



TÍTULO

ESTUDIO DE LA PERMEABILIDAD OSMÓTICA PARA
NANOESTRUCTURAS EN MEMBRANAS LIPÍDICAS

AUTOR

Efraín Óscar Ninán Manga

Esta edición electrónica ha sido realizada en 2021

Tutores	Dra. Dña. Chantal Valeriani ; Dr. D. Miguel Ángel González González
Instituciones	Universidad Internacional de Andalucía ; Universidad de Huelva
Curso	<i>Máster Universitario en Simulación Molecular (2019/20)</i>
©	Efraín Óscar Ninán Manga
©	De esta edición: Universidad Internacional de Andalucía
Fecha documento	2020

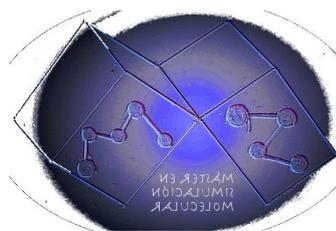


**Atribución-NoComercial-SinDerivadas
4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0)**

Para más información:

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.en>



ESTUDIO DE LA PERMEABILIDAD OSMÓTICA PARA NANOESTRUCTURAS EN MEMBRANAS LIPÍDICAS

Efraín Oscar Ninán Manga

Trabajo entregado para la obtención del grado de Master en
Simulación Molecular

Noviembre 2020

Directores:

Dra. Chantal Valeriani

Dr. Miguel Ángel González González

RESUMEN

La osmosis es un fenómeno importante desde el punto de vista biológico, pero también desde el punto de vista de la ciencia de materiales no solo para el desarrollo de nuevos materiales para osmosis inversa sino también para el desarrollo de materiales útiles en cromatografía y separación selectiva de iones.

Los estudios de dinámica molecular han demostrado ser útiles para el análisis del número de moléculas de agua, la velocidad a la que se mueven y la selectividad en canales nanométricos biológicos como las acuaporinas, o no biológicos como nanotubos de carbono.

En este trabajo estudiamos un sistema hipotético que consistente en una bicapa lipídica de 400 moléculas de 1,2-Dioleoil-sn-glicero-3-fosfoina y un nanotubo de carbono de 5nm de longitud, estructura *armchair* de 924 átomos de carbono insertada verticalmente a la mitad de la membrana. Esta membrana se encuentra separando un volumen de agua y una solución de NaCl 145 milimolal. También se realiza otra simulación similar con una sal distinta, KCl, de la misma concentración. El nanotubo de carbono comunica ambas secciones, el volumen de agua pura por un lado con la solución salina por el otro. Este sistema se simuló a través del paquete de dinámica molecular GROMACS utilizando el campo de fuerza Gromos 53A6 para todas las estructuras, Madrid 2019 para simular los efectos de los iones en solución acuosa y TIP4P/2005 para el agua.

Primero se simuló el sistema por un corto periodo en el colectivo NVT y, una vez equilibrado en NPT por un periodo prolongado de 200ns.

De acuerdo a lo observado las moléculas de agua se mueven hacia el lado de la solución, como en todo fenómeno osmótico, y los iones no atraviesan el canal del nanotubo. Se evaluó el movimiento de las moléculas de agua en el eje Z respecto a la orientación de la caja de simulación. Para este fin se utilizaron dos programas de análisis proporcionados por el Dr Miguel Angel Gonzales. El primero es un script que genera un registro de las moléculas que atraviesan el centro de masa del nanotubo de carbono respecto al eje z, que es el eje de orientación del nanotubo de carbono, todo esto en función del tiempo y estos se almacenan para luego ser analizados con un segundo programa escrito en Python que nos

proporciona gráficos con el número y la molalidad de las soluciones en el tiempo.

De acuerdo a lo observado para ambas sales existe una migración de moléculas de agua la tasa de moléculas que atraviesan el nanotubo está en el rango de 10^7 moléculas por segundo. Hecho que demuestra que las moléculas migran a lo largo del canal como es esperado para un fenómeno de ósmosis.

ABSTRACT

Osmosis is an important phenomenon from the biological point of view, but also from the point of view of modern materials science not only for the development of new materials for reverse osmosis but also for the development of useful materials in chromatography and selective ion separation.

Molecular dynamics studies have proven to be useful for the analysis of the number of water molecules, the speed at which they move and the selectivity in biological nanometric channels such as aquaporins, or non-biological channels such as carbon nanotubes.

In this work we study a hypothetical system consisting of a lipid bilayer of 400 1,2-Dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocoin molecules and a 5nm long carbon nanotube, armchair structure of 924 carbon atoms inserted vertically to the middle of the membrane. This membrane is found by separating a volume of water and a solution of 145 millimolal NaCl. Another similar simulation is also performed with a different salt, KCl, of the same concentration. The carbon nanotube communicates both sections, the volume of pure water on one side with the saline solution on the other. This system was simulated through the GROMACS molecular dynamics package using the Gromos 53A6 force field for all structures, Madrid 2019 to simulate the effects of ions in aqueous solution and TIP4P / 2005 for water.

First, the system was simulated for a short period in the collective NVT and, once balanced in TPN for a prolonged period of 200ns.

According to what is observed, the water molecules move towards the solution side, as in all osmotic phenomena, and the ions do not cross the channel of the nanotube. The movement of the water molecules in the Z axis with respect to the orientation of the simulation box was evaluated. For this purpose, two analysis programs provided by Dr Miguel Angel Gonzales were used. The first is a script that generates a record of the molecules that cross the center of mass of the carbon nanotube with respect to the z-axis, which is the orientation axis of the carbon nanotube, all this as a function of time and these are stored for later be analyzed with a second

program written in Python that gives us graphs with the number and molarity of the solutions over time.

According to what has been observed for both salts, there is a migration of water molecules, the rate of molecules that pass through the nanotube is in the range of 10^7 molecules per second. Fact that shows that the molecules migrate along the channel as expected for an osmosis phenomenon.

ÍNDICE

Resumen	1
Abstract	5
Capítulo 1. Introducción	9
1.1. La permeabilidad osmótica	9
1.2. La técnica de dinámica molecular	11
1.3. Objetivos	12
Capítulo 2. Materiales y Métodos	
2.1. Infraestructura física	13
2.2. Métodos	13
2.2.1 Dinámica molecular	13
2.2.2 Condiciones iniciales y condiciones periódicas del sistema.....	14
2.2.3 Energía Potencial	15
2.2.3.1 Potencial Intramolecular	15
2.2.3.2 Potencial intermolecular	16
2.2.3.3 Interacciones electrostáticas	17
2.2.3.4 Correcciones de largo alcance	18
2.2.3.5 Campo de fuerza GROMOS 53A6	18
2.2.3.6 Campo de fuerza TIP4P 2005	19
2.2.3.7 Campo de Fuerza ion Madrid 2019	20
2.2.4 Simulación	20
2.2.4.1 Simulación en el colectivo NVT	21
2.2.4.1 Simulación en el colectivo NPT	21
Capítulo 3. Resultados y Discusiones.....	23
3.1. Caja de simulación.....	23
3.2. Simulación de la permeabilidad osmótica	24

3.3. Parámetros de simulación	25
3.4. Análisis de la permeabilidad osmótica	26
3.4.1 Simulación de la permeabilidad osmótica con NaCl...	27
3.4.2 Simulación de la permeabilidad osmótica con KCl....	28
Capítulo 4. Conclusiones	30
Referencias	31

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

El estudio de los fenómenos de ósmosis ha atraído la atención debido a la utilidad en el estudio de membrana. La dinámica molecular es importante para simular e investigar estos mecanismos de transporte del agua que ocurre durante la ósmosis. ¹

1.1. Permeabilidad osmótica

La permeabilidad a través de una membrana es un fenómeno que ha llamado mucho la atención en el campo de la simulación molecular por la importancia que tiene en el estudio de los mecanismos de transporte a través de las membranas celulares y el interés por comprender los procesos de osmosis y osmosis inversa.

Desde las primeras observaciones experimentales de los procesos de osmosis en las plantas realizados por Pfeffer (1877) y el desarrollo de la teoría osmótica realizado por Van't Hoff (1855) ha habido un creciente interés por comprender la naturaleza del transporte a través de las membranas celulares.

Los mecanismos de permeabilidad de una membrana están gobernados por una serie de factores entre los que destacan la estructura de la membrana y la naturaleza de los agentes permeantes. El agua y el oxígeno son los agentes permeantes más estudiados, por su importancia biológica.

