



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Física

*Polimerosomas aptos para transporte de drogas:
diseño y caracterización empleando técnicas
computacionales*

Tesis presentada para optar al título de
Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área Ciencias Físicas

por *Lic. Damián A. Grillo*

Directores de tesis: Dra. Marta B. Ferraro

Dr. Esteban E. Mocskos

Consejero de estudios: Dr. Roberto C. Bochicchio

Lugar de trabajo: Departamento de Física, FCEyN, UBA

Buenos Aires, Mayo 2019

Polimerosomas aptos para transporte de drogas: diseño y caracterización empleando técnicas computacionales

Resumen

Los polimerosomas son vesículas artificiales hechas de copolímeros en bloque anfífilos que, en presencia de agua, se autoensamblan en una estructura de bicapa. Estos sistemas son de especial interés puesto que presentan propiedades particulares que los convierten en candidatos prometedores como nanotransportadores para administración controlada de drogas. Tienen la capacidad de encapsular tanto compuestos hidrofílicos en sus interiores acuosos, como compuestos hidrofóbicos dentro de sus membranas. También exhiben alta estabilidad, y su versatilidad química permite el ajuste fino de sus propiedades, tales como el espesor de membrana, elasticidad, permeabilidad, etc. Las características intrínsecas de los polimerosomas están estrechamente relacionadas con las propiedades estructurales y mecánicas de sus membranas y con la naturaleza de los copolímeros elegidos. Debido a esto, un estudio detallado de estas membranas podría ofrecer información relevante para una mayor comprensión de las propiedades del polimerosoma completo.

El objetivo de este trabajo es el desarrollo y aplicación de técnicas computacionales para facilitar el diseño y caracterización de nuevos polimerosomas aptos para administración controlada de drogas. Como primer paso, presentamos un nuevo modelo para polimerosomas, desarrollado mediante un modelo de bicapa basada en los copolímeros dibloque óxido de polietileno y polibutadieno (PEO-PBD). El modelo propuesto está basado en una aproximación de grano grueso dentro del campo de fuerza MARTINI. El modelo fue refinado y validado usando cálculos de Mecánica Cuántica, simulaciones de Dinámica Molecular y datos experimentales reportados en la literatura. Mostramos que el modelo de grano grueso para el copolímero es capaz de formar bicapas autoensambladas y reproducir propiedades estructurales y mecánicas experimentales clave.

Luego, hemos estudiado la encapsulación del anestésico local prilocaína (PLC), tanto neutro como protonado, en bicapas de copolímeros PEO-PBD a través de simulaciones de Dinámica Molecular. Usando el modelo previo validado para la membrana PEO-PBD, hemos simulado bicapas cargadas a diferentes concentraciones de droga y a niveles de pH bajos (PLC protonada) y pH alto (PLC neutra). Hemos caracterizado parámetros

estructurales clave de las bicapas cargadas para entender el efecto de la encapsulación de PLC en la estructura de la membrana. Se calcularon los perfiles de presión tangencial de los sistemas estudiados para lograr una mayor comprensión de su comportamiento mecánico con la carga de droga. En todos los casos se observó que la carga de la droga no disminuyó significativamente la estabilidad de la membrana, indicando que estos sistemas podrían ser aptos para usarse como sistemas de administración de drogas.

Finalmente, hemos estudiado polimerosomas cargados con PLC y calculado los perfiles de presión radial. También hemos estudiado bicapas cargadas con PLC a similares concentraciones de droga para entender las diferencias entre ambos modelos. Usando los datos de los perfiles de presiones, pudimos acceder a las propiedades de curvatura elástica de cada sistema y obtener una comprensión mayor sobre sus propiedades mecánicas con el nivel de carga, lo que representa una información valiosa a la hora de diseñar y caracterizar polimerosomas.

Palabras clave: Copolímeros en bloque, Polimerosomas, Administración de drogas, Dinámica Molecular, MARTINI, Perfiles de presión.

Polymersomes for drug delivery: design and characterization using computational techniques

Abstract

Polymersomes are artificial vesicles composed of amphiphilic block copolymers, that in the presence of water self-assemble in a bilayer structure. These systems are of special interest provided that they present particular properties that make them promising candidates as nanocarriers for drug delivery. They are capable to encapsulate both hydrophobic compounds into their aqueous cores and hydrophilic compounds within their membranes. They also exhibit high stability, and their chemical versatility allows the fine tuning of their properties, such as membrane thickness, elasticity, permeability, etc. The intrinsic characteristics of polymersomes are closely related to the structural and mechanical properties of their membranes and thus on the nature of the chosen copolymers. Because of that, a detailed study of those membranes could provide relevant information for a better knowledge of the whole polymersome properties.

The aim of this work is the development and application of computational techniques to facilitate the design and characterization of novel polymersomes as drug delivery systems. As first step, we present a new model for polymersomes developed using a bilayer model, based on poly(ethyl-ene oxide)-poly(butadiene) (PEO-PBD) diblock copolymer. The proposed model is based on a coarse-grained approach within the MARTINI force field. The model has been refined and validated using Quantum Mechanical calculations, Molecular Dynamics simulations and experimental data reported in the literature. We show that the copolymer coarse-grained model is able to form self-assembled bilayers and reproduce key structural and mechanical experimental properties.

Then, we have studied the encapsulation of the local anesthetic prilocaine (PLC), both neutral and protonated, on PEO-PBD copolymer bilayers through Molecular Dynamics simulations. Using the previously validated model for PEO-PBD membrane, we have simulated loaded bilayers at different drug concentrations and at low (protonated PLC) and high (neutral PLC) pH levels. We have characterized key structural parameters of the loaded bilayers in order to understand the effects of encapsulation of PLC on the membrane structure. The tangential pressure profiles of the studied systems were calculated in order to gain insights on their mechanical behavior upon PLC loading. In all cases, it has been observed that the drug loading does not significantly decrease the

stability of the membrane, indicating that these systems could be used as drug delivery systems.

Finally, we have studied PLC-loaded polymersomes and calculated the radial pressure profiles. We have also studied PLC-loaded bilayers at similar drug concentrations in order to understand the differences between the two models. Using the pressure profiles data, we could access to the curvature elastic properties of each system and get insights into their mechanical properties upon loading, which represents a valuable information to design and characterize polymersomes.

Keywords: Copolymer bilayers, Polymersomes, Drug Delivery, Molecular Dynamics, MARTINI, Pressure profiles.

Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer a mis directores Marta y Esteban, fue un placer trabajar al lado de ellos. Siempre me hicieron sentir muy cómodo, me apoyaron en cada idea y me dieron la libertad para proponer y trabajar a gusto. Pero también me aconsejaron y me orientaron durante gran parte del camino, lo cual valoro muchísimo. Ambos fueron muy importantes para que este proyecto llegue a buen puerto. Por eso, muchas gracias a ellos.

En segundo lugar, y no menos importante que el primero, quiero agradecer especialmente a Mónica. Su participación en este proyecto fue fundamental gracias a su experiencia y su conocimiento, siempre aportando grandes ideas y clarificando el panorama. Pero sobre todo valoro su esfuerzo y su dedicación, ya que en muchas ocasiones ha colaborado y trabajado duramente en este proyecto como si fuera propio, y eso es realmente destacable. Creo que su aporte ha enriquecido mucho a este trabajo, por lo cual le voy a estar infinitamente agradecido.

También quiero agradecer a Juan, un gran compañero, pero sobre todo una gran persona. Gracias por todos los momentos compartidos, las charlas en la oficina, los intercambio de ideas, pero sobre todo por su esfuerzo y su colaboración.

A Julio Facelli, él también fue parte importante de este proyecto. Agradezco enormemente su invitación para trabajar con su grupo en la Universidad de Utah. Para mí fue una experiencia muy valiosa, que me permitió un gran crecimiento en lo laboral, pero sobre todo en lo personal.

Y no me quiero olvidar de David Jones, su apoyo y su compañía durante mi estadía en Utah han sido de mucho valor para mí.

En otro orden de cosas, agradecer a Facu, Javi y Ari, mis amigos de la facu, que ya no son más de la facu pero siguen siendo amigos de la vida. Ahora cada uno con su propio rumbo, pero nunca falta la oportunidad para reunirse y compartir un momento. Por supuesto, siempre con comida de por medio.

A mis amigos de la vida, Mario, Fer, Leo, Leíto y Vani, cada uno a su modo y a sus tiempos, pero siempre presentes para compartir buenos y malos momentos, son un gran apoyo en la vida.

A mis amigos del padel Paradiso, con quienes he compartido muchos partidos, pero también muchos asados y reuniones durante tantos años. Y también a mis amigos del padel Belgrano, un grupo más nuevo pero igualmente entrañable, que me han recibido con los brazos abiertos desde el primer día que llegué al grupo.

A Melisa, gracias por el cariño, la compañía y el apoyo en todo este tiempo, por ser parte de mi vida y alegrar mis días.

Y por último quiero agradecer a mi familia. A mi hermana que siempre se preocupa por mí y a mi sobrino Benjamín que me llena de alegría. Pero en especial a mis viejos, que siempre me brindaron todo lo que estuvo a su alcance, y que siempre me apoyaron en todas las decisiones que fui tomando en la vida. Me enseñaron lo que es la honestidad, el respeto y el esfuerzo, principios para mí fundamentales en la vida. En gran medida soy la persona que soy gracias a ellos, y por eso, parte de este logro también se lo debo a ellos.

Índice general

1	Introducción	1
1.1	Nanomedicina	1
1.2	Administración controlada de drogas	2
1.3	Nanotransportadores poliméricos	3
1.4	Copolímeros anfifílicos en bloque	4
1.5	Polimerosomas	6
1.5.1	Características básicas y antecedentes	6
1.5.2	Diseño y caracterización mediante simulaciones	7
2	Metodología	9
2.1	Dinámica Molecular	9
2.1.1	Fundamentos básicos	9
2.1.2	Integración de las ecuaciones de movimiento	12
2.1.3	Potenciales de interacción	14
2.1.4	Condiciones periódicas de contorno	17
2.1.5	Simulaciones a temperatura constante	18
2.1.6	Simulaciones a presión constante	20
2.1.7	Simulaciones a tensión superficial constante	22
2.1.8	Simulaciones con condiciones de vínculo	23
2.1.9	Algoritmo de actualización	25
2.2	Modelos de grano grueso	26
2.2.1	Marco teórico	26
2.2.2	Importancia de los modelos de grano grueso	28
2.2.3	El modelo MARTINI	28
2.3	Simulaciones	31
2.3.1	El paquete GROMACS	31
2.3.2	Descripción de compuestos y modelos	32

2.3.3	Descripción de sistemas	34
2.3.4	Minimización de energía	35
2.3.5	Etapas de una simulación	35
2.4	Propiedades físicas y herramientas de análisis	36
2.4.1	Energía, temperatura y presión	36
2.4.2	Perfiles de densidad de masa	37
2.4.3	Perfiles de presión	39
2.4.4	Energía elástica de membranas: Modelo de Helfrich	40
3	Cálculo de perfiles de presión	43
3.1	Definición microscópica de la presión	43
3.2	Presión configuracional para potenciales de m -cuerpos	44
3.3	Presión configuracional en sistemas de geometría plana	47
3.4	Presión configuracional en sistemas de geometría esférica	51
3.5	Presión cinética	58
3.6	Contribución de los vínculos	60
3.7	Presión por partícula y por grupo	61
3.8	Tratamiento bajo condiciones periódicas de contorno	63
4	Implementaciones computacionales	67
4.1	Construcción de sistemas	67
4.2	Protocolo de simulación	70
4.3	Cálculo de perfiles de presión en GROMACS	72
4.3.1	Arquitectura general del programa	72
4.3.2	Estructuras de datos y funciones desarrolladas	75
4.3.3	Cálculo paralelizado de perfiles de presión	78
4.3.4	Implementaciones en GROMACS	81
5	Desarrollo del modelo de grano grueso para el copolímero	85
5.1	Introducción	85
5.2	Parametrización del modelo	85
5.3	Detalles de las simulaciones	88
5.4	Cálculo de propiedades	90
5.5	Resultados	90
5.5.1	Refinamiento de parámetros de no-uni3n	90
5.5.2	Refinamiento de parámetros de uni3n	91
5.5.3	Autoensamblado	94

5.5.4	Propiedades estructurales	95
5.5.5	Propiedades mecánicas	97
5.6	Conclusiones	99
6	Bicapas poliméricas cargadas con fármaco	101
6.1	Introducción	101
6.2	Detalles de las simulaciones	101
6.3	Cálculo de propiedades	104
6.4	Resultados	106
6.4.1	Bicapas cargadas con prilocaína neutra	106
6.4.2	Bicapas cargadas con prilocaína protonada	113
6.5	Conclusiones	120
7	Bicapas y polimerosomas cargados con fármaco	123
7.1	Introducción	123
7.2	Detalles de las simulaciones	124
7.3	Cálculo de propiedades	126
7.3.1	Análisis estructural	126
7.3.2	Análisis mecánico	127
7.4	Resultados	128
7.4.1	Propiedades estructurales	128
7.4.2	Perfiles de densidad y presión	129
7.4.3	Propiedades elásticas	134
7.5	Conclusiones	138
	Conclusiones generales y perspectivas	141
A	Cálculo del módulo de curvatura media	145
A.1	Bicapas planas	145
A.2	Vesículas esféricas	149
B	Desarrollos auxiliares para el cálculo de perfiles de presión	155
B.1	Expresión para el tensor de presión microscópico	155
B.2	Integración de contornos en sistemas de geometría plana	157
B.3	Expresión para la presión tangencial en coordenadas esféricas	161
B.4	Integración de contornos en sistemas de geometría esférica	162
B.5	Otras expresiones útiles	165

C Método de centrado para sistemas de geometría esférica	167
Bibliografía	173

Capítulo 1

Introducción

1.1 Nanomedicina

La nanomedicina es la disciplina que estudia la aplicación de la nanotecnología a la salud y la medicina [1–8]. Constituye un campo interdisciplinario relativamente nuevo, en donde la nanociencia, nanoingeniería y nanotecnología interactúan con las ciencias de la salud. El objetivo de la nanomedicina es el desarrollo de mejores dispositivos, drogas y otras aplicaciones para diagnósticos tempranos o tratamientos de una amplia variedad de enfermedades con alta especificidad, eficacia y personalización, mejorando así la calidad de vida de cada paciente [8].

En las últimas décadas, la nanomedicina ha conducido al desarrollo de un amplio rango de productos terapéuticos, agentes para diagnósticos por imágenes y dispositivos médicos, que ya han sido aprobados o que están bajo investigación clínica [9]. Entre los productos desarrollados podemos destacar a las nanopartículas, las cuales constituyen componentes fundamentales dentro del área de la nanomedicina [10, 11]. Actualmente se pueden encontrar en una gran variedad de clases: liposomas [12–14], diferentes nanoestructuras poliméricas [15–17], nanopartículas lipídicas sólidas [18] y nanopartículas metálicas [19, 20] son solo algunos ejemplos.

Una de las aplicaciones principales de las nanopartículas en nanomedicina es la detección y el diagnóstico de enfermedades, por ejemplo como agentes de contraste en diagnósticos por imágenes [8]. En esta dirección, las nanopartículas pueden ser diseñadas para proveer contraste en la zona de interés y brindar información del entorno local luego de ser administradas en el cuerpo humano. Esto permite visualizar en detalle las estructuras de órganos y tejidos y mostrar la concentración de moléculas de interés en estos sitios, lo cual puede ayudar a analizar enfermedades directamente dentro del cuerpo.

Las nanopartículas no solo son importantes en la detección y diagnóstico de las enfermedades, sino también en el tratamiento de las mismas, por ejemplo como vehiculizadores de agentes terapéuticos en terapias específicas [8]. En este punto es donde cobra relevancia la disciplina conocida como *administración controlada de drogas*, cuyas características principales describimos a continuación.

1.2 Administración controlada de drogas

La administración controlada de drogas es la disciplina encargada de los métodos, formulaciones, tecnologías y sistemas para transportar un compuesto farmacéutico dentro del cuerpo con el fin de lograr el efecto terapéutico deseado. En este contexto, las nanopartículas pueden jugar un rol clave como nanotransportadores, ya que pueden encapsular de manera eficiente agentes terapéuticos, de contraste y material biológico, dirigirlos y administrarlos en sitios específicos tales como un órgano, tejido o incluso determinadas células [4]. Por ejemplo, en el caso de terapias oncológicas, las nanopartículas pueden ser de gran utilidad dada su capacidad única para cruzar barreras biológicas, penetrar y acumularse en tumores (hecho que se ve favorecido por su alta vascularidad) y quedar retenidas allí dado el bajo drenaje linfático en el entorno tumoral [21]. Esto se conoce como efecto de permeabilidad y retención mejorada (*enhanced permeation and retention*, EPR) [22] y provee un mecanismo de direccionamiento pasivo del agente terapéutico hacia el tumor (ver Fig. 1.1a). Por otro lado, también es posible funcionalizar a la nanopartícula con un ligando adherido a su superficie, que disponga de una alta

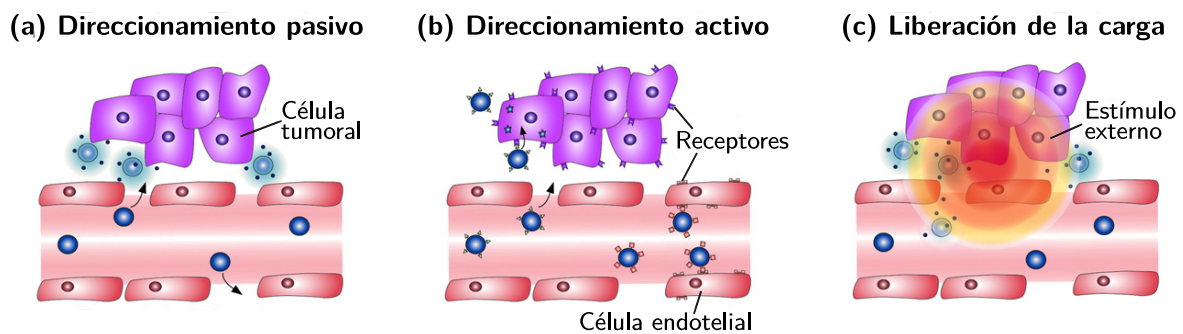


Figura 1.1: Ilustración esquemática de las estrategias utilizadas en administración de drogas. (a) Direccionamiento pasivo de agentes terapéuticos en tumores a través de su vasculatura fenestrada. (b) Direccionamiento activo en células cancerosas y tumores endoteliales usando nanotransportadores funcionalizados con ligandos específicos. (c) Nanotransportadores que liberan su carga encapsulada por la acción de algún estímulo físico, químico o biológico. Adaptado de Wicki et al. [3].

afinidad de acoplamiento a receptores específicos de las células tumorales que se desean tratar [22]. De esta manera, el nanotransportador se acumulará selectivamente en el tejido tumoral gracias al acoplamiento mediado por el ligando, lo que constituye un mecanismo de direccionamiento activo (ver Fig. 1.1b). Una vez alcanzado el objetivo deseado, el agente terapéutico encapsulado puede ser liberado mediante la acción de algún estímulo físico, químico o biológico, como pueden ser cambios de pH o temperatura, o la aplicación de campo magnético o ultrasonido, por citar algunos ejemplos. Esto se puede lograr mediante nanotransportadores hechos de materiales sensibles a estímulos [23], los cuales cambien su estructura o conformación ante la presencia de los mismos y liberen el agente terapéutico en el sitio (ver Fig. 1.1c).

A continuación enumeramos los principales motivos por las cuales es conveniente el uso de nanotransportadores en administración de drogas [3]:

- Pueden ayudar a aumentar la solubilidad de los agentes terapéuticos, y a la vez incrementar su estabilidad química.
- Pueden proteger a los compuestos de la biodegradación y excreción, y así mejorar su perfil farmacocinético.
- Pueden mejorar la distribución y administración del agente terapéutico, ya que pueden ser diseñados para dirigirse específicamente a sitios determinados, cruzar barreras biológicas y aumentar la penetración del compuesto sobre el sitio deseado.
- Pueden ser diseñados para disparar la liberación del compuesto encapsulado mediante estímulos físicos, químicos y biológicos.

1.3 Nanotransportadores poliméricos

En la actualidad existe una gran variedad de plataformas que están siendo investigadas como nanotransportadores para administración de drogas, incluyendo vectores virales, conjugados lípido-droga, nanopartículas inorgánicas, lipídicas y poliméricas [1, 3, 4, 6]. Entre estas variedades, las estructuras basadas en polímeros son de especial interés debido a la gran flexibilidad ofrecida por los métodos de síntesis, la enorme diversidad de polímeros en términos de naturaleza, composición y propiedades, y por su facilidad de funcionalización [24, 25]. La posibilidad de cargarlos con una droga y funcionalizarlos con ligandos, que sean reconocidos por receptores específicos en determinados tipos de células, abre el camino para el direccionamiento activo del agente terapéutico hacia el sitio deseado [25]. Además, la versatilidad y flexibilidad de los polímeros hace que las propiedades de estos sistemas puedan ajustarse mediante modificación química para lograr

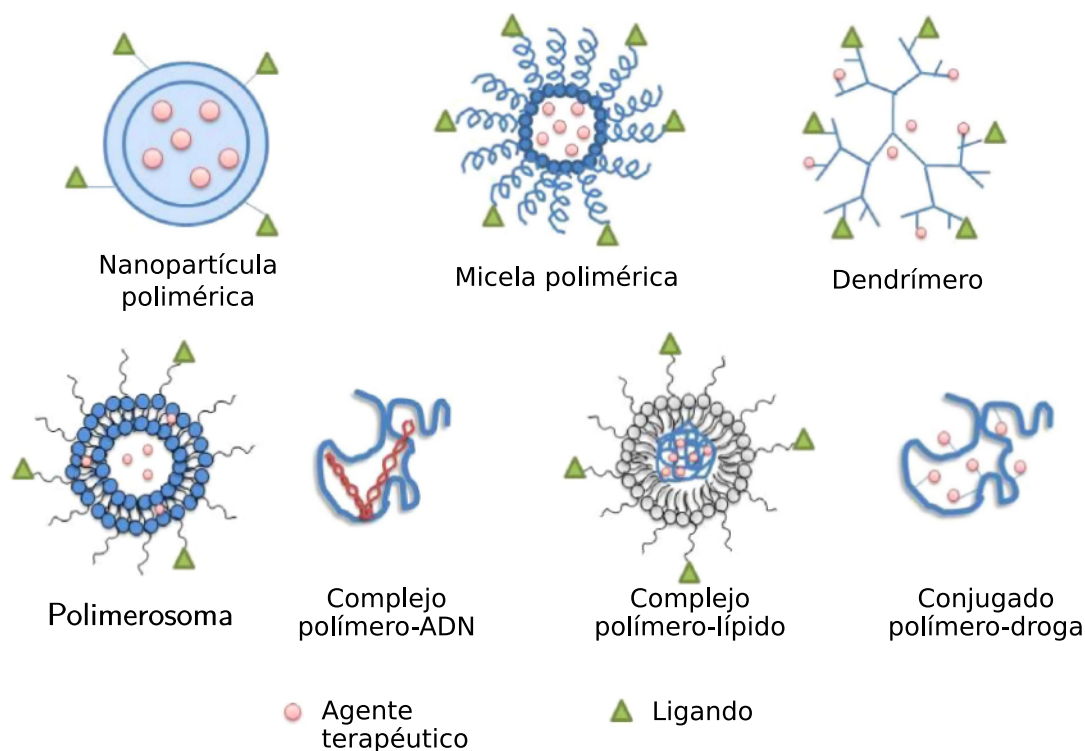


Figura 1.2: Tipos de nanotransportadores poliméricos para administración controlada de drogas. Adaptado de Prabhu et al. [16].

compatibilidad con moléculas biológicas, a la vez que se preservan las características del material, tales como la estabilidad o robustez mecánica [26]. Todas estas propiedades convierten a las nanopartículas poliméricas en una clase de nanotransportadores promisorios para administración de drogas. En la Fig. 1.2 se pueden observar los principales tipos de nanotransportadores poliméricos más utilizados en la actualidad.

1.4 Copolímeros anfífilicos en bloque

Los copolímeros anfífilicos en bloque son polímeros sintéticos cuyas cadenas están formadas por dos bloques de naturalezas diferentes, uno hidrofílico y otro hidrofóbico. En solución acuosa, estos copolímeros se autoensamblan de manera tal de minimizar las interacciones energéticamente desfavorables entre los bloques hidrofóbicos y el agua, lo que conduce a la formación de diversos tipos de estructuras poliméricas [27]. Las diferentes morfologías observadas son el resultado de la curvatura inherente de la molécula y de cómo se organizan localmente las cadenas de copolímeros, características que están

relacionadas con el parámetro de empaquetamiento p , definido como:

$$p = \frac{v}{a_0 l_c} \quad (1.1)$$

donde v es el volumen del bloque hidrofóbico, a_0 el área óptima del grupo hidrofílico y l_c la longitud del bloque hidrofóbico. Una representación esquemática de estos parámetros se visualiza en la Fig 1.3, donde también se observan los diferentes tipos de estructuras que pueden alcanzarse según el valor de p . De esta manera, la morfología resultante está dictada por el parámetro de empaquetamiento p , que a su vez está determinado por la arquitectura del copolímero. Como regla general [27], micelas esféricas son favorecidas cuando $p < 1/3$, micelas cilíndricas cuando $1/3 < p < 1/2$, y polimerosomas cuando $1/2 < p < 1$. Esta última estructura es la que nos interesa abordar particularmente en esta tesis. Describimos sus características principales en la próxima sección.

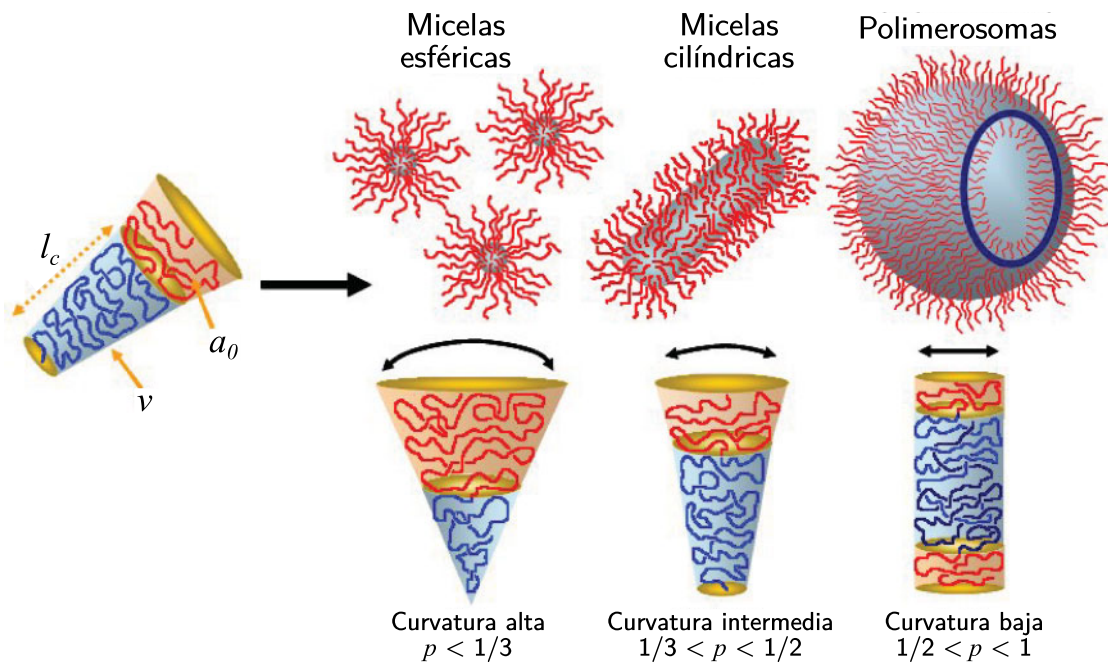


Figura 1.3: Diferentes estructuras formadas a partir del autoensamblado de copolímeros anfifílicos en bloque en solución acuosa. El tipo de morfología obtenida surge como resultado de la curvatura inherente de la molécula, estimada a través del cálculo del parámetro de empaquetamiento $p = v/(a_0 l_c)$. Adaptado de Blanazs et al. [27].

1.5 Polimerosomas

1.5.1 Características básicas y antecedentes

Los polimerosomas son vesículas poliméricas formadas a partir del autoensamblado de copolímeros en bloque [15, 28–31]. La fracción hidrofílica/hidrofóbica de los copolímeros utilizados es un parámetro clave que determina su formación (esta fracción debe ser compatible con la condición $1/2 < p < 1$). En estos sistemas, los bloques hidrofóbicos tienden a asociarse entre sí para minimizar su interacción directa con el agua, mientras que los bloques hidrofílicos se orientan hacia el solvente, formando una bicapa polimérica cerrada sobre sí misma que encierra un interior acuoso aislado del solvente exterior [29]. Estas estructuras reciben el nombre de polimerosomas por su analogía con los liposomas, estructuras vesiculares formadas por lípidos. En la Fig. 1.4 se observa un esquema ilustrativo de un polimerosoma y su comparación contra su análogo lipídico. Ambos tipos

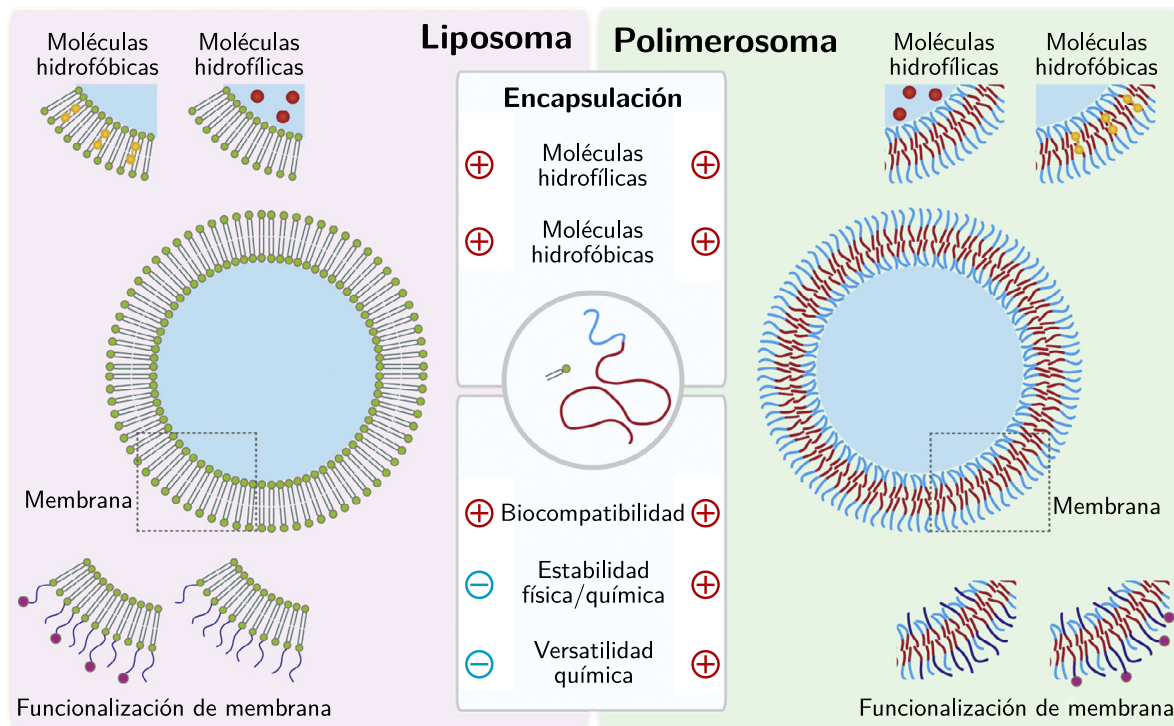


Figura 1.4: Representación esquemática de liposomas (izquierda) y polimerosomas (derecha). Los polimerosomas son estructuras sintéticas análogas a los liposomas, constituidos por una membrana de copolímeros anfifílicos en bloque. Mientras la mayoría de las propiedades son similares para ambos nanotransportadores, los polimerosomas presentan una alta versatilidad, una estabilidad mejorada y menor permeabilidad respecto de los liposomas. Adaptado de Messenger et al. [15].

de sistemas resultan muy atractivos para la encapsulación de agentes terapéuticos porque, a diferencia de la mayoría de las plataformas para administración de drogas, éstos combinan la habilidad única de encapsular tanto compuestos hidrofílicos en su interior acuoso como hidrofóbicos dentro de su membrana. Sin embargo, los polimerosomas presentan mayor versatilidad química y mejor estabilidad química y mecánica que los liposomas [15], así como también menor permeabilidad [32]. Además, pueden ser concebidos para ser invisibles al sistema inmune si se los hace con polímeros biocompatibles, tales como PEG (polietilenglicol) o PEO (óxido de polietileno) [32]. Estas características otorgan a los polimerosomas una ventaja comparativa que los hace deseables para ser usados como vehiculizadores de drogas.

Los primeros polimerosomas reportados fueron construidos a partir de copolímeros en bloque de PEO y PEE (polietileno) en solución acuosa [28]. Más adelante en el tiempo, otros trabajos en el área han conducido a la síntesis de un número de copolímeros en bloque biocompatibles basados en PEO [33, 34]. Entre ellos, los copolímeros que incluyen al bloque altamente hidrofóbico PBD (polibutadieno) resultan de especial interés debido a su alta estabilidad y limitada permeabilidad. En particular, los polimerosomas basados en copolímero PEO-PBD han mostrado tener gran estabilidad y baja permeabilidad [35], lo que los convierte en candidatos muy promisorios para ser usados como nanotransportadores de drogas. Debido a estas características, el copolímero PEO-PBD fue elegido para construir los sistemas estudiados en esta tesis.

1.5.2 Diseño y caracterización mediante simulaciones

Las propiedades físicas, químicas y mecánicas de los polimerosomas están altamente vinculadas con las características de su membrana, que a su vez están fuertemente determinadas por la naturaleza de los copolímeros que la componen. Por ejemplo, se sabe experimentalmente que la permeabilidad de un polimerosoma depende inversamente del espesor de su membrana, y que esta última característica viene determinada por el peso molecular del bloque hidrofóbico del copolímero [30]. De esta manera, comprender las características del copolímero y su impacto en las propiedades de la membrana y el polimerosoma puede ser de gran utilidad en la búsqueda de nuevos polimerosomas con características específicas deseadas.

En esta dirección, las simulaciones computacionales pueden constituir una herramienta muy poderosa para lograr un entendimiento más profundo de estos sistemas y así guiar el diseño racional de estos nanotransportadores [14], permitiendo no solo acelerar los tiempos y disminuir los costos de desarrollo sino también mejorar la búsqueda de candidatos mediante exhaustivas pruebas *in silico*. En particular, las simulaciones de Dinámica

Molecular [36] pueden ser una herramienta adecuada para el estudio de polimerosomas [37]. Sin embargo, los tamaños típicos de estos sistemas van desde decenas de nm hasta el micrón [38], lo que hace prohibitivo su tratamiento atomístico con la capacidad de cómputo actual [39, 40]. Para abordar este inconveniente, se pueden utilizar modelos de grano grueso que provean una simplificación suficiente para poder alcanzar tiempos de cómputo razonables, pero que a la vez retengan suficiente detalle para reproducir correctamente los fenómenos cooperativos que ocurren en la mesoescala [41–44]. Adicionalmente, se puede reducir aún más la complejidad del problema estudiando modelos de membranas, mucho más simplificados y de tamaño significativamente menor al del polimerosoma completo. Estos modelos podrían proveer información relevante sobre las propiedades de la membrana, que como ya hemos mencionado anteriormente, son determinantes en las características globales del polimerosoma.

Capítulo 2

Metodología

2.1 Dinámica Molecular

2.1.1 Fundamentos básicos

Las propiedades fundamentales de la materia se encuentran en su estructura atómica y en el movimiento de sus constituyentes básicos, los electrones y núcleos. En términos rigurosos, la dinámica de un sistema de partículas representa un problema cuántico de muchos cuerpos, cuya solución se obtiene resolviendo las ecuaciones de Schrödinger dependientes del tiempo. En muchos casos, es posible desacoplar la función de onda de los electrones de la función de onda de los núcleos, debido a la gran diferencia de masa entre ellos, lo que se conoce como la *aproximación de Born-Oppenheimer* [45]. Sin embargo, aún considerando dicha aproximación es imposible en la práctica resolver numéricamente la ecuación de Schrödinger y se debe recurrir a otras aproximaciones (Hartree Fock, Teoría del Funcional Densidad, etc). En particular, para sistemas fisicoquímicos y biológicos, que contienen miles a cientos de miles (incluso millones) de átomos, su resolución práctica resulta aún imposible bajo estas condiciones. Estos problemas de enorme complejidad numérica requieren del desarrollo y aplicación de métodos avanzados para abordar su resolución de manera eficiente.

En esa dirección, la Dinámica Molecular (DM) constituye la técnica adecuada para estudiar problemas de muchos cuerpos a nivel atómico. Este enfoque se apoya sobre la hipótesis de la *aproximación clásica*, en la cual los átomos del sistema pueden considerarse como partículas clásicas interactuantes cuya dinámica es gobernada por las leyes de la mecánica clásica. La validez de esta aproximación se evalúa mediante la *longitud de onda*

de de Broglie [46]:

$$\Lambda = \sqrt{\frac{2\pi\hbar^2}{mk_B T}} \quad (2.1)$$

donde \hbar es la constante de Planck, m la masa atómica, k_B la constante de Boltzmann y T la temperatura del sistema. El criterio usual establece que el tratamiento clásico estará justificado cuando se cumpla que $\Lambda \ll a$, donde a representa la distancia interatómica mínima que caracteriza al sistema. En tal caso, todo el sistema puede ser tratado como un modelo de gas diluido y cada átomo puede ser considerado como una partícula. Quedan excluidas del tratamiento clásico las reacciones (formación y ruptura de enlaces) y las vibraciones de enlaces y ángulos con frecuencias muy altas.

El método DM representa una herramienta teórica muy importante en física, química y biología [47–49]. Gracias al creciente poder de cómputo, impulsado por los nuevos avances tecnológicos y el desarrollo de algoritmos más eficientes, la técnica DM permite estudiar sistemas cada vez más grandes y complejos, y procesos cada vez más prolongados [50]. Mediante DM se puede estudiar con detalle atómico y/o molecular el comportamiento dinámico y los procesos que ocurren en muchos tipos de sistemas y estructuras, lo que la convierte en una herramienta muy utilizada en una gran variedad de aplicaciones, tales como el estudio de propiedades fundamentales de la materia, transiciones de fase, líquidos, sólidos, polímeros y biomoléculas [36, 51–53].

La metodología DM está basada en los principios fundamentales de la mecánica clásica y la mecánica estadística [48, 49, 54]. Permite determinar propiedades termodinámicas, estructurales, mecánicas, de transporte y espectroscópicas. Básicamente, la técnica DM consiste en integrar numéricamente las ecuaciones de movimiento de Newton de un conjunto de N partículas interactuantes (que representan a los átomos y/o moléculas del sistema). El conjunto de ecuaciones que describen la dinámica del sistema está dado por

$$m_i \frac{d^2 \mathbf{r}_i}{dt^2} = \mathbf{F}_i \quad (1 \leq i \leq N) \quad (2.2)$$

donde m_i es la masa de la partícula i -ésima, \mathbf{r}_i su posición y \mathbf{F}_i la fuerza que actúa sobre ella. Esta última, a su vez, se deriva de un potencial de interacción $V(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N)$, en la forma

$$\mathbf{F}_i = -\nabla_i V(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N) \quad (2.3)$$

donde el subíndice i indica que el gradiente se toma respecto de las coordenadas de la partícula i . Describimos los métodos de integración para estas ecuaciones y las características del potencial de interacción más adelante. Ahora continuamos con los lineamientos generales del método y su conexión con la mecánica estadística.

Al integrar las ecuaciones de movimiento, lo que obtenemos como resultado son las posiciones y velocidades de las partículas para distintos instantes de tiempo, digamos t_0, t_1, \dots, t_M . En cada instante, estas posiciones y velocidades pueden pensarse como las coordenadas de un único punto en un espacio multidimensional, denominado *espacio de fases*. Para un sistema de N partículas, este espacio tiene $6N$ dimensiones ($3N$ para las posiciones y $3N$ para las velocidades o momentos). El estado microscópico del sistema (*microestado*) está caracterizado instantáneamente a tiempo t por un único punto en el espacio de fases, que denotamos $\mathbf{\Gamma}(t)$. La colección de microestados $\{\mathbf{\Gamma}(t_0), \mathbf{\Gamma}(t_1), \dots, \mathbf{\Gamma}(t_M)\}$ que se obtienen luego de resolver la dinámica constituye la *trayectoria* del sistema.

Por lo general, el estado termodinámico de un sistema de partículas está determinado por unas pocas variables macroscópicas (energía, temperatura, volumen, presión, número de partículas, son algunas de ellas). Sin embargo, a nivel microscópico, existe un extenso conjunto de microestados compatibles con un estado termodinámico particular. A este conjunto se lo conoce como *ensemble*. Según la mecánica estadística, el valor experimental observado para una propiedad macroscópica A se puede obtener como el promedio de dicha cantidad sobre el ensemble [49]:

$$A_{obs} = \langle A \rangle_{ens} = \int_{\mathbf{\Gamma}} A(\mathbf{\Gamma}) \rho_{ens}(\mathbf{\Gamma}) d\mathbf{\Gamma} \quad (2.4)$$

donde $\rho_{ens}(\mathbf{\Gamma})$ representa la densidad de probabilidad de cada estado en el ensemble, y la integral se realiza sobre todo el espacio de fases. Entonces, para evaluar esta integral sería necesario acceder a todos los infinitos estados del espacio de fases, lo cual es imposible. En la práctica, la estrategia para computar esta cantidad es obtener una muestra representativa del ensemble en cuestión, esto es, un conjunto finito de estados muestreados con probabilidad $\rho_{ens}(\mathbf{\Gamma})$. Denotando $\{\mathbf{\Gamma}_0, \mathbf{\Gamma}_1, \dots, \mathbf{\Gamma}_M\}$ a la colección de estados que resultan de tal muestreo, el valor observado para A sobre el ensemble se puede estimar por su valor promedio sobre el conjunto de muestras:

$$A_{obs} = \langle A \rangle_{ens} \approx \frac{1}{M} \sum_{i=0}^M A(\mathbf{\Gamma}_i) \quad (2.5)$$

El interrogante que surge entonces es: ¿Cómo obtenemos un muestreo representativo del ensemble? Una forma adecuada de conseguirlo es mediante el método DM. Por ejemplo, en un sistema con número de partículas (N) y volumen (V) fijos, y en ausencia de fuerzas externas, la energía total del sistema (E) se conserva (dado que las fuerzas sobre las partículas provienen de un potencial). Por lo tanto, la trayectoria obtenida

por DM conforma un conjunto de estados compatibles con el ensemble microcanónico (NVE). También existen algunas técnicas (que describiremos más adelante) para simular la dinámica de sistemas a temperatura (T) y/o presión (P) constantes, las cuales permiten obtener trayectorias en otros ensembles, tales como el canónico (NVT) o el isotérmico-isobárico (NPT). Para sistemas ergódicos y tiempos suficientemente largos, el sistema visita todos los estados del ensemble, por lo que la trayectoria resultante constituye un muestreo representativo en el ensemble correspondiente. En consecuencia, bajo estas condiciones, el promedio de la propiedad A sobre el ensemble dado por la Ec. (2.5) se puede reemplazar por su promedio temporal sobre la trayectoria obtenida por el método DM:

$$A_{obs} = \langle A \rangle_{ens} = \langle A \rangle_{tiempo} = \frac{1}{M} \sum_{i=0}^M A(\Gamma(t_i)) \quad (2.6)$$

2.1.2 Integración de las ecuaciones de movimiento

En esta sección comenzaremos por describir el método básico que permite integrar las ecuaciones de movimiento: el algoritmo de Verlet [48, 49]. Para derivar este algoritmo, primero realizamos una expansión en serie de Taylor de la posición de una partícula alrededor del tiempo t :

$$\mathbf{r}(t + \Delta t) = \mathbf{r}(t) + \mathbf{v}(t)\Delta t + \frac{\mathbf{F}(t)}{2m}\Delta t^2 + \frac{1}{3!} \frac{d^3\mathbf{r}(t)}{dt^3} \Delta t^3 + \mathcal{O}(\Delta t^4) \quad (2.7a)$$

$$\mathbf{r}(t - \Delta t) = \mathbf{r}(t) - \mathbf{v}(t)\Delta t + \frac{\mathbf{F}(t)}{2m}\Delta t^2 - \frac{1}{3!} \frac{d^3\mathbf{r}(t)}{dt^3} \Delta t^3 + \mathcal{O}(\Delta t^4) \quad (2.7b)$$

donde \mathbf{r} , \mathbf{v} y \mathbf{F} son la posición, velocidad y fuerza de la partícula en el tiempo correspondiente y Δt es el paso de tiempo de nuestro algoritmo. Sumando ambas ecuaciones y despejando se obtiene el algoritmo de Verlet:

$$\mathbf{r}(t + \Delta t) = 2\mathbf{r}(t) - \mathbf{r}(t - \Delta t) + \frac{\mathbf{F}(t)}{m}\Delta t^2 + \mathcal{O}(\Delta t^4) \quad (2.8)$$

Como podemos observar, la posición en el instante siguiente $\mathbf{r}(t + \Delta t)$ depende de la posición y fuerza en el instante actual, $\mathbf{r}(t)$ y $\mathbf{F}(t)$, y de la posición en el instante anterior, $\mathbf{r}(t - \Delta t)$. Los errores numéricos de este esquema son de orden Δt^4 . Es interesante notar que el algoritmo de Verlet no requiere de las velocidades para computar la nueva posición, pero podemos obtenerlas restando las Ecs. (2.7a) y (2.7b) y despejando:

$$\mathbf{v}(t) = \frac{\mathbf{r}(t + \Delta t) - \mathbf{r}(t - \Delta t)}{2\Delta t} + \mathcal{O}(\Delta t^2) \quad (2.9)$$

Las ventajas que presenta el algoritmo de Verlet son su simplicidad, reversibilidad temporal, conservación del impulso lineal y la energía, incluso para pasos de tiempo largos. Sin embargo, como desventajas podemos mencionar que el tratamiento de las velocidades no es el más adecuado, y que la forma del algoritmo puede introducir imprecisiones numéricas [49].

Para resolver estas deficiencias se han propuesto diferentes variantes al algoritmo de Verlet. Una de las más conocidas es el algoritmo *leapfrog* [48, 49], que es el que usamos en esta tesis para llevar a cabo las simulaciones. Este algoritmo utiliza las mismas ecuaciones de Verlet, pero reescritas de manera diferente, por lo que las trayectorias generadas son equivalentes. Para derivarlo, primero definimos, apelando a la Ec. (2.9), las velocidades medio paso de tiempo antes ($t - \Delta t/2$) y medio paso después ($t + \Delta t/2$):

$$\mathbf{v}(t - \Delta t/2) = \frac{\mathbf{r}(t - \Delta t) - \mathbf{r}(t)}{\Delta t} \quad (2.10a)$$

$$\mathbf{v}(t + \Delta t/2) = \frac{\mathbf{r}(t + \Delta t) - \mathbf{r}(t)}{\Delta t} \quad (2.10b)$$

Combinando ambas ecuaciones con el algoritmo de Verlet de la Ec. (2.8) y despejando convenientemente obtenemos las ecuaciones del algoritmo *leapfrog*:

$$\mathbf{v}(t + \Delta t/2) = \mathbf{v}(t - \Delta t/2) + \frac{\mathbf{F}(t)}{m} \Delta t \quad (2.11a)$$

$$\mathbf{r}(t + \Delta t) = \mathbf{r}(t) + \mathbf{v}(t + \Delta t/2) \Delta t \quad (2.11b)$$

Como podemos observar, en este esquema las posiciones y velocidades están desfasadas medio paso ($\Delta t/2$). Primero, se debe calcular la nueva velocidad $\mathbf{v}(t + \Delta t/2)$ usando la velocidad anterior $\mathbf{v}(t - \Delta t/2)$ y la fuerza actual $\mathbf{F}(t)$. Luego, se calcula la nueva posición $\mathbf{r}(t + \Delta t)$ usando la nueva velocidad $\mathbf{v}(t + \Delta t/2)$ y la posición actual $\mathbf{r}(t)$. Por su parte, la velocidad actual $\mathbf{v}(t)$ se calcula como el promedio de la velocidad anterior y la nueva velocidad:

$$\mathbf{v}(t) = \frac{\mathbf{v}(t - \Delta t/2) + \mathbf{v}(t + \Delta t/2)}{2} \quad (2.12)$$

2.1.3 Potenciales de interacción

En la sección anterior vimos que para actualizar las posiciones y velocidades de cada partícula, el algoritmo requiere conocer las fuerzas sobre cada una de ellas en el instante actual. Por otra parte, también habíamos visto que estas fuerzas se derivan de un potencial de interacción $V(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N)$ mediante la Ec. (2.3). En consecuencia, la forma del potencial es la que determina las interacciones que gobiernan al sistema, y por lo tanto, constituye una parte fundamental del método DM.

El potencial de interacción se modela como la suma de dos términos principales, uno de *unión* y otro de *no-unión*:

$$V = V_{\text{unión}} + V_{\text{no-unión}} \quad (2.13)$$

El potencial de unión engloba todas aquellas interacciones entre partículas que están unidas entre sí por medio de enlaces covalentes. Estas interacciones, definidas en base a consideraciones geométricas, se pueden separar en cuatro tipos: distancias de enlace, ángulos de enlace, ángulos diedros propios y ángulos diedros impropios. La representación geométrica de cada una de ellas se ilustra en la Fig. 2.1. De esta manera, el potencial de unión se descompone como suma de las cuatro contribuciones correspondientes:

$$V_{\text{unión}} = V_b + V_a + V_d + V_{di} \quad (2.14)$$

donde V_b , V_a , V_d y V_{di} representan los potenciales de interacción asociados a las distancias de enlace, ángulos de enlace, ángulos diedros propios y ángulos diedros impropios, respectivamente. Por su parte, el potencial de no-unión contiene todas aquellas interacciones a distancia entre pares de partículas no unidas entre sí (ya sea que pertenezcan a moléculas diferentes o que se encuentren en la misma molécula pero separadas por tres o más enlaces covalentes). Este potencial se descompone como suma de dos tipos de contribuciones:

$$V_{\text{no-unión}} = V_{\text{vdw}} + V_{\text{elec}} \quad (2.15)$$

donde V_{vdw} y V_{elec} representan los potenciales de interacción de Van der Waals (VdW) y electrostático, respectivamente.

El potencial V_b se describe mediante potenciales armónicos de la forma

$$V_b = \sum_{\langle ij \rangle} V_b(r_{ij}) = \sum_{\langle ij \rangle} \frac{1}{2} k_{ij}^b (r_{ij} - r_{ij}^0)^2 \quad (2.16)$$

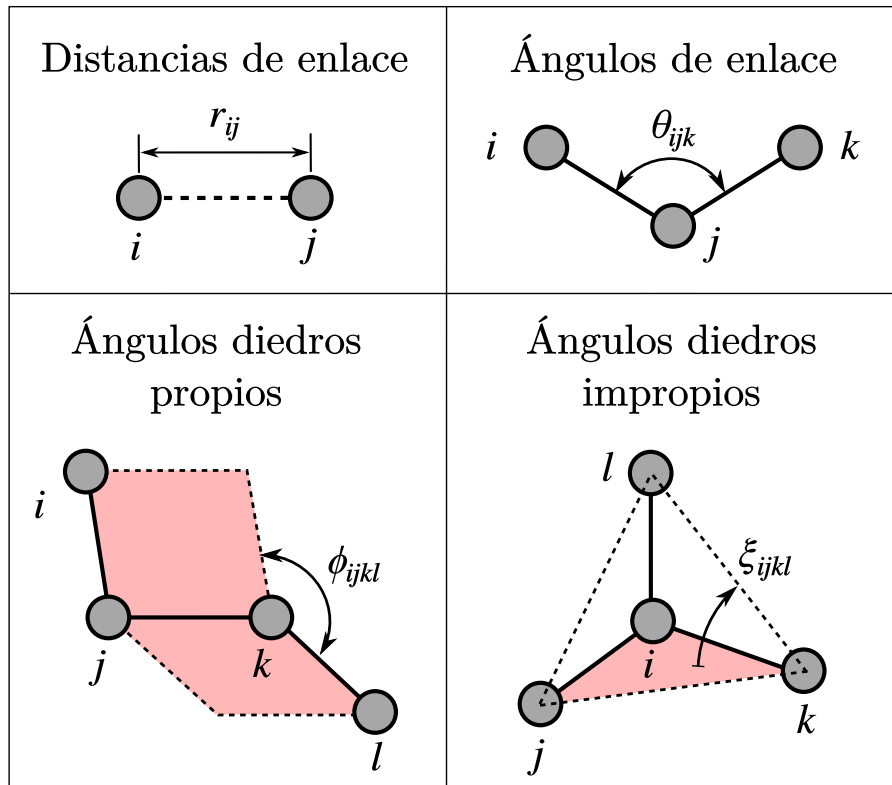


Figura 2.1: Representación geométrica de las distintas interacciones asociadas al potencial de unión. Tanto para los diedros propios como impropios, los ángulos ϕ_{ijkl} y ξ_{ijkl} corresponden al ángulo que se forma entre los planos (i, j, k) y (j, k, l) en los respectivos casos.

donde i y j representan dos partículas unidas por un enlace covalente, r_{ij} la distancia actual entre las dos partículas, r_{ij}^0 y k_{ij}^b la distancia de equilibrio y la constante de fuerza de la interacción correspondiente, y $\langle ij \rangle$ indica que la suma se realiza sobre todos los pares (i, j) del sistema que establecen enlaces covalentes.

El potencial V_a también se modela mediante potenciales armónicos de la forma

$$V_a = \sum_{\langle ijk \rangle} V_a(\theta_{ijk}) = \sum_{\langle ijk \rangle} \frac{1}{2} k_{ijk}^a (\theta_{ijk} - \theta_{ijk}^0)^2 \quad (2.17)$$

donde i , j y k representan tres partículas que establecen un ángulo de enlace, θ_{ijk} el ángulo de enlace actual formado por las tres partículas, θ_{ijk}^0 y k_{ijk}^a el ángulo de equilibrio y la constante de fuerza de la interacción correspondiente, y $\langle ijk \rangle$ indica que la suma se realiza sobre todas las ternas (i, j, k) del sistema que establecen ángulos de enlace.

El potencial V_d se representa mediante series de Fourier de la forma

$$V_d = \sum_{\langle ijkl \rangle} V_d(\phi_{ijkl}) = \sum_{\langle ijkl \rangle} \sum_m k_{ijkl}^m \left[1 + \cos \left(m\phi_{ijkl} - \varphi_{ijkl}^m \right) \right] \quad (2.18)$$

donde i, j, k y l representan cuatro partículas que establecen un ángulo diedro propio, ϕ_{ijkl} el ángulo diedro propio actual formado por las cuatro partículas, m la multiplicidad del término, φ_{ijkl}^m y k_{ijkl}^m la fase y la constante de fuerza de la interacción correspondiente para el término de multiplicidad m , y $\langle ijkl \rangle$ indica que la suma se realiza sobre todas las tuplas (i, j, k, l) del sistema que establecen ángulos diedros propios.

El potencial V_{di} se modela mediante potenciales armónicos de la forma

$$V_{di} = \sum_{\langle ijkl \rangle} V_{di}(\xi_{ijkl}) = \sum_{\langle ijkl \rangle} \frac{1}{2} k_{ijkl}^{di} \left(\xi_{ijkl} - \xi_{ijkl}^0 \right)^2 \quad (2.19)$$

donde i, j, k y l representan cuatro partículas que establecen un ángulo diedro impropio, ξ_{ijkl} el ángulo diedro impropio actual formado por las cuatro partículas, ξ_{ijk}^0 y k_{ijkl}^{di} el ángulo de equilibrio y la constante de fuerza de la interacción correspondiente, y $\langle ijkl \rangle$ indica que la suma se realiza sobre todas las tuplas (i, j, k, l) del sistema que establecen ángulos diedros impropios.

El potencial V_{vdw} se describe mediante potenciales de Lennard-Jones (LJ) de la forma

$$V_{vdw} = \sum_{\langle ij \rangle} V_{vdw}(r_{ij}) = \sum_{\langle ij \rangle} 4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (2.20)$$

donde i y j representan las dos partículas interactuantes, r_{ij} es la distancia actual entre las dos partículas, ϵ_{ij} la intensidad de la interacción correspondiente en el mínimo de potencial, σ_{ij} la distancia entre partículas para la cual el potencial se anula, y $\langle ij \rangle$ indica que la suma se realiza sobre todos los pares (i, j) del sistema que interactúan a distancia.

El potencial V_{elec} se representa mediante potenciales de Coulomb de la forma

$$V_{elec} = \sum_{\langle ij \rangle} V_{elec}(r_{ij}) = \sum_{\langle ij \rangle} \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{q_i q_j}{\epsilon_r r_{ij}} \quad (2.21)$$

donde i y j representan las dos partículas interactuantes, r_{ij} es la distancia actual entre las dos partículas, ϵ_0 la constante dieléctrica del vacío, ϵ_r la constante dieléctrica relativa, q_i y q_j las cargas eléctricas correspondientes a las partículas i y j respectivamente, y $\langle ij \rangle$

indica que la suma se realiza sobre todos los pares (i, j) del sistema que interactúan a distancia.

El cálculo de las interacciones constituye una de las principales etapas dentro de una simulación DM. Para los términos de no-uniión, las interacciones se deben computar para cada par de partículas, por lo que su complejidad computacional es $\mathcal{O}(N^2)$, donde N es el número de partículas presentes en el sistema. Por el contrario, para los términos de unión, solo se deben computar una cantidad relativamente baja de interacciones, dado que involucran partículas enlazadas entre sí, que están espacialmente próximas. Debido a esto, el cómputo de los términos de no-uniión es la parte de la simulación que demanda el mayor costo computacional, y mayor es su peso cuanto mayor es el número de partículas del sistema. Para acelerar el cálculo, la estrategia usual consiste en establecer una distancia de corte (r_c) para los términos de no-uniión: todos aquellos pares cuya distancia sea mayor que r_c son omitidos del cálculo, permitiendo así un ahorro sustancial del número de interacciones a computar y una reducción significativa del tiempo de cómputo.

2.1.4 Condiciones periódicas de contorno

Para realizar una simulación DM, es necesario crear una *caja de simulación* conteniendo a las todas las partículas del sistema, sujeta a las condiciones de contorno apropiadas a la geometría del sistema macroscópico. En la práctica es imposible simular un sistema cuyo tamaño sea similar al de una muestra de laboratorio experimental, dada la enorme cantidad de partículas que esto requiere. Para que las simulaciones sean viables, la caja de simulación debe ser relativamente pequeña con un número de partículas acotado, que va desde miles hasta cientos de miles (o algunos millones en los casos más extremos). En esta situación, aparecen efectos de borde sobre las partículas en el contorno de la caja, debido a que presentan un entorno diferente a aquellas partículas en el seno del sistema. Estos efectos pueden ser bastante significativos, dependiendo del tamaño del sistema utilizado. La manera usual de minimizarlos es aplicando condiciones periódicas de contorno (*periodic boundary conditions*, PBC). Esta técnica consiste en rodear a la caja de simulación de copias idénticas trasladadas en todas las direcciones, dando lugar a un sistema periódico (ver Fig. 2.2). De esta manera, los efectos de borde no deseados ahora se reemplazan por los efectos de las condiciones periódicas. Si los sistemas son periódicos, estas condiciones son deseadas. Pero en el caso de sistemas no periódicos, como líquidos o soluciones, esta periodicidad causa errores. Sin embargo, se espera que estos errores sean mucho más leves que los ocasionados por los efectos de borde una muestra aislada rodeada de vacío.

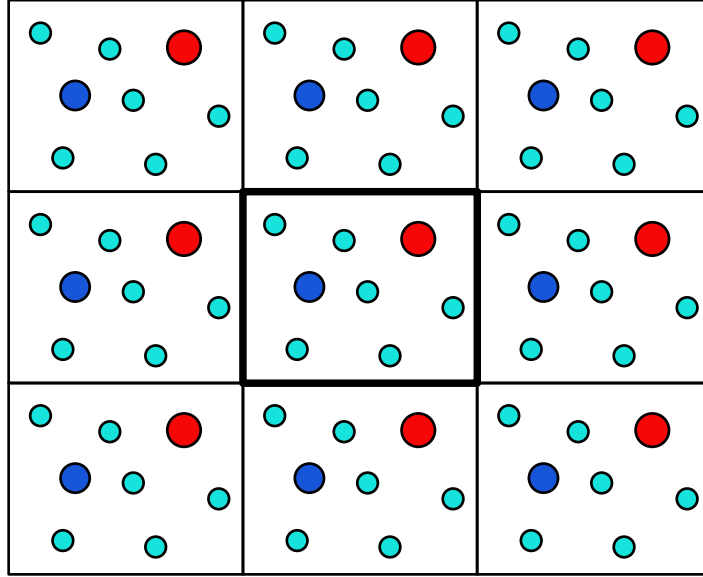


Figura 2.2: Ejemplo de condiciones periódicas de contorno en dos dimensiones. La celda central, resaltada en negro, corresponde a la caja de simulación actual. El resto de las celdas circundantes son las réplicas de la caja trasladadas en las distintas direcciones.

2.1.5 Simulaciones a temperatura constante

En ausencia de fuerzas externas, el uso directo del método DM genera una trayectoria cuyo conjunto de estados es compatible con el ensemble microcanónico (NVE). Sin embargo, en la mayoría de los casos se requiere determinar la dinámica de los sistemas a temperatura constante, esto es, en el ensemble canónico (NVT). Existen varios algoritmos conocidos para controlar la temperatura en una simulación [55–58]. Entre los más populares se encuentran el termostato de Berendsen [55] y su variante *V-rescale* [58], y el termostato de Nosé-Hoover [56], que son los elegidos para llevar a cabo las simulaciones en esta tesis, y que describimos brevemente a continuación.

El termostato de Berendsen mimetiza el acoplamiento (débil) del sistema con un baño térmico externo a temperatura T_0 . Este algoritmo corrige lentamente la diferencia entre la temperatura actual del sistema (T) y la temperatura de referencia (T_0) de acuerdo con [59]:

$$\frac{dT}{dt} = \frac{T - T_0}{\tau} \quad (2.22)$$

donde τ es la constante de tiempo del termostato que caracteriza la interacción entre el sistema y el baño térmico. Las velocidades son reescaladas en cada instante por un

factor λ dado por [59]

$$\lambda = \left\{ 1 + \frac{n_{TC}\Delta t}{\tau_T} \left[\frac{T_0}{T(t - \Delta t/2)} - 1 \right] \right\}^{1/2} \quad (2.23)$$

donde Δt es el paso de tiempo de la dinámica, n_{TC} es la frecuencia con la cual se actualizan las temperaturas (en número de pasos), y τ_T es la constante de acoplamiento del termostato, cuyo valor es cercano al de la constante τ (están vinculados mediante un factor de proporcionalidad). El valor de τ_T puede ser adaptado según el propósito, ya sea para equilibración (mayor acoplamiento, τ_T más cortos) o para medición de propiedades (menor acoplamiento, τ_T más largos). Una de las características de este termostato es que resulta sumamente eficiente para relajar el sistema a la temperatura de equilibrio deseada. Sin embargo, la distribución de velocidades generada no describe un muestreo representativo del ensemble canónico, por lo tanto las propiedades físicas de equilibrio determinadas sobre la trayectoria resultante no serán correctas. En especial se verán afectadas aquellas propiedades derivadas de las velocidades, tales como energía cinética, presión y calor específico. Esto hace que el termostato de Berendsen sea de gran utilidad para propósitos de equilibración, pero inadecuado para la etapa de producción (en donde se miden las propiedades físicas relevantes). Para resolver este inconveniente fue desarrollado el termostato *V-rescale*, que es esencialmente un termostato de Berendsen con un término estocástico adicional que asegura una correcta distribución de velocidades representativa del ensemble canónico.

El termostato de Nosé-Hoover propone una estrategia para controlar la temperatura dentro del ensemble canónico. Este método extiende el Hamiltoniano del sistema introduciendo un nuevo término de fricción que modela la interacción con un baño térmico [56]. El nuevo término incorpora el parámetro de fricción ξ , que representa la variable del baño térmico. Su momento (p_ξ) está vinculado con la diferencia entre la temperatura actual (T) y la temperatura de referencia del baño térmico (T_0) mediante

$$\frac{dp_\xi}{dt} = T - T_0 \quad (2.24)$$

En la formulación de Nosé-Hoover, las nuevas ecuaciones de movimiento que incorporan el acoplamiento con el baño térmico se escriben como

$$\frac{d^2\mathbf{r}_i}{dt^2} = \frac{\mathbf{F}_i}{m_i} - \frac{p_\xi}{Q} \frac{d\mathbf{r}_i}{dt} \quad (2.25)$$

donde la intensidad de acoplamiento con el baño térmico está determinada por la constante Q , usualmente referida como el *parámetro de masa* del baño térmico, y por la temperatura de referencia T_0 . La constante Q se puede escribir en función de T_0 en la forma [59]

$$Q = \frac{\tau_T^2 T_0}{4\pi^2} \quad (2.26)$$

donde τ_T es el período de oscilación de la energía cinética intercambiada entre el sistema y el reservorio térmico. El parámetro τ_T ofrece una manera mucho más intuitiva de establecer la intensidad del acoplamiento con el baño térmico, ya que es independiente del tamaño del sistema y de la temperatura de referencia T_0 . Cuanto menor sea el valor de τ_T , mayor es la frecuencia de intercambio de energía con el reservorio térmico, y por consiguiente mayor la intensidad de acoplamiento del termostato.

2.1.6 Simulaciones a presión constante

El método DM también puede ser modificado para poder estudiar la dinámica de los sistemas a presión constante. La mayoría de los métodos para el control de presiones están inspirados en ideas análogas a las utilizadas para el control de temperatura. Entre los algoritmos que han sido desarrollados para tal fin [55, 60–62], el barostato de Berendsen [55] y el barostato de Parrinello-Rahman [61, 62] son los más usados en la práctica, y en particular los utilizados a lo largo de este trabajo. Los lineamientos principales de ambos métodos se describen a continuación.

El barostato de Berendsen permite controlar la presión del sistema y ajustar apropiadamente el tamaño de la caja y las coordenadas [55]. Para corregir la presión, el algoritmo controla la diferencia entre los tensores de presión actual (\mathbf{P}) y presión de referencia (\mathbf{P}_0) de acuerdo con

$$\frac{d\mathbf{P}}{dt} = \frac{\mathbf{P} - \mathbf{P}_0}{\tau_P} \quad (2.27)$$

donde τ_P es la constante de acoplamiento del barostato (análoga a la constante τ_T del termostato). Los vectores de caja (\mathbf{b}) y las coordenadas (\mathbf{r}) se ajustan mediante $\mathbf{b}' = \boldsymbol{\mu} \cdot \mathbf{b}$ y $\mathbf{r}' = \boldsymbol{\mu} \cdot \mathbf{r}$, donde $\boldsymbol{\mu}$ representa una matriz de escaleo y los parámetros primados corresponden a los nuevos valores ajustados. Los coeficientes de la matriz $\boldsymbol{\mu}$ están dados por [59]

$$\mu_{ij} = \delta_{ij} - \frac{n_{PC} \Delta t}{3\tau_P} \beta_{ij} [P_{0ij} - P_{ij}(t)] \quad (2.28)$$

donde Δt es el paso de tiempo de la dinámica, n_{PC} es la frecuencia con la cual se actualizan las presiones (en número de pasos), y β_{ij} son los coeficientes de la matriz de

compresibilidad isotérmica β . En la mayoría de los casos, β es una matriz diagonal cuyos elementos son todos iguales. El valor de estos elementos depende de la naturaleza del solvente y de las condiciones de presión y temperatura. En el caso del agua, a presiones de 1 bar y temperaturas de 300 K, el valor típico del coeficiente de compresibilidad es $\beta = 4.6 \times 10^{-5} \text{ bar}^{-1}$.

