



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS E INSTITUTO DE FÍSICA

ESTUDIO DE LA ESTABILIDAD DE UN FRAGMENTO DE LA
APOLIPOPROTEÍNA A1 EN PRESENCIA DE LÍQUIDOS IÓNICOS
USANDO SIMULACIÓN DE DINÁMICA MOLECULAR.

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE LICENCIADO EN BIOFÍSICA

PRESENTA:

Olga Leticia Ramírez Ramírez

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Pedro Ezequiel Ramírez González

Enero 2016

Agradecimientos

Este trabajo no habría sido posible sin el apoyo y el estímulo del Doctor Pedro Ezequiel Ramírez González, con quién asumí el riesgo de desarrollar esta tesis.

Olga Ramírez Rodríguez, mi consejera y madre, la cual siempre ha estado a lado mío y de mis hermanos, apoyándonos, regañándonos, preocupándose y aconsejándonos sobre el mejor camino a tomar, de quien hemos aprendido a siempre afrontar todo con una sonrisa y la cara en alto sin dejarnos derrotar.

A mi padre Agustín Ramírez que aunque ya no se encuentre entre nosotros, su ideal de buscar la excelencia en todo lo que hacemos, vive con nosotros día a día.

Y a mis hermanos José, Adan y David que, a su muy particular manera, siempre me han apoyado y consentido para que yo pueda lograr mis objetivos.

A todos los profesores que tuve a lo largo de la carrera, en especial al Dr. Alfredo Méndez por sus consejos, al Dr. Roberto Sánchez y la Dra. Mónica Calera por permitirme aprender y trabajar en su laboratorio, a los Drs. Enrique González Tovar e Iván Guerrero por participar como mis sinodales, y al Dr. Magdaleno Medina.

A M. A. Balderas por facilitarme las configuraciones iniciales del fragmento de la Apolipoproteína A1 usadas en la tesis.

A mis compañeros de licenciatura con los cuales debatí cual sería la mejor forma para resolver un problema (Selene Acosta, Ayrtón Sierra, Ángel Torres y Gabriella Azuara). Y a mis compañeros de cubículo con quienes pase muchos ratos (Paty Y Edilio).

Resumen

En la tesis se realizó un análisis de la interacción molecular entre un fragmento de la ApolipoproteínaA1 (ApoA1) con diferentes líquidos iónicos (EMIM-CL/BMIM-CL/HMIM-CL) los cuales solo se diferencian entre sí por el tamaño del radical unido al metilimidazol del catión, el estudio se hizo usando simulación de dinámica molecular. Se realizó a diferentes porcentajes v/v (25, 45, y 65 %) para darnos una idea del efecto de la presencia del líquido iónico en el solvente sobre el fragmento de ApoA1 con respecto la concentración. Se vio como el efecto del líquido iónico sobre el fragmento de ApoA1 cambia dependiendo del tamaño del radical unido al metilimidazol. Se encontró que el aumento en la concentración de EMIM-CL/BMIM-CL es el causante de la pérdida de estructuras secundarias del fragmento de ApoA1. Esto es debido a que el tamaño del catión le impide apantallar la carga del CL^- y debido a esto, el anión tienden a hidratarse disminuyendo la cantidad de moléculas de agua que podrían interactuar con el fragmento y de esta manera, produce la pérdida de puentes de hidrógeno entre la estructura y el medio y la ausencia de agua alrededor del fragmento permite que los residuos dejen de formar puentes de hidrógeno entre ellos y esto provoca pérdida sus estructuras secundarias. Para todos los casos a 25 % del líquido iónico se presentaron resultados similares, lo que da a entender que a esta concentración el efecto es independiente al catión utilizado. El líquido iónico que le proporciona más estabilidad al fragmento de ApoA1 fue HMIM-CL y está aumento conforme la concentración, debido a que el metilimidazol y el hexano forman dominios consigo mismo, y que el hexano (parte hidrófoba de $HMIM^+$) interactúa con los residuos hidrófobos del fragmento de ApoA1 confiriéndole estabilidad.

Versión a color se puede descargar del siguiente link:

<http://www.ifisica.uaslp.mx/pramirez/>

Índice general

Agradecimientos	I
Resumen	II
Introducción	VIII
1. Conceptos fundamentales	1
1. Biomoléculas	1
1.1. Biopolímeros	2
1.2. Proteínas	3
2. Líquidos Iónicos	5
2.1. Aplicación de los líquidos iónicos	7
2. Simulación de Dinámica Molecular	10
1. ¿Porqué usar Simulación de Dinámica Molecular para estudiar biopolímeros?	10
2. Campos de fuerzas	11
	III

3.	Cantidades típicas para caracterizar la estructura de un biopolímero usando SDM	12
3.	Antecedentes	16
1.	Apolipoproteína A1	16
1.1.	Estudio de simulación de dinámica molecular de ApoA1	17
1.2.	Estudios experimentales de la estabilidad de estructuras secundarias en presencia de líquidos iónicos	18
1.3.	Estudios de simulación de dinámica molecular de proteínas en líquidos iónicos	19
4.	Metodología	21
1.	Moléculas usadas para el estudio	21
1.1.	Apolipoproteína A-1	21
1.2.	Líquidos iónicos	22
2.	Simulación de dinámica molecular	23
2.1.	Campo de fuerza y parámetros específicos	24
2.2.	Procedimiento general para la SDM (usado en la tesis)	25
5.	Características del solvente (EMIM-CL)	28
1.	Estudio de la dinámica del líquido iónico 1-etil-3-metilimidazolium (EMIM-CL).	28
1.1.	Metodología	28
1.2.	Desplazamiento cuadrático medio (MSD).	29

1.3.	Coeficiente de difusión (D).	32
1.4.	Función de distribución radial (RDF).	33
1.5.	Discusión	35
2.	EMIM-CL + H ₂ O	36
2.1.	Metodología	36
2.2.	Desplazamiento cuadrático medio (MSD)	36
2.3.	Función de distribución radial (RDF)	38
2.4.	Discusión	42
6.	Estabilidad del fragmento de ApoA1 en presencia de EMIM-CL	43
1.	Descripción de resultados.	43
1.1.	Radio de giro (R_g)	43
1.2.	Desviación de la distancia cuadrática media (RMSD)	47
1.3.	Área superficial accesible al solvente (SASA)	49
1.4.	Gráfica de Ramachandran	52
1.5.	Distancia cuadrática media de las fluctuaciones (RMSF).	54
1.6.	Resumen de la descripción de resultados	57
2.	Interpretación de resultados	58
2.1.	Número de enlaces de hidrógeno (NEH)	58
2.2.	Función de distribución radial (RDF)	61
3.	Discusión	79

7. Efecto de aumentar la hidrofobicidad del catión sobre la estabilidad del fragmento de ApoA1	80
1. Promedio del radio de giro ($\langle R_g \rangle$) del fragmento de ApoA1	81
2. Promedio de la desviación de la distancia cuadrática media ($\langle RMSD \rangle$)	83
3. Promedio del área superficial accesible al solvente ($\langle SASA \rangle$) del fragmento de ApoA1	84
4. Relación del promedio de la distancia cuadrática media de las fluctuaciones ($\langle RMSF \rangle$) de los residuos del fragmento de ApoA1 para los diferentes sistemas (con líquido iónico) y $\langle RMSF \rangle$ del fragmento de ApoA1 en agua.	86
5. Promedio del número de enlaces de hidrógeno ($\langle NEH \rangle$) en el sistema.	87
5.1. Promedio del número de enlaces de hidrógeno ($\langle NEH \rangle$) entre el fragmento de ApoA1 y el agua.	87
5.2. Promedio del número de enlaces de hidrógeno $\langle NEH \rangle$ entre el propio fragmento de ApoA1.	88
6. Conformación final del fragmento de ApoA1.	90
7. Función de distribución radial (RDF)	91
7.1. Función de distribución radial (RDF) tomando como referencia el fragmento de ApoA1.	92
7.2. Función de distribución radial de las moléculas del solvente.	98
8. Discusión	113
8. Conclusiones	121
1. EMIM-CL	121
2. Efecto del tamaño del radical hidrófobo unido al catión en la estabilidad del fragmento de ApoA1.	122

Introducción

Existen grandes interrogantes en el área de la biofísica, las cuales no pueden ser contestadas solamente con procedimientos experimentales, ya que ocurren a escalas microscópicas en donde las técnicas de medición encuentran sus limitaciones [1]. Entre estos desafíos está el entendimiento de como un biopolímero se pliega, se mantiene estable o se disuelve. Estos fenómenos están relacionados con la estructura final que adopta la biomolécula en el medio donde se encuentra inmersa [1].

La mayoría de las técnicas experimentales tienen que inferir los mecanismos moleculares a partir de las mediciones. Sin embargo, estas interpretaciones se verían complementadas si se usan herramientas teóricas que incluyan información a nivel molecular. Tratar de entender la estabilidad de las biomoléculas a un nivel atomístico, es algo en lo que están trabajando científicos teóricos y experimentales. La intención es desarrollar modelos capaces de reproducir las observaciones experimentales a partir de los resultados de la simulación. El avance de la capacidad de cómputo ha permitido elaborar modelos de simulación que se vayan aproximando cada vez más a la realidad y que ayuden a entender lo que ocurre a nivel molecular.

Desde el punto de vista tecnológico, las diferentes aplicaciones para una biomolécula dependen de entender la estabilidad de esta en diferentes medios, permitiéndonos elegir el más idóneo para el fin que se le quiere dar. Antes de poder entender el plegamiento es necesario saber cuál es el estado nativo. Para esto es necesario "observar" la estructura. Una manera de resolver la estructura tridimensional de una proteína es obteniendo una fase cristalina de la misma, la cual puede estudiarse mediante técnicas de dispersión de rayos X. Es bien sabido [1–3], que el proceso para cristalizar una proteína es complicado y no siempre es posible obtener un cristal. Incluso una vez en fase cristalina, no es seguro que la estructura sea la que corresponde al estado nativo. La búsqueda de solventes que nos ayuden a formar cristales y/o que estabilicen la estructura nativa actualmente es de gran interés. Dicha información tiene utilidad para diversas áreas de la ciencia, como por ejemplo:

entender el funcionamiento de la proteína [4], diseño de fármacos[5], detección de enfermedades [6], entre otros.

Por otro lado, es importante entender las interacciones moleculares entre la biomolécula y las moléculas del solvente, para de esta forma comprender el proceso de disolución. Experimentalmente es difícil disolver biopolímeros ya que los reactivos actualmente utilizados son: volátiles, tóxicos y tienen una eficacia menor a la deseada [8].

La búsqueda de solventes que faciliten la disolución del biopolímero, aumenten el rendimiento, y disminuyan la cantidad de energía requerida para el proceso, es algo en lo que están trabajando actualmente investigadores de sus diversas áreas [7, 8].

En esta tesis se trata de entender las interacciones microscópicas entre las biomoléculas y líquidos iónicos, y de cómo estas interacciones afectan la estructura y/o estabilidad, usando simulación de dinámica molecular. Un objetivo adicional es estudiar el efecto del tamaño de la cadena hidrofóbica del catión debido a que hay muy pocos estudios de simulación de dinámica molecular sobre esta problemática.

Los resultados de esta tesis pretenden dar pautas generales que nos permitan determinar si los líquidos iónicos en verdad pueden ser útiles para el tratamiento de proteínas y definir los parámetros clave que implican un mejor desempeño.

El contenido de esta tesis está estructurado de la siguiente manera: en el primer capítulo se mencionan los conceptos fundamentales que se usan a lo largo del escrito, el segundo capítulo realiza una breve descripción de la herramienta que se utilizó para la realización del trabajo (Simulación de Dinámica Molecular). En el tercer capítulo se mencionan los trabajos que se tomaron como base para desarrollar el proyecto. En el cuarto capítulo se describe la metodología que se utilizó, en el capítulo cinco se describen las características del solvente y el efecto que tiene en este agregar moléculas de agua. El capítulo sexto contiene los resultados del trabajo, está dividido en 2 secciones: descripción de resultados, interpretación de los mismos para el caso del fragmento de ApoA1 en EMIM-CL+ H_2O . En el capítulo séptimo se muestran los resultados del efecto de aumentar la hidrofobicidad del catión sobre la estabilidad del fragmento de ApoA1. Finalmente, en el capítulo octavo se encuentran las conclusiones generales del trabajo.

Capítulo 1

Conceptos fundamentales

1. Biomoléculas

Los seres vivos están compuestos por una serie de sustancias llamadas biomoléculas. Las biomoléculas son aquellas organizaciones moleculares que integran la materia viva. Dentro de la química podemos clasificar a éstas como orgánicas e inorgánicas. En la clasificación de biomoléculas inorgánicas encontramos al agua, gases (O, CO₂, N, etc.), aniones (cloruros, fosfatos, carbonatos, etc.), cationes (Na, K, NH₃, Ca, Mg, etc.) y en las biomoléculas orgánicas tenemos a los glúcidos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos [9, 10].

Entre las biomoléculas inorgánicas se sabe que el agua es un disolvente único e insustituible debido a sus particulares características. Por su parte, los iones son los principales responsables del mantenimiento de la presión y de la generación de potenciales de membrana e intervienen activamente en una serie de fenómenos fisiológicos diversos [9].

Las biomoléculas orgánicas son mucho más complejas, son portadoras de funciones químico orgánicas, un ejemplo de estas son los heterocíclicos, las cuales son biomoléculas de la familia de los hidrocarburos, con estructuras cíclicas que contienen átomos distintos del carbono (heteroátomos), estos pueden ser alicíclicos (compuesto orgánico que es tanto alifático y cíclico) o aromáticos (compuesto orgánico cíclico) y donde sus heteroátomos les confieren características nuevas (comparándolos con sus semejantes hidrocarburos) [9]. Entre los heterociclos de importancia biológica

tenemos: el furano (estructura básica de azúcares), tiofeno (presente en la vitamina biotina), el pirrol (participa en la estructura de los anillos porfirianos), el imidazol (intermediario de la biosíntesis de la histidina) y tiazol (con la vitamina tiamina), todos los cuales poseen cinco eslabones en el anillo [9].

1.1. Biopolímeros

Un polímero es una macromolécula formada por la unión de varias unidades básicas denominadas monómeros. Los polímeros tienen una gran importancia en la sociedad industrial moderna y se usan para hacer prácticamente cualquier cosa, desde utensilios domésticos hasta prótesis del cuerpo humano [10, 11].

La condición para que un polímero se considere biopolímero es que sea sintetizado mediante algún proceso biológico [10–12]. En este sentido las proteínas, el ADN y los polisacáridos son biopolímeros, y son de los más importantes a nivel biológico. La mayoría de los biopolímeros tienen características particulares dependiendo de sus monómeros y longitud, pueden ser biodegradables, impermeables, homogéneos, resistentes a los agentes químicos, entre otras cosas [11].

En los organismos pueden identificarse los siguientes grupos de compuestos orgánicos: 1) carbohidratos: monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos, se encuentran en los tejidos de sostén y conducción, así como en sustancias de reserva; 2) lignina y polímeros derivados del fenilpropano presentes en las paredes celulares de las plantas; 3) proteínas, polipéptidos y ácidos nucleicos, que son polímeros constituidos con base en aminoácidos y oligopéptidos derivados; 4) grasas, ceras, y resinas que funcionan como sustancias de reserva y protección; y 5) otros compuestos [13].

Algunos compuestos, como las proteínas y azúcares, se degradan muy rápidamente. En cambio, la lignina, celulosa, hemicelulosa, resinas y ceras, se descomponen lentamente. Dentro de los polímeros orgánicos de menor tasa de descomposición, encontramos los siguientes: 1) celulosa, el cual es un polímero lineal de la celobiosa (disacárido formado por la unión de dos moléculas de glucopiranosas); 2) hemicelulosa, polímero lineal y ramificado de hexosas, pentosas y/o ácidos urónicos; 3) lignina, polímero no uniforme, cuya unidad fundamental es un núcleo de fenilpropano [13]. La celulosa, hemicelulosa y lignina son los principales constituyentes de las plantas y se encuentran en diversas proporciones. Son compuestos de difícil descomposición ya que son polímeros con bajo contenido de Nitrógeno y presentan fuertes enlaces, no tienen una composición definida y su tamaño y estructura sin variables.

El caucho y la celulosa son polímeros simples (tienen solo una clase de unidad) mientras que las proteínas y los ácidos nucleicos son copolímeros complejos (tienen más de una clase de unidad). Los polímeros pueden clasificarse también de acuerdo con la estructura de la molécula en: 1) polímeros lineales (como las proteínas, celulosa, caucho y ácidos nucleicos) o 2) polímeros entrecruzados en los que hay enlaces covalentes adicionales entre las unidades de monómero (lignina), estos enlaces entre cadenas afectan las propiedades de polímero y sus aplicaciones [10].

Las proteínas, la celulosa, la lignina, el caucho y los ácidos nucleicos son ejemplos de una clase de compuestos naturales de importancia biológica y, más recientemente industrial.

1.2. Proteínas

Las proteínas son las moléculas con mayor complejidad estructural y refinamiento funcional, constituyen las unidades estructurales a partir de las cuales se ensamblan las células. Son las biomoléculas a cargo de la inmensa mayoría de las funciones y procesos biológicos vitales para el mantenimiento de la actividad celular [2].

Las proteínas desempeñan diversas funciones, entre otras: promueven las reacciones químicas intracelulares, forman los canales y las bombas que controlan el pasaje de moléculas hacia y desde la célula, llevan mensajes, actúan como anticuerpos, toxinas, hormonas, moléculas anticongelantes, fibras elásticas o generadoras de luminiscencia [2, 3].

Las proteínas son polímeros lineales de aminoácidos, donde podemos distinguir diversos niveles de organización: (1) la estructura primaria, es la secuencia de aminoácidos en la cadena polipeptídica; (2) la estructura secundaria, son las disposiciones regulares en el espacio de residuos adyacentes en la cadena polipeptídica; (3) la estructura terciaria es la disposición espacial de todos y cada uno de los átomos y (4) la estructura cuaternaria es la asociación no covalente de varias cadenas polipeptídicas [2, 3].

La estructura tridimensional funcional corresponde al estado termodinámicamente más estable que una cadena polipeptídica puede adoptar en las condiciones biológicas; este estado termodinámico depende: de la secuencia de aminoácidos que compongan la cadena y de las condiciones del medio donde esta se encuentre [51]. La estructura plegada final que adopta cualquier cadena polipeptídica, es regida por

aspectos energéticos, es decir, una proteína generalmente se pliega en la forma en la cual su energía libre disminuye [2].

Aunque una cadena polipeptídica pueda plegarse en su conformación correcta sin ayuda externa, el plegamiento de una proteína en una célula, generalmente es asistido por proteínas especiales denominadas moléculas chaperonas. Estas proteínas se unen a cadenas parcialmente plegadas y las ayudan a plegarse a lo largo de la vía energéticamente más favorable.

Las chaperonas son vitales en las condiciones de condensación del citoplasma, ya que evitan que las cadenas polipeptídicas recién sintetizadas se asocien en forma incorrecta. Sin embargo, la forma tridimensional final de una proteína, depende de su secuencia de aminoácidos. Las chaperonas simplemente hacen que el proceso de plegamiento sea más eficiente y fiable [3].

Las cadenas largas de un polipéptido son muy flexibles, muchos de los enlaces covalentes que unen átomos de carbono permiten la rotación libre de los átomos, por lo tanto las proteínas en principio pueden plegarse de muchas formas. Cada cadena plegada está restringida por muchos grupos diferentes de enlaces no covalentes débiles. Los enlaces no covalentes que ayudan a mantener la forma de las proteínas son: los enlaces de hidrogeno, los enlaces iónicos, las fuerzas de van der Waals y las interacciones con el medio circundante.

La estabilidad de cada forma plegada estará afectada por las fuerzas combinadas de un gran número de enlaces no covalentes. Las moléculas hidrófobas, incluidas en las cadenas laterales no polares de aminoácidos específicos, pueden ser forzadas a unirse en un ambiente acuoso, mediante la reducción de sus efectos de separación. Por lo tanto un factor importante que gobierna el plegamiento de cualquier proteína es la distribución de sus aminoácidos polares y no polares.

Las cadenas laterales no polares (hidrófobas) tienden a agruparse en el interior de una proteína plegada; las cadenas laterales polares tienden por sí mismas, a disponerse cerca del exterior de la proteína plegada, donde pueden formar enlaces de hidrógeno con el agua y con otras moléculas polares. Cuando los aminoácidos polares quedan inmersos dentro de la proteína, suelen estar unidos por enlaces de hidrógeno con otros aminoácidos polares o con el esqueleto polipeptídico [3].

Uno de los grandes desafíos de la biofísica es comprender como una cadena polipeptídica se pliega, a partir de la infinita variedad de posibles configuraciones de su estado desplegado, en una única estructura proteínica biológicamente funcional [1].

Sin embargo, antes de abordar dicho problema es fundamental conocer la estructura final que le da su capacidad funcional a la proteína. Por esta razón, la cristalización de proteínas se ha convertido en uno de las áreas más estudiadas en la biofísica actual, dado que en este estado es posible observar la estructura terciaria de las proteínas. Las limitaciones metodológicas y a la baja probabilidad de resultados, la obtención de cristales de proteínas es uno de los retos más importantes de la biofísica [1].

Para la obtención del cristal, el primer obstáculo es lograr la purificación de la proteína, después de esto, es necesario encontrar el medio ideal para propiciar la formación del cristal, en algunos casos los cristales son inducidos a partir de una solución de proteína en suero salino, algunas de las sales que se utilizan para esto es el cloruro de sodio (NaCl) y el sulfato de amonio ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) [14].

Un reto adicional es encontrar metodologías para cristalizar las proteínas en estructuras tridimensionales específicas, pues los métodos actuales no necesariamente capturan la estructura terciaria funcional.

2. Líquidos Iónicos

Un líquido iónico es un compuesto en fase líquida que está formado por iones, algunos ejemplos clásicos son sales fundidas, electrólitos y metales líquidos [15].

Recientemente, se han logrado sintetizar líquidos iónicos formados por sales en las que el catión es asimétrico, y en las que uno o ambos iones son voluminosos por lo que la carga está dispersa sobre un gran volumen [16]. Se cree que ambos factores minimizan la energía de la red cristalina y desfavorecen la formación del sólido [16]. Como estos compuestos son líquidos a temperaturas menores a 100°C , en la actualidad se les conoce como sales fundidas a temperatura ambiente o simplemente como líquidos iónicos [17].

Debido a su elevada temperatura de fusión, gran poder de corrosión y alta viscosidad las sales fundidas inorgánicas, no pueden utilizarse como fase líquida para efectuar reacciones químicas. Un ejemplo es el cloruro de sodio, es sólido a temperatura ambiente y se funde a temperaturas por arriba de 800°C [17, 18]. El elevado punto de fusión del cloruro de sodio se debe a que está formado por iones pequeños y esféricos, que se empaquetan de manera compacta, por tanto, los iones interactúan fuertemente, con lo que se genera un sólido con punto de fusión alto [17, 18].

Los líquidos iónicos están formados por cationes orgánicos grandes y no esféricos y diversos aniones. Debido a los cationes grandes, los iones no pueden empaquetarse de manera compacta; las distancias largas entre iones resultan en interacciones débiles, lo que origina una sustancia cuyo punto de fusión es, por lo general, bastante menor que la temperatura ambiente [18].

La mayor parte de los cationes tienen naturaleza aromática (con átomos de nitrógeno en el anillo), mientras que los aniones suelen estar constituidos por diferentes elementos químicos. Utilizando diferentes precursores del catión y del anión se obtienen un número de compuestos con una gran variedad de propiedades. Se ha especulado que al disponer de un gran número de aniones y de cationes para diseñar los líquidos iónicos, se puede elegir la combinación más apropiada que se adapte a las exigencias de una determinada aplicación [17].

Actualmente los líquidos iónicos con mayor influencia son aquellos basados en imidazol. El imidazol es un compuesto orgánico heterociclo aromático, altamente polar y soluble en agua. Pertenece a una familia de compuestos aromáticos caracterizada por disponer de un anillo pentagonal nitrogenado [19]. En la Figura 1.1 se muestra la estructura química del imidazol ($C_3H_4N_2$).

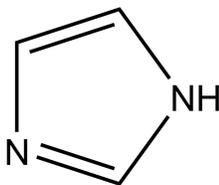


Figura 1.1: Estructura molecular del imidazol ($C_3H_4N_2$)

Los cationes mayormente utilizados en los líquidos iónicos son aquellos basados en imidazol, donde lo que los diferencia unos de otros es el tamaño y tipo de radical unido a uno de sus nitrógenos, en la Figura 4.3 se muestran algunos ejemplos de dichos cationes. El tipo y tamaño del radical unido al imidazol es lo que le puede conferir características particulares al catión [18].

Los líquidos iónicos reúnen varias propiedades: baja presión de vapor, baja volatilidad, bajo punto de fusión, elevada estabilidad térmica y química (condición imprescindible para su utilización como medio de reacción), formación de sistemas polifásicos, elevada densidad y viscosidad, no inflamables, etc., aportan grandes ventajas frente a otros disolventes como medio para efectuar reacciones químicas en condiciones de operación, presión y temperaturas, moderadas [7].

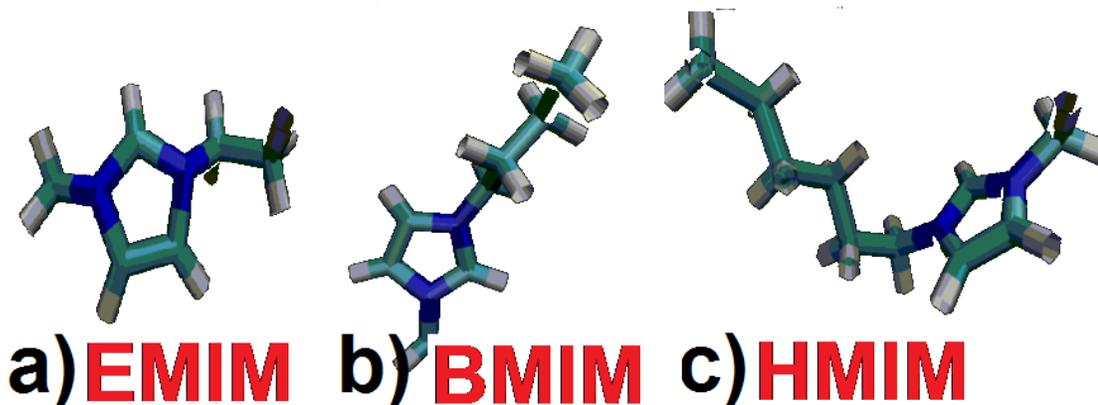


Figura 1.2: Ejemplos de cationes basados en imidazol: a)1-etil-3-metilimidazolio (EMIM), b)1-butil-3-metilimidazolio (BMIM) y c)1-hexil-3-metilimidazolio (HMIM).

La intención de producir sustancias químicas mediante métodos que no sean nocivos para el medio ambiente, ha estimulado en gran manera la investigación sobre los líquidos iónicos. Muchos procesos químicos usan disolventes orgánicos que son volátiles, lo cual puede contribuir a la contaminación atmosférica. Además, los disolventes orgánicos suelen ser inflamables. La selección adecuada de un líquido iónico puede mejorar el rendimiento de un proceso químico, además de bajar su costo [18].

Su principal ventaja es la baja presión de vapor a temperatura y presiones moderadas los hacen altamente reciclables, esta es la principal justificación de buscar en la familia de los líquidos iónicos, disolventes que puedan sustituir a los compuestos orgánicos volátiles y desarrollar unos procesos químicos más limpios y sostenibles. Debido a su naturaleza iónica y a su composición orgánica los líquidos iónicos son capaces de disolver: compuesto orgánicos, inorgánicos e incluso materiales poliméricos [17].

2.1. Aplicación de los líquidos iónicos

Con el tiempo y con el avance de la investigación y la tecnología, cada vez se le encuentran más usos a los líquidos iónicos. A continuación mostramos algunos de los campos donde se les ha encontrado alguna ventaja contra los solventes convencionales:

- Se ha demostrado que el utilizar sistemas a base de líquidos iónicos, es un medio

de extracción prospectivo en procesos biotecnológicos como la extracción de biomoléculas como aminoácidos, colorantes alimentarios y alcaloides[20, 21].

- Catálisis, degradación, transformación fotoeléctrica y síntesis de materiales [8, 22].
- Dado a que los electrólitos tradicionales tienen un serio problema: volatilidad e inestabilidad en solventes orgánicos, el uso de líquidos iónicos en electrólitos provee eficiencia y estabilidad de dispositivos fotoeléctricos. En el almacenamiento de la energía juegan un papel importante, porque tiene una alta conductividad y una amplia ventana electroquímica comparada con los solventes tradicionales [8].
- En la actualidad se investiga el uso de líquidos iónicos para mejorar procesos y propiciar que estos sean más amigables con el ambiente, como en los siguientes aspectos:
 - Conversión química y electroquímica del dióxido de carbono a combustibles como: monóxido de carbono, ácido fórmico y alcoholes [8, 23].
 - Pretratamiento de la biomasa y conversión a biocombustibles y compuestos de alto valor.
 - Electrolisis para aplicaciones de generación y almacenamiento de energía solar.
- La posibilidad de modular el carácter hidrófilo o hidrófobo de los líquidos iónicos conduce a varias aplicaciones potenciales en tecnologías de extracción, en la generación de nuevos materiales, y en la catálisis de dos fases donde los fenómenos de separación son cruciales [23].
- Aplicación de los líquidos iónicos a la síntesis orgánica asistida por microondas, este método presenta diversas ventajas respecto a los métodos convencionales de síntesis en la generación de procedimientos sintéticos, rápidos, eficientes y amigables al ambiente [24].
- Los líquidos iónicos farmacéuticos pueden proporcionar una herramienta en el desarrollo, diseño y distribución de fármacos. Los líquidos iónicos usados como principios activos eliminan los problemas asociados a estado sólido y presentan propiedades físicas y biológicas sinérgicas[25].

La búsqueda de procesos en los cuales se puedan aplicar los líquidos iónicos es cada vez mayor, debido a la disminución de costos y el aumento de rendimiento que con ello conlleva [59] además de ser amigables con el ambiente [17, 59].

En la actualidad ya se están utilizando en diversos procesos, pero aún faltan preguntas por contestar con respecto a su comportamiento y sus propiedades físico-químicas fundamentales, como el diagrama de fases, sus propiedades de transporte, entre otros.

Capítulo 2

Simulación de Dinámica Molecular

1. ¿Porqué usar Simulación de Dinámica Molecular para estudiar biopolímeros?

El avance de la tecnología y la inmersión de los trabajos experimentales a escalas cada vez más pequeñas han llevado a los científicos a buscar entender los materiales a escala molecular. El avance de la capacidad de cómputo ha desarrollado alternativas para ir entendiendo las propiedades de los materiales a escalas microscópicas; una de estas alternativas es la simulación de dinámica molecular (SDM).

La SDM es una herramienta computacional que permite analizar el comportamiento o evolución de un sistema a través del tiempo. En esencia, genera las trayectorias de un sistema compuesto de N partículas por integración numérica directa de las ecuaciones de movimiento de Newton, las cuales son resueltas en tiempos pequeños, con especificaciones de un potencial de interacción interatómico, condiciones iniciales y de frontera [1, 27]. Entonces la SDM es un método apropiado para la generación de ensambles de no-equilibrio y para el análisis de eventos dinámicos a escalas atomísticas [27].

Al aumentar la capacidad de cómputo, las SDM se han hecho cada vez más útiles, finas y precisas al comparar los resultados con trabajos experimentales. La búsqueda de modelos teóricos que puedan reproducir y explicar los fenómenos experimentales, presenta una gran ventaja puesto que permite explicar lo que ocurre a niveles atomísticos, permitiendo predecir lo que ocurre a escalas más grandes sin necesi-

dad del desarrollo experimental, para así tener mayor control en los experimentos o procesos industriales.

El entendimiento de las propiedades estructurales y de las interacciones físicas de una estructura con el medio donde se encuentra, son esenciales para poder diseñar adecuadamente los experimentos y técnicas a utilizar, disminuyendo los tiempos, costos y a su vez aumentando el entendimiento sobre el sistema.

Teniendo modelos teóricos que puedan predecir las características esenciales del sistema, permitiría el avance del entendimiento en los procesos, la mejora en el rendimiento de estos y el ahorro de materiales. La SDM permite tender un puente entre el experimento, las interacciones moleculares y los modelos teóricos de primeros principios.

2. Campos de fuerzas

Todo sistema simulado se encuentra en movimiento, donde lo que determina dicho movimiento es el "Campo de fuerzas". El campo de fuerza es el conjunto de parámetros y funciones matemáticas que describen la energía potencial de un sistema de partículas. Describe los enlaces covalentes, el doblamiento de enlaces, los ángulos de torsión, las interacciones electrostáticas y las fuerzas de van der Waals.

Los campos de fuerzas generalmente se parametrizan para reproducir propiedades estructurales. El caso típico de este tipo de parametrización es el campo de fuerzas AMBER, empleado usualmente para biomoléculas como proteínas y ADN [28], este tipo de campos de fuerzas se muestra en la ecuación 2.1

$$E(R) = \sum_{uniones} \frac{k_i}{2} (d_i - d_{i,0})^2 + \sum_{ángulos} \frac{k_i}{2} (\theta_i - \theta_{i,0})^2 + \sum_{torsiones} \frac{V_n}{2} (1 + \cos(n\omega - \lambda)) + E_{no-union} \quad (2.1)$$

donde

$$E_{no-union} = \sum_i \sum_j 4\epsilon_{ij} \left[\frac{\sigma_{ij}^{12}}{r_{ij}^{12}} - \frac{\sigma_{ij}^6}{r_{ij}^6} \right] + \sum_i \sum_j \frac{q_i q_j}{r_{ij}} \quad (2.2)$$

La ecuación 2.1 de la energía potencial del sistema, está compuesta por cuatro términos, donde: el primero describe las energías asociadas a estiramiento de enlaces covalentes, el segundo describe las energías asociadas al doblamiento de enlaces covalentes, el tercero está relacionado con movimientos torsionales y el cuarto se aplica

a los átomos distantes, usualmente se describe mediante un potencial electrostático sumado a uno de Lennard-Jones [29, 30]. El potencial electrostático más empleado consiste en asignar una carga parcial a cada tipo de átomo [29, 30].

Existen parametrizaciones más complejas, en las cuales se pueden ubicar cargas en sitios diferentes de los átomos, o bien, se pueden modelar las interacciones electrostáticas mediante dipolos puntuales en lugar de cargas [30].

3. Cantidades típicas para caracterizar la estructura de un biopolímero usando SDM

A continuación se hace una breve descripción de los análisis típicos realizados en la SDM de biopolímeros, y que tipo de información arrojan dichos análisis.

Radio de giro R_g

El radio de giro nos indica el tamaño promedio de un polímero en disolución, definido como $R_g = \sqrt{\langle s^2 \rangle}$ en el caso de una molécula flexible, o simplemente $R_g = s$ para una macromolécula rígida [31]. Es la propiedad conformacional conocida como radio de giro cuadrático medio, $\langle s^2 \rangle$, definida mediante la siguiente expresión [31]:

$$\langle s^2 \rangle = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \langle s_i^2 \rangle \quad (2.3)$$

donde s_i^2 es el módulo cuadrático del vector definido entre el centro de masas de la cadena y la posición ocupada por el fragmento i en una conformación instantánea. Los corchetes angulares $\langle \dots \rangle$ indican el promedio sobre todas las conformaciones posibles del polímero.

Función de distribución radial($g(r)$)

La función de distribución radial (RDF) describe la variación de la densidad como función de la distancia medida desde una partícula de referencia. Es una medida de la probabilidad de encontrar una partícula a una distancia r desde una partícula de

referencia dada. La función de distribución radial entre partículas de tipo A y B está definida de la siguiente manera [27]:

$$g_{AB}(r) = \frac{\langle \rho_B(r) \rangle}{\langle \rho_B \rangle_{local}}$$

$$g_{AB}(r) = \frac{1}{\langle \rho_B \rangle_{local}} \frac{1}{N_A} \sum_{i \in A} \sum_{j \in B} \frac{\delta(r_{ij} - r)}{4\pi r^2} \quad (2.4)$$

con la densidad de la partícula B $\langle \rho_B(r) \rangle$ a la distancia r alrededor de la partícula A y el promedio de la densidad de la partícula B $\langle \rho_B \rangle$ alrededor de las partículas A con un radio r_{max} . En SDM usualmente el valor de r_{max} es la mitad de la longitud de la caja de la simulación.

Gráfica de Ramachandran

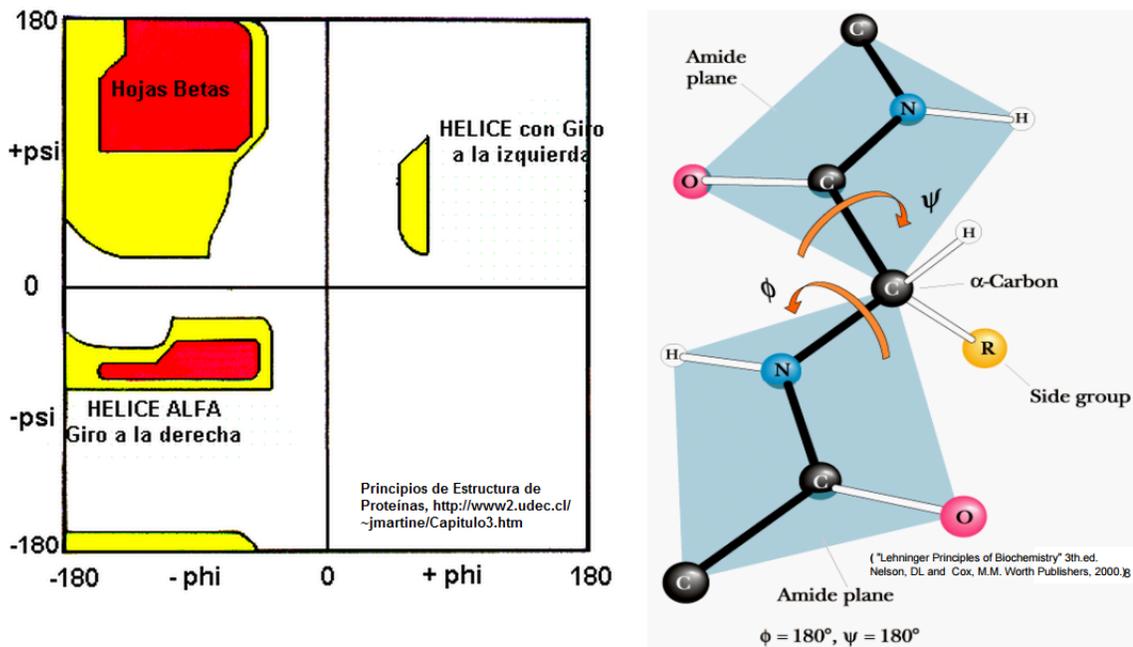


Figura 2.1: Esquema representativo del Gráfico de Ramachandran (figura izquierda) y esquema de los ángulos de torsión ψ y ϕ de un enlace peptídico (figura derecha).

La gráfica de Ramachandran permite visualizar todas las combinaciones posibles de los ángulos phi (N-C) y los ángulos psi (C-C=O) de los aminoácidos del polipépti-

do (En la Figura 2.1 hay un esquema para identificar cuáles son los ángulos psi y phi). En esta gráfica permite aproximar cual será la estructura secundaria del péptido, ya que existen combinaciones de ángulos típicas para cada estructura secundaria. En la Figura 2.1 se muestra una representación de la gráfica de Ramachandran, donde podemos identificar 3 regiones: (1) las regiones blancas corresponden a las regiones no representativas de estructuras secundarias particulares, (2) regiones rojas corresponden a zonas representativas de conformaciones α -hélices y hojas- β , y (3) las regiones amarillas muestran las regiones donde los átomos pueden estar un poco más cercanos.

Distancia cuadrática media de las fluctuaciones (RMSF)

Distancia cuadrática media de las fluctuaciones (RMSF), es una medida de la flexibilidad local de una estructura. El RMSF del átomo i da cuenta del grado de fluctuación de las coordenadas de dicho átomo respecto a su promedio temporal [31]:

$$RMSF(i) = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \langle x_i \rangle)^2 + (y_i - \langle y_i \rangle)^2 + (z_i - \langle z_i \rangle)^2} \quad (2.5)$$

Donde los términos entre paréntesis oblicuos corresponden a los promedios temporales.

Captura la fluctuación por átomo en torno a su posición media, esto da una idea de la flexibilidad de las regiones de la proteína y por lo tanto podemos conocer la estabilidad estructural de la proteína.

Área superficial accesible al solvente (SASA)

El área superficial accesible (SASA) al solvente no se puede calcular de manera analítica, debido a que el solvente está compuesto por elementos discretos. Por ejemplo, se puede calcular la SASA numéricamente, utilizando un algoritmo que hace rodar una esfera de radio $1,4\text{Å}$ sobre la superficie molecular, el cual corresponde al radio de giro de la molécula de agua [32]. SASA nos proporciona una gráfica del área superficial que tiene contacto con el solvente a lo largo del tiempo

Número de enlaces de hidrógeno

Un enlace de hidrógeno se define como la fuerza atractiva entre un átomo electronegativo y un átomo de hidrógeno unido covalentemente a otro átomo electronegativo. Se analizan todos los posibles enlaces de hidrógeno, entre donadores D y aceptores A y determina si existen enlaces de hidrógeno, utilizando el siguiente criterio:

$$r \leq r_{HB} = 0,35nm \quad (2.6)$$

$$\alpha \leq \alpha_{HB} = 30^\circ \quad (2.7)$$

Donde r es la distancia entre el D y el A, y α es el ángulo que se forma entre el hidrógeno, donador y aceptor.

El número de enlaces de hidrógeno estima el número de enlaces de hidrógeno que forma la proteína con las diferentes partículas del solvente o con ella misma.

Desviación de la distancia cuadrática media (RMSD)

Es un ajuste de mínimos cuadrados de la estructura tomando de referencia a otra estructura ($t_2 = 0$) y consecuentemente calcular la *RMSD*

$$RMSD(t_1, t_2) = \left[\frac{1}{M} \sum_{i=1}^N m_i ||r_i(t_1) - r_i(t_2)||^2 \right]^{\frac{1}{2}} \quad (2.8)$$

donde $M = \sum_{i=1}^N m_i$ y $r_i(t)$ es la posición del átomo i al tiempo t .

La RMSD cuantifica la distancia entre cada residuo después de una alineación entre dos estructuras, también puede hacer la comparación a lo largo de toda la trayectoria.

Capítulo 3

Antecedentes

1. Apolipoproteína A1

Las lipoproteínas son macromoléculas formadas principalmente de lípidos y proteínas denominadas apolipoproteínas o apoproteínas. Las lipoproteínas plasmáticas transportan colesterol y triglicéridos en el torrente sanguíneo dependiendo de sus propiedades fisicoquímicas. Estas pueden clasificarse en: lipoproteína de alta densidad (HDL), lipoproteína de baja densidad (LDL), lipoproteína de muy baja densidad (VLDL, quilomicrones) y lipoproteína de densidad intermedia (IDL). Cada fracción de lipoproteína tiene una composición más o menos constante de apolipoproteínas, que resulta importante en el transporte de lípidos por activación o inhibición de enzimas involucradas en el metabolismo lipídico [33].

Se consideran apolipoproteínas a cualquier integrante de un grupo de proteínas que al asociarse con lípidos, como los triglicéridos, el colesterol o los ésteres del colesterol, forman la gran variedad de lipoproteínas halladas en el plasma y los tejidos. Algunas de estas proteínas actúan como co-factores, inhibidores y activadores de ciertas enzimas y juegan un papel importante en la estabilidad estructural de las lipoproteínas [34].

Las mediciones indican que las apolipoproteínas tienen un alto contenido de alfa-hélices [35]. Se cree que las alfa-hélices se estabilizan por el ambiente lipídico en la lipoproteína, ya que se forman puentes de hidrogeno entre el esqueleto polipeptídico de la ApoA1 y el interior de la lipoproteína [35].

Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) son formadas en el hígado a partir de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) por acción de la lipasa hepática. Tiene una densidad de aproximadamente 1.125 g/ml con un contenido de proteínas de $\approx 50\%$ (mayoritariamente ApoA1 y ApoA2, 22% de colesterol, 33% de fosfolípidos y 5% de triglicéridos) [33].

La principal función de las HDL es el transporte del colesterol al hígado para su posterior eliminación, fundamentalmente por la vía biliar. En el proceso de recuperación del colesterol del interior celular, parece participar la Apolipoproteína A-1(ApoA1) [36]. La Apolipoproteína A-1(ApoA1) es el principal componente de las lipoproteínas de alta densidad (HDL), quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Entre otras funciones tiene la capacidad de activar la enzima lectín-colesterol-aciltransferasa (LCAT) [34].

La ApoA1 se encuentra en la corriente de la sangre humana y promueve la salida de ácidos grasos, incluyendo el colesterol, a partir de tejidos al hígado para su excreción [38]. El análisis de la secuencia indica que la ApoA1 presenta en primer término hélices α -anfipáticas repetidas de 11 o 22 residuos que proporcionan las regiones fijadoras de lípidos de las proteínas. La distribución de los residuos hidrófobos y polares de la ApoA1 predispone la formación de la estructura helicoidal [35].

La ApoA1 tiene una vida media muy corta, que causa la modificación precoz de su concentración en caso de síntesis deficiente y baja ingesta proteica. Su contenido de los aminoácidos esenciales metionina y triptófano es alto, lo que explica por qué su concentración plasmática se altera rápidamente por las condiciones nutricionales; así, su concentración se afecta mucho por las enfermedades y trastornos hepáticos y por la desnutrición [37]. Hay una correlación inversa entre el riesgo de aterosclerosis y la concentración plasmática de ApoA1 [35].

1.1. Estudio de simulación de dinámica molecular de ApoA1

M. Balderas y colaboradores [38] realizaron un estudio de SDM, de un fragmento de 45 residuos de la Apolipoproteína A1 (ApoA1) (del 145-187 residuo), donde analizaron el comportamiento conformacional del fragmento a diferentes concentraciones de cloruro de sodio (NaCl). El estudio fue realizado por la importancia que tiene la ApoA1 en el metabolismo de los lípidos. Se supone que la conformación de la ApoA1 es crucial para determinar la habilidad para capturar el colesterol y otros ácidos grasos, este conocimiento puede ayudar para el diseño de fármacos y tratamientos

para mejorar la calidad de vida, ya que ApoA1 se ha reportado tiene una relación con enfermedades como aterosclerosis [35].

Partiendo de dos configuraciones iniciales de la ApoA1 (plegada y desplegada) en diferentes concentraciones de NaCl (0.01 M - 2 M), encontraron que no hay una relación lineal de la concentración de NaCl con respecto a la conformación de la proteína. Reportaron que las concentraciones 0.6, 1.0, 1.7 y 2.0 M corresponden a una conformación final plegada y 0.5, 0.9, 1.4, 1.8 M a una conformación final desplegada (ver Figura 1 de [38]).

Dichos autores atribuyen que la conformación plegada es el resultado del mecanismo de inversión de carga electrostática, mientras que la conformación abierta es atribuido a la repulsión electrostática de los monómeros adyacentes [38]. Dicha interpretación se sustentó realizando un análisis de la distancia existente entre el primer residuo del fragmento y el último. Adicionalmente observaron que en aquellas conformaciones cerradas la distancia entre residuos es menor y en las conformaciones desplegadas la distancia es mayor (ver Figura 6 [38]).

1.2. Estudios experimentales de la estabilidad de estructuras secundarias en presencia de líquidos iónicos

Lozano y colaboradores [39], realizaron un estudio de la estabilidad y actividad de la Lipasa Candida antarcitica B en solución de diferentes líquidos iónicos a diferentes concentraciones (con baja cantidad de agua) a una temperatura de 50°. Los líquidos iónicos se seleccionaron debido a su similitud con los solventes orgánicos típicos para el manejo de proteínas y por su estabilidad térmica. Encontraron que los líquidos iónicos como $[BMIM^+][PF_6^-]$ y $[BMIM^+][TF_2N^-]$, son mucho mejores para mediar la reacción de catálisis de la Lipasa en la síntesis de éster. Adicionalmente vieron que los líquidos iónicos se comportan como agentes de estabilización en operaciones continuas. Por lo que tales líquidos iónicos podrían mantener la conformación de la enzima, aumentando su vida media.

En otros estudios K. Fujita y colaboradores [40] realizaron estudios de espectroscopia para determinar el efecto en la estructura de proteínas en presencia de líquidos iónicos. Presentan una familia de líquidos iónicos biocompatibles, donde el catión está basado en imidazol, que son capaces de disolver cantidades significativas de proteínas tales como el Citocromo C. Los resultados muestran la retención de la estructura secundaria a temperaturas extremas.

