



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE  
MÉXICO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ANÁLISIS DE LA FORMACIÓN DE  
NANOPARTÍCULAS DE QUITINA Y  
QUITOSANO A TRAVÉS DE GELACIÓN  
IONOTRÓPICA CON TRIPOLIFOSFATO**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA**

**PRESENTA**

**EDGAR GERARDO ALBARRÁN LÓPEZ**

**BAJO LA DIRECCIÓN DE:**

**DR. ROBERTO LÓPEZ RENDÓN, UAEM**

**M. en C. EVELIN MARTINEZ BENAVIDEZ, CIATEJ**



**TOLUCA, MÉXICO; ABRIL DE 2018**

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres, Alfredo y Maribel. Por toda la confianza que han tenido en mí. Por su incansable esfuerzo que, día a día, han realizado para ayudarme a alcanzar mis metas. Por todo ese apoyo y motivación a lo largo de mi vida, las pláticas y las llamadas de atención; los consejos y ánimos. Gracias por ayudarme y darme la oportunidad para poder dirigir mi vida con libertad y responsabilidad. Gracias de corazón por todo.

A mis hermanos, Oscar y Fernando. Por todo el apoyo que me han brindado. Por sus ánimos, las pláticas y momentos juntos. Por creer en mí y alentarme para seguir adelante, muchas gracias en verdad. Y... ya no se enteren prros :v

A mis directores de tesis, Dr. Roberto López Rendón y M. en C. Evelin Martínez Benavidez. Gracias por darme la oportunidad de formar parte de este proyecto de investigación. Por su paciencia y consideración; por todo su apoyo y orientación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y al Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ). Al Director del CIATEJ, Dr. Inocencio Higuera Ciapara, por las facilidades otorgadas en la realización de las Practicas Profesionales en sus Instalaciones.

Al proyecto de investigación CONACyT Fronteras de la Ciencia 2015-1 "Interacciones moleculares en sistemas nanoencapsulados". Clave del proyecto: FON.INST./44/2016.

*"Podemos estar orgullosos de lo que hemos hecho, pero deberíamos estarlo mucho más de lo que no hemos hecho. Ese orgullo está por inventar."*

*Emil M. Cioran*

# INDICE

I.	INTRODUCCION .....	1
II.	OBJETIVOS .....	5
III.	MARCO TEORICO .....	6
3.1.	QUITINA Y QUITOSANO .....	6
3.1.1.	Estructura .....	7
3.1.2.	Fuentes y Obtención .....	13
3.1.3.	Producción microbiana de GlcN y GlcNAc por <i>E. coli</i> .....	15
3.1.4.	Grado de acetilación .....	16
3.1.5.	Aplicaciones.....	21
3.2.	CAPSAICINA .....	23
3.2.1.	Biosíntesis de la capsaicina .....	25
3.2.2.	Aplicaciones.....	27
3.3.	TRIPOLIFOSFATO .....	28
IV.	METODOLOGÍA.....	31
4.1.	MÉTODOS DE ESTRUCTURA ELECTRÓNICA: AB-INITIO .....	31
4.1.1.	Teoría de funcionales de la densidad (TFD) .....	32
4.1.1.1.	Formalismo de la teoría .....	34
4.1.1.2.	Método de Kohn-Sham .....	36
4.1.1.3.	Funcional híbrido.....	38
4.2.	CONJUNTOS BASE .....	40
4.3.	MÉTODOS Y PROGRAMAS DE ESTUDIO .....	41
4.3.1.	Primer teorema de Hohenberg-Kohn.....	41
4.3.2.	Segundo teorema de Hohenberg-Kohn .....	44
4.3.3.	Ecuaciones de Kohn-Sham .....	45
4.3.4.	Modelo de los orbitales moleculares de Kohn-Sham.....	47
4.4.	CORRECCIONES EMPÍRICAS PARA LAS INTERACCIONES DE VAN DER WAALS .....	48
4.5.	IVDW, MÉTODOS APROXIMADOS DE CORRECCIÓN PARA LAS INTERACCIONES DE VAN DER WAALS.....	49
4.5.1.	Método de Tkatchenko-Scheffer (TS) .....	50
4.6.	CONSTRUCCIÓN DE LOS COMPLEJOS MOLECULARES .....	52
4.7.	CONSTRUCCIÓN DE LA CELDA.....	57
4.8.	CÁLCULOS CUÁNTICOS.....	60

V. RESULTADOS Y DISCUSION .....	61
VI. CONCLUSIONES .....	71
VII. REFERENCIAS .....	73
VIII. APENDICE.....	86
8.1. INTRODUCCIÓN A LOS CÁLCULOS TFD EN VASP .....	86
8.2. ARCHIVOS DE ENTRADA: INCAR, POTCAR, POSCAR Y KPOINTS.....	86
8.2.1. INCAR.....	86
8.2.2. POTCAR.....	88
8.2.3. POSCAR.....	88
8.2.4. KPOINTS.....	89
8.2.5. SNEW .....	90
8.3. ARCHIVOS DE SALIDA: CONTCAR, OUTCAR, WAVECAR, CHGCAR Y DOSCAR .....	90
8.3.1. CONTCAR.....	91
8.3.2. OUTCAR.....	91
8.3.3. WAVECAR .....	92
8.3.4. CHGCAR .....	92

## I. INTRODUCCION

La nanobiotecnología es una rama de la nanotecnología que involucra el estudio y la síntesis de biomateriales, fabricación de dispositivos y desarrollo de metodologías en la nanoescala, que se caracterizan por incluir biomoléculas en estos procesos. Entre las biomoléculas utilizadas destacan las nanopartículas de quitosano y capsaicina. El estudio de estas nanopartículas ha producido información detallada de sus propiedades biológicas, genéticas y estructurales. Las características estructurales de las nanopartículas, tales como su tamaño nanométrico y su porosidad, las convierte en herramientas versátiles y útiles en el área de la nanobiotecnología y la medicina, particularmente como transportadores de otras biomoléculas dentro del organismo. Otras características relevantes de las nanopartículas de quitosano y capsaicina son su alta estabilidad estructural y su baja solubilidad.

La biotecnología e ingeniería de bioprocesos tienen la capacidad de producir estos nanobiomateriales en cantidades suficientes, con gran estabilidad, biocompatibilidad y pureza. Estas nanopartículas pueden ser modificadas con el uso de distintas concentraciones de quitosano o solventes específicos. La síntesis y ensamblaje de nanopartículas orgánicas conjugadas con otras biomoléculas como la capsaicina ha permitido desarrollar novedosos nanobiomateriales híbridos integrados, con aplicaciones potenciales como sistemas de almacenamiento y transporte de fármacos útiles en nanomedicina para el diagnóstico y tratamiento de múltiples padecimientos. De esta forma, se ha logrado integrar a la biotecnología, la nanotecnología y a la bioingeniería para el desarrollo y aplicación de nuevos nanobiomateriales.

Desde que Bodmeier et al. (1989) describieron la preparación de complejos quitosano-tripolifosfato (TPP), la formación de complejos entre estas moléculas con cargas opuestas para obtener formulaciones que controlan la liberación de fármacos con un bajo peso molecular ha ganado interés puesto que se trata de un proceso muy simple (Janes et al. 2003; Vyas et al. 2010; Lu et al. 2006).

Dentro de los métodos que mayor atención han recibido, destacan aquellos basados fundamentalmente en el principio de la gelación ionotrópica del quitosano utilizando TPP. El TPP es un agente entrecruzante no tóxico que es capaz de formar geles al unirse con el quitosano por interacción iónica. Esta técnica se desarrolló inicialmente para la inmovilización de células y se utilizó principalmente el alginato como componente de la membrana y la combinación de iones divalentes como el calcio o bario para inducir la gelificación (Sandoval-Peraza et al. 2016). En el presente proyecto, esta interacción entre sistemas ocurre por un entrecruzamiento iónico divalente entre los iones de la molécula divalente y las unidades de quitina y quitosano.

Las nanopartículas a base de quitosano se forman como resultado de procesos de auto-asociación o entrecruzamiento en virtud de los cuales las cadenas poliméricas se ordenan en estructuras nanoscópicas ya sea por interacciones inter o intramoleculares de tipo covalente o no covalente. En estas nanopartículas el fármaco o biomolécula puede ser atrapado o ligado a la matriz polimérica sólida o semi-sólida (Calvo et al. 1997). El mecanismo propuesto para la formación de nanopartículas de quitosano-TPP plantea que la gelación ionotrópica del quitosano ocurre por interacciones electrostáticas entre productos de la disociación del TPP en solución acuosa con los grupos  $-\text{NH}_3^+$  del quitosano. La reacción que se produce entre el quitosano y el TPP ha sido descrita por Ko et al. (2002) y Mi et al. (1999). El TPP disuelto en agua se disocia en iones tripolifosfóricos y en OH y la solución resultante tiene pH 9. Los  $\text{pK}_a$  del TPP son:  $\text{pK}_1=1$ ,  $\text{pK}_2=2$ ,  $\text{pK}_3=2,79$ ,  $\text{pK}_4=6,47$  y  $\text{pK}_5=9,24$  (Dean 1964). Los aniones procedentes del TPP ( $\text{P}_3\text{O}_{10}^{-5}$ ,  $\text{HP}_3\text{O}_{10}^{-4}$  y  $\text{H}_2\text{P}_3\text{O}_{10}^{-3}$ ) coexisten en solución acuosa en función del pH.

Comparado con otras alternativas como el desarrollo de mensajeros nano escalares de suministro de fármacos, como los micelios y los liposomas; las nanopartículas de quitosano muestran ventajas tales como una mayor estabilidad, uso de soluciones basadas en agua y no en solventes orgánicos, y procedimientos más simples (Liu et al. 2008; Bronich et al. 2005). Su estabilidad se debe en parte al entrecruzamiento iónico de los oligómeros de quitosano, cargados positivamente,

con polianiones como el TPP. La proporción molar quitosano/TPP y las interacciones involucradas son muy cruciales para la formación del diámetro medio de la nanopartícula, ya que estos parámetros pueden afectar las propiedades de la liberación del fármaco.

Por otro lado, la elección del quitosano como biomolécula para el diseño y fabricación de las nanopartículas fue resultado no solo de su mejor solubilidad en agua y menor viscosidad que la quitina, sino también por sus actividades biológicas especiales como antibacterial, antioxidante y reconocimiento biológico. El uso del quitosano para la producción de partículas a escala nanométrica presenta un enfoque todavía joven para la ruptura del paradigma de los nanobiomateriales, que aborda muchas de las barreras del autoensamblaje de moléculas en nanoestructuras sumamente ordenadas a través de las interacciones intra e intermoleculares. Por otra parte, el quitosano es un copolímero semi-sintético lineal compuesto de un número variable de unidades 2-acetamida-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopiranososa (GlcNAc) y 2-amino-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopiranososa (GlcN, Glucosamina) (Hu et al. 2013), las cuales se encuentran distribuidas aleatoriamente unidas por enlaces glucosídicos  $\beta$ -(1,4).

En este proyecto se llevó a cabo un estudio teórico bajo el marco de la Teoría de Funcionales de la Densidad (TFD) de los dos complejos moleculares más importantes que participan en el diseño de nanopartículas transportadoras de fármacos como son Quitina-TPP-Capsaicina y Quitosano-TPP-Capsaicina. Se realizaron cálculos cuánticos con el software Vienna Ab initio Simulation Package (VASP). Este software calcula una solución aproximada a la ecuación de Schrödinger de muchos cuerpos, dentro de la Teoría de Funcionales de la Densidad (TFD), resolviendo las ecuaciones de Kohn-Sham dentro de la aproximación de Hartree-Fock (HF). Además, implementa funcionales híbridos que combinan la aproximación de HF con la TFD (Fiolhais et al. 2003). Por otra parte, la TFD es uno de los métodos más utilizados en los cálculos cuánticos de la estructura electrónica de la materia, tanto en la física de la materia condensada como en la química cuántica, y más recientemente en la nanobiotecnología (Dubeck'y et al. 2010).

La TFD es una herramienta de simulación molecular ampliamente utilizada en biofísica y nanobiotecnología computacional. La TFD es capaz de obtener, por ejemplo, la energía y la distribución electrónica del estado fundamental, trabajando con el funcional de la densidad electrónica en vez de la función de ondas, ya que la densidad es una magnitud mucho más simple que la función de onda y por lo tanto más fácil de calcular y en la práctica son accesibles sistemas mucho más complejos.

En este proyecto los cálculos en VASP se utilizaron para estudiar las interacciones intra e intermoleculares entre las moléculas de Quitina y Quitosano con la Capsaicina y el polianión TPP, así como los arreglos estructurales que adquieran derivados de estas interacciones electrostáticas. Los cálculos VASP se llevaron a cabo en un servidor externo del clúster Yoltla, perteneciente al Laboratorio de Supercómputo y Visualización en Paralelo (LSVP) de la División de Ciencias Básicas e Ingeniería (DCBI), de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa (UAM-I); al cual se accedió mediante la ejecución de los protocolos SSH (Secure SHell) y SFTP (SSH File Transfer Protocol) dentro de la Consola de comandos del sistema operativo Linux Mint 18.1 (Serena).



## **II. OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Estudiar la capacidad de formación de nanopartículas de quitina y quitosano a través de gelación ionotrópica con tripolifosfato, bajo el esquema de la Teoría de Funcionales de la Densidad (TFD).

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

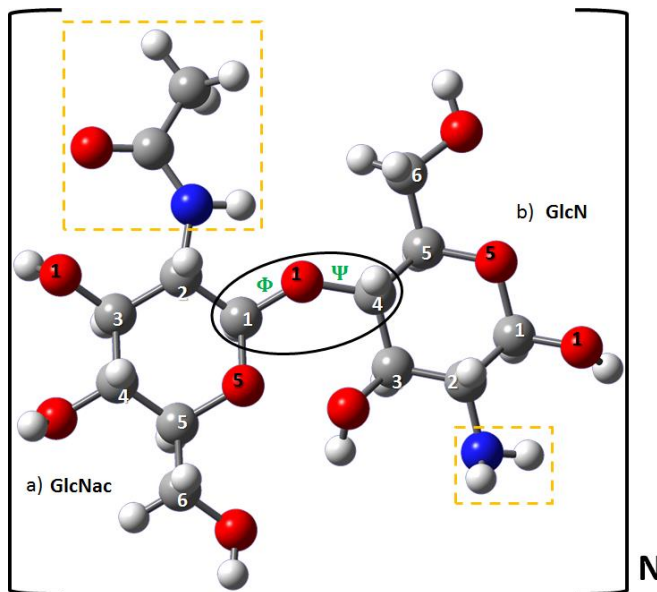
- 1.- Llevar el sistema a un estado de mínima energía, mediante la optimización de los complejos moleculares Quitina-TPP-Capsaicina.
- 2.- Llevar el sistema a un estado de mínima energía, mediante la optimización de los complejos moleculares Quitosano-TPP-Capsaicina.
- 3.- Verificar la orientación espacial de nuestros sistemas y corroborar que estos queden dentro de los límites de una celda, mediante el uso de software general de procesamiento de estructuras electrónicas y moleculares como Molden y Gaussview.
- 4.- Agregar la corrección TS (método de Tkatchenko-Scheffler) para calcular las correcciones de dispersión en las fuerzas de van der Waals de los complejos moleculares, mediante la modificación de parámetros de la celda en el complejo Quitina-TPP-Capsaicina.
- 5.- Agregar la corrección TS (método de Tkatchenko-Scheffler) para calcular las correcciones de dispersión en las fuerzas de van der Waals de los complejos moleculares, mediante la modificación de parámetros de la celda en el complejo Quitosano-TPP-Capsaicina.
- 6.- Estudiar la estabilidad estructural, así como las interacciones electrostáticas y de van der Waals de las nanopartículas de Quitina-TPP-Capsaicina y Quitosano-TPP-Capsaicina, bajo el marco de la Teoría de Funcionales de la Densidad.

### III. MARCO TEORICO

#### 3.1. QUITINA Y QUITOSANO

La quitina es un material duro, no elástico, el cual es insoluble en la mayoría de los solventes debido a su estructura compacta (Mogilevskaya et al. 2006). Por lo tanto, los grupos acetilo se remueven de la quitina a través de un proceso de desacetilación, para formar quitosano, el derivado desacetilado.

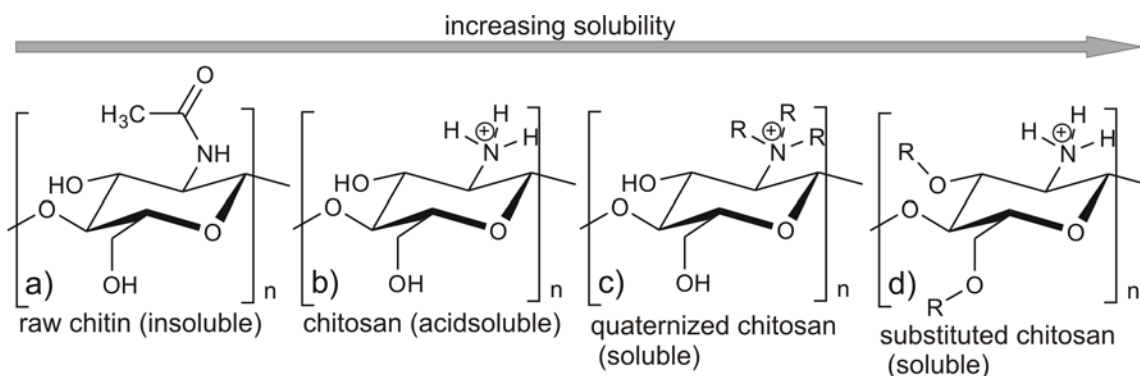
La quitina es un homopolímero compuesto de unidades repetidas de 2-acetamida-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopiranososa (GlcNAc, N-acetilglucosamina) unidas por enlaces glucosídicos  $\beta$ -(1,4), mientras que el quitosano es un copolímero semi-sintético lineal compuesto de un número variable de unidades 2-acetamida-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopiranososa (GlcNAc) y 2-amino-2-deoxy- $\beta$ -D-glucopiranososa (GlcN, Glucosamina) (Hu et al. 2013), las cuales se encuentran distribuidas aleatoriamente unidas por enlaces glucosídicos  $\beta$ -(1,4). Los dos monómeros difieren con respecto al sustituyente del C2 en el anillo de la azúcar, que es un grupo amino o acetamida.



**Figura 1.** Representación molecular del disacárido formado por los monómeros de a) quitina [GlcNAc] y b) quitosano [GlcN], unidos por un enlace glucosídico  $\beta$ -(1,4) (círculo negro). Se muestran los ángulos diedros  $\Phi$  y  $\Psi$  en verde y se encuentran representados por los átomos: O5-C1-O1-C4' y C1-O1-C4'-C5', respectivamente. Se muestran también los sustituyentes en el C2 (cuadros punteados), con un grupo acetamida para GlcNAc y un grupo amino para GlcN. (Rojo=oxígeno, Gris=carbono, Blanco=hidrógeno, Azul=nitrógeno).

Cabe mencionar que tanto la quitina como el quitosano son insolubles en agua (pH=7) y solventes orgánicos comunes, aunque pueden ser disueltos en solventes específicos como hexafluoro-2-propanol, N, N-dimetilacetamida o

hexafluoroacetona. Incluso mediante la funcionalización (Figura 2.) es posible incrementar su solubilidad.



**Figura 2.** Representación esquemática de los derivados de quitina y quitosano. Mediante la funcionalización de la estructura química, la solubilidad del casi insoluble polímero de quitina (a) puede aumentarse. Derivados quaternizados (c) y sustituidos (d) muestran una solubilidad mucho mejor bajo condiciones alcalinas que el quitosano (b). Imagen tomada de *“Biomedical Activity of Chitin/Chitosan Based Materials-Influence of Physicochemical Properties Apart from Molecular Weight and Degree of N-Acetylation”*

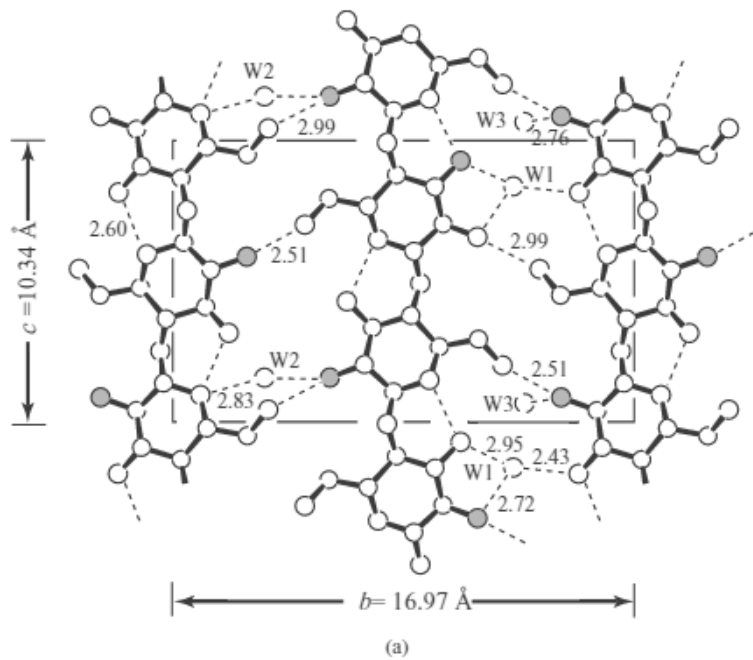
### 3.1.1. Estructura

La estructura y propiedades de estos polímeros está afectada por varios factores, incluyendo el peso molecular, el grado de N-acetilación, y la distribución de los grupos acetil a lo largo de la cadena principal (Rinaudo, 2006; Dash et al. 2011).

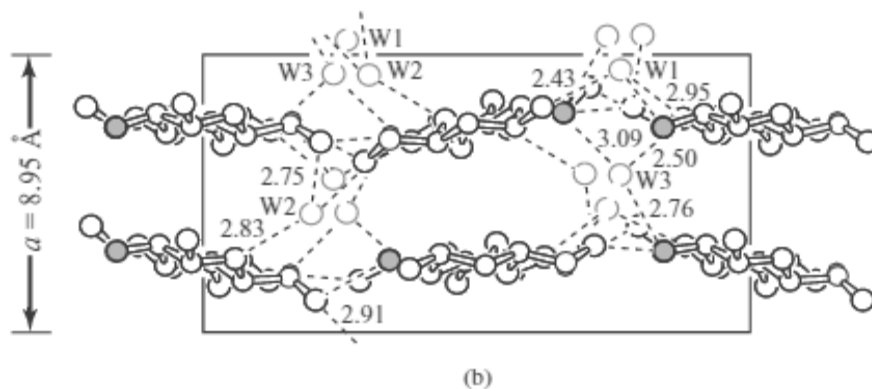
Resultados experimentales obtenidos usando varios métodos de investigación de estructura de polímeros (IRS, NMR, dispersión de rayos X, microscopia) mostraron que la quitina y quitosano, como la celulosa, se caracterizan por una estructura fibrilar ordenada, un desarrollado sistema intra e intermolecular de puentes de H, un alto grado de cristalinidad, y polimorfismo (Rinaudo, 2006; Mogilevskaya et al. 2006). De acuerdo con experimentos de cristalografía por rayos X, las cadenas de la quitina tienen una unidad repetida de 1.030 a 1.043 nm. (Blackwel, 1969; Gardner et al. 1975; Minke et al. 1978), con periodos repetidos de entre dos y ocho unidades de glucosamina.

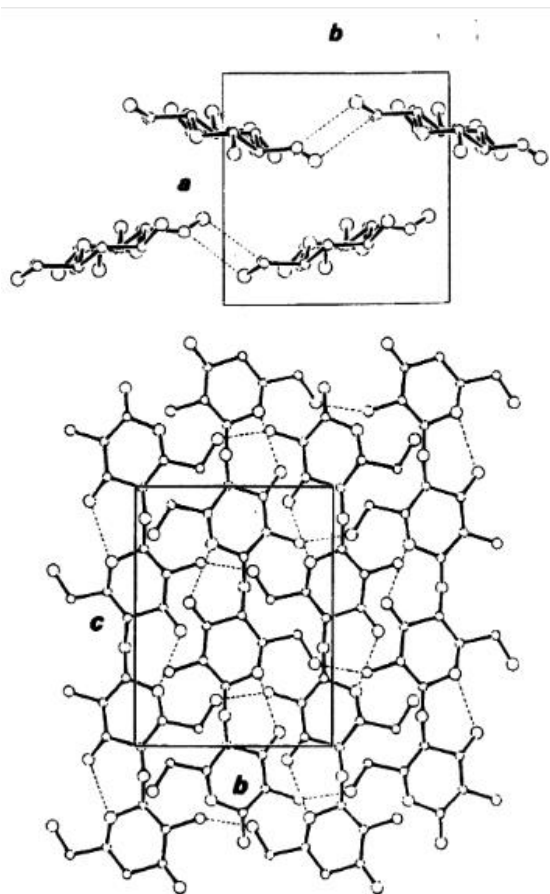
Similarmente a la quitina, en estado sólido, las moléculas de quitosano presentan una estructura fibrilar ordenada con un alto grado de cristalinidad y polimorfismo

(Cunha et al., 2012). Se han identificado dos principales polimorfos cristalinos conocidos como quitosano “tendon”, que es la forma hidratada y la más común (Figura 3.); y quitosano “annealed”, que es el polimorfo cristal de forma anhidra (Figura 4.). Ambas formas, hidratada y anhidra, del quitosano tienen conformación de doble hélice convencional extendida con un patrón repetitivo cada 1.0 nm (Yui et al. 1994; Lertworasirikul et al. 2004). Estos dos polimorfos se han identificado en una celda cristalina como dos cadenas de quitosano antiparalelas como doble hélice, estabilizadas por puentes de hidrógeno. Siendo posible la transformación de la forma “tendon” a la forma “annealed” de manera irreversible por calentamiento (Ogawa et al., 2004).



**Figura 3.** Arreglo del empaquetamiento de quitosano hidratado (“tendon”) proyectado en el eje  $bc$  (a) y el eje  $ab$  (b). Los círculos oscuros representan los átomos de nitrógeno. Se han omitido los átomos de hidrógeno y los puentes de hidrógeno se muestran como líneas punteadas. W es el átomo de oxígeno del agua. Imagen tomada de “*Three D structures of chitosan. International Journal of Biological Macromolecules, 34, 1-8*”.





**Figura 4.** Arreglo del empaquetamiento de quitosano anhidro (“annealed”) proyectado en el eje *ab* (arriba) y el eje *bc* (abajo). Se han omitido los átomos de hidrógeno y los puentes de hidrógeno se muestran como líneas punteadas. Imagen tomada de “*Three D structures of chitosan. International Journal of Biological Macromolecules*, 34, 1-8”.

A pesar de que las sales acidas de quitosano pueden favorecer distintos arreglos estructurales (Ogawa et al. 2004). Se han reportado cuatro principales polimorfos de quitosano en forma de sales con ácidos orgánicos (Ogawa et al., 2004):

- **Tipo I (anhidra).** En estos cristales las cadenas del polisacárido del eje central conservan la doble hélice extendida de la molécula de quitosano sin reaccionar (Yui et al. 1994). Además de mostrar un patrón de repetición de 1.0 nm y ángulos  $\phi$  y  $\varphi \sim -98$  y  $92$ , respectivamente. Este polimorfo ha sido estudiado en cristales de QT/HNO<sub>3</sub>, QT/HI, QT/HBr y QT/ácido ascórbico (Lertworasirikul et al. 2004).
- **Tipo II (hidratado).** Es una forma cristalina con una repetición de cadena de aproximadamente 4.08 nm y una unidad asimétrica (unidades repetitivas) compuesta de 4 residuos de glucosamina. Ya que dos tetrasacáridos hacen una repetición de cadena, este es además una doble hélice aun cuando la

conformación es completamente diferente a la forma del de tipo I, donde la unidad asimétrica es un residuo de glucosamina. También se conoce como doble hélice relajada porque es casi cuatro veces más larga que el quitosano sin reaccionar (Okuyama et al. 2000; Lertworasirikul et al. 2003). A este polimorfo cristalino no se le asocian valores a los ángulos  $\phi$  y  $\varphi$  debido a que puede adoptar un amplio rango de valores. Ha sido estudiado en cristales de QT/ácidos monocarboxílicos, QT/HCl, QT/HF y QT/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Lertworasirikul et al. 2004)

- **Tipo IIa (hidratada).** Una variante salina del Tipo II, tiene una repetición de cadena similar (4.05 nm), pero la conformación molecular es una hélice 4/1, con una unidad asimétrica que consiste en un dímero de glucosamina. Esta hélice derecha comprende cuatro unidades asimétricas. (Lertworasirikul et al. 2003).
- **Tipo III (anhidra).** Tiene un patrón con una repetición de cadena de 2.55 nm, una simetría helicoidal 5/3 y una unidad asimétrica de un único residuo de glucosamina (Kawahara et al. 2003). Ha sido estudiado en cristales de QT/ácido salicílico y QT/ácido gentísico (Lertworasirikul et al. 2004). Del mismo modo que en la forma Tipo II, no se le asocian valores a los ángulos  $\phi$  y  $\varphi$  debido a que también puede adoptar un amplio rango de valores.