La mayoría de los sistemas de interés se suelen simular bajo condiciones similares a las que se realizan los ensayos experimentales. En general, esto requiere realizar las simulaciones a temperatura y presión constantes. El ensemble estadístico que representa estas condiciones es el isotérmico-isobárico (NPT). Para muestrear la trayectoria en el ensemble NPT, se utiliza un termostato en conjunto con un barostato. Uno de los inconvenientes que presenta el algoritmo de Berendsen es que, aunque los valores medios son correctos, la trayectoria generada no corresponde a un muestreo representativo del ensemble NPT. Por este motivo, el barostato de Berendsen suele ser muy útil para propósitos de equilibración (por su rápida convergencia), pero inadecuado para la etapa de producción. Para esta última tarea, el barostato de Parrinello-Rahman resulta más adecuado, dado que sí muestrea correctamente al ensemble NPT (en conjunto con un termostato adecuado, tal como el de Nosé-Hoover).

El barostato de Parrinello-Rahman también permite controlar la presión y corregir el tamaño de la caja y las coordenadas, pero el método que utiliza para realizarlo es conceptualmente diferente. Este algoritmo está basado en la propuesta de un Hamiltoniano extendido [61, 62], utilizando una estrategia similar a la aplicada en el termostato de Nosé-Hoover. En esta formulación, la matriz \mathbf{b} que describe los vectores de la caja obedece la ecuación de movimiento

$$\frac{d^2 \mathbf{b}}{dt^2} = V \mathbf{W}^{-1} (\mathbf{b}^T)^{-1} (\mathbf{P} - \mathbf{P}_0) \quad (2.29)$$

donde V es el volumen de la caja, \mathbf{W} es una matriz de parámetros que determina la intensidad del acoplamiento del barostato, \mathbf{b}^T es la traspuesta de \mathbf{b} , y \mathbf{P} y \mathbf{P}_0 son los tensores correspondientes a las presiones del sistema actual y de referencia, respectivamente. Las ecuaciones de movimiento que surgen de resolver el Hamiltoniano extendido con las nuevas variables están dadas por

$$\frac{d^2 \mathbf{r}_i}{dt^2} = \frac{\mathbf{F}_i}{m_i} - \mathcal{M} \frac{d\mathbf{r}_i}{dt} \quad (2.30)$$

donde \mathcal{M} es una matriz definida en términos de \mathbf{b} en la forma:

$$\mathcal{M} = \mathbf{b}^{-1} \left[\mathbf{b} \frac{d\mathbf{b}^T}{dt} + \frac{d\mathbf{b}}{dt} \mathbf{b}^T \right] (\mathbf{b}^T)^{-1} \quad (2.31)$$

Al resolver la Ec. (2.29) se obtiene el nuevo \mathbf{b}' , que junto con el \mathbf{b} anterior permiten determinar la matriz de reescalo $\boldsymbol{\mu}$ tal que $\mathbf{b}' = \boldsymbol{\mu} \cdot \mathbf{b}$. Con esta matriz se ajustan las nuevas coordenadas $\mathbf{r}' = \boldsymbol{\mu} \cdot \mathbf{r}$. Por su parte, para poder resolver la Ec. (2.29) es necesario conocer la matriz \mathbf{W} , que es la que caracteriza el acoplamiento con el barostato. Los coeficientes de \mathbf{W} se vinculan con el tamaño del sistema (L , la dimensión más larga de la caja de simulación), la compresibilidad isotérmica (β) y la constante de acoplamiento (τ_P) por medio de [59]

$$(\mathbf{W}^{-1})_{ij} = \frac{4\pi^2 \beta_{ij}}{3\tau_P L} \quad (2.32)$$

Análogamente al termostato de Nosé-Hoover, resulta más conveniente establecer el acoplamiento con el barostato mediante los parámetros β y τ_P , ya que son independientes del tamaño del sistema. La intensidad del acoplamiento se ajusta igual que en el caso del termostato: menor valor de τ_P para mayor acoplamiento. En este punto vale la pena resaltar que los τ_P no son equivalentes entre distintos barostatos. Típicamente, el valor utilizado en el de Parrinello-Rahman suele ser 4-5 veces mayor que en el de Berendsen, pero puede variar dependiendo de las condiciones del sistema.

2.1.7 Simulaciones a tensión superficial constante

En el caso particular de sistemas periódicos con geometría plana, tales como interfases líquido/líquido o sistemas de bicapas, resultaría de gran utilidad la posibilidad de simular la dinámica del sistema a tensión superficial constante. El ensemble estadístico asociado a esta condición macroscópica es el denominado $\text{NP}_N\gamma\text{T}$ (número de partículas, presión normal, tensión superficial y temperatura constantes) [63]. Para llevar a cabo un muestreo en dicho ensemble, es necesario poder controlar la tensión superficial a lo largo de la simulación. Esto se puede realizar bajo la aplicación de un barostato modificado adecuadamente para tal fin. Las ideas subyacentes a este método se describen brevemente a continuación.

Para fijar la notación, vamos a denotar como x e y a las direcciones tangenciales a la(s) interfase(s), y como z a la dirección normal. Dada la geometría plana del sistema, las condiciones de equilibrio mecánico requieren que el tensor de presión sea diagonal, que sus componentes P^{xx} , P^{yy} y P^{zz} solo dependan de la coordenada z , y además que $P^{xx} = P^{yy}$ [64, 65]. A partir de ellas se define la presión normal $P_N(z) = P^{zz}(z)$ y

la presión tangencial $P_T(z) = [P^{xx}(z) + P^{yy}(z)]/2$. Luego, la tensión superficial (γ) se puede calcular mediante la diferencia entre las presiones normal y tangencial según la expresión [66]

$$\gamma = \frac{1}{n} \int_0^{L_z} [P_N(z) - P_T(z)] dz = \frac{L_z}{n} [P_N - P_T] \quad (2.33)$$

donde n es el número de interfases y L_z es la longitud de la caja en la dirección z . Los valores de P_N y P_T corresponden a las presiones del sistema total en dirección normal y tangencial, que coinciden con sus valores medios a lo largo de z :

$$P_{N/T} = \frac{1}{L_z} \int_0^{L_z} P_{N/T}(z) dz \quad (2.34)$$

Para poder controlar la tensión superficial mediante la aplicación de un barostato, la lógica del algoritmo debe ser levemente modificada. En la dirección normal, el algoritmo acopla la presión $P^{zz} = P_N$ ajustando su valor directamente contra la presión normal de referencia, tal como lo hace un barostato convencional. En cambio, en la dirección tangencial, las presiones $P^{xx} = P^{yy} = P_T$ se ajustan paso a paso en función de la tensión superficial de referencia (γ_0), la presión normal actual (P_N) y el tamaño actual de la caja (L_z) de modo de satisfacer la Ec. (2.33).

2.1.8 Simulaciones con condiciones de vínculo

La estabilidad de una simulación DM está fuertemente condicionada por la frecuencia de vibración de las interacciones más rápidas [67]. Ejemplos de estas interacciones son las distancias de enlace que involucran átomos de hidrógeno, que suelen presentar modos de vibración varias veces más rápidos que el resto de las interacciones. En estos casos, para conseguir una resolución temporal adecuada que permita integrar la trayectoria de manera precisa, el paso de tiempo debe ser muy corto, varias veces menor que los tiempos de oscilación de las interacciones más rápidas. Esto trae como consecuencia un aumento sustancial de la frecuencia de muestreo de la trayectoria, y por lo tanto, un aumento significativo del costo computacional. Sin embargo, este costo extra se puede reducir drásticamente si aplicamos un tratamiento especial a las interacciones rápidas y resolvemos el resto utilizando un paso de tiempo mucho más largo.

En esta dirección, uno de los métodos más usados para acelerar las simulaciones es mediante la aplicación de condiciones de vínculo [67, 68]. Estos vínculos permiten mantener fija la geometría de las interacciones más rápidas, removiendo así su vibración por completo. Esto habilita al uso de pasos de tiempo más largos, con lo cual se mejora la velocidad de cómputo. Una de las aplicaciones más comunes es en modelos de agua,

donde las distancias de enlace con los hidrógenos son fijadas mediante condiciones de vínculos. En muchas ocasiones, las vibraciones de los enlaces no suelen ser de interés, por lo tanto mantenerlos rígidos trae mínimas consecuencias físicas, además de que no afectan a la flexibilidad de la molécula [68].

Dentro de los métodos disponibles para mantener fija la geometría de los enlaces, uno de los más utilizados es el algoritmo LINCS [69, 70], que es el empleado a lo largo de esta tesis para tratar los vínculos. Básicamente, este método reestablece los enlaces correspondientes a su longitud correcta después de hacer una actualización de posiciones irrestricta (sin aplicar vínculos). Describimos brevemente los lineamientos generales del método a continuación.

Para resolver la dinámica con condiciones de vínculo, hay que adaptar adecuadamente las ecuaciones de movimiento para incluir las restricciones. En el algoritmo LINCS, las condiciones de vínculo toman la forma

$$g_i(\mathbf{r}) = |\mathbf{r}_{i_1} - \mathbf{r}_{i_2}| - d_i = 0 \quad (i = 1, \dots, K) \quad (2.35)$$

donde K es el número de vínculos, \mathbf{r}_{i_1} y \mathbf{r}_{i_2} son las posiciones de las dos partículas del enlace i , y d_i es la longitud del enlace i . Estas condiciones de vínculo pueden ser incluidas en las ecuaciones de movimiento mediante el método de los multiplicadores de

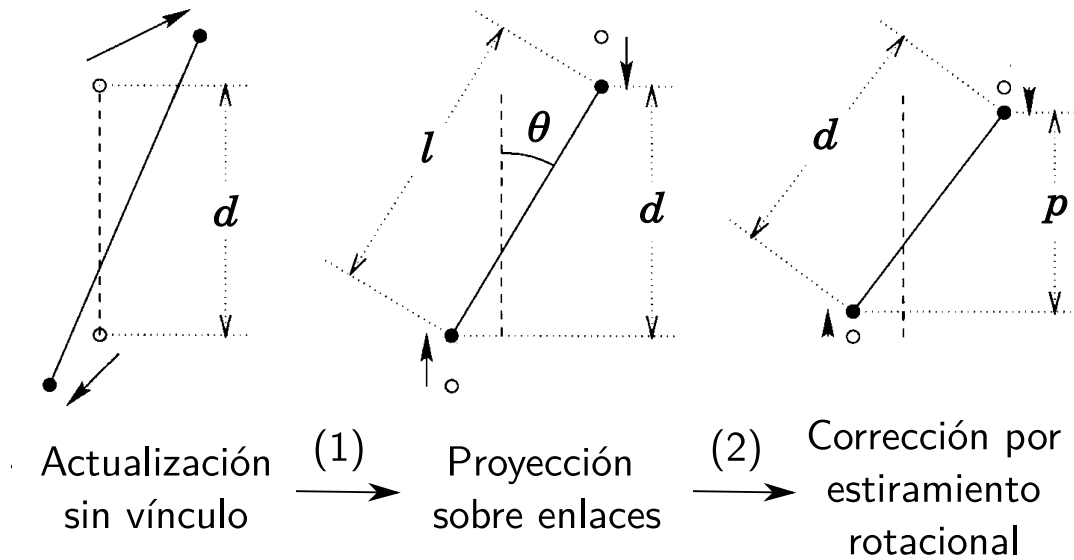


Figura 2.3: Ilustración del algoritmo LINCS. La línea punteada representa al viejo enlace, de longitud d . La línea entera corresponde a los nuevos enlaces en cada instancia. Luego del paso 1, la longitud del nuevo enlace satisface $l = d/\cos(\theta)$. Luego del paso 2, su proyección vale $p = \sqrt{2d^2 - l^2}$. Adaptado de [69].

Lagrange [69]:

$$\mathbf{M} \frac{d^2 \mathbf{r}}{dt^2} = \mathbf{F} + \mathbf{B}^T \boldsymbol{\lambda} \quad (2.36)$$

donde \mathbf{r} y \mathbf{F} son los vectores que contienen las componentes de las posiciones y las fuerzas sobre las partículas (de tamaño $3N$), \mathbf{M} una matriz diagonal con las masas de las partículas (de tamaño $3N \times 3N$), $\boldsymbol{\lambda}$ el vector de multiplicadores de Lagrange (de tamaño K) y \mathbf{B} una matriz que contiene las direcciones de los vínculos (de tamaño $K \times 3N$), cuyos coeficientes vienen dados por

$$B_{ij} = \frac{\partial g_i}{\partial r_j} \quad (2.37)$$

Luego de algunos manejos algebraicos se resuelven los valores de $\boldsymbol{\lambda}$ y las ecuaciones de movimiento se reescriben como

$$\frac{d^2 \mathbf{r}}{dt^2} = (\mathbf{I} - \mathbf{T}\mathbf{B})\mathbf{M}^{-1}\mathbf{F} - \mathbf{T} \frac{d\mathbf{B}}{dt} \frac{d\mathbf{r}}{dt} \quad (2.38)$$

donde \mathbf{I} es la matriz identidad y $\mathbf{T} = \mathbf{M}^{-1}\mathbf{B}^T(\mathbf{B}\mathbf{M}^{-1}\mathbf{B}^T)^{-1}$. El primer término del lado derecho se puede asociar con un efecto debido a las proyecciones de las longitudes en la dirección de los enlaces, mientras que el segundo término se corresponde con el efecto de las rotaciones de los enlaces.

En la práctica, el algoritmo LINCS está implementado en un proceso de dos etapas, que contempla los dos efectos antes mencionados, de proyección y de rotación de los enlaces. Este proceso se ilustra en la Fig. 2.3. En el paso 1, la proyección del nuevo enlace es ajustada para que coincida con el viejo, con lo cual la nueva longitud pasa a valer $l = d/\cos(\theta)$. En el paso 2, se vuelve a corregir la proyección para que la longitud final sea igual a d , esto establece que la nueva proyección debe ser $p = \sqrt{2d^2 - l^2}$. La formulación completa del algoritmo y su implementación detallada se puede consultar en [69].

2.1.9 Algoritmo de actualización

Ahora que ya hemos introducido todas las herramientas básicas que intervienen en una simulación DM (integrador, termostato, barostato, vínculos) podemos describir el algoritmo completo de actualización en un paso de dinámica. La idea básica es, a partir de las posiciones y velocidades al paso actual, evolucionar el sistema integrando las ecuaciones de movimiento sujetas a la acción del termostato, barostato y vínculos, y obtener las nuevas posiciones y velocidades actualizadas al paso siguiente. El procedimiento de actualización usando el integrador leapfrog se muestra en el Algoritmo. 2.1.

Algoritmo 2.1: Actualización de posiciones y velocidades en una simulación DM usando el integrador leapfrog, bajo la acción de un termostato, barostato y vínculos.

Dadas las posiciones $\mathbf{r}(t)$ y velocidades $\mathbf{v}(t - \Delta t/2)$ de cada partícula:

1. Calcular los potenciales $V(\mathbf{r})$ y las fuerzas \mathbf{F} sobre cada partícula.
 2. Acoplar el termostato y el barostato y calcular la matriz de escaleo $\boldsymbol{\mu}$.
 3. Integrar las ecuaciones de movimiento y obtener las nuevas posiciones $\mathbf{r}'(t + \Delta t)$ y velocidades $\mathbf{v}'(t + \Delta t/2)$ al siguiente paso de tiempo.*
 4. Aplicar los vínculos, corregir las posiciones $\mathbf{r}'(t + \Delta t) \rightarrow \mathbf{r}''(t + \Delta t)$ y obtener las velocidades finales actualizadas $\mathbf{v}(t + \Delta t/2)$.[†]
 5. Aplicar la matriz $\boldsymbol{\mu}$ para reescalar los vectores de caja $\mathbf{b} = \boldsymbol{\mu} \cdot \mathbf{b}$ y obtener las posiciones finales actualizadas $\mathbf{r}(t + \Delta t) = \boldsymbol{\mu} \cdot \mathbf{r}''(t + \Delta t)$.
 6. Actualizar $t = t + \Delta t$ y repetir el proceso hasta alcanzar el tiempo máximo de simulación.
-

* Aquí se utiliza una versión más general del algoritmo leapfrog que incorpora las variables del termostato y barostato. Los detalles de esta formulación se pueden consultar en [71–73].

[†] Aquí se aplica el algoritmo LINCS para mantener fijas las distancias de los enlaces. Los detalles de implementación bajo el esquema leapfrog se pueden consultar en [69].

2.2 Modelos de grano grueso

2.2.1 Marco teórico

Muchas propiedades y fenómenos físicos de los sistemas de materia blanda están determinados por una variedad de procesos e interacciones que se originan en un amplio rango de escalas temporales y espaciales [74–77]. Los procesos pueden ir desde dinámicas atomísticas de femtosegundos, hasta fenómenos macroscópicos en tiempo real. Los métodos computacionales que describen los sistemas con resolución atomística logran un elevado nivel de detalle pero tienen dificultades para tratar muchos efectos cooperativos a escala macroscópica que son de interés teórico y experimental. Para conciliar estos dos extremos, existen varios niveles de teoría, cada uno adecuado para describir procesos dentro de un rango de escalas específico. Estos diferentes niveles, ilustrados esquemáticamente en la Fig. 2.4, reducen progresivamente el nivel de detalle en la representación a medida que se incrementa la escala espacio-temporal.

En la escala más baja tenemos los métodos más precisos pero computacionalmente más costosos: los métodos cuánticos (*quantum mechanics*, QM). Entre ellos podemos citar por ejemplo la dinámica molecular de Carr-Parrinello, un método de alta resolución que permite simular sistemas de unos pocos cientos de átomos por algunos cientos de

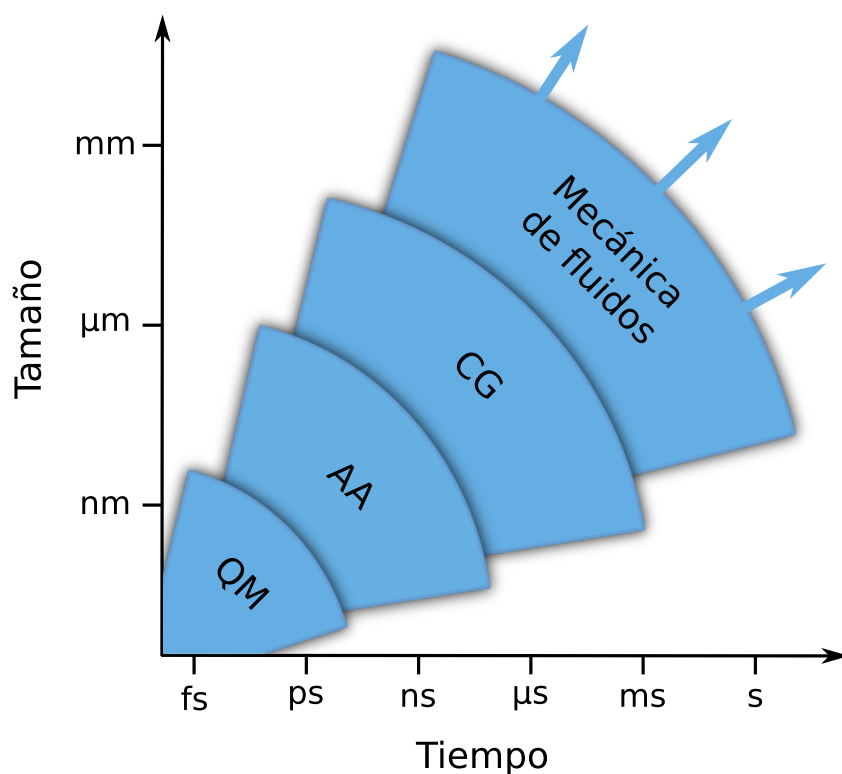


Figura 2.4: Representación de las escalas espacio-temporales accesibles por los métodos de simulación en los distintos niveles de teoría, ordenados desde los más precisos pero computacionalmente más demandantes, hasta los más eficientes pero menos detallados: cuántico (QM), atomístico (AA), grano grueso (CG) y mecánica de fluidos. Adaptado de Nielsen et al. [76].

picosegundos [78]. Los métodos cuánticos son útiles para simular procesos donde la estructura electrónica cambia, tal como ocurre durante una reacción química.

Cuando la estructura electrónica no es un factor relevante, podemos pasar al siguiente nivel de detalle, lo que nos lleva a los métodos atomísticos (*all-atom*, AA). Aquí tenemos la dinámica molecular clásica, que utiliza formas funcionales simples para describir las diferentes interacciones entre los átomos, mediante el uso de potenciales intramoleculares e intermoleculares de a pares [79]. Estos métodos atomísticos pueden simular sistemas de hasta un millón de átomos por varios cientos de nanosegundos.

Para describir procesos que ocurren en la micro y mesoescala, orden de micrones en tamaño, y micro a milisegundos en tiempo, debemos ir un nivel más arriba en la descripción. Aquí entran en juego los métodos de grano grueso (*coarse grain*, CG), que consisten en agrupar varios átomos en un único sitio de interacción, formando así una sola partícula equivalente por cada grupo de átomos [80–82]. Esto reduce drásticamente el número de partículas y de pares de interacción a ser evaluados en la simulación, lo que

permite estudiar sistemas mucho más extensos por tiempos más prolongados comparados con una dinámica atomística.

Por último, cuando se requiere estudiar procesos macroscópicos en tiempo real (desde milímetros y milisegundos hacia arriba), debemos recurrir al último nivel de detalle, y el de más baja resolución. En este nivel se encuentran los métodos correspondientes a la mecánica de fluidos, tales como elementos finitos o modelos del continuo.

2.2.2 Importancia de los modelos de grano grueso

Dentro de los métodos disponibles en los distintos niveles de teoría, los modelos CG constituyen una herramienta muy poderosa en la simulación computacional de sistemas biofísicos y biológicos [80–83]. Su importancia radica en el hecho de que numerosos procesos y fenómenos a nivel biomolecular ocurren dentro de la micro y mesoescala [83], en donde los modelos CG representan la alternativa más adecuada en términos de nivel de detalle y tiempo de cómputo. En particular, los sistemas de administración de drogas, que son el objetivo central de esta tesis, están dentro de estas escalas. Por este motivo, hemos utilizado modelos CG para describir nuestros sistemas y abordar las simulaciones.

Numerosos modelos CG han sido desarrollados en los últimos tiempos [80–83]. Entre ellos, el modelo MARTINI [43, 44] constituye uno de los más utilizados en sistemas de interés biológico. Entre sus aplicaciones principales se pueden destacar la caracterización de biomembranas, autoensamblado de péptidos, proteínas y surfactantes, formación de poros en membranas, estructura y dinámica de polímeros, y diseño de sistemas de administración de genes y drogas [84]. Gracias a su gran aplicabilidad y flexibilidad, MARTINI se ha convertido en uno de los modelos de referencia dentro de la comunidad científica, motivo por el cual fue elegido para describir nuestros sistemas a lo largo de la tesis. Las características principales de este modelo se describen en la próxima sección.

2.2.3 El modelo MARTINI

El modelo MARTINI [43, 44] es un campo de fuerza (*force field*, FF) orientado a simulaciones de biomoléculas, que combina velocidad y versatilidad mientras mantiene la especificidad química de los componentes. Originalmente desarrollado para lípidos, con el tiempo fue extendido a muchos otros tipos de compuestos. Actualmente permite modelar muchos lípidos diferentes, péptidos, proteínas, azúcares, polímeros, ADN, nanopartículas y dendrímeros, entre otros [44].

La filosofía del modelo MARTINI no es capturar cada detalle de una simulación atomística, sino proveer un modelo extensible basado en bloques de construcción simples,

usando unos pocos parámetros y potenciales de interacción clásicos para maximizar la aplicabilidad y transferibilidad [81, 84]. Este FF está optimizado en base a una calibración extensiva de sus parámetros contra datos experimentales, en particular contra datos termodinámicos de coeficientes de partición octanol/agua.

El modelo MARTINI está basado en un mapeo aproximadamente 4 : 1, esto es, cuatro átomos pesados (no hidrógenos) más todos sus hidrógenos asociados son representados por una única partícula CG. Este mapeo 4:1 logra un balance óptimo entre eficiencia computacional y descripción química. El mapeo del agua es consistente con esta elección, dado que cuatro moléculas de agua se mapean a un única partícula CG. Sin embargo, para representar la geometría de las moléculas o fragmentos tipo anillo (por ejemplo, benceno, colesterol o algunos aminoácidos) el mapeo 4:1 es demasiado burdo, por lo cual este tipo de estructuras se mapean con una mayor resolución: dos átomos pesados (y sus hidrógenos asociados) a una única partícula CG. El mapeo de las principales clases de compuestos modelados por MARTINI se ilustra esquemáticamente en la Fig. 2.5.

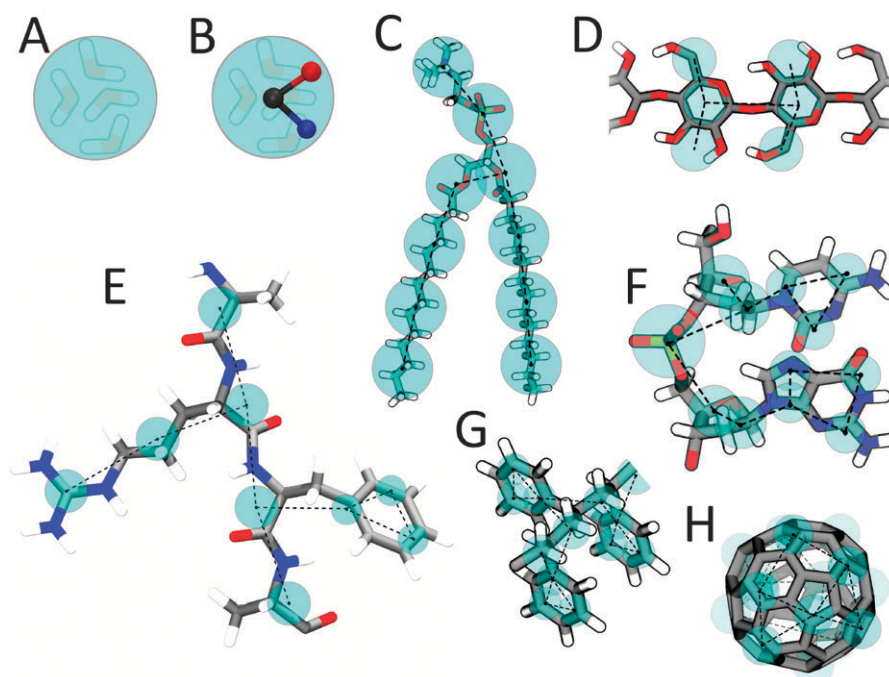


Figura 2.5: Ejemplos del mapeo MARTINI para moléculas correspondientes a distintas clases de compuestos [84]. (A) Partícula de agua estándar representando cuatro moléculas de agua. (B) Molécula de agua polarizable con sus respectivas cargas. (C) Lípido DMPC. (D) Fragmento de polisacárido. (E) Péptido. (F) Fragmento de ADN. (G) Fragmento de poliestireno. (H) Molécula de fullereno. En todos los casos, las partículas CG MARTINI se muestran como esferas transparentes celestes solapadas sobre la estructura atomística correspondiente.

En base a la naturaleza química de la estructura subyacente, las partículas CG son asignadas con un tipo de partícula específica con mayor o menor carácter polar. El modelo MARTINI tiene cuatro tipos principales de partículas: polares (P), no-polares (N), apolares (C), y cargadas (Q). Dentro de cada tipo hay distintos subtipos que se distinguen, ya sea por una letra denotando su capacidad de enlace con el hidrógeno (d = donador, a = aceptor, da = ambos, 0 = ninguna), o por un número indicando su grado de polaridad (desde 1 = baja polaridad, hasta 5 = alta polaridad). Esto da como lugar a 18 tipos de partículas totales, que constituyen los “bloques de construcción”. El listado completo de partículas CG MARTINI y sus características físico-químicas asociadas puede consultarse en la Tabla 3 de la referencia [43].

Las interacciones VdW entre partículas CG se describen mediante potenciales LJ, ver Ec. (2.20). La intensidad de la interacción VdW, dada por el parámetro ϵ , depende de los tipos de las partículas interactuantes. Sus valores van desde 5.6 kJ/mol para interacción entre grupos fuertemente polares, hasta 2.0 kJ/mol para interacciones entre grupos polares y apolares, mimetizando así el correspondiente efecto hidrofóbico. El tamaño efectivo de las partículas, controlado por el parámetro σ , se establece en $\sigma = 0.47$ nm para todos los tipos normales de partículas. En el caso especial de partículas en anillos, sus tamaños se reducen ligeramente a $\sigma = 0.43$ nm y las intensidades de interacción ϵ se reescalan al 75 % del valor en los niveles estándar. Los niveles de intensidades correspondientes a las interacciones VdW entre los distintos tipos de partículas se puede encontrar en la Tabla 1 de la referencia [43].

Por otro lado, las interacciones electrostáticas para las partículas cargadas se describen mediante potenciales de Coulomb, ver Ec. (2.21). En este punto, la constante dieléctrica relativa ϵ_r constituye un parámetro clave, cuyo valor está fuertemente relacionado con el tipo de solvente utilizado. Es aquí donde cumplen un rol importante los diferentes modelos de agua.

El primero y más sencillo de todos es el modelo MARTINI de agua estándar, que presenta una única partícula neutra W (ver Fig. 2.6A). Dado que no considera cargas explícitas, las interacciones electrostáticas en este modelo se tratan de manera implícita utilizando un valor de ϵ_r uniforme. El valor establecido para obtener un comportamiento dieléctrico razonable es de $\epsilon_r = 15$. Sin embargo, debido a la ausencia de cargas, el agua estándar es invisible a los campos electrostáticos y a efectos de polarización. Si bien permite reproducir propiedades del agua en volumen, presenta problemas para describir el comportamiento correcto en interfaces y alrededor de partículas cargadas.

Para superar las limitaciones del modelo de agua estándar, otros modelos más complejos que incluyen cargas explícitas han sido desarrollado [86]. Uno de los más

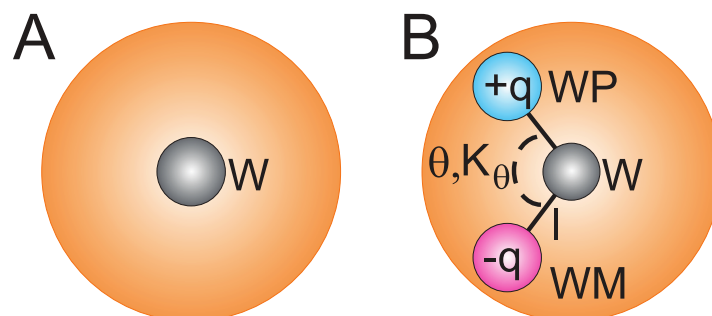


Figura 2.6: Modelos de agua MARTINI [85]. (A) Agua estándar. (B) Agua polarizable. Las esferas en naranja indican el radio de VdW de la partícula central W.

usados, es el modelo MARTINI de agua polarizable (*polarizable water*, PW) [85], que dispone de una partícula central W, unida a dos partículas cargadas pero sin masa WP y WM (ver Fig. 2.6B). Las interacciones VdW entre el agua y el resto de las partículas se establece a través de la partícula W, mientras que las interacciones electrostáticas son mediante WP y WM. En este modelo, WP y WM son libres de rotar alrededor de W, aunque la longitud de los enlaces W-WP y W-WM se mantienen fijos a una distancia l (aquí entra en juego el algoritmo LINCS). Además, el ángulo formado entre estos enlaces es controlado mediante un potencial armónico con ángulo de equilibrio θ y constante de fuerza K_θ , ver Ec. (2.17). Los parámetros del modelo fueron refinados por Yesylevskyy y colaboradores para reproducir distintas propiedades experimentales del agua [85]. Los valores finales de los parámetros optimizados se pueden encontrar en la Tabla 1 de la referencia [85]. Entre ellos se encuentra la constante dieléctrica relativa, que presenta un valor óptimo de $\epsilon_r = 2.5$ para el modelo PW.

2.3 Simulaciones

2.3.1 El paquete GROMACS

GROMACS es uno de los códigos de dinámica molecular más ampliamente usado en física, química y biología, con especial énfasis en biomoléculas [87]. GROMACS es muy rápido y eficiente, debido a que implementa muchas optimizaciones algorítmicas avanzadas que permiten paralelizar el cómputo y aprovechar al máximo los recursos disponibles. Entre ellas se pueden mencionar el uso de registros SIMD dentro de cada núcleo, procesamiento paralelo multi-hilo, aceleración heterogénea CPU-GPU y procesamiento paralelo multi-nodo con MPI.

Además de implementar todos los algoritmos usuales necesarios para realizar una simulación DM (integradores, termostatos, barostatos, algoritmos de vínculos, etc.), GROMACS incluye un conjunto muy amplio de herramientas para preparación, procesamiento y análisis. Esto lo convierte en un paquete muy completo, que no solo permite simular la dinámica, sino también armar y preparar el sistema, procesar la trayectoria y determinar una variedad de propiedades físicas y químicas.

GROMACS también incorpora los campos de fuerza más usuales en DM clásica, tales como AMBER, CHARMM, GROMOS y OPLS. En especial, MARTINI FF está implementado para GROMACS, con lo cual la integración en este software es directa.

Por último, vale la pena destacar que el software es de código abierto y libre (licencia LGPL), lo que resulta muy importante si se requiere modificar el código para hacer implementaciones propias, agregar características o expandir las herramientas.

2.3.2 Descripción de compuestos y modelos

Para la construcción de los sistemas hemos utilizado el copolímero en bloque PEO-PBD, que fue elegido por su importancia en aplicaciones en nanomedicina y sistemas de administración de drogas, particularmente en polimerosomas (ver Capítulo 1, Sección 1.5). El copolímero PEO-PBD es una cadena polimérica compuesta de dos bloques, uno correspondiente al polímero PEO y otro al PBD. Cada uno tiene asociada una unidad monomérica o monómero que lo define, y la concatenación repetida de estas unidades forma la cadena polimérica. Dado que los copolímeros pueden sintetizarse de longitudes arbitrarias, una manera de identificarlos es a partir del número de monómeros de cada especie. La nomenclatura en este caso sería $\text{PEO}_n\text{-PBD}_m$, donde n y m indican el respectivo número de monómeros PEO y PBD en la cadena. En la Fig. 2.7 se muestra a modo ilustrativo una cadena atomística (AA) de copolímero $\text{PEO}_3\text{-PBD}_3$, indicando entre corchetes los monómeros correspondientes.

Para realizar las simulaciones necesitamos disponer de un modelo CG para el copolímero PEO-PBD compatible con MARTINI FF. Para modelizar el bloque PEO utilizamos el modelo CG desarrollado por Lee y colaboradores [88], ya incluido dentro de la última implementación de MARTINI [89]. Por su parte, para el bloque PBD no existía ningún modelo CG compatible con MARTINI previo a este trabajo, al menos dentro de nuestro conocimiento. En esta dirección, decidimos desarrollar un modelo CG específico para el polímero PBD, tomando como punto de partida el modelo MARTINI para el lípido DUPS [89, 90]. Esta elección se debió a que DUPS dispone de una cola hidrofóbica que es químicamente similar a la cadena de PBD. Por lo tanto, consideramos por analogía la misma parametrización para establecer un modelo inicial para PBD, cuyos parámetros

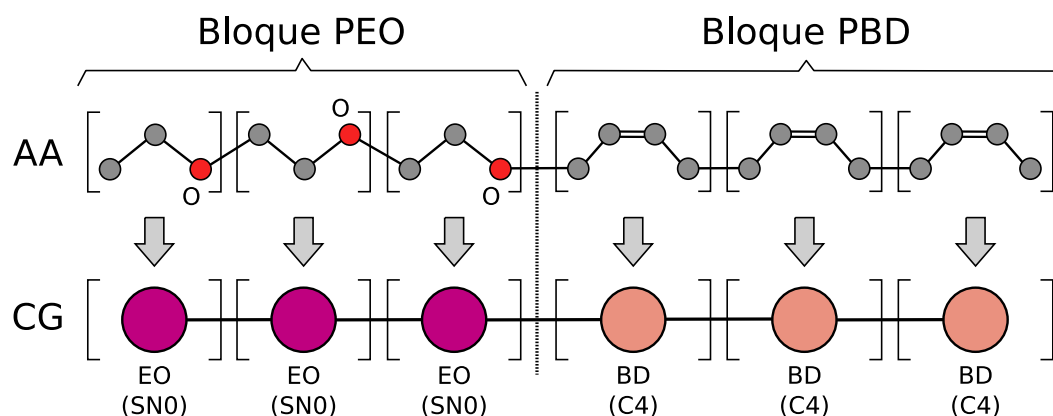


Figura 2.7: Esquema químico de una cadena atómica (AA) de $\text{PEO}_3\text{-PBD}_3$ y su respectivo mapeo a grano grueso (CG). Para simplicidad en la representación, los hidrógenos en la cadena AA son omitidos, así como también las etiquetas de los átomos de carbono (en gris). Las unidades monoméricas AA y sus equivalentes CG están identificados entre corchetes. Las partículas CG están rotuladas con su nombre y su tipo MARTINI (entre paréntesis).

fueron posteriormente refinados como se describe en el Capítulo 5. En base a estos modelos, el esquema de mapeo AA→CG para el copolímero PEO-PBD consiste en reemplazar a cada monómero por una partícula CG MARTINI equivalente como se ilustra en la Fig. 2.7.

Por otra parte, para estudiar las propiedades de los sistemas ante la carga de droga, hemos elegido el fármaco modelo prilocaína (PLC), un anestésico local ampliamente usado en odontología. Este fármaco tiene un pKa de 7.89 [91], motivo por el cual puede existir en dos estados de ionización diferentes dependiendo del valor del pH: en estado neutro (nPLC, alto pH) y protonado (pPLC, bajo pH) [92, 93]. Debido a estos dos estados de protonación diferentes, la PLC es un buen candidato para estudiar la encapsulación de compuestos tanto hidrofílicos como hidrofóbicos.

Para realizar las simulaciones con este fármaco, hemos utilizado el modelo CG para nPLC/pPLC propuesto por Pickholz y Giupponi [92]. Este modelo fue desarrollado dentro de MARTINI FF, por lo que resultó muy adecuado para nuestros estudios. La molécula de PLC (AA) y los respectivos modelos CG para las especies nPLC/pPLC se presentan en la Fig. 2.8.

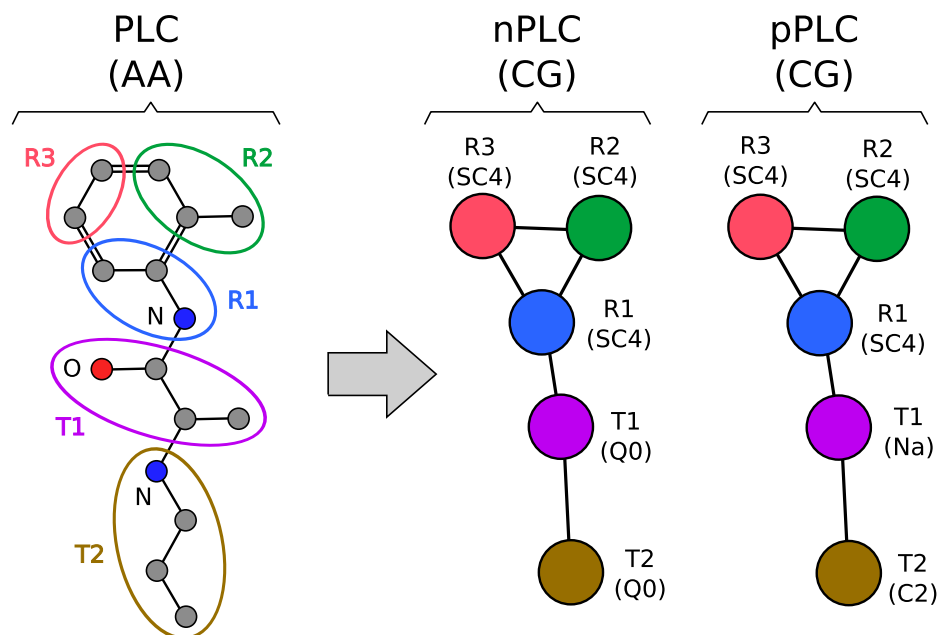


Figura 2.8: Esquema químico de la molécula de prilocaína (PLC, AA) y los respectivos mapeos a grano grueso de las especies neutra (nPLC, CG) y protonada (pPLC, CG). Para simplicidad en la representación, los hidrógenos en la cadena AA son omitidos, así como también las etiquetas de los átomos de carbono (en gris). Las partículas CG están rotuladas con su nombre y su tipo MARTINI (entre paréntesis).

2.3.3 Descripción de sistemas

A lo largo de esta tesis hemos estudiado tres tipos de sistemas, todos ellos basados en el copolímero PEO-PBD: mezclas poliméricas con agua, bicapas poliméricas y polimerosomas. Las mezclas poliméricas, formadas a partir de cadenas poliméricas distribuidas aleatoriamente en una caja y posteriormente hidratadas, fueron utilizadas para investigar propiedades de autoensamblado del PEO-PBD y estudiar la capacidad de este copolímero de formar bicapas. Por su parte, los sistemas de bicapas fueron útiles para determinar propiedades específicas de la membrana polimérica, tales como el espesor y el área por cadena, por citar algunos ejemplos. Las bicapas y los polimerosomas fueron simulados tanto en su estado puro como en presencia del fármaco PLC a distintas concentraciones. De estos estudios hemos determinado la respuesta de los sistemas ante la carga de droga y evaluado distintas propiedades relevantes para el diseño de polimerosomas como nanotransportadores. El método de construcción de cada sistema junto con los detalles de implementación computacional se describen en el Capítulo 4, Sección 4.1.

2.3.4 Minimización de energía

Para comenzar las simulaciones es necesario partir de una configuración localmente equilibrada para garantizar la estabilidad de la simulación. En este punto los métodos de minimización de energía son una herramienta clave para conseguir una estructura inicial en equilibrio local. GROMACS dispone de varios métodos de minimización de energía [59], entre ellos el algoritmo *steepest descent*, que es el utilizado en este trabajo. Básicamente, este método calcula las fuerzas en el estado actual y mueve las posiciones de las partículas una determinada cantidad en la dirección de las fuerzas. Este proceso es repetido iterativamente, calculando las fuerzas y actualizando las posiciones hasta lograr la convergencia (según algún valor de corte) o hasta alcanzar un número máximo de pasos. Si bien existen algoritmos más eficientes para alcanzar el mínimo local (por ejemplo, gradientes conjugados), la intención no es encontrar la configuración óptima, sino una estructura estable que sirva como punto de partida. En esta dirección, *steepest descent* ofrece un método muy simple y robusto, que permite llegar rápidamente a una configuración equilibrada.

2.3.5 Etapas de una simulación

En la realización de una simulación DM, numerosos pasos intervienen desde la construcción del sistema inicial hasta la obtención de la trayectoria y cantidades físicas de interés para ser posteriormente analizadas. En la Fig 2.9 se ilustra el diagrama de flujo que describe las etapas principales del proceso. En la primera etapa se toma el sistema inicial previamente construido y se efectúa una minimización de energía con el fin de obtener una estructura localmente equilibrada para iniciar la dinámica. En la siguiente etapa se toma el sistema optimizado localmente y se lleva a cabo el proceso de equilibración, en el cual se van realizando sucesivas simulaciones DM hasta que el sistema alcanza la configuración de equilibrio en las condiciones de simulación deseadas (por ejemplo, monitoreando el tamaño de caja, la energía o alguna otra variable relevante del sistema cuya convergencia indique la estabilidad del mismo). Por último, se toma la configuración de equilibrio alcanzada y se realiza la etapa de producción, en la cual se

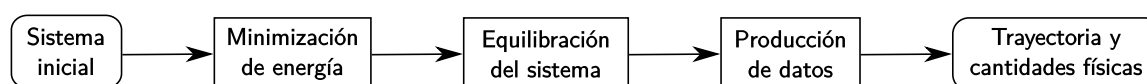


Figura 2.9: Etapas principales de una simulación DM: minimización de energía, equilibración del sistema y producción de datos.

extienden las simulaciones DM durante el tiempo requerido y se hace la recolección de la trayectoria y las cantidades físicas relevantes para su posterior análisis. Aquí solo hacemos una breve descripción del proceso, el detalle completo de cada etapa y su implementación computacional se describe en el Capítulo 4, Sección 4.2.

2.4 Propiedades físicas y herramientas de análisis

2.4.1 Energía, temperatura y presión

La energía interna total del sistema (E) se obtiene como promedio temporal de la energía cinética instantánea (\mathcal{K}) y energía potencial instantánea (\mathcal{V}):

$$E = \langle \mathcal{K} \rangle + \langle \mathcal{V} \rangle \quad (2.39)$$

donde \mathcal{V} se calcula como suma de contribuciones debida a todas las interacciones en la configuración actual (distancias de enlaces, ángulos, diedros, VdW, electrostáticas, ver Sección 2.1.3) y \mathcal{K} se obtiene como suma de las energías cinéticas de cada partícula individual:

$$\mathcal{K} = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N m_i |\mathbf{v}_i|^2 \quad (2.40)$$

Por otra parte, la temperatura del sistema (T) se puede calcular mediante el teorema de equipartición [49], el cual establece que cada grado de libertad aporta $k_B T/2$ a la energía cinética. Para un sistema de N partículas sujetas a N_c vínculos (por ejemplo, distancias y/o ángulos fijos, centro de masa fijo) se tienen $3N - N_c$ grados de libertad, por lo tanto la energía cinética del sistema será

$$\langle \mathcal{K} \rangle = (3N - N_c) \frac{k_B T}{2} \quad (2.41)$$

Aquí observamos que la temperatura está vinculada con el promedio temporal de la energía cinética y no con su valor instantáneo. Sin embargo, podemos introducir la temperatura instantánea (\mathcal{T}) definida como

$$\mathcal{T} = \frac{2\mathcal{K}}{(3N - N_c)k_B} = \frac{1}{(3N - N_c)k_B} \sum_{i=1}^N m_i |\mathbf{v}_i|^2 \quad (2.42)$$

cuyo promedio temporal $\langle \mathcal{T} \rangle$ coincide con T .

Por último, la presión del sistema (P) está relacionada con la temperatura (T), el volumen (V) y el virial interno (Ξ) mediante la expresión [49, 94]

$$P = \frac{1}{V} \left(Nk_B T + \frac{\langle \Xi \rangle}{3} \right) \quad (2.43)$$

donde Ξ es una cantidad física asociada a la energía configuracional del sistema en cada instante, que se define como

$$\Xi = \sum_i \mathbf{r}_i \cdot \mathbf{F}_i \quad (2.44)$$

Análogamente al caso de la temperatura, aquí también podemos definir una presión instantánea (\mathcal{P}) dada por

$$\mathcal{P} = \frac{1}{V} \left(Nk_B \mathcal{T} + \frac{\Xi}{3} \right) \quad (2.45)$$

cuyo promedio temporal $\langle \mathcal{P} \rangle$ es igual a la presión P . Cuando el volumen sea una magnitud variable, por ejemplo en el caso del ensemble NPT, se utilizan sus valores instantáneos en el cálculo de \mathcal{P} .

En resumen, para cada punto de la trayectoria se computan las variables instantáneas \mathcal{K} , \mathcal{V} , \mathcal{T} y \mathcal{P} a partir de las posiciones y velocidades a cada instante. Luego, se toma el promedio temporal de estas cantidades (a lo largo de la trayectoria) para obtener las energías, la temperatura y la presión del sistema.

2.4.2 Perfiles de densidad de masa

El perfil de densidad de masa (*mass density profile*, MDP) es una herramienta muy útil para caracterizar la distribución de los distintos componentes dentro del sistema y determinar algunas propiedades estructurales relevantes. Para los sistemas de bicapas (geometría plana) los MDPs fueron evaluados dividiendo al sistema en rebanadas de espesor h a lo largo de la dirección normal z (ver Fig. 2.10a) y calculando la densidad de masa promedio en cada rebanada a lo largo de la trayectoria:

$$\text{MDP}(z_s) = \left\langle \frac{m_s}{Ah} \right\rangle \quad (2.46)$$

donde z_s es la posición en z de la rebanada s , A el área de la caja en el plano paralelo a s y m_s la masa neta en s .

Por otra lado, para los polimerosomas (geometría esférica) los MDPs radiales fueron calculados usando un procedimiento similar, pero dividiendo al sistema en cáscaras esféricas concéntricas de espesor h centradas en el punto \mathbf{r}_0 (ver Fig. 2.10b) y calculando

la densidad de masa promedio en cada cáscara a lo largo de la trayectoria:

$$\text{MDP}(r_s) = \left\langle \frac{m_s}{(4/3)\pi [(r_s + h)^3 - r_s^3]} \right\rangle \quad (2.47)$$

donde r_s es el radio de la cáscara esférica s y m_s la masa neta en s .

En ambos casos, para calcular m_s simplemente sumamos las masas de todas las partículas en la rebanada/cáscara s (una partícula i está en s si $z_s \leq z_i < z_s + h$ en el caso planar, o $r_s \leq |\mathbf{r}_i - \mathbf{r}_0| < r_s + h$ en el caso esférico). Adicionalmente, si se requiere la densidad de un grupo de partículas específico G , restringimos la suma a todas las partículas en s y G (la pertenencia a G se resuelve mediante una estructura de datos que almacena los índices de todas las partículas que conforman dicho grupo).

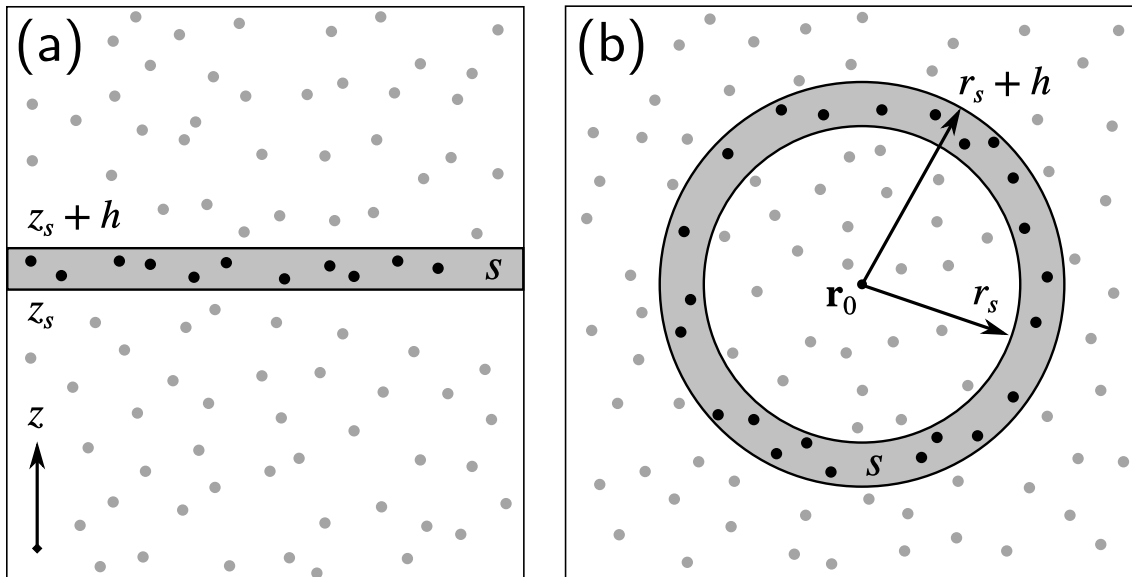


Figura 2.10: División de los sistemas para el cálculo de perfiles de densidades. (a) Sistemas de geometría plana: se dividen en rebanadas de espesor h a lo largo de la dirección normal z . (b) Sistemas de geometría esférica: se dividen en cáscaras esféricas concéntricas de espesor h centradas en el punto \mathbf{r}_0 .

2.4.3 Perfiles de presión

El perfil de presión es una herramienta muy importante para la comprensión del comportamiento mecánico de los sistemas a nivel microscópico. Dependiendo de la geometría del sistema, diferentes métodos han sido desarrollados para computarlo. A continuación describiremos brevemente los métodos para obtenerlo en sistemas de bicapas (geometría plana) y polimerosomas (geometría esférica), suponiendo conocidas las respectivas componentes de presión. En nuestro caso, el cálculo de las componentes de presión requirió de una implementación específica que es sumamente compleja y extensa para ser contada aquí. Los fundamentos teóricos del método de cálculo y su implementación computacional se desarrollan en detalle en los Capítulos 3 y 4.

Para sistemas de geometría plana, la presión local se representa mediante un tensor diagonal \mathbf{P} que solo depende de la coordenada normal z [64, 95]. Este tensor se puede escribir en la forma

$$\mathbf{P}(z) = P^{xx}(z)(\mathbf{e}_x \circ \mathbf{e}_x) + P^{yy}(z)(\mathbf{e}_y \circ \mathbf{e}_y) + P^{zz}(z)(\mathbf{e}_z \circ \mathbf{e}_z) \quad (2.48)$$

donde \mathbf{e}_x , \mathbf{e}_y , \mathbf{e}_z son los vectores ortogonales unitarios en coordenadas cartesianas, $P^{xx}(z)$, $P^{yy}(z)$, $P^{zz}(z)$ las componentes diagonales del tensor de presión y el símbolo “ \circ ” denota el producto diádico. De la simetría planar se deduce que $P^{xx}(z) = P^{yy}(z)$. En la práctica, definimos las componentes tangencial y normal del tensor de presión como $P_T(z) = [P^{xx}(z) + P^{yy}(z)]/2$ y $P_N(z) = P^{zz}(z)$, respectivamente. Para obtener los perfiles de presión, los sistemas fueron divididos en rebanadas a lo largo de la dirección z (usando el mismo procedimiento que para el cálculo de los MDPs, ver Fig. 2.10a) y computando $P_T(z)$ and $P_N(z)$ en cada rebanada (ver Capítulo 3, Secciones 3.3 y 3.5).

Para sistemas de geometría esférica, el tensor de presión local es también diagonal y solo depende de la coordenada radial r [95]. Este tensor se representa mediante la expresión

$$\mathbf{P}(r) = P^{rr}(r)(\mathbf{e}_r \circ \mathbf{e}_r) + P^{\theta\theta}(r)(\mathbf{e}_\theta \circ \mathbf{e}_\theta) + P^{\phi\phi}(r)(\mathbf{e}_\phi \circ \mathbf{e}_\phi) \quad (2.49)$$

donde \mathbf{e}_r , \mathbf{e}_θ , \mathbf{e}_ϕ son los vectores ortogonales unitarios en coordenadas esféricas, y $P^{rr}(r)$, $P^{\theta\theta}(r)$, $P^{\phi\phi}(r)$ las respectivas componentes del tensor de presión. Debido a la simetría esférica, se obtiene que $P^{\theta\theta}(r) = P^{\phi\phi}(r)$. En este caso, las componentes tangencial y normal del tensor de presión se definen como $P_T(r) = [P^{\theta\theta}(r) + P^{\phi\phi}(r)]/2$ y $P_N(r) = P^{rr}(r)$ respectivamente. Los perfiles de presión fueron calculados discretizando el sistema en cáscaras esféricas concéntricas (usando el procedimiento análogo al cálculo de los MDPs, ver Fig. 2.10b) y computando $P_T(z)$ y $P_N(z)$ en cada cáscara esférica (ver Capítulo 3, Secciones 3.4 y 3.5).

2.4.4 Energía elástica de membranas: Modelo de Helfrich

Algunas propiedades geométricas, mecánicas y termodinámicas de las membranas pueden ser entendidas desde un punto de vista unificado mediante la energía libre asociada a sus deformaciones, o energía libre elástica. Las deformaciones de una membrana pueden caracterizarse en términos de las curvaturas principales c_1 y c_2 , que corresponden a las curvaturas en las dos direcciones principales de la superficie, tal como se ilustra en la Fig. 2.11. Las curvaturas c_1, c_2 se relacionan con sus respectivos radios de curvatura R_1, R_2 mediante $c_i = 1/R_i$. En el caso de membranas planas, se satisface que $c_1, c_2 \rightarrow 0$, lo cual implica $R_1, R_2 \rightarrow \infty$.

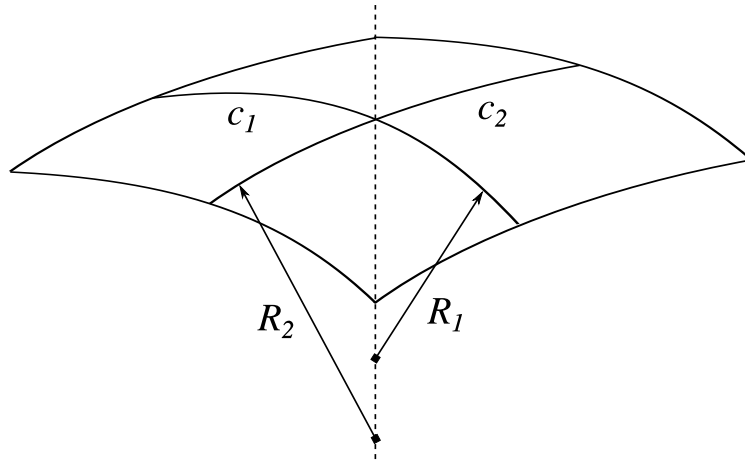


Figura 2.11: Ilustración de la deformación de una membrana. Las curvaturas principales c_1 y c_2 están relacionados con sus respectivos radios de curvatura R_1 y R_2 mediante $c_1 = 1/R_1$ y $c_2 = 1/R_2$.

El modelo de Helfrich [96] provee una formulación adecuada para describir la energía libre elástica por unidad de área (f) de una membrana. En este modelo, se realiza una expansión de Taylor de f a segundo orden en c_1 y c_2 , quedando una expresión del tipo [97]

$$f(c_1, c_2) = f_0 + f_1 c_1 + f_2 c_2 + f_3 c_1^2 + f_4 c_2^2 + f_5 c_1 c_2 \quad (2.50)$$

donde los coeficientes f_0, \dots, f_5 están asociados a las derivadas de f respecto de c_1, c_2 evaluadas en $c_1 = c_2 = 0$. Sin embargo, resulta conveniente reescribir f en términos de la curvatura media $H = (c_1 + c_2)/2$ y la curvatura gaussiana $K = c_1 c_2$. Haciendo el cambio de variables y los arreglos algebraicos correspondientes, f adopta la forma [96–98]

$$f(H, K) = 2\kappa (H - H_0)^2 + \bar{\kappa} K \quad (2.51)$$

donde κ es el módulo de curvatura media, $\bar{\kappa}$ el módulo de curvatura gaussiana y H_0 la curvatura espontánea. Al provenir de una expansión de Taylor a segundo orden, el modelo de Helfrich es válido en el límite de bajas curvaturas, cuando el espesor de la membrana es mucho más chico que el radio de curvatura [97], por lo tanto adecuado para describir la energía elástica en bicapas planas y vesículas gigantes. Dado que los parámetros elásticos κ , $\bar{\kappa}$ y H_0 se definen a curvatura cero, deben ser estimados para membranas planas. Estos parámetros están relacionados con los perfiles de presión mediante las siguientes expresiones [99–102]:

$$-2\kappa H_0 = \int_{-L_z/2}^{+L_z/2} z [P_N(z) - P_T(z)] dz \quad (2.52)$$

$$\bar{\kappa} = \int_{-L_z/2}^{+L_z/2} z^2 [P_N(z) - P_T(z)] dz \quad (2.53)$$

donde L_z denota el tamaño de la caja de simulación en la dirección z . Observemos que si conocemos los perfiles de presión se pueden calcular $\bar{\kappa}$ y el producto κH_0 , pero no κ y H_0 por separado. Sin embargo, κ se puede estimar independientemente mediante el análisis de las fluctuaciones de la membrana, y luego con este valor despejar H_0 . Para determinar κ , en este trabajo hemos aplicado un método similar al propuesto por Brandt y colaboradores [103], cuya implementación se describe en Apéndice A.1.

Ahora consideramos el caso de vesículas de tamaño relativamente chico, donde el espesor de membrana y el radio de curvatura están dentro del mismo orden de magnitud. En esta situación, el modelo de Helfrich original ya no es válido, por lo que se requiere un tratamiento alternativo para describir el comportamiento elástico de la membrana. Para abordar este problema hemos utilizado el método desarrollado por Nakamura y colaboradores [97], que considera la dependencia explícita de los parámetros elásticos con la curvatura. En este modelo, la energía libre elástica se escribe como expansión de Taylor alrededor de una superficie esférica de radio R y curvatura $\hat{c} = \hat{c}_1 = \hat{c}_2 = -1/R$ (el signo menos proviene de la convención para la dirección normal de la superficie tomada por los autores [97]). La expresión resultante lleva a la energía libre elástica de Helfrich modificada:

$$f_{Hel}(H, K; \hat{c}) = 2\kappa(\hat{c}) (H - H_0(\hat{c}))^2 + \bar{\kappa}(\hat{c})K \quad (2.54)$$

donde $\kappa(\hat{c})$, $H_0(\hat{c})$, $\bar{\kappa}(\hat{c})$ son los respectivos parámetros elásticos dependientes de la curvatura. Estos parámetros están relacionados mediante las siguientes expresiones [97]

$$H_0(\hat{c}) = \hat{H} + \frac{M_0 R}{2\kappa(\hat{c})} \quad (2.55)$$

$$\bar{\kappa}(\hat{c}) = \frac{1}{3}M_2 - M_0R^2 \quad (2.56)$$

donde $\hat{H} = -1/R$ es la curvatura media evaluada en \hat{c} , y M_n se define a través de una integral que involucra a los perfiles de presión radial:

$$M_n = \int_0^{R_m} r^n [P_N(r) - P_T(r)] dr \quad (2.57)$$

El parámetro R_m es el valor del radio máximo (que depende del tamaño del sistema), mientras que el valor de R se considera igual al radio de la superficie neutral de la membrana (R_s), para la cual el momento de curvatura se anula [104]. El valor de R_s se puede calcular mediante la expresión [105]

$$R_s^3 = \frac{\int_0^{R_m} r^2 [P_N(r) - P_T(r)] dr}{\int_0^{R_m} r^{-1} [P_N(r) - P_T(r)] dr} \quad (2.58)$$

Al igual que en el modelo de Helfrich original, aquí también la determinación de $\bar{\kappa}(\hat{c})$ solo requiere conocer los perfiles de presión, pero $H_0(\hat{c})$ necesita además el valor de $\kappa(\hat{c})$. Este parámetro se puede estimar mediante el análisis de los modos de fluctuación de la superficie de la vesícula. Para realizarlo, aquí hemos utilizado un método similar al desarrollado por Braun y colaboradores [106], cuya implementación se detalla en el Apéndice A.2.

Capítulo 3

Cálculo de perfiles de presión

3.1 Definición microscópica de la presión

La presión del sistema a nivel microscópico en un dado punto \mathbf{r} a tiempo t esta representada por el tensor $\mathbf{P}(\mathbf{r}, t)$, que se vincula con la densidad de momento $\mathbf{J}(\mathbf{r}, t)$ mediante la ecuación de conservación del momento [107, 108]:

$$\frac{\partial \mathbf{J}(\mathbf{r}, t)}{\partial t} = -\nabla \cdot \mathbf{P}(\mathbf{r}, t) \quad (3.1)$$

Observemos que si un dado tensor \mathbf{P} satisface la Ec. (3.1), el tensor $\mathbf{P} + \mathbf{P}_0$ también es solución para cualquier \mathbf{P}_0 arbitrario que cumpla $\nabla \cdot \mathbf{P}_0 = 0$. Esto implica que la definición de \mathbf{P} es ambigua, ya que puede determinarse a menos de un tensor aditivo de divergencia cero. Schofield y Henderson demostraron que el tensor de presión microscópico para un sistema de N partículas puntuales se puede escribir en la forma [108]:

$$\mathbf{P}(\mathbf{r}, t) = \sum_{i=1}^N m_i (\mathbf{v}_i \circ \mathbf{v}_i) \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) - \sum_{i=1}^N \nabla_i V(\{\mathbf{r}_i\}) \circ \int_{\mathcal{C}_{0i}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l}) d\mathbf{l} \quad (3.2)$$

donde m_i , \mathbf{r}_i y \mathbf{v}_i son la masa, la posición y la velocidad de la partícula i a tiempo t , $V(\{\mathbf{r}_i\})$ el potencial de interacción en la actual configuración $\{\mathbf{r}_i\} = \{\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N\}$, el contorno \mathcal{C}_{0i} sobre el que se realiza la integral representa algún camino que conecta un punto arbitrario \mathbf{r}_0 con \mathbf{r}_i , el símbolo “ \circ ” denota el producto diádico y $\delta(\cdot)$ la función delta de Dirac. Como observamos, la ambigüedad en la definición de \mathbf{P} se traduce aquí en una ambigüedad para la elección de \mathcal{C}_{0i} . Para una mejor comprensión, se puede consultar la derivación completa de esta expresión en el Apéndice B.1.

Analizando la Ec. (3.2), por un lado observamos que \mathbf{P} no depende explícitamente del tiempo, sino a través de las posiciones y velocidades de manera implícita. Por lo tanto, para mayor simplicidad en la notación, vamos a omitir la variable t momentáneamente en la formulación, pero sin perder de vista que las cantidades involucradas están asociadas al estado del sistema en un instante de tiempo particular.

Por otra parte, identificamos que la expresión de \mathbf{P} se compone de dos términos, uno que depende de las velocidades \mathbf{v}_i y otro de la configuración $\{\mathbf{r}_i\}$. Al primero se lo asocia con la *presión cinética* del sistema, que denotaremos \mathbf{P}_K ; el segundo se corresponde con la *presión configuracional*, que definiremos como \mathbf{P}_C . De esta manera, la presión local del sistema en un cierto punto \mathbf{r} en el estado actual se puede expresar como

$$\mathbf{P}(\mathbf{r}) = \mathbf{P}_K(\mathbf{r}) + \mathbf{P}_C(\mathbf{r}) \quad (3.3)$$

donde

$$\mathbf{P}_K(\mathbf{r}) = \sum_{i=1}^N m_i (\mathbf{v}_i \circ \mathbf{v}_i) \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) \quad (3.4)$$

$$\mathbf{P}_C(\mathbf{r}) = - \sum_{i=1}^N \nabla_i V(\{\mathbf{r}_i\}) \circ \int_{\mathcal{C}_{0i}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l}) d\mathbf{l} \quad (3.5)$$

La expresión para \mathbf{P}_K es bien sencilla y permite su determinación directa conociendo las posiciones y velocidades de cada partícula. En cambio, la expresión para \mathbf{P}_C es bastante más complicada y no resulta de utilidad en la práctica, dada la ambigüedad en el contorno de integración \mathcal{C}_{0i} . Sin embargo, utilizando la forma del potencial (aditivo de m -cuerpos) es posible reescribirla de una manera más adecuada para su cálculo, como veremos a continuación.

3.2 Presión configuracional para potenciales de m -cuerpos

Tal como describimos en el Capítulo 2, Sección 2.1.3, el potencial se descompone como suma de contribuciones de dos o más cuerpos: distancias de enlace (2-cuerpos), ángulos de enlace (3-cuerpos), diedros (4-cuerpos) e interacciones de pares a distancia (2-cuerpos). Más en general, consideremos un conjunto o *cluster* de m partículas interactuando a través de un potencial de m -cuerpos, con $m \geq 2$. Para introducir la notación, identifiquemos al cluster de m partículas como $\langle j \rangle = \{j_1, j_2, \dots, j_m\}$, al conjunto de sus posiciones como $\{\mathbf{r}_{\langle j \rangle}\} = \{\mathbf{r}_{j_1}, \mathbf{r}_{j_2}, \dots, \mathbf{r}_{j_m}\}$, y al potencial que actúa sobre ellas como $V^{(m)}(\{\mathbf{r}_{\langle j \rangle}\})$. Luego, el potencial total del sistema se escribe como suma de todas las contribuciones

provinientes de cada posible $\langle j \rangle$ para cada posible m :

$$V(\{\mathbf{r}_i\}) = \sum_{m \geq 2} \sum_{\langle j \rangle} V^{(m)}(\{\mathbf{r}_{\langle j \rangle}\}) \quad (3.6)$$

La fuerza sobre una dada partícula $k \in \langle j \rangle$ se obtiene tomando el gradiente del potencial sobre sus coordenadas:

$$\mathbf{F}_k = -\nabla_k V(\{\mathbf{r}_k\}) = -\sum_{m \geq 2} \sum_{\langle j \rangle} \nabla_k V^{(m)}(\{\mathbf{r}_{\langle j \rangle}\}) = \sum_{m \geq 2} \sum_{\langle j \rangle} \mathbf{F}_{k|j} \quad (3.7)$$

donde $\mathbf{F}_{k|j}$ denota la fuerza sobre la partícula k debido al cluster $\langle j \rangle$. Utilizando esta expresión en la Ec. (3.5) y reacomodando las sumas se obtiene:

$$\mathbf{P}_C(\mathbf{r}) = \sum_{m \geq 2} \sum_{\langle j \rangle} \sum_{k=j_1}^{j_m} \mathbf{F}_{k|j} \circ \int_{\mathcal{C}_{0k}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l}) d\mathbf{l} \quad (3.8)$$

donde ahora la suma sobre las partículas se realiza sobre toda partícula $k \in \langle j \rangle$, es decir, $k = j_1, \dots, j_m$.

