

CURSO 2022-2023

# **Simulación Teórica de la Reactividad de Fármacos de Platino con ADN**

TRABAJO DE FIN DE GRADO

Autor: Diego Llorena Prieto

Departamento de Química

# Índice

<b>1. Abstract</b>	<b>1</b>
<b>2. Resumen</b>	<b>1</b>
<b>3. Introducción</b>	<b>2</b>
<b>4. Objetivos</b>	<b>4</b>
<b>5. Plan de trabajo</b>	<b>4</b>
<b>6. Métodos teóricos</b>	<b>5</b>
6.1. Ecuaciones clásicas de la dinámica molecular . . . . .	5
6.2. Campos de fuerza . . . . .	6
6.3. Condiciones de contorno periódicas . . . . .	7
6.4. Termostatos y barostatos . . . . .	8
6.5. Teoría del Funcional de la Densidad . . . . .	8
6.6. Mecánica Cuántica y Mecánica Molecular . . . . .	9
<b>7. Resultados</b>	<b>11</b>
7.1. Equilibrado y convergencia en las cadenas de ADN aisladas . . . . .	11
7.2. Equilibrado y convergencia en las cadenas de ADN enlazadas a picoplatino . . . . .	13
7.3. Deformación estructural del ADN por la interacción con picoplatino . . . . .	16
<b>8. Conclusiones</b>	<b>20</b>
<b>Referencias</b>	<b>21</b>

## 1. Abstract

Chemotherapy, a common cancer treatment, is based on the administration of drugs to treat cancer. Among these drugs, cisplatin is a well-known compound with a platinum atom as a metal centre. It is used in chemotherapy despite its side effects and toxicity. Currently, new platinum-based drugs, like carboplatin, oxaliplatin or picoplatin, are being developed to increase its efficacy and eliminate side effects. The primary objective of this work is the study of the deformation of deoxyribonucleic acid (DNA) chains induced by picoplatin, a drug that has shown significant advances such as overcoming the resistance mechanisms of cancer cells and having fewer side effects thanks to the 2-picolin group. To this end, molecular dynamics have been applied to describe the structural changes of DNA strands produced by picoplatin binding. This study also aims at studying the influence of the sequence of nucleobases on the deformation of the strand and compares the results with the obtained from the deformation produced by cisplatin. To this end, 4 sequences are studied where the chains are composed of 2 central guanines, where picoplatin binds, and the adjacent nucleobases are each one of the four nucleobases repeated 4 times, also obtaining its complementary chain and forming the double helix. It has been observed picoplatin causes less structural damage to DNA than cisplatin, and the sequence of the nucleobases affects the deformation of the structure, obtaining larger deformation with cytosine and thymine strands due to the interaction between their carboxyl group and the ammine group of picoplatin.

## 2. Resumen

El cisplatino es un fármaco habitualmente utilizado en quimioterapia en el tratamiento contra varios tipos de cáncer, aunque tiene graves efectos secundarios. Desde que se descubrió su efecto citotóxico, se han desarrollado nuevos compuestos de platino para aumentar su efectividad y minimizar los efectos secundarios. Uno de estos compuestos es el picoplatino, un fármaco parecido al cisplatino, pero con un grupo 2-picolina enlazado al platino, que provoca una disminución de la toxicidad y que supera los mecanismos de resistencia de las células cancerígenas. En este proyecto, se han aplicado simulaciones de dinámica molecular para describir la deformación de la cadena del ácido desoxirribonucleico (ADN) producido por el enlace intracatenario con picoplatino a dos guaninas. Uno de los objetivos principales del estudio es determinar la importancia de la secuencia de la cadena en la deformación estructural del ADN, por lo que, se estudian 4 secuencias donde las cadenas se componen de 2 guaninas centrales a las que se une el picoplatino, y las nucleobases adyacentes son cada una de las cuatro bases repetidas 4 veces, obteniendo también su cadena complementaria y formando la doble hélice. Se ha observado que la secuencia de las bases nitrogenadas afecta en la deformación inducida, obteniendo los valores más elevados en la secuencia con citosina y timina, y que el daño en la estructura del ADN producido por los complejos de platino es menor con picoplatino que con cisplatino.

### 3. Introducción

El cáncer es una enfermedad producida por un crecimiento anormal de las células. Estas invaden tejidos vecinos y se esparcen por otras partes del cuerpo a través el sistema linfático o sanguíneo [1]. Existen muchos tratamientos contra esta enfermedad como, por ejemplo, la quimioterapia, tratamiento que utiliza fármacos para destruir las células malignas. Uno de los más utilizados es el complejo cis-diamminodicloroplatino (II), más conocido como cisplatino [2]. Desde su descubrimiento en 1970 como inhibidor del crecimiento de la bacteria *Escherichia Coli* [3], el cisplatino ha sido utilizado como agente anticancerígeno para distintos tratamientos contra esta enfermedad. El complejo diamminodicloroplatino (II) cuando entra en la célula por difusión simple [4], se hidroliza produciéndose una reacción de sustitución nucleófila bimolecular ( $S_N2$ ) con el agua del medio celular y se forman los complejos cis-aquadiamminocloroplatino (II)  $[PtCl(NH_3)_2(OH_2)]^+$  y cis-diaquadiamminoplatino (II)  $[Pt(NH_3)_2(OH_2)_2]^{2+}$ , produciéndose preferentemente este último por ser más estable en el medio celular. Este catión entra en el núcleo y reacciona principalmente con guanina presente en las cadenas de ácido desoxirribonucleico (ADN), formando monoadductos (aunque el 90 % de ellos reaccionarán formando entrecruzamientos), o enlaces intra o intercatenarios con la cadena de ADN representados en la Figura 1A. También puede reaccionar con las adeninas del ADN, pero lo hace preferentemente con guanina debido a que se forma un enlace de hidrógeno más fuerte entre el hidrógeno del grupo amino del compuesto de platino y el oxígeno del doble enlace de la guanina que entre el grupo amino del compuesto de platino y el grupo amina de la adenina [2]. Las estructuras de ambas bases nitrogenadas están representadas en las Figuras 1B,C, respectivamente.

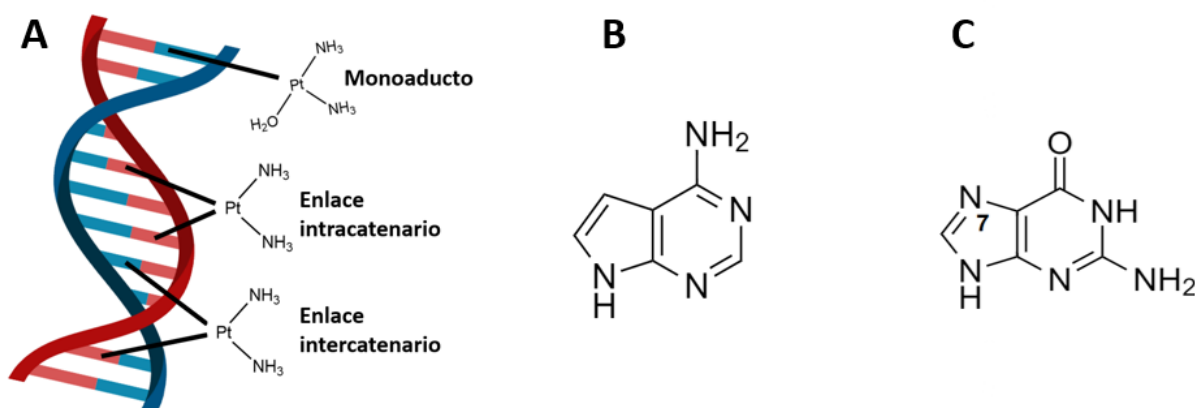


Figura 1: A) Tipos de enlace entre cisplatino y ADN. Fórmula química de la B) adenina y la C) guanina

Al enlazarse, el cisplatino deforma la estructura del ADN (doblándola y aumentando su ángulo helicoidal) e impide que esta pueda ser transcrita y replicada. Esta deformación de la estructura varía en función de varios factores: (i) fármaco utilizado (los cruzamientos intracatenarios provocados por cisplatino deforma la doble hélice hacia el surco mayor unos  $32^\circ$  mientras que con oxaliplatino, la variación del ángulo es mayor [3]); (ii) distancia de las bases (enlace intracatenario 1,2-Guanina,Platino,Guanina (GpG) distorsiona menos el ángulo que el enlace intracatenario 1,3-(GpG)); (iii) tipo de enlace (los enlaces intercatenarios provocan una deformación hacia el surco menor entre  $20-40^\circ$  mientras que los intracatenarios deforman el surco mayor [3]); entre otros. La deformación de la estructura es detectada por proteínas con grupos de alta movilidad (HMG, *high movility groups*, en inglés) que se unen al ADN en el sitio donde se ha producido el enlace con el fármaco de platino, formando un complejo ternario que es capaz de bloquear los factores de transcripción evitando la replicación y la transcripción, e iniciando así la apoptosis o muerte celular [3].

Para evitar la resistencia de las células cancerígenas a cisplatino, aumentar la citotoxicidad específicamente contra las células tumorales, y/o disminuir los efectos secundarios, se han diseñado nuevos complejos derivados del cisplatino, como el carboplatino, el oxaliplatino y el picoplatino, mostrados en la Figura 2. Se ha demostrado que estos derivados tienen distinta actividad tumoral: carboplatino es efectivo contra el cáncer testicular, de ovarios y cervical [5]; oxaliplatino es muy eficaz contra el cáncer de colon [5]; y picoplatino es utilizado en tratamientos contra varios tipos de cáncer donde las células cancerígenas muestran resistencia a cisplatino y carboplatino [6].

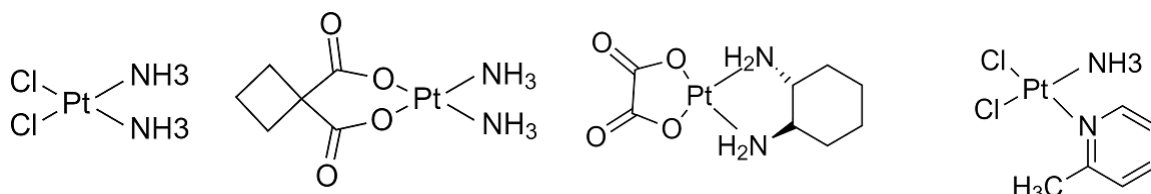


Figura 2: Fórmula química de cisplatino, carboplatino, oxaliplatino y picoplatino (de izquierda a derecha).