Cuadro 3.1: Numero de moléculas usadas en cada sistema, dependiendo del porcentaje V/V.

(v/v) %	Moléculas de agua	Pares de iones
0	4246	468
25	10839	468
45	4468	468
65	1922	486

Kowacz y colaboradores [62] realizaron estudios de cristalización de proteínas (Lisozima y RNAsa) y de espectroscopia con el fin de entender el fenómeno subyacente de la influencia de los líquidos iónicos sobre la cristalización de biomoléculas. Los líquidos iónicos utilizados fueron seleccionados por evidencias previas del impacto de estos sobre la precipitación de cristales inorgánicos [41]. En su estudio concluyen que existe una relación entre el tipo de hidratación del líquido iónico y la densidad de nucleación de los cristales obtenidos. Ordenaron los líquidos iónicos utilizados (EMIM-CL, EMIM-BR, EMIM-Ac, EMIM-CsSO₃, EMIM-C₄SO₃, BMIM-CL, BMIM-Ac, Ch-CL, Ch-C₁SO₃, Ch-Ac, Ch-Lac) acorde a su habilidad de reducir la densidad de nucleación del cristal de proteína, resultando en la formación de cristales más grandes y perfectos. Reportan que la tendencia de esto corresponde con el incremento de la cadena del catión ($[MMIM^+] < [EMIM^+] < [BMIM^+]$). Dichos autores concluyen que la unión de los iones a la superficie de la proteína facilita la nucleación de la misma y a su vez estabiliza la proteína en la solución mediante la reducción de la interacción agua-proteína.

1.3. Estudios de simulación de dinámica molecular de proteínas en líquidos iónicos

Qiang Shao [42], inspirado principalmente en las observaciones de los estudios experimentales de Lozano y K. Fujita, realizó un estudio de simulación de dinámica molecular para evaluar el efecto que tienen los líquidos iónicos sobre las biomoléculas a nivel molecular. Tomó como modelo el dominio B de la proteína A (BdpA) del organismo *Staphylococcus aureus* y estudió la estructura y dinámica de la proteína modelo en dos tipos de líquidos iónicos basados en imidazol. Los porcentajes volumen/volumen (v/v) usados del líquido iónico cloruro de 1-butil-3-metilimidazolium (BMIM-Cl) para el estudio se muestran en el cuadro 2.1.

Q. Shao encontró que el radio de giro de la proteína aumentaba conforme la

concentración de BMIM-Cl disminuía, por lo tanto el líquido iónico de alguna manera limitaba las fluctuaciones en la proteína, en comparación con el comportamiento de la misma en agua.

Q. Shao encuentra que la acumulación del catión $BMIM^+$ alrededor de la superficie de la proteína protege la estructura secundaria. El catión podría eliminar las moléculas de agua circundantes y en consecuencia disminuir la probabilidad de formar puentes de hidrogeno (Proteína-agua).

Shim y colaboradores [43] investigaron como las propiedades aniónicas tal como la hidrofobicidad e hidrofiliidad o formación de puentes de hidrogeno, tienen la capacidad de afectar la estabilidad de un péptido en presencia de líquidos iónicos. Investigaron la solvatación en solventes polares, agua y DMSO. Demostraron que las interacciones electrostáticas entre el péptido y los líquidos iónicos juegan un importante papel sobre las fluctuaciones del péptido. La simulación consistió de un hexa-peptido (6 residuos, 44 átomos) aislado, con 128 pares de iones de $BMIM-PF_6$ o $BMIM-Cl$, y para comparar usaron un sistema de 512 moléculas de DMS y otro con 512 moléculas de agua. El cambio inducido en la conformación debido a la solvatación se le atribuye a las fuerzas electrostáticas entre el péptido y el medio circundante. $BMIM-Cl$ provee a la estructura mayor estabilidad, ya que presenta muy pocas fluctuaciones incluso a altas temperaturas. Esto es debido a que los aniones Cl^- forman puentes de hidrogeno con los OH^- del péptido. El estudio demostró que las interacciones electrostáticas y la capacidad de formar puentes de hidrogeno del líquido iónico tiene una gran influencia sobre la estabilidad de la estructura del péptido.

Heberles y sus colaboradores [44] realizaron un trabajo similar, una proteína en presencia del líquido iónico ($[EMIM^+][CF_3SO_3^-]$). Utilizaron como modelo la proteína Ubiquitina. Demostraron que algunos líquidos iónicos son capaces de mantener la estructura nativa de la enzima a temperatura ambiente y altas temperaturas; se observan un comportamiento similar de la proteína al que se observa en presencia de solventes orgánicos convencionales.

Capítulo 4

Metodología

La Figura 4.5, ubicada al final del capítulo, se muestra el diagrama general del proceso utilizado en esta tesis.

1. Moléculas usadas para el estudio

1.1. Apolipoproteína A-1

Se utilizó un solo fragmento, puesto que el uso de toda la proteína sería muy demandante computacionalmente y necesitaría mucho tiempo para poder realizar el proceso. Por esta razón se utilizó un fragmento de 46 residuos de la Apolipoproteína A-1 (ApoA1), llamado 1GW3 de la base de datos "Proteína Data Bank" [PDB], el cual va del residuo 142 al 187 de la ApoA1 completa. El fragmento 1GW3, contiene los residuos característicos de la Apolipoproteína completa, por lo tanto el resultado es representativo del total. Las dos configuraciones iniciales "cerrada" y "abierta" utilizadas en el estudio, fueron proporcionadas por M. A. Balderas [38].

En la Figura 4.1 se muestra en (a) la estructura secundaria de la Apolipoproteína A-1 y en blanco podemos ver el fragmento 1GW3 usado en este estudio y a que parte de la proteína corresponde, en (b) se muestra la estructura y conformación del fragmento 1GW3 obtenido de PDB, también se muestran las dos configuraciones iniciales (c) abierta y (d) "cerrada" con las que se trabajó en esta tesis.

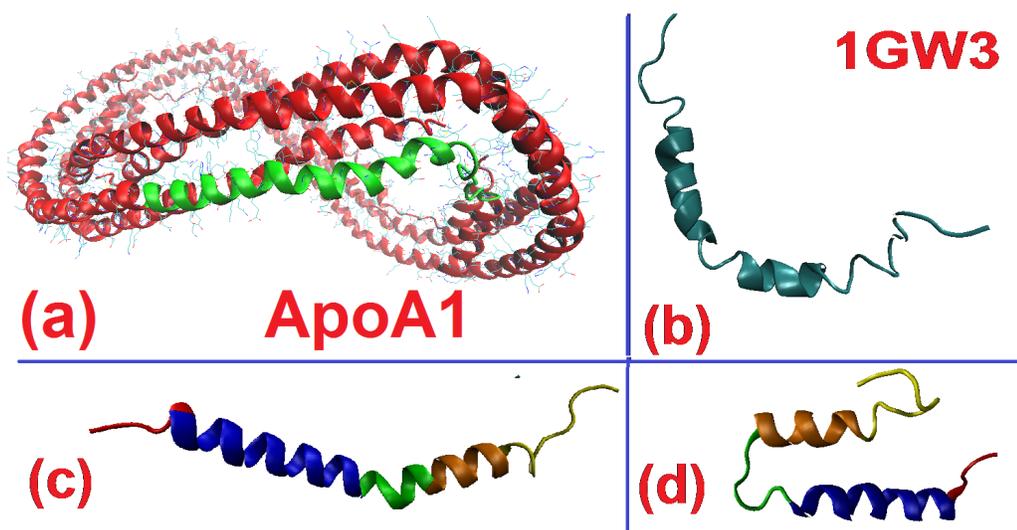


Figura 4.1: Estructura de la (a) Apolipoproteína A1 completa, (b) fragmento 1GW3, configuración inicial del fragmento (c) abierta y (d) cerrada.

Del fragmento de la ApoA1, el 41 % de los residuos son de tipo hidrófobo, el 39.5 % son residuos cargados y el 19.5 % son residuos polares no cargados, en la Figura 4.2 se muestra un esquema representativo de la estructura primaria del fragmento de ApoA1 y de la posición de dichos residuos en el fragmento.



Figura 4.2: Esquema de la estructura primaria de 1GW3, se muestran los diferentes tipos de aminoácidos que lo forman; las llaves de colores indican a que sección corresponden, de las imágenes (c) y (d) de la Figura 4.1

1.2. Líquidos iónicos

Los líquidos iónicos usados en el estudio consistieron en un catión basado en imidazol y cloro como anión. Los cationes utilizados para el estudio fueron 1-etil-3-metilimidazolio ($EMIM^+$), 1-butil-3-metilimidazolio ($BMIM^+$) y 1-hexil-3-metilimidazol ($HMIM$).

Como se puede apreciar en la Figura 4.3 lo que diferencia a los cationes es el tamaño de la cadena que tienen unida al imidazol, el aumento de esta cadena cambian las propiedades al catión. Conforme aumenta el tamaño de la cadena esta le va confiriendo propiedades anfipáticas al catión.

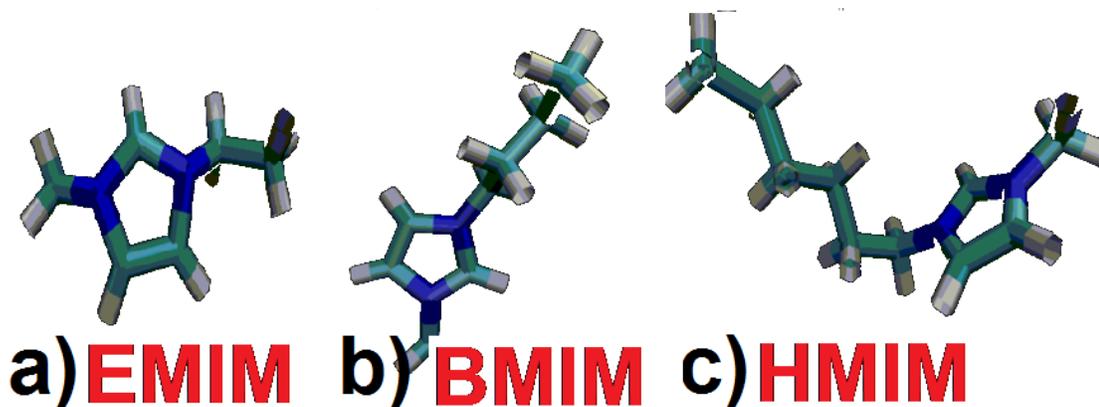


Figura 4.3: Estructura de los diferentes cationes usados en el estudio, a) 1-etil-3-metilimidazolio (EMIM) y b) 1-butil-3-metilimidazolio (BMIM) y c) 1-hexil-3-metilimidazolio (HMIM).

2. Simulación de dinámica molecular

La simulación juega un papel de un experimento virtual, donde se pueden analizar las características y propiedades del sistema a nivel molecular y las interacciones físicas del mismo, proporcionándonos de esa forma información y conocimiento del sistema que posteriormente puede ser utilizado para el diseño experimental.

La SDM describe el sistema molecular en función de su evolución temporal, utilizando un enfoque clásico para modelar las interacciones existentes y de esa manera poder integrar las ecuaciones de movimiento de Newton.

En nuestro trabajo de SDM: el tiempo se mide en ps, las distancias en nm y la energía en KJ/mol.

2.1. Campo de fuerza y parámetros específicos

Las simulaciones de dinámica molecular realizadas a lo largo del proyecto son a nivel completamente atómico ya que se incluyen explícitamente a todos los átomos de la proteína y del solvente. En este tipo de simulaciones es necesario describir las interacciones entre dichos elementos, las cuales se van a describir mediante el campo de fuerza.

El campo de fuerza utilizado para este caso fue AMBER94 [46] (descrito por la ecuación 4.1), ya que es el potencial típico en el estudio de esta clase de sistemas. El campo de fuerza AMBER [46], fue diseñado principalmente para simular la conformación de las estructuras y las energías de interacción de distintas biomoléculas tales como proteínas y ácidos nucleicos, principalmente en la fase condensada. Este campo de fuerza conserva características del campo de Weiner [47] con su énfasis en la representación electrostática, representación simple de enlaces y energía de ángulos y al mismo tiempo ofrece parámetros electrostáticos y de Van der Waals optimizados para simulaciones de fase condensada.

$$E_{total} = \sum_{enlaces} K_r(r - r_{eq})^2 + \sum_{ángulos} K_\theta(\theta - \theta_{eq})^2 + \sum_{diedro} \frac{V_n}{2}[1 + \cos(n\phi - \gamma)] + \sum_{i < j} \left[\frac{A_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{R_{ij}^6} + \frac{q_i q_j}{R_{ij} \epsilon} \right] \quad (4.1)$$

El campo de fuerza AMBER, consta de 4 términos, donde el primero y el segundo describen la energía de estiramiento y doblamiento de los enlaces covalentes, el tercer término describe la energía de los ángulos diedros y el cuarto término describe las interacciones de largo alcance mediante un potencial electrostático sumado a uno de Lennard-Jones.

El modelo explícito de agua utilizado fue el SPCE [48, 49], debido a que hace una corrección a la polarización del potencial efectivo del agua, produce picos bien definidos en las curvas de distribución radial y mejora la constante de difusión y densidad.

Los parámetros utilizados para los líquidos iónicos fueron los reportados por Y. Wang y colaboradores [45]. Los parámetros del fragmento de la proteína ya están contenidos en el potencial AMBER [46].

El número de moléculas utilizadas para cada sistema esta acuerdo a los porcen-

tajes v/v del trabajo de Q. Shao [42], estos valores los podemos ver en el Cuadro 4.1. Para los diferentes sistemas utilizamos los mismos porcentaje, el v/v % no varió significativamente, ya que la densidad de los diferentes líquidos iónicos usados en este estudio es muy similar entre sí [50].

Cuadro 4.1: Numero de moléculas usadas en cada sistema, dependiendo del porcentaje V/V.

(v/v) %	Moléculas de agua	Pares de iones
0	4246	468
25	10839	468
45	4468	468
65	1922	486

2.2. Procedimiento general para la SDM (usado en la tesis)

Todas las simulaciones se hicieron con el paquete de simulación GROMACS. Para obtener los resultados: (1) se genera una configuración inicial, (2) se equilibra el sistema (de acuerdo a lo que se describe a continuación) y (3) se procede a simular el sistema el tiempo suficiente para obtener resultados estables (en este caso el tiempo de simulación fue de 30 ns) [27].

Equilibración

El procedimiento de equilibración consistió en los siguientes pasos:

- NPT1: Dura 12 ns, la presión de referencia es de 100 atm para favorecer la compactación de la caja, y se hace inicia a una temperatura de 1000K, pasando por 800K, 600K, 500K, 400K y 300K. El tiempo de equilibración en cada temperatura es de 2 ns.
- NPT2: Dura de 3-6 ns (dependiendo de los requerimientos del sistema), la presión de referencia fue de 1 atm, para que se establezca el volumen a condiciones normales y a una temperatura de 300 K.
- NVT: Dura 16 ns, a volumen constante, e inicia a una temperatura de 2000K, cambiando cada 2 ns, pasando por 1500K, 1000K, 800K, 600K, 500K, 400K y finalmente se estabiliza en 300 K.

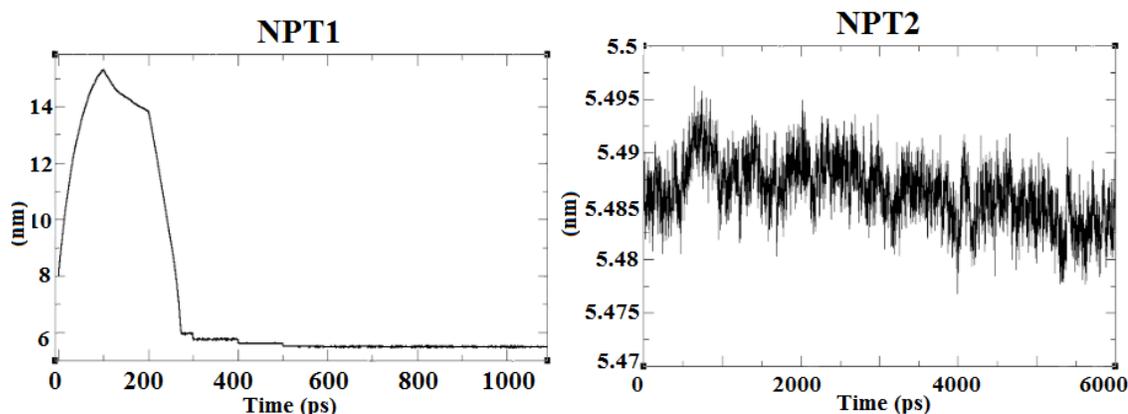


Figura 4.4: Gráfica del tamaño de la caja después de NPT1 y NPT2.

Cada paso es requerido para obtener una correcta equilibración de sistema: el paso NPT1 sirve para compactar el volumen de la caja, puesto que al generar el sistema el volumen de la caja es demasiado grande y las moléculas casi no interactúan entre sí. Se inicia a altas temperaturas para acelerar el proceso ya que los líquidos iónicos son muy viscosos, lo cual implica una relajación muy lenta.

El paso NPT2 es para que se establezca el tamaño de la caja a condiciones normales (1 atm), en algunos sistemas es necesario aumentar la duración para una correcta equilibración. En la Figura 4.4 se muestran las gráficas de las fluctuaciones del tamaño de la caja que contiene al sistema a lo largo del tiempo, se puede ver en la gráfica de NPT1 como el tamaño de la caja disminuye conforme pasa el tiempo hasta que se estabiliza y en la gráfica de NPT2 vemos que el tamaño de la caja se estabiliza y fluctúa solamente alrededor de 5.48 nm. El paso NVT es para borrar la memoria del sistema y que los pasos anteriores no afecten la corrida de producción.

Posterior a la equilibración del sistema, se procede con la corrida de producción con una duración de 30 ns, a 1 atm de presión y 300 K. Después de la corrida de producción se procedió a analizar los datos arrojados de la misma, apoyándome de las herramientas incorporadas en el paquete de GROMACS [27]. De esta forma se realiza la interpretación de las interacciones físicas y de comportamiento del sistema. En el capítulo de SDM se hace una descripción del tipo de información que arroja cada análisis realizado.

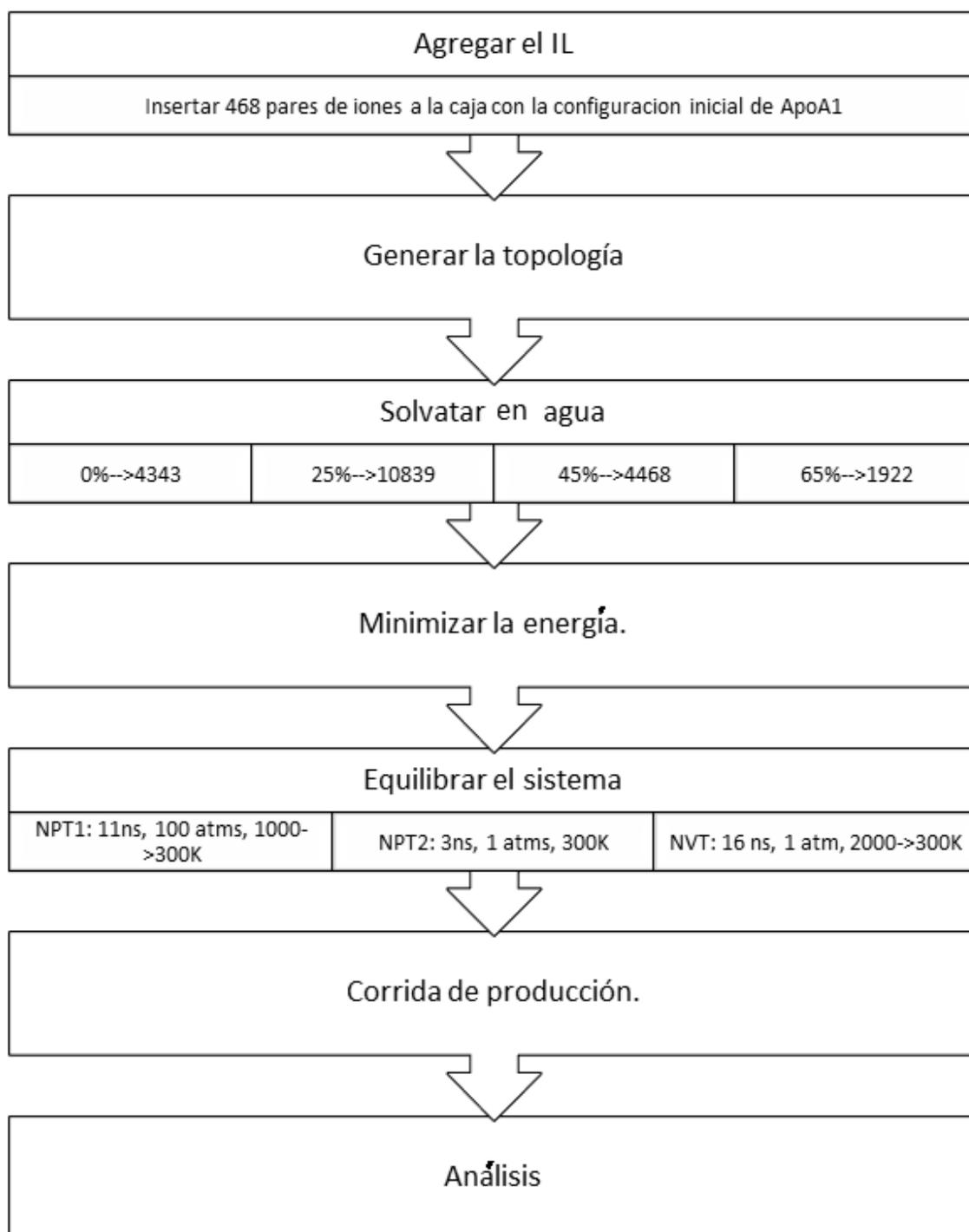


Figura 4.5: Diagrama general de la metodología usada en la tesis.

Capítulo 5

Características del solvente (EMIM-CL)

Antes de abordar la idea principal en la tesis, la cual es ver el efecto que tienen diversos líquidos iónicos basados en imidazol sobre la estabilidad de un biopolímero (en el caso particular del fragmento de ApoA1), se realizaron simulaciones del solvente EMIM-CL en ausencia del biopolímero. Se usó el EMIM-CL puro y EMIM-CL con agua (25, 45 y 65 % v/v).

1. Estudio de la dinámica del líquido iónico 1-etil-3-metilimidazolium (EMIM-CL).

Primero se analizó el comportamiento del líquido iónico EMIM-CL puro (sin agua) a diversas temperaturas.

1.1. Metodología

El sistema generado consta de 1024 pares de iones de EMIM-CL. El procedimiento de equilibración se realizó en tres pasos:

- NPT a una alta presión (100 atm.) con un cambio de temperatura de 2000K, 1800K, 1600K, 1400K, 1200K, 1000K, 800K, 700K, utilizando un tiempo de equilibración de 1ns en cada temperatura.
- NPT a 1 atm para simular las condiciones experimentales a 700K por 2 ns.
- NVT repitiendo con un cambio de temperatura de 2000K, 1800K, 1600K, 1400K, 1200K, 1000K, 800K, 700K, utilizando un tiempo de equilibración de 1ns en cada temperatura.

Después de esto se realiza la primera corrida de producción y posteriormente se realiza una NPT a 1 atm durante 1 ns y con un cambio de temperatura de 50 K ($\delta=50\text{K}$) hasta llegar a 200 K, tomando en cuenta que el punto de fusión de EMIM-CL es $\approx 350\text{ K}$ [60]. El sistema fue simulado durante 10 ns para cada temperatura y se calculó el desplazamiento cuadrático medio (MSD), el coeficiente de difusión (D) y la función de distribución radial (RDF) con respecto a cada ion. Para temperaturas bajas (300 K y 200 K) se hicieron las simulaciones con un tiempo total de 50 ns para cada temperatura y se calculó el MSD, el D y RDF con respecto a cada ion.

1.2. Desplazamiento cuadrático medio (MSD).

En la Figura 5.1 se muestra la gráfica del desplazamiento cuadrático medio (MSD) con respecto del tiempo para diferentes temperaturas. La línea sólida negra representa el MSD del catión ($EMIM^+$) a 700 K, la línea discontinua negra corresponde al anión (CL^-) a 700 K, la línea solida roja con círculos huecos indica el MSD de $EMIM^+$ a 600 K, la línea discontinua con círculos rellenos corresponde al MSD del CL^- a 600 K, la línea solida verde con cuadrados huecos indica el MSD de $EMIM^+$ a 500 K, la línea discontinua verde con cuadros rellenos corresponde al MSD del CL^- a 500 K, la línea solida azul con triángulos huecos indica el MSD de $EMIM^+$ a 400 K y la línea discontinua azul con triángulos huecos corresponde al MSD del CL^- a 400 K.

En la Figura 5.1 se puede observar como al disminuir la temperatura el comportamiento del MSD también va disminuyendo para ambos iones y también aumenta la diferencia en magnitud entre ellos aunque el comportamiento sea muy similar. Vemos como a 700 K el MSD a tiempos largos es prácticamente el mismo para ambos iones y se ve como tiene un comportamiento casi lineal.

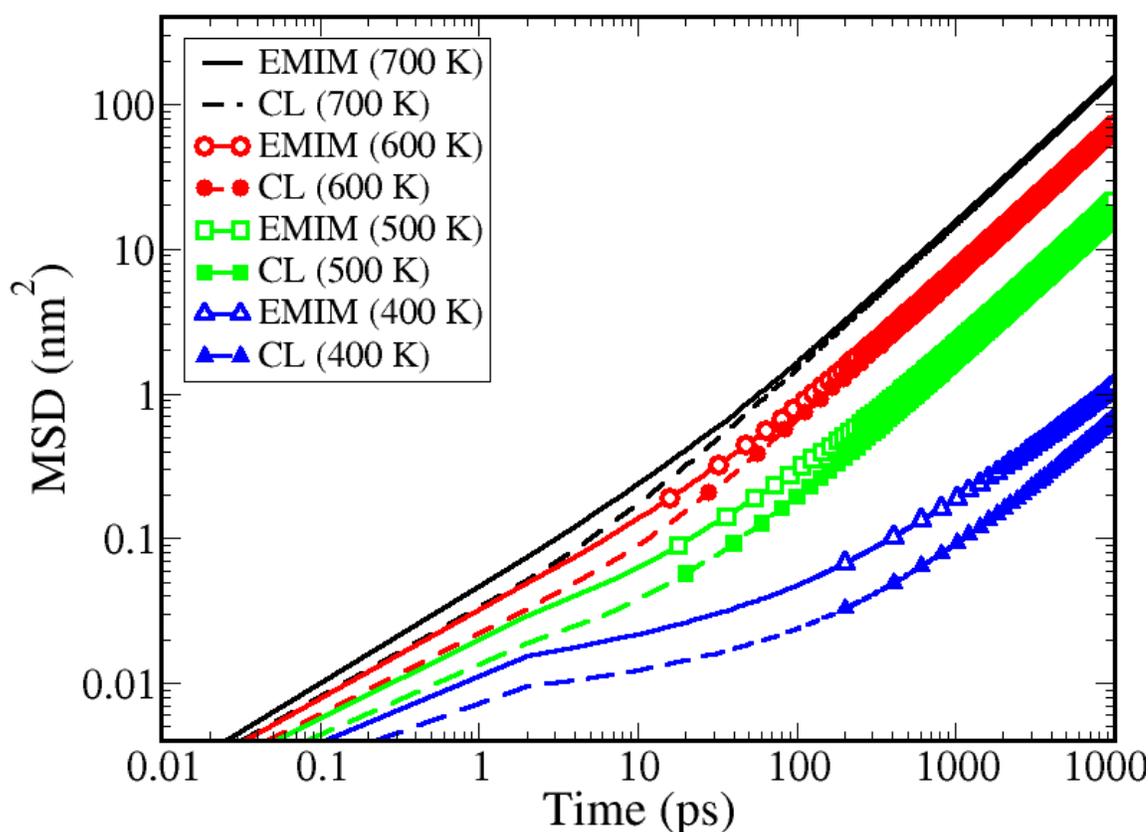


Figura 5.1: Desplazamiento cuadrático medio con respecto del tiempo a diferentes temperaturas del sistema EMIM-CL. La línea sólida negra representa el MSD del catión (EMIM^+) a 700 K, la línea discontinua negra corresponde al anión (CL^-) a 700 K, la línea solida roja con círculos huecos indica el MSD de EMIM^+ a 600 K, la línea discontinua con círculos rellenos corresponde al MSD del CL^- a 600 K, la línea solida verde con cuadrados huecos indica el MSD de EMIM^+ a 500 K, la línea discontinua verde con cuadros rellenos corresponde al MSD del CL^- a 500 K, la línea solida azul con triángulos huecos indica el MSD de EMIM^+ a 400 K y la línea discontinua azul con triángulos huecos corresponde al MSD del CL^- a 400 K.

En la Figura 5.2 se muestra la gráfica del MSD a temperaturas de 400 K, 300 K y 200 K (300 K y 200 K son consideradas temperaturas bajas para esta clase de sistema). La línea sólida negra representa el MSD del catión (EMIM^+) a 400 K, la línea discontinua negra corresponde al anión (CL^-) a 400 K, la línea solida roja con círculos huecos indica el MSD de EMIM^+ a 300 K, la línea discontinua con círculos rellenos corresponde al MSD del CL^- a 300 K, la línea solida verde con cuadrados

huecos indica el MSD de $EMIM^+$ a 200 K y la línea discontinua verde con cuadros rellenos corresponde al MSD del CL^- a 200 K. Esta gráfica nos sirve para comprobar el comportamiento de los iones y ver como D para ambos iones a bajas temperaturas tiende a cero lo cual nos indica que el sistema se encuentra cercano a la transición de vitrificación, en todos los casos el MSD del anión es menor que el del catión hasta por un orden de magnitud (en los casos a 300 K y 400 K), se puede ver la diferencia del comportamiento del MSD a 400 K contra 300 y 200 K.

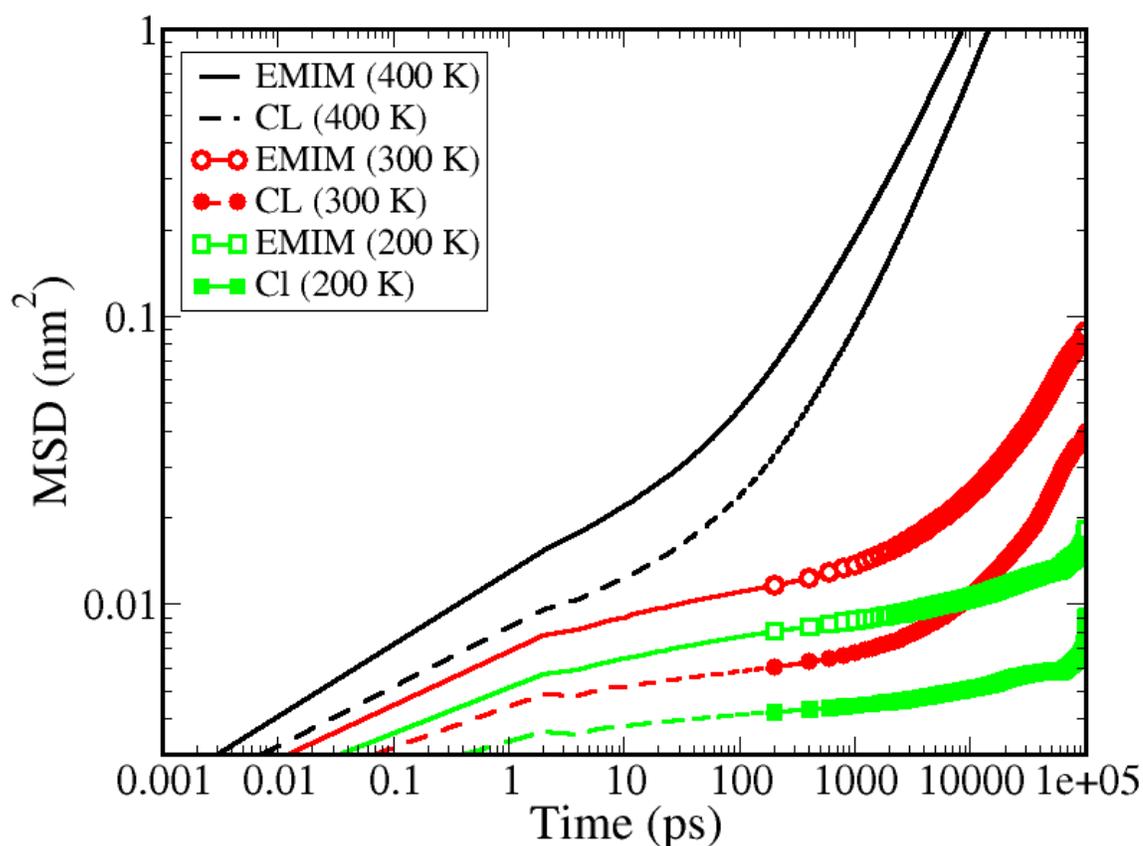


Figura 5.2: Desplazamiento cuadrático medio con respecto del tiempo a diferentes temperaturas del sistema EMIM-CL. La línea sólida negra representa el MSD del catión ($EMIM^+$) a 400 K, la línea discontinua negra corresponde al anión (CL^-) a 400 K, la línea sólida roja con círculos huecos indica el MSD de $EMIM^+$ a 300 K, la línea discontinua con círculos rellenos corresponde al MSD del CL^- a 300 K, la línea sólida verde con cuadrados huecos indica el MSD de $EMIM^+$ a 200 K y la línea discontinua verde con cuadros rellenos corresponde al MSD del CL^- a 200 K.

1.3. Coeficiente de difusión (D).

En la Figura 5.3 se muestra el coeficiente de difusión (D) con respecto a la temperatura del sistema EMIM-CL, donde los puntos verdes representa los D del anión (CL^-) y los puntos rojos los D del catión ($EMIM^+$), en la gráfica podemos observar como los D del anión tienden a ser menores que los del catión en la mayoría de las temperaturas y como a bajas temperaturas el D de ambos iones tiende a cero, pero con mayor rapidez el del CL^- . Se observa una fuerte tendencia al arresto dinámico a temperaturas bajas.

Para todas las temperaturas el D del catión $EMIM^+$ es mayor que el del CL^- aunque conforme disminuye la temperatura la diferencia entre su valor aumenta, estos resultados concuerdan con resultados reportados anteriormente por Bhargava y colaboradores [61] donde observaron que el líquido iónico cloruro de 1,3-dimetilimidazolium a temperaturas bajas presenta una mayor difusión el catión que el anión, lo cual también concuerda con previos estudios experimentales de dicho líquido iónico.

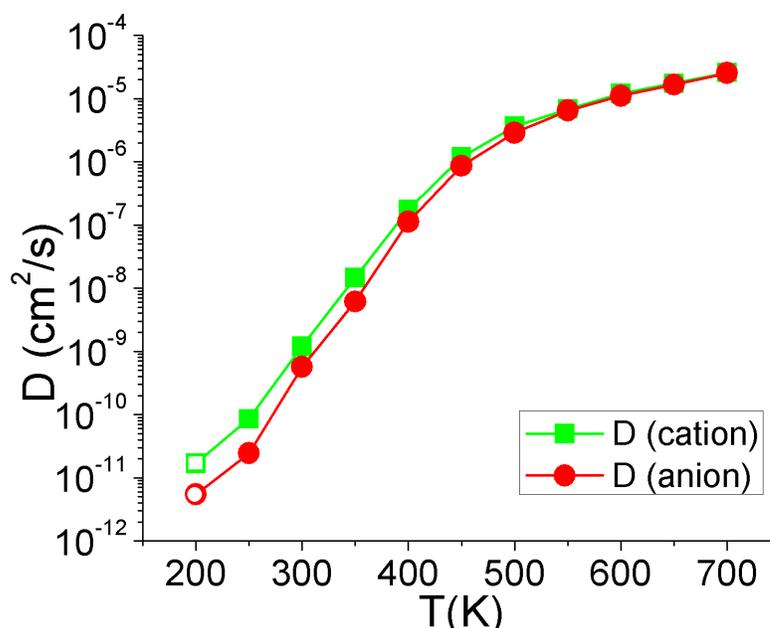


Figura 5.3: D con respecto a la temperatura del sistema EMIM-CL. Los puntos verdes indican el D del anión, los puntos rojos indican el D del catión, las líneas son solo una guía para el ojo. (Símbolos vacíos significan posible falta de equilibración).

1.4. Función de distribución radial (RDF).

En la Figura 5.4 se muestra la gráfica de la función de distribución radial para EMIM-CL a tres diferentes temperaturas $T= 600$ K (verde), 400 K (azul) y 200 K (rojo), La línea sólida corresponde a la $g_{++}(r)$, la línea discontinua representa la $g_{--}(r)$ y la línea con símbolos (círculos, cuadros y triángulos) indican la $g_{+-}(r)$. Se puede ver en la gráfica como conforme disminuye la temperatura la RDF se va desplazando ligeramente hacia la izquierda, pero la forma sigue siendo la misma.

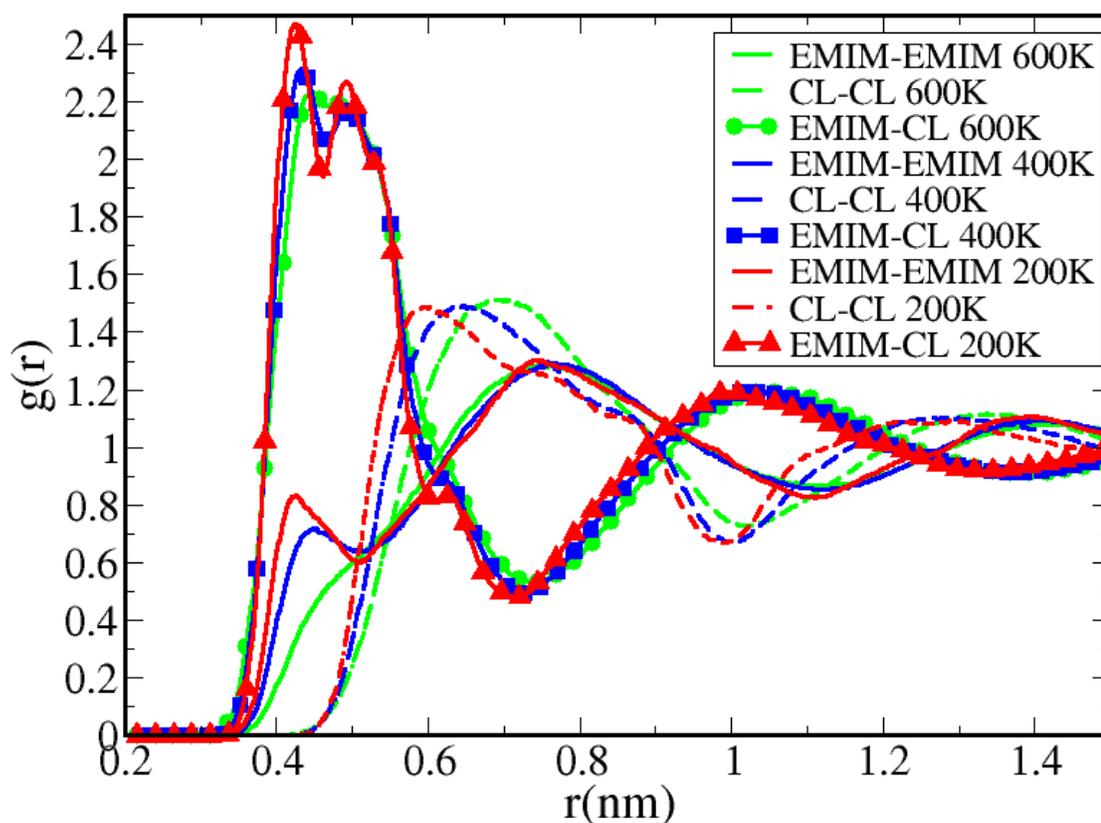


Figura 5.4: Función de distribución radial del sistema EMIM-CL a diferentes temperaturas. La línea sólida corresponde a la $g_{++}(r)$, la línea discontinua representa la $g_{--}(r)$ y la línea con símbolos (círculos, cuadros y triángulos) indican la $g_{+-}(r)$. Los colores de las líneas indican la temperatura del sistema, donde a 600 K es verde, 400 K es azul y a 200 K es rojo.

Se puede ver en la gráfica como la probabilidad de tener de primer vecino al ion con la carga opuesta es mayor, y de cómo debido a las fuerzas electrostáticas los iones con la misma carga quedan más alejados unos de otros, con la distancia entre CL^- y CL^- fácil cabe una molécula de $EMIM^+$.

En la Figura 5.5 se muestran la RDF a las temperaturas 200 K, 250 K y 300 K, las líneas solidas roja, negra y verde representa $g_{--}(r)$, $g_{+-}(r)$ y $g_{++}(r)$ respectivamente. La forma de la RDF de los iones fue la misma para las diversas temperaturas (200 K, 250 K y 300 K) lo cual nos está indicando que el sistema se encuentra en arresto.

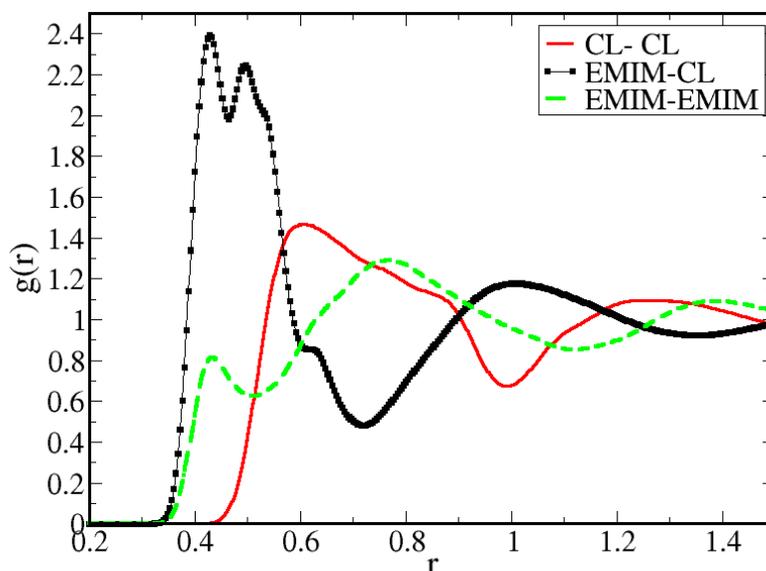


Figura 5.5: Función de la distribución radial para EMIM-CL en las temperaturas 300 K, 250 K y 200 K. La línea discontinua, línea sólida y línea con cuadros representan $g_{++}(r)$, $g_{--}(r)$ y $g_{+-}(r)$ respectivamente.

En la Figura 5.6 se muestra la configuración final del sistema EMIM-CL a 300 K visualizado por medio de VMD, las esferas verdes corresponden al CL^- y en color azul se representan al catión ($EMIM^+$) como una superficie continua. En la Figura 5.6 se puede apreciar la distribución de los iones en el sistema, se corrobora el comportamiento del sistema visto por medio de la RDF, los aniones están espaciados entre sí ≈ 3 veces su radio, permitiendo de esta manera que el catión pueda distribuirse alrededor de este y de acuerdo con lo que se vio en el MSD el catión puede difundir en el sistema de manera más fácil que el anión.

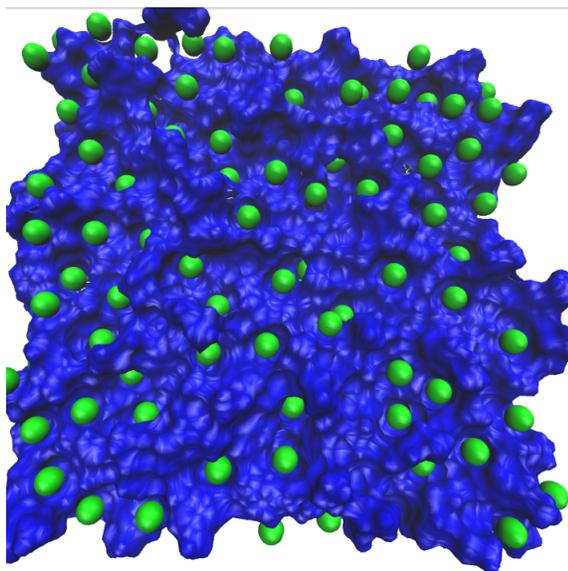


Figura 5.6: Configuración final del sistema EMIM-CL a 300K visualizado por VMD, las esferas verdes corresponden al anión (CL^-) y la superficie azul representa al catión ($EMIM^+$).

1.5. Discusión

Se observó que el catión ($EMIM^+$) presenta un mayor coeficiente de difusión con respecto al anión (CL^-) en la mayoría de las temperaturas caracterizadas a pesar de su gran tamaño. Esta característica también fue observada en estudios del cloruro de 1,3-dimetilimidazolium [61]. El MSD con respecto del tiempo del anión (CL^-) presenta un comportamiento similar al del catión para las diferentes temperaturas aunque en todos los casos presentó un menor valor.

En la Figura 5.6 se puede observar que los aniones (esferas verdes) están lo suficientemente espaciados entre sí debido a las fuerzas de repulsión entre ellos esto permite el paso del catión (superficie azul).

El comportamiento de la RDF fue similar para todos los casos, se vio como conforme se disminuía la temperatura la distancia entre las moléculas también disminuyó gradualmente, quedando estancada a bajas temperaturas (300, 250 y 200 K). El coeficiente de difusión fue tendiendo a cero conforme baja la temperatura, quedando el anión primeramente arrestado, lo cual coincide con lo reportado sobre el punto de fusión de EMIM-CL el cual ronda ≈ 350 K [60].

2. EMIM-CL + H₂O

Los solventes utilizados en esta tesis han sido líquidos iónicos disueltos en agua en diversos porcentajes (25 %, 45 % y 65 % v/v), debido a que en previos estudios experimentales o teóricos se utilizan preferentemente con agua por las características típicas de los medios biológicos [39, 42–44, 56–58].

2.1. Metodología

Se realizó el mismo procedimiento para generar las cajas de EMIM-CL + H₂O, que el proceso utilizado en las cajas con el fragmento de ApoA1 (ver Capítulo 4).

El procedimiento en grandes rasgos consta de: una equilibración la cual se realiza en 3 pasos (NPT1, NPT2 y NVT) y una vez que el sistema está en equilibrio se procedió con la corrida de producción a 300 K durante 30 ns. Ya teniendo esto se analizaron los resultados auxiliándonos de las herramientas de GROMACS.

2.2. Desplazamiento cuadrático medio (MSD)

En la Figura 5.7 se puede ver la gráfica del MSD de EMIM-CL + H₂O con respecto del tiempo. La línea sólida negra representa el agua a 25 %, la línea discontinua negra corresponde al CL⁻ a 25 %, la línea sólida con cuadros rellenos indica el MSD del catión (EMIM⁺) a 25 %, la línea sólida roja con cuadros huecos corresponde al MSD del agua en el sistema a 45 %, la línea discontinua con círculos rellenos representa el MSD del CL⁻ a 45 %, la línea sólida roja con círculos huecos indica el MSD de EMIM⁻ a 45 %, la línea sólida verde con triángulos verdes representa el MSD del agua en el sistema a 65 %, la línea verde sólida corresponde al MSD del EMIM⁺ a 65 % y la línea discontinua verde indica el MSD del CL⁻ a 65 %.

Se puede apreciar que conforme aumenta la concentración de EMIM-CL disminuye el MSD del sistema, se puede ver como a tiempos cortos el MSD del catión es mayor y a tiempos más largos es menor que el del anión, mientras tanto el MSD del agua en los tres casos es mayor con respecto los iones.

El MSD de los sistemas EMIM-CL + H₂O es mayor hasta por tres órdenes de magnitud que el MSD del EMIM-CL puro (ver Figura 5.1) y el comportamiento del

sistema también cambia, mientras que en el caso del EMIM-CL puro el MSD del catión es mayor que el del anión para las diferentes temperaturas (200-700 K), en los casos de EMIM-CL + H_2O el MSD del catión es mayor pero después de un tiempo disminuye y pasa a ser menor que el del anión, este cambio del MSD de los iones ocurre más lento conforme aumentamos la concentración de EMIM-CL en el sistema, el MSD del agua en dichos sistemas es prácticamente lineal a 25 y 45 % y a 65 % disminuye cuando disminuye el MSD del catión.