Por otro lado, dada la ambigüedad en la definición del contorno \mathcal{C}_{0k} , la manera de elegirlo no está establecida de manera única. Siguiendo la propuesta de Goetz y Lipowsky, una posible elección es tomar alguna partícula arbitraria $i \in \langle j \rangle$, y descomponer $\mathcal{C}_{0k} = \mathcal{C}_{0i} \cup \mathcal{C}_{ik}$ [109]. Usando este contorno, la Ec. (3.8) queda reescrita como

$$\mathbf{P}_C(\mathbf{r}) = \sum_{m \geq 2} \sum_{\langle j \rangle} \sum_{k=j_1}^{j_m} \mathbf{F}_{k|j} \circ \left\{ \int_{\mathcal{C}_{0i}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l}) d\mathbf{l} + \int_{\mathcal{C}_{ik}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l}) d\mathbf{l} \right\} \quad (3.9)$$

Teniendo en cuenta que los potenciales $V^{(m)}$ son invariantes traslacionales, esto implica que la fuerza total sobre cada cluster $\langle j \rangle$ debido a sus interacciones internas se anula, es decir

$$\sum_{k=j_1}^{j_m} \mathbf{F}_{k|j} = 0 \quad (3.10)$$

Luego, sacando la integral sobre \mathcal{C}_{0i} fuera de la sumatoria sobre k (pues la integral no depende de k) y usando la condición (3.10), podemos demostrar que el primer término en la Ec. (3.9) se anula [109]. Esto nos permite reescribir el tensor de presión configuracional como

$$\mathbf{P}_C(\mathbf{r}) = \sum_{m \geq 2} \sum_{\langle j \rangle} \mathbf{P}_j(\mathbf{r}) \quad (3.11)$$

donde $\mathbf{P}_j(\mathbf{r})$ es la contribución a la presión configuracional debido al cluster $\langle j \rangle$, cuya expresión viene dada por

$$\mathbf{P}_j(\mathbf{r}) = \sum_{k=j_1}^{j_m} \mathbf{F}_{k|j} \circ \int_{\mathcal{C}_{ik}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l}) d\mathbf{l} \quad (3.12)$$

A esta ecuación la denominaremos *descomposición de referencia* (REF), dado que para cada $k \in \langle j \rangle$ los contornos \mathcal{C}_{ik} se establecen contra una partícula de referencia i . En este esquema, cualquier partícula arbitraria $i \in \langle j \rangle$ es elegible. Sin embargo, podemos independizarnos de la ambigüedad en la elección simplemente tomando el promedio sobre todos posibles i . Esto conduce a una expresión en la cual cada par de partículas (i, k) ocurre dos veces. Si elegimos los contornos \mathcal{C}_{ik} y \mathcal{C}_{ki} idénticos pero de sentido contrario, al tomar los promedios sobre todos los i se obtiene [109]

$$\mathbf{P}_j(\mathbf{r}) = \frac{1}{m} \sum_{\langle i, k \rangle} \{ \mathbf{F}_{k|j} - \mathbf{F}_{i|j} \} \circ \int_{\mathcal{C}_{ik}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l}) d\mathbf{l} \quad (3.13)$$

donde $\langle i, k \rangle$ denota que la suma se realiza sobre cada posible par de partículas (i, k) en el cluster $\langle j \rangle$. A esta expresión la denominaremos *descomposición de Goetz-Lipowsky* (*Goetz-Lipowsky decomposition*, GLD).

Tanto el esquema REF de la Ec. (3.12) como el esquema GLD de la Ec. (3.13) brindan dos expresiones diferentes para obtener $\mathbf{P}_j(\mathbf{r})$. Sin embargo, el esquema REF es computacionalmente más eficiente que GLD debido a que el número de términos a evaluar por cada cluster es menor: $m - 1$ en REF (la suma contiene m términos pero el correspondiente a $k = i$ no se considera por ser siempre nulo) contra $m(m - 1)/2$ en GLD (el número de todos los posibles pares en el cluster). En particular, la eficiencia del esquema REF puede maximizarse para sistemas de geometría esférica eligiendo estratégicamente la partícula de referencia i , tal como discutimos más adelante en la Sección 3.4.

Ahora nos centraremos en cómo resolver la integral sobre el contorno \mathcal{C}_{ik} . Por simplicidad, de aquí en adelante haremos todo el desarrollo en el esquema REF dada su expresión más compacta. La extensión al esquema GLD es inmediata, simplemente incluyendo los términos adicionales que correspondan. Si bien la elección del contorno sigue siendo ambigua, existen dos definiciones populares que han sido ampliamente exploradas en la literatura: el contorno de Irving-Kirkwood (IK) [107] y el contorno de Harasima (H) [110]. En las próximas secciones examinaremos el cálculo de $\mathbf{P}_j(\mathbf{r})$ aplicando estos contornos en sistemas de geometría plana y esférica.

3.3 Presión configuracional en sistemas de geometría plana

Supongamos un sistema de geometría plana cuyas direcciones tangenciales son denotadas por x, y mientras que la dirección normal es identificada por z . En el esquema REF, las componentes $\alpha\beta$ del tensor $\mathbf{P}_j(\mathbf{r})$ se calculan mediante su proyección sobre las respectivas direcciones:

$$P_j^{\alpha\beta}(\mathbf{r}) = \sum_{k=j_1}^{j_m} (\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{e}_\alpha) \int_{\mathcal{C}_{ik}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l})(d\mathbf{l} \cdot \mathbf{e}_\beta) = \sum_{k=j_1}^{j_m} F_{k|j}^\alpha \int_{\mathcal{C}_{ik}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l}) dl^\beta \quad (3.14)$$

donde \mathbf{e}_α y \mathbf{e}_β son los versores en las direcciones cartesianas α y β ($\alpha, \beta = x, y, z$), $F_{k|j}^\alpha = \mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{e}_\alpha$ la componente α de la fuerza sobre la partícula k debido al cluster $\langle j \rangle$ y $dl^\beta = d\mathbf{l} \cdot \mathbf{e}_\beta$ la componente β del diferencial de camino $d\mathbf{l}$.

Recordemos que para sistemas de geometría plana el tensor de presión es diagonal y sus componentes solo dependen de la coordenada z (ver Capítulo 2, Sección 2.4.3). Por lo tanto, las componentes cruzadas ($\alpha \neq \beta$) se anulan y debemos calcular solamente la dependencia en z de las componentes diagonales $\alpha\alpha$. En la práctica, este cálculo se implementa dividiendo al sistema en rebanadas de espesor h a lo largo de z y evaluando la presión promedio en cada rebanada s :

$$P_j^{\alpha\alpha}(z_s) = \frac{1}{V_s} \int_{V_s} P_j^{\alpha\alpha}(\mathbf{r}) d\mathbf{r} \quad (3.15)$$

donde z_s es la posición en z de la rebanada s y $V_s = Ah$ su volumen, con A el área de la caja A sobre el plano tangencial. Insertando la Ec. (3.14) en (3.15) obtenemos

$$P_j^{\alpha\alpha}(z_s) = \sum_{k=j_1}^{j_m} P_{ik}^{\alpha\alpha}(z_s) \quad (3.16)$$

donde

$$P_{ik}^{\alpha\alpha}(z_s) = \frac{1}{V_s} F_{k|j}^\alpha \int_{V_s} \int_{\mathcal{C}_{ik}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l}) dl^\alpha d\mathbf{r} \quad (3.17)$$

representa la contribución $\alpha\alpha$ a la presión configuracional en la rebanada s debida al par de interacción (i, k) .

Ahora solo nos faltaría calcular la doble integral, lo cual requiere establecer el contorno de integración \mathcal{C}_{ik} . Aquí es donde entran en juego los dos tipos de contornos antes mencionados: IK y H. En sistemas de coordenadas cartesianas, Sonne y colaboradores

han mostrado que ambas definiciones proveen perfiles de presión muy similares [111]. Por lo tanto, estas dos elecciones de contornos son adecuadas para el tratamiento de sistemas planares. Mientras que IK conecta a las partículas i, k mediante una línea recta, H lo hace a través de un camino que consta de dos tramos, uno vertical y otro horizontal. Una ilustración esquemática de ambos contornos se visualiza en la Fig. 3.1.

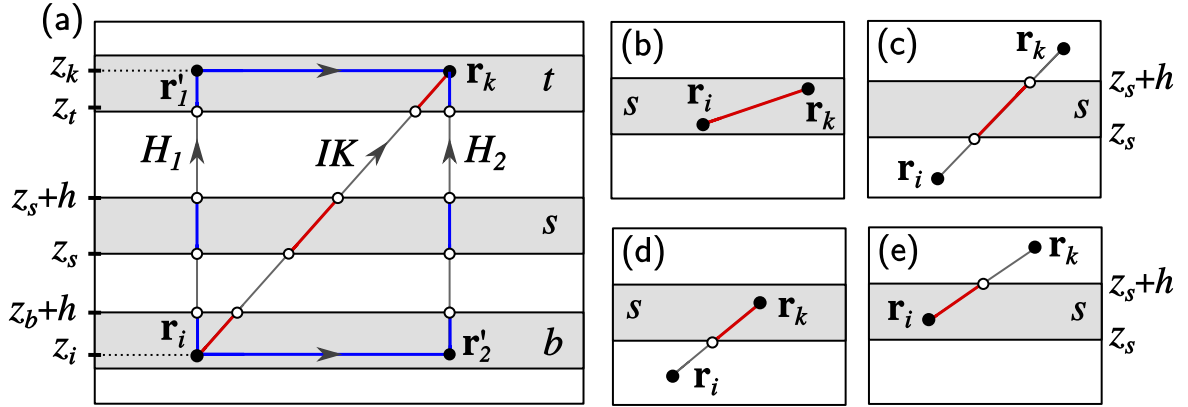


Figura 3.1: (a) Ilustración de los contornos de Irving-Kirkwood (IK) y Harasima (H) y sus respectivos segmentos que contribuyen a cada región en rojo y azul. En el caso del contorno H hay dos posibles elecciones, identificadas por los caminos H_1 y H_2 . (b-e) Posibles casos para la contribución IK: (b) ambas partículas dentro de la rebanada s , (c) ambas fuera, una a cada lado de s y (d-e) una dentro y otra fuera de s .

Para ambas definiciones, los aportes de cada contorno a las componentes de presión en las distintas rebanadas están relacionados con las fracciones de camino incluidos en ellas (segmentos rojos y azules, Fig. 3.1a). El contorno IK contribuye a la presión en las tres componentes, en cambio, el contorno H contribuye a la componente normal ($\alpha = z$) solo en el tramo vertical y a las componentes tangenciales solo en el tramo horizontal ($\alpha = x, y$). En particular, para la componente normal, el aporte del contorno H es idéntico al provisto por el contorno IK. Además, en el caso H tenemos dos posibles caminos, que se identifican por H_1 y H_2 en la Fig. 3.1a. Dado que ambos caminos son igualmente elegibles, no hay razón para optar por uno o el otro, por lo tanto calculamos el aporte debido a ambos caminos y tomamos el promedio. Resolviendo la doble integral en la Ec. (3.17) para los dos contornos IK y H, es posible demostrar que $P_{ik}^{\alpha\alpha}(z_s)$ adopta la

forma [109, 111–113]:

$$P_{ik}^{\alpha\alpha}(z_s) = \begin{cases} \frac{F_{k|j}^{\alpha} r_{ik}^{\alpha}}{V_s} \frac{f_1(z_i, z_s) + f_1(z_k, z_s)}{2} & \text{si contorno} = \text{H y } \alpha = x, y \\ \frac{F_{k|j}^{\alpha} r_{ik}^{\alpha}}{V_s} f_2(z_i, z_k, z_s) & \text{si contorno} = \text{H y } \alpha = z \\ & \text{o contorno} = \text{IK } \forall \alpha \end{cases} \quad (3.18)$$

donde f_1 es una función 1-cuerpo (involucra a una sola partícula, i o k), f_2 una función de 2-cuerpos (depende de ambas partículas i y k) y r_{ik}^{α} es la componente α del vector $\mathbf{r}_{ik} = \mathbf{r}_k - \mathbf{r}_i$. La expresión de f_1 está dada por

$$f_1(z_i, z_s) = \begin{cases} 1 & \text{si } z_s \leq z_i < z_s + h \\ 0 & \text{en otro caso} \end{cases} \quad (3.19)$$

La función f_2 es un poco más compleja y contempla varios casos, dependiendo de cómo estén posicionadas las partículas i y k respecto de s (ver Figs. 3.1b-3.1e). Sin embargo, suponiendo $z_i \leq z_k$, esta función se puede escribir de manera compacta en la forma:

$$f_2(z_i, z_k, z_s) = \begin{cases} 1 & \text{si } \Delta z = 0 \text{ y } \delta z_s = 0 \\ \delta z_s / \Delta z & \text{si } \Delta z > 0 \text{ y } \delta z_s > 0 \\ 0 & \text{en otro caso} \end{cases} \quad (3.20)$$

donde $\delta z_s = \min(z_k, z_s + h) - \max(z_i, z_s)$ y $\Delta z = z_k - z_i$. La demostración de las Ecs. (3.18)-(3.20) puede consultarse en el Apéndice B.2.

En la práctica, para implementar el cálculo de las componentes de presión hay que obtener todas las rebanadas sobre las cuales aporta el par de interacción (i, k) y luego adicionar la contribución correspondiente sobre cada una. En virtud de las Ecs. (3.18)-(3.20), deducimos que para el contorno H (solo componentes tangenciales) la interacción (i, k) aporta exclusivamente sobre las rebanadas que contienen a i y k , mientras que para el contorno IK (todas las componentes) esta interacción aporta sobre cada rebanada que es intersecada por la línea que une a i con k (ver Fig. 3.1a). Los índices de las rebanadas que contienen a i y k se denotan por n_i y n_k y se calculan como

$$n_i = \text{floor}(z_i/h) \quad ; \quad n_k = \text{floor}(z_k/h) \quad (3.21)$$

donde $\text{floor}(x)$ es una función que devuelve el máximo entero n tal que $n \leq x$. Suponiendo $z_i \leq z_k$ tenemos $n_i \leq n_k$. Luego, para el contorno H las rebanadas s que reciben aporte de la interacción (i, k) son solamente las de índices $n_s = n_i$ y $n_s = n_k$. En cambio, para

el contorno IK todas las rebanadas de índices n_s en el rango $n_i \leq n_s \leq n_k$ reciben contribución. Por último, para calcular las contribuciones en términos de las Ecs. (3.18)-(3.20), hay que establecer la posición de cada rebanada s , la cual se puede escribir en función de su índice en la forma $z_s = n_s h$. Con todo esto, una vez determinadas n_i y n_k , se determinan todos los n_s que reciben contribución y se calculan las componentes $P_{ik}^{\alpha\alpha}(z_s)$ para cada s . Estas componentes se van sumando a una variable $P_\nu(n_s)$ que guarda el valor acumulado de la respectiva componente de presión para cada n_s , donde $\nu = N, T$ para la presión normal y tangencial respectivamente. Estos $P_\nu(n_s)$ representan los denominados *perfiles de presión* (en realidad éstos dependen de z_s , pero con la relación $z_s = n_s h$ la conversión es inmediata). Recordemos que el perfil normal es igual a la componente P^{zz} , mientras que el perfil tangencial se obtiene como $(P^{xx} + P^{yy})/2$. El procedimiento esbozado aquí para calcular el aporte de la interacción (i, k) a los perfiles de presión se describe con detalle en el Algoritmo 3.1.

Algoritmo 3.1: Aporte del par de interacción (i, k) a los perfiles de presión en sistemas planares.

Dadas las posiciones $\mathbf{r}_i, \mathbf{r}_k$, los lados de la caja L_x, L_y , las componentes de fuerza $F_{k|j}^\alpha$ ($\alpha = x, y, z$) y las variables $P_\nu(n_s)$ donde acumulamos los perfiles de presión normal ($\nu = N$) y tangencial ($\nu = T$):

1. Si $z_i > z_k$, permutar $\mathbf{r}_i \leftrightarrow \mathbf{r}_k$ para asegurar $z_i \leq z_k$.
 2. Calcular $\mathbf{r}_{ik} = \mathbf{r}_k - \mathbf{r}_i$ y obtener sus componentes r_{ik}^α .
 3. Calcular $n_i = \text{floor}(z_i/h)$ y $n_k = \text{floor}(z_k/h)$.
 4. Calcular $V_s = L_x L_y h$ (el mismo volumen para todo n_s).
 5. Si contorno = H:
 - 5.1. Para $n_s = n_i, n_k$:
 - 5.1.1. Calcular $z_s = n_s h$.
 - 5.1.2. Computar contribuciones P_{ik}^{xx} y P_{ik}^{yy} usando las Ecs. (3.18) y (3.19).
 - 5.1.3. Sumar contribución al perfil de presión T : $P_T(n_s) = P_T(n_s) + (P_{ik}^{xx} + P_{ik}^{yy})/2$.
 6. Sino:
 - 6.1. Para $n_s = n_i, \dots, n_k$:
 - 6.1.1. Calcular $z_s = n_s h$, $z_{min} = \max(z_i, z_s)$ y $z_{max} = \min(z_k, z_s + h)$.
 - 6.1.2. Computar contribuciones $P_{ik}^{\alpha\alpha}$ usando las Ecs. (3.18) y (3.20).
 - 6.1.3. Sumar contribución al perfil de presión T : $P_T(n_s) = P_T(n_s) + (P_{ik}^{xx} + P_{ik}^{yy})/2$.
 - 6.1.4. Sumar contribución al perfil de presión N : $P_N(n_s) = P_N(n_s) + P_{ik}^{zz}$.
-

3.4 Presión configuracional en sistemas de geometría esférica

Supongamos ahora un sistema de geometría esférica cuyas direcciones tangenciales son denotadas por θ, ϕ mientras que la dirección normal es identificada por r . Siguiendo la misma línea de razonamiento que para el caso planar, las componentes $\alpha\beta$ del tensor $\mathbf{P}_j(\mathbf{r})$ se calculan mediante su proyección sobre las respectivas direcciones tal como se indica en la Ec. (3.14), salvo que ahora α, β representan las correspondientes direcciones en coordenadas esféricas ($\alpha, \beta = r, \theta, \phi$). Sin embargo, solo nos interesan las componentes diagonales $\alpha\alpha$, dado que el tensor de presión es diagonal debido a la simetría esférica (ver Capítulo 2, Sección 2.4.3). En este caso resulta más adecuado trabajar con las componentes normal y tangencial en lugar de usar las $\alpha\alpha$. El cálculo de estas componentes se lleva a cabo mediante el método desarrollado por Nakamura y colaboradores [114], cuyos lineamientos se detallan a continuación.

La componente normal de $\mathbf{P}_j(\mathbf{r})$ es igual a $P^{rr}(\mathbf{r})$ y se puede escribir en la forma:

$$P_j^N(\mathbf{r}) = \sum_{k=j_1}^{j_m} \int_{\mathcal{C}_{ik}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l})(\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{e}_r)(d\mathbf{l} \cdot \mathbf{e}_r) \quad (3.22)$$

Por su parte, la componente tangencial de $\mathbf{P}_j(\mathbf{r})$ es igual a $[P^{\theta\theta}(\mathbf{r}) + P^{\phi\phi}(\mathbf{r})]/2$ y su expresión viene dada por

$$P_j^T(\mathbf{r}) = \frac{1}{2} \sum_{k=j_1}^{j_m} \int_{\mathcal{C}_{ik}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l}) [(\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{e}_\theta)(d\mathbf{l} \cdot \mathbf{e}_\theta) + \mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{e}_\phi)(d\mathbf{l} \cdot \mathbf{e}_\phi)] \quad (3.23)$$

la cual se puede reescribir en términos de \mathbf{e}_r en la forma

$$P_j^T(\mathbf{r}) = \frac{1}{2} \sum_{k=j_1}^{j_m} \int_{\mathcal{C}_{ik}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l})(\mathbf{F}_{k|j} \times \mathbf{e}_r)(d\mathbf{l} \times \mathbf{e}_r) \quad (3.24)$$

La demostración de esta expresión se detalla en el Apéndice B.3.

Dado que las componentes de presión solo dependen de la coordenada r (debido a la simetría esférica), en la práctica se calculan dividiendo al sistema en cáscaras esféricas concéntricas de espesor h y evaluando la presión promedio en cada cáscara s :

$$P_j^\nu(r_s) = \frac{1}{V_s} \int_{V_s} P_j^\nu(\mathbf{r}) d\mathbf{r} \quad (3.25)$$

donde r_s es el radio de la cáscara s , V_s su volumen, y $\nu = N, T$ para las componentes normal y tangencial respectivamente. Insertando las Ecs. (3.22) y (3.24) en la anterior obtenemos

$$P_j^\nu(r_s) = \sum_{k=j_1}^{j_m} P_{ik}^\nu(r_s) \quad (3.26)$$

donde

$$P_{ik}^N(r_s) = \frac{1}{V_s} \int_{V_s} \int_{\mathcal{C}_{ik}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l})(\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{e}_r)(d\mathbf{l} \cdot \mathbf{e}_r) d\mathbf{r} \quad (3.27)$$

$$P_{ik}^T(r_s) = \frac{1}{2V_s} \int_{V_s} \int_{\mathcal{C}_{ik}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l})(\mathbf{F}_{k|j} \times \mathbf{e}_r) \cdot (d\mathbf{l} \times \mathbf{e}_r) d\mathbf{r} \quad (3.28)$$

representan las contribuciones N, T a la presión configuracional en la cáscara s debida al par de interacción (i, k) .

Para calcular las integrales dobles en estas expresiones hay que establecer el contorno de integración \mathcal{C}_{ik} . Si bien disponemos de ambas definiciones IK y H como posibles elecciones de contornos, Hafskjold e Ikeshoji mostraron que H no produce un tensor de presión físicamente válido cuando se utiliza un sistema de coordenadas esféricas [115]. Por este motivo, en la presente formulación calcularemos las componentes de presión aplicando solamente el contorno IK.

Bajo esta definición, \mathcal{C}_{ik} está representado por el segmento de recta que conecta a i con k , descrito matemáticamente por

$$\mathcal{C}_{ik} = \{\mathbf{l}(\lambda) : \mathbf{l}(\lambda) = \lambda(\mathbf{r}_k - \mathbf{r}_i) + \mathbf{r}_i, \text{ con } 0 \leq \lambda \leq 1\} \quad (3.29)$$

Dados \mathbf{r}_i y \mathbf{r}_k , la línea $\mathbf{l}(\lambda)$ que une ambos puntos va intersecando diferentes cáscaras conforme se avanza desde $\mathbf{r}_i = \mathbf{l}(0)$ hasta $\mathbf{r}_k = \mathbf{l}(1)$. Las múltiples maneras de hacerlo se ilustran en la Fig. 3.2. La dirección de la recta \mathbf{l} está dada por el vector $\mathbf{r}_{ik} = \mathbf{r}_k - \mathbf{r}_i$ (vectores en azul en la Fig. 3.2). El punto $\mathbf{l}_0 = \mathbf{l}(\lambda_0)$ caracteriza a la intersección entre \mathbf{l} y la línea perpendicular a ella que pasa por el origen de coordenadas $\mathbf{0}$. Los puntos $\mathbf{l}_j = \mathbf{l}(\lambda_j)$ ($1 \leq j \leq n$) corresponden a las intersecciones entre \mathbf{l} y las distintas superficies esféricas en el rango $0 \leq \lambda_j \leq 1$. En función de cómo se ubican los \mathbf{l}_j respecto de \mathbf{l}_0 a lo largo de la línea, podemos identificar tres casos. El primero corresponde a todos los \mathbf{l}_j sobre la derecha de \mathbf{l}_0 ($\lambda_0 \leq 0 < \lambda_j < 1$, Fig. 3.2a), el segundo a todos los \mathbf{l}_j sobre la izquierda ($0 < \lambda_j < 1 \leq \lambda_0$, Fig. 3.2c) y el tercero a una situación intermedia, en donde algunos \mathbf{l}_j caen a la izquierda y otros a la derecha ($0 < \lambda_j < \lambda_0 < 1$ para ciertos j y $0 < \lambda_0 < \lambda_j < 1$ para otros, Fig. 3.2c).

Antes de continuar con el desarrollo, vamos a introducir algunas notaciones y definir ciertas cantidades relevantes dentro del esquema de cálculo. En primer lugar, dado un

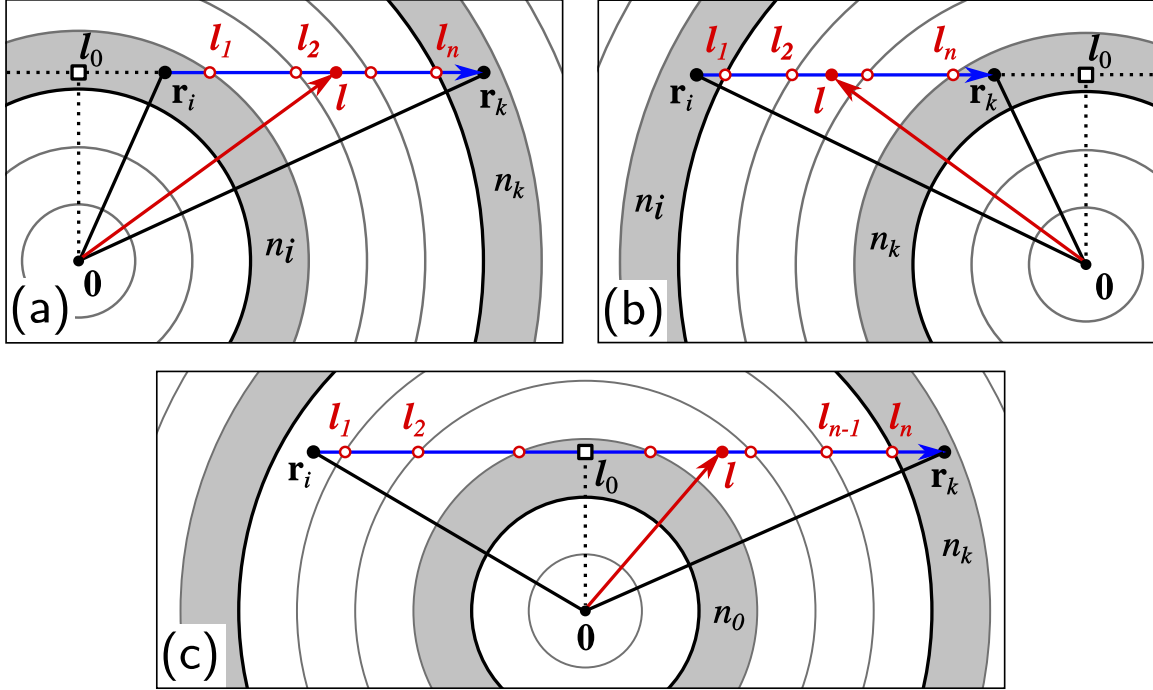


Figura 3.2: Ilustración de las posibles intersecciones entre la línea \mathbf{l} que conecta a \mathbf{r}_i con \mathbf{r}_k y las diferentes cáscaras esféricas, todas centradas en el origen de coordenadas $\mathbf{0}$. Dependiendo de donde caen los puntos de intersección $\mathbf{l}_j = \mathbf{l}(\lambda_j)$ ($1 \leq j \leq n$), se pueden identificar tres casos: (a) todos los \mathbf{l}_j a la derecha de \mathbf{l}_0 ($\lambda_0 \leq 0 < \lambda_j < 1$), (b) todos a la izquierda ($0 < \lambda_j < 1 \leq \lambda_0$) y (c) algunos a la izquierda ($0 < \lambda_j < \lambda_0 < 1$) y otros a la derecha ($0 < \lambda_0 < \lambda_j < 1$).

cierto vector \mathbf{r} , denotamos a su módulo $|\mathbf{r}| = r$ y a su vector normalizado $\mathbf{r}/r = \hat{\mathbf{r}}$. Por otro lado, definimos la variable

$$\sigma(\lambda) = \mathbf{l}(\lambda) \cdot \mathbf{r}_{ik} \quad (3.30)$$

la cual está relacionada con la proyección del vector \mathbf{l} sobre la dirección \mathbf{r}_{ik} . De hecho, esta proyección se calcula exactamente como $\mathbf{l} \cdot \hat{\mathbf{r}}_{ik} = \mathbf{l} \cdot \mathbf{r}_{ik}/r_{ik} = \sigma/r_{ik}$. Observemos que el valor de σ se puede expresar explícitamente en función de λ usando que $\mathbf{l}(\lambda) = \lambda \mathbf{r}_{ik} + \mathbf{r}_i$ en la Ec. (3.30), obteniendo

$$\sigma(\lambda) = \lambda r_{ik}^2 + \mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_i \quad (3.31)$$

En particular, para $\lambda = \lambda_0$ tenemos que $\sigma_0 = \sigma(\lambda_0) = \mathbf{l}(\lambda_0) \cdot \mathbf{r}_{ik} = \mathbf{l}_0 \cdot \mathbf{r}_{ik} = 0$, pues $\mathbf{l}_0 \perp \mathbf{r}_{ik}$. Usando esta condición en la expresión anterior se deduce que

$$\lambda_0 = -\frac{\mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_i}{r_{ik}^2} \quad (3.32)$$

Por último, resulta conveniente definir al vector

$$\boldsymbol{\omega} = \mathbf{r}_{ik} \times \mathbf{r}_i \quad (3.33)$$

que es un vector independiente de λ , y por lo tanto una cantidad constante a lo largo del contorno \mathcal{C}_{ik} . Como veremos, esta cantidad estará involucrada a lo largo de todo el cálculo y resultará de suma importancia.

Ahora que hemos introducido las definiciones necesarias, estamos en condiciones de calcular las integrales de las Ecs. (3.27) y (3.28) y determinar las respectivas contribuciones a la presión. Sin embargo, veremos que solamente necesitamos calcular una de las dos contribuciones, y que la otra se computa utilizando una relación que vincula a ambas. Para encontrar dicha relación despejamos convenientemente de la Ec. (B.35) para obtener

$$(\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{e}_r) \cdot (d\mathbf{l} \cdot \mathbf{e}_r) = \mathbf{F}_{k|j} \cdot d\mathbf{l} - (\mathbf{F}_{k|j} \times \mathbf{e}_r)(d\mathbf{l} \times \mathbf{e}_r) \quad (3.34)$$

Al insertar esta expresión en la Ec. (3.27), el segundo término de la derecha resulta equivalente a $2P_{ik}^T(r_s)$ y nos queda la relación

$$P_{ik}^N(r_s) = \frac{1}{V_s} \int_{V_s} \int_{\mathcal{C}_{ik}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l})(\mathbf{F}_{k|j} \cdot d\mathbf{l}) d\mathbf{r} - 2P_{ik}^T(r_s) \quad (3.35)$$

Debido a la presencia de la función $\delta(\mathbf{r} - \mathbf{l})$, la integración resultante se realiza sobre el conjunto de puntos de \mathcal{C}_{ik} incluidos dentro de V_s , que se puede representar matemáticamente como la intersección entre \mathcal{C}_{ik} y V_s :

$$\mathcal{C}_{ik} \cap V_s = \{\mathbf{l}(\lambda) : \lambda_a \leq \lambda \leq \lambda_b\} \quad (3.36)$$

donde λ_a y λ_b son los parámetros asociados a los puntos inicial y final del segmento de \mathcal{C}_{ik} incluido en V_s . Luego, usando que $d\mathbf{l} = \mathbf{r}_{ik} d\lambda$, el resultado de la integración es

$$\int_{V_s} \int_{\mathcal{C}_{ik}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l})(\mathbf{F}_{k|j} \cdot d\mathbf{l}) d\mathbf{r} = \int_{\lambda_a}^{\lambda_b} (\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{r}_{ik}) d\lambda = (\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{r}_{ik})(\lambda_b - \lambda_a) \quad (3.37)$$

Además, según la Ec. (3.31) podemos escribir $\sigma(\lambda) = \lambda r_{ik}^2 + \mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_i$, que al evaluarla en λ_a y λ_b obtenemos $\sigma(\lambda_b) - \sigma(\lambda_a) = r_{ik}^2(\lambda_b - \lambda_a)$. Con todo lo anterior, $P_{ik}^N(r_s)$ queda finalmente escrita en la forma

$$P_{ik}^N(r_s) = \frac{(\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{r}_{ik})(\sigma_b - \sigma_a)}{V_s r_{ik}^2} - 2P_{ik}^T(r_s) \quad (3.38)$$

donde $\sigma_a = \sigma(\lambda_a)$ y $\sigma_b = \sigma(\lambda_b)$. De esta manera, la contribución normal queda expresada en función de la tangencial, cuyo valor se obtiene mediante la Ec. (3.28). Resolviendo las integrales correspondientes, la expresión para la contribución tangencial resulta:

$$P_{ik}^T(r_s) = \frac{1}{2V_s} \frac{\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{r}_{ik}}{r_{ik}^2} \omega \arctan\left(\frac{\sigma}{\omega}\right) \Big|_{\sigma_a}^{\sigma_b} + \frac{1}{2V_s} \frac{(\mathbf{F}_{k|j} \times \mathbf{r}_{ik}) \cdot \boldsymbol{\omega}}{r_{ik}^2} \ln(l) \Big|_{l_a}^{l_b} \quad (3.39)$$

donde $l_a = l(\lambda_a)$ y $l_b = l(\lambda_b)$. La demostración de esta expresión se puede consultar en el Apéndice B.4.

Recordemos que para calcular las contribuciones a la presión debido a un cierto cluster $\langle j \rangle$ de m -cuerpos mediante el esquema REF, hay que elegir arbitrariamente una partícula $i \in \langle j \rangle$ como referencia, tomar las restantes $k \in \langle j \rangle$ y calcular los aportes de cada interacción (i, k) . Para $m = 2$ (interacciones de no-uni3n y distancias de enlace) siempre se cumple que $\mathbf{F}_{k|j} \parallel \mathbf{r}_{ik}$, ya que las fuerzas para este tipo de interacciones son siempre colineales. Por lo tanto, $\mathbf{F}_{k|j} \times \mathbf{r}_{ik} = 0$ y podemos omitir segundo t3rmino de $P_{ik}^T(r_s)$ para $m = 2$. Por su parte, para $m = 3$ (3ngulos de enlace) o $m = 4$ (diedros) la relaci3n entre $\mathbf{F}_{k|j}$ y \mathbf{r}_{ik} depende de la elecci3n de i . Si etiquetamos a las part3culas del 3ngulo de enlace como $(1, 2, 3)$ y a las del diedro como $(1, 2, 3, 4)$, entonces eligiendo $i = 2$ se satisface $\mathbf{F}_{k|j} \perp \mathbf{r}_{ik}$ para cualquier $k \neq i$ (los detalles se pueden consultar en [114]). Por lo tanto, $\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{r}_{ik} = 0$ y podemos omitir el primer t3rmino de $P_{ik}^T(r_s)$ para $m = 3$ o $m = 4$. Para cualquier otra elecci3n de i , los dos t3rminos de $P_{ik}^T(r_s)$ son no nulos, por lo tanto es necesario computarlos. De este modo, eligiendo $i = 2$ en cada cluster se minimiza la cantidad de t3rminos a evaluar y se maximiza la eficiencia del c3mputo. Esta fue la elecci3n implementada en nuestros c3lculos bajo el esquema REF.

En la pr3ctica, para implementar el c3mputo de las componentes de presi3n hay que obtener los l y σ asociados a las intersecciones \mathbf{l}_j . En esta direcci3n, presentaremos dos expresiones para l_0 y σ que ser3n de suma utilidad para este fin. Utilizando las definiciones para \mathbf{l} , σ y ω junto con algunas identidades vectoriales, despu3s de algunos manejos algebraicos es posible demostrar que

$$l_0 = \frac{\omega}{r_{ik}} \quad ; \quad \sigma = \pm \sqrt{r_{ik}^2 l^2 - \omega^2} \quad (3.40)$$

La derivaci3n completa de estas expresiones se encuentra detallada en el Apéndice B.5.

A medida que avanzamos sobre la direcci3n \mathbf{r}_{ik} desde \mathbf{r}_i hasta \mathbf{r}_k , vamos intersecando distintas c3scaras esf3ricas y obteniendo los correspondientes puntos de intersecci3n \mathbf{l}_j (ver Fig. 3.2). Los 3ndices de las c3scaras que contienen a las part3culas i y k se calculan como $n_i = \text{floor}(r_i/h)$ y $n_k = \text{floor}(r_k/h)$, mientras que el de la c3scara que incluye

a l_0 vale $n_0 = \text{floor}(l_0/h)$. Observemos que el valor de λ_0 es clave para computar las intersecciones, ya que permite distinguir los siguientes casos:

- a. Si $\lambda_0 \leq 0$, n_i es el mínimo índice y n_k el máximo. Las intersecciones l_j se encuentran sobre las cáscaras de índices $n_j = n_i + 1, \dots, n_k$, con n_j crecientes pues $n_i \leq n_k$). Si estamos sobre una dada cáscara n_s , la próxima intersección satisface $l = (n_s + 1)h$ y $\sigma = +\sqrt{r_{ik}^2 l^2 - \omega^2}$.
- b. Si $\lambda_0 \geq 1$, n_i es el máximo índice y n_k el mínimo. Las intersecciones l_j se encuentran sobre las cáscaras de índices $n_j = n_i, \dots, n_k + 1$, con n_j decrecientes pues $n_i \geq n_k$. Si estamos sobre una dada cáscara n_s , la próxima intersección satisface $l = n_s h$ y $\sigma = -\sqrt{r_{ik}^2 l^2 - \omega^2}$.
- c. Si $0 < \lambda_0 < 1$, n_0 es el mínimo índice y $\max(n_i, n_k)$ el máximo. Entre \mathbf{r}_i y l_0 , las intersecciones l_j se encuentran sobre las cáscaras de índices $n_j = n_i, \dots, n_0 + 1$, con n_j decrecientes pues $n_i \geq n_0$. En cambio, entre l_0 y \mathbf{r}_k , las intersecciones ocurren en $n_j = n_0 + 1, \dots, n_k$, con n_j crecientes pues $n_0 \leq n_k$. Para una dada cáscara n_s en la primera región, la próxima intersección satisface $l = n_s h$ y $\sigma = -\sqrt{r_{ik}^2 l^2 - \omega^2}$, mientras que en la segunda región la próxima intersección cumple $l = (n_s + 1)h$ y $\sigma = +\sqrt{r_{ik}^2 l^2 - \omega^2}$.

Para calcular los aportes a cada cáscara procedemos como sigue. Inicialmente estamos en la cáscara s con índice $n_s = n_i$ y radio $r_s = n_s h$, para la cual $l_a = \mathbf{r}_i$ y $\sigma_a = \sigma(0) = \mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_i$. Los l_b y σ_b en esta cáscara corresponden a los l_j y σ_j de la próxima intersección, cuyos valores se calculan como se describe en los tres casos señalados recién. Teniendo l_a, σ_a y l_b, σ_b calculamos las contribuciones de presión $P_{ik}^\nu(r_s)$ con $\nu = N, T$ y las adicionamos a los perfiles de presión $P_\nu(n_s)$. Luego actualizamos $l_a = l_b$ y $\sigma_a = \sigma_b$ (los valores finales para esta cáscara son los iniciales para la siguiente), avanzamos a la siguiente cáscara y repetimos el proceso hasta n_k . El procedimiento completo se describe de manera precisa y detallada en el Algoritmo 3.2.

Algoritmo 3.2: Aporte del par de interacción (i, k) a los perfiles de presión en sistemas esféricos.

Dadas las posiciones $\mathbf{r}_i, \mathbf{r}_k$, la fuerza $\mathbf{F}_{k|j}$ y las variables $P_\nu(n_s)$ donde acumulamos los perfiles de presión normal y tangencial ($\nu = N, T$):

1. Calcular $\mathbf{r}_{ik} = \mathbf{r}_k - \mathbf{r}_i$ y $\boldsymbol{\omega} = \mathbf{r}_{ik} \times \mathbf{r}_i$.
 2. Calcular r_i, r_k, r_{ik}, ω y $\sigma(0) = \mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_i$.
 3. Calcular $\lambda_0 = -\sigma(0)/r_{ik}^2$ y $l_0 = \omega/r_{ik}$.
 4. Calcular $n_i = \text{floor}(r_i/h)$, $n_k = \text{floor}(r_k/h)$ y $n_0 = \text{floor}(l_0/h)$.
 5. Calcular $\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{r}_{ik}$ y $\mathbf{F}_{k|j} \times \mathbf{r}_{ik}$.
 6. Inicializar $l_a = r_i$ y $\sigma_a = \sigma(0)$.
 7. Si $\lambda \leq 0$ o $\lambda \geq 1$:
 - 7.1. Para $n_s = n_i, \dots, n_k$:
 - 7.1.1. Calcular $r_s = n_s h$ y $V_s = (4\pi/3)[(r_s + h)^3 - r_s^3]$.
 - 7.1.2. Calcular $\delta = (h$ **si** $\lambda \leq 0$ **sino** $0)$.
 - 7.1.3. Calcular $s = (1$ **si** $\lambda \leq 0$ **sino** $-1)$.
 - 7.1.4. Calcular $l_b = (r_s + \delta$ **si** $n_s < n_k$ **sino** $n_k)$.
 - 7.1.5. Calcular $\sigma_b = s\sqrt{r_{ik}^2 l_b^2 - \omega^2}$.
 - 7.1.6. Computar contribuciones P_{ik}^ν usando las Ecs. (3.38) y (3.39).
 - 7.1.7. Sumar contribuciones a los perfiles de presión: $P_\nu(n_s) = P_\nu(n_s) + P_{ik}^\nu$.
 - 7.1.8. Actualizar $l_a = l_b$ y $\sigma_a = \sigma_b$.
 8. Sino:
 - 8.1. Para $n_s = n_i, \dots, n_0 + 1$:
 - 8.1.1. Calcular $r_s = n_s h$ y $V_s = (4\pi/3)[(r_s + h)^3 - r_s^3]$.
 - 8.1.2. Calcular $l_b = r_s$.
 - 8.1.3. Calcular $\sigma_b = -\sqrt{r_{ik}^2 l_b^2 - \omega^2}$.
 - 8.1.4. Computar contribuciones P_{ik}^ν usando las Ecs. (3.38) y (3.39).
 - 8.1.5. Sumar contribuciones a los perfiles de presión: $P_\nu(n_s) = P_\nu(n_s) + P_{ik}^\nu$.
 - 8.1.6. Actualizar $l_a = l_b$ y $\sigma_a = \sigma_b$.
 - 8.2. Para $n_s = n_0, \dots, n_k$:
 - 8.2.1. Calcular $r_s = n_s h$ y $V_s = (4\pi/3)[(r_s + h)^3 - r_s^3]$.
 - 8.2.2. Calcular $l_b = (r_s + h$ **si** $n_s < n_k$ **sino** $n_k)$.
 - 8.2.3. Calcular $\sigma_b = +\sqrt{r_{ik}^2 l_b^2 - \omega^2}$.
 - 8.2.4. Computar contribuciones P_{ik}^ν usando las Ecs. (3.38) y (3.39).
 - 8.2.5. Sumar contribuciones a los perfiles de presión: $P_\nu(n_s) = P_\nu(n_s) + P_{ik}^\nu$.
 - 8.2.6. Actualizar $l_a = l_b$ y $\sigma_a = \sigma_b$.
-

3.5 Presión cinética

Las componentes $\alpha\beta$ de la presión cinética se obtienen proyectando $\mathbf{P}_K(\mathbf{r})$ de la Ec (3.4) en las respectivas direcciones:

$$P_K^{\alpha\beta}(\mathbf{r}) = \sum_{i=1}^N m_i (\mathbf{v}_i \cdot \mathbf{e}_\alpha) (\mathbf{v}_i \cdot \mathbf{e}_\beta) \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) = \sum_{i=1}^N m_i v_i^\alpha v_i^\beta \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) \quad (3.41)$$

Análogamente a la presión configuracional, la parte cinética también se calcula como su valor promedio sobre un cierto volumen V_s . Para sistemas de geometría plana, ya vimos que el tensor de presión es diagonal y solo nos interesan las componentes diagonales $\alpha\alpha$ con $\alpha = x, y, z$. La componente $\alpha\alpha$ sobre una dada rebanada s se calcula simplemente como el valor promedio de $P_K^{\alpha\beta}(\mathbf{r})$ sobre s :

$$P_K^{\alpha\alpha}(z_s) = \frac{1}{V_s} \int_{V_s} P_K^{\alpha\alpha}(\mathbf{r}) d\mathbf{r} = \frac{1}{V_s} \sum_{i=1}^N m_i v_i^\alpha v_i^\alpha \int_{V_s} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) d\mathbf{r} \quad (3.42)$$

Usando la propiedad de la delta de Dirac

$$\int_{V_s} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) d\mathbf{r} = \begin{cases} 1 & \text{si } i \in s \\ 0 & \text{si } i \notin s \end{cases} \quad (3.43)$$

obtenemos la siguiente expresión de cálculo directo:

$$P_K^{\alpha\alpha}(z_s) = \frac{1}{V_s} \sum_{i \in s} m_i (v_i^\alpha)^2 \quad (3.44)$$

donde $V_s = Ah$ es el volumen de s , con h su espesor y A el área de la caja sobre el plano tangencial. Recordemos que podemos determinar el índice de la rebanada donde se encuentra la partícula i como $n_i = \text{floor}(z_i/h)$. Por lo tanto, la condición $i \in s$ se reduce a verificar si $n_i = n_s$.

Por otra parte, para sistemas de geometría esférica, el razonamiento es similar pero considerando cáscaras esféricas s de radio r_s y espesor h . Aquí el volumen de s se calcula como $V_s = (4\pi/3)[(r_s + h)^3 - r_s^3]$ y el índice de la cáscara que contiene a la partícula i es $n_i = \text{floor}(r_i/h)$. Cambiando $z_s \rightarrow r_s$ en la Ec. (3.44) obtenemos la expresión para el caso esférico. De esta manera, la componente $\nu = N, T$ se calcula como

$$P_K^\nu(r_s) = \frac{1}{V_s} \sum_{i \in s} m_i (v_i^\nu)^2 \quad (3.45)$$

Para calcular las componentes de velocidad en coordenadas esféricas suponemos que el origen de coordenadas está ubicado en el centro de simetría del sistema, por lo tanto cualquier vector posición \mathbf{r} está en la dirección radial (que coincide con la normal). Luego, la componente normal de \mathbf{v}_i se obtiene como su proyección sobre \mathbf{r}_i :

$$v_i^N = \frac{\mathbf{v}_i \cdot \mathbf{r}_i}{r_i} \quad (3.46)$$

Respecto de la componente tangencial, en realidad no necesitamos v_i^T sino $(v_i^T)^2$. Esto se calcula fácilmente mediante la relación pitagórica entre el módulo de la velocidad y sus componentes:

$$(v_i^T)^2 = v_i^2 - (v_i^N)^2 \quad (3.47)$$

El procedimiento para el cálculo del aporte cinético a los perfiles de presión se resume en el Algoritmo 3.3.

Algoritmo 3.3: Aporte cinético a los perfiles de presión.

Dadas las posiciones \mathbf{r}_i , velocidades \mathbf{v}_i y masas m_i de cada partícula i del sistema ($i = 1, \dots, N$), los lados de la caja L_x , L_y y las variables $P_\nu(n_s)$ donde acumulamos los perfiles de presión normal ($\nu = N$) y tangencial ($\nu = T$):

1. Para $i = 1, \dots, N$:

1.1. Si geometría plana:

1.1.1. Calcular $n_i = \text{floor}(z_i/h)$.

1.1.2. Asignar $n_s = n_i$ y calcular $V_s = L_x L_y h$.

1.1.3. Computar contribuciones $P_K^{\alpha\alpha} = (1/V_s) m_i (v_i^\alpha)^2$.

1.1.4. Sumar contribución al perfil de presión T : $P_T(n_s) = P_T(n_s) + (P_K^{xx} + P_K^{yy})/2$.

1.1.5. Sumar contribución al perfil de presión N : $P_N(n_s) = P_N(n_s) + P_K^{zz}$.

1.2. Si geometría esférica:

1.2.1. Calcular $n_i = \text{floor}(r_i/h)$.

1.2.2. Asignar $n_s = n_i$ y calcular $r_s = n_s h$ y $V_s = (4\pi/3)[(r_s + h)^3 - r_s^3]$.

1.2.3. Calcular $(v_i^N)^2 = (\mathbf{v}_i \cdot \mathbf{r}_i/r_i)^2$ y $(v_i^T)^2 = v_i^2 - (v_i^N)^2$.

1.2.4. Computar contribuciones $P_K^\nu = (1/V_s) m_i (v_i^\nu)^2$.

1.2.5. Sumar contribuciones a los perfiles de presión: $P_\nu(n_s) = P_\nu(n_s) + P_K^\nu$.

3.6 Contribución de los vínculos

Cuando incluimos condiciones de vínculo en las simulaciones DM, las posiciones de las partículas se ven directamente afectadas. Las correcciones a las posiciones por la aplicación de los vínculos introduce contribuciones adicionales a la presión configuracional que deben ser tenidas en cuenta. En particular, cuando se utilizan condiciones de vínculos para mantener fijas las distancias de enlace, Vanegas y colaboradores han mostrado que es posible atribuir una fuerza a cada vínculo y representarla como una interacción de 2-cuerpos entre las dos partículas del enlace [116]. Para verlo, analicemos las ecuaciones de movimiento bajo condiciones de vínculo. Recordando las Ecs. (2.36) y (2.37), el movimiento para una dada partícula i está determinado por:

$$m_i \frac{d^2 \mathbf{r}_i}{dt^2} = \mathbf{F}_i + \sum_{j=1}^K \lambda_j \frac{\partial g_j}{\partial \mathbf{r}_i} \quad (3.48)$$

donde λ_j es el multiplicador de Lagrange asociado al vínculo j y g_j la función que describe el vínculo j . El término dentro de la sumatoria puede pensarse como la fuerza del vínculo j sobre la partícula i , que definiremos como $\mathbf{F}_i^{(j)} = \lambda_j \partial g_j / \partial \mathbf{r}_i$. Observemos que esta fuerza puede representarse como una interacción de 2-cuerpos considerando que la función de vínculo g_j viene dada por

$$g_j(\mathbf{r}_i, \mathbf{r}_k) = |\mathbf{r}_k - \mathbf{r}_i| - d_j = r_{ik} - d_j \quad (3.49)$$

Al derivar respecto de \mathbf{r}_i obtenemos que

$$\frac{\partial g_j}{\partial \mathbf{r}_i} = \frac{\partial g_j}{\partial r_{ik}} \frac{\partial r_{ik}}{\partial \mathbf{r}_i} = \frac{\mathbf{r}_{ik}}{r_{ik}} \quad (3.50)$$

Por lo tanto, la fuerza sobre la partícula i debido al vínculo j viene dada por

$$\mathbf{F}_i^{(j)} = \lambda_j \frac{\mathbf{r}_{ik}}{r_{ik}} \quad (3.51)$$

Por su parte, la fuerza sobre k debido a j satisface

$$\mathbf{F}_k^{(j)} = \lambda_j \frac{\mathbf{r}_{ki}}{r_{ki}} = -\lambda_j \frac{\mathbf{r}_{ik}}{r_{ik}} = -\mathbf{F}_i^{(j)} \quad (3.52)$$

De esta manera, concluimos que la contribución a la presión debido a los vínculos se calcula de manera totalmente análoga a las interacciones de 2-cuerpos, simplemente

Algoritmo 3.4: Aporte de los vínculos a los perfiles de presión.

Supongamos que la información de un cierto vínculo j viene dada por $b_j = (\mathbf{r}_1^{(j)}, \mathbf{r}_2^{(j)}, \lambda_j)$, donde $\mathbf{r}_1^{(j)}$ y $\mathbf{r}_2^{(j)}$ son las posiciones de las dos partículas que intervienen en el vínculo j y λ_j su multiplicador de Lagrange asociado.

Dada una lista de vínculos $\{b_1, \dots, b_K\}$, los lados de la caja L_x, L_y y las variables $P_\nu(n_s)$ donde acumulamos los perfiles de presión normal ($\nu = N$) y tangencial ($\nu = T$):

1. Para $j = 1, \dots, K$:

1.1. Cargar la información de los vínculos: $(\mathbf{r}_1^{(j)}, \mathbf{r}_2^{(j)}, \lambda_j) \leftarrow b_j$.

1.2. Calcular $\mathbf{r}_{12} = \mathbf{r}_2^{(j)} - \mathbf{r}_1^{(j)}$ y $\hat{\mathbf{r}}_{12} = \mathbf{r}_{12}/r_{12}$.

1.3. Calcular $\mathbf{F}_2^{(j)} = -\lambda_j \hat{\mathbf{r}}_{12}$.

1.4. Si geometría plana:

1.4.1. Utilizar $\mathbf{r}_1^{(j)}, \mathbf{r}_2^{(j)}, \mathbf{F}_2^{(j)}, L_x$ y L_y como parámetros de entrada en el Algoritmo (3.1) para computar las contribuciones de presión a los $P_\nu(n_s)$ debido al vínculo j .

1.5. Si geometría esférica:

1.5.1. Utilizar $\mathbf{r}_1^{(j)}, \mathbf{r}_2^{(j)}$ y $\mathbf{F}_2^{(j)}$ como parámetros de entrada en el Algoritmo (3.2) para computar las contribuciones de presión a los $P_\nu(n_s)$ debido al vínculo j .

considerando que la fuerza sobre cada partícula del par ahora se obtiene mediante las Ecs. (3.51) y (3.52). El procedimiento para el cálculo del aporte de los vínculos a los perfiles de presión se describe en el Algoritmo 3.4.

3.7 Presión por partícula y por grupo

En el caso particular de sistemas planares, es posible demostrar, usando el contorno H , que la presión del sistema se puede descomponer como suma de contribuciones provinientes de cada partícula individual, esto es $P^{\alpha\alpha} = \sum_i P_i^{\alpha\alpha}$, donde $P^{\alpha\alpha}$ es la componente de presión $\alpha\alpha$ del sistema total y $P_i^{\alpha\alpha}$ la contribución correspondiente debido a la partícula i . Para ver esta descomposición, tengamos en cuenta que la presión se compone de una parte cinética y otra configuracional, como ya hemos discutido anteriormente. La contribución cinética por partícula se deduce inmediatamente de la Ec. (3.44) y vale $(1/V) m_i (v_i^\alpha)^2$, donde V es el volumen de la caja de simulación. Por su parte, para obtener la presión configuracional por partícula recurrimos a la Ec. (3.18). Dado que no estamos considerando al sistema dividido en rebanadas sino como un todo, entonces $V_s = V$ y $f_1(z_i, z_s) = f_1(z_k, z_s) = 1$ (porque cualquier partícula está dentro del sistema). Luego

deducimos que el par de interacción (i, k) aporta dos contribuciones a la presión, una debido a la partícula i y otra debido a la partícula k , ambas iguales a $F_{k|j}^\alpha r_{ik}^\alpha/2V$. De esta manera, para obtener presión configuracional del sistema por partícula debemos iterar sobre todos los posibles clusters $\langle j \rangle$ de m -cuerpos, hacer la descomposición de cada cluster como suma de pares y adicionar $F_{k|j}^\alpha r_{ik}^\alpha/2V$ sobre las correspondientes partículas en cada par. El procedimiento para calcular la presión por partícula se resume en el Algoritmo 3.5.

Una vez computadas las presiones por partícula es posible obtener la presión debido a un dado grupo de partículas G y determinar el perfil correspondiente. Observemos que el cálculo de estos perfiles es análogo al desarrollo anterior, solamente considerando el volumen de la rebanada V_s en lugar del volumen total V , y las sumas quedan restringidas a todas aquellas partículas i dentro de s y pertenecientes a G . Por lo tanto, la componente de presión $\alpha\alpha$ debido al grupo G sobre una rebanada s se obtiene a partir de las presiones por partícula mediante

$$P^{\alpha\alpha}(z_s, G) = \frac{V}{V_s} \sum_{\substack{i \in G \\ i \in s}} P_i^{\alpha\alpha} \quad (3.53)$$

donde V/V_s es un factor de normalización para obtener el volumen correcto (las presiones por partícula se obtienen dividiendo por V , pero las componentes de los perfiles están divididas por V_s). Es importante destacar que la expresión anterior es interpretable como un perfil de presión solamente para las componentes tangenciales ($\alpha = x, y$). Para la componente normal esto no es posible, ya que el perfil en esta dirección se escribe como

Algoritmo 3.5: Presión por partícula del sistema total.

Dadas las posiciones \mathbf{r}_i , velocidades \mathbf{v}_i y masas m_i de cada partícula i del sistema ($i = 1, \dots, N$), el volumen de la caja V , la lista de todos los posibles clusters $\langle j \rangle$ de m -cuerpos que describen interacciones y las variables $P_i^{\alpha\alpha}$ donde acumulamos las presiones por partícula:

1. Para $i = 1, \dots, N$:
 - 1.1. Inicializar $P_i^{\alpha\alpha} = 0$.
 2. Para cada cluster $\langle j \rangle$ de m -cuerpos:
 - 2.1. Descomponer $\langle j \rangle$ en suma de pares de interacción (i, k) .
 - 2.2. Para cada par (i, k) :
 - 2.2.1. Sumar contribución a la partícula i : $P_i^{\alpha\alpha} = P_i^{\alpha\alpha} + F_{k|j}^\alpha r_{ik}^\alpha/2V$.
 - 2.2.2. Sumar contribución a la partícula k : $P_k^{\alpha\alpha} = P_k^{\alpha\alpha} + F_{k|j}^\alpha r_{ik}^\alpha/2V$.
 3. Para $i = 1, \dots, N$:
 - 3.1. Sumar contribución cinética a la partícula i : $P_i^{\alpha\alpha} = P_i^{\alpha\alpha} + (1/V) m_i (v_i^\alpha)^2$.
-

suma de términos de 2-cuerpos (Ver Sección 3.3), y por lo tanto no admite descomposición por partícula. Si bien la componente normal de presión por partícula no es aplicable para obtener perfiles, se puede utilizar para calcular la presión total del sistema en esa dirección, lo cual puede ser útil para verificar la consistencia del cálculo.

3.8 Tratamiento bajo condiciones periódicas de contorno

En primer lugar, analicemos el efecto de las PBC sobre el cálculo de las componentes de presión en sistemas de geometría plana. Dado que en estos sistemas el cálculo se realiza sobre rebanadas a lo largo de la normal, solo nos importa analizar lo que ocurre en esa dirección. La caja de simulación está dividida en N rebanadas con índices $n_s = 0, \dots, N-1$. Cualquier índice fuera de este rango indica una rebanada externa a la caja.

Ahora supongamos que tenemos un dado cluster de partículas que atraviesa la caja, quedando una parte adentro y otra afuera. Debido a las PBC, este cluster (original) tiene su equivalente (imagen) del otro lado de la caja, tal como se representa gráficamente en la Fig. 3.3a. La parte del cluster original que cae fuera de la caja (en gris) se corresponde con la parte del cluster imagen que cae dentro (en negro). Las contribuciones a la presión en estas regiones son iguales entre sí. Para dar un ejemplo concreto, consideremos la rebanada $n_s = N + n_k$ (fuera de la caja) que recibe contribución del cluster original. La rebanada $n_s = n_k$ (dentro de la caja) recibe un aporte idéntico pero proveniente del cluster imagen. Dado que nos interesa calcular las contribuciones dentro de la caja, lo que deseamos es obtener el aporte sobre $n_s = n_k$. Sin embargo, en la práctica lo que conviene hacer es trabajar siempre con el cluster original (entero, sin aplicar PBC), calcular todos sus aportes a la presión sobre todas las rebanadas n_s afectadas, y para todas aquellas que caen afuera de la caja (exteriores) simplemente tomamos el valor de presión acumulado en cada una y lo adicionamos a sus rebanadas equivalentes dentro de la caja (interiores).

Dicho lo anterior, la pregunta que surge entonces es cómo obtener el índice de la rebanada interior que es equivalente a una dada rebanada arbitraria. Para ver esto, consideremos que cualquier rebanada del sistema puede pensarse como una réplica trasladada de alguna rebanada que está en el interior. Matemáticamente, los índices de la rebanada arbitraria (n_s) y de la interior equivalente ($n_s^{(0)}$) están relacionados mediante

$$n_s = n_s^{(0)} + kN \quad , \quad \text{con } 0 \leq n_s^{(0)} < N \text{ y } k \in \mathbb{Z} \quad (3.54)$$

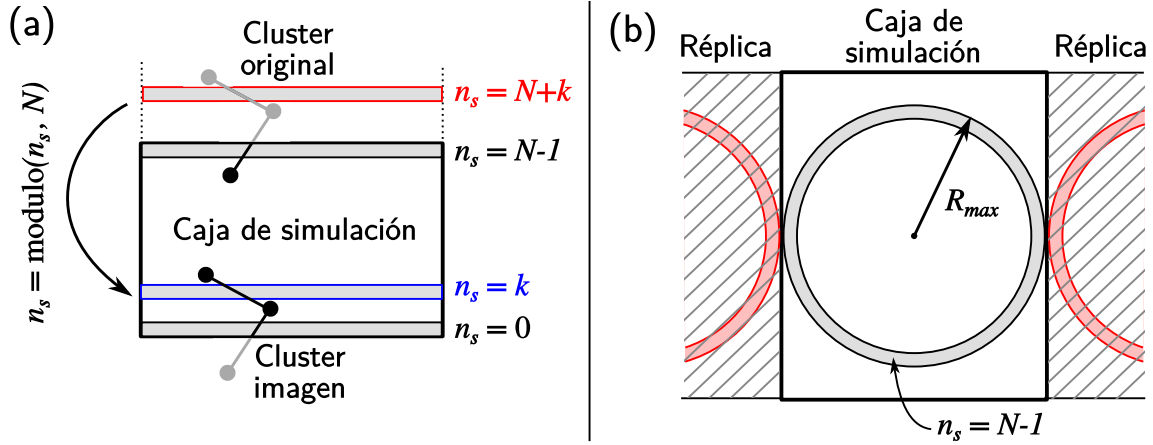


Figura 3.3: (a) Condiciones periódicas de contorno en sistemas planares: la contribución del cluster original sobre la rebanada exterior $n_s = N + k$ es idéntica a la contribución del cluster imagen sobre la rebanada interior $n_s = k$. (b) Condiciones periódicas de contorno en sistemas esféricos: a partir de R_{max} el sistema empieza a ver a sus réplicas vecinas, lo que genera defectos físicos graves al extender al sistema más allá de dicho radio. Por lo tanto, la presión es computada solamente para las cáscaras esféricas s con $r_s < R_{max}$ y $n_s = 0, \dots, N - 1$.

Dividiendo por N y aplicando $\text{floor}(x)$ obtenemos $\text{floor}(n_s/N) = \text{floor}(n_s^{(0)}/N) + \text{floor}(k)$. Puesto que $0 \leq n_s^{(0)}/N < 1$ y k es entero, luego se satisfacen $\text{floor}(n_s^{(0)}/N) = 0$ y $\text{floor}(k) = k$. De esta manera resulta $k = \text{floor}(n_s/N)$. Finalmente, reemplazando el valor de k en la Ec. (3.54) obtenemos $n_s^{(0)} = n_s - N \text{floor}(n_s/N)$. En vistas de este resultado, introducimos la función

$$\text{modulo}(i, N) = i - N \text{floor}(i/N) \quad (3.55)$$

Con esta definición, para una dada rebanada arbitraria n_s , su rebanada interior equivalente $n_s^{(0)}$ se calcula como

$$n_s^{(0)} = \text{modulo}(n_s, N) \quad (3.56)$$

De esta manera, el impacto de las PBC es mínimo en el cálculo de las contribuciones de presión, ya que todo el cálculo se realiza con los índices n_s obtenidos a partir del cluster original, que no necesariamente corresponden a rebanadas interiores. El único instante en donde necesitamos efectivamente encontrar el $n_s^{(0)}$ asociado es en el último paso, cuando adicionamos la contribución calculada al perfil de presiones $P_\nu(n_s)$, tal como vimos en los Algoritmos 3.1-3.4. Para asegurarnos que la contribución se acumula sobre el índice correcto, solo basta cambiar

$$P_\nu(n_s) \rightarrow P_\nu(\text{modulo}(n_s, N)) \quad (3.57)$$

donde N representa el número total de rebanadas en el sistema.

Ahora analicemos lo que ocurre para sistemas esféricos. En la Fig. 3.3b vemos que el cálculo de presiones tiene sentido hasta un radio máximo (R_{max}), igual a la mitad de la distancia mínima entre caras paralelas de la caja de simulación. Para cajas rectangulares, el radio máximo se calcula como

$$R_{max} = \frac{1}{2} \min(L_x, L_y, L_z) \quad (3.58)$$

donde L_x , L_y y L_z son los lados de las cajas en las tres direcciones cartesianas. Aquí describimos el caso rectangular porque es el más común de todos y el que hemos usado en este trabajo, pero hay que tener en cuenta que también es posible usar otro tipo de cajas según la simetría requerida. En esos casos, la expresión para R_{max} puede extenderse a cajas no rectangulares simplemente considerando las proyecciones entre los distintos vectores de caja y calculando sus componentes ortogonales para determinar la distancia entre planos y tomar la mínima posible.

Observemos que el sistema queda dividido en N cáscaras esféricas concéntricas de índices $n_s = 0, \dots, N - 1$. El espesor h de cada cáscara se calcula como $h = R_{max}/N$, de esta manera la capa más externa corresponde a un radio $r_s = (N - 1)h = R_{max} - h$. Más allá de la cáscara $n_s = N - 1$, el sistema empieza a verse a si mismo a través de sus réplicas vecinas debido a las PBC. Esto introduciría severos defectos físicos que producirían un cálculo incorrecto de las presiones. Por lo tanto, para el caso esférico simplemente hacemos los cálculos sobre todas las cáscaras concéntricas en el rango $n_s = 0, \dots, N - 1$ y cortamos allí. Esta solución también genera errores de cálculo debido a las interacciones faltantes por el truncamiento del sistema. Sin embargo, en virtud del radio de corte para los potenciales de no-uniión, solo las capas más externas ven este efecto. Por lo tanto, los errores pueden ser minimizados tomando una caja suficientemente grande con una capa de solvente externa de espesor considerable que permita apantallar el efecto al resto del sistema.

Capítulo 4

Implementaciones computacionales

En este capítulo presentamos las implementaciones computacionales desarrolladas para esta tesis. En primer lugar describimos la metodología y herramientas utilizadas para la construcción de los sistemas a simular: mezclas poliméricas, bicapas poliméricas y polimerosomas. Luego detallamos el protocolo de simulación implementado para la ejecución de las corridas de Dinámica Molecular, con el fin de facilitar la labor del usuario y minimizar su intervención. Por último presentamos nuestra implementación del cálculo de perfiles de presión en GROMACS, con soporte para ejecución serial y paralela (en memoria compartida con OpenMP) y aceleración SIMD.

4.1 Construcción de sistemas

Para la construcción de los sistemas hemos empleado principalmente las herramientas integradas en GROMACS [59, 117], en especial podemos destacar los comandos `gmx editconf` (para conversión de formatos y manipulación geométrica de sistemas), `gmx insert-molecules` (para inserción de nuevas moléculas), y `gmx solvate` (para solvatar sistemas). En particular, para la construcción del polimerosoma también hemos usado el programa Packmol [118] junto con las otras herramientas ya mencionadas.

Dado que la conformación de la cadena PEO-PBD era, *a priori*, desconocida para nosotros, hemos decidido construir las mezclas y bicapas poliméricas partiendo de una configuración de cadena totalmente estirada, y luego dejar que los sistemas evolucionen y se acomoden a sus configuraciones de equilibrio. En cambio, para construir el polimerosoma hemos decidido acelerar el proceso usando una conformación de cadena ya conocida, extraída de una bicapa equilibrada. En la Fig. 4.1 se puede observar el método de construcción de cada uno de los sistemas.