Sin embargo, los medicamentos descritos en la Figura 2 tienen graves efectos secundarios (salvo picoplatino, que sus efectos secundarios son más leves) debido a que si se hidrolizan demasiado rápido, los aquocomplejos de platino reaccionan con biomoléculas azufre-donadoras (como glutatión, metalotioneínas o proteínas que contienen azufre) produciendo efectos tóxicos [5]. Algunos de estos efectos son: mielosupresión (disminución de la producción de leucocitos y plaquetas a partir de la médula ósea) [7] producidas por carboplatino y cisplatino [3]; neuropatía periférica (daño a los nervios externos al cerebro y médula ósea) [8] producidas por oxaliplatino y cisplatino [3]; y ototoxicidad (perturbaciones transitorias o definitivas de la función auditiva) [9] producidas por cisplatino [3].

Este trabajo se basa en el estudio computacional de picoplatino enlazado a varias cadenas de ADN con distinta secuencia de bases nitrogenadas. Picoplatino es un complejo de estructura plano cuadrada con un átomo de platino (II) como centro metálico y coordinado por dos cloruros, un grupo amino y un grupo picolina en configuración cis. El estudio se centra en este complejo porque supera la resistencia de las células tumorales a otros fármacos de platino, como cisplatino y carboplatino [5], se puede utilizar en un amplio rango de tratamientos contra distintos tipos de cáncer, y tiene menos efectos adversos que los mencionados anteriormente, porque el grupo 2-picolina produce impedimento estérico que dificulta los ataques nucleófilos del agua al centro reactivo (el platino) [5]. Estudiar la interacción entre picoplatino y el ADN mediante modelos computacionales usando dinámica molecular (MD, siglas por su nombre en inglés) permitirá entender mejor el tratamiento contra las células cancerígenas, y este modelo ayudará a describir etapas fundamentales que no se podrían obtener experimentalmente, como el mecanismo por el cual la doble hélice se deforma después de la reacción con picoplatino.

## 4. Objetivos

El objetivo general de este trabajo es investigar, mediante simulaciones computacionales, cómo varía la estructura del ADN, concretamente la deformación que sufre la cadena cuando el picoplatino se enlaza covalentemente de forma intracatenaria a dos guaninas. Algunos objetivos específicos de este estudio son:

- Aprendizaje de técnicas cuánticas y clásicas y del uso del software para las simulaciones.
- Diseñar un modelo computacional que simule como afecta la presencia de picoplatino a la estructura del ADN.
- Estudiar el efecto de la secuencia del ADN en la deformación de la cadena.
- Comparación con la deformación en la cadena provocada por cisplatino.

## 5. Plan de trabajo

Para conseguir los objetivos descritos anteriormente, se ha seguido el siguiente plan de trabajo:

- Búsqueda bibliográfica sobre complejos de platino, incluyendo cisplatino y picoplatino. Antecedentes históricos, estructura, efectos secundarios, efectos citotóxicos, etc.
- Aprendizaje del sistema operativo Linux, del programa de MD AMBER [10], del programa de química cuántica Gaussian [11] y del programa de visualización *Visual Molecular Dynamics* (VMD) [12].
- Preparación y presentación de seminarios sobre cisplatino (historia, reactividad, mecanismo de reacción, etc).
- Montaje y simulación usando MD de una cadena de ADN solvatada.
- Montaje del modelo computacional que describa el picoplatino enlazado al ADN solvatado.
- Realización de simulaciones con MD de varias secuencias de ADN unidas a picoplatino.
- Aprendizaje del programa de análisis estructural Curves+ [13].
- Análisis de parámetros estructurales y comparación con simulaciones previas de cisplatino.
- Redacción del trabajo de fin de grado y preparación de la presentación para la defensa.

## 6. Métodos teóricos

### 6.1. Ecuaciones clásicas de la dinámica molecular

Este trabajo estudia un sistema biológico formado por miles de átomos. Los sistemas biológicos habitualmente están involucrados en procesos (reacciones químicas o cambios estructurales) lentos, del orden de micro a nanosegundos. Debido a la gran cantidad de partículas se emplea MD clásica. Este método se basa en el cálculo de las fuerzas presentes en el sistema, mediante campos de fuerzas, que regulan el movimiento de las partículas y las ecuaciones de movimiento de Hamilton proporcionan la evolución temporal de las coordenadas y los momentos de estas partículas [14]:

$$\frac{dp_i}{dt} = -\frac{dV(q_i)}{dq_i} \quad (1)$$

$$\frac{dq_i}{dt} = \frac{dT_i(p_i)}{dp_i} \quad (2)$$

De ambas ecuaciones se puede especificar que:  $p_i$  es el momento lineal del átomo  $i$ ;  $V$  es la energía potencial del sistema que se está estudiando;  $q_i$  son las coordenadas asociadas al átomo  $i$ ;  $t$  se refiere al tiempo y  $T_i$  es la energía cinética del átomo  $i$ .

Las ecuaciones (1) y (2) no tienen solución exacta por lo que se resuelven numéricamente mediante el algoritmo de Verlet (*Verlet Algorithm* [15]). Este algoritmo se basa en expansiones de Taylor de las coordenadas y momentos hasta el término de segundo orden [16].

$$q_i(t + \Delta t) = q_i(t) + \Delta t \cdot v_i(t) - \frac{\Delta t^2}{2m} \cdot \frac{dV_i(t)}{dq_i} \quad (3)$$

$$v_i(t + \Delta t) = v_i(t) - \frac{\Delta t}{2m} \cdot \left( \frac{dV_i(t + \Delta t)}{dq_i} + \frac{dV_i(t)}{dq_i} \right) \quad (4)$$

Se detalla que:  $v_i$  se refiere a la velocidad de la partícula  $i$ ;  $m$  es la masa de la partícula y  $\Delta t$  es el incremento de tiempo. Resolviendo las ecuaciones (3) y (4), se pueden calcular las coordenadas y las velocidades a un tiempo posterior a partir de estos parámetros de tiempo anteriores. Debido a que la serie de Taylor se trunca en el término de segundo orden, las ecuaciones (3) y (4) serán más precisas cuando el incremento de tiempo sea más pequeño. El algoritmo de Verlet se compone de 5 pasos:

1. Calcular  $\frac{dV_i(t)}{dq_i}$
2. Resolver la ecuación (3)
3. Calcular  $\frac{dV_i(t + \Delta t)}{dq_i}$
4. Resolver la ecuación (4)
5. Repetir los pasos 1-4

Para poder utilizar este algoritmo, se necesita partir de unas coordenadas y velocidades iniciales. Las coordenadas se obtienen de métodos experimentales, bases de datos (como *Protein Data Bank*) o métodos teóricos

(como AlphaFold, una inteligencia artificial que permite predecir la estructura de una proteína a partir de su secuencia [17], o un cálculo anterior), y las velocidades se obtienen de valores aleatorios de una distribución de Maxwell-Boltzmann a una cierta temperatura. Esta distribución proporciona un perfil de velocidades para un sistema que se encuentre en equilibrio térmico [15]. Para poder realizar el primer paso del algoritmo de Verlet, se debe conocer el gradiente de energía potencial (la primera derivada de la energía potencial con respecto a las coordenadas atómicas). Este gradiente se puede calcular por tres métodos distintos: mediante un campo de fuerzas (método de MD clásica), mediante la resolución de la ecuación de Schrödinger (método de MD *ab initio*) o combinando los métodos anteriores, una parte del sistema se define cuánticamente y el resto de manera clásica (método de MD de mecánica cuántica/ mecánica molecular, QM/MM en inglés) [16]. En este trabajo se emplea MD clásica y MD QM/MM.

## 6.2. Campos de fuerza

Los campos de fuerzas (*force fields*, en inglés) son ecuaciones arbitrarias que determinan las interacciones entre las partículas. Estos campos relacionan de manera empírica la energía potencial de un sistema con sus coordenadas internas, por ejemplo, distancias y ángulos de enlaces. Los campos de fuerzas separan la energía potencial en interacciones enlazantes y no enlazantes [15]: las interacciones enlazantes son términos energéticos que dependen de las coordenadas internas de átomos separados hasta un máximo de tres enlaces, como son: distancias de enlace, ángulos de enlace y ángulos diedros [15]; y las interacciones no enlazantes son las interacciones de Coulomb, van der Waals y de repulsión [15]. Estos términos se recogen en la ecuación (5):

$$V_{total} = \sum_{i=1}^{N_{enlaces}} V_{enlace} + \sum_{i=1}^{N_{angulo}} V_{angulo} + \sum_{i=1}^{N_{diedro}} V_{diedro} + \sum_{i=1}^{N_{Noenlazantes}} V_{Noenlazante} \quad (5)$$

Los dos primeros términos de la ecuación (5) se describen con potenciales armónicos, mientras que las interacciones de torsión, el tercer término, se expresa mediante la ecuación de Fourier y el potencial de las interacciones no enlazantes es la suma del potencial de Coulomb y el potencial de Lennard-Jones, que incluye las interacciones repulsivas y las de van der Waals. Reescribiendo la ecuación (5) se obtiene la ecuación (6) [18, 19]:

$$V_{total} = \sum_{i=1}^{N_{enlaces}} \frac{1}{2} k_b (r - r_0)^2 + \sum_{i=1}^{N_{angulo}} \frac{1}{2} k_a (\theta - \theta_0)^2 + \sum_{i=1}^{N_{diedro}} k_t (1 + \cos(n\omega - \gamma)) \quad (6)$$

$$+ \sum_{i>j}^{N_{Noenlazantes}} \frac{Q_i Q_j}{4\pi\epsilon r_{ij}} + 4\epsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} + \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right]$$

Analizando la ecuación (6) se puede observar: el primer término corresponde al potencial producido por las distancias de enlace; el segundo, al potencial de los ángulos de enlace; el tercero, al potencial de los ángulos diedros y el cuarto, al potencial de las interacciones no enlazantes [15]. En el primer término,  $k_b$  es la constante de fuerza del enlace,  $r$  es la distancia entre los átomos de la interacción, y  $r_0$  es la distancia de equilibrio entre estos [15]. En el segundo término,  $k_a$  es la constante de fuerza,  $\theta$  es el ángulo entre los átomos que interactúan, y  $\theta_0$  es el ángulo de equilibrio entre ellos [15]. En el tercer término,  $k_t$  es la barrera de energía potencial que hay entre los mínimos que presenta la curva de energía potencial,  $n$  es el número de mínimos,  $\omega$  es el ángulo diedro entre los átomos de la interacción y  $\gamma$  es el ángulo de fase que proporciona la posición del mínimo [15].



En el último término, se recoge primero el potencial de Coulomb,  $Q_i$  y  $Q_j$  representan la carga del átomo  $i$  y del átomo  $j$ ,  $\epsilon$  es la permitividad del vacío y  $r_{ij}$  es la distancia entre los átomos  $i$  y  $j$ ; y el último término es el potencial de Lennard-Jones, donde  $\sigma_{ij}$  es la distancia entre los átomos  $i$  y  $j$  cuando la energía potencial es nula y  $\epsilon_{ij}$  es la energía de interacción atractiva máxima entre los átomos  $i$  y  $j$  [15].

