



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΦΥΣΙΚΗΣ

ΒΙΟΦΥΣΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΜΕΤΑΞΥ
ΜΟΡΙΩΝ-ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΚΑΙ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΜΕΜΒΡΑΝΗΣ

ΡΩΣΣΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

Δ Ι Δ Α Κ Τ Ο Ρ Ι Κ Η Δ Ι Α Τ Ρ Ι Β Η

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2022

«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)»

Ημερομηνία αίτησης του κ. Ρώσσου Γεώργιου: 17-02-2016

Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: Γ.Σ. αριθμ. 786α/29-03-2016

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

Επιβλέπων:

Κουρκουμέλης Νικόλαος, Επίκουρος Καθηγητής Ιατρικής Φυσικής

Μέλη:

Εμφιετζόγλου Δημήτριος, Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρικής Φυσικής

Τζάκος Ανδρέας, Επίκουρος Καθηγητής Οργανικής Χημείας και Βιοχημείας του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ημερομηνία ορισμού θέματος: 13-04-2016

«Βιοφυσική μελέτη της αλληλεπίδρασης μεταξύ μορίων-φαρμάκων και κυτταρικής μεμβράνης»

ΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ 1007^α/04-05-2022

1. Κουρκουμέλης Νικόλαος, Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρικής Φυσικής-Βιοφυσικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
2. Εμφιετζόγλου Δημήτριος, Καθηγητής Ιατρικής Φυσικής-Ακτινοφυσικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
3. Τζάκος Ανδρέας, Αναπληρωτής Καθηγητής Οργανικής Χημείας και Βιοχημείας του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
4. Χατζηκακού Σωτήριος, Καθηγητής Ανόργανης και Οργανικής Χημείας του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
5. Ασπρακάς Λουκάς, Αναπληρωτής Καθηγητής Ιατρικής Φυσικής του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
6. Μπούμπα Βασιλική, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ιατροδικαστικής-Τοξικολογίας με έμφαση στη Δικαστική Τοξικολογία του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων
7. Κυριακού Ιωάννα, Επίκουρη Καθηγήτρια Ιατρικής Φυσικής με έμφαση στη Μικροδοσομετρία του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 01-07-2022

Ιωάννινα 25-10-2022

ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

Σπυρίδων Κονιτσιώτης

Καθηγητής Νευρολογίας



Πρόλογος

Η παρούσα διατριβή εκπονήθηκε στο Ερευνητικό Εργαστήριο Ιατρικής Φυσικής του Τμήματος Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων υπό την επίβλεψη του Αναπληρωτή Καθηγητή Ιατρικής Φυσικής - Βιοφυσικής κ. Κουρκουμέλη Νικόλαο.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή κ. Κουρκουμέλη Νικόλαο που με ενέταξε στην ερευνητική του ομάδα, και ιδιαίτερα για την πολύτιμη καθοδήγηση και υποστήριξη που μου προσέφερε κατά την διάρκεια της εκπόνησης της διδακτορικής μου διατριβής.

Εν συνεχεία, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα υπόλοιπα μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής: τον Καθηγητή Ιατρικής Φυσικής - Ακτινοφυσικής κ. Εμφιετζόγλου Δημήτριο του Τμήματος Ιατρικής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, και τον Αναπληρωτή Καθηγητή Οργανικής και Βιολογικής Χημείας του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων κ. Τζάκο Ανδρέα, για την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφεραν, την κατανόηση και την υπομονή που επέδειξαν καθ' όλη την διάρκεια της εκπόνησης της διατριβής μου.

Ευχαριστώ επίσης, όλη την ομάδα του εργαστηρίου Ιατρικής Φυσικής, και ιδιαίτερα τους υποψήφιους διδάκτορες Πετροκιλίδου Χρυσούλα και Παύλου Ελευθέριο, οι οποίοι συνετέλεσαν στο να υπάρξει ένα ευχάριστο και θερμό κλίμα. Η συνεργασία μαζί τους υπήρξε άψογη και πολύ εποικοδομητική.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω επίσης τους κ. Γούσια Χρήστο, κ. Μπαλιούσκα Γεράσιμο, κ. Λεοντίου Ιωάννη και κ. Εζρά Τζον Καλέφ με τους οποίους συνεργάστηκα στενά κατά την διάρκεια της παροχής επικουρικού διδακτικού έργου στο εργαστήριο Ιατρικής Φυσικής, κατά την διάρκεια της εκπόνησης της διδακτορικής μου εργασίας.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά και τα υπόλοιπα μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής: τον Καθηγητή του Τμήματος Χημείας κ. Χατζηκακού Σωτήριο, τον Αναπληρωτή Καθηγητή Ιατρικής Φυσικής του Τμήματος Ιατρικής κ. Ασπρακά Λουκά, την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ιατροδικαστικής - Τοξικολογίας με έμφαση στην Δικαστική Τοξικολογία του Τμήματος Ιατρικής κ. Μπούμπα Βασιλική, και την

Επίκουρη Καθηγήτρια Ιατρικής Φυσικής με έμφαση στην Μικροδοσιμετρία του Τμήματος Ιατρικής κ. Κυριακού Ιωάννα του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, που συμμετείχαν στην παρουσίαση και υποστήριξη της διδακτορικής μου διατριβής, καθώς και για τις καλοπροαίρετες επισημάνσεις τους.

Τέλος ευχαριστώ πολύ την οικογένειά μου και ιδιαίτερα την σύζυγό μου, για την αγάπη τους, την υπομονή και την αμέριστη συμπαράστασή τους στην προσπάθειά μου να γίνωμαι καλύτερος.

Γεώργιος Κ. Ρώσος

...

Αφιερωμένο στην σύζυγό μου Κέλλυ,

τους γονείς και τα αδέρφια μου

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
I. 1. Εισαγωγή.....	1
I. 2. Στόχος της παρούσας μελέτης.....	12
II. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	14
II. 1. Προσομοιώσεις Μοριακής Δυναμικής-Υπολογιστικό Πακέτο <i>GROMACS</i>.....	14
II. 1. 1. Προσομοιώσεις Μοριακής Δυναμικής.....	17
II. 1. 1. 1. Αλληλεπιδράσεις <i>van der Waals</i>.....	19
II. 1. 1. 2. Δεσμός Υδρογόνου.....	26
II. 1. 1. 3. Πεδία Δυνάμεων.....	28
II. 1. 1. 4. Ελαχιστοποίηση ενέργειας και μέθοδοι έρευνας.....	38
II. 1. 2. Στατιστική Μηχανική-Σύνολα.....	40
II. 1. 3. Υπολογισμός μέσω των τιμών από προσομοίωση μοριακής δυναμικής.....	44
II. 1. 4. Θερμοστάτες-Θερμοστάτης <i>Berendsen</i>.....	46
II. 1. 5. Βαροστάτες.....	48
II. 1. 5. 1. Ισότροπος Βαροστάτης <i>Berendsen</i>.....	49
II. 1. 5. 2. Ανισοτροπικός Βαροστάτης <i>Parrinello-Rahman</i>.....	51
II. 2. Βιολογικές μεμβράνες.....	53
II. 2. 1. Σύσταση μεμβρανών.....	53
II. 2. 2. Σύσταση λιπιδίων.....	54
II. 2. 3. Φωσφολιπίδια.....	56
II. 2. 4. Φυσικές ιδιότητες μεμβρανών.....	59
II. 2. 5. Διαμεμβρανική μεταφορά μορίων.....	63

II.	3.	Συστήματα που μελετήθηκαν.....	66
II.	3.1.	Παράγωγα 2-benzimidazolyl-urea.....	66
II.	3.2.	Λιπίδια DPPC και DPPG.....	70
II.	4.	Υπολογιστικό Μέρος.....	73
II.	4.1.	Κώδικας ώθησης (<i>pull code</i>)	74
II.	4.2.	Αλγόριθμοι ολοκλήρωσης.....	75
II.	4.3.	Προσδιορισμός του κέντρου μάζας.....	78
II.	4.4.	Μέθοδος δειγματοληψίας <i>Umbrella Sampling</i>	80
II.	4.5.	Παράμετροι δευτερεύουσας τάξης (<i>Deuterium order parameters</i>)	83
II.	4.6.	Μέση τετραγωνική μετατόπιση (<i>Mean Squared Displacement, MSD</i>) και τετραγωνική ρίζα μέσης τετραγωνικής μετατόπισης (<i>Root Mean Squared Displacement, RMSD</i>)	84
II.	4.7.	Συνάρτηση ακτινικής κατανομής (<i>Radial Distribution Function, RDF</i>)	85
III. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....			87
III.	1.	Μέθοδοι.....	87
III.	2.	Εξισορρόπηση συστημάτων.....	92
III.	2.1.	Συστήματα με διπλοστιβάδα <i>dipalmitoyl-phosphatidyl-choline (DPPC)</i>	94
III.	2.1.1.	Διπλοστιβάδα DPPC με νερό.....	95
III.	2.1.2.	Διπλοστιβάδα DPPC με ένα μόριο BZIMU.....	97
III.	2.1.3.	Διπλοστιβάδα DPPC με ένα σύμπλοκο μόριο <i>CuComplex</i>	99
III.	2.1.4.	Διπλοστιβάδα DPPC με 15 μόρια BZIMU.....	101
III.	2.2.	Συστήματα με διπλοστιβάδα <i>dipalmitoyl phosphatidylglycerol (DPPG)</i>	104
III.	2.2.1.	Διπλοστιβάδα DPPG με νερό.....	105
III.	2.2.2.	Διπλοστιβάδα DPPG με ένα μόριο BZIMU.....	107
III.	2.2.3.	Διπλοστιβάδα DPPG με ένα σύμπλοκο μόριο <i>CuComplex</i>	109
III.	2.2.4.	Διπλοστιβάδα DPPG με 15 μόρια BZIMU.....	111
III.	3.	Προσομοιώσεις Μοριακής Δυναμικής και <i>Umbrella Sampling</i>	114

III.	3. 1.	Συστήματα με διπλοστιβάδα <i>dipalmitoyl-phosphatidyl-choline (DPPC)</i>	116
III.	3. 1. 1.	Διπλοστιβάδα <i>DPPC</i> με νερό.....	116
III.	3. 1. 2.	Διπλοστιβάδα <i>DPPC</i> με ένα μόριο <i>BZIMU</i>	118
III.	3. 1. 3.	Διπλοστιβάδα <i>DPPC</i> με ένα σύμπλοκο μόριο <i>CuComplex</i> ..	122
III.	3. 1. 4.	Διπλοστιβάδα <i>DPPC</i> με 15 μόρια <i>BZIMU</i>	126
III.	3. 1. 5.	Αξιολόγηση αποτελεσμάτων και σύγκριση συστημάτων με διπλοστιβάδα <i>DPPC</i>	129
III.	3. 2.	Συστήματα με διπλοστιβάδα <i>dipalmitoyl phosphatidylglycerol (DPPG)</i>	140
III.	3. 2. 1.	Διπλοστιβάδα <i>DPPG</i> με νερό.....	140
III.	3. 2. 2.	Διπλοστιβάδα <i>DPPG</i> με ένα μόριο <i>BZIMU</i>	142
III.	3. 2. 3.	Διπλοστιβάδα <i>DPPG</i> με ένα σύμπλοκο μόριο <i>CuComplex</i> ..	145
III.	3. 2. 4.	Διπλοστιβάδα <i>DPPG</i> με 15 μόρια <i>BZIMU</i>	148
III.	3. 2. 5.	Αξιολόγηση αποτελεσμάτων και σύγκριση συστημάτων με διπλοστιβάδα <i>DPPG</i>	151
III.	4.	Μελέτη επίδρασης συγκέντρωσης μορίων	162
III.	4. 1.	Διπλοστιβάδα <i>DPPC</i> με 15 μόρια <i>BZIMU</i>	162
III.	4. 2.	Διπλοστιβάδα <i>DPPG</i> με 15 μόρια <i>BZIMU</i>	166
III.	5.	Σύγκριση συστημάτων διπλοστιβάδων <i>DPPC</i> και <i>DPPG</i>	169
IV. Περίληψη			175
V. Abstract			176
VI. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ			177
VII. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ			192
VII.	2. 1.	Κατάλογος συντμήσεων	192
VII.	2. 2.	Κατάλογος Πινάκων και Εικόνων	193
VII.	2. 2. 1.	Πίνακες.....	193
VII.	2. 2. 2.	Εικόνες.....	194
VII.	2. 3.	Επιπλέον αποτελέσματα	200

I. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

I. 1. Εισαγωγή

Οι βιολογικές μεμβράνες είναι ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα μοριακών συγκροτημάτων με περίπλοκες δομές, αποτελούμενα από λιπίδια και λιπαρά οξέα. Οι μεμβράνες λιπιδικών διπλοστιβάδων είναι σημαντικές για την ζωή, καθώς αποτελούν τα σύνορα των κυττάρων. Η μεμβράνη έχει ρόλο: (α) δομικό, διότι περιβάλλει το κύτταρο διαχωρίζοντάς το από το εξωκυττάριο περιβάλλον, και (β) λειτουργικό, καθώς ρυθμίζει την μεταφορά μορίων προς και από το κύτταρο και πληροφοριών (υποδοχείς), και τέλος περιέχει αντιγόνα και ένζυμα. Καθώς οι μεμβράνες περιβάλλουν τα κύτταρα, η πλειοψηφία των φαρμάκων πρέπει να αλληλεπιδράσει με τις λιπιδικές διπλοστιβάδες των μεμβρανών, είτε κατά την διάρκεια της δράσης τους είτε καθώς μετακινούνται διαμέσου αυτών για να φτάσουν στον στόχο τους. Η κατανόηση των μοριακών μηχανισμών αλληλεπίδρασης των φαρμάκων με τις μεμβράνες, μπορεί να βοηθήσει στην βελτίωση της δραστηριότητάς τους και την μείωση της τοξικότητάς τους. Για αυτό τον λόγο, οι προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής μορίων-φαρμάκων με μεμβράνες έχουν γίνει ένα χρήσιμο εργαλείο, για ερευνητική μελέτη διεργασιών που δεν μπορούν να αντιμετωπιστούν απευθείας με πειραματικές μεθόδους ή προς καλύτερη κατανόηση αυτών. Με τις προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής είναι εφικτή η μελέτη σε ατομικό επίπεδο και σε χρονική κλίμακα των *femtoseconds* (fs).