La confirmación de la arquitectura molecular de la bicapa lipídica por microscopía electrónica, la simulación de estructuras proteicas y el desarrollo de la dinámica molecular de fluidos complejos han sido las bases fundamentales para que en 1994 se propusieran los primeros modelos atomísticos de bicapas de fosfolípidos por Berendsen y Marrink.²

El mecanismo de transporte de agua a través de la membrana celular fue establecido gracias a los estudios realizados por Began (1985) quien descubrió que existen proteínas que se encargan de realizar el transporte de agua a través de la membrana de células de glóbulos rojos. Esta proteína fue aislada y se le denominó CHIP28, pero actualmente conocida como acuaporina.³

Los canales de agua son mecanismos celulares que permiten el paso del agua a través de la membrana celular en los organismos vivos. Este transporte de agua está restringido por una serie de factores entre los que figuran los mecanismos de osmosis. La permeabilidad a través de las membranas biológicas ha sido objeto de muchos estudios teóricos y experimentales.⁴

Uno de los parámetros más estudiados en los fenómenos de osmosis es la presión osmótica⁵. Los principios del análisis de esta propiedad es el potencial químico que, en términos de presión, P , y fracción molar del soluto, X_s , se expresa como sigue:

$$d\mu = \left(\frac{\partial\mu}{\partial P}\right)_{X_s} dP + \left(\frac{\partial\mu}{\partial X_s}\right)_P dX_s$$

Considerando que $d\mu=0$ en el equilibrio, aplicando transformada de Legendre $G=E-TS+PV$ a la ecuación de la segunda ley de la termodinámica $dE=TdS-PdV+\mu dn$ tenemos:

$$dG = -SdT + VdP + \mu dn$$

considerando que se la osmosis es un proceso a temperatura constante:

$$\left(\frac{\partial\mu}{\partial P}\right)_{X_s} = \left(\frac{\partial}{\partial P}\left(\frac{\partial G}{\partial n}\right)_P\right)_{X_s} = \left(\frac{\partial}{\partial P}\left(\frac{\partial G}{\partial n}\right)_{X_s}\right)_P = \frac{\partial V}{\partial n} = \bar{V}$$

Derivando la ecuación de Gibbs – Duhem respecto a X_s , tenemos:

$$\left(\frac{\partial\mu}{\partial X_s}\right)_P = -\frac{RT}{1-X_s}$$

Sustituyendo estas ecuaciones en la del potencial químico tenemos:

$$\bar{V}dP = \frac{RT}{1-X_s}dX_s$$

Integrando la ecuación desde P_0 hasta $P_0+\Pi$ para la presión y desde 0 hasta X_s para la fracción molar del soluto se obtiene la presión osmótica:

$$\Pi = -\frac{RT}{\bar{V}} \ln(1-X_s)$$

Si $\ln(1-X_s) \approx -X_s$, obtenemos la ecuación de Van 't Hoff para la presión osmótica:

$$\Pi = RT \frac{X_s}{\bar{V}} = RT \frac{n_s}{V}$$

Esta ecuación depende del volumen de la solución⁶.

En el contexto termodinámico el desarrollo de McMillan – Mayer para las soluciones puede aplicarse a la interpretación de una función de estado para la ósmosis. En un sistema bicomponente soluto – solvente la presión osmótica se puede expresar como un polinomio de la concentración molar del soluto C_2 ⁷:

$$\frac{\Pi}{RT} = c_2 + B_{22}c_2^2 + C_{22}c_2^3 + \dots$$

Donde B_{22} y C_{22} son el segundo y tercer coeficiente del virial osmótico. Formalmente B_{22} da cuenta de las interacciones de pares de moléculas de soluto, C_{22} , las interacciones de entre grupos de tres moléculas y así sucesivamente. La interpretación de los coeficientes de virial depende del marco termodinámico que se elija.

Un ejemplo de interpretación del segundo coeficiente del virial osmótico B_{22} es en la interacción entre moléculas de proteínas. B_{22} presentar el potencial de interacción de las moléculas de proteínas con sus propiedades termodinámicas. Este potencial es complejo, pero existen metodologías que consideran estos potenciales como un potencial promedio.⁸

Del mismo modo este parámetro se ha relacionado con factores como la hidrofobicidad de moléculas al momento de evaluar la formación de moléculas anfifílicas de lípidos al autoorganizarse y formar bicapas⁹ o micelas¹⁰.

1.2 La técnica de dinámica molecular

De acuerdo a la IUPAC, “la dinámica molecular es un procedimiento de simulación que consiste en el cálculo del movimiento de átomos en una molécula o de átomos o moléculas individuales en sólidos, líquidos y gases, de acuerdo con las leyes de movimiento de Newton. Las fuerzas que actúan sobre los átomos, necesarias para simular sus movimientos, se calculan generalmente utilizando campos de fuerza de la mecánica molecular”.¹¹

Los cálculos de dinámica molecular se pueden desarrollar a través de programas de computación entre los que destacan GROMACS¹² y LAMMPS¹³ entre otros. Estos programas nos proporcionan la evolución dinámica en el tiempo de un sistema que puede estar conformado por moléculas, átomos o iones. Una vez calculadas, un análisis de trayectorias permite evaluar propiedades termodinámicas y de transporte del sistema estudiado.

Los sistemas que se simulan en dinámica molecular pueden estar conformados por cientos de miles de átomos o moléculas complejas como proteínas, moléculas de ADN, virus o nanopartículas. Mas aún se pueden simular sistemas hipotéticos que permiten calcular el comportamiento de sistemas biológicos, o materiales modernos.

1.4. Objetivos

Objetivo General

Estudiar a través de simulaciones de dinámica molecular la permeabilidad osmótica en un sistema conformado por dos secciones separadas por bicapas lipídicas de DOPC conectadas a través de un nanotubo de carbono transmembránico que permite el paso de agua entre una sección de agua pura y otra de solución salina de concentración cercana a las condiciones fisiológicas: 145 milimolal.

Objetivos específicos

1. Preparar dos cajas de simulación distintas, cada una consistente de bicapas lipídicas de DOPC con un nanotubo de carbono que separan dos secciones: La primera con agua pura y solución de NaCl 145 *mm* y la otra con agua pura y solución de KCl 145 *mm*
2. Realizar la simulación de dinámica molecular en el colectivo NPT utilizando el código "open source" GROMACS, comprobando la migración de las moléculas de agua a través del nanotubo de carbono
3. Analizar los resultados obtenidos calculando la variación de la molalidad de la solución salina utilizados programas escritos para este propósito.

Capítulo 2. Materiales y Métodos

2.1 Infraestructura física:

Las simulaciones se desarrollan en el centro de computación del departamento de Química Física de la Universidad Complutense de Madrid utilizando el programa GROMACS versión 2016.4 para la dinámica molecular y Python versión 3.11 para el código de análisis (con la ayuda del Dr. González).

2.2 Métodos

2.2.1 Dinámica molecular.

La dinámica molecular es una técnica que nos permite estudiar la evolución temporal de un sistema, conformado por átomos, iones o moléculas, a través de los principios básicos de la mecánica clásica¹⁴.

Respecto a la mecánica cuántica, la dinámica molecular presenta mucha simplificación en sus procedimientos y hace posible la simulación de sistemas de miles de átomos basándose en los principios de la dinámica newtoniana en la que se necesita la fuerza (F) que actúa sobre cada partícula que está dada por la ecuación:

$$F_i = m_i a_i$$

Siendo m la masa y a la aceleración. También se usa una gradiente de la función de energía potencial (U):

$$F_i = -\nabla_i U$$

Luego podemos encontrar la aceleración a través de la ecuación:

$$-\frac{dU}{dr_i} = m_i \frac{d^2 r_i}{dt^2}$$

La integración de las ecuaciones de movimiento se realiza a través de algoritmos que se basan en las series de Taylor. Aunque los algoritmos de Runge Kutta son los ideales para este fin, el cambio muy rápido de las fuerzas lo hacen poco aplicable y en su lugar en dinámica molecular se propone el algoritmo de Verlet.¹⁵

Para determinar las posiciones de las partículas, r , a partir de una posición previa en un tiempo t , se realiza un paso de tercer orden de la serie de Taylor $r(t+\Delta t)$ y luego se realiza un paso hacia atrás $r(t-\Delta t)$ como se demuestra en las siguientes¹⁶ ecuaciones:

$$\begin{aligned} r(t + \Delta t) &= r(t) + v(t)\Delta t + \frac{1}{2} a(t)\Delta t^2 + \frac{1}{3!} \ddot{r}(t)\Delta t^3 + O(\Delta t^4) \\ r(t - \Delta t) &= r(t) - v(t)\Delta t + \frac{1}{2} a(t)\Delta t^2 - \frac{1}{3!} \ddot{r}(t)\Delta t^3 + O(\Delta t^4) \end{aligned}$$

Al sumar estas ecuaciones la primera y tercera derivada se cancela y tenemos una expresión más simple:

$$r(t + \Delta t) + r(t - \Delta t) = 2r(t) + a(t)\Delta t^2 + O(\Delta t^4)$$

El siguiente paso se expresará a partir de la posición anterior y la aceleración actual:

$$r(t + \Delta t) = 2r(t) - r(t - \Delta t) + a(t)\Delta t^2 + O(\Delta t^4)$$

En dinámica molecular las velocidades se pueden estimar por diferencia finita:

$$v(t) = \frac{1}{2\Delta t} [r(t + \Delta t) - r(t - \Delta t)] + O(\Delta t^2)$$

Aunque este algoritmo puede tener un error de cuarto orden presenta la ventaja de ser simple, no necesita almacenar velocidades y permite múltiples cálculos de fuerza, con poco consumo de recursos de memoria y procesamiento del ordenador.