### 6.3. Condiciones de contorno periódicas

Para describir las propiedades de un sistema biológico en concreto, se construye un modelo con el que se realizan las simulaciones. El tamaño de este modelo al ser más pequeño que el del sistema real, presentará una mayor cantidad de átomos en contacto con el vacío. Para evitar este problema se utilizan las condiciones de contorno periódicas. Estas condiciones replican el sistema en las tres dimensiones del espacio creando imágenes que imitan al sistema de referencia. Con estas imágenes se consigue que el número de átomos sea constante y se define un espacio para recoger las interacciones no enlazantes más significativas sin suponer un coste computacional adicional, porque replican lo que sucede en el sistema de referencia. Para recoger las interacciones no enlazantes se define un espacio límite (*cut off*) que afecta principalmente a las fuerzas de largo alcance, a las interacciones coulómbicas [20]. Al definir un *cut off*, el potencial de Lennard-Jones se aproxima a cero rápidamente con la distancia, pero el potencial de Coulomb al no ser cercano a cero crea una discontinuidad en la energía de la interacción, mostrada en la Figura 3.

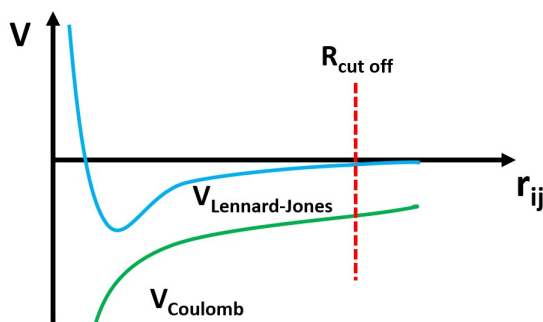


Figura 3: Energía potencial en función de la distancia interatómica.

Para resolver este problema se utiliza el método *Ewald Summation*. Este método consiste en añadir a las cargas puntuales de largo alcance, distribuciones de cargas de signo contrario para apantallarlas y convertirlas en cargas de corto alcance que se podrían recoger dentro del *cut off*. Tras calcular la interacción, se añaden distribuciones de signo contrario para minimizar el efecto de las que se han añadido primero.

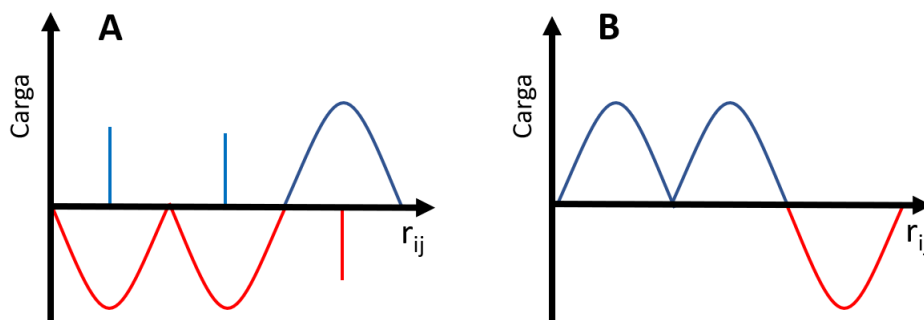


Figura 4: A) Representación de cargas puntuales y sus respectivas distribuciones de cargas añadidas. B) Distribución de las cargas en el espacio recíproco.

## 6.4. Termostatos y barostatos

Debido a que las ecuaciones de movimiento no se resuelven de forma exacta, pueden darse situaciones en las que no se conserve la energía (dos partículas podrían acercarse aumentando la energía) o se quiere controlar algunas variables termodinámicas para reproducir condiciones experimentales. Para ello, se aplican métodos de control a la temperatura y presión del sistema, conocidos como termostatos y barostatos, respectivamente. Hay varios tipos de métodos de control, como el diferencial, proporcional, integral y el estocástico. El método que se utiliza en las simulaciones de este trabajo es el estocástico, que asocia las propiedades termodinámicas a las ecuaciones de movimiento y se modifican algunos grados de libertad de forma aleatoria [21]. Para controlar la temperatura, se modifican los momentos de las partículas (sus velocidades) y para ello se aplica el termostato de Langevin. Este termostato intenta reproducir un baño térmico, simulando colisiones de partículas ficticias contra el sistema y controlando así su temperatura, siguiendo la ecuación (7) [20].

$$F \equiv \frac{dp_i}{dt} = F_{interaccion} + F_{friccion} + F_{aleatoria} \quad (7)$$

De la ecuación (7) se puede aclarar que,  $F_{interaccion}$  se refiere a la fuerza de las partículas de la simulación;  $F_{friccion}$  representa la fuerza de las colisiones de las partículas ficticias, en este término se puede modificar parámetros como la frecuencia de colisión, la masa de estas partículas y su velocidad; y por último,  $F_{aleatoria}$  es una distribución gaussiana que depende de la temperatura [20]. Respecto al control de la presión, se aplican métodos de control que modifican las coordenadas del sistema, aumentando o disminuyendo el volumen y por tanto, variando la presión. El barostato utilizado en este trabajo es el de Monte Carlo, que es un método estocástico que modifica de forma aleatoria el valor del incremento de volumen, siguiendo la ecuación (8) [20], de la que se puede detallar que,  $n_{aleatorio}$  es un número aleatorio comprendido entre -1 y 1 haciendo que el aumento o disminución del volumen no sea pronunciado.

$$V' = V + \Delta V \rightarrow \Delta V = n_{aleatorio} \cdot \Delta V_{maxima} \quad (8)$$

## 6.5. Teoría del Funcional de la Densidad

Para crear el modelo del picoplatino unido al ADN se tiene que parametrizar el complejo de platino porque se necesita información como, por ejemplo, la estructura de equilibrio del fármaco enlazado a las dos guaninas y las cargas del sistema, entre otras. Debido a que el sistema a parametrizar es pequeño, se utiliza el método de la Teoría del Funcional de la Densidad (DFT, en inglés) para el cálculo de estos valores. Este método relaciona la densidad electrónica con la energía del sistema teniendo como base el primer teorema de Hohenberg y Kohn [22]:

$$E = f(\rho) \quad (9)$$

La ecuación (9) indica que la energía del sistema es un funcional de la densidad electrónica, por lo tanto, si se conoce la densidad electrónica del estado fundamental, se podría conocer de forma exacta la energía de ese estado, así como el número de electrones si se integra la densidad electrónica en función a la posición  $y$ , para sistemas no degenerados, el potencial exterior que describe los potenciales que modifican la velocidad de los electrones, como son el potencial internuclear o interelectrónico [22]. La energía electrónica de un sistema real en DFT sigue la siguiente ecuación:

$$E_e(\rho) = F_{HK}(\rho) + E_{ext}(\rho) \rightarrow F_{HK}(\rho) = T_e(\rho) + E_{ee}(\rho) \quad (10)$$

La ecuación (10) recoge: el funcional de Hohenberg y Kohn ( $F_{HK}(\rho)$ ), que incluye la energía cinética de los electrones ( $T_e(\rho)$ ) y la energía potencial de repulsión entre electrones ( $E_{ee}(\rho)$ ), y la energía producida por el potencial externo ( $E_{ext}(\rho)$ ). Aplicando el segundo teorema de Hohenberg y Kohn, la densidad electrónica exacta es aquella que minimiza la energía [22], aplicando el teorema variacional. Este teorema establece que la energía calculada es siempre mayor o igual que la energía exacta, por lo que, si se están comparando métodos o bases siguiendo el teorema variacional, un método o base será mejor que otro si proporciona una energía menor [22]. El problema del método DFT es que no se conoce la relación entre la energía cinética de los electrones y la densidad electrónica, por lo que se necesitan hacer aproximaciones. Una de estas aproximaciones es la de Kohn-Sham, que asume que los electrones no interactúan entre ellos, implicando que en la ecuación (10), la energía de repulsión entre electrones es nula, por lo que se puede reescribir esta ecuación para un sistema de referencia en donde los electrones no interactúen [22]:

$$E_{e,r}(\rho) = T_{e,r}(\rho) + E_{ext,r}(\rho) \quad (11)$$

La ecuación (11) se puede resolver de forma exacta pero para poder obtener la energía del sistema real, se tiene que tener en cuenta el término de energía de correlación e intercambio ( $E_{xc}(\rho)$ ). Este término es la diferencia de energía entre el sistema de real y la energía del sistema de referencia ( $E_{xc}(\rho) = E_e(\rho) - E_{e,r}(\rho)$ ). Para describir esta energía de correlación e intercambio se han desarrollado varios tipos de funcionales empíricos, como BLYP, PBE, o el empleado en este trabajo, B3LYP [23, 24], parametrizados para reproducir propiedades moleculares. Cabe destacar que DFT en su forma exacta, ecuación (10), sigue el teorema variacional, pero al incluir el término de energía de correlación e intercambio de forma aproximada, deja de ser variacional pero se trata como si lo fuese, es decir, el mejor funcional será aquel con el que se obtenga la energía del sistema más baja [22]. Para definir el método de cálculo realizado con DFT, se tiene que detallar la base utilizada, en otras palabras, las funciones de partida que describen los orbitales, de los cuales se calcula la densidad electrónica. La utilizada en este trabajo ha sido la base de Pople 6-31G\* [25]-[31] y el pseudopotencial LANL2DZ [32] para el platino. La base 6-31G\* se compone de 6 funciones gaussianas para describir los orbitales de las capas internas, dos conjuntos de orbitales de 3 y 1 funciones para definir los orbitales de valencia, la G especifica que son funciones gaussianas y el asterico indica que añade una función extra para incluir funciones de polarización para todos los átomos excepto el hidrógeno [22]. El pseudopotencial LANL2DZ es una aproximación que ha sido diseñada para disminuir el coste computacional considerando solo los electrones de valencia, el potencial creado por los núcleos y electrones internos (core) y teniendo en cuenta los efectos relativistas, producidos por átomos pesados como el platino [22].