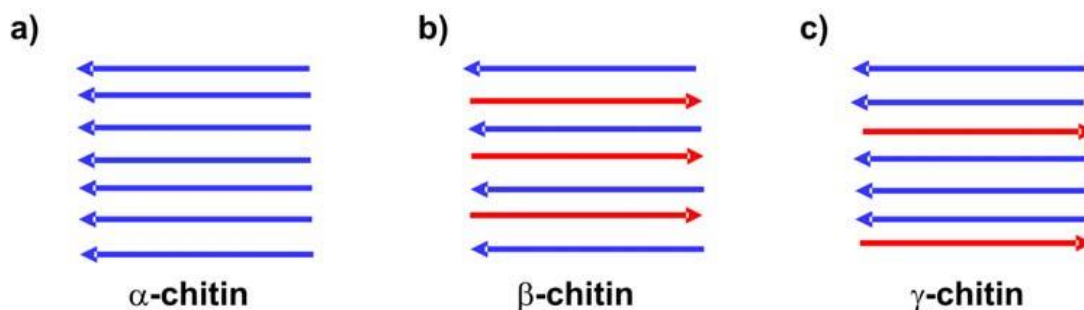
De igual modo, la quitina tiene tres alomorfos cristalinos distintos:  $\alpha$ -quitina,  $\beta$ -quitina y  $\gamma$ -quitina (Younes et al. 2015) (Figura 5.). Estos difieren en la orientación de las microfibras.

La forma más común es la  $\alpha$ -quitina (Figura 5. a). Su celda única está compuesta de dos unidades de N, N'-diacetilquitobiosa formando dos cadenas en un arreglo antiparalelo. Por lo tanto, las cadenas poliméricas adyacentes van en direcciones opuestas, mantenidas juntas por puentes de hidrógeno 06-H $\rightarrow$ 06, y las cadenas se mantienen en láminas por puentes de hidrógeno 07 $\rightarrow$ H-N (Friedman et al. 2013; Raafat et al. 2009; Pusateri et al. 2003). Esto da una mezcla estadística de orientaciones -CH<sub>2</sub>OH, equivalente a la mitad de los átomos de oxígeno en cada residuo, siendo capaz de formar puentes de hidrógeno inter e intramoleculares. Esto

resulta en dos tipos diferentes de grupos amida; todos están involucrados en formar los enlaces de la intercadena  $C=O \rightarrow H-N$ , mientras que la mitad de los grupos amida sirve también como aceptores para los puentes de hidrógeno intramoleculares  $O6-H \rightarrow O=C$ . La formación de estos puentes de hidrógeno intermoleculares conduce a una estructura más estable. Las cadenas poliméricas eventualmente dan origen a microfibras por autoensamblaje si se les permite cristalizar (Gooday 1990).

La  $\beta$ -quitina (Figura 5. b) es una forma menos común, en la cual la celda unitaria es una unidad de N, N'-diacetilquitobiosa, dando lugar a un polímero estabilizado como una cinta rígida, al igual que la  $\alpha$ -quitina, con puentes de hidrógeno intermoleculares  $O3 \rightarrow O5$  (Pusateri et al. 2003; Badwan et al. 2015). Las cadenas en esta estructura se mantienen unidas en láminas por puentes de hidrógeno  $C=OH-N$  entre los grupos amida y por las cadenas laterales  $-CH_2OH$ , lo que conduce a la formación de puentes de hidrógeno interlaminares con los oxígenos carbonilo en las cadenas adyacentes ( $O6H \rightarrow O7$ ). Esto da una estructura de cadenas paralelas de poli-N-acetilglucosamina sin puentes de hidrógeno interlaminares. El arreglo paralelo de las cadenas poliméricas en la  $\beta$ -quitina permite una mayor flexibilidad que en el arreglo antiparalelo de la  $\alpha$ -quitina, pero el polímero resultante todavía tiene una inmensa fuerza (Yen et al. 2009).

La  $\gamma$ -quitina (Figura 5. c), el tercer alomorfo, posee orientaciones tanto paralelas como antiparalelas y se ha reportado que esto ocurre en hongos (Ospina Alvarez et al. 2014; Bowman et al. 2006).



**Figura 5.** Representación esquemática de las tres formas polimórficas de la quitina: a)  $\alpha$ -quitina. b)  $\beta$ -quitina. c)  $\gamma$ -quitina. Imagen tomada de "Biomedical Activity of Chitin/Chitosan Based Materials-Influence of Physicochemical Properties Apart from MolecularWeight and Degree of N-Acetylation"



La quitina siempre se encuentra unida a otros componentes estructurales, con excepción de la  $\beta$ -quitina que se encuentra en diatomos. La quitina se encuentra enlazada covalentemente a glucanos en paredes celulares fúngicas, ya sea directamente, como en *Candida albicans* (Azuma et al. 2015) o mediante enlaces peptídicos. Además, en insectos y otros invertebrados, la quitina esta siempre asociada con proteínas específicas, con enlaces covalentes y no covalentes. Hay además varios grados de mineralización, tal como calcificación y esclerotización, involucrando interacciones con moléculas lipídicas y fenólicas (Friedman et al. 2013). In organismos como hongos e invertebrados, se han reportado grados de desacetilación variados, dando una estructura continua entre quitina (completamente acetilada) y quitosano (completamente desacetilado) (Yang 2011).

Es bien conocido que los puentes de H juegan un papel importante en la estabilización de la estructura secundaria de las proteínas. Igualmente se ha propuesto que la estructura de las cadenas de quitina y quitosano son también estabilizadas por dos puentes de H, una intracadena y otra intercadena (Carlstrom, 1957). Se forma un puente de H intramolecular entre los átomos HO3 y O5 de las unidades de glucosamina unidas consecutivamente. Este puente de H intramolecular ( $\text{HO3}_{(n)} \dots \text{O5}_{(n+1)}$ ) es responsable de la longitud de repetición de la cadena y de mantener la cadena de quitina en el patrón de doble hélice (Blackwel, 1969; Ramarkrishnan et al. 1971). Hay dos posibilidades de puentes de hidrógeno intramolecular en el estado sólido, entre dos grupos N-acetil ( $\text{N-H}(i) \dots \text{O}=\text{C}(j)$ ) y entre un grupo N-acetil y uno hidroximetil.

Las cadenas pueden unirse ya sea directamente a través de puentes de hidrógeno, mediante moléculas de agua estructurales, o, como en el quitosano anhidro, a través de interacciones hidrofóbicas (Okuyama et al. 1999) dando lugar a estructuras cristalinas laminares (Mogilevskaya et al. 2006). Un estudio molecular de estructura con rayos X de la forma monohidratada de la quitina  $[\text{C}_8\text{H}_{13}\text{O}_5\text{N}(\text{H}_2\text{O})]_n$ , con agua como solvente (Dweltz, 1961), mostró que las moléculas de agua que participan en el sistema de puentes de H de la quitina son estables y no son inusuales. Se encontró que los grupos hidroxilo son componentes

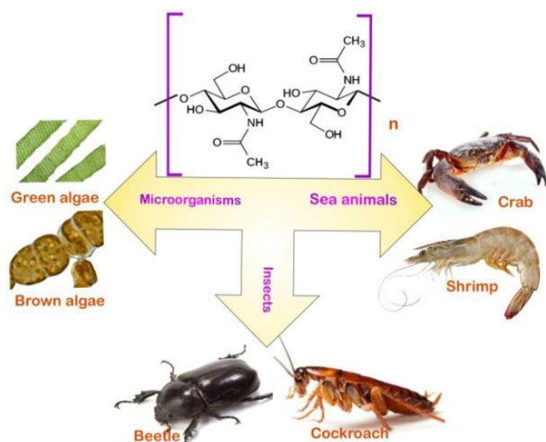


principales en los puentes de H que involucran moléculas de agua, los cuales tienen una distancia común típica de 2.8 Å. (Se asume que hay un puente de H cuando la distancia H-aceptor es menor a 3.5 Å y el ángulo donador-H-aceptor es mayor a 135°.) Como la quitina, la estructura del quitosano también muestra puentes de H entre los átomos de oxígeno O3(n) y O5(n+1) a través de los enlaces glicosídicos y por los puentes de H intercadena que involucran el átomo de oxígeno del grupo hidroximetil (O6) de una cadena y el átomo de nitrógeno (N2) de la amina de la unidad D-glucosamina de otra cadena. Los patrones en el empaquetamiento del polímero son por lo tanto altamente dependientes de los niveles de desacetilación.

Al mismo tiempo, las moléculas de agua también juegan un papel importante en el empaquetamiento, conformación, y propiedades mecánicas de los materiales basados en quitina y quitosano (Li et al. 2006; Mazeau et al. 2004). En formas hidratadas de quitosano, la estructura empaquetada puede ser estabilizada por varios puentes de H mediados por moléculas de agua sin interacciones directas entre capas (Ogawa et al. 2004).

### 3.1.2. Fuentes y Obtención

La glucosamina (GlcN) es un compuesto derivado de la sustitución de un grupo hidroxilo de una molécula de glucosa con un grupo amino. La GlcN y su derivado acetilado, la N-acetilglucosamina (GlcNAc), son sintetizados en todos los organismos, incluyendo bacterias, levaduras, hongos filamentosos, plantas y animales (Hsieh et al. 2007; Sitanggang et al. 2010) (Figura 6.).



**Figura 6.** Estos organismos están unidos por la presencia de la quitina como un componente estructural principal. En algunos organismos (como el caracol) la quitina se encuentra en la mandíbula, así como un suministro de la enzima degradadora de quitina, la quitinasa presente en el intestino (Finney et al., 2008). La gran cantidad de quitina y quitosano en estos organismos las hace buenas fuentes naturales de este biopolímero. Imagen tomada de *Chitin and Chitosan: Production and Application of Versatile* (2016) Biomedical Nanomaterials.

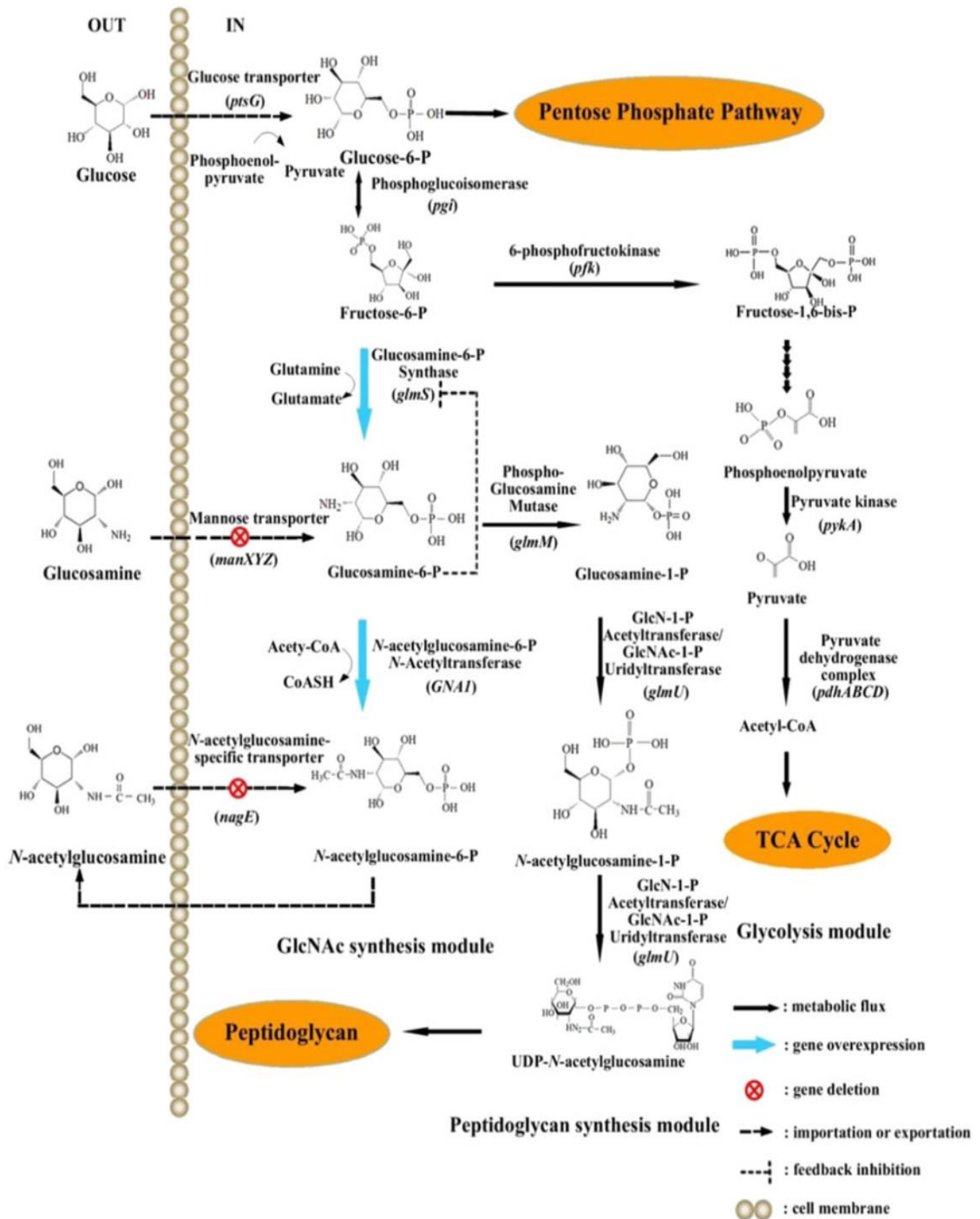
Como ya se había mencionado, y dependiendo de la fuente, podemos encontrar la quitina en sus tres diferentes formas polimórficas:  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ . La  $\alpha$ -quitina rómbica se asemeja a una estructura en forma de cadena ordenada en una dirección antiparalela con puentes de hidrógeno intermoleculares fuertes encontrados en los exoesqueletos de cangrejos, camarones y otros artrópodos (Younes et al. 2014; Manni et al. 2010). La forma monoclinica  $\beta$ -quitina esta modelada en una dirección paralela con puentes de hidrógeno intermoleculares débiles existentes en los gladius del calamar comúnmente conocido como calamar pluma (Youn et al. 2013). La  $\gamma$ -quitina es extraída de microorganismos fúngicos y es una combinación de  $\alpha$ -quitina y  $\beta$ -quitina (Zamani et al. 2012).

En humanos, la GlcNAc es frecuentemente observada en las glicoproteínas, tal como el activador de plasminógeno tisular (Friedman et al., 2013). Además de detectarse en factores de crecimiento de mamíferos y hormonas (Elieh-Ali-Komi et al., 2016), incluyendo la hormona foliculoestimulante (FSH), la hormona luteinizante (LH, lutropina), la gonadotropina menopaúsica humana (hMP), gonadotropina sérica de yegua preñada, hormona de estimulante de la tiroides (TSH, tirotropina), y la gonadotropina coriónica humana (hCG).

Actualmente, la GlcN es producida principalmente por hidrólisis ácida de la quitina (polímero lineal de GlcNAc) extraída del exoesqueleto de cangrejos y camarones (Sitanggang et al. 2010). El ácido clorhídrico concentrado descompone el polímero y desacetila el GlcNAc para formar GlcN. La GlcNAc es producido por la acetilación química del GlcN usando anhídrido acético.

Por otra parte, la GlcN y la GlcNAc pueden derivarse también por la hidrólisis enzimática de la quitina, y las enzimas más comúnmente utilizadas incluyen endoquitinasas, exoquitinasas, quitobiosa y  $\beta$ -N-acetilhexoaminidasas, Sin embargo, estas enzimas usualmente no pueden hidrolizar eficientemente la  $\alpha$ -quitina derivada del exoesqueleto de cangrejo y camarón (Sashiwa et al. 2002).

### 3.1.3. Producción microbiana de GlcN y GlcNAc por *E. coli*



**Figura 7.** Rutas biosintéticas de GlcN y GlcNAc en *E. coli*. OUT fuera de la célula, IN dentro de la célula. Imagen tomada de "Microbial production of glucosamine and N-acetylglucosamine: advances and perspectives"

La Figura 7 muestra la ruta biosintética de GlcN y GlcNAc en *E. coli*. La GlcN sintasa (codificada por *glmS*) convierte la fructuosa-6-fosfato (fructosa-6-P) a GlcN-6-P, utilizando glutamina como un donador amino. Para la síntesis de peptidoglicanos y lipopolisacáridos, que son componentes esenciales de la pared celular de bacterias gram-negativas, la GlcN-6-P es convertida primero a GlcN-1-P por la fosfoglucosamina mutasa (codificada por *glmM*). El producto es después convertido por una enzima bifuncional, GlcN-1-P *N*-acetiltransferasa/GlcNAc-1-P uridiltransferasa (codificada por *glmU*), a GlcNAc-1-P y después a uridina difosfato *N*-acetilglucosmina (UDP-GlcNAc). El mecanismo de secreción de GlcN y GlcNAc, incluyendo los procesos de desfosforilación y exportación, no habían sido revelados hasta hace poco tiempo. Es generalmente reconocido que las biomoléculas fosforiladas son desfosforiladas durante la salida desde *E. coli* con la ayuda de fosfatasa alcalina y fosfatasas de azúcar en el espacio periplasmático de *E. coli*. La GlcN-6-P y la GlcNAc-6-P intracelulares son desfosforiladas y exportadas. Para aclarar aún más el mecanismo de secreción de GlcN y GlcNAc, es necesario identificar el exportador de azúcar, el cual puede ser útil para reforzar el proceso de salida de GlcN y GlcNAc.

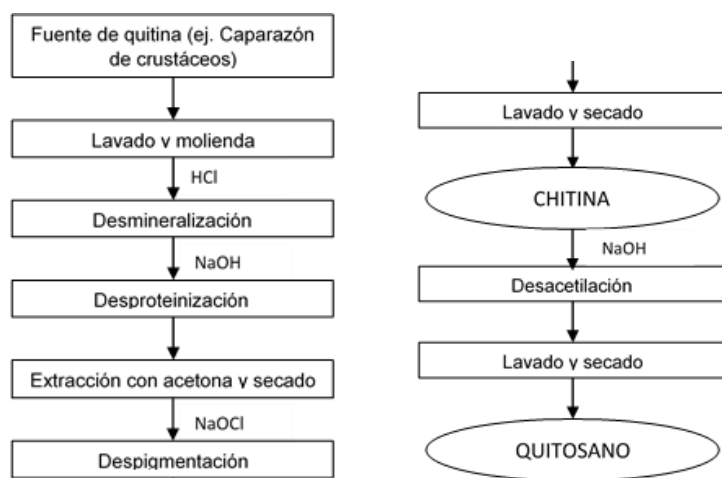
#### **3.1.4. Grado de acetilación**

La proporción de unidades de GlcNAc esta descrita por el grado de acetilación (GA), así, la quitina tiene un GA del 100%. El quitosano, su derivado principal, es la quitina parcialmente *N*-desacetilada. De forma natural la quitina se puede encontrar parcialmente desacetilada, encontrándose en diferentes proporciones de quitina y quitosano (No et al., 1995). El nivel de desacetilación casi nunca alcanza el 100%. Es generalmente aceptado que este biopolímero es considerado como quitosano si la quitina esta *N*-desacetilada a tal grado que se vuelva soluble en medio ácido diluido, que esta comúnmente en el orden de 40-60% (Sannan et al. 1976). Los grupos amino de las unidades glucosámicas del quitosano ( $pK_a \sim 6.3-6.5$ ) son sitios de quelación importantes para iones metálicos en condiciones neutras a alcalinas y forman complejos estables con aniones mediante interacciones

electrostáticas en condiciones ácidas (Gibbs et al. 2003; Knorr 1983; Maghami et al. 1988; Uragami et al. 1983).

A diferencia de la quitina, el quitosano está cargado positivamente en condiciones ácidas a neutras con una densidad de carga neta, y por lo tanto su capacidad de absorción depende del pH y el nivel de N-desacetilación (Liu et al. 2006; Vieira et al. 2006; Zhou et al. 2005). Las capacidades generales de unión metal- y anión- de estos polímeros son resultado de la interacción entre el grado de desacetilación, el peso molecular, el área de la superficie, y la cristalinidad.

Los grupos acetil se pueden remover por métodos como la hidrólisis alcalina heterogénea (Domard et al. 1983) y tecnología termomecanoquímica (Pelletier et al. 1990). Los materiales liberados de la desacetilación de la quitina con un grado de desacetilación arriba del 75% son llamados usualmente quitosano (Robert 1992) y referidos como GlcN. Sin embargo, para obtener quitosano con el porcentaje de desacetilación deseado es necesario realizar un proceso químico que consisten en un pretratamiento a la quitina para desmineralizar, desproteínizar y despigmentar (Figura 8.). La desmineralización se obtiene por un tratamiento con HCl para remover el carbonato de calcio, mientras que los dos procesos restantes se obtienen por tratamientos alcalinos. Teniendo el producto pretratado, éste se hace reaccionar con una solución de hidróxido de sodio o potasio en concentraciones de 30-50% w/v en altas temperaturas (~100°C) hasta obtener quitosano con el porcentaje de desacetilación deseado (No et al., 1995; Domard, 2011; Aranaz et al., 2009).



**Figura 8.** Preparación de quitina y quitosano a partir de una fuente natural. Tomado de "Functional Characterization of Chitin and Chitosan. Current Chemical Biology, 3, 203-230."

En general, existen dos métodos para la desacetilación, la desacetilación heterogénea en estado sólido y la desacetilación homogénea pre-hinchada bajo vacío en un medio acuoso. El primero es el tratamiento industrial más ampliamente utilizado, pero ambos procesos involucran el uso de soluciones alcalinas concentradas y largos tiempos de tratamiento, que oscilan entre 1-80 horas (Aranaz et al. 2009).

Aunque la obtención de quitosano por el procesamiento químico sea el más utilizado, presenta ciertas desventajas como (García Birolli et al., 2016):

- La necesidad de realizar varias reacciones consecutivas para lograr el mayor porcentaje desacetilación.
- Baja reproducibilidad, que causan la variación de las principales características y propiedades de quitosano.
- La existencia de diferentes despolimerizaciones debido a las fuertes condiciones de reacción, tales como la alta concentración de alcalosis (>40% w/w), largos periodos de tratamiento (>60 min) y las altas temperaturas de reacción (80–130°C).

Debido a las anteriores desventajas otras alternativas como tratamientos sucesivos alcalinos usando tiofenol en DMSO, procesos termomecánicos usando un reactor de cascada operable en bajas concentraciones de alcalinidad; del mismo modo, se ha propuesto el uso de microondas y ultrasonido (Aranaz et al. 2009).

La desacetilación asistida por ultrasonido en  $\beta$ -quitina, evita la despolimerización de las cadenas de  $\beta$ -quitina por la solución alcalina. Además de ser un método suave de obtención al trabajar con temperaturas de 50-80°C y un tiempo de reacción de 10-60 min que da  $6\% < GA < 17\%$  (Delezuk et al., 2011). Por otro lado, un estudio de la desacetilación asistida por ultrasonido a una muestra de  $\alpha$ -quitina fue realizado en 2016 por García et al., utilizando  $\alpha$ -quitina obtenida de cefalotórax de *Macrobachium rosenbergii* (langostino gigante de río) pretratada y triturada en tamaños de 0.125-0.250 mm, fue sometida a ultrasonido (20 kHz) en una solución

acuosa de NaOH. Los resultados indicaron la producción de la desacetilación en buenos rendimientos. Sin embargo, la despolimerización se sigue presentando independientemente de las condiciones experimentales. Además de la existencia de cambios en el arreglo en el estado sólido de  $\alpha$ -quitina por efecto del ultrasonido.

La determinación del GA es importante debido a que se ha observado que afecta el arreglo de las cadenas poliméricas en el estado sólido y propiedades fisicoquímicas como: la solubilidad y la conformación, las cuales afectan críticamente la efectividad en aplicaciones tecnológicas y biológicas (Cunha et al., 2012; Garcia Birolli et al., 2016).

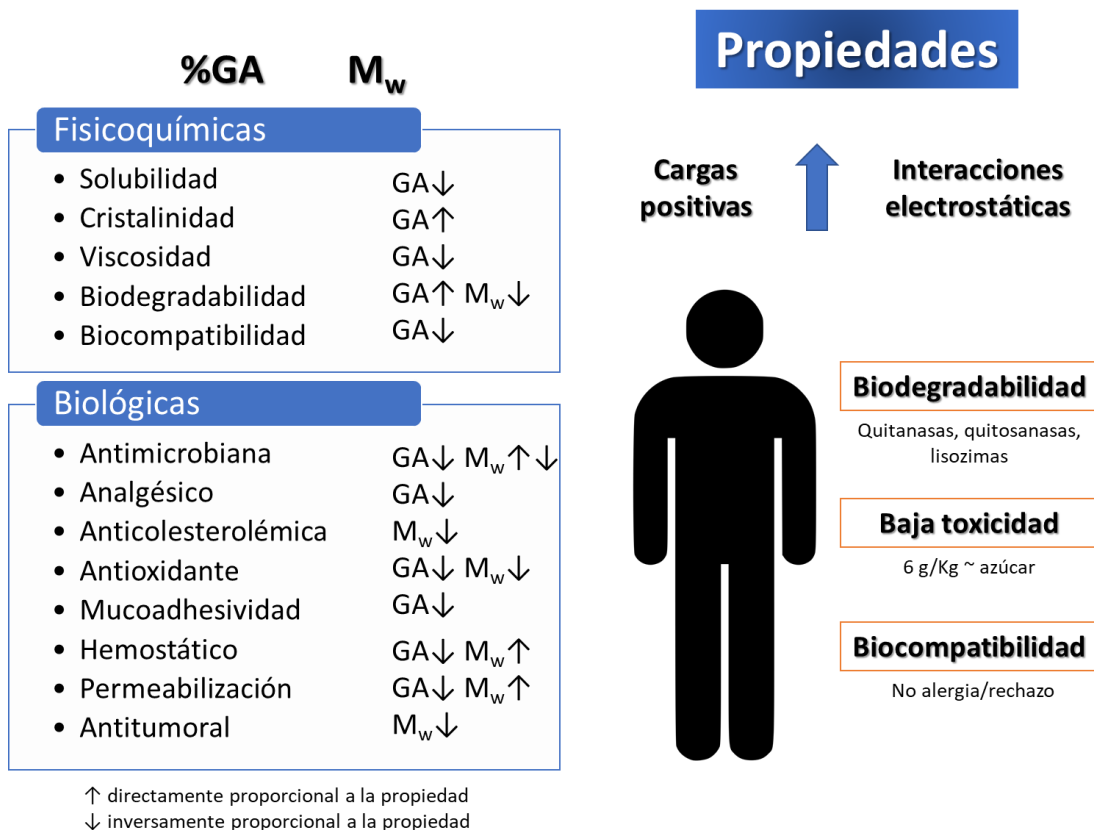
El comportamiento electrostático del quitosano está dividido en tres dominios (Schatz et al. 2003):

- 1) quitosano con  $GA < 20\%$  se comporta como polielectrolito y es bastante soluble en medio acuoso;
- 2) quitosano con  $20 \leq GA \leq 50\%$  constituye un dominio de transición; y
- 3) quitosano con  $GA > 50\%$  muestran un carácter hidrofóbico creciente debido a la disminución en los sitios catiónicos.

De forma similar, las cadenas de quitosano con  $GA < 25\%$  son bastante flexibles e independientes del GA exacto, mientras que las cadenas se vuelven gradualmente más rígidas para quitosano con GA de 25-50%. Para GA arriba del 50%, la rigidez de la cadena incrementa, y por lo tanto la persistencia de la longitud se vuelve más o menos constante (Lamarque et al. 2005). Se ha reportado que el espacio conformacional accesible del enlace glucosídico se ve afectado por la naturaleza del sustituyente en el C2 en la unidad no reducida del sacárido (Mazeau et al. 2000).

La distribución de los grupos N-acetil a lo largo de la cadena tiene una gran influencia en la rigidez. El quitosano con 0% GA tiene un grado de elongación y resistencia a la tracción más grande que la quitina (Yamaguchi et al. 2003). La quitina favorece una conformación más extendida y es más rígida que el quitosano (Brugnerotto et al. 2001).





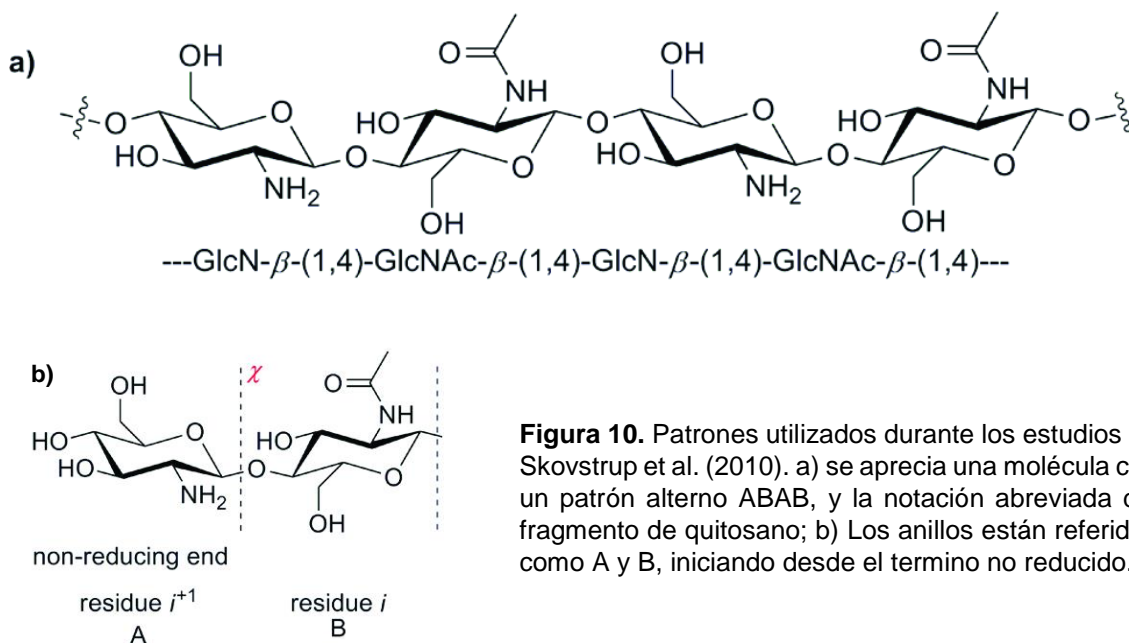
**Figura 9.** Influencia del grado de acetilación (GA) y el peso molecular (M<sub>w</sub>) en las propiedades biológicas y fisicoquímicas de muestras de quitina y quitosano.

