Fluctuations». En: *Macromolecules* 51 (13 jul. de 2018), págs. 4853-4864.
- [27] Matej Kanduč, Won Kyu Kim, Rafael Roa y Joachim Dzubiella. «Transfer Free Energies and Partitioning of Small Molecules in Collapsed PNIPAM Polymers». En: *The Journal of Physical Chemistry B* 123 (3 ene. de 2019), págs. 720-728.
- [28] Sung Wan Kim, You Han Bae y Teruo Okano. «Hydrogels: Swelling, Drug Loading, and Release». En: *Pharmaceutical Research* 9 (3 mar. de 1992), págs. 283-290.
- [29] Michael C Koetting, Jonathan T Peters, Stephanie D Steichen y Nicholas A Peppas. «Stimulus-responsive hydrogels: Theory, modern advances, and applications». En: *Materials Science and Engineering: R: Reports* 93 (2015), págs. 1-49.

-
- [30] Kenji Kubota, Shouei Fujishige e Isao Ando. «Solution Properties of Poly(N-isopropylacrylamide) in Water». En: *Polymer Journal* 22 (1 ene. de 1990), págs. 15-20.
- [31] Mónica Ledesma-Motolinía, Marco Braibanti, Luis F. Rojas-Ochoa y Catalina Haro-Pérez. «Interplay between internal structure and optical properties of thermosensitive nanogels». En: *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 482 (2015), págs. 724-727.
- [32] Ana Catarina Lima, Wenlong Song, Barbara Blanco-Fernandez, Carmen Alvarez-Lorenzo y João F. Mano. «Synthesis of Temperature-Responsive Dextran-MA/PNIPAAm Particles for Controlled Drug Delivery Using Superhydrophobic Surfaces». En: *Pharmaceutical Research* 28 (6 jun. de 2011), págs. 1294-1305.
- [33] Umberto Marini Bettolo Marconi y Pedro Tarazona. «Dynamic density functional theory of fluids». En: *The Journal of Chemical Physics* 110 (16 abr. de 1999), págs. 8032-8044.
- [34] Siewert J. Marrink, H. Jelger Risselada, Serge Yefimov, D. Peter Tieleman y Alex H. de Vries. «The MARTINI Force Field: Coarse Grained Model for Biomolecular Simulations». En: *The Journal of Physical Chemistry B* 111 (27 jul. de 2007), págs. 7812-7824.
- [35] *Martini tutorials: polymers*. 2021. URL: <http://cgmartini.nl/index.php/tutorials-general-introduction-gmx5/martini-tutorials-polymers-gmx5> (visitado 16-03-2022).
- [36] James McMasters, Scott Poh, Jenny B Lin y Alyssa Panitch. «Delivery of anti-inflammatory peptides from hollow PEGylated poly(NIPAM) nanoparticles reduces inflammation in an ex vivo osteoarthritis model». En: *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society* 258 (2017), págs. 161-170.
- [37] Wolfgang Meier. «Polymer nanocapsules». En: *Chemical Society Reviews* 29 (5 2000), págs. 295-303.
- [38] Arturo Moncho-Jordá, Ana B Jódar-Reyes, Matej Kanduč, Alicia Germán-Bellod, Juan M López-Romero, Rafael Contreras-Cáceres, Francisco Sarabia, Miguel García-Castro, Héctor A Pérez-Ramírez y Gerardo Odriozola. «Scaling Laws in the Diffusive Release of Neutral Cargo from Hollow Hydrogel Nanoparticles: Paclitaxel-Loaded Poly(4-vinylpyridine)». En: *ACS Nano* 14 (11 2020). PMID: 33174725, págs. 15227-15240.
- [39] M.J. Murray y M.J. Snowden. «The preparation, characterisation and applications of colloidal microgels». En: *Advances in Colloid and Interface Science* 54 (ene. de 1995), págs. 73-91.