2.2.2 Condiciones iniciales y condiciones periódicas del sistema.

El primer paso para realizar una simulación es establecer las condiciones iniciales del sistema. Aun cuando el sistema es un fluido, la forma más conveniente de establecer las condiciones iniciales del sistema es considerarlo como un sólido con una estructura cristalina establecida.

En una estructura cristalina los átomos están en una posición de equilibrio de modo que las atracciones y repulsiones se han minimizado. Este detalle es importante ya que un orden aleatorio inicial puede colocar las partículas muy próximas e incluso superpuestas, esto dificultaría la integración de las ecuaciones de movimiento.

Las simulaciones permiten estudiar las propiedades físicas de un sistema infinito (de bulk) a través de un sistema finito, confinado en una caja, y repetido 26 veces (en las tres dimensiones).

Las partículas que se consideran en el sistema corresponden a la caja de simulación principal, cuyas dimensiones son fijadas de acuerdo a las condiciones de simulación en un colectivo NVT.

La evolución del sistema una vez iniciada la simulación llevará el sistema al estado que se está buscando, pero se debe fijar las condiciones periódicas del sistema, de lo contrario las partículas pueden escapar de la caja de simulación, que tiene tamaño finito.

Para conservar el número de partículas se establece las condiciones periódicas de contorno. Esta es una técnica que considera el sistema como una celda unidad, la caja de simulación estará rodeada por cajas exactamente iguales en todas las direcciones. Así, cuando una partícula abandone la caja de simulación por una cara de la caja de simulación, otra partícula igual entrará en la caja por la cara opuesta, tal como se muestra en el siguiente esquema, de modo que el número de partículas se mantendrá constante durante la simulación.

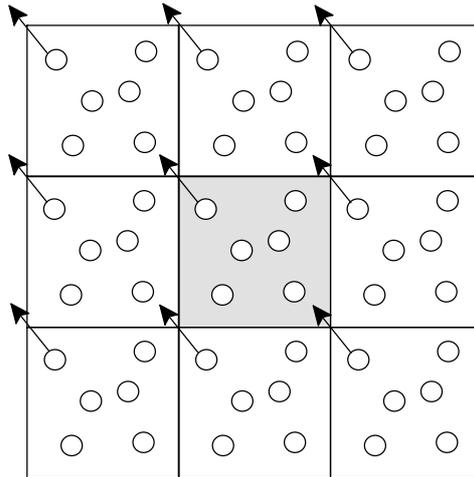


Gráfico 1: Esquema de una caja de simulación (en fondo plomo) y sus imágenes en un entorno bidimensional. Al salir una de las partículas del sistema otra partícula ingresa en la caja de simulación por el lado puesto.

2.2.3 Energía Potencial

El sistema que se va a simular en este trabajo está conformado por varios elementos cada uno de ellos tiene sus particularidades. Por eso se aplican diferentes campos de fuerza para simular estos elementos.

La membrana formada por la bicapa lipídica y el nanotubo se simulan utilizando un campo de fuerza denominado GROMOS53A y OPLS-AA¹⁷ Para el agua y los iones en solución se aplican los campos de fuerza TIP4P/2005 y Madrid 2019.

Un campo de fuerza consta de parámetros específicos para determinado tipo de moléculas y principalmente trata con la función de potencial más idónea una función de energía potencial que se presenta entre determinado tipo de estructuras

En un sistema conformado por moléculas y iones se presentan una serie de interacciones relacionadas con la estructura molecular y la carga electrostática de las diferentes especies.

En dinámica molecular las partículas evolucionan mediante el campo de fuerza el cual es un conjunto de ecuaciones y parámetros que nos permitirán reproducir las estructura y propiedades del sistema.

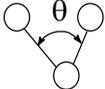
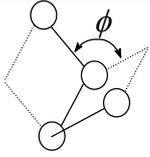
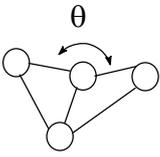
Si un sistema está formado por moléculas y iones, Los potenciales del sistema, U_{sist} , pueden ser intramoleculares e intermoleculares, ambos contribuyen al potencial total del sistema:

$$U_{sist} = U_{intramolecular} + U_{intermolecular}$$

2.2.3.1 Potencial Intramolecular

El potencial intramolecular esta dado por la interacción de los átomos enlazados en la molécula sienten los movimientos de vibración o estiramiento de enlace, torsión y flexión los contribuyentes de este tipo de energía. En la siguiente tabla se resumen los detalles de estos tres tipos de interacción:

Tabla 1: interacciones intramoleculares

Tipo	Representación	Ecuación	Definición
Potencial por vibración de enlace		$E_{enlace} = \frac{K_r}{2}(r - r_{eq})^2$	Se representa por la ley Hooke para un resorte porque la distancia promedio de enlace se mantiene prácticamente constante
Potencial por flexión angular		$E_{flexión} = \frac{K_\theta}{2}(\theta - \theta_{eq})^2$	Se puede representar a través del potencial armónico de Hooke
Potencial por Torsión de Angulo diedro		$E_{torsión} = \frac{V_n}{2}[1 + \cos(n\phi - \gamma)]$	Se perfila a partir de una expresión de serie de Fourier para la energía.
Potencial de torsión de ángulo diedro impropio		$E_{improp} = \frac{K_\theta}{2}(\theta - \theta_{eq})^2$	No corresponde a un ángulo diedro, pero se da entre 4 átomos.

En la tabla $1K_r$, K_θ son constantes de resorte y armónico del potencial de Hooke, V_n es el potencial de la barrera de torsión, t es el ángulo de flexión, θ y ϕ son la medida de ángulo que se indica y γ es el ángulo correspondiente al mínimo energético. Estas interacciones corresponden a átomos continuos, átomos alejados pueden interactuar dentro de una misma molécula.

2.2.3.2 Potencial intermolecular

Este tipo de interacciones corresponden por ejemplo a las fuerzas de dispersión de Van der Waals y las interacciones electrostáticas. Las interacciones entre dos átomos o moléculas pueden ser de dispersión. Estas interacciones se pueden modelar satisfactoriamente a través de la ecuación de potencial de Lennard Jones

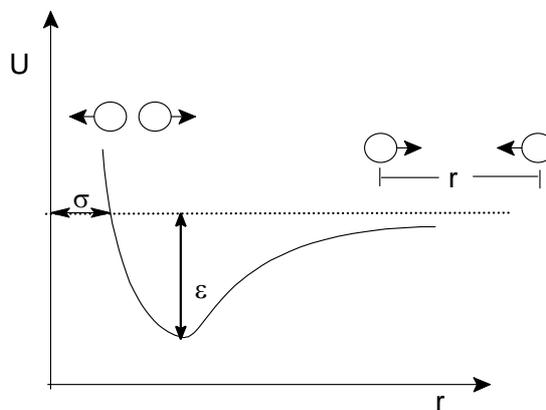


Gráfico 2: Curva de energía potencia de Lennard Jones

U_{LJ} . Este tipo de interacción es del tipo atractivo básicamente a largo alcance y repulsivo a corto alcance.

La ecuación de Lennard – Jones está compuesta por dos componentes, el componente repulsivo $\left(\frac{\sigma}{r_{i,j}}\right)^{12}$ y el componente atractivo $\left(\frac{\sigma}{r_{i,j}}\right)^6$.

$$U(r_{i,j}) = 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r_{i,j}}\right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r_{i,j}}\right)^6 \right]$$

$r_{i,j}$ representa la separación entre dos átomos o moléculas i y j .

σ es la distancia a la cual el potencial de las dos partículas interactuantes se hace cero y representa el diámetro de las partículas. ϵ representa el potencial con el que las partículas se atraen¹⁸.