## 6.6. Mecánica Cuántica y Mecánica Molecular

Debido a que la producción de la cadena de ADN enlazada a picoplatino era inestable, se realizó una segunda parte de la producción utilizando MD QM/MM para que la dinámica fuese más precisa. La región descrita con MM se utiliza un campo de fuerzas, la región de QM es tratada con el método semi-empírico PM6 y la interacción entre ambas regiones se describe mediante *embedding* electrostático. La región descrita cuánticamente, tiene como base la ecuación de Schrödinger independiente del tiempo (TISE, en inglés) [22]:

$$\hat{H}(x) \psi(x) = E \psi(x) \quad (12)$$

$$-\frac{\hbar^2}{2m} \cdot \frac{d^2 \psi(x)}{dx^2} + V(x) \psi(x) = E \psi(x) \quad (13)$$

En la ecuación (12)  $\hat{H}$  describe el operador hamiltoniano, que incluye los operadores de energía cinética y potencial (expresados como el primer y segundo término de la ecuación (13) respectivamente);  $\psi(x)$  se refiere a la función de onda que describe el comportamiento de los electrones en un estado electrónico y  $E$  la energía en ese estado [22]. La TISE proporciona la energía de un estado estacionario dado una función de onda que lo describe. El Hamiltoniano se puede escribir de la siguiente forma:

$$\hat{H}(r, R) = \hat{T}_N(R) + \hat{T}_e(r) + \hat{V}_{NN}(R) + \hat{V}_{ee}(r) + \hat{V}_{eN}(r, R) \quad (14)$$

Como se observa en la ecuación (14), los subíndices N y e se refieren a los núcleos y electrones y, R y r a las posiciones nucleares y electrónicas, respectivamente;  $\hat{T}$  es el operador de energía cinética y  $\hat{V}$  es el de energía potencial. La TISE no tiene solución analítica para sistemas con más de dos partículas, por lo que se aplican aproximaciones para resolverla. La más utilizada es la aproximación de Born-Oppenheimer. Esta aproximación parte de la suposición de que los movimientos nuclear y electrónicos no están acoplados y, puesto que la masa de los núcleos es mucho mayor que la de los electrones, los núcleos se mantienen fijos (el término de energía cinética de los núcleos es nulo y el potencial internuclear es constante) mientras que los electrones son los que se mueven. El hamiltoniano electrónico queda expresado con la siguiente ecuación [22]:

$$\hat{H}_{el}(r, R) = \hat{T}_e + \hat{V}_{ee}(r) + \hat{V}_{eN}(r, R) \quad (15)$$

Sustituyendo el hamiltoniano electrónico de la ecuación (15) a la ecuación (12), se obtiene la TISE electrónica, ecuación (16), que proporciona la energía electrónica ( $E_{el}$ ) dada la función de onda electrónica ( $\psi_{el}$ ) [22].

$$\hat{H}_{el}(r, R) \psi_{el}(r; R) = E_{el}(R) \psi_{el}(r; R) \quad (16)$$

Para la producción con QM/MM de la cadena de ADN enlazada al picoplátino, se usa el método de parametrización 6 (PM6) para describir la parte cuántica. Este es un método semi-empírico que resuelve de manera aproximada la TISE electrónica, ecuación (16). Como en esta resolución hay que calcular integrales bielectrónicas, integrales que depende de las coordenadas de dos electrones a la vez, se necesitaría mucho tiempo de cálculo. El método PM6 sustituye estas integrales por ecuaciones más simples que han sido parametrizadas empíricamente, de modo que el tiempo de cálculo es bastante menor.

## 7. Resultados

### 7.1. Equilibrado y convergencia en las cadenas de ADN aisladas

Para investigar cómo varía la estructura del ADN en presencia del fármaco picoplatino, se desarrollan varios modelos que tienen como parte central el picoplatino unido de forma 1,2-intracatenaria a dos guaninas en el centro de la secuencia de 10 bases nitrogenadas. Las dos guaninas enlazadas al picoplatino son las bases número 5 y 6 de la secuencia, mientras que las otras bases pueden ser todo guaninas, adeninas, timinas o citosinas, obteniendo cuatro secuencias distintas, representadas en la Figura 5.

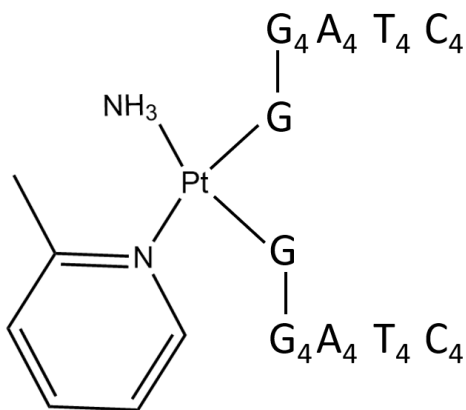


Figura 5: Estructura de las secuencias de ADN unidas a picoplatino.

Primero, hay que conocer la estructura de la cadena de ADN aislada y se crea el modelo sin picoplatino. Debido a la gran cantidad de átomos de nuestro sistema, un cálculo de MD realizado con métodos cuánticos como DFT tendría un coste computacional muy elevado, por lo que se realiza con MD clásica y, posteriormente, con MD semi-empírica donde el gradiente se calcula con el método PM6. El proceso se lleva a cabo para las cuatro secuencias pero se detalla el procedimiento para el caso de la cadena compuesta por 10 guaninas (G<sub>10</sub>) ya que para el resto es idéntico. En primer lugar, se hace una minimización de la energía para obtener la estructura más estable o un mínimo local. Después se calienta el sistema hasta 300 K para simular la temperatura de un experimento en condiciones normales y, por último, se equilibra la densidad y se realiza la etapa de producción que tienen lugar en la misma simulación. En la Figura 6 se observa la energía en cada ciclo de la etapa de minimización. Esta concretamente tiene 10000 ciclos en la cual, para los 5000 primeros se usa el método *steepest descent* que es muy útil para acercarse rápidamente al mínimo, luego aplica el método *conjugated gradient* que es muy eficiente para converger cuando el sistema se encuentra cerca del mínimo. A partir del paso 5000, la energía varía muy poco y se puede decir que está convergida y, por tanto, el sistema se encuentra en un mínimo de energía.

La simulación de dinámica durante la etapa de calentamiento se ha realizado en el conjunto termodinámico NVT, es decir, se mantiene constante el número de partículas, el volumen y la temperatura cuando se alcanza la temperatura deseada. Para llegar a esta temperatura se aplica el termostato de Langevin. Como se observa en la Figura 7A, el sistema se calienta hasta 300 K durante los primeros 500 ps y después la temperatura se mantiene estable durante los últimos 500 ps. En la Figura 7B se aprecia un aumento de energía hasta los 500 ps debido al aumento de temperatura y después se estabiliza.

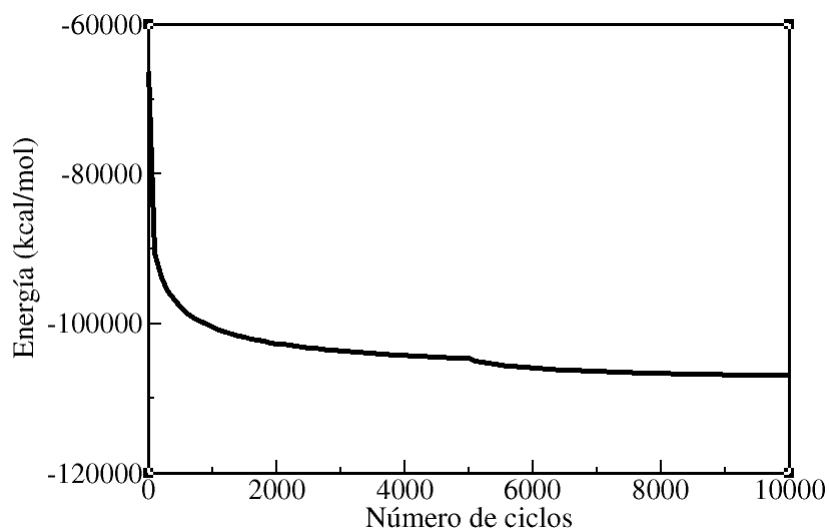


Figura 6: Variación de la energía en la minimización de la cadena G<sub>10</sub>.

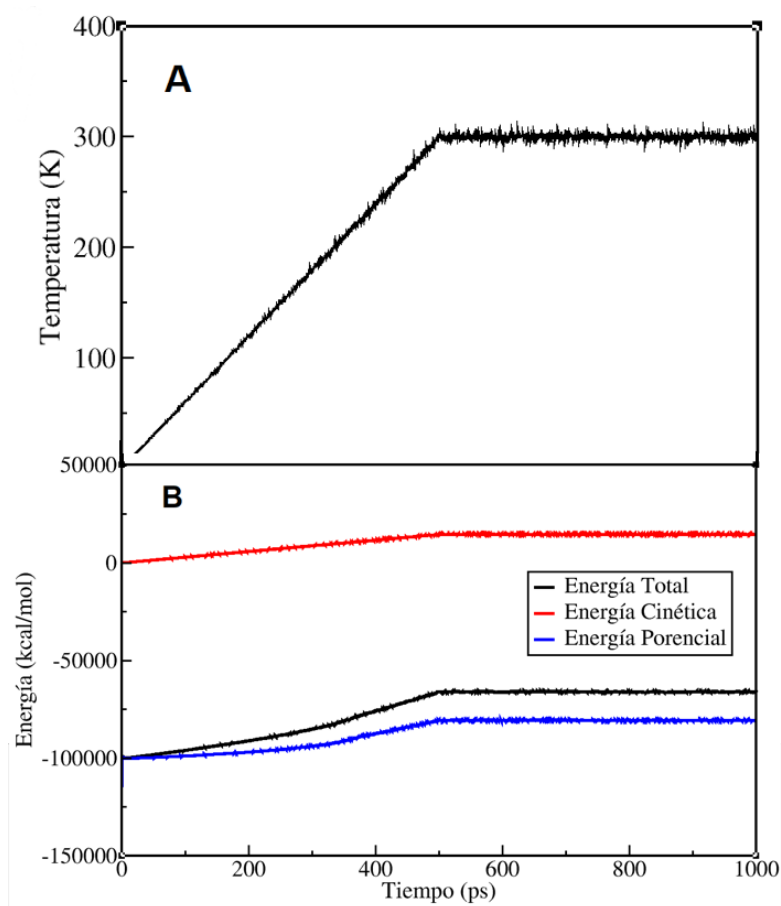


Figura 7: Análisis de los datos obtenidos del calentamiento de la cadena G<sub>10</sub>. A) Variación de la temperatura durante 1000 ps. B) Variación de la energía durante 1000 ps.