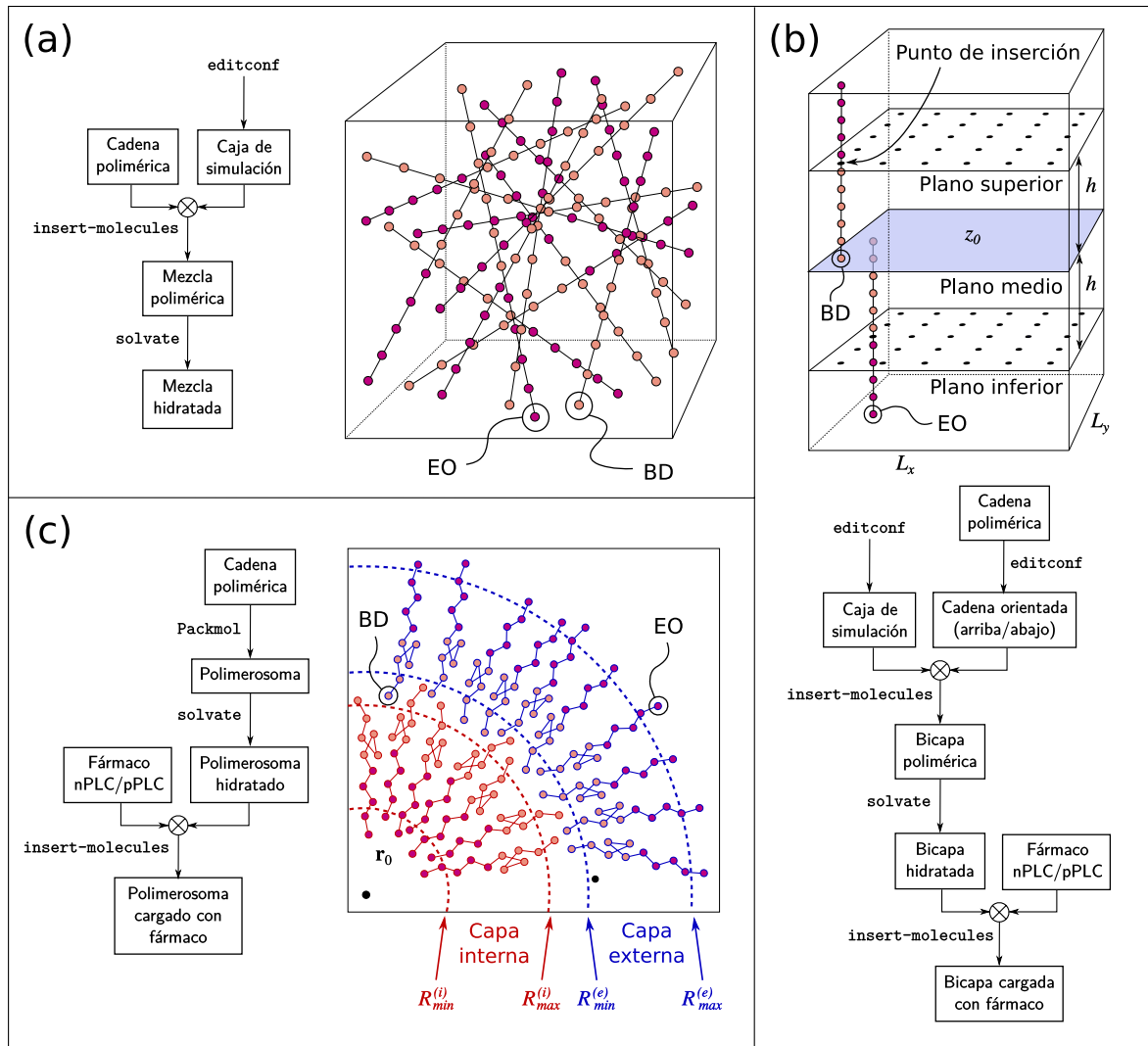


Figura 4.1: Método de construcción de los sistemas estudiados. (a) Mezcla polimérica: cadenas insertadas en posiciones y orientaciones aleatorias. (b) Bicapa polimérica: cadenas insertadas en posiciones específicas de cada capa, dadas por los puntos marcados en los respectivos planos, y orientadas siempre en sentido vertical con los terminales BD apuntando hacia el plano medio. (c) Polimerosoma: cadenas en capa interna con terminales EO dentro de $R_{min}^{(i)}$ y terminales BD fuera de $R_{max}^{(i)}$; en la capa externa, terminales BD dentro $R_{min}^{(e)}$ y terminales EO fuera de $R_{max}^{(e)}$.

Para realizar las mezclas poliméricas (Fig. 4.1a), primero creamos una caja de simulación (`editconf`) y luego insertamos las cadenas una a una en posiciones y orientaciones aleatorias dentro de la caja hasta obtener el número deseado (`insert-molecules`). Luego, hidratamos el sistema utilizando una caja de agua previamente equilibrada (`solvate`).

Para armar las bicapas poliméricas (Fig. 4.1b), primero creamos la caja de simulación y orientamos la cadena en sentido vertical (`editconf`). Conociendo la altura del plano

medio de la caja en dirección vertical (z_0) y la longitud del bloque PBD, determinamos las alturas de los planos superior e inferior donde se insertan las cadenas, cada uno a distancia h del plano medio (h ligeramente mayor a la longitud del bloque PBD). Estableciendo los lados laterales de la caja (L_x, L_y) y el número de cadenas a insertar en cada dirección (N_x, N_y), calculamos los puntos de inserción en los planos superior e inferior. Estos puntos se distribuyen de manera uniforme en cada plano y sus coordenadas están dadas por

$$\begin{cases} x_{sup/inf} &= (i - 0.5) \frac{L_x}{N_x} & (1 \leq i \leq N_x) \\ y_{sup/inf} &= (j - 0.5) \frac{L_y}{N_y} & (1 \leq j \leq N_y) \\ z_{sup/inf} &= z_0 \pm h & (sup \rightarrow + ; inf \rightarrow -) \end{cases} \quad (4.1)$$

Luego insertamos las cadenas en las posiciones calculadas (`insert-molecules`), siempre en orientación vertical y con los terminales BD apuntando hacia el plano medio (`editconf` cuando sea necesario invertir el sentido). Por último, hidratamos la bicapa evitando que ingrese agua en la región hidrofóbica correspondiente al PBD (`solvate`). Para ello aumentamos el radio de VdW de las partículas BD durante el proceso, lo cual produce un radio de exclusión mayor que rechaza cualquier inserción de agua cerca de estas partículas.

Para construir los polimerosomas (Fig. 4.1c), primero armamos una bicapa esférica, con una capa interna y otra externa. El proceso se implementó en Packmol y consistió en la inserción de las cadenas según un conjunto de restricciones geométricas compatibles con la estructura deseada. Para nuestro caso, las condiciones que garantizaron la formación de esta bicapa esférica fueron:

- **Capa interna:** El terminal EO dentro de la esfera de radio $R_{min}^{(i)}$ y el terminal BD fuera de la esfera de radio $R_{max}^{(i)}$.
- **Capa externa:** El terminal BD dentro de la esfera de radio $R_{min}^{(e)}$ y el terminal EO fuera de la esfera de radio $R_{max}^{(e)}$.

Los valores de estos radios fueron determinados en base al radio de polimerosoma deseado y la distancia extremo-extremo de la cadena, digamos R y l respectivamente. A partir del valor de R calculamos $R_{max}^{(i)} = R - \delta$ y $R_{min}^{(e)} = R + \delta$, donde δ es una distancia pequeña pero suficiente para evitar un excesivo solapamiento entre cadenas internas y externas. Por otro lado, para garantizar que las inserciones sean posibles, los valores de $R_{min}^{(i)}$ y $R_{max}^{(e)}$ se eligieron de manera tal de cumplir $R_{min}^{(i)} > R_{max}^{(i)} - l$ y $R_{max}^{(e)} < R_{min}^{(e)} + l$. Una vez formado el polimerosoma, el sistema fue hidratado de manera análoga a las bicapas.

En el caso de las bicapas y polimerosomas, para obtener los sistemas cargados con PLC simplemente tomamos las respectivas estructuras ya equilibradas, e insertamos las

moléculas de fármaco adecuadamente (`insert-molecules`). Veremos más adelante que, dependiendo de la especie PLC a incorporar, las moléculas se insertaron o en el seno del bloque hidrofóbico, o bien distribuidas en agua. Una forma de hacerlo fue modificando convenientemente los radios de VdW de las distintas partículas para permitir (radios pequeños) o rechazar (radios grandes) inserciones en cada región.

4.2 Protocolo de simulación

En el Capítulo 2, Sección 2.3.5 describimos brevemente las etapas de una simulación DM. Aquí vamos a presentar el detalle completo de cada etapa y su implementación computacional con GROMACS, cuyo diagrama de flujo se muestra en la Fig. 4.2. Allí se identifican las tres etapas principales del proceso ya mencionadas: minimización de energía, equilibración del sistema y producción de datos. A la entrada de cada etapa se requieren los siguientes archivos en sus correspondientes formatos GROMACS [59, 119]:

- Coordenadas del sistema, en formato `gro`.
- Topologías de cada compuesto (enlaces, ángulos, diedros, etc.) y parámetros del FF (tipos de partículas, masas, interacciones, etc.), en formato `itp`.
- Topología del sistema (número de moléculas de cada tipo), en formato `top`.
- índices definiendo las partículas que conforman los distintos grupos (sistema, polímero, droga, agua, etc.), en formato `idx`.
- Parámetros de simulación, (método de minimización o integración, ensemble, temperatura, presión, frecuencia de escritura, etc.), en formato `mdp`.

En cada etapa estos archivos son preprocesados mediante el comando `grompp` para generar el archivo de entrada de la simulación, en formato `tpr`. Luego, se realiza la simulación mediante el comando `mdrun`, que toma el archivo `tpr`, ejecuta el proceso y devuelve un conjunto de archivos de salida: las coordenadas del sistema final (`gro`), la trayectoria (`trr`, `xtc`), magnitudes físicas medidas durante la simulación tales como temperatura, presión, energía (`edr`), reporte del proceso (`log`).

La etapa de minimización suele ser simple, ya que por lo general basta con una pequeña minimización de unos miles de pasos para obtener una estructura localmente estable con la cual iniciar la dinámica. En cambio, la etapa de equilibración suele ser mucho más laboriosa y puede requerir de numerosas iteraciones. En muchas ocasiones no es posible comenzar la simulación usando el tiempo de paso y temperatura finales, dado que sería altamente inestable. Para estos casos lo adecuado es realizar múltiples

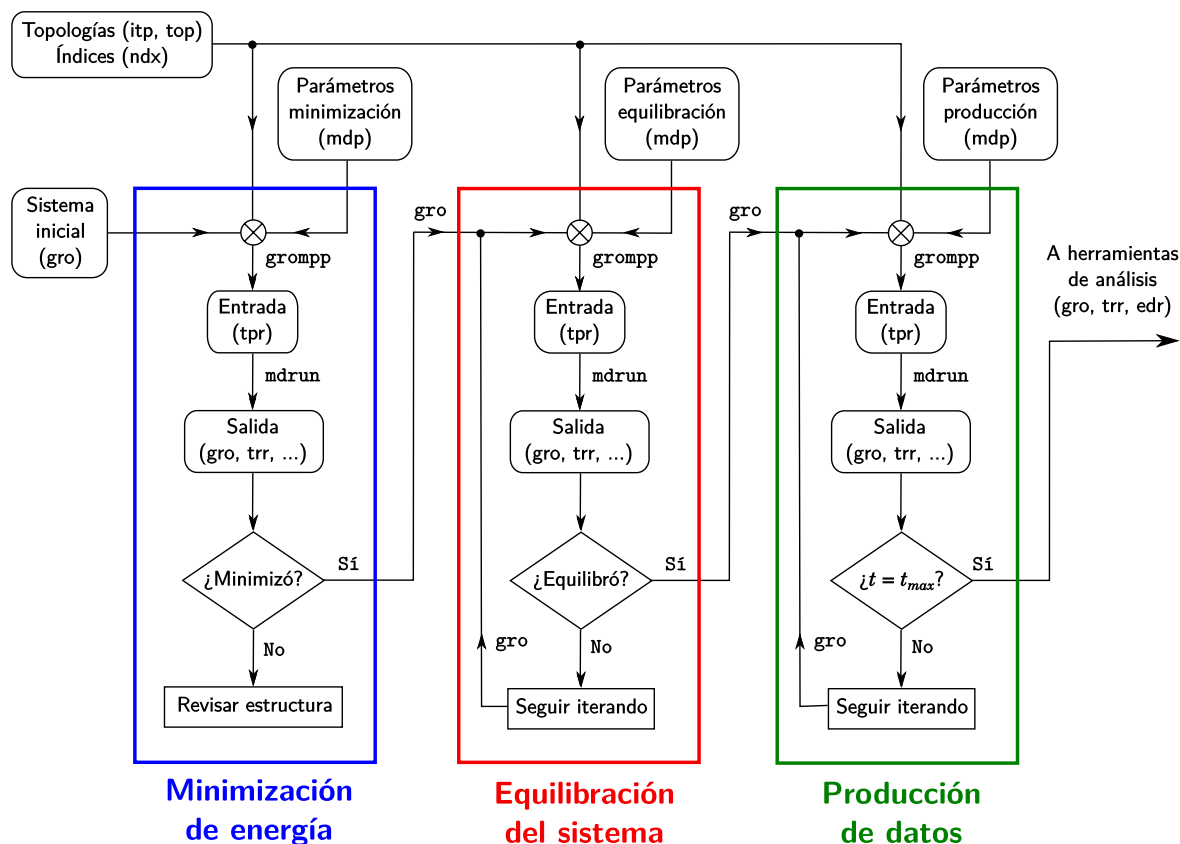


Figura 4.2: Diagrama de flujo de una simulación DM. El proceso principal se divide en tres etapas principales: minimización de energía, equilibración del sistema y producción de datos. En cada etapa interviene el preprocesamiento de datos (**grompp**), la minimización o corrida DM (**mdrun**) y la evaluación de alguna condición para decidir si se debe continuar hacia la siguiente etapa.

simulaciones cortas, comenzando por valores bajos e ir aumentándolos gradualmente para que el sistema se vaya acomodando lentamente. En esta dirección, hemos aplicado un procedimiento que resultó efectivo para la equilibración de nuestros sistemas, el cual se describe a continuación:

1. Comenzar las simulaciones con temperaturas muy bajas y pasos de tiempo muy cortos, típicamente $T = 10$ K y $\Delta t = 0.000001$ ps.
2. Hacer una dinámica corta, de 1000 a 5000 pasos dependiendo el sistema.
3. Repetir el proceso incrementando T y Δt , en general, T en intervalos de 10 K y Δt en intervalos desde 0.000001 a 0.005 ps, aumentando progresivamente con Δt .
4. Una vez alcanzados los valores definitivos, $\Delta t = 0.02$ ps y $T = 300$ K, extender las simulaciones el tiempo necesario hasta lograr la equilibración.

El criterio para decidir el equilibrio en cada sistema se determinó en base a la convergencia de ciertas propiedades relevantes, por ejemplo, el tamaño de la caja o los perfiles de densidad de cada componente. Por último, una vez equilibrada la estructura, pasamos a la etapa de producción de datos, en donde extendimos las simulaciones hasta el tiempo máximo deseado. Durante esta etapa, se fueron almacenando regularmente la trayectoria (`trr`) y las cantidades físicas calculadas (`edr`) para su posterior análisis. Todo el procedimiento completo, ilustrado en la Fig. 4.2, fue implementado mediante scripts en `Bash`, lo que simplificó significativamente la realización de las simulaciones y permitió su desarrollo con mínima intervención humana.

4.3 Cálculo de perfiles de presión en GROMACS

4.3.1 Arquitectura general del programa

GROMACS implementa un elaborado paralelismo en múltiples niveles, mediante el cual se distribuye el trabajo computacional de manera eficiente particionando al sistema en múltiples dominios espaciales, utilizando múltiples núcleos por dominio y explotando el paralelismo a nivel de instrucción disponible en los núcleos [87]. Esto permite acelerar los tiempos de cómputo y mejorar la escalabilidad de las simulaciones. Una descripción gráfica de este esquema de paralelización multi-nivel se observa en la Fig. 4.3.

En el primer nivel de paralelización, GROMACS utiliza el protocolo de comunicación MPI para descomponer a la simulación en múltiples dominios espaciales, distribuidos y ejecutados a lo largo de los diferentes nodos del cluster. En esta etapa no se calcula

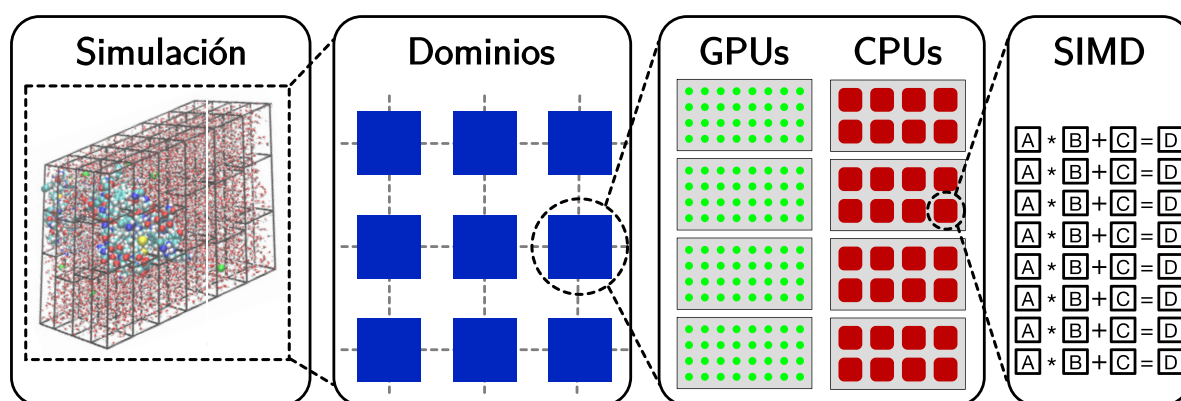


Figura 4.3: Paralelización multi-nivel implementada en GROMACS. La simulación se descompone en múltiples dominios espaciales utilizando MPI. Dentro de cada dominio, el trabajo se paraleliza utilizando múltiples núcleos CPUs, o también usando aceleradores GPUs. Dentro de cada núcleo, se saca provecho del soporte para SIMD y se utiliza cómputo vectorial.

ningún tipo de interacción. En el siguiente nivel, el trabajo dentro de cada dominio se reparte en múltiples hilos de ejecución, ya sea entre los núcleos CPUs utilizando OpenMP, o también utilizando aceleradores GPUs cuando están disponibles. A cada hilo se le asigna un dado conjunto de interacciones para computar en paralelo. Estas interacciones son distribuidas entre los diferentes hilos de manera tal de equilibrar la carga de trabajo en cada uno de ellos. Las GPUs se utilizan solamente para el cálculo de las interacciones de no-unión, que es la tarea que mayor tiempo computacional demanda dentro de la simulación. Por su parte, las CPUs se utilizan para ambos tipos de interacciones (las de unión se calculan siempre en CPUs, las de no-unión cuando no se utilizan GPUs). Por último, en el tercer nivel, se aprovecha el paralelismo interno dentro de cada núcleo CPU para calcular múltiples interacciones en simultáneo usando los registros SIMD disponibles.

El programa principal encargado de lanzar las simulaciones DM está implementado en la función principal `gmx_mdrun`. Su diagrama de funcionamiento básico se muestra en la Fig. 4.4a. Para iniciar la simulación, se ejecuta `gmx_mdrun` por línea de comandos, ingresando todos los parámetros de entrada necesarios para establecer las variables globales del programa (archivos de entrada/salida, número de nodos e hilos de ejecución, etc.). En el siguiente paso se llama a la función `mdrunner`, la cual inicializa todas las variables de la simulación (parámetros y condiciones de simulación, configuración de hardware compatible, diversas estructuras de datos para almacenar fuerzas, vínculos, estados del sistema, etc.). Luego se ejecuta el ciclo de dinámica molecular implementado en la función `do_md`. Observemos que las instrucciones indicadas en este proceso siguen los lineamientos del algoritmo de actualización DM que describimos en el Algoritmo 2.1: en cada iteración del ciclo se computan las fuerzas de interacción para el estado actual (`do_force`), se acopla el termostato (`update_tcouple`) y el barostato (`update_pcouple_before_coordinates`), se actualizan las posiciones y velocidades (`update_coords`), se corrigen las posiciones por acción de los vínculos (`update_constraints`), y por último se reescalan los vectores de caja y las posiciones (`update_pcouple_after_coordinates`). El ciclo se repite hasta llegar al último paso (`bLastStep`), momento en el cual se llama a la función `finish_run` para terminar la simulación.

En particular, en este proceso hemos destacado dos funciones de interés, `do_force` y `update_constraints`. Estas dos funciones son de suma relevancia ya que dentro de ellas debemos integrar las funciones correspondientes para el cálculo de los perfiles de presión. Sus diagramas de ejecución, incluyendo solo las ramas relevantes a nuestra implementación, se muestran en las Figs. 4.4b y 4.4c. En cada caso indicamos con bloques rojos las funciones terminales dentro de cada rama, en donde se calculan efectivamente las fuerzas de

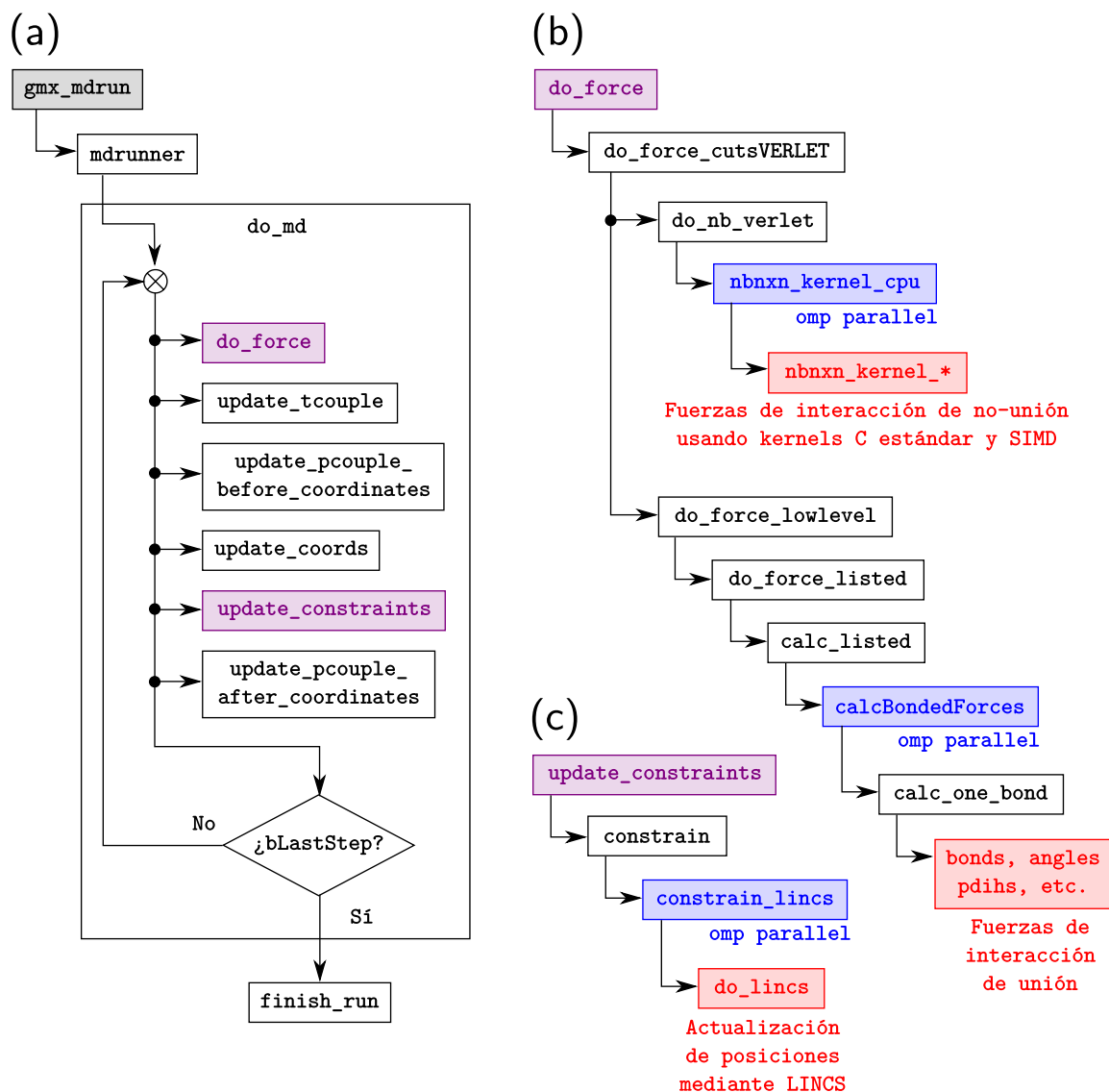


Figura 4.4: Diagrama de ejecución básico de una simulación DM. (a) Función principal `gmxdmrun`. (b) Función `do_force`, encargada de computar las interacciones de unión y no-unión. (c) Función `update_constraints`, responsable de la actualización de coordenadas por acción de los vínculos. En todos los casos, solo se incluyen las ramas de las funciones que son relevantes a nuestra implementación. Los bloques en azul indican las funciones en donde se lanzan los múltiples hilos en paralelo mediante OpenMP (directiva `omp parallel`) y los bloques en rojo corresponden a las funciones terminales en cada rama encargadas del cálculo de las interacciones de unión, no-unión y vínculos.

interacción de unión (`bonds`, `angles`, `pdihs`, etc.) y de no-unión (`nbnxn_kernel_*`) y donde se actualizan las posiciones de las partículas mediante el algoritmo LINCS (`do_lincs`). Dentro de estas funciones es donde finalmente debemos incorporar el cálculo

de los perfiles de presión. También señalamos con bloques azules las funciones en donde se lanzan los múltiples hilos en paralelo mediante OpenMP (directiva `omp parallel`). Es importante identificar estas etapas para implementar correctamente el cálculo paralelizado. En las siguientes secciones describimos las estructuras de datos y funciones desarrolladas para el cálculo paralelizado de perfiles de presión y su implementación dentro del código principal.

4.3.2 Estructuras de datos y funciones desarrolladas

En primer lugar, para almacenar los perfiles de presión necesitamos una estructura de datos adecuada que contenga todas las variables relevantes para describir el problema: tipo de geometría, tipo de contorno de integración, número de rebanadas/cáscaras (según la geometría), espesor de la rebanada/cáscara, punteros para almacenar las presiones en cada rebanada/cáscara, etc. En esta dirección, creamos una nueva estructura denominada `t_localpd`, que se define de la siguiente manera:

Estructura `t_localpd`:

- **int geo**: Tipo de geometría (0 = plana, 1 = esférica).
- **int contour**: Tipo de contorno de integración (0 = IK, 1 = H).
- **int fdecomp**: Tipo de descomposición de fuerzas (0 = REF, 1 = GLD).
- **int nax**: Dirección normal, solo en geometría plana (0 = X, 1 = Y, 2 = Z).
- **int nfr**: Número de *frames* (puntos de la trayectoria) ya contabilizados.
- **int ns**: Número total de rebanadas/cáscaras.
- **real ws**: Espesor de las rebanadas/cáscaras del frame actual.*
- **real ws_sum**: Suma acumulada de `ws` hasta el frame actual.
- **rvec xc**: Posición de centrado del frame actual.†
- **rvec xc_sum**: Suma acumulada de `xc` hasta el frame actual.
- **int ncg**: Número de partículas en el grupo de centrado.
- **int* icg**: índices de las partículas que constituyen el grupo de centrado.
- **real* pn**: Presión normal del sistema en cada rebanada/cáscara del frame actual.
- **real* pn_sum**: Suma acumulada de `pn` hasta frame actual.
- **real* pt**: Presión tangencial del sistema en cada rebanada/cáscara del frame actual.
- **real* pt_sum**: Suma acumulada de `pt` hasta frame actual.
- **matrix box**: Matriz de caja de simulación en el frame actual.‡
- **matrix sumbox**: Suma acumulada de `box` hasta el frame actual.

* El tipo `real` puede ser `float` o `double`, dependiendo la compilación (simple o doble precisión).

† El tipo `rvec` es un alias para `real[3]`, es decir, un arreglo `real` de longitud 3.

‡ El tipo `matrix` es un alias para `real[3][3]` es decir, una matriz `real` de tamaño 3×3.

En función de los valores de las variables `geo`, `contour` y `fdecomp` se decide internamente en cada función el tipo de algoritmo a utilizar para el cálculo. Las variables `ncg` e `icg` están pensadas para almacenar los datos del grupo de centrado, que se cargan al inicio de la simulación y se reutilizan en cada ciclo. El punto de centrado `xc` corresponde al centro geométrico del sistema y se actualiza en cada frame. Dicho punto se calcula mediante el método de centrado que se presenta en el Apéndice C, el cual está implementado en la función `calc_geometric_center`. Aquí es donde necesitamos usar `icg` para acceder a los índices de las partículas del grupo de centrado y obtener sus posiciones. El espesor `ws` también se actualiza en cada frame, cuyo valor se calcula dependiendo del tipo de geometría (`ws = box[nax][nax]/ns` para geometría plana y `ws = rmax/ns` para geometría esférica, con `rmax` el radio máximo posible, ver Sección 3.8). Las presiones normal y tangencial del sistema sobre la rebanada/cáscara de índice `i` se almacenan en `pn[i]` y `pt[i]`, con $0 \leq i < ns$. La posición/radio de la rebanada/cáscara se obtiene simplemente como `i*ws`, y su volumen se calcula utilizando el área de la caja en dirección tangencial (geometría plana), o mediante el radio de la cáscara (geometría esférica). Por su parte, las variables `ws_sum`, `xc_sum`, `pn_sum`, `pt_sum` y `sumbox` tienen como objetivo ir acumulando la suma de las correspondientes variables a lo largo de la trayectoria y obtener el promedio dividiendo a cada una por `nfr` al final de la simulación.

Ahora que ya disponemos de la estructura de datos para almacenar los perfiles de presiones, pasemos a discutir las características de las funciones implementadas para su cálculo. Como ya hemos visto en el Capítulo 3, los perfiles de presión del sistema se pueden dividir en una componente cinética y una configuracional. El perfil cinético se calcula como suma de los aportes de cada partícula en cada rebanada/cáscara, tal como se indica en el Algoritmo 3.3. Estos cálculos resultan relativamente sencillos y, en principio, no requieren paralelización, ya que tienen una complejidad $\mathcal{O}(N)$, con N el número de partículas del sistema. Los mismos fueron implementados en la función denominada `calc_veloc_LP`, que se ejecuta de manera serial en el proceso principal al final de cada ciclo de dinámica (función `do_md`, Fig. 4.4a).

Por su parte, el perfil configuracional se obtiene como suma de contribuciones debidas a interacciones de unión, de no-unión y de vínculos (términos de m -cuerpos). Las mismas se pueden escribir ya sea como contribuciones de pares (no-unión y vínculos) o de suma de pares (unión). Por lo tanto, para calcular el perfil configuracional basta con obtener la descomposición de todos los m -cuerpos como suma de pares y calcular el aporte a la presión de cada par sobre cada rebanada/cáscara del sistema siguiendo los Algoritmos 3.1, 3.2 y 3.4. Estos cálculos fueron implementados en las funciones `calc_mbody_LP` (descomposición de m -cuerpos como suma de pares) y `calc_pair_LP`

(aporte a la presión debido a pares de interacción). En principio estas funciones están diseñadas para trabajar de manera serial, pero pueden utilizarse para correr procesos en paralelo como describimos en la Sección 4.3.3. En particular, para las interacciones de no-uni3n, tambi3n implementamos la funci3n denominada `calc_simd_pairs_LP` que utiliza la tecnolog3a SIMD para calcular aportes al perfil debido a m3ltiples pares en simult3neo, cuyas caracter3sticas se explican con m3s detalle en la Secci3n 4.3.3.

Adem3s de las funciones mencionadas para los c3lculos de presi3n, tambi3n desarrollamos algunas funciones adicionales para inicializar las estructuras de datos de los perfiles, actualizarlas en cada ciclo de din3mica y escribir los resultados en un archivo de salida. A continuaci3n, presentamos una lista resumiendo las funciones desarrolladas y una breve descripci3n de cada una.

Funci3n	Descripci3n
<code>calc_pair_LP</code>	Calcula el aporte de un dado par de interacci3n (i, k) a los perfiles de presi3n y/o presi3n por part3cula.
<code>calc_mobdy_LP</code>	Calcula el aporte de un dado cluster de m -cuerpos a los perfiles de presi3n y/o presi3n por part3cula. Descompone al cluster en suma de pares y usa <code>calc_pair_LP</code> para obtener los aportes de cada par.
<code>calc_veloc_LP</code>	Calcula el aporte cin3tico a los perfiles de presi3n y/o presi3n por part3cula.
<code>calc_simd_pairs_LP</code>	Versi3n SIMD de la funci3n <code>calc_pair_LP</code> . Calcula los aportes de m3ltiples pares de interacci3n en simult3neo.
<code>calc_geometric_center</code>	Calcula el centro geom3trico del sistema a partir de un grupo de centrado. 3til para sistemas de geometr3a esf3rica.
<code>initialize_localpd</code>	Inicializa las estructuras de datos donde se almacenan los perfiles de presi3n y sus par3metros asociados (<code>t_localpd</code>).
<code>reset_localpd_cframe</code>	Reinicia los perfiles de presi3n para el frame actual. Usa <code>calc_geometric_center</code> para obtener el nuevo centro del sistema en el estado actual.
<code>update_localpd_sum</code>	Actualiza las sumas acumuladas de los perfiles de presi3n hasta el frame actual.
<code>write_localpd</code>	Escribe los perfiles de presi3n en un archivo de salida en formato XVG.

Consideremos ahora el c3lculo de la presi3n por part3cula. Tal como describimos en la Secci3n 3.7, tenemos tres componentes de presi3n por cada part3cula i en el sistema ($P_i^{\alpha\alpha}$, con $\alpha = x, y, z$). Para almacenar esta informaci3n solo necesitamos un puntero a un *buffer* de memoria (`rvec* pp`) de longitud igual al n3mero de part3culas en el sistema (`np`). De esta manera, la componente de presi3n j de la i -3sima part3cula se

guarda en `pp[i][j]`, con $0 \leq i < np$ y $j = 0, 1, 2$. El aporte cinético a la presión por partícula se obtiene, simplemente, iterando sobre cada partícula del sistema y adicionando su contribución correspondiente, según se describe en el Algoritmo 3.5. Por su parte, el aporte configuracional se obtiene mediante un proceso análogo al utilizado para el cálculo de perfiles, con la diferencia de que ahora las contribuciones a la presión no son adicionadas a rebanadas/cáscaras sino sobre cada partícula individual, tal como se indica en el Algoritmo 3.5.

Afortunadamente, el cálculo de presión por partícula es muy simple de paralelizar (en términos conceptuales) aprovechando toda la maquinaria ya implementada en GROMACS. Observemos que para obtener el aporte configuracional a la presión debido a un dado par de interacción solo debemos conocer las posiciones de las partículas y las fuerzas que actúan sobre ellas, y computar inmediatamente después las contribuciones como ya indicamos en el Algoritmo 3.5. Desde el punto de vista algorítmico, calcular presiones por partícula y fuerzas son problemas muy similares que se pueden resolver con las mismas estrategias, ya que se calculan en el mismo lugar de código, utilizan estructuras de datos análogas (punteros tipo `rvec` de longitud `np`) y comparten los mismos datos para el cálculo. Por lo tanto, dado que el cálculo de fuerzas ya está paralelizado en GROMACS de manera eficiente tanto para múltiples procesos usando OpenMP, SIMD y GPU, aprovechamos todas las estructuras de datos y funciones ya implementadas para las fuerzas y las extendimos para incluir a la presión por partícula en el esquema de cálculo.

4.3.3 Cálculo paralelizado de perfiles de presión

Teniendo en cuenta que el cálculo de las interacciones y vínculos ya está paralelizado en GROMACS utilizando OpenMP (ver Fig. 4.4), computar los perfiles de presión en paralelo resulta sencillo de realizar: en cada hilo de ejecución, se identifican las fuerzas y posiciones de las partículas intervinientes y se obtienen los aportes a la presión mediante `calc_mbody_LP`. Sin embargo, el problema surge cuando diferentes procesos calculan aportes sobre las mismas rebanadas/cáscaras. Recordemos que las presiones en cada rebanada/cáscara se almacenan en posiciones de memoria apuntadas por `pn` y `pt`. De esta manera, al momento de adicionar la presión, puede ocurrir que varios procesos concurren sobre la misma posición de memoria e intenten escribir sobre ella simultáneamente, con lo cual su valor final sería indeterminado (se produce una condición de carrera o *race condition*).

Para resolver este inconveniente se utilizan *buffers* de presión, esto es, estructuras de datos temporarias en donde se almacenan los aportes de presión calculados localmente

en cada proceso. Por cada proceso se crean dos buffers locales, uno para `pn` y otro para `pt`. Dado que *a priori* no sabemos cuáles rebanadas/cáscaras estarán afectadas en cada proceso, reservamos espacio para todas. Así, los buffers locales no son otra cosa que punteros a memoria del mismo tipo y cantidad de elementos que los `pn` y `pt` globales. Cada proceso inicializa los buffers en cero, calcula los aportes correspondientes y los almacena en estas estructuras. Al finalizar el procesamiento paralelo, se ejecuta la operación de reducción de los valores almacenados localmente en el proceso principal de manera serial, es decir, se toma uno por uno cada buffer de presión y se adicionan los aportes locales correspondientes sobre los `pn` y `pt` globales. Un esquema de este proceso se visualiza en la Fig. 4.5. Observemos que el número de rebanadas/cáscaras con que se divide a los sistemas suele ser de unos cientos, a lo sumo unos pocos miles. Por lo tanto, aún cuando el número de procesos sea elevado (algunas decenas por nodo), el tamaño de los buffers es relativamente pequeño, con lo cual el requerimiento de memoria siempre se mantiene acotado.

Adicionalmente, a nivel interno dentro de cada proceso también es posible paralelizar el cálculo utilizando las operaciones vectoriales SIMD. Básicamente, estas operaciones utilizan registros que soportan “vectores largos” que, en lugar de almacenar un único valor, se pueden interpretar como el empaquetamiento de un conjunto de datos del mismo tipo, ya sean `int`, `float` o `double`. Por ejemplo, en un registro SIMD de 256 bits se pueden almacenar 8 datos tipo `float` o 4 datos tipo `double`. Para operar sobre estos registros es necesario acceder a un conjunto específico de instrucciones del procesador (SSE4, AVX,

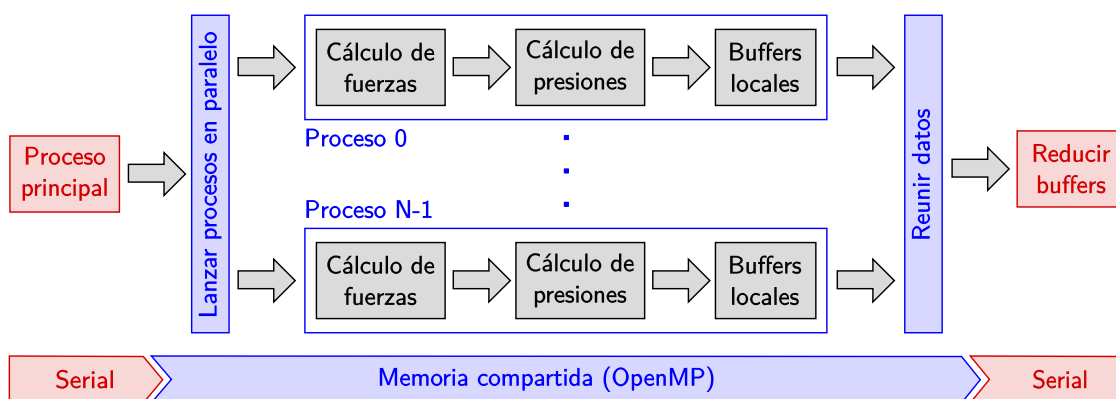


Figura 4.5: Cálculo paralelo de presiones. El proceso principal (serial) lanza varios procesos en paralelo (memoria compartida usando OpenMP), en los cuales se calculan los aportes correspondientes a las presiones y se almacenan en buffers locales. Al finalizar, se reúnen todos los datos de cada proceso y se reduce cada buffer local en las estructuras de presión globales (serial).

AVX2, etc.). Cada conjunto de instrucciones soporta determinadas operaciones sobre registros de cierta longitud, tanto de tipo entero como de punto flotante. La longitud de los registros y el conjunto de instrucciones a utilizar queda determinado por la arquitectura del hardware disponible. Esta dependencia hace difícil el desarrollo de código portable para múltiples plataformas. Afortunadamente, GROMACS implementa una interfaz SIMD que permite acceder a los registros y operar sobre ellos de manera transparente. Esta interfaz se encarga de gestionar qué longitud de registros y qué instrucciones usar en función de la arquitectura disponible, y el desarrollador simplemente debe usar las clases y funciones provistas para hacer las implementaciones deseadas.

La interfaz SIMD desarrollada en GROMACS provee clases específicas para manejar los diferentes tipos de datos, e implementa un extenso conjunto de funciones para operar sobre los registros SIMD. Mediante estas funciones se pueden realizar operaciones aritméticas y matemáticas (+, *, max, sqrt, cos, log, etc.), lógicas (AND, OR, NOT, etc.), comparaciones (>, <, ==, !=, etc.), empaquetar datos en un registro SIMD y descargarlos a memoria, entre otros. A modo ilustrativo, en la Fig. 4.6 mostramos algunas de las instrucciones básicas SIMD, tales como sumas, máscaras, comparaciones y empaquetamiento de datos en registros y su descarga a memoria. Como podemos observar, cuando tenemos que aplicar la misma operación sobre múltiples datos, las operaciones vectoriales constituyen una herramienta adecuada para acelerar el cómputo: en lugar de hacer una operación por

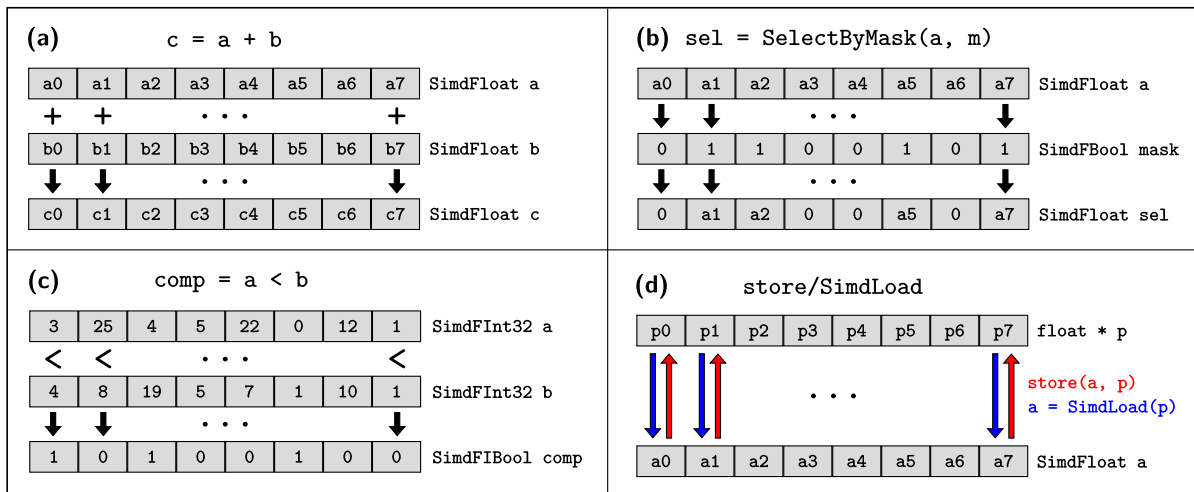


Figura 4.6: Ejemplos de algunas operaciones básicas provistas por la interfaz SIMD en GROMACS. (a) Suma SIMD para datos tipo float. (b) Máscara SIMD para datos tipo float. (c) Comparación SIMD para datos tipo int. (d) Empaquetamiento de datos tipo float en un registro SIMD (SimdLoad) y su proceso inverso (store). En este caso, ambas operaciones requieren que el puntero p esté alineado a 16, 32 o 64 bits dependiendo del tipo de registros y conjunto de instrucciones (gestionado automáticamente por la interfaz SIMD).

cada dato, empaquetamos todos ellos en un registro SIMD (`SimdLoad`), hacemos todas las operaciones requeridas y descargamos el resultado en memoria (`store`). Hay que tener en cuenta que las operaciones `SimdLoad/store` son relativamente caras computacionalmente en relación a las operaciones aritméticas o lógicas SIMD. Por lo tanto, para lograr una aceleración aceptable, tenemos que reducir al mínimo posible la carga/descarga de datos desde memoria a registros y viceversa.

En GROMACS, solamente las fuerzas de interacción de no-uni3n son computadas mediante aceleraci3n SIMD, el resto est3 disponible 3nicamente en c3digo C est3andar. Por este motivo, solo los aportes a los perfiles de presi3n debido a interacciones entre pares fueron desarrollados utilizando soporte SIMD. Estos c3lculos se implementan en la funci3n `calc_simd_pairs_LP`, que b3sicamente constituye la versi3n SIMD de la funci3n `calc_pair_LP` antes mencionada, desarrollada en base a las funciones provistas por la interfaz SIMD de GROMACS. Para acoplar nuestro desarrollo dentro del c3digo principal identificamos las rutinas SIMD en donde se computan las interacciones de no-uni3n (ver Fig. 4.4b) e integramos la funci3n `calc_simd_pairs_LP` all3.

Se realiz3 una evaluaci3n de la utilizaci3n de GPU para el c3lculo de perfiles. Dado que para poder operar con estos dispositivos, es necesario transferir los datos de la memoria principal del nodo (*host*) a la del dispositivo, es imprescindible que la carga aritm3tica se suficientemente alta para que la utilizaci3n de GPU no genere un *overhead* mayor al tiempo que se puede llegar a ganar. La cantidad de operaciones que se deben realizar para el c3lculo de los perfiles de presi3n no alcanza para que se justifique la copia de memoria principal de los datos necesarios y la transferencia posterior de los resultados. Por este motivo, este c3lculo se restringe 3nicamente a ser resuelto utilizando m3ltiple hilos en CPU.

4.3.4 Implementaciones en GROMACS

El c3lculo de presi3n por part3cula fue implementado en GROMACS tomando como punto de partida la versi3n de desarrollo llevada a cabo por Sega y colaboradores [120, 121]. Esta versi3n, basada en GROMACS 5.1, implementa el c3lculo de la presi3n por part3cula pero usando funcionalidades m3nimas. Nosotros hemos tomado dicha versi3n y la hemos extendido para incluir todas las funcionalidades que requerimos: esquema Verlet para el c3lculo de interacciones de no-uni3n, paralelizaci3n multi-hilo, aceleraci3n SIMD y GPU (esta 3ltima solo disponible en simple precisi3n). Para obtener la presi3n por part3cula al final de la simulaci3n, se aprovecha el archivo de trayectoria TRR y se escriben all3 las componentes de presi3n junto con fuerzas para cada part3cula. Luego, para procesar los datos y calcular los perfiles de presi3n por grupo se implement3 una

versión modificada del módulo `gmx density`, que levanta el archivo TRR, lee la presión de cada partícula y calcula los perfiles de presión para los grupos provistos, tal como se describe en la Sección 3.7. Nuestra implementación para el cálculo de presión por partícula está disponible en <https://gitlab.com/damgrillo/gromacs-virial>.

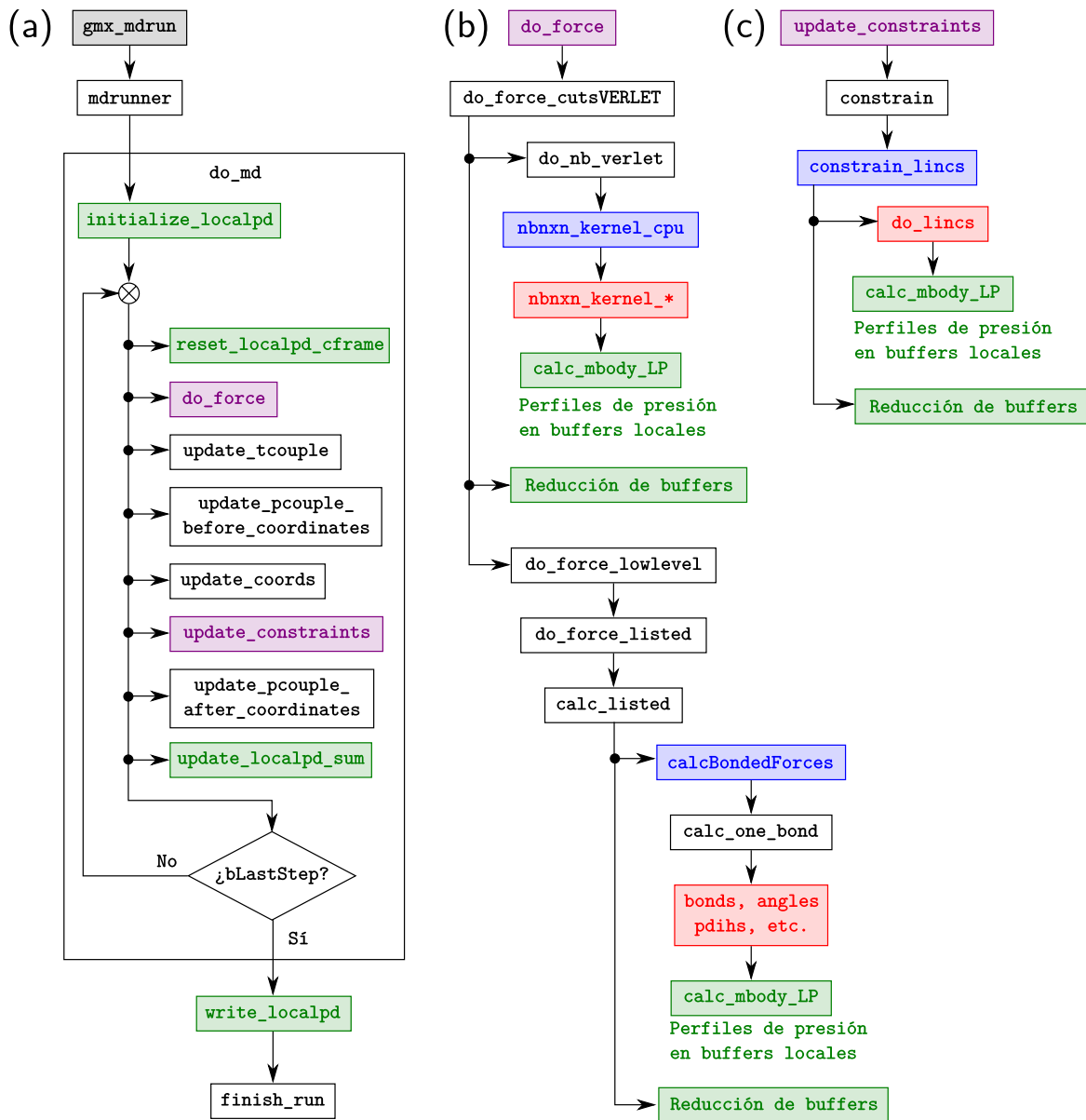


Figura 4.7: Diagrama de ejecución de una simulación DM integrando el cálculo de perfiles de presión. (a) Función principal `gmx_md`. (b) Función `do_force`, encargada de computar las interacciones de unión y no-unión. (c) Función `update_constraints`, responsable de la actualización de coordenadas por acción de los vínculos. En cada caso se indican con bloques verdes las nuevas implementaciones respecto del código original

Por su parte, el cálculo de perfiles de presión fue implementado desde cero en GROMACS 2018. En esta versión incluimos todas las estructuras de datos y funciones que describimos en la Sección 4.3.2 y las integramos al código principal para desarrollar los cálculos tanto de manera serial como paralela. Para el procesamiento paralelo, GROMACS ya tiene implementadas estructuras especiales que guardan la información temporal de las interacciones de unión, no-unión y vínculos en cada proceso local, e implementa funciones especiales para realizar la reducción de los datos correspondientes. Nosotros aprovechamos estas estructuras y funciones y las modificamos para incluir el tratamiento de los buffers de presión. La integración de los nuevos componentes en el código principal se resumen esquemáticamente en la Fig. 4.7. Nuestra implementación para el cálculo de perfiles de presión se encuentra disponible en <https://gitlab.com/damgrillo/gromacs-lpressure>.

Capítulo 5

Desarrollo del modelo de grano grueso para el copolímero

5.1 Introducción

En este capítulo presentamos un nuevo modelo CG para el copolímero PEO-PBD desarrollado dentro del campo de fuerza MARTINI. Los parámetros iniciales del modelo fueron tomados de los modelos CG MARTINI para el polímero PEO y el lípido DUPS y posteriormente refinados en base a cálculos QM, simulaciones DM y datos experimentales reportados en la bibliografía. El modelo CG desarrollado fue validado mediante diversas simulaciones DM, estudiando la capacidad de los copolímeros de autoensamblarse formando bicapas y caracterizando distintas propiedades estructurales y mecánicas de bicapas PEO-PBD. Estas propiedades fueron contrastadas contra datos experimentales para determinar la capacidad que tiene el modelo de reproducir propiedades clave observadas en los experimentos.

5.2 Parametrización del modelo

El modelo CG para el copolímero PEO-PBD fue desarrollado siguiendo los lineamientos descritos en el Capítulo 2, Sección 2.3.2. El mapeo AA→CG se realizó reemplazando a cada monómero de PEO y PBD en la cadena AA por sus partículas CG equivalentes, denominadas EO y BD, cuyos tipo MARTINI son SN0 y C4 respectivamente. En este modelo tenemos interacciones en donde intervienen solo partículas BD o solo EO (interacciones puras) e interacciones que involucran ambos tipos (interacciones mixtas). Para las interacciones EO puras, los parámetros fueron tomados del modelo CG MARTINI

para PEO desarrollado por Lee y colaboradores [88, 89]. Estos parámetros se conservaron sin modificaciones respecto de los originales. Por su parte, para las partículas BD no había un modelo CG disponible, por lo tanto en este trabajo desarrollamos un conjunto de parámetros específicos para describir sus interacciones. Inicialmente, para las interacciones BD puras, los parámetros fueron tomados por analogía del modelo CG para el lípido DUPS [89, 90], mientras que para las interacciones mixtas fueron adaptados de los parámetros MARTINI para interacciones entre partículas tipo SN0 y C4. Este conjunto de parámetros iniciales fue posteriormente refinado como se describe a continuación.

En primer lugar, para todas aquellas interacciones de unión que involucran partículas BD, consideramos solamente potenciales de distancias de unión (V_b) y ángulos de unión (V_a). Debido a la naturaleza altamente flexible del polímero PBD, las contribuciones de diedros (V_d) no deberían ser relevantes en un modelo CG para este compuesto. Los parámetros asociados a los potenciales V_b y V_a son la distancia y ángulo de equilibrio (r_{ij}^0 y θ_{ijk}^0) y las respectivas constantes de fuerza (k_{ij}^b y k_{ijk}^a). Para ajustar las distancias y ángulos de equilibrio, construimos dos cadenas poliméricas AA, una de PBD₅ y otra de PEO₃-PBD₃, y optimizamos sus configuraciones mediante cálculos QM. Estos cálculos se realizaron mediante el paquete Gaussian 09 [122] en el nivel B3LYP de la Teoría Funcional de la Densidad (DFT) empleando la base de funciones 6-31G**. A partir de las configuraciones de equilibrio de ambas cadenas AA, realizamos el mapeo AA→CG correspondiente para obtener las configuraciones geométricas de las cadenas CG equivalentes. Para realizar el mapeo fue necesario establecer las posiciones de las partículas CG en la cadena AA. En esta dirección, consideramos a cada partícula CG localizada en el centro de masa de su monómero correspondiente. Luego, una vez determinadas las posiciones, medimos las distancias y ángulos de equilibrio de los enlaces en la cadena CG como se ilustra en la Fig. 5.1. La cadena PBD₅ se utilizó para calcular los parámetros de equilibrio para interacciones BD puras (distancias BD-BD y ángulos BD-BD-BD), mientras que la cadena PEO₃-PBD₃ se usó para derivar los parámetros de las interacciones mixtas (distancias EO-BD y ángulos EO-EO-BD y EO-BD-BD). Para los parámetros puros BD obtuvimos $r_{ij}^0 \sim 0.48$ nm para la distancia BD-BD y $\theta_{ijk}^0 \sim 140^\circ$ para el ángulo BD-BD-BD. Por su parte, para los parámetros mixtos EO-BD resultaron $r_{ij}^0 \sim 0.43$ nm para la distancia EO-BD, $\theta_{ijk}^0 \sim 168^\circ$ para el ángulo EO-EO-BD y $\theta_{ijk}^0 \sim 136^\circ$ para el ángulo EO-BD-BD. A modo de validación, también determinamos los parámetros EO puros y los comparamos con los correspondientes al modelo CG para PEO. En nuestro caso, del mapeo AA→CG encontramos $r_{ij}^0 \sim 0.32$ nm para la distancia EO-EO y $\theta_{ijk}^0 \sim 131^\circ$ para el ángulo EO-EO-EO, valores que son consistentes con los $r_{ij}^0 = 0.33$ nm y $\theta_{ijk}^0 = 130^\circ$ provistos por el modelo de PEO.

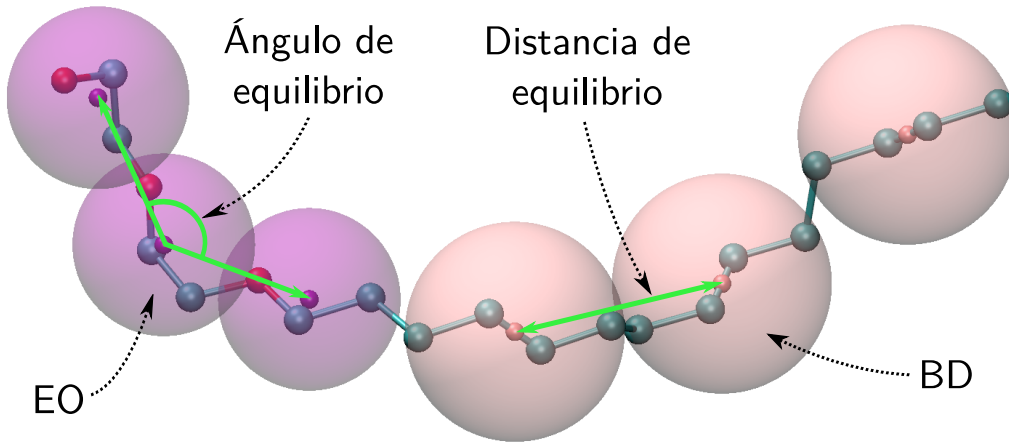


Figura 5.1: Mapeo AA→CG para una cadena polimérica PEO₃-PBD₃.

En la siguiente instancia, ajustamos las interacciones de no-unión evaluando el comportamiento de bicapas poliméricas PEO-PBD mediante simulaciones DM. La hidratación de estos sistemas se realizó utilizando el modelo PW [85, 89], que ya provee los términos de unión para la molécula de agua. Respecto de las interacciones de no-unión, tengamos en cuenta que las partículas EO y BD son neutras, por lo tanto son invisibles al agua desde el punto de vista electrostático y solamente interactúan a través de potenciales VdW. Recordemos, además, que las interacciones VdW entre el agua y el resto de las partículas están mediadas por su partícula central W. De esta manera, para establecer las interacciones de no-unión entre el agua y el copolímero, fue necesario determinar los valores de las interacciones EO-W y BD-W. Para la interacción EO-W consideramos la parametrización de Wood y colaboradores [123], mientras que la interacción BD-W fue adaptada usando los valores de interacción establecidos en MARTINI para C4-POL (POL es el tipo MARTINI asociado a la partícula W). Para la interacción EO-BD utilizamos inicialmente el valor establecido en MARTINI para SN0-C4. Este conjunto de parámetros de no-unión fue posteriormente refinado para obtener el correcto comportamiento de las bicapas, tal como se describe más adelante en la Sección 5.5.1.

Por último, una vez obtenidos los parámetros finales de no-unión, refinamos los restantes parámetros de unión del modelo, correspondientes a las constantes de fuerza para las interacciones BD puras y mixtas. Este proceso se realizó mediante distintas simulaciones MD, ensayando sobre diferentes conjuntos de parámetros y encontrando los valores óptimos que mejor ajustan a los datos experimentales de espesor de membrana (d) reportados para polimerosomas PEO-PBD [124]. El detalle de este proceso se describe en la Sección 5.5.2.

5.3 Detalles de las simulaciones

Las simulaciones DM se realizaron utilizando GROMACS 5.0.7 [87]. Para esta etapa del trabajo se consideraron dos tipos de ensembles estadísticos, el NPT y el $NP_N\gamma T$. Todas las simulaciones se llevaron a cabo utilizando PBC en todas las direcciones, con un radio de corte de 11 Å para las interacciones LJ y electrostáticas, constante dieléctrica relativa $\epsilon_r = 2.5$ y pasos de tiempo de 20 fs. En todos los casos, la geometría de las moléculas de agua se mantuvo fija por medio del algoritmo LINCS.

Para las simulaciones NPT, la temperatura se mantuvo constante a 300 K utilizando el termostato de Nosé-Hoover con una constante de acoplamiento $\tau_T = 6.0$ ps, la presión se equilibró a 1 bar utilizando el barostato de Parrinello-Rahman con una constante de acoplamiento $\tau_P = 6.0$ ps y la compresibilidad se fijó en 4.5×10^{-5} bar⁻¹.

En las simulaciones $NP_N\gamma T$, la temperatura se mantuvo constante a 300 K utilizando el termostato V-rescale con una constante de acoplamiento de $\tau_T = 1.0$ ps y la tensión superficial fue controlada al valor objetivo γ utilizando el barostato Berendsen en modo *surface-tension* con una presión normal de 1 bar, constante de acoplamiento $\tau_P = 6.0$ ps y compresibilidad de 4.5×10^{-5} bar⁻¹.

Para el refinamiento de las interacciones de no-uni3n, utilizamos simulaciones DM sobre una bicapa PEO₁₄-PBD₂₂ construida a partir de 100 cadenas de copolímero CG por capa y aproximadamente 35 moléculas de agua polarizable (PW) por cadena. El sistema se equilibró en el ensemble NPT por al menos 100 ns usando diferentes conjuntos de parámetros de no-uni3n. Las estructuras resultantes fueron analizadas para identificar los parámetros que producen una bicapa bien formada.

Para el refinamiento de las constantes de fuerza, realizamos diversas simulaciones DM sobre una bicapa PEO₂₆-PBD₄₆ formada por 100 cadenas de copolímero CG por capa y aproximadamente 60 PW por cadena. Cada simulaci3n fue equilibrada en el ensemble NPT por al menos 1 μ s utilizando diferentes conjuntos de constantes de fuerza. Para cada simulaci3n, determinamos el espesor de membrana (d) y lo comparamos con el valor experimental (d_{exp}) reportado para polimerosomas PEO₂₆-PBD₄₆ [124]. Luego seleccionamos los parámetros que mejor ajustan a la evidencia experimental.

Para investigar la capacidad del sistema para formar bicapas estables, realizamos simulaciones DM sobre mezclas poliméricas en agua y estudiamos el proceso de autoensamblado. Los sistemas fueron construidos utilizando 200 cadenas CG de PEO₂₆-PBD₄₆ y aproximadamente 90 PW por cadena. Las simulaciones se llevaron a cabo dentro del ensemble NPT.

Para estudiar las propiedades estructurales del modelo, desarrollamos simulaciones DM sobre seis sistemas de bicapas diferentes, PEO₂₀-PBD₃₃, PEO₂₆-PBD₄₆, PEO₅₀-PBD₈₅, PEO₈₀-PBD₁₂₅, PEO₁₁₀-PBD₁₈₀ y PEO₁₅₀-PBD₂₅₀. Todas las bicapas se construyeron utilizando 100 cadenas de copolímero CG por capa. El nivel de hidratación se estableció en 45, 60, 150, 250, 360 y 550 PW por cadena respectivamente. Cada sistema se equilibró en ensemble NPT durante al menos 1 μ s para obtener el área por cadena (A_c) y el espesor de membrana (d).

Para estudiar las propiedades mecánicas del modelo, realizamos simulaciones DM sobre bicapas PEO₂₀-PBD₃₃ y PEO₂₆-PBD₄₆, construidas en base a 100 cadenas de copolímero CG por capa en ambos casos, y niveles de hidratación de 45 y 60 PW por cadena respectivamente. Estas simulaciones DM, realizadas en el ensemble NP_N γ T, se llevaron a cabo para una serie de valores de tensión superficial (γ) que van de 0 a 4 pN/nm para PEO₂₀-PBD₃₃, y de 0 a 5 pN/nm para PEO₂₆-PBD₄₆. Para cada valor de γ calculamos A_c utilizando los últimos 6 μ s de la trayectoria estabilizada y estimamos el módulo de elasticidad de área (K_a) de cada sistema.

En la Tabla 5.1 resumimos las simulaciones realizadas en este trabajo, en donde detallamos las diferentes condiciones de simulación, los tamaños del sistema y costos computacionales.

Tabla 5.1: Resumen de las simulaciones realizadas en este trabajo.

Sistema	Sitios CG	Ensemble	Tiempo de simulación	Tiempo de cómputo (horas por núcleo)*
PEO ₂₆ -PBD ₄₆ [†]	67758	NPT	200 ns	300
PEO ₁₄ -PBD ₂₂	28464	NPT	100 ns	60
PEO ₂₀ -PBD ₃₃	37918	NPT	1 μ s	750
PEO ₂₆ -PBD ₄₆	50400			1000
PEO ₅₀ -PBD ₈₅	116676			2300
PEO ₈₀ -PBD ₁₂₅	191318			4900
PEO ₁₁₀ -PBD ₁₈₀	275251			7500
PEO ₁₅₀ -PBD ₂₅₀	410336			9300
PEO ₂₀ -PBD ₃₀	37918	NP _N γ T	6 μ s	4400
PEO ₂₆ -PBD ₄₆	50400			5700

* Plataforma computacional de referencia: nodos IBM PowerEdge c6220, procesadores duales Intel Xeon E5-2650v2 (8 núcleos, 2.6GHz), 64GB RAM.

[†] Autoensamblado

5.4 Cálculo de propiedades

La organización general de los sistemas se evaluó calculando los MDPs en la dirección normal de la bicapa (dirección z). Los MDPs para los diferentes grupos de partículas se obtuvieron dividiendo al sistema en 500 rebanadas a lo largo de z y midiendo el promedio temporal de las densidades en cada rebanada como se indica en la Ec. (2.46).

El espesor de la membrana (d) también se determinó utilizando los MDPs. Los valores de d se obtuvieron como los anchos a media altura de los MDPs correspondientes al bloque hidrofóbico PBD. Para cada simulación, los MDPs se calcularon cada 1 ns y se obtuvieron los valores de d en cada intervalo. Luego, utilizamos sus valores medios y desviaciones estándar a lo largo de toda la simulación para determinar el d promedio y su fluctuación.

El área por cadena (A_c) se definió como el área de la caja de simulación en el plano de la membrana dividida por el número de copolímeros por monocapa. Los valores de A_c se calcularon para cada intervalo de tiempo registrado en la simulación. Luego, calculamos sus valores medios y desviaciones estándar a lo largo de la simulación para obtener el A_c promedio y su fluctuación.

5.5 Resultados

5.5.1 Refinamiento de parámetros de no-uni3n

Usando los parámetros iniciales de no-uni3n descritos en la Secci3n 5.2, realizamos simulaciones DM a partir de una bicapa preensamblada (PEO₁₄-PBD₂₂, 100 cadenas por capa, 35 PW por cadena) extendiendo la simulaci3n hasta que la bicapa muestre una configuraci3n convergida. Consideramos que la convergencia se alcanz3 cuando la longitud de la caja en la direcci3n normal a la bicapa se estabiliz3 dentro de una fluctuaci3n media menor al 5%, alcanzada aproximadamente despu3s de los 20 ns.

