



Centro de Investigación y de Estudios Avanzados
del Instituto Politécnico Nacional

UNIDAD MONTERREY

La interacción de Xenón con liposomas de DPPC: un
estudio de Dinámica Molecular

TESIS QUE PRESENTA

Angel David Reyes Figueroa

PARA OBTENER EL GRADO DE

Maestro en Ciencias

EN

Ingeniería y Física Biomédicas

DIRECTOR DE LA TESIS

Dr. Jesús Carlos Ruiz Suárez

APODACA, NUEVO LEÓN

AGOSTO 2015

Agradecimientos

Este documento cierra una etapa más de mi vida académica, la cual me ha llenado no solo de mucho conocimiento del área, sino también de mucho conocimiento de la convivencia humana.

Empezaré por agradecer a mi madre, mis abuelos y mi hermano, quienes realmente han sido la base para que yo pueda cumplir los objetivos y metas que me he propuesto. Sin dejar de lado a mi novia y mejor amiga Diana Luz, quién me ha motivado y apoyado para crecer en todos los aspectos de mi vida.

También a mis amigos de siempre, Adrián, Amilka, Ariam, Armando, Carlos Francisco, Efraín Rojas, Luis Antonio, Luis Felipe, Luis Gregorio, Nemesis, Nestor, Paulina, Raul, Virginia, ... Con quienes simplemente se que siempre puedo contar.

Afortunadamente esta etapa también generó nuevos amigos, como Alan, Andrea, Eric, Mauricio y Moisés, los cuales me apoyaron en estos dos años.

Gracias al Dr. Carlos, quién fue el pilar de mi desarrollo en esta etapa. Este trabajo guarda entre sus páginas el sabor de la grata convivencia y el cálido ambiente de trabajo.

También a mis compañeros y amigos de laboratorio quienes proporcionan el conocimiento y auxilio cuando más se necesita.

Es necesario agradecer a la unidad Monterrey y a todos los integrantes, quienes desde el guardia, la secretaria, los investigadores y hasta el director; forman un ambiente de trabajo agradable.

Por último y no menos importante, agradecer a CONACYT, sin el cuál no habría sido posible estudiar la maestría y terminar el proyecto.

Índice general

| | |
|---|----------|
| Índice general | II |
| Índice de figuras | IV |
| Resumen | VI |
| Abstract | VII |
| 1. Introducción | 1 |
| 1.1. Aspectos Biológicos | 1 |
| 1.1.1. Membrana Plasmática | 1 |
| 1.1.2. Anestesia | 2 |
| 1.1.3. Xenón | 4 |
| 1.2. Fisicoquímica Computacional | 5 |
| 1.2.1. Modelado de un sistema | 7 |
| 1.2.2. Modelado molecular | 10 |
| 1.3. Dinámica Molecular | 11 |
| 1.3.1. Energía potencial | 12 |
| 1.3.1.1. Energía de tensión | 13 |
| 1.3.1.2. Energía de flexión | 14 |
| 1.3.1.3. Energía de torsión | 15 |
| 1.3.1.4. Energía de Van Der Waals | 16 |
| 1.3.1.5. Energía electrostática | 17 |
| 1.3.2. Interacciones moleculares | 18 |
| 1.3.3. Análisis | 19 |

ÍNDICE GENERAL

| | |
|--|-----------|
| 1.3.3.1. Entropía configuracional | 19 |
| 1.4. Hipótesis | 22 |
| 2. Objetivos | 23 |
| 2.1. Objetivo General | 23 |
| 2.2. Objetivos Particulares | 23 |
| 3. Desarrollo | 24 |
| 3.1. Materiales | 24 |
| 3.2. Generación del liposoma | 25 |
| 3.3. Relajación | 26 |
| 3.4. Liposoma en presencia del xenón | 28 |
| 3.5. Entropía de Schlitter | 30 |
| 4. Resultados | 32 |
| 4.1. Proceso de relajación | 32 |
| 4.2. Liposoma en presencia de xenón | 35 |
| 5. Discusión | 39 |
| 6. Conclusiones | 42 |
| 7. Trabajo a futuro | 43 |
| Bibliografía | 44 |

Índice de figuras

| | |
|---|----|
| 1.1. Estructura química de un fosfolípido. Una molécula de glicerol (B), que actúa como columna vertebral, a la cual dos de sus grupos hidroxilos se esterifican a dos cadenas de ácidos grasos (A), a esto se le denomina “cola hidrofóbica”. El tercer grupo hidroxilo del glicerol se encuentra esterificado a un grupo fosfato (C), el cual, a su vez, se encuentra unido a un grupo hidrofílico (D); a estos dos grupos se les denomina “cabeza hidrofílica” [1] | 2 |
| 1.2. Regla de Meyer-Overton para varios anestésicos generales [2] | 3 |
| 1.3. Jerarquías de los bloques de construcción para describir a un sistema químico [3] | 8 |
| 1.4. Representación de los elementos de la energía potencial [3] | 13 |
| 1.5. Potencial armónico de tensión contra el potencial real | 14 |
| 1.6. Potencial armónico de flexión | 15 |
| 1.7. Representación de un ángulo diedro | 15 |
| 1.8. Explicación del ángulo diedro | 16 |
| 1.9. Potencial de Lennard Jones | 18 |
| 4.1. Vesícula de 1775 lípidos de DPPC | 32 |
| 4.2. Entalpía del sistema como función del tiempo del sistema con xenón contra el control. En el recuadro superior derecho se muestra el lado del cubo que contiene al liposoma como función del tiempo | 33 |
| 4.3. Distribución radial de lípidos, las cruces son para el tiempo inicial y los círculos para 200 ns. | 34 |
| 4.4. Representación del liposoma en presencia del xenón, el xenón está dibujado como esferas blancas. | 35 |

ÍNDICE DE FIGURAS

- 4.5. Distribución radial de lípidos y xenón. Las cruces y los círculos representan los lípidos en el control y el sistema con xenón respectivamente. Los asteriscos hacen referencia a los átomos del gas noble. 36
- 4.6. Liposoma en presencia de xenón y control 37
- 4.7. Gráfica de la entropía promedio del liposoma como función del tiempo del sistema con xenón contra el control. 38

Resumen

Poco se sabe sobre cómo el xenón es capaz de producir anestesia. Uno de los mecanismos de acción propuestos es mediante la fluidización de la membrana. Existen trabajos de dinámica molecular que han estudiado la interacción del gas con membranas lipídicas planas.

En el presente trabajo se realizaron simulaciones de dinámica molecular de un liposoma de DPPC con y sin xenón. Se cuantificaron los cambios en la entropía configuracional, entalpía y la distribución radial de los lípidos y el gas. Para el cálculo de entropía se utilizó el método de Schlitter, la entalpía se midió sumando la energía total con la presión por el volumen; por último la distribución radial fue realizada en función del centro geométrico del liposoma.

Se encontró que la entropía configuracional aumentó un 13% con respecto al control, la entalpía creció un 1.4% y los lípidos de la capa externa del liposoma aumentaron su distancia radial 1 nm con respecto al control.

El xenón es capaz de aumentar la entropía de una vesícula y fluidizar la membrana. La entropía está en el mismo orden que la entalpía, por lo que en futuros trabajos se calculará la entropía del agua para confirmar la constante de afinidad entre el xenón y un liposoma.

Abstract

Little is known about how the xenon is able to produce anesthesia. One of the proposed action mechanisms is by the fluidization of the membrane. There have been studies about molecular dynamics that study the interaction between the gas and lipid bilayers.

In the present work it has been performed Molecular Dynamics Simulations of a DPPC liposome with and without xenon were performed. It has been quantified the configurational entropy changes, enthalpy and the radial distribution of the lipids. For the entropy calculation it has been used the Schlitter's method; the enthalpy is measured adding the pressure by the volume with the total energy; finally the radial distribution was taken from the geometric center of the liposome.

The configurational entropy increases 13 %, the enthalpy grew 1.4 % and lipids of the outer layer increased radially 1 nm over the control.

xenon is capable of augmenting the entropy of the vesicle through the fluidization of the membrane. The entropy is in the same order of the enthalpy, so in future work it will be calculated the water entropy to confirm the existence of the affinity between the xenon and the liposome.

Capítulo 1

Introducción

1.1. Aspectos Biológicos

1.1.1. Membrana Plasmática

Las membranas celulares juegan un papel crucial prácticamente en todos los fenómenos biológicos [4]. Una de las membranas de especial interés es la membrana plasmática, la cual no solo limita la célula, sino que es capaz de identificar y responder ante diversos estímulos moleculares de manera específica y efectiva. Por ejemplo, permite el flujo de moléculas e iones de manera controlada [5]. Su constitución es compleja y es el resultado del ensamblaje de diversas entidades moleculares, tales como lípidos, proteínas y carbohidratos [6]. La proporción de cada una de estas moléculas al igual que sus respectivos subtipos, le confiere a la membrana una función específica [4].

Las proteínas son macromoléculas que juegan un papel muy importante en la célula, y han sido objeto de estudio de muchos estudios de la biología moderna. Estas moléculas se han relacionado en muchas funciones, tales como: regulación, movimiento y transporte de moléculas, catálisis enzimática, mecanismos de regulación y vías de señalización [7].

Los lípidos son un grupo de moléculas que comparten una característica común, ser hidrofóbicos. Lo anterior no significa que todos los lípidos sean exclusivamente hidrofóbicos, existen lípidos que cuentan con grupos hidrofílicos.

Esta característica es descrita por el término anfipático [5].

La estructura básica de una membrana está dada por una bicapa lipídica, una película de doble capa de lípidos anfipáticos, cada una de las cuales contiene una sola molécula de grosor y rodea de forma continua toda la superficie celular [6].

Si bien existen muchos tipos de lípidos anfipáticos, vamos a centrar nuestro interés en los fosfolípidos(1.1), los cuales se encuentran en gran proporción en las membranas celulares [6].

Debido a la hidrofobicidad de las colas de ácidos grasos, los fosfolípidos forman bicapas espontáneamente en soluciones acuosas, lo que eventualmente permite que se generen vesículas [5].

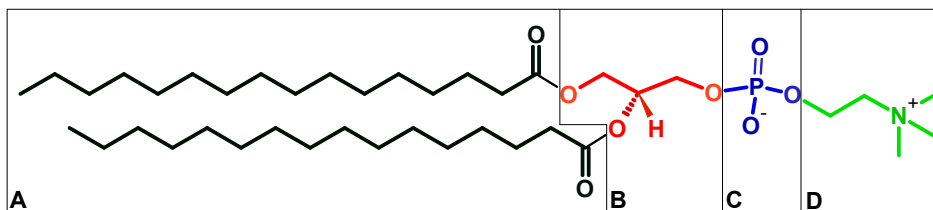


Figura 1.1: Estructura química de un fosfolípido. Una molécula de glicerol (B), que actúa como columna vertebral, a la cual dos de sus grupos hidroxilos se esterifican a dos cadenas de ácidos grasos (A), a esto se le denomina “cola hidrofóbica”. El tercer grupo hidroxilo del glicerol se encuentra esterificado a un grupo fosfato (C), el cual, a su vez, se encuentra unido a un grupo hidrofílico (D); a estos dos grupos se les denomina “cabeza hidrofílica” [1]

Un modelo ampliamente usado en la biología es el de los liposomas, los cuales son vesículas formadas únicamente de lípidos. Este tipo de modelo ha sido utilizado para estudiar fenómenos tan complejos como la anestesia [8].

1.1.2. Anestesia

La anestesia es un mecanismo por medio del cual se inhibe o disminuye la transmisión del impulso nervioso. Se caracteriza por la presencia gradual de efectos como la inmovilidad, eliminación del dolor, amnesia e inconsciencia. Cuando

el efecto en el organismo alcanza el estado de inconsciencia, se da una anestesia general; cuando el efecto es localizado y no se llega al estado de inconsciencia es una anestesia local.

Mucho se ha trabajado en esta área y hasta la fecha poco se sabe sobre cuál es el mecanismo preciso de acción de los anestésicos. Uno de los trabajos más representativos en el área es el hecho por Meyer y Overton donde describen que el posible blanco de acción son los dominios lipídicos de las células. Con esto se establece la regla de Meyer-Overton que relaciona la potencia del anestésico con la solubilidad en aceite mediante una ecuación lineal, teniendo que conforme más potente es el anestésico mayor es su solubilidad en aceite [9].

Esta regla queda mejor descrita al observar la figura 1.2, donde podemos ver que entre más alto es su coeficiente de partición aceite-gas menor es la presión necesitada para tener un efecto anestésico.