Ως ιχνοστοιχεία, τα ιόντα μετάλλων διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο σε πολλές βιολογικές διεργασίες. Σε αυξημένες συγκεντρώσεις, τα μεταλλικά ιόντα χρησιμοποιούνται τόσο για διαγνωστικούς όσο και για θεραπευτικούς σκοπούς. Μεταλλικά ιόντα, όπως τα Li^+ , Na^+ , K^+ , Be^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Zn^{2+} και Cu^{2+} , έχουν επίσης γίνει ευρέως γνωστά για τον ρόλο τους στην κυτταρική δομή, την πόλωση των κυττάρων και τις κυτταρικές λειτουργίες. Τα δισθενή ιόντα μετάλλων, είναι πολύ σημαντικά για την ρύθμιση και λειτουργία ενός μεγάλου αριθμού διαδικασιών σχετιζόμενων με τις μεμβράνες. Η συσσώρευση κατιόντων στην επιφάνεια των μεμβρανών, ρυθμίζει τις αλληλεπιδράσεις της μεμβράνης με τα περιβάλλοντα μόρια

και, επίσης, τροποποιεί τοπικά τις φυσικές ιδιότητες της μεμβράνης¹, όπως είναι το πάχος, η καμπυλότητα και ρευστότητα της μεμβράνης, καθώς και η επιφάνεια ανά λιπίδιο. Η σύνδεση των κατιόντων μετάλλων στις μεμβράνες λιπιδίων, έχει αποτελέσει σημαντικό αντικείμενο μελέτης και έρευνας²⁻¹⁶. Ένας μεγάλος αριθμός μελετών έχει διεξαχθεί, με σκοπό την κατανόηση του ρόλου των ιόντων στην σταθερότητα της μεμβράνης, τον τρόπο σύνδεσης, την τοποθεσία των ιόντων μετάλλων στις διπλοστιβάδες λιπιδίων, και τον τρόπο με τον οποίο η παρουσία μετάλλων επηρεάζει την ενυδάτωση της μεμβράνης¹¹⁻¹⁴.

Γενικά, τα φάρμακα μπορούν να δράσουν στο επίπεδο βιολογικών μεμβρανών καθώς και στο εσωτερικό των κυττάρων. Η αποτελεσματικότητα των φαρμάκων να αλληλεπιδρούν με τις μεμβράνες αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα φαρμακολογικά χαρακτηριστικά που διαδραματίζουν ουσιαστικό ρόλο στη βιολογική τους δράση. Οι μεμβράνες είναι ο τόπος συγκέντρωσης πολλών πρωτεϊνών και λιπιδίων και είναι οι δομές όπου συμβαίνουν πολλαπλές κυτταρικές δραστηριότητες. Αν και τα φάρμακα συνδέονται με τις πρωτεΐνες και ρυθμίζουν τη δραστηριότητά τους, η φάση των λιπιδίων της μεμβράνης είναι εξίσου σημαντική. Μεγάλο μέρος των ενώσεων που έχουν μελετηθεί, προκαλεί δομικές αλλαγές στη λιπιδική φάση με αποτέλεσμα δομικά ελαττώματα, τα οποία με τη σειρά τους διαταράσσουν τη λειτουργία της μεμβράνης και ρυθμίζουν έμμεσα την πρωτεϊνική απόκριση.

Η χρήση μοντέλων συστημάτων μεμβρανών σε βιοφυσικές έρευνες θα μπορούσε να βοηθήσει στην κατανόηση του κρίσιμου ρόλου των λιπιδίων της μεμβράνης στην κυτταρική πρόσληψη, την πρόβλεψη της τοξικότητας και τη βελτιστοποίηση των συστημάτων χορήγησης φαρμάκων. Τα μοντέλα μεμβρανών προσφέρουν πλεονεκτήματα έναντι της χρήσης ζωντανών κυττάρων, διότι επιτρέπουν τη διεξαγωγή πειραμάτων κάτω από συνθήκες όπου τα κύτταρα μπορεί να μην είναι σε θέση να παραμείνουν βιώσιμα. Επιπλέον, η μελέτη μοντέλων μεμβρανών, επιτρέπει την ανάλυση δεδομένων από τα οποία οι μηχανισμοί μεταφοράς μπορούν να εξαχθούν ευκολότερα. Επίσης, μπορούν να βοηθήσουν στην πρόβλεψη και εξήγηση της αλληλεπίδρασης φαρμάκων ή συστημάτων χορήγησης φαρμάκων με τις βιολογικές μεμβράνες, κάτι το οποίο θα μπορούσε να είναι κρίσιμο για την ανάπτυξη νέων και πιο αποτελεσματικών μορίων-φαρμάκων ή συστημάτων χορήγησης αυτών. Τρεις διαφορετικοί τύποι αλληλεπιδράσεων είναι δυνατοί μεταξύ φαρμάκων και λιπιδίων: (α) αλληλεπιδράσεις με τις ομάδες κεφαλής των λιπιδίων, (β) με τις υδρόφοβες

αλκυλικές αλυσίδες, και (γ) ταυτόχρονα και με τις δύο προαναφερθείσες ομάδες. Οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί έχουν δείξει καλή συσχέτιση μεταξύ των βιοφυσικών αλληλεπιδράσεων και της κυτταρικής πρόσληψης ή/και της θεραπευτικής αποτελεσματικότητας, γεγονός που υποδηλώνει τον πολύ σημαντικό ρόλο των λιπιδίων στις κυτταρικές αλληλεπιδράσεις φαρμάκων και συστημάτων φορέων φαρμάκων¹⁷. Διαφορές στην λιπιδική σύνθεση και την επίδρασή τους στις βιοφυσικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ φαρμάκων και συστημάτων χορήγησης φαρμάκων, δείχνουν την σπουδαιότητα τέτοιων μελετών¹⁷. Επιπλέον, αυτό απεικονίζει τη σημασία της επιλογής μοντέλων μεμβρανών ώστε να διασφαλιστεί ότι η συμπεριφορά που παρατηρείται με τη μεμβράνη λιπιδικού μοντέλου αντανακλά τη συμπεριφορά των κυττάρων *in vitro* και/ή *in vivo*. Μέχρι στιγμής, τα αποτελέσματα των βιοφυσικών ερευνών χορήγησης φαρμάκων, και φαρμάκων με μοντέλα συστημάτων λιπιδικών διπλοστιβάδων μεμβρανών, είναι συνήθως αναδρομικά, δηλαδή γίνεται η μελέτη αφού είναι γνωστή η συμπεριφορά *in vitro* ή *in vivo*.

Έχουν πραγματοποιηθεί αρκετές μελέτες σε συστήματα με διπλοστιβάδες λιπιδίων, είτε μεμονωμένα ως έρευνα της φυσιολογίας τους και των ιδιοτήτων τους είτε σε συνδυασμό με εισαγωγή κάποιου μορίου-φαρμάκου ώστε να παρατηρηθεί και να μελετηθεί η αλληλεπίδρασή τους. Μερικές από αυτές αναφέρονται παρακάτω.

Η *S. Merino*¹⁸ και οι συνάδελφοί της, μελέτησαν την αλληλεπίδραση δύο φθοριοκινολονών, την *ciprofloxacin* (*CPX*) και το παράγωγό της *N-4-butyl piperazinyl* (*BCPX*), με λιποσώματα που φέρουν αρνητικό επιφανειακό φορτίο με μεθόδους φθορισμού. Με βάση τις διακυμάνσεις του επιφανειακού δυναμικού και της θερμοκρασίας μετάπτωσης φάσης (T_m) των φωσφολιπιδίων που μελετήθηκαν, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι (α) και τα δύο φάρμακα αλληλεπιδρούν ηλεκτροστατικά στη διεπιφάνεια της λιπιδικής μεμβράνης και (β) η πλευρική αλυσίδα βουτυλίου του *BCPX* οδήγησε σε μια διαφορετική αλληλεπίδραση με τις ομάδες κεφαλής λιπιδίων.

Οι διπλοστιβάδες λιπιδίων στην υγρή κρυσταλλική φάση, επίσης γνωστή ως L_a ή υγρή διαταραγμένη φάση (L_d), θεωρείται ότι αναπαριστούν επιτυχώς μοντέλα βιολογικών μεμβρανών. Η υγρή διατεταγμένη φάση (L_o) περιγράφεται ως μια ενδιάμεση κατάσταση μεταξύ των φάσεων L_a και L_b (κατάσταση γέλης), που συνήθως σχετίζεται με διπλοστιβάδες που περιέχουν χοληστερόλη. Μια εκτενής ανασκόπηση

των πειραματικά προσδιορισμένων δομικών δεδομένων των πλήρως ενυδατωμένων διπλοστιβάδων για πολλά διαφορετικά λιπίδια δίνεται σε μια εργασία από τους *J. F. Nagle* και *S. Tristram-Nagle*¹⁹. Τα λιπίδια μπορούν να επηρεάσουν τη δομή και τη λειτουργία των πρωτεϊνών της μεμβράνης και με τη σειρά τους οι πρωτεΐνες της μεμβράνης έχουν επίδραση στη δυναμική των λιπιδίων, κάτι το οποίο έχει διαπιστωθεί από μελέτες του *D. Marsh*²⁰, του *O. G. Mouritsen*²¹ και του *A. G. Lee*^{22,23} και των συναδέλφων τους. Επομένως, καθίσταται σημαντική η περιγραφή τόσο της δομής όσο και της δυναμικής μιας λιπιδικής διπλοστιβάδας.

Οι διεπιφανειακές ιδιότητες πολυμερικών επικαλύψεων που χρησιμοποιούνται σε συστήματα χορήγησης φαρμάκων ή των ιδίων των συστημάτων μεταφοράς φαρμάκου, έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζουν τις αλληλεπιδράσεις με τα βιολογικά περιβάλλοντα και κατά συνέπεια την αποτελεσματικότητα των συστημάτων χορήγησης φαρμάκων στην παροχή βιοθεραπευτικών παραγόντων σε κύτταρα και ιστούς. Οι *L. Mu*²⁴, *A. Agil*²⁵, *S. R. Dennison*²⁶, *M. Mano*²⁷, *S. Taetz*²⁸ και οι συνάδελφοί τους, με μελέτες τους με πολυμερή που χρησιμοποιούνται ως επικαλύψεις στη σύνθεση συστημάτων χορήγησης φαρμάκων, έδειξαν ότι φυσικά χαρακτηριστικά όπως η υδροφοβικότητα, η υδροφιλικότητα και το επιφανειακό φορτίο των πολυμερών, καθώς και το μέγεθος των συστημάτων χορήγησης φαρμάκων, μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά τις αλληλεπιδράσεις με τα λιπίδια. Αυτά τα πολυμερή μπορούν είτε να αυξήσουν είτε να μειώσουν την αποτελεσματικότητα των συστημάτων χορήγησης του φαρμάκου στην παροχή βιοθεραπευτικών παραγόντων σε κύτταρα και ιστό. Επομένως, απαιτείται μια πιο ξεκάθαρη κατανόηση των αλληλεπιδράσεων των συστημάτων χορήγησης φαρμάκων με πολυμερή και λιπιδίων, για την αποτελεσματική ανάπτυξη φορέων-φαρμάκων και την καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών που κρύβονται πίσω από την διαδικασία πρόσληψης του φαρμάκου από το σύστημα ή τις πιθανές τοξικές επιδράσεις.

Υδρόφιλα πολυμερή είτε με θετικό είτε με αρνητικό φορτίο, έχει φανεί ότι αλληλεπιδρούν με τα λιπίδια μέσω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων. Ο *F. J. Pavinatto* και οι συνάδελφοί του^{29,30}, μελέτησαν την αλληλεπίδραση μεταξύ κατιονικής χιτοζάνης (*chitosan*) και αρνητικά φορτισμένων και διπολικών λιπιδίων *dipalmitoyl phosphatidylcholine (DPPC)*, χρησιμοποιώντας μια τεχνική ισορροπίας *Langmuir* και *pendant drop*, με την τελευταία να χρησιμοποιείται για τη μέτρηση των επιδράσεων της χιτοζάνης στις ρεολογικές ιδιότητες των φωσφολιπιδίων. Τα

αποτελέσματα έδειξαν ότι η *χιτοζάνη* αλληλεπιδρά κυρίως με τα φωσφολιπίδια μέσω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων, και προκαλεί διαταραχή στις κυτταρικές μεμβράνες.