El gran número de aminas primarias da al quitosano propiedades químicas únicas. A pH bajo, el quitosano es soluble en agua, especies catiónicas debido a sus aminas protonadas, mientras el quitosano está sin carga e insoluble a pH alto. Comúnmente, el límite entre los estados soluble e insoluble permanece entre pH 6.0 y 6.5, dependiendo del GA y de la fuerza iónica del medio. El pKa del quitosano en solución acuosa abarca desde 6.3 a 7.3 (para 5.2 y 89% de grado de acetilación, respectivamente) (Sorlier et al. 2001). La solubilidad en medio acuoso disminuye, así como el GA se incrementa, de este modo se reduce la cantidad de sitios catiónicos (Shatz et al. 2003).

Por otra parte, Brugnerotto et al. (2001) han reportado estudios de modelación de moléculas de quitosano con diferentes patrones de sustitución (GlcN o GlcNAc) usando los cuatro posibles disacáridos como núcleos para modelar cadenas largas usando técnicas ordinarias. Se encontraron longitudes persistentes de 90 Å para



quitosano con 0% GA y de 125 Å para quitina. Para quitosano con 50% GA, encontraron un patrón aleatorio con una longitud persistente de 115 Å; el patrón alterno ABAB tenía una longitud persistente de 135 Å. Sin embargo, un patrón A2B2 tenía una longitud persistente de 97 Å. además, agrupaciones (desde 2 hasta 20 unidades consecutivas) no mostraron variación en la persistencia de la longitud predicha para 50% GA (Brugnerotto et al. 2001).



**Figura 10.** Patrones utilizados durante los estudios de Skovstrup et al. (2010). a) se aprecia una molécula con un patrón alterno ABAB, y la notación abreviada del fragmento de quitosano; b) Los anillos están referidos como A y B, iniciando desde el termino no reducido.

### 3.1.5. Aplicaciones

El gran interés en la investigación de estos oligómeros de quitosano es resultado no solo de su mejor solubilidad en agua y menor viscosidad que la quitina, sino también por sus actividades biológicas especiales como antibacterial, antioxidante, reconocimiento biológico, y control de la glucosa. Además, los oligómeros de quitosano han mostrado recientemente propiedades muy prometedoras para una gama de aplicaciones, incluyendo la biofabricación, sistemas de suministro para macromoléculas, revestimiento de heridas, e ingeniería de tejidos, así como a un número de aplicaciones en la industria alimentaria, incluyendo actividad antimicrobiana, aditivo alimenticio y purificación del agua. Además, debido a la amplia disponibilidad de la quitina y el quitosano, a su fuerte afinidad por los iones, moléculas, macromoléculas e incluso microorganismos, se han construido una gran

variedad de partículas de quitosano para un rango de aplicaciones sumamente amplio: eliminación de radionucleidos tóxicos y metales pesados, recuperación de metales preciosos, fertilización con nitrógeno en agricultura, eliminación de pesticidas, baterías de combustible alcalino, ingeniería de tejidos (fibras, textiles), estabilización de biomateriales, prevención de enfermedades fúngicas y bacterianas, suministro de fármacos, excipientes farmacéuticos, y como regulador de colesterol en plasma sanguíneo y triglicéridos intestinales en el cuerpo humano. (Dutta et al. 2004; Kim et al. 2008; Ravi Kumar 2000; Revoredo et al. 2006; Rinaudo 2006; Ruel-Gariepy et al. 2006; Smitha et al. 2006) dependiendo del grado de desacetilación (Rathke et al. 1994).

Además, la GlcN y la GlcNAc se han utilizado para tratar los síntomas de la osteoartritis en humanos (Goldberg et al. 2002; Rubin et al. 2001) debido a que la GlcN está presente en el cartílago como un componente de los glicosaminoglicanos y muestra un efecto en los síntomas de la osteoartritis debido a la normalización del metabolismo del cartílago (Igarashi et al. 2011). En humanos, la GlcN y la GlcNAc son precursores de las unidades de disacáridos en los glicosaminoglicanos, tales como ácido hialurónico, sulfato de condroitina, y queratán sulfato, los cuales son necesarios para reparar y mantener sano el cartílago y la función de la articulación.

En soluciones acuosas ácidas, los polímeros de quitosano pueden auto ensamblarse en nanopartículas a través de un entrecruzamiento con aniones multivalentes. Las nanopartículas de quitosano preparadas por gelación iónica han sido examinadas desde la década pasada como un medio de suministro para fármacos con un bajo peso molecular (Janes et al. 2003; Vyas et al. 2010; Lu et al. 2006). Comparado con otras alternativas como el desarrollo de mensajeros nano escalares de suministro de fármacos como los micelios, las nanopartículas de quitosano muestran ventajas como una mayor estabilidad, uso de soluciones basadas en agua y no en solventes orgánicos, y procedimientos simples (Liu et al. 2008; Bronich et al. 2005). Su estabilidad se debe en parte al entrecruzamiento iónico de los oligómeros de quitosano cargados positivamente usando polianiones. El polianión más comúnmente utilizado para el entrecruzamiento iónico es el

tripolifosfato (TPP), que es no tóxico. La proporción molar quitosano/TPP y las interacciones involucradas son muy cruciales para la formación del diámetro medio de la nanopartícula, ya que estos parámetros pueden afectar las propiedades de la liberación del fármaco.

Las propiedades biológicas, estructurales y fisicoquímicas de la quitina y quitosano están relacionadas a la polidispersidad ( $M_w/M_n$ ), la cristalinidad y la distribución de unidades de GlcN y GlcNAc a lo largo de la cadena polimérica descrita por el patrón de acetilación ( $P_A$ ) (Aranaz et al. 2009; Weinhold et al. 2009). Cuando se utiliza una solución de quitosano en investigación, factores como la concentración, la naturaleza del contra ión salino, el pH, la fuerza iónica y la adición de solventes no acuosos deben tomarse en cuenta. Además de estos factores, el uso de productos médicos basados en quitina y quitosano como polvos finos, películas, membranas, geles, recubrimientos, suspensiones e hidrogeles puede influenciar su actividad biomédica.

### 3.2. CAPSAICINA

El género *Capsicum* consiste de aproximadamente 25 especies salvajes y 5 domesticadas. Las cinco especies domesticadas comprenden: *Capsicum annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens* y *C. pubescens*. De las especies domesticadas *C. chinense* es el tipo de fruto más picante (Kehie et al. 2014).



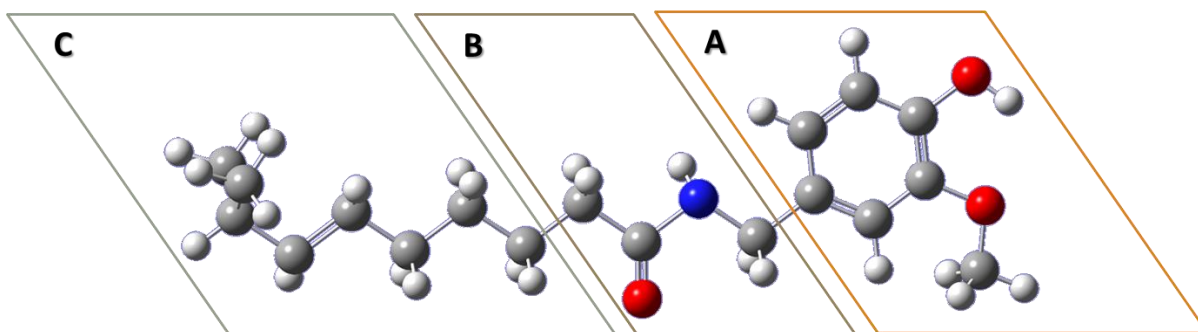
**Figura 11.** Especies domesticadas del género *Capsicum*: a) *C. annuum*, en su variedad de chile morrón rojo; b) *C. baccatum*, en su variedad tradicional española de pimiento campanilla; c) *C. chinense*, en su variedad de chile habanero; d) *C. frutescens*, en su variedad de chile tabasco; e) *C. pubescens*, en su variedad de chile rocoto.

El compuesto picante del fruto del chile son los capsaicinoides, los cuales son alcaloides que se acumulan en la placenta de *Capsicum* madura (vainas del pimiento), y tienen amplias aplicaciones en la comida, medicina y farmacia. Alrededor del 80-90% de los capsaicinoides presentes en *Capsicum* consiste de capsaicina y dihidrocapsaicina, en una proporción de aproximadamente 1:1 y 2:1, respectivamente. El resto se compone de nordihidrocapsaicina, homodihidrocapsaicina, homocapsaicina, norcapsaicina y nornorcapsaicina (Govindarajan et al. 1991; Prasad et al. 2005; Curry et al. 1999).

La capsaicina (N-(4-hidroxi-3-metoxibencil-8-metil-trans-6nonenamida, CAP), es un alcaloide cristalino, incoloro y lipofílico con un peso molecular de 305.40 (Reyes-Escogido et al. 2011), es el compuesto vaniloide picante en los chiles y es responsable de la sensación caliente en los alimentos. Adicionalmente, la concentración de este metabolito, al igual que otros metabolitos secundarios de las plantas, puede incrementarse bajo estrés controlado (Arora et al. 2011).

Ambos, la capsaicina y sus análogos han sido ampliamente usados medicinalmente durante siglos, pero recientemente se han estudiado por sus propiedades analgésicas, antioxidantes, anti inflamatorias y anti obesidad, e incluso, más recientemente, debido a su actividad anticancerígena contra varios tipos de cáncer (Brederson et al. 2013; Kim et al. 2003; Kang et al. 2007; Clark et al. 2016).

Se ha dividido la molécula de capsaicina en tres partes (Figura 12.). La región A, se ha observado que es estrictamente necesaria para la actividad de análogos de CAP; o modificaciones con grupos hidrofílicos en la región C destruyen la actividad de la molécula (Walpole et al., 1996; Hosseini et al., 1997). Debido a la naturaleza hidrofóbica de CAP, además de las diversas estrategias para elaborar análogos hidrofílicos, se ha probado con encapsularla (Kaiser et al., 2015; Zhu et al., 2014)



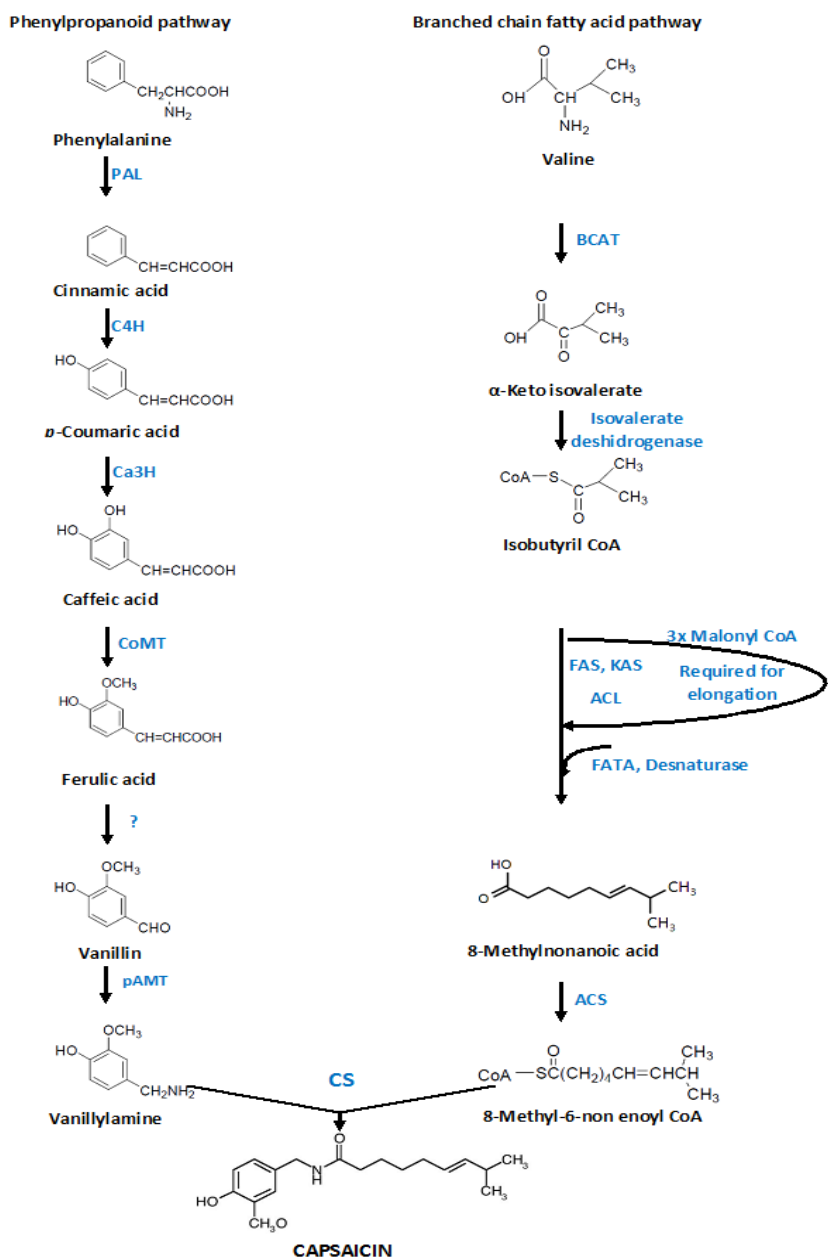
**Figura 12.** Molécula de capsaicina (CAP). Se muestra la estructura de CAP. Las regiones A, B y C representan, para fines prácticos, ubicaciones de la molécula (Rojo=oxígeno, Gris=carbono, Blanco=hidrógeno, Azul=nitrógeno).

En conjunto con el quitosano, se ha introducido CAP en microesferas para poder formar tabletas con una cubierta entérica (Chen et al., 2013) y probarlas en el control de la obesidad (Tan et al., 2014). Del mismo modo, se han elaborado nanocápsulas de capsaicinoides (58% CAP, 33% dihidrocapsaicina) utilizando Eudragit RS 100® y posteriormente incorporando estas nanocápsulas a un hidrogel con quitosano (Contri et al., 2014) para lograr una liberación controlada y una ausencia de irritación (Contri et al., 2010; Contri et al., 2014). También se han elaborado nanocápsulas de alcohol polivinílico-maleato y quitosano para lograr una liberación controlada de CAP tanto en medio ácido como básico (Sukhlaaied et al., 2016); en nanoemulsiones preparadas con alginato y quitosano se ha mejorado la estabilidad de la nanoemulsión (Choi et al., 2011; Choi et al., 2013); o se ha encapsulado CAP en liposomas para una administración oral (Zhu et al., 2014). Para lograr la mejor eficiencia de encapsulación (EE) (72-96%) se ha propuesto utilizar quitosano de bajo peso molecular (Mw) y con un 49% GA, debido a que la EE puede ser afectada por cambios en el Mw y GA (Goycoolea et al., 2012).

### 3.2.1. Biosíntesis de la capsaicina

A pesar de que la ruta biosintética para la síntesis de los capsaicinoides fue presentada por Bennett y Kirby (1968); y Leete y Louden (1968), muchas enzimas involucradas en la biosíntesis de los capsaicinoides todavía no están bien caracterizados, y la regulación de la ruta no está totalmente comprendida. Ahora se sabe que existen dos rutas principales para la síntesis de capsaicinoides. La primera

depende de la ruta del fenilpropanoide, donde los derivados de L-fenilalanina como el ácido cinámico, p-cumárico, cafeico y ferúlico; y la vanilina conducen a la formación de vanililamina para la condensación posterior de la capsaicina mediante la capsaicina-sintasa. La segunda ruta involucra el metabolismo de los ácidos grasos ramificados, principalmente derivados de la leucina o la valina, terminando en la formación 8-metil-6-nonenoil-CoA. Finalmente, la capsaicina es producida a través de una reacción de condensación entre la vanililamina y la 8-metil-6-nonenoil-CoA catalizada por la coenzima A dependiente de acetiltransferasa.



**Figura 13.** Ruta biosintética de la capsaicina. Enzimas involucradas en la ruta biosintética: PAL (fenilalanina amonio liasa), C4H (ácido cinámico 4- hidroxilasa), Ca3H (ácido cumárico 3- hidroxilasa), CoMT (ácido cafeico O- metiltransferasa), pAMT (aminotransferasa putativa), BCAT (aminoácido transferasa de cadena ramificada), FAS (Complejo de ácido graso sintasa), KAS ( $\beta$ -cetoacil-ACP [proteína portadora de acilo] sintasa), ACL (proteína portadora de acilo), FATA (acil-ACP tioesterasa), Desnaturasa, ACS (acil-CoA sintasa), CS (capsaicina sintasa). Imagen tomada de "Capsaicin: From Plants to a Cancer-Suppressing Agent"

### 3.2.2. Aplicaciones

El tratamiento tópico de la capsaicina ha sido ampliamente aplicado para tratar el dolor y es conocida por unirse al receptor de potencial transitorio vaniloide 1 (TRPV1), un canal iónico responsable de la detección de calor (Caterina et al. 1997), que es expresado principalmente en las neuronas sensoriales (Cortright et al. 2004). Este receptor es un canal catiónico no selectivo, operado por ligando localizado principalmente en las fibras pequeñas de neuronas nociceptivas (Tominaga et al. 2005). La unión de la capsaicina con TRPV1 incrementa el calcio intracelular, que provoca la liberación de la sustancia P y péptidos relacionados con el gen de calcio. Los sistemas de suministro transdérmico de capsaicina promueven la desensibilización de la neurona sensorial causada por la disminución de la sustancia P (Bevan et al. 1990).

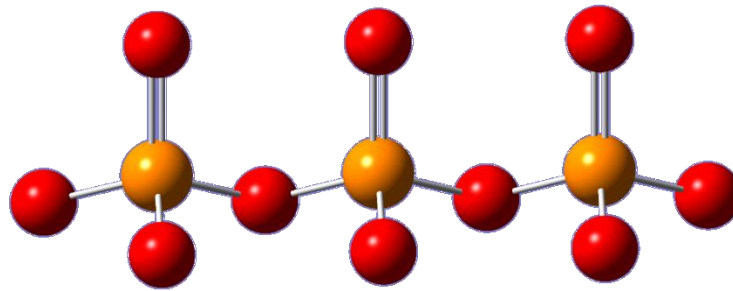
La capsaicina tiene numerosas aplicaciones terapéuticas incluyendo la regulación de la temperatura corporal, el tratamiento de dolores crónicos y el tratamiento de la obesidad (Meghvansi et al. 2010). A nivel celular, la capsaicina causa la abertura reversible de uniones estrechas (Beggs et al. 2010; Kaiser et al. 2014). Recientemente, el uso de la capsaicina se ha extendido a otras áreas médicas como el cáncer, problemas cardiovasculares y desordenes gastrointestinales (Molina-Torres et al. 1999). Los efectos anticancerígenos se han atribuido a la habilidad de la capsaicina para prevenir la proliferación y migración celular e inducir apoptosis celular (Gosh et al. 2010; Zhang et al. 2003). Los beneficios cardiovasculares de la capsaicina podrían resultar de su papel en la regulación de las funciones cardiovasculares a través de la liberación de neurotransmisores, tales como péptidos relacionados al gen de la calcitonina y la sustancia P. Adicionalmente, se ha visto que la capsaicina tiene efectos de inhibición de la agregación plaquetaria y antioxidante, lo cual debería ser benéfico contra enfermedades cardiovasculares. Bajas dosis de capsaicina son conocidas por incrementar el flujo sanguíneo de la mucosa gástrica basal y la secreción de mucosidad gástrica y facilitar la restauración epitelial gástrica, resultando en el mantenimiento de la integridad de la



mucosa gastrointestinal contra cualquier lesión (Nishihara et al. 2002; Peng et al. 2010).

### 3.3. TRIPOLIFOSFATO

El tripolifosfato es un compuesto inorgánico de fórmula  $P_3O_{10}$  (Figura 14.). Se trata de una sal de polifosfato penta-anión, que es la base conjugada del ácido trifosfórico.



**Figura 14.** Molécula de Tripolifosfato (TPP). (Rojo=oxígeno, Naranja=fósforo).

El TPP es una sal incolora, que existe tanto en forma anhidra como bajo la forma de hexahidrato. El anión puede describirse como la cadena penta-aniónica  $[O_3POP(O)_2OPO_3]^{5-}$ ; y se une fuertemente a cationes metálicos como un agente quelante bidentado y tridentado.

Desde que Bodmeier et al. (1989) describieron la preparación de complejos quitosano/TPP, la formación de complejos entre estas moléculas con cargas opuestas para obtener formulaciones que controlan la liberación de fármacos ha ganado interés puesto que se trata de un proceso muy simple. Concretamente, la formulación de micro y nanopartículas por interacción iónica entre el quitosano y el tripolifosfato sódico es muy común porque implica la mezcla de dos fases acuosas a temperatura ambiente sin el uso de solventes orgánicos.

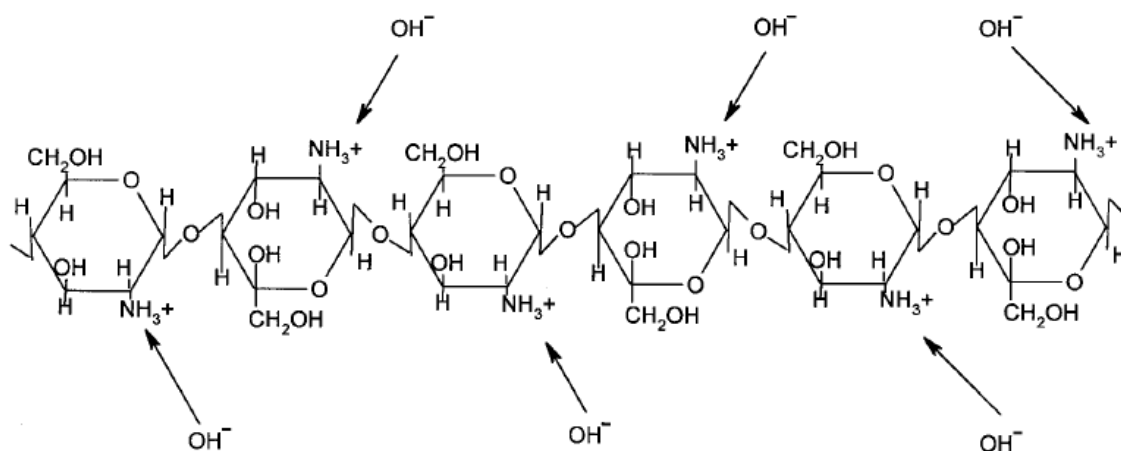
La reacción que se produce entre el quitosano y el TPP ha sido descrita por (Ko et al., 2002; Mi et al., 1999). El TPP ( $Na_5P_3O_{10}$ ) disuelto en agua se disocia en iones tripolifosfóricos y en  $OH^-$  y la solución resultante tiene pH 9. Los  $pK_a$  del TPP son:  $pK_1=1$ ,  $pK_2=2$ ,  $pK_3=2,79$ ,  $pK_4=6,47$  y  $pK_5=9,24$  (Dean, 1972). Los aniones



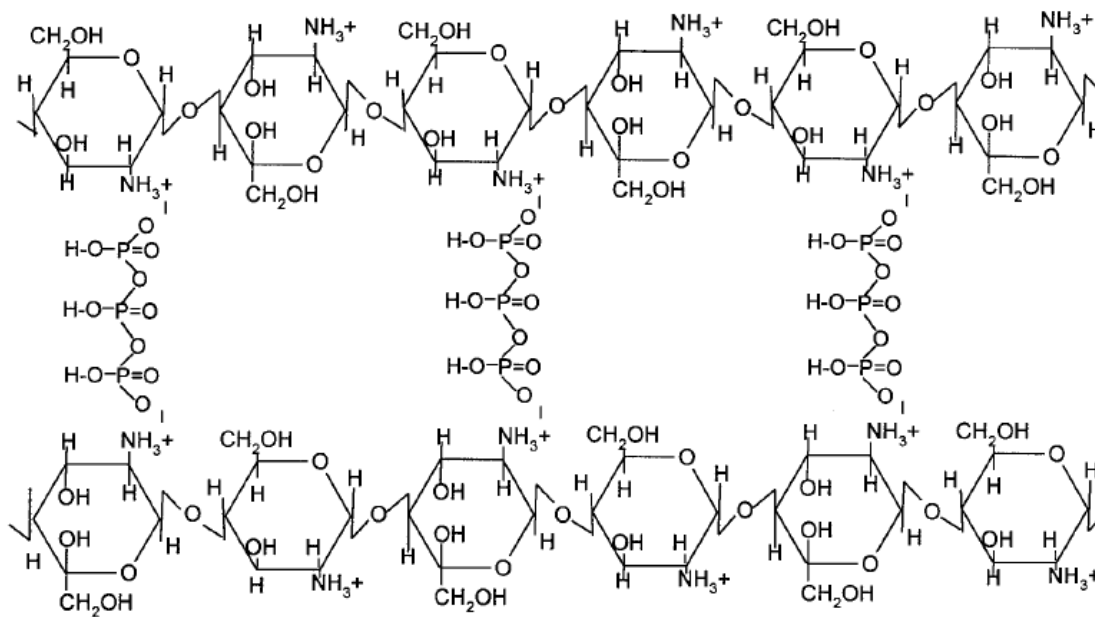
procedentes del TPP ( $P_3O_{10}^{5-}$ ,  $HP_3O_{10}^{4-}$  y  $H_2P_3O_{10}^{3-}$ ) coexisten en solución acuosa en función del pH. Dependiendo del valor de éste, predominarán unos u otros y de ello dependerá el tipo de interacción que ocurra entre el TPP y el quitosano. Cuando el TPP se disuelve en agua, con pH 9, se disocia en iones  $P_3O_{10}^{5-}$  y, este a su vez en  $HP_3O_{10}^{4-}$  y en iones  $OH^-$ . Al añadir la solución de este agente entrecruzante (pH 9) a una solución de quitosano (pH ácido), los iones  $P_3O_{10}^{5-}$  y  $HP_3O_{10}^{4-}$  compiten con los  $OH^-$  por reaccionar con los grupos  $NH_3^+$  del quitosano por entrecruzamiento iónico, en el caso de los iones tripolifosfóricos o por desprotonación, en el caso de los  $OH^-$  (Figura 15.).

A pH 9 de la disolución de TPP, por tanto, habrá grupos amino neutralizados por los grupos hidroxilo y grupos amino entrecruzados iónicamente.

Sin embargo, si el pH del TPP es ajustado a un pH ácido, sólo existirán iones tripolifosfóricos. El tipo de iones tripolifosfóricos y su proporción vendrán dados por el pH de la solución. En este caso, el complejo quitosano-TPP se forma exclusivamente por entrecruzamiento iónico entre los grupos  $NH_3^+$  y los aniones de TPP.



**Figura 15.** Esquema de la reacción entre el quitosano en solución ácida y los iones de TPP. Neutralización de los grupos amino. Imagen tomada de "Kinetic study of chitosan-tripolyphosphate complex reaction and acid-resistive properties of the chitosan-tripolyphosphate gel beads prepared by in-liquid curing method"



**Figura 16.** Esquema de la reacción entre el quitosano en solución ácida y los iones de TPP. Entrecruzamiento iónico. Imagen tomada de *"Kinetic study of chitosan-tripolyphosphate complex reaction and acid-resistive properties of the chitosan-tripolyphosphate gel beads prepared by in-liquid curing method"*

## **IV. METODOLOGÍA**

### **4.1. MÉTODOS DE ESTRUCTURA ELECTRÓNICA: AB-INITIO**

Los métodos de estructura electrónica, se basan principalmente en las leyes de la mecánica cuántica (Helgaker et al. 1988). Estos métodos se caracterizan por aproximaciones matemáticas para resolver la ecuación de Schrödinger (4.1) y con ello obtener los estados cuánticos, la energía y otras propiedades relacionadas. Los métodos de cálculo de estructura electrónica pueden ser métodos semi-empíricos (Stewart, 1989; 2007) y métodos ab-initio (Srinivasan Parthiban et al. 2001; Martin et al. 1999; Abegg, 1974). Los métodos semi-empíricos utilizan parámetros experimentales para simplificar el cálculo computacional, resuelven de forma aproximada la ecuación (4.1) que depende de parámetros apropiados al sistema de estudio.

A diferencia de los métodos semi-empíricos, los métodos ab-initio (primeros principios) no utilizan parámetros experimentales en el cálculo computacional, sino que están basados exclusivamente en las leyes de la mecánica cuántica y valores de las constantes físicas fundamentales, tales como la velocidad de la luz, la constante de Plank, la masa y la carga de electrones y núcleos.

El tipo de cálculo ab-initio más recurrido es el cálculo por el método Hartree-Fock (HF) (Dr. Hartree, 1928), y un método ab-initio alternativo es la Teoría del Funcional de la Densidad (TFD) (Levy et al. 1982), misma que se emplea en el cálculo de estructura electrónica para nuestros sistemas de estudio en la presente tesis, y que se describe a continuación.