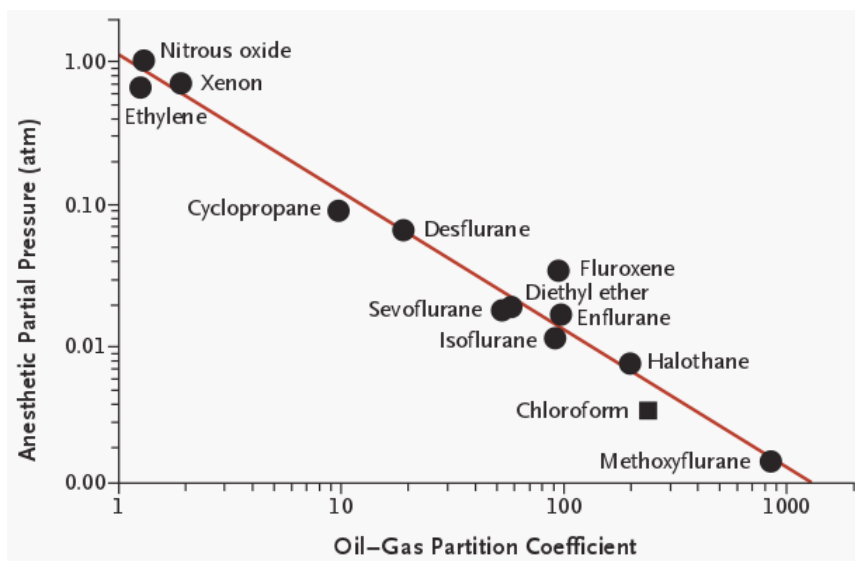


Figura 1.2: Regla de Meyer-Overton para varios anestésicos generales [2]

De la figura 1.2 no solo resulta sorprendente que el simple hecho de que una molécula sea soluble en aceite relacione su capacidad anestésica, también llama mucho la atención que en ella se encuentre el xenón.

1.1.3. Xenón

El xenón pertenece al grupo de los gases nobles o inertes de la tabla periódica, ya que todos sus orbitales electrónicos están llenos. Debido a esto, es imposible que sea capaz de establecer enlaces químicos con ninguna molécula, tampoco es capaz de crear puentes de Hidrógeno o dipolos permanentes.

Para entender la interacción entre el xenón y las células, debemos hacer uso de un concepto muy conocido en la química, la constante de afinidad: K_i , la cual es una medida experimental que nos dice que tanto interacciona una molécula con otra. Matemáticamente está relacionada con la energía libre de Gibbs y la temperatura, de la siguiente forma:

$$\Delta G = -RT \ln K_i \quad (1.1)$$

Si expresamos la constante de los gases en términos de la constante de Boltzmann, la ecuación 1.1 queda de la forma.

$$K_i = e^{\left(\frac{-\Delta G}{RT}\right)} \quad (1.2)$$

Esta ecuación (1.2) nos habla de una competencia entre la energía libre y la energía térmica del sistema. Para que el coeficiente de afinidad sea grande, el cambio en la energía libre debe ser negativo ($\Delta G < 0$) y debe ser mayor que la energía térmica ($-\Delta G > k_B T$).

Ahora, recordando que la energía libre relaciona la entalpía y la entropía ($\Delta G = \Delta H - T\Delta S$), sustituyendo en la ecuación(1.1), tenemos que:

$$K_i = e^{\frac{-\Delta H + T\Delta S}{RT}} \quad (1.3)$$

Por lo que, para que se cumpla $-\Delta G > k_B T$, tenemos tres posibles escenarios.

1. $\Delta H < 0$ y $\Delta S \approx 0$

2. $\Delta S > 0$ y $\Delta H \approx 0$

3. $\Delta H < 0$ y $\Delta S > 0$

Entonces, si sabemos que el xenón no genera ningún tipo de enlace químico, se puede pensar que el escenario posible es el segundo, por lo que el término que gobierna la afinidad del xenón será principalmente la entropía.

Lo anterior tiene sentido ya que el xenón es hidrofóbico, por lo que se disuelve en las membranas lipídicas. Una vez disuelto el gas, debido a las interacciones tipo Van Der Waals entre el gas y los lípidos; estos últimos deben reordenarse lo que genera que aumente la entropía de los lípidos.

Esto genera un interés físico en estudiar cómo es la interacción del xenón con los lípidos, pero cobra interés biológico cuando encontramos en la literatura que la única desventaja para su uso clínico es el alto costo [10].

En el presente trabajo se busca estudiar la interacción del xenón con los lípidos, particularmente el DPPC (Dipalmitoilfosfatidilcolina), el cual es el fosfolípido de mayor abundancia en las capas externas de las membranas celulares [5].

Para lograrlo haremos uso de técnicas de fisicoquímica computacional para hacer un análisis de dicha interacción. Estudiando a nivel de un liposoma de DPPC en presencia del xenón.

1.2. Fisicoquímica Computacional

La Química es la ciencia que estudia la composición, estructura, propiedades y cambios de la materia [11]. Una de las preguntas importantes que trata de entender la química son las interacciones y transformaciones de las moléculas.

Las moléculas están compuestas por un conjunto de átomos, o en una forma más general, una colección de partículas cargadas; una combinación de núcleos positivos y electrones negativos.

Para comprender más esta escala se han desarrollado varios modelos pertenecientes a lo que se le conoce actualmente como Química Teórica. La química

teórica combina métodos matemáticos con leyes físicas fundamentales para estudiar procesos de relevancia química [12].

Físicamente la única fuerza importante es la interacción electrostática entre partículas cargadas [3]. Matemáticamente nos enfrentamos a un problema de muchos cuerpos, debido a la cantidad de partículas que pueden estar presentes en un átomo o molécula.

Los únicos sistemas que tienen solución analítica son los formados por una o dos partículas. Para trabajar con sistemas de muchas partículas se realizan soluciones numéricas, las cuales implican realizar un gran número de operaciones matemáticas. Si bien este tipo de soluciones no son elegantes, si pueden llegar a tener gran precisión, incluso en algunos casos se puede considerar “exacta” [3].

Gracias al desarrollo tecnológico de las computadoras se ha logrado estudiar con gran precisión sistemas de cada vez mayor número de partículas, permitiendo así el nacimiento de un nuevo campo de la química teórica, la Química Computacional. Donde podemos usar la computadora como una herramienta pseudo experimental, esto es, usar la computadora para realizar simulaciones de experimentos.

Las simulaciones son un complemento para el área experimental ya que:

- Pueden sustituir experimentos cuando se tiene una gran precisión [13].
- Mediante sus predicciones se proponen o motiva a realizar experimentos [8].
- Nos permiten tener más información del fenómeno y ayudarnos a explicar lo que pasa en un experimento [14].
- De los resultados obtenidos por la simulación, se pueden proponer mejoras a los modelos teóricos [15].

Si bien la química computacional nos puede ayudar a mejorar los modelos, su objetivo está enfocado en obtener resultados relevantes a problemas físico-químicos, no directamente en desarrollar nuevos modelos teóricos.

Dentro de los resultados que la química computacional puede calcular, se encuentran:

-
- Cuáles son los arreglos geométricos de los núcleos que corresponden a moléculas estables [16].
 - Cuáles son sus energías relativas [17].
 - Cuáles son sus propiedades, tales como momento dipolar, polarizabilidad, etc [18].
 - Cuál es la tasa a la cual una molécula estable puede transformarse en otra [19].
 - Cuál es la dependencia del tiempo de las estructuras moleculares y sus propiedades [20].
 - Cómo interaccionan diferentes moléculas [21].

La química computacional nos permite tener una gran resolución temporal y espacial para escalas muy pequeñas como lo son los átomos y moléculas.

1.2.1. Modelado de un sistema

Modelar un sistema químico consiste en extraer la menor cantidad de información tal que siga representando al problema, en términos prácticos para lograr una simulación satisfactoria necesitamos la siguiente información:

- Descripción del sistema
- Condiciones iniciales
- Interacciones

Cada uno de los puntos anteriores parece describirse a sí mismos, pero tienen varias implicaciones físicas no triviales, por ello es necesario profundizar en su descripción, para así entender lo que hacer una simulación en química computacional representa.

-
1. Descripción del sistema. Para empezar a trabajar sobre un sistema, primero se debe definir la unidad fundamental del mismo, es decir, los bloques con los que se modela el sistema.

Este paso resulta ser el que más limitaciones impone a las simulaciones. Aquí debemos tener cuidado sobre exactamente qué información estamos buscando, ya que si modelamos explícitamente los núcleos y electrones de los átomos, podremos tener una gran resolución atómica y molecular, pero sacrificamos fuertemente el tiempo de cómputo, debido al alto costo computacional de las mismas.

En contraste, si escogemos una molécula (aminoácidos) como el bloque principal, podremos tener escalas temporales mayores debido al menor costo computacional, pero sacrificamos resolución a nivel atómico.

En la figura 1.3 podemos ver una representación de las diferentes jerarquías que podemos usar para representar a un sistema químico, notemos que entre más a la derecha nos desplazemos en ese esquema sacrificamos resolución espacial, pero debido a la disminución de costos computacionales, ganamos resolución temporal.

Con lo anterior, es importante recalcar que en función de la pregunta que nos hagamos es el nivel de precisión en la modelación que usaremos.

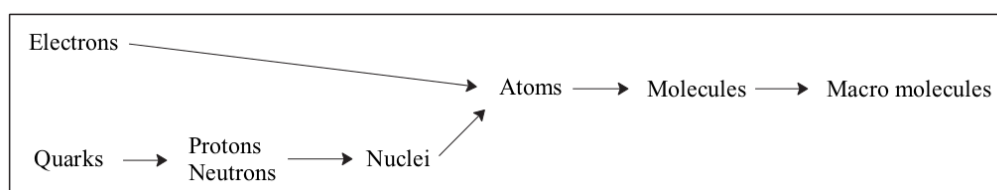


Figura 1.3: Jerarquías de los bloques de construcción para describir a un sistema químico [3]

2. Condiciones iniciales. Las condiciones iniciales determinan efectivamente lo que intentamos describir. Esto es, describen geoméricamente las ubicaciones de los bloques de construcción de los cuales se forma la molécula de interés.

Esta geometría se puede obtener por medios experimentales como la difracción de rayos X o resonancia magnética, los cuales se encuentran en bases de datos como la “Protein Data Bank”. Otra forma es mediante simulaciones de primeros principios, los cuales en algunos casos son más exactos que los experimentos debido a las limitantes de las técnicas experimentales [22].

Además de la geometría, para las simulaciones dinámicas es necesario definir la temperatura del sistema. El teorema de la equipartición nos permite relacionar una propiedad macroscópica como la temperatura con una descripción microscópica como es la energía cinética de las partículas. Recordemos que la energía cinética se obtiene de las velocidades de todos los átomos del sistema.

Esto tiene una interpretación física muy relevante, ya que al definir la temperatura y posición de las partículas determinamos en qué parte del espacio fase nos encontramos. Dependiendo de lo que se necesita estudiar, será la porción del espacio fase que debemos simular. Es importante notar que es imposible muestrear todo el espacio fase, debido a la inmensa cantidad de posibilidades que se tienen.

Por ejemplo, si queremos simular la fase fluída del DPPC, la geometría de los átomos debe seguir un orden específico, tal que representen el DPPC, por ello no podríamos poner los átomos en ubicaciones aleatorias. Además, la fase fluída del DPPC se encuentra en temperaturas superiores a 41.5°C [23], por lo que resulta evidente que no podemos realizar la simulación a temperaturas por debajo, esto es, tenemos una cota mínima para la temperatura.

Otra vez notamos que la elección de las condiciones iniciales está en función del fenómeno a estudiar.

3. Interacciones. Para modelar el sistema debemos definir las interacciones que tendrán los bloques de construcción del modelo entre sí. Esto depende de la decisión de la descripción del sistema, lo cual nos puede llevar a que existan diferentes fuerzas efectivas.

Por ejemplo, en métodos de Dinámica Molecular, las interacciones están

parametrizadas como vibracional, angular, torsión, Van Der Waals, etc. Este tipo de parametrizaciones se encuentran en campos de fuerzas, los cuáles a partir de muchos experimentos, encuentran cómo es la interacción entre los diferentes bloques.

Usar campos de fuerza es la forma más popular de modelar. Ya que al tener múltiples parametrizaciones no hace falta hacer cálculos tan costosos y permite aumentar la velocidad de las simulaciones. Únicamente cuando se hacen simulaciones *Ab Initio*, esto es, de primeros principios, es cuando nos libramos de los campos de fuerzas, ya que se hacen cálculos cuánticos para describir interacciones interatómicas.

Podemos notar que esto es únicamente una consecuencia de la descripción del sistema y será de interés cuando queramos modificar los campos de fuerza o modificar un modelo matemático.