-
- [40] Satish Nayak, Daoji Gan, Michael J Serpe y L Andrew Lyon. «Hollow Thermoresponsive Microgels». En: *Small* 1 (4 2005), págs. 416-421.
- [41] Gerardo Odriozola y Marcelo Lozada-Cassou. «Equivalence between particles and fields: A general statistical mechanics theory for short and long range many-body forces». En: *Fortschritte der Physik* 65 (6-8 1990), pág. 1600072.
- [42] Yukinori Okada y Fumihiko Tanaka. «Cooperative hydration, chain collapse, and flat LCST behavior in aqueous poly(N-isopropylacrylamide) solutions». En: *Macromolecules* 38 (10 2005), págs. 4465-4471.
- [43] Amol Paharia, Awesh K. Yadav, Gopal Rai, Sunil K. Jain, Shyam S. Pancholi y Govind P. Agrawal. «Eudragit-coated pectin microspheres of 5-fluorouracil for colon targeting». En: *AAPS PharmSciTech* 8 (1 2007), E87-E93.
- [44] Gaofeng Pan y Ken-Ichi Kurumada. «Hybrid gel reinforced with coating layer for removal of phenol from aqueous solution». En: *Chemical Engineering Journal* 138 (1-3 2008), págs. 194-199.
- [45] Gaofeng Pan, Ken-Ichi Kurumada y Yutaka Yamada. «Application of hydrogel for the removal of pollutant phenol in water». En: *Journal of the Chinese Institute of Chemical Engineers* 39 (4 2008), págs. 361-366.
- [46] H A Pérez-Ramírez, C Haro-Pérez y G Odriozola. «Effect of Temperature on the Cononsolvency of Poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAM) in Aqueous 1-Propanol». En: *ACS Applied Polymer Materials* 1 (11 2019), págs. 2961-2972.
- [47] H. A. Pérez-Ramírez, C. Haro-Pérez, E. Vázquez-Contreras, J. Klapp, G. Bautista-Carbajal y G. Odriozola. «P-NIPAM in water-acetone mixtures: Experiments and simulations». En: *Physical Chemistry Chemical Physics* 21 (9 2019), págs. 5106-5116.
- [48] Andriy Plugatyr e Igor M. Svishchev. «Molecular Diffusivity of Phenol in Sub- and Supercritical Water: Application of the Split-Flow Taylor Dispersion Technique». En: *The Journal of Physical Chemistry B* 115 (11 mar. de 2011), págs. 2555-2562.
- [49] Ana M. Puga, Ana Catarina Lima, Joao F. Mano, Angel Concheiro y Carmen Alvarez-Lorenzo. «Pectin-coated chitosan microgels crosslinked on superhydrophobic surfaces for 5-fluorouracil encapsulation». En: *Carbohydrate Polymers* 98 (1 2013), págs. 331-340.
- [50] Ruxi Qi, Guanghong Wei, Buyong Ma y Ruth Nussinov. *Replica Exchange Molecular Dynamics: A Practical Application Protocol with Solutions to Common Problems and a Peptide Aggregation and Self-Assembly Example*. 2018.

-
- [51] Manuel Quesada-Pérez, Silvia Ahualli y Alberto Martín-Molina. «Temperature-sensitive nanogels in the presence of salt: Explicit coarse-grained simulations». En: *The Journal of Chemical Physics* 141 (12 2014), pág. 124903.
- [52] D Reyes-Contreras, M Mayorga-Rojas, L Rojas-Ochoa y C Haro-Pérez. «Crystallization of PNIPAM-hydrogel nanospheres inferred by static light scattering». En: *Superficies y Vacío* (2013).
- [53] Brian R. Saunders, Nadiah Laajam, Emma Daly, Stephanie Teow, Xinhua Hu y Robert Stepto. «Microgels: From responsive polymer colloids to biomaterials». En: *Advances in Colloid and Interface Science* 147-148 (C mar. de 2009), págs. 251-262.
- [54] Christine Scherzinger, Peter Lindner, Martina Keerl y Walter Richtering. «Cononsolvency of poly(N, N-diethylacrylamide) (PDEAAM) and poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAM) based microgels in water/methanol mixtures: Copolymer vs core-shell microgel». En: *Macromolecules* (2010).
- [55] Zhenhui Si, Ping Yu, Yanying Dong, Yang Lu, Zhenjiang Tan, Xiaopeng Yu, Rui Zhao y Yongsheng Yan. «Thermo-Responsive Molecularly Imprinted Hydrogels for Selective Adsorption and Controlled Release of Phenol From Aqueous Solution». En: *Frontiers in Chemistry* 6 (2019).
- [56] Bhupinder Singh, Rajneet Kaur Khurana, Babita Garg, Sumant Saini y Ranjot Kaur. «Stimuli-Responsive Systems with Diverse Drug Delivery and Biomedical Applications: Recent Updates and Mechanistic Pathways». En: *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* 34 (3 2017), págs. 209-255.
- [57] Xianyu Song, Bo Bao, Jiabo Tao, Shuangliang Zhao, Xia Han y Honglai Liu. «Deswelling Dynamics of Thermoresponsive Microgel Capsules and Their Ultrasensitive Sensing Applications: A Mesoscopic Simulation Study». En: *Journal of Physical Chemistry C* 123 (3 2019), págs. 1828-1838.
- [58] Xianyu Song, Chongzhi Qiao, Jiabo Tao, Bo Bao, Xia Han y Shuangliang Zhao. «Interfacial Engineering of Thermoresponsive Microgel Capsules: Polymeric Wetting vs Colloidal Adhesion». En: *Macromolecules* 52 (10 2019), págs. 3869-3880.
- [59] David Van Der Spoel, Erik Lindahl, Berk Hess, Gerrit Groenhof, Alan E. Mark y Herman J C Berendsen. «GROMACS: Fast, flexible, and free». En: *Journal of Computational Chemistry* 26 (16 2005), págs. 1701-1718.
- [60] Martien A. Cohen Stuart, Wilhelm T.S. Huck, Jan Genzer, Marcus Müller, Christopher Ober, Manfred Stamm, Gleb B. Sukhorukov, Igal Szleifer, Vladimir V. Tsukruk, Marek Urban, Françoise Winnik, Stefan Zauscher, Igor Luzinov y Sergiy Minko. «Emerging applications of stimuli-responsive polymer materials». En: *Nature Materials* 9 (2 ene. de 2010), págs. 101-113.