2.2.3.3 Interacciones electrostáticas

Las interacciones electrostáticas de las partículas cargadas del sistema se evalúan a partir de la ecuación de la ley de Coulomb.

$$F = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{q_1 q_2}{r^3} \mathbf{r}$$

En esta ecuación ϵ_0 representa la constante de permitividad eléctrica, \mathbf{r} es el vector distancia entre dos partículas puntuales de carga q_1 y q_2 . Cuando las partículas son del mismo signo, la fuerza F es repulsiva y cuando las partículas son de cargas opuestas la fuerza atractiva.

Considerando un sistema de N partículas, la repulsión sobre una partícula de carga q_n y posición $\mathbf{x}_n = (x_n, y_n, z_n)$ con $n = 1, \dots, N$, por parte de otra partícula q_m en una posición \mathbf{x}_m será:

$$F(x_m) = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \sum_{n=1}^N q_n \frac{(\mathbf{x}_m - \mathbf{x}_n)}{|\mathbf{x}_m - \mathbf{x}_n|^3}, \quad m = 1, \dots, N$$

En términos de energía potencial será:

$$U_{elect.} = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \sum_{m=1}^N q_m \sum_{n=1}^N \frac{q_n}{x_m - x_n}, \quad m = 1, \dots, N$$

Desde el punto de vista computacional el cálculo de la energía potencial eléctrica del sistema sería muy extenso porque este potencial es de largo alcance que en principio no se podría calcular en un sistema finito con condiciones periódicas de contorno.

su solución se realiza a través de algoritmos como “particle mesh-Ewal” (PME) que permite calcular unas interacciones de alcance infinito en una caja de simulación finita.

2.2.3.4 Correcciones de largo alcance

Para evitar el consumo excesivo de tiempo de computación se aplica un radio de corte sobre el alcance r del potencial, este radio de corte restringe el alcance del potencial de la partícula, disminuye el consumo de recursos y especialmente el tiempo de la simulación.

Los cortes en el alcance del potencial llevan a error de los resultados del cálculo de la evolución temporal de las partículas del sistema, por eso, se aplican también correcciones de largo alcance que pueden mejorar la precisión de los resultados.

2.2.3.5 Campo de fuerza GROMOS 53A6

Este es un campo de fuerza que tiene por objeto representar aspectos específicos de biomoléculas. Se ha aplicado a proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos y lípidos.

El propósito del campo de fuerza GROMOS¹⁹ es proporcionar funciones que minimicen el número de parámetros requerido para evaluar el potencial facilitando la transferencia de parámetros entre secciones similares de las moléculas. Los parámetros precisos para la estructura de la molécula provienen de datos espectroscópicos y cristalográficos de las mismas mientras que las interacciones entre pares de moléculas provienen también de distancias intermoleculares y las polarizabilidades que se establecen.

Para el caso de la fosfatidilcolina se tiene en la parte más polar se tiene la distribución de cargas que se muestra a continuación:

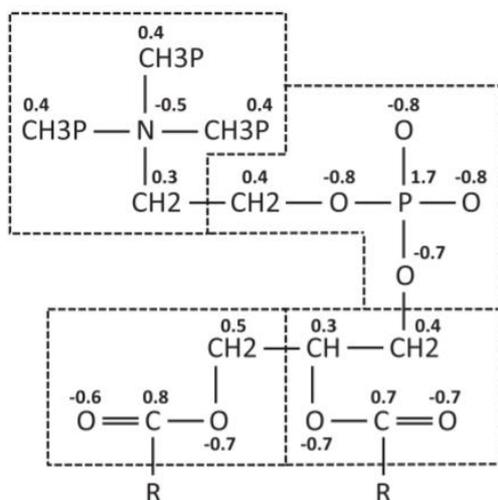


Gráfico 3: Distribución de cargas realizada establecida para el grupo 1,2-Dioleoil-sn-glicero-3-fosfocolina en GROMOS 53A6²⁰. R corresponde al resto de la cadena hidrocarbonada del grupo oleoil.

En el campo de fuerza GROMOS, las interacciones enlazadas son la suma de términos de enlace, ángulo de enlace, ángulo diedro armónico (impropio) y ángulo diedro trigonométrico (torsional). Las interacciones no vinculadas son la suma de Van der Waals (Lennard-Jones, LJ) y interacciones electrostáticas (Coulomb con campo de reacción, CRF) entre todos los pares de átomos:

$$V^{enlazante}(r; s) = V^{enlace}(r; s) + V^{ángular}(r; s) + V^{diedro p}(s; s) + V^{diedro imp}(r; s)$$

$$V^{no\ enlazante}(r; s) = V^{LJ}(r; s) + V^{CRF}(r; s)$$

Los potenciales enlazantes y no enlazantes están en función a la posición r y un parámetro especies, s , que son parámetros propios del campo de fuerza.

Finalmente, el hamiltoniano, H , del sistema contempla la energía cinética, K , que depende del momento, p , y la masa, m , que en este campo de fuerza esta codificada²¹

$$K(p, m) = \sum_{i=1}^N \frac{p_i^2}{2m_i} = \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} m_i v_i^2$$

$$H(p, m, r, s) = K(p, m) + V(r, s)$$

2.2.3.6 Campo de fuerza TIP4P/2005

El agua en dinámica molecular se puede tratar como un solvente implícito, un modelo atomístico explícito o como un modelo de grano grueso (coarse grain).

Dentro de los modelos atomísticos explícitos destacan aquellos no polarizables que consideran 3 a 7 puntos. Estos modelos pueden ser: modelo de carga puntual simple (SPC) basado en la molécula de agua en el hielo y modelos de potencial intermolecular transferible (TIP) basado en las moléculas de agua en vapor.

Dentro de la familia de modelos TIP destacan los aquellos de 3 y 4 puntos. El modelo de 4 puntos se utiliza en la parametrización OPLS (optimized potential for liquid simulation).²² OPLS es un campo de fuerza que se utiliza también para la simulación del nanotubo de carbono.

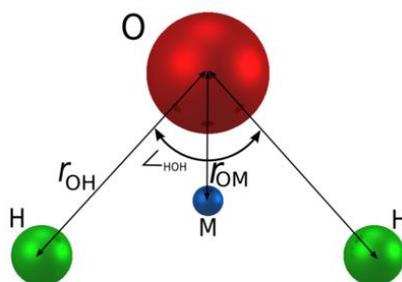


Gráfico 4: El modelo TIP4P consta de un sitio de Lennard-Jones para el átomo de oxígeno y tres sitios de carga H, H y M.²³

El modelo TIP4P/2005²⁴ es un modelo que considera 4 puntos. Tres puntos corresponden a los átomos de hidrógeno y oxígeno y un punto denominado M se sitúa en el mismo plano de los átomos de H y O, en la bisectriz del ángulo H – O – H tal como se muestra en gráfico 4. M es un punto en el que se ubica la carga parcial.

Una característica importante de este modelo es que el oxígeno no tiene carga, pero participa de las interacciones de tipo Lennard - Jones entre dos moléculas, mientras que el H y el sitio M tiene carga, pero no intervienen en las interacciones tipo Lennard – Jones

Los parámetros para el agua de acuerdo a este modelo se dan en la tabla2.

Tabla 2: Parámetros del modelo TIP4P/2005 para el agua²³

r_{OH} (Å)	$\angle HOH$, deg	σ (Å)	ϵ/k (K)	q(O) (e)	q(H) (e)	q(M) (e)	r_{OM} (Å)
0.9572	104.52	3.1589	93.2	0	0.5564	-2q(H)	0.1546

2.2.3.7 Campo de Fuerza ion Madrid 2019

En este campo de fuerza las moléculas de agua se consideran con el modelo TIP4P/2005. Los iones que se consideran en esta solución son Li^+ , Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- y SO_4^{2-} . Tanto las moléculas de agua como los iones son considerados como partículas rígidas no polarizables. En este campo de fuerza se considera que la carga se disipa por efecto del agua y se introduce el concepto de *carga escalada*. La carga considerada para los iones se presenta en la tabla 3:

Tabla 3: Carga de iones en el campo de fuerza Madrid 2019 la carga está en función de la carga del electrón e .²⁵

Especie	Carga (e)	Especie	Carga (e)
Li^+ , Na^+ , K	0.85	Cl^-	-0.85
Mg^{2+} , Ca^{2+}	1.70	SO_4^{2-}	

2.2.4 Simulación

Para los estudios de permeabilidad se debe considerar que existe una membrana y un poro en estado sólido y un líquido, el agua que además contiene iones disueltos, por esto se denomina al sistema heterogéneo.

Típicamente una simulación de dinámica molecular se realiza en dos etapas.

una primera etapa corta en el colectivo NVT, con el fin de equilibrar el sistema seguida de otra más larga en el colectivo NPT que corresponde al estudio del sistema heterogéneo.