1.2.2. Modelado molecular

Hasta ahora hemos introducido los conceptos necesarios para poder describir cualquier sistema. Como ya se ha mencionado, en este trabajo nos centraremos en modelar a nivel molecular.

Actualmente se tiene la capacidad para modelar desde sistemas moleculares muy pequeños hasta macromoléculas biológicas. Dentro de los estudios que se han realizado destaca el diseñado de drogas [24], el desdoblamiento de proteínas [25], interacciones específicas [26], anestésicos [27], cápsides de virus [28] entre muchas otras cosas más.

Para modelar a este nivel usualmente se utilizan técnicas de “Dinámica Molecular”, las cuales modelan los átomos como esferas que colisionan siguiendo la segunda Ley de Newton y que sienten fuerzas parametrizadas en campos de fuerzas. Sin embargo, también se usan técnicas de “Grano grueso” donde se aproximan una serie de átomos como una sola esfera. En contraste, las técnicas “*Ab Initio*” las cuales cuentan con la mayor precisión, no se han usado tanto debido a que una molécula sencilla implica una cantidad grande de átomos, lo que impide que se puedan simular sistemas biológicos muy complejos.

Si bien existen otras formas de modelar haciendo uso de bloques cada vez más

grandes (fig 1.3), en este trabajo nos centraremos únicamente en las técnicas de “Dinámica Molecular”, la cual ha probado su eficacia para el estudio de interacciones de lípidos con xenón [29][30].

1.3. Dinámica Molecular

Como ya se ha mencionado anteriormente, en este tipo de técnicas de modelado no se busca describir al electrón ni al núcleo, sino a un átomo como si fuera una esfera. Esta aproximación implica que al no existir electrones, no existe forma de que los átomos realicen enlaces. Para solucionar este tipo de problemas los enlaces se deben proveer explícitamente.

Al modelar un átomo como una esfera ignoramos todos los efectos cuánticos interatómicos. Por lo tanto la descripción de la dinámica de un átomo queda completamente definida haciendo uso únicamente de la mecánica clásica, esto es, la segunda Ley de Newton.

Otro problema que surge es cómo calcular la superficie de energía potencial para una configuración de núcleos dada. Este potencial es el que generará las fuerzas interatómicas e intermoleculares del sistema. Para esto se parametriza la energía electrónica como función de las coordenadas nucleares, y se ajustan los parámetros con respecto a resultados experimentales o simulaciones *Ab Initio* de gran precisión.

Con esto, el problema se reduce a calcular la energía en función de la geometría dada. En ciertas situaciones se busca encontrar las geometrías que estabilicen a una molécula en particular o encontrar diferentes conformaciones de la misma. Lo anterior implica que, dada una superficie de energía potencial, la geometría se modifica para encontrar un mínimo.

La dinámica molecular se basa en la observación de que las moléculas tienden a formar unidades que son estructuralmente similares en diferentes moléculas. Por ejemplo, todos los enlaces C-H son prácticamente constantes en todas las moléculas, oscilando entre $[1.06, 1.10]\text{Å}$. No solo la longitud es constante sino también la frecuencia de las vibraciones, la cual se encuentra entre 2900 y 3300

cm^{-1} . De lo anterior podemos deducir que la fuerza del enlace C-H también es constante. Esto no solo aplica para enlaces sencillos, sino para cualquier tipo de enlace [31].

Como ya se ha mencionado, los campos de fuerza contienen la forma de interactuar de los átomos entre ellos mismos, esto es, las funciones potenciales que generan las energías y las fuerzas entre átomos, así como los parámetros de dichas funciones.

Existen varios campos de fuerza para uso en la investigación. Entre ellos destacan OLPS, GROMOS, AMBER y CHARMM. Este campo del conocimiento es ampliamente estudiado, buscando parametrizar cada vez más interacciones y validar sus predicciones en diversas moléculas. En este trabajo se usó el campo de fuerza GROMOS para el cual existen parámetros altamente especializados y validados para su uso en lípidos [32]. Con estos parámetros se han reportados múltiples trabajos de investigación, incluso de membranas lipídicas con xenón [29][30].

Hasta ahora se ha dicho que los átomos se modelan como esferas y que las interacciones están parametrizadas, sin embargo no hemos hablado de cómo es este potencial. En general la dinámica molecular describe a los átomos y sus interacciones con modelos físicos tipo “pelota y resorte”, donde los átomos pueden tener diferentes tamaños y los enlaces diferentes longitudes con variadas constantes elásticas.

1.3.1. Energía potencial

En dinámica molecular la energía potencial de un sistema está descrita como una suma de términos. Donde cada termino caracteriza la energía que se requiere para poder distorcionar la molécula de una forma específica. Matemáticamente se expresa:

$$E_p = E_{str} + E_{bend} + E_{tors} + E_{vdw} + E_{el} \quad (1.4)$$

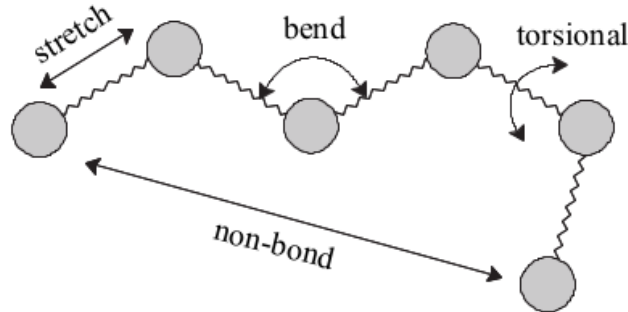


Figura 1.4: Representación de los elementos de la energía potencial [3]

Donde E_{str} es la función de energía para la tensión entre dos átomos (stretching), E_{bend} la energía necesaria para flexionar un ángulo (bending), E_{tors} es la energía de torsión para rotar sobre un enlace y finalmente E_{vdw} y E_{el} describen las interacciones de no enlace entre pares de átomos.

Esta función de energía potencial depende de las coordenadas nucleares. Con esta podemos calcular las geometrías y las energías relativas mediante la optimización del sistema. Para optimizar el sistema debemos minimizar la energía potencial como función de las coordenadas nucleares. Esta minimización es muy importante ya que las moléculas estables corresponden a mínimos de la superficie de energía potencial [33].

1.3.1.1. Energía de tensión

La interacción de tensión representa un enlace covalente entre dos átomos i y j . Esta energía es la que se necesita para poder estirar o comprimir la longitud de un enlace. Está representada por un potencial armónico de la siguiente forma:

$$E_{str}(r_{ij}) = \frac{1}{2}K_{ij}(r_{ij} - r_{ij}^0)^2 \quad (1.5)$$

Esta interacción puede ser interpretada como un resorte que une el átomo i con el j . Donde r_{ij} es la distancia radial entre átomos, r_{ij}^0 es la longitud de equilibrio del resorte y K_{ij} es la constante del resorte.

Este potencial es una aproximación del potencial que sienten los átomos, tal y

como podemos ver en la figura 1.5. Podemos ver que para oscilaciones pequeñas alrededor de la longitud de equilibrio, este potencial es válido. Por ello es importante no generar fuerzas muy intensas de manera abrupta que hagan que el sistema se aleje mucho de la distancia de equilibrio.

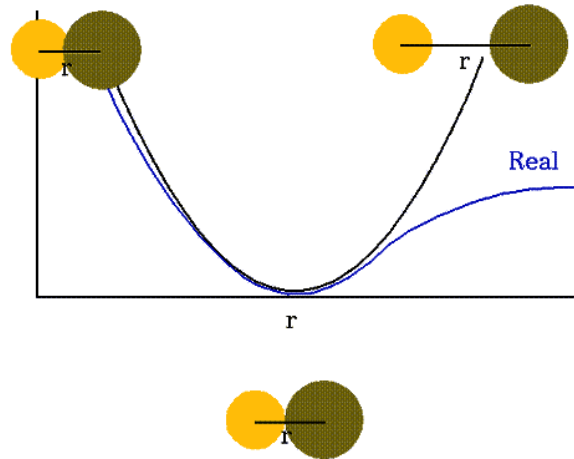


Figura 1.5: Potencial armónico de tensión contra el potencial real

1.3.1.2. Energía de flexión

Esta energía es la que se necesita para poder flexionar el ángulo que hay entre dos enlaces. Esto es, modificar el ángulo que se forma entre los átomos i, j y k . Al igual que la energía de tensión, está representada por un potencial armónico de la siguiente forma:

$$E_{bend}(\theta_{ijk}) = \frac{1}{2} K_{ijk} (\theta_{ijk} - \theta_{ijk}^0)^2 \quad (1.6)$$

Este potencial lo podemos ver en la figura 1.6. Si bien este potencial también es una aproximación válida únicamente para ángulos pequeños, está reportado que para regiones de importancia química, esto es por debajo de $40 \frac{kJ}{mol}$, la aproximación harmónica es válida [3]. Esta región es cuando no se rompen o crean enlaces. Y debido a que nuestro estudio está interesado en interacciones no específicas, el modelo harmónico es útil.

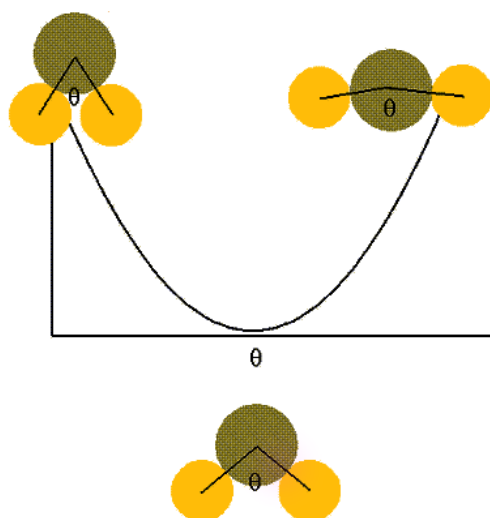


Figura 1.6: Potencial armónico de flexión

1.3.1.3. Energía de torsión

Describe el cambio de la energía asociada a la rotación sobre el enlace de los átomos j - k en un arreglo de cuatro átomos: i - j - k - l , tal y como podemos ver en la figura 1.7. Donde i - j , j - k y k - l tienen un enlace.

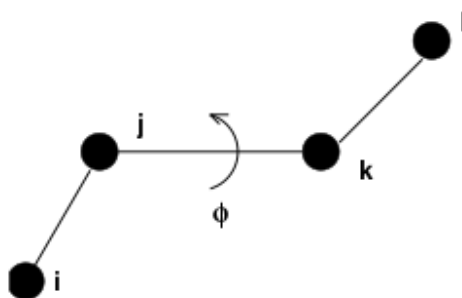


Figura 1.7: Representación de un ángulo diedro

Donde ϕ es el ángulo de torsión o ángulo diedro, definido como el ángulo formado entre los planos de los átomos ijk y jkl . Donde este ángulo puede tomar valores en el rango de $[0^\circ, 360^\circ]$. Cero corresponde a la configuración *cis*, es decir

el átomo i y l se encuentran en el mismo lado. Esta descripción queda más clara al observar la figura 1.8, donde los vectores \mathbf{m} y \mathbf{n} son los vectores normales a los planos ijk y jkl . Es importante notar que el ángulo ϕ en esta representación es negativo.

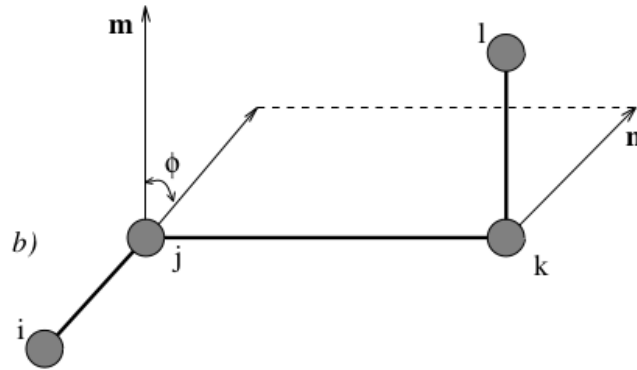


Figura 1.8: Explicación del ángulo diedro

La descripción matemática de esta energía está modelada por una función *coseno* de la siguiente forma:

$$E_{tors}(\phi_{ijkl}) = k_{\phi}(1 + \cos(\phi - \phi_0)) \quad (1.7)$$

Donde ϕ_0 simplemente es una fase que nos habla de las condiciones iniciales del arreglo y k_{ϕ} es una constante a determinar de un arreglo de cuatro átomos.