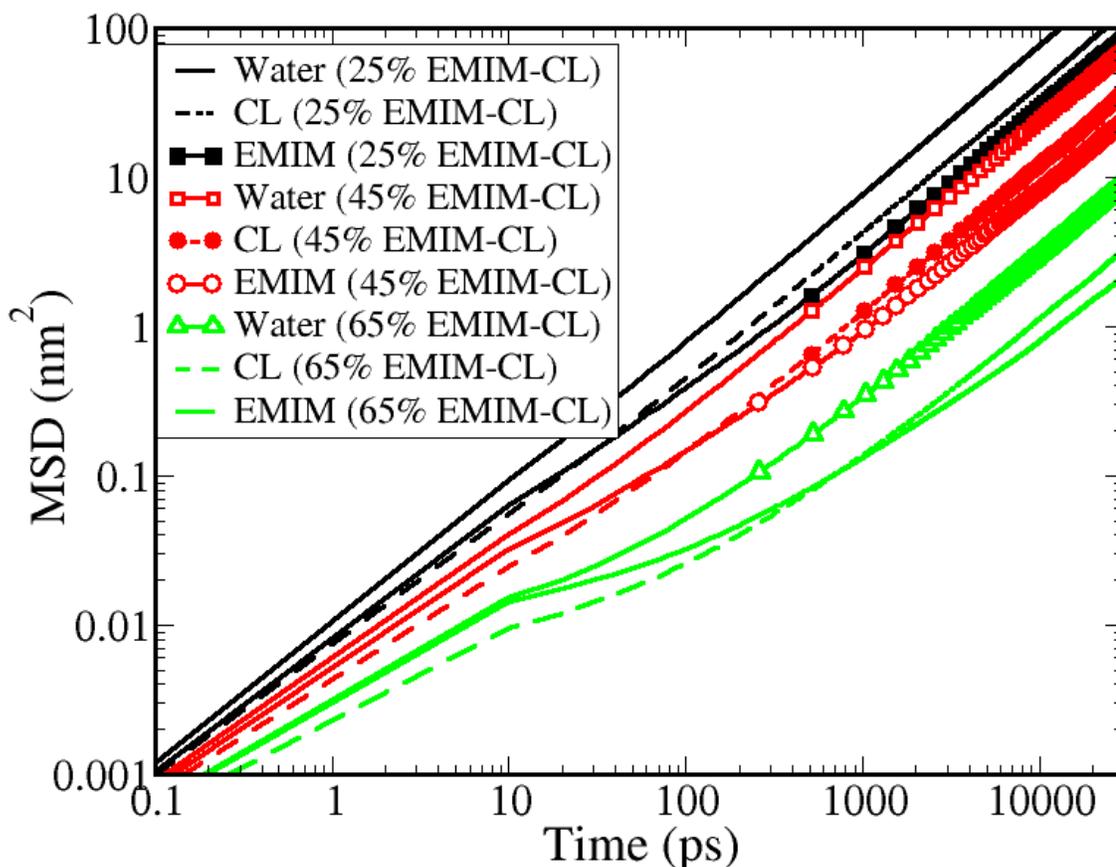


Figura 5.7: Desplazamiento cuadrático medio de EMIM-CL + H_2O con respecto del tiempo. La línea sólida negra representa el agua a 25 %, la línea discontinua negra corresponde al CL^- a 25 %, la línea sólida con cuadros rellenos indica el MSD del catión ($EMIM^+$) a 25 %, la línea sólida roja con cuadros huecos corresponde al MSD del agua en el sistema a 45 %, la línea discontinua con círculos rellenos representa el MSD del CL^- a 45 %, la línea sólida roja con círculos huecos indica el MSD de $EMIM^+$ a 45 %, la línea sólida verde con triángulos verdes representa el MSD del agua en el sistema a 65 %, la línea verde sólida corresponde al MSD del $EMIM^+$ a 65 % y la línea discontinua verde indica el MSD del CL^- a 65 %.

2.3. Función de distribución radial (RDF)

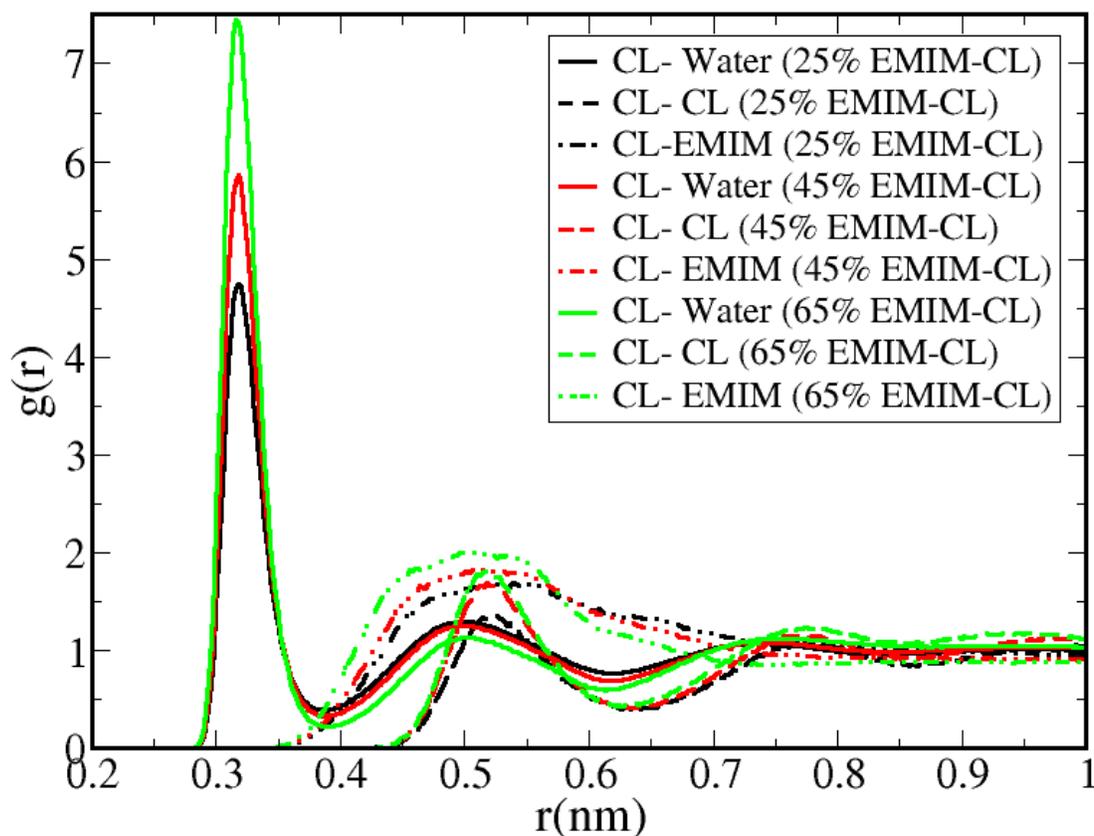


Figura 5.8: Función de distribución radial tomando como referencia el CL^- de los diferentes sistemas. El color de la línea indica el porcentaje de EMIM-CL del sistema, donde negro es a 25 %, roja a 45 % y verde a 65 %. La línea sólida indica la RDF de $CL^- - H_2O$, la línea discontinua la RDF de $CL^- - CL^-$ y la línea punteada la RDF de $CL^- - EMIM^+$.

En la Figura 5.8 se muestra la RDF tomando como referencia el anión (CL^-) de los diferentes sistemas, el color indica el porcentaje de EMIM-CL, negro=25 %, rojo=45 % y verde=65 %, la línea sólida indica la RDF de $CL^- - H_2O$, la línea discontinua la RDF de $CL^- - CL^-$ y la línea punteada la RDF de $CL^- - EMIM^+$. Se puede ver en la Figura 5.8 que el comportamiento de la RDF es similar para los diferentes porcentajes de EMIM-CL, la diferencia que se presenta es el tamaño de las curvas, presentando una mayor diferencia la RDF de $CL^- - H_2O$. En la gráfica

podemos ver como los primeros vecinos del CL^- son moléculas de agua y conforme aumenta la concentración de EMIM-CL aumenta la probabilidad de encontrar moléculas de agua alrededor del anión, después del agua tenemos la presencia del catión y al último la de otro anión.

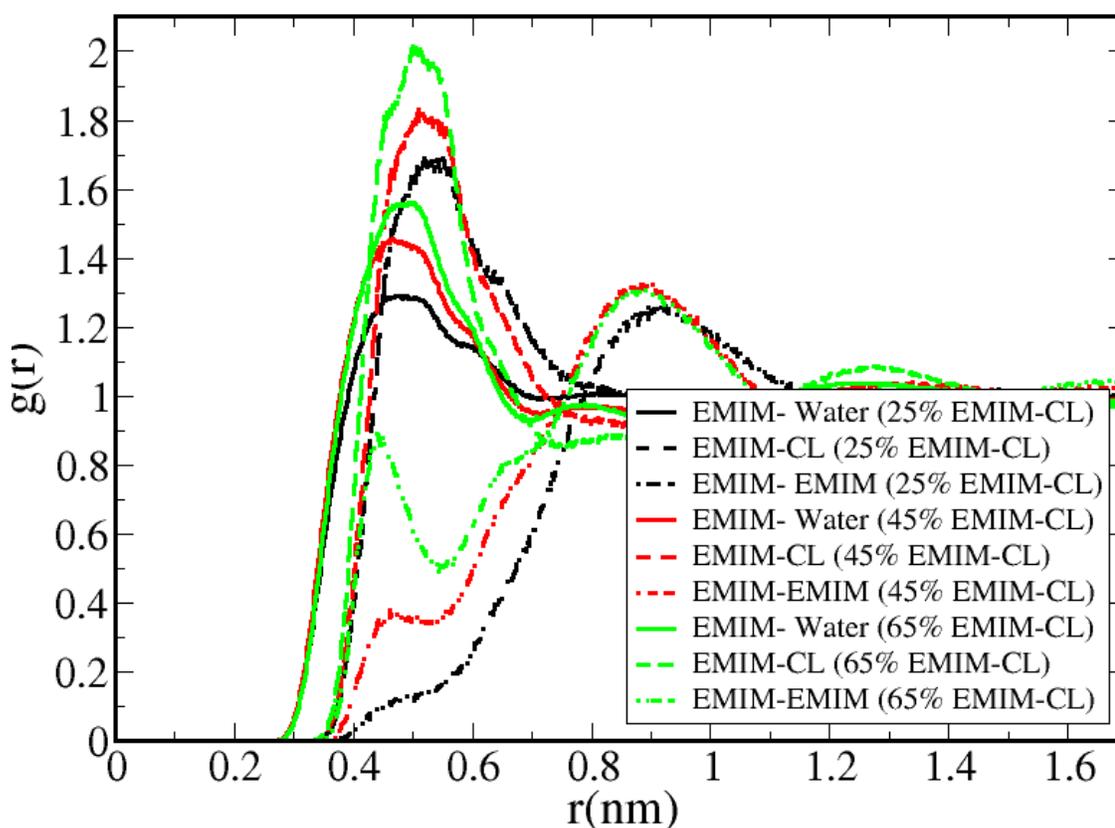


Figura 5.9: Función de distribución radial tomando como referencia el $EMIM^-$ de los diferentes sistemas. El color de la línea indica el porcentaje de EMIM-CL del sistema, donde negro es a 25 %, roja a 45 % y verde a 65 %. La línea sólida indica la RDF de $EMIM^- - H_2O$, la línea discontinua la RDF de $EMIM^- - CL^-$ y la línea punteada la RDF de $EMIM^- - EMIM^+$.

En la Figura 5.9 se muestra la RDF tomando como referencia el catión ($EMIM^-$) de los diferentes sistemas, el color indica el porcentaje de EMIM-CL, negro es a 25 %, roja a 45 % y verde a 65 %, la línea sólida indica la RDF de $EMIM^- - H_2O$, la línea discontinua la RDF de $EMIM^- - CL^-$ y la línea punteada la RDF de $EMIM^- - EMIM^+$. La forma del RDF de los diferentes sistemas es similar, podemos ver en

la gráfica como en los primeros vecinos tenemos una probabilidad muy similar entre el agua y el CL^- , y el catión se queda desplazado hasta 0.9 nm.

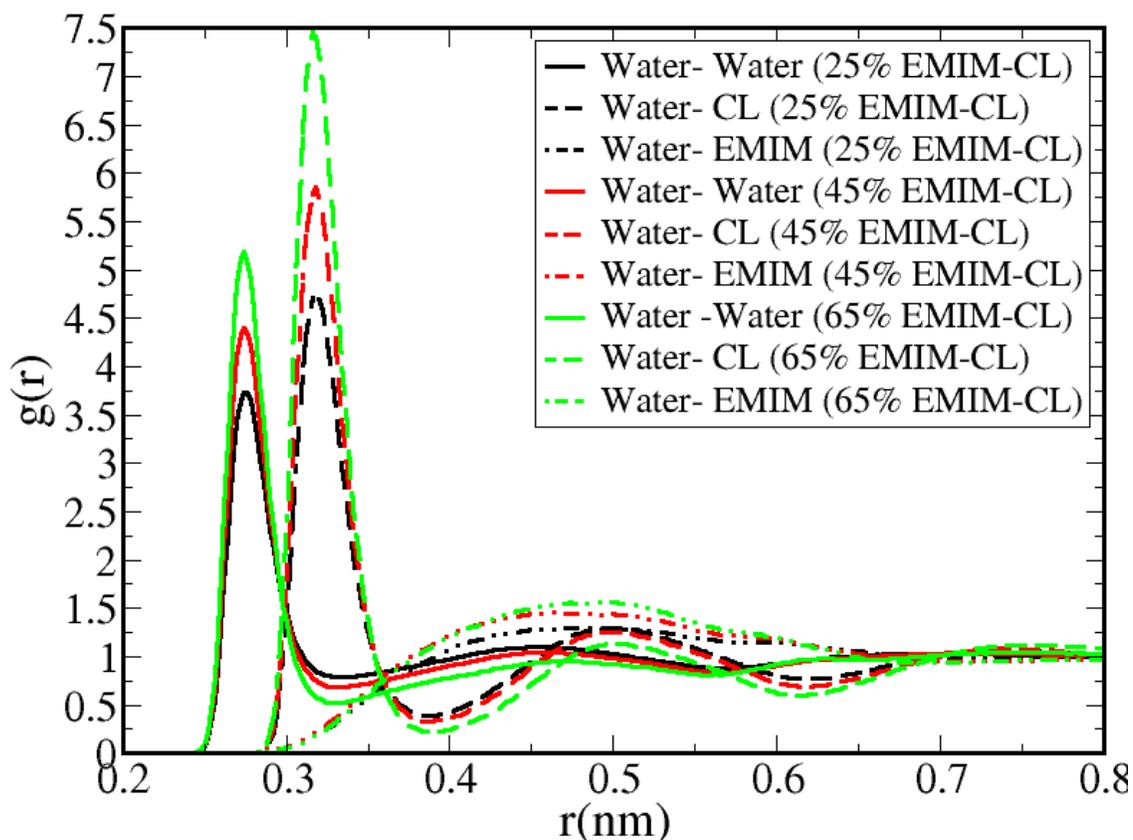


Figura 5.10: Función de distribución radial tomando como referencia el agua de los diferentes sistemas. El color de la línea indica el porcentaje de EMIM-CL del sistema, donde negro es a 25 %, roja a 45 % y verde a 65 %. La línea sólida indica la RDF de $H_2O - H_2O$, la línea discontinua la RDF de $H_2O - CL^-$ y la línea punteada la RDF de $H_2O - EMIM^+$.

En la Figura 5.10 se muestra la RDF tomando como referencia la molécula de agua, el color indica el porcentaje de EMIM-CL del sistema, donde negro es a 25 %, roja a 45 % y verde a 65 %. La línea sólida indica la RDF de $H_2O - H_2O$, la línea discontinua la RDF de $H_2O - CL^-$ y la línea punteada la RDF de $H_2O - EMIM^+$.

Se puede apreciar que conforme aumenta la concentración de EMIM-CL la altura de las curvas aumenta, pero el comportamiento es muy similar entre los diferentes

sistemas, la curva que más aumenta su tamaño es la RDF del H_2O -CL, se ve como la probabilidad de tener el CL^- de primeros vecinos es mayor, después el agua y al final el catión.

En la Figura 5.11 se muestra la configuración final del sistema EMIM-CL + H_2O para las diferentes concentraciones (25, 45, 65 v/v %) visualizado por VMD, donde las esferas amarillas indican al anión (CL^-), el color azul marino corresponde al catión ($EMIM^+$) como una superficie y el color cian representa el H_2O como una superficie, los diferentes paneles indican la concentración de EMIM-CL en el sistema donde a) es 25 %, b) 45 % y c) 65 %. Se puede apreciar lo mencionado anteriormente en la RDF del sistema, el agua se encuentra alrededor de los iones, principalmente hidratando al anión (para las diferentes concentraciones de EMIM-CL se puede apreciar como los primeros vecinos del CL^- son las moléculas de agua, el catión parece formar dominios consigo mismo).

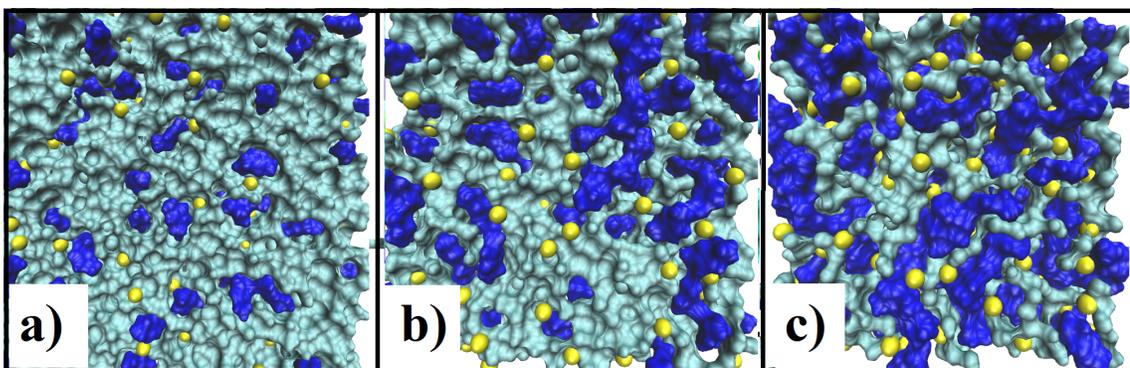


Figura 5.11: Configuración final del sistema EMIM-CL + H_2O para las diferentes concentraciones (a)25, b)45, c)65 v/v %) visualizado por VMD. Las esferas amarillas indican al CL^- , el color azul marino corresponde al $EMIM^+$ y el color cian representa el agua del sistema.

En la Figura 5.11 se puede apreciar como el comportamiento del líquido iónico EMIM-CL es similar al de una sal inorgánica convencional puesto que en presencia de agua tiende a disociarse, hidratándose de esta manera los iones del sistema. Esto se puede apreciar viendo la superficie que forma el agua, como en el panel a) (sistema a 25 %) la superficie es mayoritariamente agua e inmersa en esta tenemos los iones, se ve como los primeros vecinos de los iones son moléculas de agua pero después de la primera capa de agua alrededor del CL^- se encuentra un $EMIM^+$. En el caso de $EMIM^+$ la situación no es como un ion convencional, pues estos aparentemente forman dominios, en el panel b) (sistema a 45 %) se ve como la superficie de agua

disminuye pero en esta siguen inmersos los aniones y como, los dominios del catión aumentan su tamaño y siguen estando como segundos vecinos del CL^- , en el panel c) (sistema a 65%) la superficie es dominada principalmente por el catión, el CL^- sigue estando rodeado primeramente por el agua y después de este ya se encuentra el $EMIM^+$, se puede apreciar como el agua no se encuentra formando dominios a pesar de que la superficie que representa en el sistema sea menor sigue estando comunicada entre sí.

2.4. Discusión

Cuando se agregan las moléculas de agua al sistema, la presencia de estas cambian las características estructurales del solvente, el coeficiente de difusión aumenta mucho a pesar de la temperatura en la que se realizaron las simulaciones fuera de 300 K, temperatura en la cual el EMIM-CL puro ya se acerca al arrestó.

Con la RDF podemos apreciar que el acomodo de las moléculas en los sistemas es muy similar, solo aumenta la probabilidad de encontrar las moléculas alrededor de ellas conforme aumenta la concentración de EMIM-CL para todos los casos. Con las curvas de RDF podemos ver como los primeros vecinos del CL^- son las moléculas de agua y esto se confirma con la RDF del agua donde se ve como hay mayor probabilidad de tener CL^- alrededor de este, también vemos como en el caso de $EMIM^+$ la probabilidad de tener CL^- o H_2O es muy similar pero si hay un poco de repulsión electrostática entre $EMIM^+$ s.

El comportamiento que presenta EMIM-CL en agua es similar al de las sales inorgánicas en presencia de agua, ya que los iones tienden a disociarse e hidratarse para apantallar su carga eficientemente en el sistema. Nuestros resultados indican el CL^- tiende a hidratarse mayormente en el sistema. Esto puede entenderse pensando que la carga del CL^- es difícilmente apantallada por el voluminoso $EMIM^+$, en consecuencia el H_2O tiende a hidratar el CL^- para apantallar su carga. Esto trae como consecuencia una repulsión electrostática menor que en el sistema puro, lo que facilita la difusión. Un resultado adicional es la formación de dominios de los cationes, esto puede ser inducido por la asociación de las cadenas (étil) hidrocarbonadas del $EMIM^+$, pues entre ellas existe una atracción tipo Van der Waals.

Capítulo 6

Estabilidad del fragmento de ApoA1 en presencia de EMIM-CL

Este capítulo está dividido en tres secciones, la primera contiene la descripción de los resultados obtenidos para el caso de EMIM-CL ("Descripción de resultados"); en la segunda sección ("Interpretación de resultados") se describe la interpretación del comportamiento observado en el sistema y las posibles causas.

1. Descripción de resultados.

1.1. Radio de giro (R_g)

El radio de giro (R_g) nos permite evaluar la compactación de una estructura a lo largo del tiempo. A continuación, en las Figuras 6.2 y 6.1, se muestran los R_g con respecto al tiempo de los diferentes sistemas, partiendo de las dos conformaciones (cerrada y abierta), la línea sólida azul corresponde al R_g del fragmento en agua, los círculos verdes indican el R_g del fragmento a 25 % de EMIM-CL, los cuadros rojos representan el R_g del fragmento a 45 % de EMIM-CL y los triángulos negros la R_g del fragmento a 65 %.

En la Figura 6.1 se muestra el R_g del fragmento cuando partió de la conformación inicial cerrada y en la Figura 6.2 el caso donde partió de la conformación abierta. Se

puede ver para ambos casos que donde se presentó un menor R_g es a 0% y a 25% de EMIM-CL fue donde se presentó un R_g mayor, teniendo un valor de hasta ≈ 1.5 nm, también a 25% es donde se observaron mayores fluctuaciones. Se puede ver para ambos casos (configuración inicial abierta/cerrada) que al aumentar la concentración de EMIM-CL el R_g disminuye hasta ≈ 1.3 nm (45% y 65%) aunque en ningún caso llega a estar tan compacto el fragmento como en agua.

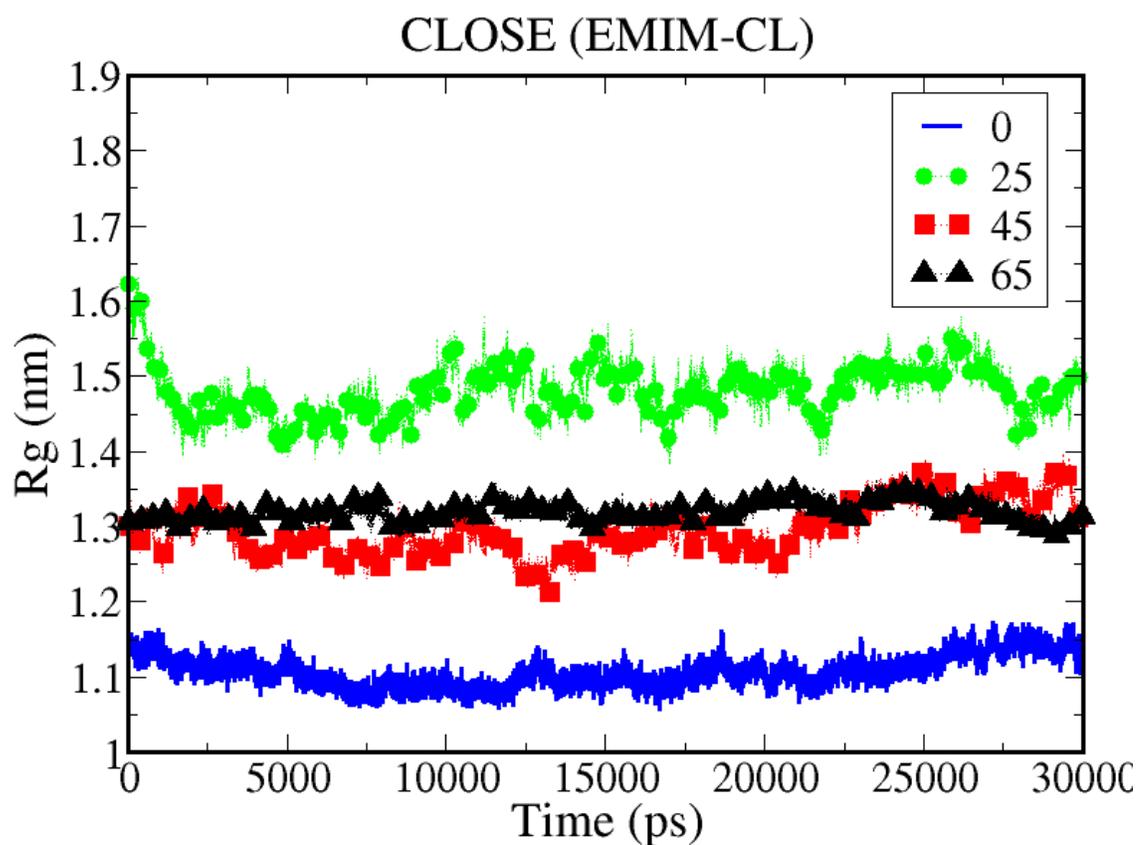


Figura 6.1: R_g vs t (ps) del fragmento de ApoA1, partiendo de la configuración cerrada. La línea sólida azul corresponde al R_g del fragmento en agua, los círculos verdes indican el R_g del fragmento a 25% de EMIM-CL, los cuadros rojos representan el R_g del fragmento a 45% de EMIM-CL y los triángulos negros la R_g del fragmento a 65%.

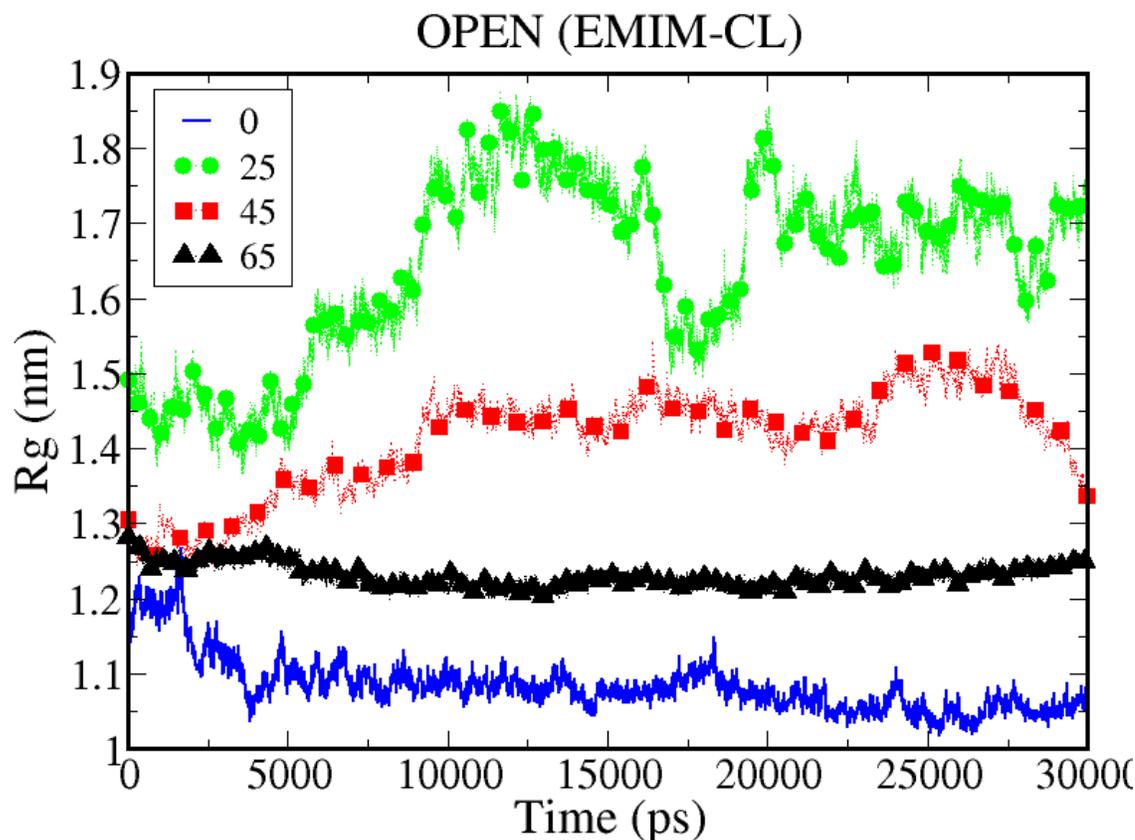


Figura 6.2: R_g vs t (ps) del fragmento de ApoA1, partiendo de la conformación abierta. La línea sólida azul corresponde al R_g del fragmento en agua, los círculos verdes indican el R_g del fragmento a 25 % de EMIM-CL, los cuadros rojos representan el R_g del fragmento a 45 % de EMIM-CL y los triángulos negros la R_g del fragmento a 65 %.

En la Figura 6.3 se muestra el promedio del R_g con respecto la concentración de EMIM-CL para las diferentes conformaciones del fragmento de ApoA1, los cuadrados representan el promedio del R_g de aquellos sistemas donde el fragmento de ApoA1 partió de la configuración abierta (open), los círculos corresponden a el promedio de R_g para aquellos sistemas donde el fragmento de ApoA1 partió de la configuración cerrada (close), las líneas punteadas son una guía para el ojo, y la línea sólida es la interpolación de los promedios del R_g de los sistemas que partieron de la configuración abierta (a excepción del fragmento en agua).

Se puede ver que la diferencia máxima existente entre los promedios del R_g para

los diferentes sistemas es de $\sim 0,16$ nm y se presenta entre los casos a 25 % de EMIM-CL, que son aquellos donde se presentó el mayor número de fluctuaciones. Se puede ver que el R_g partiendo de la configuración abierta disminuye de manera casi lineal conforme aumentamos la concentración de EMIM-CL (sin contar el caso del agua), esto se comprueba con la interpolación realizada de los datos (25 %, 45 % y 65 %). El R_g de los casos que partieron de la conformación cerrada presentó más fluctuaciones, el comportamiento del R_g es parecido a la conformación cerrada para los casos de 0 %, 25 % y 45 %, pero a 65 % el R_g aumenta.

En términos generales el R_g es menor en los sistemas libres de líquido iónico (en agua). También se puede observar que el R_g del fragmento de ApoA1 disminuye conforme aumenta la concentración de EMIM-CL, los sistemas donde se presentó un menor número de fluctuaciones en el R_g fueron a 65 % de EMIM-CL.

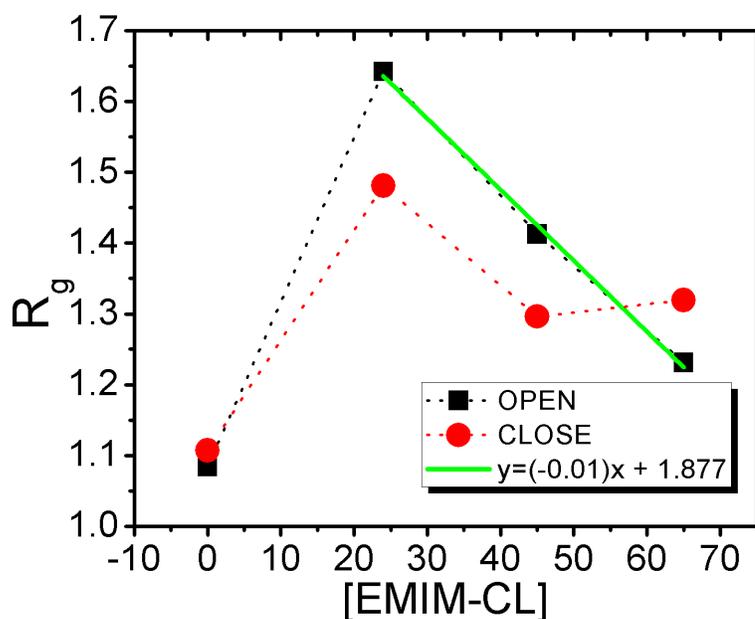


Figura 6.3: Promedio del R_g del fragmento de ApoA1 vs la concentración de EMIM-CL (v/v %). Los cuadros representan los casos donde se partió de la conformación abierta, los círculos corresponden a los sistemas que partieron de la configuración cerrada, las líneas punteadas son una guía para el ojo, y la línea sólida indica la interpolación de los datos correspondientes.

1.2. Desviación de la distancia cuadrática media (RMSD)

El análisis de RMSD mide la distancia entre los mismos residuos con respecto del tiempo, después de haber alineado dos estructuras; da una idea del cambio conformacional que sufre la estructura a lo largo del tiempo. El primer análisis de RMSD que se realizó, fue el del fragmento de la ApoA1 consigo misma tomando como referencia su conformación al inicio de la corrida de producción.

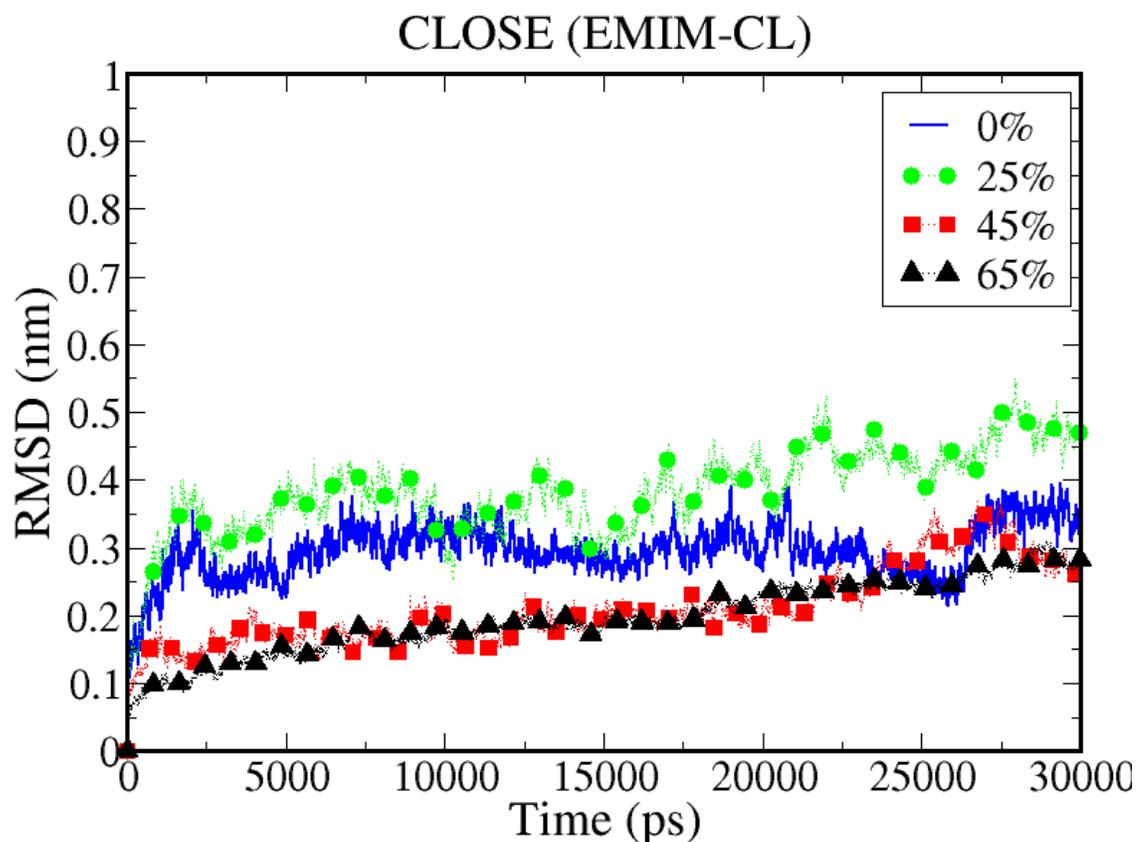


Figura 6.4: RMSD vs t (ps) del fragmento de ApoA1 de los sistemas que partieron de la conformación cerrada. La línea sólida azul corresponde al RMSD del fragmento en agua, los círculos verdes indican el RMSD del fragmento a 25% de EMIM-CL, los cuadros rojos representan el RMSD del fragmento a 45% de EMIM-CL y los triángulos negros la RMSD del fragmento a 65%.

En las Figuras 6.4 y 6.5, se muestran las gráficas del RMSD con respecto del

tiempo para los diferentes sistemas. La línea sólida azul corresponde al RMSD del fragmento en agua, los círculos verdes indican el RMSD del fragmento a 25% de EMIM-CL, los cuadros rojos representan el RMSD del fragmento a 45% de EMIM-CL y los triángulos negros la RMSD del fragmento a 65%. En la Figura 6.4 se muestra el RMSD del fragmento de la ApoA1 con respecto del tiempo, para los sistemas donde el fragmento de ApoA1 partió de la conformación cerrada.

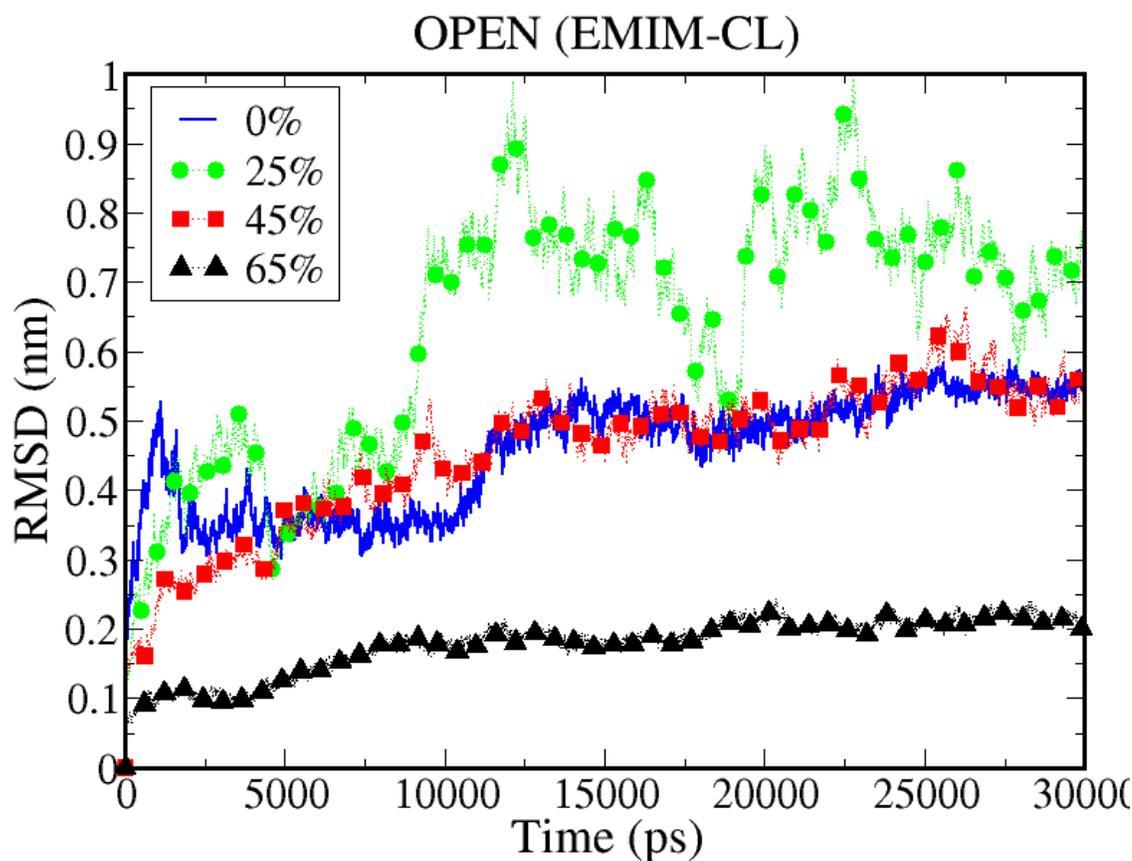


Figura 6.5: RMSD vs t (ps) del fragmento de ApoA1 de los sistemas que partieron de la conformación abierta. La línea sólida azul corresponde al RMSD del fragmento en agua, los círculos verdes indican el RMSD del fragmento a 25% de EMIM-CL, los cuadros rojos representan el RMSD del fragmento a 45% de EMIM-CL y los triángulos negros la RMSD del fragmento a 65%.

En la Figura 6.5 tenemos el RMSD para los casos de los sistemas que partieron de la configuración abierta; siguiendo el mismo código de colores y símbolos. A 0% y 45% de EMIM-CL presentan un RMSD muy similar, se presentó el mayor número

de fluctuaciones a 25 % de EMIM-CL y a 65 % de EMIM-CL fue el sistema donde se presentó menos fluctuaciones y un RMSD menor.

En general para ambos sistemas (conformación abierta/cerrada), para 65 % de EMIM-CL es donde se presentaron menores fluctuaciones entre la distancia de los residuos, indicando que fue el caso donde la estructura cambió menos a lo largo del tiempo en comparación con el resto; y para 25 % de EMIM-CL es donde se presentaron mayores fluctuaciones a lo largo del tiempo, esto indica que fue el sistema donde cambió más la estructura de la ApoA1 a lo largo del tiempo.

1.3. Área superficial accesible al solvente (SASA)

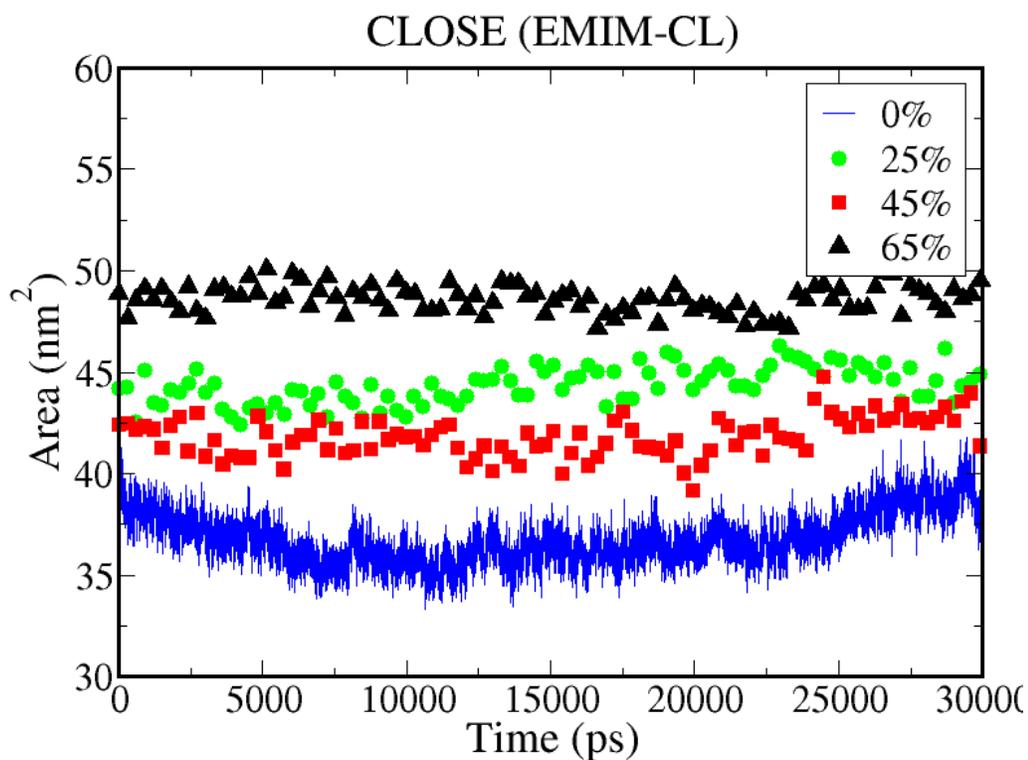


Figura 6.6: Gráfica de la superficie accesible al solvente del fragmento de ApoA1 de los sistemas que partieron de una configuración cerrada. La línea sólida azul corresponde el SASA del fragmento en agua, los círculos verdes indican el SASA del fragmento a 25 % de EMIM-CL, los cuadros rojos representan el SASA del fragmento a 45 % de EMIM-CL y los triángulos negros el SASA del fragmento a 65 %.

En este apartado se muestran las gráficas del área superficial accesible al solvente (SASA) del fragmento de ApoA1 con respecto al tiempo.

En las Figuras 6.6 y 6.7 se muestra el SASA de los diferentes sistemas. La línea sólida azul corresponde el SASA del fragmento en agua, los círculos verdes indican el SASA del fragmento a 25 % de EMIM-CL, los cuadros rojos representan el SASA del fragmento a 45 % de EMIM-CL y los triángulos negros el SASA del fragmento a 65 %.

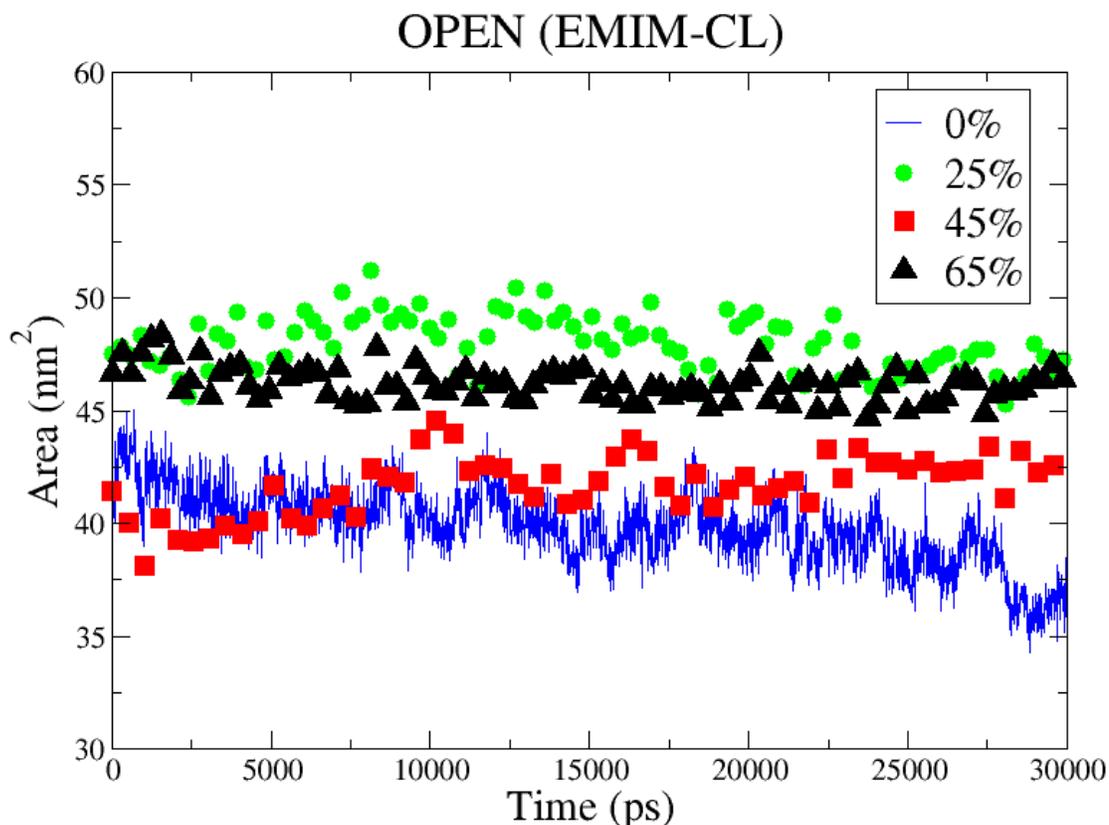


Figura 6.7: Gráfica de la superficie accesible al solvente del fragmento de ApoA1 de los sistemas que partieron de una configuración abierta. La línea sólida azul corresponde el SASA del fragmento en agua, los círculos verdes indican el SASA del fragmento a 25 % de EMIM-CL, los cuadros rojos representan el SASA del fragmento a 45 % de EMIM-CL y los triángulos negros el SASA del fragmento a 65 %.

En la Figura 6.6 se muestra el SASA de los sistemas donde el fragmento de ApoA1

partió de la configuración cerrada. Se puede ver como a 0 % de EMIM-CL es donde el fragmento de ApoA1 tiene la menor superficie accesible al solvente lo cual se puede relacionar a la compactación del fragmento y a 65 % de EMIM-CL tuvo la mayor superficie accesible al solvente lo que nos indica que la estructura se encuentra más abierta en el medio.