La simulaci3n realizada con el conjunto de parámetros iniciales muestra que algunas cadenas tienen su bloque hidrofílico PEO mezclado dentro de la regi3n hidrofóbica PBD, como se ilustra en la Figura 5.2a. Esto no refleja el comportamiento esperado para este tipo de sistemas anfifílicos, en los cuales debería establecerse una clara separaci3n entre fases [125]. Para corregir esta anomalía, los parámetros de interacci3n de no-uni3n EO-BD fueron ajustados del nivel *intermediate* ($\epsilon_{ij} = 3.5$ KJ/mol) en el conjunto inicial de parámetros al nivel *almost-intermidate* ($\epsilon_{ij} = 3.1$ KJ/mol) en el nuevo conjunto. Las simulaciones DM se reiniciaron desde la configuraci3n final de la simulaci3n previa

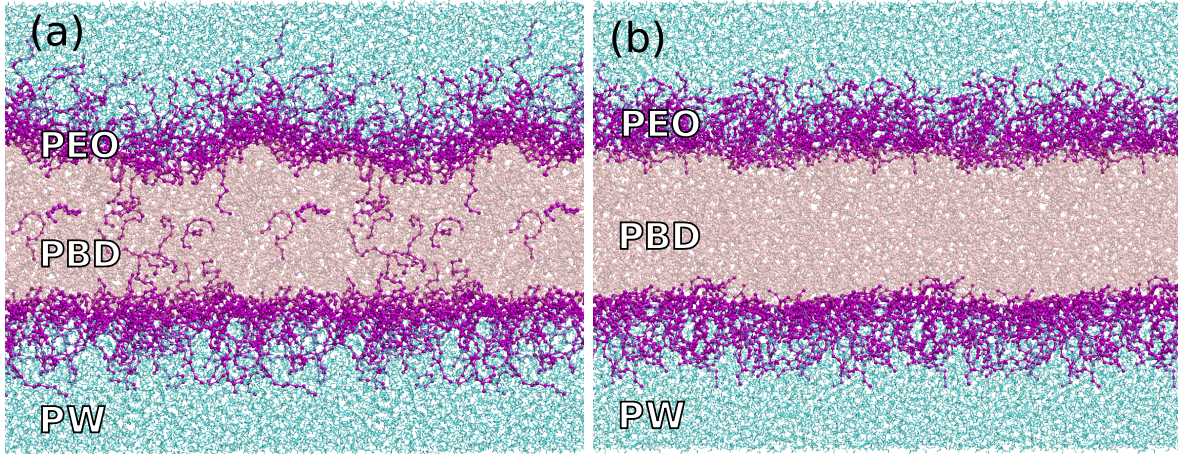


Figura 5.2: Bicapas PEO₁₄-PBD₂₂ obtenidas a partir de los conjuntos de parámetros de no-uni3n inicial (a) y final (b).

(Fig. 5.2a) usando el nuevo conjunto de parámetros. En la Fig. 5.2b se muestra una foto del sistema correspondiente a 100 ns despu3s del reinicio de la simulaci3n. Con los nuevos parámetros, es evidente que todas las cadenas de PEO que inicialmente estaban atrapadas en la regi3n PBD migraron hacia afuera y se reorganizaron para formar una bicapa bien definida y estable. Consideramos que el comportamiento del sistema bajo los nuevos parámetros es el adecuado y que no hay otros elementos que sugieran seguir con el refinamiento. Por lo tanto, tomamos a estos 3ltimos como el conjunto final de parámetros de no-uni3n, cuyos valores se describen en la Tabla 5.2.

5.5.2 Refinamiento de parámetros de uni3n

Las distancias y ángulos de equilibrio ya fueron establecidos en el conjunto de parámetros iniciales como se detalla en la Secci3n 5.2. Ahora nos queda determinar las constantes de fuerza para las distancias y ángulos (k_{ij}^b y k_{ijk}^a). Para el refinamiento de estos parámetros realizamos simulaciones DM sobre bicapas PEO₂₆-PBD₄₆ (100 cadenas por capa, 35 PW por cadena) utilizando diferentes conjuntos de constantes de fuerza. Luego determinamos el espesor de membrana d obtenido sobre el 3ltimo 1 μ s de trayectoria estable con cada conjunto y los comparamos con los valores experimentales reportados para polimerosomas análogos.

En primer lugar, observamos que el modelo no es sensible a las constantes de fuerza de las interacciones mixtas (distancias EO-BD y ángulos EO-EO-BD y EO-BD-BD). Ensayamos con diferentes valores de parámetros y verificamos que los valores de d obtenidos en cada caso son muy similares entre s3. Por lo tanto, las constantes de fuerza

para las interacciones mixtas fueron establecidas a partir de valores similares reportados en MARTINI y no fueron refinadas.

Finalmente, para la determinación de los parámetros restantes, k_{ij}^b para la distancia BD-BD y k_{ijk}^a para el ángulo BD-BD-BD, tomamos el conjunto de parámetros del modelo inicial ($k_{ij}^b = 1250 \text{ KJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{nm}^{-2}$, $k_{ijk}^a = 10 \text{ KJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{rad}^{-2}$), realizamos la simulación DM y determinamos el valor de d , resultando inferior al valor experimental (ver Fig. 5.3, conjunto A1 en azul). Para mejorar el modelo, exploramos diferentes combinaciones de parámetros. Dado que constantes de fuerza menores darían como resultado membranas más blandas, y probablemente de menor espesor, elegimos explorar conjuntos de parámetros más rígidos que posiblemente conduzcan a membranas más anchas. En esta dirección, consideramos todas las combinaciones posibles de tres valores de k_{ijk}^a (10, 30 y $50 \text{ KJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{rad}^{-2}$) y tres valores de k_{ij}^b (1250, 5000 y $7500 \text{ KJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{nm}^{-2}$). Los valores de d obtenidos para cada combinación se muestran en la Fig. 5.3. Todos ellos se encuentran por debajo del experimental ($9.6 \pm 1.0 \text{ nm}$) [124], pero mostrando en general una tendencia creciente, tanto con el aumento de las constantes de fuerza de distancia (por ejemplo, $d_{A1} < d_{A2} < d_{A3}$) como con el aumento de las constantes de fuerza de ángulo (por ejemplo, $d_{A1} < d_{B1} < d_{C1}$). Esta observación corrobora nuestra hipótesis inicial de que membranas más rígidas estarían asociadas con membranas de

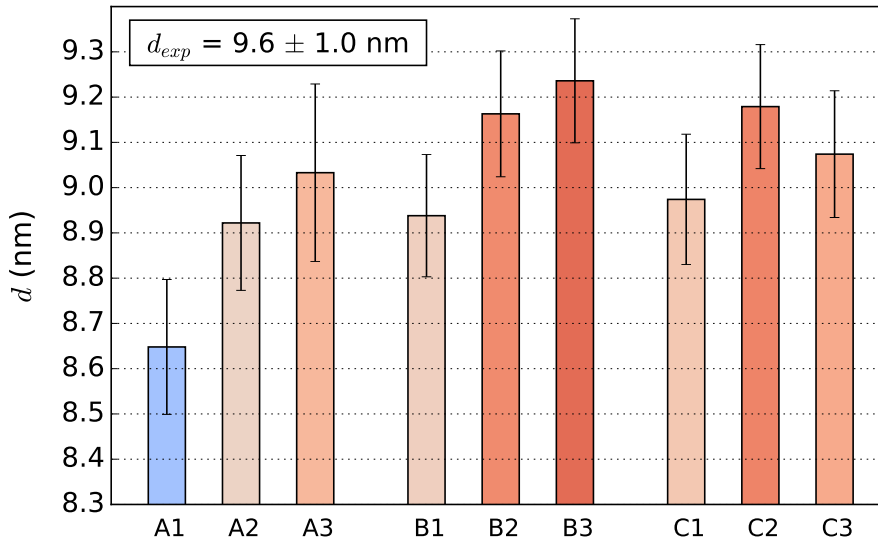


Figura 5.3: Valores de espesor de membrana (d) para bicapas $\text{PEO}_{26}\text{-PBD}_{46}$ obtenidos a partir de diferentes conjuntos de constantes de fuerza de distancias BD-BD (k_{ij}^b) y ángulos BD-BD-BD (k_{ijk}^a). Los conjuntos etiquetados con A, B, C corresponden a valores de k_{ijk}^a iguales a 10, 30 y $50 \text{ KJ mol}^{-1} \text{ rad}^{-2}$ respectivamente. Los conjuntos identificados por 1, 2, 3 corresponden a valores de k_{ij}^b iguales a 1250, 5000 y $7500 \text{ KJ mol}^{-1} \text{ nm}^{-2}$ respectivamente.

Tabla 5.2: Parámetros finales de unión y no-unión del modelo CG.

Distancias de unión			
Tipo de unión	r_{ij}^0 (nm)	k_{ij}^b (KJ · mol ⁻¹ · nm ⁻²)	
EO-EO	0.33	17000	
BD-BD	0.48	5000	
BD-EO	0.43	2000	
ángulos de unión			
Tipo de ángulo	θ_{ijk}^0 (°)	k_{ijk}^a (KJ · mol ⁻¹ · rad ⁻²)	
EO-EO-EO	130	50	
BD-BD-BD	140	30	
BD-BD-EO	136	20	
BD-EO-EO	168	20	
Diedros			
Tipo de diedro	m	k_{ijkl}^m (KJ · mol ⁻¹)	φ_{ijkl}^m (°)
EO-EO-EO-EO	1	1.96	180
	2	0.18	0
	3	0.33	0
	4	0.12	0
Interacciones Van der Waals			
Tipo de interacción	σ_{ij} (nm)	ϵ_{ij} (KJ · mol ⁻¹)	
EO-EO	0.43	3.375	
BD-BD	0.47	3.5	
EO-BD	0.47	3.1	
EO-W	0.47	4.0	
BD-W	0.47	2.565	
W-W	0.47	4.0	

mayor espesor. Dentro de los valores explorados, consideramos que los que se encuentran más cerca del experimental son los conjuntos B2, B3 y C2. Dado que la estructura de la cadena PBD tiene asociada barreras de torsión de bajas energías [126], consideramos que un conjunto de parámetros representativo de un sistema más flexible sería el más adecuado. Por lo tanto, de los tres candidatos antes mencionados elegimos el conjunto B2, el cual establece los valores $k_{ij}^b = 5000$ KJ · mol⁻¹ · nm⁻² para la distancia BD-BD y $k_{ijk}^a = 30$ KJ · mol⁻¹ · rad⁻² para el ángulo BD-BD-BD. El conjunto de parámetros final para las interacciones de unión se detalla en la Tabla 5.2.

5.5.3 Autoensamblado

Para probar la capacidad de autoensamblado del modelo CG propuesto, realizamos una simulación DM de una mezcla polimérica (PEO₂₆-PBD₄₆, 100 cadenas, 60 PW por cadena) formada a partir de cadenas orientadas de manera completamente aleatoria. En la simulación observamos que el sistema se autoensambla formando una estructura de

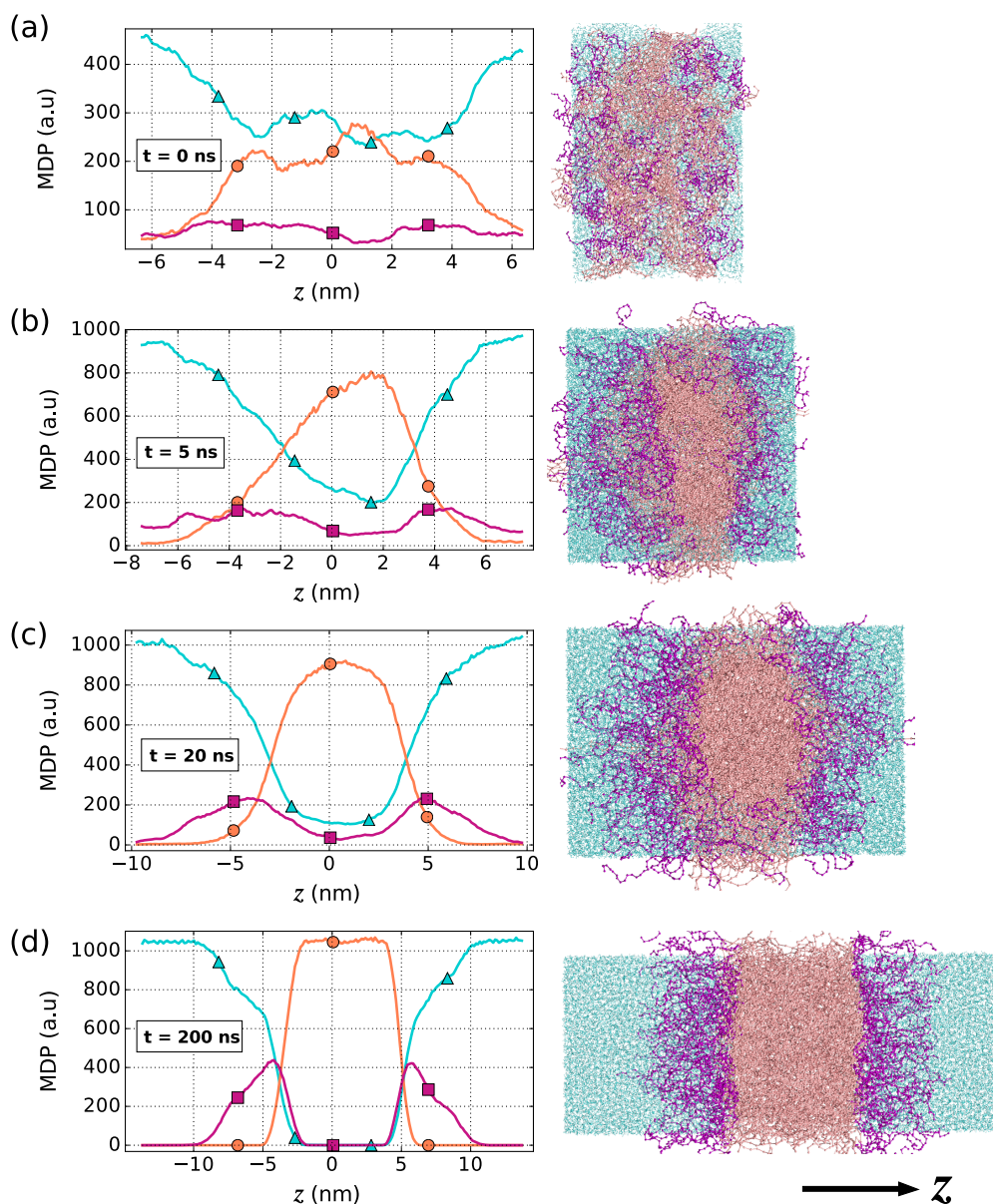


Figura 5.4: MDPs y fotos del sistema describiendo el proceso de autoensamblado para la mezcla polimérica PEO₂₆-PBD₄₆ en agua. Grupos en los MDPs: PBD (círculos naranja), PEO (cuadrados magenta) y agua (triángulos cian).

bicapas después de 200 ns. En la Fig. 5.4 representamos la evolución de los MDPs y las fotos del sistema correspondientes a $t = 0, 5, 20$ y 200 ns.

A $t = 0$ ns, se observa que todos los componentes están mezclados y distribuidos aleatoriamente dentro de la caja de simulación. A medida que avanza la simulación se puede apreciar que la densidad de PBD aumenta en el centro de la caja, desplazando a las moléculas de agua hacia las regiones superior e inferior de la caja. Finalmente, a $t = 200$ ns, el sistema está completamente ordenado y constituye una bicapa bien formada.

Esto muestra que el modelo CG propuesto para PEO-PBD es capaz de autoensamblarse en agua formando bicapas y podría usarse como un modelo representativo para describir polimerosomas. Si bien existen otros modelos CG más genéricos que también pueden organizarse en una estructura de bicapas [127], la especificidad de nuestro modelo permite reproducir propiedades estructurales y mecánicas relevantes de los copolímeros PEO-PBD reportados en la literatura, como describimos en las próximas secciones.

5.5.4 Propiedades estructurales

En esta sección presentamos los resultados de las propiedades estructurales de bicapas PEO-PBD obtenidas mediante simulaciones MD utilizando el modelo CG desarrollado aquí, y los comparamos contra datos experimentales de polimerosomas PEO-PBD con similares fracciones hidrofílica/hidrofóbica [124]. Los resultados de estas propiedades (el espesor de membrana d y el área por cadena A_c) para las seis bicapas de PEO-PBD consideradas aquí se muestran en la Tabla 5.3. En la Fig. 5.5 se ilustran los MDPs correspondientes a cada sistema, en donde se señala cómo se determina el parámetro d en cada caso. Los valores de d obtenidos en las simulaciones coinciden con las mediciones experimentales disponibles dentro de dos desviaciones estándar del error experimental [124].

Tabla 5.3: Peso molecular hidrofóbico (M_h), área por cadena (A_c) y espesor de membrana (d) obtenidos de las simulaciones MD para diferentes bicapas PEO-PBD. En los casos disponibles también se incluye el valor experimental de espesor de membrana (d_{exp}).

Sistema	M_h (kDa)	A_c (nm ²)	d (nm)	d_{exp} (nm)
PEO ₂₀ -PBD ₃₃	1.08	0.98 ± 0.02	7.59 ± 0.16	-
PEO ₂₆ -PBD ₄₆	1.40	1.14 ± 0.02	9.16 ± 0.14	9.6 ± 1.0
PEO ₅₀ -PBD ₈₅	2.70	1.65 ± 0.02	11.71 ± 0.14	-
PEO ₈₀ -PBD ₁₂₅	4.32	2.10 ± 0.02	13.52 ± 0.12	14.8 ± 1.0
PEO ₁₁₀ -PBD ₁₈₀	5.94	2.31 ± 0.02	17.72 ± 0.14	-
PEO ₁₅₀ -PBD ₂₅₀	8.10	2.81 ± 0.02	20.24 ± 0.13	21.0 ± 1.0

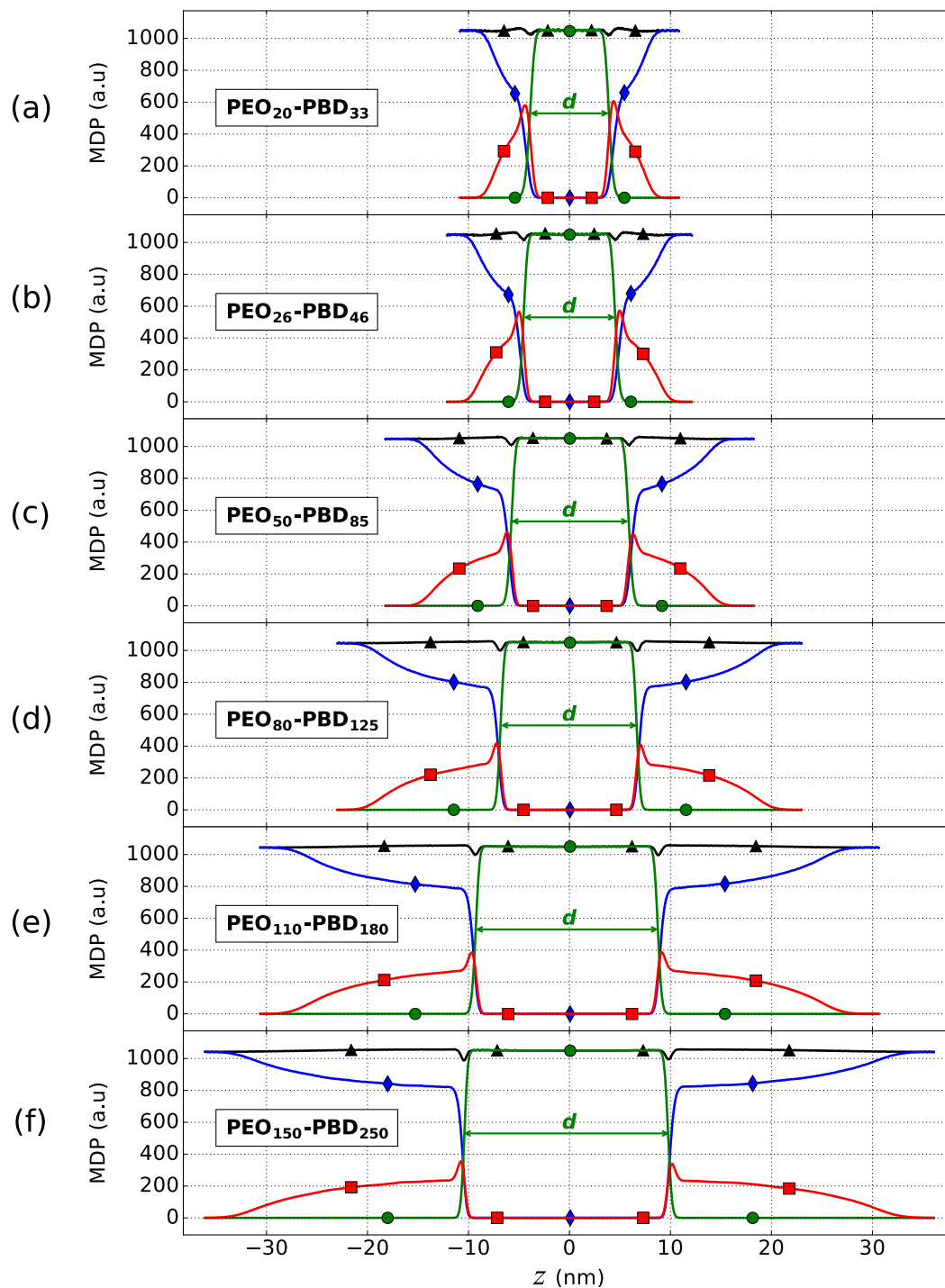


Figura 5.5: MDPs para las seis bicapas PEO-PBD simuladas. En cada caso, el valor de d se determinó como el ancho a media altura del MDP correspondiente al bloque PBD. Grupos en los MDPs: PBD (círculos verdes), PEO (cuadrados rojos), agua (diamantes azules) y sistema completo (triángulos negros).

A partir de los datos de la Tabla 5.3 determinamos el escaleo de los parámetros d y A_c con el peso molecular del bloque hidrofóbico (M_h), cuyos gráficos se visualizan en la Fig. 5.6. Allí observamos que tanto d como A_c escanean con M_h siguiendo leyes de potencias, representadas por las relaciones $d \propto M_h^a$ y $A_c \propto M_h^b$, con $a = 0.51 \pm 0.03$ y $b = 0.50 \pm 0.03$ respectivamente. Este comportamiento fue previamente observado por Bermudez y colaboradores [124], quienes caracterizaron experimentalmente estas propiedades en polimerosomas PEO-PBD y encontraron que ambas siguen las leyes de potencias recién mencionadas con parámetros $a \sim 0.5$ y $b \sim 0.5$. Vemos entonces que nuestros resultados están en muy buen acuerdo con los datos experimentales reportados en la literatura. Por lo tanto, podemos concluir que nuestro modelo CG para PEO-PBD es capaz de reproducir cualitativa y cuantitativamente el comportamiento estructural de membranas PEO-PBD observado empíricamente en polimerosomas.

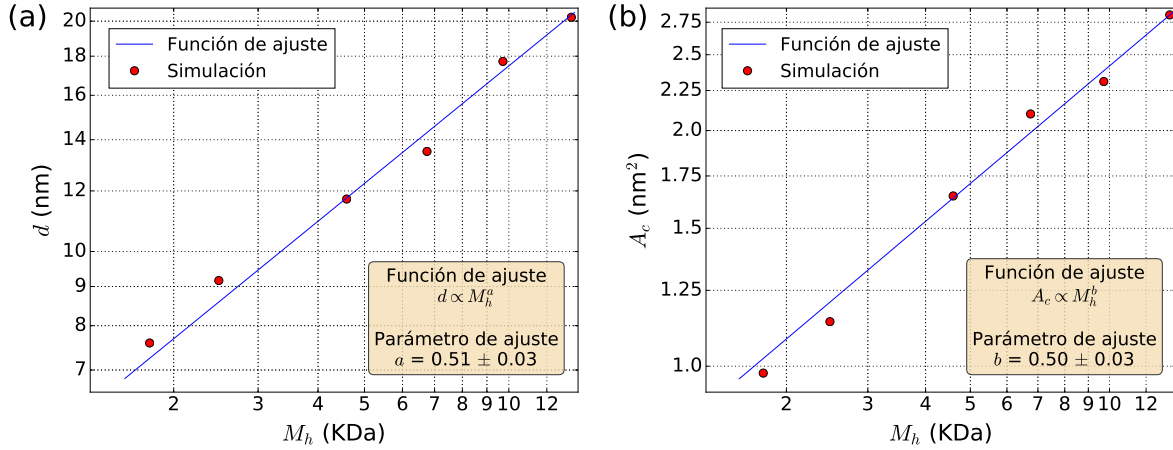


Figura 5.6: Espesor de membrana (d) y área por cadena (A_c) en función del peso molecular del bloque hidrofóbico (M_h).

5.5.5 Propiedades mecánicas

En esta etapa estudiamos el comportamiento mecánico de dos sistemas de bicapas PEO-PBD mediante simulaciones DM en el ensemble $NP_N\gamma T$ utilizando diferentes valores de tensión superficial (γ), tal como se describe en la Sección 5.3. Para cada simulación, calculamos los valores de A_c utilizando los últimos 6 μs de la trayectoria equilibrada y obtuvimos la tasa de expansión de área (α) definida mediante la expresión $\alpha = \Delta A/A_0$ [124, 128]. Para cada sistema, el parámetro A_0 denota el valor de A_c determinado a $\gamma = 0$ y ΔA representa la diferencia de A_c para el γ actual respecto de A_0 . De esta manera, el parámetro α cuantifica cuánto se expande el área al aplicar la tensión

γ en relación con el área de tensión cero. Las curvas γ vs. α obtenidas para las dos bicapas se muestran en la Fig. 5.7. Las fluctuaciones de α se estimaron por propagación de errores utilizando las incertidumbres en A_c .

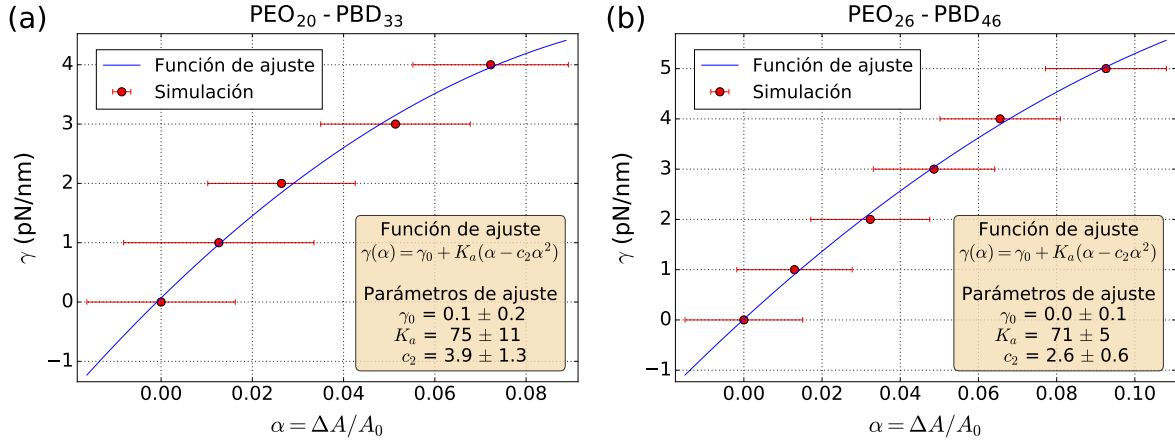


Figura 5.7: Caracterización de la tensión superficial (γ) vs. la tasa de expansión de área ($\alpha = \Delta A/A_0$) para las bicapas PEO₂₀-PBD₃₃ y PEO₂₆-PBD₄₆. El módulo de elasticidad de área (K_a) fue determinado mediante el proceso de ajuste de la función $\gamma(\alpha)$ indicada.

En las curvas podemos observar que el área se expande con el aumento de tensión superficial siguiendo una tendencia dada por la relación [124]

$$\gamma(\alpha) = \gamma_0 + K_a (\alpha - c_2 \alpha^2) \quad (5.1)$$

done γ_0 es el valor de tensión superficial para $\alpha = 0$, K_a es el módulo de elasticidad de área y c_2 es un coeficiente de segundo orden. Los valores de K_a obtenidos fueron de 75 ± 11 pN/nm y 71 ± 5 pN/nm para las bicapas PEO₂₀-PBD₃₃ y PEO₂₆-PBD₄₆ respectivamente. Estos valores reproducen el orden de magnitud de las mediciones experimentales para K_a sobre los polimerosomas análogos, 89 ± 20 pN/nm [128] y 102 ± 10 pN/nm [124] respectivamente, lo que consideramos dentro del nivel de acuerdo esperado para un modelo de grano grueso.

5.6 Conclusiones

En esta etapa refinamos y validamos un modelo de grano grueso para el copolímero PEO-PBD que se puede utilizar como modelo *in silico* para polimerosomas. Utilizamos un enfoque de grano grueso basado en el campo de fuerza MARTINI y extendimos el modelo para determinar los parámetros de interacción que no estaban disponibles previamente en MARTINI, utilizando cálculos mecánicos cuánticos y simulaciones de dinámica molecular. La validez del modelo se probó a través de un conjunto de experimentos computacionales cuidadosamente diseñados que se utilizaron para demostrar la capacidad del modelo para autoensamblarse y reproducir las propiedades estructurales y mecánicas disponibles de los experimentos. Las simulaciones realizadas con este modelo producen resultados en buen acuerdo con las mediciones experimentales reportadas para este tipo de bicapas, lo que provee la confianza para usar el modelo propuesto en el estudio de sistemas de administración de drogas basados en polimerosomas.

Capítulo 6

Bicapas poliméricas cargadas con fármaco

6.1 Introducción

En este capítulo exploramos la encapsulación del anestésico prilocaína (PLC) en bicapas PEO-PBD mediante simulaciones DM utilizando el modelo CG MARTINI previamente desarrollado para PEO-PBD. Para estudiar el comportamiento de las bicapas ante la carga de PLC, simulamos sistemas cargados a varias concentraciones de fármaco en sus dos estados de protonación, neutro (nPLC, pH alto) y protonado (pPLC, pH bajo). Para cada sistema reprocesamos las trayectorias utilizando nuestra implementación de GROMACS para el cálculo de presión por partícula y luego computamos los perfiles de presión por grupo. Mediante los resultados obtenidos caracterizamos parámetros estructurales y mecánicos clave para comprender los efectos de la encapsulación de PLC en la estabilidad de las bicapas.

6.2 Detalles de las simulaciones

Nuestros sistemas fueron modelados utilizando un enfoque CG basado en el campo de fuerza MARTINI. Para modelar al copolímero PEO-PBD utilizamos nuestro modelo CG previamente desarrollado en el Capítulo 5, mientras que para modelar las especies nPLC/pPLC utilizamos la parametrización CG desarrollada por Pickholz y Giupponi [92]. La hidratación de los sistemas se trató de manera explícita utilizando el modelo PW [85, 89]. Para el caso de las interacciones de no-uni3n cruzadas entre PLC y el resto de los

compuestos, los parámetros fueron transferidos del campo de fuerza MARTINI de acuerdo con los tipos de las partículas interactuantes.

Para realizar las simulaciones construimos una bicapa PEO₁₄-PBD₂₂ hidratada usando 100 cadenas por monocapa y 9000 PW totales. Para investigar el efecto de la encapsulación de PLC en la bicapa PEO-PBD, incorporamos diferentes cantidades de nPLC y pPLC en el sistema separadamente. Utilizamos $N_{\text{nPLC}} = 104, 208, 312, 416, 520$ y 624 para el caso neutro y $N_{\text{pPLC}} = 26, 52, 78, 104, 130$ y 156 para el caso protonado, donde N_{nPLC} y N_{pPLC} son los números de moléculas de las respectivas especies. Inicialmente exploramos diferentes condiciones iniciales tanto para nPLC como para pPLC y hemos encontrado que nPLC tiene una alta afinidad por la región hidrofóbica de la bicapa, formada por el bloque PBD, mientras que pPLC particiona entre la interfaz PEO-PBD y el agua. Por lo tanto, los sistemas utilizados para nuestro estudio se construyeron inicialmente insertando moléculas de nPLC en la región PBD y las pPLC entre la interfaz PEO-PBD y el agua. Para el último caso, también se agregó un contraión cloruro (Cl^-) por molécula de pPLC en la región del agua para equilibrar la carga neta del sistema. Una representación

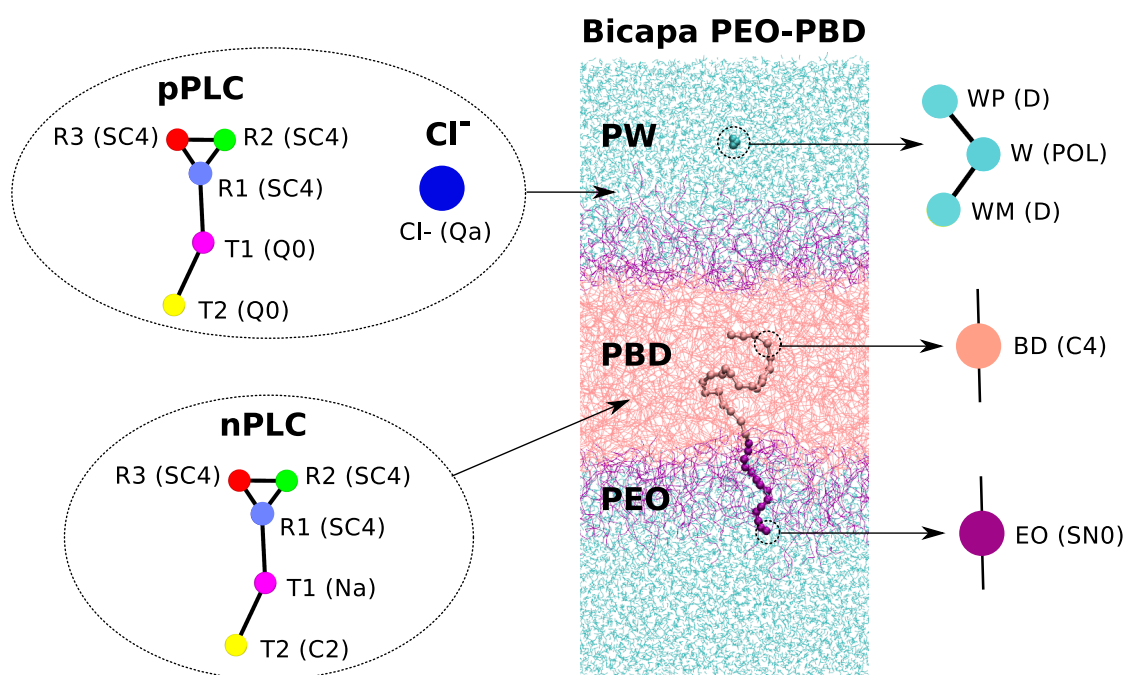


Figura 6.1: Esquema de construcción de sistemas y modelos CG correspondientes a cada compuesto, indicando los nombres de las partículas CG y sus tipos MARTINI equivalentes (entre paréntesis). Para el caso neutro (nPLC), las moléculas se incorporan en la región PBD, mientras que para el protonado (pPLC + Cl^-), las moléculas se distribuyen entre la interfaz PEO-PBD y el agua (PW).

esquemática de los diferentes compuestos utilizados en la construcción de los sistemas y sus correspondientes modelos de CG se muestran en la Fig. 6.1.

Las simulaciones DM se realizaron utilizando GROMACS 5.0.7 [87]. Todas ellas se llevaron a cabo en el ensemble NPT, utilizando PBC en todas las direcciones, radio de corte de 1.2 nm para las interacciones LJ y electrostáticas, constante dieléctrica relativa $\epsilon_r = 2.5$ y pasos de tiempo de 20 fs. La temperatura se mantuvo constante a 300 K utilizando el termostato de Nosé-Hoover con una constante de acoplamiento $\tau_T = 6.0$ ps. La presión se equilibró a 1 bar utilizando el barostato de Parrinello-Rahman con una constante de acoplamiento de $\tau_P = 6.0$ ps y compresibilidad de $4.5 \times 10^{-5} \text{ bar}^{-1}$. La geometría de las moléculas de agua se mantuvo fija por medio del algoritmo LINCS. Las bicapas limpia (sin carga) y cargadas con nPLC se simularon durante $2 \mu\text{s}$, mientras que las cargadas con pPLC se extendieron hasta $2.5 \mu\text{s}$. Para todos los sistemas, las trayectorias de equilibrio se obtuvieron sobre el último μs de simulación. Para ilustrar la organización de los sistemas para cada especie PLC, fotos de las bicapas equilibradas cargadas con $N_{\text{nPLC}} = 204$ y $N_{\text{pPLC}} = 78$ se muestran como ejemplos representativos en la Fig. 6.2. Los detalles de los sistemas simulados utilizados en este trabajo, sus tamaños y tiempos de simulación correspondientes se muestran en la Tabla 6.1.

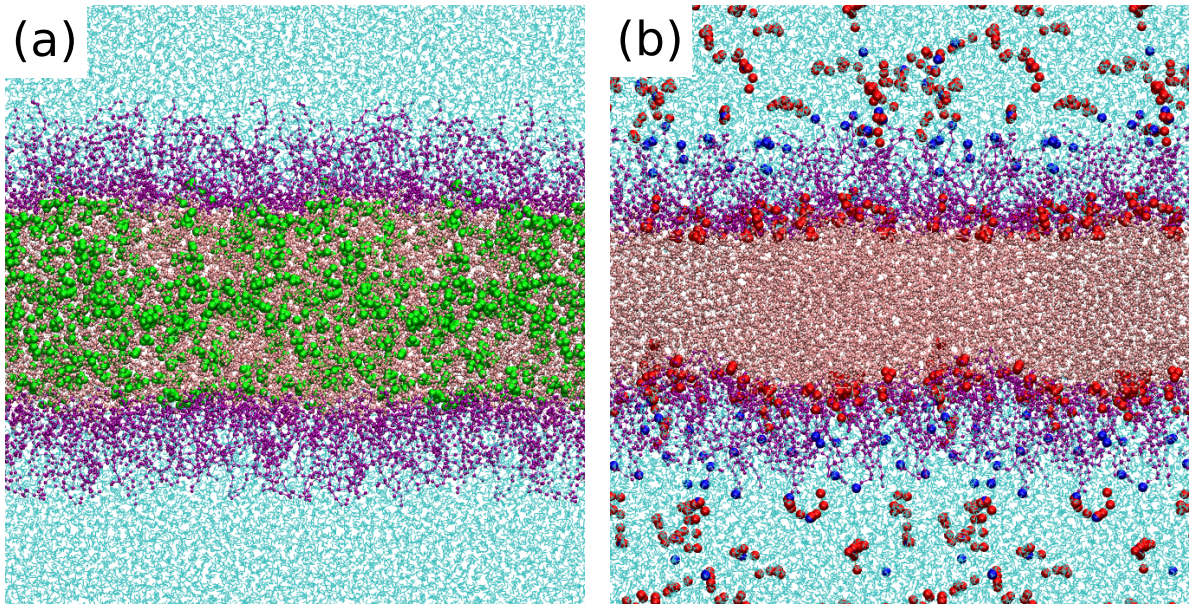


Figura 6.2: Fotos de sistemas equilibrados para dos casos representativos que ilustran la distribución de PLC en la bicapa, (a) $N_{\text{nPLC}} = 204$ and (b) $N_{\text{pPLC}} = 78$. Componentes identificadas por color: PBD (rosa), PEO (violeta), agua (cyan), nPLC (verde), pPLC (rojo), Cl^- (azul).

Tabla 6.1: Resumen de las simulaciones realizadas en este trabajo.

Sistema*	Moléculas de PLC	Sitios CG	Tiempo de simulación (μs)	Tiempo de cómputo (horas por nodo) [†]
SF	-	34200	2.0	30
N104	104	34720		
N208	208	35240		
N312	312	35760		
N416	416	36280	2.0	30
N520	520	36800		
N624	624	37320		
P26	26	34356		
P52	52	34512		
P78	78	34668		
P104	104	34824	2.5	35
P130	130	34980		
P156	156	34938		

* SF representa la bicapa PEO-PBD sin fármaco; los sistemas etiquetados con N corresponden a las bicapas cargadas con nPLC y los etiquetados con P identifican a las bicapas cargadas con pPLC.

[†] Tiempos estimados con un procesador Intel Xeon E5-2680 v4 (14 núcleos, 2.4 GHz), 256 GB RAM, y una placa GPU Nvidia Tesla P100.

6.3 Cálculo de propiedades

La organización general de las bicapas y sus propiedades estructurales fueron evaluadas mediante los MDPs calculados en la dirección normal de la bicapa (dirección z). Los MDPs para los diferentes grupos de partículas se obtuvieron dividiendo al sistema en 100 rebanadas a lo largo de z y midiendo el promedio temporal de las densidades en cada rebanada como se indica en la Ec. (2.46).

El espesor de membrana (d) se determinó como el ancho a media altura de los MDPs correspondientes al bloque PBD, mientras que el área por cadena (A_c) se calculó como el área de la caja de simulación en el plano de la membrana dividida por el número de copolímeros por monocapa. También se determinó el volumen del bloque hidrofóbico (V_h), que lo definimos como el volumen ocupado por el bloque PBD en la caja de simulación y lo calculamos mediante el producto $A_c d$. Los valores de estas tres propiedades se obtuvieron dividiendo las trayectorias de equilibrio cada 1 ns y computando sus valores en cada intervalo. Luego, calculamos sus valores medios y desviaciones estándar a lo

largo de toda la simulación para determinar los d , A_c y V_h promedio y sus respectivas fluctuaciones.

Para evaluar el comportamiento mecánico de los sistemas, primero computamos la presión por partícula a lo largo de la trayectoria de equilibrio para cada uno de ellos. Esto se llevó a cabo utilizando nuestra implementación de GROMACS específicamente desarrollada para tal fin (ver Capítulo 4, Sección 4.3.4). Luego, en cada punto de la trayectoria dividimos al sistema en 100 rebanadas a lo largo de z y determinamos los perfiles de presión tangencial por grupos mediante $P_T(z, G) = [P^{xx}(z, G) + P^{yy}(z, G)]/2$, donde $P^{\alpha\alpha}(z, G)$ se calcularon a partir de la presión por partícula como se indica en la Ec. (3.53). Finalmente tomamos los $P_T(z, G)$ obtenidos a cada instante y realizamos sus promedios temporales a lo largo de la trayectoria.

Una propiedad mecánica relevante que se deriva del perfil de presión lateral del sistema $\pi(z) = P_T(z) - P_N(z)$ es su primer momento integral, definido como

$$\tau = \int_{-L_z/2}^{+L_z/2} z \pi(z) dz \quad (6.1)$$

donde L_z es la longitud de la caja en z . Comparando esta expresión con la Ec. (2.52) vemos que $\tau = 2\kappa H_0$, con κ el módulo de curvatura media de la bicapa y H_0 su curvatura espontánea. En general, por las propiedades de simetría de la bicapa, si centramos a los perfiles de presión alrededor de su plano medio ($z = 0$) se cumple que la integral de la Ec. (6.1) se anula, y por lo tanto τ no brinda información sobre la bicapa completa. Sin embargo, se pueden definir los parámetros de la monocapa de manera tal que

$$\tau^{(m)} = 2\kappa^{(m)} H_0^{(m)} = \int_0^{+L_z/2} z \pi(z) dz \quad (6.2)$$

donde $\kappa^{(m)} = \kappa/2$ es el módulo de curvatura media de la monocapa y $H_0^{(m)}$ su curvatura espontánea [102]. El parámetro $\tau^{(m)}$ puede ser interpretado físicamente como el torque acumulado en la monocapa [129]. Esto surge como consecuencia de que cada una tiene su propia tendencia a curvarse, pero en la bicapa están forzadas a mantenerse planas. De esta manera, $\tau^{(m)}$ representaría el torque necesario para mantener a la monocapa en configuración plana y provee una medida cuantitativa de su tendencia a curvarse [130].

Para determinar $\tau^{(m)}$ en cada sistema, es necesario acceder a los perfiles $P_T(z)$ y $P_N(z)$. Como ya discutimos en el Capítulo 3, Sección 3.7, solamente el perfil tangencial puede obtenerse mediante la presión por partícula. Sin embargo, si bien el perfil normal no se puede computar mediante esta metodología, sabemos que cualquier sistema de geometría plana en equilibrio mecánico requiere que $P_N(z)$ sea constante a lo largo

de todo el sistema e igual a la presión externa en dirección normal [65, 105, 130]. Por lo tanto, calculando $P_T(z)$ y asumiendo $P_N(z) = \text{const} = 1$ bar (el valor de presión externa usado en las simulaciones), podemos establecer $\pi(z) = P_T(z) - 1$ bar y luego evaluar $\tau^{(m)}$ mediante la Ec. (6.2). Para estimar las fluctuaciones en este parámetro, procedimos de la siguiente manera. Para cada sistema, dividimos las trayectorias de equilibrio en intervalos de longitud l , calculamos los $\pi(z)$ promedio en cada intervalo, determinamos los correspondientes $\tau^{(m)}$ y computamos su fluctuación a lo largo de la trayectoria. Realizando esto para diferentes valores de l encontramos que las fluctuaciones en $\tau^{(m)}$ disminuyen con l , pero que se estabilizan para $l \geq 200$ ns. Por lo tanto, para determinar $\tau^{(m)}$ elegimos dividir a la trayectoria cada 200 ns y luego medir $\tau^{(m)}$ haciendo la estadística sobre los intervalos.

6.4 Resultados

6.4.1 Bicapas cargadas con prilocaína neutra

En esta sección presentamos el estudio de los efectos de concentración de prilocaína neutra en las propiedades estructurales y mecánicas de una bicapa PEO₁₄-PBD₂₂. Observamos que las moléculas de nPLC se encapsularon en la región hidrofóbica PBD, lo que condujo a la expansión de la membrana tanto en dirección normal como tangencial: el espesor de membrana d y el área por cadena A_c ambos aumentan con la concentración de nPLC (Figs. 6.3a y 6.3b). Además, la expansión de la membrana se produce a una tasa de volumen constante en función de N_{nPLC} , como lo muestra el aumento lineal del volumen del bloque hidrofóbico V_h (Fig. 6.3c). Mediante un ajuste lineal (Fig. 6.3c, línea azul), estimamos el volumen efectivo ocupado por cada molécula de nPLC (V_{nPLC}), resultando en un valor aproximado de 0.370 nm³ por molécula de nPLC. Este valor es similar a la predicción teórica de V_{nPLC} (0.355 nm³ por molécula) obtenida mediante su masa molar (220.31 Da) y densidad calculada (1.03 g/cm³) [131], indicando que la bicapa puede expandirse linealmente para acomodar las moléculas de nPLC sin cambiar su estructura general.

A continuación, analizamos la organización local y las propiedades mecánicas de las estructuras de bicapas a través de los MDPs y perfiles P_T para los diferentes componentes de los sistemas estudiados. En la Fig. 6.4, comparamos los MDPs y perfiles P_T correspondientes a la bicapa sin fármaco (Figs. 6.4a y 6.4b) con los correspondientes a la bicapa con máxima carga de nPLC (N624, Figs. 6.4c y 6.4d). Como se observa en los MDP para el caso sin fármaco, los componentes PBD, PEO y agua están organizados formando

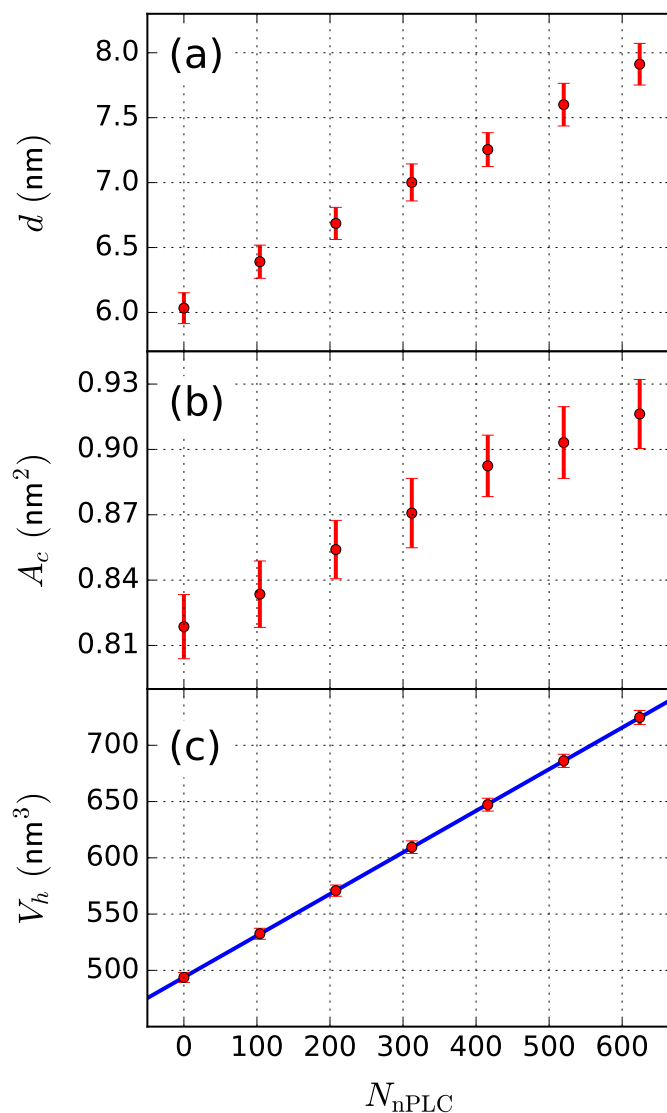


Figura 6.3: Espesor de membrana (d), área por cadena (A_c) y volumen del bloque hidrofóbico (V_h) en función del número de moléculas de nPLC (N_{nPLC}). La línea azul en el gráfico de V_h corresponde al ajuste lineal de los datos.

la estructura de bicapas ya reportada [132]. El PBD se distribuye uniformemente a lo largo del bloque hidrofóbico de la bicapa. A través de la inspección visual encontramos evidencia de una fuerte interdigitación entre las cadenas de PBD de ambas monocapas (Fig. 6.5a). Este comportamiento es diferente al observado para las bicapas lipídicas, donde hay poca o ninguna interdigitación [133]. Cuando las moléculas de nPLC se agregan al sistema, la estructura de la bicapa se conserva esencialmente, pero para permitir la encapsulación de nPLC, el bloque PBD se acomoda siguiendo una distribución más ancha y con valores de densidad más bajos en comparación con el caso sin fármaco.

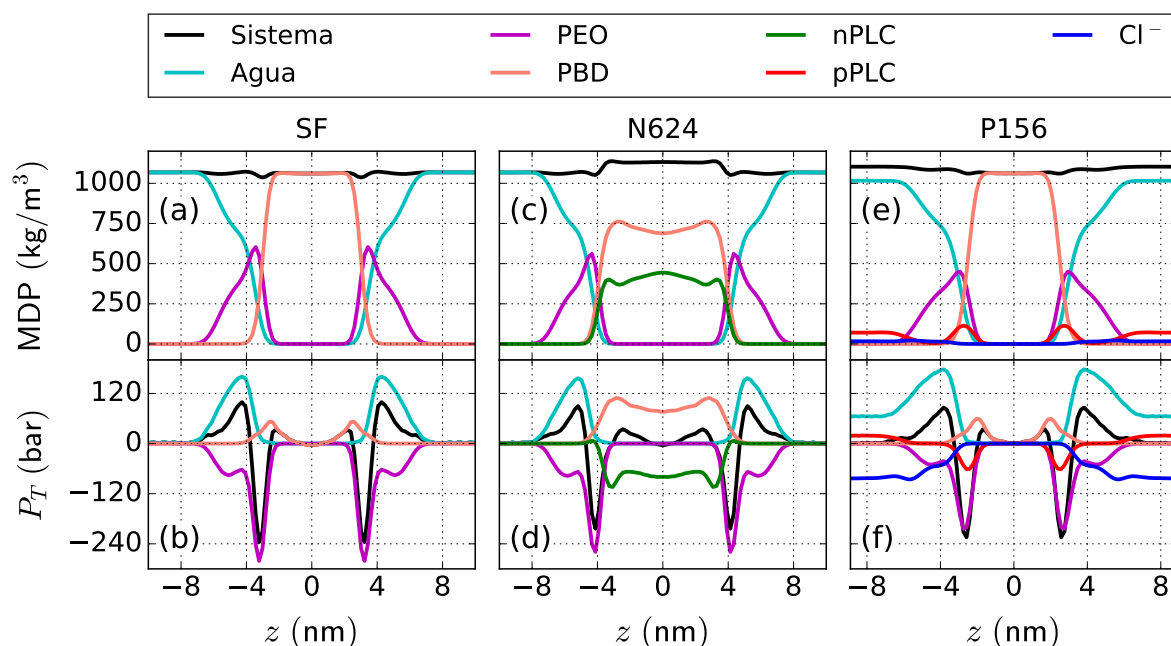


Figura 6.4: MDPs y perfiles P_T del sistema total y de cada una de las componentes (agua, PEO, PBD, nPLC, pPLC y Cl^-) para la bicapa sin fármaco (SF), con máxima carga de nPLC (N624) y con máxima carga de pPLC (P156).

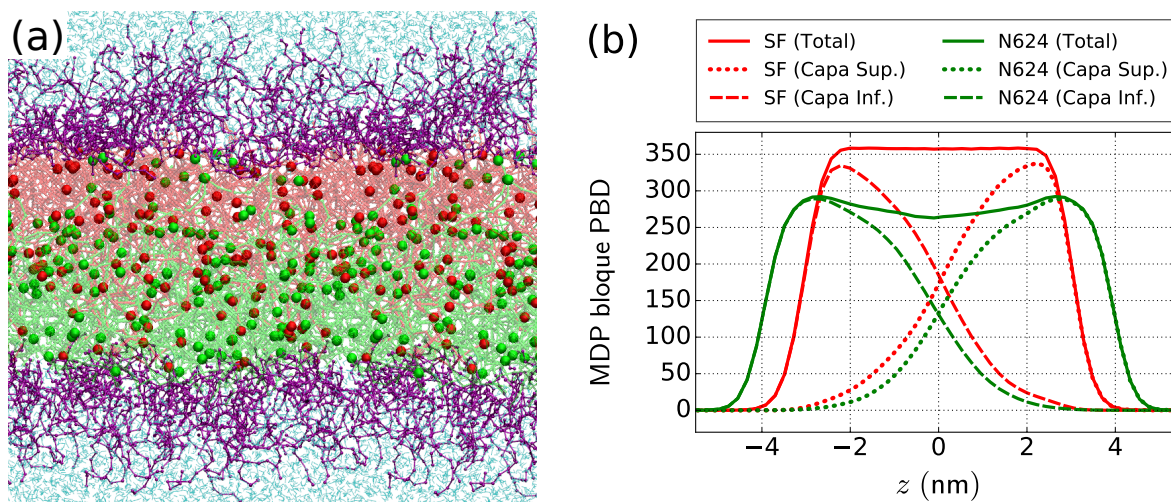


Figura 6.5: (a) Foto de la bicapa PEO-PBD sin fármaco en la configuración de equilibrio, revelando una fuerte interdigitación entre las cadenas de PBD. Identificación de los componentes: PBD en la monocapa superior (rojo), PBD en la monocapa inferior (verde), PEO (violeta), agua (cyan), partículas terminales en las cadenas de PBD (esferas). (b) MDPs del bloque PBD para las bicapas sin fármaco (SF) y con máxima carga de nPLC (N624), donde se observa que el entrelazamiento entre monocapas disminuye bajo la carga de nPLC. Los MDPs están normalizados al número total de partículas BD en el sistema.

Además, el MDP del bloque PBD ya no es uniforme alrededor del centro de la bicapa, sino que experimenta una caída en la densidad. Este cambio parece estar asociado a una disminución del entrelazamiento entre las monocapas, y por ende, una reducción de la interdigitación a medida que la concentración del fármaco aumenta (Fig. 6.5b). En esta dirección, el aumento de densidad de nPLC dentro del bloque PBD estaría empujando a las monocapas hacia afuera debido al volumen extra ocupado por las moléculas de nPLC, lo que es consistente con el desplazamiento de las monocapas observado en la Fig. 6.5b. Las moléculas de nPLC se observan distribuidas más o menos uniformemente a lo largo del bloque PBD pero mostrando densidades más altas hacia el centro de la bicapa y cerca de la interfaz PEO-PBD. Este comportamiento es algo diferente del observado para nPLC en sistemas de lípidos, donde este compuesto también se encapsula dentro de la bicapa lipídica pero siguiendo una distribución bimodal [92, 134].

En la Fig. 6.4b se observa que los valores de P_T del sistema total convergen a la presión externa (1 bar) en la fase de agua, como se requiere para las bicapas en equilibrio mecánico. La adición de nPLC y pPLC no cambia este comportamiento (Figs. 6.4d y 6.4f respectivamente), lo que indica que la membrana es estable bajo la carga de ambas especies PLC. En el perfil P_T del sistema total para la bicapa sin fármaco, podemos reconocer tres regiones diferentes: una contribución positiva correspondiente a la interfaz PEO-agua, una contribución negativa alrededor de la interfaz PEO-PBD y una contribución positiva en la región PBD. Un comportamiento similar para los perfiles P_T ha sido observado en bicapas lipídicas mediante simulaciones DM desarrolladas dentro del esquema MARTINI [116]. Con la inclusión de nPLC en la bicapa, el perfil P_T del sistema total exhibe una forma similar a la observada para el caso sin fármaco. Se puede obtener una descripción detallada del balance de presiones analizando las contribuciones individuales de cada componente al perfil P_T del sistema total. Para el sistema sin fármaco, la contribución del grupo PEO es negativa, mientras que los aportes a la presión del bloque PBD y del agua son positivos. En la región PBD, la principal contribución la proporciona el bloque PBD, mientras que en la región de la interfaz PEO-PBD, el comportamiento está dominado por la componente PEO. En la interfaz PEO-agua, la contribución positiva del agua se compensa parcialmente con la componente negativa aportada por PEO. Por otro lado, para el sistema cargado con nPLC, los perfiles P_T de PEO y agua son similares al caso anterior. La principal diferencia se observa en la región PBD, en donde se distribuyen las moléculas de nPLC. La contribución a la presión del bloque PBD es claramente mayor respecto del caso sin fármaco, lo que probablemente se corresponde con la expansión del área de la bicapa. La contribución debido a nPLC es esencialmente negativa, mostrando una muy leve contribución positiva en la interfaz

PEO-PBD. Para obtener una comprensión más profunda de estos sistemas, analizamos la evolución de estas propiedades con la concentración del fármaco.

Los efectos de la concentración de nPLC en el sistema total fueron evaluados mediante los MDPs y perfiles P_T para cada nivel de carga de fármaco, ilustrados en las Figs. 6.6a y 6.6b, respectivamente. Dada la simetría de las bicapas, solo mostramos el lado derecho de los perfiles para mayor detalle en la visualización. En los sistemas con mayor cantidad de nPLC, observamos que los MDPs totales se desplazan hacia la derecha (hasta 1 nm), siguiendo la expansión del espesor de la membrana. Los perfiles P_T también se desplazan en la misma dirección siguiendo el comportamiento de los MDPs, manteniendo formas similares. Para obtener un entendimiento más detallado del comportamiento del sistema, analizamos cada componente por separado.

Las contribuciones de densidad y presión debidas a nPLC se muestran en las Figs. 6.6c y 6.6d respectivamente. A la concentración más baja, observamos que el MDP de nPLC sigue una distribución aproximadamente uniforme en la región hidrofóbica. A medida que aumenta la concentración de nPLC, la densidad de nPLC crece en toda la región PBD, mostrando incrementos mayores hacia el centro de la bicapa y alrededor la región de interfaz PEO-PBD ($z \sim 3 - 4$ nm), y también se desplaza hacia la derecha siguiendo la expansión de la bicapa. Por su parte, los valores de P_T aportados por nPLC a la menor concentración son esencialmente negativos en toda la región PBD y aproximadamente constantes alrededor del centro de la bicapa, con un mínimo en $z \sim 2.5$ nm y una pequeña contribución positiva en $z \sim 3.5$ nm. Estas componentes se magnifican y se desplazan hacia la derecha (análogamente a los MDPs) a medida que la concentración de nPLC aumenta: la contribuciones negativas en la región PBD disminuyen, el mínimo se hace aún más profundo y la pequeña contribución positiva crece levemente.

Como ya discutimos, para el sistema sin fármaco, el MDP de PBD presenta una distribución uniforme desde el centro de la bicapa hasta $z \sim 2.5$ nm, y luego cae hasta cero en $z \sim 4$ nm. Esta distribución se ve perturbada por la presencia del fármaco, como se muestra en la Fig. 6.6e. Al aumentar la concentración de nPLC, se observa el ensanchamiento del perfil (desplazamiento hacia la derecha) correspondiente a la expansión del d , así como también la caída en la densidad en toda la región, especialmente hacia el centro de la bicapa, cuyo efecto es atribuido a la reducción de la interdigitación. Sin embargo, debido a la superposición y a la escala utilizada, este último detalle es difícil de visualizar en este gráfico. Con respecto a la contribución de PBD sobre la presión tangencial, vemos que siempre es positiva en toda la región PBD, con un pico en $z \sim 2.5$ nm, y que aumenta con la cantidad de fármaco encapsulado (ver Fig. 6.6f). Estos resultados podrían estar asociados a la hidrofobicidad de la nPLC.

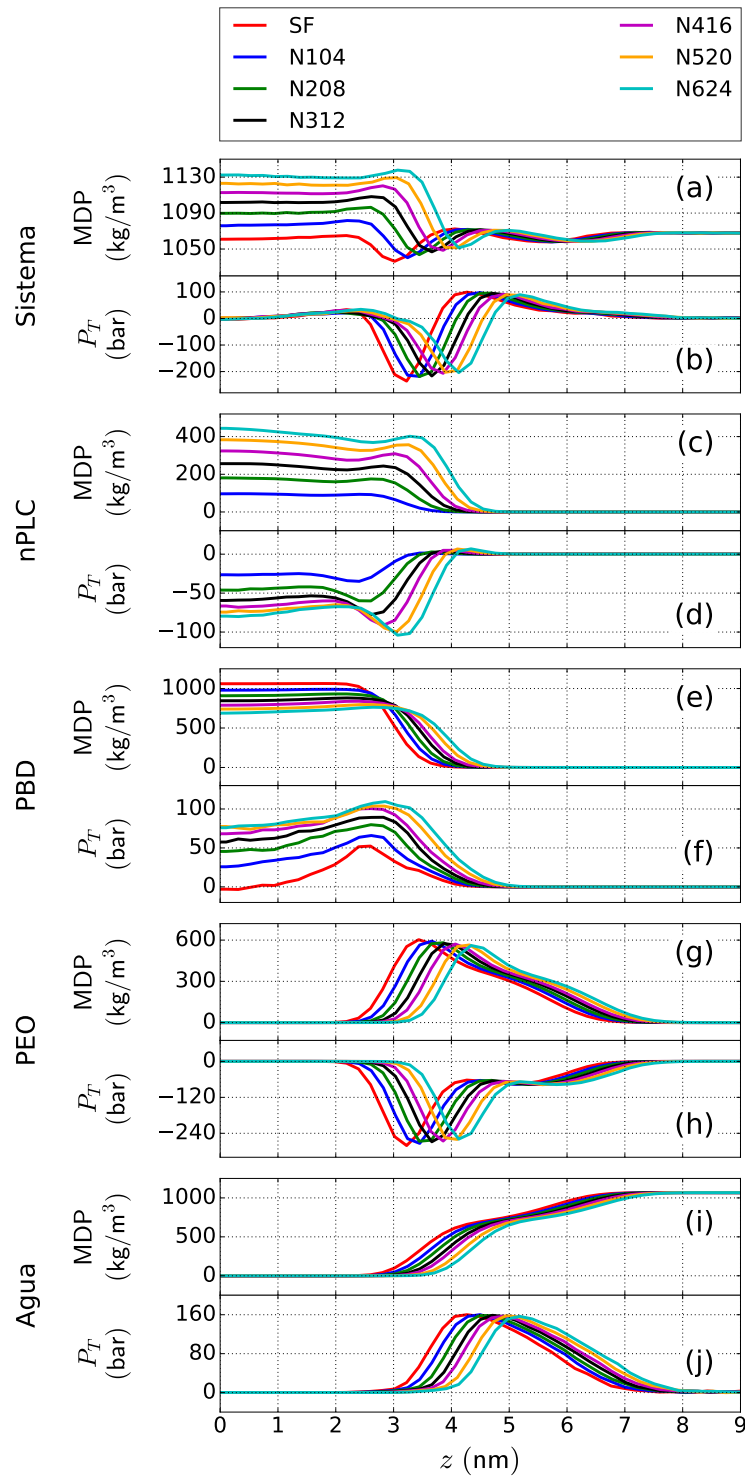


Figura 6.6: MDPs y perfiles P_T del sistema total, nPLC, PBD, PEO y agua para diferentes concentraciones de nPLC. Debido a la simetría del sistema, solamente mostramos el lado derecho de los perfiles para mayor detalle en la visualización.

También observamos efectos indirectos del fármaco en la distribución hidrofílica de los sistemas (ver Figs. 6.6g y 6.6i para PEO y agua respectivamente). Para el sistema sin fármaco, observamos que la densidad del agua es cero hasta $z \sim 2.5$ nm (que no muestra acceso al bloque hidrofóbico). Desde este punto, debido a la presencia de una interfaz PEO-agua compleja, la densidad del agua comienza a aumentar hasta la fase de agua ($z \gtrsim 7$ nm). Por otro lado, en las Figs. 6.6h y 6.6j se muestran los perfiles P_T de PEO y agua. Para el sistema sin fármaco, la contribución de PEO a la presión tangencial es negativa con dos mínimos, uno más profundo en $z \sim 3.2$ nm (ligeramente desplazada hacia la izquierda desde el pico de densidad) y la segunda en $z \sim 5$ nm, compensada por la contribución positiva del agua con un pico en $z \sim 4.5$ nm. En todos los casos se observa que tanto los MDPs como los perfiles P_T no se ven afectados significativamente ante la carga de la droga, más allá del desplazamiento debido a la expansión del d . Sin embargo, un análisis adicional sobre los MDPs revela que la hidratación en la región PEO aumenta con la concentración de nPLC hasta ~ 2 moléculas de agua por cadena con respecto al caso sin fármaco, tal como se observa en la Fig 6.7.

Los resultados observados hasta el momento indican que el balance entre los diferentes componentes del sistema conduce a bicapas estables, incluso a altas concentraciones de

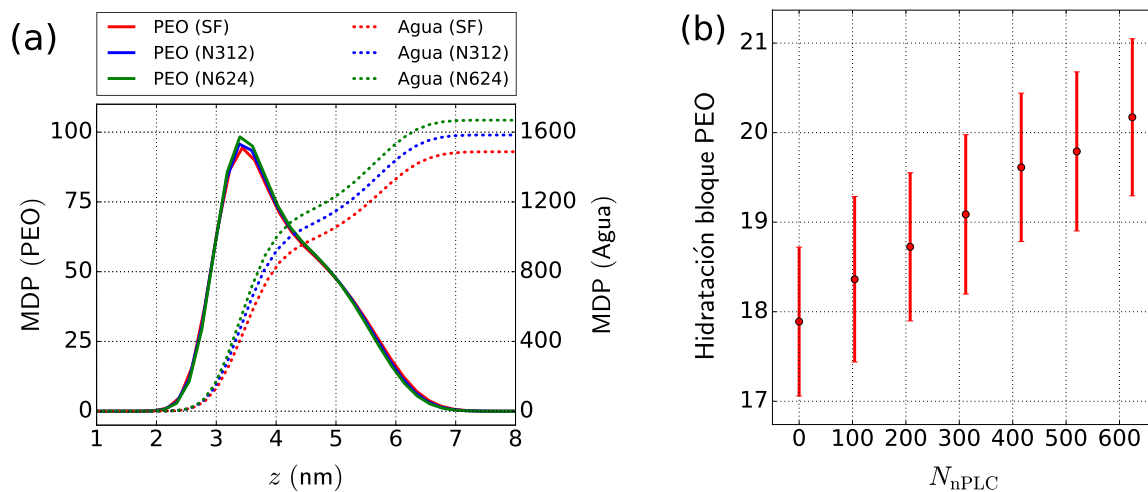


Figura 6.7: (a) MDPs de PEO y agua para el sistema sin fármaco (SF) y cargado a dos concentraciones de nPLC (N312 y N624). Los perfiles están alineados con el caso sin fármaco para la comparación. Los MDPs de PEO y agua están normalizados al número total de cadenas de copolímero y número total de moléculas de agua en el sistema, respectivamente. (b) Hidratación del bloque PEO en función del número de moléculas de nPLC (N_{nPLC}). Esta hidratación está caracterizada por la cantidad de moléculas de agua por cadena en la región PEO, y se calculó como el área bajo la curva de los MDPs de agua en $2 \leq z \leq 7$ dividido el área bajo la curva de los MDPs de PEO en el mismo intervalo.