1.3.1.4. Energía de Van Der Waals

Este término del potencial describe la atracción y repulsión que existe entre parejas de átomos, los cuales no se encuentran enlazados. La energía de Van Der Waals puede ser interpretada como la interacción no polar, la cual no está relacionada a la energía electrostática debido a la carga de los átomos.

Este potencial es cero para distancias muy grandes y muy repulsivo para distancias muy cortas. Esto último debido a la interacción entre nubes de electrones entre los dos átomos.

A distancias intermedias, existe una atracción entre dichas nubes de electrones, interacciones tipo dipolo-dipolo inducido. Aunque la molécula (o parte de la molécula) o átomo no tenga momento dipolar permanente, el movimiento de los electrones creará una distribución desigual en ciertos instantes de tiempo, lo que va a generar un dipolo temporal. Este dipolo va a inducir una polarización en la molécula vecina, y esto crea cierta atracción.

Por ejemplo, los gases nobles debido a que son electricamente neutros su única interacción es mediante el término de Van Der Waals.

Una función matemática que cumple con estas condiciones es el potencial de Lennard Jones, el cual para dos átomos i y j tiene la siguiente forma.

$$E_{LJ}(r_{ij}) = \frac{C_{ij}^{12}}{r_{ij}^{12}} - \frac{C_{ij}^6}{r_{ij}^6} \quad (1.8)$$

Donde el término repulsivo está descrito por una dependencia r^{-12} , el término atractivo por r^{-6} y los coeficientes C_{ij}^{12} y C_{ij}^6 son constantes que dependen de la pareja de átomos.

La gráfica de este potencial se puede ver en la figura 1.9, donde podemos observar la contribución de la parte repulsiva r^{-12} cuando las nubes de electrones están muy cerca ($r \rightarrow 3$); un pozo de potencial en un intervalo de distancia pequeño ($r \approx 4$), una región atractiva para distancias intermedias ($r \rightarrow 4$) y cómo tiende a cero para distancias grandes ($r \gg 5$).

1.3.1.5. Energía electrostática

La otra contribución del potencia de no ligadura es el potencial electrostático, el cuál se debe a las cargas de los átomos o moléculas.

La interacción entre cargas puntuales está dada por el potencial de Coulomb, para dos partículas cargadas se describe matemáticamente de la siguiente forma:

$$E_{el}(r_{ij}) = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{q_i q_j}{\epsilon_r r_{ij}} \quad (1.9)$$

Donde ϵ_0 y ϵ_r son la constante dieléctrica del vacío y la constante dieléctrica relativa del medio respectivamente. q_i y q_j son las cargas del átomo i y j ; y r_{ij} es

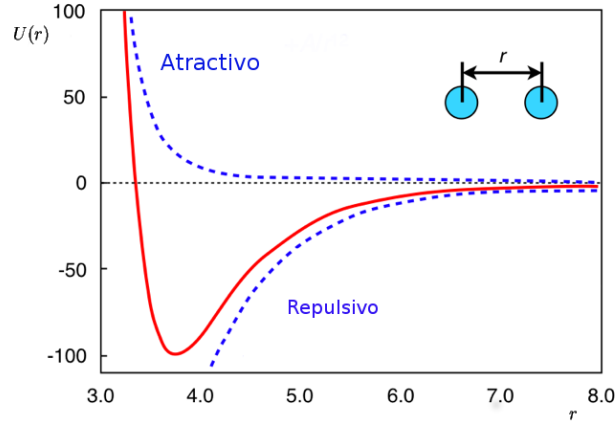


Figura 1.9: Potencial de Lennard Jones

la distancia entre dichos átomos.

1.3.2. Interacciones moleculares

Como ya se había mencionado, la dinámica molecular consiste en solucionar la segunda ley de Newton. Dicha solución es numérica y se realiza paso a paso. De la mecánica clásica sabemos

$$\vec{f}_i = m_i \ddot{\vec{r}}_i \tag{1.10}$$

$$\vec{f}_i = -\frac{\delta}{\delta r_i} U$$

Recordemos que \vec{f}_i es la fuerza que siente el cuerpo i -ésimo al ser acelerado ($\ddot{\vec{r}}_i$), y $U(\vec{r}^N)$ es la energía potencial, donde $\vec{r}^N = (\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N)$ representan el conjunto completo de las $3N$ coordenadas atómicas. Este potencial es el que hemos descrito en la sección anterior.

Entonces para evaluar la dinámica del sistema para cada i partícula, necesitamos calcular $\vec{f}_i(t_0 + \delta t)$, sumando todas las fuerzas que actúan sobre la partícula debido a las otras partículas que interactúen con ella.

Luego para cada i partícula se integra $\vec{f}_i(t_0 + \delta t)$ para obtener la velocidad nueva, $\vec{v}_i(t_0 + \delta t)$, y con esta velocidad ahora podemos calcular la posición $\vec{r}_i(t_0 + \delta t)$.

Observemos que necesitamos definir el δt , que nos dirá cada cuánto tiempo evaluamos la dinámica del sistema. Esto estará en función de los movimientos más rápidos que vayamos a simular.

Al simular movimientos atómicos, el átomo con mayor velocidad es el Hidrógeno. Las vibraciones del Hidrógeno ocurren con una frecuencia de $\approx 10^{14} s^{-1}$, por lo que los pasos de tiempo (δt) tienen que estar en el orden de los femtosegundos (10^{-15}) [3].

Con esto, dada una geometría de átomos y especificado el potencial del sistema, queda completamente descrita la dinámica del sistema.

1.3.3. Análisis

Al finalizar una simulación de Dinámica Molecular, se obtienen las trayectorias de todos los átomos en el intervalo de tiempo que hayamos seleccionado, esto es, las coordenadas x, y, z de todos los átomos para cada instante de tiempo calculado.

Para poder analizar los datos es necesario escoger las moléculas que deseamos estudiar para extraer sus correspondientes funciones de posición con respecto al tiempo y evaluarlo matemáticamente.

El interés del presente trabajo es entender el cambio en la entropía del sistema, por lo que mediremos observables relacionadas a ello. La principal medida será la entropía.

1.3.3.1. Entropía configuracional

La entropía es una magnitud física fundamental, no solo tiene aplicación en cualquier máquina sino también en los eventos de la naturaleza. En la biología ha mostrado ser elemental para funciones tales como el plegamiento de proteínas [34], procesos de binding [35] y la catálisis enzimática [36].

Sin embargo, determinar la entropía de un sistema es justamente uno de los principales problemas de las simulaciones moleculares. La dificultad se basa en

que a diferencia de la presión y la energía interna; la entropía no puede ser determinada directamente porque no está definida como un promedio temporal sobre una trayectoria en el espacio fase, sino que está relacionada con el volumen del espacio fase [37].

Para un sistema aislado en el cual N , V y E son variables independientes, la entropía está dada como:

$$S = k \ln(\Omega) \quad (1.11)$$

Donde Ω es el volumen del espacio fase disponible para el sistema aislado.

Debido a que en dinámica molecular no podemos obtener el volumen del espacio fase, se emplean métodos que asumen un comportamiento armónico de los movimientos del sistema, como el método de Schlitter [38].

La entropía de un oscilador armónico cuántico está dada por:

$$S_{OA} = K_B \left[\frac{\alpha}{e^\alpha - 1} - \ln(1 - e^{-\alpha}) \right] \quad (1.12)$$

Aquí $\alpha = \frac{\hbar\omega}{k_B T}$, ω es la frecuencia, K_B es la constante de Boltzmann, T es la temperatura absoluta, e es el número de Euler, $\hbar = \frac{h}{2\pi}$ y h la constante de Planck.

La frecuencia ω del oscilador depende de la varianza mecánico-cuántica $\langle x^2 \rangle$ y debe estar conectada con la varianza clásica $\langle x^2 \rangle_c$, la cual puede ser medida en las dinámicas moleculares. Para realizar dicha conexión se utiliza el teorema de la equipartición:

$$m\omega^2 \langle x^2 \rangle_c = k_B T \quad (1.13)$$

Recordemos que el teorema de la equipartición es válido en el límite que $\hbar\omega \ll k_B T$. Lo cual resulta conveniente, ya que cuando los movimientos moleculares violan este límite, la contribución a la entropía resulta despreciable [39].

Haciendo uso de lo anterior y usando los infinitésimos equivalentes de las exponenciales, la ecuación 1.12 queda:

$$\begin{aligned}
S'_{OA} &= \frac{1}{2}k_B \ln \left(1 + \frac{e^2}{\alpha^2} \right) \\
&= \frac{1}{2}k_B \ln \left(1 + \frac{K_B T e^2}{\hbar^2} m \langle x^2 \rangle_c \right)
\end{aligned} \tag{1.14}$$

Para generalizar a muchos grados de libertad necesitamos hacer uso de la matriz de covarianza $\boldsymbol{\sigma}$ de las fluctuaciones de las posiciones atómicas. Esta matriz tiene los siguientes elementos.

$$\sigma_{ij} = \langle (x_i - \langle x_i \rangle) (x_j - \langle x_j \rangle) \rangle \tag{1.15}$$

Donde x_1, \dots, x_{3N} son las coordenadas cartesianas de un sistema de N partículas. Las cuales fácilmente pueden ser obtenidas de las trayectorias de una simulación.

La matriz de covarianza puede ser también expresada en coordenadas pesadas por masas ($x'_i = x_i \sqrt{m_i}$), por lo que

$$\boldsymbol{\sigma}' = \mathbf{M}^{\frac{1}{2}} \boldsymbol{\sigma} \mathbf{M}^{\frac{1}{2}} = \mathbf{M} \boldsymbol{\sigma} \tag{1.16}$$

Donde $\mathbf{M} = \mathbf{M}^{\frac{1}{2}} \mathbf{M}^{\frac{1}{2}}$ es la matriz de masa, en la cual se tiene las masas en los elementos de la diagonal y $m_{ij} = 0$ para $i \neq j$. Esto debido a que $\boldsymbol{\sigma}$ y $\mathbf{M}^{\frac{1}{2}}$ son matrices simétricas.

La matriz de covarianza pesada por masas puede ser diagonalizada, obteniendo así las coordenadas q_i . Por lo que la ecuación 1.14 queda como.

$$\begin{aligned}
S'_{OA} &= \frac{1}{2}k_B \sum_{i=1}^{3N} \ln \left[1 + \frac{k_B T e^2}{\hbar^2} \langle q_{ii}^2 \rangle_c \right] \\
&= \frac{1}{2}k_B \ln \left(\prod_{i=1}^{3N} \left[1 + \frac{k_B T e^2}{\hbar^2} \langle q_{ii}^2 \rangle_c \right] \right)
\end{aligned} \tag{1.17}$$

Tomar el producto de los elementos de la diagonal de una matriz diagonal es equivalente a calcular el determinante de la matriz. Y debido a que la matriz es invariante ante cualquier transformación ortogonal, la ecuación 1.17 puede ser escrita como:

$$S'_{OA} = \frac{1}{2}k_B \ln \det \left[1 + \frac{k_B T e^2}{\hbar^2} \mathbf{M} \boldsymbol{\sigma} \right] \quad (1.18)$$

Así, para calcular la entropía usando la ecuación 1.18, es únicamente necesario calcular la matriz de covarianza 1.15 de una trayectoria.

Gracias al método de Schlitter, por primera vez es posible realizar estimaciones de entropías absolutas de una forma diseñada especialmente para sistemas con un gran número de mínimos locales [40].

Integrando toda la información que hemos visto hasta ahora, el interés del trabajo es estudiar la interacción de un liposoma de DPPC en presencia de xenón haciendo uso de Dinámica Molecular. Lo que abre la puerta a plantearnos la siguiente hipótesis.

1.4. Hipótesis

La interacción inespecífica del xenón con la membrana modelo aumenta la entropía del sistema y por ende su afinidad de enlace.

Capítulo 2

Objetivos

2.1. Objetivo General

Estudiar por primera vez el efecto del xenón en un liposoma modelo de DPPC con Dinámica Molecular.

2.2. Objetivos Particulares

- Crear el modelo de liposoma de DPPC.
- Estabilizar la vesícula.
- Establecer las condiciones para la dinámica molecular del liposoma en presencia de xenón.
- Estudiar el cambio en la entropía de la vesícula en presencia del xenón con respecto al control.

Capítulo 3

Desarrollo

3.1. Materiales

El proyecto fue desarrollado haciendo uso de la paquetería de investigación “Gromacs”, el cual está especializado en simulaciones de Dinámica Molecular con moléculas bioquímicas como proteínas y lípidos [41]. Dentro de sus principales características resalta el ser gratuito, flexible debido a que tenemos fácil acceso a modificar varias opciones dentro del programa y está reportado ser de los más rápidos [42].