2.2.4.1 Simulación en el colectivo NVT

La simulación en el colectivo NVT reduce la variación caótica de las velocidades del sistema lo cual es importante para evitar el colapso del sistema cuando este se acople con un baróstato en una simulación siguiente.

Con el fin de mantener constante la temperatura se utiliza el termostato “velocity rescaling”²⁶. Para este termostato la temperatura, T , es:

$$T = \sum_{i=1}^N \frac{p_i^2}{m_i k_B N_f} = \sum_{i=1}^N \sum_{\alpha} \frac{m_i v_{i\alpha}^2(t)}{k_B N_f}$$

En esta ecuación p es el momento, m es la masa k_B es la constante de Boltzmann, N_f el número de grados de libertad, v la velocidad y t el tiempo.

Para que el sistema equilibre a una temperatura elegida el termostato se multiplica por λ a la ecuación y se obtiene:

$$\Delta T = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \frac{2 m_i (\lambda v_i)^2}{3 k_B N} - \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \frac{m_i v_i^2}{N k_B} = (\lambda^2 - 1) T(t)$$

Siendo $\lambda = \sqrt{\frac{T_0}{T(t)}}$

T_0 es la temperatura a la que se debe mantener el sistema.

2.2.4.2 Simulación en el Colectivo NPT

Para lograr mantener constante la presión se aplican baróstatos como el propuesto por Parrinello Raman²⁷

De acuerdo con la dinámica molecular Parrinello-Rahman, la celda unitaria de elección puede cambiar tanto el volumen como la forma. Un lagrangiano general que tenga en cuenta este cambio de la celda unitaria puede escribirse como:

$$\mathcal{L}(s, h, \dot{s}, \dot{h}) = \frac{1}{2} \sum_i^N m_i \dot{s}_i^t G \dot{s}_i - U(s, h) + \frac{1}{2} W Tr(\dot{h}^t, \dot{h}) - p_{ext} \Omega$$

Donde s_i representa el vector de posición en coordenadas las coordenadas fraccionarias i , h es la matriz formada por los vectores de la celda, G es un tensor definido con $h^t h$, p_{ext} es la presión externa, Ω es el elemento de volumen de la celda, W es una constante con dimensionalidad de masa.

En GROMACS W^{-1} se relaciona con la fuerza de acoplamiento y la medida en la que la caja de simulación puede ser deformada.

$$(W^{-1})_{ij} = \frac{4\pi^2 \beta_{ij}}{3\tau_p^2 L}$$

De acuerdo a esta ecuación β_{ij} es la compresibilidad isotérmica, τ es la constante de tiempo y L es el elemento más grande de la matriz de la caja de simulación.

La integración de la ecuación del lagrangiano genera un ensamble NpH , siendo H la entalpía que se considera como $H = E + p_{ext}V$ siendo p_{ext} la presión que se quiere mantener en el sistema.

El baróstato Parrinello - Raman se puede combinar numéricamente con termostatos para generar el colectivo NpT .

Capítulo 3. Resultados y Discusiones

3.1 Caja de simulación:

La caja de simulación consta de dos secciones separadas por bicapas lipídicas cada una constituida por 400 unidades de DOPC 1,2-Dioleoil-sn-glicero-3-fosfocolina, una unidad de nanotubo de carbono de tipo “armchair” con 924 unidades de carbono comuna inclinación de 30° respecto del eje z.

La primera sección tiene 31809 moléculas de agua y la segunda 31647 moléculas de agua e iones Na^+ y Cl^- , 84 unidades de cada uno. La caja de simulación para el KCl fue la misma, pero con 81 unidades tanto de K^+ como de Cl^- .

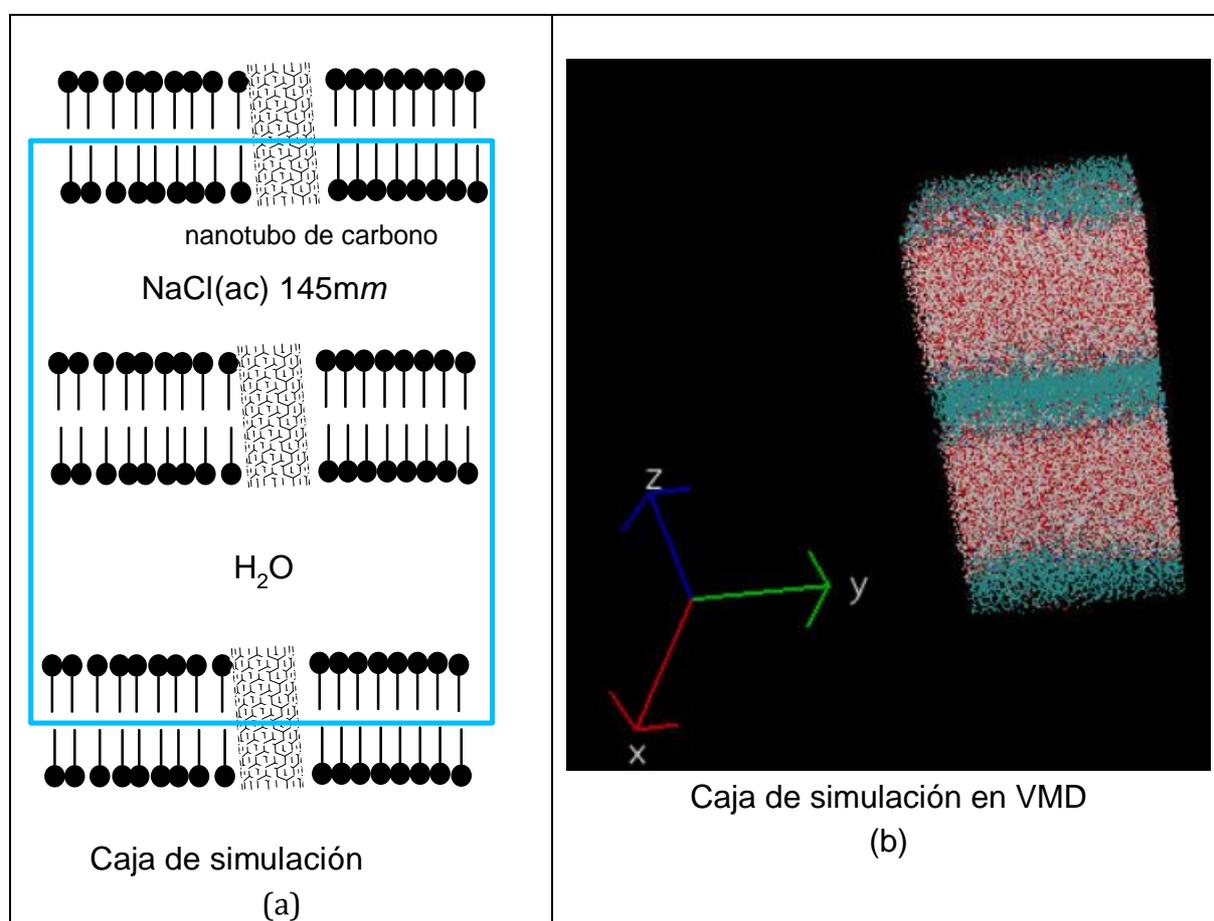


Gráfico 5: Esquema de la caja de simulación (a) secciones de las que se toma la caja de simulación a partir de media bicapa en la parte inferior y media bicapa en la parte superior, enmarcado en celeste. Las partículas \bullet representan una molécula de DOPC. (b) imagen de la caja de simulación obtenida con el programa VMD se señala el eje z.

3.2 Simulación de la permeabilidad osmótica:

El sistema se consta de dos secciones en las cuales fluye agua a través de un nanotubo de carbono. La separación de las secciones es a través de la bicapa lipídica consistente de moléculas de DOPC que no permitirían el paso de las moléculas de agua a través de ellas.

3.2.1 Obtención de la caja de simulación

La caja de simulación se preparó en base a un trabajo previo realizado por J. A. Hernández Escobar²⁸. El código de la bicapa lipídica de 400 moléculas de DOPC se obtuvo a partir de un archivo generado en el programa AMBER, y se adaptó a GROMACS utilizando el comando `pdb2gmx`.

El código para el nanotubo de carbono se editó utilizando la herramienta *nanotube-builder* del programa VMD. El nanotubo es de pared simple y tiene una longitud de 5 nm con un diámetro de 1.49nm. La estructura es de forma de sillón

El nanotubo se coloca en la bicapa lipídica tras una expansión por 4 de la membrana que genera un espacio suficiente para insertar verticalmente el nanotubo de carbono. El sistema se equilibra utilizando un paso de minimización de energía en GROMACS y luego se comprime para obtener una configuración estable.