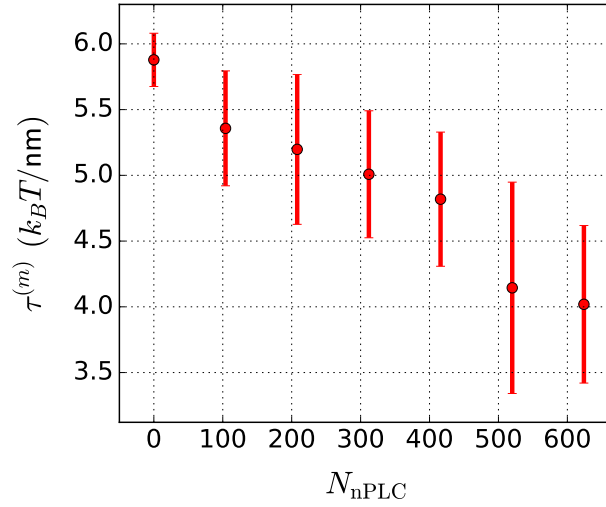


Figura 6.8: Primer momento integral del perfil de presión lateral de la monocapa ($\tau^{(m)}$) en función del número de moléculas de nPLC (N_{nPLC}), medido en unidades de $k_B T / \text{nm}$ (k_B es la constante de Boltzmann y $T = 300K$).

nPLC. En general, la nPLC se distribuye ampliamente a lo largo de la región PBD, con densidades ligeramente más altas en el centro de la bicapa y alrededor de la interfaz PEO-PBD. Los efectos de nPLC en los perfiles P_T son más complejos. A medida que aumenta la concentración de nPLC, la componente de presión de PBD (positiva) crece hasta aproximadamente 75 bar en el centro de la bicapa, la cual se cancela con el aporte correspondiente debido a nPLC (negativo) en cada caso. De esta manera, el sistema muestra ser mecánicamente complaciente ante la carga de nPLC. Además, exploramos el primer momento integral del perfil de presión lateral de la monocapa ($\tau^{(m)}$) para cada caso estudiado. Los resultados para diferentes concentraciones de nPLC se muestran en la Fig. 6.8. Allí observamos valores positivos de $\tau^{(m)}$ en el rango 4-6 $k_B T / \text{nm}$, lo que sugiere una tendencia de las monocapas a curvarse para todo el rango de concentración de nPLC analizado [130].

6.4.2 Bicapas cargadas con prilocaína protonada

Aquí presentamos el efecto de la encapsulación de pPLC en la estructura de bicapa siguiendo un enfoque similar al utilizado para el caso con prilocaína neutra. Observamos que d disminuye y A_c aumenta con N_{pPLC} (Figs. 6.9a y 6.9b), pero V_h permanece esencialmente constante para todas las concentraciones de pPLC estudiadas (Fig. 6.9c). Esto significa que la membrana se expande lateralmente pero se comprime en dirección normal con la concentración de pPLC. Además, el hecho de que V_h no cambie indicaría

que pPLC no accede al núcleo hidrofóbico, y por lo tanto, se mantiene distribuida entre la interfaz y el agua (de otra manera se debería registrar un cambio de volumen como en el caso neutro). El comportamiento observado para d y A_c alcanza un punto de saturación en $N_{\text{pPLC}} \sim 104$, ya que no hay cambios significativos en los parámetros por encima de este valor.

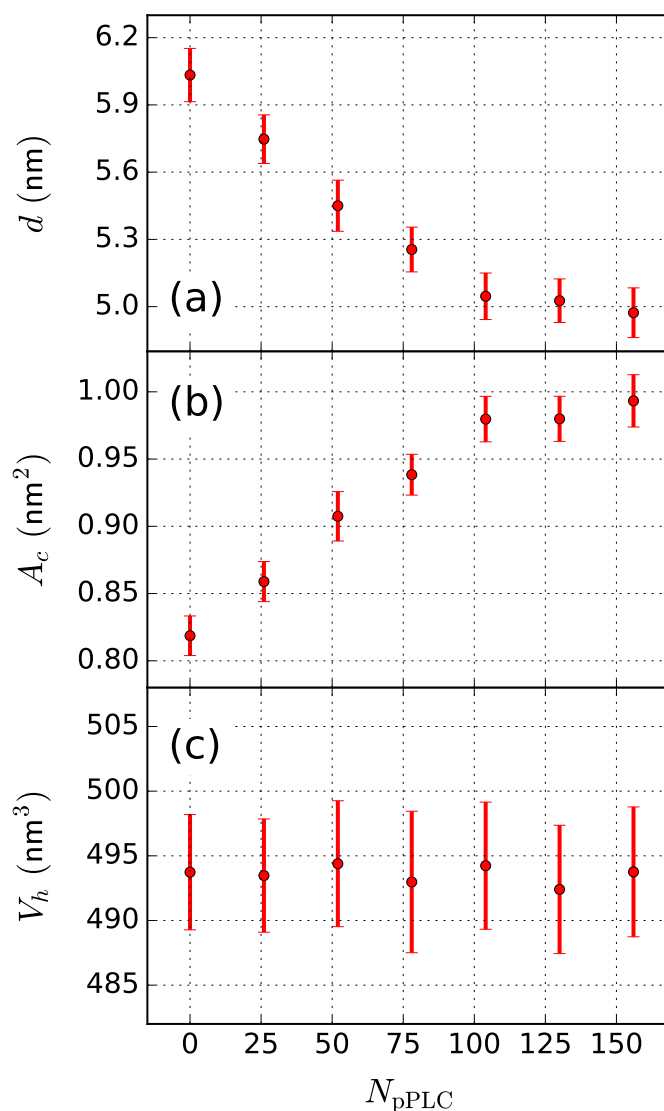


Figura 6.9: Espesor de membrana (d), área por cadena (A_c) y volumen del bloque hidrofóbico (V_h) en función del número de moléculas de nPLC (N_{nPLC})

Para un mayor entendimiento sobre el efecto de pPLC en la estructura de la bicapa, realizamos el análisis de los MDPs y perfiles P_T de los diferentes componentes del sistema. Como ejemplo, en las Figs. 6.4e y 6.4f describimos el caso de máxima concentración de pPLC utilizada en este trabajo (P156). Al igual que en el caso neutro, los MDPs de

PBD, PEO y agua muestran que estas componentes se mantienen distribuidas formando la estructura de bicapa. Sin embargo, la distribución de las moléculas de pPLC es bien diferente con respecto a las especies neutras. En este caso, se observa una clara partición de pPLC entre la interfaz PEO-PBD y la fase acuosa. Los contraiones (Cl^-) se distribuyen principalmente en la fase de agua. Por otro lado, los perfiles P_T correspondientes al sistema total y al PEO no presentan cambios significativos con respecto al caso sin fármaco. En la fase acuosa, las contribuciones positivas de agua y de pPLC se compensan con la componente negativa aportada por Cl^- para dar valores globales de P_T en equilibrio con la presión externa (1 bar).

Los efectos de concentración de pPLC en los MDP y perfiles P_T del sistema total se muestran en la Fig. 6.10a y 6.10b, respectivamente. A medida que aumenta la concentración de pPLC, los MDPs del sistema prácticamente no se modifican hasta $z \sim 2nm$. Más allá de este punto se observan aumentos de densidad con el incremento de la cantidad, pero siguiendo un comportamiento más complejo, por lo que es necesario un estudio más profundo para dilucidar la distribución de cada componente. Por su parte, los perfiles P_T del sistema total parecen no mostrar diferencias significativas, aparte del desplazamiento hacia la izquierda consistente con la disminución del espesor de membrana.

Para las moléculas de pPLC, se observa una partición bien definida entre la interfaz PEO-PBD y la fase acuosa en todos los casos (Fig. 6.10c). En la concentración más baja estudiada, el MDP de pPLC muestra un pico alrededor de la interfaz PEO-PBD y una pequeña contribución positiva en la fase de agua. Cuando la concentración de pPLC se incrementa, la densidad crece en ambas regiones, y el pico observado se desplaza hacia la izquierda de acuerdo con la disminución del d . Sin embargo, para $N_{\text{pPLC}} \geq 104$, el pico no muestra cambios significativos y los mayores aumentos se observan en la región del agua. Los perfiles P_T de pPLC muestran una contribución negativa alrededor de la interfaz PBD-PEO (Fig. 6.10d), cuyos mínimos se vuelven más profundos a medida que aumenta la concentración de pPLC. Estos picos se localizan ligeramente desplazados hacia la izquierda respecto de los correspondientes picos de densidad a la misma concentración. También se observa una contribución positiva en la fase de agua siguiendo el mismo comportamiento creciente que los MDPs en esta región.

Para todas las concentraciones de pPLC estudiadas, la forma de los MDPs de PBD y PEO son similares a la de los respectivos perfiles para el caso sin fármaco, pero desplazándose hacia la izquierda siguiendo la disminución del d a medida que la concentración de pPLC aumenta (Fig. 6.10e y 6.10g). Los MDPs de agua también muestran el correspondiente desplazamiento hacia la izquierda, así como también una disminución de la densidad en la fase acuosa (debido a la presencia de pPLC y Cl^-) con

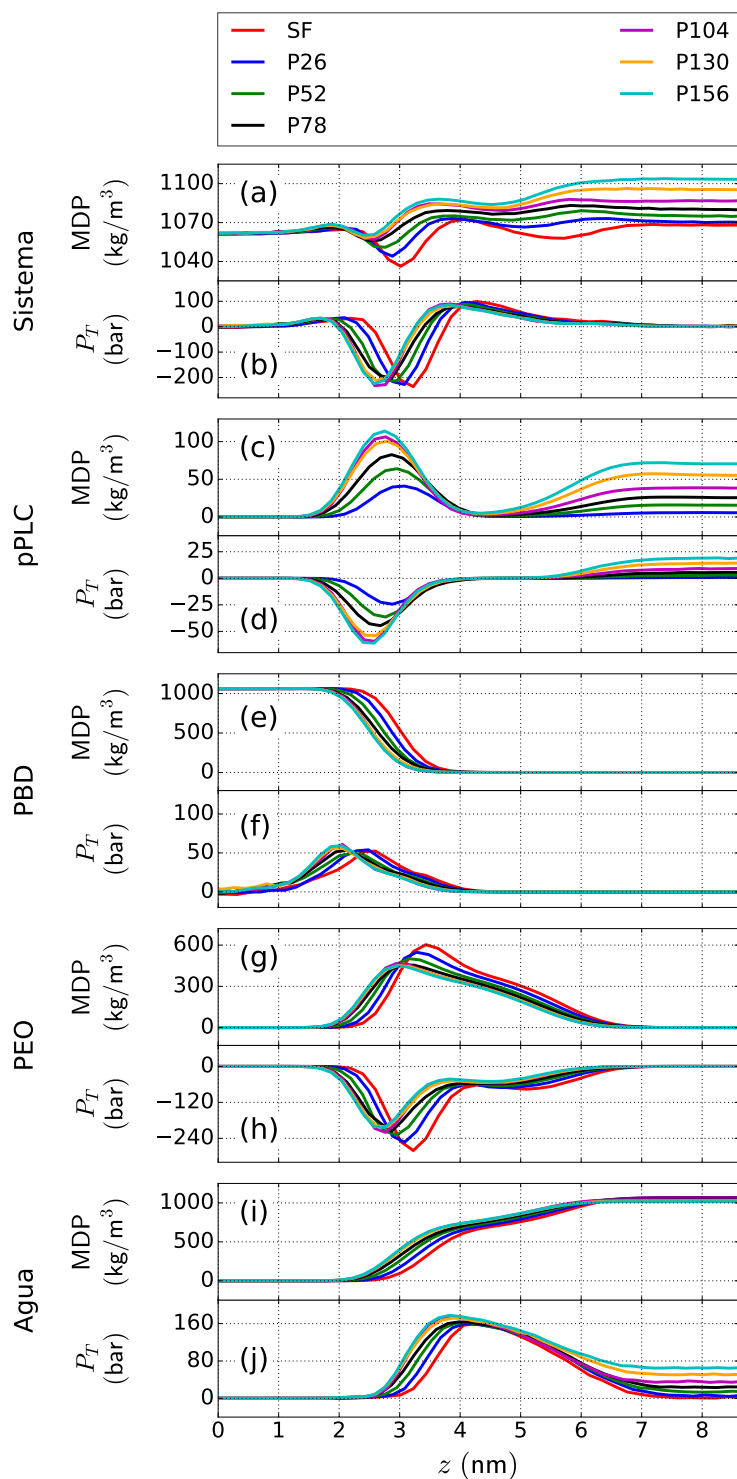


Figura 6.10: MDPs y perfiles P_T del sistema total, pPLC, PBD, PEO y agua para diferentes concentraciones de pPLC. Debido a la simetría del sistema, solamente mostramos el lado derecho de los perfiles para mayor detalle en la visualización.

el incremento de la cantidad de pPLC (Fig. 6.10i). Por otra parte, para los perfiles P_T de PBD, el único cambio notable que se observa es el desplazamiento hacia la izquierda siguiendo el comportamiento de los MDPs (Fig. 6.10f). Este cambio también se observa para PEO y agua (Figs. 6.10h y 6.10j). En particular, los perfiles P_T de PEO también mostraron cambios en la altura del mínimo, siempre negativo pero creciente con la concentración de pPLC. El incremento que presenta este mínimo es de hasta 80 bar aproximadamente respecto del caso sin fármaco.

En particular, prestamos especial atención a las interfaces, ya que en estas regiones es donde observamos los efectos más interesantes. Por un lado, se registra un aumento en la densidad del agua en la interfaz PEO-agua. Este aumento no es lineal y parece converger para $N_{pPLC} \sim 78$, encontrando hasta ~ 6 moléculas de agua adicionales por cadena respecto del caso sin fármaco (Fig. 6.11). Por otra parte, a partir de un análisis de los MDPs, determinamos el ancho de la interfaz PEO-PBD y verificamos que es estable (~ 1.0 nm) para todos los casos. En esta dirección, la expansión lateral de la membrana (aumento de A_c) parece estar compensada por la penetración del agua. La ubicación preferencial de pPLC dentro de esta interfaz podría atribuirse a efectos entrópicos.

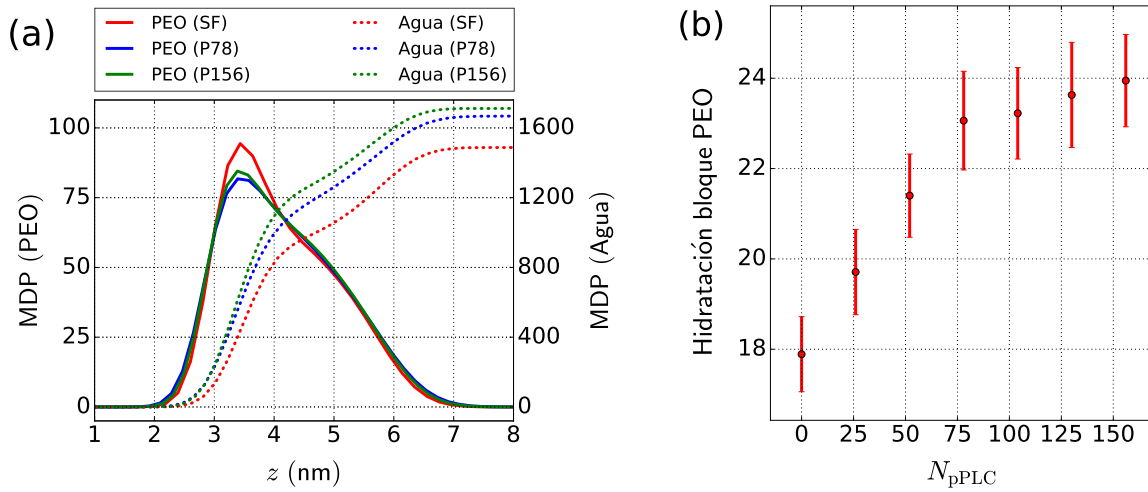


Figura 6.11: (a) MDPs de PEO y agua para el sistema sin fármaco (SF) y cargado a dos concentraciones de pPLC (P78 y P156). Los perfiles están alineados con el caso sin fármaco para la comparación. Los MDPs de PEO y agua están normalizados al número total de cadenas de copolímero y número total de moléculas de agua en el sistema, respectivamente. (b) Hidratación del bloque PEO en función del número de moléculas de pPLC (N_{pPLC}). Esta hidratación está caracterizada por la cantidad de moléculas de agua por cadena en la región PEO, y se calculó como el área bajo la curva de los MDPs de agua en $2 \leq z \leq 7$ dividido el área bajo la curva de los MDPs de PEO en el mismo intervalo.

Al igual que en el caso neutro, todos los componentes del sistema están equilibrados, garantizando la estabilidad de las bicapas. Sin embargo, el comportamiento del sistema es bastante diferente para el caso protonado. La pPLC está parcialmente encapsulada en la región de la interfaz PEO-PBD, y la cantidad de fármaco encapsulado parece saturarse para $N_{\text{pPLC}} \sim 104$, como lo sugieren los MDPs de pPLC. El análisis de los perfiles P_T proporciona información sobre el comportamiento mecánico de la interfaz, en donde se observa un mecanismo de compensación de presiones entre las contribuciones de PEO y pPLC, una aumentando y la otra disminuyendo en cantidades similares con la concentración de pPLC. Además, en la fase de agua y las interfaces PBD-PEO-agua, las contraiones contribuyen a la presión sin afectar la estabilidad del sistema. En general, el sistema muestra una buena estabilidad mecánica ante la carga de pPLC.

Para caracterizar la encapsulación de pPLC en la bicapa, estimamos el número de moléculas de pPLC en la interfaz PEO-PBD (N_i) y en la fase de agua (N_w) para cada concentración de pPLC (ver Fig. 6.12a). La evolución de N_i a lo largo de la simulación se representa en la Fig. 6.12b. Para todos los casos, observamos que N_i se estabiliza después de $1.5 \mu\text{s}$. El valor de N_i en la trayectoria de equilibrio ($t \geq 1.5 \mu\text{s}$) aumenta con la concentración de pPLC, hasta $N_{\text{pPLC}} \sim 104$. Más allá de este punto, no se observan cambios significativos en N_i . Sin embargo, para $N_{\text{pPLC}} = 104$, el sistema presenta mayores fluctuaciones de N_i que en los otros casos. La energía libre de partición entre ambas fases, denotada aquí como ΔG_{i-w} , podría proporcionar más detalles sobre el comportamiento de la partición de pPLC. Estas energías fueron estimadas mediante la ecuación $\Delta G_{i-w} = -RT \ln(N_i/N_w)$ [135, 136]. El gráfico de ΔG_{i-w} para diferentes concentraciones de pPLC se representa en la Fig. 6.12c. Para $N_{\text{pPLC}} \leq 104$ observamos que $\Delta G_{i-w} < 0$, lo que indica que la pPLC tiene mayor afinidad por la interfaz PEO-PBD en este rango de concentraciones. En cambio, para $N_{\text{pPLC}} > 104$, los valores de $\Delta G_{i-w} > 0$ muestran que la afinidad de la pPLC se invierte en favor de la fase acuosa para estos niveles de carga de fármaco. El equilibrio de afinidad de pPLC para ambas fases ocurre cuando $\Delta G_{i-w} = 0$, cuyo valor estimado por el ajuste lineal (línea azul) se alcanza en $N_{\text{pPLC}} \sim 113$. Este valor está cerca de $N_{\text{pPLC}} = 104$, lo que puede explicar la alta fluctuación observada previamente para esta concentración (Fig. 6.12b). Es importante resaltar que en condiciones de pH fisiológico, la cantidad de moléculas de nPLC correspondientes al equilibrio de afinidad es $N_{\text{nPLC}} \sim 70$, estimada a través de la ecuación de Henderson-Hasselbalch considerando un pKa aparente para la prilocaína de 7.6 [93]. En esta dirección, podría ser posible aumentar la cantidad de fármaco cargado si trabajamos a pH más alto, cambiando el equilibrio en favor de las especies neutras [137].

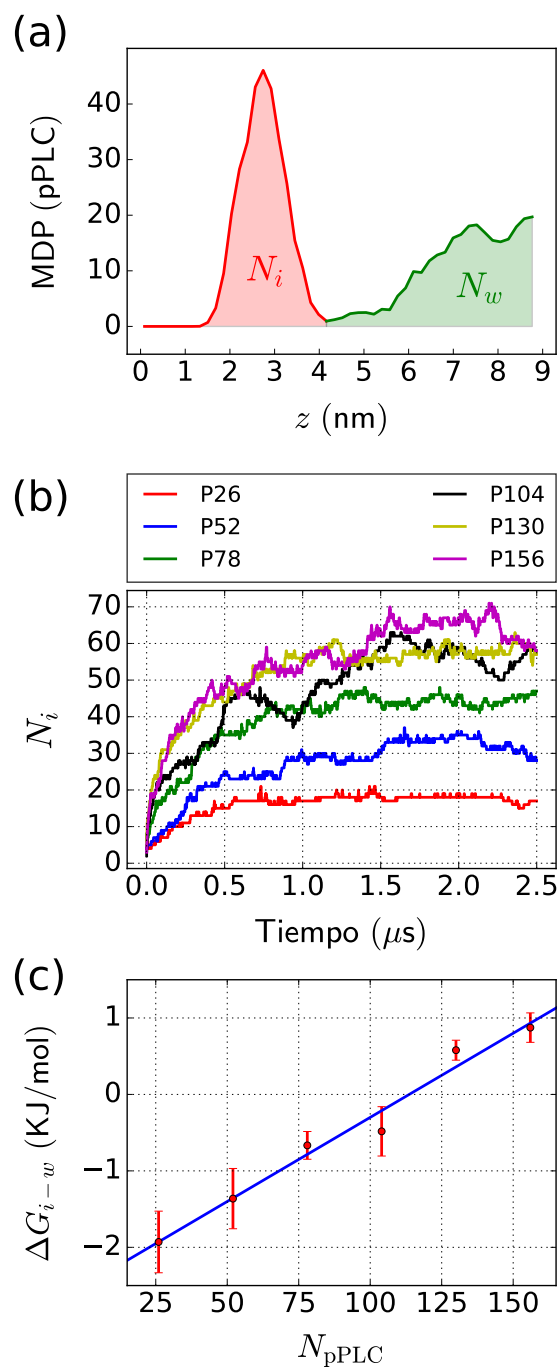


Figura 6.12: (a) Cálculo del número de moléculas de pPLC encapsuladas en la interfaz PEO-PBD (N_i) y distribuidas en la fase acuosa (N_w); los MDPs de pPLC están normalizados al número total de moléculas de pPLC en el sistema. (b) Evolución temporal del número de moléculas de pPLC en la interfaz PEO-PBD (N_i) para diferentes concentraciones de pPLC. (c) Energía libre de partición entre la interfaz PEO-PBD y la fase acuosa (ΔG_{i-w}) en función del número de moléculas de pPLC en el sistema (N_{pPLC}); la línea azul representa el ajuste lineal de los datos.

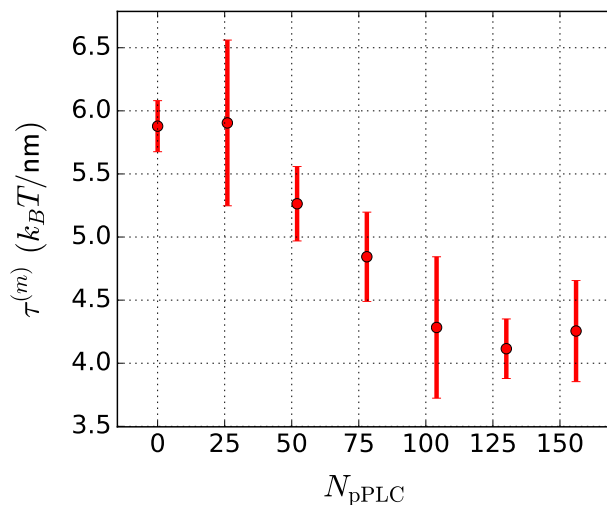


Figura 6.13: Primer momento integral del perfil de presión lateral de la monocapa ($\tau^{(m)}$) en función del número de moléculas de pPLC (N_{pPLC}), medido en unidades de $k_B T/nm$ (k_B es la constante de Boltzmann y $T = 300K$).

Finalmente, caracterizamos el parámetro $\tau^{(m)}$ para los casos protonados, cuyos valores determinados para cada concentración de pPLC se muestran en la Fig. 6.13. El rango de valores alcanzado por $\tau^{(m)}$ en este caso es similar al observado para las especies neutras (4-6 $k_B T/nm$), indicando que las monocapas manifiestan tendencia a curvarse en todo el rango de concentración estudiado [130]. En particular, aquí también observamos que $\tau^{(m)}$ no presenta cambios significativos para $N_{pPLC} \geq 104$, lo que es consistente con la saturación de la interfaz descrita anteriormente (Fig. 6.12b).

6.5 Conclusiones

Los polimerosomas son sistemas de administración de fármacos promisorios, pero su formulación presenta muchas dificultades técnicas, por lo tanto, las estrategias computacionales pueden permitir la optimización de la selección de copolímeros y medicamentos para una aplicación específica.

En este capítulo hemos utilizado un enfoque de grano grueso en el marco del modelo MARTINI para estudiar la encapsulación de PLC en bicapas de PEO-PBD mediante simulaciones DM. Se observó una expansión del área de las bicapas tanto para la prilocaína neutra como para la protonada a medida que aumenta la concentración del fármaco, pero el comportamiento del espesor de la bicapa depende del estado de ionización: aumenta para las especies neutras y disminuye para las protonadas. La prilocaína neutra se

encapsula en la región hidrofóbica, mientras que la especie protonada particiona entre la fase acuosa y la interfaz PEO-PBD.

Dado que la prilocaína protonada parece anclarse a la interfaz PEO-PBD, la longitud de la cadena de PEO no limitaría la capacidad de carga de un polimersoma compuesto por este copolímero *per se*. En todos los casos se observa una fuerte interdigitación entre ambas monocapas. Sin embargo, las superposiciones entre las cadenas de PBD disminuyen ligeramente con la concentración de nPLC. Esto podría afectar a la estabilidad de la bicapa para una elevada carga de nPLC.

Por su parte, también evaluamos las propiedades mecánicas de las bicapas cargadas de fármaco. Del análisis de los perfiles de presión tangencial pudimos concluir que la presencia de la droga tendría un impacto relativamente pequeño en la estabilidad de la bicapa, ya que la distribución de presiones del sistema total no se ve afectada significativamente con la carga de fármaco a los niveles estudiados. Además, pudimos descomponer la presión tangencial en sus diferentes componentes y dilucidar cómo es la compensación entre ellas. En esta dirección, observamos que el bloque PBD es el que compensa los cambios de presión debido a la inclusión de nPLC, mientras que el bloque PEO es el que responde balanceando las presiones ante la carga de pPLC.

El primer momento integral del perfil de presión lateral de la monocapa ($\tau^{(m)}$) se calculó para todos los casos estudiados. Este parámetro permitió obtener una medida de la tendencia de cada monocapa a curvarse. Dado que $\tau^{(m)}$ es el producto entre la curvatura espontánea de la monocapa ($H_0^{(m)}$) y el módulo de curvatura media de la monocapa ($\kappa^{(m)}$, siempre positivo [130, 138]), para poder comparar curvaturas sería necesario conocer $\kappa^{(m)}$ en cada caso. Sin embargo, los módulos de curvatura media son dependientes del sistema y requieren de un cálculo específico que está fuera del contexto de este trabajo. Por lo tanto, aquí no determinamos los valores de curvatura, sino que solamente realizamos un análisis cualitativo basado en estos datos. Teniendo en cuenta que la curvatura es cero solo para las estructuras planas, esto implica que valores de $\tau^{(m)}$ diferentes de cero favorecen a las estructuras curvas. En esta dirección, nuestros resultados sobre monocapas ($\tau^{(m)}$ positivos para todos los casos estudiados) sugieren una tendencia a curvarse para todas ellas. Además, las condiciones periódicas de contorno limitaron la formación de estructuras curvas. Para obtener mayor información sobre las propiedades de curvatura de los sistemas, se recomienda realizar estudios adicionales sobre estructuras curvas, tales como los polimerosomas [139].

En esta etapa estudiamos las concentraciones correspondientes a pH alto (neutro) y pH bajo (protonado) por separado. Debido al pKa de la prilocaína, una partición entre ambas especies se produce a pH fisiológico. Además, el pH se podría modular para ajustar

el equilibrio entre las especies neutras y protonadas para mejorar la carga del fármaco. Nuestros resultados sugieren que bajo condiciones fisiológicas, las especies protonadas serán el factor limitante para la carga del fármaco, pero los efectos cooperativos entre las especies, que no se consideran aquí, podrían modificar su capacidad de carga. En este sentido, simulaciones que combinen ambas especies podrían ayudar a aclarar este punto [93].

Una aplicación adicional de este enfoque podría usarse para investigar las propiedades mecánicas con el fin de identificar los componentes principales en la formulación para que el sistema sea estable en las condiciones deseables: por ejemplo, el impacto de otros componentes estructurales clave, como la combinación de polímeros, la complejización con diferentes fármacos o biomoléculas activas (ADN, anticuerpos, proteínas). Más aún, podría aplicarse a materiales sensibles diferentes estímulos o condiciones fisicoquímicas. Este es el caso de los sistemas de administración de drogas sensibles a pH o temperatura, directamente relacionados con las propiedades mecánicas: materiales flexibles como los polimersomas combinados con surfactantes que pueden superar las barreras biológicas.

Capítulo 7

Bicapas y polimerosomas cargados con fármaco: Estudio comparativo entre modelos

7.1 Introducción

En este capítulo estudiamos los efectos de encapsulación del anestésico prilocaína (PLC) en bicapas y polimerosomas PEO-PBD mediante simulaciones DM dentro del modelo CG MARTINI. En esta dirección, simulamos sistemas cargados con PLC usando concentraciones a niveles de pH fisiológico, en donde coexisten ambas especies neutra (nPLC) y protonada (pPLC) en la proporción $p\text{PLC}/n\text{PLC} \simeq 1.6$. Mediante el análisis de las trayectorias obtuvimos los MDPs y perfiles de presión de los sistemas, estos últimos calculados a través del método basado en el contorno de Irving-Kirkwood implementado en nuestra versión modificada de GROMACS. Luego, con esta información identificamos la organización local de los sistemas y caracterizamos sus propiedades estructurales y mecánicas claves. Este estudio comparativo permitió evaluar las diferencias entre ambos modelos (bicapas y polimerosomas) ante la encapsulación de fármaco y reconocer la información relevante brindada por cada uno.

7.2 Detalles de las simulaciones

Nuestros sistemas se modelaron utilizando un enfoque CG basado en el campo de fuerza MARTINI, siguiendo la parametrización utilizada en el Capítulo 6. Comenzamos los estudios a partir de sistemas PEO-PBD hidratados sin fármaco, a los cuales se los fue cargando progresivamente con distinta cantidad de PLC. Como bicapa sin fármaco, hemos tomado la utilizada en el Capítulo 6, construida a partir del copolímero PEO₁₄-PBD₂₂ usando 100 cadenas por monocapa y 9000 moléculas de agua polarizable (PW). Para el polimerosoma sin fármaco, hemos utilizado el paquete Packmol [118] para construir una vesícula esférica conteniendo 815 y 2326 cadenas de PEO₁₄-PBD₂₂ en su capa interna y externa, y aproximadamente 43000 y 285000 PW en las regiones interna y externa del polimerosoma, respectivamente. Los sistemas cargados con PLC se obtuvieron incorporando un número diferente de moléculas de PLC en los sistemas puros (sin fármaco) manteniendo la relación de pH fisiológica pPLC/nPLC $\simeq 1.6$. Para nuestros estudios las siguientes combinaciones fueron utilizadas:

- | | |
|--|--|
| (i) $N_{\text{nPLC}} = 27, N_{\text{pPLC}} = 43.$ | (iii) $N_{\text{nPLC}} = 500, N_{\text{pPLC}} = 800.$ |
| (ii) $N_{\text{nPLC}} = 54, N_{\text{pPLC}} = 86.$ | (iv) $N_{\text{nPLC}} = 1000, N_{\text{pPLC}} = 1600.$ |

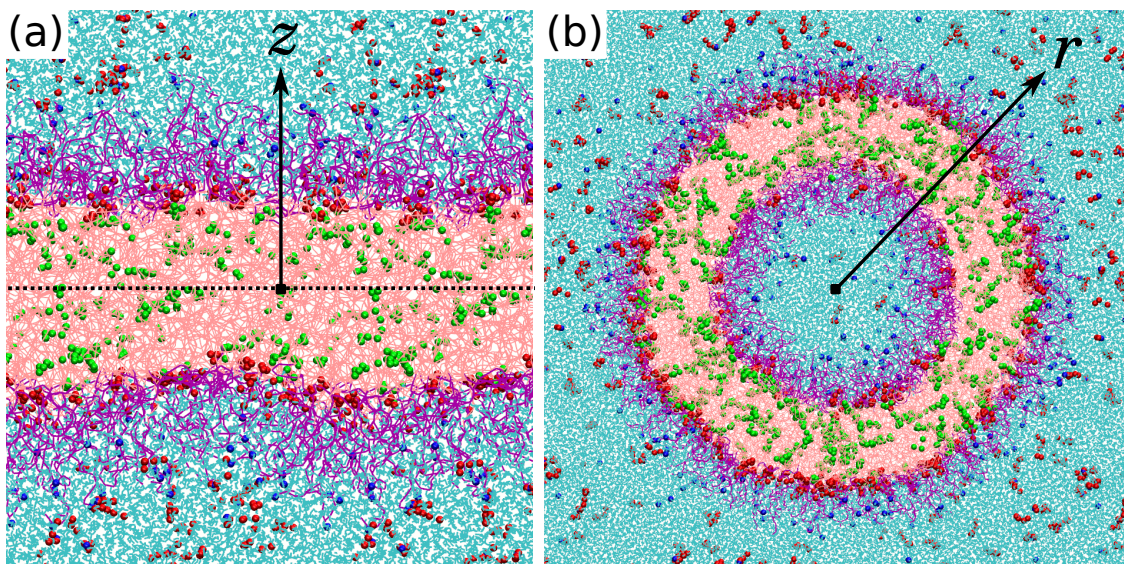


Figura 7.1: Fotos de sistemas equilibrados para (a) Bicapa cargada con PLC ($N_{\text{nPLC}} = 54, N_{\text{pPLC}} = 86$) y (b) Polimerosoma cargado con PLC ($N_{\text{nPLC}} = 1000, N_{\text{pPLC}} = 1600$). El plano medio de la bicapa en (a) se ilustra con línea punteada. Las direcciones normales en (a) y (b) se denotan por z y r respectivamente. Componentes identificadas por color: PBD (rosa), PEO (violeta), agua (cyan), nPLC (verde), pPLC (rojo), Cl^- (azul). Las imágenes fueron generadas con el programa VMD [140].

donde (i) y (ii) corresponden a bicapas cargadas con PLC, y (iii) y (iv) a polimerosomas cargados con PLC. Teniendo en cuenta la afinidad de las moléculas de PLC por regiones específicas en función de su estado de protonación [141], las especies neutras se encapsularon en la región hidrofóbica PBD y las protonadas se distribuyeron entre las interfaces PEO-PBD y el agua. Para equilibrar la carga neta del sistema, también se insertó un contraión cloruro (Cl^-) por cada molécula de pPLC en las regiones de agua correspondientes. A modo ilustrativo, fotos de los sistemas equilibrados cargados de PLC para las máximas concentraciones de PLC utilizadas se muestran en la Fig. 7.1.

Las simulaciones DM se realizaron utilizando el paquete GROMACS 2018 [87]. Todas las simulaciones se llevaron a cabo utilizando el ensemble NPT (semiisotrópico para bicapas, isotrópico para polimerosomas), PBC en todas las direcciones, radio de corte de 1.2 nm para las interacciones LJ y electrostáticas, constante dieléctrica relativa $\epsilon_r = 2.5$ y pasos de tiempo de 20 fs para bicapas y 15 fs para polimerosomas. La temperatura se equilibró a 300 K usando el termostato Nosé-Hoover con una constante de acoplamiento $\tau_T = 6.0$ ps. La presión se mantuvo a 1 bar usando el barostato Parrinello-Rahman con una constante de acoplamiento de $\tau_P = 6.0$ ps y compresibilidad de $4.5 \times 10^{-5} \text{ bar}^{-1}$. La geometría de las moléculas de agua se mantuvo fija por medio del algoritmo LINCS. Para las bicapas, las simulaciones se extendieron hasta $5 \mu\text{s}$; las trayectorias de equilibrio correspondientes se obtuvieron en los últimos $3 \mu\text{s}$. Para los polimerosomas, los sistemas se ejecutaron hasta $3.5 \mu\text{s}$, y las trayectorias de equilibrio se tomaron en los últimos $1.5 \mu\text{s}$. Los detalles de los sistemas simulados utilizados en este trabajo, incluyendo el número de moléculas de PLC, el número de sitios CG totales, los tiempos de simulación y tiempos computacionales se muestran en la Tabla 7.1.

Tabla 7.1: Resumen de las simulaciones realizadas en este trabajo.

Tipo de sistema	Identificación	$N_{\text{nPLC}}/N_{\text{pPLC}}$	Sitios CG	t_{sim} (μs)	t_{nodo}^* (hs)
Bicapa	SF	0/0			
	N27-P43	27/43	$\sim 3.5 \times 10^4$	5.0	~ 100
	N54-P86	54/86			
Polimerosoma	SF	0/0			
	N500-P800	500/800	$\sim 1.11 \times 10^6$	3.5	~ 750
	N1000-P1600	1000/1600			

* Tiempo estimado en base al siguiente hardware de referencia: procesadores Intel Xeon E5-2680 v4 (14 cores, 2.4 GHz), 256 GB RAM, placas GPU Nvidia Tesla P100, usando un procesador y una placa GPU para bicapas y dos procesadores y dos GPUs para polimerosomas.

7.3 Cálculo de propiedades

7.3.1 Análisis estructural

La organización estructural de los sistemas fue evaluada por medio de los MDPs. Para las bicapas, éstos se obtuvieron dividiendo al sistema en 100 rebanadas a lo largo de la dirección normal z (ver Fig. 7.1a) y calculando la densidad promedio en las rebanadas correspondientes a lo largo de la trayectoria, tal como se indica en la Ec. (2.46). Los MDPs se centraron en el plano medio de las bicapas (ver Fig. 7.1a). Para los polimerosomas, los MDPs radiales se calcularon utilizando un procedimiento similar, pero dividiendo a los sistemas en 150 cáscaras esféricas a lo largo de la dirección normal r centradas en el centro del polimerosoma (ver Fig. 7.1b) y calculando la densidad media sobre las cáscaras correspondientes, según se indica en la Ec. (2.47).

Para caracterizar el comportamiento estructural de los sistemas evaluamos el espesor de membrana (d), el área del sistema (A) y el volumen hidrofóbico por cadena (V_{hc}), este último definido como el volumen que ocupa cada cadena dentro del bloque hidrofóbico PBD. Para ello, dividimos las trayectorias de equilibrio cada 1 ns, computamos sus valores en cada intervalo como indicamos a continuación, y luego obtuvimos sus valores medios y desviaciones estándar a lo largo de la trayectoria para determinar sus valores medios y fluctuaciones. Los valores de d , tanto para bicapas como para polimerosomas, se calcularon en cada intervalo como el ancho a media altura de los MDPs del bloque PBD en el intervalo. Por su parte, A y V_{hc} se determinaron de manera diferente para cada tipo de sistema. Para bicapas, los valores de A en cada intervalo se obtuvieron directamente como el área media de la caja de simulación en plano tangencial xy , mientras que los valores de V_{hc} se calcularon mediante la expresión $V_{hc} = A d / N_c$, donde N_c es el número total de cadenas poliméricas en el sistema, y los valores de d y A son los calculados para el intervalo dado. En cambio, para polimerosomas, primero determinamos en cada intervalo los radios interno (R_{int}) y externo (R_{ext}) como los dos valores de r en donde el MDP del bloque PBD se encuentra a media altura (que corresponden precisamente a las posiciones usadas para determinar los valores de d). Luego, calculamos los valores del área interna y externa como $A_{\text{int}} = 4\pi R_{\text{int}}^2$ y $A_{\text{ext}} = 4\pi R_{\text{ext}}^2$ respectivamente, mientras que los valores de V_{hc} se computaron mediante $V_{hc} = (4/3)\pi(R_{\text{ext}}^3 - R_{\text{int}}^3)/N_c$.

7.3.2 Análisis mecánico

El comportamiento mecánico de los sistemas fue evaluado mediante los perfiles de presión. Estos perfiles se obtuvieron mediante un procedimiento análogo al aplicado para los MDPs, esto es, dividiendo al sistema en 100 rebanadas a lo largo de la dirección z (para bicapas) o en 150 cáscaras esféricas a lo largo de la dirección r (para polimerosomas), para luego computar los valores medios de $P_N(z)$ y $P_T(z)$ sobre cada rebanada o de $P_N(r)$ y $P_T(r)$ sobre cada cáscara. Estos cálculos fueron llevados a cabo utilizando los métodos basados en el contorno de Irving-Kirkwood tanto para sistemas planares como esféricos implementados en nuestra versión modificada de GROMACS (ver Capítulo 4, Sección 4.3.4).

Para determinar los parámetros elásticos de las membranas en cada sistema (ver Capítulo 2, Sección 2.4.4), procedimos de la manera indicada a continuación. Para el caso de bicapas, primero fue necesario estimar el módulo de curvatura media (κ), cuyo valor para cada sistema fue obtenido mediante el análisis de las fluctuaciones de la membrana aplicando el método propuesto por Brandt y colaboradores [103]. El detalle de esta metodología y su aplicación en las bicapas estudiadas se describe en el Apéndice A.1. Una vez determinados los κ para cada bicapa, calculamos los restantes parámetros del modelo elástico de Helfrich, la curvatura espontánea (H_0) y el módulo de curvatura gaussiana ($\bar{\kappa}$), mediante las Ecs. (2.52) y (2.53) utilizando los correspondientes perfiles de presión. Luego, estimamos la energía libre elástica por unidad de área (f) a través de la Ec. (2.51) considerando curvaturas media (H) y gaussiana (K) iguales a cero. Como podemos notar en dicha ecuación, los valores de $\bar{\kappa}$ no son relevantes aquí porque el término correspondiente se anula para $K = 0$.

Para el caso de polimerosomas, los parámetros elásticos fueron obtenidos de manera análoga al caso de bicapas. En primer lugar, estimamos el parámetro κ mediante el análisis de los modos de fluctuación de la membrana del polimerosoma [98, 106]. El detalle del método de cálculo y su aplicación en los polimerosomas estudiados se presenta en el Apéndice A.2. Con los valores de κ , luego determinamos H_0 y $\bar{\kappa}$ para cada polimerosoma mediante las Ecs. (2.55) y (2.56) usando los correspondientes perfiles de presión. Finalmente, los valores de f se calcularon por medio de la Ec. (2.54) considerando las curvaturas $H = -1/R_s$ y $K = 1/R_s^2$, donde R_s es el radio de la superficie neutral de la membrana obtenido a través de la Ec. (2.58) y el signo menos en H proviene de la convención de signo tomada para la curvatura (ver Capítulo 2, Sección 2.4.4).

7.4 Resultados

7.4.1 Propiedades estructurales

Para caracterizar el comportamiento estructural de los sistemas ante la carga de fármaco analizamos la evolución del área de los sistemas (A), el espesor de membrana (d) y el volumen hidrofóbico por cadena (V_{hc}) en función de la cantidad de PLC incorporada. Dadas las dimensiones de las bicapas y polimerosomas simulados aquí, sus áreas no son directamente comparables entre sí por estar en diferentes órdenes de magnitud (en los polimerosomas las áreas son mucho mayores). Sin embargo, podemos cuantificar para cada sistema el cambio relativo de área respecto de su correspondiente valor sin fármaco, que denotamos por $\Delta A/A_{SF}$. Esta cantidad ofrece una medida de cuánto se expande el área respecto del sistema sin carga y es una magnitud comparable en ambos sistemas. De la misma manera, por la diferencia de tamaños entre sistemas, el número de moléculas de PLC en los polimerosomas es mucho mayor que en las bicapas y tampoco son comparables entre sí. En esta dirección, podemos caracterizar para cada sistema el número total de moléculas de PLC ($N_{PLC} = N_{nPLC} + N_{pPLC}$) respecto del número de cadenas de copolímero totales en el sistema ($N_c = 200$ para bicapas y $N_c = 3141$ para polimerosomas). La cantidad N_{PLC}/N_c representa una manera de expresar la concentración de PLC (número de moléculas por cadena) y también es una magnitud comparable entre sistemas. Como mencionamos anteriormente, en todos los sistemas cargados con fármaco utilizamos relaciones de concentración a pH fisiológico ($N_{pPLC}/N_{nPLC} \simeq 1.6$). Este valor se deduce de la ecuación de Henderson-Hasselbalch considerando un pH fisiológico alrededor de 7.4 y un pKa aparente para la prilocaína de 7.6 [93]. Los resultados correspondientes para $\Delta A/A_{SF}$, d y V_{hc} se muestran en las Figs. 7.2a, 7.2b y 7.2c respectivamente.

Para las bicapas observamos que la membrana aumenta su área hasta un 15% (Fig. 7.2a) y disminuye su espesor (Fig. 7.2b) a medida que aumenta la concentración de PLC. La misma tendencia fue observada para las bicapas cargadas con pPLC pura [141], sugiriendo que las características estructurales de las bicapas cargadas a pH fisiológico están dictadas por las especies protonadas. Este fenómeno se puede explicar considerando que las moléculas de pPLC adsorbidas en las interfaces PEO-PBD inducen una mayor separación entre las cadenas de copolímero (aumento del área), las cuales son lo suficientemente flexibles para acomodarse y ocupar los espacios libres, conduciendo a la compresión de la membrana (disminución del d). Por otro lado, el efecto de las especies neutras en la estructura se puede ver a través del aumento lineal de V_{hc} . La línea verde en la Fig. 7.2c representa el volumen teórico por cadena de moléculas de nPLC

(estimado utilizando la masa molar y la densidad predicha de PLC [141]) como función del número total de moléculas de PLC totales por cadena (donde $N_{\text{nPLC}} = N_{\text{PLC}}/2.6$ usando la relación de pH fisiológico). Como se ve en la Fig. 7.2c, los valores de V_{hc} están bien descritos por la línea verde, lo que indica que la expansión de la región hidrofóbica se correspondería con el volumen ocupado por las moléculas de nPLC insertadas dentro de la membrana.

Para los polimerosomas observamos que al aumentar la cantidad de PLC en el sistema, el área interna se mantiene constante mientras que el área externa se incrementa ligeramente hasta un 2.5% del valor inicial sin fármaco (Fig. 7.2a). Por su parte, el espesor también crece levemente (ver Figs. 7.2b), lo que junto con el aumento del área externa muestra que la membrana se expande hacia el exterior. Este comportamiento, bastante diferente respecto al observado para las bicapas, puede explicarse por las características de los polimerosomas simulados. Como describimos anteriormente, las bicapas se expanden lateralmente y se comprimen en la dirección normal con la carga de PLC. En los polimerosomas, la expansión lateral de la membrana conduciría a un aumento de área y, por lo tanto, a polimerosomas más grandes. Sin embargo, las condiciones de simulación (PBC y ensemble NPT isotrópico) imponen restricciones que limitan el movimiento de la caja y mantienen la estabilidad del sistema en la configuración actual, aún cuando ésta no sea la óptima. En consecuencia, los polimerosomas simulados se ven condicionados a conservar esencialmente su tamaño, lo que frustra la expansión lateral de su membrana. Esta frustración hace que la especie protonada no tenga impacto apreciable sobre la estructura del polimerosoma, y sólo el efecto de la especie neutra es evidenciado. En esta dirección, la ligera expansión de la membrana parece ser consecuencia de la inclusión de moléculas de nPLC dentro de la misma. El crecimiento lineal de V_{hc} siguiendo la línea verde (Fig. 7.2c) confirmaría esta observación.

7.4.2 Perfiles de densidad y presión

Para obtener información sobre la organización local de los sistemas y su comportamiento mecánico, analizamos los MDPs y perfiles de presión correspondientes, promediados sobre las trayectorias de equilibrio (últimos 3 μs para bicapas y últimos 1.5 μs para polimerosomas). Comenzamos nuestra discusión con una descripción cualitativa de los perfiles. Para ilustrar las características principales observadas para bicapas y polimerosomas y comparar sus diferencias, los MDPs y los perfiles de presión para las concentraciones máximas de PLC (bicapa N54-P86 y polimerosoma N1000-P1600) se muestran como ejemplo en la Fig. 7.3.

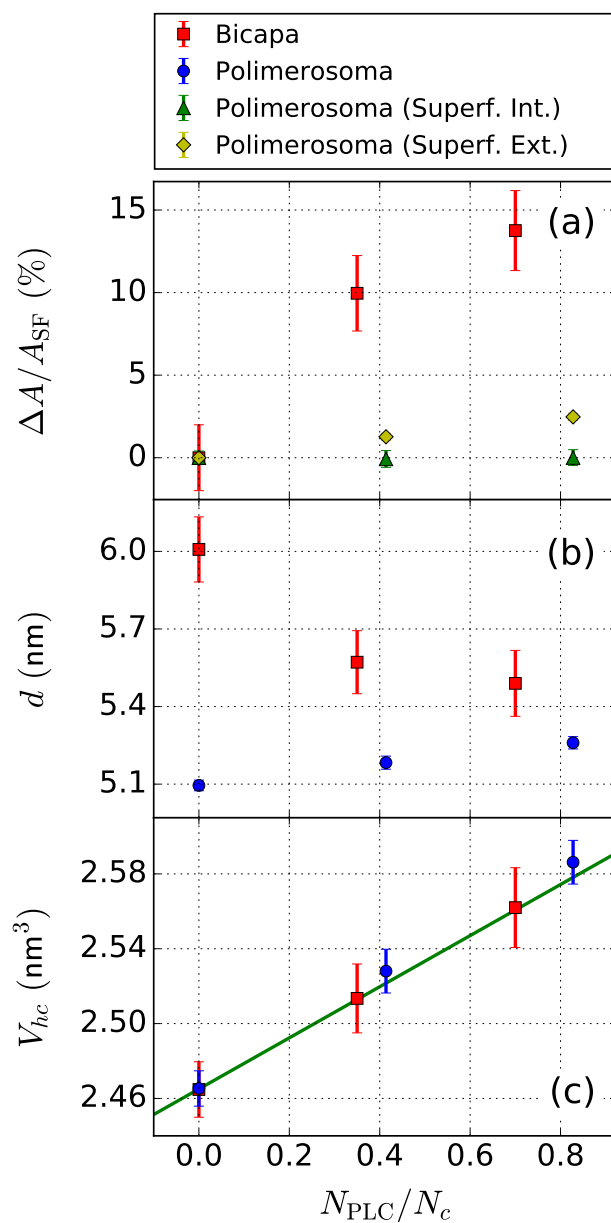


Figura 7.2: Cambio de área relativo al sistema sin fármaco ($\Delta A/A_{\text{SF}}$), espesor de membrana (d) y volumen hidrofóbico por cadena (V_{hc}) en función del número total de moléculas de PLC (N_{PLC}) normalizadas por el número de cadenas de copolímero totales en el sistema (N_c). En (a), dos valores fueron caracterizados para los polimerosomas, uno debido al área interna y el otro al área externa. En (c), la línea verde representa el volumen teórico de nPLC por cadena como función del número total de moléculas de PLC por cadena.

Como observación general, destacamos que los perfiles de la bicapa son prácticamente simétricos alrededor del plano medio de la misma (coordenada normal $z \sim 11$ nm), mientras que los perfiles del polimerosoma son inherentemente asimétricos alrededor del radio medio (coordenada normal $r \sim 11$ nm). Aquí, el plano medio de la bicapa está centrado en $z \sim 11$ nm, dado que sus perfiles fueron desplazados para lograr el solapamiento con los correspondientes al del polimerosoma. Los MDPs del sistema total

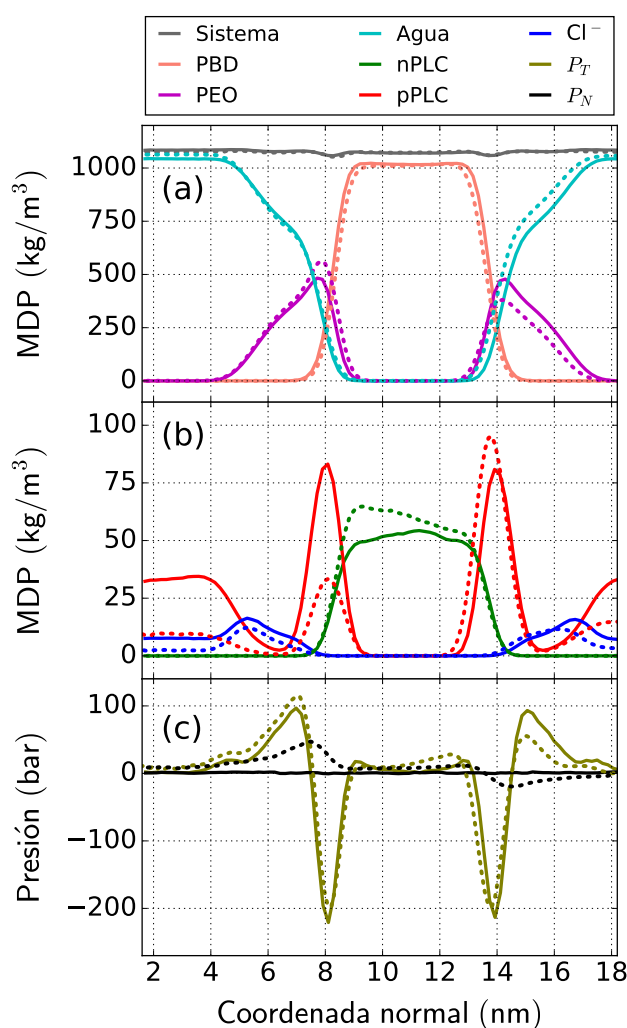


Figura 7.3: (a) MDPs de PBD, PEO y agua, (b) MDPs de nPLC, pPLC y Cl⁻, y (c) perfiles P_T y P_N del sistema total, correspondientes a la máxima concentración de PLC usada en cada caso (bicapa N54-P86 y polimerosoma N1000-P1600). Los perfiles de la bicapa se ilustran con línea llena y los del polimerosoma con línea punteada. La coordenada normal corresponde a la dirección z para la bicapa y a la dirección r para el polimerosoma. Para realizar la comparación entre ambos sistemas, los perfiles de la bicapa fueron desplazados en la coordenada normal convenientemente para solaparse con los perfiles del polimerosoma.

y de las componentes PBD, PEO y agua se ilustran en la Fig. 7.3a). Los perfiles son compatibles con una estructura de bicapa típica [132, 141], con la región hidrofóbica (PBD) en el centro, rodeada por la región hidrofílica (PEO) y el agua. Los MDPs de PBD y agua para el polimerosoma (línea punteada) son muy similares a los de la bicapa (línea llena), con algunas diferencias menores en sus anchos. Los MPDs de PEO también son similares, excepto por la asimetría del perfil en el caso del polimerosoma. En esta última, las densidades en la capa interna ($r < 11$ nm) muestran valores más altos en comparación con las densidades en la capa externa ($r > 11$ nm). En ambos casos, los MDPs del sistema total son muy similares entre sí, manteniéndose aproximadamente constantes a lo largo del sistema en la dirección normal, excepto alrededor de las interfaces PEO-PBD donde presentan una ligera caída en la densidad.

Las distribuciones locales de nPLC, pPLC y Cl^- se muestran en la Fig. 7.3b. Para la bicapa (línea llena), los MPDs muestran que la nPLC está localizada en la región PBD y la pPLC se distribuye entre las interfaces PEO-PBD (en la capa inferior alrededor de $z \sim 8$ nm y en la superior alrededor de $z \sim 14$ nm) y la fase de agua. Los contraiones se distribuyen principalmente a lo largo de la fase de agua. Para el polimerosoma (línea punteada), los componentes se distribuyen en regiones similares. El MDP de pPLC presenta valores de densidad en la interfaz externa ($r \sim 14$ nm) que son considerablemente más altos que en la interfaz interna ($r \sim 8$ nm). Por el contrario, el MDP de nPLC está sesgado hacia el lado interno ($r < 11$ nm). Esto puede indicar que la especie neutra se acomodaría en la estructura para compensar parcialmente el desequilibrio en la distribución de pPLC observado en favor del lado externo.

Los perfiles P_T y P_N para los sistemas correspondientes se muestran en la Fig. 7.3c. Para el caso de la bicapa (línea llena) observamos que P_N es prácticamente constante a lo largo del sistema y su valor medio coincide con la presión normal externa (1 bar). Este comportamiento es el esperado para sistemas planares en equilibrio mecánico [65, 105, 130], lo que constituye una prueba de consistencia del método de cálculo para perfiles de presión. Por su parte, el perfil P_T resulta prácticamente simétrico en la bicapa, en donde se pueden observar diferentes contribuciones en cada región. Identificamos una contribución de presión positiva en la región PEO-agua, una negativa alrededor de la interfaz PEO-PBD y otra positiva en la región PBD. Estas características ya fueron reportadas anteriormente para las bicapas PEO-PBD estudiadas en el Capítulo 6. En este caso, pudimos verificar que los valores de P_T en la fase acuosa convergen a la presión tangencial externa (1 bar), así como también lo hace el valor medio de P_T a lo largo del sistema.

Para el caso del polimerosoma (línea punteada), observamos un comportamiento diferente para las presiones. El perfil P_N ya no es constante, sino que presenta una

contribución positiva en toda la región interna del polimerosoma, incluyendo el bloque hidrofóbico, con un máximo local más intenso en $r \sim 7.5$ nm y otro más leve en $r \sim 12.5$ nm. Luego sigue una contribución negativa que comienza alrededor de la interfaz PEO-PBD y se extiende hasta la región acuosa, cuyo mínimo se localiza en $r \sim 14.5$ nm. Por su parte, el perfil P_T es bastante similar al observado en bicapas, con algunas diferencias en las magnitudes de las presiones. El máximo de presión (positiva) en la región PEO-agua del lado interno del polimerosoma ($r \sim 7$ nm) es mayor en que en la región análoga del lado externo ($r \sim 15$ nm). Lo mismo ocurre en la zona de la interfaz PEO-PBD, donde el mínimo (negativo) es menor en la región interna ($r \sim 8$ nm) que en la externa ($r \sim 14$ nm). En ambos casos, los valores de P_N y P_T en la fase acuosa convergen a la presiones normal y tangencial externa (1 bar), como lo requiere la condición de equilibrio mecánico.

Con el fin de obtener una mejor comprensión del comportamiento mecánico de los sistemas, analizamos los perfiles $P_T - P_N$ en función de la concentración de PLC para la bicapa y el polimerosoma, los cuales se visualizan en las Figs. 7.4a y 7.4b respectivamente. Cabe destacar que este perfil es de gran importancia desde el punto de vista mecánico ya que las propiedades elásticas de la membrana están determinadas a partir del mismo (ver Capítulo 2, Sección 2.4.4). Para el caso de la bicapa (Fig. 7.4a), si bien se observa que el perfil $P_T - P_N$ presenta un leve aumento de sus mínimos al incrementar la concentración de PLC, el principal cambio que experimenta es la compresión en la dirección z siguiendo la compresión de la membrana informada previamente (ver Fig. 7.2, Bicapa). Tal como

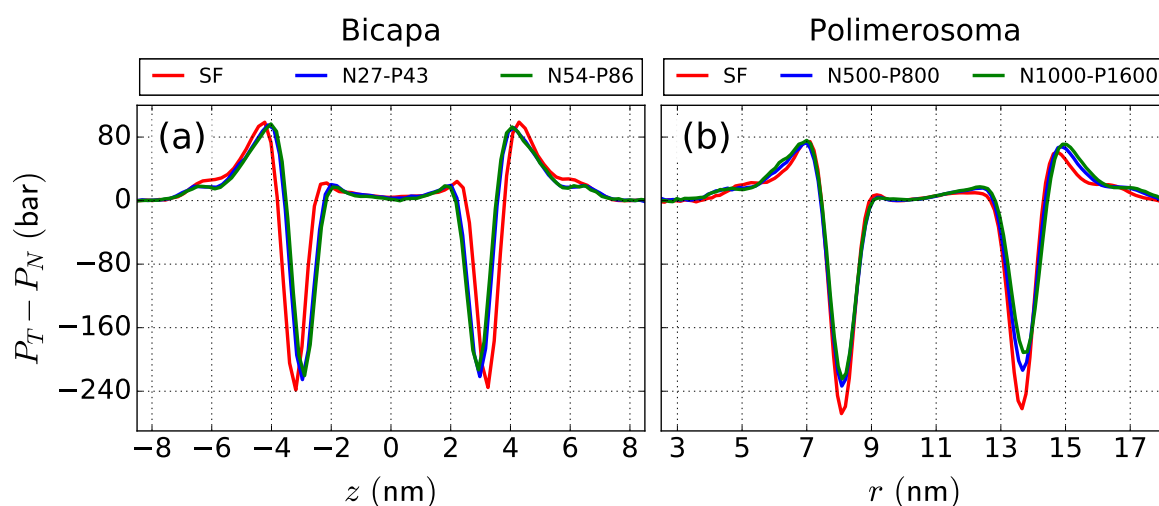


Figura 7.4: Perfiles $P_T - P_N$ de los sistemas estudiados a distintas concentraciones de PLC. (a) Bicapa sin fármaco (SF) y cargada a dos concentraciones de PLC (N27-P43 y N54-P86). (b) Polimerosoma sin fármaco (SF) y cargado a dos concentraciones de PLC (N500-P800 y N1000-P1600).

fue descrito, este cambio en la estructura está conducido por la especie protonada, cuyo efecto se impone frente al de la especie neutra a concentraciones de pH fisiológico. En esta dirección, parece ser que el sistema es mecánicamente complaciente y relaja su estructura (se comprime en dirección normal y se expande lateralmente) para permitir la incorporación de PLC sin alterar significativamente la distribución de presiones dentro del sistema.

Por el contrario, para el caso del polimerosoma (Fig. 7.4b), el comportamiento es justamente el opuesto: si bien hay un leve ensanchamiento en los perfiles $P_T - P_N$ siguiendo la ligera expansión de la membrana reportada anteriormente (ver Fig. 7.2, Polimerosoma), el cambio más destacable es el aumento de sus mínimos, que se localizan en la zona de las interfaces PEO-PBD (el mínimo en $r \sim 8$ nm corresponde a la interfaz interna y el mínimo en $r \sim 13.5$ nm a la externa). Al comparar los perfiles $P_T - P_N$ con los MDPs de pPLC (ver Fig. 7.3b), los resultados parecen sugerir que existe una correlación entre la variación de presión y la cantidad de pPLC adsorbida en cada interfaz: el aumento de presión es mayor a mayor concentración de pPLC. Este comportamiento se podría explicar teniendo en cuenta el efecto de la especie protonada sobre la estructura. Recordemos que en bicapas, la pPLC adsorbida en las interfaces inducía la expansión lateral de la membrana como consecuencia del espacio extra ocupado por estas moléculas. Sin embargo, este fenómeno se encuentra frustrado en el polimerosoma, como ya fue discutido en la sección anterior. De esta manera, el aumento de presión en la región de las interfaces podría ser explicado como consecuencia de tal frustración: las moléculas de pPLC insertadas en las interfaces generarían una presión extra debido a que la membrana no puede relajarse lateralmente. Por lo tanto, en el caso de los polimerosomas, la evidencia indica que la membrana sólo puede expandirse en dirección normal (como consecuencia de la encapsulación de nPLC) pero no lateralmente, y la respuesta mecánica del sistema a esta restricción va en dirección de un aumento de presión en las interfaces, especialmente sobre la exterior donde la cantidad de pPLC adsorbida es mayor.

7.4.3 Propiedades elásticas

Para lograr un mayor entendimiento de la respuesta de los sistemas ante la encapsulación del fármaco, analizamos el comportamiento mecánico a través de los parámetros elásticos de la membrana. Dado que las interfaces juegan un rol fundamental en este aspecto, en particular nos interesa vincular estas propiedades con la adsorción de pPLC. Con este fin, cuantificamos el número de moléculas de pPLC adsorbidas por unidad de área en cada interfaz PEO-PBD. Denotamos a estas cantidades como Γ_x , donde x representa la interfaz correspondiente ($x = \text{inf}, \text{sup}$ para las interfaces inferior y superior

en bicapas, $x = \text{int}, \text{ext}$ para las interfaces interior y exterior en polimerosomas). Estas magnitudes fueron computadas sobre intervalos de 1 ns para luego obtener sus valores medios y fluctuaciones a lo largo de la trayectoria. En cada intervalo, el valor de Γ_x fue determinado por integración de los MDPs de pPLC en las regiones correspondientes:

$$\begin{aligned}\Gamma_{\text{inf}} &= \frac{1}{m_{\text{pPLC}}} \int_{z_{iw}}^{z_m} \rho_{\text{pPLC}}(z) dz & \Gamma_{\text{sup}} &= \frac{1}{m_{\text{pPLC}}} \int_{z_m}^{z_{sw}} \rho_{\text{pPLC}}(z) dz \\ \Gamma_{\text{int}} &= \frac{1}{m_{\text{pPLC}}} \int_{R_{iw}}^{R_m} 4\pi r^2 \rho_{\text{pPLC}}(r) dr & \Gamma_{\text{ext}} &= \frac{1}{m_{\text{pPLC}}} \int_{R_m}^{R_{ew}} 4\pi r^2 \rho_{\text{pPLC}}(r) dr\end{aligned}$$

donde m_{pPLC} es la masa de una molécula de pPLC, ρ_{pPLC} es el MDP de pPLC promediado en el correspondiente intervalo, y $z_{iw}, z_m, z_{sw}, R_{iw}, R_m$ y R_{ew} son los valores que delimitan las regiones del MDP donde se encuentra pPLC adsorbida en cada interfaz en el sistema correspondiente (ver Fig. 7.5).

Para nuestro análisis, caracterizamos la diferencia de moléculas de pPLC adsorbidas por unidad de área entre ambas interfaces ($\Delta\Gamma = \Gamma_{\text{sup}} - \Gamma_{\text{inf}}$ para bicapas y $\Delta\Gamma = \Gamma_{\text{ext}} - \Gamma_{\text{int}}$ para polimerosomas), la curvatura espontánea (H_0) y la energía libre elástica por unidad de área (f) para todos los sistemas estudiados. Para el cálculo de las propiedades elásticas necesitamos conocer el módulo de curvatura media (κ) y los momentos integrales de los perfiles $P_T - P_N$ en cada sistema (ver Capítulo 2, Sección 2.4.4). La estimación de los valores de κ para las bicapas y los polimerosomas se realizó conforme se describe en los Apéndices A.1 y A.2. Por su parte, para la determinación de los momentos, dividimos las trayectorias utilizando diferentes longitudes de intervalo l , calculamos los momentos en

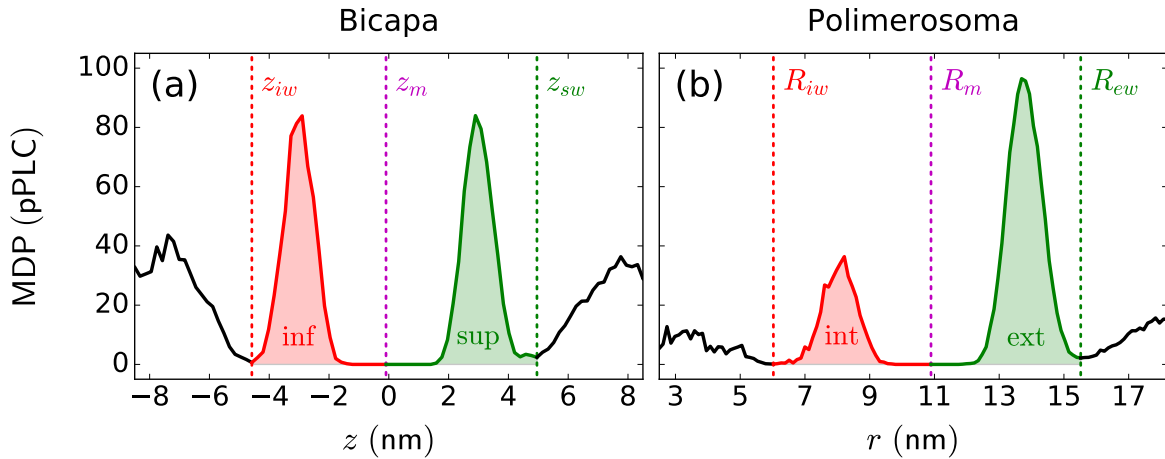


Figura 7.5: Esquemas ilustrativos que indican las regiones de los MDPs asociadas con pPLC adsorbida en (a) las interfaces inferior y superior de la bicapa y (b) las interfaces interior y exterior del polimerosoma. En cada caso se señalan los valores límites que definen cada región.

cada intervalo de la trayectoria y obtuvimos sus promedios y fluctuaciones. Observamos que los promedios eran independientes de l , pero las fluctuaciones comenzaron a converger para $l \geq 500$ ns en bicapas y $l \geq 250$ ns en polimerosomas. Por lo tanto, para obtener los valores medios y errores de los momentos integrales a lo largo de las trayectorias utilizamos $l = 500$ ns en bicapas y $l = 250$ ns en polimerosomas. Los errores de las cantidades derivadas H_0 y f se calcularon por propagación de errores. Los resultados obtenidos para todos los sistemas estudiados se representan en la Fig. 7.6.