Por último, se equilibra la densidad del sistema y se realiza la producción en un tiempo de simulación de 100 ns. La cadena al estar solvatada, la densidad tiene que ser prácticamente la del agua y para ello se realiza una simulación con un conjunto NPT en la que se mantienen constantes el número de partículas, la presión (se aplica el barostato Monte Carlo) y la temperatura (se aplica el termostato de Langevin) mientras se deja que el volumen cambie según se necesite para variar la densidad. Como se observa en la Figura 8A, la energía se

mantiene estable sobre -66500 kcal/mol por lo que se puede decir que hay una buena conservación de la energía. Respecto a la Figura 8B, al principio de la simulación, la densidad es baja y el volumen del sistema disminuye rápidamente para aumentarla, mientras en el resto de la simulación se mantiene estable aproximadamente en  $1 \text{ g/cm}^3$ . También, se calculó la desviación media cuadrática (*Root Mean Square Deviation*, RMSD) cuyo propósito es determinar cuanto difiere la posición de la geometría en cada paso respecto a la geometría inicial de la dinámica. Analizando la Figura 8C, el RMSD se mantiene estable alrededor de  $2 \text{ \AA}$  debido a que no hay cambios pronunciados en la geometría. Tanto la densidad como el RMSD han convergido, se da por terminada la producción y por tanto el modelo de la cadena solvatada está listo para su análisis.

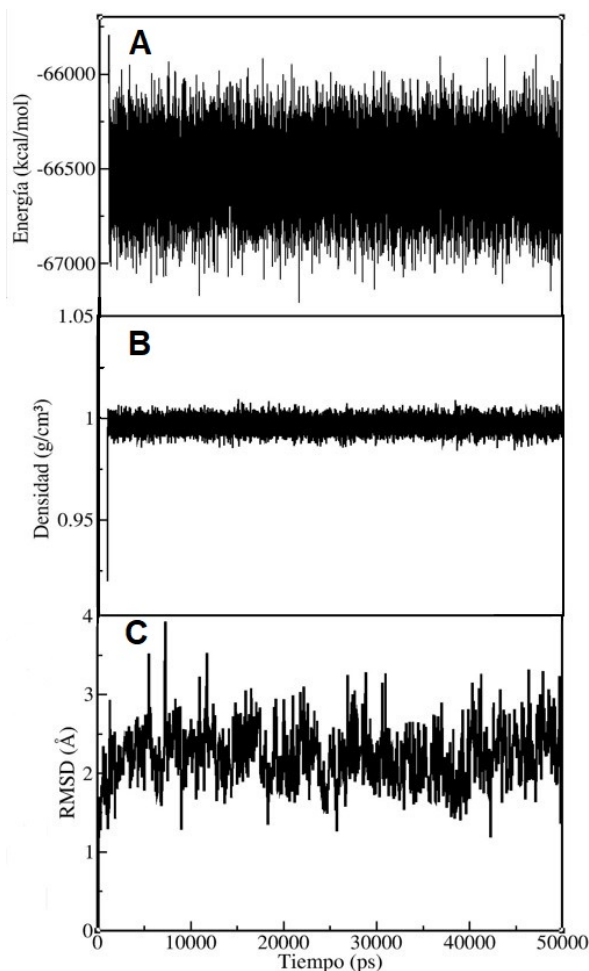


Figura 8: Análisis de los datos obtenidos del equilibrado y la producción de la cadena  $G_{10}$ . A) Variación de la energía, B) Variación de la densidad y C) Variación del RMSD durante 50000 ps.

## 7.2. Equilibrado y convergencia en las cadenas de ADN enlazadas a picoplatino

El siguiente paso es realizar una simulación con el picoplatino enlazado al ADN, pero primero se tiene que parametrizar el picoplatino, debido a que el campo de fuerzas de AMBER [10], describe correctamente las cadenas de ADN aisladas. Pero, si se quiere enlazar el picoplatino a la cadena, se tiene que obtener los parámetros de los campos de fuerza para picoplatino y las dos guaninas enlazadas a él. Para ello, primero se representa el picoplatino aislado, después unido a dos guaninas con en el programa GaussView [11] y posteriormente, se realiza la optimización de la geometría usando DFT. La optimización de geometría, el cálculo de frecuencias y el cálculo de las cargas se realiza con el funcional B3LYP, el pseudopotencial LANL2DZ [32] para el platino y la base 6-31G\* [25] - [31] para el resto de átomos. Con el cálculo de la optimización de la geometría se obtienen

unas coordenadas donde la derivada de la energía respecto de las coordenadas de los átomos es cero debido a que la estructura se encuentra en un mínimo o en un máximo de energía. Se realiza un cálculo de las frecuencias ya que estas dependen de la segunda derivada respecto de las coordenadas de los átomos y dependiendo de su signo, nos indicará si la geometría en esas coordenadas está en un máximo o mínimo. Si en el cálculo aparecen frecuencias imaginarias, la geometría se encuentra en un máximo y se tendría que rehacer el cálculo de la optimización de geometría hasta obtener un mínimo de energía. En los output, archivos donde se muestran los resultados, no aparece ninguna frecuencia imaginaria, por lo que se puede concluir que la geometría en esas coordenadas se encuentra en un mínimo de energía. Al realizar la optimización de geometría se obtienen por defecto las cargas de Mulliken, estas se calculan a partir de la densidad electrónica local y no reproducen bien los potenciales electrostáticos. Para tener estos en cuenta, se calculan las cargas de Merzh-Kollman, que se usarán posteriormente en la simulación de MD del picoplatino enlazado al ADN. Con estos datos se parametriza el picoplatino unido a las dos guaninas aplicando el método de Seminario [34]. Con este método se obtienen las constantes de fuerza para las interacciones enlazantes y angulares a partir de la matriz Hessiana.

Una vez parametrizado el picoplatino unido a dos guaninas, se enlaza el picoplatino a las dos guaninas centrales de las cadenas de ADN con el programa PyMOL [35], a una distancia de enlace de unos 2.3 Å entre el platino y los nitrógenos 7 de las guaninas, detallado en la Figura 1C. Después, se solvata el sistema y se añaden cationes de sodio para que el sistema sea electrónicamente neutro y se sigue el mismo procedimiento utilizado para las cadenas sin el fármaco, es decir, minimización de la energía de las cadenas unidas a picoplatino, calentamiento hasta 300 K, equilibrado de la densidad y producción. La etapa minimización se compone de 10000 ciclos, el calentamiento tiene una duración de 100 ps y se utiliza el termostato de Langevin. Por último, se realiza una primera parte de la producción de 10 ps de duración con MD clásica. Como ésta era inestable, se decidió realizar la segunda parte de la producción utilizando MD QM/MM con una duración de 1 ns porque se describe mejor con el método PM6 el picoplatino enlazado a las dos guaninas. Analizando la Figura 9, tanto la temperatura como la energía convergen durante el proceso de calentamiento.

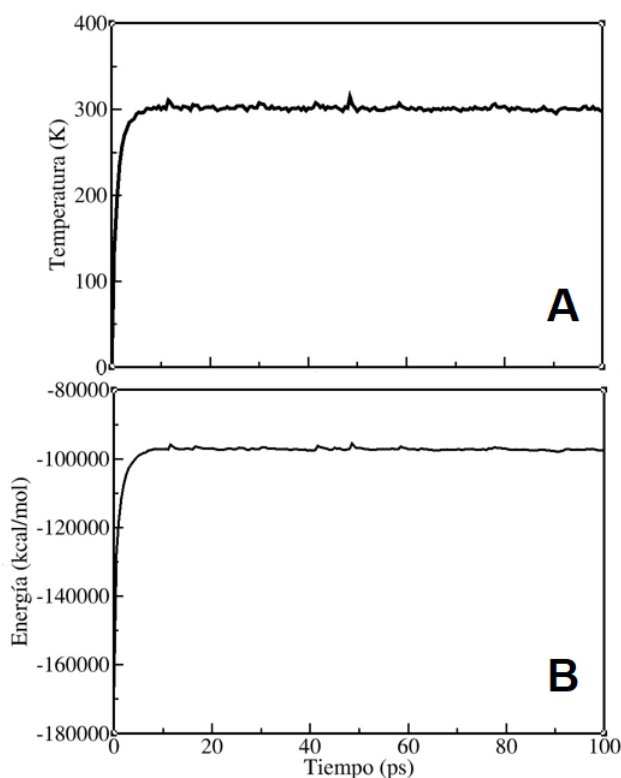


Figura 9: Variación de A) Temperatura y B) Energía durante 100 ps en el calentamiento a 300 K.



Estudiando los valores obtenidos en la producción, en la Figura 10 se observa que los primeros 10 ps se ha realizado con MD clásica y los 1000 ps restantes se han realizado con MD QM/MM. En la producción con MD clásica, la densidad tiende rápidamente a 1, valor esperado en un sistema solvatado con agua, y la energía disminuye pero no converge debido a la corta duración de la simulación. Al aumentar el tiempo de la producción, esta era inestable con MD clásica, por lo que se cambió el método a MD QM/MM. En la producción con QM/MM, tanto la densidad como la energía convergen. Cabe destacar que al principio de esta producción, el sistema parte de un volumen más pequeño y por eso inicia desde una densidad mayor a 1, Figura 10A. Los picos de energía que se observan en la Figura 10B, salvo el pico sobre 400 ps que es debido al cambio de densidad, son debidos a los cambios estructurales que se producen en la cadena de ADN por la unión de picoplátino a las dos guaninas centrales. Estos cambios estructurales se pueden observar en los valores de RMSD en la Figura 10C donde se puede ver que, cuando varía la estructura, se obtiene un pico de energía, pero a pesar de las oscilaciones del RMSD, la energía del sistema se mantiene estable a partir de los 400 ps, por lo que se procede al análisis de la estructura.

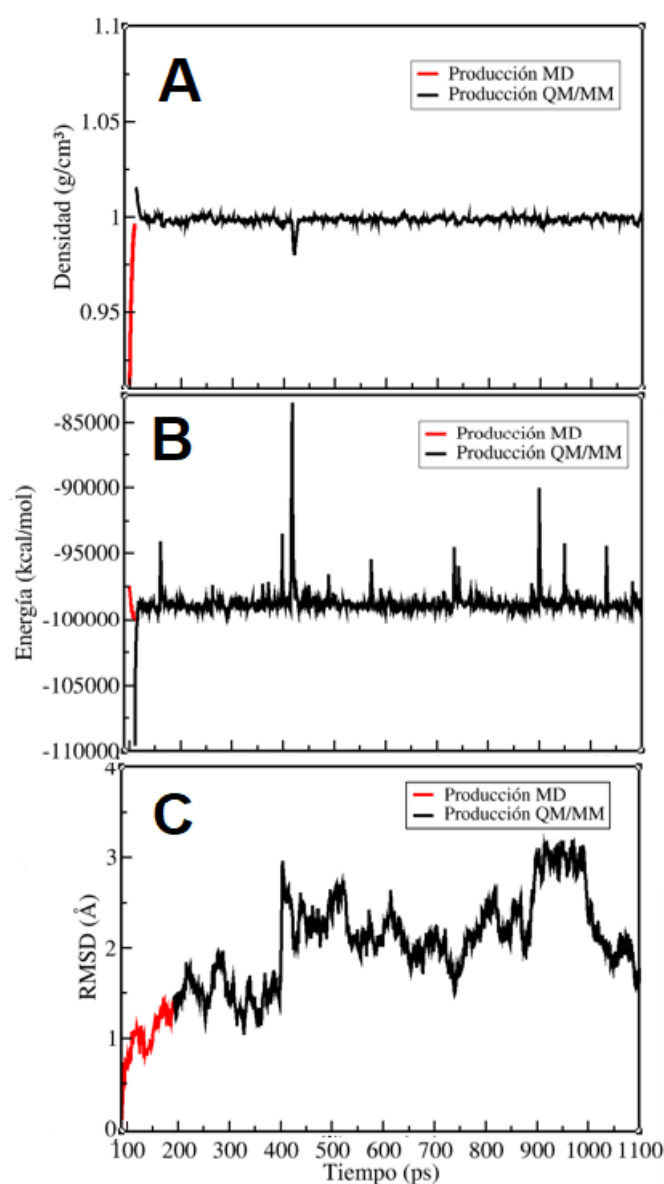


Figura 10: Variación de A) Densidad, B) Energía y C) RMSD durante 1110 ps en la producción.