Muchas de las propiedades físicas y químicas, incluso propiedades biológicas, de un sistema a nivel macroscópico son determinadas por el comportamiento a un nivel microscópico del mismo. En la presente tesis, los sistemas que se estudian son analizados a nivel de su estructura electrónica por medio de la Teoría del funcional de la densidad. Por lo que a las partículas a las que hacemos referencia son electrones. Y es precisamente uno de los objetivos de la mecánica cuántica, el

describir la interacción entre electrones, electrones y núcleos, y núcleos. Sin embargo, aún no existen, de forma analítica, las ecuaciones que permitan dar solución al problema de tres cuerpos. No obstante, se puede dar una aproximación a la solución del problema de la interacción de más de dos cuerpos si se considera al sistema independiente del tiempo y si además no se incluyen efectos relativistas, para plantear un problema de valores propios descrito por la ecuación de Schrödinger.

$$\hat{H}\psi = E\psi \quad (4.1)$$

Donde  $\hat{H}$  representa el operador Hamiltoniano,  $\psi$  es la función de onda y  $E$  la energía del sistema. Y  $\hat{H}$  es separable en operadores de energía cinética  $T$  y potencial  $V$

$$\hat{H} = \hat{T} + \hat{V} \quad (4.2)$$

Para un sistema de  $M$  núcleos y  $N$  electrones, sin presencia de campos eléctricos y magnéticos, resulta factible aplicar la aproximación de Born-Oppenheimer en estos sistemas porque considera que el movimiento de los electrones es más rápido que el movimiento de los núcleos, debido a que la masa del núcleo es mucho mayor a la masa del electrón, de manera que los núcleos se mantienen estáticos, así al aislar la interacción que existe entre los núcleos, finalmente se puede definir el Hamiltoniano electrónico

$$\hat{H}_{ele} = \hat{T} + \hat{V}_{ne} + \hat{V}_{ee} \quad (4.3)$$

Donde  $\hat{T}$  es la energía cinética de los electrones,  $\hat{V}_{ne}$  el potencial de interacción entre núcleos y electrones y  $\hat{V}_{ee}$  el potencial interacción entre electrones.

#### **4.1.1. Teoría de funcionales de la densidad (TFD)**

A partir de la interpretación probabilística de la función de onda podemos definir la densidad electrónica para un sistema con  $N$  electrones como,

$$p(\mathbf{r}) = N \int \dots \int |\psi(x_1, x_2, \dots, x_n)|^2 dw_1 dx_2 dx_3 \dots dx_n \quad (4.4)$$

La ecuación (4.4) proporciona la probabilidad de encontrar un electrón cualquiera en la posición  $\mathbf{r}$  estando los demás electrones en una posición y un espín arbitrarios. La densidad electrónica depende de tres variables (coordenadas espaciales), lo que supone una simplificación con respecto a la función de onda. Para determinar si una teoría que se basa en la densidad electrónica tiene sentido, hay que preguntarnos si ¿La densidad electrónica contiene toda la información del sistema, al igual que la función de onda?

Si consideramos que, en efecto, la densidad electrónica contiene toda la información acerca del sistema, hay que determinar la manera de acceder a dicha información y en particular en acceder a la energía electrónica. Para el caso de los métodos basados en la función de onda (Dr. Hartree, 1928), la forma de obtener información del sistema sobre una propiedad  $A$ , es a través de:

$$\langle A \rangle = \langle \psi | \hat{A} | \psi \rangle \quad (4.5)$$

Donde  $\hat{A}$  es un operador asociado al observable  $A$  y  $\langle A \rangle$  es el valor promedio de la propiedad  $A$ . Si la función de onda normalizada del sistema  $\psi$  es una función propia de  $\hat{A}$ , obtendremos un valor concreto para  $\langle A \rangle = A$ . De esta forma disponemos de una aplicación que proporciona el valor de la propiedad  $A$  conociendo la función de onda  $\psi$ . Así pues, la aplicación que relaciona un valor numérico a una función se denomina *funcional*,  $A[\psi]$ .

En el caso de los métodos mecano cuánticos que se basan en la solución de la ecuación de Schrödinger, en la descripción adecuada de la función de onda del estado fundamental y la obtención de los eigenvalores del espectro energético, están determinados por la minimización de la energía como un funcional de la función de onda  $E[\psi]$

$$E[\psi] = \langle \psi | \hat{H}^{ele} | \psi \rangle = T_{ele}[\psi] + V_{ne}[\psi] + V_{ee}[\psi] \quad (4.6)$$

En la ecuación (4.6) se consideran las partes que conforman el Hamiltoniano electrónico y que dan lugar a funcionales específicos cuyas expresiones se obtienen separando la energía total en dichas componentes.

Hasta el momento, parece razonable que, lo que requiere esta teoría es un *funcional de la densidad electrónica* que proporciones el valor de las propiedades del sistema y principalmente el valor de la energía  $E[\rho]$

#### 4.1.1.1. Formalismo de la teoría

La Teoría del funcional de la densidad se fundamenta en los dos teoremas de Hohenberg-Kohn, formulados por Pierre Hohenberg y Walter Kohn en 1964 (Hohenberg et al. 1964). En estos teoremas se demuestra la relación biunívoca que hay entre la densidad electrónica y la energía electrónica (primer teorema), y la aplicación del *principio variacional* para así obtener la densidad y energías exactas (segundo teorema). Estos teoremas se presentan a continuación:

**Primer Teorema.** El potencial externo (se refiere al sistema de electrones que, en el caso de las moléculas, es el potencial de interacción con los núcleos) es (excepto por una constante) un funcional único de  $\rho(\mathbf{r})$ ; ya que el potencial externo determina, a su vez, la forma del Hamiltoniano electrónico, se observa que el estado fundamental del sistema de partículas (electrones) es un funcional único de  $\rho(\mathbf{r})$ .

**Segundo Teorema.** La energía exacta, que se obtiene de aplicar la densidad electrónica asociada al potencial externo del sistema, es la mínima energía que arroja este funcional en relación a todas las densidades electrónicas asociadas a cualquier potencial externo.

El primer teorema pone de manifiesto la existencia de un funcional de la densidad capaz de proporcionar la energía a partir de la densidad electrónica. Sin embargo, no dice la manera de cómo se construye este funcional, cuya forma analítica es:

$$E[\rho] = T_{ele}[\rho] + V_{ne}[\rho] + V_{ee}[\rho] \quad (4.7)$$

Entre estos términos, el funcional  $V_{ne}[p]$  es el único que depende del sistema concreto que estamos tratando, su expresión se deriva a partir del funcional correspondiente de la función de onda. En la expresión (4.8) se describe para un sistema de  $N$  electrones teniendo en cuenta la indistinguibilidad de los electrones:

$$\begin{aligned}
 \langle \psi | \hat{V}_{ne} | \psi \rangle &= \int \dots \int \psi^* \left[ \sum_i^n \sum_A^N \frac{Z_A}{|r_i - R_A|} \right] \psi dx_1 \dots dx_n \\
 &= \int \left( \sum_i^n \int \dots \int |\psi|^2 dw_i dx_1 \dots dx_n \right) \left[ \sum_A \frac{Z_A}{|r_i - R_A|} \right] dr_i \\
 &= \int p(r) \left[ \sum_A \frac{Z_A}{|r_i - R_A|} \right] dr = V_{Ne}[p]
 \end{aligned} \tag{4.8}$$

El término  $T_{ele}[p]$  y  $V_{ee}[p]$  son independientes del sistema, esto da lugar a una funcional universal  $\mathbf{F}$  que describe la contribución de la energía cinética y la interacción electrónica de la forma:

$$F[p] = T_{ele}[p] + V_{ee}[p] \tag{4.9}$$

De la ecuación (4.9) no se puede deducir una expresión para los términos del funcional  $\mathbf{F}$ , como en el caso de la interacción con los núcleos. Lo más factible de hacer es, introducir un potencial similar para el que se conoce su expresión en función de la densidad  $p$ , como el potencial de interacción de Coulomb clásico entre dos densidades electrónicas,  $J[p]$ , y con ello definir el funcional  $V_{ee}[p]$  como:

$$V_{ee}[p] = \frac{1}{2} \int \int \frac{p(r_1)p(r_2)}{|r_1 - r_2|} dr_1 dr_2 + V_{nel}[p] = J[p] + V_{nel}[p] \tag{4.10}$$

Donde  $V_{nel}[p]$  contiene los efectos no-clásicos de la interacción intereléctrica. Para determinar  $T_{ele}[p]$  se debe de emplear otro modelo que represente la mayor parte de la energía exacta.

Ahora bien, en el segundo teorema, la forma más general de plantear la búsqueda variacional de la densidad electrónica del estado fundamental es el enfoque de la búsqueda restringida de Levy (Levy, 1984), que se expresa como:

$$E_{exacta} = \min_{p \rightarrow N} \left( F[p] + \int p(r) V_{ne} d(r) \right) \quad (4.11)$$

Así pues, dada una densidad  $p$ , que integre el número de electrones del sistema,  $F[p] + \int p(r) V_{ne} d(r)$  proporciona la energía correspondiente a dicha densidad, y minimizando esa expresión, se obtiene la densidad y energía del estado fundamental. De tal forma que el funcional universal  $\mathbf{F}$  queda definido más ampliamente como:

$$F[p] = \min_{\psi \rightarrow p} \langle \psi | \hat{T}_{ele} + \hat{V}_{ee} | \psi \rangle \quad (4.12)$$

#### 4.1.1.2. Método de Kohn-Sham

Si bien la densidad electrónica puede determinar la forma unívoca de la energía del sistema, de forma análoga a como se hace con la función de onda, desconocemos la forma que adopta el funcional encargado de extraer esta información de la densidad electrónica.

Luego entonces, la ecuación (4.7) se puede expresar más ampliamente como

$$E[p] = T_{ele}[p] + J[p] + V_{nel}[p] + V_{ne}[p] \quad (4.13)$$

Donde solo se conoce la expresión para  $V_{ne}[p]$  y  $J[p]$  dadas por (4.8) y (4.10) respectivamente. La parte  $V_{nel}[p]$  contiene todos los efectos no-clásicos.

Hasta el momento no se ha introducido ningún modelo para desarrollar la parte cinética, más aun, la TFD trata con sistemas de partículas interactuantes lo que significa un problema difícil de resolver. Quienes abordaron este problema fueron Kohn junto con Lu Jeu Sham en el método de Kohn-Sham (KS) (Kohn et al. 1965), el cual propone calcular la energía cinética del sistema de referencia no interactuante, que se puede obtener de forma exacta y debe ser similar a la energía cinética del sistema real, y así incorporar las componentes desconocidas en el funcional de la densidad.



$$T_S[p] = \sum_i^n \langle \psi_i | \hat{T}_{ele} | \psi_i \rangle = \frac{1}{2} \sum_i n \langle \psi_i | \nabla^2 | \psi_i \rangle \quad (4.14)$$

En este método, básicamente se introduce un sistema de referencias compuesto por electrones no interactuantes incorporando los efectos del sistema real, que no son descritos por este método, en un término adicional.

En la ecuación (4.14) hemos indicado que se trata de un funcional de la densidad  $p$  ya que la densidad electrónica está relacionada con los orbitales mediante la siguiente ecuación:

$$p_S(r) = \sum_i |\varphi_i(r)|^2 = p_{exacta}(r) \quad (4.15)$$

En la ecuación (4.14) y (4.15) la letra S identifica al sistema de referencia no interactuante, y  $\psi_i$  son los orbitales espaciales de Kohn-Sham. Con esto, cabe la posibilidad de seleccionar un potencial de tal forma que la función de onda resultante de lugar a la densidad electrónica exacta.

Si introducimos la energía cinética de la ecuación (4.14) en la ecuación (4.13), el funcional toma la forma

$$E[p] = T_S[p] + T_C[p] + J[p] + V_{nel}[p] + V_{ne}[p] \quad (4.16)$$

Donde se ha introducido el funcional,  $T_C[p] = T_{ele}[p] - T_S[p]$ , que es la diferencia entre la energía cinética total y la exacta. Con esta última expresión podemos calcular la interacción interelectrónica con el modelo  $J[p]$ , y la energía cinética a partir del sistema de referencia no interactuante,  $T_S[p]$ . Agrupamos los términos  $T_C[p]$  y  $V_{nel}[p]$ , cuyas expresiones son desconocidas; en un funcional llamado **funcional de intercambio y correlación** en las ecuaciones de KS,  $V_{XC}$ , correspondiente a la diferencia entre la energía cinética  $T$  y la interacción electrónica  $V_{ee}$  exactas para el estado fundamental y los funcionales  $T_S[p]$  y  $J[p]$ , cuya forma es

$$E_{XC} = T_{ele}[p] + T_S[p] + V_{ee}[p] - J[p] \quad (4.17)$$

Así pues, podemos construir un funcional de la densidad que proporcione la energía del sistema como:

$$E[p(r)]_{KS} = T_S[p] + J[p] + E_{XC}[p] + V_{ne}[p] \quad (4.18)$$

Empleando el método variacional, y con la restricción de que los orbitales de KS sean normalizados, se llega a un problema de valores propios, que no es otra cosa más que la resolución de una ecuación de partículas independientes para cada estado electrónico  $i$

$$\left[ -\frac{1}{2}\nabla^2 \left\{ \sum_A^N \frac{Z_A}{|r_1 - R_A|} + \int \frac{p(r)_2}{|r_1 - r_2|} + V_{XC} \right\} \right] \psi_i = \epsilon_i \psi_i \quad (4.19)$$

$$\left[ -\frac{1}{2}\nabla^2 + V_{eff}(r) \right] \psi_i = \epsilon_i \psi_i$$

Donde  $V_{eff}$  es conocido como un potencial efectivo, los orbitales  $\psi_i$  son las funciones propias provenientes de los orbitales  $X(x) = \psi(r)\sigma(s)$  y los valores propios  $\epsilon_i$  son las energías de cada orbital.

El problema se resume a encontrar los orbitales que minimizan a la energía y que son precisamente los resultantes de la ecuación (4.19). Donde  $V_{XC}$  es la derivada del funcional de correlación e intercambio respecto a la densidad electrónica

$$V_{XC} = \frac{\delta E_{XC}}{\delta p} \quad (4.20)$$

#### 4.1.1.3. Funcional híbrido

Como ya se ha abordado en los apartados anteriores, la aproximación de TFD que se presenta en esta tesis, se basa en una estrategia de modelado para la corrección electrónica a partir de funcionales de la densidad electrónica. Los teoremas de Hohenberg-Kohn demuestran la existencia de un funcional único de la densidad, que determina la energía del estado fundamental de un sistema y su densidad exacta. Pero estos teoremas no proporcionan la forma del funcional a emplear.

A partir del trabajo de KS, la ecuación (4.18) es un funcional aproximado que se emplea frecuentemente en TFD. Como ya hemos visto, todos los términos, excepto la repulsión núcleo-núcleo, son funcionales de la densidad electrónica,  $\rho$ . El término  $J[\rho]$  está dado por la siguiente expresión:

$$J[\rho] = \frac{1}{2} \iint \rho(r_1) (\Delta r_{12})^{-1} \rho(r_2) dr_1 dr_2 \quad (4.21)$$

La suma  $T_{ele} + V_{ne} + J[\rho]$  de la ecuación (4.18) corresponde a la energía clásica de la distribución de carga  $\rho$ .

Para aproximar el funcional de intercambio y correlación  $E_{XC}$ , se han propuesto varios funcionales que se pueden clasificar en tres grupos:

**Aproximación de la densidad local y de la densidad del espín local, L(S)DA.**

Los funcionales LDA, que se basan en el modelo del gas de electrones, representan la estructura electrónica de átomos en su estado fundamental como un gas uniforme y sin perturbaciones externas. Este método es una buena aproximación para obtener geometrías en cálculos moleculares, frecuencias de modos normales de vibración y en general para obtener una descripción cualitativa de energías de enlace.

**Aproximación de gradientes generalizados, GGA.** Este método proporciona mejores resultados que los LDA en moléculas aisladas y cúmulos sencillos de moléculas. Pues los funcionales de GGA incluyen términos de gradientes de la densidad, además, la inclusión de estos términos favorece el estudio de las interacciones débiles.

**Funcionales híbridos.** Este tipo de funcionales, toman parte de los métodos LDA y GGA, se combinan con una fracción de intercambio de Hartree-Fock (HF),  $E_{HF}^X$  que contribuyen disminuyendo la energía total.

Aunque existe un gran número de funcionales híbridos, el funcional híbrido con tres parámetros de Becke y Lee-Yang-Parr (B3LYP) formulado por Becke (Becke, 1993)

destaca por la calidad en la transferibilidad de la predicción de geometrías y energías de atomización de sistemas orgánicos. Ya que incluye la combinación de las expresiones de intercambio Hartree-Fock (HF) y TFD con la correlación TFD (Becke, 1993).

En el paquete Gaussian esta implementada una ligera variante del funcional B3LYP.

La forma genérica del funcional es la siguiente:

$$E_x(LSDA) + E_c(LSDA) + a_0 * (E_x(HF) - E_x(LSDA)) + a_x * \Delta - E_x(B88) + a_c * \Delta - E_c(P91)$$

Pero el funcional utilizado en el paquete Gaussian tiene la forma

$$(1 - a_0) * E_x(LSDA) + a_0 * E_x(HF) + a_x * \Delta - E_x(B88) + a_c * E_c(LYP) + (1 - a_c) * E_c(VWN)$$

Donde tenemos el intercambio de Slater, el intercambio Hartree-Fock y la corrección del funcional de intercambio de Becke-88, el funcional de correlación de Lee, Yang y Parr y el funcional local de correlación de Vosko, Wilk y Nusair, respectivamente.

Notar que el funcional de correlación de LYP incluye el VWN como local.

Los valores de los coeficientes determinados por Becke son:

$$a_0 = 0.20 \quad a_x = 0.72 \quad a_c = 0.81$$

Este funcional es el que mejores resultados ha proporcionado en el estudio de reacciones y por lo cual se hace uso en el cálculo de las propiedades electrónicas y de reactividad reportadas en esta tesis

## 4.2. CONJUNTOS BASE

Como se mencionó en 1.1.2., la energía de cada orbital se plantea como un problema monoeléctrico. Donde la función de onda eléctrica es un ente matemático de alta complejidad, que se puede representar a partir de una combinación de determinantes de Slater, formados a su vez por espín-orbitales de la forma  $X(x) = \psi(r)\sigma(s)$ , donde  $\psi$  es un orbital espacial y  $\sigma$  es una función de espín.

Frecuentemente se recurre a funciones localizadas en los núcleos, estas son modeladas como una combinación lineal de orbitales atómicos

$$\psi_i(r) = \sum_{a=1}^k C_{ai} \Phi_a(r) \quad (4.22)$$

Donde  $C_{ai}$  son coeficientes de expansión,  $\Phi_a(r)$  las funciones monoeléctricas. El número y tipo de orbitales y las funciones monoeléctricas se conocen como el *conjunto base*, ya que juega un papel similar al de los vectores que forman una base vectorial. A partir de un conjunto base dado, se buscan los mejores coeficientes de expansión  $C_{ai}$  que cumplan  $\frac{\partial E}{\partial C_{ai}} = 0$  con la restricción de mantener las  $\psi_i(r)$  y con ello minimizar la energía del sistema. La búsqueda y obtención de estos coeficientes depende en gran medida del tamaño del conjunto base a emplear.

### 4.3. MÉTODOS Y PROGRAMAS DE ESTUDIO

La función de onda electrónica de un sistema de n-electrones depende de 3n coordenadas espaciales y n coordenadas de espín. Ya que el operador Hamiltoniano electrónico a estudiar contiene los términos espaciales de varios electrones, la energía molecular se debe escribir en términos de integrales que implican seis coordenadas espaciales. En este sentido, la función de onda de una molécula polieletrónica contiene más información que la que es necesaria para fines convencionales, y le falta un significado físico directo. Esto ha motivado la búsqueda de funciones que impliquen menos variables para la función de onda y que se puedan utilizar para calcular la energía y otras propiedades.

#### 4.3.1. Primer teorema de Hohenberg-Kohn

*“Toda observable de un sistema mecánico cuántico estacionario es determinado por la densidad del estado base”*

En otras palabras, se encuentra a la energía del sistema como una función de la densidad, sin referencia a la función de onda. Esto establece que todas las

observables de muchos electrones son funciones únicamente de la densidad electrónica lo cual genera las bases para TFD.

Considerando un sistema de n-electrones no relativista en la aproximación Born-Oppenheimer. El Hamiltoniano en la ecuación de Schrödinger es

$$\hat{H}\psi(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \vec{x}_3 \dots) = E\psi(\vec{x}_1, \vec{x}_2, \vec{x}_3 \dots) \quad (4.23)$$

Donde se considera en  $\hat{H}$  a la energía cinética  $\hat{T}$ , la interacción nucleo-electron  $\hat{V}$ , y la interacción electrón-electrón  $\hat{V}_{ee}$ . Además, en la ecuación (4.23),  $\vec{x}_i$  denota las variables espaciales  $\vec{r}_i$  y de espín  $\vec{\sigma}_i$  de los electrones. Con el Hamiltoniano dado por

$$\hat{H} = \hat{T} + \hat{V} + \hat{V}_{ee} \quad (4.24)$$

Donde

$$\hat{T} = \sum_{i=1}^N \left( \frac{-\nabla_i^2}{2} \right) \quad (4.25)$$

$$\hat{V} = \sum_{i=1}^N v(\vec{r}_i) = \sum_{i=1}^N \sum_a^N \left( \frac{Z_a}{r_{a,i}} \right) \quad (4.26)$$

$$\hat{V}_{ee} = \sum_{i<j}^N \left( \frac{1}{r_{ij}} \right) \quad (4.27)$$

Donde  $Z_a$  se define como el número atómico  $\alpha$  y  $r_{a,i}$  es la distancia entre el número atómico y el electrón i-ésimo.

En el teorema Hohenberg-Kohn (HK) el mapeo uno a uno entre la densidad electrónica  $p_0$  está dado por

$$p(\vec{r}_i) = \sum_{\sigma=1}^N \int |\psi(x_1, x_2 \dots x_N)| dx_1 dx_2 \dots dx_N \quad (4.28)$$

Si el potencial externo  $\hat{V}$  es provisto. Podemos mostrar la relación entre la densidad, la función de onda y el potencial

$$\hat{V} \rightleftharpoons \psi \rightleftharpoons p \quad (4.29)$$

Por lo que es simple y preciso que cada  $\hat{V}$  relacione a la función de onda  $\psi$  mediante la solución de la ecuación de Schrödinger, (4.23), y la correspondiente densidad puede encontrarse mediante la integración de la ecuación (4.28)

La prueba del mapeo en la otra dirección ( $p$  se determina por  $\hat{V}$ )

$$\hat{V} \leftarrow \psi \leftarrow p \quad (4.30)$$

Y este se hace en dos casos:

- 1) Si  $\hat{V}$  y  $\hat{V}'$  difieren por más de una constante  $C$ , no podrán conducir a la misma función de onda  $\psi$ .
- 2) Si el estado base de  $\psi$  para  $\hat{H}$  y  $\hat{\psi}'$  para  $\hat{H}'$  son diferentes, no podrán conducir a la misma densidad  $p$ .

Para un estado base no degenerado, entonces

$$(\hat{T} + \hat{V} + \hat{V}_{ee})|\psi\rangle = E_{gs}|\psi\rangle \quad (4.40)$$

$$(\hat{T} + \hat{V}' + \hat{V}_{ee})|\psi\rangle = E'_{gs}|\psi\rangle \quad (4.41)$$

Y asumiendo que  $\psi = \psi'$ , uno obtiene

$$(\hat{V} + \hat{V}')|\psi\rangle = (E_{gs} - E'_{gs})|\psi\rangle \quad (4.42)$$

Lo cual conduce inmediatamente a  $\hat{V} = \hat{V}' + C$ , en contradicción con la suposición hecha en 1).

Usando el teorema variacional, en el caso para 2), uno prueba que  $\psi$  es diferente a  $\psi'$  y esto implica que  $p(\vec{r}) \neq p'(\vec{r})$ .

$$E_{gs} = \langle \psi | \hat{H} | \psi \rangle < \langle \psi' | \hat{H} | \psi' \rangle = \langle \psi' | \hat{H}' + \hat{V} - \hat{V}' | \psi' \rangle + E'_{gs} + \int p'(\vec{r}) [v(\vec{r}) - v'(\vec{r})] \quad (4.43)$$

Y similarmente

$$E_{gs} = \langle \psi' | \hat{H}' | \psi' \rangle < \langle \psi | \hat{H} | \psi \rangle = \langle \psi | \hat{H} + \hat{V}' - \hat{V} | \psi \rangle + E_{gs} + \int p(\vec{r}') [v'(\vec{r}') - v(\vec{r}')] \quad (4.44)$$

Asumiendo que  $p(\vec{r}) = p'(\vec{r})$ , la combinación de las ecuaciones (4.43) y (4.44) lleva a la siguiente contradicción

$$E_{gs} + E'_{gs} < E_{gs} + E'_{gs} \quad (4.45)$$

Por tanto, los mapeos entre  $\hat{V}$ ,  $\hat{\psi}$  y  $p(\vec{r})$  son biyectivos (uno a uno)

$$\hat{V} \leftrightarrow \hat{\psi} \leftrightarrow p(\vec{r}) \quad (4.46)$$

Y como consecuencia el mapeo biyectivo  $\hat{\psi} \leftrightarrow p(\vec{r})$ , para todas las observables  $\hat{O}$  del sistema son funciones únicamente de la densidad

$$\langle \psi[p] | \hat{O} | \psi[p] \rangle = O[p] \quad (4.47)$$

### 4.3.2. Segundo teorema de Hohenberg-Kohn

*“La densidad exacta para el estado base de un sistema con un potencial particular externo puede encontrarse por la minimización del funcional de energía”.*

Como una consecuencia directa entre la relación biyectiva  $\hat{V} \leftrightarrow \hat{\psi} \leftrightarrow p(\vec{r})$  y la relación de  $p(\vec{r}) \rightarrow \hat{V}$  se indica que determinará el potencial externo aplicado sobre el sistema y así el Hamiltoniano completo, por lo tanto, en adición al primer teorema de HK nos dice que el funcional de energía de un sistema dentro de un potencial particular externo  $\hat{V}_0$  debe tener la forma

$$E_{V_0}[p] = \langle \psi[p] | \hat{T} + \hat{V}_0 + \hat{V}_{ee} | \psi[p] \rangle \quad (4.48)$$

Donde la densidad exacta del estado base puede ser encontrado por la minimización de  $E_{V_0}[p]$  en términos precisamente de  $p$



$$E_0[p] = \min E_{V_0}[p] \quad (4.49)$$

Así la parte funcional de energía,  $F_{HF}[p]$ , el cual no incluye al potencial externo, se entiende como un funcional universal de la densidad

$$E_{XC}[p] = F_{HF}[p] - T_S[p] - \frac{1}{2} \iint \frac{p(\vec{r})d\vec{r}p(\vec{r}')d\vec{r}'}{|\vec{r} - \vec{r}'|} \quad (4.50)$$

Y donde  $T_S[p]$  es la energía cinética del sistema y el integrando correspondería a la interacción coulombiana respectivamente

$$F_{HK}[p] = \langle \psi[p] | \hat{T} + \hat{V}_{ee} | \psi[p] \rangle \quad (4.51)$$

Sin embargo, el teorema de HK no se puede utilizar aun directamente. Motivo por el cual Khon y Sham, en 1965, propondrían un esquema más práctico de resolverse bajo un método auto-consistente, dando lugar a la aproximación de las ecuaciones de Khon-Sham.

### 4.3.3. Ecuaciones de Kohn-Sham

La ecuación de Schrödinger para un sistema de electrones no interactuantes ( $\hat{V}_{ee} = 0$ ), los cuales se mueven en un potencial externo  $\hat{V}_{s,0}$

$$\left( \frac{-\nabla'^2}{2} + \hat{V}_{s,0}(\vec{r}) \right) \phi_i(\vec{r}) = \varepsilon_i \phi_i(\vec{r}) \quad (4.52)$$

Donde la densidad de tal sistema es determinada por los N orbitales ocupados en los primeros estados

$$p_s(\vec{r}) = \sum_{i=1}^N |\phi_i(\vec{r})|^2 \quad (4.53)$$

La energía cinética de este sistema KS no interactuante es dada por

$$\hat{T}_s[p] = \sum_{i=1} \left\langle \phi_i \left| \frac{-\nabla^2}{2} \right| \phi_i \right\rangle \quad (4.54)$$

Por otra parte, al llegar a una expresión útil del potencial  $\hat{V}_{s,0}$ , escribimos la energía total para la interacción del sistema molecular de la siguiente forma

$$E[p] = T_s[p] + \int V_o(\vec{r})p(\vec{r})d\vec{r} + \frac{1}{2} \iint \frac{p(\vec{r})d\vec{r}p(\vec{r}')d\vec{r}'}{|\vec{r} - \vec{r}'|} + E_{XC}[p] \quad (4.55)$$

Introduciendo el funcional de energía de intercambio-correlación (XC)

$$E_{XC}[p] = F_{HF}[p] - T_s[p] - \frac{1}{2} \iint \frac{p(\vec{r})d\vec{r}p(\vec{r}')d\vec{r}'}{|\vec{r} - \vec{r}'|} \quad (4.56)$$

El teorema de HK asegura que el funcional de energía  $E[p]$  es estacionario para pequeñas variaciones  $\delta p(\vec{r})$  alrededor de la densidad exacta  $p_0(\vec{r})$

$$\frac{E[p]}{p(\vec{r})} \Big|_{p=p_0} = 0 \quad (4.57)$$

Por lo que conduce a

$$\frac{\delta F_{HK}[p]}{\delta p(\vec{r})} \Big|_{p=p_0} = -V_o(\vec{r}) \quad (4.58)$$

Similarmente para el sistema no interactuante podemos encontrar

$$\frac{\delta T_{HK}[p]}{\delta p(\vec{r})} \Big|_{p=p_0} = -V_{s,0}(\vec{r}) \quad (4.59)$$

Diferenciando la ecuación (4.56) tendremos

$$V_{s,0}(\vec{r}) = V_o(\vec{r}) + \int \frac{p(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\vec{r}' + \frac{\delta E_{XC}[p]}{\delta p(\vec{r})} \quad (4.60)$$

El cual es denotado de una forma más corta como

$$V_{s,0}(\vec{r}) = V_0(\vec{r}) + V_H(\vec{r}) + V_{XC}(\vec{r}) \quad (4.61)$$

Y con ayuda de la ecuación (4.52) encontramos

$$\left[ \frac{-\nabla^2}{2} + V_0(\vec{r}) + \int \frac{p(\vec{r}')}{|\vec{r} - \vec{r}'|} d\vec{r}' + \frac{\delta E_{XC}}{\delta p(\vec{r})} \right] \phi_i(\vec{r}) = \varepsilon_i \phi_i(\vec{r}) \quad (4.62)$$

El potencial de intercambio-correlación está dado por

$$V_{XC}(\vec{r}) = \frac{\delta E_{XC}}{\delta p_i(\vec{r})} \quad (4.63)$$

Por lo tanto, este potencial de KS depende de la densidad. Las ecuaciones de KS (4.60) y (4.62) deben poder resolverse por medio de un esquema auto consistente. Para ello, se da una primera aproximación para la energía de intercambio-correlación (XC)  $E_{XC}$  que inicie el proceso. Las ecuaciones KS proveen un camino para el cálculo de la densidad  $p(\vec{r})$ , y así obtener la energía del sistema en su estado base.