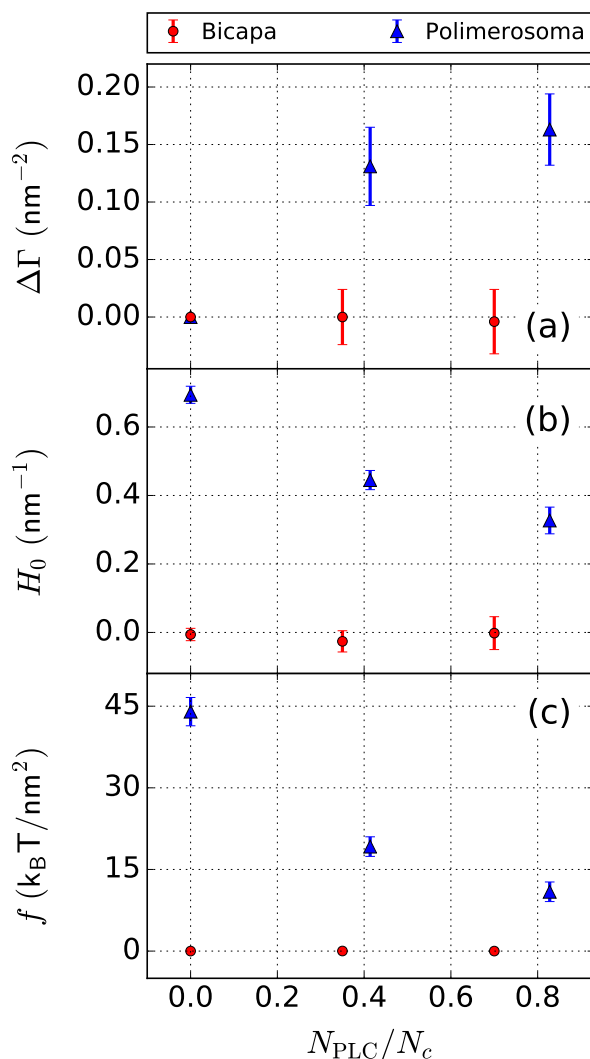


Figura 7.6: Diferencia de moléculas de pPLC adsorbidas por unidad de área entre interfaces ($\Delta\Gamma$), curvatura espontánea (H_0) y energía libre elástica por unidad de área (f) para los sistemas estudiados. $\Delta\Gamma = \Gamma_{\text{sup}} - \Gamma_{\text{inf}}$ para bicapas; $\Delta\Gamma = \Gamma_{\text{ext}} - \Gamma_{\text{int}}$ para polimerosomas.

Para la bicapa, observamos que el número de moléculas de pPLC adsorbidas por unidad de área en las interfaces superior e inferior son estadísticamente iguales en todos los casos ($\Delta\Gamma \sim 0$, Fig. 7.6a), lo cual refleja la naturaleza simétrica de estos sistemas. Además observamos que H_0 y f son prácticamente nulas en todos los casos (Figs. 7.6b y 7.6c), lo cual verifica la hipótesis de curvatura espontánea cero para bicapas simétricas [100, 102]. Tal como habíamos visto en el Capítulo 6, cada monocapa tiene su propia tendencia a curvarse, sin embargo aquí comprobamos que en la bicapa completa los efectos se compensan, ya que el valor de H_0 es prácticamente el mismo en ambas monocapas pero de signo contrario. Esto muestra que la bicapa en su conjunto no brinda información sobre las propiedades elásticas de la membrana, solamente es posible determinarlas para cada monocapa individual. Como ya fue discutido, esta información puede ser útil para identificar si las monocapas mantienen su tendencia a curvarse (favoreciendo la formación de estructuras curvas) para los distintos niveles de concentración de fármaco, pero no es posible determinar la tendencia de la membrana completa.

Por el contrario, para el polimerosoma, la información que podemos obtener acerca de las propiedades elásticas de la membrana resulta mucho más interesante. Para este tipo de sistema observamos que $\Delta\Gamma$ aumenta con la carga de PLC (Fig. 7.6a), lo que implica mayor densidad de pPLC adsorbida en la interfaz externa en comparación con la interna (este hecho se puede apreciar gráficamente en el MDP de la Fig. 7.3b). Por otro lado, observamos que tanto H_0 como f presentan valores positivos pero decrecientes a medida que aumenta la concentración de PLC (Figs. 7.6b y 7.6c). Como consecuencia, la membrana del polimerosoma se vuelve energéticamente más estable (f más baja) y disminuye su tendencia a curvarse (H_0 más baja) cuando aumenta $\Delta\Gamma$. Debido a la convención del signo de curvatura (ver Capítulo 2, Sección 2.4.4), el signo positivo de H_0 se puede interpretar como una tendencia de la membrana a curvarse hacia el interior del polimerosoma en favor de una estructura de menor curvatura (compatible con un polimerosoma de mayor radio). Esta tendencia disminuye a medida que aumenta $\Delta\Gamma$, lo que es consistente con la observación de estructuras más estables desde el punto de vista elástico.

Para obtener una mayor comprensión de la respuesta del sistema en términos de curvatura (H), calculamos la derivada de la energía libre elástica respecto de la curvatura (df/dH , Ec. (2.54)) y obtuvimos un valor de $df/dH \simeq -38 k_B T/\text{nm}^2$, lo cual implica que f disminuye al aumentar H . Teniendo en cuenta que los valores de H para el polimerosoma estudiado son negativos (ver Sección 7.3.2), aumentar H equivale a disminuir su valor absoluto $|H|$, lo que se traduce en un aumento del radio de polimerosoma. Al estimar df/dH para el polimerosoma cargado, obtuvimos como resultado los valores aproximados

$-22 k_B T/\text{nm}^2$ y $-14 k_B T/\text{nm}^2$ para N500-P800 y N1000-P1600 respectivamente. En comparación con el caso sin fármaco, vemos que los valores de df/dH también son negativos pero decrecen en valor absoluto, indicando que el cambio de curvatura requerido para minimizar la energía elástica de la membrana debe ser cada vez menor para concentraciones de PLC cada vez más altas. Esto significa que los sistemas se acercan a una configuración más estable elásticamente cuando la concentración de PLC crece, lo que es consistente con la observación previa de f decreciente para mayores niveles de fármaco.

Nuestros resultados sugieren que el polimerosoma inicial (sin fármaco) está excesivamente curvado para la configuración actual, mostrando una tendencia hacia una curvatura de membrana más baja (radio de polimerosoma mayor), y que esta tendencia a curvarse disminuye a medida que aumenta $\Delta\Gamma$ con el nivel de fármaco. Una posible explicación de este comportamiento es que el balance inicial de presiones entre interfaces sea mayor sobre el lado interno, empujando a la membrana a expandirse lateralmente en mayor medida sobre este lado y así disminuir su curvatura. Al aumentar $\Delta\Gamma$, el exceso de pPLC sobre la interfaz exterior podría estar aportando una presión lateral extra sobre este lado, reduciendo el desequilibrio de presiones preexistentes entre interfaces y disminuyendo la tendencia a curvarse y la energía libre elástica de la membrana. La hipótesis de un aumento de presión lateral en la interfaz externa es consistente con el mayor aumento de $P_T - P_N$ sobre esta región, tal como discutimos en la sección anterior (ver Fig. 7.4b).

7.5 Conclusiones

En este capítulo estudiamos el comportamiento estructural y mecánico de bicapas y polimerosomas PEO-PBD cargados con PLC. Los estudios fueron conducidos mediante simulaciones DM realizadas dentro del modelo CG MARTINI utilizando diferentes concentraciones de PLC a niveles de pH fisiológico ($p\text{PLC}/n\text{PLC} \simeq 1.6$). Los resultados obtenidos muestran que en ambos tipos de sistemas la especie neutra se encapsuló dentro del bloque hidrofóbico de la membrana, mientras que la variante protonada se localizó ya sea en las interfaces PEO-PBD o bien distribuida en la fase acuosa.

Para el caso de la bicapa observamos que el comportamiento estructural del sistema estuvo dirigido por la especie protonada: la membrana se expandió lateralmente (aumentó el área) y se comprimió en dirección normal (disminuyó su espesor) con la concentración de PLC. En todos los casos, la bicapa mostró una distribución simétrica de sus componentes alrededor de su plano medio. Como consecuencia de esta simetría, la diferencia de pPLC

adsorbida en ambas interfaces ($\Delta\Gamma$), la curvatura esponánea (H_0) y la energía libre elástica (f) resultaron prácticamente nulas. De esta manera, vemos que el sistema de bicapa puede ser sumamente útil para obtener información estructural de la respuesta de la bicapa ante la carga del fármaco, pero no brinda datos relevantes sobre aspectos mecánicos de la membrana, ya que la simetría compensa los efectos que ocurren en ambas monocapas y los valores de los parámetros elásticos se anulan para la bicapa completa.

En contraposición, para el caso del polimerosoma observamos que el comportamiento estructural estuvo guiado por la especie neutra: solamente se registró una leve expansión de la membrana en la dirección normal. En este caso, debido a las limitaciones impuestas por las condiciones de simulación, la expansión lateral de la membrana inducida por la especie protonada se encontró frustrada en el polimerosoma, lo que derivó en importantes consecuencias a nivel mecánico. En esta dirección, observamos que $\Delta\Gamma$ se incrementó pero H_0 y f ambos disminuyeron con el aumento de la concentración de PLC. Estos resultados se pueden interpretar desde un punto de vista de desbalance de presiones entre ambas interfaces. Posiblemente, la membrana del polimerosoma inicial (sin fármaco) presente mayor presión lateral sobre el lado interno, favoreciendo a una mayor expansión de la membrana sobre este lado y provocando una tendencia a reducir su curvatura y aumentar su radio. Luego, la mayor adsorción de pPLC sobre superficie externa estaría aportando una presión lateral adicional sobre esta región, reduciendo el desbalance de presiones y conduciendo a una disminución en la tendencia a curvarse y en la energía elástica acumulada en la membrana. En este sentido, la presencia del fármaco parece estar efectuando un efecto compensatorio que tiende a equilibrar mecánicamente a la membrana.

Para una dada configuración de polimerosoma, su tendencia a curvarse podría ser una consecuencia de la forma en que se organizan localmente las cadenas dentro de la membrana. En este punto, hay dos factores que podrían jugar un rol clave, el tamaño del polimerosoma que determina la curvatura actual de la membrana y la relación entre el número de cadenas en ambas capas. Para cada polimerosoma se podría encontrar una relación entre el número de cadenas internas/externas que equilibre la distribución de presiones locales, de manera tal de que la tendencia a curvarse y la energía elástica sean mínimas. En esta dirección, el análisis de los parámetros elásticos podrían sugerir en qué dirección debemos dirigirnos en busca de la configuración más estable. Por ejemplo, si la tendencia indica menor curvatura, esto implicaría un aumento del tamaño del polimerosoma, o alternativamente, un aumento en la cantidad de cadenas sobre la capa externa que compense esa tendencia.

Como conclusión general podemos decir que ambos modelos (bicapas y polimerosomas) son de gran importancia para el estudio de la encapsulación de fármacos en membranas poliméricas. Ambos sistemas tienen características complementarias, siendo el modelo de bicapa más adecuado para la caracterización estructural de la membrana (área por cadena y espesor de membrana), y el modelo de polimerosoma para su caracterización mecánica (curvatura espontánea y energía libre elástica). En particular, en este último modelo, si bien la respuesta estructural está muy limitada por las condiciones de simulación, los parámetros elásticos podrían ser los que guíen la búsqueda de la configuración óptima. Una posible estrategia sería evaluar polimerosomas de diferentes tamaños y/o diferentes relaciones de cadenas entre capas y obtener el más favorable en términos elásticos (por ejemplo, el que presente menor f). Una vez obtenida la configuración más estable, podríamos estudiar el efecto de un determinado fármaco sobre su estructura, analizar cómo cambian sus propiedades mecánicas y determinar su estabilidad ante la carga de la droga. En este contexto, las características elásticas de la membrana podrían ser factores determinantes en el diseño y caracterización de polimerosomas mecánicamente estables.

Conclusiones generales y perspectivas

Los polimerosomas constituyen un tipo de nanotransportador de especial interés en administración de drogas debido a su gran versatilidad química, alta estabilidad y capacidad de encapsular compuestos tanto hidrofílicos como hidrofóbicos. Por su complejidad, el diseño de polimerosomas que cumplan con los requerimientos deseados puede ser una tarea sumamente laboriosa, por lo que es evidente la necesidad de herramientas que faciliten este proceso. En esta dirección, las simulaciones computacionales pueden proveer una herramienta adecuada para tal fin, agilizando los tiempos y disminuyendo los costos de desarrollo en la búsqueda de nuevos candidatos con las propiedades deseadas.

En esta tesis desarrollamos y aplicamos técnicas computacionales para el estudio y la caracterización de polimerosomas aptos en administración de drogas. En particular, abordamos nuestros estudios mediante simulaciones de Dinámica Molecular utilizando una aproximación de grano grueso basada en el campo de fuerza MARTINI (ver Capítulo 2). El uso de modelos de grano grueso estuvo justificado por el hecho de que los polimerosomas son sistemas de gran tamaño, volviendo impracticable la simulación de los mismos usando modelos atomísticos. El abordaje aplicado permitió estudiar polimerosomas en tiempos de cómputo razonables manteniendo suficiente detalle en la descripción. Mediante el análisis de las trayectorias pudimos acceder a las distintas propiedades de los sistemas estudiados; especial énfasis fue puesto sobre los aspectos estructurales y mecánicos. Para tal fin, diferentes herramientas fueron utilizadas, entre las cuales podemos destacar los perfiles de densidad para la caracterización estructural y los perfiles de presión para la caracterización mecánica. En particular, el cálculo de perfiles de presión constituye un método sofisticado que no forma parte de las herramientas estándar de análisis. En esta dirección, decidimos desarrollar e implementar este cálculo de manera eficiente dentro del programa de simulación GROMACS (que fue el utilizado para realizar todas las simulaciones en este trabajo), usando todas las optimizaciones de hardware disponibles

para su mejor desempeño (ver fundamentos teóricos del cálculo en el Capítulo 3 y su implementación computacional en el Capítulo 4).

Los sistemas considerados en este trabajo fueron construidos en base al copolímero PEO-PBD, un compuesto que ha mostrado la capacidad de formar polimerosomas biocompatibles con alta estabilidad y baja permeabilidad. Para poder realizar las simulaciones fue necesario disponer de un modelo de grano grueso adecuado para PEO-PBD compatible con MARTINI. En esta dirección, en la primera etapa de esta tesis desarrollamos el modelo MARTINI para PEO-PBD y refinamos los parámetros del modelo en base a cálculos cuánticos, simulaciones de grano grueso y datos experimentales para polimerosomas PEO-PBD (ver Capítulo 5). Los cálculos cuánticos fueron usados para obtener los valores de equilibrio para las distancias y ángulos de unión. Luego, utilizando un modelo de bicapa PEO-PBD refinamos primero las interacciones de no-unión, y luego las constantes de fuerza para las distancias y ángulos de unión para reproducir datos experimentales de espesor de membrana. Una vez terminado el refinamiento de parámetros, el modelo fue probado mediante una serie de experimentos computacionales. Primero estudiamos el autoensamblado del copolímero a partir de una mezcla polimérica en agua y mostramos que el modelo es capaz de autoensamblarse formando bicapas. Luego simulamos diferentes bicapas PEO-PBD usando copolímeros de distinta longitud y verificamos que el espesor de membrana y el área por cadena escalan con el peso molecular del bloque hidrofóbico siguiendo la misma ley que se observa empíricamente en polimerosomas PEO-PBD. Finalmente calculamos el módulo de elasticidad de área en bicapas PEO-PBD y corroboramos que los valores obtenidos están dentro del orden de magnitud de los valores experimentales medidos en polimerosomas PEO-PBD. Con esta serie de resultados validamos el modelo MARTINI para el copolímero PEO-PBD.

En una segunda etapa del trabajo estudiamos el efecto de la encapsulación de una droga modelo (prilocaína) sobre las propiedades estructurales y mecánicas de una bicapa PEO-PBD (ver Capítulo 6). Consideramos que esta caracterización era fundamental antes de estudiar los efectos sobre un polimerosoma completo, ya que nos permitía entender la respuesta de la membrana ante la carga de un fármaco e identificar previamente su posible uso para construir un polimerosoma apto para administración de drogas. La elección de la prilocaína como droga modelo se justificó sobre dos hechos: el primero, la existencia de la prilocaína en dos estados de protonación diferentes, un estado neutro a pH alto (hidrofóbico) y otro protonado a pH bajo (hidrofílico); el segundo, la disponibilidad de un modelo de grano grueso MARTINI para la prilocaína en ambas especies. En nuestras simulaciones analizamos el efecto de cada especie por separado. Encontramos que la prilocaína neutra se encapsuló en la región hidrofóbica (bloque PBD), mientras

que la especie protonada particionó entre la fase acuosa y la interfaz PEO-PBD. Como consecuencia, diferentes comportamientos estructurales fueron registrados para cada especie. En ambos casos observamos que la bicapa se expandió lateralmente al aumentar la concentración de fármaco, sin embargo el comportamiento de su espesor fue diferente según el estado de ionización: aumentó para las especies neutras y disminuyó para las protonadas. El comportamiento mecánico del sistema fue analizado mediante los perfiles de presión. En ellos observamos que, tanto para el caso neutro como protonado, la distribución de presiones del sistema total no se vió afectada significativamente con la carga de fármaco a los niveles estudiados. Esto significa que la bicapa PEO-PBD permite la incorporación del fármaco dentro del sistema sin que sus propiedades mecánicas se vean alteradas significativamente. Esto podría ser una consecuencia de la naturaleza altamente flexible del copolímero PEO-PBD. La estabilidad del sistema también fue analizada a partir de las propiedades de curvatura. Observamos que las monocapas manifestaron tendencia a curvarse para todas las concentraciones estudiadas en ambos casos, lo que indicaría que la tendencia a formar estructuras curvas (tales como polimerosomas) se mantiene. Los resultados obtenidos sugieren que el copolímero PEO-PBD podría ser apto para su utilización en polimerosomas.

En la etapa final de la tesis realizamos simulaciones sobre bicapas y polimerosomas cargados con prilocaína a pH fisiológico (proporción protonado/neutro ~ 1.6) y realizamos un estudio comparativo para analizar la respuesta estructural y mecánica de cada modelo ante la presencia de la droga (ver Capítulo 7). En particular, el análisis mecánico fue focalizado con especial énfasis hacia las propiedades de curvatura de la membrana. Para el caso de la bicapa observamos que el comportamiento estructural del sistema estuvo dirigido por la especie protonada, ya que la membrana se expandió lateralmente y disminuyó su espesor. En este sentido, la bicapa fue capaz de acomodar su estructura para permitir la incorporación del fármaco sin afectar significativamente a las propiedades mecánicas y la estabilidad del sistema. Esto ya había sido visto en el estudio de bicapas realizado previamente para los casos neutro y protonado puros. La simetría de la bicapa hizo que las propiedades de curvatura quedaran anuladas, con lo cual no se obtuvo información relevante en este aspecto. Por su parte, para el caso del polimerosoma observamos que el comportamiento estructural estuvo guiado por la especie neutra, ya que solamente se registró un leve aumento del espesor de membrana. En este caso, debido a las limitaciones impuestas por las condiciones de simulación, la expansión lateral de la membrana se encontró frustrada en el polimerosoma, lo que derivó en importantes consecuencias a nivel mecánico. La observación fundamental en este punto es que la curvatura espontánea y la energía libre elástica disminuyeron a medida que aumentamos

la cantidad de fármaco en el sistema, lo que indicaría que la presencia del fármaco podría estar equilibrando mecánicamente a la membrana.

En resumen, podemos decir que los modelos de bicapas y polimerosomas pueden ser de gran importancia para el estudio de la encapsulación de fármacos en membranas poliméricas, ambos con características complementarias. El modelo de bicapas puede ser más adecuado para la caracterización estructural de la membrana, de la cual se pueden obtener propiedades tales como el espesor de membrana y el área por cadena. En cambio, el modelo de polimerosoma puede ser más apto para la caracterización mecánica, en especial para determinar propiedades de curvatura. Particularmente en polimerosomas, los parámetros elásticos de membrana podrían ser los que guíen la búsqueda de la configuración óptima, por ejemplo, explorando diferentes candidatos en busca de la estructura de menor energía libre elástica. Dado que simular un polimerosoma es por lo general mucho más costoso computacionalmente que una bicapa, resulta fundamental tener en cuenta qué información puede brindar cada modelo para dirigir adecuadamente los esfuerzos y los recursos.

Para finalizar, creemos que las técnicas presentadas en este trabajo pueden significar herramientas de gran ayuda que permitan asistir al diseño y caracterización de polimerosomas para administración de drogas. En una primera etapa, mediante simulaciones de bicapas se podrían evaluar distintos materiales y formulaciones para diseñar membranas con las propiedades deseadas. Por ejemplo, materiales que cambien la estabilidad de la membrana ante algún estímulo (cambio de pH, temperatura, etc.) o formulaciones que permitan encapsular eficazmente un compuesto sin desestabilizar la estructura. Una vez desarrollada la membrana, se podría simular el polimerosoma completo utilizando diferentes tamaños o cambiando las relaciones de cadenas interna/externa para influir sobre las propiedades de curvatura, o incluso cargando diferentes drogas, para estudiar sus propiedades mecánicas y mediante los parámetros elásticos identificar los candidatos más estables a ser sintetizados.

Apéndice A

Cálculo del módulo de curvatura media

A.1 Bicapas planas

Las propiedades elásticas de las membranas pueden ser modeladas en términos de sus fluctuaciones térmicas mediante el modelo continuo de Helfrich [96]. El análisis se basa en la conocida parametrización de Monge [142–144], donde la superficie de la membrana ondulante es representada por una función $u(x, y)$ que describe la altura de cada punto sobre el plano xy . Para una membrana aproximadamente plana donde las fluctuaciones son relativamente pequeñas, la energía elástica de la membrana puede expresarse en términos de $u(x, y)$ en la forma cuadrática [103, 145, 146]

$$E\{u(x, y)\} = \frac{1}{2} \iint_A \left[\kappa |\nabla^2 u(x, y)|^2 + \gamma |\nabla u(x, y)|^2 \right] dx dy \quad (\text{A.1})$$

donde el primer término representa un término de energía por curvatura, siendo κ el módulo de curvatura media, mientras que el segundo término se corresponde con un término de energía por superficie (proporcional al exceso de área), siendo γ la tensión superficial, y $A = L_x L_y$ es el área de la superficie $u(x, y)$ proyectada sobre el plano xy . Los modos de fluctuación de la membrana se pueden obtener escribiendo a $u(x, y)$ como descomposición en series de Fourier

$$u(\mathbf{r}) = \sum_{\mathbf{q}} u(\mathbf{q}) e^{i\mathbf{q}\cdot\mathbf{r}} \quad (\text{A.2})$$

donde $\mathbf{r} = (x, y)$ es un vector 2D en el espacio real, y $\mathbf{q} = 2\pi(n/L_x, m/L_y)$ es un vector 2D en el espacio recíproco, también denominado vector de onda, con $n, m \in \mathbb{Z}$. Insertando la Ec. (A.2) en (A.1), la expresión para energía resulta

$$E = \frac{A}{2} \sum_{\mathbf{q}} |u(\mathbf{q})|^2 (\kappa q^4 + \gamma q^2) \quad (\text{A.3})$$

donde $q = |\mathbf{q}|$. Dado que la energía es cuadrática en las amplitudes $|u(\mathbf{q})|$, podemos utilizar el teorema de equipartición para establecer que cada modo de fluctuación aporta en promedio $k_B T/2$ a la energía. De esta manera, la amplitud para el vector de onda \mathbf{q} satisface [103, 145, 146]

$$\langle |u(\mathbf{q})|^2 \rangle = \frac{k_B T}{A(\kappa q^4 + \gamma q^2)} \quad (\text{A.4})$$

donde $\langle \cdot \rangle$ denota el promedio temporal. Observemos que las amplitudes no dependen explícitamente del vector de onda \mathbf{q} sino de su módulo q , por lo tanto podemos escribir $\langle |u(\mathbf{q})|^2 \rangle = \langle |u(q)|^2 \rangle$. Finalmente, denotando al área por cadena como $a = A/N$ (donde N es el número de cadenas por monocapa), podemos definir al espectro de fluctuación como

$$S_u(q) = N \langle |u(q)|^2 \rangle = \frac{k_B T}{a(\kappa q^4 + \gamma q^2)} \stackrel{\gamma \approx 0}{=} \frac{k_B T}{a\kappa q^4} \quad (\text{A.5})$$

En rigor, el espectro de fluctuación tiene otras contribuciones adicionales que aquí no son incluidas [103], por lo cual la expresión anterior no representa un buen modelo en el caso general. Sin embargo, se sabe que $S_u(q) \propto q^{-4}$ en el límite de bajo q ($q \lesssim 1 \text{ nm}^{-1}$) [103]. De esta manera, si restringimos el análisis a esta región, podemos obtener κ ajustando el gráfico $S_u(q)$ vs. q mediante la expresión indicada en la Ec. (A.5).

En la práctica, la superficie $u(x, y)$ que caracteriza las ondulaciones de la membrana se calcula como la superficie media entre las superficies superior e inferior de la bicapa:

$$u(x, y) = \frac{z_1(x, y) + z_2(x, y)}{2} \quad (\text{A.6})$$

donde $z_1(x, y)$ representa la superficie superior y $z_2(x, y)$ la inferior (ver Fig. A.1). En nuestro caso, elegimos caracterizar las superficies de las bicapas utilizando las partículas que definen las interfaces PEO-PBD (esferas amarillas, Fig. A.1), cuyas posiciones describimos mediante los conjuntos S_1 para la superficie superior y S_2 para la inferior. Para poder evaluar $u(x, y)$ mediante la Ec. (A.6) necesitamos que ambas superficies estén definidas sobre los mismos (x, y) , lo cual no es necesariamente cierto para S_1 y S_2 . Sin embargo, es posible encontrar conjuntos de puntos sobre cada superficie que satisfagan la condición requerida. Esto se resuelve definiendo una grilla de puntos G en el plano (x, y) ,

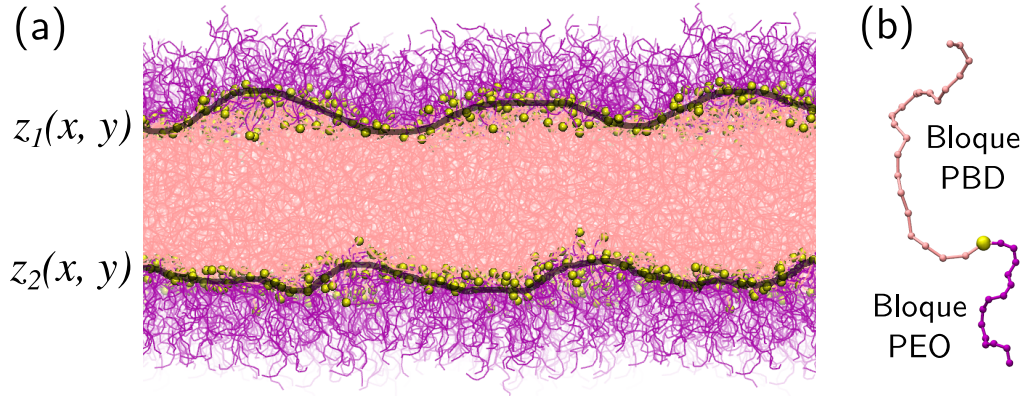


Figura A.1: (a) Ilustración esquemática de las superficies superior e inferior de una bicapa PEO-PBD, representadas matemáticamente por las funciones $z_1(x, y)$ y $z_2(x, y)$ respectivamente. (b) Detalle de una cadena PEO-PBD, donde se indica con una esfera amarilla la partícula considerada para definir las superficies de la bicapa.

interpolando los conjuntos S_j para encontrar las correspondientes $z_j(x, y)$ y evaluando estas superficies sobre cada punto de G . De esta manera, la altura de la superficie $u(x, y)$ en cualquier punto de la grilla G queda determinada por

$$z_s = u(x_s, y_s) = \frac{z_1(x_s, y_s) + z_2(x_s, y_s)}{2} \quad \forall (x_s, y_s) \in G \quad (\text{A.7})$$

Finalmente, las amplitudes $u(\mathbf{q})$ se pueden obtener mediante la transformada inversa de Fourier discreta, cuya expresión en términos de los puntos $\mathbf{r}_i = (x_s, y_s) \in G$ se escribe como

$$u(\mathbf{q}) = \frac{1}{N} \sum_{\mathbf{r}_s \in G} z_i e^{-i\mathbf{q} \cdot \mathbf{r}_s} \quad (\text{A.8})$$

Para llevar a cabo el cálculo del espectro de fluctuación desarrollamos un programa escrito en Python que implementa la metodología presentada aquí para computar el espectro de fluctuación y obtener κ . Los conjuntos S_j fueron obtenidos procesando las trayectorias y extrayendo las posiciones de las partículas correspondientes a cada superficie. Los valores de L_x , L_y fueron determinados conociendo el tamaño de la caja en cada instante de la trayectoria. En nuestra implementación, todos los posibles vectores de onda $\mathbf{q} = 2\pi(n/L_x, m/L_y)$ fueron generados considerando n, m en el rango $-20 \leq n, m \leq 20$. Para determinar los puntos de la superficie $u(x, y)$, primero generamos una grilla regular G en (x, y) , cuya densidad de puntos al menos duplicara en cada dirección a la densidad de puntos en los S_j . Luego utilizamos la función `griddata` (provista por el módulo `scipy.interpolate`) para interpolar las superficies $z_j(x, y)$ sobre los correspondientes S_j y obtener las alturas $z_j(x_s, y_s)$ en cada punto $(x_s, y_s) \in G$. Con estos datos determinamos

los z_s como se indica en la Ec. (A.7), determinamos las amplitudes $u(\mathbf{q})$ mediante la Ec. (A.8), calculamos los correspondientes $S_u(q)$ y obtuvimos los valores de κ mediante el ajuste de la Ec. (A.5).

Para la determinación de κ , el procedimiento realizado consistió en dividir las trayectorias cada 1 ns, calcular κ sobre cada subtrayectoria usando la aplicación desarrollada, y luego tomar el promedio y fluctuación a lo largo de toda la trayectoria. A modo ilustrativo, en la Fig. A.2 mostramos el resultado del ajuste $S_u(q)$ vs. q en una determinada subtrayectoria de 1 ns para la bicapa PEO₁₄-PBD₂₂. El valor final para κ a $T = 300$ K resulto igual a:

- (a) $\kappa = 12.2 \pm 3.6 k_B T$ para bicapa PEO₁₄-PBD₂₂, sin fármaco.
- (b) $\kappa = 10.6 \pm 3.2 k_B T$ para bicapa PEO₁₄-PBD₂₂, $N_{\text{nPLC}} = 27$, $N_{\text{pPLC}} = 43$.
- (c) $\kappa = 10.5 \pm 2.7 k_B T$ para bicapa PEO₁₄-PBD₂₂, $N_{\text{nPLC}} = 54$, $N_{\text{pPLC}} = 86$.

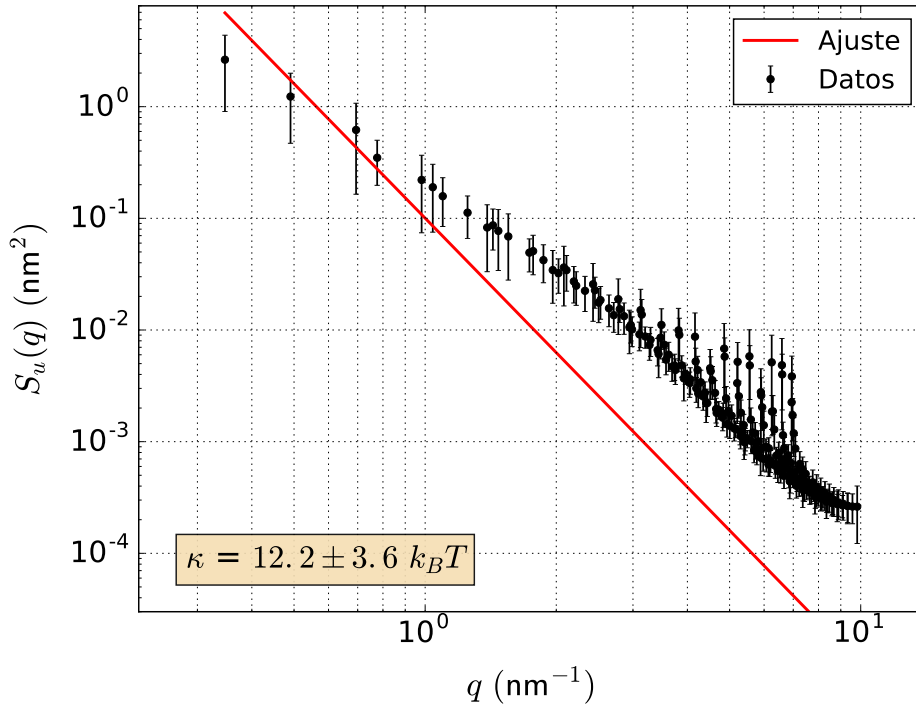


Figura A.2: Espectro de fluctuación $S_u(q)$ y valor de κ obtenido del ajuste $S_u(q)$ vs. q en el límite de bajo q ($q \lesssim 1 \text{ nm}^{-1}$) para la bicapa PEO₁₄-PBD₂₂ sobre una subtrayectoria de 1 ns.

A.2 Vesículas esféricas

Los fundamentos teóricos para el cálculo de κ en vesículas esféricas son esencialmente análogos a los detallados para el caso de bicapas planas, solo que ahora la membrana está modelada por una superficie esférica de la forma [98]

$$r(\theta, \phi) = r'_0 + u(\theta, \phi) \quad (\text{A.9})$$

donde r'_0 es el radio efectivo de la membrana y $u(\theta, \phi)$ es la función radial que describe las ondulaciones de la membrana alrededor de r'_0 . Para desarrollar el esquema de cálculo es conveniente describir las ondulaciones utilizando la función radial normalizada

$$f(\theta, \phi) = \frac{u(\theta, \phi)}{r'_0} = \frac{r(\theta, \phi) - r'_0}{r'_0} \quad (\text{A.10})$$

Esta función se puede descomponer en series de armónicos esféricos

$$f(\theta, \phi) = \sum_{l,m} a_{lm} Y_{lm}(\theta, \phi) \quad (\text{A.11})$$

donde los $Y_{lm}(\theta, \phi)$ forman la base de funciones de armónicos esféricos ($l \geq 0$, $-l \leq m \leq l$) y a_{lm} es el coeficiente del armónico esférico de grado l y orden m , el cual satisface [147]

$$a_{lm} = \frac{1}{4\pi} \int_{\Omega} f(\theta, \phi) Y_{lm}(\theta, \phi) d\Omega \quad (\text{A.12})$$

Helfrich demostró que si las fluctuaciones térmicas sobre la membrana son relativamente pequeñas, su energía elástica se puede escribir como [98]

$$E = \frac{1}{2} \kappa \iint (\nabla \cdot \mathbf{n})^2 dA - \kappa H_0 \iint \nabla \cdot \mathbf{n} dA + \frac{1}{2} \kappa H_0^2 \iint dA \quad (\text{A.13})$$

donde κ es el módulo de curvatura media, H_0 es la curvatura espontánea y \mathbf{n} es el vector normal a la superficie $u(\theta, \phi)$, cuya divergencia se expresa en términos de $f(\theta, \phi)$ como

$$\nabla \cdot \mathbf{n} = \frac{2}{r'_0} \left[1 - f - \frac{1}{2} \Delta_2 f + f^2 + f \Delta_2 f \right] \quad (\text{A.14})$$

con el operador Δ_2 dado por

$$\Delta_2 = \frac{1}{\sin \theta} \frac{\partial}{\partial \theta} \left(\sin \theta \frac{\partial}{\partial \theta} \right) + \frac{1}{\sin^2 \theta} \frac{\partial^2}{\partial \phi^2} \quad (\text{A.15})$$

Utilizando la Ec. (A.11) en las expresiones anteriores, la energía resulta [98]

$$E = 8\pi - 8\pi\kappa H_0 r_0 + \pi\kappa H_0 r_0 + 2\pi\kappa H_0^2 r_0^2 + \frac{1}{2}\kappa \sum_{l,m} \left\{ l^2(l+1)^2 - 2l(l+1) + 2H_0 r_0 [1 - l(l+1)/2] \right\} |a_{lm}|^2$$

donde r_0 es el radio ideal de la membrana, relacionado con el radio efectivo r'_0 mediante

$$r'_0 = r_0 \left\{ 1 - \frac{1}{8\pi}\kappa \sum_{l,m} [1 + l(l+1)/2] |a_{lm}|^2 \right\} \quad (\text{A.16})$$

Para obtener esta relación se asume que la membrana solo se puede deformar (no se estira ni se comprime), por lo tanto, su área total se conserva. Aquí r_0 representa el radio de la membrana en la configuración de equilibrio (perfectamente esférica sin ondulaciones), mientras que r'_0 representa el radio de la membrana en la configuración actual (esférica pero con leves ondulaciones), ligeramente más pequeño que el ideal. Análogamente al caso de las bicapas planas, aquí también la energía es cuadrática en las amplitudes $|a_{lm}|$, por lo tanto podemos apelar al teorema de equipartición para desacoplar los modos de fluctuación (cada uno aporta en promedio $k_B T/2$ a la energía) y así obtener la relación

$$\langle |a_{lm}|^2 \rangle = \frac{k_B T}{\kappa \{ l^2(l+1)^2 - 2l(l+1) + 2H_0 r_0 [1 - l(l+1)/2] \}} \quad (\text{A.17})$$

En esta ecuación podemos observar que los a_{lm} no dependen del orden m , sino solamente del grado l . Promediando sobre todos los posibles $|a_{lm}|^2$ para cada l (tenemos $2l+1$ términos, pues $-l \leq m \leq l$), obtenemos lo que se conoce como el espectro de potencia

$$S(l) = \frac{1}{2l+1} \sum_{m=-l}^l \langle |a_{lm}|^2 \rangle \quad (\text{A.18})$$

Además, la expresión para los $|a_{lm}|^2$ depende de tres parámetros, κ , H_0 y r'_0 . El valor de r_0 se puede obtener mediante la Ec. (A.16) conociendo el valor de r'_0 , el cual puede determinarse como el radio medio de la membrana. Por su parte, H_0 se puede expresar en función de κ usando la Ec. (2.55). En este punto hay que tener en cuenta que la convención para la curvatura usada por Helfrich en la Ec. (A.17) es diferente que la tomada por Nakamura en la Ec. (2.55). En el primer caso $H_{\text{Helf}} = (c_1 + c_2)$ y $H_{\text{Helf}} > 0$, mientras que en el segundo caso $H_{\text{Nak}} = (c_1 + c_2)/2$ y $H_{\text{Nak}} < 0$, en consecuencia $H_{\text{Nak}} = -H_{\text{Helf}}/2$.

De esta manera, la Ec. (2.55) reescrita en la convención de Helfrich queda

$$H_0 = H - \frac{M_0 R}{\kappa} \quad (\text{A.19})$$

donde R y H son el radio y la curvatura actual de la membrana ($H = 1/R$ en la convención de Helfrich), y M_0 es el momento cero del perfil $P_N(r) - P_T(r)$ calculado mediante la Ec. (2.57). Insertando esta relación en la Ec. (A.17) obtenemos

$$S(l) = \frac{k_B T}{\kappa \{l^2(l+1)^2 - 2l(l+1) + 2r_0(H - M_0 R/\kappa) [1 - l(l+1)/2]\}} \quad (\text{A.20})$$

en donde hemos reemplazado a los $|a_{lm}|^2$ por su promedio sobre todos los m , dado por el espectro de potencia $S(l)$. Finalmente, el valor de κ puede obtenerse calculando $S(l)$ para cada l y ajustando el gráfico $S(l)$ vs. l mediante la expresión anterior.

En la práctica, la superficie $r(\theta, \phi)$ que caracteriza las ondulaciones de la membrana se calcula como la superficie media entre las superficies interior y exterior de la vesícula:

$$r(\theta, \phi) = \frac{r_i(\theta, \phi) + r_e(\theta, \phi)}{2} \quad (\text{A.21})$$

donde $r_i(\theta, \phi)$ representa la superficie interior y $r_e(\theta, \phi)$ la superficie exterior. Análogamente al caso de bicapas, para los polimerosomas PEO-PBD consideramos que estas superficies están determinadas por las partículas que definen las interfaces PEO-PBD (esferas amarillas, Fig. A.1), cuyas posiciones describimos mediante los conjuntos S_i para la superficie interior y S_e para la exterior. Para poder evaluar $r(\theta, \phi)$ mediante la Ec. (A.21), aquí también necesitamos que ambas superficies estén definidas sobre los mismos (θ, ϕ) . Sin embargo, dado que los puntos en los S_j están originalmente expresados en coordenadas cartesianas, previamente requerimos que sean convertidos a coordenadas esféricas, para lo cual aplicamos la siguiente transformación:

$$\left\{ \begin{array}{l} x = r \cos \theta \cos \phi \\ y = r \cos \theta \sin \phi \\ z = r \sin \theta \end{array} \right\} \longrightarrow \left\{ \begin{array}{l} r = \sqrt{x^2 + y^2 + z^2} \\ \theta = \arcsin \left(z / \sqrt{x^2 + y^2 + z^2} \right) \\ \phi = \arctan (y/x) \end{array} \right\} \quad (\text{A.22})$$

Una vez obtenidos los puntos de S_j en coordenadas esféricas, procedemos de manera análoga a la efectuada en bicapas: definimos una grilla G en (θ, ϕ) , encontramos las superficies interpoladoras para S_i y S_e y evaluamos ambas sobre los puntos de G . De esta manera, el radio de la superficie $r(\theta, \phi)$ en cualquier punto de la grilla G queda

determinado por

$$r_s = r(\theta_s, \phi_s) = \frac{r_i(\theta_s, \phi_s) + r_e(\theta_s, \phi_s)}{2} \quad \forall (\theta_s, \phi_s) \in G \quad (\text{A.23})$$

Finalmente, los coeficientes a_{lm} se pueden obtener mediante la Ec. (A.12) conociendo los valores de $f_s = (r_s - r'_0)/r'_0$ en cada punto de G .

Para llevar a cabo el cálculo desarrollamos un programa en Python para computar el espectro de fluctuación y obtener κ usando los lineamientos aquí presentados. Los conjuntos de puntos S_j fueron obtenidos a partir de las trayectorias de manera análoga a las bicapas, y luego convertidos a coordenadas esféricas mediante la transformación (A.22). La generación de la grilla, la descomposición en armónicos esféricos y el cálculo del espectro de potencia se llevó a cabo de manera sencilla y eficiente utilizando el módulo `SHTools` [147]. En particular usamos la función `GLQGridCoord` (generación de grilla) y las clases `SHGrid` (carga de datos y expansión en armónicos esféricos) y `SHCoeffs` (cálculo del espectro). Para generar la grilla G en (θ, ϕ) sobre la cual evaluamos las superficies, consideramos un espaciado regular en la dirección ϕ que al menos duplicara la densidad de puntos de los S_j en esa dirección. Los puntos de G en dirección θ fueron calculados a partir de los puntos ya determinados para ϕ usando el método de cuadratura gaussiana implementado en la función `GLQGridCoord`. Una vez obtenida la grilla G , mediante la función `griddata` del módulo `scipy.interpolate` interpolamos las superficies sobre S_1 y S_2 y obtuvimos los $r_s = r(\theta_s, \phi_s)$ en cada punto $(\theta_s, \phi_s) \in G$ y luego los correspondientes $f(\theta_s, \phi_s)$. Por último, usando los valores de (θ_s, ϕ_s, f_s) calculados sobre los puntos de grilla, determinamos la correspondiente expansión en armónicos esféricos (usando la función `expand()` de la clase `SHGrid`) y el espectro de potencia $S(l)$ asociado (usando la función `spectrum()` de la clase `SHCoeffs`). Por otro lado, el radio R y el parámetro M_0 fueron calculados mediante las Ecs. (2.58) y (2.57) usando los perfiles de presión obtenidos a lo largo de las trayectorias para cada sistema. Finalmente, con todos estos datos obtuvimos los correspondientes valores de κ mediante el ajuste de la Ec. (A.20).

Para la determinación de κ , el procedimiento realizado consistió en dividir las trayectorias cada 1 ns, calcular κ sobre cada subtrayectoria usando la aplicación desarrollada, y luego tomar el promedio y fluctuación a lo largo de toda la trayectoria. A modo ilustrativo, en la Fig. A.3 mostramos el resultado del ajuste $S(l)$ vs. l en un determinado subintervalo para la bicapa PEO₁₄-PBD₂₂. El valor final para κ a $T = 300$ K resulto igual a:

- (a) $\kappa = 39.2 \pm 5.3 k_B T$ para bicapa PEO₁₄-PBD₂₂, sin fármaco.
- (b) $\kappa = 38.6 \pm 5.1 k_B T$ para bicapa PEO₁₄-PBD₂₂, $N_{\text{nPLC}} = 500$, $N_{\text{pPLC}} = 800$.
- (c) $\kappa = 38.4 \pm 4.9 k_B T$ para bicapa PEO₁₄-PBD₂₂, $N_{\text{nPLC}} = 1000$, $N_{\text{pPLC}} = 1600$.

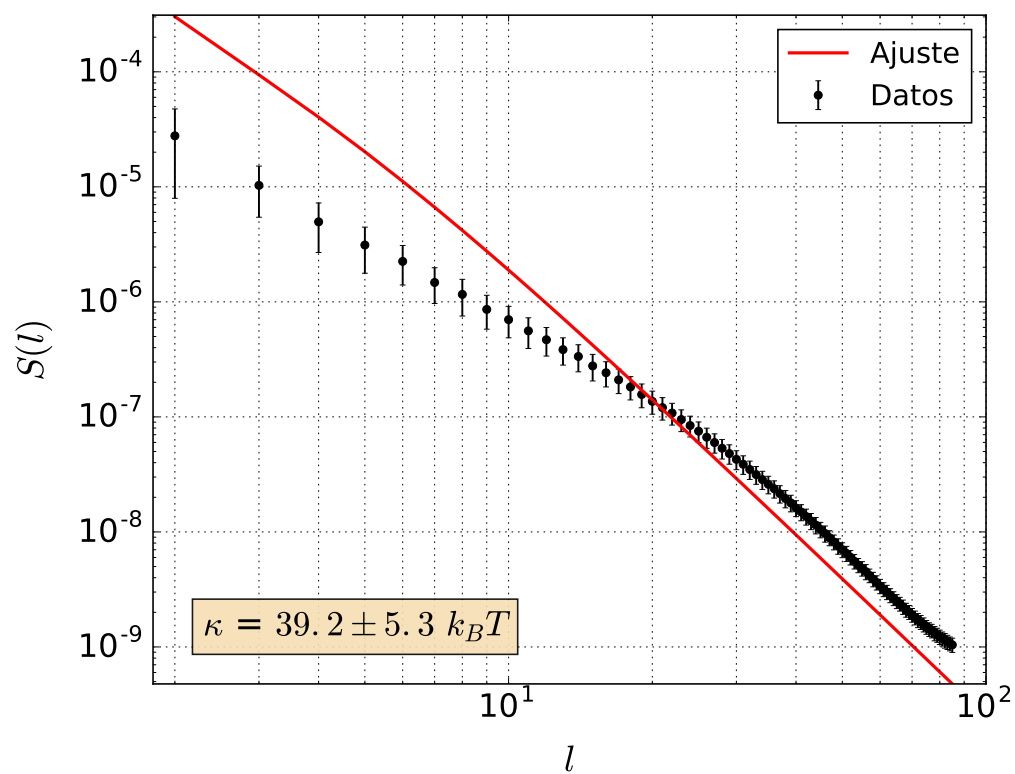


Figura A.3: Espectro de potencia $S(l)$ y valor de κ obtenido del ajuste $S(l)$ vs. l para el polimerosoma PEO₁₄-PBD₂₂ sobre una subtrayectoria de 1 ns.

Apéndice B

Desarrollos auxiliares para el cálculo de perfiles de presión

B.1 Expresión para el tensor de presión microscópico

A nivel microscópico para un sistema de N partículas puntuales, la densidad de momento lineal \mathbf{J} en una dada posición fija \mathbf{r} a tiempo t se puede escribir en la forma [108]

$$\mathbf{J}(\mathbf{r}, t) = \sum_{i=1}^N \mathbf{p}_i(t) \delta[\mathbf{r} - \mathbf{r}_i(t)] \quad (\text{B.1})$$

donde $\mathbf{r}_i(t)$ y $\mathbf{p}_i(t)$ son la posición y el momento lineal de la partícula i a tiempo t , y la función $\delta(\cdot)$ es la delta de Dirac. Derivando esta expresión respecto del tiempo obtenemos

$$\frac{\partial \mathbf{J}(\mathbf{r}, t)}{\partial t} = \sum_{i=1}^N \frac{d\mathbf{p}_i}{dt} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) + \sum_{i=1}^N \mathbf{p}_i \left[\frac{d\mathbf{r}_i}{dt} \cdot \nabla_{\mathbf{r}_i} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) \right] \quad (\text{B.2})$$

Luego, usando que

$$\begin{aligned} \mathbf{p}_i &= m_i \mathbf{v}_i \\ \mathbf{v}_i &= \frac{d\mathbf{r}_i}{dt} \\ \mathbf{F}_i &= \frac{d\mathbf{p}_i}{dt} \\ \nabla_{\mathbf{r}_i} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) &= -\nabla_{\mathbf{r}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) \end{aligned} \quad (\text{B.3})$$

la Ec. (B.2) adopta la forma

$$\frac{\partial \mathbf{J}(\mathbf{r}, t)}{\partial t} = \sum_{i=1}^N \mathbf{F}_i \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) - \sum_{i=1}^N m_i \mathbf{v}_i [\mathbf{v}_i \cdot \nabla_{\mathbf{r}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i)] \quad (\text{B.4})$$

donde m_i , \mathbf{v}_i y \mathbf{F}_i son la masa, velocidad y fuerza de la partícula i , respectivamente. En este punto, conviene pasar a notación tensorial para reescribir la expresión de manera más adecuada. Además, observemos que el gradiente ya no actúa sobre \mathbf{r}_i sino sobre \mathbf{r} , por lo tanto puede salir de la sumatoria. De esta manera, para la componente α obtenemos

$$\frac{\partial J^\alpha(\mathbf{r}, t)}{\partial t} = \sum_{i=1}^N F_i^\alpha \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) - \nabla_{\mathbf{r}}^\beta \left[\sum_{i=1}^N m_i v_i^\alpha v_i^\beta \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) \right] \quad (\text{B.5})$$

Por otro lado, suponemos que la fuerza sobre cada partícula i del sistema se deriva de un potencial de interacción $V(\{\mathbf{r}_i\})$, en la forma:

$$F_i^\alpha = -\nabla_{\mathbf{r}_i}^\alpha V(\{\mathbf{r}_i\}) \quad (\text{B.6})$$

donde $\{\mathbf{r}_i\} = \{\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N\}$ representa la configuración del sistema en un dado instante. Si el potencial es invariante traslacional, entonces se cumple que [108]

$$\sum_{i=1}^N F_i^\alpha = -\sum_{i=1}^N \nabla_{\mathbf{r}_i}^\alpha V(\{\mathbf{r}_i\}) = 0 \quad (\text{B.7})$$

De esta manera, observemos que el primer término del lado derecho de la Ec. (B.5) se puede reescribir como

$$\sum_{i=1}^N F_i^\alpha \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) = \sum_{i=1}^N F_i^\alpha [\delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) - \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_0)] \quad (\text{B.8})$$

ya que $\delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_0)$ no depende de i , por lo tanto sale de la sumatoria y ese término se anula por la invariancia traslacional. Luego, considerando que la integral de un gradiente sobre un cierto camino no depende del camino mismo, sino solamente de los puntos final e inicial, entonces vale

$$\delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) - \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_0) = \int_{\mathcal{C}_{0i}} \nabla_{\mathbf{l}}^\beta \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l}) d\mathbf{l}^\beta = -\nabla_{\mathbf{r}}^\beta \left[\int_{\mathcal{C}_{0i}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l}) d\mathbf{l}^\beta \right] \quad (\text{B.9})$$

en donde usamos que $\nabla_{\mathbf{l}}^\beta \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l}) = -\nabla_{\mathbf{r}}^\beta \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l})$ y sacamos $\nabla_{\mathbf{r}}^\beta$ fuera de la integral porque no afecta a la variable de integración \mathbf{l} . Insertando las Ecs. (B.6) y (B.9) en (B.8)

y reemplazando la expresión resultante en la Ec. (B.5) obtenemos

$$\frac{\partial J^\alpha(\mathbf{r}, t)}{\partial t} = -\nabla_{\mathbf{r}}^\beta \left[-\sum_{i=1}^N \nabla_{\mathbf{r}_i}^\alpha V(\{\mathbf{r}_i\}) \int_{\mathcal{C}_{0i}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l}) dl^\beta + \sum_{i=1}^N m_i v_i^\alpha v_i^\beta \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) \right] \quad (\text{B.10})$$

donde el término entre corchetes es precisamente la componente $\alpha\beta$ del tensor de presión microscópico

$$P^{\alpha\beta}(\mathbf{r}, t) = -\sum_{i=1}^N \nabla_{\mathbf{r}_i}^\alpha V(\{\mathbf{r}_i\}) \int_{\mathcal{C}_{0i}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l}) dl^\beta + \sum_{i=1}^N m_i v_i^\alpha v_i^\beta \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i) \quad (\text{B.11})$$

cuya expresión vectorial equivalente es la que se describe en la Ec. (3.2). Finalmente, con la definición de $P^{\alpha\beta}(\mathbf{r}, t)$ podemos escribir

$$\frac{\partial J^\alpha(\mathbf{r}, t)}{\partial t} = -\nabla_{\mathbf{r}}^\beta P^{\alpha\beta}(\mathbf{r}, t) \quad (\text{B.12})$$

que representa justamente la ecuación de conservación del momento (3.1) escrita de manera tensorial.

B.2 Integración de contornos en sistemas de geometría plana

Para sistemas de geometría plana, el aporte del par (i, k) a la presión del sistema sobre la rebanada s está dado por la Ec. (3.17), cuya expresión es:

$$P_{ik}^{\alpha\alpha}(z_s) = \frac{1}{V_s} F_{k|j}^\alpha \int_{V_s} \int_{\mathcal{C}_{ik}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l}) dl^\alpha d\mathbf{r} \quad (\text{B.13})$$

Para realizar la integración consideramos los dos contornos ya discutidos en el Capítulo 3, el de Irving-Kirkwood (IK) y el de Harasima (H).

Comencemos analizando la integración bajo el contorno IK. En este caso, el contorno consiste en una línea recta que conecta a i con k (ver Fig. 3.1a). La representación matemática de este camino está dada por el conjunto

$$\mathcal{C}_{ik}^{(IK)} = \{\mathbf{l}(\lambda) = \lambda \mathbf{r}_{ik} + \mathbf{r}_i, \quad 0 \leq \lambda \leq 1\} \quad (\text{B.14})$$

donde $\mathbf{r}_{ik} = \mathbf{r}_k - \mathbf{r}_i$. Debido a la delta de Dirac, la doble integral de la Ec. (B.13) queda reducida a una sola integral sobre el segmento de $\mathcal{C}_{ik}^{(IK)}$ incluido en V_s . Este segmento

puede representarse mediante el conjunto

$$\mathcal{C}_{ik}^{(IK)} \cap V_s = \{\mathbf{l}(\lambda) : \lambda_a \leq \lambda \leq \lambda_b\} \quad (\text{B.15})$$

donde λ_a y λ_b son los parámetros correspondientes a los puntos inicial y final de dicho segmento, que denotamos por $\mathbf{l}_a = \mathbf{l}(\lambda_a)$ y $\mathbf{l}_b = \mathbf{l}(\lambda_b)$ respectivamente. De la expresión para $\mathbf{l}(\lambda)$ se obtiene para la componente α

$$l^\alpha = \lambda r_{ik}^\alpha + r_i^\alpha \quad (\text{B.16})$$

$$dl^\alpha = r_{ik}^\alpha d\lambda \quad (\text{B.17})$$

De esta manera, la Ec. (B.13) se puede expresar como una integral en la variable λ , en la forma

$$P_{ik}^{\alpha\alpha}(z_s) = \frac{1}{V_s} F_{k|j}^\alpha r_{ik}^\alpha \int_{\lambda_a}^{\lambda_b} d\lambda = \frac{1}{V_s} F_{k|j}^\alpha r_{ik}^\alpha (\lambda_b - \lambda_a) \quad (\text{B.18})$$

En virtud de la Ec. (B.16), podemos escribir $\lambda_b - \lambda_a = (l_b^\alpha - l_a^\alpha)/r_{ik}^\alpha$. En particular, usando la componente z obtenemos $\lambda_b - \lambda_a = (z_b - z_a)/z_{ik}$. Observemos que esta cantidad representa precisamente la fracción del contorno en la rebanada ($0 \leq \lambda_b - \lambda_a \leq 1$) y depende de las posiciones de ambas partículas (z_i, z_k) y de la posición de la rebanada (z_s). Por este motivo, vamos a describirla como una función de 2-cuerpos (ya que depende de ambas partículas) que denotamos por $f_2(z_i, z_k, z_s)$. De esta manera, la expresión para $P_{ik}^{\alpha\alpha}(z_s)$ adopta la forma

$$P_{ik}^{\alpha\alpha}(z_s) = \frac{F_{k|j}^\alpha r_{ik}^\alpha}{V_s} f_2(z_i, z_k, z_s) \quad (\text{B.19})$$

que corresponde a la expresión indicada en la Ec. (3.18) para el contorno IK. Para determinar la forma de la función f_2 suponemos por simplicidad que $z_i \leq z_k$. Luego, definimos las variables $\delta z_s = z_b - z_a$ y $\Delta z = z_{ik} = z_k - z_i$. Apelando a las Figs. 3.1b-3.1e se puede ver que δz_s se puede escribir de manera genérica como $\delta z_s = \min(z_k, z_s + h) - \max(z_i, z_s)$, donde h es el espesor de la rebanada s . Finalmente, analizando los diferentes casos se puede concluir que la fracción de contorno dentro de la rebanada s está dada por

$$f_2(z_i, z_k, z_s) = \begin{cases} 1 & \text{si } \Delta z = 0 \text{ y } \delta z_s = 0 \\ \delta z_s / \Delta z & \text{si } \Delta z > 0 \text{ y } \delta z_s > 0 \\ 0 & \text{en otro caso} \end{cases} \quad (\text{B.20})$$

Ahora analicemos la integración bajo el contorno H . En este caso, el contorno consiste en un camino de dos tramos conectando i con k , ambos rectos pero uno en dirección normal y el otro en dirección tangencial. Existen dos posibles elecciones de contornos que cumplen con lo anterior, que denotamos como H_1 y H_2 (ver Fig. 3.1a). El contorno H_1 comienza en \mathbf{r}_i avanzando en dirección normal hasta \mathbf{r}'_1 , luego continuando en dirección tangencial hasta llegar a \mathbf{r}_k (estos dos tramos los identificamos aquí como H_{1N} y H_{1T} respectivamente). El contorno H_2 es similar al anterior pero en orden inverso, comienza en \mathbf{r}_i avanzando en dirección tangencial hasta \mathbf{r}'_2 , luego continuando en dirección normal hasta llegar a \mathbf{r}_k (estos dos tramos los identificamos aquí como H_{2T} y H_{2N} respectivamente).

Calculemos primero las integrales sobre los contornos en direcciones tangenciales. Para ilustrar el cálculo, desarrollemos la integral sobre H_{2T} . Este contorno se puede escribir matemáticamente como

$$\mathcal{C}_{ik}^{(H_{2T})} = \{\mathbf{l}(\lambda) = \lambda \mathbf{r}_{ik}^T + \mathbf{r}_i, \quad 0 \leq \lambda \leq 1\} \quad (\text{B.21})$$

donde \mathbf{r}_{ik}^T es el vector que representa la componente tangencial de \mathbf{r}_{ik} . Observemos que este contorno se mueve desde \mathbf{r}_i en dirección tangencial hasta \mathbf{r}'_2 , por lo tanto, su coordenada z es siempre constante e igual a z_i y su diferencial de camino vale

$$dl^\alpha = \begin{cases} r_{ik}^\alpha d\lambda & \text{si } \alpha = x, y \\ 0 & \text{si } \alpha = z \end{cases} \quad (\text{B.22})$$

De aquí vemos que la contribución a la componente normal de presión se anula en este camino. Además vemos que si $z_s \leq z_i < z_s + h$, el contorno está completamente contenido dentro de la rebanada s , en caso contrario está completamente fuera. Con todo esto podemos resolver la doble integral en la Ec. (B.13) para $\alpha = x, y$, quedando en la forma

$$\int_{V_s} \int_{H_{2T}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l}) dl^\alpha d\mathbf{r} = \begin{cases} r_{ik}^\alpha \int_0^1 d\lambda = r_{ik}^\alpha & \text{si } z_s \leq z_i < z_s + h \\ 0 & \text{en otro caso} \end{cases} \quad (\text{B.23})$$

De esta manera, el aporte a la presión debido a H_{2T} para $\alpha = x, y$ resulta

$$P_{ik}^{\alpha\alpha}(z_s, H_{2T}) = \begin{cases} \frac{F_{k|j}^\alpha r_{ik}^\alpha}{V_s} & \text{si } z_s \leq z_i < z_s + h \\ 0 & \text{en otro caso} \end{cases} \quad (\text{B.24})$$

Análogamente se puede mostrar que el aporte debido a H_{1T} para $\alpha = x, y$ vale

$$P_{ik}^{\alpha\alpha}(z_s, H_{1T}) = \begin{cases} \frac{F_{k|j}^{\alpha} r_{ik}^{\alpha}}{V_s} & \text{si } z_s \leq z_k < z_s + h \\ 0 & \text{en otro caso} \end{cases} \quad (\text{B.25})$$

Observemos que los aportes a la presión en estos dos contornos dependen de una única partícula: en H_{1T} dependen sólo de k , mientras que en H_{2T} dependen sólo de i . Definiendo a la función de 1-cuerpo

$$f_1(z_i, z_s) = \begin{cases} 1 & \text{si } z_s \leq z_i < z_s + h \\ 0 & \text{en otro caso} \end{cases} \quad (\text{B.26})$$

entonces las contribuciones en ambos contornos se puede reescribir como

$$\begin{aligned} P_{ik}^{\alpha\alpha}(z_s, H_{1T}) &= \frac{F_{k|j}^{\alpha} r_{ik}^{\alpha}}{V_s} f_1(z_k, z_s) \\ P_{ik}^{\alpha\alpha}(z_s, H_{2T}) &= \frac{F_{k|j}^{\alpha} r_{ik}^{\alpha}}{V_s} f_1(z_i, z_s) \end{aligned} \quad (\text{B.27})$$

Finalmente, la contribución a la presión sobre la rebanada s debido al par (i, k) se puede determinar como el promedio sobre ambos contornos:

$$P_{ik}^{\alpha\alpha}(z_s) = \frac{F_{k|j}^{\alpha} r_{ik}^{\alpha}}{V_s} \frac{f_1(z_i, z_s) + f_1(z_k, z_s)}{2} \quad (\text{B.28})$$

que corresponde a la expresión indicada en la Ec. (3.18) para el contorno H para $\alpha = x, y$.

Por otro lado, cuando planteamos las integrales sobre los contornos en direcciones normales (H_{1N} y H_{2N}), se puede mostrar mediante un procedimiento análogo al anterior que las contribuciones a la presión se anulan para las componentes tangenciales, y que la expresión para la contribución normal es idéntica a la provista por el contorno IK para $\alpha = z$.

B.3 Expresión para la presión tangencial en coordenadas esféricas

En el Capítulo 3, Sección 3.4 habíamos visto que la componente tangencial de $\mathbf{P}_j(\mathbf{r})$ se puede describir mediante la Ec. (3.23), cuya expresión es:

$$P_j^T(\mathbf{r}) = \frac{1}{2} \sum_{k=j_1}^{j_m} \int_{C_{ik}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l}) [(\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{e}_\theta)(d\mathbf{l} \cdot \mathbf{e}_\theta) + \mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{e}_\phi)(d\mathbf{l} \cdot \mathbf{e}_\phi)] \quad (\text{B.29})$$

En este apartado mostramos cómo derivar su expresión alternativa en términos de \mathbf{e}_r .