### 7.3. Deformación estructural del ADN por la interacción con picoplatino

Una vez listas todas las cadenas con el fármaco, se procede a analizar la deformación de la estructura del ADN producida por picoplatino. Para estudiar esta deformación, se utiliza el programa Curves+ [13], para determinar varios parámetros estructurales. En primer lugar, el ángulo helicoidal ( $\alpha$ ) de la cadena de ADN (representado en la Figura 11), se define como el ángulo formado entre el eje helicoidal y el vector normal al plano formado por un par de nucleobases. Se calcula este ángulo para todos los pares de bases y después se promedia [36]. Para su análisis, también se compara el ángulo helicoidal antes y después de la unión con el picoplatino, pudiendo así determinar cuánto se dobla la estructura del ADN al enlazarse al fármaco. Se va a estudiar la evolución temporal del ángulo  $\alpha$  obtenido con el programa Curves+ [13] y, después, se compararán los valores medios de  $\alpha$  obtenidos de las cadenas de ADN con y sin picoplatino. La secuencia de guanina enlazada al complejo no aparece debido a que no ha dado tiempo a realizar la simulación, pero se incluye en los resultados de la cadena sin picoplatino para ser consistentes con el procedimiento seguido. Analizando la Figura 12, a medida que transcurre la simulación, va aumentando el valor medio del ángulo helicoidal hasta  $20^\circ$ , indicando que la estructura se deforma ya que, un mayor valor de  $\alpha$  indica una mayor deformación y provoca una mayor facilidad de la célula para reconocer esta anomalía e iniciar el proceso de apoptosis. Debido a que el ángulo aumenta a lo largo de la simulación, indica que no está del todo convergido y se necesitan simulaciones más largas, que se realizarán después de este trabajo siguiendo con el proyecto.

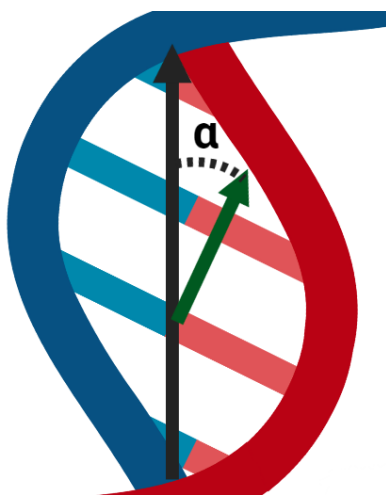


Figura 11: Definición del ángulo helicoidal  $\alpha$  [13].

Para estudiar el efecto de la secuencia en la deformación estructural provocada por picoplatino, se analizan los valores medios de  $\alpha$  de cada cadena. Como se puede observar en la Figura 13, la presencia del fármaco aumenta el ángulo  $\alpha$  en todas las cadenas de ADN. Especialmente, en las secuencias con citosina y timina se alcanzan los valores más elevados, indicando que la presencia de estas bases aumenta la deformación inducida por el complejo de platino. En el futuro se realizará un análisis exhaustivo para determinar las causas de este aumento pero, se ha planteado la hipótesis de que estas bases, al tener un grupo carboxilo, pueden formar enlaces de hidrógeno con el grupo amina del picoplatino. Si comparamos este valor con el del fármaco más empleado, cisplatino, que deforma la estructura  $32^\circ$  hacia el surco mayor [3], se puede determinar que el picoplatino daña menos la estructura que el cisplatino, implicando que las proteínas HMG reaccionarán debilmente con los complejos picoplatino-ADN y la señal de apoptosis de las células cancerígenas será menos importante.

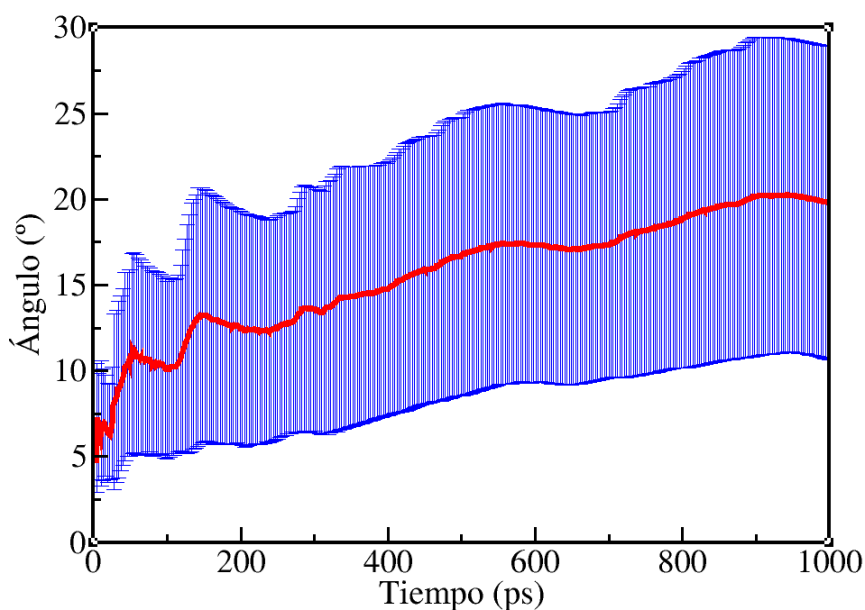


Figura 12: Variación del valor medio del ángulo  $\alpha$  en 1000 ps de simulación de la cadena de ADN de adenina unida al picoplatino. En rojo el valor del ángulo y en azul su desviación estándar.

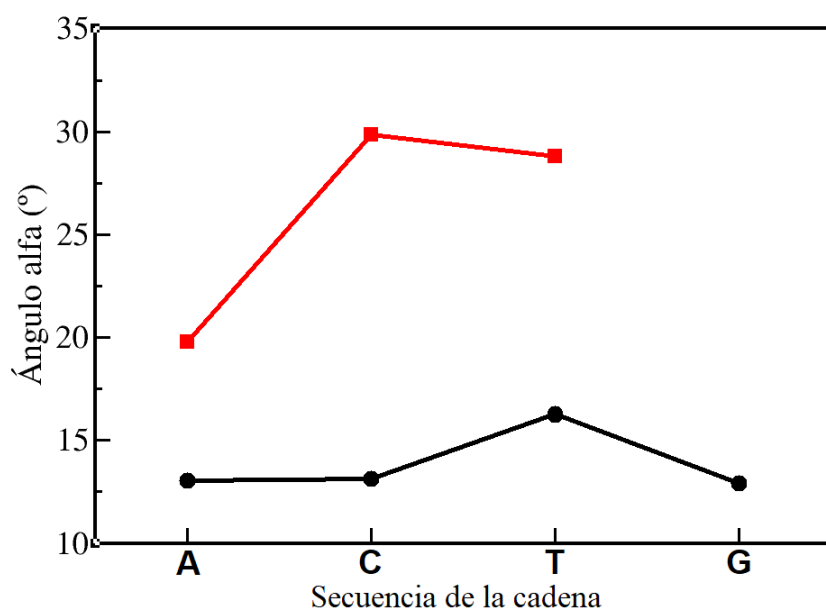


Figura 13: Variación del ángulo  $\alpha$  en función de la secuencia de la cadena. En rojo los valores de las cadenas enlazadas a picoplatino y en negro sin enlazar.

La cadena de ADN tiene más formas para deformarse además del ángulo helicoidal, como por ejemplo las analizadas a continuación. Se estudian las translaciones y rotaciones que se producen entre las dos guaninas centrales en las cadenas con y sin el compuesto de platino. Los parámetros *Shift*, *Slide* y *Rise* se definen como las translaciones y los parámetros *Tilt*, *Roll* y *Twist* se definen como las rotaciones producidas entre ellas. Estos parámetros estructurales están definidos en la Figura 14. En la Figura 15 se muestra cómo varían los parámetros estructurales obtenidos con el programa Curves+ [13] de la cadena de adenina unida al fármaco, y se observa, en la Figura 15, que todos los parámetros oscilan a lo largo de la dinámica, pero las que más destacan se observan en el *Rise* y el *Tilt*, Figuras 15C y 15D, respectivamente.

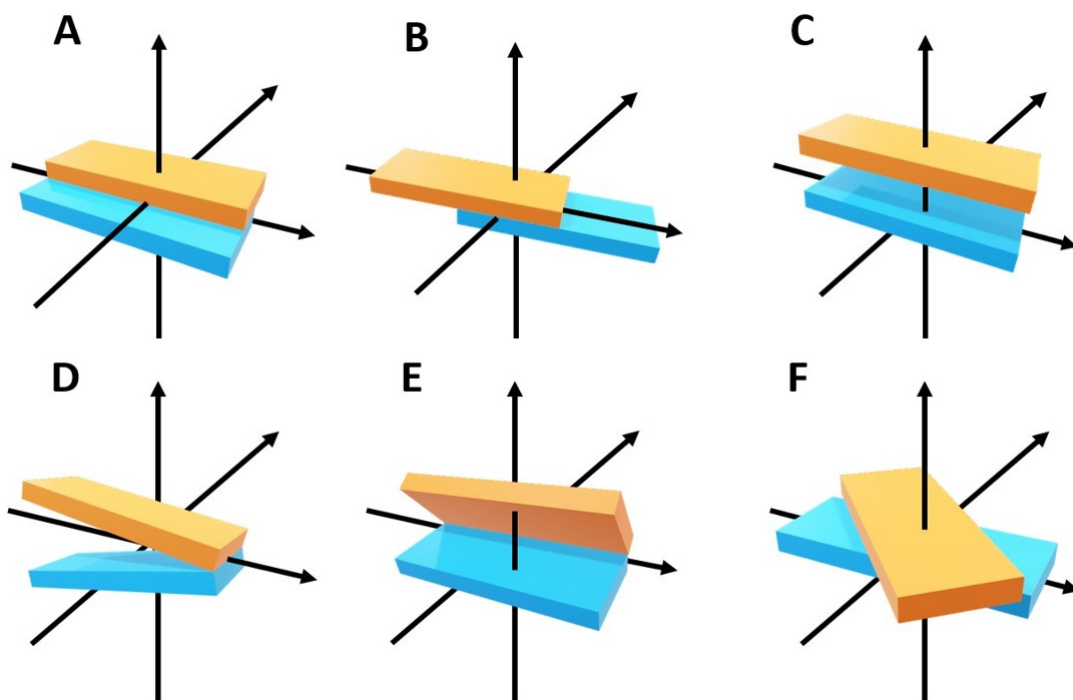


Figura 14: Definición de los parámetros: A) *Shift*, B) *Slide*, C) *Rise*, D) *Tilt*, E) *Roll*, F) *Twist* [13].