En la Figura 6.7 se muestra el SASA de aquellos sistemas que partieron de la conformación abierta. Se tiene el mismo código de colores que la conformación cerrada (azul=0 %, verde=25 %, roja=45 % y negra=65 % de EMIM-CL). La concentración donde se muestra menos expuesta la superficie del fragmento de ApoA1 es en la concentración de 25 % y 65 %, mostrándose menor cantidad de fluctuaciones en el valor a 65 %. Donde se ve que el fragmento de ApoA1 tiene menor superficie expuesta al solvente es cuando se encuentra únicamente en agua.

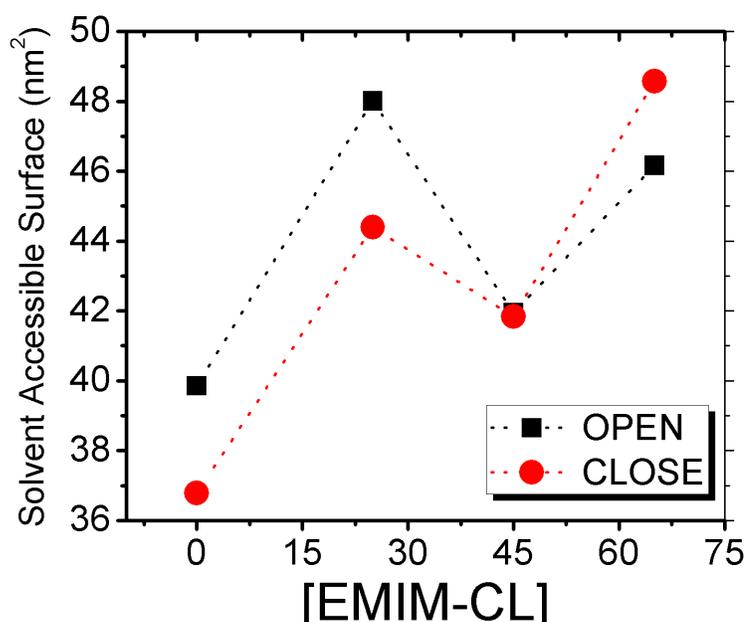


Figura 6.8: Promedio del área superficial accesible al solvente del fragmento de ApoA1 con respecto las concentraciones de EMIM-CL (v/v %). Los cuadros representan los sistemas que partieron de la conformación abierta, los círculos corresponden a los sistemas que partieron de la conformación cerrada y las líneas punteadas son solo una guía para el ojo.

En la Figura 6.8 se muestra una gráfica del promedio del área superficial accesible al solvente con respecto la concentración de EMIM-CL para todos los casos, los cuadros corresponden a los sistemas que partieron de la conformación abierta,

los círculos indican los casos que partieron de la configuración cerrada, y la línea punteada es solo una guía para el ojo.

Se puede observar que de manera general sin importar de que conformación partió el fragmento de la ApoA1, en agua es donde muestra menor superficie accesible y a 65 % de EMIM-CL es donde muestra la mayor superficie accesible al solvente, mientras que para las otras concentraciones se encuentran en medio de ambos casos.

Se puede ver en Figura 6.8 que a pesar de las diferencias, el comportamiento de los sistemas conforme cambia la concentración de EMIM-CL es parecido; donde hay menor SASA es a 0 %, después aumenta en 25 %, a 45 % disminuye el SASA presentándose un valor casi igual para ambas conformaciones y a 65 % es donde se tiene mayor superficie accesible.

Esto también se puede relacionar con la conformación del fragmento de ApoA1 que adoptó para cada sistema (véase Figura 6.13), donde hay menos superficie accesible es en aquellos casos donde el fragmento está más compacto y tiene sus estructuras secundarias, conforme aumenta la concentración de EMIM-CL se abre la estructura dejando más superficie accesible al solvente.

1.4. Gráfica de Ramachandran

La gráfica de Ramachandran es una gráfica que contiene la información de los ángulos Phi y Psi de cada residuo y de esta manera permite realizar una interpretación de cuál es la estructura secundaria que adopta el fragmento.

En las Figuras 6.9 y 6.10 se muestran las gráficas de Ramachandran de aquellas estructuras del fragmento de ApoA1 que partieron de las diferentes conformaciones. Los cuadros amarillos señalan la parte de la gráfica de Ramachandran que caracteriza a las estructuras β -plegada y los óvalos (rojo y azul) señalan las zonas típicas de las estructuras α -hélice.

En la Figura 6.9 se muestran las gráficas de Ramachandran para aquellos sistemas donde el fragmento de ApoA1 partió de la conformación cerrada.

Se puede observar en las Figuras 6.9 y 6.10 que el fragmento va perdiendo estructuras secundarias conforme aumenta la concentración de EMIM-CL, permitiéndole a los residuos alcanzar ángulos no permitidos en estructuras secundarias.

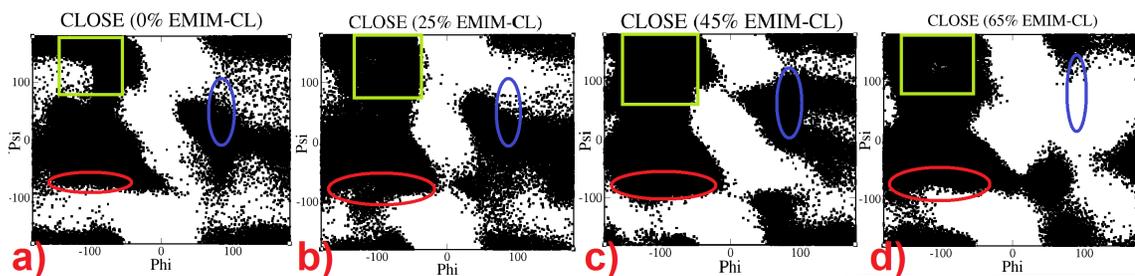


Figura 6.9: Gráficas de Ramachandran de las configuraciones finales, partiendo de la configuración cerrada. Los paneles corresponden: a) Es la conformación en agua (0%), b) en 25 %, c) en 45 % y d) en 65 % de EMIM-CL. Las figuras de colores indican las zonas representativas de estructuras secundarias: cuadro amarillo= β -plegada y ovalo (rojo/azul)= α -hélice (giro derecha/izquierda).

Como se puede ver en el caso de los sistemas que partieron de una conformación cerrada, a 0% tiene principalmente dos α -hélices, una que gira hacia la izquierda (ovalo azul) y otra que gira hacia la derecha (ovalo rojo), se puede ver como conforme aumenta la concentración de EMIM-CL va perdiendo la estructura de α -hélice. Los residuos del fragmento que ya han perdido toda estructura secundaria generan ruido a la gráfica de Ramachandran, produciendo señal en los espacios típicos de otras estructuras (β -plegada).

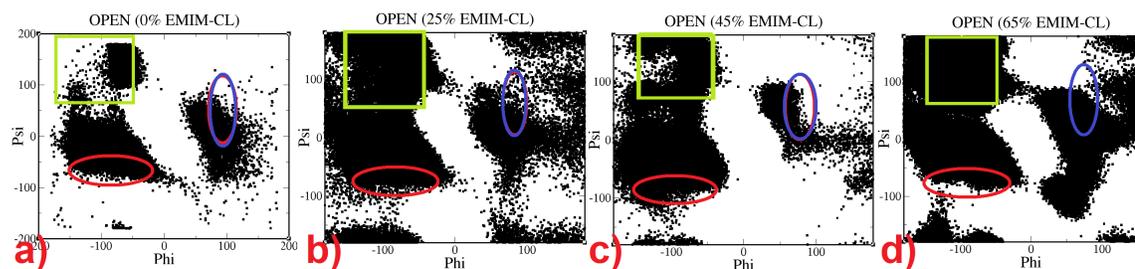


Figura 6.10: Gráfica de Ramachandran de las configuraciones finales, partiendo de la configuración inicial abierta. Los incisos corresponden a las concentraciones de EMIM-CL: a) Es la conformación en agua (0%), b) en 25 %, c) en 45 % y d) en 65 %. Las figuras de colores indican las zonas representativas de estructuras secundarias: cuadro amarillo= β -plegada y ovalo (rojo/azul)= α -hélice (giro derecha/izquierda).

Las gráficas de Ramachandran para los diferentes casos nos ayudan a comprobar lo que se verá más adelante en la Figura 6.13. Nos indica que conforme aumenta la concentración de EMIM-CL, los residuos alcanzan ángulos no permitidos y muestran señal en zonas características de otras estructuras, esto es simplemente ruido debido

a la falta de estructura secundaria.

1.5. Distancia cuadrática media de las fluctuaciones (RMSF).

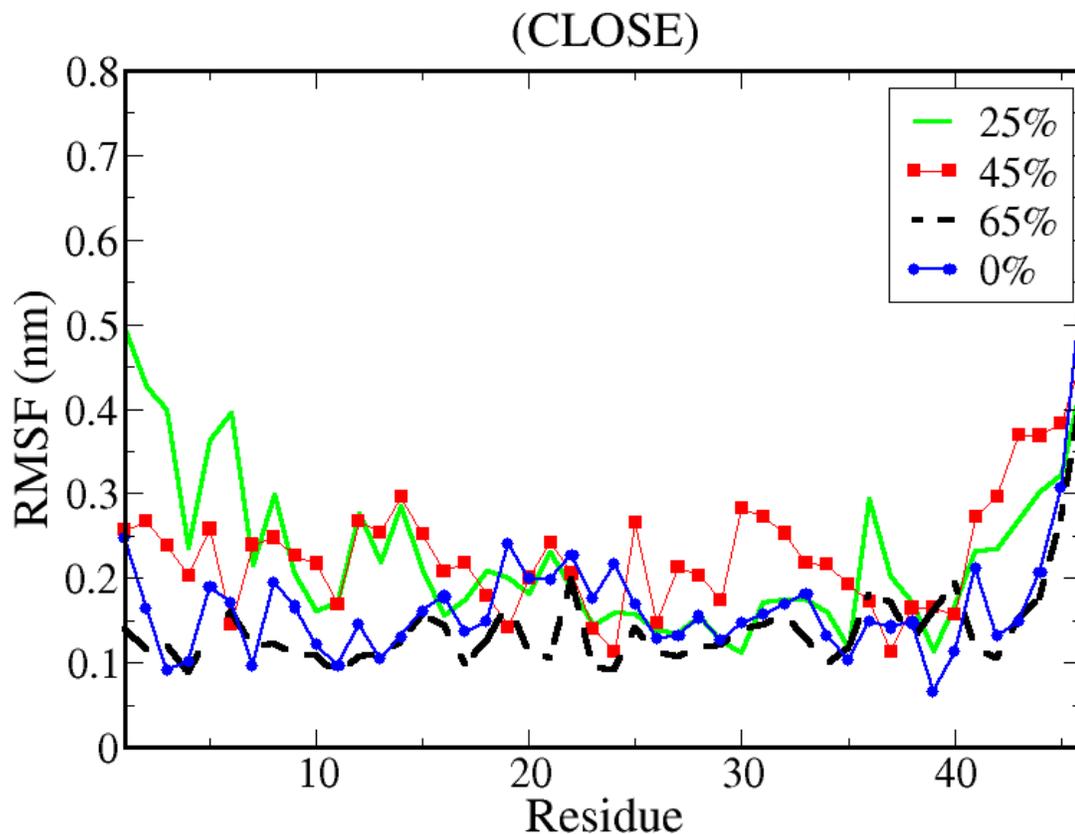


Figura 6.11: RMSF contra los residuos del fragmento de ApoA1, partiendo de la conformación cerrada. La línea azul con círculos representan el RMSF del fragmento en agua, la línea solida verde corresponde al RMSF del fragmento a 25 % de EMIM-CL, la línea roja con cuadros indica el RMSD del fragmento a 45 % de EMIM-CL y la línea discontinua negra corresponde al RMSF del fragmento a 65 % de EMIM-CL.

La Distancia cuadrática media de las fluctuaciones (RMSF) calcula las fluctuaciones alrededor de la posición de equilibrio de cada uno de los residuos de una estructura polimérica. De esta forma se cuantifica la estabilidad conformacional de dicha estructura.

En las Figuras 6.11 y 6.12 se muestran las gráficas del RMSF con respecto del tiempo, para los diferentes sistemas. La línea azul con círculos representan el RMSF del fragmento en agua, la línea sólida verde corresponde al RMSF del fragmento a 25 % de EMIM-CL, la línea roja con cuadros indica el RMSD del fragmento a 45 % de EMIM-CL y la línea discontinua negra corresponde al RMSF del fragmento a 65 % de EMIM-CL.

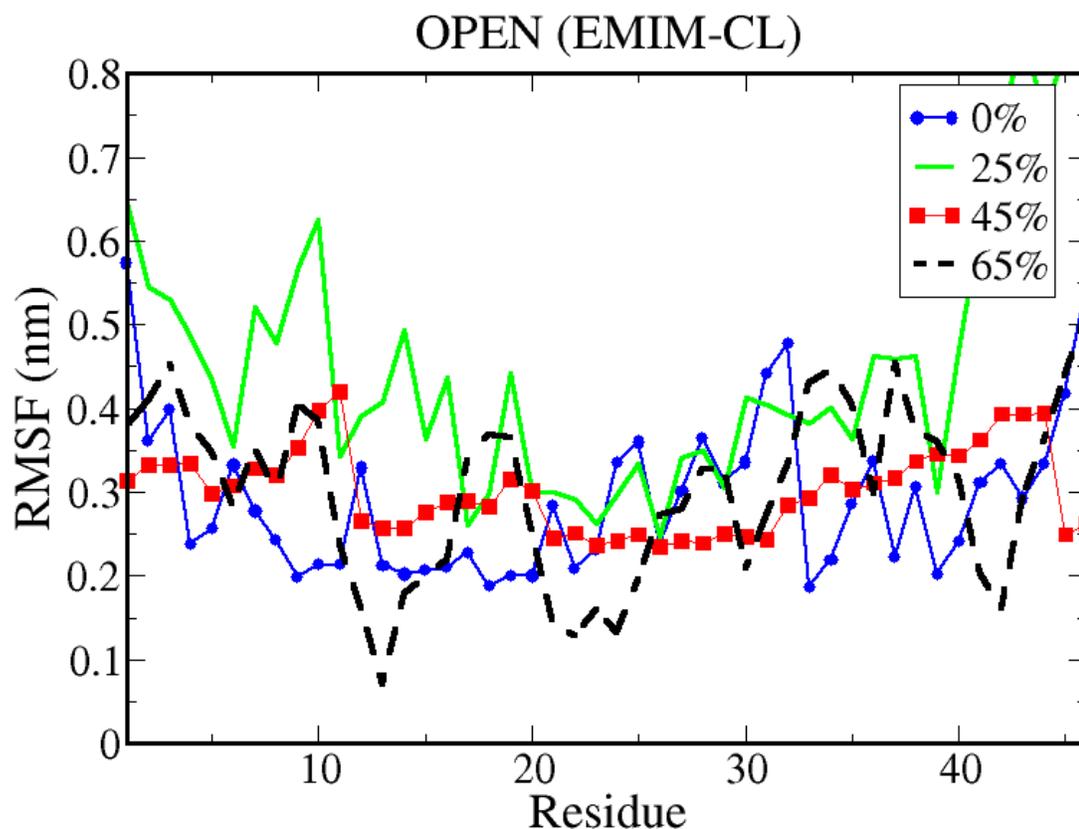


Figura 6.12: RMSF contra los residuos del fragmento de ApoA1, partiendo de la conformación abierta. La línea azul con círculos representan el RMSF del fragmento en agua, la línea sólida verde corresponde al RMSF del fragmento a 25 % de EMIM-CL, la línea roja con cuadros indica el RMSD del fragmento a 45 % de EMIM-CL y la línea discontinua negra corresponde al RMSF del fragmento a 65 % de EMIM-CL.

En la Figura 6.11 se muestra la gráfica de las RMSF por residuo de ApoA1 para los sistemas que partieron de la conformación cerrada. Como se puede ver en la gráfica el fragmento de ApoA1 presenta un menor número de fluctuaciones a 65 % lo

que de alguna manera indica que es la concentración donde los residuos del fragmento presentan menor movilidad en comparación con los otros sistemas.

En la Figura 6.12 se muestra el RMSF para el los casos que partieron de la conformación abierta, siguiendo el mismo código de colores y símbolos que en el caso anterior. Se puede ver en la figura que a 25 % de EMIM-CL es donde la estructura de ApoA1 presenta mayor movilidad.

Si se comparan las gráficas de las Figuras 6.11 y 6.12, se puede ver como en aquellas conformaciones que partieron de la configuración cerrada, sus residuos presentaron menor movilidad, por lo que se puede pensar que la estructura del fragmento de ApoA1 fue más estable para los diferentes sistemas en comparación con aquellas que partieron de la conformación abierta; por lo que se podría decir que aquellos sistemas donde se partió de la conformación abierta son inestables en el medio a pesar de ser las mismas concentraciones.

Estabilidad del fragmento en el medio

Tomando como referencia la movilidad que tienen los residuos del fragmento de la ApoA1 (RMSF) en el medio, se puede visualizar la estabilidad de la estructura.

En la Figura 6.13 se muestran la conformación final que adoptó el fragmento de ApoA1, para cada concentración de EMIM-CL, y se muestra también la configuración inicial de la cual partió cada sistema. La tonalidad representa el nivel de estabilidad partiendo del azul marino como la mayor estabilidad y terminando en el rojo como los residuos más inestables.

Se puede apreciar que aquellas conformaciones que partieron de la estructura cerrada son más estables. En particular la mayor estabilidad del fragmento es en 0 % de EMIM-CL y 65 % de EMIM-CL. Las conformaciones que partieron de la conformación abierta presentan mayor inestabilidad. Donde se ve un poco más estable el fragmento es a 25 % de EMIM-CL.

Se puede ver también en la Figura 6.13 como al ir aumentando la concentración de EMIM-CL, el fragmento de ApoA1 va perdiendo sus estructuras secundarias (α -hélices). Además, podemos notar que las regiones inestables a cierta concentración de líquidos iónicos tienden a desnaturalizarse cuando a concentración del EMIM-CL aumenta, quedando casi completamente desnaturalizada a 65 % de EMIM-CL. También se puede ver como aquellas estructuras donde se partió de la conformación

cerrada mantienen por más tiempo sus estructuras secundarias.

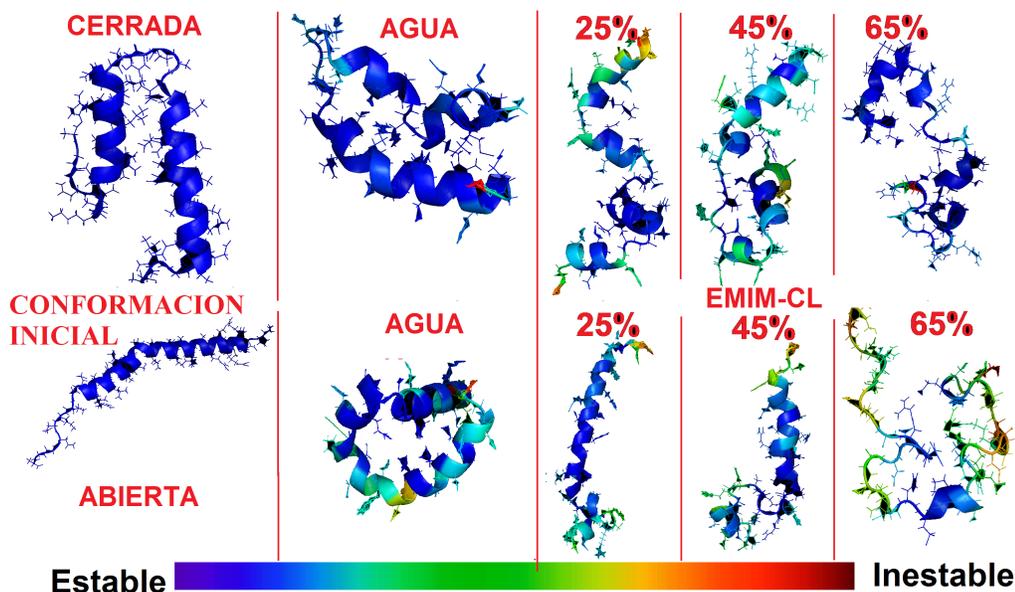


Figura 6.13: Estructura final para cada concentración de EMIM-CL (v/v %), el color azul marino indica estabilidad del fragmento y el rojo indica inestabilidad.

1.6. Resumen de la descripción de resultados

De acuerdo a los resultados presentados previamente, independientemente a la conformación de la que partió cada sistema se puede ver que al incrementar la concentración de EMIM-CL (v/v %) se presentan los siguientes cambios: El radio de giro es siempre mayor en presencia del líquido iónico con respecto con el fragmento de ApoA1 en agua pura. También se observa una disminución de radio de giro al aumentar la concentración de EMIM-CL. El RMSF indica que los sistemas donde la estructura del fragmento fue más estable fueron a 65 % y donde presentó el mayor número de fluctuaciones fue a 25 % de EMIM-CL (Figuras 6.12 y 6.11); como se pudo ver en le Figura 6.13 el fragmento de ApoA1 va perdiendo sus estructuras secundarias de α -hélice de forma gradual; el área superficial de ApoA1 va aumentando con la concentración del líquido iónico (Figura 6.8).

La evidencia mostrada nos indica que el fragmento de ApoA1 va perdiendo sus estructuras secundarias (desnaturalizando) en presencia de EMIM-CL, lo cual promueve una estructura más abierta.

2. Interpretación de resultados

Para empezar a entender lo que le está ocurriendo al fragmento de ApoA1 en el medio es necesario conocer la manera en que interaccionan el fragmento de ApoA1 con el solvente y las moléculas del solvente entre sí.

Para esto primero calculamos el número de puentes de hidrógeno del sistema, para entender como interactúa el fragmento de ApoA1 con el solvente. Después se procedió a calcular la función de distribución radial para conocer cómo se estructuran las moléculas del solvente alrededor del fragmento de ApoA1 y como se acomodan entre sí.

2.1. Número de enlaces de hidrógeno (NEH)

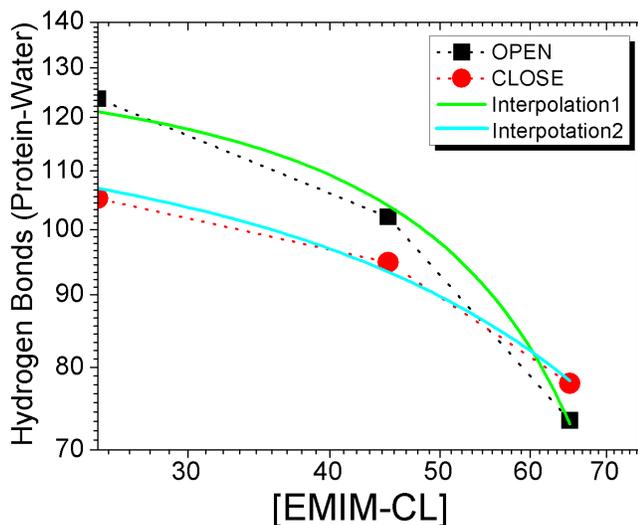


Figura 6.14: NHE entre el fragmento de la ApoA1 y agua con respecto la concentración de EMIM-CL. Los cuadros corresponden a la conformación inicial abierta (open) y los círculos representan el NHE de los casos que partieron de la configuración cerrada (close), las líneas punteadas son una guía para el ojo, la línea sólida es la interpolación exponencial de los datos correspondientes.

Los puentes de hidrógeno que se forman entre los mismos residuos de una estructura proteica, es una de las principales razones para que se estabilicen o formen las

estructuras secundarias correctamente, como α -hélices o β -plegadas; la formación de puentes de hidrógeno de la proteína con el medio o entre sus residuos hidrófobos también influyen en la estabilidad de la estructura.

Se calculó el número de puentes de hidrógeno que se formaban en cada sistema a lo largo del tiempo (ya sea el fragmento de ApoA1 consigo mismo o el fragmento de ApoA1 con el agua), estos datos se promediaron y se procedió a graficar el número promedio de puentes de hidrógeno con respecto a la concentración de EMIM-CL.

En las Figuras 6.14 y 6.15 se muestran el número de puentes de hidrógeno con respecto a la concentración de EMIM-CL, que se forman entre el fragmento de la ApoA1 ó con el agua. Los cuadros corresponden a la conformación inicial abierta (open) y los círculos representan el NHE de los casos que partieron de la configuración cerrada (close), las líneas punteadas son una guía para el ojo, la línea sólida es la interpolación exponencial de los datos correspondientes (línea sólida verde=conformación abierta y la línea sólida azul =conformación cerrada).

En la Figura 6.14 se muestra el número promedio de puentes de hidrógeno con respecto a la concentración de EMIM-CL, que se forman entre el fragmento de la ApoA1 y el agua circundante. La interpolación de ambos casos (conformación abierta/cerrada) se realizó con una función exponencial del mismo tipo ($Ae^{-x/b} + y_0$), la cual era la que simulaba de forma funcional los datos. Se puede ver en la Figura 6.14 como el número de puentes de hidrógeno formados entre el fragmento de la ApoA1 y el medio disminuye de manera exponencial para ambos casos (conformación abierta/cerrada). El decaimiento más rápido es para aquellos sistemas que partieron de la conformación abierta, mientras que en los sistemas que partieron de la conformación cerrada disminuyen de manera ligeramente exponencial.

En la Figura 6.15 se encuentran la gráfica del número de puentes de hidrógeno que se forman (en promedio) entre el fragmento de ApoA1 consigo mismo con respecto a la concentración de EMIM-CL. La interpolación para los diferentes sistemas fue con una gráfica exponencial de diferente tipo. Se puede ver cómo, debido al cambio significativo entre sistemas en la conformación abierta, la interpolación no se ajusta muy bien a los datos; y en los datos correspondientes a la conformación cerrada se ajusta a los datos. De acuerdo con lo que se ve en la Figura 6.15 los valores en las concentraciones 0%, 25% y 45% de EMIM-CL son similares, pero disminuyendo el número de enlaces de manera abrupta a 65% de EMIM-CL para ambos casos.

Como se puede ver en las Figuras 6.14 y 6.15 conforme aumenta la concentración de EMIM-CL disminuye de manera ligeramente exponencial el número de puentes

de hidrógeno que se forman entre el fragmento de ApoA1 y el agua circundante. También disminuyen de manera abrupta el número de puentes de hidrógeno que se forman entre el mismo fragmento de ApoA1 a 65% de EMIM-CL.

Esto implica que la interacción del fragmento de ApoA1 con el agua disminuye. Aparte podemos interpretar de las Figuras 6.14 y 6.15 que de alguna manera el líquido iónico disminuye la capacidad del agua para formar puentes de hidrógeno con el fragmento. En consecuencia el equilibrio entre hidrofobicidad e hidrofiliidad que estabiliza las estructuras secundarias se rompe debido a que no hay interacción agua-proteína que las estabilice, por lo tanto el fragmento de ApoA1 tiende a desnaturalizarse.

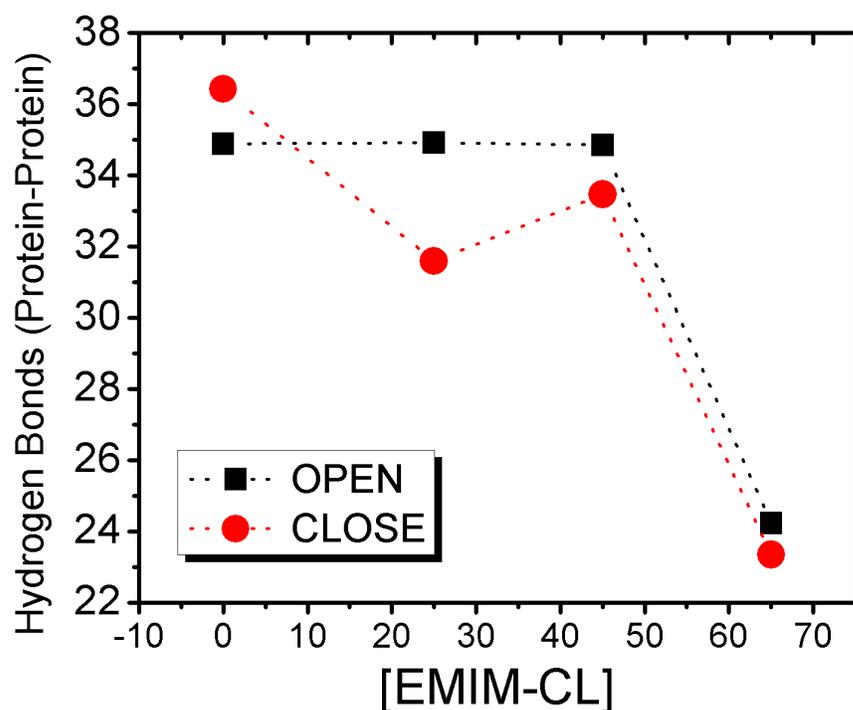


Figura 6.15: NHE entre el propio fragmento de ApoA1 con respecto la concentración de EMIM-CL. Los cuadros corresponden a la conformación inicial abierta (open) y los círculos representan el NHE de los casos que partieron de la configuración cerrada (close), las líneas punteadas son una guía para el ojo.

2.2. Función de distribución radial (RDF)

La RDF nos da la probabilidad de encontrar una partícula alrededor de otra a una distancia r . El análisis de la RDF se realizó tomando el centro de la masa de las moléculas como referencia.

Función de distribución radial tomando como referencia el fragmento de ApoA1 de las diferentes moléculas del solvente

En las Figuras 6.16, 6.17 y 6.18 se muestra la $g(r)$ con respecto a la distancia r (nm), de las diferentes moléculas del solvente (CL^- , $EMIM^+$ y agua), tomando como referencia el fragmento de ApoA1.

Se presenta en la misma gráfica de la RDF de ambas conformaciones iniciales (cerrada y abierta). El color rojo es del sistema que partió de la conformación abierta y el color negro es del sistema que partió de la conformación cerrada. Para las Figuras 6.16 y 6.17 el código de colores y símbolos es el siguiente: la línea sólida indica la RDF del agua, la línea con círculos corresponde al RDF del CL^- (conformación abierta), la línea con cuadros rojos representa el RDF de $EMIM^+$ de la conformación abierta, la línea con triángulos corresponde al RDF del CL^- de la conformación cerrada, los cuadros negros indican el RDF de $EMIM^+$ de la conformación cerrada. Para la Figura 6.18 el código de colores es el mismo que el de las figuras anteriores a esta, pero la simbología es la siguiente: la línea sólida representa el RDF del agua, la línea discontinua el RDF del CL^- y la línea con pequeños círculos el RDF de $EMIM^+$.

▪ RDF a 25 % de EMIM-CL

En la Figura 6.16 se muestra la RDF para CL^- , $EMIM^+$ y agua en el sistema con 25 % de EMIM-CL tomando como referencia el fragmento de ApoA1 para ambas conformaciones iniciales.

En la Figura 6.16 se puede apreciar que el comportamiento de las moléculas fue independiente a la conformación inicial del fragmento de ApoA1. La gráfica nos indica que los primeros vecinos del fragmento en su mayoría son moléculas de agua, en segundo lugar están los cationes y más alejados del fragmento se encuentran los aniones, esto nos da una ligera idea de que posiblemente el fragmento debido a la interacción que tiene con el agua presenta una carga parcialmente negativa lo cual provoca que estén más cerca los $EMIM^+$ s.

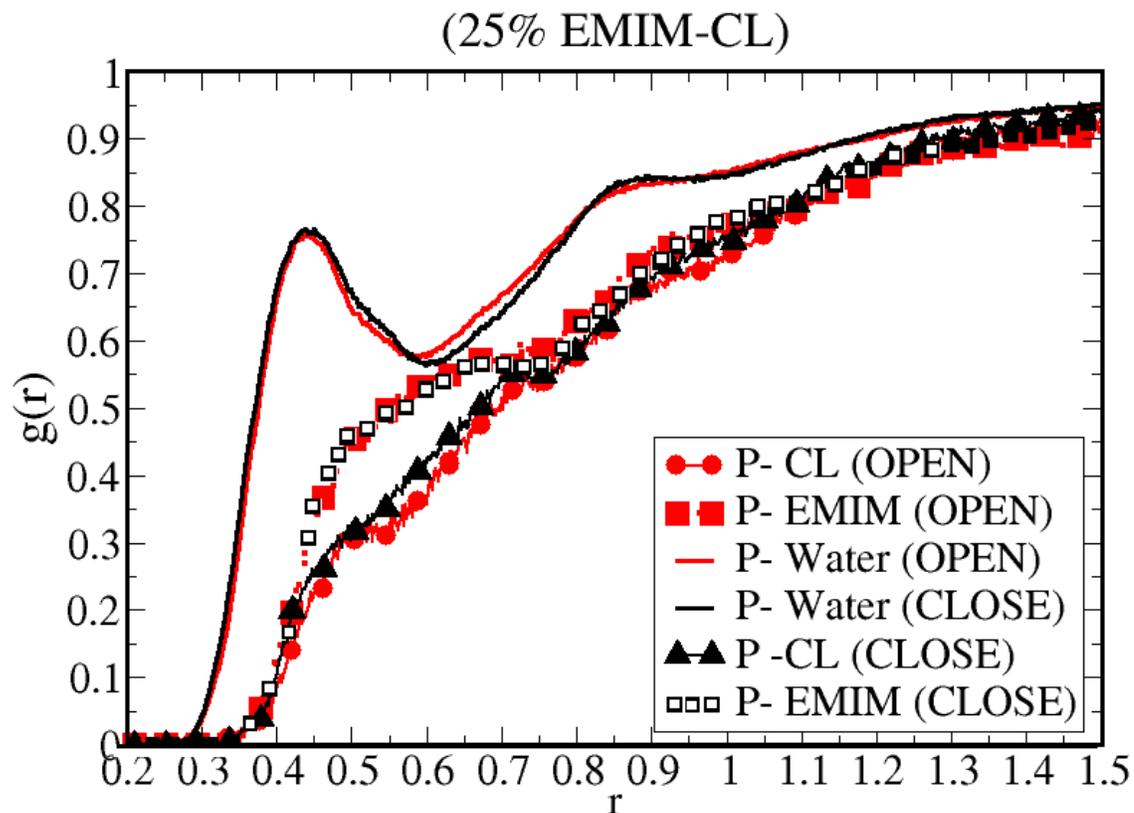


Figura 6.16: RDF del CL^- , $EMIM^+$ y Agua para 25 % EMIM-CL tomando como referencia el fragmento de ApoA1. El color rojo es del sistema que partió de la conformación abierta y el color negro es del sistema que partió de la conformación cerrada. La línea solida indica la RDF del agua, la línea con círculos corresponde al RDF del CL^- (conformación abierta), la línea con cuadros rojos rellenos representa el RDF de $EMIM^+$ de la conformación abierta, la línea con triángulos corresponde al RDF del CL^- de la conformación cerrada, los cuadros huecos indican el RDF de $EMIM^+$ de la conformación cerrada.

▪ **RDF a 45 % de EMIM-CL**

En la Figura 6.17 se muestra el RDF, para CL^- , $EMIM^+$ y agua, en una concentración de 45 % de EMIM-CL. Se puede ver como al igual que en el caso de 25 % el comportamiento de las moléculas del solvente fue prácticamente independiente a la conformación inicial del fragmento y son muy similares las curvas entre sí, con excepción de un pico que se presenta del RDF del CL^- para la conformación inicial cerrada. En la gráfica podemos ver como nuevamente

se forma primero una capa de agua alrededor del fragmento, después tenemos a los cationes y más lejos la presencia de los aniones.

La Figura 6.17, en comparación con la Figura 6.16, presentó un poco más de ruido, la altura de las curvas del RDF del agua disminuyeron, la altura de los picos del RDF del catión y del anión aumentaron.

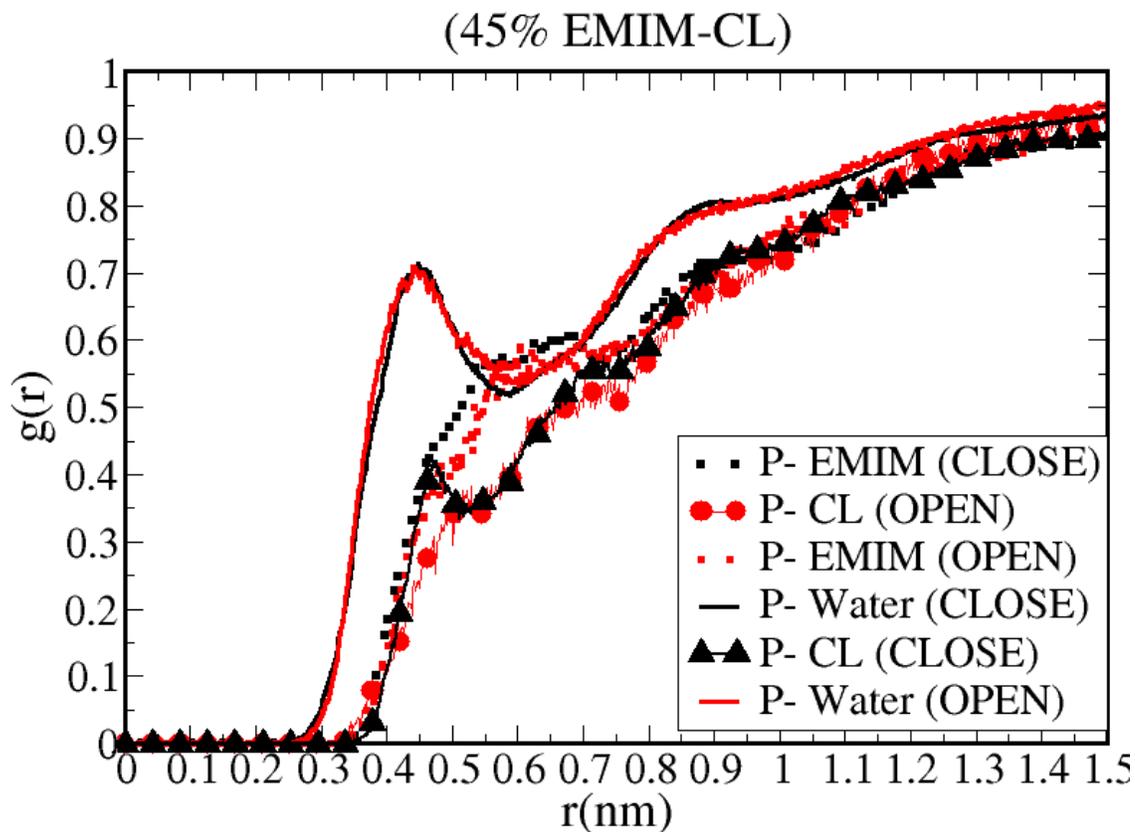


Figura 6.17: RDF del CL^- , $EMIM^+$ y Agua para 45 % EMIM-CL tomando como referencia el fragmento de ApoA1. El color rojo indica los casos que partieron de la conformación abierta y el color negro aquellos que partieron de la conformación cerrada. La línea sólida indica la RDF del agua, la línea con círculos corresponde al RDF del CL^- (conformación abierta), la línea con cuadrados rojos representa el RDF de $EMIM^+$ de la conformación abierta, la línea con triángulos corresponde al RDF del CL^- de la conformación cerrada, los cuadrados negros indican el RDF de $EMIM^+$ de la conformación cerrada.

- RDF a 65 % de EMIM-CL

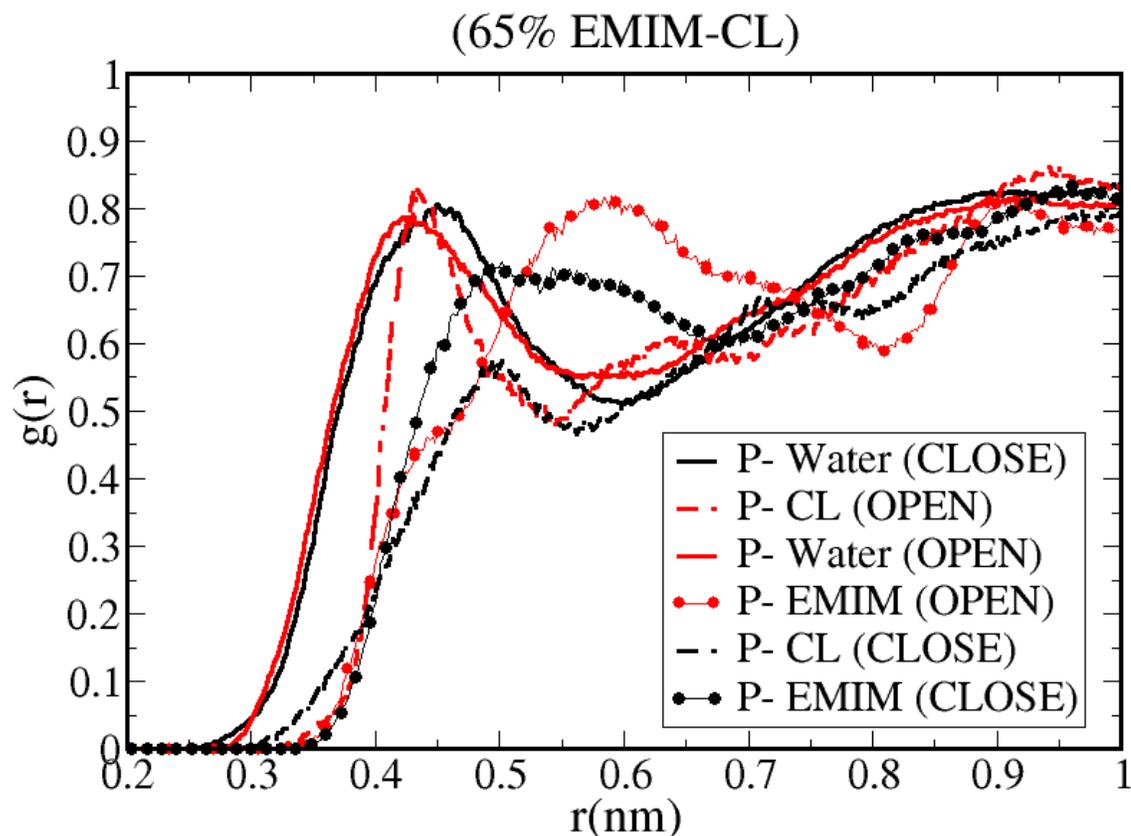


Figura 6.18: RDF del CL^- , $EMIM^+$ y Agua para 65 % EMIM-CL tomando como referencia el fragmento de ApoA1. El color rojo indica los casos que partieron de la conformación abierta y el color negro aquellos que partieron de la conformación cerrada. La línea solida indica la RDF del agua, la línea discontinua la RDF del CL^- y la línea punteada la RDF del $EMIM^+$.

En la Figura 6.18 se muestra el RDF, para CL^- , $EMIM^+$ y el agua, en una concentración de 65 % de EMIM-CL tomando como referencia el fragmento de ApoA1, el color rojo indica los casos donde se partió de la conformación abierta y el color negro aquellos sistemas que partieron de la configuración cerrada, el código de colores y símbolos es el siguiente: las líneas solidas corresponden al RDF del agua, las líneas discontinuas indican el RDF del CL^- y las líneas con círculos indican el RDF de $EMIM^+$. A esta concentración hubo mayores discrepancias de la forma de las RDFs entre los sistemas, y hubo más ruido en el resultado de las RDFs.

Tenemos que hay una primera capa de agua, volvió a crecer la altura de la

RDF del agua (a en comparación de la Figura 6.17), pero también aumentó la altura del pico de $EMIM^+$ quedando casi a la misma que a la del agua, y en el caso de la conformación abierta aparece un gran pico del RDF del CL^- probablemente debido a que pudo estar en contacto más fácilmente con lo de los residuos cargados.

■ **Discusión**

La RDF fue prácticamente independiente de la conformación inicial del fragmento de ApoA1, el comportamiento de las RDFs de los diferentes sistemas fue similar, pero cambiaba la altura del pico conforme cambia la concentración de EMIM-CL, también conforme aumentó la concentración de EMIM-CL aumentó la altura de la RDF de $EMIM^+$ y en menor grado la del CL^- . Se vio que primero tenemos una capa de agua alrededor del fragmento, después el catión y al final el anión, y conforme aumento la concentración de EMIM-CL aumento la probabilidad de encontrar ambos iones cerca del fragmento.

Función de distribución radial tomando como referencia residuos específicos del fragmento de ApoA1

A partir de este punto, los resultados presentados para la RDF fueron de los sistemas que partieron de la conformación abierta. Esto debido a que se vio que el acomodo de las moléculas del solvente era independiente a la conformación inicial del fragmento de ApoA1 y debido a que la conformación final del fragmento era similar para ambos casos. Para determinar precisamente los sitios de interacción de los iones con la proteína se calcularon las RDF tomando como referencia los diferentes tipos de residuos del fragmento (cargados, hidrófilos e hidrófobos).

Se usó el mismo código de colores y símbolos para las gráficas de este apartado, la línea sólida negra representa el RDF del agua, la línea punteada roja con círculos corresponde al RDF del anión CL^- y la línea punteada verde con triángulos indican el RDF del catión $EMIM^+$.

■ **RDF tomando como referencia los residuos parcialmente positivos del fragmento de ApoA1**

Para el análisis se tomaron de referencia los residuos parcialmente positivos del fragmento de ApoA1 según como se catalogan típicamente en los libros de texto [35] despreciando efectos sobre la carga de los residuos debido al solvente, los residuos catalogados como positivos del fragmento de ApoA1 corresponden

al 8, 10, 12, 14, 19, 21, 30, 36 y 41, en las gráficas se presenta la RDF global de dichos residuos,

En la Figura 6.19, 6.20 y 6.21 se muestran las gráficas de la RDFs del agua, CL^- y $EMIM^+$, tomando como referencia los residuos positivos del fragmento para los diferentes porcentajes de EMIM-CL en el solvente.

En la Figura 6.19 se muestra el sistema con 25 % de EMIM-CL. Se puede ver en la gráfica que los primeros vecinos son moléculas de agua, y después moléculas del anión CL^- como se hubiese esperado debido a la carga parcial de los residuos, y el catión se encuentra desplazado por dichas moléculas.

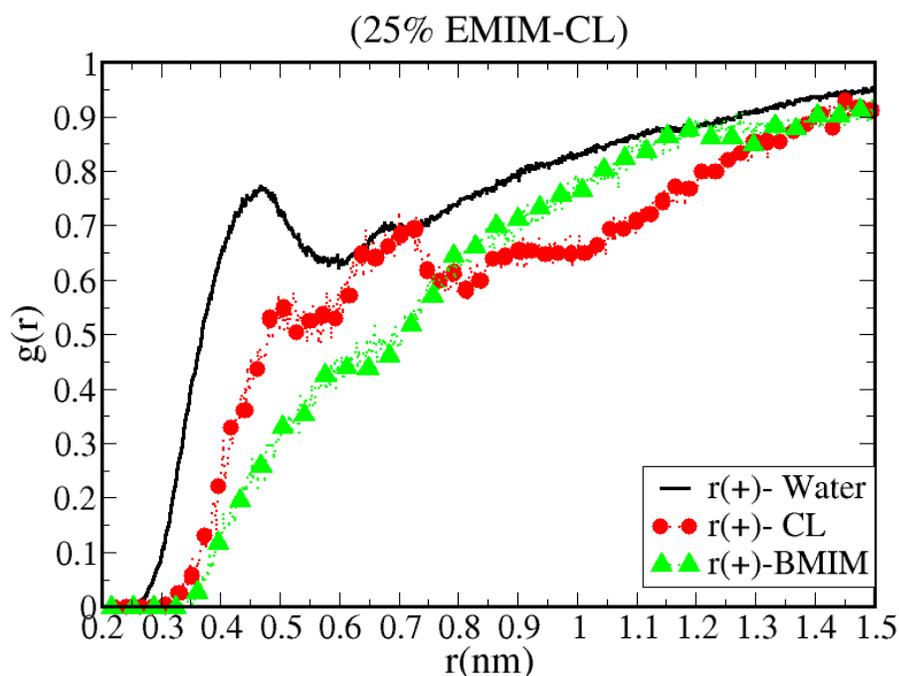


Figura 6.19: RDF del CL^- , $EMIM^+$ y Agua para 25 % EMIM-CL tomando como referencia los residuos positivos del fragmento de ApoA1. La línea sólida negra representa el RDF del agua, la línea punteada roja con círculos corresponde al RDF del anión CL^- y la línea punteada verde con triángulos indican el RDF del catión $EMIM^+$.

En la Figura 6.20 se muestra el sistema con 45 % de EMIM-CL. En la gráfica se puede ver como la altura de las RDFs del agua y del CL^- están casi a la misma altura, el acomodo de las moléculas sigue siendo similar a la Figura 6.19 primero tenemos agua y después de esta el CL^- , pero ya hay mayor probabilidad de

encontrar CL^- alrededor de los residuos, y el catión sigue desplazado en el medio.