Primero tengamos en cuenta que $\{\mathbf{e}_r, \mathbf{e}_\theta, \mathbf{e}_\phi\}$ forman un conjunto de vectores ortonormales, por lo tanto cualquier cantidad vectorial \mathbf{A} se puede escribir en esta base como

$$\mathbf{A} = (\mathbf{A} \cdot \mathbf{e}_r)\mathbf{e}_r + (\mathbf{A} \cdot \mathbf{e}_\theta)\mathbf{e}_\theta + (\mathbf{A} \cdot \mathbf{e}_\phi)\mathbf{e}_\phi \quad (\text{B.30})$$

Ahora, dadas dos cantidades \mathbf{A} y \mathbf{B} escritas en esta base, podemos calcular su producto escalar como

$$\mathbf{A} \cdot \mathbf{B} = \sum_{\alpha, \beta} (\mathbf{A} \cdot \mathbf{e}_\alpha)(\mathbf{B} \cdot \mathbf{e}_\beta)(\mathbf{e}_\alpha \cdot \mathbf{e}_\beta) \quad (\text{B.31})$$

Usando la propiedad de ortonormalidad $\mathbf{e}_\alpha \cdot \mathbf{e}_\beta = \delta_{\alpha\beta}$, donde $\delta_{\alpha\beta}$ es la delta de Kronecker, se puede mostrar que solo sobreviven los términos con $\alpha = \beta$. De esta manera, el producto escalar queda:

$$\mathbf{A} \cdot \mathbf{B} = (\mathbf{A} \cdot \mathbf{e}_r)(\mathbf{B} \cdot \mathbf{e}_r) + (\mathbf{A} \cdot \mathbf{e}_\theta)(\mathbf{B} \cdot \mathbf{e}_\theta) + (\mathbf{A} \cdot \mathbf{e}_\phi)(\mathbf{B} \cdot \mathbf{e}_\phi) \quad (\text{B.32})$$

Definiendo $\mathbf{A} = \mathbf{F}_{k|j}$ y $\mathbf{B} = d\mathbf{l}$, podemos reescribir la expresión anterior como

$$\mathbf{F}_{k|j} \cdot d\mathbf{l} - (\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{e}_r)(d\mathbf{l} \cdot \mathbf{e}_r) = (\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{e}_\theta)(d\mathbf{l} \cdot \mathbf{e}_\theta) + (\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{e}_\phi)(d\mathbf{l} \cdot \mathbf{e}_\phi) \quad (\text{B.33})$$

Por otro lado, considerando la identidad vectorial

$$(\mathbf{A} \times \mathbf{B}) \cdot (\mathbf{C} \times \mathbf{D}) = (\mathbf{A} \cdot \mathbf{C})(\mathbf{B} \cdot \mathbf{D}) - (\mathbf{B} \cdot \mathbf{C})(\mathbf{A} \cdot \mathbf{D}) \quad (\text{B.34})$$

y definiendo $\mathbf{A} = \mathbf{F}_{k|j}$, $\mathbf{C} = d\mathbf{l}$ y $\mathbf{B} = \mathbf{D} = \mathbf{e}_r$, obtenemos

$$(\mathbf{F}_{k|j} \times \mathbf{e}_r) \cdot (d\mathbf{l} \times \mathbf{e}_r) = \mathbf{F}_{k|j} \cdot d\mathbf{l} - (\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{e}_r)(d\mathbf{l} \cdot \mathbf{e}_r) \quad (\text{B.35})$$

Comparando las Ecs. (B.33) y (B.35) concluimos que

$$(\mathbf{F}_{k|j} \times \mathbf{e}_r) \cdot (d\mathbf{l} \times \mathbf{e}_r) = (\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{e}_\theta)(d\mathbf{l} \cdot \mathbf{e}_\theta) + (\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{e}_\phi)(d\mathbf{l} \cdot \mathbf{e}_\phi) \quad (\text{B.36})$$

El lado derecho de esta ecuación coincide justamente con el término entre corchetes en el integrando de la Ec. (B.29). Haciendo el reemplazo correspondiente obtenemos finalmente

$$P_j^T(\mathbf{r}) = \frac{1}{2} \sum_{k=j_1}^{j_m} \int_{\mathcal{C}_{ik}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l})(\mathbf{F}_{k|j} \times \mathbf{e}_r) \cdot (d\mathbf{l} \times \mathbf{e}_r) \quad (\text{B.37})$$

B.4 Integración de contornos en sistemas de geometría esférica

Para sistemas de geometría esférica, el aporte del par (i, k) a la presión tangencial del sistema sobre la cáscara esférica s está dado por la Ec. (3.28), cuya expresión es:

$$P_{ik}^T(r_s) = \frac{1}{2V_s} \int_{V_s} \int_{\mathcal{C}_{ik}} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{l})(\mathbf{F}_{k|j} \times \mathbf{e}_r) \cdot (d\mathbf{l} \times \mathbf{e}_r) d\mathbf{r} \quad (\text{B.38})$$

Recordemos que para geometría esférica el único contorno considerado es el de Irving-Kirwood (IK). Bajo esta definición, el contorno \mathcal{C}_{ik} corresponde al segmento de recta que conecta a i con k , representado matemáticamente por

$$\mathcal{C}_{ik} = \{\mathbf{l}(\lambda) : \mathbf{l}(\lambda) = \lambda \mathbf{r}_{ik} + \mathbf{r}_i, \text{ con } 0 \leq \lambda \leq 1\} \quad (\text{B.39})$$

donde $\mathbf{r}_{ik} = \mathbf{r}_k - \mathbf{r}_i$. Debido a la delta de Dirac, la doble integral de la Ec. (B.38) queda reducida a una sola integral sobre el segmento de \mathcal{C}_{ik} contenido dentro de la cáscara s , el cual se puede representar por el conjunto

$$\mathcal{C}_{ik} \cap V_s = \{\mathbf{l}(\lambda) : \lambda_a \leq \lambda \leq \lambda_b\} \quad (\text{B.40})$$

donde λ_a y λ_b son los parámetros asociados a los puntos inicial y final de dicho segmento. Utilizando la expresión para $\mathbf{l}(\lambda)$, el diferencial de camino para la integral resulta $d\mathbf{l} = \mathbf{r}_{ik} d\lambda$. De esta manera, la Ec. (B.38) se puede expresar como una integral en la variable λ , en la forma

$$P_{ik}^T(r_s) = \frac{1}{2V_s} \int_{\lambda_a}^{\lambda_b} \frac{(\mathbf{F}_{k|j} \times \mathbf{l}) \cdot (\mathbf{r}_{ik} \times \mathbf{l})}{l^2} d\lambda = \frac{1}{2V_s} \int_{\lambda_a}^{\lambda_b} \frac{(\mathbf{F}_{k|j} \times \mathbf{l}) \cdot \boldsymbol{\omega}}{l^2} d\lambda \quad (\text{B.41})$$

donde hemos reemplazado los vectores directores en términos de \mathbf{l} usando que $\mathbf{e}_r = \mathbf{l}/l$, con $l = |\mathbf{l}|$, y hemos utilizado la igualdad $\mathbf{r}_{ik} \times \mathbf{l} = \mathbf{r}_{ik} \times \mathbf{r}_i = \boldsymbol{\omega}$ (esto último se muestra fácilmente considerando que $\mathbf{l} = \lambda \mathbf{r}_{ik} + \mathbf{r}_i$ y que $\mathbf{r}_{ik} \times \mathbf{r}_{ik} = 0$).

Para resolver esta integral vamos a reescribir el integrando de manera más adecuada. En primer lugar, podemos separar a $\mathbf{F}_{k|j}$ como suma de dos contribuciones, una paralela y otra perpendicular a \mathbf{r}_{ik} :

$$\mathbf{F}_{k|j} = \mathbf{F}_{\parallel} + \mathbf{F}_{\perp} \quad (\text{B.42})$$

$$\mathbf{F}_{\parallel} = \frac{\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{r}_{ik}}{r_{ik}^2} \mathbf{r}_{ik} \quad (\text{B.43})$$

$$\mathbf{F}_{\perp} = \frac{\mathbf{r}_{ik} \times \mathbf{F}_{k|j}}{r_{ik}^2} \times \mathbf{r}_{ik} \quad (\text{B.44})$$

las cuales satisfacen

$$\mathbf{F}_{\parallel} \times \mathbf{r}_{ik} = 0 \quad (\text{B.45})$$

$$\mathbf{F}_{\perp} \cdot \mathbf{r}_{ik} = 0 \quad (\text{B.46})$$

Por un lado, para la componente paralela podemos usar que $\mathbf{l} = \lambda \mathbf{r}_{ik} + \mathbf{r}_i$ junto con las Ecs. (B.43) y (B.45) para obtener

$$(\mathbf{F}_{\parallel} \times \mathbf{l}) \cdot \boldsymbol{\omega} = (\mathbf{F}_{\parallel} \times \mathbf{r}_i) \cdot \boldsymbol{\omega} = \left[\frac{\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{r}_{ik}}{r_{ik}^2} \mathbf{r}_{ik} \times \mathbf{r}_i \right] \cdot \boldsymbol{\omega} = \frac{\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{r}_{ik}}{r_{ik}^2} \omega^2 \quad (\text{B.47})$$

Por otro lado, para la componente perpendicular podemos usar que $\boldsymbol{\omega} = \mathbf{r}_{ik} \times \mathbf{r}_i$ junto con la identidad vectorial $(\mathbf{A} \times \mathbf{B}) \cdot (\mathbf{C} \times \mathbf{D}) = (\mathbf{A} \cdot \mathbf{C})(\mathbf{B} \cdot \mathbf{D}) - (\mathbf{B} \cdot \mathbf{C})(\mathbf{A} \cdot \mathbf{D})$ y la condición (B.46) para obtener

$$(\mathbf{F}_{\perp} \times \mathbf{l}) \cdot \boldsymbol{\omega} = (\mathbf{F}_{\perp} \times \mathbf{l}) \cdot (\mathbf{r}_{ik} \times \mathbf{r}_i) = -(\mathbf{F}_{\perp} \cdot \mathbf{r}_i)(\mathbf{l} \cdot \mathbf{r}_{ik}) \quad (\text{B.48})$$

Considerando la Ec. (B.44) y la identidad vectorial $(\mathbf{A} \times \mathbf{B}) \cdot \mathbf{C} = (\mathbf{B} \times \mathbf{C}) \cdot \mathbf{A}$ podemos escribir

$$\mathbf{F}_{\perp} \cdot \mathbf{r}_i = \left[\frac{\mathbf{r}_{ik} \times \mathbf{F}_{k|j}}{r_{ik}^2} \times \mathbf{r}_{ik} \right] \cdot \mathbf{r}_i = [\mathbf{r}_{ik} \times \mathbf{r}_i] \cdot \frac{\mathbf{r}_{ik} \times \mathbf{F}_{k|j}}{r_{ik}^2} = -\frac{(\mathbf{F}_{k|j} \times \mathbf{r}_{ik}) \cdot \boldsymbol{\omega}}{r_{ik}^2} \quad (\text{B.49})$$

Reemplazando este resultado en la Ec. (B.48) obtenemos finalmente

$$(\mathbf{F}_{\perp} \times \mathbf{l}) \cdot \boldsymbol{\omega} = \frac{(\mathbf{F}_{k|j} \times \mathbf{r}_{ik}) \cdot \boldsymbol{\omega}}{r_{ik}^2} (\mathbf{l} \cdot \mathbf{r}_{ik}) \quad (\text{B.50})$$

De esta manera, descomponiendo a $\mathbf{F}_{k|j}$ en sus componentes paralela y perpendicular y usando las Ecs. (B.47) y (B.50) podemos reescribir la integral de la Ec. (B.41) en la

forma

$$\int_{\lambda_a}^{\lambda_b} \frac{(\mathbf{F}_{k|j} \times \mathbf{l}) \cdot \boldsymbol{\omega}}{l^2} d\lambda = \frac{\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{r}_{ik}}{r_{ik}^2} \omega^2 \int_{\lambda_a}^{\lambda_b} \frac{d\lambda}{l^2} + \frac{(\mathbf{F}_{k|j} \times \mathbf{r}_{ik}) \cdot \boldsymbol{\omega}}{r_{ik}^2} \int_{\lambda_a}^{\lambda_b} \frac{\mathbf{l} \cdot \mathbf{r}_{ik}}{l^2} d\lambda \quad (\text{B.51})$$

La integral del primer término se resuelve de manera sencilla escribiendo todo en función de σ . Utilizando la expresión para σ en la Ec. (3.40) se deduce que $l^2 = (\sigma^2 + \omega^2)/r_{ik}^2$, y mediante la expresión para σ en la Ec. (3.31) se obtiene el diferencial $d\sigma = r_{ik}^2 d\lambda$. Haciendo uso de las expresiones anteriores para l^2 y $d\lambda$, y denotando $\sigma_a = \sigma(\lambda_a)$ y $\sigma_b = \sigma(\lambda_b)$, obtenemos

$$\int_{\lambda_a}^{\lambda_b} \frac{d\lambda}{l^2} = \int_{\sigma_a}^{\sigma_b} \frac{d\sigma}{\sigma^2 + \omega^2} = \frac{1}{\omega} \arctan\left(\frac{\sigma}{\omega}\right) \Big|_{\sigma_a}^{\sigma_b} \quad (\text{B.52})$$

Por otro lado, la integral del segundo término se resuelve directamente de la definición de \mathbf{l} , mediante la cual se deduce que $l^2 = \mathbf{l} \cdot \mathbf{l} = \lambda^2 r_{ik}^2 + 2\lambda(\mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_i) + r_i^2$. Diferenciando esta expresión se obtiene $2l dl = 2(\lambda \mathbf{r}_{ik} + \mathbf{r}_i) \cdot \mathbf{r}_{ik} d\lambda = 2\mathbf{l} \cdot \mathbf{r}_{ik} d\lambda$. Usando este resultado y denotando $l_a = l(\lambda_a)$ y $l_b = l(\lambda_b)$ obtenemos

$$\int_{\lambda_a}^{\lambda_b} \frac{\mathbf{l} \cdot \mathbf{r}_{ik}}{l^2} d\lambda = \int_{l_a}^{l_b} \frac{l dl}{l^2} = \log(l) \Big|_{l_a}^{l_b} \quad (\text{B.53})$$

Finalmente, reemplazando los resultados de las integrales (B.52) y (B.53) en la Ec. (B.51) obtenemos

$$\int_{\lambda_a}^{\lambda_b} \frac{(\mathbf{F}_{k|j} \times \mathbf{l}) \cdot \boldsymbol{\omega}}{l^2} d\lambda = \frac{\mathbf{F}_{k|j} \cdot \mathbf{r}_{ik}}{r_{ik}^2} \omega \arctan\left(\frac{\sigma}{\omega}\right) \Big|_{\sigma_a}^{\sigma_b} + \frac{(\mathbf{F}_{k|j} \times \mathbf{r}_{ik}) \cdot \boldsymbol{\omega}}{r_{ik}^2} \log(l) \Big|_{l_a}^{l_b} \quad (\text{B.54})$$

y sustituyendo esta última en la Ec. (B.41) obtenemos la expresión final para la contribución de presión indicada en la Ec. (3.39).

B.5 Otras expresiones útiles

Recordando que $\boldsymbol{\omega} = \mathbf{r}_{ik} \times \mathbf{r}_i$, la cantidad ω^2 viene expresada mediante

$$\omega^2 = \boldsymbol{\omega} \cdot \boldsymbol{\omega} = (\mathbf{r}_{ik} \times \mathbf{r}_i) \cdot (\mathbf{r}_{ik} \times \mathbf{r}_i) \quad (\text{B.55})$$

Teniendo en cuenta las identidades vectoriales

$$\mathbf{A} \cdot (\mathbf{B} \times \mathbf{C}) = \mathbf{B} \cdot (\mathbf{C} \times \mathbf{A}) \quad (\text{B.56})$$

$$\mathbf{A} \times (\mathbf{B} \times \mathbf{C}) = \mathbf{B}(\mathbf{A} \cdot \mathbf{C}) - \mathbf{C}(\mathbf{A} \cdot \mathbf{B}) \quad (\text{B.57})$$

la expresión para ω^2 se puede reescribir como

$$\begin{aligned} \omega^2 &= (\mathbf{r}_{ik} \times \mathbf{r}_i) \cdot (\mathbf{r}_{ik} \times \mathbf{r}_i) \\ &= \mathbf{r}_{ik} \cdot [\mathbf{r}_i \times (\mathbf{r}_{ik} \times \mathbf{r}_i)] \\ &= \mathbf{r}_{ik} \cdot [\mathbf{r}_{ik}(\mathbf{r}_i \cdot \mathbf{r}_i) - \mathbf{r}_i(\mathbf{r}_i \cdot \mathbf{r}_{ik})] \\ &= (\mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_{ik})(\mathbf{r}_i \cdot \mathbf{r}_i) - (\mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_i)(\mathbf{r}_i \cdot \mathbf{r}_{ik}) \\ &= r_{ik}^2 r_i^2 - (\mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_i)^2 \end{aligned} \quad (\text{B.58})$$

Ahora recordemos que $\mathbf{l} = \lambda \mathbf{r}_{ik} + \mathbf{r}_i$, $\sigma = \mathbf{l} \cdot \mathbf{r}_{ik}$ y $\lambda_0 = -(\mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_i)/r_{ik}^2$. Utilizando la definición de \mathbf{l} podemos calcular el valor de $l^2 = \mathbf{l} \cdot \mathbf{l}$:

$$\begin{aligned} l^2 &= (\lambda \mathbf{r}_{ik} + \mathbf{r}_i) \cdot (\lambda \mathbf{r}_{ik} + \mathbf{r}_i) \\ &= \lambda^2 r_{ik}^2 + 2\lambda(\mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_i) + r_i^2 \end{aligned} \quad (\text{B.59})$$

Evaluando esta expresión en $\lambda = \lambda_0$ obtenemos $l_0^2 = l^2(\lambda_0)$:

$$\begin{aligned} l_0^2 &= \frac{(\mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_i)^2}{r_{ik}^4} r_{ik}^2 - 2 \frac{(\mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_i)}{r_{ik}^2} (\mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_i) + r_i^2 \\ &= -\frac{(\mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_i)^2}{r_{ik}^2} + r_i^2 \\ &= \frac{r_{ik}^2 r_i^2 - (\mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_i)^2}{r_{ik}^2} \end{aligned} \quad (\text{B.60})$$

Apelando a la expresión de ω^2 en la Ec. (B.58) y despejando tenemos el valor para l_0 :

$$l_0 = \frac{\omega}{r_{ik}} \quad (\text{B.61})$$

Ahora calculemos la cantidad $\sigma^2 = (\mathbf{l} \cdot \mathbf{r}_{ik})^2$:

$$\begin{aligned}
 \sigma^2 &= [(\lambda \mathbf{r}_{ik} + \mathbf{r}_i) \cdot \mathbf{r}_{ik}]^2 \\
 &= (\lambda r_{ik}^2 + \mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_i)^2 \\
 &= \lambda^2 r_{ik}^4 + 2\lambda r_{ik}^2 (\mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_i) + (\mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_i)^2 \\
 &= r_{ik}^2 \left[\lambda^2 r_{ik}^2 + 2\lambda (\mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_i) + \frac{(\mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_i)^2}{r_{ik}^2} \right]
 \end{aligned} \tag{B.62}$$

Usando la Ec. (B.59) podemos reescribir la expresión anterior como

$$\begin{aligned}
 \sigma^2 &= r_{ik}^2 \left[l^2 - r_i^2 + \frac{(\mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_i)^2}{r_{ik}^2} \right] \\
 &= r_{ik}^2 \left[l^2 - \frac{r_{ik}^2 r_i^2 - (\mathbf{r}_{ik} \cdot \mathbf{r}_i)^2}{r_{ik}^2} \right]
 \end{aligned} \tag{B.63}$$

Finalmente, utilizando otra vez la expresión para ω^2 y despejando obtenemos el valor para σ

$$\sigma = \pm \sqrt{r_{ik}^2 l^2 - \omega^2} \tag{B.64}$$

donde el signo de σ esta asociado al sentido de la proyección de \mathbf{l} sobre \mathbf{r}_{ik} .

Apéndice C

Método de centrado para sistemas de geometría esférica

Para determinar los perfiles de presión en un sistema con simetría esférica, es imprescindible que las coordenadas estén centradas respecto del centro de simetría del sistema (en realidad, esto aplica a cualquier tipo de perfil en coordenadas esféricas, no sólo el de presión). En la práctica, para estimar este punto debemos proveer un *grupo de centrado*, esto es, un grupo de partículas cuyo centro geométrico sabemos que es representativo del centro de simetría del sistema. De esta manera, el centrado del sistema se realiza tomando como punto de referencia al centro geométrico de dicho grupo. Cabe mencionar que también podríamos usar el centro de masa en lugar del centro geométrico. Si el sistema tiene simetría esférica perfecta, ambos puntos deberían coincidir. Aunque esto no ocurre en la práctica, la diferencia entre ellos suele ser despreciable, por lo tanto cualquiera de las dos elecciones es adecuada. Aquí por simplicidad usamos el centro geométrico, ya que permite independizarnos de la masa de las partículas.

Cuando los sistemas son no-periódicos, el punto de centrado se obtiene trivialmente como el promedio de las posiciones de todas las partículas en el grupo de centrado G :

$$\mathbf{r}_0 = \frac{1}{N_G} \sum_{i \in G} \mathbf{r}_i \quad (\text{C.1})$$

Sin embargo, cuando los sistemas son periódicos, la fórmula anterior ya no es aplicable en general, dado que existen infinitas representaciones equivalentes que difieren entre ellas en una traslación rígida. Para ver esto, consideremos que cualquier sistema periódico se

puede describir a partir del conjunto de coordenadas \mathbf{r} dentro de la caja, dado por

$$S = \{\mathbf{r} : 0 \leq r_\alpha < L_\alpha, \text{ con } \alpha = x, y, z\} \quad (\text{C.2})$$

donde L_α es la longitud de la caja en la dirección α . Cualquier otro punto \mathbf{r}' del sistema se puede obtener como traslación periódica de algún $\mathbf{r} \in S$, esto es, $r'_\alpha = r_\alpha + k_\alpha L_\alpha$, para algún $k_\alpha \in \mathbb{Z}$. Luego, aplicando una traslación rígida arbitraria \mathbf{T} sobre el conjunto S y utilizando las PBC, obtenemos el sistema equivalente

$$S' = \{\mathbf{r}' : r'_\alpha = \text{modulo}(r_\alpha + T_\alpha, L_\alpha), \text{ con } \mathbf{r} \in S\} \quad (\text{C.3})$$

cuyas coordenadas también satisfacen $0 \leq r'_\alpha < L_\alpha$. Ahora bien, suponiendo que S es la representación centrada del sistema, utilizando la Ec. (C.1) con el conjunto S obtenemos el resultado correcto para el centro geométrico, digamos $\mathbf{r}_0^{(S)}$. Al aplicar la traslación rígida \mathbf{T} ,

$$\begin{array}{ccc} S & \xrightarrow{\mathbf{T}} & S' \\ \mathbf{r}_0^{(S)} & \xrightarrow{\mathbf{T}} & \mathbf{r}_0^{(S)} + \mathbf{T} \end{array} \quad (\text{C.4})$$

Sin embargo, al utilizar la Ec. (C.1) con el conjunto S' obtenemos un $\mathbf{r}_0^{(S')}$ que difiere del verdadero centro geométrico del sistema, que ahora se encuentra en $\mathbf{r}_0^{(S)} + \mathbf{T}$. Esto se muestra gráficamente en la Fig. C.1, en donde vemos que el promedio calculado sobre los puntos en la representación centrada (cuadrado verde, Fig. C.1a) se corresponde con el centro geométrico del sistema. Sin embargo, el promedio obtenido sobre los puntos en la representación trasladada (círculo rojo, Fig. C.1b) difiere significativamente del verdadero centro geométrico trasladado (cuadrado verde, Fig. C.1b).

Con esto concluimos que la Ec. (C.1) no es adecuada para calcular el centro geométrico para una dada representación arbitraria, por lo que debemos considerar un método alternativo. En esta dirección, hemos implementado un algoritmo de cálculo basado en el método propuesto por Bai y Breen para la determinación del centro de masa en sistemas periódicos [148]. El punto obtenido mediante la aplicación de este algoritmo (diamantes amarillos, Fig. C.1) representa una buena estimación del centro geométrico del sistema (cuadrado verdes, Fig. C.1). Si bien ambos puntos no son exactamente coincidentes, la diferencia entre ellos es muy pequeña y es independiente de la representación (ambos puntos se trasladan exactamente en la misma cantidad al aplicar una traslación al sistema). Por este motivo, el método presentado constituye una herramienta adecuada para el centrado de los sistemas para cualquier representación arbitraria. La formulación completa de este algoritmo es presentada a continuación.

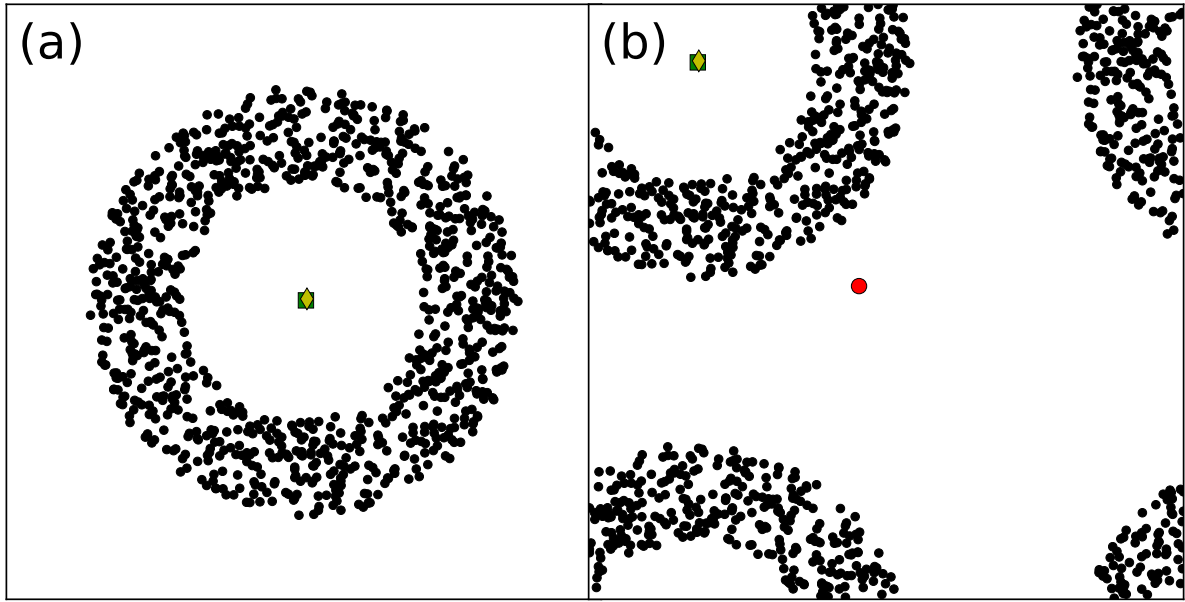


Figura C.1: Ejemplo de sistema periódico en 2D ilustrado en su representación (a) centrada y (b) trasladada. El cuadrado verde en (a) es el promedio calculado sobre los puntos del sistema centrado, mientras que en (b) representa al promedio anterior trasladado. El círculo rojo en (b) es el promedio calculado sobre los puntos del sistema trasladado. Los diamantes amarillos en (a) y (b) representan el centro geométrico del sistema calculado mediante el método propuesto aquí.

Supongamos un dado conjunto $S = \{\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_K\}$ que representa las posiciones de un conjunto de puntos dentro de la caja. Luego para cada $\mathbf{r}_i \in S$ se satisface $0 \leq (\mathbf{r}_i)_\alpha < L_\alpha$. Denotando de manera corta $\alpha_i = (\mathbf{r}_i)_\alpha$, construyamos los conjuntos $S_\alpha = \{\alpha_1, \dots, \alpha_K\}$ que corresponden a las proyecciones de los puntos de S en las direcciones $\alpha = x, y, z$. Estos α_i se pueden representar geoméricamente como puntos sobre la recta en el intervalo $[0, L_\alpha]$ (ver Fig. C.2a). Debido a las PBC, estos puntos se repiten periódicamente a lo largo de la recta en ambos sentidos. Observemos que el promedio sobre los α_i no es representativo del centro geométrico de la distribución de puntos cuando consideramos PBC (basta con repetir el intervalo periódicamente para verlo). Si tomamos el intervalo $[0, L_\alpha]$ y lo enrollamos sobre sí mismo conectando ambos extremos, obtenemos un mapeo $1D \rightarrow 2D$, donde ahora cada α_i sobre la recta 1D está asociado a un punto $\mathbf{R}_i = (X_i, Y_i)$ sobre la circunferencia 2D (ver Fig. C.2b). El mapeo $\alpha_i \rightarrow \mathbf{R}_i = (X_i, Y_i)$ está dado por

$$X_i = \frac{L_\alpha}{2\pi} \cos\left(\frac{2\pi\alpha_i}{L_\alpha}\right) \quad ; \quad Y_i = \frac{L_\alpha}{2\pi} \sin\left(\frac{2\pi\alpha_i}{L_\alpha}\right) \quad (\text{C.5})$$

Notemos que $L_\alpha/2\pi$ es justamente el radio de la circunferencia, cuya longitud es L_α . Ahora utilicemos la fórmula de promedio clásica para calcular el centro geométrico de los

puntos \mathbf{R}_i en 2D, lo que es equivalente a promediar cada componente individualmente:

$$X_0 = \frac{1}{K} \sum_{i=1}^K X_i ; Y_0 = \frac{1}{K} \sum_{i=1}^K Y_i \quad (\text{C.6})$$

Una vez obtenido el punto $\mathbf{R}_0 = (X_0, Y_0)$, proyectamos una recta que pasa por el origen y por \mathbf{R}_0 para determinar la intersección con la circunferencia, dada por el punto $\mathbf{R}'_0 = (X'_0, Y'_0)$ (ver Fig. C.2c). Este último punto es relevante porque a partir del mismo podemos obtener la proyección del centro geométrico de S en la dirección α , que denotaremos α_0 . Para ello debemos considerar el mapeo inverso $2D \rightarrow 1D$, que toma el punto \mathbf{R}'_0 sobre la circunferencia 2D y devuelve el α_0 asociado sobre la recta 1D (sería como desenrollar la circunferencia, ver Fig. C.2d). La expresión para este mapeo está dada por $\alpha_0 = (L_\alpha/2\pi) \arctan(Y'_0/X'_0)$. Para normalizar α_0 al intervalo $[0, L_\alpha]$ solo hay que calcular $\text{modulo}(\alpha_0, L_\alpha)$.

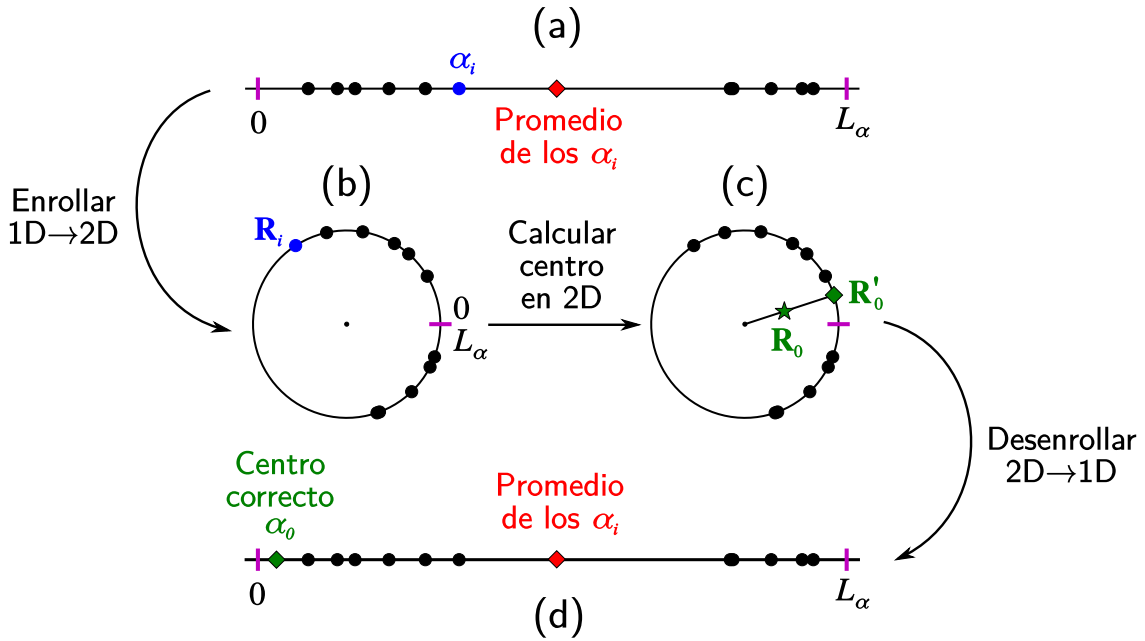


Figura C.2: (a) La proyección de un dado conjunto de puntos S sobre la dirección α está representada por el conjunto de los α_i en el intervalo $[0, L_\alpha]$. (b) Enrollando el intervalo $[0, L_\alpha]$ sobre sí mismo y conectando los extremos, cada α_i sobre la recta 1D se puede mapear a un punto \mathbf{R}_i sobre la circunferencia 2D. (c) Calculando el promedio de los puntos \mathbf{R}_i obtenemos el punto \mathbf{R}_0 y su correspondiente proyección \mathbf{R}'_0 sobre la circunferencia. (d) Desenrollando la circunferencia obtenemos el mapeo inverso que toma el punto \mathbf{R}'_0 sobre la circunferencia 2D y devuelve el α_0 sobre la recta 1D, cuyo valor representa la proyección del centro geométrico del conjunto S sobre la dirección α .

Sin embargo, observemos que el cálculo se puede simplificar haciendo las siguientes consideraciones. Por un lado, los puntos \mathbf{R}_0 y \mathbf{R}'_0 satisfacen $Y'_0/X'_0 = Y_0/X_0$ ya que están sobre la misma recta, por lo tanto no es necesario obtener las variables primadas. Por otro lado, al calcular el cociente Y_0/X_0 tanto $L_\alpha/2\pi$ (que sale como factor común en la sumatoria) como K se cancelan. Por lo tanto podemos prescindir de ellos y no incluirlos en la formulación ya que no afectan al resultado final. De esta manera, podemos definir directamente

$$X_0 = \sum_{i=1}^K \cos\left(\frac{2\pi\alpha_i}{L_\alpha}\right) ; Y_0 = \sum_{i=1}^K \sin\left(\frac{2\pi\alpha_i}{L_\alpha}\right) \quad (\text{C.7})$$

y luego computar la proyección del centro geométrico de S sobre la dirección α como

$$\alpha_0 = \text{modulo}\left(\frac{L_\alpha}{2\pi} \arctan\left(\frac{Y_0}{X_0}\right), L_\alpha\right) \quad (\text{C.8})$$

En resumen, para obtener un punto de centrado adecuado bajo condiciones periódicas de contorno debemos proveer un grupo de centrado G , calcular las proyecciones α_i para cada $i \in G$ en las tres direcciones $\alpha = x, y, z$, computar los X_0 e Y_0 usando la Ec. (C.7) y finalmente los α_0 mediante la Ec. (C.8). Este procedimiento se resume de manera detallada en el Algoritmo C.1.

Algoritmo C.1: Cálculo del centro geométrico para sistemas periódicos.

Dado un conjunto de índices $\{i_1, \dots, i_K\}$ correspondientes a las partículas del grupo de centrado G , las posiciones \mathbf{r}_i de cada partícula i del sistema ($i = 1, \dots, N$), y los lados de la caja L_x , L_y y L_z :

1. Para $\alpha = x, y, z$:
 - 1.1. Inicializar $X_0 = Y_0 = 0$.
 - 1.2. Para $i = i_1, \dots, i_K$:
 - 1.2.1. Asignar $\alpha_i = (\mathbf{r}_i)_\alpha$, esto es, la proyección en dirección α del punto \mathbf{r}_i .
 - 1.2.2. Sumar $X_0 = X_0 + \cos(2\pi\alpha_i/L_\alpha)$.
 - 1.2.3. Sumar $Y_0 = Y_0 + \sin(2\pi\alpha_i/L_\alpha)$.
 - 1.3. Calcular $\alpha_0 = \text{modulo}((L_\alpha/2\pi) \arctan(Y_0/X_0), L_\alpha)$.
 2. Devolver $\mathbf{r}_0 = (x_0, y_0, z_0)$.
-

Bibliografía

- [1] R. Duncan and R. Gaspar, “Nanomedicine(s) under the Microscope,” *Molecular Pharmaceutics*, vol. 8, no. 6, pp. 2101–2141, 2011.
- [2] Y. Min, J. M. Caster, M. J. Eblan, and A. Z. Wang, “Clinical Translation of Nanomedicine,” *Chemical Reviews*, vol. 115, no. 19, pp. 11147–11190, 2015.
- [3] A. Wicki, D. Witzigmann, V. Balasubramanian, and J. Huwyler, “Nanomedicine in cancer therapy: Challenges, opportunities, and clinical applications,” *Journal of Controlled Release*, vol. 200, pp. 138 – 157, 2015.
- [4] G. Chen, I. Roy, C. Yang, and P. N. Prasad, “Nanochemistry and Nanomedicine for Nanoparticle-based Diagnostics and Therapy,” *Chemical Reviews*, vol. 116, no. 5, pp. 2826–2885, 2016.
- [5] J. M. Caster, A. N. Patel, T. Zhang, and A. Wang, “Investigational nanomedicines in 2016: a review of nanotherapeutics currently undergoing clinical trials,” *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, vol. 9, no. 1, p. e1416, 2017.
- [6] S. Tran, P.-J. DeGiovanni, B. Piel, and P. Rai, “Cancer nanomedicine: a review of recent success in drug delivery,” *Clinical and Translational Medicine*, vol. 6, p. 44, Dec 2017.
- [7] J. K. Patra, G. Das, L. F. Fraceto, E. V. R. Campos, M. d. P. Rodriguez-Torres, L. S. Acosta-Torres, L. A. Diaz-Torres, R. Grillo, M. K. Swamy, S. Sharma, S. Habtemariam, and H.-S. Shin, “Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects,” *Journal of Nanobiotechnology*, vol. 16, p. 71, Sep 2018.
- [8] B. Pelaz, C. Alexiou, R. A. Alvarez-Puebla, F. Alves, A. M. Andrews, S. Ashraf, L. P. Balogh, L. Ballerini, A. Bestetti, C. Brendel, S. Bosi, M. Carril, W. C. W. Chan, C. Chen, X. Chen, X. Chen, Z. Cheng, D. Cui, J. Du, C. Dullin, A. Escudero, N. Feliu, M. Gao, M. George, Y. Gogotsi, A. Grünweller, Z. Gu, N. J. Halas, N. Hampp, R. K. Hartmann, M. C. Hersam, P. Hunziker, J. Jian, X. Jiang, P. Jungebluth, P. Kadhiresan, K. Kataoka, A. Khademhosseini, J. Kopecek, N. A. Kotov, H. F. Krug, D. S. Lee, C.-M. Lehr, K. W. Leong, X.-J. Liang, M. Ling Lim, L. M. Liz-Marzán, X. Ma, P. Macchiarini, H. Meng, H. Möhwald, P. Mulvaney, A. E. Nel, S. Nie, P. Nordlander, T. Okano, J. Oliveira, T. H. Park, R. M. Penner, M. Prato, V. Puntès, V. M. Rotello, A. Samarakoon, R. E. Schaak, Y. Shen, S. Sjöqvist, A. G. Skirtach, M. G. Soliman, M. M. Stevens, H.-W. Sung, B. Z.

- Tang, R. Tietze, B. N. Udugama, J. S. VanEpps, T. Weil, P. S. Weiss, I. Willner, Y. Wu, L. Yang, Z. Yue, Q. Zhang, Q. Zhang, X.-E. Zhang, Y. Zhao, X. Zhou, and W. J. Parak, "Diverse Applications of Nanomedicine," *ACS Nano*, vol. 11, no. 3, pp. 2313–2381, 2017.
- [9] M. L. Etheridge, S. A. Campbell, A. G. Erdman, C. L. Haynes, S. M. Wolf, and J. McCullough, "The big picture on nanomedicine: the state of investigational and approved nanomedicine products," *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, vol. 9, no. 1, pp. 1 – 14, 2013.
- [10] T. L. Doane and C. Burda, "The unique role of nanoparticles in nanomedicine: imaging, drug delivery and therapy," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 41, pp. 2885–2911, 2012.
- [11] D. Yohan and B. D. Chithrani, "Applications of Nanoparticles in Nanomedicine," *Journal of Biomedical Nanotechnology*, vol. 10, no. 9, pp. 2371–2392, 2014.
- [12] A. A. Gabizon, "Pegylated Liposomal Doxorubicin: Metamorphosis of an Old Drug into a New Form of Chemotherapy," *Cancer Investigation*, vol. 19, no. 4, pp. 424–436, 2001.
- [13] T. M. Allen and P. R. Cullis, "Liposomal drug delivery systems: From concept to clinical applications," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 65, no. 1, pp. 36–48, 2013.
- [14] A. Bunker, A. Magarkar, and T. Viitala, "Rational design of liposomal drug delivery systems, a review: Combined experimental and computational studies of lipid membranes, liposomes and their PEGylation," *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, vol. 1858, no. 10, pp. 2334–2352, 2016.
- [15] L. Messenger, J. Gaitzsch, L. Chierico, and G. Battaglia, "Novel aspects of encapsulation and delivery using polymersomes," *Current Opinion in Pharmacology*, vol. 18, pp. 104–111, 2014.
- [16] R. H. Prabhu, V. B. Patravale, and M. D. Joshi, "Polymeric nanoparticles for targeted treatment in oncology: current insights," *International Journal of Nanomedicine*, vol. 10, pp. 1001–1018, 2015.
- [17] W. Li, T. Luo, Y. Yang, X. Tan, and L. Liu, "Formation of Controllable Hydrophilic/Hydrophobic Drug Delivery Systems by Electrospinning of Vesicles," *Langmuir*, vol. 31, no. 18, pp. 5141–5146, 2015.
- [18] M. Geszke-Moritz and M. Moritz, "Solid lipid nanoparticles as attractive drug vehicles: Composition, properties and therapeutic strategies," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 68, pp. 982–994, 2016.
- [19] P. Ghosh, G. Han, M. De, C. K. Kim, and V. M. Rotello, "Gold nanoparticles in delivery applications," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 60, no. 11, pp. 1307–1315, 2008.

- [20] X.-F. Zhang, Z.-G. Liu, W. Shen, and S. Gurunathan, "Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 17, no. 9, 2016.
- [21] E. I. Altinoglu, T. J. Russin, J. M. Kaiser, B. M. Barth, P. C. Eklund, M. Kester, and J. H. Adair, "Near-Infrared Emitting Fluorophore-Doped Calcium Phosphate Nanoparticles for In Vivo Imaging of Human Breast Cancer," *ACS Nano*, vol. 2, no. 10, pp. 2075–2084, 2008.
- [22] T. Lammers, F. Kiessling, W. E. Hennink, and G. Storm, "Drug targeting to tumors: Principles, pitfalls and (pre-) clinical progress," *Journal of Controlled Release*, vol. 161, no. 2, pp. 175 – 187, 2012. Drug Delivery Research in Europe.
- [23] A. S. Hoffman, "Stimuli-responsive polymers: Biomedical applications and challenges for clinical translation," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 65, no. 1, pp. 10 – 16, 2013. Advanced Drug Delivery: Perspectives and Prospects.
- [24] J. Nicolas, S. Mura, D. Brambilla, N. Mackiewicz, and P. Couvreur, "Design, functionalization strategies and biomedical applications of targeted biodegradable/biocompatible polymer-based nanocarriers for drug delivery," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 42, pp. 1147–1235, 2013.
- [25] M. Elsabahy and K. L. Wooley, "Design of polymeric nanoparticles for biomedical delivery applications," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 41, pp. 2545–2561, 2012.
- [26] C. G. Palivan, R. Goers, A. Najer, X. Zhang, A. Car, and W. Meier, "Bioinspired polymer vesicles and membranes for biological and medical applications," *Chemical Society Reviews*, vol. 45, pp. 377–411, 2016.
- [27] A. Blanazs, S. P. Armes, and A. J. Ryan, "Self-assembled block copolymer aggregates: From micelles to vesicles and their biological applications," *Macromolecular Rapid Communications*, vol. 30, no. 4–5, pp. 267–277, 2009.
- [28] B. M. Discher, Y.-Y. Won, D. S. Ege, J. C.-M. Lee, F. S. Bates, D. E. Discher, and D. A. Hammer, "Polymersomes: Tough Vesicles Made from Diblock Copolymers," *Science*, vol. 284, no. 5417, pp. 1143–1146, 1999.
- [29] D. E. Discher and F. Ahmed, "Polymersomes," *Annual Review of Biomedical Engineering*, vol. 8, no. 1, pp. 323–341, 2006.
- [30] J. F. Le Meins, O. Sandre, and S. Lecommandoux, "Recent trends in the tuning of polymersomes' membrane properties," *The European Physical Journal E*, vol. 34, p. 14, Feb 2011.
- [31] T. Anajafi and S. Mallik, "Polymersome-based drug-delivery strategies for cancer therapeutics," *Therapeutic Delivery*, vol. 6, pp. 521–534, 2015.
- [32] R. Rodriguez-Garcia, M. Mell, I. Lopez-Montero, J. Netzel, T. Hellweg, and F. Monroy, "Polymersomes: smart vesicles of tunable rigidity and permeability," *Soft Matter*, vol. 7, pp. 1532–1542, 2011.

- [33] D. H. Levine, P. P. Ghoroghchian, J. Freudenberg, G. Zhang, M. J. Therien, M. I. Greene, D. A. Hammer, and R. Murali, "Polymersomes: A new multi-functional tool for cancer diagnosis and therapy," *Methods*, vol. 46, no. 1, pp. 25–32, 2008.
- [34] M. Karayianni and S. Pispas, *Self-Assembly of Amphiphilic Block Copolymers in Selective Solvents*, pp. 27–63. Springer International Publishing, 2016.
- [35] G. Wang, A. Hoornweg, H. T. Wolterbeek, L. E. Franken, E. Mendes, and A. G. Denkova, "Enhanced Retention of Encapsulated Ions in Cross-Linked Polymersomes," *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 119, no. 11, pp. 4300–4308, 2015.
- [36] A. Hospital, J. R. Goñi, M. Orozco, and J. L. Gelpí, "Molecular dynamics simulations: advances and applications," *Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry*, vol. 8, pp. 37–47, 2015.
- [37] X.-L. Sun, S. Pei, J.-F. Wang, P. Wang, Z.-B. Liu, and J. Zhang, "Coarse-grained molecular dynamics simulation study on spherical and tube-like vesicles formed by amphiphilic copolymers," *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, vol. 55, no. 16, pp. 1220–1226, 2017.
- [38] J. E. Bartenstein, J. Robertson, G. Battaglia, and W. H. Briscoe, "Stability of polymersomes prepared by size exclusion chromatography and extrusion," *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 506, pp. 739–746, 2016.
- [39] T. Mori, N. Miyashita, W. Im, M. Feig, and Y. Sugita, "Molecular dynamics simulations of biological membranes and membrane proteins using enhanced conformational sampling algorithms," *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, vol. 1858, no. 7, Part B, pp. 1635–1651, 2016.
- [40] M. C. Zwier and L. T. Chong, "Reaching biological timescales with all-atom molecular dynamics simulations," *Current Opinion in Pharmacology*, vol. 10, no. 6, pp. 745–752, 2010.
- [41] L. Gao, J. Shillcock, and R. Lipowsky, "Improved dissipative particle dynamics simulations of lipid bilayers," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 126, no. 1, p. 015101, 2007.
- [42] J. C. Shillcock and R. Lipowsky, "Equilibrium structure and lateral stress distribution of amphiphilic bilayers from dissipative particle dynamics simulations," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 117, no. 10, pp. 5048–5061, 2002.
- [43] S. J. Marrink, H. J. Risselada, S. Yefimov, D. P. Tieleman, and A. H. de Vries, "The MARTINI Force Field: Coarse Grained Model for Biomolecular Simulations," *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 111, no. 27, pp. 7812–7824, 2007.
- [44] D. H. de Jong, G. Singh, W. F. D. Bennett, C. Arnarez, T. A. Wassenaar, L. V. Schäfer, X. Periole, D. P. Tieleman, and S. J. Marrink, "Improved Parameters for the Martini Coarse-Grained Protein Force Field," *Journal of Chemical Theory and Computation*, vol. 9, no. 1, pp. 687–697, 2013.

- [45] M. Sprik, *Effective Pair Potentials and Beyond*, pp. 211–259. NATO ASI Series 397, Springer Netherlands, 1st ed., 1993.
- [46] J.-P. Hansen and I. McDonald, *Theory of Simple Liquids*. Academic Press, 3rd ed., 2006.
- [47] D. C. Rapaport, *The Art of Molecular Dynamics Simulation*. Cambridge University Press, 2nd ed., 2004.
- [48] D. Frenkel and B. Smit, *Understanding Molecular Simulation: From Algorithms to Applications*. Computational Science Series 1, Academic Press, 2nd ed., 2002.
- [49] M. P. Allen and D. J. Tildesley, *Computer Simulation of Liquids*. Oxford University Press, USA, 1989.
- [50] A. Sedova, J. D. Eblen, R. Budiardja, A. Tharrington, and J. C. Smith, “High-Performance Molecular Dynamics Simulation for Biological and Materials Sciences: Challenges of Performance Portability,” in *SC18: Proceedings of the International Conference for High Performance Computing, Networking, Storage, and Analysis*, IEEE Press, Nov 2018.
- [51] K. Binder, J. Horbach, W. Kob, W. Paul, and F. Varnik, “Molecular dynamics simulations,” *Journal of Physics: Condensed Matter*, vol. 16, no. 5, p. S429, 2004.
- [52] J.-L. Barrat, J. Baschnagel, and A. Lyulin, “Molecular dynamics simulations of glassy polymers,” *Soft Matter*, vol. 6, pp. 3430–3446, 2010.
- [53] M. Karplus and J. A. McCammon, “Molecular dynamics simulations of biomolecules,” *Nature Structural Biology*, vol. 9, pp. 646–652, 2002.
- [54] J. M. Haile, *Molecular Dynamics Simulation: Elementary Methods*. Monographs in Physical Chemistry, Wiley-Interscience, 1992.
- [55] H. J. C. Berendsen, J. P. M. Postma, W. F. van Gunsteren, A. DiNola, and J. R. Haak, “Molecular dynamics with coupling to an external bath,” *The Journal of Chemical Physics*, vol. 81, no. 8, pp. 3684–3690, 1984.
- [56] D. J. Evans and B. L. Holian, “The Nosé-Hoover thermostat,” *The Journal of Chemical Physics*, vol. 83, no. 8, pp. 4069–4074, 1985.
- [57] H. C. Andersen, “Molecular dynamics simulations at constant pressure and/or temperature,” *The Journal of Chemical Physics*, vol. 72, no. 4, pp. 2384–2393, 1980.
- [58] G. Bussi, D. Donadio, and M. Parrinello, “Canonical sampling through velocity rescaling,” *The Journal of Chemical Physics*, vol. 126, no. 1, p. 014101, 2007.
- [59] M. Abraham, D. van der Spoel, E. Lindahl, B. Hess, and the GROMACS development team, *GROMACS User Manual Version 2018*.
- [60] G. J. Martyna, M. E. Tuckerman, D. J. Tobias, and M. L. Klein, “Explicit reversible integrators for extended systems dynamics,” *Molecular Physics*, vol. 87, no. 5, pp. 1117–1157, 1996.

- [61] M. Parrinello and A. Rahman, "Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method," *Journal of Applied Physics*, vol. 52, no. 12, pp. 7182–7190, 1981.
- [62] S. Nosé and M. Klein, "Constant pressure molecular dynamics for molecular systems," *Molecular Physics*, vol. 50, no. 5, pp. 1055–1076, 1983.
- [63] Y. Zhang, S. E. Feller, B. R. Brooks, and R. W. Pastor, "Computer simulation of liquid/liquid interfaces. I. Theory and application to octane/water," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 103, no. 23, pp. 10252–10266, 1995.
- [64] J. Walton, D. Tildesley, J. Rowlinson, and J. Henderson, "The pressure tensor at the planar surface of a liquid," *Molecular Physics*, vol. 48, no. 6, pp. 1357–1368, 1983.
- [65] F. Varnik, J. Baschnagel, and K. Binder, "Molecular dynamics results on the pressure tensor of polymer films," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 113, no. 10, pp. 4444–4453, 2000.
- [66] J. G. Kirkwood and F. P. Buff, "The Statistical Mechanical Theory of Surface Tension," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 17, no. 3, pp. 338–343, 1949.
- [67] E. Barth, K. Kuczera, B. Leimkuhler, and R. D. Skeel, "Algorithms for constrained molecular dynamics," *Journal of Computational Chemistry*, vol. 16, no. 10, pp. 1192–1209, 1995.
- [68] P. Larsson, B. Hess, and E. Lindahl, "Algorithm improvements for molecular dynamics simulations," *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, vol. 1, no. 1, pp. 93–108, 2011.
- [69] B. Hess, H. Bekker, H. J. C. Berendsen, and J. G. E. M. Fraaije, "LINCS: A linear constraint solver for molecular simulations," *Journal of Computational Chemistry*, vol. 18, no. 12, pp. 1463–1472, 1997.
- [70] B. Hess, "P-LINCS: A Parallel Linear Constraint Solver for Molecular Simulation," *Journal of Chemical Theory and Computation*, vol. 4, no. 1, pp. 116–122, 2008.
- [71] S. D. Bond, B. J. Leimkuhler, and B. B. Laird, "The Nosé–Poincaré Method for Constant Temperature Molecular Dynamics," *Journal of Computational Physics*, vol. 151, no. 1, pp. 114 – 134, 1999.
- [72] J. B. Sturgeon and B. B. Laird, "Symplectic algorithm for constant-pressure molecular dynamics using a Nosé–Poincaré thermostat," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 112, no. 8, pp. 3474–3482, 2000.
- [73] E. Hernández, "Metric-tensor flexible-cell algorithm for isothermal-isobaric molecular dynamics simulations," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 115, no. 22, pp. 10282–10290, 2001.
- [74] S. O. Nielsen, C. F. Lopez, G. Srinivas, and M. L. Klein, "Coarse grain models and the computer simulation of soft materials," *Journal of Physics: Condensed Matter*, vol. 16, pp. R481–R512, apr 2004.

- [75] C. Peter and K. Kremer, "Multiscale simulation of soft matter systems - from the atomistic to the coarse-grained level and back," *Soft Matter*, vol. 5, pp. 4357–4366, 2009.
- [76] S. O. Nielsen, R. E. Bulo, P. B. Moore, and B. Ensing, "Recent progress in adaptive multiscale molecular dynamics simulations of soft matter," *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 12, pp. 12401–12414, 2010.
- [77] D. Fritz, K. Koschke, V. A. Harmandaris, N. F. A. van der Vegt, and K. Kremer, "Multiscale modeling of soft matter: scaling of dynamics," *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 13, pp. 10412–10420, 2011.
- [78] M. E. Tuckerman, "Ab initio molecular dynamics: basic concepts, current trends and novel applications," *Journal of Physics: Condensed Matter*, vol. 14, pp. R1297–R1355, dec 2002.
- [79] L. Monticelli and D. P. Tieleman, *Force Fields for Classical Molecular Dynamics*, pp. 197–213. Totowa, NJ: Humana Press, 2013.
- [80] M. G. Saunders and G. A. Voth, "Coarse-Graining Methods for Computational Biology," *Annual Review of Biophysics*, vol. 42, no. 1, pp. 73–93, 2013.
- [81] H. I. Ingólfsson, C. A. Lopez, J. J. Uusitalo, D. H. de Jong, S. M. Gopal, X. Periole, and S. J. Marrink, "The power of coarse graining in biomolecular simulations," *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, vol. 4, no. 3, pp. 225–248, 2014.
- [82] S. Kmiecik, D. Gront, M. Kolinski, L. Wieteska, A. E. Dawid, and A. Kolinski, "Coarse-Grained Protein Models and Their Applications," *Chemical Reviews*, vol. 116, no. 14, pp. 7898–7936, 2016.
- [83] S. C. Kamerlin, S. Vicatos, A. Dryga, and A. Warshel, "Coarse-Grained (Multiscale) Simulations in Studies of Biophysical and Chemical Systems," *Annual Review of Physical Chemistry*, vol. 62, no. 1, pp. 41–64, 2011.
- [84] S. J. Marrink and D. P. Tieleman, "Perspective on the Martini model," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 42, pp. 6801–6822, 2013.
- [85] S. O. Yesylevskyy, L. V. Schäfer, D. Sengupta, and S. J. Marrink, "Polarizable Water Model for the Coarse-Grained MARTINI Force Field," *PLOS Computational Biology*, vol. 6, pp. 1–17, 06 2010.
- [86] K. R. Hadley and C. McCabe, "Coarse-grained molecular models of water: a review," *Molecular Simulation*, vol. 38, no. 8-9, pp. 671–681, 2012.
- [87] M. J. Abraham, T. Murtola, R. Schulz, S. Páll, J. C. Smith, B. Hess, and E. Lindahl, "Gromacs: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers," *SoftwareX*, vol. 1-2, pp. 19–25, 2015.
- [88] H. Lee, A. H. de Vries, S. J. Marrink, and R. W. Pastor, "A coarse-grained model for polyethylene oxide and polyethylene glycol: conformation and hydrodynamics," *J. Phys. Chem. B*, vol. 113, pp. 13186–13194, 2009.

- [89] <http://cgmartini.nl/index.php/force-field-parameters>.
- [90] T. A. Wassenaar, H. I. Ingólfsson, R. A. Böckmann, D. P. Tieleman, and S. J. Marrink, "Computational Lipidomics with insane: A Versatile Tool for Generating Custom Membranes for Molecular Simulations," *Journal of Chemical Theory and Computation*, vol. 11, no. 5, pp. 2144–2155, 2015.
- [91] "Remington's pharmaceutical sciences," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 65, no. 6, pp. 933–933, 1976.
- [92] M. Pickholz and G. Giupponi, "Coarse Grained Simulations of Local Anesthetics Encapsulated into a Liposome," *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 114, no. 20, pp. 7009–7015, 2010.
- [93] G. Giupponi, M. F. Martini, and M. Pickholz, "Molecular Dynamics Study on the Encapsulation of Prilocaine in Liposomes at Physiological pH," *Journal of Biomaterials and Tissue Engineering*, vol. 3, no. 1, pp. 141–147, 2013.
- [94] A. P. Thompson, S. J. Plimpton, and W. Mattson, "General formulation of pressure and stress tensor for arbitrary many-body interaction potentials under periodic boundary conditions," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 131, no. 15, p. 154107, 2009.
- [95] O. H. S. Ollila, H. J. Risselada, M. Louhivuori, E. Lindahl, I. Vattulainen, and S. J. Marrink, "3D Pressure Field in Lipid Membranes and Membrane-Protein Complexes," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 102, p. 078101, Feb 2009.
- [96] W. Helfrich, "Elastic Properties of Lipid Bilayers: Theory and Possible Experiments," *Zeitschrift für Naturforschung C*, vol. 28, no. 11-12, p. 693, 1973.
- [97] T. Nakamura and W. Shinoda, "Method of evaluating curvature-dependent elastic parameters for small unilamellar vesicles using molecular dynamics trajectory," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 138, no. 12, p. 124903, 2013.
- [98] W. Helfrich, "Size distributions of vesicles: the role of the effective rigidity of membranes," *J. Phys. France*, vol. 47, no. 2, pp. 321–329, 1986.
- [99] I. Szleifer, D. Kramer, A. Ben-Shaul, W. M. Gelbart, and S. A. Safran, "Molecular theory of curvature elasticity in surfactant films," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 92, no. 11, pp. 6800–6817, 1990.
- [100] D. Marsh, "Elastic curvature constants of lipid monolayers and bilayers," *Chemistry and Physics of Lipids*, vol. 144, no. 2, pp. 146–159, 2006.
- [101] B. Rózycki and R. Lipowsky, "Spontaneous curvature of bilayer membranes from molecular simulations: Asymmetric lipid densities and asymmetric adsorption," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 142, no. 5, p. 054101, 2015.
- [102] X. Wang and M. Deserno, "Determining the pivotal plane of fluid lipid membranes in simulations," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 143, no. 16, p. 164109, 2015.

- [103] E. G. Brandt, A. R. Braun, J. N. Sachs, J. F. Nagle, and O. Edholm, "Interpretation of Fluctuation Spectra in Lipid Bilayer Simulations," *Biophysical Journal*, vol. 100, no. 9, pp. 2104–2111, 2011.
- [104] T. Gurkov and P. Kralchevsky, "Surface tension and surface energy of curved interfaces and membranes," *Colloids and Surfaces*, vol. 47, pp. 45 – 68, 1990.
- [105] J. S. Rowlinson and B. Widom, *Molecular Theory of Capillarity*. Oxford: Clarendon Press, 1982.
- [106] A. R. Braun and J. N. Sachs, "Determining Structural and Mechanical Properties from Molecular Dynamics Simulations of Lipid Vesicles," *Journal of Chemical Theory and Computation*, vol. 10, no. 9, pp. 4160–4168, 2014.
- [107] J. H. Irving and J. G. Kirkwood, "The Statistical Mechanical Theory of Transport Processes. IV. The Equations of Hydrodynamics," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 18, no. 6, pp. 817–829, 1950.
- [108] P. Schofield and J. R. Henderson, "Statistical mechanics of inhomogeneous fluids," *Proceedings of the Royal Society of London A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, vol. 379, no. 1776, pp. 231–246, 1982.
- [109] R. Goetz and R. Lipowsky, "Computer simulations of bilayer membranes: Self-assembly and interfacial tension," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 108, no. 17, pp. 7397–7409, 1998.
- [110] A. Harasima, *Molecular Theory of Surface Tension*, pp. 203–237. John Wiley & Sons, Inc., 1957.
- [111] J. Sonne, F. Y. Hansen, and G. H. Peters, "Methodological problems in pressure profile calculations for lipid bilayers," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 122, no. 12, p. 124903, 2005.
- [112] E. Lindahl and O. Edholm, "Spatial and energetic-entropic decomposition of surface tension in lipid bilayers from molecular dynamics simulations," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 113, no. 9, pp. 3882–3893, 2000.
- [113] S. Ollila, M. T. Hyvönen, and I. Vattulainen, "Polyunsaturation in Lipid Membranes: Dynamic Properties and Lateral Pressure Profiles," *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 111, no. 12, pp. 3139–3150, 2007.
- [114] T. Nakamura, W. Shinoda, and T. Ikeshoji, "Novel numerical method for calculating the pressure tensor in spherical coordinates for molecular systems," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 135, no. 9, p. 094106, 2011.
- [115] B. Hafskjold and T. Ikeshoji, "Microscopic pressure tensor for hard-sphere fluids," *Phys. Rev. E*, vol. 66, p. 011203, Jul 2002.
- [116] J. M. Vanegas, A. Torres-Sánchez, and M. Arroyo, "Importance of force decomposition for local stress calculations in biomembrane molecular simulations," *Journal of Chemical Theory and Computation*, vol. 10, no. 2, pp. 691–702, 2014.

- [117] <http://manual.gromacs.org/documentation/2018/user-guide/cmdline.html>.
- [118] L. Martínez, R. Andrade, E. G. Birgin, and J. M. Martínez, “Packmol: A package for building initial configurations for molecular dynamics simulations,” *Journal of Computational Chemistry*, vol. 30, no. 13, pp. 2157–2164, 2009.
- [119] <http://manual.gromacs.org/documentation/2018/user-guide/file-formats.html>.
- [120] M. Sega, B. Fábián, and P. Jedlovszky, “Pressure Profile Calculation with Mesh Ewald Methods,” *Journal of Chemical Theory and Computation*, vol. 12, no. 9, pp. 4509–4515, 2016.
- [121] <https://github.com/Marcello-Sega/gromacs/tree/virial>.
- [122] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, B. Mennucci, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Caricato, X. Li, H. P. Hratchian, A. F. Izmaylov, J. Bloino, G. Zheng, J. L. Sonnenberg, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, N. Rega, J. M. Millam, M. Klene, J. E. Knox, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, V. G. Zakrzewski, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, S. Dapprich, A. D. Daniels, O. Farkas, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, J. Cioslowski, and D. J. Fox, “Gaussian 09 Revision E.01.” Gaussian Inc. Wallingford CT 2009.
- [123] I. Wood, M. Martini, J. Albano, M. Cuestas, V. Mathet, and M. Pickholz, “Coarse grained study of pluronic F127: Comparison with shorter co-polymers in its interaction with lipid bilayers and self-aggregation in water,” *Journal of Molecular Structure*, vol. 1109, pp. 106–113, 2016.
- [124] H. Bermudez, A. K. Brannan, D. A. Hammer, F. S. Bates, and D. E. Discher, “Molecular weight dependence of polymersome membrane structure, elasticity, and stability,” *Macromolecules*, vol. 35, no. 21, pp. 8203–8208, 2002.
- [125] G. Srinivas, D. E. Discher, and M. L. Klein, “Self-assembly and properties of diblock copolymers by coarse-grain molecular dynamics,” *Nature Materials*, vol. 3, pp. 638–644, 2004.
- [126] G. D. Smith and W. Paul, “United Atom Force Field for Molecular Dynamics Simulations of 1,4-Polybutadiene Based on Quantum Chemistry Calculations on Model Molecules,” *The Journal of Physical Chemistry A*, vol. 102, no. 7, pp. 1200–1208, 1998.
- [127] M. Kranenburg, M. Venturoli, and B. Smit, “Molecular simulations of mesoscopic bilayer phases,” *Phys. Rev. E*, vol. 67, p. 060901, Jun 2003.

- [128] J. Gaspard, L. M. Casey, M. Rozin, D. J. Munoz-Pinto, J. A. Silas, and M. S. Hahn, "Mechanical characterization of hybrid vesicles based on linear poly(dimethylsiloxane-*b*-ethylene oxide) and poly(butadiene-*b*-ethylene oxide) block copolymers," *Sensors*, vol. 16, no. 3, p. 390, 2016.
- [129] G. S. Attard, R. H. Templer, W. S. Smith, A. N. Hunt, and S. Jackowski, "Modulation of CTP:phosphocholine cytidylyltransferase by membrane curvature elastic stress," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 97, no. 16, p. 9032–9036, 2000.
- [130] M. Orsi and J. W. Essex, "Physical properties of mixed bilayers containing lamellar and nonlamellar lipids: insights from coarse-grain molecular dynamics simulations," *Faraday Discussions*, vol. 161, pp. 249–272, 2013.
- [131] ACD/Percepta Platform - PhysChem Module, Version 2016.1, Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, ON, Canada, 2016.
- [132] D. A. Grillo, J. M. R. Albano, E. E. Mocskos, J. C. Facelli, M. Pickholz, and M. B. Ferraro, "Diblock copolymer bilayers as model for polymersomes: A coarse grain approach," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 146, no. 24, p. 244904, 2017.
- [133] S. J. Marrink and A. E. Mark, "Molecular Dynamics Simulation of the Formation, Structure, and Dynamics of Small Phospholipid Vesicles," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 125, no. 49, pp. 15233–15242, 2003.
- [134] L. F. Cabeça, M. Pickholz, E. de Paula, and A. J. Marsaioli, "Liposome-Prilocaine Interaction Mapping Evaluated through STD NMR and Molecular Dynamics Simulations," *The Journal of Physical Chemistry B*, vol. 113, no. 8, pp. 2365–2370, 2009.
- [135] S.-J. Marrink and H. J. C. Berendsen, "Simulation of water transport through a lipid membrane," *The Journal of Physical Chemistry*, vol. 98, no. 15, pp. 4155–4168, 1994.
- [136] I. Wood and M. Pickholz, "Concentration effects of sumatriptan on the properties of model membranes by molecular dynamics simulations," *European Biophysics Journal*, vol. 42, pp. 833–841, Dec 2013.
- [137] C. Sanson, C. Schatz, J.-F. L. Meins, A. Soum, J. Thévenot, E. Garanger, and S. Lecommandoux, "A simple method to achieve high doxorubicin loading in biodegradable polymersomes," *Journal of Controlled Release*, vol. 147, no. 3, pp. 428 – 435, 2010.
- [138] R. M. Venable, F. L. Brown, and R. W. Pastor, "Mechanical properties of lipid bilayers from molecular dynamics simulation," *Chemistry and Physics of Lipids*, vol. 192, no. Supplement C, pp. 60 – 74, 2015.
- [139] S. M. A. Malek, F. Sciortino, P. H. Poole, and I. Saika-Voivod, "Evaluating the Laplace pressure of water nanodroplets from simulations," *Journal of Physics: Condensed Matter*, vol. 30, no. 14, p. 144005, 2018.
- [140] W. Humphrey, A. Dalke, and K. Schulten, "VMD: Visual Molecular Dynamics," *Journal of Molecular Graphics*, vol. 14, no. 1, pp. 33 – 38, 1996.

- [141] D. A. Grillo, J. M. R. Albano, E. E. Mocsos, J. C. Facelli, M. Pickholz, and M. B. Ferraro, “Diblock copolymer bilayers as model for polymersomes: A coarse grain approach,” *The Journal of Chemical Physics*, vol. 146, no. 24, p. 244904, 2017.
- [142] U. Seifert, “Configurations of fluid membranes and vesicles,” *Advances in Physics*, vol. 46, no. 1, pp. 13–137, 1997.
- [143] M. Deserno, K. Kremer, H. Paulsen, C. Peter, and F. Schmid, *Computational Studies of Biomembrane Systems: Theoretical Considerations, Simulation Models, and Applications*, vol. 260 of *Advances in Polymer Science*, pp. 237–283. Springer International Publishing, 2014.
- [144] M. Deserno, “Fluid lipid membranes: From differential geometry to curvature stresses,” *Chemistry and Physics of Lipids*, vol. 185, pp. 11 – 45, 2015.
- [145] Q. Waheed and O. Edholm, “Undulation Contributions to the Area Compressibility in Lipid Bilayer Simulations,” *Biophysical Journal*, vol. 97, no. 10, pp. 2754–2760, 2009.
- [146] O. Farago, “Mechanical surface tension governs membrane thermal fluctuations,” *Phys. Rev. E*, vol. 84, p. 051914, Nov 2011.
- [147] M. A. Wiczorek and M. Meschede, “SHTools: Tools for Working with Spherical Harmonics,” *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, vol. 19, no. 8, pp. 2574–2592, 2018.
- [148] L. Bai and D. Breen, “Calculating center of mass in an unbounded 2d environment,” *Journal of Graphics Tools*, vol. 13, no. 4, pp. 53–60, 2008.