Ο *S. W. Ho*³¹ και οι συνάδελφοί του, μελέτησαν την *δαπτομυκίνη* (*daptomycin*), ένα κυκλικό ανιονικό λιποπεπτιδικό αντιβιοτικό, του οποίου η τρισδιάστατη δομή επιλύθηκε χρησιμοποιώντας μέθοδο *NMR* κατάστασης διαλύματος, και η οποία απαιτεί ασβέστιο για να λειτουργήσει. Χρησιμοποιώντας μεθόδους υπερφυγοκέντρωσης και προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής, έδειξαν ότι η *δαπτομυκίνη* σχημάτισε μικκύλια μεταξύ 14 και 16 μονομερών παρουσία μοριακής αναλογίας 1:1 Ca^{2+} και *δαπτομυκίνης*. Τα δεδομένα από την μέθοδο *NMR* ^{13}C έδειξαν ότι η προσθήκη του ασβεστίου είχε σημαντική επίδραση στα υπολείμματα *Trp1* και *Kyn13*, υποδεικνύοντας ότι είτε το ασβέστιο δεσμεύεται σε αυτή την περιοχή είτε ότι αυτά τα υπολείμματα μπορεί να είναι σημαντικά για ολιγομερισμό. Τα αποτελέσματα από τις προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής έδειξαν ότι η διαμορφωτική αλλαγή της *δαπτομυκίνης* κατά τη δέσμευση ασβεστίου μπορεί να μην είναι πολύ σημαντική. Επίσης πραγματοποίησαν παρόμοιες μελέτες για το δισθενές κατιόν Mg^{2+} . Κατέληξαν και πρότειναν, ότι τα δισθενή κατιόντα, όπως τα Ca^{2+} και Mg^{2+} , χρησιμεύουν για κάλυψη των αρνητικά φορτισμένων υπολειμμάτων στα ανιονικά λιποπεπτίδια, όπως η *δαπτομυκίνη*, επιτρέποντας έτσι στα αντιβιοτικά να αλληλεπιδρούν και να διαταράσσουν τις βακτηριακές μεμβράνες με έναν απορρυπαντικό τρόπο.

Ο *J. Lin*³² και οι συνάδελφοί του, πραγματοποίησαν αδρές προσομοιώσεις (*coarse-grained modeling*) νανοσωματιδίων χρυσού επικαλυμμένων με αλκανοθειολικό εστέρα με διάμετρο 2 nm σε λιπιδικές διπλοστιβάδες που αποτελούνται από *DPPC* και *DPPG* χρησιμοποιώντας το μοντέλο *MARTINI*. Διερεύνησαν τη σημασία των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων για τη σύνδεση και την εισαγωγή νανοσωματιδίων στη διπλοστιβάδα. Τα αποτελέσματά τους, έδειξαν ότι η ηλεκτροστατική έλξη είναι πολύ μεγάλης σημασίας για τη δέσμευση των νανοσωματιδίων σε διπλοστιβάδες λιπιδίων. Επίσης, μπόρεσαν να δείξουν το σχηματισμό οπών σε ένα μικρό τμήμα της διπλοστιβάδας που προκαλείται από την εισαγωγή του νανοσωματιδίου στην διπλοστιβάδα³³.

Ο *D. Luyvan*³⁴ και οι συνάδελφοί του, μελέτησαν τις *φωσφοϊνοσιτίδες*, όπως είναι η *4,5-bisphosphate phosphatidylinositol (PIP₂)*, τα οποία είναι αρνητικά φορτισμένα

λιπίδια που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη διακίνηση μεμβρανών, τη μεταγωγή σήματος και την αγκύρωση των πρωτεϊνών. Σχεδίασαν ένα πεδίο δύναμης για την ομάδα κεφαλής PIP_2 χρησιμοποιώντας μεθόδους κβαντομηχανικής, και χαρακτήρισαν τις ιδιότητες του μέσα σε μια διπλοστιβάδα λιπιδίων χρησιμοποιώντας προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής. Οι μακροσκοπικές ιδιότητες όπως περιοχή ανά ομάδα κεφαλής, προφίλ πυκνότητας και παράμετροι τάξης λιπιδίων που υπολογίστηκαν, ήταν σε συμφωνία με τις πειραματικές τιμές, ωστόσο, μικροσκοπικά, το PIP_2 εισήγαγε μια τοπική διαταραχή στην λιπιδική διπλοστιβάδα. Αυτή η διαταραχή δημιουργεί έναν μικροτομέα λιπιδίων PIP_2 με τα γειτονικά λιπίδια, οπότε πρότειναν ότι ο μικροτομέας λιπιδίων PIP_2 επιτρέπει στο PIP_2 να λειτουργεί ως μόριο αγκύρωσης που συνδέεται με τη μεμβράνη.

Ο *P. Jurkiewicz*³⁵ και οι συνάδελφοί του, μελέτησαν πειραματικά και προσομοίωσαν υπολογιστικά τις επιδράσεις των χλωριούχων μετάλλων αλκαλίων στις ιδιότητες των μικτών αρνητικά φορτισμένων διπλοστιβάδων. Η προσθήκη 20 mol % αρνητικά φορτισμένης φωσφατιδυλοσερίνης σε αμφιτεριονική φωσφατιδυλοχολίνη ενισχύει την προσρόφηση μονοσθενών κατιόντων αποκαλύπτοντας την ειδικότητά τους, με την ακόλουθη σειρά: $Cs(+)$ < $K(+)$ < $Na(+)$. Τα πειραματικά αποτελέσματα υποστηρίχθηκαν από προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής, οι οποίες έδειξαν βαθιά διείσδυση των κατιόντων μέχρι το επίπεδο της γλυκερίνης της λιπιδικής διπλοστιβάδας, όπου ζευγαρώνουν με άτομα οξυγόνου των καρβονυλικών ομάδων. Επιπλέον, παρατήρησαν ότι τα κατιόντα γεφυρώνουν τα γειτονικά λιπίδια σχηματίζοντας συστάδες έως και 4 λιπιδικών μορίων, γεγονός που μειώνει την περιοχή ανά λιπίδιο, πυκνώνει τη μεμβράνη, προκαλεί αύξηση των ομάδων κεφαλής λιπιδίων και εμποδίζει τη δυναμική των λιπιδίων. Αντίστοιχη μελέτη πραγματοποιήθηκε και από τον *G. Pabst*³⁶ και τους συναδέλφους του, εφαρμόζοντας περίθλαση ακτίνων X μικρής γωνίας, φασματοσκοπία παραμαγνητικού συντονισμού ηλεκτρονίων σήμανσης και θερμοδομετρία διαφορικής σάρωσης, καθώς και ταυτόχρονες μετρήσεις πυκνότητας και ακουστικής. Κατέληξαν ότι το $NaCl$ οδηγεί σε συνεχή διόγκωση των διπλοστιβάδων, ενώ η συμπεριφορά του διαχωρισμού των δύο στιβάδων d_w παρουσία $CaCl_2$ είναι πιο περίπλοκη, εμφανίζοντας μία αρχικά μεγάλη τιμή d_w , η οποία μειώθηκε με περαιτέρω προσθήκη άλατος και τελικά αυξήθηκε ξανά σε υψηλή συγκέντρωση, κάτι το οποίο απέδωσαν στην αλλαγή ισορροπίας μεταξύ ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων και αλληλεπιδράσεων *van der Waals*.

Ο *Y. Nademia*³⁷ και οι συνάδελφοί του, πραγματοποίησαν προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής και δειγματοληψία τύπου *Umbrella* για την ουδέτερη μορφή της παρακεταμόλης (*paracetamol*) που έχει εισαχθεί σε πλήρως ενυδατωμένες διπλοστιβάδες λιπιδίων *DPPC* και *DMPC*. Από τα ληφθέντα αποτελέσματα, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η ουδέτερη μορφή της παρακεταμόλης παρουσιάζει μία, γενικά, παρόμοια συμπεριφορά στις λιπιδικές διπλοστιβάδες *DPPC* και *DMPC*. Παρατήρησαν ότι η προσθήκη παρακεταμόλης προκαλεί μείωση στην παράμετρο τάξης ουράς και των δύο λιπιδικών διπλοστιβάδων με την ουρά της παρακεταμόλης να υιοθετεί έναν προσανατολισμό προς τα μέσα στις λιπιδικές διπλοστιβάδες.

Η *P. Gkeka*^{38,39} και οι συνάδελφοί της, πραγματοποίησαν δύο μελέτες σχετικά με τον μηχανισμό πρόσληψης νανοσωματιδίων (*NPs*) διαφόρων τρόπων κατανομής υδρόφιλων και υδρόφοβων περιοχών με δομικές μονάδες *Qa* και *CI*, σε διπλοστιβάδες λιπιδίων. Η πρώτη μελέτη, εστίασε στην επίδραση του επιφανειακού σχεδίου των σφαιρικών νανοσωματιδίων στο προφίλ ελεύθερης ενέργειας της διείσδυσης της λιπιδικής διπλοστιβάδας. Έδειξε ότι ένα ομοιογενές μοτίβο ενισχύει δραματικά τη διείσδυση και ότι οι συνδέτες στις προσομοιώσεις τους αναδιατάχθηκαν σε σχέση με την αρχική τους διάταξη. Η δεύτερη μελέτη, διερεύνησε τη δομή των νανοσωματιδίων που εισήχθησαν σε μια διπλοστιβάδα που αποτελείται από *DPPC* και *χοληστερόλη*. Αυτές οι τελικές διαμορφώσεις έδειξαν ότι οι αρνητικές κεφαλές του προσδέτη απομακρύνονται από το μέσον της μεμβράνης, και ωθούνται προς τις επιφάνειες της διπλοστιβάδας. Με τις προσομοιώσεις κατάφεραν διαφορετικές συγγένειες του νανοσωματιδίου με τη διπλοστιβάδα στο ενδοκυτταρικό και στο εξωκυτταρικό διαμέρισμα. Κατάφεραν επίσης να αναλύσουν τις αλλαγές στη δομή των νανοσωματιδίων και των μεμβρανών που προκαλούνται από την προσκόλληση. Με αυτόν τον τρόπο, θα μπορούσε να αποδειχθεί ότι το νανοσωματίδιο σπρώχνει τις ομάδες κεφαλής των λιπιδίων στην άκρη, όταν έρχεται σε στενή επαφή με τη διπλοστιβάδα. Αυτό, ερμηνεύτηκε ως το πρώτο βήμα της εισαγωγής του νανοσωματιδίου στη μεμβράνη.

Ο *Q. Yin*⁴⁰ και οι συνάδελφοί του, μελέτησαν το *borneol*, γνωστό ως φάρμακο «οδηγός» στην παραδοσιακή κινεζική ιατρική, το οποίο χρησιμοποιείται ευρέως ως φυσικός ενισχυτής διείσδυσης στις σύγχρονες κλινικές εφαρμογές. Πραγματοποίησαν μια σειρά αδρών προσομοιώσεων μοριακής δυναμικής με τη συγκέντρωση του *borneol* να κυμαίνεται από 3.31 % έως 54.59 % (v/v, βάση χωρίς λιπίδια) για την μελέτη των

αλληλεπιδράσεων του φαρμάκου με διπλοστιβάδα λιπιδίων *DPPC*. Όταν η συγκέντρωση αυξήθηκε πάνω από 21,89 %, σχηματίστηκαν ανεστραμμένες δομές που έμοιαζαν με μικκύλια μέσα στο εσωτερικό της διπλοστιβάδας, γεγονός που οδήγησε σε αύξηση του πάχους της. Έτσι κατέληξαν, ότι η επιλογή της βέλτιστης συγκέντρωσης και θερμοκρασίας είναι κρίσιμη για μια δεδομένη εφαρμογή στην οποία χρησιμοποιείται το *borneol* ως ενισχυτής διείσδυσης.

Ο *C. Montis*⁴¹ και οι συνάδελφοί του, ανέφεραν ότι τα νανοσωματίδια χρυσού σχηματίζουν συσσωματωμένες δομές στην κολλοειδή περιοχή και ταυτόχρονα μειώνουν τους ρυθμούς διάχυσης των λιπιδίων στη μοριακή περιοχή σε γιγάντια μονοστρωματικά κυστίδια. Αυτά χρησιμοποιούνται συχνά ως μοντέλα μεμβράνης σε πειράματα. Για το τελευταίο αποτέλεσμα, πρότειναν έναν μηχανισμό διάχυσης τύπου *enslaved diffusion*, στον οποίο τα λιπίδια σε επαφή με τα νανοσωματίδια σχηματίζουν δομές σαν σχεδίες. Τόνισαν επίσης τη σημασία μιας προσέγγισης πολλαπλής κλίμακας για τη διερεύνηση αυτών των επιπτώσεων.

Ο *H. Himeno*⁴² και οι συνάδελφοί του, μελέτησαν την επίδραση του φορτίου στη μορφολογία της μεμβράνης γιγαντιαίων μονοστρωματικών κυστιδίων (*GUVs*) που αποτελούνται από διάφορα μείγματα φορτισμένων λιπιδίων. Παρατήρησαν με φθορίζοντα και ομοεστιακά μικροσκοπικά λέιζερ, την μορφολογία μεμβρανών με λιπιδικά μίγματα που αποτελούνταν από ένα αφόρτιστο ακόρεστο λιπίδιο *dioleoyl phosphatidylcholine (DOPC)*, ένα αφόρτιστο κορεσμένο λιπίδιο *dipalmitoyl phosphatidylcholine (DPPC)*, ένα φορτισμένο ακόρεστο λιπίδιο *dioleoyl phosphatidylglycerol (DOPG (-))*, ένα φορτισμένο κορεσμένο λιπίδιο *dipalmitoyl phosphatidylglycerol (DPPG (-))* και χοληστερόλη (*Chol*). Σε διμερή μείγματα αφόρτιστων *DOPC / DPPC* και φορτισμένων *DOPC / DPPG (-)* λιπιδίων, σχηματίστηκαν σφαιρικά κυστίδια. Παρατηρήθηκε συχνά σχηματισμός πόρων με *GUV* που αποτελούνταν από *DOPG (-)* και *DPPC*. Σε τριμερές μείγμα *DPPC / DPPG (-) / Chol*, παρατηρήθηκαν επίσης συχνά κυστίδια σχηματισμένα από πόρους. Το ποσοστό των κυστιδίων που σχηματίστηκαν από πόρους αυξήθηκε με την συγκέντρωση της *DPPG (-)*.