Luego se utiliza el comando `solvate` de GROMACS para insertar moléculas de agua, se eliminan las moléculas de agua que se generan dentro de la bicapa.

Para la caja de simulación este sistema se repite dos veces generando las dos secciones. En estas secciones se han separado en 4 regiones que se describen en la siguiente tabla 4

Tabla 4: Descripción de las regiones de la caja de simulación

Región	Elementos	Sistema con NaCl	Sistema con KCl
1	NTC DOPC	1 unidad 400 moléculas	1 unidad 400 moléculas
2	Agua	31809	31809
3	NTC DOPC	1 unidad 400 moléculas	1 unidad 400 moléculas
4	Agua Aniones cationes	31647 84 unidades Na+ 84 unidades Cl-	31647 81 unidades K+ 81 unidades Cl-

En el siguiente gráfico se describe un flujograma de los pasos seguidos para la simulación de la permeabilidad osmótica.

Un esquema de los pasos seguidos durante el este trabajo de simulación se presenta en el gráfico 6.

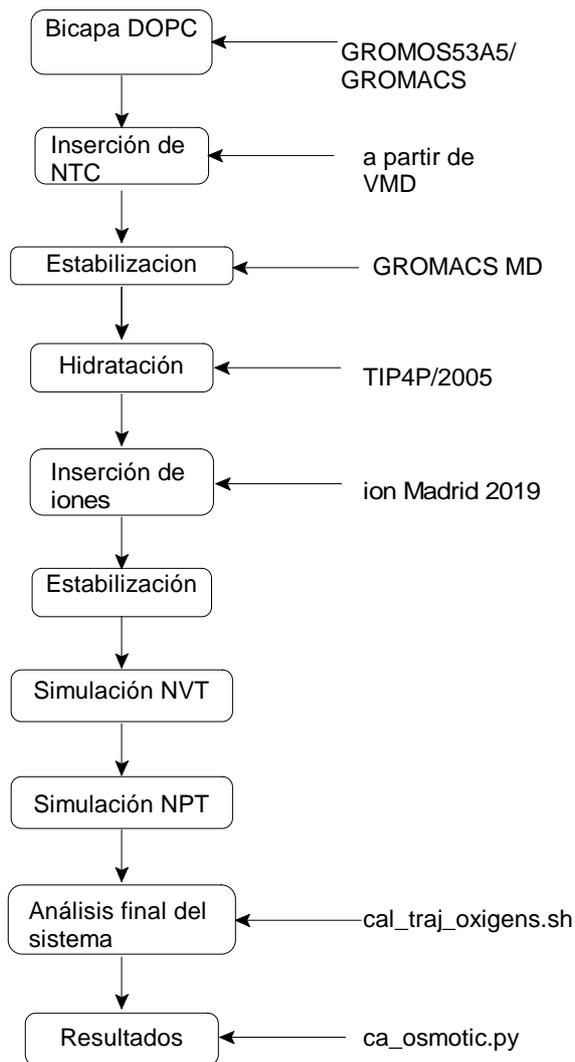


Gráfico 6: Esquema de procedimientos seguidos para obtener los resultados de la simulación

3.3 Parámetros de simulación

La región 4 tiene una solución 145 milimolar de NaCl, similar a la concentración fisiológica de sales, esta cámara está conectada a otras dos a través del nanotubo de carbono.

Las unidades de NaCl, N_{NaCl} , en la caja de simulación se determinan a partir de la molalidad:

$$N_{NaCl} = 31647 \text{ moléc. } H_2O \cdot \frac{1 \text{ mol } H_2O}{6,022 \times 10^{23} \text{ moléc. } H_2O} \cdot \frac{18,01 \text{ g}}{1 \text{ mol } H_2O} \cdot \frac{1 \text{ kg}}{10^3 \text{ g}} \cdot \frac{0,147 \text{ mol NaCl}}{1 \text{ kg}} \cdot \frac{6,022 \times 10^{23} \text{ unidades NaCl}}{1 \text{ mol NaCl}} = 84$$

Se considera la molalidad como unidad de concentración porque la unidad de volumen no se determinaría con exactitud en las secciones de simulación razón por la cual no se usa la molaridad, que es necesaria para determinar la presión osmótica con exactitud.

Esta molalidad varía como consecuencia del paso de las moléculas de agua desde la cámara que tiene agua pura hacia la cámara con la solución de NaCl a través del nanotubo de carbono.

Para la simulación NVT se utiliza una simulación corta de 2ns a la temperatura de 298K elegida porque la simulación trata de recrear las condiciones ambientales.

Esta simulación previa es corta y se aplican un paso de tiempo de 2 fs y un tiempo de relajación del termostato de 1ps.

Para la simulación se utilizó el baróstato Parrinelo – Rahman con una presión de referencia de 1 bar y un paso de tiempo de 4fs y un tiempo de relajación del termostato τ de 2,3 ps.

La temperatura del nanotubo es 0 K, sin embargo, el resto del sistema tiene una temperatura tal que el promedio de todo el sistema alcanza 298K.

Se utiliza el termostato “velocity rescaling” con el tiempo de relajación de 0,1ps.

3.4 Análisis de la permeabilidad osmótica

Para el cálculo de las moléculas de agua que atraviesan este canal se consideró el centro de masa del nanotubo como un punto de referencia sobre el cual se realiza el conteo de moléculas de agua que pasan, de una cámara a la otra.

El sentido del movimiento de las moléculas de agua se hace con respecto al eje z de la membrana tal como se esquemática en el gráfico 7:

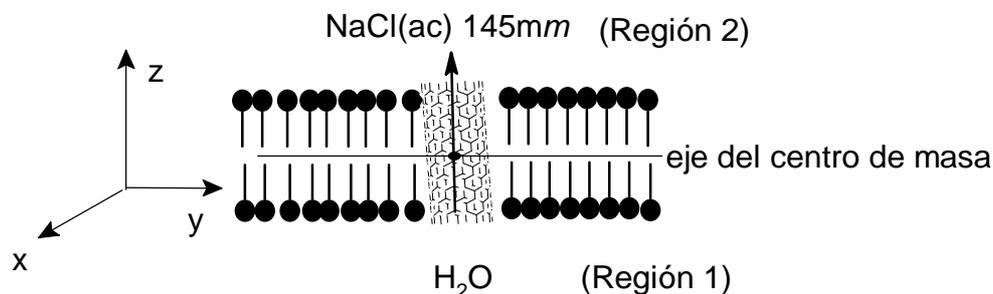


Gráfico 7: Esquema del centro de masa del sistema en la parte central el nanotubo de carbono, las moléculas de DOPC se representan con la partícula \bullet . Se señala la dirección de movimiento de las moléculas de agua en la ósmosis

Este conteo se realiza después de la etapa de simulación NPT del sistema. Con este fin se utiliza el programa `cal_traj_oxygens.sh` y los resultados se grafican utilizando el programa `cal_osmotic.py` ambos programas escritos por el Dr Miguel Angel Gonzales.

El conteo de las moléculas se realiza mediante el análisis de las posiciones de las moléculas de agua del sistema con el programa `cal_traj_oxygens.sh`

El número de moléculas de agua de la en la región 1 es 31809 que es mayor al número de moléculas de agua de la región 2.

Durante la simulación del sistema el número de moléculas de agua de la región 1 disminuye en la misma media que las moléculas en la región 2 aumenta.

El programa evalúa las posiciones de las moléculas de agua en la dirección del eje z de la caja de simulación, cada vez que las moléculas pasan a través del eje del centro de masa de la caja de simulación se registra y almacena en un fichero.

El conteo de moléculas de agua se realiza con el fin de llevar control del número de moléculas de agua en la cámara de la solución salina y poder realizar el cálculo de la nueva concentración debido a la permeabilidad de la membrana.

3.4.1 Simulación de la permeabilidad osmótica con NaCl

En el gráfico 8 observamos que el número de moléculas de agua en la cámara de agua pura disminuye mientras que el número de moléculas de agua en la cámara de la solución de NaCl aumenta.

Esto demuestra que se está produciendo la osmosis en el sistema y también que el canal de nanotubo de carbono es selectivo y no permite el paso de iones principalmente por el carácter apolar que tiene el canal de 1,49nm.