- [61] L Tavagnacco, E Zaccarelli y E Chiessi. «On the molecular origin of the cooperative coil-to-globule transition of poly(N-isopropylacrylamide) in water». En: *Physical Chemistry Chemical Physics* 20 (2018), págs. 9997-10010.
- [62] Neus Vilanova-Garcia e I K Voets. «Introduction to soft matter». En: *Soft matter at aqueous interfaces*. Ed. por P R Lang e Y Liu. Springer, 2016, págs. 3-27.
- [63] Qian Wang, Jiaojing Shao, Jing Xu, Fuping Dong, Yuzhu Xiong y Qianlin Chen. «In-situ formed Cyclodextrin-functionalized graphene oxide / poly (N-isopropylacrylamide) nanocomposite hydrogel as an recovery adsorbent for phenol and microfluidic valve». En: *Journal of Colloid and Interface Science* 607 (2022), págs. 253-268.
- [64] Xiaohui Wang, Xingping Qiu y Chi Wu. «Comparison of the Coil-to-Globule and the Globule-to-Coil Transitions of a Single Poly(*N*-isopropylacrylamide) Homopolymer Chain in Water». En: *Macromolecules* 31 (9 1998), págs. 2972-2976.
- [65] Jochen Winkelmann. «Diffusion coefficient of phenol in water». En: *Diffusion in Gases, Liquids and Electrolytes*. Springer Berlin Heidelberg, 2018, págs. 841-843.
- [66] Françoise Winnik, H Ringsdorf y J Venzmer. «Methanol-Water as a Co-solvent System for Poly(N-isopropylacrylamide)». En: *Macromolecules* 23 (1990), págs. 2415-2416.
- [67] Chi Wu y Xiaohui Wang. «Globule-to-Coil Transition of a Single Homopolymer Chain in Solution». En: *Physical Review Letters* 80 (18 1998), págs. 4092-4094.
- [68] Xiaomin Xu, Yang Liu, Wenbo Fu, Mingyu Yao, Zhen Ding, Jiaming Xuan, Dongxiang Li, Shengjie Wang, Yongqing Xia y Meiwen Cao. «Poly(N-isopropylacrylamide)-Based Thermoresponsive Composite Hydrogels for Biomedical Applications». En: *Polymers* 12 (3 mar. de 2020), pág. 580.
- [69] Semen O. Yesylevskyy, Lars V. Schäfer, Durba Sengupta y Siewert J. Marrink. «Polarizable water model for the coarse-grained MARTINI force field». En: *PLoS Computational Biology* (2010).
- [70] L.S. Zha, Y. Zhang, W.L. Yang y S.K. Fu. «Monodisperse Temperature-Sensitive Microcontainers». En: *Advanced Materials* 14 (15 2002), pág. 1090.
- [71] Oleksii S. Zhelavskiy y Alexander Kyrychenko. «Atomistic molecular dynamics simulations of the LCST conformational transition in poly(N-vinylcaprolactam) in water». En: *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 90 (2019), págs. 51-58.

- [72] Peng Wei Zhu y Donald H. Napper. «Coil-to-Globule Type Transitions and Swelling of Poly (N-isopropylacrylamide) and Poly (acrylamide) at Latex Interfaces in Alcohol – Water Mixtures». En: *J. Colloid Interface Sci.* 177 (177 1996), págs. 343-352.

Apéndice

Apéndice A

Publicaciones relacionadas

En este apéndice se resumen las publicaciones que se encuentran vinculadas a este trabajo de Tesis y firmo como coautor. Las dos primeras, que tienen que ver con el comportamiento del pNIPAM en mezclas acuosas de acetona y 1-propanol, respectivamente, no son trabajos que se deriven directamente de esta Tesis. En realidad, se derivan de mi Tesis de Maestría, "Dinámica Molecular de pNIPAM en mezclas agua/alcohol y agua/acetona". De todas formas he considerado conveniente incluirlas aquí porque, por un lado, se trata de simulaciones atomísticas del mismo sistema, pNIPAM, y por otro, he estado trabajando en su publicación mientras realizaba mis estudios de doctorado. Al igual que ocurrió con mi Tesis de maestría, espero poder publicar lo más relevante del material incluido en esta otra Tesis, la de Doctorado [2,3].

Como se mencionó, los primeros artículos tratan de cómo se afecta la transición glóbulo-bobina del pNIPAM al agregar un cosolvente como acetona, en el primero, y 1-propanol, en el segundo. Curiosamente, se observa experimentalmente que la temperatura a la cual ocurre la transición se reduce en presencia de cantidades relativamente pequeñas de estas moléculas. Así, el diagrama de fases cambia dado que, en presencia de estos cosolutos, la región donde el polímero prefiere la configuración glóbulo se hace más amplia, en detrimento de la región donde el polímero prefiere la configuración bobina. Estos artículos pretenden explicar el porqué de este comportamiento [4].

Los otros dos artículos sí son parte de esta Tesis, aunque uno un poco más que el otro. El primero de ellos, con título «A coil-to-globule transition capable coarse-grained model for poly(N-isopropylacrylamide)», expone nuestro modelo de grano grueso tipo Martini del pNIPAM. Como el lector podrá apreciar, todo su contenido está reflejado en esta Tesis. El segundo, "Scaling Laws in the Diffusive Release of Neutral Cargo from Hollow Hydrogel Nanoparticles: Paclitaxel-Loaded Poly(4-vinylpyridine)", representa un esfuerzo conjunto entre investigadores de diferentes instituciones que involucra tanto a expertos en teoría, como mi coasesor el Dr.