Ο *L. Chen*⁴³ και οι συνάδελφοί του, μελέτησαν την διείσδυση του *bisphenol A (BPA)* μέσα στα κύτταρα, με χρήση μεθόδων μοριακής δυναμικής, για να διερευνήσουν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ του μορίου *BPA* και μίας φωσφολιπιδικής μεμβράνης *DPPC*. Κατέληξαν ότι το *BPA* διαπερνά εύκολα την μεμβράνη ξεκινώντας από την

υδατική φάση, καθώς και ότι αυξάνοντας την συγκέντρωση του *BPA* στην μεμβράνη, τα μόρια συσσωρεύονται και τείνουν να δημιουργήσουν συσσωματώματα, δημιουργώντας πόρους στην μεμβράνη, που οφείλεται κυρίως στις αλληλεπιδράσεις διασποράς μεταξύ των συσσωματωμάτων των μορίων *BPA* με τις λιπιδικές ουρές της μεμβράνης, καθώς και τις ασθενείς ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των λιπιδικών κεφαλών και των υδροξυλικών ομάδων των μορίων *BPA*.

Η *T. Malaspina*⁴⁴ και οι συνάδελφοί της, πραγματοποίησαν προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής σε ατομιστικό επίπεδο για την μελέτη της αλληλεπίδρασης πεπτιδίων A_nK (μία σειρά από n ομάδες *αλανίνης* και μία κατιονική υδρόφιλη κεφαλή *λυσίνης*) με $n = 3, 6$ και 9 σε επαφή με δύο διαφορετικούς τύπους λιπιδικών μεμβρανών, την *DPPC* και την *DPPG*. Οι υπολογισμοί των δυναμικών μέσης δύναμης (*PMF*) και η ανάλυσή τους σε ενθαλπικούς και εντροπικούς όρους επέτρεψαν μια λεπτομερή θερμοδυναμική ανάλυση του ενεργειακού προφίλ που σχετίζεται με την προσρόφιση και τη διείσδυση των πεπτιδίων διαμέσου των λιπιδικών μεμβρανών. Οι προσομοιώσεις έδειξαν μια δραστική διαφορά μεταξύ των αλληλεπιδράσεων των πεπτιδίων και με τις δύο μεμβράνες. Το δυναμικό μέσης δύναμης για τη μεμβράνη *DPPC* δεν έδειξε κανένα ελάχιστο στην περιοχή διεπαφής, δηλαδή καμία ευνοϊκή αλληλεπίδραση με την επιφάνειά της, ενώ η αλληλεπίδραση με τη μεμβράνη *DPPG* έδειξε ένα σαφές ελάχιστο κοντά στην επιφάνεια. Αυτό το ελάχιστο, αν και ρηχό, έδειξε ότι η προσκόλληση των πεπτιδίων A_nK στην επιφάνεια των μεμβρανών *DPPG* είναι μια ευνοϊκή διαδικασία.

Σε μελέτες μεταφοράς, κατανομής και βιοχημικής δραστηριότητας μεταλλικών ιόντων γενικά υποθέτουμε ότι η διπλοστιβάδα φωσφολιπιδίων λειτουργεί ως αδρανής φραγμός. Ωστόσο, τα μεταλλικά ιόντα μπορούν να επηρεάσουν τις φυσικές ιδιότητες των μεμβρανών. Ο *C. T. M. Le*⁴⁵ και οι συνάδελφοί του, μελέτησαν τον εντοπισμό και την κατανομή των μεταλλικών ιόντων: Na^+ , Mg^{2+} και Ca^{2+} σε διπλοστιβάδες φωσφολιπιδίων, πραγματοποιώντας προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής. Οι προσομοιώσεις σε τμήματα της λιπιδικής μεμβράνης σε υδατικό περιβάλλον, έδειξαν ότι τα ιόντα διεισδύουν στην περιοχή των πολικών κεφαλών της διπλοστιβάδας και συνεντοπίζονται με τα φωσφορικά και εστερικά τμήματα. Η ανάλυση του χημικού περιβάλλοντος των ιόντων στις προσομοιώσεις έδειξε ότι ο συνεντοπισμός διευκολύνεται από τον συντονισμό με τα πολικά άτομα οξυγόνου των φωσφορικών και εστερικών ομάδων σε τυπικές γεωμετρίες συντονισμού κάθε είδους ιόντος. Αντίθετα,

τα αντισταθμιστικά ιόντα (*counterions*) δεν διεισδύουν στην περιοχή των πολικών κεφαλών της διπλοστιβάδας, αλλά σχηματίζουν ένα στρώμα πάνω από τη μεμβράνη, το οποίο είναι επίσης μια αποτελεσματική ζώνη αποκλεισμού μετάλλων. Μια τέτοια καλά καθορισμένη κατανομή ιόντων αναμένεται να έχει ισχυρή επιρροή στις ιδιότητες της μεμβράνης, ιδιαίτερα στις θερμοκρασίες μετάβασης φάσης μέσω της αυξημένης συνοχής εντός επιπέδου. Αυτό αποδείχθηκε και με μεθόδους *Differential Scanning Calorimetry* και *Quartz Crystal Microbalance Measurements*. Αυτά τα ευρήματα υποστηρίζουν τον ρόλο που διαδραματίζουν τα μεταλλικά ιόντα στη σταθεροποίηση των βιολογικών μεμβρανών.

Ο *E. Sariisik*⁴⁶ και οι συνάδελφοί του, μελέτησαν το *simvastatin*, το οποίο είναι ένα φάρμακο μείωσης των λιπιδίων και ανήκει στη φαρμακευτική ομάδα των *στατινών*, και πιο συγκεκριμένα μελέτησαν τις αλληλεπιδράσεις του με λιπίδια *DPPC* και ανιονικά *DPPG*, με πολυστρωματικά κυστίδια (*MLVs*) ως συνάρτηση της θερμοκρασίας σε διαφορετικές συγκεντρώσεις του *simvastatin*, χρησιμοποιώντας μετασχηματισμούς υπέρυθρης φασματοσκοπίας (*FTIR*) και διαφορική ανίχνευση θερμιδομετρίας (*DSC*). Κατέληξαν ότι η επίδραση του *simvastatin* στη δομή και τη δυναμική της μεμβράνης εξαρτάται από τον τύπο των λιπιδίων της μεμβράνης.

Ο *C. F. E. Schroer*⁴⁷ και οι συνάδελφοί του, μελέτησαν τις εξαρτώμενες από το φορτίο αλληλεπιδράσεις μονομερικών και νηματωδών ακτινών (*actins*, οικογένεια σφαιρικών πολυλειτουργικών πρωτεϊνών που σχηματίζουν μικρονήματα στον κυτταροσκελετό, καθώς και τα λεπτά νημάτια στα μυϊκά ινίδια) με λιπιδικές διπλοστιβάδες. Εφάρμοσαν αδρές προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής, και παρατήρησαν ότι το φορτίο των λιπιδίων επηρεάζει σημαντικά την απορρόφησή τους από την διπλοστιβάδα.

Ο *J. Wang*⁴⁸ και οι συνάδελφοί του, μελέτησαν την επίδραση των δισθενών ιόντων στο διαπερατότητα της *νορφλοξασίνης* (*norfloxacin*, αντιβιοτικό που χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση λοιμώξεων του ουροποιητικού συστήματος) στα κύρια κανάλια της εξωτερικής μεμβράνης από τα *E. coli* (*OmpF* και *OmpC*) και *E. aerogenes* (*Omp35* και *Omp36*) σε επίπεδο μονού καναλιού. Για την κατανόηση των περιορισμών στο ποσοστό διείσδυσης, ανασύστησαν μεμονωμένες πορίνες σε επίπεδες διπλοστιβάδες λιπιδίων και ανέλυσαν τις διακυμάνσεις στο ρεύμα ιόντων που προκαλούνται παρουσία *νορφλοξασίνης*. Επιπλέον, για να αποκτήσουν μία εικόνα σε ατομικό επίπεδο, και για τον εντοπισμό των πιο πιθανών οδών διείσδυσης του αντιβιοτικού μέσω των

αντίστοιχων πόρων, πραγματοποίησαν προσομοιώσεις δυναμικής *Brown* για τον υπολογισμό των ελεύθερων ενεργειών σε κλίμακα των *milliseconds (ms)* με αυξανόμενη θερμοκρασία. Τόσο η πειραματική ανάλυση όσο και η υπολογιστική μοντελοποίηση, έδειξαν ότι η *νορφολοξασίνη* είναι σε θέση να διεισδύσει μέσω των μεγαλύτερων πορινών, για παράδειγμα, *OmpF*, *OmpC* και *Omp35*, ενώ συνδέεται μόνο με την ελαφρώς στενότερη πορίνη *Omp36*. Επιπλέον, τα δισθενή ιόντα μπορούν να συνδεθούν με αρνητικά φορτισμένα υπολείμματα στο εσωτερικό της πορίνης, αντιστρέφοντας την επιλεκτικότητα ιόντων του πόρου. Τα αποτελέσματα, έδειξαν ότι η σύζευξη είτε με πόρους είτε με μόρια, πρέπει να σπάσει όταν τα μόρια του αντιβιοτικού περνούν τον αυλό του πόρου, με τη σύζευξη με το αντιβιοτικό να είναι πιο σταθερή από ότι στον αντίστοιχο πόρο. Γενικά, η διαδικασία διείσδυσης ή δέσμευσης των φθοριοκινολονών σε πορίνες εμφανίζεται ανεξάρτητα από την παρουσία δισθενών ιόντων, αλλά η παρουσία δισθενών ιόντων μπορεί να αλλάξει σημαντικά την κινητική.

Ο *A. Kabedev*⁴⁹ και οι συνάδελφοί του, μελέτησαν τους μηχανισμούς μοριακής μεταφοράς των ελάχιστα διαλυτών υδρόφοβων φαρμακευτικών ενώσεων σε μεμβράνες λιπιδίων, χρησιμοποιώντας προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής. Χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο ένωσης *danazol*, η οποία είναι μία φαρμακευτική ουσία για την ενδομητρίωση, για τη διερεύνηση των μηχανισμών με τους οποίους μεταφέρεται στη μεμβράνη μέσω των μικκυλίων της χολής. Μελέτησαν επίσης τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ της λιπιδικής μεμβράνης και των καθαρών συσσωματωμάτων φαρμάκων, και κατέληξαν ότι τα μικκύλια της χολής που σχηματίζονται στο εντερικό υγρό μπορεί να διευκολύνουν την ενσωμάτωση του *danazol* στις κυτταρικές μεμβράνες. Σε αυτά τα πειράματα, κολλοειδείς δομές που σχηματίστηκαν με προσομοιωμένο εντερικό υγρό, παρατηρήθηκε ότι ενσωματώνονται γρήγορα στη μονοστιβάδα. Προσομοιώσεις αλληλεπίδρασης μεμβράνης με συσσωματώματα φαρμάκων έδειξαν ότι τόσο τα άμορφα συσσωματώματα όσο και οι κρυσταλλικές νανοδομές ενσωματώθηκαν στη μεμβράνη. Ωστόσο, τα άμορφα συσσωματώματα διαλυτοποιήθηκαν πιο γρήγορα από τους νανοκρυστάλλους στη μεμβράνη, βελτιώνοντας έτσι την απορρόφηση του *danazol*.

I. 2. Στόχος της παρούσας μελέτης

Οι έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί είτε με πειραματικές μεθόδους είτε με μεθόδους προσομοιώσεων μοριακής δυναμικής, μελετούν διπλοστιβάδες μεμβρανών είτε μεμονωμένα για την κατανόηση των μεταβολών στην μορφολογία και τις ιδιότητες τους λόγω αλλαγής παραμέτρων, όπως μεταβολή σε θερμοκρασία ή προσθήκη φορτίου, είτε σε συνδυασμό με είσοδο κάποιου μορίου-φαρμάκου στην περιοχή της μεμβράνης για την μελέτη των μεταξύ τους αλληλεπιδράσεων.