#### 4.3.4. Modelo de los orbitales moleculares de Kohn-Sham

El postulado principal en KS en la TFD es tal que podemos aplicar la formulación de un electrón al sistema de  $N$  electrones interactuantes estudiando un sistema de electrones independientes, introduciendo un apropiado potencial local  $V_{XC}(\vec{r})$  en adición a cualquier potencial externo  $V_{ext}(\vec{r})$  y utilizar el potencial de Coulomb para la nube electrónica y resolver la ecuación de KS (4.52) o de la misma forma como se muestra a continuación

$$\left[ \frac{-\nabla^2}{2} + V_{ext}(\vec{r}) + V_C(\vec{r}) + V_{XC}(\vec{r}) \right] \phi_i(\vec{r}) = \varepsilon_i \phi_i(\vec{r}) \quad (4.64)$$

El potencial  $V_{XC}$  que es el funcional derivado con respecto a la densidad  $p$  de la energía de intercambio-correlación  $E_{XC}[p]$ , el funcional de energía de intercambio-correlación del orbital molecular ( $MO_s$ )  $\phi_i$  para un electron, con sus respectivas energías del orbital  $\varepsilon_i$  definen la densidad exacta, teniendo acceso a todas las

propiedades físicas ya que estas pueden ser expresadas como funciones de la misma  $\rho$ , en particular la energía.

#### 4.4. CORRECCIONES EMPÍRICAS PARA LAS INTERACCIONES DE VAN DER WAALS

Para tomar en cuenta las propiedades dispersivas de largo alcance generadas por interacciones no tomadas en cuenta en las expresiones de los funcionales TFD, se realizan correcciones empíricas con la adición de un término conveniente a la energía total del sistema.

En la metodología TFD-D (Stefan Grimme, 2004) desarrollada en ADF (Parr et al. 1989) la corrección para la dispersión en la energía total se toma como

$$E_{MF-D} = E_{MF} + E_{disp} \quad (4.65)$$

Donde  $E_{MF}$  es la energía principal del campo (HF o TFD, por ejemplo) y  $E_{disp}$  es una corrección de dispersión empírica dada por

$$E_{disp} = -s_6 \sum_{i=1}^{N_{at}-1} \sum_{j=i+1}^{N_{net}} \frac{C_6^{ij}}{R_{ij}^6} f_{disp}(R_{ij}) \quad (4.66)$$

Aquí  $N_{at}$  es el número de átomos en el sistema,  $C_6^{ij}$  denota el coeficiente de dispersión para el par de átomos  $ij$ ,  $s_6$  es un factor de escalamiento global y  $R_{ij}$  es la distancia interatómica. Nótese que  $E_{disp}$  es solo un modelo sin significado físico verdadero. Para evitar singularidades para  $R$  pequeñas, la función de amortiguamiento  $f_{disp}$  esta dada por

$$f_{disp}(R_{ij}) = \frac{1}{1 + e^{\alpha(\frac{R}{R_0}-1)}} \quad (4.67)$$

Donde  $R_0$  es la suma de radios de van der Waals. Esta y otras funciones de tipo similar han sido discutidas detalladamente en las citas 9 y 10. La ecuación de  $f_{disp}(R_{ij})$  se escoge de forma que decaiga suficientemente rápido para pequeñas  $R$

y por lo cual tiende a cero. Diferentes combinaciones para los coeficientes  $C_6^{ij}$  han sido probadas para varios complejos. Se utiliza un promedio simple de la forma

$$C_6^{ij} = 2 \frac{C_6^i C_6^j}{C_6^i + C_6^j} \quad (4.68)$$

Los coeficientes atómicos  $C_6$  son tomados del trabajo de Wu y Yang, 2002, pero se han obtenido sobre un promedio de la hibridación posible de los estados atómicos.

#### 4.5. IVDW, MÉTODOS APROXIMADOS DE CORRECCIÓN PARA LAS INTERACCIONES DE VAN DER WAALS.

Los funcionales de densidad locales y semilocales clásicos son incapaces de describir correctamente las interacciones de van der Waals resultantes de las correlaciones dinámicas entre distribuciones de cargas fluctuantes. Un método pragmático para trabajar sobre este problema es agregar una corrección a la energía convencional KS-TFD  $E_{KS-TFD}$ :

$$E_{TFD-disp} = E_{KS-TFD} + E_{disp} \quad (4.69)$$

El término de corrección  $E_{disp}$  se calcula usando algunos métodos de aproximación disponibles. El método de corrección a elegir se controla mediante la escritura de una línea al archivo de entrada INCAR (revisar Apéndice)

$$IVDW = 0|1|10|11|12|2|20|21|202|4$$

Defecto: IVDW=0

- IVDW=0  
sin corrección
- IVDW=1|10  
Método TFD-D2 de Grimme
- IVDW=11  
Método TFD-D3 de Grimme con cero amortiguación

- IVDW=12  
Método TFD-D3 con amortiguación de Becke-Jonson
- IVDW=2|20  
Método de Tkatchenko-Scheffer
- IVDW=21  
Método de Tkatchenko-Scheffer con partición iterativa de Hirshfeld
- IVDW=202  
Método de energía de dispersión de cuerpos múltiples
- IVDW=4  
Método de corrección de dispersión dDsC

Todos los métodos señalados anteriormente agregan la corrección de vdW a la energía potencial, fuerzas interatómicas, así como al tensor tensión y, por lo tanto, se pueden realizar simulaciones como relajaciones atómicas y reticulares, dinámicas moleculares, y análisis vibracionales (mediante diferencias finitas).

Sin embargo, para nuestro estudio se ha escogido el valor IVDW=2, correspondiente al método de Tkatchenko-Scheffer.

#### 4.5.1. Método de Tkatchenko-Scheffer (TS)

La expresión para la dispersión de la energía dentro del método TS (Tkatchenko et al., 2009) (TFD-TS) es formalmente idéntica a aquella del método TFD-D2:

$$E_{disp} = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^{N_{at}} \sum_{j=1}^{N_{at}} \sum_L \frac{C_{6ij}}{r_{ij,L}^6} f_{d,6}(r_{ij,L}) \quad (4.70)$$

la diferencia importante es, sin embargo, que los coeficientes de dispersión y la función de amortiguación son carga-densidad dependientes. El método TFD-TS es por lo tanto capaz de tomar en cuenta variaciones en las contribuciones de van der Waals de los átomos debido a su ambiente químico local. En este método, la polarizabilidad, los coeficientes de dispersión y los radios atómicos de un átomo en

la molécula o sólido son calculados desde sus valores atómicos libres utilizando las relaciones siguientes:

$$\alpha_i = v_i \alpha_i^{libre} \quad (4.71)$$

$$C_{6ii} = v_i^2 C_{6ii}^{libre} \quad (4.72)$$

$$R_{0i} = \left( \frac{\alpha_i}{\alpha_i^{libre}} \right)^{\frac{1}{3}} R_{0i}^{libre} \quad (4.73)$$

Las cantidades atómicas libres  $\alpha_i^{libre}$ ,  $C_{6ii}^{libre}$  y  $R_{0i}^{libre}$  son contabilizadas para todos los elementos desde las seis primeras filas de la tabla periódica a excepción de los lantánidos.

Los valores atómicos efectivos  $v_i$  son determinados utilizando el particionamiento de Hirshfeld de la densidad de todos los electrones:

$$v_i = \frac{\int r^3 w_i(r) n(r) d^3r}{\int r^3 n_i^{libre}(r) d^3r} \quad (4.74)$$

Donde  $n(r)$  es la densidad de electrones, y  $n_i^{libre}$  es la densidad de electrones promediada esféricamente de las especies atómicas libres neutras  $i$ . El peso de Hirshfeld  $w_i(r)$  está definido por las densidades atómicas libres de la siguiente manera:

$$w_i(r) = \frac{n_i^{libre}(r)}{\int_{j=1}^{Nat} n_j^{libre}(r)} \quad (4.75)$$

La regla de combinación para definir la fuerza de la interacción de dispersión dipolo-dipolo entre especies diferentes es:

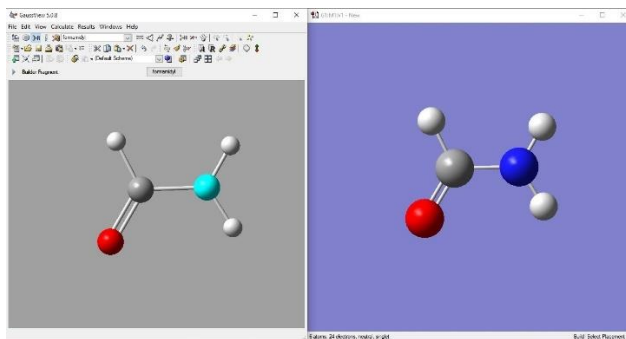
$$C_{6ij} = \frac{2C_{6ii}C_{6jj}}{\left[ \frac{\alpha_j}{\alpha_i} C_{6ii} + \frac{\alpha_i}{\alpha_j} C_{6jj} \right]} \quad (4.76)$$

## 4.6. CONSTRUCCIÓN DE LOS COMPLEJOS MOLECULARES

Para el desarrollo de este proyecto y el análisis de los resultados, se hizo uso de los programas de modelación que se enlistan a continuación.

SOFTWARE	REFERENCIA
<b>VASP (Vienna Ab initio Simulation Package)</b>	Kresse, G. y Hafner, J. Phys. Rev. B 47, 558 (1993); ibid. 49, 14 251 (1994).
<b>GaussView</b>	GaussView, Version 5, Dennington, R.; Keith, T. A.; Millam, J. M. Semichem Inc., Shawnee Mission, KS, 2016
<b>Molden</b>	Schaftenaar, G. y Noordik, J. H. "Molden: a pre- and post-processing program for molecular and electronic structures", J. Comput. Aided Mol. Design, 14 2000,123-134
<b>Discovery</b>	Dassault Systèmes BIOVIA, Discovery Studio Modeling Environment, Release 2017, San Diego: Dassault Systèmes, 2016
<b>VMD (Visual Molecular Dynamics)</b>	Humphrey, W.; Dalke, A. y Schulten, K. "VMD-Visual Molecular Dynamics", J. Molec. Graphics, 1996, vol. 14, pp. 33-38.

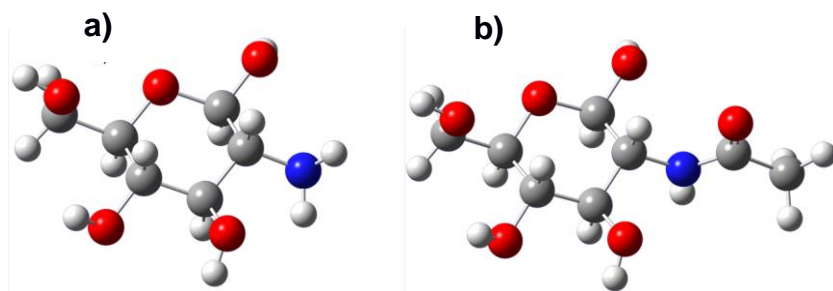
Se utilizó el software de modelación GaussView (Figura 17.), en su versión 5.0.9. Se trata de una interfaz gráfica que permite construir, visualizar y manipular estructuras moleculares de interés.



**Figura 17.** Interfaz correspondiente al software GaussView, mostrando una molécula de formaldehído. Rojo=oxígeno, Gris=carbono, Blanco=hidrógeno, Azul=nitrógeno

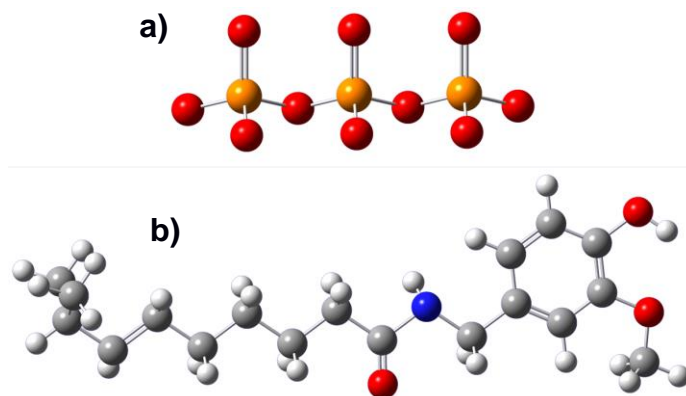


Primeramente, se construyeron las moléculas de GlcNAc y GlcN, unidades que conforman las cadenas de la quitina y el quitosano respectivamente (Figura 18.).



**Figura 18.** a) molécula de GlcN (quitosano) en su forma ecuatorial; b) molécula de GlcNAc (quitina) en su forma ecuatorial. Rojo=oxígeno, Gris=carbono, Blanco=hidrógeno, Azul=nitrógeno

Posteriormente se construyeron el ion TPP y la molécula de CAP (Figura 19.).



**Figura 19.** a) ión de tripolifosfato (TPP); b) molécula de capsaicina (CAP). (Rojo=oxígeno, Gris=carbono, Blanco=hidrógeno, Azul=nitrógeno, Naranja=fósforo)

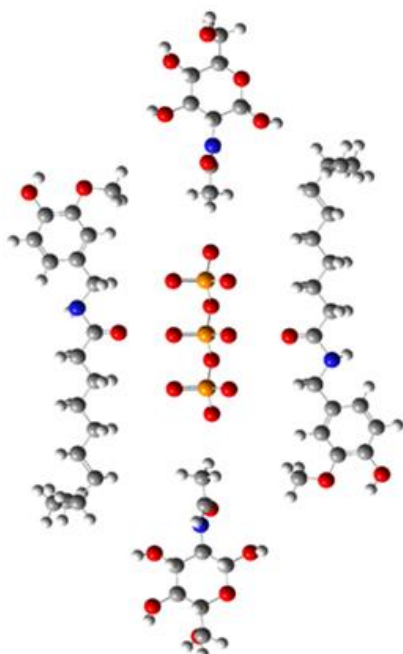
Una vez construidas las 4 moléculas fundamentales, se construyeron ocho complejos moleculares. Cuatro de ellos con CAP y otros cuatro sin CAP.

A continuación, se desglosan las características de cada uno de los 8 complejos moleculares construidos para el desarrollo del presente proyecto.

	<b>Con CAP</b>	<b>Sin CAP</b>
<b>Q u i t i n a</b>	<i>s1_2A_1TPP_2CAP</i> (2 monómeros de quitina, 1 molécula de TPP, 2 moléculas de CAP)	<i>s2_2A_1TPP</i> (2 monómeros de quitina, 1 molécula de TPP)
	<i>s3_2A_2TPP_2CAP</i> (2 trímeros de quitina, 1 molécula de TPP, 2 moléculas de CAP)	<i>s4_2A_2TPP</i> (2 trímeros de quitina, 1 molécula de TPP)
<b>Q u i t o s a n o</b>	<i>s5_2G_1TPP_2CAP</i> (2 monómeros de quitosano, 1 molécula de TPP, 2 moléculas de CAP)	<i>s6_2G_1TPP</i> (2 monómeros de quitosano, 1 molécula de TPP)
	<i>s7_2G_2TPP_2CAP</i> (2 trímeros de quitosano, 1 molécula de TPP, 2 moléculas de CAP)	<i>s8_2G_2TPP</i> (2 trímeros de quitosano, 1 molécula de TPP)

En las figuras 20 y 21 se muestran los 8 complejos moleculares construidos mediante el software GaussView. Cada sistema fue construido de tal modo que se favorecieran los puentes de hidrógeno entre las moléculas que constituyen cada complejo.

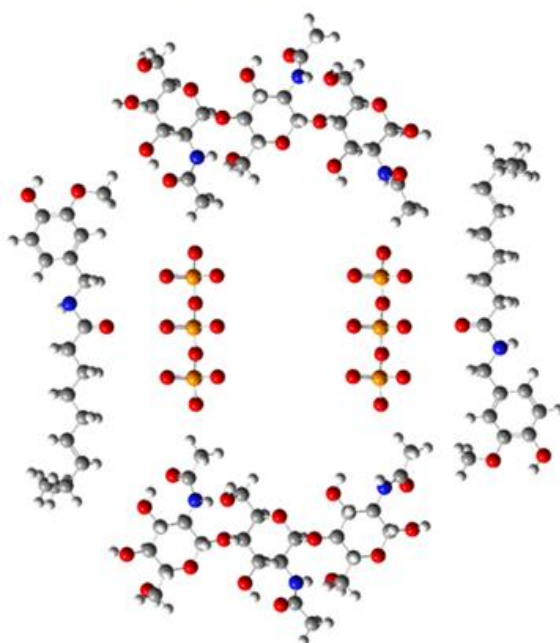
s1\_2A\_1TPP\_2CAP



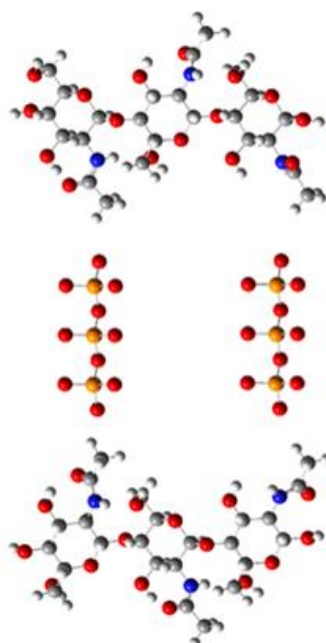
S2\_2A\_1TPP



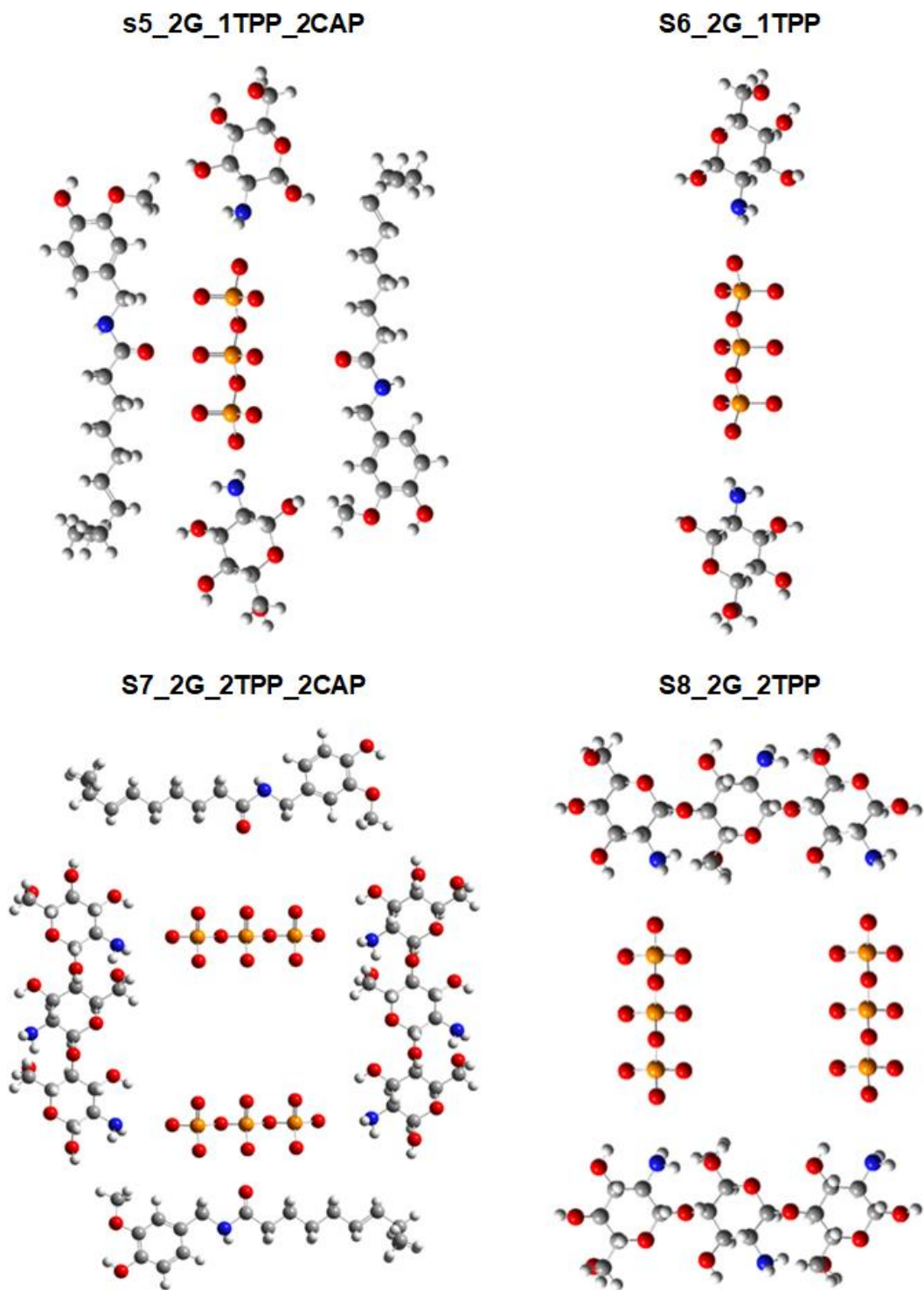
S3\_2A\_2TPP\_2CAP



S4\_2A\_2TPP



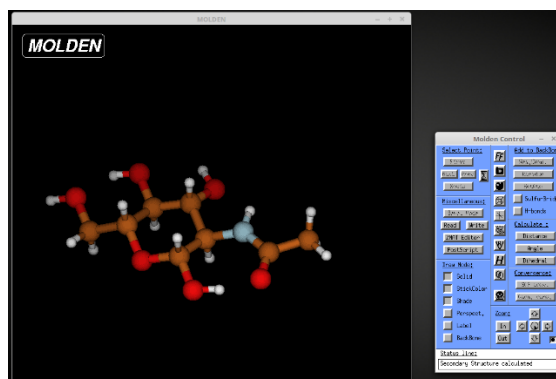
**Figura 20.** Se muestran los complejos moleculares 1 a 4. Estos complejos están compuestos por unidades del polímero GlcNAc (quitina), el ion TPP y unidades de CAP (izquierda). Además, se muestra una variante sin CAP para cada sistema (derecha). Rojo=oxígeno, Gris=carbono, Blanco=hidrógeno, Azul=nitrógeno, Naranja=fósforo.



**Figura 21.** Se muestran los complejos moleculares 5 a 8. Estos complejos están compuestos por unidades del polímero GlcN (quitosano), el ion TPP y unidades de CAP (izquierda). Además, se muestra una variante sin CAP para cada sistema (derecha). Rojo=oxígeno, Gris=carbono, Blanco=hidrógeno, Azul=nitrógeno, Naranja=fósforo.

## 4.7. CONSTRUCCIÓN DE LA CELDA

Molden es un software general de procesamiento de estructuras electrónicas y moleculares, cuya última versión estable es 5.06 (Figura 22.).



**Figura 22.** Interfaz correspondiente al software Molden, mostrando un monómero de quinitina

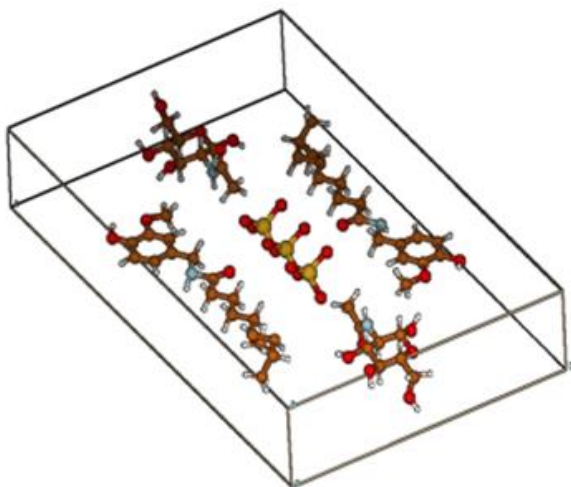
Durante el desarrollo del proyecto, se utilizó Molden para verificar la orientación espacial de los sistemas descritos anteriormente y corroborar que estos quedaban dentro de los límites de una celda; construida con la finalidad poder optimizar los complejos moleculares adecuadamente.

		Dimensión de la celda (Å)		
		A	B	C
<b>S</b> <b>I</b> <b>S</b> <b>T</b> <b>E</b> <b>M</b> <b>A</b> <b>S</b>	s1_2A_1TPP_2CAP	45	16	31
	s2_2A_1TPP	41	11	14
	s3_2A_2TPP_2CAP	44	11	37
	s4_2A_2TPP	43	11	26
	s5_2G_1TPP_2CAP	34	10	26
	s6_2G_1TPP	35	11	14
	s7_2G_2TPP_2CAP	35	13	40
	s8_2G_2TPP	35	11	26

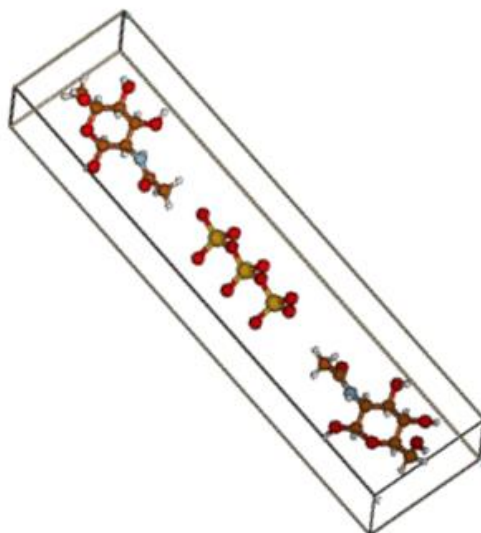
Posteriormente, se procedió a llevar cada uno de los complejos a un estado de mínima energía; mediante una optimización a las interacciones intra e intermoleculares de los complejos (se realizaron cálculos cuánticos con un paquete de simulación Ab initio.)

A continuación, se muestran los 8 complejos moleculares dentro de los límites de la celda construida mediante el software Molden.

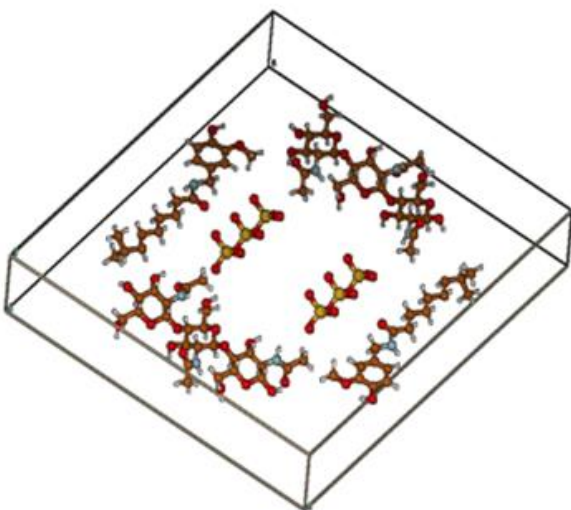
s1\_2A\_1TPP\_2CAP



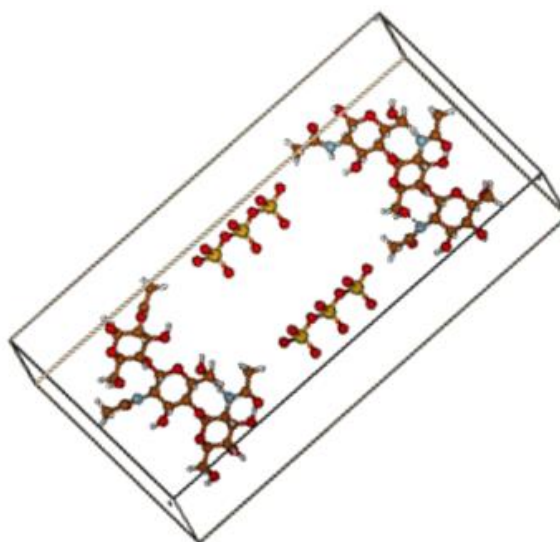
S2\_2A\_1TPP



S3\_2A\_2TPP\_2CAP



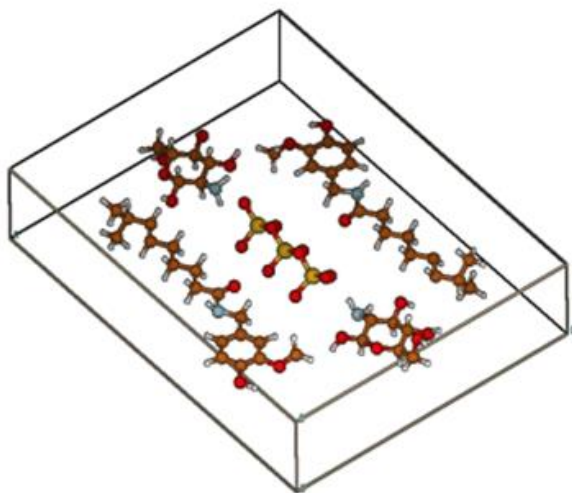
S4\_2A\_2TPP



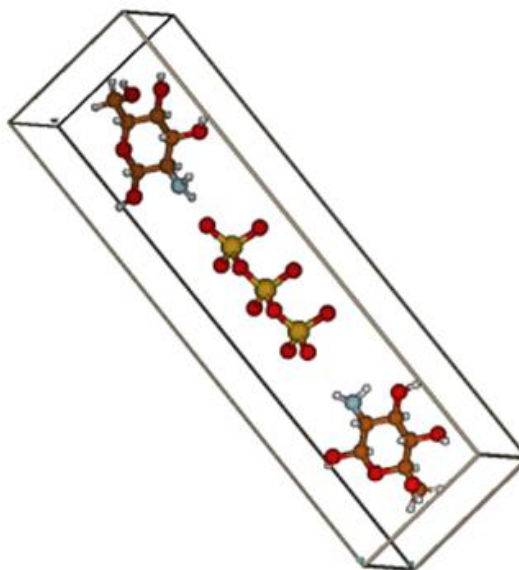
**Figura 22.** Se muestran los complejos moleculares 1 a 4. Como puede verse, estos complejos se encuentran orientados espacialmente de forma que todos los átomos queden dentro de una celda construida con el propósito de favorecer los cálculos cuánticos Ab-initio. Rojo=oxígeno, Café=carbono, Blanco=hidrógeno, Gris=nitrógeno, Naranja=fósforo.