La variación de moléculas de agua se puede observar hacia los 150ns a partir del cual la cantidad de moléculas en ambas cámaras parece más o menos constante. También se analizó la molalidad que se presenta en el siguiente gráfico el número de moléculas de agua que pasan de una cámara, N_{H_2O} para la otra se puede estimar a partir de la molalidad final promedio a partir del gráfico 8:

$$N_{H_2O} = 84 \text{unid NaCl} \frac{1 \text{mol NaCl}}{6,022 \times 10^{23}} \frac{1 \text{kg H}_2\text{O}}{0,14739 \text{mol NaCl}} \frac{10^3 \text{g}}{1 \text{kg}} \frac{1 \text{mol H}_2\text{O}}{18,01 \text{g}} \frac{6,022 \times 10^{23}}{1 \text{mol}} = 31644 \text{moléc H}_2\text{O}$$

$$N_{H_2O} = 31647 - 31644 = 3 \text{ moléculas H}_2\text{O}$$

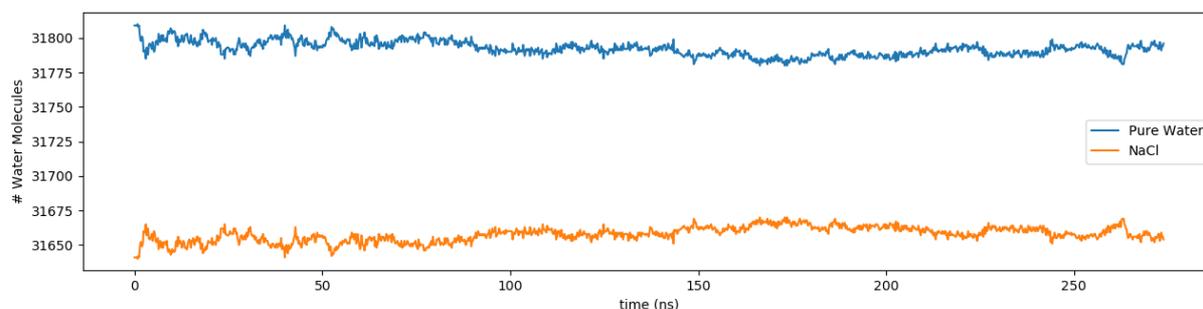


Gráfico 8: Migración de las moléculas de agua desde la región 1 (azul) hacia la región 2 (naranja) en la caja de simulación en los 300 ns de simulación.

En el gráfico 9 se muestra la variación de la molalidad en el tiempo, la línea anaranjada muestra la concentración inicial y la línea azul muestra la molalidad para cada tiempo. Se observa que la molalidad varía desde el primer instante. La fluctuación se puede atribuir a la vibración de la membrana que puede hacer que el número de moléculas de agua que transitan a través de ella varíe. En promedio la molalidad disminuye marcadamente y tiende a estabilizarse a una molalidad 0,14739m que se señala con la línea verde en el gráfico 9.

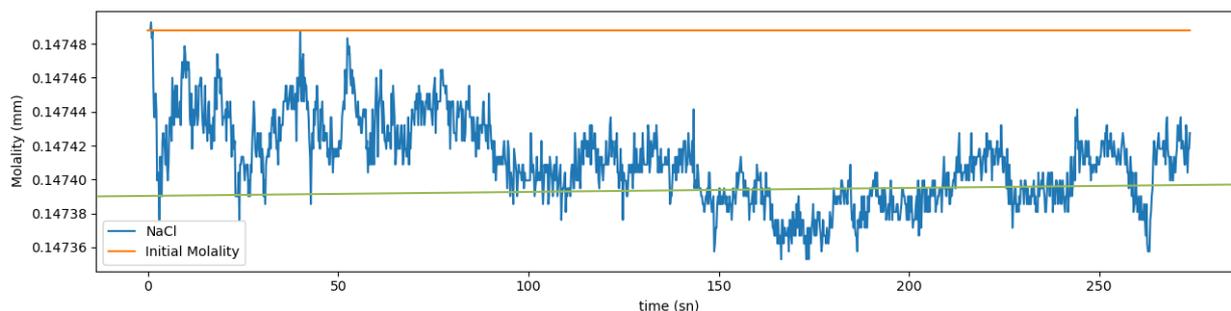


Gráfico 9: Variación de la molalidad del NaCl desde 0.14750m hasta 0,14739m.

Si consideramos que 3 moléculas de agua pasar a través del canal en 150ns en número de moléculas por segundo será 2×10^7 . Si tenemos en cuenta que el volumen de una molécula de agua es de $2.989 \times 10^{-23} \text{cm}^3$ ²⁹, podemos llegar rápidamente a l valor permeabilidad osmótica de $5.978 \times 10^{-16} \text{cm}^3/\text{s}$. Este dato comparado con valores de otros canales como las acuaporinas, que presentan una permeabilidad osmótica más alta $1.29 \times 10^{-12} \text{cm}^3/\text{s}$ ³⁰, demuestra que los canales biológicos son más eficientes en el medio celular que los canales artificiales.

3.4.2 Simulación de la permeabilidad osmótica con KCl.

El número de iones necesarios para la obtener la concentración fisiológica de KCl es 81 para cada especie iónica. Para este caso se realizó la misma simulación que en el caso del NaCl pero el tiempo de simulación fue más corto debido a que la simulación aun esta en curso.

En la figura 10 (a) se muestra la variación disminución del número de moléculas en la cámara de agua pura en azul y el incremento de número de moléculas de agua en anaranjado corresponde a la cámara de la solución de KCl.

Se puede observar que hay paso de moléculas de agua de la cámara de agua a la cámara de la solución salina.

En la figura 10 (b) se observa la variación de la molalidad de la solución la línea en anaranjado muestra la concentración inicial y la línea en azul la variación de la molalidad en el tiempo en los primeros 20ns. Se observa que el número de moléculas de agua baja rápidamente en los primeros 10 ns y se estabiliza a una molalidad promedio de 0,145075m. El número de moléculas de agua que pasan por el canal en estos 10 ns es 28 y la velocidad será de $2,8 \times 10^9$ moléculas por segundo.

Aplicando la misma ecuación que se utilizó en el sistema anterior podemos calcular la permeabilidad osmótica de $8.37 \times 10^{-14} \text{cm}^3/\text{s}$, valor que sigue siendo menor que el generado por un canal biológico como la acuaporina 3, AQP3.²¹

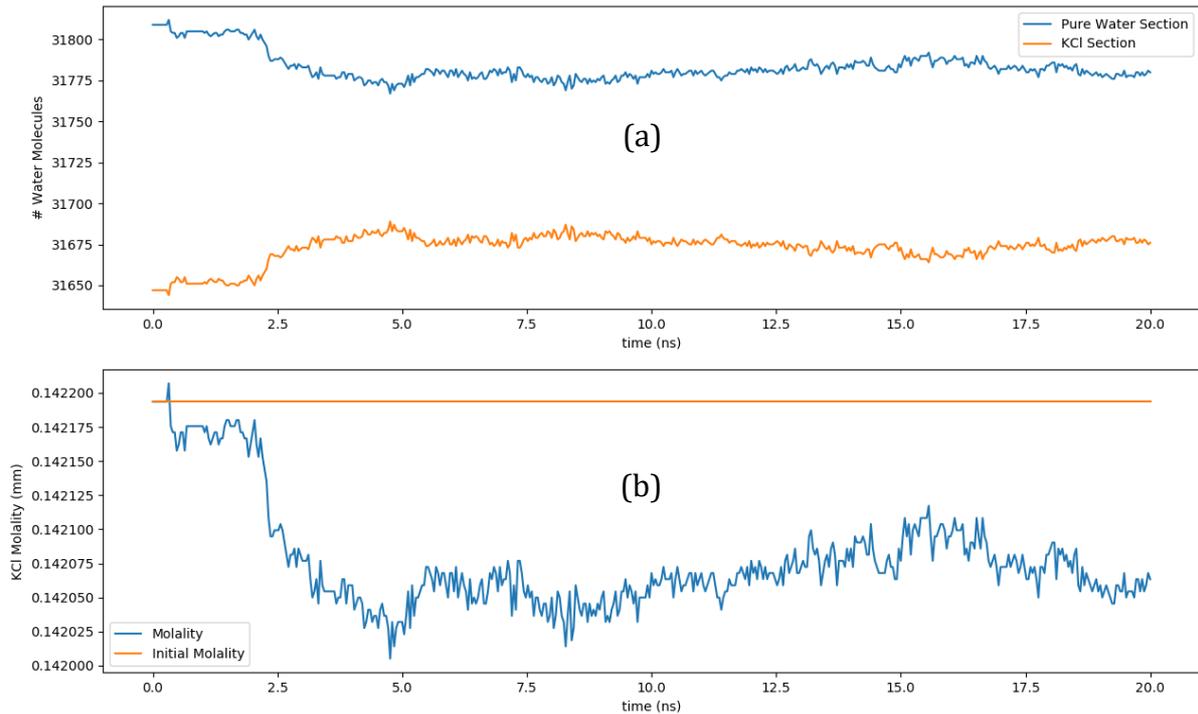


Gráfico 10: Resultado de la simulación de la permeabilidad con KCl. (a) conteo de moléculas de agua en la cámara de agua pura (azul) y en la solución (anaranjado). (b) molalidad inicial (anaranjado) variación de la molalidad a lo largo del tiempo (azul).