Στόχος της παρούσας εργασίας, είναι να γίνει μελέτη με μεθόδους προσομοιώσεων μοριακής δυναμικής των βιοφυσικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ δύο διαφορετικών μοντέλων μεμβρανών, μίας αφόρτιστης λιπιδικής διπλοστιβάδας *DPPC* (*dipalmitoyl-phosphatidyl-choline*) και μίας φορτισμένης *DPPG* (*dipalmitoyl-phosphatidyl-glycerol*) κατά την είσοδο ενός πρόσφατα παρασκευασμένου μορίου που είναι παράγωγο της *2-benzimidazolyl-urea*, με τύπο $\{[Cu(BZIMU)_2](NO_3)_2\}^{50}$. Τα παράγωγα της *2-benzimidazolyl-urea* έχουν κεντρίσει το ενδιαφέρον κατά τα τελευταία χρόνια, λόγω της μεγάλης φαρμακολογικής τους δραστηριότητας, λειτουργώντας ως αντιφλεγμονώδεις, υποτασικοί, αναλγητικοί και αντισυσσωματικοί παράγοντες. Είναι επίσης κοινοί προσδέτες (*ligands*) στη χημεία συντονισμού ενώσεων συναρμογής μετάλλων μεταπτώσεως, σχηματίζοντας σύμπλοκες ενώσεις με ενισχυμένες βιολογικές ιδιότητες, ειδικότερα στην στοχευμένη θεραπεία του καρκίνου. Ο δακτύλιος βενζιμιδαζόλης είναι μία από τις πιο συχνά εμφανιζόμενες χημικές δομές στην φύση, μεταξύ των ετεροκυκλικών φαρμακοφόρων⁵¹, και υπάρχουν επίσης βιοενεργές ενώσεις με δακτύλιο βενζιμιδαζόλης με ποικίλες δομές που δρουν ως αντιμυκητιακές, αντιπαρασιτικές, αντιελκωτικές, αντιυπερτασικές, αντικές, αντικαρκινικές και αντιεμετικές ενώσεις⁵². Τα παράγωγα βενζιμιδαζόλης έχουν χρησιμοποιηθεί ως φορείς φαρμάκων^{50,53,54}. Επίσης, μπορούν να λειτουργήσουν ως αναστολείς του πολυμερισμού τουμπουλίνης (διμερής πρωτεΐνη αποτελούμενη από δύο σφαιρικές υπομονάδες, την α - και την β -τουμπουλίνη, που αποτελούνται από περίπου 450 αμινοξέα η κάθε μία), και προκαλούν τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση *G2/M*, και οδηγούν σε αποπτωτικό θάνατο τα καρκινικά κύτταρα⁵⁵. Τα παράγωγα της ουρίας επίσης, παρουσιάζουν αντιπολλαπλασιαστική δραστηριότητα εναντίον κυττάρων αδενοκαρκινωμάτων λόγω της αντιοξειδωτικής τους δραστηριότητας και της

ικανότητάς τους να αναστέλλουν την υπεροξειδωση των λιπιδίων^{50,53,56}. Τα παράγωγα της *2-benzimidazolyl-urea* αναστέλλουν τον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα και την κινάση τυροσίνης, προλαμβάνοντας την αγγειογένεση, η οποία είναι σημαντική για την ανάπτυξη του όγκου^{53,57}. Για αυτό τον λόγο λειτουργούν ως διπλοί αναστολείς μικρού μοριακού βάρους, που αναμένεται να αγνοούν τα φυσιολογικά πολλαπλασιαστικά κύτταρα, σε αντίθεση με την συνηθισμένη κυτταροτοξική χημειοθεραπεία. Επιπλέον η αποτελεσματικότητα των συμπλόκων χαλκού (*II*) ως χημειοθεραπευτικά βασίζεται στην κυτταροτοξική τους δράση και την επιλεκτικότητά τους μεταξύ των κυττάρων όγκων⁵⁸. Για αυτό τον λόγο, η μελέτη της βιολογικής δραστηριότητας των ενώσεων βενζιμιδαζόλης με ουρία και των συμπλόκων τους με χαλκό (*II*) αναμένεται να ρίξουν φως στον μηχανισμό της αντιπολλαπλασιαστικής τους δράσης για την αποτελεσματική ανάπτυξη φαρμάκων.

Ένα σημαντικό σημείο στην κατανόηση των επιδράσεων κατά των όγκων, είναι η διεισδυτικότητα του φαρμάκου μέσα από κυτταρικές μεμβράνες, αφού μικρή διεισδυτικότητα μπορεί να αποτρέψει την περαιτέρω μάταιη ανάπτυξη του φαρμάκου. Για την καλύτερη κατανόηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μοντέλων μεμβρανών με την είσοδο του μορίου, πραγματοποιείται μελέτη με εισαγωγή ενός μορίου ένωσης *2-benzimidazolyl-urea* (*BZIMU*), και ξεχωριστά ενός μορίου συμπλόκου της ένωσης με χαλκό (*II*) (*CuComplex*). Επιπλέον γίνεται μελέτη της επίδρασης της συγκέντρωσης του μορίου *BZIMU* σε κάθε μοντέλο μεμβράνης.

II. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

II. 1. Προσομοιώσεις Μοριακής Δυναμικής-Υπολογιστικό Πακέτο *GROMACS*

Το υπολογιστικό πακέτο *GROMACS*⁵⁹⁻⁶⁵ είναι ένα λογισμικό ανοικτού κώδικα (*open source*) για την πραγματοποίηση προσομοιώσεων μοριακής δυναμικής και ενεργειακής ελαχιστοποίησης. Αυτές είναι δύο βασικές τεχνικές που ανήκουν στο διεπιστημονικό πεδίο της υπολογιστικής βιοφυσικής και της μοριακής μοντελοποίησης. Η υπολογιστική βιοφυσική είναι ο κλάδος που χρησιμοποιεί υπολογιστικές τεχνικές, που κυμαίνονται από την κβαντομηχανική μελέτη μορίων έως την δυναμική μελέτη μεγάλων πολύπλοκων μοριακών συσσωματωμάτων. Η μοριακή μοντελοποίηση δηλώνει την γενική διαδικασία περιγραφής χημικών συστημάτων με όρους ρεαλιστικών ατομικών μοντέλων, με σκοπό την κατανόηση και πρόβλεψη μακροσκοπικών ιδιοτήτων βασιζόμενων σε γνώσεις σε ατομικό επίπεδο. Συχνά, η μοριακή μοντελοποίηση χρησιμοποιείται για τον σχεδιασμό νέων υλικών, για τα οποία απαιτείται ακριβής πρόβλεψη των φυσικοχημικών ιδιοτήτων.

Οι βιολογικές μεμβράνες, όσον αφορά την σύνθεση, την οργάνωση, καθώς και τις αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-λιπιδίων χαρακτηρίζονται ως περίπλοκα συστήματα μοντελοποίησης. Έτσι, αυτή η πολυπλοκότητα αποτελεί ένα μοναδικό είδος πρόκλησης για την μελέτη της δομής. Ενώ οι πειραματικές μέθοδοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανίχνευση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ πρωτεϊνών και λιπιδίων, συχνά η μελέτη των δομικών μηχανισμών σε ατομικό επίπεδο είναι προβληματική. Πολλές μεμβρανικές πρωτεΐνες εμπλέκονται σε ασθένειες και παθολογίες, όπως είναι για παράδειγμα η κυστική ίνωση, η νόσος του *Parkinson*, η νόσος του *Alzheimer*, η αθηροσκλήρωση, και ο καρκίνος, και για την ορθή κατανόηση των μοριακών φαινομένων που σχετίζονται με τέτοιες καταστάσεις ασθένειας, πρέπει να μελετηθεί η δομική τους δυναμική.

Για σκοπούς ανάπτυξης φαρμάκων, υπάρχει επίσης συνεχής ανάγκη διερεύνησης των αλληλεπιδράσεων μεταξύ πρωτεΐνης και λιπιδίων⁶⁶. Για την εποπτεία των

αλληλεπιδράσεων πρωτεΐνης-λιπιδίων σε ατομικό επίπεδο, συχνά χρησιμοποιούνται πειραματικές τεχνικές όπως η κρυσταλλογραφία ακτίνων- X , η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR) και η μικροσκοπία κρυοηλεκτρονίων ($cryo-EM$). Οι δομές ακτίνων- X (στο εύρος ανάλυσης 1-3 \AA) συχνά αντιπροσωπεύουν ένα στατικό σύστημα με μεμονωμένα στιγμιότυπα λόγω της διαδικασίας κρυστάλλωσης. Επιπλέον, οι εύκαμπτες περιοχές δεν μπορούν να ανιχνευθούν με κρυσταλλογραφία ακτίνων- X . Από την άλλη μεριά, με την φασματοσκοπία NMR μπορεί να περιγραφεί η δυναμική των πρωτεϊνών, ωστόσο η μελέτη περιορίζεται σε μικρά συστήματα πρωτεϊνών της τάξης περίπου των 50 kDa . Η μέθοδος $cryo-EM$ έχει γίνει τα τελευταία χρόνια ένα σημαντικό εργαλείο για την διερεύνηση της συσχέτισης πρωτεϊνών-λιπιδίων σε συστήματα μεμβρανών με ανάλυση από 2 έως 4 \AA ⁶⁷.

Οι προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής παρέχουν ένα υπολογιστικό συμπλήρωμα σε αυτές τις πειραματικές τεχνικές. Κάθε επιλυμένη δομή πρωτεΐνης είναι διαθέσιμη στο *RCBS Protein Data Bank (PDB)*^{68,69} (<https://www.rcsb.org>), ενώ ο προσανατολισμός πρωτεϊνών μεμβράνης σε βιολογικές μεμβράνες παρέχεται από την βάση δεδομένων *Orientations of Proteins in Membranes (OPM)*⁷⁰ (<https://opm.phar.umich.edu/>). Οι προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής των λιπιδικών διπλοστιβάδων χωρίς μόρια νερού άρχισαν τη δεκαετία του 1980 με μελέτες σε λίγα μόρια λιπιδίων⁷¹⁻⁷³. Μετά από περίπου μία δεκαετία, πραγματοποιήθηκαν με επιτυχία προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής για την μελέτη ολοένα και πιο περίπλοκων και πιο ρεαλιστικών λιπιδικών διπλοστιβάδων, που περιελάμβαναν και φωσφατιδυλοσερίνη και φωσφατιδυλοχολίνη⁷⁴⁻⁷⁸, καθώς και ενσωματωμένες πρωτεΐνες⁷⁹⁻⁸². Αυτές οι αρχικές μελέτες, ωστόσο, ήταν περιορισμένες σε δειγματοληψία διαμορφώσεων σε χρονική κλίμακα της τάξης των *picoseconds (ps)*.

Ακολουθώντας τις εξελίξεις στο υλικό και το λογισμικό των ηλεκτρονικών υπολογιστών, οι προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής άρχισαν να προσεγγίζουν με αυξανόμενο ρυθμό, την δομική δυναμική των μεγαλύτερων μακρομοριακών συστημάτων, όπως τα ριβοσώματα⁸³, συστήματα πρωτεϊνών-μεμβρανών^{84,85}, μεμβράνες ιών⁸⁶, και λιπιδικές σχεδίες^{87,88}. Ξεπερνώντας τα όρια ανάλυσης των πειραματικών μεθόδων και διερευνώντας τις λεπτομέρειες των μορίων στα μακρομοριακά φαινόμενα, οι προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής μπορούν τώρα να χρησιμεύσουν ως μοριακά μικροσκόπια^{89,90} για την διερεύνηση των αλληλεπιδράσεων

λιπιδίων μεταξύ τους καθώς και μεταξύ πρωτεϊνών και λιπιδίων σε πιο ρεαλιστικές κυτταρικές μεμβράνες σε χρονικές κλίμακες υπό του *ms*. Πέραν των παραδοσιακών μοντέλων όλων των ατόμων (*all-atom*, *AA*), έχουν αναπτυχθεί διάφορες τεχνικές προσομοίωσης μοριακής δυναμικής για αυτό τον σκοπό. Αυτές οι τεχνικές περιλαμβάνουν πεδία δυνάμεων αδρού μοντέλου (*coarse-grained*, *CG*)^{91,92}, το μοντέλο κινητής μεμβράνης υψηλής κινητικότητας (*HMMM*)⁹³, και μοντέλα πολλαπλών κλιμάκων. Για να μειωθεί ο υπολογιστικός χρόνος κατά την διάρκεια μίας προσομοίωσης μοριακής δυναμικής, τα αδρά μοντέλα *CG* αναπαριστούν πολλές ομάδες ατόμων ως λιγότερα *ψευδοσωματίδια*, τα λεγόμενα «σφαιρίδια», ενώ το μοντέλο *HMMM* χρησιμοποιεί τον πυρήνα μεμβράνης οργανικού διαλύτη σε συνδυασμό με κομμένα λιπίδια για τις ομάδες της περιοχής κεφαλής με σκοπό την αύξηση της πλευρικής διάχυσης των λιπιδίων της μεμβράνης. Ωστόσο, αυτές οι προσεγγίσεις μειονεκτούν ως προς την ακρίβεια. Για παράδειγμα, στην περίπτωση του αδρού μοντέλου, δεν μπορούν να καταγραφούν μικρές αλλαγές στην διαμόρφωση της πρωτεΐνης, ενώ το μοντέλο *HMMM* περιορίζεται στην μοντελοποίηση συστημάτων περιφερειακών μεμβρανικών πρωτεϊνών⁹³. Οι μέθοδοι πολλαπλών κλιμάκων περιλαμβάνουν τη χρήση διαφορετικών επιπέδων αναπαράστασης στην εκτέλεση προσομοιώσεων μοριακής δυναμικής, για παράδειγμα ξεκινώντας με προσομοιώσεις αδρού μοντέλου για την παραγωγή διαφορετικών διαμορφώσεων μεγάλης κλίμακας, οι οποίες στη συνέχεια μετατρέπονται σε ατομιστικές δομές⁹⁴.