Arturo Moncho Jordá, como en experimentación. Aquí no hay simulaciones, por lo que mi participación se limita a unas cuantas contribuciones concretas. Estas son: a) La implementación en paralelo del código de teoría que ahora hace uso de tarjetas gráficas, y cuya programación se realiza en CUDA. Esta implementación hace más eficiente al código original. b) El desarrollo de una subrutina que suaviza los perfiles de concentración evitando inestabilidades numéricas, lo que permite implementar pasos de tiempo tres veces mayores¹. c) La colaboración en el análisis y la discusión de los resultados [1].

A continuación se enlistan estos cuatro artículos de investigación.

¹Dependiendo de las condiciones, y a pesar de tratarse de teoría, el código puede demorar varias semanas en correr. Un factor de tres en el paso de tiempo se traduce directamente en tiempos de espera tres veces menores, por lo que es muy bienvenido.

Bibliografía

- [1] Arturo Moncho-Jordá, Ana B Jódar-Reyes, Matej Kanduč, Alicia Germán-Bellod, Juan M López-Romero, Rafael Contreras-Cáceres, Francisco Sarrabia, Miguel García-Castro, Héctor Allan Pérez-Ramírez y Gerardo Odriozola. «Scaling Laws in the Diffusive Release of Neutral Cargo from Hollow Hydrogel Nanoparticles: Paclitaxel-Loaded Poly(4-vinylpyridine)». En: *ACS Nano* 14 (11 2020). PMID: 33174725, págs. 15227-15240.
- [2] Héctor Allan Pérez-Ramírez, Catalina Haro-Pérez y Gerardo Odriozola. «Effect of Temperature on the Cononsolvency of Poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAM) in Aqueous 1-Propanol». En: *ACS Applied Polymer Materials* 1 (11 2019), págs. 2961-2972.
- [3] Héctor Allan Pérez-Ramírez, Catalina Haro-Pérez, Enrique Vázquez-Contreras, Jorge Klapp, Gustavo Bautista-Carbajal y Gerardo Odriozola. «P-NIPAM in water-acetone mixtures: Experiments and simulations». En: *Physical Chemistry Chemical Physics* 21 (9 2019), págs. 5106-5116.
- [4] Héctor Allan Pérez-Ramírez y Gerardo Odriozola. «A coil-to-globule transition capable coarse-grained model for poly(N-isopropylacrylamide)». En: *Physical Chemistry Chemical Physics* 22 (2020), págs. 17913-17921.

Apéndice B

Dinámica molecular de Grano Grueso. Archivos de entrada para un 30-mero

oligomer.pdb

```
propanol chain
150
1PNIPA SCP 1 1.761 1.549 1.286
1PNIPA SC1 2 1.785 1.793 1.189
1PNIPA SC2 3 1.784 1.824 1.325
1PNIPA SC3 4 1.785 1.762 1.052
1PNIPA BB 5 1.963 1.985 1.078
1PNIPA SCP 6 2.283 1.637 1.413
1PNIPA SC1 7 2.261 1.890 1.431
1PNIPA SC2 8 2.259 1.842 1.299
1PNIPA SC3 9 2.263 1.939 1.562
1PNIPA BB 10 2.094 2.112 1.314
1PNIPA SCP 11 1.884 1.684 1.734
1PNIPA SC1 12 1.786 1.908 1.614
1PNIPA SC2 13 1.779 1.941 1.749
1PNIPA SC3 14 1.792 1.874 1.478
1PNIPA BB 15 1.920 2.178 1.544
1PNIPA SCP 16 2.485 1.900 1.844
1PNIPA SC1 17 2.245 2.002 1.857
1PNIPA SC2 18 2.262 1.979 1.720
1PNIPA SC3 19 2.227 2.025 1.994
```

1PNIPA BB 20 2.060 2.238 1.788
1PNIPA SCP 21 1.653 1.787 2.145
1PNIPA SC1 22 1.737 2.010 2.043
1PNIPA SC2 23 1.722 2.031 2.181
1PNIPA SC3 24 1.753 1.989 1.906
1PNIPA BB 25 1.904 2.262 2.026
1PNIPA SCP 26 2.182 1.781 2.268
1PNIPA SC1 27 2.213 2.043 2.298
1PNIPA SC2 28 2.214 2.029 2.158
1PNIPA SC3 29 2.213 2.058 2.437
1PNIPA BB 30 2.043 2.294 2.265
1PNIPA SCP 31 1.805 1.805 2.599
1PNIPA SC1 32 1.735 2.055 2.518
1PNIPA SC2 33 1.737 2.060 2.658
1PNIPA SC3 34 1.732 2.050 2.378
1PNIPA BB 35 1.892 2.313 2.503
1PNIPA SCP 36 2.440 1.939 2.699
1PNIPA SC1 37 2.213 2.057 2.746
1PNIPA SC2 38 2.222 2.059 2.607
1PNIPA SC3 39 2.204 2.055 2.886
1PNIPA BB 40 2.050 2.314 2.738
1PNIPA SCP 41 1.638 1.846 3.052
1PNIPA SC1 42 1.721 2.079 2.975
1PNIPA SC2 43 1.719 2.079 3.115
1PNIPA SC3 44 1.724 2.080 2.835
1PNIPA BB 45 1.909 2.316 2.980
1PNIPA SCP 46 2.156 1.787 3.136
1PNIPA SC1 47 2.210 2.037 3.197
1PNIPA SC2 48 2.202 2.038 3.057
1PNIPA SC3 49 2.218 2.035 3.337
1PNIPA BB 50 2.065 2.302 3.209
1PNIPA SCP 51 1.800 1.806 3.506
1PNIPA SC1 52 1.749 2.066 3.454
1PNIPA SC2 53 1.758 2.057 3.593
1PNIPA SC3 54 1.740 2.075 3.314
1PNIPA BB 55 1.928 2.310 3.452
1PNIPA SCP 56 2.430 1.867 3.583
1PNIPA SC1 57 2.233 2.011 3.661
1PNIPA SC2 58 2.234 2.020 3.522