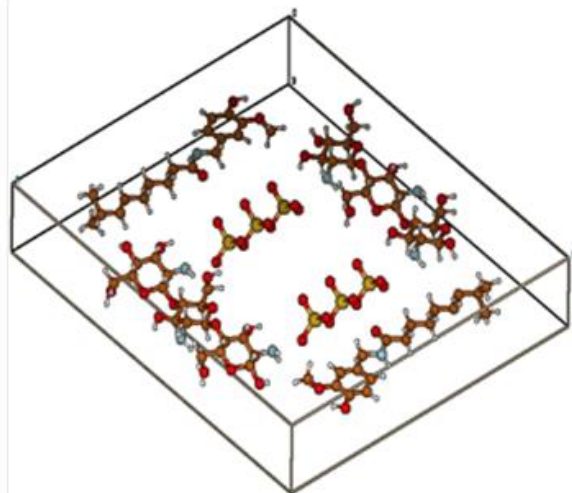
s5\_2G\_1TPP\_2CAP



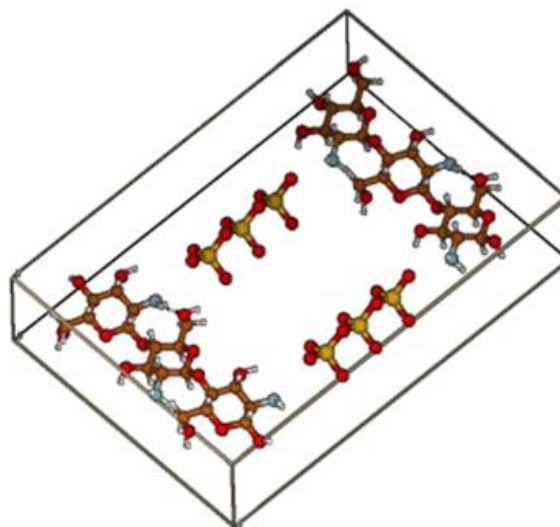
S6\_2G\_1TPP



S7\_2G\_2TPP\_2CAP



S8\_2G\_2TPP



**Figura 23.** Se muestran los complejos moleculares 5 a 8. De igual manera, estos complejos se encuentran orientados espacialmente de forma que todos los átomos queden dentro de una celda construida con el propósito de favorecer los cálculos cuánticos Ab-initio. Rojo=oxígeno, Café=carbono, Blanco=hidrógeno, Gris=nitrógeno, Naranja=fósforo.

## 4.8. CÁLCULOS CUÁNTICOS

El Vienna Ab initio Simulation Package (VASP) es un software para modelar materiales de escala atómica, por ejemplo, cálculos de estructura electrónica y dinámica molecular mecano-cuántica.

VASP calcula una solución aproximada a la ecuación de Schrödinger de muchos cuerpos, dentro de la teoría funcional de la densidad (TFD), resolviendo las ecuaciones de Kohn-Sham dentro de la aproximación de Hartree-Fock (HF), resolviendo las ecuaciones Roothaan. Además, implementa funcionales híbridos que combinan la aproximación de Hartree-Fock con la TFD (Fiolhais et al. 2003). Por otra parte, la TFD es uno de los métodos más utilizados en los cálculos cuánticos de la estructura electrónica de la materia, tanto en la física de la materia condensada como en la química cuántica, y más recientemente en la nanobiotecnología (Dubeck'y et al. 2010).

Una vez optimizados los sistemas moleculares, fue necesario agregar la corrección TS (método de Tkatchenko-Scheffler) para calcular las correcciones de dispersión en las fuerzas de van der Waals de los complejos moleculares.

Los cálculos VASP se llevaron a cabo en un servidor externo del Laboratorio de Supercómputo y Visualización en Paralelo (LSVP) de la División de Ciencias Básicas e Ingeniería (DCBI), de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa (UAM-I); al cual se accedió mediante la ejecución de los protocolos SSH (Secure SHell) y SFTP (SSH File Transfer Protocol) dentro de la Consola de comandos del sistema operativo Linux Mint 18.1 (Serena).

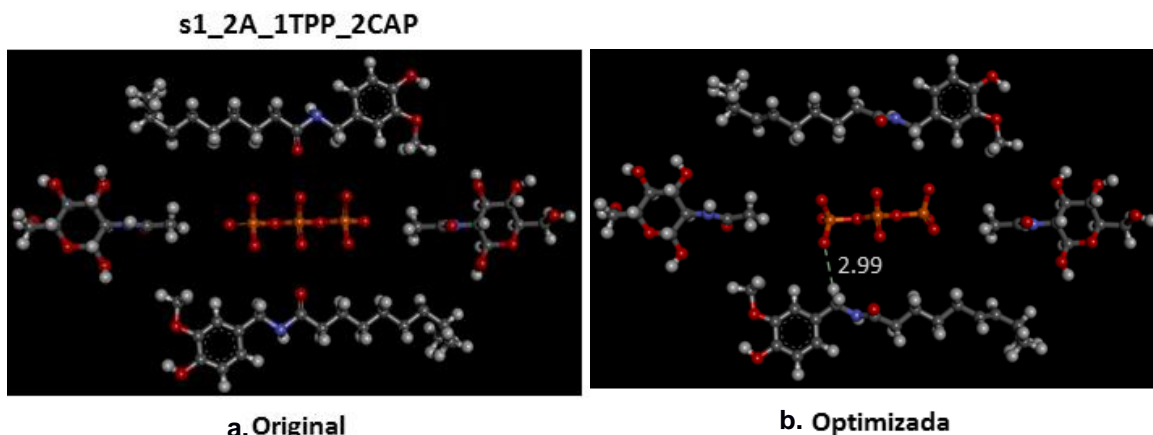
- Equipo ubicado en el laboratorio de Supercómputo de la UAM-I:
  - Infraestructura: Cluster Aitzalao
    - Capacidad de cómputo: 18.48 TeraFLOPS
    - 270 nodos de procesamiento (540 procesadores)
    - Procesadores Intel Xeon Quad-Core a 3.0 GHz con Bus Frontal de 1600 MHz
    - 16 GB de memoria RAM por nodo (4320 GB en total)



## V. RESULTADOS Y DISCUSION

En esta sección analizaremos los resultados obtenidos de los cálculos cuánticos realizados sobre los 8 complejos moleculares con el software VASP.

En las siguientes figuras revisaremos a detalle los cambios en la estructura de los complejos, así como la formación o ausencia de interacciones inter e intramoleculares que afectan la estabilidad estructural de los sistemas.



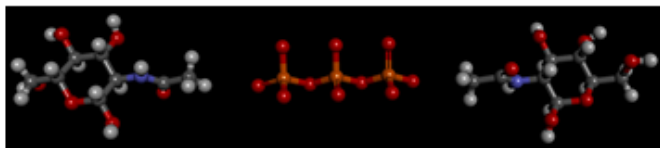
**Figura 24.** Complejo molecular s1. **a.** No hay ninguna interacción molecular; **b.** Se observa un enlace entre un átomo de oxígeno de la molécula de TPP y un átomo de hidrógeno de la molécula de CAP (2.99Å). (Rojo=oxígeno, Gris=carbono, Blanco=hidrógeno, Azul=nitrógeno, Naranja=fósforo)

En la Figura 24 tenemos el complejo s1 (GlcNAc, TPP y CAP). En su estado original (Figura 24a.) no presenta enlaces de ningún tipo; debido probablemente a la distancia que existe entre las moléculas componentes del sistema. La molécula de TPP, por ejemplo, se encuentra a una distancia de 3.3Å de cada molécula de capsaicina, a 2.5Å de la molécula de GlcNAc izquierda y a 2.7Å de la molécula de GlcNAc derecha.

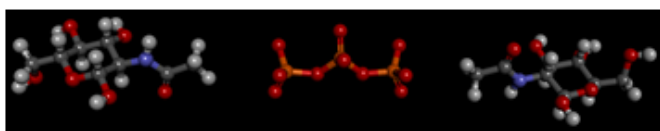
Por otra parte, el complejo s1, en su estado optimizado (Figura 24b.), muestra un único enlace entre la molécula de TPP y la molécula de CAP inferior con una distancia entre el átomo de oxígeno y el átomo de hidrógeno de 2.99Å. Adicionalmente, en el estado optimizado del complejo s1 puede observarse un reacomode de algunos de los grupos OH de las moléculas de GlcNAc, así como un

cambio de orientación del átomo de oxígeno de ambas moléculas de CAP; y un cambio en los ángulos de la molécula de TPP.

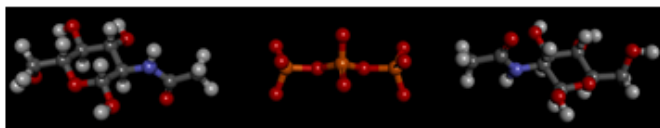
### s2\_2A\_1TPP



**a. Original**



**b. Optimizada**



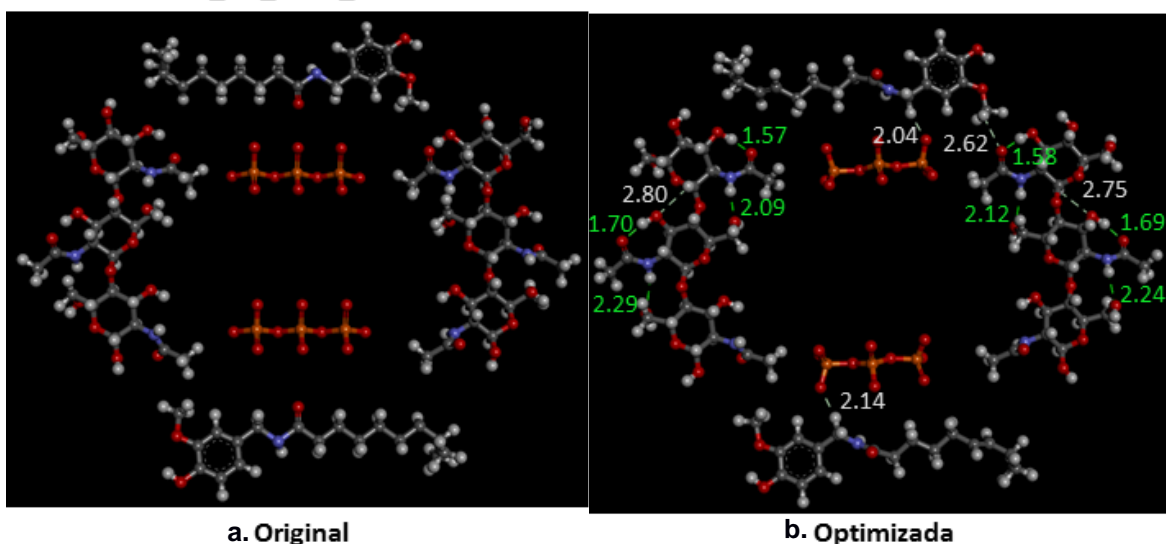
**c. Corregida**

**Figura 25.** Complejo molecular s2. **a.** No hay ninguna interacción molecular; **b.** Existe un reacomode de los grupos OH de ambas moléculas de GlcNAc y un cambio en los ángulos de la molécula de TPP; **c.** La molécula de TPP ha girado sobre su propio eje, sin ningún otro cambio aparente en el sistema. (Rojo=oxígeno, Gris=carbono, Blanco=hidrógeno, Azul=nitrógeno, Naranja=fósforo).

En la Figura 25 se muestra el complejo s2 (GlcNAc y TPP). En su estado original (Figura 25a.), no presenta ningún enlace entre las moléculas. La molécula de TPP en este caso se encuentra a una distancia de 2.9Å de la molécula de GlcNAc izquierda y a 3.2Å de la molécula de GlcNAc derecha.

El complejo s2, en su estado optimizado (Figura 25b.), tampoco muestra interacción entre las moléculas; sin embargo, puede verse un reacomode de los grupos OH de ambas moléculas de GlcNAc y un cambio en los ángulos de la molécula de TPP. La molécula de TPP se encuentra a una distancia de 3.6Å de la molécula de GlcNAc izquierda y a 3.3Å de la molécula de GlcNAc derecha. Finalmente, el complejo s2 muestra nuevamente una ausencia de interacciones moleculares en su estado corregido (Figura 25c.). No hay cambios en la orientación de los grupos OH de las moléculas de GlcNAc, pero si un giro de la molécula de TPP sobre su propio eje, sin cambiar sus ángulos; las distancias entre moléculas se mantuvieron iguales.

s3\_2A\_2TPP\_2CAP



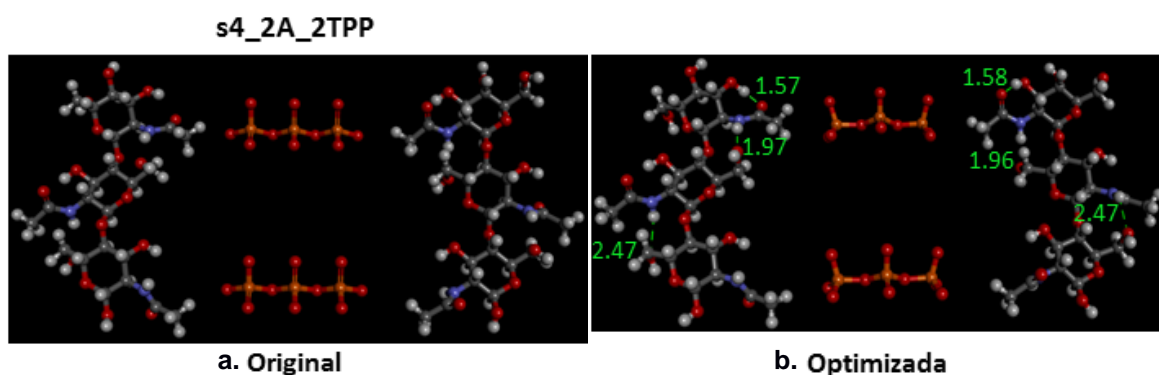
**Figura 26.** Complejo molecular s3. **a.** No hay ninguna interacción molecular; **b.** Se observan varias interacciones intramoleculares en ambos trímeros de GlcNAc, así como un enlace entre uno de los átomos de oxígeno de ambas moléculas de TPP y uno de los átomos de hidrógeno de las moléculas de CAP cercanas. Y un enlace más entre una molécula de GlcNAc y una molécula de CAP. (Rojo=oxígeno, Gris=carbono, Blanco=hidrógeno, Azul=nitrógeno, Naranja=fósforo)

En la Figura 26 tenemos el complejo s3 (GlcNAc, TPP y CAP). En su estado original (Figura 26a.) no presenta enlaces de ningún tipo; debido a la distancia que existe entre las moléculas componentes del sistema y también a las fuerzas de repulsión entre el átomo de oxígeno de la molécula de TPP con el grupo acetamida de la molécula de GlcNAc. La molécula de TPP superior se encuentra a una distancia de 3.6Å de distancia respecto de la molécula de CAP superior, así como a una distancia de 2.3Å y 2.5Å de la molécula de GlcNAc izquierda y derecha, respectivamente. En cuanto a la molécula de TPP inferior, esta se encuentra a una distancia de 3.6Å de la molécula de capsaicina inferior; y a 2.5Å y 3.4Å de distancia de las moléculas de GlcNAc izquierda y derecha respectivamente.

Por otra parte, el complejo s3, en su estado optimizado (Figura 26b.), muestra varias interacciones intra e intermoleculares entre las moléculas que componen el sistema. Tenemos así, enlaces entre un átomo de oxígeno de ambas moléculas de CAP con un átomo de hidrógeno de la molécula de CAP más cercana (superior = 2.04Å, inferior = 2.14Å). En este estado optimizado, también puede observarse que los

átomos de ambos trímeros de GlcNAc se reacomodaron para favorecer varias interacciones entre ellos, formaron enlaces que van desde 1.57Å hasta 2.75Å de distancia entre cada átomo interactuante. Esto sugiere una mayor estabilidad estructural de las cadenas poliméricas del estado optimizado en comparación con las del estado original.

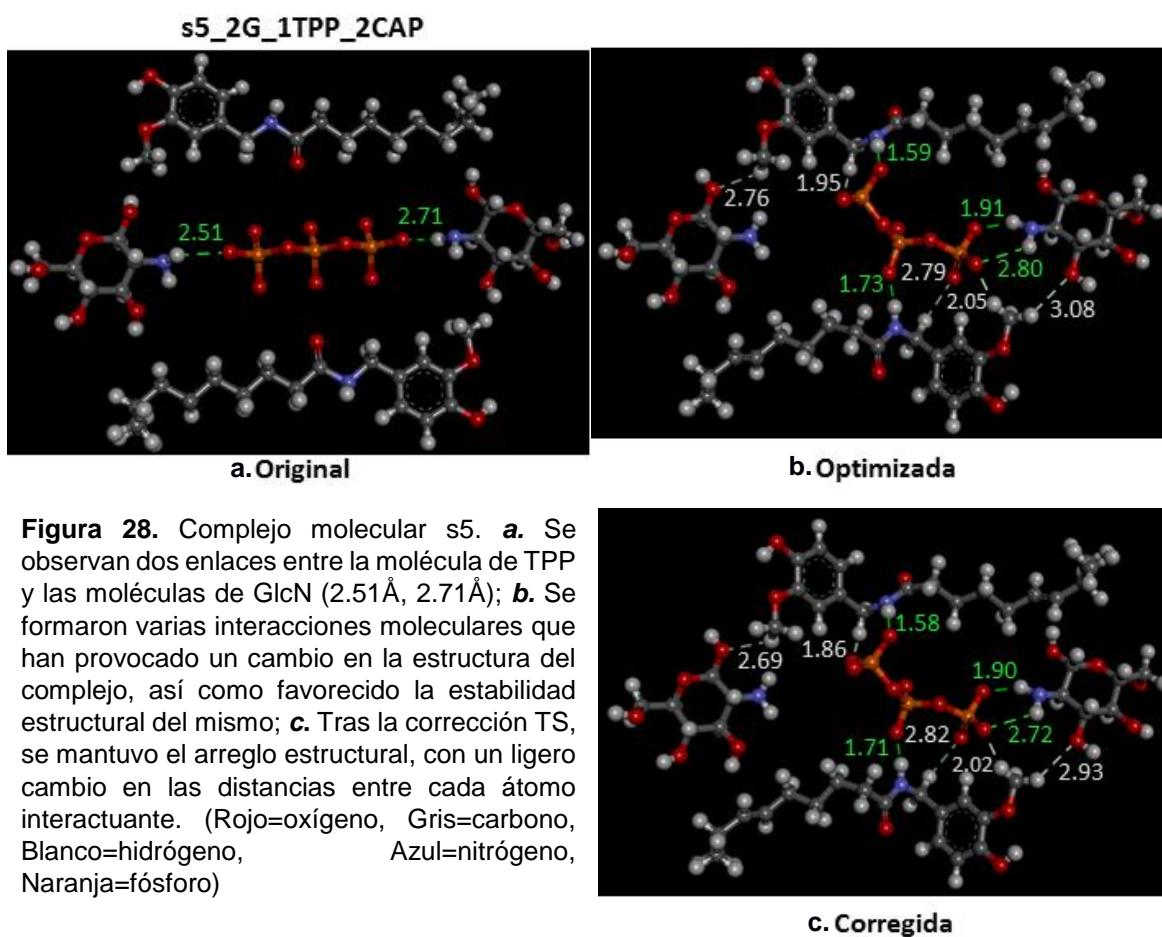
Adicionalmente, en el complejo s3, existe una interacción entre el átomo de oxígeno del grupo acetamida de la molécula de GlcNAc derecha con un átomo de hidrógeno de la molécula de CAP superior, con una distancia de 2.62Å. Sin embargo, sigue sin existir alguna interacción entre las moléculas de TPP (que de igual modo han sufrido un cambio en sus ángulos tras la optimización) y las moléculas de GlcNAc. Y nuevamente, el átomo de oxígeno de ambas moléculas de CAP sufrió un reacomodo debido a las fuerzas de repulsión con el átomo de oxígeno de la molécula de CAP adjunta.



**Figura 27.** Complejo molecular s4. **a.** No hay ninguna interacción molecular; **b.** Pueden observarse varias interacciones intramoleculares en ambos trímeros de GlcNAc, así como cambios en los ángulos de las moléculas de TPP. (Rojo=oxígeno, Gris=carbono, Blanco=hidrógeno, Azul=nitrógeno, Naranja=fósforo)

En la Figura 27 se muestra el complejo s4 (GlcNAc y TPP). En su estado original (Figura 27a.), no presenta ninguna clase de interacción molecular. Para este complejo, la molécula de TPP superior se encuentra a una distancia de 2.1Å y a 2.5Å de la molécula de GlcNAc izquierda y derecha, respectivamente; mientras que la molécula de TPP inferior tiene una distancia de 2.5Å y 3.4Å respecto de la molécula de GlcNAc (Izquierda-Derecha).

El complejo s4, en su estado optimizado (Figura 27b.), tampoco muestra interacción entre las moléculas de TPP, que han cambiado de igual manera sus ángulos, y los trímeros de GlcNAc. Sin embargo, puede verse un reacomode de los grupos OH de ambas moléculas de GlcNAc que favorece varias interacciones intramoleculares con distancias entre 1.57Å y 2.47Å; y que a su vez guardan una similitud muy marcada entre cada una de sus distancias (los enlaces vanean por tan solo 0.1Å con su homólogo en la otra molécula de GlcNAc). Dentro de este estado optimizado y considerando la torsión de los ángulos de las moléculas de CAP, estas se encuentran a una distancia de 2.8Å y 3.0Å (izquierda-derecha, molécula de CAP superior); y 2.6Å y 3.3Å (izquierda-derecha, molécula de CAP inferior). La molécula de TPP se encuentra a una distancia de 3.6Å de la molécula de GlcNAc izquierda y a 3.3Å de la molécula de GlcNAc derecha.



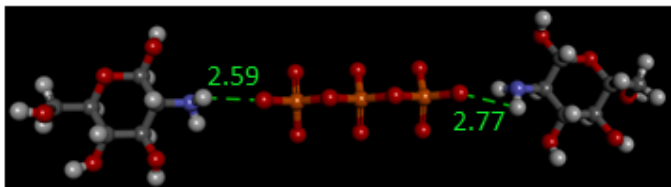
En la Figura 28 se muestra el complejo molecular s5 (GlcN, TPP y CAP). En el estado original (Figura 28a.), a diferencia de los sistemas anteriores, si presenta

interacciones intermoleculares entre dos de los átomos de oxígeno de la molécula de TPP con un átomo de hidrógeno del grupo amina de cada molécula de GlcN; con una distancia de 2.51Å con la molécula de GlcN izquierda y 2.71Å con la molécula de GlcN. La molécula de TPP se encuentra a una distancia de 3.3Å con respecto al átomo de oxígeno de ambas moléculas de CAP.

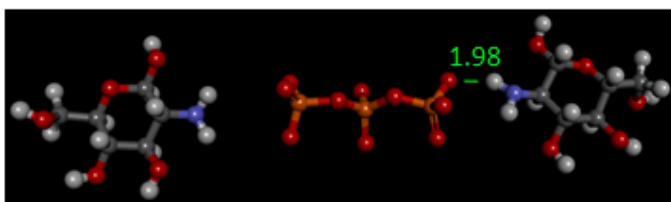
Este complejo s5, en su estado optimizado (Figura 28b.), muestra una mayor afinidad por parte de la molécula de TPP, pues forma enlaces tanto con ambas moléculas de CAP, así como con una de las moléculas de GlcN, y estas últimas a su vez forman enlaces con las moléculas de CAP (3.08Å y 2.76Å). Asimismo, es evidente que ha habido un gran cambio estructural en las moléculas que componen el sistema. Por tanto, pueden observarse interacciones intermoleculares entre los componentes del complejo que van desde 1.59Å hasta 3.08Å. En este caso, como ya se mencionó, la molécula de TPP presenta una mayor afinidad hacia las moléculas vecinas. Se observa que se forman dos enlaces entre dos átomos de oxígeno del TPP con dos átomos de hidrógeno del grupo amina de la molécula GlcN derecha (1.91Å, 2.8Å). Al mismo tiempo, se forman tres enlaces entre los átomos de oxígeno del TPP con átomos de hidrógeno de la molécula de CAP inferior (1.73Å, 2.79Å, 2.05Å); y dos enlaces más entre átomos de oxígeno del TPP con átomos de hidrógeno de la molécula de CAP superior (1.95Å, 1.59Å). Todas estas interacciones electrostáticas favorecen una estabilidad estructural suficientemente fuerte.

Por otro lado, el complejo s5 en su estado corregido (Figura 28c.) no muestra cambios significativos tras haber sido sometida a las correcciones TS. Únicamente se aprecian ligeros cambios en las longitudes de los enlaces que forman las moléculas del complejo. Sin embargo, se conservan el arreglo estructural del sistema y los mismos enlaces que se originaron en el sistema optimizado, una vez que convergieron las energías.

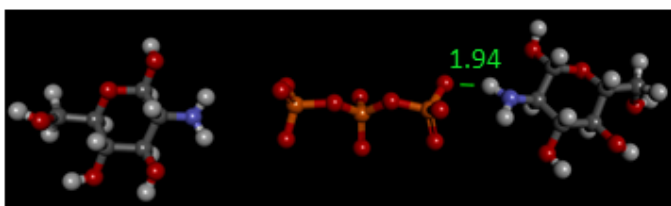
### s6\_2G\_1TPP



**a. Original**



**b. Optimizada**



**c. Corregida**

**Figura 29.** Complejo molecular s6. **a.** Se observan dos enlaces entre la molécula de TPP y las moléculas de GlcN (2.59Å y 2.77Å); **b.** Se observa un acercamiento de la molécula TPP hacia la molécula de GlcN (1.98Å), así como un cambio en los ángulos de la molécula TPP y un reacomodo de los grupos OH de las moléculas de GlcN. **c.** Se observa un ligero acercamiento por parte de la molécula de TPP (1.94Å). (Rojo=oxígeno, Gris=carbono, Blanco=hidrógeno, Azul=nitrógeno, Naranja=fósforo)

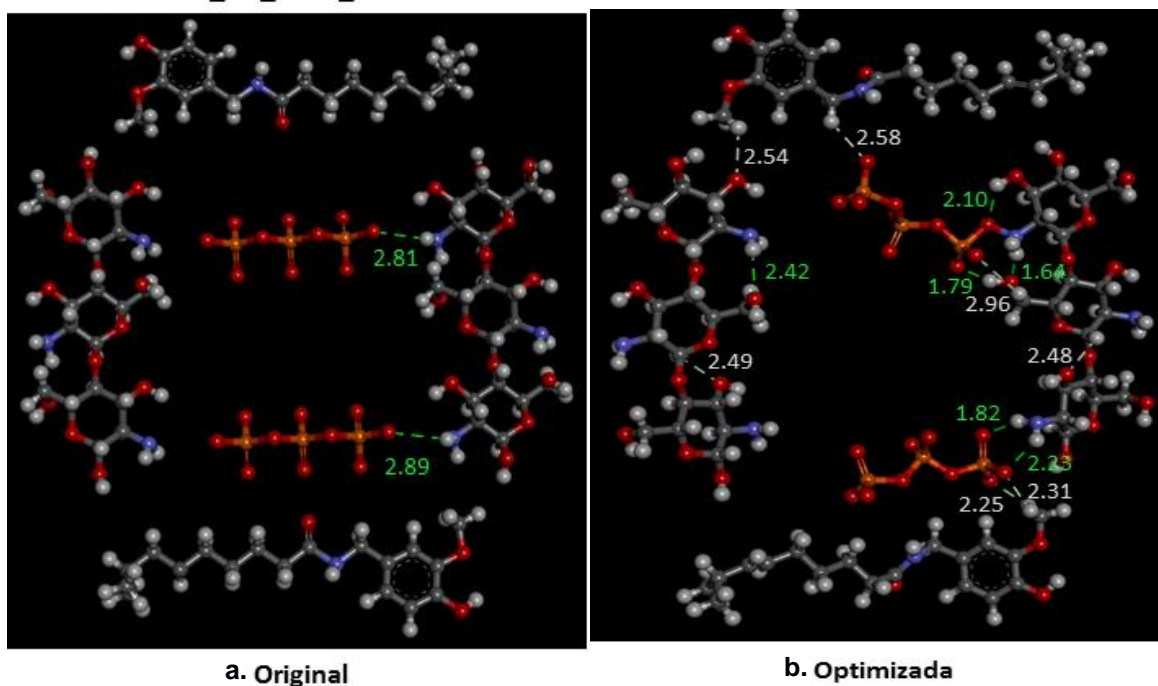
La Figura 29 corresponde al complejo molecular s6 (GlcN y TPP). Este complejo, en su estado original (Figura 29<sup>a</sup>.) forma dos enlaces que corresponden a la interacción entre un átomo de oxígeno de la molécula de TPP con un átomo del grupo amina de las moléculas de GlcN. Estos enlaces tienen una longitud de 2.59Å para la molécula de GlcN izquierda, y 2.77Å para la molécula de GlcN derecha.