II. 1. 1. Προσομοιώσεις Μοριακής Δυναμικής

Οι προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής επιλύουν τις εξισώσεις κίνησης του Νεύτωνα για σύστημα N αλληλεπιδρώντων ατόμων:

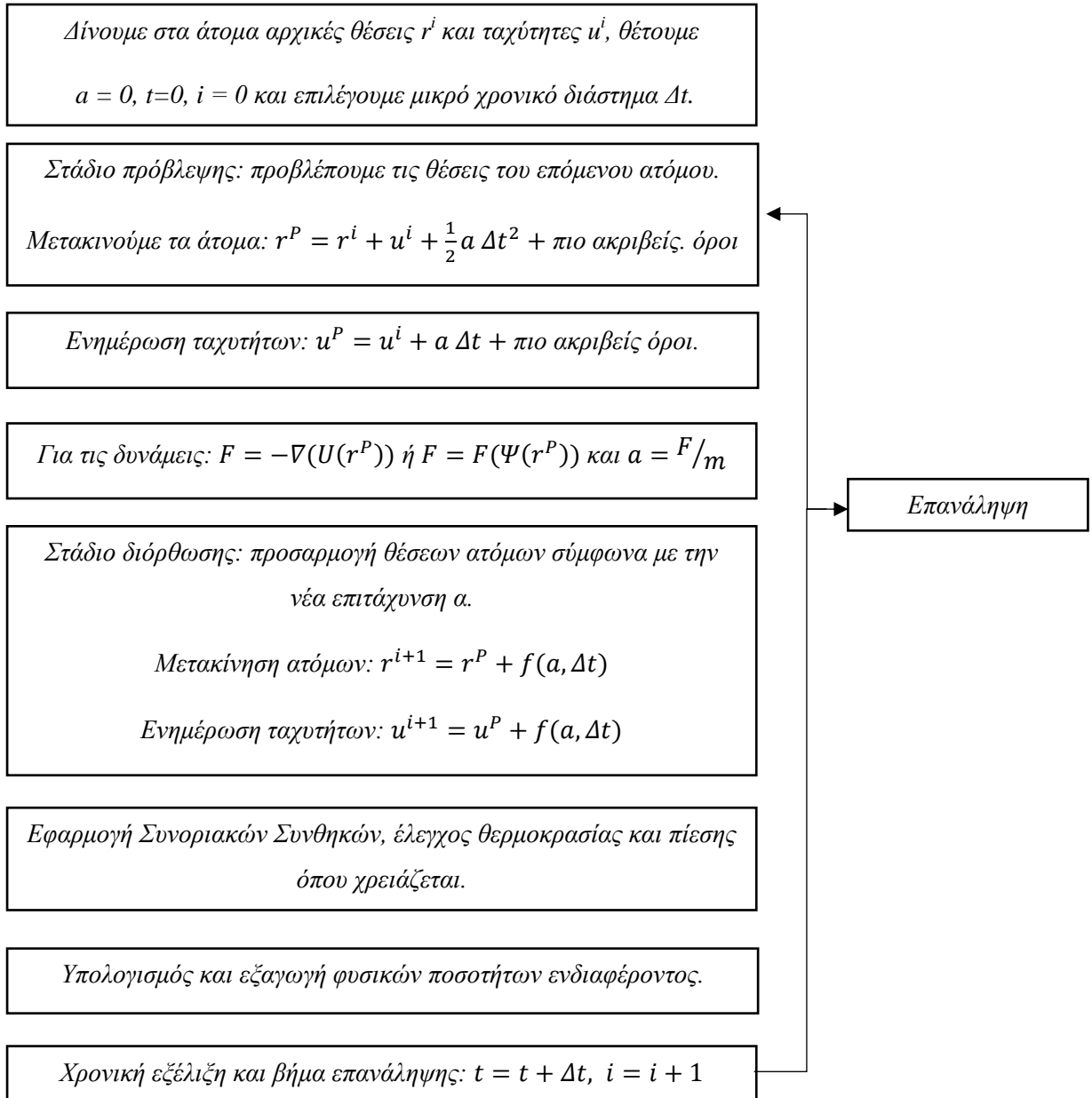
$$m_i \frac{\partial^2 \vec{r}_i}{\partial t^2} = \vec{F}_i, \text{ με } i=1, \dots, N$$

Οι δυνάμεις είναι οι αρνητικές κλίσεις της συνάρτησης δυναμικής ενέργειας $U(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_N)$:

$$F = - \frac{\partial U(\mathbf{r}^N)}{\partial r_{i,n}}$$

όπου $i=1, 2, 3, \dots, N$ άτομα, $n=x, y, z$ για ένα σύστημα αλληλεπιδρώντων σωματιδίων, με την αλληλεπίδραση να περιγράφεται από την δυναμική ενέργεια $U(\mathbf{r}^N)$, σύμφωνα με την οποία υπολογίζονται οι ταχύτητες και οι θέσεις σε κάθε χρονικό βήμα. Οι παράμετροι που χρειάζονται για τον προσδιορισμό της ενέργειας $U(\mathbf{r}^N)$, προκύπτουν είτε από κβαντομηχανικούς υπολογισμούς είτε από δεδομένα φασματοσκοπίας.

Αυτές οι εξισώσεις επιλύονται ταυτόχρονα σε μικρά χρονικά βήματα. Το σύστημα παρακολουθείται για κάποιο χρονικό διάστημα, προσέχοντας η θερμοκρασία και η πίεση να μένουν σταθερές στις απαιτούμενες τιμές, και οι συντεταγμένες καταγράφονται σε ένα αρχείο σε τακτά χρονικά διαστήματα. Οι συντεταγμένες ως συνάρτηση του χρόνου αντιπροσωπεύουν μία τροχιά του συστήματος. Μετά από κάποιες αρχικές βελτιστοποιήσεις, το σύστημα έρχεται σε κατάσταση ισορροπίας. Βρίσκοντας την μέση τιμή για μία τροχιά ισορροπίας, είναι δυνατόν από το αρχείο εξόδου να εξαχθούν αποτελέσματα για πολλές μακροσκοπικές ιδιότητες. Στην παρακάτω εικόνα (Εικ. 1) φαίνεται σχηματικά η απλοποιημένη δομή αλγορίθμου μοριακής δυναμικής.



Εικόνα 1: Απλοποιημένη δομή αλγορίθμου Μοριακής Δυναμικής.

II. 1. 1. 1. Αλληλεπιδράσεις *van der Waals*

Πολλά σημαντικά βιομόρια δεν είναι ούτε φορτισμένα ούτε πολικά. Ωστόσο, αυτά τα μόρια μπορούν να αλληλεπιδράσουν μεταξύ τους ηλεκτροστατικά μέσω των αλληλεπιδράσεων *van der Waals*. Η βάση μιας αλληλεπίδρασης *van der Waals* είναι ότι η κατανομή του ηλεκτρονιακού φορτίου γύρω από ένα άτομο αλλάζει σε μη συμμετρική. Αυτό σημαίνει ότι θα υπάρξουν περιοχές με μερικώς θετικό φορτίο και άλλες με μερικώς αρνητικό φορτίο. Αυτή η παροδική ασυμμετρία του ηλεκτρονιακού φορτίου γύρω από ένα άτομο προκαλεί μέσω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων μία συμπληρωματική ασυμμετρία στην κατανομή των ηλεκτρονίων γύρω από τα γειτονικά του άτομα. Η συνεπαγόμενη έλξη μεταξύ ενός ζεύγους ατόμων αυξάνεται καθώς αυτά πλησιάζουν, η οποία αντιστοιχεί σε περίπου 3 έως 4 \AA , ανάλογα με τα άτομα που συμμετέχουν στην αλληλεπίδραση. Σε αποστάσεις μικρότερες από αυτήν, αναπτύσσονται πολύ ισχυρές απωστικές δυνάμεις, διότι τα εξωτερικά νέφη των ηλεκτρονίων επικαλύπτονται. Οι ενέργειες που σχετίζονται με τις αλληλεπιδράσεις *van der Waals* είναι αρκετά μικρές. Συνήθως οι αλληλεπιδράσεις συνεισφέρουν από 2 έως 4 kJ/mol για κάθε ζεύγος ατόμων. Ωστόσο, όταν οι επιφάνειες δύο μεγάλων μορίων με συμπληρωματικά σχήματα πλησιάζουν μεταξύ τους, ένας μεγάλος αριθμός ατόμων βρίσκεται σε επαφή *van der Waals* μεταξύ τους και η επίδραση της ενέργειας του δικτύου που σχηματίζεται αθροιστικά πάνω από όλα τα ζεύγη ατόμων, μπορεί να είναι σημαντική.

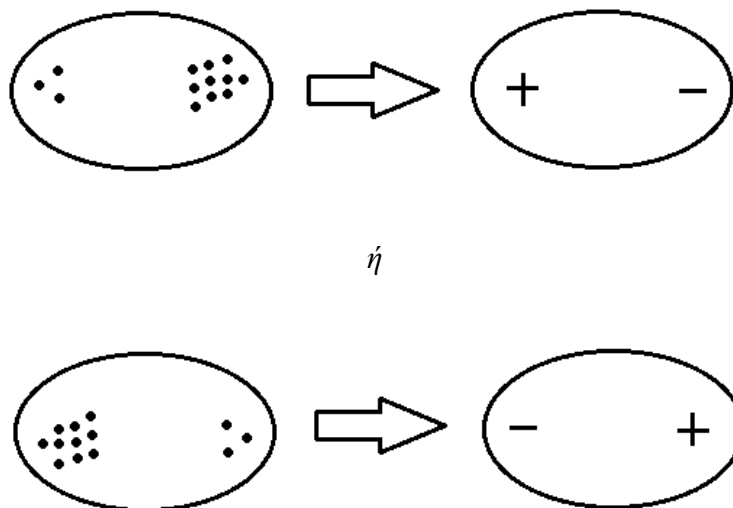
Οι δυνάμεις *van der Waals* οδηγούνται από επαγόμενες ηλεκτρικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ δύο ή περισσοτέρων ατόμων ή μορίων τα οποία βρίσκονται πολύ κοντά το ένα με το άλλο, και είναι οι πιο ασθενείς από τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μορίων. Ωστόσο, πολλές δυνάμεις αλληλεπίδρασης *van der Waals* μεταξύ δύο σωματιδίων, μπορούν να έχουν ως αποτέλεσμα η αλληλεπίδραση να είναι πολύ ισχυρή.

Η κβαντομηχανική δίνει μεγάλη έμφαση στην κίνηση των ηλεκτρονίων μέσα στο άτομο, μέσω της εξίσωσης του *Schrödinger* και της αρχής της αβεβαιότητας του *Heisenberg*, σύμφωνα με την οποία η ενέργεια του ηλεκτρονίου δεν είναι ποτέ μηδενική, και για αυτό τον λόγο κινείται διαρκώς στην τροχιά του. Αυτές οι δύο σημαντικές αρχές της κβαντομηχανικής προτείνουν ότι τα ηλεκτρόνια κινούνται συνεχώς μέσα σε ένα άτομο, και έτσι υπάρχει πιθανότητα να εμφανιστούν δίπολα, τα

οποία ορίζονται ως μόρια ή άτομα τα οποία εμφανίζουν ίσα και αντίθετα ηλεκτρικά φορτία σε μικρή απόσταση μεταξύ τους. Η πολικότητα ενός μορίου καθορίζεται από τις τιμές της ηλεκτραρνητικότητας των ατόμων, και από τη γεωμετρία του μορίου. Μέτρο της πολικότητας ενός πολικού μορίου είναι η διπολική ροπή, \vec{p} , το μέτρο της οποίας δίνεται από τη σχέση:

$$p = \delta \cdot r$$

όπου: δ είναι το στοιχειώδες φορτίο (δ^+ ή δ^-) που εντοπίζεται στον κάθε πόλο του μορίου, και r η απόσταση των δύο πόλων. Είναι πιθανόν λοιπόν, τα ηλεκτρόνια να βρεθούν στην παρακάτω κατάσταση (Εικ. 2):



Εικόνα 2: Ανακατανομή ηλεκτρονίων (μαύρες τελείες) λόγω κάποιου εξωτερικού αιτίου, με αποτέλεσμα την δημιουργία διπόλου.

Με αυτό τον τρόπο, δημιουργούνται τα στιγμιαία δίπολα. Όταν ομάδες ηλεκτρονίων μετακινούνται προς την μία πλευρά του ατόμου, δημιουργείται ένα δίπολο. Αυτές οι ομάδες ηλεκτρονίων κινούνται συνεχώς, με αποτέλεσμα να μετακινούνται από την μία πλευρά του ατόμου στην άλλη διαρκώς. Αυτό σημαίνει, ότι η αντίθετη κατάσταση είναι επίσης πιθανή.

Αλληλεπιδράσεις μεταξύ διπόλων

Όσον αφορά στην αλληλεπίδραση μεταξύ φορτίου και ακίνητου διπόλου ηλεκτρικής διπολικής ροπής \vec{p} , η ενέργεια αλληλεπίδρασης δίνεται από την σχέση:

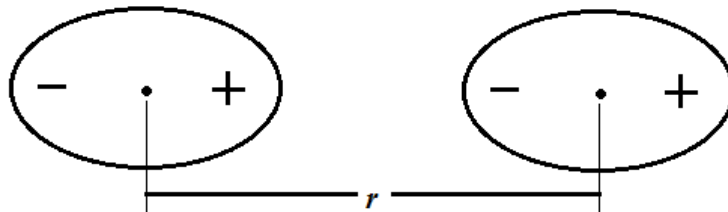
$$U = \frac{qrcos\theta}{4\pi\epsilon_0 r^2}$$

όπου r είναι η απόσταση μεταξύ φορτίου και κέντρου διπόλου και ϵ_0 η ηλεκτρική διαπερατότητα του κενού. Εάν το δίπολο έχει την δυνατότητα να περιστρέφεται, τότε το δίπολο μπορεί να έχει διάφορους προσανατολισμούς ελάχιστης ενέργειας. Ο αριθμός αυτών των προσανατολισμών εξαρτάται από το πόσο ισχυρή είναι η αλληλεπίδραση μεταξύ φορτίου και διπόλου. Εάν η αλληλεπίδραση είναι πολύ ισχυρή, τότε το δίπολο είναι τοποθετημένο στην ίδια ευθεία με το φορτίο. Εάν όμως η ενέργεια αλληλεπίδρασης είναι μικρή σε σχέση με την θερμική ενέργεια kT , τότε η ενέργεια αλληλεπίδρασης μπορεί να υπολογιστεί στατιστικά. Σε αυτή την περίπτωση, ο όρος $rcos\theta$ πρέπει να είναι ο στατιστικός μέσος όρος όλων των δυνατών προσανατολισμών, και η ενέργεια αλληλεπίδρασης δίνεται από την σχέση:

$$U = -\frac{q^2 p^2}{3kTr^4}$$

όπου το πρόσημο «-» δηλώνει ότι η αλληλεπίδραση είναι ελκτική.