Otro punto importante por el cual utilizamos Gromacs, es el eficiente aprovechamiento de la tarjeta de video [43]. Esto abre las puertas a poder hacer uso extensivo de cómputo en paralelo.

Para poder finalizar el presente trabajo utilicé mi computadora para ejecutar las simulaciones en Gromacs. Las principales características del equipo son:

- Intel Core i7 5820k @4.3 GHz
- 12 GB en Ram @2133 MHz
- Disco duro de estado sólido Samsung 850 pro
- Nvidia GeForce GTX TITAN @990MHz

Gracias a la eficiente implementación del cómputo en paralelo de Gromacs,

se puede aprovechar al máximo este sistema que consta de 6 procesadores físicos del CPU y 2688 procesadores de la tarjeta de video (GPU).

Como ya se había mencionado, se busca estudiar la interacción de un liposoma de DPPC con xenón. Para poder simular el DPPC fue necesario modificar el campo de fuerza de GROMOS haciendo uso de parámetros especializados para lípidos [32]. También se modificó el campo de fuerza para poder simular correctamente la interacción de Van Der Waals del xenón, usando parámetros específicos [44] los cuales ya han sido probados en artículos previamente reportados [30][29].

A continuación procederé a explicar la metodología que se siguió para generar el liposoma.

3.2. Generación del liposoma

Para generar el liposoma se utilizó el modelador gráfico “CELLmicrocosmos [45]”. El cual es usado en investigación científica para generar no solo liposomas, sino también generar membranas [46] o arreglos de membranas con proteínas [47].

El programa genera la geometría de un liposoma a partir de un lípido que definamos. Con esto empieza a rellenar una esfera externa y otra interna. Cada cierto tiempo el programa hace vibrar a los lípidos que ya ha acomodado para poder así generar espacio para compactar más lípidos en la esfera de radio especificado. Al final se tiene 2 esferas concéntricas con radio interno r_1 y r_2 y radio externo r'_1 y r'_2 respectivamente.

Si bien el programa finaliza generando una estructura que a simple vista es un liposoma perfecto, hay que tener cuidado al trabajar con él. El programa genera un liposoma que se tiene que arreglar a mano.

El programa organiza los lípidos en el intervalo de radio especificado, pero no lo hace de forma perfecta; por lo que a veces se encontraron lípidos con la cabeza hidrofílica en la región hidrofóbica del liposoma, incluso algunos lípidos ortogonales a la orientación esperada. En general se puede pensar que si el tiempo evoluciona en la dinámica estos lípidos deben ser capaces de hacer un análogo al “*flip-flop*” y ubicarse como se espera, sin embargo esto implica aumentar el tiempo de simulación y no es el objetivo de estudio del trabajo.

Para solucionar lo anterior se elaboró un programa en Fortran para identificar las cabezas de los lípidos a cierto radio con respecto al centro del liposoma, esto dio una distribución de cabezas hidrofílicas con respecto a un radio r . De aquí podía ver si esta distribución era bien portada, esto es, que solo en dos regiones se encuentren lípidos, y que en el espacio hidrofóbico no se encuentre ninguna parte polar del DPPC. Si se encontraba se imprimía el número del lípido para su eliminación. Para verificar que ningún otro lípido se comportara de forma anómala, se observaron los lípidos internos y externos por separado.

El último problema que nos encontramos al generar estos liposomas con el programa, fue que se empaquetaban más o menos lípidos de los debidos, lo que generaba dobleces o agujeros en la membrana según el caso. Este problema fue el más difícil de resolver ya que se tenía que preparar una simulación de Dinámica Molecular por al menos 15 ns para luego analizar si se comportaba bien el liposoma.

Estos errores no eran fáciles de descubrir, de hecho, el primer liposoma que se generó se pensó que estaba bien hasta que al realizar un script para calcular el área por lípido, se descubrió que la capa interna del liposoma tenía un agujero. Para resolver el problema tuvimos que hacer uso de una versión anterior del módulo del programa, la cual para nuestro interés resultó ser más efectiva y estable.

Una vez que se tiene el liposoma y se han analizado las verificaciones prudentes para corroborar que contiene la suficiente cantidad de lípido, se procedió a correr una simulación de Dinámica Molecular como un proceso de relajación.

3.3. Relajación

El liposoma que se obtuvo en la fase previa consta de 1775 lípidos, lo que equivale a 88,750 átomos.

Para verificar que el liposoma esté en equilibrio se procedió a realizar una simulación de Dinámica Molecular por 200ns. Para ello se siguieron los siguientes pasos.

1. Elaborar un recipiente.- Uno de los problemas cuando se hacen simulaciones es cómo tratar con las fronteras del sistema, en este trabajo consider-

amos fronteras periódicas, y para definir los límites de estas fronteras es necesario elaborar un “cubo” que es un simil al recipiente donde una persona haría un experimento.

En este paso se procede a insertar y centrar el liposoma en el cubo, donde cada lado tiene el valor de $l = r + 2nm$, donde r es el radio externo del liposoma.

2. Solvatar.- A continuación se llenó cada espacio que no estuviera ocupado por lípido con moléculas de agua, esto agregó 181,232 moléculas de agua al sistema, para un total de: 632,446 átomos.

3. Verificar.- Este paso no es trivial, Gromacs al insertar el agua únicamente busca que exista el espacio. Por lo que el paso anterior inserta agua en las zonas hidrofóbicas del liposoma.

Si tuvieramos el tiempo de cómputo, se podría elaborar una simulación lo suficientemente grande (temporalmente) para que todas las moléculas de agua logren salir del espacio interlipídico. Ya que este no es el caso, se creó un programa en Fortran, el cual con la información que ya se tenía sobre las ubicaciones radiales de los lípidos, eliminaba todas las moléculas de agua que se encontraban insertadas en el liposoma.

Después de este paso el sistema consta de 88,750 átomos que representan a los lípidos y 152,509 moléculas de agua, para un total de 546,277 átomos.

4. Minimizar energía.- Este paso es importante para asegurarnos que el sistema no tenga choques estéricos o una geometría inapropiada, además de que cuando se solvata hay contactos con las moléculas de agua que tienen que ser relajados antes de introducir energía cinética (temperatura) al sistema. Aquí se realizaron cálculos no dinámicos, los cuáles buscan mínimos locales de energía.

5. Ensamble Isobárico-Isotérmico.- A continuación procedemos a estabilizar la temperatura del sistema y la presión, haciendo uso de dicho ensamble, el cual deja constante el número de partículas (N), la presión (P) y la temperatura (T). Esto permite que todas las moléculas lleguen a la temperatura y la presión que deseamos.

Para nuestro caso, trabajamos con una presión de 1 atm y una temperatura de 328°K. Bajo estas condiciones el sistema se dejó evolucionar por un tiempo de 3 ns, lo que es equivalente a 500,000 iteraciones.

6. Producción.- Por último, se procedió a dejar evolucionar el sistema en

un ensamble Isobárico-Isotérmico, pero con la diferencia que en éste los lípidos tienen la posibilidad de desplazarse. Esto ya es como tal la Dinámica Molecular del sistema, que dejamos evolucionar por 200 ns el liposoma bajo las condiciones de temperatura y presión descritos en el paso anterior.

Este procedimiento se realizó para equilibrar el liposoma y garantizar que los efectos que se observen al introducir el xenón sean propios del gas y no algún artefacto del liposoma. Para tener un control también se dejó evolucionar un liposoma que no cuente con el gas noble.

3.4. Liposoma en presencia del xenón

En el paso anterior obtuvimos un liposoma totalmente solvatado por moléculas de agua. A continuación procedemos a introducir átomos de xenón para poder cumplir con el objetivo del trabajo. Para ello se siguió la siguiente metodología.

1. Modificar el campo de fuerza.- En este paso definimos en el campo de fuerza los coeficientes de Van Der Waals del xenón, los cuales se encuentran en la literatura [44].

2. Agregar Xe.- A continuación se escogieron moléculas de agua al azar para sustituirlas por átomos de xenón. Agregando un total de 8875 átomos, lo que equivale a 5 átomos del gas por cada molécula de DPPC.

Están reportados estudios con membranas planas mediante Dinámica Molecular con una dosis de hasta 3 átomos de Xe por DPPC [29]. En nuestro laboratorio se ha demostrado experimentalmente que liposomas de DPPC mantienen sus propiedades con dosis de hasta 7 átomos de xenón por lípido [8].

De lo anterior y debido al alto costo computacional que tiene el presente trabajo, escogimos trabajar con una dosis de 5 átomos de xenón por lípido, ya que es lo suficientemente alta para garantizar que mediremos un efecto y se encuentra por debajo de lo que sabemos es seguro estudiar experimentalmente.

4. Minimizar energía. Repetir la misma metodología que se explicó en la sección anterior sobre este punto.

5. Ensamble Isobárico-Isotérmico.- A diferencia de la sección anterior, realizamos una cantidad menor de pasos (3 *ps*), esto ya que se consideró que los

lípidos ya se encontraban en mínimos locales de energía.

6. Producción.- A continuación se dejó evolucionar el sistema por 15 *ns*.

Es importante mencionar que cada paso que se ha descrito siempre se realizan pruebas y verificaciones para garantizar que el sistema se está comportando correctamente o que no existan artificios. Al analizar los datos obtenidos siguiendo la metodología mencionada, encontramos los siguientes problemas:

1. En los primeros 10 *ns* se introdujo aproximadamente el 40 % de los átomos de xenón. Esto implica que necesitamos gastar tiempo de cómputo únicamente para que el xenón se introduzca a la membrana, y el objetivo del trabajo no es observar dicho proceso, sino medir el cambio en la entropía por la presencia del xenón en la membrana.
2. Además, el xenón al introducirse lo hacía en cúmulos, lo que generó que los lípidos de la cara externa del liposoma se abrieran mucho para que entrara el xenón. Y esto hizo que los lípidos se observaran en la pared periódica del sistema. Lo que generó que se empezara a romper el liposoma.

Para solucionar los problemas mencionados, procedí a insertar directamente el xenón en el liposoma y aumentar el tamaño del recipiente donde se encuentra la vesícula. Esto con la finalidad de no desperdiciar tiempo de cómputo en lo que entra el gas y para evitar problemas de periodicidad.

Lo anterior se traduce en la siguiente modificación a la metodología previamente descrita, con la cual se realizó el trabajo correspondiente a esta sección.

1. Modificar el campo de fuerza.

2. Deshidratar.- Se eliminó las moléculas de agua que se encontraban en el sistema, ya que se procederá a centrar el liposoma en un cubo de mayor tamaño.

3. Aumentar el recipiente.- A continuación centramos el liposoma en un recipiente que en vez de tener de lado $l = r + 2nm$ tendrá $l = r + 4nm$, esto garantiza que los lípidos no puedan sentir atracción por la frontera periódica.

4. Solvatar.- A continuación se introdujo moléculas de agua en cada espacio libre del sistema. Esto agregó 287,541 moléculas de agua en todo el sistema, para un total de 951,373 átomos.

5. Introducir xenón.- En vez de sustituir moléculas de agua al azar e intercambiarlas por xenón, aprovechamos que existen moléculas de agua en la región

hidrofóbica del liposoma para cambiarlas por átomos del gas. Sin embargo, no habían suficientes moléculas de agua dentro del liposoma, por lo que también se introdujeron átomos de xenón en una región cercana al liposoma.

Al finalizar de introducir el xenón a la misma concentración (5 átomos de xenón por DPPC), se procedió a eliminar las moléculas de agua restantes en la región hidrofóbica del liposoma.

Con esto el sistema consta de 814,007 átomos, en contraste con los 546,277 átomos que tenía con la metodología anterior.

6. Minimizar energía.

7. Ensamble Isobárico-Isotérmico.- Ahora se procedió a evolucionar el sistema en este ensamble por 5 ns, para garantizar que los lípidos se estabilicen adecuadamente. Y así al generar la dinámica no se rompa el liposoma.

8. Producción.- Por último el sistema evolucionó libremente por 30 ns.

Esta metodología no mostró ningún artificio o comportamiento anormal en los 30 ns que analizamos. Por lo que con estos resultados procedimos a realizar el análisis del siguiente capítulo.

Para hacer un análisis meticuloso de cómo el xenón interactúa con el liposoma, se realizó un control el cual simplemente no contiene dicho gas.

El control fue realizado siguiendo la metodología descrita previamente, con la única diferencia de que en el paso 5 no agregamos los átomos de xenón en la región hidrofóbica de la vesícula.

3.5. Entropía de Schlitter

Lo anterior permite tener las trayectorias de los lípidos a lo largo del tiempo para dos sistemas cuya única diferencia es la presencia de xenón en el área hidrofóbica.