El complejo s6 en su estado optimizado (Figura 29<sup>b</sup>.) muestra un acercamiento de la molécula de TPP hacia la molécula de GlcN derecha (1.98Å), así como un cambio en los ángulos de la molécula TPP. También puede observarse que los grupos OH de ambas moléculas de GlcN sufren un ligero reacomodo para favorecer la estabilidad estructural de la propia molécula.

En cuanto al complejo s6 en su estado corregido (Figura 29<sup>c</sup>.), solo se observa un discreto acercamiento por parte de la molécula de TPP hacia la molécula de GlcN derecha (1.94Å). No hay cambios estructurales resultantes de la corrección TS.



s7\_2G\_2TPP\_2CAP



**Figura 30.** Complejo molecular s7. **a.** Se observan dos enlaces entre ambas moléculas de TPP y el trímero de GlcN (2.81Å y 2.89Å); **b.** El arreglo estructural del sistema, así como la formación de varios enlaces; es resultado del proceso de optimización. Puede verse como las moléculas de TPP forman varios enlaces, tanto con las moléculas de CAP (2.58Å y 2.25Å, por ejemplo), como con el trímero de GlcN (1.79Å y 1.82Å, por ejemplo). Al igual que existen un par de interacciones intramoleculares en los trímeros de GlcN (2.42Å, 2.49Å y 1.64Å 2.48Å). (Rojo=oxígeno, Gris=carbono, Blanco=hidrógeno, Azul=nitrógeno, Naranja=fósforo)

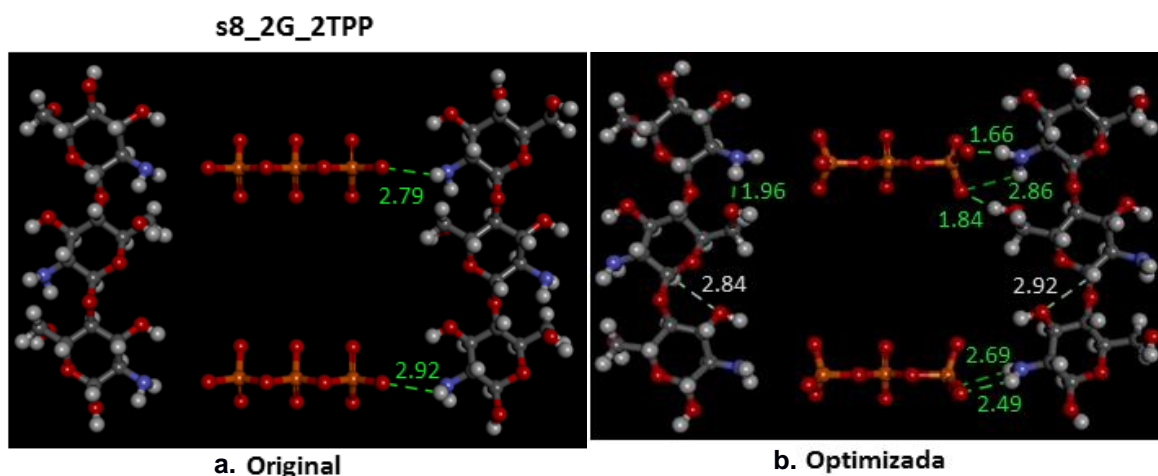
La Figura 30 corresponde al complejo molecular s7. Este complejo, en su estado original (Figura 30a.), presenta dos enlaces entre los átomos de oxígeno de ambas moléculas de TPP con los átomos de hidrógeno de los grupos amina del trímero de GlcN derecho (2.81Å y 2.89Å).

Mientras tanto, el complejo s7 en su estado optimizado (Figura 30b.) revela un gran cambio en el arreglo estructural del sistema debido al amplio número de interacciones intra e intermoleculares. Ambas moléculas de TPP han sufrido severos cambios en sus estructuras, presentan ángulos de torsión bastante interesantes y, también, forman enlaces tanto con las moléculas de CAP como con el trímero de GlcN derecho. Para el caso de la molécula de TPP inferior, es posible distinguir 4 interacciones intermoleculares, 2 con la molécula de CAP y otros 2 con el trímero de GlcN. Los primeros ocurren entre dos átomos de oxígeno de la



molécula de TPP, cada uno de ellos con un átomo de hidrógeno perteneciente a un grupo metilo de la molécula de CAP (2.25Å y 2.31Å). Los otros dos ocurren entre dos átomos de oxígeno de la molécula de TPP y los átomos de hidrógeno del grupo amina del trímero de GlcN (1.82Å y 2.23Å).

Para el caso de la molécula de TPP superior, se pueden distinguir de igual manera 4 interacciones intermoleculares; 3 de ellas con el trímero de GlcN y 1 más con la molécula de CAP. Esta última ocurre entre un átomo de oxígeno de la molécula de TPP con un átomo de hidrógeno de la molécula de CAP (2.58Å). Los 3 restantes ocurren entre los tres átomos de oxígeno, en el extremo derecho de la molécula de TPP, con tres átomos de hidrógeno del trímero de GlcN (2.10Å, 1.79Å y 2.96Å). Además, cabe mencionar que en las cadenas poliméricas de GlcN se pueden distinguir 4 interacciones intramoleculares, dos para cada cadena (2.42Å y 2.49Å, molécula izquierda) (1.64Å y 2.48Å, molécula derecha), que estarían favoreciendo la estabilidad estructural de los trímeros de GlcN. Finalmente, en el estado optimizado del complejo s7 puede distinguirse un enlace entre un átomo de oxígeno de un grupo OH del trímero de GlcN izquierdo con un hidrógeno de un grupo metilo de la molécula de CAP (2.54Å)



**Figura 31.** Complejo molecular s8. **a.** Se observan dos interacciones intermoleculares entre las moléculas de TPP con el trímero de GlcN (2.79Å y 2.92Å); **b.** Pueden observarse varias interacciones intermoleculares entre ambas moléculas de TPP y el trímero de GlcNac derecho (1.66Å y 2.69Å, por ejemplo), así como tres interacciones intramoleculares en las cadenas de GlcN (1.96Å, 2.84Å y 2.92Å) entre uno de los átomos de oxígeno de las moléculas de TPP y uno de los átomos de hidrógeno de las moléculas. También se observa un reacomode de grupos OH de las cadenas poliméricas y un cambio en los ángulos de torsión de las moléculas de TPP. (Rojo=oxígeno, Gris=carbono, Blanco=hidrógeno, Azul=nitrógeno, Naranja=fósforo)

En la Figura 31 se muestra el complejo molecular s8. En su estado original (Figura 31a) ocurren dos interacciones intermoleculares que corresponde a cada una de las moléculas de TPP unidas al trímero de GlcN (derecho) por uno de sus átomos de oxígeno interactuando con un átomo de hidrógeno del grupo amina de la cadena polimérica (2.79Å y 2.92Å).

En el estado optimizado del complejo s8 (Figura 31b.) ocurren varias interacciones intermoleculares entre los átomos de oxígeno de las moléculas de TPP con, para la molécula de TPP inferior, los dos átomos de hidrógeno del grupo amina del trímero de GlcN (2.69Å y 2.49Å). En el caso de la molécula de TPP superior, ocurren 3 interacciones intermoleculares entre los átomos de oxígeno de la molécula de TPP con, dos de ellos, los dos átomos de hidrógeno del grupo amina de la cadena polimérica de GlcN (1.66Å, 2.86Å); y un tercero con un átomo de hidrógeno de un grupo OH (1.84Å) perteneciente al trímero de GlcN.

Además, también puede notarse que dentro del complejo s8 optimizado hay un reacomodo de los grupos OH de las cadenas poliméricas de GlcN, lo que provoca que haya tres interacciones intramoleculares (1.96Å y dos de ellas homologas 2.84Å y 2.92Å), que servirán para dar una mayor estabilidad estructural al sistema. Finalmente, puede notarse un cambio en los ángulos de torsión de las moléculas de TPP.

## VI. CONCLUSIONES

El principal objetivo de esta tesis fue estudiar la capacidad de formación de nanopartículas de quitina y quitosano a través de gelación ionotrópica con tripolifosfato, bajo el esquema de la Teoría de Funcionales de la Densidad (TFD).

- De acuerdo con los resultados analizados tras haber realizado una serie de cálculos cuánticos con el software VASP, se puede determinar que existe una mayor afinidad por parte del ion TPP hacia las moléculas de GlcN en los sistemas de quitosano (s5-s8), en comparación con aquellos sistemas compuestos por moléculas de GlcNAc, en los sistemas de quitina (s1-s4).
- En el caso de los complejos moleculares s1 y s3, después de la optimización, la molécula de TPP interactúa únicamente con las moléculas de CAP cercanas y no forma ningún enlace con las moléculas de GlcNAc. En cambio, las moléculas de GlcNAc del complejo s3 forman puentes de hidrógeno dentro de la misma cadena polimérica. Estas interacciones intramoleculares brindan a la cadena una mayor estabilidad estructural.
- Mientras tanto, los complejos s5 y s7, después de la optimización, muestran una interacción mucho más diversa. Las moléculas de TPP interactúan tanto con las moléculas de CAP como con las moléculas de GlcN, y estas a su vez interactúan entre sí formando una mayor cantidad de enlaces y reforzando la estabilidad estructural de los complejos. Lo que muestra nuevamente que existe una mayor interacción molecular cuando se trabaja con moléculas de GlcN, en lugar de moléculas de GlcNAc. Y esto provoca cambios estructurales en los sistemas estudiados.
- Del mismo modo, se observó que dichas interacciones moleculares se ven mayormente favorecidas con la presencia de la molécula de CAP, tanto en los sistemas con GlcN (s5, s7) como en aquellos con GlcNAc (s1, s3). Por el contrario, en los sistemas s2 y s4 no existe ninguna interacción entre la molécula de TPP.

- Por otra parte, se puede determinar que no hay cambios significativos en ninguno de los complejos moleculares después de haber sometido los sistemas nuevamente a cálculos cuánticos en VASP con la finalidad de realizar una corrección a las fuerzas de van der Waals, mediante el método TS.

Es importante mencionar que los sistemas s1, s3, s5 y s7; son considerados por el software VASP como “demasiado grandes”. Motivo principal por el que los complejos moleculares necesitaron mucho más tiempo de procesamiento y recursos del hardware. Algunos complejos como s3 y s7, por ejemplo, pasaron por un total de 28 y 25 procesos de VASP, respectivamente; tan solo para alcanzar la convergencia de las energías (optimización). Y un total de 9 y 8 procesos en VASP, sin poder realizarse la corrección en las fuerzas de van der Waals (corrección TS) completamente. Dichos procesos se realizaron con el mayor número procesadores y tiempo de procesamiento (7 días y 160 procesadores).

El trabajo realizado durante este proyecto corresponde a un primer acercamiento en el entendimiento de las interacciones intra e intermoleculares que existen entre las moléculas de GlcN y GlcNAc, en conjunto con las moléculas de TPP y CAP. Por tanto, y con base en los resultados obtenidos podemos concluir que el grado de acetilación afecta considerablemente las interacciones moleculares que pudieran existir entre las moléculas de CAP y el ion TPP, conjugadas en este caso con quitina o quitosano.

Del mismo modo, este estudio reveló que, con base en los fundamentos de la gelación ionotrópica con TPP, existen mejores interacciones moleculares cuando los sistemas están compuestos por moléculas de TPP, GlcN y CAP, que por moléculas de GlcNAc y sin presencia de CAP, aun cuando se encuentra presente el TPP; pues se favorecen arreglos moleculares que involucran un gran número de interacciones intra e intermoleculares entre todos los componentes del sistema.

## VII. REFERENCIAS

1. Abegg, P. W. y Ha, T. K. Ab initio calculation of spin-orbital-coupling constant from gaussian lobe scf molecular wavefunctions. *Molecular Physics*. 1974, 27:763-767.
2. Agboh, O. C. y Qin, Y. Chitin and Chitosan Fibers *Polym. Adv. Technol.* 1997, 8, 355–365.
3. Aranaz, I.; Mengibar, M.; Harris, R.; Paños, I.; Miralles, B.; Acosta, N.; Galed, G.; Heras, Á. Functional characterization of chitin and chitosan. *Curr. Chem. Biol.* 2009, 3, 203–230.
4. Arora, R.; Gill, N.S.; Chauhan, G.; Rana, A.C. An Overview about Versatile Molecule Capsaicin. *Int. J. Pharm. Sci. Drug Res.* 2011, 3, 280–286.
5. Azuma, K.; Izumi, R.; Osaki, T.; Ifuku, S.; Morimoto, M.; Saimoto, H.; et al. Chitin, chitosan, and its derivatives for wound healing: old and new materials. *Journal of functional biomaterials*. 2015; 6(1): 104–42. [PubMed: 25780874]
6. Badwan, A. A.; Rashid, I.; Omari, M. M.; Darras, F. H. Chitin and chitosan as direct compression excipients in pharmaceutical applications. *Marine drugs*. 2015; 13(3):1519–47. [PubMed: 25810109]
7. Blackwel, J. Structure of Beta-Chitin or Parallel Chain Systems of Poly-Beta-(1-4)-N-Acetyl-D-Glucosamine. *Biopolymers* 1969, 7 (3), 281–298.
8. Becke A. D. Density-functional thermochemistry. III. the role of exact exchange. *Journal Chemical Physics*. 1993, 98:5648-5652.
9. Becke A. D. A new mixing of hartree-fock and local density-functional theories. *Journal Chemical Physics*. 1993, 98:1373-1377.
10. Beggs, S., Liu, X. J., Kwan, C. & Salter, M. W. Peripheral nerve injury and TRPV1-expressing primary afferent C-fibers cause opening of the blood-brain barrier. *Molecular Pain* 6 (2010).
11. Bennett, D. J.; Kirby, G. W. Constitution and biosynthesis of capsaicin. *Journal of the Chemical Society C: Organic*, 1968, 442-446.
12. Bevan, S.; Szolcsanyi, J. Sensory neuron-specific actions of capsaicin: mechanisms and applications. *Trends Pharmacol. Sci.* 1990, 11, 330–333.

13. Bodmeier, R.; Oh, K.H.; Pramar, Y. Preparation and evaluation of drug-containing chitosan beads, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 1989, 15, 1475-1494.
14. Bowman, S. M.; Free, S. J. The structure and synthesis of the fungal cell wall. *BioEssays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology*. 2006; 28(8):799–808.
15. Brederson, J.D.; Kym, P.R.; Szallasi, A. Targeting TRP channels for pain relief. *Eur. J. Pharmacol.* 2013, 716, 61–76.
16. Bronich, T. K.; Keifer, P. A.; Shlyakhtenko, L. S. y Kabanov, A. V. Polymer micelle with cross-linked ionic core. *J. Am. Chem. Soc.* 2005, 127, 8236-8237.
17. Brugnerotto, J.; Desbrie`res, J.; Heux, L.; Mazeau, K.; Rinaudo, M. *Macromol. Symp.* 2001, 168, 1–20.
18. Carlstrom, D. The Crystal Structure of Alpha-Chitin (PolyN-Acetyl-D-Glucosamine). *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1957, 3 (5), 669–683.
19. Caterina, M. J. et al. The capsaicin receptor: A heat-activated ion channel in the pain pathway. *Nature* 389, 816–824 (1997).
20. Chandrakumar, K.R.S. y Pal, S. *The concept of density functional theory based descriptors and its relation with the reactivity of molecular systems: a semi quantitative study*, *Int. J. Mol. Sci.* 3 2002, 324–337.
21. Chen, J., Huang, G., Tan, S., Guo, J., & Su, Z. (2013). The Preparation of Capsaicin-Chitosan Microspheres (CCMS) Enteric Coated Tablets. *Int. J. Mol. Sci.*, 14, 24305-24319.
22. Choi, A., Kim, C., Cho, Y., Hwang, J., & Kim, C. (2011). Characterization of Capsaicin-Loaded Nanoemulsions Stabilized with Alginate and Chitosan by Self-assembly. *Food Bioprocess Technol.*, 4, 1119-1126.
23. Choi, A., Kim, C., Park, H., Kim, H., Lee, N., Lee, K., & Gwak, H. (2013). Pharmacokinetic Characteristics of Capsaicin-Loaded Nanoemulsions Fabricated with Alginate and Chitosan. *J. Agric. Food Chem.*, 61, 2096-2102.
24. Clark, R.; Lee, S. Anticancer Properties of Capsaicin against Human Cancer. *Anticancer Res.* 2016, 36, 837–844.

25. Contri, R., Soares, R., Pohlmann, A., & Guterres, S. (2014). Structural analysis of chitosan hydrogels containing polymeric nanocapsules. *Materials Science and Engineering C*, 42, 234-242.
26. Contri, R., Katzer, T., Pohlmann, A., & Guterres, S. (2010). Chitosan Hydrogel Containing Capsaicinoids Loaded Nanocapsules: An Innovative Formulation For Topical Delivery. *Soft Materials*, 8(4), 370-385.
27. Contri, R., Frank, L., Kaiser, M., Pohlmann, A., & Guterres, S. (2014). The use of nanoencapsulation to decrease human skin irritation caused by capsaicinoids. *International Journal of Nanomedicine*, 951-962.
28. Cortright, D. N.; Szallasi, A. Biochemical pharmacology of the vanilloid receptor TRPV1. *Eur. J. Biochem.* 2004, 271, 1814-1819.
29. Cunha, R. A., Soares, T. A., Rusu, V. H., Pontes, F. J., Franca, E. F., y Lins, R. D. (2012). *The Complex World of Polysaccharides*. Chapter 9: The Molecular Structure and Conformational Dynamics of Chitosan Polymers: An Integrated Perspective from Experiments and Computational Simulations). INTECH open science, open minds.
30. Curry, J.; Aluru, M.; Mendoza, M.; Nevarez, J.; Melendrez, M.; O'Connell, M.A. Transcripts for possible capsaicinoid biosynthetic genes are differentially accumulated in pungent and non-pungent *Capsicum*. *Plant Sci.* 1999, 148, 47–57.
31. Dash, M.; Chiellini, F.; Ottenbrite, R. M.; y Chiellini, E. Chitosan-A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications *Prog. Polym. Sci.*, 2011, 36, 981-1014.
32. Delezuk, J. A., Cardoso, M. B., Domard, A., y Campana-Filho, S. P. (2011). Ultrasound-assisted deacetylation of beta-chitin: influence of processing parameters. *Polymer International*, 60(6), 903-909.
33. Domard, A. (2011). A perspective on 30 years research on chitin and chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 84, 696-703.
34. Domard, A.; Rinaudo, M. *Int. J. Biol. Macromol.* 1983, 5, 49-52.

35. Dr. Hartree. The wave mechanics of an atom with a non-coulomb central field part I theory and methods. Proceedings of the Cambridge Philosophical Society. 1928, 24:89-110.
36. Dr. Hartree. The wave mechanics of an atom with a non-coulomb central field part II some results and discussion. Proceedings of the Cambridge Philosophical Society. 1928, 24:111-132.
37. Dr. Hartree. The wave mechanics of an atom with a non-coulomb central field part I term values and intensities in series an optical spectra. Proceedings of the Cambridge Philosophical Society. 1928 24:426-437.
38. Dubecký, M.; Derian, R.; Mitas, L. y Stich. I. Ground and excited electronic states of azobenzene: A quantum monte carlo study. The Journal of Chemical Physics, 2010, 133(24):244301.
39. Dutta, P. K.; Dutta, J.; Tripathi, V. S. Chitin and Chitosan: Chemistry, Properties and Applications. J. Sci. Ind. Res. 2004, 63 (1), 20–31.
40. Dweltz, N. E. Structure of Beta-Chitin. Biochim. Biophys. Acta 1961, 51 (2), 283–294.
41. Elieh-Ali-Komi, D., and Hamblin, M. R. (2016). Chitin and Chitosan: Production and Application of Versatile Biomedical Nanomaterials. *International Journal of Advanced Research*, 4(3), 411–427.
42. Finney NS, Jay In Memoriam: Albert Hofmann (1906–2008) CHIMIA International Journal for Chemistry. 2008
43. Fiolhais, C.; Noguera, F. y Marques, M. A Primer In Density Funcional Theory. Lecture Notes in Physics. Ed. Springer. 2003
44. Friedman, A. J.; Phan, J.; Schairer, D. O.; Champer, J.; Qin, M.; Pirouz, A., et al. Antimicrobial and antiinflammatory activity of chitosan-alginate nanoparticles: a targeted therapy for cutaneous pathogens. The Journal of investigative dermatology. 2013; 133(5):1231–9. [PubMed: 23190896].
45. Garcia Birolli, W., De Moura Delezuk, J. A., y Campana-Filho, S. P. (2016). Ultrasound-assisted conversion of alpha-chitin into chitosan. Applied Acoustics, 103, 239-242.



46. Gardner, K. H. y Blackwell, J. Refinement of Structure of BetaChitin. *Biopolymers* 1975, 14 (8), 1581–1595.
47. Ghosh, A. K.; Basu, S. Fas-associated factor 1 is a negative regulator in capsaicin induced cancer cell apoptosis. *Cancer Lett.* 2010, 287, 142–149.
48. Gibbs, G.; Tobin, J. M.; Guibal, E. Sorption of Acid Green 25 on Chitosan: Influence of Experimental Parameters on Uptake Kinetics and Sorption Isotherms. *J. Appl. Polym. Sci. Conclusion* 2003, 90 (4), 1073–1080.
49. Goldberg, S. H.; Von Feldt, J. M.; Lonner, J. H. Pharmacologic therapy for osteoarthritis. *Am J Orthop.* 2002, 31:673–680.
50. Gooday, G. W. The Ecology of Chitin Degradation. *Advances in Microbial Ecology.* 1990.
51. Govindarajan, V.S.; Sathyanarayana, M.N. Capsicum-production, technology, chemistry, and quality. Part V. Impact on Physiology, Pharmacology, Nutrition, and Metabolism; Structure, Pungency, Pain, and Desensitization Sequences. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 1991, 29, 435–473.
52. Goycoolea, F., Valle-Gellego, A., Stefani, R., Menchicchi, B., David, L., Rochas, C., . . . Alonso, M. (2012). Chitosan-based nanocapsules: physical characterization, stability in biological media and capsaicin encapsulation. *Colloid Polym Sci*, 290, 1423-1434.
53. Helgaker, T. y Jorgensen, P. Analytical calculation of geometrical derivatives in molecular electronic structure theory. *Advances in Quantum Chemistry.* 1988, 19:183-245.
54. Hohenberg, P. y Khon, W. Inhomogeneous electron gas. *Physical Review.* 1964, 136(3B): B864-B871.
55. Hsieh, J. W.; Wu, H. S.; Wei, Y. H.; Wang, S. S. Determination and kinetics of producing glucosamine using fungi. *Biotechnol Prog.* 2007, 23:1009–1016.
56. Hu, L.; Sun, Y. y Wu, Y. Advances in chitosan-based drug delivery vehicles *Nanoscale*, 2013, 5, 3103-3111.
57. Igarashi, M.; Sakamoto, K.; Nagaoka, I. Effect of glucosamine, a therapeutic agent for osteoarthritis, on osteoblastic cell differentiation. *Int J Mol Med.* 2011, 28:373–379

58. Janes, K. A. y Alonso, M. J. Depolymerized chitosan nanoparticles for protein delivery: Preparation and characterization. *J. Appl. Polym. Sci.* 2003, 88, 2769-2776.
59. Kaiser, M. & Goycoolea, F. M. in *Capsaicin: Food Sources, Medical Uses and Health Implications* (ed Gilliam, B.) 53–74 (Nova Science Publishers, 2014).
60. Kaiser, M., Kirsch, B., Hauser, H., Schneider, D., Seuß-Baum, I., & Goycoolea, FM. (2015). *In Vitro and Sensory Evaluation of Capsaicin-Loaded Nanoformulations*. *PLoS ONE*, 10(10), e0141017.
61. Kang, J.H.; Kim, C.S.; Han, I.S.; Kawada, T.; Yu, R. Capsaicin, a spicy component of hot peppers, modulates adipokine gene expression and protein release from obese-mouse adipose tissues and isolated adipocytes, and suppresses the inflammatory responses of adipose tissue macrophages. *FEBS Lett.* 2007, 581, 4389–4396.
62. Kawahara, M.; Yui, T.; Oka, K.; Zugenmaier, P.; Suzuki, S.; Kitamura, S.; Okuyama, K. y Ogawa, K. Fourth 3d Structure of the Chitosan Molecule: Conformation of Chitosan in Its Salts with Medical Organic Acids Having a Phenyl Group. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2003, 67 (7), 1545–1550.
63. Kehie, M.; Kumaria, S.; Tandon, P. Manipulation of culture strategies to enhance capsaicin biosynthesis in suspension and immobilized cell cultures of *Capsicum chinense* Jacq. cv. Naga King Chili. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 2014, 37, 1055–1063.
64. Kim, C.S.; Kawada, T.; Kim, B.S.; Han, I.S.; Choe, S.Y. Capsaicin exhibits anti-inflammatory property by inhibiting I $\kappa$ B- $\alpha$  degradation in LPS-stimulated peritoneal macrophages. *Cell Signal.* 2003, 15, 299–306.
65. Kim, I. Y.; Seo, S. J.; Moon, H. S.; Yoo, M. K.; Park, I. Y.; Kim, B. C.; Cho, C. S. Chitosan and Its Derivatives for Tissue Engineering Applications. *Biotechnol. Adv.* 2008, 26 (1), 1–21.
66. Knorr, D. Dye Binding-Properties of Chitin and Chitosan. *J. Food Sci.* 1983, 48 (1), 36–37.

67. Ko, J. A.; Park, H. J.; Hwang, S. J.; Park, J. B.; Lee, J. S. Preparation and characterization of chitosan microparticles intended for controlled drug delivery, *Int. J. Pharm.* 2002, 249 165-174.
68. Kohn, W. y Sham, L. J. Self-consistent equations including exchange and correlation effects. *Physical Review*. Nov 1965, 140(4A): A1133-A1138.
69. Koopmans, T. A. Über die Zuordnung von Wellenfunktionen und Eigenwerten zu den einzelnen Elektronen eines atoms, *Physica* 1. 1934, 104–113.
70. Lamarque, G.; Lucas, J. M.; Viton, C. y Domard, A. Physicochemical Behavior of Homogeneous Series of Acetylated Chitosans in Aqueous Solution: Role of Various Structural Parameters *Biomacromolecules* 2005, 6, 131–142.
71. Leete, E., & Loudon, M. C. (1968). Biosynthesis of capsaicin and dihydrocapsaicin in *Capsicum frutescens*. *Journal of the American Chemical Society*, 90(24), 6837-6841.
72. Lertworasirikul, A.; Tsue, S.; Noguchi, K.; Okuyama, K.; Ogawa, K. Two Different Molecular Conformations Found in Chitosan Type II Salts. *Carbohydr. Res.* 2003, 338 (11), 1229–1233.
73. Lertworasirikul, A.; Yokoyama, S.; Noguchi, K.; Ogawa, K. y Okuyama, K. Molecular and Crystal Structures of Chitosan/Hi Type I Salt Determined by X-Ray Fiber Diffraction. *Carbohydr. Res.* 2004, 339 (4), 825–833.
74. Levy, M. y Perdew, J. P. In defense of the hohenberg-kohn theorem and density functional theory. *International Journal of Quantum Chemistry*. 1982, 21:511-513.
75. Levy, M. Electron densities in search of hamiltonians. *Physical Review*, 26(A):2745-2748, Nov 1984.
76. Li, Q. X.; Song, B. Z.; Yang, Z. Q.; Fan, H. L. Electrolytic Conductivity Behaviors and Solution Conformations of Chitosan in Different Acid Solutions. *Carbohydr. Polym.* 2006, 63 (2), 272–282.
77. Liu, C. X.; Bai, R. B. Adsorptive Removal of Copper Ions with Highly Porous Chitosan/Cellulose Acetate Blend Hollow Fiber Membranes. *J. Membr. Sci.* 2006, 284 (1-2), 313–322.