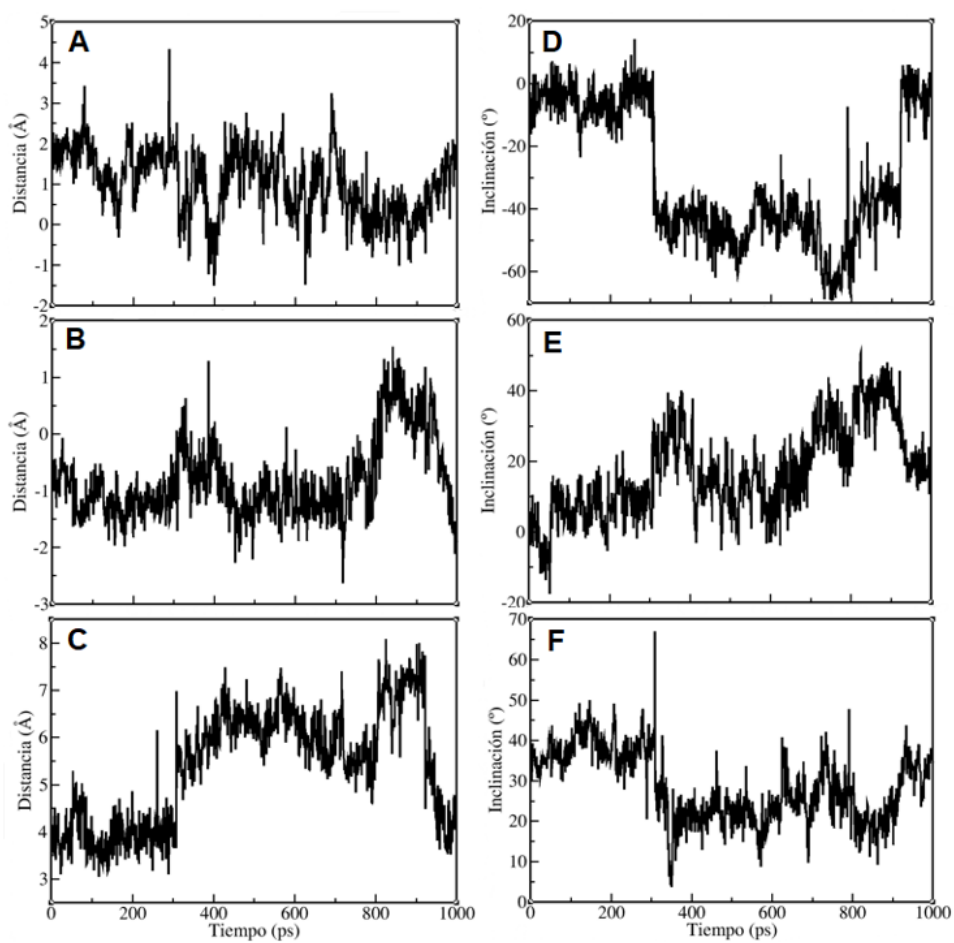


Figura 15: Variación de los parámetros estructurales de la cadena de adenina unida a picoplatino durante 1000 ps: A) *Shift*, B) *Slide*, C) *Rise*, D) *Tilt*, E) *Roll*, F) *Twist*.

Con el programa VMD [12], se observa en la simulación que sobre los 350 ps, se rompe las interacciones de enlaces de hidrógeno de una de las guaninas enlazadas al picoplatino con su base complementaria (citosina), haciendo que esta se oriente hacia afuera de la cadena y después sobre los 800 ps la guanina vuelve a interactuar con su citosina complementaria, posicionándose dentro de la cadena. Estos movimientos de la guanina central explican las variaciones de los parámetros estructurales mostrados en la Figura 15. También se comparan los valores medios de las translaciones y rotaciones entre las cadenas sin y con el complejo de platino enlazado. De esta manera, se puede cuantificar como afecta la presencia del fármaco a la estructura. En general, en la Figura 16, se puede afirmar que el picoplatino modifica la estructura del ADN cuando se enlaza a este debido a que varía todos los parámetros estructurales. Esto se puede observar, por ejemplo, en la translación *Rise*, Figura 16C, que separa verticalmente las guaninas hasta 5.5 Å, sobre todo en las cadenas de adenina y citosina. Y en la rotación *Tilt*, Figura 16D, que destaca la secuencia de adenina por sufrir una mayor inclinación entre las dos guaninas. Estas deformaciones son debidas, en el caso de la adenina comentado anteriormente, a que una de las guaninas se orienta hacia afuera, provocando que los valores del *Rise* y *Tilt* sean tan elevados. Pero en el caso de la citosina y timina, se hipotetiza de que es debido a que se forman enlaces de hidrógeno con las bases adyacentes a las dos guaninas enlazadas al picoplatino, provocando que estas se separen (aumento del *Rise*), se orienten hacia ellas (variación del *Tilt*) y sobre todo aumente el ángulo helicoidal  $\alpha$  a unos 30°.

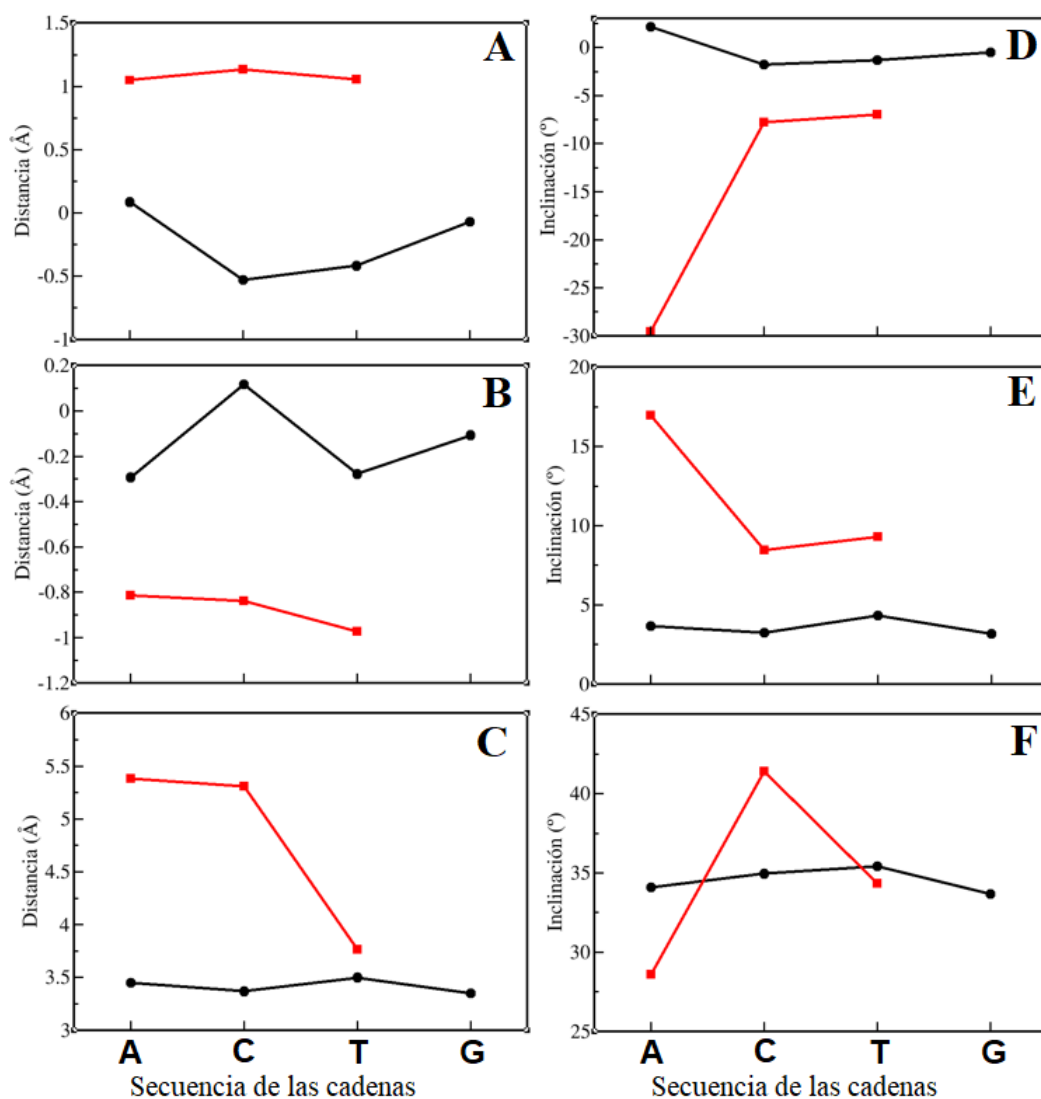


Figura 16: Comparación de los valores medios de los parámetros estructurales: A) *Shift*, B) *Slide*, C) *Rise*, D) *Tilt*, E) *Roll*, F) *Twist*. En rojo los valores de las cadenas enlazadas a picoplatino y en negro sin enlazar.