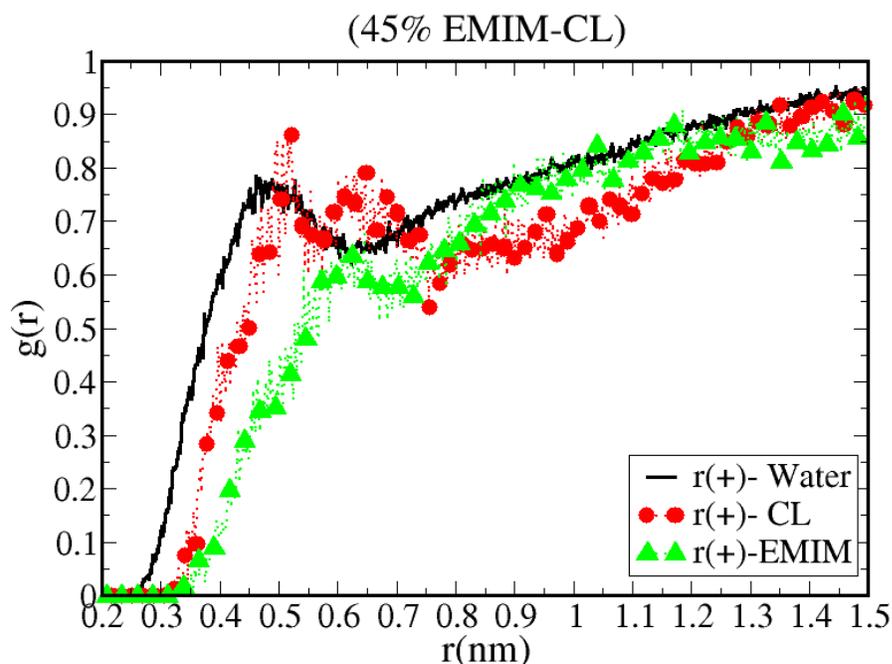


Figura 6.20: RDF del CL^- , $EMIM^+$ y Agua para 45 % EMIM-CL tomando como referencia los residuos positivos del fragmento de ApoA1. La línea sólida negra representa el RDF del agua, la línea punteada roja con círculos corresponde al RDF del anión CL^- y la línea punteada verde con triángulos indican el RDF del catión $EMIM^+$.

En la Figura 6.21 se muestra el sistema con 65 % de EMIM-CL. En este sistema ya cambia un poco el acomodo de las moléculas en comparación con la Figura 6.19 y 6.20. Tenemos un mayor tamaño en las curvas del CL^- éste se encuentra con mayor probabilidad como primer vecino, y después de éste esta la misma probabilidad de encontrar agua o el catión.

En las Figuras 6.19, 6.20 y 6.21 se puede ver como conforme se aumenta la concentración de EMIM-CL, aumenta la posibilidad de encontrar CL^- cerca de los residuos positivos, el agua siempre está presente cerca pero conforme aumenta EMIM-CL el catión empieza a tomar presencia cerca de los residuos, probablemente debido a como se acumularon los aniones cerca los residuos, los cationes son atraídos por estos. Como el fragmento se encuentra casi desnaturalizado las moléculas del solvente pueden acercarse a los residuos.

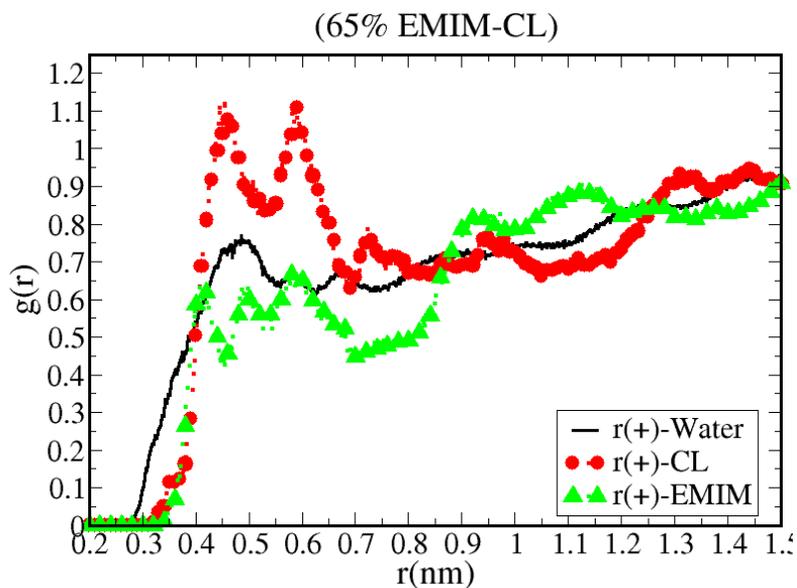


Figura 6.21: RDF del CL^- , $EMIM^+$ y Agua para 65% EMIM-CL tomando como referencia los residuos positivos del fragmento de ApoA1. La línea sólida negra representa el RDF del agua, la línea punteada roja con círculos corresponde al RDF del anión CL^- y la línea punteada verde con triángulos indican el RDF del catión $EMIM^+$.

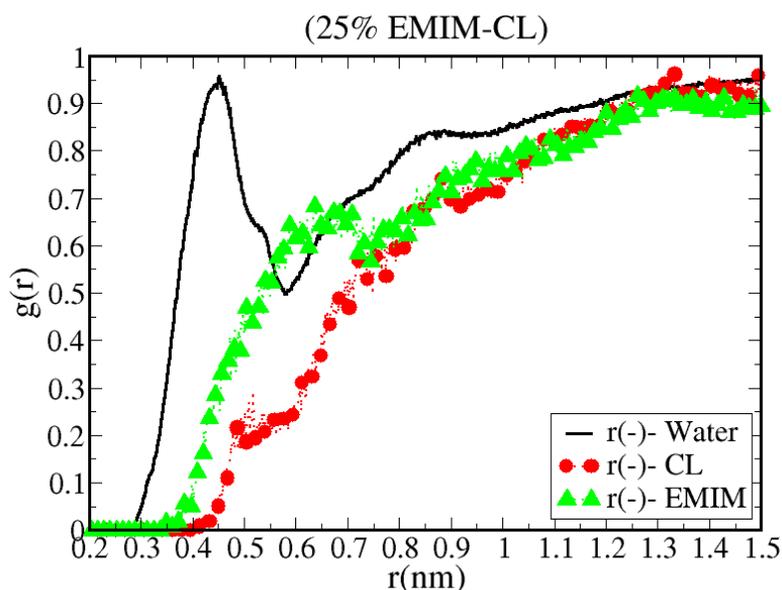


Figura 6.22: RDF del CL^- , $EMIM^+$ y Agua para 25% EMIM-CL tomando como referencia los residuos negativos del fragmento de ApoA1. La línea sólida negra representa el RDF del agua, la línea punteada roja con círculos corresponde al RDF del anión CL^- y la línea punteada verde con triángulos indican el RDF del catión $EMIM^+$.

■ **RDF tomando como referencia los residuos parcialmente negativos del fragmento de ApoA1**

Para el análisis se tomaron de referencia los residuos parcialmente negativos del fragmento de ApoA1 [35], despreciando efectos sobre la carga de los residuos debido al solvente, los residuos negativos del fragmento de ApoA1 corresponden al 5, 6, 9, 16, 27, 28, 38 y 42.

En la Figura 6.22, 6.23 y 6.24 se muestran las gráficas de la RDFs del agua, CL^- y $EMIM^+$, tomando como referencia los residuos negativos del fragmento para los diferentes porcentajes de EMIM-CL en el solvente.

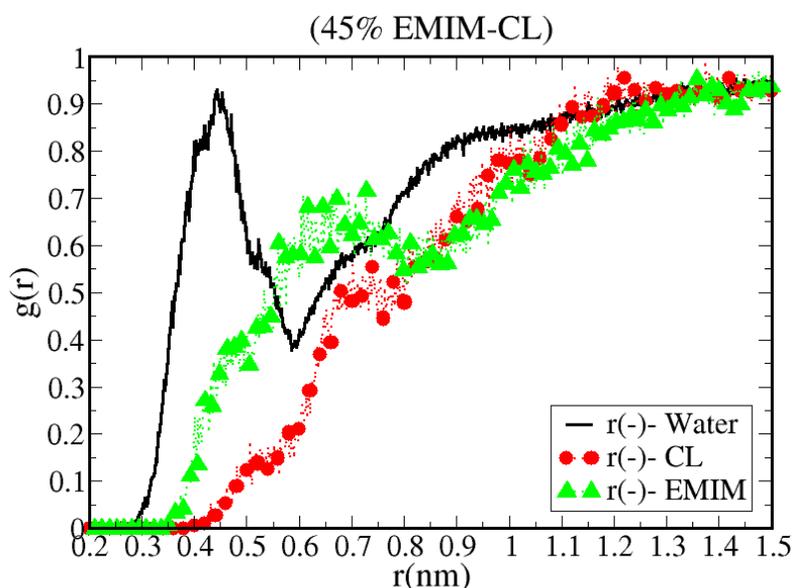


Figura 6.23: RDF del CL^- , $EMIM^+$ y Agua para 45% EMIM-CL tomando como referencia los residuos negativos del fragmento de ApoA1. La línea sólida negra representa el RDF del agua, la línea punteada roja con círculos corresponde al RDF del anión CL^- y la línea punteada verde con triángulos indican el RDF del catión $EMIM^+$.

En la Figura 6.22 se muestra la RDF de las diferentes moléculas en el sistema a 25% de EMIM-CL, se puede ver que los primeros vecinos de los residuos son moléculas de agua, después tenemos al catión $EMIM^+$ y el anión queda desplazado, la $g(r)$ del agua llega hasta ≈ 0.95 siendo el pico más alto en la gráfica lo que nos indica que el agua es lo que se encuentra más probablemente más cerca de dichos residuos. Que el catión presente mayor presencia cerca de

los residuos que el anión era lo que se esperaba debido a la naturaleza de los residuos.

En la Figura 6.23 se muestra la RDF de las diferentes moléculas en el sistema a 45 % de EMIM-CL. Se puede ver que el acomodo de las moléculas en el medio es muy similar al caso de 25 % de EMIM-CL (Figura 6.22, solo que el resultado presenta más ruido, pero el tamaño y la forma de las curvas es muy similar. Tenemos primero agua, después el catión y queda desplazado el anión.

En la Figura 6.24 se muestra la RDF del sistema a 65 % de EMIM-CL. En este caso el comportamiento de las curvas cambia en comparación con las otras gráficas (Figura 6.22 y 6.23), debido a que la probabilidad de encontrar cerca al catión aumentó casi la misma que tener moléculas de agua. Aunque el agua sigue apareciendo como primeros vecinos y empieza a tener presencia el anión.

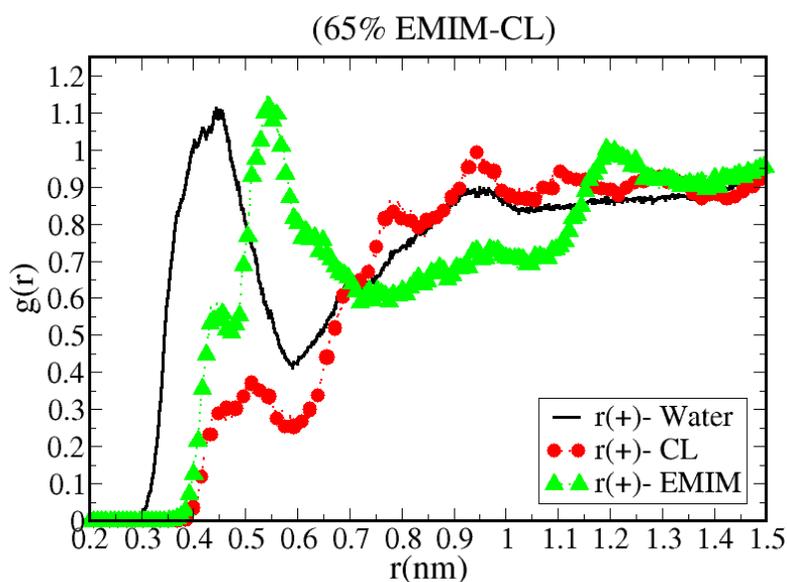


Figura 6.24: RDF del CL^- , $EMIM^+$ y Agua para 65 % EMIM-CL tomando como referencia los residuos negativos del fragmento de ApoA1. La línea sólida negra representa el RDF del agua, la línea punteada roja con círculos corresponde al RDF del anión CL^- y la línea punteada verde con triángulos indican el RDF del catión $EMIM^+$.

En general se vio que los residuos parcialmente negativos del fragmento tienen como primeros vecinos moléculas de agua y después de estas se encuentra el catión, el anión queda desplazado por estas moléculas. Se vio que conforme

aumenta la concentración de EMIM-CL la presencia del catión aumenta cerca del residuo y empieza a verse la presencia del anión en el medio.

- **RDF tomando como referencia los residuos hidrófobos del fragmento de ApoA1**

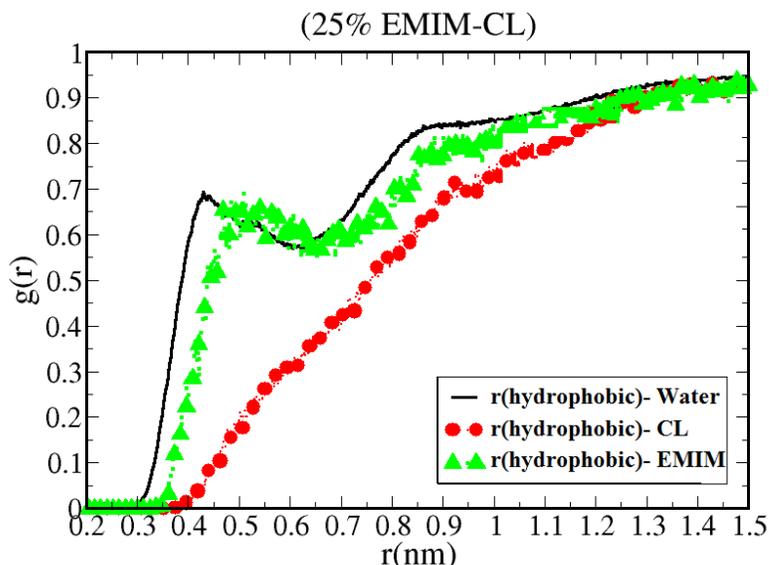


Figura 6.25: RDF del CL^- , $EMIM^+$ y Agua para 25 % EMIM-CL tomando como referencia los residuos hidrófobos del fragmento de ApoA1. La línea sólida negra representa el RDF del agua, la línea punteada roja con círculos corresponde al RDF del anión CL^- y la línea punteada verde con triángulos indican el RDF del catión $EMIM^+$.

Se tomaron de referencia aquellos residuos catalogados como hidrófobos (2, 3, 7, 11, 13, 15, 17, 18, 22, 23, 24, 29, 33, 34, 35, 37, 39, 40 y 46), estos son los cuales se encuentran mayoritariamente en el fragmento de ApoA1 constituyendo el 41 % de los residuos totales. En las Figuras 6.25, 6.26 y 6.27 se muestran las RDF de las moléculas tomando como referencia los residuos hidrófobos del fragmento.

En la Figura 6.25 se muestra las RDF del sistema a 25 % de EMIM-CL. Se puede apreciar como lo que se encuentra más cerca de los residuos son moléculas de agua, pero la probabilidad de tener al catión es muy similar a la de tener agua y el anión queda desplazado por estas moléculas.

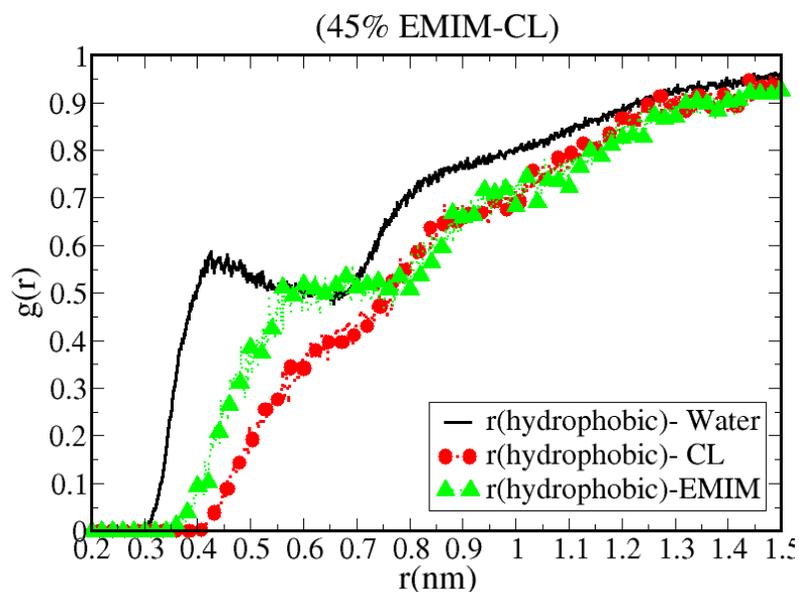


Figura 6.26: RDF del CL^- , $EMIM^+$ y Agua para 45% EMIM-CL tomando como referencia los residuos hidrófobos del fragmento de ApoA1. La línea sólida negra representa el RDF del agua, la línea punteada roja con círculos corresponde al RDF del anión CL^- y la línea punteada verde con triángulos indican el RDF del catión $EMIM^+$.

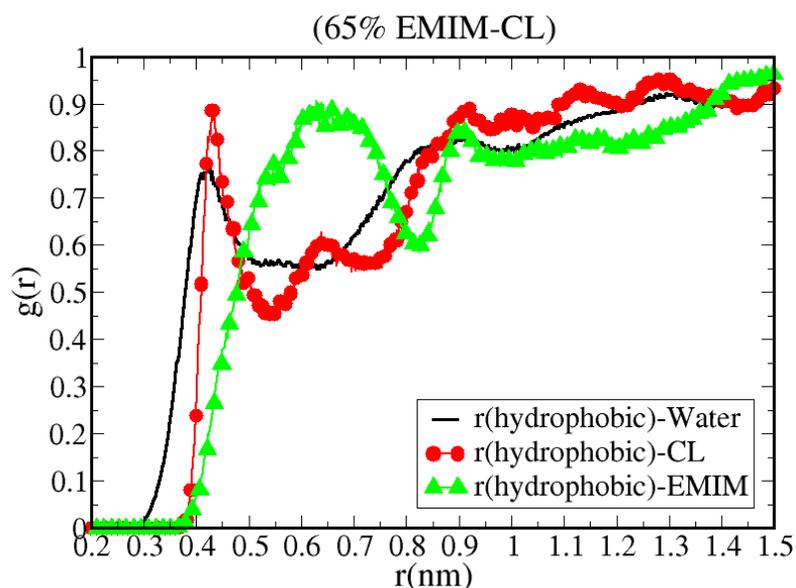


Figura 6.27: RDF del CL^- , $EMIM^+$ y Agua para 65% EMIM-CL tomando como referencia los residuos hidrófobos del fragmento de ApoA1. La línea sólida negra representa el RDF del agua, la línea punteada roja con círculos corresponde al RDF del anión CL^- y la línea punteada verde con triángulos indican el RDF del catión $EMIM^+$.

En la Figura 6.26 se muestra las RDF del sistema a 45 % de EMIM-CL. En este sistema la altura de los picos disminuye, toma importancia la primera capa de agua, después tenemos al catión y empieza a sentir la presencia del anión.

En la Figura 6.27 se muestra las RDF del sistema a 65 % de EMIM-CL. En este caso el comportamiento del sistema cambia, aumenta la altura de las RDF, pero la del catión y la del anión son más grandes que la del agua, tenemos primeramente agua, pero la probabilidad de tener aniones aumenta y después de estos se siente la presencia de los cationes en el medio.

En general a pesar de ser residuos hidrófobos en todos los casos se presentan como primeros vecinos las moléculas de agua, a 25 % y 45 % tenemos cerca de los residuos al $EMIM^+$ pero a 65 % toma mucho lugar el CL^- siendo el más probable encontrarle cerca al residuo.

- **RDF tomando como referencia los residuos hidrófilos del fragmento de ApoA1**

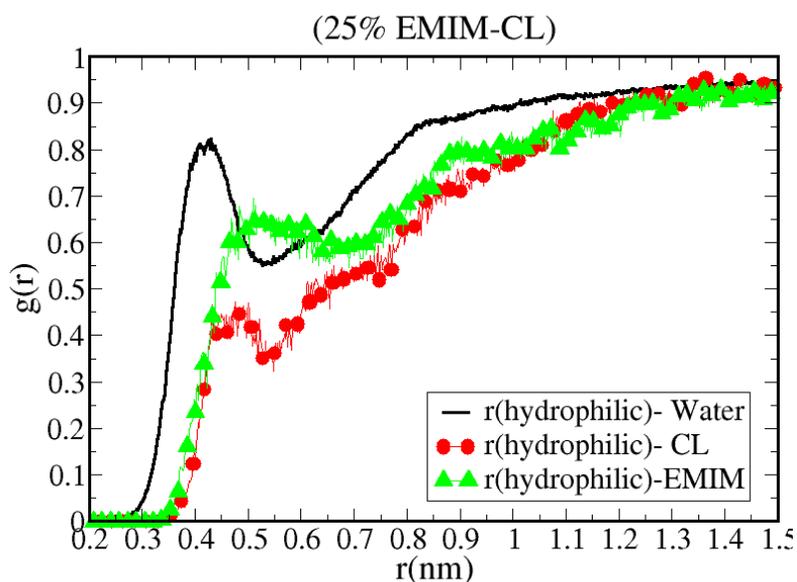


Figura 6.28: RDF del CL^- , $EMIM^+$ y Agua para 25% EMIM-CL tomando como referencia los residuos hidrófilos del fragmento de ApoA1. La línea sólida negra representa el RDF del agua, la línea punteada roja con círculos corresponde al RDF del anión CL^- y la línea punteada verde con triángulos indican el RDF del catión $EMIM^+$.

Se tomó de referencia aquellos residuos descritos como residuos polares no

cargados o hidrófilos (1, 4, 20, 25, 26, 31, 43, 44 y 45). En las Figuras 6.28, 6.29 y 6.30 se muestra la RDF de las moléculas tomando como referencia de manera global los residuos hidrófilos.

En la Figura 6.28 se muestra las RDF de las moléculas, del sistema a 25 % de EMIM-CL. Se ve que los primero vecinos de los residuos son moléculas de agua, después el catión y el anión queda desplazado.

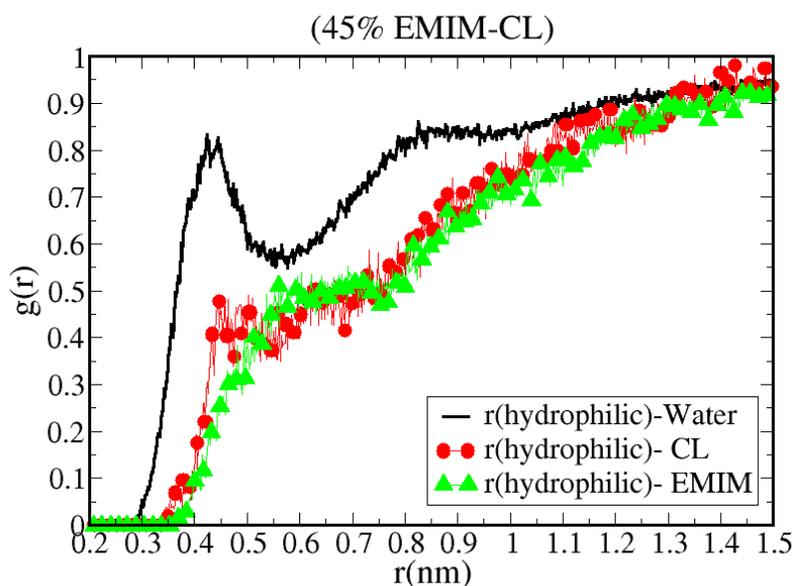


Figura 6.29: RDF del CL^- , $EMIM^+$ y Agua para 45 % EMIM-CL tomando como referencia los residuos hidrófilos del fragmento de ApoA1. La línea sólida negra representa el RDF del agua, la línea punteada roja con círculos corresponde al RDF del anión CL^- y la línea punteada verde con triángulos indican el RDF del catión $EMIM^+$.

En la Figura 6.29 se muestra las RDF del sistema a 45 % de EMIM-CL. La forma de la $g(r)$ del agua es la misma que en el caso a 25 %, entonces tenemos para la primera capa moléculas de agua, después el catión y el anión adquieren casi la misma importancia para la segunda capa de moléculas.

En la Figura 6.30 se muestra la RDF del sistema a 65 % de EMIM-CL. En este sistema cambia el comportamiento de la $g(r)$, la RDF del agua disminuye su altura y el agua se acomoda casi a la misma distancia que el anión, pero el anión tiene mayor probabilidad de estar alrededor de los residuos del fragmento, mientras que el catión se encuentra hasta una distancia de ≈ 0.6 nm.

En general se ve que en los primeros sistemas las moléculas de agua son las que se encuentran más cerca de los residuos, pero conforme aumenta el porcentaje de EMIM-CL aumenta la presencia de los iones cerca de los residuos y de cómo el CL^- va acercándose conforme aumento la concentración, mientras que el catión quedo desplazado.

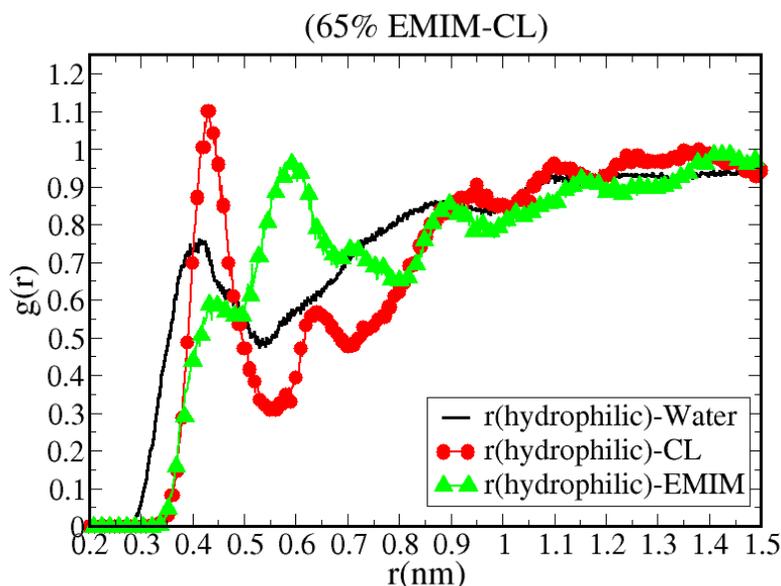


Figura 6.30: RDF del CL^- , $EMIM^+$ y Agua para 65 % EMIM-CL tomando como referencia los residuos hidrófilos del fragmento de ApoA1. La línea sólida negra representa el RDF del agua, la línea punteada roja con círculos corresponde al RDF del anión CL^- y la línea punteada verde con triángulos indican el RDF del catión $EMIM^+$.

■ **Discusión**

El comportamiento de las moléculas del solvente fue diferente dependiendo de las características de los residuos, en todos los casos se presentaron como primeros vecinos moléculas de agua y conforme fue aumentando la concentración de EMIM-CL, la presencia de los iones alrededor de estos fue cobrando importancia.

Para el caso de los residuos parcialmente cargados se presentó como se esperaba debido a sus cargas, para los residuos positivos cobró más importancia el anión CL^- y para los residuos negativos fue el catión $EMIM^+$. Con los residuos hidrófobos e hidrófilos se comportaron de una manera a 25 % y 45 % y a 65 %

cambio el comportamiento de las RDF, en ambos casos el CL^- a 65 % casi domino sobre la presencia del agua.

Función de distribución radial de las moléculas del solvente

Para todas las gráficas de esta sección se usó el mismo código de colores. Los colores indican la concentración de EMIM-CL, 25 % =negro, 45 %=rojo y 65 %=verde. La línea sólida indica la RDF del Agua, la línea discontinua indica la RDF de CL^- y la línea punteada el RDF del $EMIM^+$.

- RDF tomando como referencia el catión $EMIM^+$

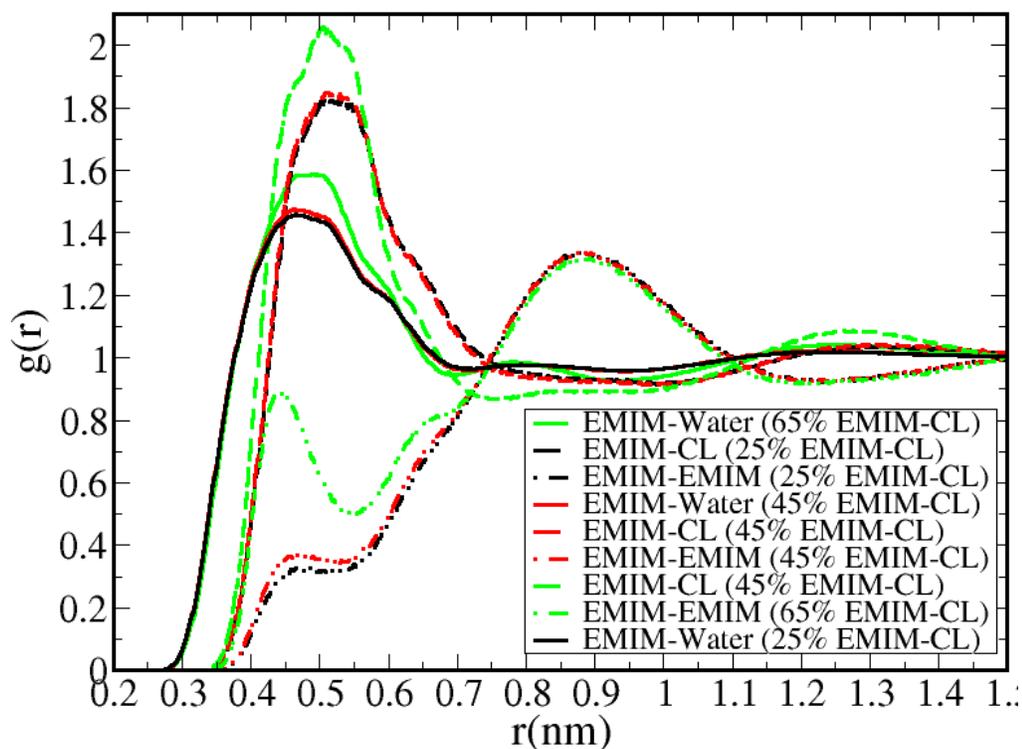


Figura 6.31: RDF del CL^- , $EMIM^+$ y H_2O , tomando como referencia el catión. Los diferentes colores indican la concentración de EMIM-CL, 25 % =negro, 45 %=rojo y 65 %=verde. La línea sólida indica la RDF del Agua, la línea discontinua indica la RDF de CL^- y la línea punteada el RDF del $EMIM^+$.

En las Figura 6.31 se muestra la gráfica del RDF de las moléculas del solvente tomando como referencia el catión.

Se puede apreciar en la gráfica que el comportamiento de las moléculas alrededor del catión es muy similar en las diferentes concentraciones de EMIM-CL. Tenemos como primero vecinos moléculas de agua, después esta el anión y el catión esta desplazado con una distancia de casi el diámetro del $EMIM^+$. Conforme aumenta la concentración del EMIM-CL aumenta la probabilidad de encontrar moléculas de agua y de CL^- cerca de este, mientras que de $EMIM^+$ no hay mucha diferencia.

■ RDF tomando como referencia el anión CL^-

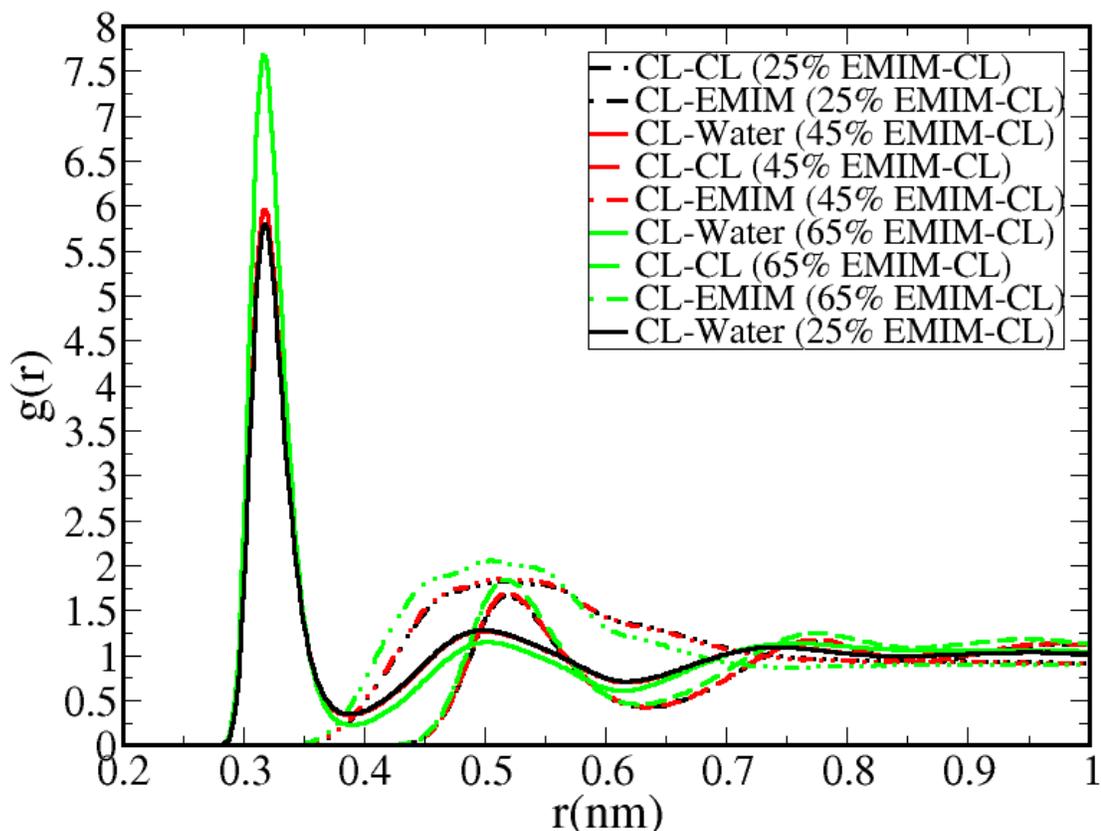


Figura 6.32: RDF del CL^- , $EMIM^+$ y Agua, tomando como referencia el anión. Los diferentes colores indican la concentración de EMIM-CL, 25 % =negro, 45 %=rojo y 65 %=verde. La línea sólida indica la RDF del Agua, la línea discontinua indica la RDF de CL^- y la línea punteada el RDF del $EMIM^+$.

En la Figura 6.32 se muestra las RDF de las moléculas del solvente tomando como referencia el anión. Se puede ver como el comportamiento del RDF de las diferentes moléculas es el mismo, solo aumenta la altura del pico conforme aumenta la concentración de EMIM-CL. El comportamiento que se observó alrededor del CL^- en el sistema con ApoA1 es el mismo que el que se presentó en la caja sin el fragmento (ver Figura 5.8). En la gráfica podemos ver como los primeros vecinos del CL^- son moléculas de agua y conforme aumenta la concentración de EMIM-CL aumenta la probabilidad de encontrar moléculas de agua alrededor del anión, después del agua tenemos la presencia del catión y al último la de otro anión. Sin embargo la probabilidad de encontrar un catión o anión después del agua es muy parecida.

▪ RDF tomando como referencia el agua

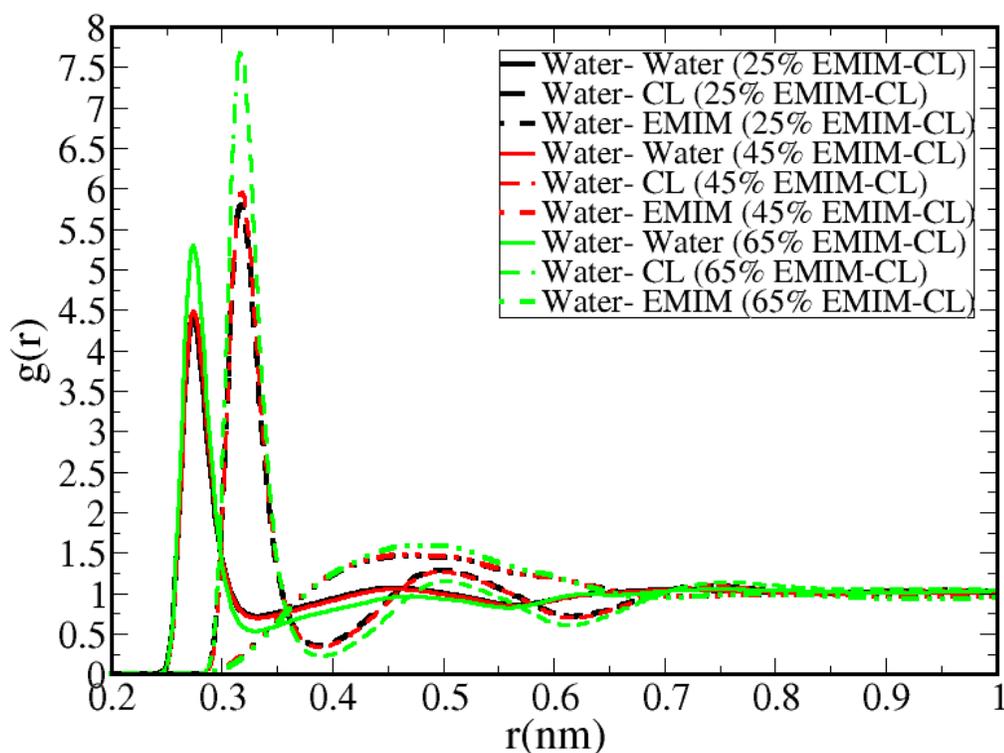


Figura 6.33: RDF del CL^- , $EMIM^+$ y Agua, tomando como referencia el agua. Los diferentes colores indican la concentración de EMIM-CL, 25 % =negro, 45 %=rojo y 65 %=verde. La línea sólida indica la RDF del Agua, la línea discontinua indica la RDF de CL^- y la línea punteada el RDF del $EMIM^+$.

En la Figura 6.33 se muestra la RDF de las diferentes moléculas del solvente para los diferentes porcentajes de EMIM-CL tomando como referencia la molécula de agua. Se ve que el comportamiento de los sistemas es muy similar, solo que aumenta la altura de los picos conforme aumenta la concentración de EMIM-CL, la RDF que presenta un mayor aumento es en el caso del CL^- y la de menor es el $EMIM^+$. Tenemos como primeros vecinos moléculas de agua, pero enseguida de estas se encuentra el CL^- con una mayor probabilidad y al final el catión.

3. Discusión

De acuerdo a los diferentes análisis, la disminución en el número de moléculas de agua en el medio hace que la estructura pierda los puentes de hidrógeno que estabilizan la estructura secundaria del fragmento. La distribución de las moléculas alrededor del fragmento es independiente de la conformación inicial lo cual se pudo notar en las Figuras 6.3, 6.16 y 6.17. También se vio que el comportamiento de las moléculas del solvente fue independiente a la presencia o ausencia del fragmento de ApoA1, esto se puede comprobar comparando las Figuras 5.7, 5.8 y 5.9 con las RDF de este capítulo. La incapacidad del catión $EMIM^+$ para apantallar la carga del CL^- conlleva a que este se asocie con las moléculas de agua del medio para apantallar su carga, cuando disminuyen la cantidad de las moléculas de agua éste empieza a interactuar con los residuos cargados del fragmento de la ApoA1, mientras que el catión solo excluye volumen en el medio sin mostrar una interacción importante con ninguna de las moléculas del solvente, esto se pudo ver en como la presencia del anión tomaba importancia conforme aumentaba la concentración de EMIM-CL en los alrededores de los diferentes residuos del fragmento de ApoA1.

Capítulo 7

Efecto de aumentar la hidrofobicidad del catión sobre la estabilidad del fragmento de ApoA1

En este capítulo se presenta la comparación de los resultados a las diferentes concentraciones de los tres líquidos iónicos utilizados (EMIM-CL, BMIM-CL y HMIM-CL) sobre la estabilidad del fragmento de ApoA1, únicamente se abordan los resultados obtenidos de ApoA1 partiendo de la conformación inicial abierta.

Con la finalidad de estudiar el efecto que tiene el introducir un catión con una parte cargada y otra hidrófoba, se realizaron simulaciones similares a las anteriores pero usando los cationes 1-butil-3-metilimidazolio (BMIM) y 1-hexil-3-metilimidazolio (HMIM) (ver Figura 7.22)

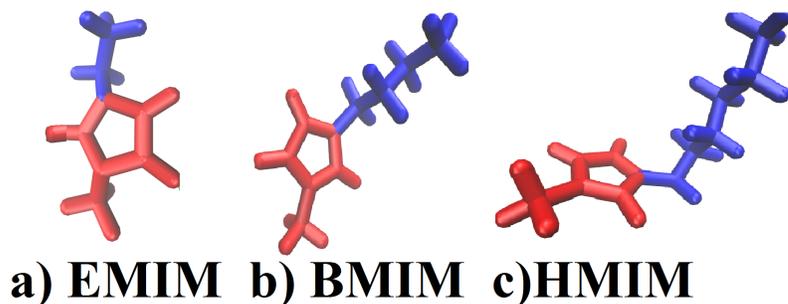


Figura 7.1: Diferentes cationes usados, en color rojo tenemos al metilimidazol (head) y en color azul la parte hidrófoba (tail). En los incisos tenemos: a) 1-etil-3-metilimidazol (EMIM), b) 1-butil-3-metilimidazol (BMIM) y c) 1-hexil-3-metilimidazol (HMIM).

Se utilizó una metodología similar que en el caso del fragmento de ApoA1 en EMIM-CL, donde la única diferencia fue el valor del cut-off utilizado el cual fue de 1.6 y 1.7 para los sistemas generados con BMIM-CL y HMIM-CL respectivamente, donde también fue necesario incrementar los tiempos para el caso de HMIM-CL.

Los líquidos iónicos utilizados para los diferentes sistemas solamente se diferencian por el tamaño de la cadena unida al metilimidazol. El aumento en la cadena del radical causa efecto en el comportamiento del catión puesto que le confiere propiedades hidrófobas.

Se realizaron análisis similares que en el caso con EMIM-CL. En esta sección se comparan los resultados obtenidos para las diferentes concentraciones de los sistemas (EMIM-CL vs BMIM-CL vs HMIM-CL vs H_2O) con el objeto de estudiar el efecto de la cadena hidrófoba sobre el fragmento de ApoA1.

1. Promedio del radio de giro ($\langle R_g \rangle$) del fragmento de ApoA1

En la Figura 7.2 se presenta la gráfica del promedio del radio de giro ($\langle R_g \rangle$) con respecto la concentración del líquido iónico (EMIM-CL/BMIM-CL/HMIM-CL) presente, la línea sólida indica el $\langle R_g \rangle$ del fragmento de ApoA1 cuando se encuentra en agua, los círculos representan el $\langle R_g \rangle$ del fragmento en presencia de EMIM-CL, los triángulos rojos corresponden al $\langle R_g \rangle$ del fragmento con BMIM-CL y los cuadros indican el $\langle R_g \rangle$ del fragmento con HMIM-CL.

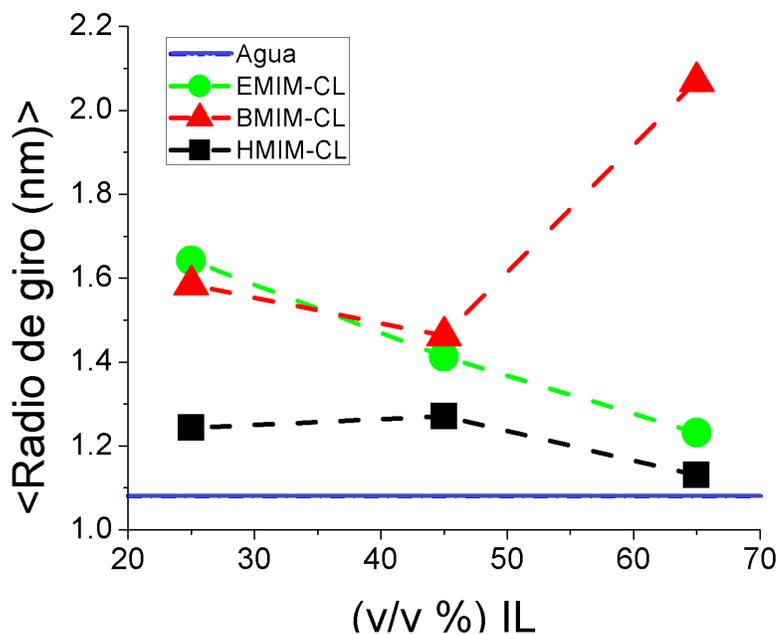


Figura 7.2: $\langle R_g \rangle$ del fragmento de ApoA1 con respecto a la concentración del líquido iónico en el sistema (25, 45 y 65 v/v %). La línea sólida representa el $\langle R_g \rangle$ del fragmento en agua, los círculos corresponden al $\langle R_g \rangle$ del fragmento con EMIM-CL, los triángulos el $\langle R_g \rangle$ del fragmento en BMIM-CL y los cuadros el $\langle R_g \rangle$ del fragmento en HMIM-CL, las líneas discontinuas solo son una guía para el ojo.

En la Figura 7.2 se puede observar que el fragmento adoptó la conformación más compacta en agua (línea sólida). Cuando el solvente contiene EMIM-CL (círculos) se ve que conforme aumenta la concentración de este disminuye el $\langle R_g \rangle$, esto nos indica que conforme aumenta la concentración se van limitando las conformaciones que puede adoptar el fragmento con el tiempo manteniéndose más compacto y con menor número de fluctuaciones. En los casos que está presente BMIM-CL (triángulos) el comportamiento que tiene el fragmento conforme aumenta la concentración de BMIM-CL no es regular, disminuye un poco el $\langle R_g \rangle$ al pasar de 25 % a 45 % pero a 65 % este aumenta alcanzado el $\langle R_g \rangle$ más grande (comparándolo con todos), debido a que el $\langle R_g \rangle$ a 65 % sea muy grande probablemente el fragmento se encuentra abierto e/o inestable lo que le permite tener mayor número de fluctuaciones y cambios en el medio. Por último, los sistemas con HMIM-CL, se puede ver como el $\langle R_g \rangle$ no varía considerablemente conforme aumenta la concentración de HMIM-CL disminuyendo su valor a 65 % donde casi alcanza el $\langle R_g \rangle$ que tuvo el fragmento en agua.

Observando los resultados de manera global se ve como el solvente que pre-

sentó un $\langle R_g \rangle$ más similar al del agua fue HMIM-CL donde también fue el caso que presentó un menor número de fluctuaciones en su conformación con respecto del tiempo y una estructura más compacta.

2. Promedio de la desviación de la distancia cuadrática media ($\langle RMSD \rangle$)

Como se vio en secciones anteriores el RMSD es un ajuste de mínimos cuadrados de la estructura del fragmento de ApoA1, tomando como referencia la estructura de la misma al inicio de la corrida de producción, este dato nos da una idea de cuánto fluctúa la conformación del fragmento a lo largo del tiempo.

En la Figura 7.3 se muestra el promedio del RMSD para los diferentes sistemas en todas las concentraciones. Las barras negras indican el $\langle RMSD \rangle$ de aquellos casos donde el solvente tenía EMIM-CL, las barras rojas corresponden a los casos con BMIM-CL, las barras verdes representan el $\langle RMSD \rangle$ de los sistemas con HMIM-CL y la línea sólida azul corresponde al $\langle RMSD \rangle$ del fragmento en agua, donde las líneas negras corresponden a la desviación estándar de los datos para cada caso.

En la Figura 7.3 se puede ver como en aquellos casos donde se tenía EMIM-CL no hay un cambio secuencial del $\langle RMSD \rangle$ con respecto la concentración del líquido iónico, se ve que donde se presentó un mayor cambio del acomodó de la estructura del fragmento de ApoA1 es a 45 %, donde hubo un cambio menor es a 65 %. Para los sistemas con BMIM-CL se puede ver como el $\langle RMSD \rangle$ disminuye de forma gradual conforme aumenta la concentración de BMIM-CL, tomando un mayor valor a 25 % y un menor a 65 %. Esto nos dice como para BMIM-CL conforme aumentamos la concentración limitamos la movilidad del fragmento. Aquellos casos donde el solvente contiene HMIM-CL el valor mayor para el $\langle RMSD \rangle$ lo presentó a 25 % y el menor a 45 %, pero en comparación con todos los sistemas los casos con HMIM-CL fue donde se hubo un menor valor de la desviación estándar en los datos.