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ διπόλων λαμβάνουν χώρα μεταξύ μορίων που έχουν μόνιμα δίπολα, και συχνά αναφέρονται ως πολικά μόρια. Παρακάτω (Εικ. 3) φαίνεται σχηματικά η ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση μεταξύ δύο διπόλων.



Εικόνα 3: Αλληλεπίδραση μεταξύ δύο διπόλων.

Η δυναμική ενέργεια της αλληλεπίδρασης για αυτό το ζεύγος διπόλων δίνεται από την σχέση:

$$U(r) = -\frac{2p_A p_B}{4\pi\epsilon_0 r^3}$$

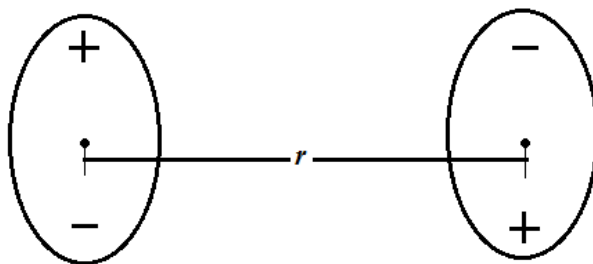
όπου: $U(r)$ είναι η δυναμική ενέργεια, \vec{p}_A, \vec{p}_B είναι η διπολική ροπή του κάθε διπόλου, ϵ_0 είναι η ηλεκτρική διαπερατότητα του κενού, και r είναι η απόσταση μεταξύ των πυρήνων.

Για την περίπτωση αλληλεπίδρασης μεταξύ δύο διπόλων, η ένταση της αλληλεπίδρασης δεν εξαρτάται μόνον από την απόσταση μεταξύ των κέντρων των δύο διπόλων, αλλά και από τον προσανατολισμό τους. Για δύο ακίνητα δίπολα ηλεκτρικών διπολικών ροπών \vec{p}_A, \vec{p}_B που σχηματίζουν γωνίες αντίστοιχα θ_A, θ_B με την ευθεία που περνά από τα κέντρα τους, τότε η ενέργεια αλληλεπίδρασής τους δίνεται από την σχέση:

$$U = -\frac{p_A p_B}{r^3} (2\cos\theta_A \cos\theta_B - \sin\theta_A \sin\theta_B)$$

όπου r είναι η απόσταση μεταξύ των κέντρων των διπόλων, η οποία είναι πολύ μεγάλη σε σχέση με το μήκος τους. Εάν για παράδειγμα, ο προσανατολισμός των διπόλων είναι κατακόρυφος και για τα δύο (Εικ. 4), η δυναμική ενέργεια της αλληλεπίδρασής τους δίνεται από την σχέση:

$$U(r) = -\frac{p_A p_B}{4\pi\epsilon_0 r^3}$$



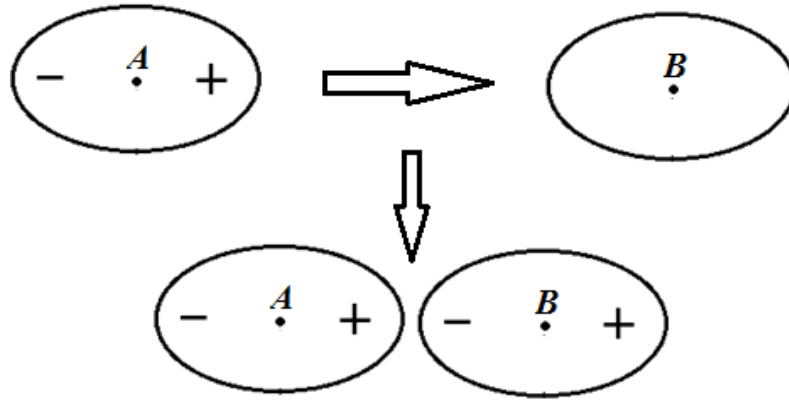
Εικόνα 4: Αλληλεπίδραση μεταξύ δύο διπόλων με κατακόρυφο προσανατολισμό.

Και στις δύο παραπάνω εκφράσεις για την δυναμική ενέργεια αλληλεπίδρασης, $U(r)$ είναι η δυναμική ενέργεια, \vec{p}_A, \vec{p}_B είναι η διπολική ροπή του κάθε διπόλου, ϵ_0 είναι η ηλεκτρική διαπερατότητα του κενού, και r είναι η απόσταση μεταξύ των πυρήνων. Το αρνητικό πρόσημο στην δυναμική ενέργεια, δηλώνει ότι απελευθερώνεται ενέργεια από το σύστημα καθώς σχηματίζονται δεσμοί με αύξηση της ελκτικής δύναμης $F (= -dU/dr)$. Επομένως, το αρνητικό πρόσημο δηλώνει ότι η αλληλεπίδραση οδηγείται από ελκτικές δυνάμεις, ενώ το θετικό πρόσημο θα δήλωνε ότι τα μόρια απωθούνται.

Η ισχύς των δεσμών μεταξύ των στιγμιαίων διπόλων εξαρτάται: (α) από την σχετική μοριακή μάζα, M_r , των μορίων (στα μεγάλα μόρια η κατανομή των ηλεκτρονίων διαταράσσεται ευκολότερα, με αποτέλεσμα να αναπτύσσονται ισχυρότεροι δεσμοί), (β) από το σχήμα των μορίων (γενικά, αναπτύσσονται ισχυρότεροι δεσμοί στα μόρια που δεν έχουν διακλαδώσεις από ότι στα μόρια με διακλαδώσεις, καθώς στην πρώτη περίπτωση τα μόρια πολώνονται ευκολότερα).

Επαγόμενα δίπολα

Η επαγόμενη διπολική ροπή είναι μία προσωρινή κατάσταση κατά την οποία ένα ουδέτερο μη-πολικό άτομο υφίσταται διαχωρισμό των φορτίων λόγω του περιβάλλοντός του. Όταν ένα στιγμιαίο δίπολο πλησιάζει ένα γειτονικό άτομο, μπορεί να προκαλέσει στο άτομο αυτό την δημιουργία διπόλων (Εικ. 5). Με αυτό τον τρόπο, το γειτονικό άτομο θεωρείται ότι έχει επαγόμενη διπολική ροπή. Αν και αυτά τα δύο άτομα αλληλεπιδρούν μεταξύ τους, τα δίπολά τους μπορούν ακόμη να ταλαντώνονται. Ωστόσο, πρέπει να ταλαντώνονται συγχρονισμένα, ώστε να διατηρηθούν τα δίπολα και να συνεχίσουν να αλληλεπιδρούν μεταξύ τους.



Αρχικό στιγμιαίο δίπολο Επαγόμενο δίπολο

Εικόνα 5: Στιγμιαίο δίπολο πλησιάζει σε άτομο και επάγει σε αυτό διπολική ροπή. Καθώς το δίπολο A πλησιάζει προς το B, το θετικό άκρο του A έλκει τα ηλεκτρόνια του B τα οποία συγκεντρώνονται προς το αριστερό άκρο (πλησίον του A). Έτσι μένει το αριστερό τμήμα του A ελαφρώς αρνητικά φορτισμένο, ενώ το δεξί τμήμα του ελαφρώς θετικά φορτισμένο.

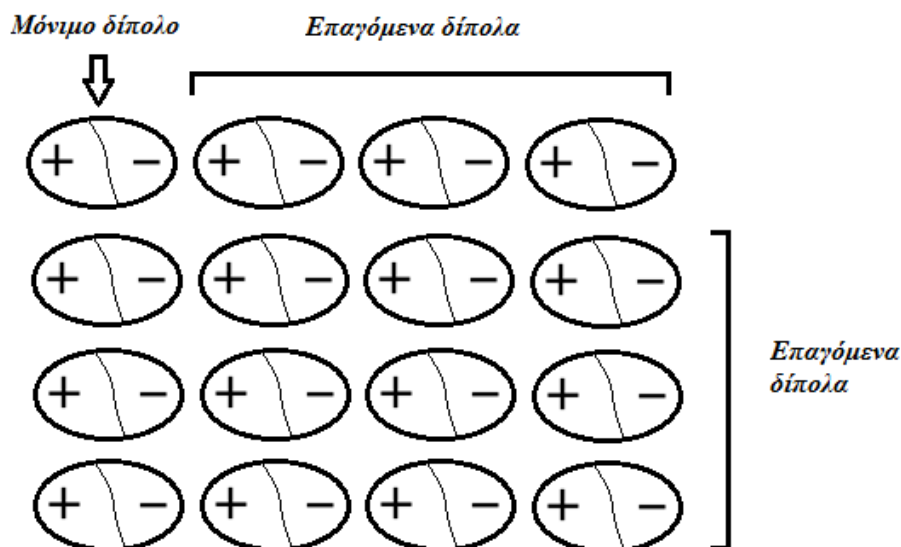
Η δυναμική ενέργεια αλληλεπίδρασης διπόλου-επαγόμενου διπόλου, δίνεται από την σχέση:

$$U(r) = -\frac{\alpha p^2}{4\pi\epsilon_0 r^6}$$

όπου α είναι η πολωσιμότητα του μη-πολικού μορίου. Η πολωσιμότητα καθορίζει το πόσο εύκολα μπορεί η ηλεκτρονιακή πυκνότητα ενός ατόμου ή μορίου να ανακατανεμηθεί λόγω ενός εξωτερικού ηλεκτρικού πεδίου.

Αλληλεπίδραση στιγμιαίου διπόλου-επαγόμενου διπόλου

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ στιγμιαίου διπόλου και επαγόμενου διπόλου ονομάζονται και δυνάμεις διασποράς. Αποτελούν ένα μεγάλο δίκτυο διαμοριακών δυνάμεων μεταξύ μη-πολικών μορίων και ατόμων. Τα μόρια τα οποία έχουν επαγόμενα δίπολα, μπορούν να επάγουν και σε άλλα γειτονικά μόρια διπολικές ροπές, με αποτέλεσμα, να δημιουργείται ένα μεγάλο δίκτυο αλληλεπιδράσεων μεταξύ επαγόμενων διπόλων. Παρακάτω (Εικ. 6) φαίνεται σχηματικά το δίκτυο αυτών των αλληλεπιδράσεων μεταξύ επαγόμενων διπόλων:



Εικόνα 6: Επαγόμενα δίπολα και αλληλεπιδράσεις επαγόμενων διπόλων.

Η δυναμική ενέργεια της αλληλεπίδρασης μεταξύ επαγόμενων διπόλων, δίνεται από την σχέση:

$$U(r) = -\frac{3}{2} \frac{I_A I_B}{I_A + I_B} \frac{a_A a_B}{r^6}$$

όπου I είναι η ενέργεια ιονισμού του μορίου. Η ακτίνα αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για το πόσο μεγάλη θα είναι η δυναμική ενέργεια, κάτι το οποίο φαίνεται και από το γεγονός ότι είναι αντιστρόφως ανάλογη του r^6 . Μία μικρή αύξηση της ακτίνας, θα μπορούσε να προκαλέσει μεγάλη μείωση στην δυναμική ενέργεια της αλληλεπίδρασης.

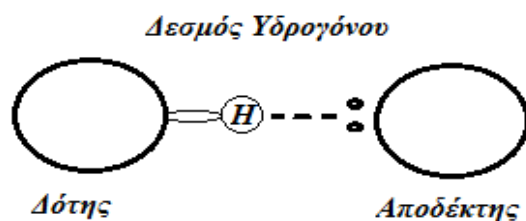
II. 1. 1. 2. Δεσμός Υδρογόνου

Ο δεσμός υδρογόνου αποτελεί μια ειδική περίπτωση δεσμού διπόλου-διπόλου, που πραγματοποιείται μεταξύ ενός ατόμου υδρογόνου ενός μορίου το οποίο είναι ενωμένο ομοιοπολικά με άτομα ισχυρά ηλεκτραρνητικά που έχουν μικρό μέγεθος, όπως είναι τα: φθόριο (F), οξυγόνο (O) και άζωτο (N), και ενός ισχυρά ηλεκτραρνητικού ατόμου ενός άλλου μορίου. Αν και οι δεσμοί υδρογόνου είναι γνωστοί ως είδος διαμοριακών αλληλεπιδράσεων, μπορούν να δημιουργηθούν ενδομοριακά, μεταξύ δύο πανομοιότυπων μορίων, ή ακόμη και μεταξύ δύο ανόμοιων μορίων. Οι ενδομοριακοί δεσμοί υδρογόνου σχηματίζονται όταν δύο λειτουργικές ομάδες του μορίου μπορούν να δημιουργήσουν δεσμούς υδρογόνου μεταξύ τους. Για να γίνει αυτό, πρέπει να υπάρχει ένας δότης και ένας αποδέκτης υδρογόνου μέσα στο μόριο, και να βρίσκονται σε κοντινή απόσταση μεταξύ τους ώστε να μπορούν να αλληλεπιδράσουν μεταξύ τους. Οι διαμοριακοί δεσμοί υδρογόνου δημιουργούνται μεταξύ ξεχωριστών μορίων.