1PNIPA SC3 59 2.231 2.003 3.801
1PNIPA BB 60 2.096 2.281 3.677
1PNIPA SCP 61 1.677 1.817 3.975
1PNIPA SC1 62 1.758 2.056 3.911
1PNIPA SC2 63 1.760 2.048 4.051
1PNIPA SC3 64 1.756 2.064 3.771
1PNIPA BB 65 1.959 2.283 3.921
1PNIPA SCP 66 2.182 1.739 4.056
1PNIPA SC1 67 2.244 1.983 4.123
1PNIPA SC2 68 2.235 1.984 3.983
1PNIPA SC3 69 2.253 1.981 4.262
1PNIPA BB 70 2.117 2.252 4.148
1PNIPA SCP 71 1.826 1.773 4.436
1PNIPA SC1 72 1.782 2.033 4.382
1PNIPA SC2 73 1.785 2.025 4.522
1PNIPA SC3 74 1.778 2.042 4.243
1PNIPA BB 75 1.977 2.264 4.388
1PNIPA SCP 76 2.389 1.786 4.542
1PNIPA SC1 77 2.251 1.972 4.641
1PNIPA SC2 78 2.258 1.972 4.501
1PNIPA SC3 79 2.244 1.973 4.781
1PNIPA BB 80 2.122 2.241 4.624
1PNIPA SCP 81 1.689 1.793 4.901
1PNIPA SC1 82 1.763 2.031 4.839
1PNIPA SC2 83 1.754 2.027 4.979
1PNIPA SC3 84 1.772 2.036 4.699
1PNIPA BB 85 1.962 2.262 4.857
1PNIPA SCP 86 2.179 1.730 5.048
1PNIPA SC1 87 2.235 1.981 5.106
1PNIPA SC2 88 2.235 1.970 4.966
1PNIPA SC3 89 2.235 1.993 5.245
1PNIPA BB 90 2.095 2.246 5.097
1PNIPA SCP 91 1.752 1.763 5.377
1PNIPA SC1 92 1.755 2.016 5.317
1PNIPA SC2 93 1.756 2.006 5.457
1PNIPA SC3 94 1.755 2.025 5.178
1PNIPA BB 95 1.928 2.261 5.323
1PNIPA SCP 96 2.227 1.770 5.545
1PNIPA SC1 97 2.235 2.026 5.582

1PNIPA SC2 98 2.234 2.007 5.443
1PNIPA SC3 99 2.236 2.046 5.720
1PNIPA BB 100 2.060 2.272 5.565
1PNIPA SCP 101 1.796 1.754 5.859
1PNIPA SC1 102 1.759 2.003 5.794
1PNIPA SC2 103 1.763 1.997 5.934
1PNIPA SC3 104 1.756 2.008 5.654
1PNIPA BB 105 1.891 2.273 5.792
1PNIPA SCP 106 2.273 1.830 6.030
1PNIPA SC1 107 2.237 2.085 6.036
1PNIPA SC2 108 2.234 2.064 5.898
1PNIPA SC3 109 2.241 2.106 6.174
1PNIPA BB 110 2.027 2.307 6.031
1PNIPA SCP 111 1.880 1.770 6.336
1PNIPA SC1 112 1.767 2.006 6.267
1PNIPA SC2 113 1.767 2.006 6.407
1PNIPA SC3 114 1.768 2.005 6.127
1PNIPA BB 115 1.871 2.289 6.267
1PNIPA SCP 116 2.489 2.049 6.440
1PNIPA SC1 117 2.238 2.098 6.485
1PNIPA SC2 118 2.247 2.110 6.345
1PNIPA SC3 119 2.230 2.086 6.624
1PNIPA BB 120 2.025 2.316 6.502
1PNIPA SCP 121 1.685 1.768 6.774
1PNIPA SC1 122 1.744 2.017 6.720
1PNIPA SC2 123 1.740 2.010 6.860
1PNIPA SC3 124 1.749 2.024 6.580
1PNIPA BB 125 1.893 2.283 6.748
1PNIPA SCP 126 2.200 1.788 6.839
1PNIPA SC1 127 2.238 2.039 6.921
1PNIPA SC2 128 2.228 2.058 6.782
1PNIPA SC3 129 2.247 2.021 7.059
1PNIPA BB 130 2.058 2.279 6.977
1PNIPA SCP 131 1.806 1.720 7.232
1PNIPA SC1 132 1.757 1.991 7.178
1PNIPA SC2 133 1.756 1.978 7.317
1PNIPA SC3 134 1.758 2.004 7.038
1PNIPA BB 135 1.929 2.240 7.226
1PNIPA SCP 136 2.483 1.839 7.273

```
1PNIPA SC1 137 2.238 1.913 7.342
1PNIPA SC2 138 2.262 1.976 7.219
1PNIPA SC3 139 2.215 1.850 7.465
1PNIPA BB 140 2.099 2.166 7.449
1PNIPA SCP 141 1.575 1.761 7.681
1PNIPA SC1 142 1.716 1.967 7.616
1PNIPA SC2 143 1.696 1.953 7.754
1PNIPA SC3 144 1.735 1.982 7.479
1PNIPA BB 145 1.976 2.103 7.701
1PNIPA SCP 146 2.263 1.488 7.562
1PNIPA SC1 147 2.115 1.670 7.685
1PNIPA SC2 148 2.174 1.743 7.581
1PNIPA SC3 149 2.056 1.597 7.789
1PNIPA BB 150 2.104 1.883 7.872
4.00000 4.00000 9.00000
```