En general a 65 % fue donde se presentó un menor valor del $\langle RMSD \rangle$ esto da una idea de cómo el fragmento de ApoA1 presenta menores cambios en el acomodo de su estructura a mayores concentraciones del líquido iónico. Para todos los sistemas conforme se aumentó la concentración del líquido iónico fue disminuyendo el valor de la desviación estándar de los datos respectivamente. El hecho de que el valor de la desviación estándar de los datos disminuya nos da una idea de que disminuye el número de fluctuaciones a lo largo del tiempo.

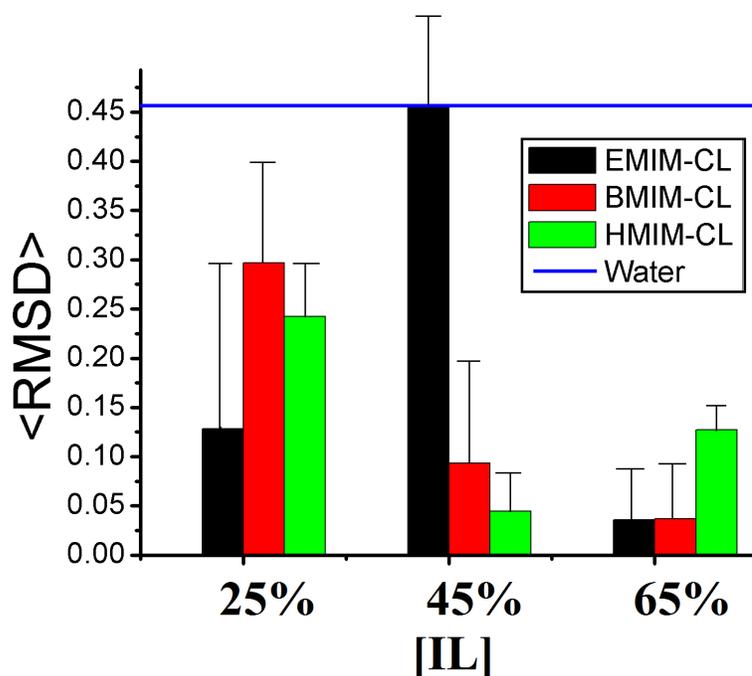


Figura 7.3: $\langle RMSD \rangle$ del fragmento de ApoA1 con respecto la concentración del líquido iónico [IL] (25, 45 y 65 v/v %). Las barras negras indican el $\langle RMSD \rangle$ de aquellos casos donde el solvente tenía EMIM-CL, las barras rojas corresponden a los casos con BMIM-CL, las barras verdes representan el $\langle RMSD \rangle$ de los sistemas con HMIM-CL y la línea sólida azul corresponde al $\langle RMSD \rangle$ del fragmento en agua. Las líneas negras corresponden a la desviación estándar de los datos para cada caso.

3. Promedio del área superficial accesible al solvente ($\langle SASA \rangle$) del fragmento de ApoA1

En la Figura 7.4 se muestra el $\langle SASA \rangle$ con respecto la concentración del líquido iónico (EMIM-CL/BMIM-CL/HMIM-CL) de los diferentes sistemas. La línea sólida indica el $\langle SASA \rangle$ del fragmento de ApoA1 cuando se encuentra en agua, los círculos corresponden al $\langle SASA \rangle$ del fragmento en presencia de EMIM-CL, los triángulos representan el $\langle SASA \rangle$ del fragmento con BMIM-CL y los cuadros indican el $\langle SASA \rangle$ del fragmento con HMIM-CL.

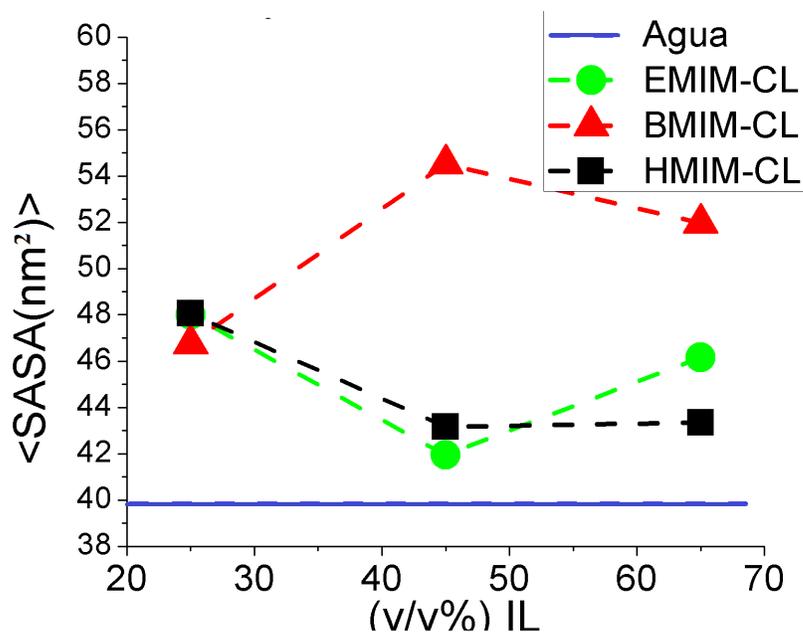


Figura 7.4: $\langle SASA \rangle$ del fragmento de ApoA1 con respecto a la concentración del líquido iónico (25, 45 y 65 v/v%). La línea sólida representa el $\langle SASA \rangle$ del fragmento en agua, los círculos corresponden al $\langle SASA \rangle$ del fragmento en EMIM-CL, los triángulos representan el $\langle SASA \rangle$ del fragmento en BMIM-CL y los cuadros el $\langle SASA \rangle$ del fragmento con HMIM-CL, las líneas discontinuas solo son una guía para el ojo.

En la Figura 7.4 se puede ver como en el caso con EMIM-CL el $\langle SASA \rangle$ disminuye al pasar de 25 % a 45 % y después a 65 % aumenta ligeramente dando una idea de cómo el fragmento del ApoA1 de alguna forma se compacta para disminuir su $\langle SASA \rangle$ y después vuelve a abrirse un poco e interactúa con el solvente. En los sistemas que contienen BMIM-CL conforme aumenta la concentración del líquido iónico en el solvente se vio un aumento en el valor del $\langle SASA \rangle$ dando una idea de que el fragmento posiblemente está abriendo su estructura/conformación. En los casos con HMIM-CL podemos ver como el $\langle SASA \rangle$ disminuye gradualmente, en 45 % y a 65 % aumenta solo ligeramente, lo que nos está indicando que su $\langle SASA \rangle$ no cambia mucho en estas dos concentraciones.

En ninguno de los casos se acercan al $\langle SASA \rangle$ que presentó el fragmento en agua el cual fue el caso donde la estructura del fragmento tuvo menor superficie expuesta al solvente, los sistemas donde hubo menor variación en el $\langle SASA \rangle$ con respecto a la concentración fue en aquellos que tenían HMIM-CL. A 25 % todos presentaron un valor muy similar del $\langle SASA \rangle$ lo que nos indica que a

esta concentración de líquido iónico el comportamiento del fragmento es muy similar para todos los sistemas.

4. Relación del promedio de la distancia cuadrática media de las fluctuaciones ($\langle RMSF \rangle$) de los residuos del fragmento de ApoA1 para los diferentes sistemas (con líquido iónico) y $\langle RMSF \rangle$ del fragmento de ApoA1 en agua.

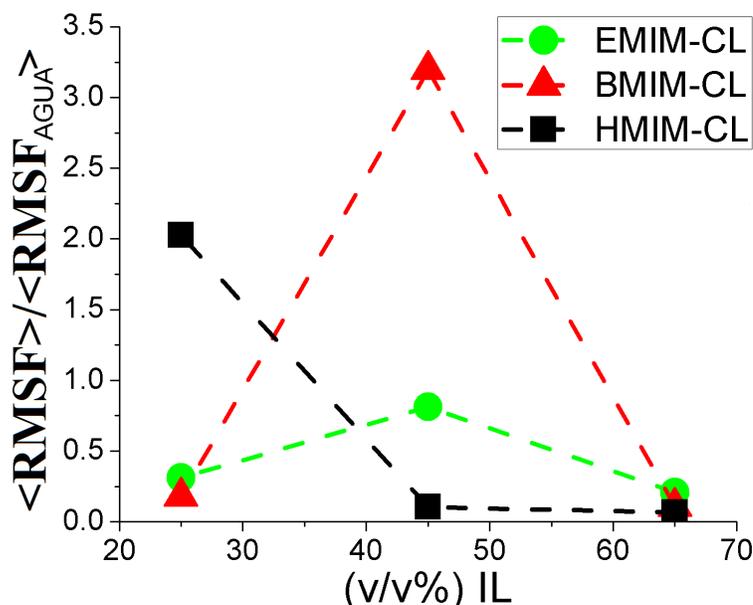


Figura 7.5: $\langle RMSF \rangle / \langle RMSF_{Agua} \rangle$ con respecto la concentración del líquido iónico (25, 45 y 65 v/v%). Los círculos indican el $\langle RMSF \rangle$ de los residuos en presencia de EMIM-CL, los triángulos corresponden al $\langle RMSF \rangle$ de los residuos con BMIM-CL y los cuadros representan el $\langle RMSF \rangle$ de los residuos con HMIM-CL. Las líneas discontinuas son solo una guía para el ojo.

En la Figura 7.5 está la gráfica del $\langle RMSF \rangle / \langle RMSF_{Agua} \rangle$ con respecto la concentración de los diferentes líquidos iónicos (EMIM-CL/BMIM-CL/HMIM-CL), los valores del $\langle RMSF \rangle$ de los diferentes sistemas son el cociente entre el $\langle RMSF \rangle$ y el $\langle RMSF_{Agua} \rangle$ para darnos una idea de cuál fue la fluctuación promedio de los residuos comparándolo con el de

$\langle RMSF_{Agua} \rangle$. En la Figura 7.5 los círculos indican el $\langle RMSF \rangle$ de los residuos en presencia de EMIM-CL, los triángulos corresponden al $\langle RMSF \rangle$ de los residuos con BMIM-CL y los cuadros representan el $\langle RMSF \rangle$ de los residuos en presencia de HMIM-CL.

En la Figura 7.5 vemos como el $\langle RMSF \rangle / \langle RMSF_{Agua} \rangle$ de los casos con EMIM-CL el valor del $\langle RMSF \rangle / \langle RMSF_{Agua} \rangle$ no cambia mucho para las diferentes concentraciones, esto puede significar que el cambio que presentaron los residuos del fragmento para este líquido iónico fue similar, presentando una mayor movilidad a 45%. Para los casos con BMIM-CL presentó mayores fluctuaciones es a 45% y menores fue a 25 y 65% siendo estas muy similares entre sí. En los sistemas con HMIM-CL el valor del $\langle RMSF \rangle / \langle RMSF_{Agua} \rangle$ disminuyó conforme aumentó la concentración de HMIM-CL.

En la gráfica se puede ver como el $\langle RMSF \rangle / \langle RMSF_{Agua} \rangle$ de los residuos a 65% en los tres líquidos iónicos es muy similar, esto nos da un idea de que los residuos del fragmento presentaron menores libertades de movimiento a dicha concentración. Esto puede ser debido a la alta viscosidad de los líquidos iónicos.

5. Promedio del número de enlaces de hidrógeno ($\langle NEH \rangle$) en el sistema.

5.1. Promedio del número de enlaces de hidrógeno ($\langle NEH \rangle$) entre el fragmento de ApoA1 y el agua.

En la Figura 7.6 esta la gráfica del $\langle NEH \rangle$ entre el fragmento de ApoA1 y el agua con respecto la concentración del líquido iónico, la línea sólida representa el $\langle NEH \rangle$ en agua, los círculos el $\langle NEH \rangle$ en el solvente con EMIM-CL, los triángulos son $\langle NEH \rangle$ de los casos con BMIM-CL y los cuadros corresponden al $\langle NEH \rangle$ de los sistemas que contienen HMIM-CL.

En la Figura 7.6 podemos observar que con EMIM-CL y HMIM-CL el $\langle NEH \rangle$ entre el fragmento y el agua disminuyen conforme aumenta la concentración del líquido iónico. En los casos con BMIM-CL el comportamiento difiere, puesto que por los $\langle NEH \rangle$ aumentan a 45% de BMIM-CL y a 65% disminuyen.

La disminución de $\langle NEH \rangle$ conforme aumenta la concentración del líquido iónico tiene sentido, ya que al aumentar la concentración del líquido iónico en

los sistemas, disminuyen las moléculas del agua de solvente, también dependiendo de cómo interactúen entre si las moléculas del solvente, son las moléculas de agua que quedan disponibles cerca del fragmento de ApoA1, permitiendo la formación de puentes de hidrógeno entre ellos.

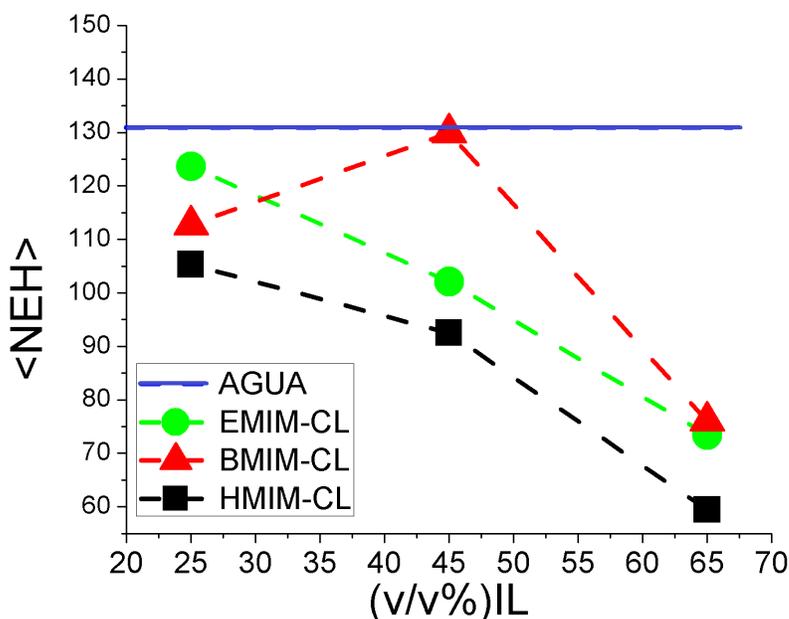


Figura 7.6: $\langle NEH \rangle$ que se formaron entre el fragmento de ApoA1 con el agua con respecto la concentración del líquido iónico (EMIM-CL/BMIM-CL/HMIM-CL). La línea sólida representa el $\langle NEH \rangle$ del fragmento en agua, los círculos corresponden al $\langle NEH \rangle$ en EMIM-CL, los triángulos el $\langle NEH \rangle$ con BMIM-CL y los cuadros el $\langle NEH \rangle$ con HMIM-CL. Las líneas punteadas son solo una guía para el ojo.

5.2. Promedio del número de enlaces de hidrógeno $\langle NEH \rangle$ entre el propio fragmento de ApoA1.

En la Figura 7.7 esta la gráfica del $\langle NEH \rangle$ entre el propio fragmento de ApoA1 con función de la concentración del líquido iónico. La línea sólida representa el $\langle NEH \rangle$ del fragmento en agua, los círculos el $\langle NEH \rangle$ del fragmento en el solvente con EMIM-CL, los triángulos son el $\langle NEH \rangle$ de los que contienen BMIM-CL y los cuadros son el $\langle NEH \rangle$ de los casos que tienen HMIM-CL.

El $\langle NEH \rangle$ nos da una idea de la estabilidad de la estructura del fragmento, puesto que los puentes de hidrógeno que se forman entre el mismo es lo que

le permite adoptar estructuras secundarias como α -Hélices, por lo que si estos están disminuyendo el fragmento está perdiendo estabilidad y estructura.

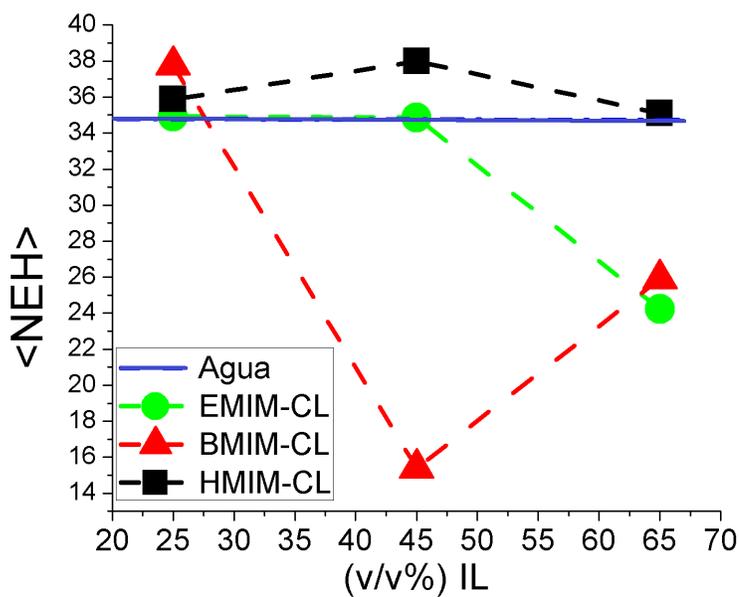


Figura 7.7: $\langle NEH \rangle$ entre el propio fragmento de ApoA1 con respecto la concentración del líquido iónico (EMIM-CL/BMIM-CL/HMIM-CL). La línea sólida corresponden a los $\langle NEH \rangle$ del fragmento en agua, los círculos representan el $\langle NEH \rangle$ en EMIM-CL, los triángulos el $\langle NEH \rangle$ en BMIM-CL y los cuadros negros el $\langle NEH \rangle$ en HMIM-CL. Las líneas punteadas solo son una guía para el ojo.

En la Figura 7.7 esta el $\langle NEH \rangle$ entre el propio fragmento. Se puede apreciar que el $\langle NEH \rangle$ disminuye conforme aumenta la concentración de EMIM-CL, este hecho nos indica que el fragmento de ApoA1 está perdiendo sus estructuras secundarias conforme aumenta la concentración de EMIM-CL. A 25 % todos los sistemas presentan un $\langle NEH \rangle$ muy similar por lo que la estructura posiblemente también es parecida. En el caso de BMIM-CL el $\langle NEH \rangle$ disminuye abruptamente entre 25 y 45 % pero a 65 % aumenta. Esto indica que el fragmento en presencia de BMIM-CL pierde sus estructuras secundarias a 45 % y que a 65 % quizás presente estructuras o alguna conformación que le permite formar puentes de hidrógeno entre el mismo fragmento. Para HMIM-CL el $\langle NEH \rangle$ no varía mucho con respecto la concentración, esto indica como el fragmento de ApoA1 está conservando estructuras independientemente de la concentración de HMIM-CL.

En la Figura 7.7 se puede ver como las propiedades del líquido iónico tienen

diferente efecto en la estructura del fragmento de ApoA1. Conforme crece el tamaño del radical unido al metilimidazol el fragmento de ApoA1 está presentando diferente comportamiento para las diferentes concentraciones, para el caso del radical útil, el fragmento de ApoA1 está perdiendo sus estructuras secundarias (por lo que nos indica el $\langle NEH \rangle$) conforme aumenta la concentración, para butil no se ve un efecto claro y para el caso del radical hexil el $\langle NEH \rangle$ se no presenta variaciones significativas por lo que la estructura del fragmento probable es similar.

6. Conformación final del fragmento de ApoA1.

En la Figura 7.8 se presenta la configuración final del fragmento de ApoA1 para cada sistema estudiado. Los colores representan la estabilidad del fragmento conforme donde azul es el caso estable y va hacia el color rojo (donde rojo indica inestable). Esta representación gráfica de la estabilidad es producto del análisis de RMSF visto en secciones anteriores, ya que este análisis da una idea de la libertad de movimiento que puede tener ciertos residuos.

En la Figura 7.8 tenemos la conformación abierta de la cual partimos en todos los sistemas, la conformación que adopta el fragmento en agua, y la conformación final que adopta el fragmento para cada sistema. Se puede apreciar como el fragmento de ApoA1 va perdiendo sus estructuras secundarias (α -Hélices) conforme aumenta a concentración de EMIM-CL, lo cual concuerda con los resultados presentados, va perdiendo los puentes de hidrógeno entre sí misma (lo que nos indicaba pérdida de estructura). En el caso de la conformación que adoptó el fragmento en presencia de BMIM-CL, la conformación a 25 % y 65 % es muy similar que en EMIM-CL, pero también se ve como conforme aumenta la concentración de BMIM-CL el fragmento pierde más rápidamente sus estructuras secundarias que en el caso de EMIM-CL. Por ultimo vemos la conformación final del fragmento en presencia de HMIM-CL, solo a 25 % se observan pérdidas considerables de la estructura del fragmento de ApoA1, se puede apreciar como a los otros porcentajes el fragmento conservó mayoritariamente su estructura y a 65 % es donde se encuentra más estable.

Con la Figura 7.8 se pueden apreciar como la presencia de la cadena hidrófoba del catión provoca diferentes efectos del solvente sobre el fragmento de ApoA1, en el caso de $EMIM^+$ el fragmento pierde su estructura secundaria de manera gradual, con $BMIM^-$ el fragmento de ApoA1 pierde su estructura secundaria de forma más abrupta y con $HMIM^+$ se puede observar que el fragmento conforme aumenta la concentración el líquido iónico aumenta su estabilidad y casi no presenta pérdida de estructuras.

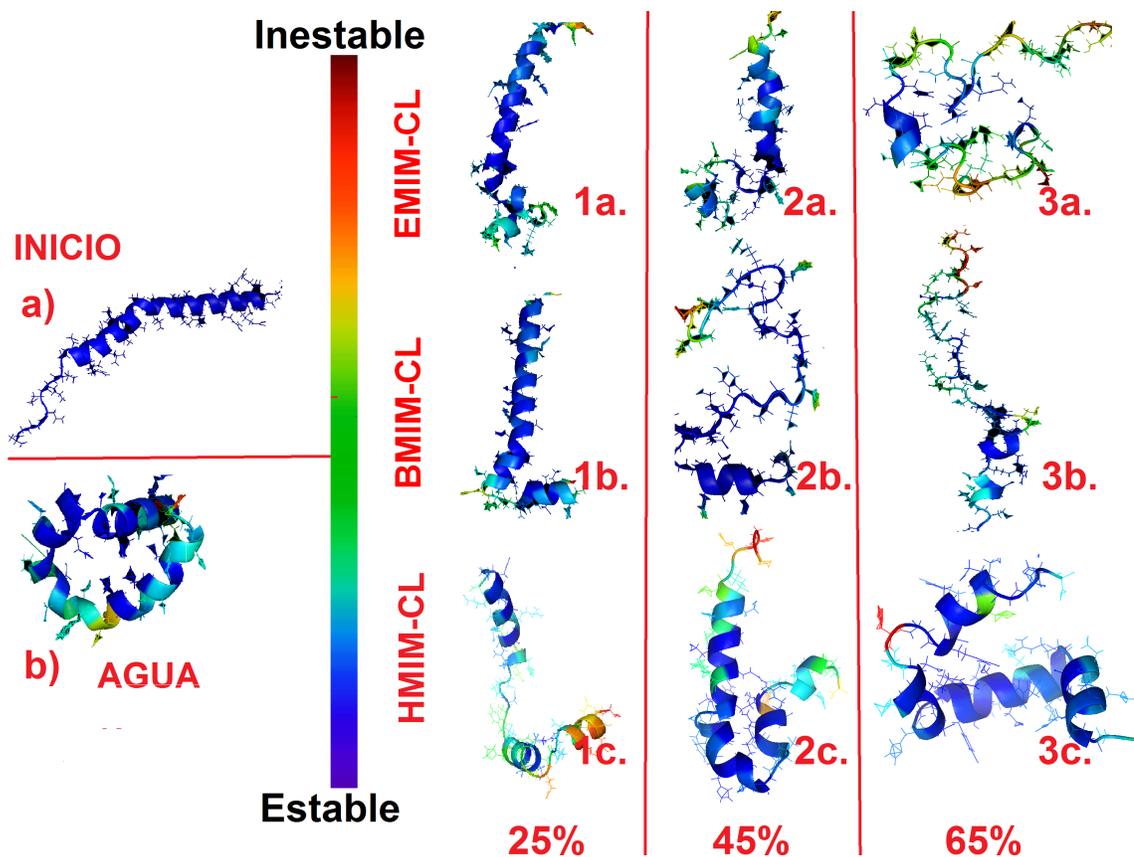


Figura 7.8: Conformación final del fragmento de ApoA1 para cada sistema (25, 45 y 65 % de EMIM-CL, BMIM-CL y HMIM-CL), los colores representan la estabilidad (azul) o inestabilidad (rojo) del fragmento en el solvente. La figura a) es la conformación inicial de la cual todos los sistemas partieron, la figura b) es la conformación que adopto en agua, las figuras 1a, 2a y 3a son las conformaciones finales en presencia de EMIM-CL a 25 %, 45 % y 65 % respectivamente, las figuras 1b, 2b y 3b son las conformaciones finales con BMIM-CL a 25 %, 45 % y 65 % respectivamente y las figuras 1c, 2c y 3c son las conformaciones finales con HMIM-CL a 25 %, 45 % y 65 % respectivamente.

7. Función de distribución radial (RDF)

Con el objetivo de comprender las observaciones antes descritas hemos calculado la función de distribución radial (RDF) para las diferentes moléculas en el sistema.

Los resultados de esta sección se presentan de la siguiente manera: 1) la función

de distribución radial de las diferentes moléculas del solvente tomando como referencia el fragmento de ApoA1 y 2) la función de distribución radial entre las moléculas que conforman al solvente. En cada subsección el contenido se organiza presentando los resultados de los diferentes líquidos iónicos (EMIM-CL, BMIM-CL y HMIM-CL) a la misma concentración. De esta manera se pueden comparar diversas concentraciones (25, 45, y 65 v/v %) observando las figuras de manera consecutiva.

En toda la sección se usa el mismo código de colores/símbolos para todas las gráficas, la línea sólida representa el sistema de EMIM-CL, la línea con círculos corresponde al caso de BMIM-CL y la línea con triángulos indica aquellos con HMIM-CL.

7.1. Función de distribución radial (RDF) tomando como referencia el fragmento de ApoA1.

En la Figura 7.9 se presenta las RDF del catión ($EMIM^+/BMIM^+/HMIM^+$) tomando como referencia el fragmento de ApoA1 para todos los casos. En la Figura 7.10 se muestran las gráficas de las RDF del agua tomando como referencia el fragmento de ApoA1 y por último en la Figura 7.11 se muestran las RDF del anión (CL^-) para todos los casos tomando como referencia el fragmento de ApoA1. Para todos los casos se utiliza el mismo código de colores/símbolos.

En las gráficas de la Figura 7.9 se puede ver la RDF del catión para los diferentes sistemas tomando como referencia el fragmento de ApoA1, en la figura a) está la RDF de los casos a 25 % del líquido iónico, en b) se muestra la RDF a 45 % y en c) se presenta la RDF a 65 %. Se puede apreciar que en todos los casos la distancia para encontrar un catión cerca del fragmento es muy similar entre ellos ($\approx 0,5nm$), pero aumenta un poco la probabilidad de encontrarlo cerca del fragmento en el caso de BMIM-CL. En b) observamos las RDF a 45 %, se puede ver como aumenta la distancia y la probabilidad de encontrar al catión ($\approx 0,55$), para los sistemas de $EMIM^+$ y $HMIM^+$ el comportamiento de la $g(r)$ es muy similar y se ve un mayor aumento en la probabilidad de encontrar al catión cerca del fragmento para BMIM-CL. En c) tenemos la RDF a 65 %, se puede apreciar como la distancia aumenta ligeramente (en comparación con las otras concentraciones), la probabilidad de encontrar al catión cerca del fragmento es muy similar en este caso para los sistemas de EMIM-CL y BMIM-CL, pero en el caso de HMIM-CL la distancia para encontrar un $HMIM^+$ aumenta y la probabilidad aumenta solo ligeramente en comparación de las otras concentraciones y esta es menor en comparación con los otros sistemas (EMIM-CL/BMIM-CL).

De forma global se puede apreciar como al aumentar la concentración de EMIM-CL/BMIM-CL aumenta la probabilidad de encontrar al catión cerca del fragmento de ApoA1, mientras que para el caso de HMIM-CL la probabilidad de encontrar al catión cerca del fragmento es muy similar para las diferentes concentraciones, pero a 65 % aumenta un poco la distancia a la que se encuentra el $HMIM^+$ del fragmento.

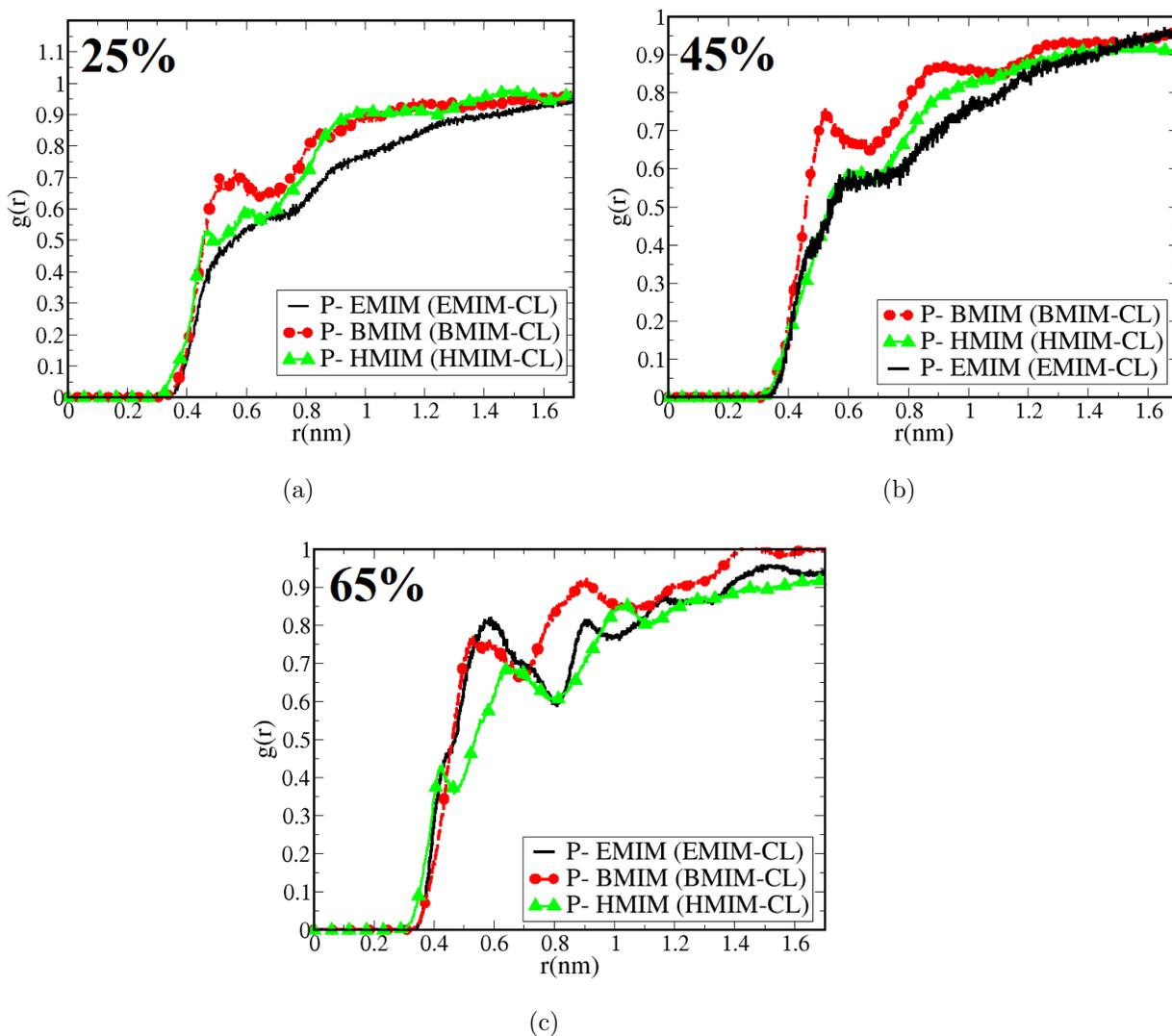


Figura 7.9: $g(r)$ vs r (nm) del catión ($EMIM^+$, $BMIM^+$, $HMIM^+$) tomando como referencia el fragmento de ApoA1. La línea sólida representa el caso del solvente con EMIM-CL, la línea con círculos representa el solvente con BMIM-CL y la línea con triángulos corresponde al sistema con HMIM-CL. Los incisos a), b) y c) encontramos las RDF de la concentración 25 %, 45 % y 65 % respectivamente.

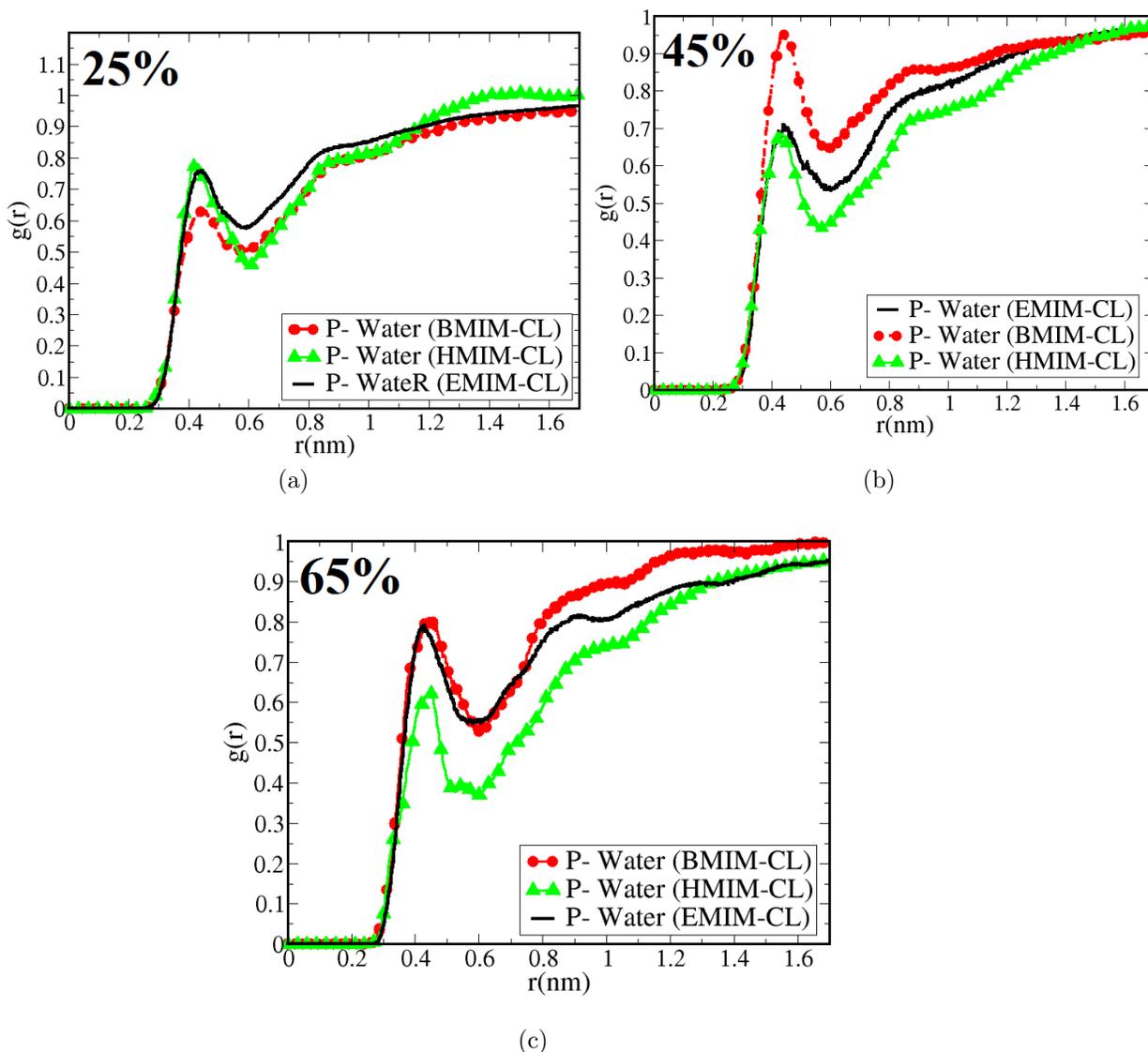


Figura 7.10: $g(r)$ vs r (nm) del agua tomando como referencia el fragmento de ApoA1. La línea sólida representa el caso del solvente con EMIM-CL, la línea con círculos corresponde al solvente con BMIM-CL y la línea con triángulos es el caso con HMIM-CL. Los paneles a), b) y c) encontramos las RDF de la concentración 25 %, 45 % y 65 % respectivamente.

En las gráficas de la Figura 7.10 se puede ver la RDF del agua tomando como referencia el fragmento de ApoA1, para los diferentes sistemas y las diferentes concentraciones. En los paneles (a), (b) y (c) tenemos las RDF para las

concentraciones 25 %, 45 % y 65 % respectivamente.

En la Figura 7.10 se puede ver en (a) la RDF del agua para los diferentes casos a una concentración de 25 %, la distancia donde encontramos una molécula de agua del fragmento de ApoA1 es la misma para los diferentes líquidos iónicos (EMIM-CL/BMIM-CL/HMIM-CL) es de ≈ 0.45 nm y la probabilidad de encontrar la molécula de agua cerca del fragmento es menor en el caso del de BMIM-CL. En el panel (b) está la RDF del agua a 45 %, se aprecia como la distancia para encontrar las moléculas de agua es la misma para los diferentes casos, pero la probabilidad aumenta con BMIM-CL y disminuye en EMIM-CL y HMIM-CL. En el panel (c) está la RDF del agua a 65 % se puede observar como en este caso el comportamiento de la $g(r)$ es muy parecido para EMIM-CL y BMIM-CL y la probabilidad disminuye un poco en comparación con la RDF de BMIM-CL a 45 %, y se puede notar como la RDF del agua en el sistema de HMIM-CL a 65 % es muy similar a 45 % HMIM-CL.

De manera global se puede ver como para los casos de EMIM-CL y BMIM-CL la probabilidad de encontrar moléculas de agua cerca del fragmento de ApoA1 a 45 % (en comparación con 25 %) y a 65 % esta probabilidad vuelve a aumentar, mientras que para los sistemas con HMIM-CL la probabilidad de encontrar las moléculas de agua cerca del fragmento disminuye gradualmente conforme aumenta la concentración del líquido iónico.

En las gráficas de la Figura 7.11 se puede ver la RDF del anión (CL^-) tomando como referencia el fragmento de ApoA1 para los diferentes sistemas y porcentajes del líquido iónico. En (a) tenemos la RDF del CL^- para los casos a 25 %, (b) está la RDF del CL^- para los sistemas a 45 % y en (c) está la RDF del CL^- a 65 %.

En la Figura 7.11 se puede apreciar el comportamiento de la $g(r)$ del anión para los diferentes sistemas. En el panel (a) casos a 25 % del líquido iónico, se puede ver como el primer máximo local de la $g(r)$ se presenta casi a la misma distancia en los 3 casos $\approx 0.42-0.45$ nm y la forma es muy similar, pero con HMIM-CL se encuentra más definida la curva y hay una mayor probabilidad de encontrar al CL^- alrededor del fragmento en comparación con los otros líquidos iónicos. En el panel (b) se muestra la RDF a 45 %, el comportamiento de la $g(r)$ varía un poco para cada caso, se presente el primer máximo a una distancia (r) similar a 25 % como la altura, pero hay una mayor probabilidad de encontrar al anión alrededor del fragmento con BMIM-CL. En el panel (c) se puede apreciar la RDF del anión para los casos a 65 %, los máximos de la $g(r)$ se definen aún más, y el comportamiento es muy similar entre los diferentes sistemas, lo que varía es la altura de los picos; en EMIM-CL vemos como la distancia de encontrar al CL^- disminuye a 0.4 nm y aumenta la probabilidad de encontrar el CL^- ,

para los otros sistemas la r se mantiene similar y la probabilidad de encontrar al anión es mayor en BMIM-CL que en HMIM-CL.

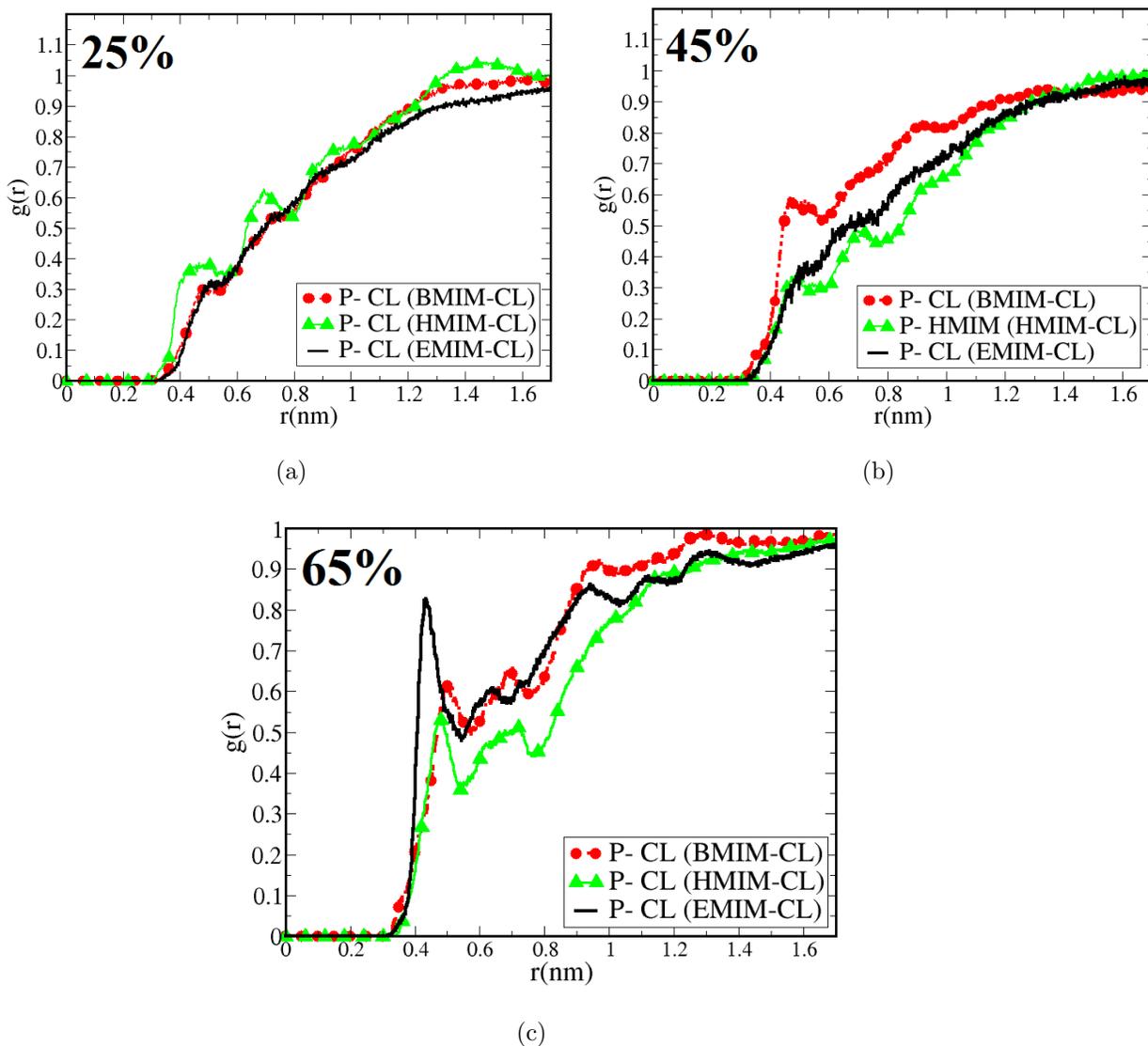


Figura 7.11: $g(r)$ vs r (nm) del CL^- tomando como referencia el fragmento de ApoA1. La línea sólida representa el caso del solvente con EMIM-CL, la línea con círculos corresponde al solvente con BMIM-CL y la línea con triángulos indica los casos de HMIM-CL. En los paneles a), b) y c) encontramos las RDF de la concentración 25 %, 45 % y 65 % respectivamente.

De manera general se puede apreciar como en el caso de EMIM-CL la proba-

bilidad de encontrar al anión cerca del fragmento aumenta conforme aumenta la concentración del líquido iónico en el solvente, para el caso de BMIM-CL aumenta comparando 25 % y 45 % pero a 65 % se mantiene igual que a 45 % por lo que no se puede apreciar un cambio gradual, y para los sistemas con HMIM-CL tampoco se aprecia un cambio gradual, de 25 % a 45 % baja pero a 65 % vuelve a aumentar.

Por lo que se puede apreciar en las Figuras 7.9, 7.10 y 7.11 se puede concluir de manera global como el primer vecino del fragmento de ApoA1 a bajas concentraciones del líquido iónico es el agua, pero conforme va aumentando la concentración del líquido iónico lugar se disputa entre el anión y el agua, también se nota como conforme aumenta la concentración del líquido iónico aumenta la probabilidad de encontrar al catión cerca del fragmento pero la distancia sigue siendo la misma. Sin embargo, para el caso de HMIM-CL el catión tiene una mayor probabilidad de estar cerca del fragmento de ApoA1.

7.2. Función de distribución radial de las moléculas del solvente.

En la Figuras 7.12, 7.13 y 7.14 se pueden apreciar las RDF de las diferentes moléculas en el solvente tomando como referencia el catión correspondiente en cada sistema. En las Figuras 7.15, 7.16 y 7.17 se muestran las diferentes RDF para las moléculas del solvente tomando como referencia el agua. En las Figuras 7.18, 7.19 y 7.20 están las RDF de las diferentes moléculas del solvente tomando como referencia en anión (CL^-). El código de colores y símbolos que en la sección anterior (línea sólida= EMIM-CL, línea con círculos= BMIM-CL y línea con triángulos = HMIM-CL)

1. Función de distribución radial (RDF) tomando como referencia el catión.

En la Figuras 7.12, 7.13 y 7.14 se pueden apreciar las RDF de las diferentes moléculas en el solvente tomando como referencia el catión correspondiente en cada sistema. En la Figura 7.12 se muestra las RDF's del catión para los diferentes sistemas tomando como referencia el catión ($EMIM^+/BMIM^+/HMIM^+$). En la Figura 7.2 están las RDF's del agua tomando como referencia el catión. En la Figura 7.14 están las RDF's del anión tomando como referencia el catión para todos los casos.

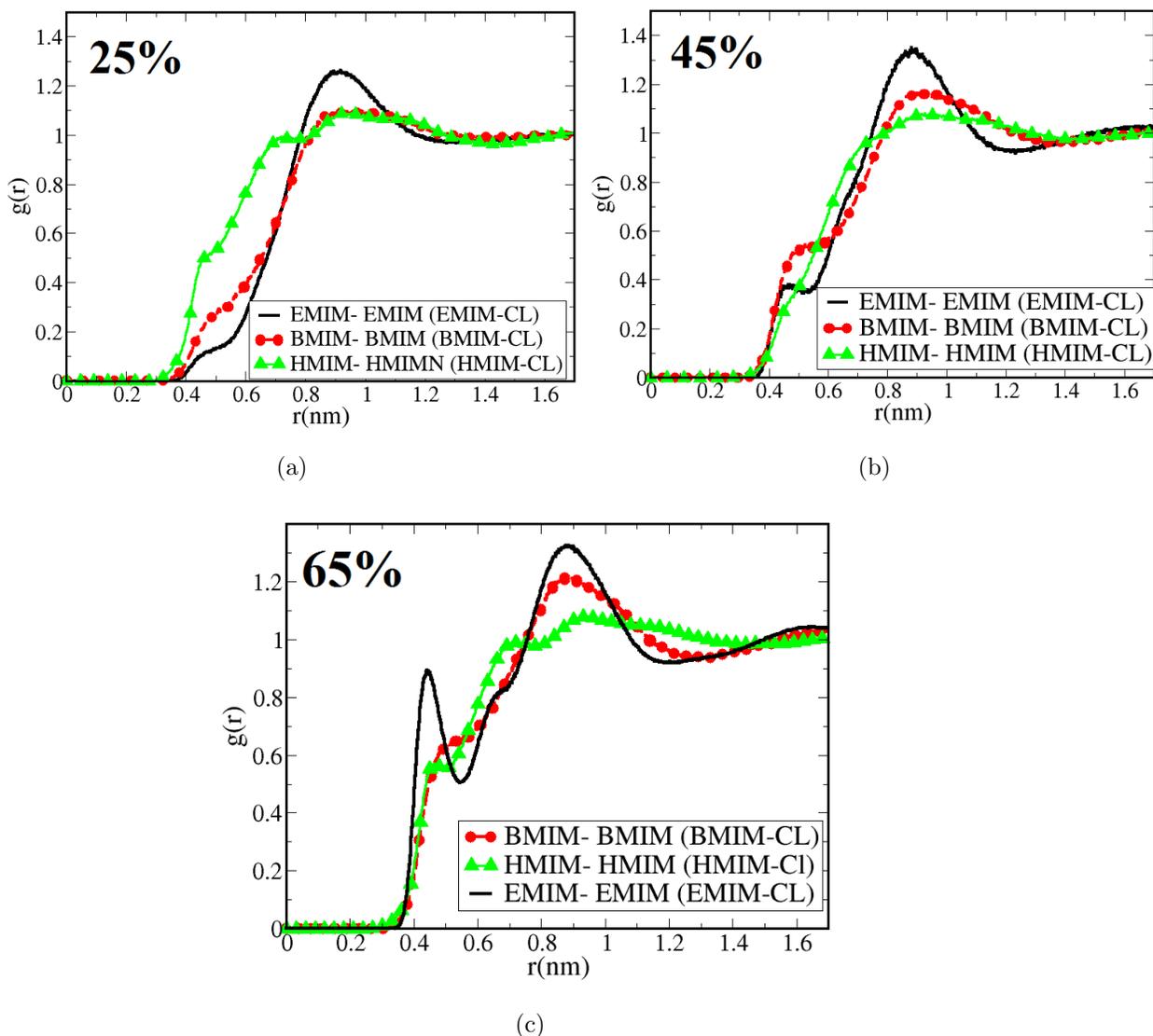


Figura 7.12: $g(r)$ vs r (nm) del catión tomando como referencia el catión presente en el sistema. La línea sólida representa el caso del solvente con EMIM-CL, la línea con círculos corresponde al solvente con BMIM-CL y la línea con triángulos indica los casos con HMIM-CL. En los paneles a), b) y c) encontramos las RDF de la concentración 25 %, 45 % y 65 % respectivamente.