Si recordamos la ecuación de Schlitter, con estas trayectorias se puede calcular la matriz de covarianza y así obtener la entropía configuracional del sistema. Por lo que para validar la hipótesis se procedió a medir la entropía para ambos sistemas.

La entropía se midió cada 3 ns para aproximadamente el 15 % de los lípidos del liposoma (268 lípidos). Este porcentaje se escogió después de haber evaluado la entropía para los primeros 15 ns usando 10 %, 15 %, 30 % y 60 % de los lípidos.

Al finalizar de medir la entropía para el control y el liposoma en presencia del xenón, se procedió a graficar ambos sistemas y analizar la variación de la entropía de un sistema con respecto al otro.

Capítulo 4

Resultados

4.1. Proceso de relajación

La figura 4.1 muestra el liposoma con el cual se realizó el presente trabajo. Esta vesícula consta de 1775 lípidos de DPPC.

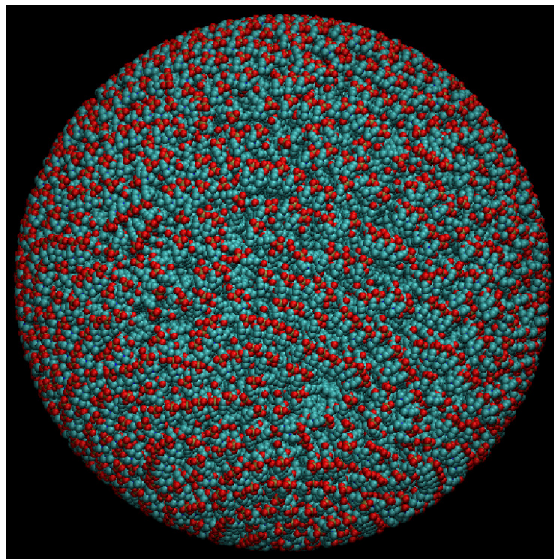


Figura 4.1: Vesícula de 1775 lípidos de DPPC

Al contar con el liposoma lo primero que se buscó es hacer un proceso de “relajación”, con el objetivo de llevar al sistema a un estado de equilibrio termodinámico.

Después de realizar una simulación de dinámica molecular por 200 ns podemos observar en la figura 4.2, cómo la entalpía del sistema decrece muy poco y luego se estabiliza. En el recuadro superior de la figura se puede observar la evolución temporal del lado del cubo donde se encuentra el liposoma, el cual también llega a un equilibrio. Note que hablar del lado del cubo implica hablar directamente del volumen del sistema.

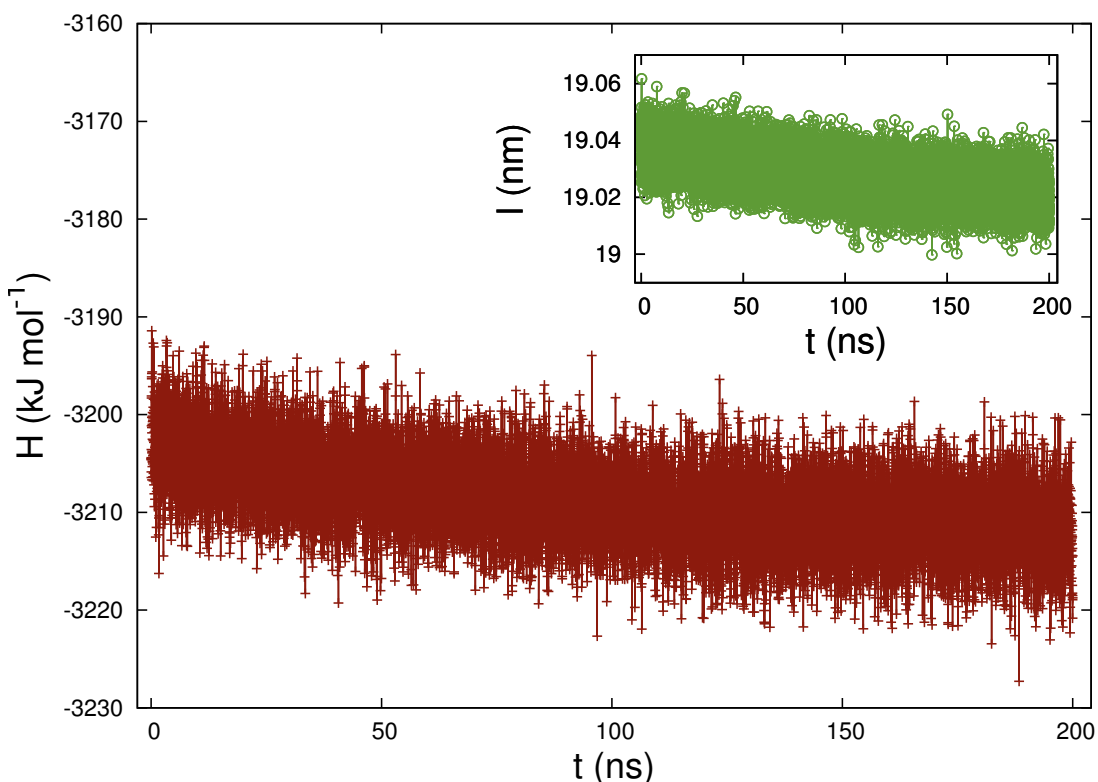


Figura 4.2: Entalpía del sistema como función del tiempo del sistema con xenón contra el control. En el recuadro superior derecho se muestra el lado del cubo que contiene al liposoma como función del tiempo

Lo anterior nos indica que nuestro sistema ha alcanzado un estado de equilibrio termodinámico. Sin embargo, esto no nos da información de lo que ocurre a nivel molecular. Para poder observar como se redistribuyen los lípidos se calculó su distribución radial.

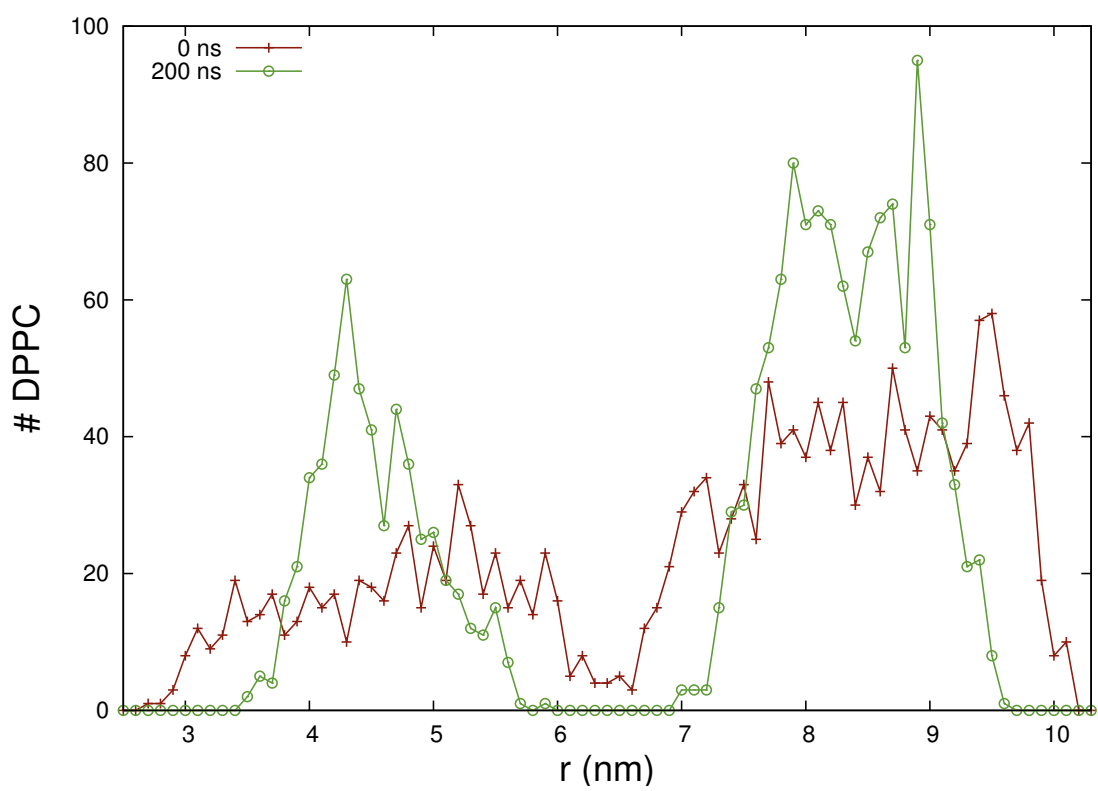


Figura 4.3: Distribución radial de lípidos, las cruces son para el tiempo inicial y los círculos para 200 ns.

La distribución radial (4.3) nos permite tener una imagen a nivel molecular de cómo los lípidos se redistribuyen en el equilibrio. Al principio la bicapa es más heterogénea, sin una región hidrofóbica clara. Al pasar los 200 ns esto cambia, teniendo una región entre 6 y 7nm sin ninguna cabeza polar y homogeneizándose más los radios de las bicapas.

4.2. Liposoma en presencia de xenón

Siguiendo la metodología descrita, agregamos xenón dentro del liposoma y a 1 nm de la cara externa o interna. Así el liposoma puede observarse en la figura 4.4, donde las esferas blancas representan al xenón.

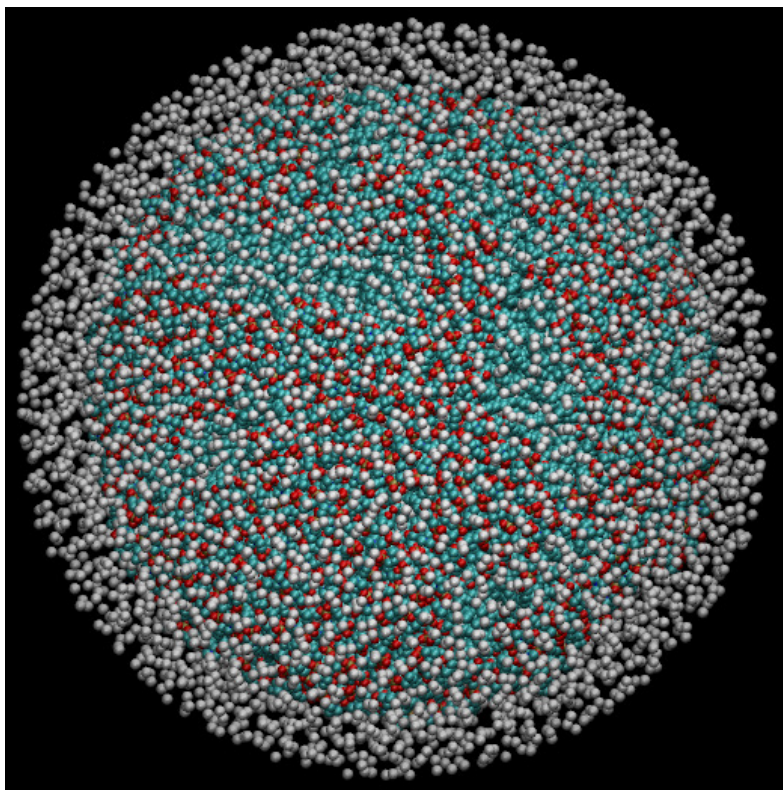


Figura 4.4: Representación del liposoma en presencia del xenón, el xenón está dibujado como esferas blancas.

Teniendo el sistema en presencia del gas y el control, realizamos una simulación

para cada uno de ellos de 30 ns.

Para tener una imagen a nivel molecular del comportamiento de los lípidos y del DPPC, se calculó la distribución radial de los lípidos y del xenón, el cual se muestra en la figura 4.5. Se observa que los lípidos en la capa interna modifican muy poco su distribución, en contraste los lípidos de la cara externa tienden a alejarse radialmente. El gas muestra una preferencia por la región hidrofóbica, aunque hay átomos en las zonas polares.