78. Liu, Z.; Jiao, Y.; Wang, Y.; Zhou, C. y Zhang, Z. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems. *Adv. Drug Delivery Rev.* 2008, 60, 1650–1662.
79. Lu, B.; Xiong, S.-B.; Yang, H.; Yin, X.-D. y Zhao, R.-B. Mitoxantrone-loaded BSA nanospheres and chitosan nanospheres for local injection against breast cancer and its lymph node metastases: I: Formulation and in vitro characterization. *Int. J. Pharmaceut.* 2006, 307, 168-174.
80. Maghami, G. G.; Roberts, G. A. F. Studies on the Adsorption of Anionic Dyes on Chitosan. *Makromol. Chem.* 1988, 189 (10), 2239–2243.
81. Manni, L.; Ghorbel-Bellaaj, O.; Jellouli, K.; Younes, I.; Nasri, M. Extraction and characterization of chitin, chitosan, and protein hydrolysates prepared from shrimp waste by treatment with crude protease from *Bacillus cereus* SV1, *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2010, vol.162, no. 2, pp.345–357.
82. Martin J. M. L. y Glénisson de Olivera. Towards standard methods for benchmark quality ab initio thermochemistry-w1 and w2 theory. *Journal of Chemical Physics*. 1999, 105(5):1843-1856.
83. Mazeau, K.; Pérez, S. y Rinaudo, M. J. Predicted Influence of N-Acetyl Group Content on the Conformational Extension of Chitin and Chitosan Chains *Carbohydr. Chem.* 2000, 19, 1269–1284.
84. Mazeau, K.; Rinaudo, M. The Prediction of the Characteristics of Some Polysaccharides from Molecular Modeling. Comparison with Effective Behavior. *Food Hydrocolloids* 2004, 18 (6), 885–898
85. Meghvansi, M. K. et al. Naga chilli: A potential source of capsaicinoids with broad-spectrum ethnopharmacological applications. *J. Ethnopharmacol.* 132, 1–14 (2010).
86. Mi, F. L.; Shyu, S. S.; Lee, S. T.; Wong, T. B. Kinetic study of chitosan-tripolyphosphate complex reaction and acid-resistive properties of the chitosan-tripolyphosphate gel beads prepared by in-liquid curing method, *J. Polym. Sci, Part B: Polym Phys*, 1999, 37, 1551-1564.
87. Minke, R. y Blackwell, J. Structure of Alpha-Chitin. *J. Mol. Biol.* 1978, 120 (2), 167–181.

88. Mogilevskaya, E. L.; Akopova, T. A.; Zelenetskii, A. N. y Ozerin, A. N. The Crystal Structure of Chitin and Chitosan. *Polym. Sci., Ser. A* 2006, 48 (2), 116–123.
89. Molina-Torres, J.; Garcia-Chavez, A.; Ramirez-Chavez, E. Antimicrobial properties of alkamides present in flavoring plants traditionally used in Mesoamerica: Affinin and capsaicin. *J. Ethnopharmacol.* 1999, 64, 241–248.
90. Nishihara, K.; Nozawa, Y.; Nakano, M.; Ajioka, H.; Matsuura, N. Sensitizing effects of lafutidine on CGRP-containing afferent nerves in the rat stomach. *Br. J. Pharmacol.* 2002, 135, 1487-1494.
91. No, H. K., y Meyers, S. P. (1995). Preparation and Characterization of Chitin and Chitosan-A Review. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 4(2), 27-52.
92. Ogawa, K.; Yui, T.; Okuyama, K. Three D Structures of Chitosan. *Int. J. Biol. Macromol.* 2004, 34 (1-2), 1–8.
93. Okuyama, K.; Noguchi, K.; Hanafusa, Y.; Osawa, K. y Ogawa, K. Structural study of anhydrous tendon chitosan obtained via chitosan/acetic acid complex. *Int. J. Biol. Macromol.* 1999, 26, 285–293.
94. Okuyama, K.; Noguchi, K.; Kanenari, M.; Egawa, T.; Osawa, K. y Ogawa, K. Structural Diversity of Chitosan and Its Complexes. *Carbohydr. Polym.* 2000, 41 (3), 237–247.
95. Ospina Alvarez, S. P.; Ramirez Cadavid, D. A.; Escobar Sierra, D. M.; Ossa Orozco, C. P.; Rojas Vahos, D. F.; Zapata Ocampo, P.; et al. Comparison of extraction methods of chitin from *Ganoderma lucidum* mushroom obtained in submerged culture. *BioMed research international.* 2014; 2014:169071. [PubMed: 24551839]
96. Parr, R.G.; Donnelly, R.A.; Levy, M. y Palke, W.E. *Electronegativity-the density functional viewpoint*, *J. Chem. Phys.* 68, 1978, 3801–3807.
97. Parr, R. G.; Yang, W. *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules.* Oxford University Press. 1989.
98. Pelletier, A.; Lemire, I.; Sygusch, J.; Chornet, E.; Overend, R. P. *Biotechnol. Bioeng.* 1990, 36, 310-315.
99. Peng, J.; Li, Y. J. The vanilloid receptor TRPV1: role in cardiovascular and gastrointestinal protection. *Eur. J. Pharmacol.* 2010, 627, 1–7.

100. Prasad, N.B.C.; Shrivastava, R.; Ravishankar, G.A. Capsaicin as multifaceted drug from *Capsicum* spp. *Evid. Based Int. Med.* 2005, 2, 147–166.
101. Pusateri, A. E.; McCarthy, S. J.; Gregory, K. W.; Harris, R. A.; Cardenas, L.; McManus, A. T.; et al. Effect of a chitosan-based hemostatic dressing on blood loss and survival in a model of severe venous hemorrhage and hepatic injury in swine. *The Journal of trauma.* 2003; 54(1):177–82. [PubMed: 12544915]
102. Raafat, D.; Sahl, H. G. Chitosan and its antimicrobial potential—a critical literature survey. *Microbial biotechnology.* 2009; 2(2):186–201. [PubMed: 21261913]
103. Ramakrishnan, C. y Prasad, N. Study of Hydrogen Bonds in Amino Acids and Peptides. *Int. J. Protein Res.* 1971, 3 (4), 209–231.
104. Rathke, T. D.; Hudson, S. J. *Macromol. Sci.sRev. Macromol. Chem. Phys. C,* 1994, 3, 375-437.
105. Ravi Kumar, M. N. V. A Review of Chitin and Chitosan Applications. *React. Funct. Polym.* 2000, 46 (1), 1–27.
106. Revoredo, O. B.; Nieto, O. M.; Suarez, Y.; Garcia, V.; Fernandez, M.; Iraizoz, A.; Henriques, R. D. Applications of Chitin and Chitosan in Pharmacy and Cosmetology. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2006, 28, S7–S8.
107. Reyes-Escogido, M. L.; Gonzalez-Mondragon, E. G.; Vazquez-Tzompantzi, E. Chemical and pharmacological aspects of capsaicin. *Molecules* 2011, 16, 1253-1270.
108. Rinaudo, M. Chitin and Chitosan: Properties and Applications. *Prog. Polym. Sci.* 2006, 31 (7), 603–632.
109. Robert, G. A. *Chitin Chemistry*; MacMillan Press: London, 1992.
110. Rubin, B. R.; Talent. J. M.; Kongtawelert, P.; Pertusi, R. M.; Forman, M. D.; Gracy, R. W. Oral polymeric N-acetyl-D-glucosamine and osteoarthritis. *J Am Osteopath Assoc.* 2001, 101:339–344
111. Ruel-Gariepy, E.; Leroux, J. C. *Chitosan: A Natural Polycation with Multiple Applications*; American Chemical Society: Montreal, 2006; p 384.
112. Sandoval-Peraza, V. M.; Cu-Cañetas, T.; Peraza-Mercado, G. y Acereto-Escoffié, P. O. M. Introducción en los procesos de encapsulación de moléculas

- nutracéuticas. En M.E. Ramírez Ortiz (Ed.). Alimentos Funcionales de Hoy. Barcelona, España: OmniaScience. 181-218.
113. Sannan, T.; Kurita, K.; Iwakura, Y. Studies on Chitin. 2. Effect of Deacetylation on Solubility. *Makomol. Chem.* 1976, 177 (12), 3589–3600.
  114. Sashiwa, H.; Fujishima, S.; Yamano, N.; Kawasaki, N.; Nakayama, A.; Muraki, E.; Hiraga, K.; Oda, K.; Aiba, S. Production of Nacetyl-D-glucosamine from  $\alpha$ -chitin by crude enzymes from *Aeromonas hydrophila* H-2330. *Carbohydr Res.* 2002, 337:761–763
  115. Schatz, C.; Viton, C.; Delair, T.; Pichot, C. y Domard, A. Typical Physicochemical Behaviors of Chitosan in Aqueous Solution. *Biomacromolecules.* 2003, 4, 641-648.
  116. Sitanggang, A. B.; Wu, H. S.; Wang, S. S.; Ho, Y. C. Effect of pellet size and stimulating factor on the glucosamine production using *Aspergillus* sp. BCRC 31742. *Bioresour Technol.* 2010, 101:3595–3601
  117. Smitha, B.; Sridhar, S.; Khan, A. A. Chitosan-Poly (Vinyl Pyrrolidone) Blends as Membranes for Direct Methanol Fuel Cell Applications. *J. Power Sources* 2006, 159 (2), 846-854.
  118. Sorlier, P.; Denuzière, A.; Viton, C.; Domard, A. *Biomacromolecules.* 2001, 2, 765–772.
  119. Srinivasan Parthiban, Glénisson de Olivera y Martin, J. M. L. Benchmark ab initio energy profiles for the gas-phase  $sn_2$  reactions  $y + ch_3x \rightarrow ch_3y + x$  ( $x, y = f, cl, br$ ). Validation of hybrid TFD methods. *Journal of Physical Chemical A.* 2001, 105:895-904.
  120. Stefan Grimme. *Journal of Computational.* 2004, 25 12, 1463-1473.
  121. Stewart J. J. P. Optimization of parameters for semiempirical methods. i. method. *Journal Computer Chemical.* 1989, 10:209-220.
  122. Stewart J. J. P. Optimization of parameters for semiempirical methods. v. modification of nndo approximations and application to 70 elements. *Journal Molecular Modeling.* 2007, 13:1173-213.
  123. Sukhlaaied, W., & Riyajan, S. (2016). Preparation and properties of a novel environmentally friendly film from maleated poly(vinyl alcohol) grafted with



- chitosan in solution form: the effect of different production factors. *Polym. Bull.*, 73, 791-813.
124. Tan, S., Gao, B., Tao, Y., Guo, J., & Su, Z. (2014). Antiobese Effects of Capsaicin–Chitosan Microsphere (CCMS) in Obese Rats Induced by High Fat Diet. *J. Agric. Food Chem.*, 62, 1866-1874.
125. Tkatchenko, A. and Scheffler, M. “Accurate molecular van der waals interactions from ground-state electron density and free-atom reference data”, *Phys. Rev. Lett.* 102, 073005 (2009).
126. Tominaga, M.; Tominaga, T. Structure and function of TRPV1. *Pflugers Arch.* 2005, 451, 143-150.
127. Uragami, T.; Yoshida, F.; Sugihara, M. Studies of Synthesis and Permeabilities of Special Polymer Membranes 0.51. Active-Transport of Halogen Ions through Chitosan Membranes. *J. Appl. Polym. Sci.* 1983, 28 (4), 1361–1370.
128. Vieira, R. S.; Beppu, M. M. Dynamic and Static Adsorption and Desorption of Hg(II) Ions on Chitosan Membranes and Spheres. *Water Res.* 2006, 40 (8), 1726–1734.
129. Vyas, A.; Saraf, S.; Saraf, S. Encapsulation of cyclodextrin complexed simvastatin in chitosan nanocarriers: A novel technique for oral delivery. *J. Inclusion Phenom. Macrocyclic Chem.* 2010, 66, 251259.
130. Walpole, C., Bevan, S., Bloomfield, G., Breckenridge, R., James, I., Ritchie, T., . . . Wrigglesworth, R. (1996). Similarities and Differences in the Structure-Activity Relationships of Capsaicin and Resiniferatoxin Analogues. *J. Med. Chem.*, 39, 2939-2952.
131. Weinhold, M.X.; Sauvageau, J.C.M.; Keddig, N.; Matzke, M.; Tartsch, B.; Grunwald, I.; Kübel, C.; Jastorff, B.; Thöming, J. Strategy to improve the characterization of chitosan for sustainable biomedical applications: SAR guided multi-dimensional analysis. *Green Chem.* 2009, 11, 498–509.
132. Wu, Q.; Yang, W., *J Chem Phys*, 116, 515, 2002.
133. Yamaguchi, I.; Itoh, S.; Suzuki, M.; Sakane, M.; Osaka, A. y Tanaka, J. The chitosan prepared from crab tendon I: the characterization and the mechanical properties *Biomaterials* 2003, 24, 2031–2036.



134. Yang, T. L. Chitin-based materials in tissue engineering: applications in soft tissue and epithelial organ. *International journal of molecular sciences*. 2011; 12(3):1936–63. [PubMed: 21673932]
135. Yen, Ming-Tsung; Y, J-H.; Mau, Jeng-Leun. *Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells*. Elsevier Ltd; 2009
136. Youn, D. K.; No, H. K.; Prinyawiwatkul, W. Preparation and characteristics of squid pen  $\beta$ -chitin prepared under optimal deproteinisation and demineralisation condition. *International Journal of Food Science and Technology*. 2013, vol. 48, no. 3, pp.571-577.
137. Younes, I.; Hajji, S.; Frachet, V.; Rinaudo, M.; Jellouli, K.; Nasri, M. Chitin extraction from shrimp shell using enzymatic treatment. Antitumor, antioxidant and antimicrobial activities of chitosan, *International Journal of Biological Macromolecules*. 2014, vol. 69, pp. 489–498.
138. Younes I, Rinaudo M. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine drugs*. 2015; 13(3):1133–74. [PubMed: 25738328]
139. Yui, T.; Imada, K.; Okuyama, K.; Obata, Y.; Suzuki, K. y Ogawa, K. Molecular and Crystal-Structure of the Anhydrous Form of Chitosan. *Macromolecules* 1994, 27 (26), 7601-7605.
140. Zamani, A. y Taherzadeh, M. J. Production of superabsorbents from fungal chitosan. *Iranian Polymer Journal*. 2012, vol. 21, no. 12, pp. 845–853.
141. Zhang, J.; Nagasaki, M.; Tanaka, Y.; Morikawa, S. Capsaicin inhibits growth of adult T-cell leukemia cells. *Leuk. Res*. 2003, 27, 275–283.
142. Zhou, D.; Zhang, L.; Guo, S. L. Mechanisms of Lead Biosorption on Cellulose/Chitin Beads. *Water Res*. 2005, 39 (16), 3755–3762.
143. Zhu, Y., Wang, M., Zhang, J., Peng, W., Firempong, C., Deng, W., . . . Xu, X. (2014). Improved oral bioavailability of capsaicin via liposomal nanoformulation: preparation, in vitro drug release and pharmacokinetics in rats. *Arch. Pharm. Res*.

## VIII. APENDICE

### 8.1. INTRODUCCIÓN A LOS CÁLCULOS TFD EN VASP

En particular, la TFD con un ajuste base de onda plana es ampliamente utilizada para simular estructuras cristalinas a granel y superficies. Las estructuras de mínima energía pueden relajarse desde conjeturas iniciales., produciendo longitudes de enlace y simetrías calculadas o ambientes de coordinación para posiciones atómicas derivadas de la técnica XSW (X-ray Standing Wave). Información adicional como las propiedades electrónicas y químicas de la superficie se pueden calcular para la predicción de procesos químicos superficiales.

El objetivo del presente Apéndice es demostrar cómo preparar, ejecutar y analizar los cálculos TFD utilizando VASP. Se hará mención de los archivos de entrada y salida que se ocuparon durante este estudio, así como de las modificaciones que se realizaron en ellos. Si se desea saber más sobre el funcionamiento y configuración de VASP puede revisar el manual oficial de forma gratuita abriendo el siguiente enlace: <http://cms.mpi.univie.ac.at/vasp/vasp/vasp.html>

### 8.2. ARCHIVOS DE ENTRADA: INCAR, POTCAR, POSCAR Y KPOINTS

#### 8.2.1. INCAR

Este archivo contiene la información de todos los parámetros con los que trabajará VASP sobre nuestro sistema. A continuación, se da una descripción de los parámetros que fueron modificados durante la investigación.

- ENCUT: corresponde a la energía de corte para la base de onda plana establecida en eV. Todas las ondas planas con una energía cinética más pequeña que  $E_{cut}$  se incluyen en el conjunto base:  $|G + k| < G_{cut}$  con  $E_{cut} = \frac{\hbar^2}{2m} G_{cut}^2$ .

```

SYSTEM = s2_2G_1TPP
ISTART = 0
ICHARG = 2
INIWAV = 1
NELM = 80
NELMIN = 8
NELMDL = -5
EDIFF = 10E-7
EDIFFG = -1.2E-2
ENCUT = 400
ISYM = -1
ISMEAR = 0
SIGMA = 0.01
IBRION = 1
NFREE = 10
ISIF = 2
NSW = 1000
POTIM = 0.5
LREAL = AUTO
NPAR = 4
LPLANE = TRUE
IVDW = 2

```

•NPAR: Numero de núcleos por nodo de computo. Determina el grado de paralelización a utilizarse en computadoras multinúcleo para cálculos de estructura de banda. NPAR = 4

•ISIF: para la mayoría de los cálculos de bloque, los parámetros de enrejado son fijados para aplicar las condiciones de bloque. Las fuerzas de los iones son calculadas, y los iones se permiten relajarse (a parte de aquellos que están fijados). ISIF controla si el medidor de estrés se calcula. El cálculo del medidor de estrés consume relativamente mucho tiempo, y además se encuentra desactivado para simulaciones de dinámica molecular ab initio.

Las fuerzas siempre se calculan. En adición, ISIF determina cuales grados de libertad (iones, volumen de la celda, forma de la celda) son permitidos de ser cambiados. La siguiente tabla muestra los valores de ISIF. Por el momento los cambios en la celda solo son soportados para relajaciones y no para simulaciones de dinámica molecular (El valor para nuestros estudios es ISIF=2)

ISIF	Calcular fuerza	Calcular medidor de estrés	Relajar iones	Cambiar forma de la celda	Cambiar volumen de la celda
0	Si	No	Si	No	No
1	Si	Solo rastro*	Si	No	No
2	Si	Si	Si	No	No
3	Si	Si	Si	Si	Si
4	Si	Si	Si	Si	No
5	Si	Si	No	Si	No
6	Si	Si	No	Si	Si
7	Si	Si	No	No	Si

\*Solo rastro, quiere decir que solo la presión total.

- NSW: este parámetro ajusta el número de pasos de relajación iónica antes de que se complete el proceso VASP. El número es arbitrario, pero modificarlo supuso una utilidad ya que los sistemas moleculares que se estudiaron son demasiado grandes y requieren mayor tiempo de procesamiento.
- IVDW: Corresponde a la línea que se agrega para indicar a VASP que realice la corrección TS (Ver apartado 4.5)

## 8.2.2. POTCAR

```
PAW_PBE C 08Apr2002
4.000000000000000
parameters from PSCTR are:
VRHFIN =C: s2p2
LEXCH = PE
EATOM = 147.1560 eV, 10.8157 Ry

TITEL = PAW_PBE C 08Apr2002
LULTRA = F use ultrasoft PP ?
IUNSCR = 1 unscreen: 0-lin 1-nonlin 2-no
RPACOR = 1.200 partial core radius
POMASS = 12.011; ZVAL = 4.000 mass and valenz
RCORE = 1.500 outmost cutoff radius
RWIGS = 1.630; RWIGS = 0.863 wigner-seitz radius (au A)
ENMAX = 400.000; ENMIN = 300.000 eV
ICORE = 2 local potential
LCOR = T correct aug charges
LPAW = T paw PP
EAUG = 644.873
DEXC = 0.000
RMAX = 1.529 core radius for proj-oper
RAUG = 1.300 factor for augmentation sphere
RDEP = 1.501 radius for radial grids
RDEPT = 1.300 core radius for aug-charge

Atomic configuration
4 entries
n l j E occ.
1 0 0.50 -273.3789 2.0000
2 0 0.50 -13.7508 2.0000
2 1 0.50 -5.2854 2.0000
3 2 1.50 -5.4423 0.0000
Description
l E TYP RCUT TYP RCUT
0 -13.7508458 23 1.200
0 -8.2022199 23 1.200
1 -5.2854383 23 1.500
1 34.0145650 23 1.500
2 -5.4423304 7 1.500
```

finalmente P.

Este archivo contiene la información de los pseudopotenciales para los átomos con los que se trabaja

El orden de los pseudopotenciales en el POTCAR debe coincidir con el orden descrito en los archivos POSCAR e INCAR. Por lo tanto, si el orden de átomos en POTCAR es C, H, O, N, P, entonces el archivo POSCAR debe contener las coordenadas atómicas de C, luego H, luego O, luego N y

## 8.2.3. POSCAR

```
$? 2G 1TPP_2CAP
1.000000000000000
34.00000000000000 0.00000000000000 0.00000000000000
0.000000000000000 10.00000000000000 0.00000000000000
0.000000000000000 0.000000000000000 26.00000000000000
C H O N P
48 80 26 4 3
Cartesian
5.288336 3.347068 9.684766
3.111336 3.348068 10.920766
3.826336 3.806068 12.175766
5.270336 3.347068 12.185766
6.002336 3.803068 10.940766
1.676336 3.908068 10.909766
23.797336 3.185068 9.636766
25.080336 3.156068 10.858766
25.266336 2.717068 12.120766
23.029336 3.201068 12.136766
23.082336 2.750068 10.899766
27.405336 2.574068 10.843766
18.128336 3.314068 17.546766
18.026336 3.319068 18.938766
19.180336 3.310068 19.722766
20.436336 3.294068 19.115766
20.538336 3.287068 17.723766
19.384336 3.298068 16.939766
16.855336 3.325068 16.681766
13.099336 3.326068 17.640766
21.674336 3.435068 15.688766
11.826336 3.328068 16.774766
10.585336 3.329068 17.687766
9.311336 3.332068 16.821766
8.071336 3.332068 17.734766
6.797336 3.335068 16.868766
5.556336 3.335068 17.780766
14.340336 3.325068 16.728766
5.575336 4.592068 18.671766
5.571336 2.077068 18.668766
10.713336 3.213068 4.111766
10.941336 3.231068 2.734766
9.863336 3.229068 1.849766
8.557336 3.208068 2.339766
8.329336 3.190068 3.715766
9.407336 3.193068 4.601766
11.903336 3.216068 5.088766
```

Este archivo contiene las coordenadas de los átomos que conforman nuestro sistema, así como las dimensiones de la celda. La configuración inicial de los átomos está incluida en este archivo. A continuación, se muestra uno de los archivos POSCAR utilizados durante el estudio.

La primera línea corresponde a un comentario, en este caso, el nombre que hemos dado a nuestro sistema. La segunda línea describe un factor de escala universal, que se usa para

escalar todos los vectores de la celda y todas las coordenadas atómicas.

A continuación, tres líneas que definen la dimensión de los vectores de la celda (en Å), en este caso tenemos una celda rectangular con  $a=34$ ,  $b=10$ ,  $c=26$ . A continuación, tenemos las especies atómicas que conforman nuestro sistema e inmediatamente el número de átomos correspondiente a cada especie (en este caso 48 C, 80 H, 26 O, 4 N y 3 P). La línea "Cartesian" indica a VASP que las posiciones se están proporcionando en coordenadas cartesianas. Finalmente se enlistan las posiciones atómicas del sistema.

#### 8.2.4. KPOINTS

```
k-points
0
Monkhorst Pack
1 1 1
0 0 0
```

Comentario  
0=generación automática  
Señala que se utilizara el esquema de Monkhorst-Pack  
Parámetros de la malla  
Variación

Este archivo define la malla de puntos-K que se usará. Para un sistema periódico, las integrales en el espacio real sobre el (infinitamente extenso) sistema son reemplazadas por integrales sobre la (finita) primera zona de Brillouin en el espacio recíproco, en virtud del teorema de Bloch. Tales integrales se realizan sumando los valores de función del integrando (la densidad de carga, por ejemplo) en un número finito de puntos en la zona de Brillouin, llamada malla de puntos-k. Escoger una malla de puntos integración suficientemente densa es crucial para la convergencia de los resultados, y es por tanto uno de los mayores objetivos cuando se realizan pruebas de convergencia. Aquí den notarse que no hay un principio variacional que controle la convergencia con respecto de la malla de puntos-k. Esto quiere decir que la energía total no necesariamente muestra un comportamiento monótono cuando la densidad de la malla de puntos-k se incrementa [<http://th.fhi-berlin.mpg.de/th/fhi98md/doc/main/node15.html>]. Mientras que la malla puede ser definida explícitamente, es calculada usualmente por el método de Monkhorst y Pack basado en un tamaño de malla introducido. A continuación, se muestra la configuración utilizada en este estudio

Los parámetros de la malla determinan el número de intersecciones en cada dirección. Ejes más largos en el espacio real  $\leftarrow \rightarrow$  ejes más cortos en el espacio k.

### 8.2.5. SNEW

El archivo snow corresponde a las instrucciones de arranque y funcionamiento que se le dan a VASP. Comprende:

```
#!/bin/bash
#SBATCH -J nombre
#SBATCH -p tt2d-80p
#SBATCH -N 4
#SBATCH -n 80
#SBATCH -t 2-00:00:00
#SBATCH -o salida%J
#SBATCH -e error%J
export MODULEPATH=/LUSTRE/yoltla/tt/mf/:$MODULEPATH
module load intel/16.3.210/mpi/5.1.3/vasp/5.4.1-yl
ulimit -s unlimited
srun mkdir -p /tmp/$SLURM_JOBID
cd $SLURM_SUBMIT_DIR
srun cp * /tmp/$SLURM_JOBID
scontrol show hostname $SLURM_NODELIST > hostlist.dat
mpirun.hydra -bootstrap rsh -np 80 -f ./hostlist.dat vasp_std
rm WAVECAR
rm CHG*
mv * $SLURM_SUBMIT_DIR/
exit 0
```

- -J: nombre del archivo (trabajo), que se mostrara en pantalla y sobre el cual está trabajando VASP.
- -p: corresponde al tiempo que estará trabajando VASP sobre nuestro archivo; así como el número de procesadores totales

que ocupará durante el proceso.

- -N: número de nodos que utilizará VASP. Cada nodo se compone de 20 procesadores. (Debe coincidir con el numero NPAR colocado en INCAR)
- -n: número de procesadores que se utilizarán durante los cálculos cuánticos.
- -t: tiempo que VASP trabajará.

### 8.3. ARCHIVOS DE SALIDA: CONTCAR, OUTCAR, WAVECAR, CHGCAR Y DOSCAR

Durante todo el proceso de VASP y hasta su finalización, la información es escrita en varios archivos de salida. Antes de lograr la optimización suficiente, estos archivos se pueden utilizar para nuevos cálculos en VASP. Del mismo modo, la información en estos archivos puede ser interpretada para aprender sobre las propiedades estructurales, químicas y electrónicas del sistema.

### **8.3.1. CONTCAR**

El archivo CONTCAR rastrea las estructuras relajadas de los iones y es idéntico al formato POSCAR. Al final de la ejecución de VASP, se puede copiar el archivo CONTCAR al archivo POSCAR. Esto en caso de que aún no se haya alcanzado la convergencia de las energías en los sistemas.

### **8.3.2. OUTCAR**

Todos los detalles de los cálculos VASP son guardados dentro del archivo OUTCAR conforme está trabajando VASP. El comienzo del archivo OUTCAR documenta los detalles de todos los archivos de entrada, incluyendo los valores del archivo INCAR, valores por defecto para parámetros no especificados en INCAR, y alguna información básica sobre los pseudopotenciales utilizados. Se calcula una tabla vecina más cercana, brindando algunos espacios interatómicos hasta cierta longitud de corte que depende del átomo. El resultado de los cálculos de simetría se documentado, tal como el cálculo de la red  $k$ .

Después de estos cálculos iniciales, comienzan las iteraciones de las relajaciones electrónicas. Se muestran los detalles de cada cálculo, incluyendo todos los componentes de la energía de la supercelda. Además, se enlistan los tiempos de cálculo y se pueden utilizar para diagnosticar cuellos de botella computacionales.

Después de que la estructura electrónica esta convergida, VASP muestra las energías y posiciones de cada banda calculada en cada punto  $k$ . De acuerdo con el principio de exclusión de Pauli, la máxima ocupación de cada banda es 2 para cálculos de espines no polarizados y 1 para cálculos de espines polarizados. Finalmente se calculan las fuerzas de Coulomb en cada núcleo. Una regla de oro es converger la fuerza en cada átomo relajante dentro de  $0.02 \text{ eV/\AA}$  para cada dirección del enrejado. Las fuerzas en átomos no relajantes pueden ser inevitablemente mucho más altas de acuerdo a las restricciones impuestas para forzar las condiciones del límite general contra una superficie de vacío. LA energía libre del sistema electrón ion relajado es por tanto mostrada. Si sigue otra relajación

iónica, entonces los átomos se relajan en respuesta a las fuerzas calculadas, y comienza una nueva relajación electrónica.

Una vez que se alcanza la convergencia de la fuerza (o se alcanza NSW), se calcula la carga total dentro de esferas Wigner-Seitz para cada átomo y se muestran en OUTCAR. En cálculos de un espín polarizado, el momento magnético está dado para cada átomo. El proceso VASP termina con un registro del tiempo total y la memoria usada durante el proceso.

### **8.3.3. WAVECAR**

Todas las funciones de onda usadas en un cálculo VASP son almacenadas en el archivo WAVECAR. Este es un archivo bastante útil para continuar con otros cálculos, de lo contrario las funciones de onda iniciales serán calculadas desde CHGCAR o se iniciarán al azar. Además, WAVECAR es necesario para cálculos de densidad de carga proyectada por banda. Para cálculos sobre conjuntos de átomos grandes o con redes k-point finas, este archivo puede ocupar varios gigabite, lo que se puede evitar colocando una línea "LWAVE = FALSE" en el archivo INCAR.

### **8.3.4. CHGCAR**

La información de la densidad de carga es almacenada en CHGCAR. Este archivo puede utilizarse como un archivo de entrada para procesos de VASP futuros, o se puede analizar la densidad de carga después de que es alcanzada la convergencia. Las isosuperficies y las partes de la densidad de carga se pueden visualizar con software como VESTA. Para cálculos de espín polarizado, se brinda un arreglo de la densidad del spin después del arreglo de la densidad de carga.