El potencial de interacción entre las moléculas de agua y el nanotubo de carbono no es el mismo que el potencial presentado frente a las acuaporinas que son proteínas de membrana específicas para el paso de agua.

Los nanotubos de carbono tienen carácter apolar prácticamente no tendrían interacciones con las moléculas de agua lo cual debería promover el paso de las moléculas de agua “sin fricción”³¹. Aun así, de acuerdo a nuestros resultados la permeabilidad en el nanotubo de carbono es menor lo cual hace pensar que las proteínas de acuaporina que son más polares tienen un mecanismo distinto para el paso del agua a través de sus canales. Como se han reportado por P. Agre³², el dipolo de la molécula de agua se reorienta por la proteína durante su paso a través del canal lo cual favorece el paso rápido del agua evitando la formación de puentes de hidrógeno entre moléculas de agua.

Las fuerzas de atracción entre moléculas de agua sería la causa por la cual las moléculas fluyen de manera más lenta dando una menor permeabilidad en el nanotubo de la membrana frente a la permeabilidad reportada para la acuaporina.

4. CONCLUSIONES

Se preparó un sistema estable para la simulación del fenómeno osmótico y que permite el análisis de la migración de las moléculas a través de un canal de nanotubo de carbono insertado en una bicapa lipídica de DOPC.

Los resultados de la simulación en el entorno NPT utilizando el paquete GROMACS para las soluciones en ambas sales indica que el agua se mueve a través del canal mas no los iones eso da origen a una disminución de la molalidad en la cámara de solución salina.

Para ambos sistemas estudiados, NaCl y KCl se observó que la molalidad de las sales desciende con el tiempo debido al incremento de moléculas de agua en la cámara salina.

La permeabilidad del KCl igual a $8.37 \times 10^{-14} \text{cm}^3/\text{s}$ es mayor a lo observado para el NaCl pero menor a la permeabilidad que se observa para las proteína de membrana acuaporina

Referencias.

- ¹ Zhu F, Tajkorsheid E., Schulten K. (2004) "Collective diffusion model permeation through microscopic channels". *PRL* 93, 224501
- ² Venable R.M. Krämer A. Pastor R. (2019) "Molecular dynamics simulations of membrane permeability". *Chem Rev*, 119, 5954 – 5997.
- ³ K. Murata, K. Mitsuoka, T. Hirai, T. Walz, P. Agre, J. B. Heymann, A. Engel, Y. Fujiyoshi (2000) "Structural determinants of water permeation through aquaporin". *Nature* 407, 599–605
- ⁴ P W Kuchel. (2006) "The story of the discovery of aquaporins: convergent evolution of ideas--but who got there first?" *Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-grand)*. 52 (7): 2–5.
- ⁵ D.T. Haynie (2008) "Biological Thermodynamics". Second edition. Cambridge University Press. New York
- ⁶ L.Song, C.Yao, X.Jin, J.Shen, C.Shi, Y.Xie (2018) "Study of the effect of osmotic pressure on the water permeability of carbon based two dimensional material". *Computational Material Science*. 150, 9 – 14.
- ⁷ T. L. Hill (1960) "An Introduction to Statistical Thermodynamics". Dover Publication inc. New York.
- ⁸ J. M. Mollerup, M. P. Breil (2009) "On the thermodynamics of McMillan – Mayer state function". *Fluid Phase Equilibria*. 276. 18 – 23.
- ⁹ E.M. Curtis, C. K. Hall (2013) "Molecular Dynamics Simulations of DPPC Bilayers Using "LIME," a New Coarse-grained Model". *J Phys Chem B.2*; 117(17) 5019–5030
- ¹⁰ Y.Chen, M.Duvail, P.Guilbaud, J.F. Dufrière. (2017) "Stability of reverse micelles in rare-earth separation: a chemical model based in a molecular approach". *Phys, chem. chem. phys.* 19, 7094 – 7100.
- ¹¹ IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). Online version (2019-) created by S. J. Chalk. ISBN 0-9678550-9-8. <https://doi.org/10.1351/goldbook>.
- ¹² H. Bekker, H.J.C. Berendsen, E.J. Dijkstra, S. Achterop, R. van Drunen, D. van der Spoel, A. Sijbers, and H. Keegstra et al., (1993) "Gromacs: A parallel computer for molecular dynamics simulations"; pp. 252–256 in *Physics computing 92*. Edited by R.A. de Groot and J. Nadrchal. World Scientific, Singapore
- ¹³ S. Plimpton, (1995) "Fast Parallel Algorithms for Short-Range Molecular Dynamics", *J Comp Phys*, 117, 1-19
- ¹⁴ M.P. Allen, D.J. Tildsley (1987) "Computer simulation of liquids". Oxford University Press. New York
- ¹⁵ L. Verlet. (1967). "Computer "Experiments" on Classical Fluids. I. Thermodynamical Properties of Lennard–Jones Molecules". *Physical Review*. 159 (1): 98–103.
- ¹⁶ Daan Frenkel, B. Smit (2001) "Understanding Molecular Simulation", California, Academic Press.
- ¹⁷ W. L. Jorgensen, D. S. Maxwell, and J. Tirado-Rives (1996) "Development and testing of the opls all-atom force field on conformational energetics and properties of organic liquids" *Journal of the American Chemical Society*. 118, 45, 11225–11236.
- ¹⁸ Rapaport, D. (2004). "The Art of Molecular Dynamics Simulation". Cambridge: Cambridge University Press.
- ¹⁹ <http://www.gromos.net/>

-
- ²⁰ I. Marzuoli, C. Margreitter, F. Fraternali (2019) "Lipid Head Group Parameterization for GROMOS 54A8: A Consistent Approach with Protein Force Field Description". *J. Chem. Theory Comput.* 15, 5175–5193
- ²¹ C. Oostenbrink, A. Villa, A. E. Mark, W. F. Van Gunsteren. (2004) "A Biomolecular Force Field Based on the Free Enthalpy of Hydration and Solvation: The GROMOS Force-Field Parameter Sets 53A5 and 53A6". *Journal of Computational Chemistry* 25, 13. 1656 - 1676
- ²² C. I. Lynch, S. Rao, M.S.P. Sansom (2020) "Water in Nanopores and Biological Channels: A Molecular Simulation Perspective". *Chem. Rev* 120. 10298 10333
- ²³ http://www.sklogwiki.org/SklogWiki/index.php/TIP4P_model_of_water
- ²⁴ J. L. Abascal and C. Vega. (2005) "A general purpose model for the condensed phases of water: Tip4p/2005," *The Journal of chemical physics.* 123, 23, 234505.
- ²⁵ I. M. Zeron, J. L. F. Abascal, C. Vega (2019) "A force field of Li⁺, Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, Cl⁻, and SO₄²⁻ in aqueous solution based on the TIP4P/2005 water model and scaled charges for the ions". *J. Chem. Phys.* 151, 134504
- ²⁶ G. Bussi, D. Donadio, and M. Parrinello, (2007) "Canonical sampling through velocity rescaling," *The Journal of chemical physics*, 126, 1, 014101.
- ²⁷ M. Parrinello, A. Rahman. (1981) "Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method," *Journal of Applied physics*, 52, 12, 7182–7190.
- ²⁸ J. A. Hernandez Escobar (2019) "La influencia de la longitud de los canales artificiales transmembrana basados en nanotubos de carbono". Trabajo de Fin de Master, Universidad Internacional de Andalucía.
- ²⁹ F. Zhu, E. Tajkhorshid, K. Schulten. (2004) "Theory and Simulation of Water Permeation in Aquaporin-1." *Biophysical Journal*, 86, 1, 50–57.
- ³⁰ R. Rodriguez, H. Liang, L. Chen, G. Plasencia-Villa, G. Perry. (2020) "Single-Channel Permeability and Glycerol Affinity of Human Aquaglyceroporin AQP3" *Biochemistry, Biophysics Acta Biomembranes.* 1861, 4, 768-775.
- ³¹ M. Thomas, B. Corry, T.A. Hilder (2014) "What have we learn about the mechanism of rapid water transport, Ion rejection and selectivity in nanopores from molecular simulation" *Small*, 10, 8, 1453 – 1465
- ³² P. Agre, D. Kozono (2003) "Aquaporin water channels: molecular mechanisms for human diseases" *FEBS.* 555,72 – 78.