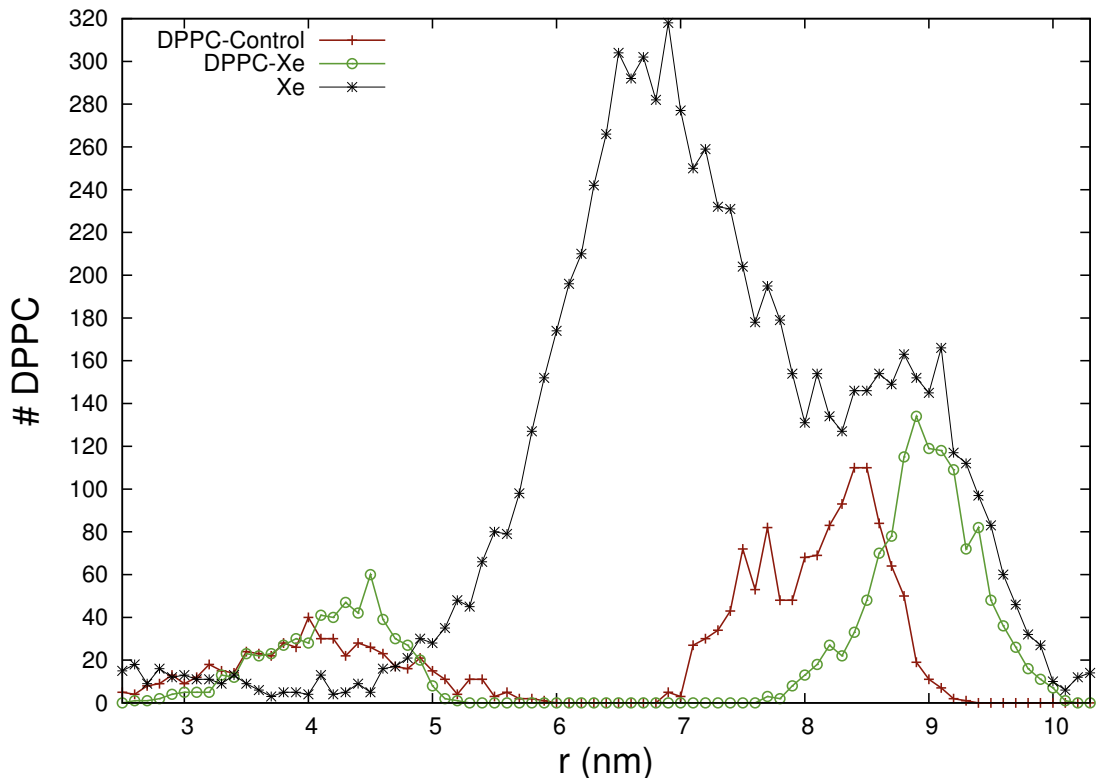
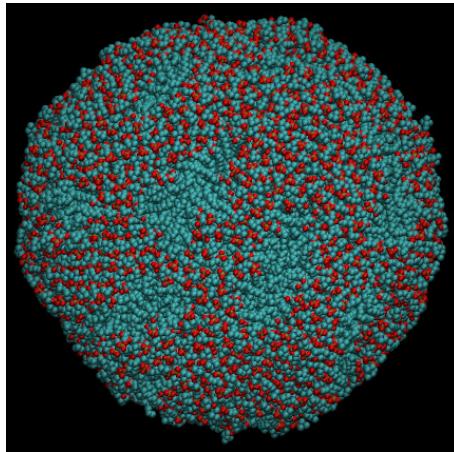
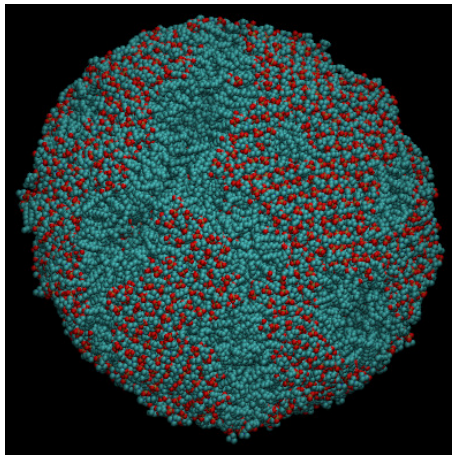


Figura 4.5: Distribución radial de lípidos y xenón. Las cruces y los círculos representan los lípidos en el control y el sistema con xenón respectivamente. Los asteriscos hacen referencia a los átomos del gas noble.

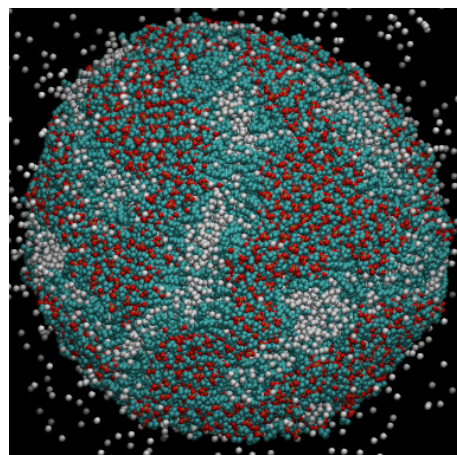
Una foto de dichos sistemas se puede observar en la figura 4.6, donde el inciso (a) representa al control, el (b) y (c) representan al liposoma en presencia del xenón, con la diferencia de que en el (b) el gas está oculto y en el (c) se representa como esferas blancas.



(a) Liposoma control



(b) Liposoma en presencia de xenón, el xenón no se muestra.



(c) Liposoma en presencia de xenón, el xenón está representado como esferas blancas.

Figura 4.6: Liposoma en presencia de xenón y control

Por último resta observar el comportamiento de la entropía en ambos sistemas, la cual se muestra en la figura 4.7; aquí se distingue que la entropía es mayor para el sistema con xenón con respecto al control.

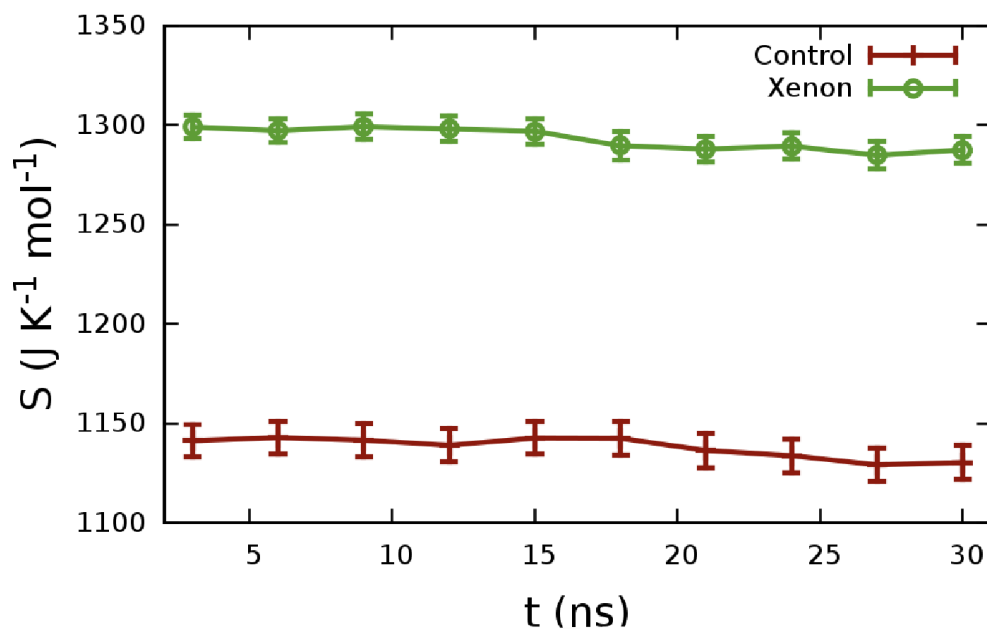


Figura 4.7: Gráfica de la entropía promedio del liposoma como función del tiempo del sistema con xenón contra el control.

Lo anterior se resume en la cuadro 4.1.

| Energía promedio | Sistema Control | Sistema con xenón | Δ Energía (Xe - Control) |
|--|-----------------|-------------------|------------------------------------|
| $T\Delta S_{Liposoma}$ (kJmol^{-1}) | 375.86 | 427.07 | 51.21 |

Cuadro 4.1: Resumen de datos de la figura 4.7

Capítulo 5

Discusión

El análisis de distribución radial fue una herramienta que se utilizó con la necesidad de analizar que el liposoma se comportara adecuadamente, tal y como se explicó en los capítulos anteriores, la cual es ampliamente utilizada para hacer estudios de dinámica molecular [48].

En la gráfica 4.5 podemos observar que el xenón tiene una gran preferencia por la zona hidrofóbica de la vesícula, tal y como era de esperarse debido a que este gas es hidrofóbico. Sin embargo observamos un segundo pico en la capa externa del liposoma. Esto puede deberse a un artificio a la hora que se introdujo el gas o puede ser un indicativo que estamos usando una alta concentración de xenón.

También se puede observar que el ancho de la membrana crece, pero es la capa externa (la que está el pico sobre 9nm) la que se desplaza. Esto puede deberse a que la esfera interna está en un radio mínimo y no puede variar; o la influencia del xenón que se encuentra en mayor cantidad cerca de dicha capa.

Con respecto a las imágenes del liposoma, en la figura 4.6(b) se puede distinguir como el liposoma en presencia de xenón hace unas especies de grietas en la superficie externa. Lo cual se confirma al observar el inciso (c), ya que muchas esferas blancas (representaciones del gas) se encuentran embebidas en el liposoma en la cara externa. Una cosa curiosa que se observa es la existencia de xenón en la región hidrofóbica. Otra vez podemos pensar que saturamos al sistema con el gas o que en promedio pasan más tiempo dentro del liposoma que en el agua.

Estas grietas pueden ser indicativos de que la membrana se “fluidiza” al introducir xenón. Se esperaría que no fueran estáticas, esto es, que aparezcan y desaparezcan conforme cambia el tiempo. Una forma de analizarlo sería mediante los cúmulos de xenón que se forman en dichas grietas. Así al analizar la trayectoria de los cúmulos se podría entender la difusión del gas en la membrana y la dinámica de las grietas.

Si esto representara realmente la “fluidización” de la membrana, entonces debería poder revertirse al aplicar presión, tal y como experimentalmente se ha demostrado [8]. Por lo que sería interesante observar cómo varía la entropía al aplicar presiones altas.

Con respecto a la entropía, en la gráfica 4.7 se observa notablemente la diferencia de la entropía entre el liposoma con xenón y el control, esta diferencia está alrededor del 13 %.

Para comparar nuestro resultado con la literatura se presenta la tabla 5.1, se observa que la diferencia encontrada en el presente trabajo está en el rango de datos reportados previamente. Notemos que para sistemas con liposomas el cambio en la entropía es mayor que para proteínas, canales o membranas; lo cual tiene sentido debido a la diferencia en dimensiones.

| Sistema | $T\Delta$ Entropía ($^{kJ}/_{mol}$) |
|-------------------------------------|---------------------------------------|
| Liposoma – xenón | 51.2 |
| Halotano – Canal Gramicidina A [49] | 9.8 |
| Metamioglobina – xenón [50] | 18.2 |
| Myoglobina – xenón [51] | 10.0 |
| Membrana – Lidocaína [14] | 7.0 |
| Membrana –Procaína [14] | 7.0 |
| Membrana –Tetracaína [14] | 7.2 |
| Liposoma – p-butilfenol [52] | 75.3 |

Cuadro 5.1: Tabla de entropías para diferentes sistemas.

Podemos pensar que si tenemos un intruso en una estructura, la entropía aumenta por el simple hecho de tenerlo. Sin embargo, no es solo la presencia, sino la interacción de Van Der Waals que tiene el xenón con los lípidos lo que debe aumentar la entropía.

De lo anterior se desprende la idea de generar un control diferente al que

evaluamos en el presente trabajo, el cuál consiste en introducir esferas del mismo radio que el xenón pero sin interacciones Van Der Waals, lo que nos permitiría ver directamente el efecto de un intruso y cuantificar la importancia de las interacciones Van Der Waals en la entropía del liposoma.

Por último, queda pendiente analizar si el xenón tiene una “afinidad” por el liposoma, para ello debemos recordar la ecuación 1.3, que nos dice que para que se tenga un alto coeficiente de afinidad se debe cumplir $(\Delta H - T\Delta S) < 0$.

Por lo tanto, se tienen indicios de que existe un “Binding Entrópico”, ya que $\Delta S > 0$, pero no tenemos información de cómo es el cambio en la entalpía (ΔH). Por lo que en trabajo a futuro será necesario calcular dicho término para descubrir cuál es el factor dominante en esta interacción.

Capítulo 6

Conclusiones

La realización del presente trabajo ha permitido concluir lo siguiente.

1. Es posible simular un liposoma con el poder de cómputo que se dispone en el laboratorio.
2. La concentración de 5 átomos de xenón por DPPC no desestabiliza el liposoma.
3. En los tiempos analizados, la presencia de xenón parece crear grietas en el liposoma, lo cual fortalece nuestra percepción de que los anestésicos fluidizan la membrana.
4. La entropía configuracional es una herramienta que nos permite estudiar el coeficiente de afinidad de un fármaco.

Capítulo 7

Trabajo a futuro

El trabajo a futuro que queda por hacer para complementar el proyecto sería.