En las gráficas de la Figura 7.12 se puede ver la RDF de los cationes tomando como referencia el catión para los diferentes sistemas y porcentajes del líquido iónico, en panel (a) esta la RDF del catión para los casos a 25 %, en (b) la RDF del catión a 45 % y en (c) la RDF del catión a 65 %.

En la Figura 7.12 tenemos en el (a) la RDF del catión a 25 %, la distancia de encontrar un catión cerca de otro catión es la misma para los diferentes sistemas, pero hay una mayor probabilidad de encontrar un catión cerca de otro en EMIM-CL. En el panel (b) tenemos la $g(r)$ del catión a 45 %, empieza a aparecer un pequeño hombro a una distancia más pequeña, y se define más la forma del máximo de la $g(r)$, sigue presentando mayor probabilidad en el caso de EMIM-CL. En el panel (c) está la $g(r)$ del catión a 65 %, se ve definido un primer pico a una distancia de ≈ 0.4 nm y está más marcado en el caso de EMIM-CL, y la distancia del máximo es la misma que en los casos anteriores, solo que aumenta la probabilidad de encontrar al catión cerca de otro para los sistemas de BMIM-CL y HMIM-CL.

De manera general se puede ver como el acomodo del catión alrededor de otro catión no cambia de forma gradual en los sistemas con EMIM-CL, en BMIM-CL se ve como aumenta la probabilidad de encontrar un catión cerca de otro conforme aumenta la concentración del líquido iónico en el solvente y para el caso de HMIM-CL se ve como no hay un cambio significativo para las diferentes concentraciones en la probabilidad de encontrar un catión cerca de otro.

En las gráficas de la Figura 7.13 se puede ver la RDF del agua tomando como referencia el catión para los diferentes porcentajes del líquido iónico. En el panel (a) están las RDF del agua a 25 %, en (b) están las RDF del agua para los casos a 45 % y en (c) están las RDF del agua a 65 %.

En (a) tenemos la RDF a 25 %, podemos ver que la $g(r)$ es muy similar entre los 3 sistemas. En el panel (b) está la RDF a 45 %, se ve como la probabilidad aumenta en EMIM-CL y BMIM-CL pero se mantiene igual en HMIM-CL. En el panel (c) está la RDF a 65 %, se puede ver como aumentó la probabilidad en el caso de EMIM-CL y BMIM-CL pero en HMIM-CL la probabilidad de encontrar agua cerca del catión sigue siendo la misma.

En la Figura 7.13 se puede ver como el comportamiento de la $g(r)$ para los diferentes sistemas y las diferentes concentraciones es muy similar, solamente se define más el máximo conforme aumenta la concentración del líquido iónico. La distancia de encontrar una molécula de agua cerca del catión es prácticamente la misma para todos (≈ 0.42 nm), solo va aumentando la probabilidad de encontrar al agua conforme aumenta la concentración para los sistemas de EMIM-CL y BMIM-CL. Mientras tanto para el caso de HMIM-CL la probabilidad de encontrar moléculas de agua cerca del catión es independiente a la concentración del líquido iónico en el solvente pues presenta la misma probabilidad para los diferentes

porcentajes.

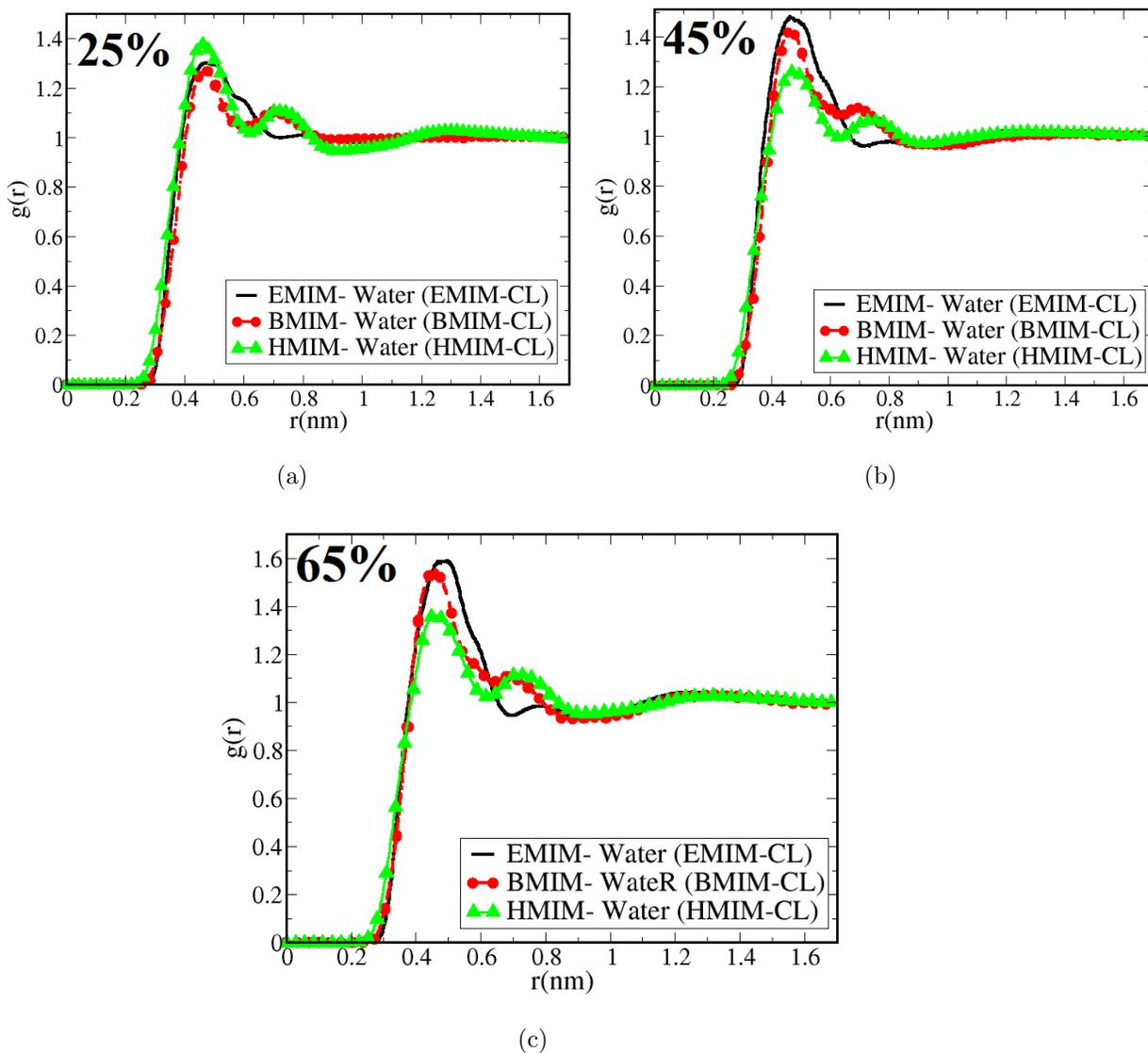


Figura 7.13: $g(r)$ vs r (nm) del agua tomando como referencia el catión presente en el sistema. La línea sólida representa el caso del solvente con EMIM-CL, la línea con círculos corresponde al solvente con BMIM-CL y la línea con triángulos indica al sistema con HMIM-CL. En los paneles a), b) y c) encontramos las RDF de la concentración 25 %, 45 % y 65 % respectivamente.

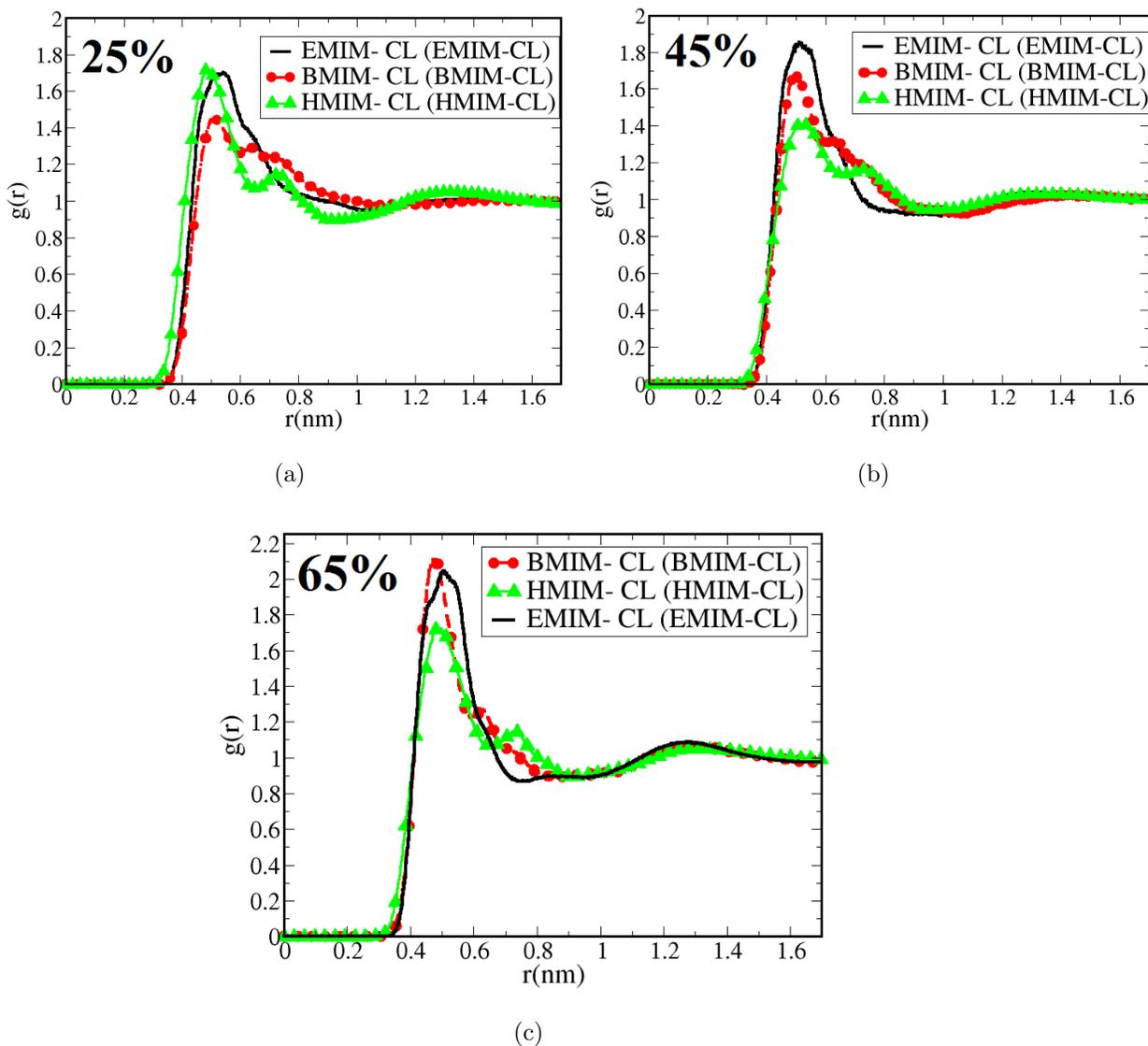


Figura 7.14: $g(r)$ vs r (nm) del anión tomando como referencia el catión presente en el sistema. La línea sólida representa el caso del solvente con EMIM-CL, la línea con círculos corresponde al solvente con BMIM-CL y la línea con triángulos indica el sistema con HMIM-CL. Los paneles a), b) y c) encontramos las RDF de la concentración 25 %, 45 % y 65 % respectivamente.

En la Figura 7.14 se puede ver la RDF del anión (CL^-) tomando como referencia el catión para los diferentes porcentajes del líquido iónico. En el panel (a) están las RDF del anión a 25 %, en (b) están las RDF del anión de los sistemas a 45 % y en (c) están las RDF del anión a 65 %.

En el panel (a) esta la RDF a 25 %, se puede ver la probabilidad de encontrar un anión cerca del catión es menor en el caso de BMIM-CL. En el panel (b) está la RDF a 45 %, la probabilidad de encontrar un anión cerca es mayor en el sistema con BMIM-CL, se puede ver como esta aumentó para los casos de EMIM-CL y BMIM-CL pero disminuye ligeramente en HMIM-CL. En el panel (c) está la RDF a 65 %, aumenta la probabilidad de encontrar al anión en todos los casos y es muy similar entre EMIM-CL y BMIM-CL.

En la Figura 7.14 se ve que el comportamiento de la $g(r)$ de los diferentes sistemas es muy similar en todas las concentraciones, solamente que se define más la curva del máximo, la distancia para encontrar un anión cerca de un catión es ≈ 0.43 nm. Se puede apreciar como para los casos de EMIM-CL y BMIM-CL la probabilidad de encontrar al anión cerca del catión aumenta conforme aumenta la concentración del líquido iónico en el solvente, mientras que para el caso de HMIM-CL no presenta un cambio gradual a 25 % y 65 % presenta la misma y una menor a 45 %.

Con lo visto en las Figuras 7.12, 7.13 y 7.14 se puede concluir que el acomodo de las moléculas del solvente alrededor del catión cambia dependiendo del catión ya que no se presentó el mismo acomodo para todos los sistemas, aunque en algunos casos se presentaron similitudes. Se vio como el acomodo del catión alrededor de otro catión no cambia de forma gradual en los casos con EMIM-CL. Sin embargo, para el caso de BMIM-CL se vio que al aumentar la concentración de dicho líquido iónico aumenta la probabilidad de encontrar un catión cerca de otro. Se pudo apreciar como aumenta la probabilidad de encontrar al agua u el anión alrededor del catión conforme aumenta la concentración para los sistemas de EMIM-CL y BMIM-CL. Sin embargo el comportamiento del solvente cambia cuando el catión es $HMIM^+$ ya que con este no se presenta un cambio significativo en la probabilidad de encontrar las moléculas alrededor del catión conforme se cambia la concentración del líquido iónico presente. Para todos los casos se ve como los primeros vecinos del catión son moléculas de agua que conforme aumenta la concentración del líquido iónico los aniones compiten por dicho lugar.

2. Función de distribución radial (RDF) tomando como referencia el agua.

En las Figuras 7.15, 7.16 y 7.17 están las RDF's de las diferentes moléculas del solvente a las diferentes concentraciones del líquido iónico tomando como referencia la molécula de agua presente. En la Figura 7.15 esta las RDF's del catión, en la Figura 7.16 se muestran las RDF's del agua y en la Figura 7.17 están las RDF's del anión. El código de colores/símbolos

es el mismo que en la sección anterior.

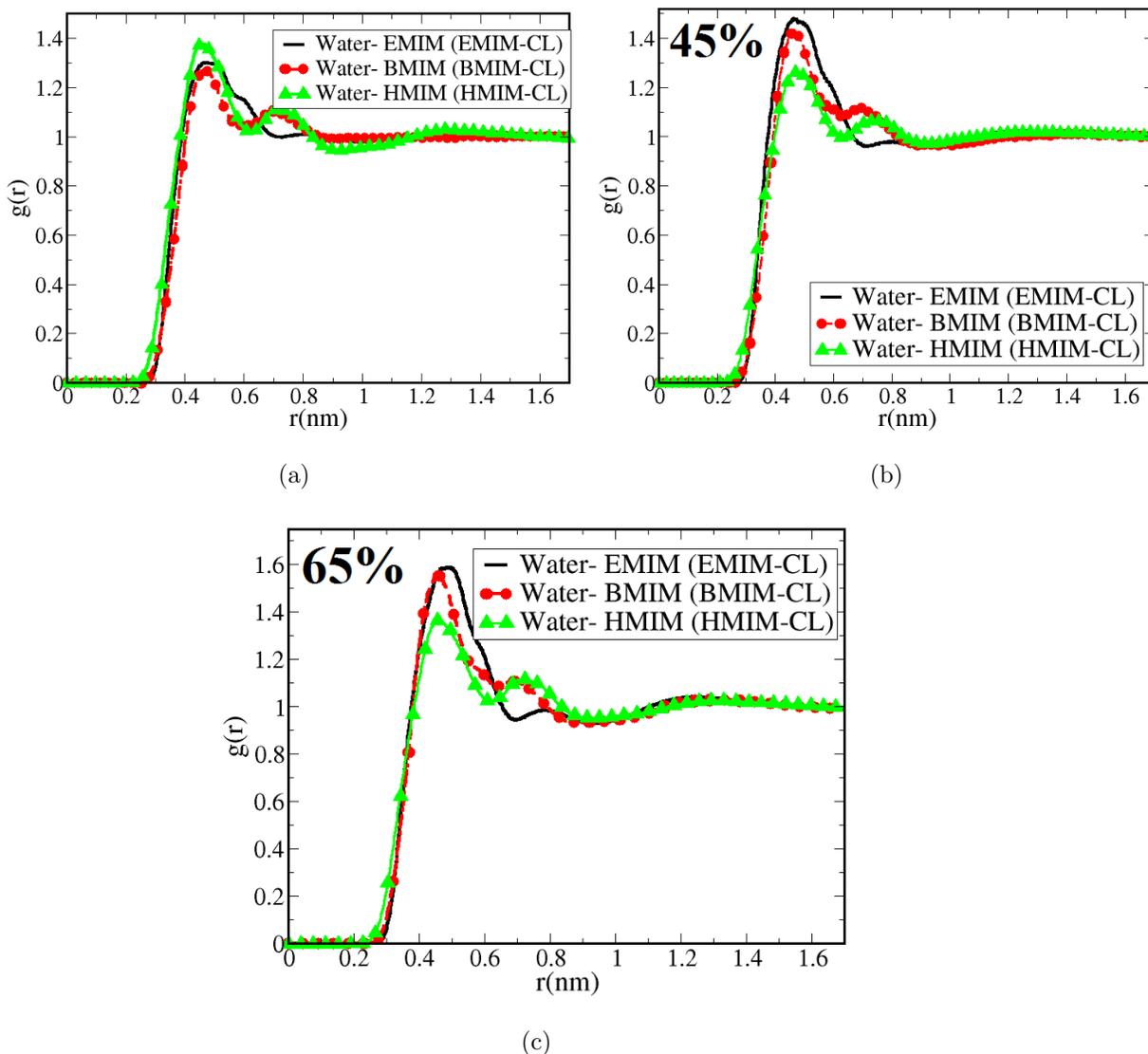


Figura 7.15: $g(r)$ vs r (nm) del catión tomando como referencia el agua presente en el sistema. La línea sólida representa el caso del solvente con EMIM-CL, la línea con círculos corresponde al solvente con BMIM-CL y la línea con triángulos indica el sistema con HMIM-CL. En los paneles a), b) y c) encontramos las RDF de la concentración 25 %, 45 % y 65 % respectivamente.

En las gráficas de la Figura 7.15 se puede ver la RDF de los cationes tomando como referencia el agua para los diferentes porcentajes del líquido

iónico, se presentan en los paneles (a), (b) y (c) los RDF de las concentraciones 25, 45 y 65 % respectivamente.

En la Figura 7.15 se presenta la RDF del catión tomando como referencia el agua, en el panel (a) esta la RDF a 25 %, donde la $g(r)$ es prácticamente igual en todos los casos. En el panel (b) está a 45 %, se ve como la probabilidad aumenta en EMIM-CL y BMIM-CL pero en HMIM-CL sigue siendo la misma que a 25 %. En el panel (c) es la RDF de los sistemas a 65 %, vemos como la probabilidad aumenta para todos los casos, pero solo ligeramente en el de HMIM-CL.

Se puede apreciar como el comportamiento de la $g(r)$ es similar para las diferentes concentraciones. En los casos con EMIM-CL y BMIM-CL la probabilidad de encontrar al catión cerca del agua conforme aumenta la concentración del líquido iónico, mientras que para el caso de HMIM-CL la probabilidad de encontrar al catión cerca del agua no cambia de forma gradual, siendo a 25 % y 65 % la misma y una menor a 45 %.

En las gráficas de la Figura 7.16 se puede ver la RDF del agua tomando como referencia el agua para los diferentes porcentajes del líquido iónico, en los paneles (a), (b) y (c) están las RDF de las concentraciones 25, 45 y 65 % respectivamente para los diferentes sistemas.

En la Figura 7.16 tenemos la RDF del agua para los diferentes sistemas y las diferentes concentraciones tomando como referencia al agua. Se aprecia como la $g(r)$ se comporta de manera similar para todas las concentraciones, lo que varía es la altura del máximo, presentando menores cambios en el caso de HMIM-CL. En el panel (a) esta la RDF a 25 %, se ve como la probabilidad de encontrar al agua cerca de otra molécula de agua es la misma en EMIM-CL y BMIM-CL, pero la es muy alta en el caso de HMIM-CL. En (b) está la RDF del agua a 45 %, se ve como la probabilidad de encontrar moléculas de agua cerca de otras aumentó en el caso de EMIM-CL y BMIM-CL, pero disminuye en el caso de HMIM-CL. En el panel (c) tenemos la RDF del agua a 65 %, para todos los casos la probabilidad aumenta, siendo muy similar en EMIM-CL y BMIM-CL.

De manera general se ve como en los casos de EMIM-CL y BMIM-CL la probabilidad de encontrar moléculas de agua cerca de otras aumenta conforme aumenta la concentración del líquido iónico, mientras que en el caso de HMIM-CL no se puede apreciar un cambio gradual siendo que a 25 % y 65 % se prácticamente la misma y a 45 % presentó una disminución.

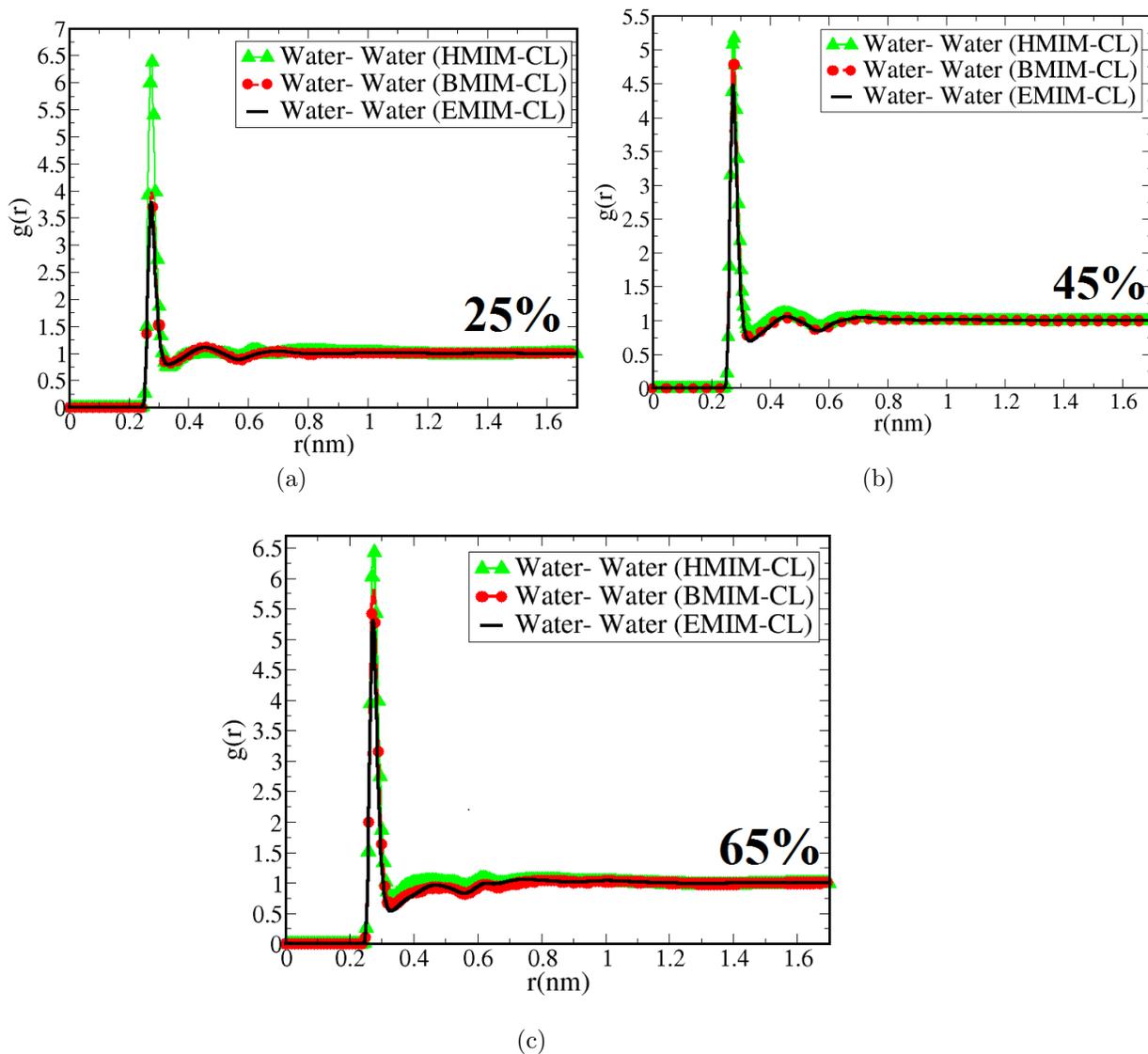


Figura 7.16: $g(r)$ vs r (nm) del agua tomando como referencia el agua presente en el sistema. La línea sólida representa el caso del solvente con EMIM-CL, la línea con círculos corresponde al solvente con BMIM-CL y la línea con triángulos indica el sistema con HMIM-CL. En los paneles a), b) y c) encontramos las RDF de la concentración 25 %, 45 % y 65 % respectivamente.

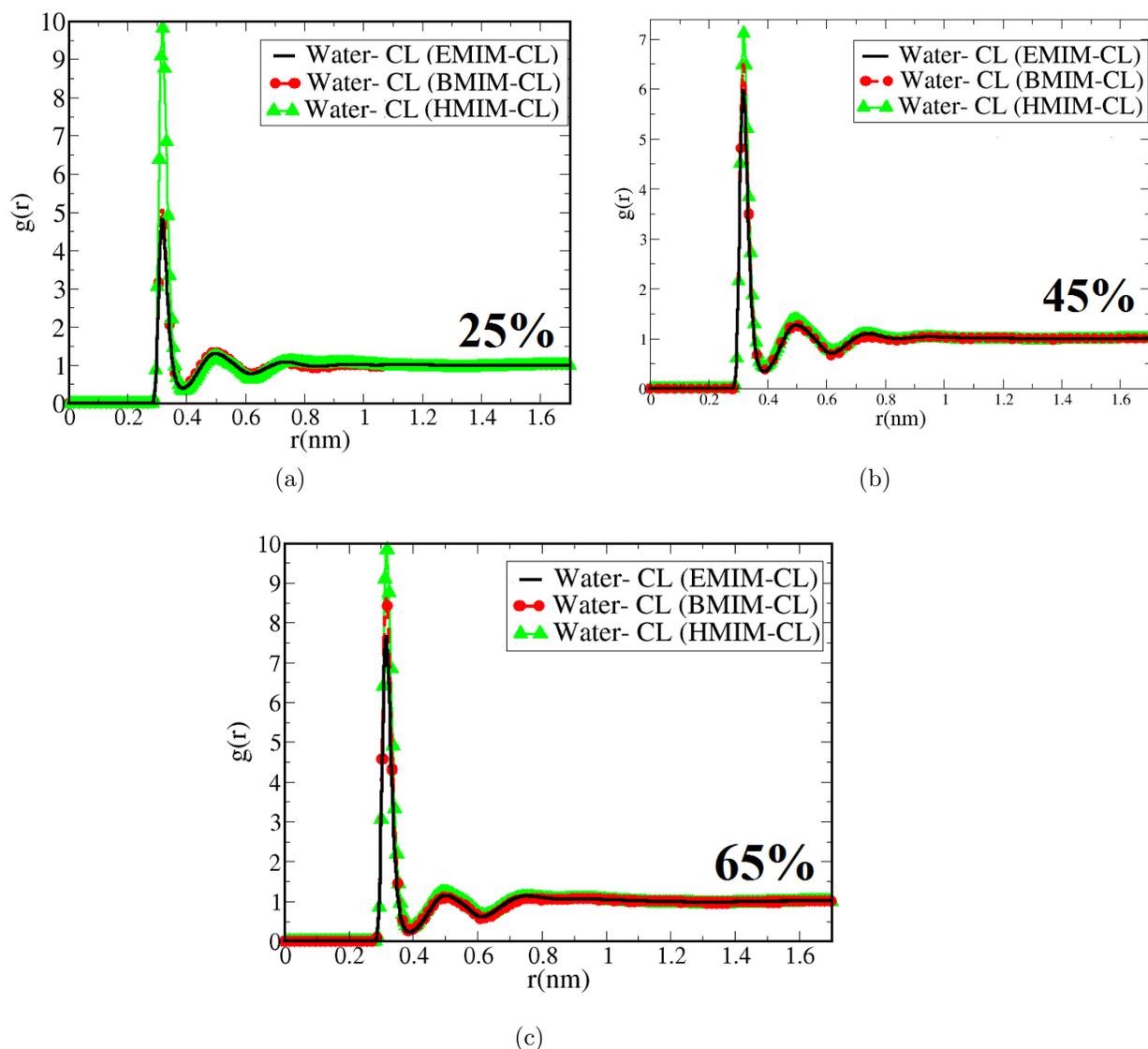


Figura 7.17: $g(r)$ vs r (nm) del anión tomando como referencia el agua presente en el sistema. La línea sólida representa el caso del solvente con EMIM-CL, la línea con círculos corresponde al solvente con BMIM-CL y la línea con triángulos indica el sistema con HMIM-CL. Los paneles a), b) y c) encontramos las RDF de la concentración 25 %, 45 % y 65 % respectivamente.

En la Figura 7.17 se puede ver la RDF del anión (CL^-) tomando como referencia las moléculas de agua para los diferentes porcentajes del líquido iónico, se presentan en los paneles (a), (b) y (c) los RDF de las concentraciones 25, 45 y 65 % respectivamente.

En la Figura 7.17 esta la RDF del anión tomando como referencia el agua, en (a) están la RDF de los sistemas a 25 %, se puede ver como en EMIM-CL y BMIM-CL la probabilidad de encontrar el anión cerca del agua es la misma, pero en HMIM-CL esta es muy alta. En el panel (b) está la RDF para los sistemas a 45 %, la probabilidad de encontrar al anión cerca del agua aumenta para los sistemas con EMIM-CL y BMIM-CL y disminuye en HMIM-CL. En el panel (c) está la RDF de los sistemas a 65 % y se puede ver como la probabilidad de encontrar al anión cerca del agua aumenta para todos los casos.

De manera general en la Figura 7.17 se puede apreciar como para los sistemas con EMIM-CL y BMIM-CL conforme aumenta la concentración del líquido iónico en el solvente aumenta la probabilidad de encontrar al anión cerca del agua, mientras que en con HMIM-CL la probabilidad es la misma a 25 % y 65 %.

Con lo visto en las Figuras 7.15, 7.16 y 7.17 se puede concluir como el primer vecino del agua es otra molécula del agua pero inmediatamente o compitiendo por el lugar se encuentra un anión, y más adelante el catión, la forma de la $g(r)$ del agua y CL^- no cambia conforme aumenta la concentración del líquido iónico. Para los sistemas con EMIM-CL y BMIM-CL se vio como conforme aumenta la concentración del líquido iónico aumenta la probabilidad de encontrar al anión cerca del agua. Mientras que para el caso de HMIM-CL la probabilidad de encontrar las moléculas del solvente alrededor del agua no presentó cambios significativos al aumentar la concentración del líquido iónico.

3. Función de distribución radial (RDF) tomando como referencia el anión.

En las Figuras 7.18, 7.19 y 7.20 están los RDF de las diferentes moléculas del solvente tomando como referencia las moléculas del anión. En la Figura 7.18 están las RDF's del catión, en la Figura 7.19 están las RDF's del agua y en la Figura 7.20 están las RDF's del anión. El código de colores/símbolos es el mismo que en la sección anterior.

En la Figura 7.18 se puede ver la RDF de los cationes tomando como referencia el anión para los diferentes porcentajes del líquido iónico, se presentan en los paneles (a), (b) y (c) los RDF de las concentraciones 25, 45 y 65 % respectivamente.

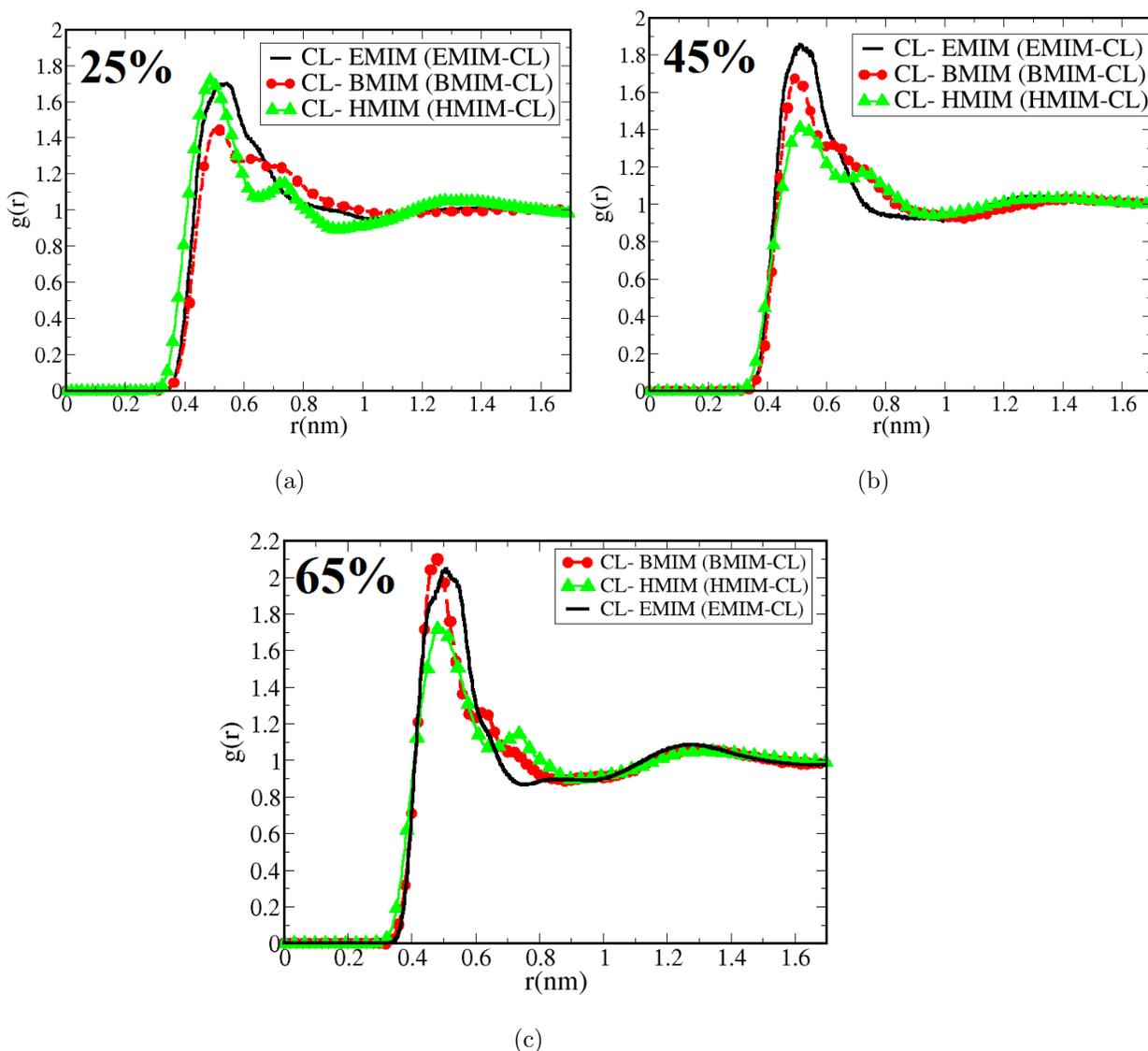


Figura 7.18: $g(r)$ vs r (nm) del catión tomando como referencia el anión presente en el sistema. La línea sólida representa el caso del solvente con EMIM-CL, la línea con círculos corresponde al solvente con BMIM-CL y la línea con triángulos verdes representa el sistema con HMIM-CL. En los paneles a), b) y c) encontramos las RDF de la concentración 25 %, 45 % y 65 % respectivamente.

En la Figura 7.18 se puede ver como la forma de la $g(r)$ no cambia mucho, pero si presenta cambios en la altura que alcanza el máximo, en el panel (a) esta la RDF a 25 %, la probabilidad de encontrar un catión cerca del anión en los casos con EMIM-CL y HMIM-CL es muy similar y es

menor en BMIM-CL. En el panel (b) está la RDF a 45 %, vemos como la probabilidad de encontrar al catión cerca del anión aumenta en EMIM-CL y BMIM-CL pero disminuye en HMIM-CL (en comparación con (a)). En el panel (c) está la RDF a 65 %, vemos como en todos los casos la probabilidad de encontrar un catión cerca del anión aumenta.

De manera general en la Figura 7.18 se puede apreciar como para los casos de EMIM-CL y BMIM-CL la probabilidad de encontrar al catión cerca del anión aumenta conforme aumenta la concentración del líquido iónico. Sin embargo, para el caso de HMIM-CL esta no presenta un cambio gradual siendo casi la misma a 25 % y 65 % y presentando un menor valor a 45 %.

En la Figura 7.19 se puede ver la RDF del agua tomando como referencia el anión para los diferentes porcentajes del líquido iónico, se presentan en los incisos (a), (b) y (c) los RDF de las concentraciones 25, 45 y 65 % respectivamente.

En la Figura 7.19, en el panel (a) tenemos la RDF del agua para los sistemas a 25 %, se puede ver como la $g(r)$ es igual en EMIM-CL y BMIM-CL, pero la probabilidad de encontrar al agua cerca del anión en HMIM-CL es mucho mayor. En el panel (b) tenemos la RDF a 45 %, para EMIM-CL y BMIM-CL la probabilidad de encontrar al agua aumenta y su comportamiento sigue siendo igual entre ambos sistemas, pero en el caso de HMIM-CL la probabilidad de encontrar al agua cerca del anión disminuye en comparación al caso a 25 %. En el panel (c) tenemos la RDF a 65 %, se puede ver como en todos los casos aumenta la probabilidad de encontrar al agua cerca del anión, pero en HMIM-CL aumenta casi a lo mismo que presento en 25 %.

En la Figura 7.19 se vio como la forma de la $g(r)$ es la misma para todos los sistemas y todas las concentraciones del líquido iónico, lo único que varía es la altura que alcanza el máximo. En los casos con EMIM-CL y BMIM-CL la probabilidad de encontrar agua cerca del anión aumenta conforme aumenta la concentración del líquido iónico, mientras que con HMIM-CL presentó casi los mismos valores a 25 % y 65 %.

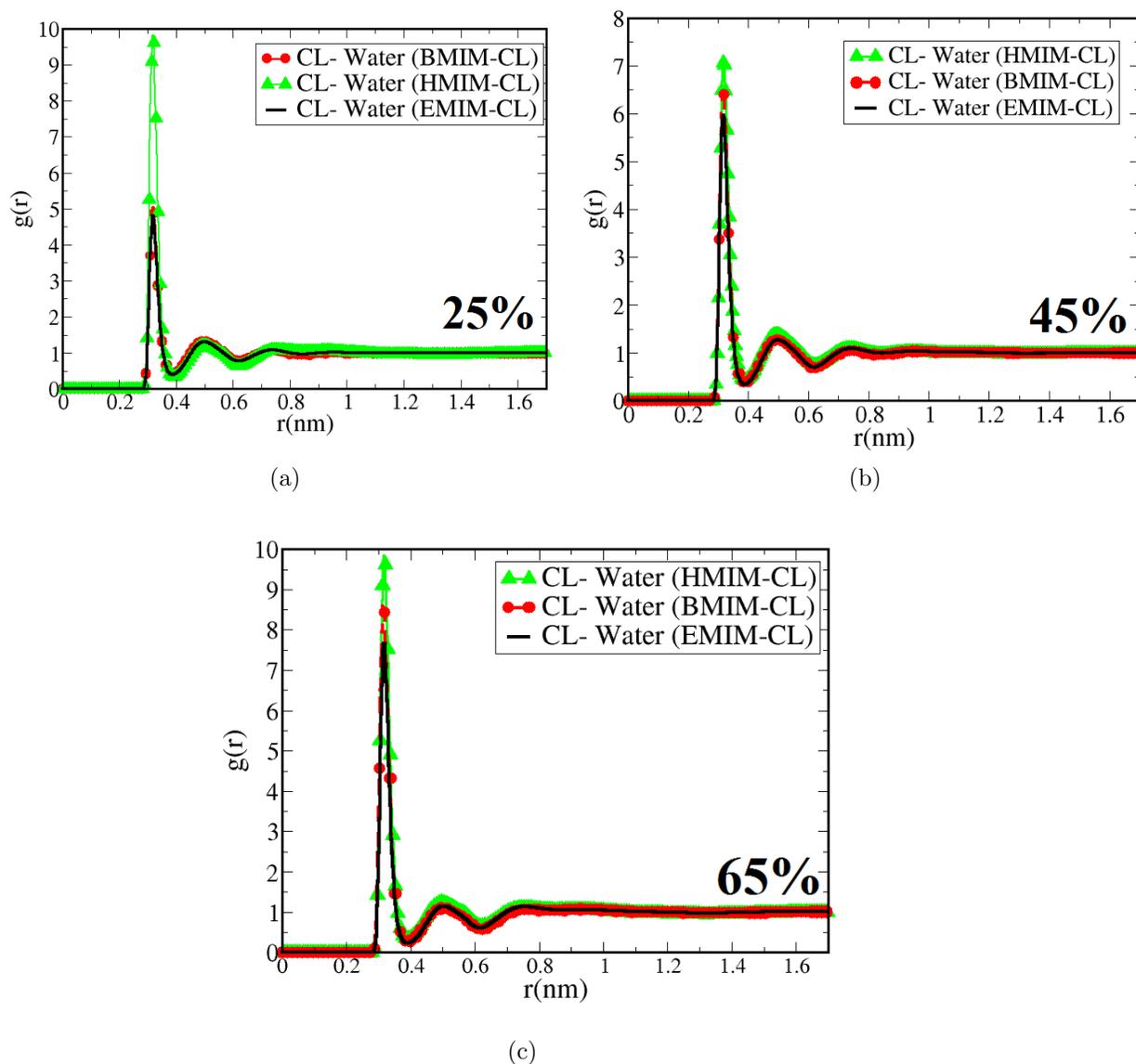


Figura 7.19: $g(r)$ vs r (nm) del agua tomando como referencia el anión presente en el sistema. La línea sólida representa el caso del solvente con EMIM-CL, la línea con círculos corresponde al solvente con BMIM-CL y la línea con triángulos indica la RDF en HMIM-CL. En los paneles a), b) y c) encontramos las RDF de la concentración 25 %, 45 % y 65 % respectivamente.

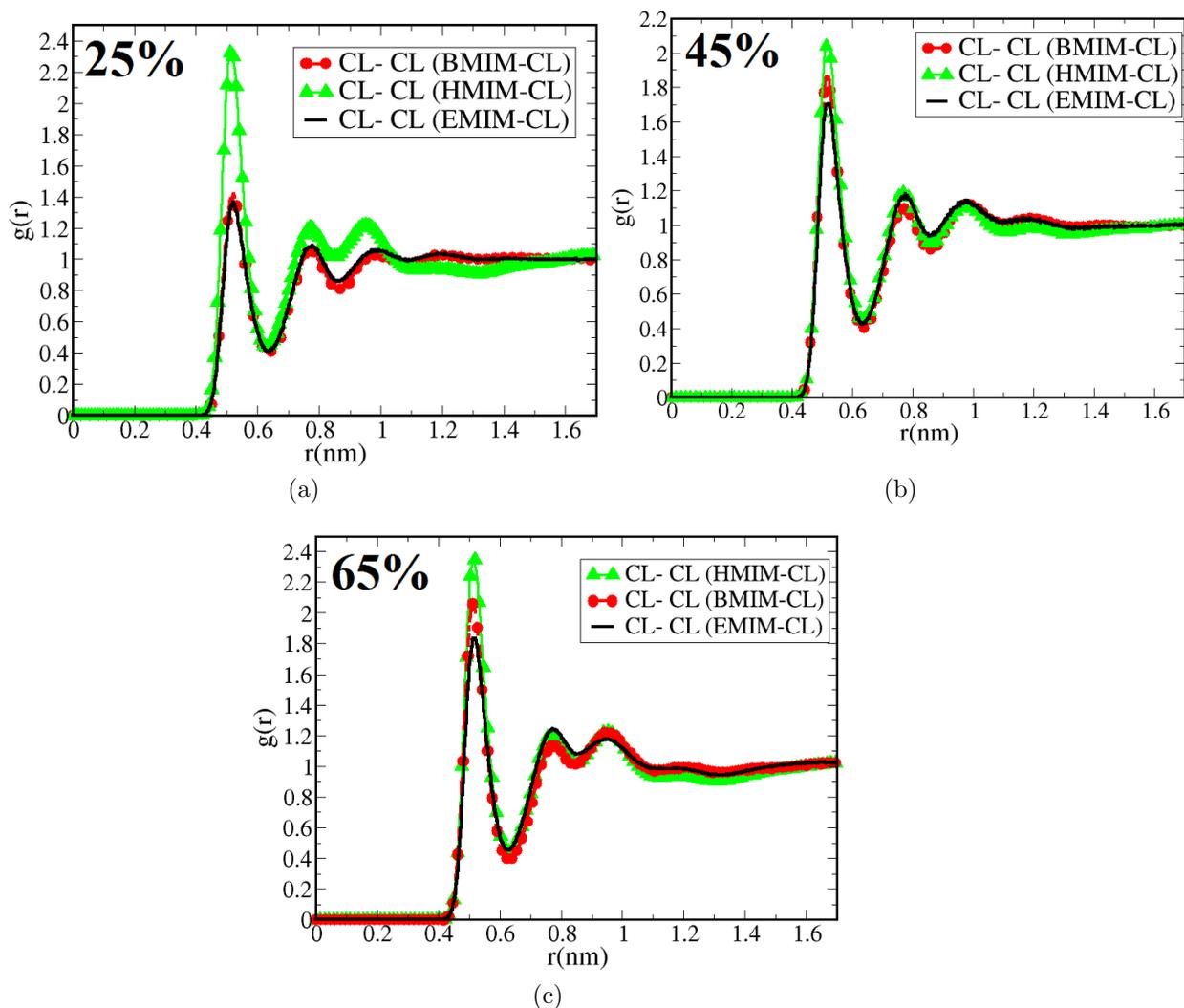


Figura 7.20: $g(r)$ vs r (nm) del anión tomando como referencia el anión presente en el sistema. La línea sólida representa el caso del solvente con EMIM-CL, la línea con círculos corresponde al solvente con BMIM-CL y la línea con triángulos verdes representa el sistema con HMIM-CL. Los paneles a), b) y c) encontramos las RDF de la concentración 25 %, 45 % y 65 % respectivamente.