oligomer.gro

```
[ moleculetype ]
molname nrexcl
PNIPA 1

[ atoms ]
id type resnr residu atom cgnr charge mass
1 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
2 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
3 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
4 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
5 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
6 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
7 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
8 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
9 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
10 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
11 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
12 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
```

13 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
14 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
15 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
16 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
17 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
18 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
19 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
20 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
21 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
22 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
23 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
24 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
25 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
26 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
27 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
28 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
29 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
30 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
31 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
32 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
33 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
34 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
35 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
36 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
37 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
38 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
39 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
40 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
41 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
42 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
43 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
44 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
45 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
46 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
47 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
48 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
49 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
50 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
51 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43

52 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
53 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
54 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
55 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
56 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
57 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
58 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
59 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
60 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
61 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
62 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
63 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
64 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
65 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
66 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
67 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
68 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
69 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
70 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
71 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
72 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
73 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
74 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
75 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
76 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
77 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
78 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
79 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
80 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
81 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
82 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
83 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
84 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
85 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
86 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
87 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
88 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
89 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
90 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43

91 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
92 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
93 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
94 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
95 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
96 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
97 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
98 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
99 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
100 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
101 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
102 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
103 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
104 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
105 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
106 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
107 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
108 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
109 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
110 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
111 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
112 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
113 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
114 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
115 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
116 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
117 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
118 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
119 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
120 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
121 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
122 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
123 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
124 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
125 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
126 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
127 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
128 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
129 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5

130 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
131 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
132 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
133 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
134 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
135 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
136 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
137 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
138 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
139 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
140 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
141 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
142 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
143 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
144 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
145 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43
146 SC3 1 PNIPA SCP 1 0 43
147 SNda 1 PNIPA SC1 2 0 0
148 D 1 PNIPA SC2 3 0.47 21.5
149 D 1 PNIPA SC3 4 -0.48 21.5
150 SC1 1 PNIPA BB 5 0 43

[virtual_sites2]
Site from funct a
2 3 4 1 0.5
7 8 9 1 0.5
12 13 14 1 0.5
17 18 19 1 0.5
22 23 24 1 0.5
27 28 29 1 0.5
32 33 34 1 0.5
37 38 39 1 0.5
42 43 44 1 0.5
47 48 49 1 0.5
52 53 54 1 0.5
57 58 59 1 0.5
62 63 64 1 0.5
67 68 69 1 0.5

72 73 74 1 0.5
77 78 79 1 0.5
82 83 84 1 0.5
87 88 89 1 0.5
92 93 94 1 0.5
97 98 99 1 0.5
102 103 104 1 0.5
107 108 109 1 0.5
112 113 114 1 0.5
117 118 119 1 0.5
122 123 124 1 0.5
127 128 129 1 0.5
132 133 134 1 0.5
137 138 139 1 0.5
142 143 144 1 0.5
147 148 149 1 0.5

[bonds]

i j funct length force.c.

1 2 1 0.268 20500
2 5 1 0.242 25000
6 7 1 0.268 20500
7 10 1 0.242 25000
11 12 1 0.268 20500
12 15 1 0.242 25000
16 17 1 0.268 20500
17 20 1 0.242 25000
21 22 1 0.268 20500
22 25 1 0.242 25000
26 27 1 0.268 20500
27 30 1 0.242 25000
31 32 1 0.268 20500
32 35 1 0.242 25000
36 37 1 0.268 20500
37 40 1 0.242 25000
41 42 1 0.268 20500
42 45 1 0.242 25000
46 47 1 0.268 20500