- Realizar un barrido de concentraciones de xenón, para así obtener un análogo a una curva dosis respuesta.
- Analizar la entalpía del sistema con xenón.
- Realizar un control que contenga una esfera del mismo tamaño que el xenón pero sin parámetros de Van Der Waals ni carga.
- Realizar un barrido asimutal y polar sobre una región para así obtener la densidad angular de lípidos en la vesícula.
- Analizar los cúmulos de átomos de xenón.
- Extender las simulaciones al menos otros 30 ns más para verificar que las propiedades no fluctúan radicalmente.
- Realizar una Dinámica Molecular a presiones altas para evaluar si podemos revertir los efectos del xenón.

Bibliografía

- [1] Rosendo Pérez Isidoro. Termodinámica de membranas modelo en su interacción con neurotransmisores y anestésicos. Tesis de Maestría, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Apodaca, Nuevo León, 2013. [iv](#), [2](#)
- [2] Alastair JJ Wood, Jason A Campagna, Keith W Miller, and Stuart A Forman. Mechanisms of actions of inhaled anesthetics. *New England Journal of Medicine*, 348(21):2110–2124, 2003. [iv](#), [3](#)
- [3] Frank Jensen. *Introduction to computational chemistry*. John Wiley & Sons, 2013. [iv](#), [iv](#), [6](#), [8](#), [13](#), [14](#), [19](#)
- [4] SJ Singer and Garth L Nicolson. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Day and Good Membranes and viruses in immunopathology*, pages 7–47, 1972. [1](#)
- [5] Geoffrey M Cooper and Robert E Hausman. *The cell*. Sinauer Associates Sunderland, 2000. [1](#), [2](#), [5](#)
- [6] John E Hall. *Guyton and Hall textbook of medical physiology*. Elsevier Health Sciences, 2010. [1](#), [2](#)
- [7] Harvey Lodish. *Molecular cell biology*. Macmillan, 2008. [1](#)
- [8] FJ Sierra-Valdez and JC Ruiz-Suárez. Noble gases in pure lipid membranes. *The Journal of Physical Chemistry B*, 117(11):3167–3172, 2013. [2](#), [6](#), [28](#), [40](#)
- [9] Robert L Lipnick. Charles ernest overton: Narcosis studies and a contribution to general pharmacology. *Trends in Pharmacological Sciences*, 7:161–164, 1986. [3](#)

- [10] Bryan D Jordan and Elizabeth Laura Wright. Xenon as an anesthetic agent. *AANA J*, 78(5):387–392, 2010. [5](#)
- [11] Theodore L Brown, Harold Eugene LeMay, and Roxy Wilson. *Chemistry: The central science*. Prentice Hall Englewood Cliffs, NJ, 1988. [5](#)
- [12] Tim Clark. *A handbook of computational chemistry: A practical guide to chemical structure and energy calculations*. Wiley New York, 1985. [6](#)
- [13] Edward CM Chen and ESD Chen. *The electron capture detector and the study of reactions with thermal electrons*. John Wiley & Sons, 2004. [6](#)
- [14] Patricio A Zapata-Morin, FJ Sierra-Valdez, and JC Ruiz-Suárez. The interaction of local anesthetics with lipid membranes. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 53:200–205, 2014. [6](#), [40](#)
- [15] Tristan GA Youngs, Mario G Del Pópolo, and Jorge Kohanoff. Development of complex classical force fields through force matching to ab initio data: Application to a room-temperature ionic liquid. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(11):5697–5707, 2006. [6](#)
- [16] M Freyss, N Vergnet, and T Petit. Ab initio modeling of the behavior of helium and xenon in actinide dioxide nuclear fuels. *Journal of nuclear materials*, 352(1):144–150, 2006. [7](#)
- [17] Artem R Oganov and Colin W Glass. Crystal structure prediction using ab initio evolutionary techniques: Principles and applications. *The Journal of chemical physics*, 124(24):244704, 2006. [7](#)
- [18] Camilo Ruiz, Luis Plaja, Luis Roso, and Andreas Becker. Ab initio calculation of the double ionization of helium in a few-cycle laser pulse beyond the one-dimensional approximation. *Physical review letters*, 96(5):053001, 2006. [7](#)
- [19] RD Enriz, ME Morales, HA Baldoni, and ML Freile. Ab initio and dft search for conformational transition states of n-formyl-l-prolinamide. In *Anales de la Asociación Química Argentina*, volume 94, pages 49–65. SciELO Argentina, 2006. [7](#)

-
- [20] O Gessner, AMD Lee, JP Shaffer, H Reisler, SV Levchenko, AI Krylov, Jonathan G Underwood, H Shi, ALL East, DM Wardlaw, et al. Femtosecond multidimensional imaging of a molecular dissociation. *Science*, 311(5758): 219–222, 2006. [7](#)
- [21] Kaori Fukuzawa, Yuji Mochizuki, Shigenori Tanaka, Kazuo Kitaura, and Tatsuya Nakano. Molecular interactions between estrogen receptor and its ligand studied by the ab initio fragment molecular orbital method. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(32):16102–16110, 2006. [7](#)
- [22] Robert E Shannon. Introduction to the art and science of simulation. In *Proceedings of the 30th conference on Winter simulation*, pages 7–14. IEEE Computer Society Press, 1998. [9](#)
- [23] Todd PW McMullen and Ronald N McElhaney. New aspects of the interaction of cholesterol with dipalmitoylphosphatidylcholine bilayers as revealed by high-sensitivity differential scanning calorimetry. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1234(1):90–98, 1995. [9](#)
- [24] Hernán Alonso, Andrey A Bliznyuk, and Jill E Gready. Combining docking and molecular dynamic simulations in drug design. *Medicinal research reviews*, 26(5):531–568, 2006. [10](#)
- [25] Pu Liu, Xuhui Huang, Ruhong Zhou, and BJ Berne. Hydrophobic aided replica exchange: an efficient algorithm for protein folding in explicit solvent. *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(38):19018–19022, 2006. [10](#)
- [26] Sundeep S Deol, Carmen Domene, Peter J Bond, and Mark SP Sansom. Anionic phospholipid interactions with the potassium channel kcsa: simulation studies. *Biophysical journal*, 90(3):822–830, 2006. [10](#)
- [27] Leonardo F Fraceto, Sérgio Oyama, Clóvis R Nakaie, Alberto Spisni, Eneida de Paula, and Thelma A Pertinhez. Interaction of local anesthetics with a peptide encompassing the iv/s4–s5 linker of the na⁺ channel. *Biophysical chemistry*, 123(1):29–39, 2006. [10](#)

-
- [28] Y Andoh, N Yoshii, A Yamada, K Fujimoto, H Kojima, K Mizutani, A Nakagawa, A Nomoto, and S Okazaki. All-atom molecular dynamics calculation study of entire poliovirus empty capsids in solution. *The Journal of chemical physics*, 141(16):165101, 2014. [10](#)
- [29] Ryan D Booker and Amadeu K Sum. Biophysical changes induced by xenon on phospholipid bilayers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1828(5):1347–1356, 2013. [11](#), [12](#), [25](#), [28](#)
- [30] Eiji Yamamoto, Takuma Akimoto, Hiroyuki Shimizu, Yoshinori Hirano, Masato Yasui, and Kenji Yasuoka. Diffusive nature of xenon anesthetic changes properties of a lipid bilayer: molecular dynamics simulations. *The Journal of Physical Chemistry B*, 116(30):8989–8995, 2012. [11](#), [12](#), [25](#)
- [31] R. Zellner. S.w. Benson: Thermochemical kinetics, 2nd ed. John Wiley & Sons, New York-London-Sydney-Toronto 1976. *Berichte der Bunsengesellschaft für physikalische Chemie*, 81(9):877–878, 1977. [12](#)
- [32] Oliver Berger, Olle Edholm, and Fritz Jähnig. Molecular dynamics simulations of a fluid bilayer of dipalmitoylphosphatidylcholine at full hydration, constant pressure, and constant temperature. *Biophysical journal*, 72(5):2002–2013, 1997. [12](#), [25](#)
- [33] Jan H Jensen. *Molecular modeling basics*. CRC Press, 2010. [13](#)
- [34] Jörg Fitter. A measure of conformational entropy change during thermal protein unfolding using neutron spectroscopy. *Biophysical journal*, 84(6):3924–3930, 2003. [19](#)
- [35] Raik Grünberg, Michael Nilges, and Johan Leckner. Flexibility and conformational entropy in protein-protein binding. *Structure*, 14(4):683–693, 2006. [19](#)
- [36] J Villa, M Štrajbl, TM Glennon, YY Sham, ZT Chu, and A Warshel. How important are entropic contributions to enzyme catalysis? *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(22):11899–11904, 2000. [19](#)

- [37] JM Haile. *Molecular dynamics simulation*, volume 18. Wiley, New York, 1992. [20](#)
- [38] José Ramón Blas Pastor. *Dinámica de sistemas de interés biológico. Estudios de flexibilidad y estabilidad en sistemas de puente de hidrógeno*. Tesis de Doctorado, Universidad de Barcelona, Barcelona, 2006. [20](#)
- [39] Heiko Schäfer, Alan E Mark, and Wilfred F van Gunsteren. Absolute entropies from molecular dynamics simulation trajectories. *The Journal of Chemical Physics*, 113(18):7809–7817, 2000. [20](#)
- [40] Ernesto Suárez Álvarez. *Avances metodológicos en el cálculo de la entropía conformacional y la energía de biomoléculas y su aplicación a modelos de colágeno*. Tesis de Doctorado, Universidad de Oviedo, Oviedo, 2011. [22](#)
- [41] Herman JC Berendsen, David van der Spoel, and Rudi van Drunen. Gromacs: A message-passing parallel molecular dynamics implementation. *Computer Physics Communications*, 91(1):43–56, 1995. [24](#)
- [42] Erik Lindahl, Berk Hess, and David Van Der Spoel. Gromacs 3.0: a package for molecular simulation and trajectory analysis. *Journal of Molecular Modeling*, 7(8):306–317, 2001. [24](#)
- [43] Nicolae Goga, Siewert Marrink, Ruxandra Cioromela, and Florica Moldoveanu. Gpu-sd and dpd parallelization for gromacs tools for molecular dynamics simulations. In *Bioinformatics & Bioengineering (BIBE), 2012 IEEE 12th International Conference on*, pages 251–254. IEEE, 2012. [24](#)
- [44] Joseph O Hirschfelder, Charles F Curtiss, Robert Byron Bird, and Maria Goeppert Mayer. *Molecular theory of gases and liquids*, volume 26. Wiley New York, 1954. [25](#), [28](#)
- [45] Bjorn Sommer, Tim Dingersen, Christian Gamroth, Sebastian E Schneider, Sebastian Rubert, Jens Kruger, and Karl-Josef Dietz. Cellmicrocosmos 2.2 membraneditor: a modular interactive shape-based software approach to solve heterogeneous membrane packing problems. *Journal of chemical information and modeling*, 51(5):1165–1182, 2011. [25](#)

- [46] Gunther Lukat, Jens Kruger, and Bjorn Sommer. Apl@ voro: A voronoi-based membrane analysis tool for gromacs trajectories. *Journal of chemical information and modeling*, 53(11):2908–2925, 2013. [25](#)
- [47] Egipto Antunes, Nuno G Azoia, Teresa Matamá, Andreia C Gomes, and Artur Cavaco-Paulo. The activity of le10 peptide on biological membranes using molecular dynamics, in vitro and in vivo studies. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 106:240–247, 2013. [25](#)
- [48] Abbas Yousefpour, Hamid Modarress, Fatemeh Goharpey, and Sepideh Amjad-Iranagh. Interaction of pegylated anti-hypertensive drugs, amlodipine, atenolol and lisinopril with lipid bilayer membrane: A molecular dynamics simulation study. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1848(8):1687–1698, 2015. [39](#)
- [49] Pei Tang and Yan Xu. Large-scale molecular dynamics simulations of general anesthetic effects on the ion channel in the fully hydrated membrane: the implication of molecular mechanisms of general anesthesia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(25):16035–16040, 2002. [40](#)
- [50] James R Trudell, Donald D Koblin, and Edmond I Eger. A molecular description of how noble gases and nitrogen bind to a model site of anesthetic action. *Anesthesia & Analgesia*, 87(2):411–418, 1998. [40](#)
- [51] Gordon J Ewing and Sigfredo Maestas. Thermodynamics of absorption of xenon by myoglobin. *The Journal of physical chemistry*, 74(11):2341–2344, 1970. [40](#)
- [52] James A Rogers and Stanley S Davis. Functional group contributions to the partitioning of phenols between liposomes and water. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 598(2):392–404, 1980. [40](#)