En la Figura 7.20 se puede ver la RDF del CL^- tomando como referencia el anión para los diferentes porcentajes del líquido iónico, se presentan en los incisos (a), (b) y (c) los RDF de las concentraciones 25, 45 y 65 % respectivamente.

En la Figura 7.20 tenemos en (a) tenemos la RDF a 25 % se ve como en

EMIM-CL y BMIM-CL la $g(r)$ es igual y en HMIM-CL la probabilidad de encontrar un anión cerca de otro es muy alta. En el panel (b) tenemos la RDF a 45 % y la probabilidad de encontrar al anión cerca de otro es muy similar en todos los casos, presentando un aumento en el siguiente orden $HMIM^+ > BMIM^+ > EMIM^+$. En (C) tenemos la RDF a 65 % se vio un aumento en la probabilidad de encontrar el anión cerca de otro anión en el mismo orden que a 45 % ($HMIM^+ > BMIM^+ > EMIM^+$).

En la Figura 7.20 se apreció la misma forma de la $g(r)$ para todos los sistemas y concentraciones, solo varía la altura que alcanzan sus máximos, se puede ver como en el caso de EMIM-CL y BMIM-CL la probabilidad de encontrar a un anión cerca de otro aumenta conforme aumenta la concentración del líquido iónico, pero en el caso de HMIM-CL es similar para las diferentes concentraciones.

Por lo que se pudo apreciar en las Figuras 7.18, 7.19 y 7.20 los primeros vecinos del anión son las moléculas de agua, después tenemos otro anión compitiendo con otra molécula de agua y al final encontramos al catión. Se puede apreciar como la probabilidad de encontrar a las moléculas de agua o al anión cerca de CL^- aumenta conforme aumenta la concentración del líquido iónico para los sistemas de EMIM-CL y BMIM-CL, mientras que con HMIM-CL no se apreció ningún cambio gradual, parecía mantenerse la misma probabilidad de encontrar las moléculas del solvente alrededor del anión independiente a la concentración del líquido iónico.

8. Discusión

Se pudo apreciar como la mayoría de las RDF's no cambian de manera sustancial con respecto a la concentración. Sin embargo, se observó un aumento en la altura del primer máximo de la $g(r)$ para los sistemas con $EMIM^+$ y $BMIM^+$. Para el caso de $HMIM^+$ se vio como en la mayoría de las RDF's se mantienen sin fuerte dependencia a la concentración.

Se notó como para el caso de HMIM-CL, el catión tiende a acomodarse cerca del fragmento de ApoA1. Esto indica que la cadena hidrofóbica más larga encuentra afinidad con la proteína de tal manera que los cationes se acercan a la superficie de la misma. Parece indicar que esto implica un aumento en la estabilidad del fragmento de ApoA1.

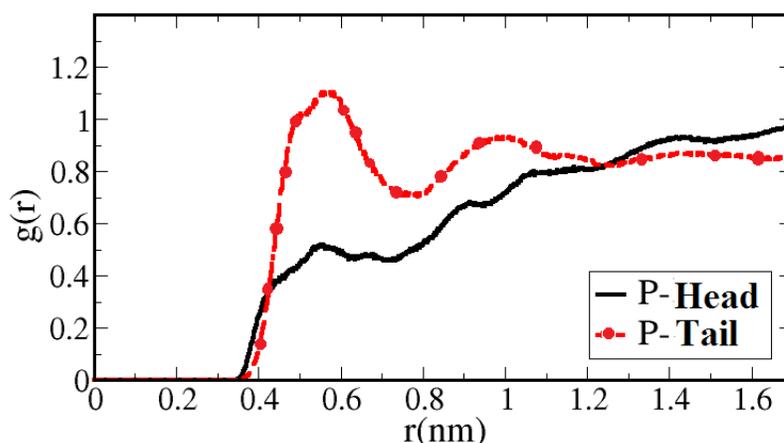


Figura 7.21: $g(r)$ vs r (nm) tomando como referencia el fragmento de ApoA1. La línea punteada con círculos indica el RDF del metilimidazol (head) y la línea sólida corresponde al RDF del hexano (tail).

Para tener un entendimiento más a detalle de la interacción del fragmento de ApoA1 con el catión $HMIM^+$, se calculó la RDF de las partes del catión $HMIM^+$ (tail, head). En la Figura 7.21 se presenta el RDF del metilimidazol (head) y el hexil (tail) del catión tomando como referencia el fragmento de ApoA1. La línea punteada con círculos nos indica la $g(r)$ del metilimidazol y la línea sólida la $g(r)$ del hexano. Se puede apreciar que hay una mayor probabilidad de encontrar al hexano alrededor del fragmento de ApoA1. Recordemos que el hexano es el radical que fue cambiando conforme cambiamos al catión y le confiere propiedades hidrofóbicas al catión. Esta competencia entre la parte hidrofóbica y la parte cargada es importante pues incluso puede promover la formación de dominios y heterogeneidades espaciales [65].

Tomando en cuenta lo que nos dice las RDF de la Figura 7.21 de que el radical hexil del catión es el que se encuentra con mayor probabilidad alrededor del fragmento de ApoA1, se calculó las RDF del hexil, del metilimidazol, del agua y del CL^- del solvente tomando como referencia residuos específicos del fragmento de ApoA1.

En la Figura 7.22 se muestra la RDF del agua, CL^- , el hexano y el metilimidazol tomando como referencia los residuos hidrófobos (2, 3, 7, 11, 13, 15, 17, 18, 22, 23, 24, 29, 33, 34, 35, 37, 39, 40 y 46) del fragmento de ApoA1. La línea sólida negra corresponde a la $g(r)$ del agua, la línea roja con círculos representa la $g(r)$ del anión (CL^-), la línea verde con cuadros indica la $g(r)$ del hexano (tail) del catión y la línea azul con triángulos corresponde a la $g(r)$ del metilimidazol (head).

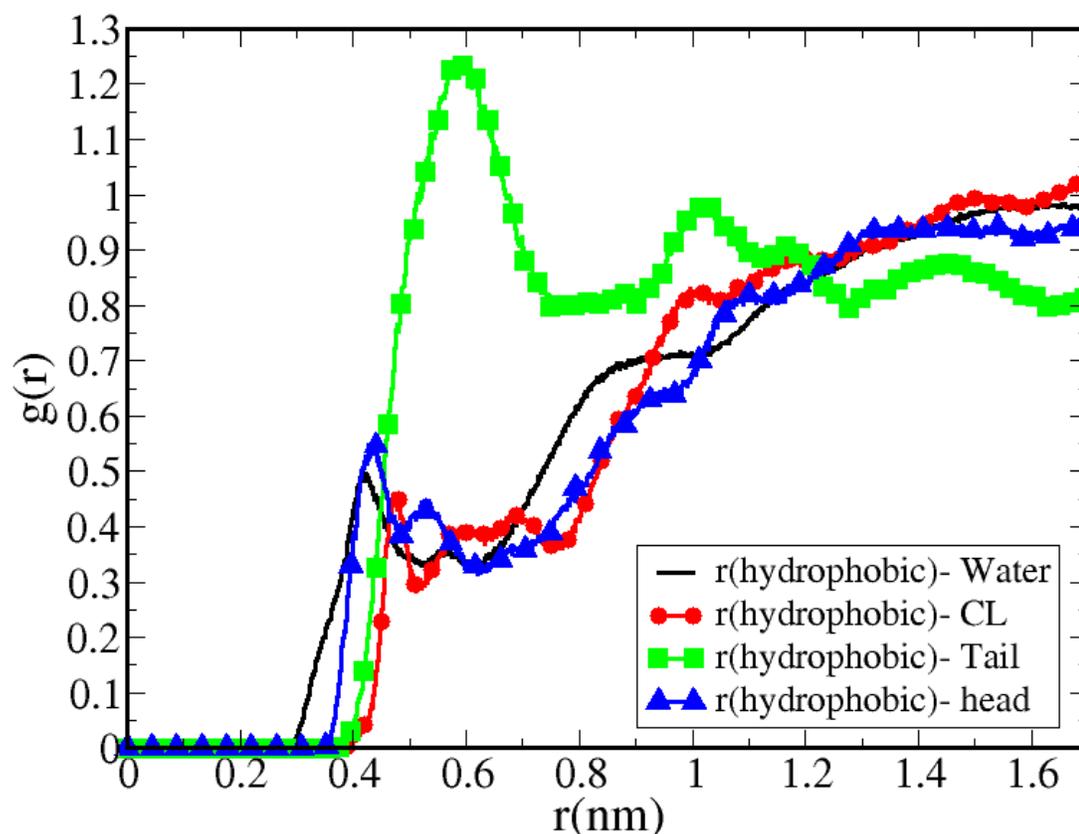


Figura 7.22: RDF del agua, CL^- , el hexano y el metilimidazol tomando como referencia los residuos hidrófobos (2, 3, 7, 11, 13, 15, 17, 18, 22, 23, 24, 29, 33, 34, 35, 37, 39, 40 y 46) del fragmento de ApoA1. La línea sólida negra corresponde a la $g(r)$ del agua, la línea roja con círculos representa la $g(r)$ del anión (CL^-), la línea verde con cuadros indica la $g(r)$ del hexil (tail) del catión y la línea azul con triángulos corresponde a la $g(r)$ del metilimidazol (head).

En la Figura 7.22 se puede apreciar como el hexano (tail) del catión $HMIM^+$ es el que tiene la mayor probabilidad de encontrarse cerca de los residuos hidrófobos del fragmento de ApoA1, donde la probabilidad de encontrar a las otras moléculas del solvente cerca es muy similar entre ellas pero muy pequeña en comparación con la de encontrar al hexano, esto tiene sentido puesto que en un solvente con agua las moléculas hidrófobas tienden a aglomerarse/agruparse para disminuir de esa manera su interacción con el agua presente.

En la Figura 7.23 se muestra la RDF del agua, CL^- , el hexano y el metilimidazol tomando como referencia los residuos hidrófilos (1, 4, 20, 25, 26, 31, 43,

44 y 45) del fragmento de ApoA1. La línea sólida negra corresponde a la $g(r)$ del agua, la línea roja con círculos representa la $g(r)$ del anión (CL^-), la línea verde con cuadros indica la $g(r)$ del hexano (tail) del catión y la línea azul con triángulos corresponde a la $g(r)$ del metilimidazol (head).

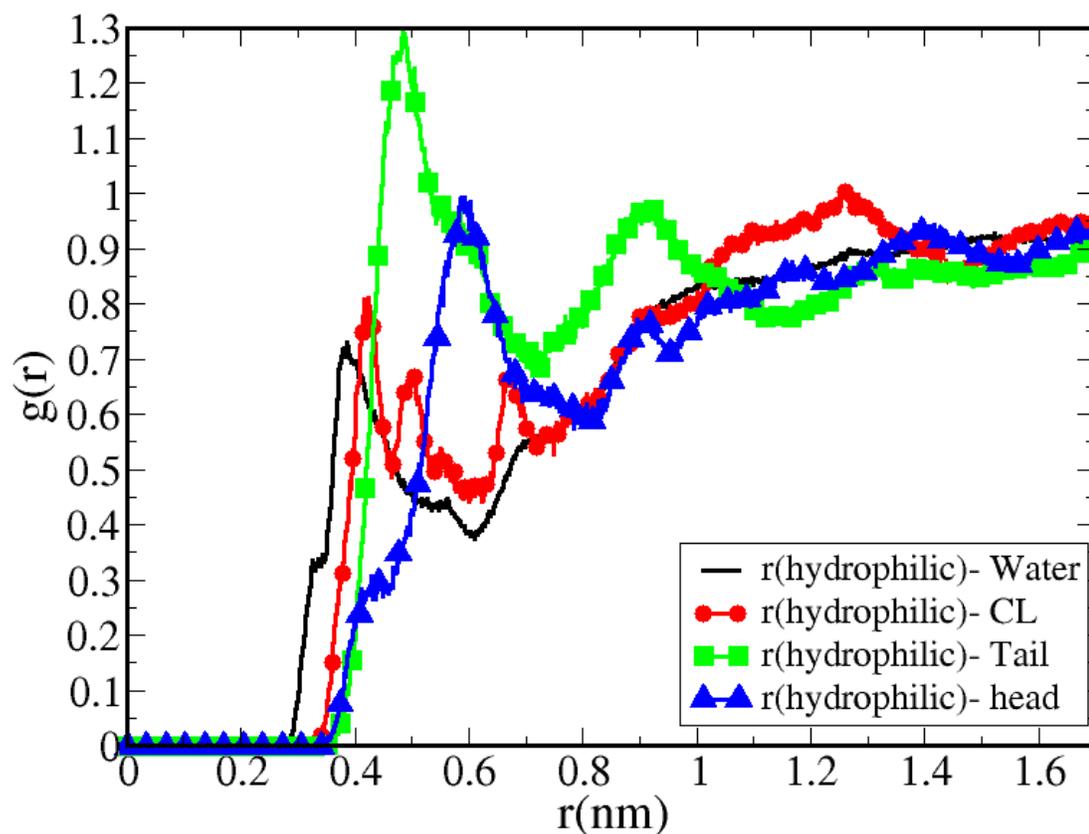


Figura 7.23: RDF del agua, CL^- , el hexano y el metilimidazol tomando como referencia los residuos hidrófilos (1, 4, 20, 25, 26, 31, 43, 44 y 45) del fragmento de ApoA1. La línea sólida negra corresponde a la $g(r)$ del agua, la línea roja con círculos representa la $g(r)$ del anión (CL^-), la línea verde con cuadros indica la $g(r)$ del hexano (tail) del catión y la línea azul con triángulos corresponde a la $g(r)$ del metilimidazol (head).

En la Figura 7.23 se puede ver como el hexano sigue siendo el que tiene mayor probabilidad de estar cerca de los residuos hidrófilos del fragmento, seguido por el metilimidazol del catión, y aumenta la probabilidad de encontrar al anión o al agua cerca de estos, pero sigue siendo aún más dominante el caso del

hexano, esto puede ser debido a que en el fragmento de ApoA1 la mayoría de sus residuos son hidrófobos y están distribuidos a lo largo de todo el fragmento y usualmente cerca de donde están ubicados los hidrófilos se encuentran los hidrófobos, por lo que sigue siendo dominante la interacción del hexil del catión con los residuos hidrófobos del fragmento.

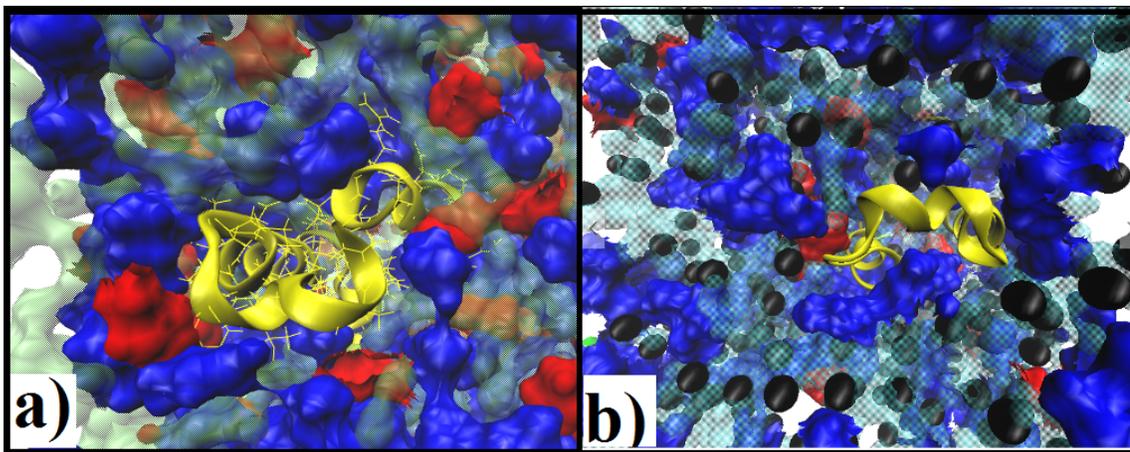


Figura 7.24: Acercamiento de la configuración final del fragmento de ApoA1 en el sistema a 65% de HMIM-CL visualizado por VMD. El color cian translucido corresponde al agua presente, el color rojo representa al metilimidazol, el color azul indica el hexil y las esferas negras al anión CL^- . Los diferentes paneles (a) y b)) solo son para visualizar desde otro ángulo al fragmento de ApoA1.

En la Figura 7.24 se muestra un acercamiento de la configuración final del fragmento de ApoA1 en el sistema a 65% de HMIM-CL visualizado por VMD. El color cian translucido corresponde al agua presente, el color rojo representa al metilimidazol, el color azul indica el hexil y las esferas negras al anión CL^- . Los diferentes paneles (a) y b)) solo son para visualizar desde otro ángulo al fragmento de ApoA1. En la Figura 7.24 se puede apreciar como alrededor del fragmento de ApoA1 se acomodan el hexil (superficie azul), lo cual corresponde con lo visto en las gráficas de las Figuras 7.22 y 7.23. También se puede apreciar ligeramente como a pesar del catión estar formado del hexil y del metilimidazol estos no se ven de manera independiente sino que se ven en agrupaciones.

Como ya se vio como se están acomodando las moléculas del solvente alrededor del fragmento de ApoA1 y como se percibe como el catión está formando posiblemente dominios, se calculó el RDF de las moléculas del solvente (agua y CL^-), del radical hexil del catión y del metilimidazol, tomando como referencia el metilimidazol (cabeza del catión HMIM). En la Figura 7.25 la línea sólida

corresponde al RDF del CL^- , la línea discontinua negra representa al RDF del agua, la línea azul con cuadros indica la RDF del metilimidazol (head) y la línea rosa con círculos corresponde al hexil. En la Figura 7.25 se puede apreciar como la molécula con mayor probabilidad de que encontremos alrededor del metilimidazol es el CL^- , y con una probabilidad menor y similar entre ellas al agua u otro metilimidazol y aun con menor probabilidad al hexil, esto nos está indicando que en el solvente con HMIM-CL, el catión $HMIM^+$ tiene una orientación preferencial.

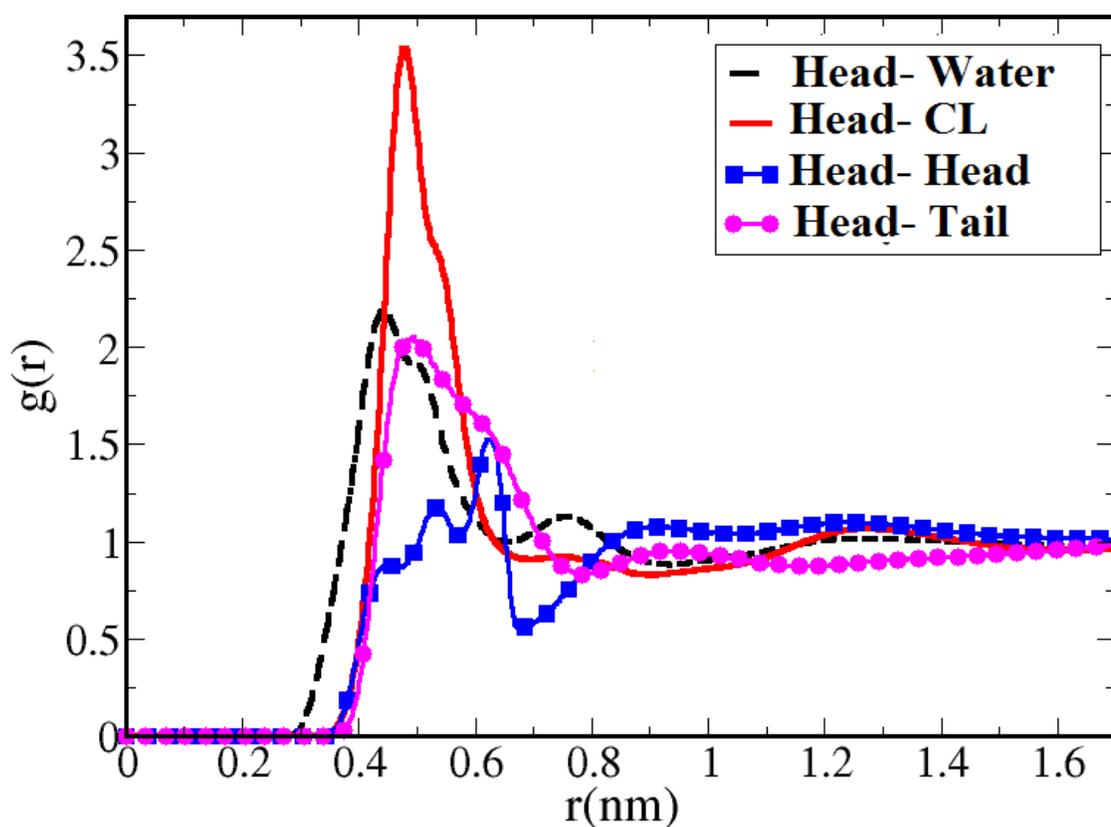


Figura 7.25: $g(r)$ vs r (nm) de las diferentes moléculas del solvente tomando como referencia el metilimidazol (head). La línea sólida representa la RDF del CL^- , la línea discontinua la RDF del agua, la línea con cuadros la RDF del hexil (tail) y la línea con círculos la RDF del metilimidazol (head).

Para comprobar el comportamiento del catión HMIM-CL se sacó la RDF de las diferentes moléculas del solvente tomando como referencia el hexil (cola del catión). En la Figura 7.26 se muestra la RDF, a línea punteada es la RDF

del agua, la línea sólida es la RDF del CL^- , la línea con cuadros es la RDF del hexil (tail) y la línea con círculos es la RDF del metilimidazol (head), se puede observar como alrededor del hexil la molécula que más probablemente encontraremos es otro hexil, después agua o metilimidazol y al final CL^- , esto comprueba que el catión tiene una orientación preferencial, donde los radicales del catión tiende a juntarse entre ellos y el metilimidazol tiende a estar cerca del CL^- y del agua.

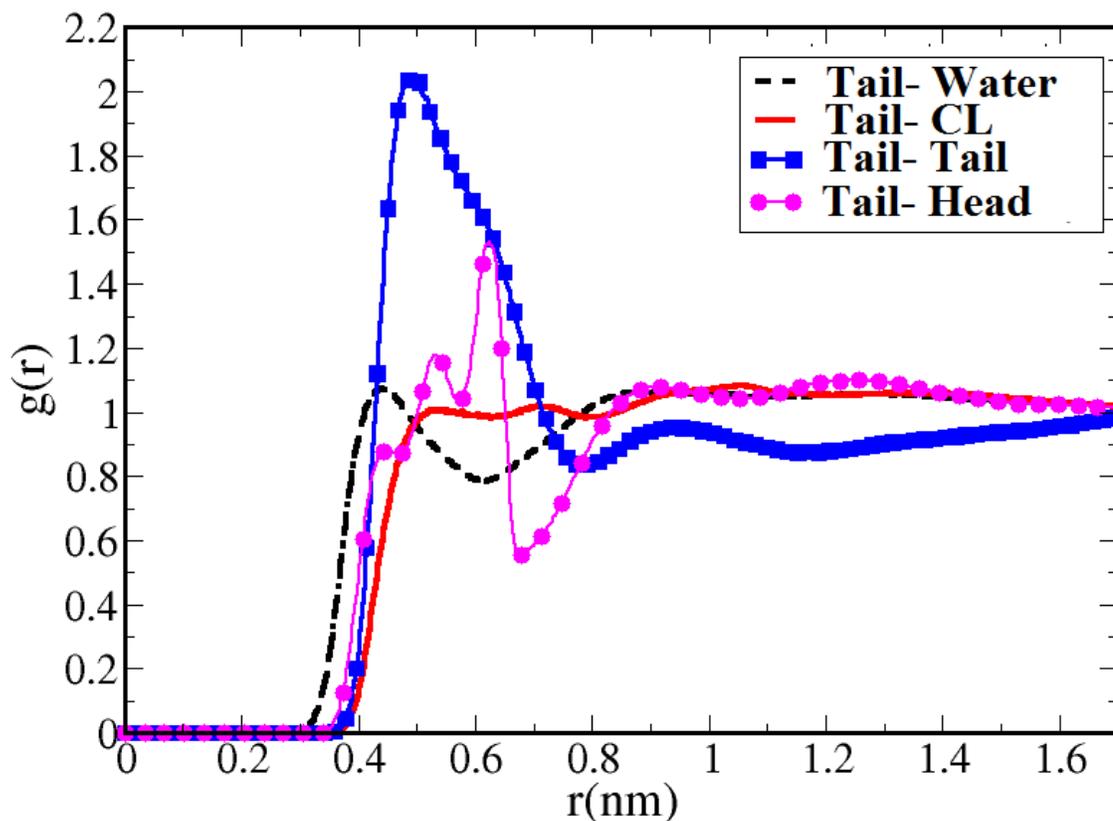


Figura 7.26: $g(r)$ vs r (nm) de las diferentes moléculas del solvente tomando como referencia el hexil (tail). La línea sólida representa la RDF del CL^- , la línea discontinua la RDF del agua, la línea con cuadros la RDF del hexil (tail) y la línea con círculos la RDF del metilimidazol (head).

Para poder apreciar dicha afirmación de manera gráfica en la Figura 7.27 esta la visualización de la configuración final del sistema a 65 % de HMIM-CL, donde el color cian translucido corresponde al agua, el color azul representa al hexil del catión, el color rojo indica el metilimidazol del catión y las esferas negras

corresponden al anión CL^- . En la Figura 7.27 se puede apreciar más fácilmente como el catión está presentando un acomodo preferencial en el sistema, donde el hexil y el metilimidazol están formando dominios al juntarse con las partes de otros cationes en el solvente, se puede ver como en el agua se encuentra inmerso el CL^- y solo rodea los dominios formados del catión.

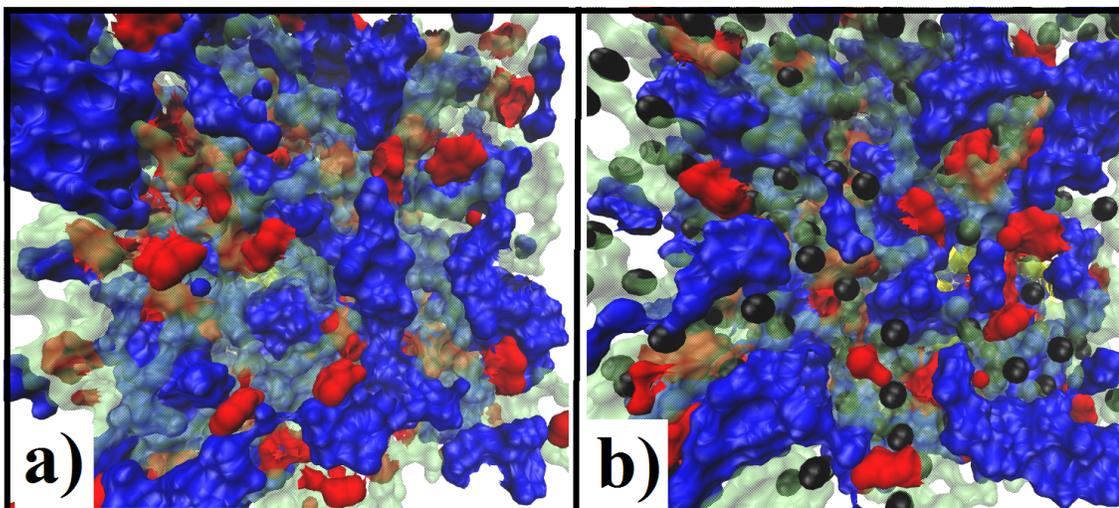


Figura 7.27: Configuración final del sistema a 65% de HMIM-CL. El color cian traslucido corresponde al agua, el color azul representa al hexil del catión, el color rojo indica el metilimidazol del catión y las esferas negras corresponden al anión CL^-

Capítulo 8

Conclusiones

Hemos probado que, independientemente de la conformación inicial del fragmento de la ApoA1, se pudo observar los siguientes cambios sobre su estructura conforme se incrementó la concentración del líquido iónico:

1. EMIM-CL

1. El fragmento tiene un radio de giro mayor al del agua en todos los casos.
2. El radio de giro del fragmento de ApoA1 disminuye.
3. El RMSF indica que los sistemas donde la estructura del fragmento fue más estable fueron a 65 % y donde presento el mayor número de fluctuaciones fue a 25 % de EMIM-CL
4. El fragmento de ApoA1 va perdiendo sus estructuras secundarias de α -hélice de forma gradual (Figura 6.13)
5. El área superficial de ApoA1 va aumentando
6. El número promedio de puentes de hidrógeno del fragmento con el medio o consigo mismo disminuye de manera exponencial
7. El RDF indica: (1) que la alrededor del fragmento hay una pequeña capa de agua pero que aumenta la probabilidad de que haya CL^- cerca al aumentar la concentración, (2) el catión no está interactuando con otra molécula del solvente y solamente esta excluyendo espacio, (3) CL^- tiene alrededor principalmente moléculas de agua y (4) el agua siempre tiene cerca CL^- .

Se puede concluir que el aumento en la concentración de EMIM-CL es el causante de la pérdida de estructuras secundarias del fragmento de ApoA1. Esto es debido a que el tamaño del catión le impide apantallar la carga del CL^- y debido a esto, este anión tienden a hidratarse disminuyendo la cantidad de moléculas de agua que podrían interactuar con el fragmento y de esta manera, produce la pérdida de puentes de hidrógeno entre la estructura y el medio y la ausencia de agua alrededor de esta permite que los residuos hidrofóbicos del fragmento dejen de esconderse del medio y dejen de formar puentes de hidrógeno entre ellos y esto provoca que el fragmento de ApoA1 pierda sus estructuras secundarias ya que estas están estabilizadas por puentes de hidrógeno que se forman entre los residuos.

2. Efecto del tamaño del radical hidrófobo unido al catión en la estabilidad del fragmento de ApoA1.

Con los resultados obtenidos para los diferentes casos del líquido iónico, se puede concluir que las propiedades del sistema y el efecto que tuvo sobre el fragmento de ApoA1, cambiaron dependiendo del tamaño del radical unido al metilimidazol del catión. De acuerdo a lo observado en los resultados se presentaron los siguientes cambios:

1. El radio de giro para el caso de EMIM-CL y HMIM-CL fue disminuyendo conforme aumento la concentración del líquido iónico en el sistema. Pero para BMIM-CL no se presentó un cambio gradual.
2. La desviación de la distancia cuadrática media de los residuos fue disminuyendo para los casos de BMIM-CL y HMIM-CL de manera gradual conforme se fue aumentando la concentración del líquido iónico. Se observó como para los tres líquidos iónicos las fluctuaciones en este valor fueron disminuyendo conforme aumento la concentración del líquido iónico.
3. La superficie accesible al solvente fue disminuyendo conforme se aumentó la concentración del líquido iónico en los casos de EMIM-CL y HMIM-CL. Pero para BMIM-CL no se presentó un cambio gradual.
4. La distancia cuadrática media de las fluctuaciones de los residuos en comparación con las del fragmento en agua, disminuyo conforme aumento la concentración en el caso de HMIM-CL, para el caso de EMIM-CL no

- presento cambios muy significativos y con BMIM-CL no hubo un cambio gradual.
5. El número de puentes de hidrógeno entre el fragmento de ApoA1 y el agua presente fue disminuyendo de forma gradual conforme se aumentó la concentración del líquido iónico (para EMIM-CL/BMIM-CL/HMIM-CL). El número de puentes de hidrógeno entre el propio fragmento disminuyeron conforme aumento la concentración del líquido iónico para los casos de EMIM-CL y BMIM-CL, mientras que para HMIM-CL no se vieron cambios significativos.
 6. Alrededor del fragmento de ApoA1 tiende a acumularse agua, pero conforme aumenta la concentración del líquido iónico este lugar se disputa entre el agua y el anión, también se apreció como conforme se aumentó la concentración del líquido iónico aumenta la probabilidad de encontrar al catión cerca del fragmento.
 7. La función de distribución radial de las moléculas del solvente fue muy similar para todos los sistemas y todas las concentraciones. Para los sistemas con EMIM-CL y BMIM-CL se apreció como conforme aumentaba la concentración del líquido iónico se veía un aumento en la probabilidad de encontrar el agua cerca del anión (y viceversa). Pero para el caso de HMIM-CL no se presentaron cambios significativos en las RDF's de las moléculas.
 8. Se vio como conforme aumentaba la concentración de EMIM-CL y BMIM-CL el fragmento de ApoA1 fue perdiendo su estabilidad y estructuras secundarias, mientras que para el caso de HMIM-CL se fue estabilizando conforme se aumentó la concentración de este en el solvente.

Para los casos a 25 % del líquido iónico se presentaron resultados similares para todos los cationes, lo que da a entender que a esta concentración el efecto es independiente al catión utilizado.

Se puede concluir que el aumento del radical hidrófobo del catión va cambiando las propiedades del sistema, ya que las partes del catión (metilimidazol y hexil) forma dominios en el medio aumentando la estabilidad en a distribución del mismo y de esa manera limitando las fluctuaciones del fragmento, la interacción entre la parte hidrófoba del catión y los residuos hidrófobos del fragmento (los cuales son la mayoría) le confiere estabilidad al fragmento en dicho medio independiente a la concentración de HMIM-CL.

Bibliografía

- [1] WILLIAM A. EATON y V. MUÑOZ, (2014). *Impacto de las simulaciones atómicas de dinámica molecular en el estudio del plegamiento de proteínas: la perspectiva del científico experimental*, Instituto Roche, Bioinformática.
- [2] DAVID ARBOLEDAS BRIHUEGA, (2011). *Jerarquía estructural de las proteínas*, Editorial Club Universitario, Deposito legal: A-732-2011.
- [3] B. ALBERTS, D. BRAY, K. HOPKIN, A. JHONSON, J. LEWIS, M. RAFF, K. ROBERTS y P. WALTER, (2004). *Introducción a la biología celular*, Editorial Medica Panamericana S. A., Segunda Edición
- [4] H.M. BERMAN, J. WESTBROOK, Z. FENG, G. GILLILAND, T.N. BHAT, H. WEISSIG, I.N. SHINDYALOV, P.E. BOURNE, (2000). *The Protein Data Bank*, Nucleic Acids Res., 28, pp. 235242.
- [5] FANG, P., YU, X., JEONG, S. J., MIRANDO, A., CHEN, K., CHEN, X., . . . GUO, M., (2015). *Structural basis for full-spectrum inhibition of translational functions on a tRNA synthetase*. Nat Commun, 6. doi: 10.1038/ncomms7402.
- [6] MA, B., y NUSSINOV, R., (2002). *Stabilities and conformations of Alzheimer's -amyloid peptide oligomers (A1622, A1635, and A1035): sequence effects*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 99(22), 14126-14131.
- [7] ROBIN D. ROGERS y KENNETH R. SEDDON, (2003). *Ionic Liquids—Solvents of the Future?*, Science, Vol. 302 no. 5646 pp. 792-793, DOI: 10.1126/science.1090313.
- [8] ZHANG, S., SUN, J., ZHANG, X., XIN, J., MIAO, Q. y WANG, J., (2014). *Ionic liquid-based green processes for energy production.*, Chem Soc Rev, 43(22), 7838-7869. doi: 10.1039/c3cs60409h.

- [9] MACARULLA, J. M. y GOÑI, F. M., (1993). *Biomoléculas: lecciones de bioquímica estructural: Reverté*.
- [10] SAYHAN EGE, (2000). *Química Orgánica: Estructura y reactividad*, Tomo 2, Editorial Reverté, S. A., Tercera Edición
- [11] FRANCISCO JAVIER MELERO COLUMBRÍ, (1993). *Materiales y procesos avanzados*, Materiales de alta tecnología, Tecnología y gestión de Innovación.
- [12] LEÓN GARZÓN RUPÉREZ, (1996). *El origen de la vida (Un nuevo escenario)*, Universidad de Oviedo, Servicio de Publicaciones.
- [13] F. B. ZÚÑIGA y Á. G. PALACIO. *Caracterización y manejo de los suelos de la Península de Yucatán*, Implicaciones agropecuarias, forestales y ambientales, proyecto 0308P-B9506
- [14] ANDRÉ C. DUMETZ, ANN M. SNELLINGER-O'BRIEN, ERIC W. KALER y ABRAHAM M. LENHOFF, (2007). *Patterns of proteinprotein interactions in salt solutions and implications for protein crystallization*. Protein Science, vol. 16, doi: 10.1110/ps.072957907.
- [15] HANSON, J. P., y McDONALD, I. R., (1990). *Theory fo simple liquids*. Elsevier.
- [16] D. R. MACFARLANE, J. GOLDING, S. FORSYTH, M. FORSYTH y G. B. Deacon, (2001). *Low viscosity ionic liquids based on organic salts of thee dicyanamide anion*. Chem. Commun (16): 1430. doi:10.1039/bb3064g.
- [17] ARTURO ROMERO SALVADOR, (2008). *Líquidos Iónicos a temperatura ambiente: un nuevo medio para las reacciones químicas*, Rev. R. Acad. Cienc. Exact. Fis. Nat. (Esp). Vol:102, N.1, pp 79-90
- [18] DARRELL D. EBBING y STEVE D. GAMMON,(2010). *Química General*, Novena Edicion, CENGAGE-Learning.
- [19] ALLINGER. N; JHONSON. C; LEBEL. N., (1986). *Química Orgánica*. Editorial Reverté S.A. 2 Edición. España. 1986. (Páginas).
- [20] LOUROS, C. L. S., (2009). *Extraction of biomolecules with aqueous two phases systems*.
- [21] NEVES, C. M. S. S, (2009). *Sistemas Aquosos Bifásicos com Líquidos Iónicos*. Universidade de Aveiro, Departamento de Química.

- [22] NETO, D., BRENNO, A. y SPENCER, J., (2012). *The impressive chemistry, applications and features of ionic liquids: properties, catalysis catalysts and trends*. Journal of the Brazilian Chemical Society, 23(6), 987-1007.
- [23] DUPONT, J., CONSORTI, C. S. y SPENCER, J., (2000). *Room temperature molten salts: Neoteric "green" solvents for chemical reactions and processes*. Journal of the Brazilian Chemical Society, 11(4), 337-344.
- [24] MARTÍNEZ-PALOU, R., (2007). *Ionic liquid and microwave-assisted organic synthesis: a green and synergic couple*. J Mex Chem Soc, 51(4), 252-264.
- [25] SEKHON, B. S., (2013). *Ionic liquids based active pharmaceutical ingredients*. Ars Pharm. 2013; 54(4): 37-44. [<http://hdl.handle.net/10481/31425>].
- [26] ZAKZESKI, J., BRUIJNINCX, P. C., JONGERIUS, A. L. y WECKHUYSEN, B. M., (2010). *The catalytic valorization of lignin for the production of renewable chemicals.*, Chem Rev, 110(6), 3552-3599. doi: 10.1021/cr900354u
- [27] M. J. ABRAHAM, VAN DER SPOEL, E. LINDAHL, B. HESS y GROMACS DEVELOPMENT TEAM, (2014). *GROMACS User Manual version 5.0.4*, www.gromacs.org
- [28] BRANDEN, C. y TOOZE, J., (1991). *Introduction to Protein Structure*. Garland Publishing, New York.
- [29] ALLEN, M. P. y TILDESLEY, D. J., (1987). *Computer Simulations of Liquids*. Clarendon Press: Oxford.
- [30] LEACH, A. R., (2001). *Molecular Modeling: principles and applications*. Longman.
- [31] SCHMIDT, R. R., (2012). *Simulación de Propiedades en Disolución de Polímeros*. (Dr.), Universidad de Murcia.
- [32] SEPÚLVEDA-DURÁN, L. A., (2007). *Estudio de dinámica molecular con solvente implícito de la influencia de la interfase de interacción entre los dominios de la proteína FTSZ en la estabilidad y plegamiento*. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.
- [33] SÁNCHEZ LEÓN, M., RODRÍGUEZ PORTO, A., L., y MARTÍNEZ VALDÉS, L. L., (2003). *Desórdenes lipídicos: una puesta al día*. Revista Cubana de Endocrinología, 14(1), 0-0

- [34] BENNINGTON, (2000). *Diccionario enciclopédico del laboratorio clínico*, Editorial Medica Panamericana, S. A.
- [35] DONALD VOET y Judith G. Voet, (2006). *Bioquímica*, Tercera Edición, Editorial Medica Panamericana
- [36] X. FUENTES ARDERIU, M. J. CASTIÑERAS LACAMBRA y J. M. QUERALTÓ COMPAÑÓ, (1998). *Bioquímica clínica y Patología molecular*, Volumen II, Segunda Edición, Editorial Reverté, S. A.
- [37] FONSECA, J. C., SÁNCHEZ, G. Á., y TRUJILLO, S. B., (2007). *Apolipoproteína A1 para evaluar el estado nutricional en niños con y sin malaria*, *latreia*, 20(2), pág-111
- [38] BALDERAS-ALTAMIRANO, M. A., GAMA-GOICOCHEA, A., y PÉREZ, E., (2014). *Folding of the apolipoprotein A1 driven by the salt concentrations as a possible mechanism to improve cholesterol trapping*, Instituto de Física, Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- [39] LOZANO, P., DE DIEGO, T., CARRIE, D., VAULTIER, M., y IBORRA, J.,(2001). *Over-stabilization of Candida antarctica lipase B by ionic liquids in ester synthesis.*, *Biotechnology Letters*, 23(18), 1529-1533.
- [40] FUJITA, K., MACFARLANE, D. R. y FORSYTH, M.,(2005). *Protein solubilising and stabilising ionic liquids.*, *Chem Commun (Camb)*(38), 4804-4806.
- [41] KOWACZ, M., GROVES, P., ESPERANCA, J. M. y REBELO, L. P. N., (2011). *On the use of ionic liquids to tune crystallization.* *Crystal Growth Design*, 11(3), 684-691.
- [42] SHAO, Q.,(2013). *On the influence of hydrated imidazolium-based ionic liquid on protein structure stability: a molecular dynamics simulation study.*, *J Chem Phys*, 139(11), 115102. doi: 10.1063/1.4821588
- [43] SHIM, Y., KIM, H. J. y JUNG, Y.,(2013). *Solvation of a Small Metal-Binding Peptide in Room-Temperature Ionic Liquids.*, *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 33(11), 3601-3606. doi: 10.5012/bkcs.2012.33.11.3601 43
- [44] HABERLER, M. y STEINHAUSER, O.,(2011). *On the influence of hydrated ionic liquids on the dynamical structure of model proteins: a computational study.*, *Phys Chem Chem Phys*, 13(40), 17994-18004. doi: 10.1039/c1cp22266j

- [45] WANG, Y., JIANG, W., y VOTH, G. A., (2007). *Spatial heterogeneity in ionic liquids*. Ionic Liquids IV: Not Just Solvents Anymore, 975, 272-307.
- [46] WENDY D. CORNELL, P. C., CHRISTOPHER I. BAYLY, S IAN R. GOULD, L KENNETH M. MERZ, JR., DAVID M. FERGUSON, DAVID C. SPELLMEYER, THOMAS FOX, JAMES W. CALDWELL, y PETER A. KOLLMAN., (1994). *A Second Generation Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids, and Organic Molecules*. J. Am. Chem. SOC., 117, 5179-5197.
- [47] WEINER, S. J.; KOLLMAN, P. A.; CASE, D. A.; SINGH, U. C.; GHIO, C.; ALAGONA, G.; PROFETA, S., JR. y WEINER, P. J., (1984). Am. Chem. SOC. 1984,106, 765- 784
- [48] BERENDSEN, H. J. C. y STRAATSMA, T. P., (1987). *The missing term in effective pair potentials*. Journal of Physical Chemistry, 91(24), 6269-6271
- [49] ELÍAS-DOMÍNGUEZ, A, y Alvarado, J.F.J., (2004). *Estudio Comparativo de Modelos Moleculares del Agua en la Predicción de Propiedades de Saturación*. Información tecnológica, 15(1), 95-102. Recuperado en 28 de abril de 2015, de <http://www.scielo.cl/scielo.php>. 10.4067/S0718-07642004000100015.
- [50] CAMACHO-CAMACHO, L. E., (2009). *Desarrollo de un Método para Determinar Solubilidades de Sólidos, Sólidos + Líquido en Solventes Supercríticos (SSC) y Líquido + Líquido iónico hasta 150 C y 300 bar*, (Doctorado), Instituto Politécnico Nacional, Escuela Superior de Ingeniería química e industrias extractivas.
- [51] CHITI, F. y DOBSON, C. M., (2006). *Protein misfolding, functional amyloid, and human disease*. Annu. Rev. Biochem., 75, 333-366.
- [52] YANG, Y., FAN, H., SONG, J., MENG, Q., ZHOU, H., WU, L., . . . HAN, B., (2015). *Free radical reaction promoted by ionic liquid: a route for metal-free oxidation depolymerization of lignin model compound and lignin*. Chem Commun (Camb), 51(19), 4028-4031. doi: 10.1039/c4cc10394g
- [53] CASTILLO AROCHA, I., ARMAS ROJAS, N. B., DUEÑAS HERRERA, A., GONZÁLEZ GRECK, O. R., AROCHA MARIÑO, C., y CASTILLO GUZMÁN, A., (2010). *Riesgo cardiovascular según tablas de la OMS, el estudio Framingham y la razón apolipoproteína B/apolipoproteína A1*. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, 29(4), 479-488.

- [54] CABALLERO, N. B. e. (2011). *Dinámica Orientacional y Rotacional del Triclorobromometano (CCl₃Br) en las fases plástica y líquida.* (Licenciada), Universidad Nacional de Córdoba.
- [55] GIMÉNEZ, A. F. B., (2011). *Modelización estructural de la interacción entre proteína Quinasa dependiente de AMPc la proteína Core del Virus de Hepatitis C.* (Licenciatura), Institut Pasteur de Montevideo, Grupo de Simulaciones Biomoleculares.
- [56] BAKER, S. N., MCCLESKEY, T. M., PANDEY, S. y BAKER, G. A.,(2004). *Fluorescence studies of protein thermostability in ionic liquids.*, Chem Commun (Camb)(8), 940-941. doi: 10.1039/b401304m
- [57] HABERLER, M., SCHRODER, C. y STEINHAUSER, O.,(2011). *Solvation studies of a zinc finger protein in hydrated ionic liquids.*, Phys Chem Chem Phys, 13(15), 6955-6969. doi: 10.1039/c0cp02487b
- [58] MICAÊLO, N. M. y SOARES, C. M.,(2008). *Protein structure and dynamics in ionic liquids. Insights from molecular dynamics simulation studies.*, The Journal of Physical Chemistry B, 112(9), 2566-2572.
- [59] ZAKZESKI, J., BRUIJNINCX, P. C., JONGERIUS, A. L. y WECKHUYSEN, B. M.,(2010). *The catalytic valorization of lignin for the production of renewable chemicals.*, Chem Rev, 110(6), 3552-3599. doi: 10.1021/cr900354u
- [60] KLINOV, A. V., (2014). *Properties of an aqueous solution of ionic liquid [Emim][Cl] at standard atmospheric pressure.* Russian Journal of Physical Chemistry A, 88(10), 1682-1688.
- [61] BALASUBRAMANIAN, B. L., (2005). *Dynamics in a room-temperature ionic liquid: A computer simulation study of 1,3dimethylimidazolium chloride.* THE JOURNAL OF CHEMICAL PHYSICS, 123, 144505.
- [62] KOWACZ, M., MUKHOPADHYAY, A., CARVALHO, A. L., ESPERANÇA, J. M., ROMÃO, M. J. y REBELO, L. P. N., (2012). *Hofmeister effects of ionic liquids in protein crystallization: Direct and water-mediated interactions.* CrystEngComm, 14(15), 4912-4921.
- [63] WEINGÄRTNER, H., CABRELE, C. y HERRMANN, C., (2012). *How ionic liquids can help to stabilize native proteins.* Physical Chemistry Chemical Physics, 14(2), 415-426.

-
- [64] CONSTATINESCU, D., HERRMANN, C. y WEINGÄRTNER, H., (2010). *Patterns of protein unfolding and protein aggregation in ionic liquids*. Physical Chemistry Chemical Physics, 12(8), 1756-1763.
- [65] HAI-QING, Z., RUI, S., y YAN-TING, W., (2011). *Nanoscale Tail Aggregation in Ionic Liquids: Roles of Electrostatic and van der Waals Interactions*. Communications in Theoretical Physics, 56(3), 499.
- [66] MARTÍN, I. S. M., YURRITA, L. C., CENZUAL, M. Á. C. y DUBOURDIEU, P. M., (2014). *PAPEL DE APO A1 EN LIPOPROTEÍNAS DE ALTA DENSIDAD: UNA INTERVENCIÓN CON ESTEROLES VEGETALES EN PACIENTES CON HIPERCOLESTEROLEMIA*. NUTRICION HOSPITALARIA, 31(n01), 494-499.