47 50 1 0.242 25000
51 52 1 0.268 20500
52 55 1 0.242 25000
56 57 1 0.268 20500
57 60 1 0.242 25000
61 62 1 0.268 20500
62 65 1 0.242 25000
66 67 1 0.268 20500
67 70 1 0.242 25000
71 72 1 0.268 20500
72 75 1 0.242 25000
76 77 1 0.268 20500
77 80 1 0.242 25000
81 82 1 0.268 20500
82 85 1 0.242 25000
86 87 1 0.268 20500
87 90 1 0.242 25000
91 92 1 0.268 20500
92 95 1 0.242 25000
96 97 1 0.268 20500
97 100 1 0.242 25000
101 102 1 0.268 20500
102 105 1 0.242 25000
106 107 1 0.268 20500
107 110 1 0.242 25000
111 112 1 0.268 20500
112 115 1 0.242 25000
116 117 1 0.268 20500
117 120 1 0.242 25000
121 122 1 0.268 20500
122 125 1 0.242 25000
126 127 1 0.268 20500
127 130 1 0.242 25000
131 132 1 0.268 20500
132 135 1 0.242 25000
136 137 1 0.268 20500
137 140 1 0.242 25000
141 142 1 0.268 20500
142 145 1 0.242 25000

```
146 147 1 0.268 20500
147 150 1 0.242 25000
5 10 1 0.254 20000
10 15 1 0.254 20000
15 20 1 0.254 20000
20 25 1 0.254 20000
25 30 1 0.254 20000
30 35 1 0.254 20000
35 40 1 0.254 20000
40 45 1 0.254 20000
45 50 1 0.254 20000
50 55 1 0.254 20000
55 60 1 0.254 20000
60 65 1 0.254 20000
65 70 1 0.254 20000
70 75 1 0.254 20000
75 80 1 0.254 20000
80 85 1 0.254 20000
85 90 1 0.254 20000
90 95 1 0.254 20000
95 100 1 0.254 20000
100 105 1 0.254 20000
105 110 1 0.254 20000
110 115 1 0.254 20000
115 120 1 0.254 20000
120 125 1 0.254 20000
125 130 1 0.254 20000
130 135 1 0.254 20000
135 140 1 0.254 20000
140 145 1 0.254 20000
145 150 1 0.254 20000
```

[angles]

ai aj ak funct angle fc

```
5 10 15 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
10 15 20 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
15 20 25 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
20 25 30 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
25 30 35 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
```

30 35 40 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
35 40 45 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
40 45 50 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
45 50 55 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
50 55 60 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
55 60 65 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
60 65 70 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
65 70 75 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
70 75 80 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
75 80 85 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
80 85 90 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
85 90 95 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
90 95 100 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
95 100 105 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
100 105 110 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
105 110 115 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
110 115 120 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
115 120 125 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
120 125 130 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
125 130 135 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
130 135 140 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
135 140 145 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
140 145 150 6 166.158 6.718 -40.527 -1 176.41 179.444
1 2 5 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
1 2 3 2 61 200
1 2 4 2 119 150
3 2 4 2 161 150
3 2 5 2 90 150
4 2 5 2 90 150
6 7 10 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
6 7 8 2 61 200
6 7 9 2 119 150
8 7 9 2 161 150
8 7 10 2 90 150
9 7 10 2 90 150
11 12 15 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
11 12 13 2 61 200
11 12 14 2 119 150
13 12 14 2 161 150

13 12 15 2 90 150
14 12 15 2 90 150
16 17 20 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
16 17 18 2 61 200
16 17 19 2 119 150
18 17 19 2 161 150
18 17 20 2 90 150
19 17 20 2 90 150
21 22 25 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
21 22 23 2 61 200
21 22 24 2 119 150
23 22 24 2 161 150
23 22 25 2 90 150
24 22 25 2 90 150
26 27 30 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
26 27 28 2 61 200
26 27 29 2 119 150
28 27 29 2 161 150
28 27 30 2 90 150
29 27 30 2 90 150
31 32 35 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
31 32 33 2 61 200
31 32 34 2 119 150
33 32 34 2 161 150
33 32 35 2 90 150
34 32 35 2 90 150
36 37 40 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
36 37 38 2 61 200
36 37 39 2 119 150
38 37 39 2 161 150
38 37 40 2 90 150
39 37 40 2 90 150
41 42 45 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
41 42 43 2 61 200
41 42 44 2 119 150
43 42 44 2 161 150
43 42 45 2 90 150
44 42 45 2 90 150
46 47 50 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93

46 47 48 2 61 200
46 47 49 2 119 150
48 47 49 2 161 150
48 47 50 2 90 150
49 47 50 2 90 150
51 52 55 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
51 52 53 2 61 200
51 52 54 2 119 150
53 52 54 2 161 150
53 52 55 2 90 150
54 52 55 2 90 150
56 57 60 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
56 57 58 2 61 200
56 57 59 2 119 150
58 57 59 2 161 150
58 57 60 2 90 150
59 57 60 2 90 150
61 62 65 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
61 62 63 2 61 200
61 62 64 2 119 150
63 62 64 2 161 150
63 62 65 2 90 150
64 62 65 2 90 150
66 67 70 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
66 67 68 2 61 200
66 67 69 2 119 150
68 67 69 2 161 150
68 67 70 2 90 150
69 67 70 2 90 150
71 72 75 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
71 72 73 2 61 200
71 72 74 2 119 150
73 72 74 2 161 150
73 72 75 2 90 150
74 72 75 2 90 150
76 77 80 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
76 77 78 2 61 200
76 77 79 2 119 150
78 77 79 2 161 150

78 77 80 2 90 150
79 77 80 2 90 150
81 82 85 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
81 82 83 2 61 200
81 82 84 2 119 150
83 82 84 2 161 150
83 82 85 2 90 150
84 82 85 2 90 150
86 87 90 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
86 87 88 2 61 200
86 87 89 2 119 150
88 87 89 2 161 150
88 87 90 2 90 150
89 87 90 2 90 150
91 92 95 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
91 92 93 2 61 200
91 92 94 2 119 150
93 92 94 2 161 150
93 92 95 2 90 150
94 92 95 2 90 150
96 97 100 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
96 97 98 2 61 200
96 97 99 2 119 150
98 97 99 2 161 150
98 97 100 2 90 150
99 97 100 2 90 150
101 102 105 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
101 102 103 2 61 200
101 102 104 2 119 150
103 102 104 2 161 150
103 102 105 2 90 150
104 102 105 2 90 150
106 107 110 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
106 107 108 2 61 200
106 107 109 2 119 150
108 107 109 2 161 150
108 107 110 2 90 150
109 107 110 2 90 150
111 112 115 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93