## 8. Conclusiones

Investigar los detalles del mecanismo de acción de compuestos de platino anticancerígenos, incluyendo la deformación que se produce en las cadenas de ADN al suministrar el fármaco, es importante para conseguir el objetivo de diseñar un nuevo fármaco que sea más citotóxico y tenga menos efectos secundarios. En concreto, estudiar la deformación producida en el ADN por el picoplatino es importante, debido a que este compuesto tiene menos efectos secundarios que el cisplatino, el fármaco más usado en quimioterapia. Para llevar a cabo este estudio, se ha aplicado un modelo teórico empleando MD clásica y MD QM/MM para describir la deformación estructural de varias secuencias de ADN enlazadas al fármaco picoplatino. Se han analizado los valores de varios parámetros estructurales de la cadena entera de ADN y de las guaninas centrales enlazadas al medicamento. Se observa que el picoplatino modifica la estructura de la cadena debido al aumento del *Rise*, la disminución del *Tilt* entre las guaninas centrales y por el pliegue de la cadena resultado del aumento del valor del ángulo helicoidal. También se ha determinado qué secuencia se ve más afectada a la variación de la estructura, pudiendo afirmar que con adenina las guaninas sufren una mayor separación y una mayor desviación en su orientación debido a que una de las guaninas se orienta hacia fuera de cadena. Respecto al ángulo helicoidal, se han obtenido los mayores valores con las cadenas de citosina y timina, debido a que se producen interacciones del tipo enlace de hidrógeno entre el grupo amino de las guaninas enlazadas a picoplatino y el grupo carboxilo de las bases nitrogenadas adyacentes. Esto indica que con estas bases se deforma más la estructura y las proteínas HMG son capaces de detectar mejor esta anomalía. Comparando con el valor de la deformación inducida por cisplatino, el picoplatino produce una menor deformación en la estructura del ADN, provocando que la ruta de detección de la deformación estructural, y de la consecuente apoptosis, esté menos favorecida. Se puede concluir que, picoplatino induce menos daño en el ADN que cisplatino, aunque esto no significa que el picoplatino sea peor fármaco. La eficacia de un medicamento depende de más factores, como capacidad para atacar a células sanas (toxicidad) y facilidad para entrar a las células cancerígenas, entre otros, que deben ser investigados en detalle.

## Referencias

- [1] National Cancer Institute, [Definición médica del cáncer](#). Fecha de acceso: 14/02/2023.
- [2] Baik M.H., Friesner R. A., & Lippard S. J. (2003). [Theoretical Study of Cisplatin Binding to Purine Bases: Why Does Cisplatin Prefer Guanine over Adenine?](#) *Journal of the American Chemical Society*, 125(46), 14082–14092.
- [3] Rabik C., & Dolan, M. E. (2006). [Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinumating agents](#). *Cancer Treatment Reviews*, 33(1), 9–23.
- [4] Ruano L., Cárdenas G., Nogueira J.J., [The Permeation Mechanism of Cisplatin Through a Dioleoylphosphocholine Bilayer](#). *ChemPhysChem* 2021, 22, 1251.
- [5] Malik-Gajewska M., Trynda J., Zierkiewicz W., Helios K., Latajka R., Wietrzyk J., & Michalska D. (2018). [Picoplatin-based complexes with the bioactive orotate and 5-fluoroorotate ligands: Synthesis, DFT calculations, structure, spectroscopic characterization and in vitro cytotoxicity](#). *Journal of Molecular Structure*, 1171(19), 155–167.
- [6] Beale P., Judson I., O'Donnell A., Trigo J., Rees C., Raynaud F., Turner A., Simmons L., & Etterley L. (2003). [A Phase I clinical and pharmacological study of cis-diamminedichloro\(2-methylpyridine\) platinum II \(AMD473\)](#). *British Journal of Cancer*. *Nature*, 88(7), 1128–1134.
- [7] National Cancer Institute, [Definición médica de mielosupresión](#). Fecha de acceso: 15/02/2023.
- [8] American Cancer Society, [Definición médica de neuropatía periférica](#). Fecha de acceso: 15/02/2023.
- [9] Mercado V., Burgos R., & Muñoz C. (2007). [Ototoxicidad por medicamentos](#). *Revista de otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello*. *SciELO*, 67(2), 167-177.
- [10] Case D. A., Brozell S. R., Cerutti D. S., Cheatham T. E. III, Cruzeiro V. W. D., Darden T. A., Duke D. G., Gilson M. K., Gohlke H., Goetz A. W., Greene D., Harris R., Homeyer N., Huang Y., Izadi S., Kurtzman A. K. T., Lee T. S., LeGrand S., Li P., Lin C., Liu J., Luchko T., Luo D. J., Mermelstein K. M. M., Miao Y., Monard G., Nguyen C., Nguyen H., Omelyan I., Onufriev A., Pan R., Qi D. R. R., Roitberg A., Sagui C., SchottVerdugo S., Shen J., Simmerling C. L., Smith J., Salomon Ferrer R., Swails J., Walker R. C., Wang J., Wei H., Wolf R. M., Wu X., Xiao L., York D. M., Kollman P. A. (2018). [AMBER](#), University of California, San Francisco.
- [11] Frisch M. J., Trucks G. W., Schlegel H. B., Scuseria G. E., Robb M. A., Cheeseman J. R., Scalmani G., Barone V., Petersson G. A., Nakatsuji H., Li X., Caricato M., Marenich A. V., Bloino J., Janesko B. G., Gomperts R., Mennucci B., Hratchian, H. P., Ortiz J. V., Izmaylov A. F., Sonnenberg J. L., Williams-Young D., Ding F., Lipparini F., Egidi F., Goings J., Peng B., Petrone A., Henderson T., Ranasinghe D., Zakrzewski V. G., Gao J., Rega N., Zheng G., Liang W., Hada M., Ehara M., Toyota K., Fukuda R., Hasegawa J., Ishida M., Nakajima T., Honda Y., Kitao O., Nakai H., Vreven T., Throssell K., Montgomery J. A. Jr., Peralta J. E., Ogliaro F., Bearpark M. J., Heyd J. J., Brothers E. N., Kudin K. N., Staroverov V. N., Keith T. A., Kobayashi R., Normand J., Raghavachari K., Rendell A. P., Burant J. C., Iyengar S. S., Tomasi J., Cossi M., Millam J. M., Klene M., Adamo C., Cammi R., Ochterski J. W., Martin R. L., Morokuma K., Farkas O., Foresman J. B., Fox D. J. (2016). [Gaussian](#), Inc., Wallingford CT.

- [12] Humphrey W., Dalke A. and Schulten K. (1996). [VMD - Visual Molecular Dynamics](#), J. Molec. Graphics, vol. 14, pp. 33-38.
- [13] Blanchet C., Pasi M., Zakrzewska K. and Lavery R. (2011). [CURVES+ web server for analyzing and visualizing the helical, backbone and groove parameters of nucleic acid structures](#). Nucleic Acids Res, 39, W68-73.
- [14] Adcock S.A., McCammon J.A. (2006). [Molecular Dynamics: Survey of Methods for Simulating the Activity of Proteins](#). Journal of the American Chemical Society, 106(5), 1589–1615.
- [15] Allen M. P. (2004). [Introduction to molecular dynamics simulation. Computational soft matter: from synthetic polymers to proteins](#), Computational Soft Matter, Centre for Scientific Computing and Department of Physics, University of Warwick, 23(1), 1-28.
- [16] Nogueira J. J., In MoBioChem Youtube Channel. [Molecular Dynamics: Equations of Motion](#).
- [17] Jumper J et al. (2021). [Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold](#). Nature.
- [18] Meller J. (2001). [Molecular dynamics](#). Encyclopedia of life sciences, 18.
- [19] Nogueira J. J., In MoBioChem Youtube Channel. [Molecular Dynamics: Force Fields](#).
- [20] Braun E., Gilmer J., Mayes H. B., Mobley D. L. ., Monroe J. I., Prasad, S. & Zuckerman D. M. (2018). [Best Practices for Foundations in Molecular Simulations \[Article v1.0\]](#). Living Journal of Computational Molecular Science, 1(1), 5957.
- [21] Sutmann G. (2009). [Classical Molecular Dynamics. Quantum Simul Complex Many-body Syst: Theory Algorithms.](#), Central Institute for Applied Mathematics Research Centre Julich, 10. 211-254.
- [22] Levine I.N. (2014) [Quantum Chemistry](#). 7th Edition, Pearson Education, New York.
- [23] A. D. Becke (1993). [A new mixing of Hartree-Fock and local density-functional theories](#). The Journal of Chemical Physics, 98 (2), 1372–1377.
- [24] Lee C., Yang W., & Parr R. G. (1988). [Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density](#). Physical Review B, 37(2), 785–789.
- [25] Clark T., Chandrasekhar J., Spitznagel G. W., & Schleyer P. V. R. (1983). [Efficient diffuse function-augmented basis sets for anion calculations. III. The 3-21+G basis set for first-row elements, Li-F](#). Journal of Computational Chemistry, 4(3), 294–301.
- [26] Ditchfield R., Hehre W. J., & Pople J. A. (1971). [Self-Consistent Molecular-Orbital Methods. IX. An Extended Gaussian-Type Basis for Molecular-Orbital Studies of Organic Molecules](#). The Journal of Chemical Physics, 54(2), 724–728.
- [27] Franci M. M., Pietro W. J., Hehre W. J., Binkley J. S., Gordon M. S., DeFrees D. J., & Pople J. A. (1982). [Self-consistent molecular orbital methods. XXIII. A polarization-type basis set for second-row elements](#). The Journal of Chemical Physics, 77(7), 3654–3665.
- [28] Gordon M. S., Binkley J. S., Pople J. A., Pietro W. J., & Hehre W. J. (1982). [Self-consistent molecular-orbital methods. 22. Small split-valence basis sets for second-row elements](#). Journal of the American Chemical Society, 104(10), 2797–2803.



- [29] Hariharan P. C., & Pople J. A. (1973). [The influence of polarization functions on molecular orbital hydrogenation energies](#). *Theoretica Chimica Acta*, 28(3), 213–222.
- [30] Hehre W. J., Ditchfield R., & Pople J. A. (1972). [Self—Consistent Molecular Orbital Methods. XII. Further Extensions of Gaussian—Type Basis Sets for Use in Molecular Orbital Studies of Organic Molecules](#). *The Journal of Chemical Physics*, 56(5), 2257–2261.
- [31] Spitznagel G. W., Clark T., von Ragué Schleyer P., & Hehre W. J. (1987). [An evaluation of the performance of diffuse function-augmented basis sets for second row elements, Na-Cl](#). *Journal of Computational Chemistry*, 8(8), 1109–1116.
- [32] Hay P. J., & Wadt W. R. (1985). [Ab initio effective core potentials for molecular calculations. Potentials for K to Au including the outermost core orbitals](#). *The Journal of Chemical Physics*, 82(1), 299–310.
- [33] Krishnan R., & Pople J. A. (1978). [Approximate fourth-order perturbation theory of the electron correlation energy](#). *International Journal of Quantum Chemistry*, 14(1), 91–100.
- [34] Seminario J.M. (1996). [Calculation of intramolecular force fields from second-derivative tensors](#). *International Journal of Quantum Chemistry*, 60: 1271-1277.
- [35] Schrödinger L., & DeLano W. (2020). [PyMOL](#).
- [36] Lavery R. and others. (2009). [Conformational analysis of nucleic acids revisited: Curves+](#). *Nucleic Acids Research*, Volume 37, Issue 17, Pages 5917–5929,