111 112 113 2 61 200
111 112 114 2 119 150
113 112 114 2 161 150
113 112 115 2 90 150
114 112 115 2 90 150
116 117 120 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
116 117 118 2 61 200
116 117 119 2 119 150
118 117 119 2 161 150
118 117 120 2 90 150
119 117 120 2 90 150
121 122 125 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
121 122 123 2 61 200
121 122 124 2 119 150
123 122 124 2 161 150
123 122 125 2 90 150
124 122 125 2 90 150
126 127 130 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
126 127 128 2 61 200
126 127 129 2 119 150
128 127 129 2 161 150
128 127 130 2 90 150
129 127 130 2 90 150
131 132 135 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
131 132 133 2 61 200
131 132 134 2 119 150
133 132 134 2 161 150
133 132 135 2 90 150
134 132 135 2 90 150
136 137 140 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
136 137 138 2 61 200
136 137 139 2 119 150
138 137 139 2 161 150
138 137 140 2 90 150
139 137 140 2 90 150
141 142 145 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
141 142 143 2 61 200
141 142 144 2 119 150
143 142 144 2 161 150

143 142 145 2 90 150
144 142 145 2 90 150
146 147 150 6 138.52 3.63 -29.06 -32.86 350.6 650.93
146 147 148 2 61 200
146 147 149 2 119 150
148 147 149 2 161 150
148 147 150 2 90 150
149 147 150 2 90 150
2 5 10 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
5 10 7 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
7 10 15 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
10 15 12 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
12 15 20 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
15 20 17 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
17 20 25 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
20 25 22 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
22 25 30 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
25 30 27 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
27 30 35 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
30 35 32 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
32 35 40 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
35 40 37 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
37 40 45 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
40 45 42 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
42 45 50 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
45 50 47 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
47 50 55 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
50 55 52 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
52 55 60 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
55 60 57 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
57 60 65 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
60 65 62 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
62 65 70 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
65 70 67 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
67 70 75 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
70 75 72 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
72 75 80 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
75 80 77 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
77 80 85 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7

80 85 82 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
82 85 90 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
85 90 87 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
87 90 95 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
90 95 92 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
92 95 100 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
95 100 97 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
97 100 105 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
100 105 102 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
102 105 110 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
105 110 107 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
107 110 115 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
110 115 112 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
112 115 120 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
115 120 117 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
117 120 125 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
120 125 122 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
122 125 130 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
125 130 127 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
127 130 135 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
130 135 132 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
132 135 140 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
135 140 137 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
137 140 145 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
140 145 142 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
142 145 150 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7
145 150 147 6 98.09 3.95 37.9 -38.2 -575.7 1400.7

[dihedrals]

6 7 10 15 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
11 12 15 20 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
16 17 20 25 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
21 22 25 30 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
26 27 30 35 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
31 32 35 40 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
36 37 40 45 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
41 42 45 50 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
46 47 50 55 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
51 52 55 60 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6

56 57 60 65 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
61 62 65 70 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
66 67 70 75 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
71 72 75 80 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
76 77 80 85 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
81 82 85 90 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
86 87 90 95 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
91 92 95 100 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
96 97 100 105 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
101 102 105 110 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
106 107 110 115 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
111 112 115 120 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
116 117 120 125 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
121 122 125 130 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
126 127 130 135 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
131 132 135 140 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
136 137 140 145 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
141 142 145 150 3 1.35 4.3 1.3 -5.8 1.3 1.6
2 5 10 7 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
7 10 15 12 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
12 15 20 17 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
17 20 25 22 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
22 25 30 27 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
27 30 35 32 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
32 35 40 37 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
37 40 45 42 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
42 45 50 47 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
47 50 55 52 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
52 55 60 57 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
57 60 65 62 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
62 65 70 67 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
67 70 75 72 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
72 75 80 77 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
77 80 85 82 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
82 85 90 87 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
87 90 95 92 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
92 95 100 97 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
97 100 105 102 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
102 105 110 107 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5

107 110 115 112 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
112 115 120 117 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
117 120 125 122 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
122 125 130 127 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
127 130 135 132 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
132 135 140 137 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
137 140 145 142 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5
142 145 150 147 3 -1.2 8.5 17.7 -27.7 -17.1 25.5

[constraints]

i j funct length

3 4 1 0.226

8 9 1 0.226

13 14 1 0.226

18 19 1 0.226

23 24 1 0.226

28 29 1 0.226

33 34 1 0.226

38 39 1 0.226

43 44 1 0.226

48 49 1 0.226

53 54 1 0.226

58 59 1 0.226

63 64 1 0.226

68 69 1 0.226

73 74 1 0.226

78 79 1 0.226

83 84 1 0.226

88 89 1 0.226

93 94 1 0.226

98 99 1 0.226

103 104 1 0.226

108 109 1 0.226

113 114 1 0.226

118 119 1 0.226

123 124 1 0.226

128 129 1 0.226

133 134 1 0.226

138 139 1 0.226
143 144 1 0.226
148 149 1 0.226