Το πιο χαρακτηριστικό παράδειγμα δημιουργίας δεσμών υδρογόνου, είναι αυτό του μορίου του νερού. Το νερό αποτελείται από δύο άτομα υδρογόνου συνδεδεμένα με ομοιοπολικούς δεσμούς με ένα άτομο οξυγόνο. Σημαντικές ιδιότητες του νερού οφείλονται στο γεγονός ότι το οξυγόνο είναι ένα ηλεκτραρνητικό άτομο, που σημαίνει ότι, αν και οι δεσμοί που συνδέουν τα άτομα υδρογόνου με το άτομο του οξυγόνου είναι ομοιοπολικοί, τα ηλεκτρόνια του δεσμού παραμένουν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα κοντά στο άτομο του οξυγόνου. Επειδή η κατανομή του φορτίου δεν είναι ομοιόμορφη, το μόριο του νερού εμφανίζεται να είναι πολικό. Τα μερικώς θετικά φορτισμένα άτομα υδρογόνου ενός μορίου νερού μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τα μερικώς αρνητικά φορτισμένα άτομα οξυγόνου ενός άλλου μορίου νερού, δημιουργώντας με αυτό τον τρόπο δεσμούς υδρογόνου. Ο δεσμός υδρογόνου, δημιουργείται επίσης και σε οργανικά μόρια που περιέχουν ομάδες $N-H$. Τα παραδείγματα τέτοιων μορίων, ποικίλουν από απλά μόρια, όπως η *μεθυλαμίνη* (CH_3NH_2) έως μεγάλα μόρια, όπως είναι οι πρωτεΐνες και το *DNA*.

Για να δημιουργηθεί ένας δεσμός υδρογόνου, πρέπει να υπάρχει ένας δότης και ένας αποδέκτης υδρογόνου (Εικ. 7). Ο δότης σε έναν δεσμό υδρογόνου, είναι συνήθως ένα ισχυρά ηλεκτραρνητικό άτομο (όπως τα F , O , N) το οποίο είναι ομοιοπολικά συνδεδεμένο σε έναν δεσμό υδρογόνου. Ο αποδέκτης υδρογόνου, είναι ένα

ηλεκτραρνητικό άτομο ενός γειτονικού μορίου το οποίο περιέχει ένα μη-δεσμικό ζεύγος ηλεκτρονίων που συμμετέχει στον δεσμό υδρογόνου.



Εικόνα 7: Δεσμός Υδρογόνου

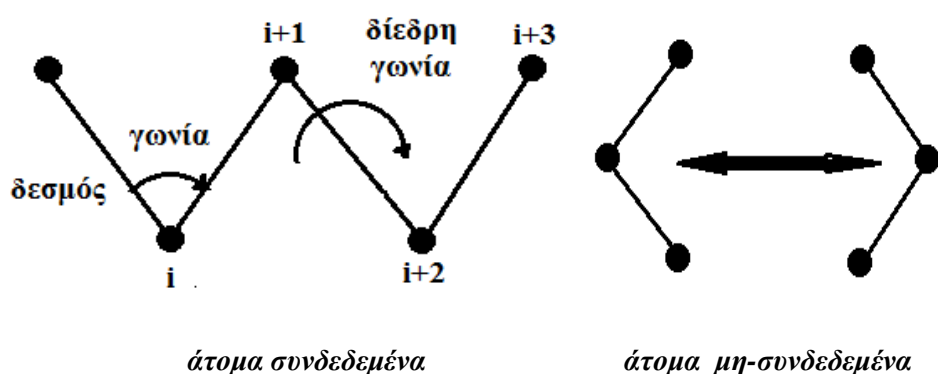
Στον δεσμό υδρογόνου, το άτομο υδρογόνου συνδέεται με το ηλεκτραρνητικό άτομο X με ομοιοπολικό δεσμό, το Y είναι επίσης ένα ηλεκτραρνητικό άτομο και το R είναι μία χημική ομάδα.



Επειδή τα άτομα X και Y είναι πιο ηλεκτραρνητικά από το υδρογόνο και την ομάδα R , υπάρχει μία ασύμμετρη κατανομή μικρών φορτίων δ σε κάθε άτομο. Από την στιγμή που ο δότης υδρογόνου είναι ισχυρά ηλεκτραρνητικός, έλκει το μη-δεσμικό ζεύγος ηλεκτρονίων πιο κοντά στον πυρήνα του, και μακριά από το άτομο υδρογόνου. Κατά αυτό τον τρόπο, το άτομο υδρογόνου μένει με μερικό θετικό φορτίο, προκαλώντας μία έλξη μεταξύ διπόλων μεταξύ του ατόμου υδρογόνου που συνδέεται με τον δότη, και του μη-δεσμικού ζεύγους ηλεκτρονίων του αποδέκτη, και έτσι δημιουργείται ο δεσμός υδρογόνου. Μεγάλος αριθμός δεσμών υδρογόνου, προσδίδει σε μία βιολογική δομή, μεγάλη δομική ευστάθεια. Οι δεσμοί υδρογόνου είναι πολύ ασθενέστεροι από τους ομοιοπολικούς, και έχουν ελαφρώς μεγαλύτερο μήκος από εκείνο των ομοιοπολικών δεσμών. Έχουν ενέργειες που κυμαίνονται από 8 έως 30 kJ/mol ($\sim 2\text{-}12 k_B T$, όπου k_B η σταθερά του *Boltzmann* και T η απόλυτη θερμοκρασία). Οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ δύο μορίων θα διακοπούν από το νερό, από την στιγμή που το νερό από μόνο του θα σχηματίσει δεσμούς υδρογόνου με τα μόρια, ενώ η σύνδεση με δεσμό υδρογόνου μεταξύ δύο μορίων είναι ισχυρότερη απουσία νερού. Επίσης, οι δεσμοί υδρογόνου επηρεάζουν ιδιότητες όπως, το σημείο ζέσης και το ιξώδες. Η δυνατότητα δημιουργίας δεσμών υδρογόνου, επηρεάζεται σημαντικά από παράγοντες όπως, η ηλεκτραρνητικότητα και το μέγεθος των ατόμων.

II. 1. 1. 3. Πεδία Δυνάμεων

Τα πεδία δυνάμεων είναι μαθηματικά μοντέλα που καθορίζουν τις συναρτήσεις δυναμικής ενέργειας, συνεπώς και των δυνάμεων, ως προς τις θέσεις των ατόμων, προς την αριθμητική επίλυση των εξισώσεων κίνησης. Για υπολογιστική αποτελεσματικότητα, τα κλασικά πεδία δυνάμεων χρησιμοποιούν προσεγγίσεις για την διαχείριση δεσμικών και μη-δεσμικών αλληλεπιδράσεων (Εικ. 8). Τα μήκη των δεσμών, οι γωνίες και οι μη-επιτρεπτές γωνίες στροφών (δίεδρες) περιγράφονται με αρμονικά δυναμικά, και για αυτό τον λόγο, και σε αντιδιαστολή με τις κβαντομηχανικές περιγραφές, η διάσπαση των δεσμών δεν είναι εφικτή στις προσομοιώσεις κλασικής μοριακής δυναμικής. Με τα αρμονικά δυναμικά, ακόμη και μικρές αποκλίσεις από τις τιμές ισορροπίας ($r_{ij,0}$, $\theta_{ijk,0}$, $\Phi_{ijkl,0}$), μπορεί να προκαλέσουν σημαντικές μεταβολές στην ενέργεια του συστήματος, που επίσης εξαρτώνται από τις σταθερές δύναμης (k_{ij} , k_{ijk} , k_{ijkl}). Για την μοντελοποίηση της περιστροφής γύρω από δεσμούς σε συμφωνία με τα θερμοδυναμικά δεδομένα, χρησιμοποιείται συνήθως μία συνημιτονοειδής συνάρτηση της δίεδρης γωνίας.



Εικόνα 8: Οι πιο συνηθισμένοι τύποι δυναμικών. Οι μη-δεσμικές αλληλεπιδράσεις περιλαμβάνουν τα δυναμικά Lennard-Jones και Coulomb. Οι δεσμικές αλληλεπιδράσεις περιγράφουν τους δεσμούς, τις γωνίες και τις δίεδρες γωνίες.

Η γενική μορφή της δυναμικής ενέργειας^{59,95-101} χωρίζεται σε δεσμικές και μη-δεσμικές αλληλεπιδράσεις, ως συνάρτηση των ατομικών συντεταγμένων, και φαίνονται παρακάτω:

A. για τις δεσμικές αλληλεπιδράσεις:

$$U(r^N)_{bonded} = \frac{k_{ij}}{2} (r_{ij} - r_{ij,0})^2 + \frac{k_{ijk}}{2} (\theta_{ijk} - \theta_{ijk,0})^2 + \frac{V_n}{2} [1 + \cos(n\Phi_{ijkl} - \Phi_{ijkl,0})] + \frac{k_{ijkl}}{2} (\Phi_{ijkl} - \Phi_{ijkl,0})^2$$

με τον πρώτο όρο να αναφέρεται στους δεσμούς, ο δεύτερος στις γωνίες (μεταξύ τριών κέντρων σωματιδίων), ο τρίτος στις διέδρες γωνίες (μεταξύ τεσσάρων κέντρων σωματιδίων) και ο τελευταίος στις μη-επιτρεπτές γωνίες (που έχουν ως στόχο κυρίως, να διατηρούν τις επίπεδες δομές επίπεδες, για παράδειγμα τους αρωματικούς δακτυλίους, ή να εμποδίζουν τα μόρια να στραφούν πάνω στα είδωλά τους). Στην παραπάνω έκφραση, k_{ij} , k_{ijk} , k_{ijkl} είναι οι σταθερές δύναμης, $r_{ij,0}$, $\theta_{ijk,0}$, $\Phi_{ijkl,0}$ οι τιμές ισορροπίας για τα μήκη και τις γωνίες, το V_n είναι η σταθερά δύναμης, $\Phi_{ijkl,0}$ είναι η γωνία στην οποία το δυναμικό παίρνει την ελάχιστη τιμή του, και n είναι η πολλαπλότητα, η οποία δηλώνει τον αριθμό των ελαχίστων καθώς ο δεσμός περιστρέφεται κατά 360° .

Οι δονητικές συχνότητες αυτών των αρμονικών ταλαντωτών είναι υψηλότερες από ότι στο κλασικό όριο. Αυτό σημαίνει ότι χρειάζεται είτε διόρθωση των ενεργειών για τα κβαντομηχανικά φαινόμενα ή περιορισμός των δεσμών στις τιμές ισορροπίας για δεδομένα μήκη και γωνίες. Η δεύτερη προσέγγιση είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη, διότι οι υπό περιορισμούς δεσμοί είναι πιο κοντά στον κβαντικό ταλαντωτή. Η αρμονικότητα του δυναμικού αίρεται σε μεγάλες διεγέρσεις που σχετίζεται με την αδυναμία πραγματοποίησης καλής προσέγγισης μέσω *Σειράς Taylor*. Το χαρακτηριστικό της κβαντομηχανικής λύσης είναι ότι η ενέργεια έχει διακριτό φάσμα, σε αντίθεση με την αντίστοιχη κλασική λύση, όπου η ενέργεια δεν είναι απαραίτητο να παίρνει συγκεκριμένες μόνον τιμές, διότι εκφράζεται ως άθροισμα της κινητικής και της δυναμικής ενέργειας και όχι ως ιδιοτιμή κάποιου τελεστή. Η ταχύτητα μπορεί να πάρει συνεχώς όλες τις τιμές και αν η δυναμική ενέργεια είναι μία σαφής συνάρτηση της θέσης, τότε θα παίρνει και αυτή συνεχείς τιμές, από την στιγμή που και η θέση παίρνει συνεχείς τιμές. Εάν, οι ενέργειες διεγερσης είναι γενικά μικρές, σε σχέση με τη θερμική ενέργεια του συστήματος, μπορεί να θεωρηθεί πως η θερμική ενέργεια είναι αρκετή, ώστε να διεγείρει τα κβαντικά συστήματα συνεχώς, με αποτέλεσμα η κλασική λύση να μην οδηγεί σε μεγάλο σφάλμα. Εάν, οι ενέργειες διεγερσεις είναι μεγάλες, τότε δεν μπορούν να αγνοηθούν τα κβαντικά φαινόμενα και

εάν γίνει η παραπάνω προσέγγιση, θα προκύψουν σημαντικά σφάλματα. Η αιτία αυτού, θα είναι ότι εφαρμόζοντας τη συνεχή προσέγγιση, θα υπάρχουν πολύ συχνά διεγέρσεις, κάτι το οποίο είναι δύσκολο να πραγματοποιηθεί. Στην περίπτωση αυτή χρησιμοποιούμε ξανά κλασικές προσεγγίσεις, αλλά οι συγκεκριμένες δέσμιες καταστάσεις θεωρούνται ως εντελώς αδιέγερτες. Για αυτό τον λόγο, σε αυτή την περίπτωση ο περιορισμός των δεσμών αποτελεί καλή λύση.

Οι διέδρες γωνίες σχετίζονται με τις αλληλεπιδράσεις ομοιοπολικών δεσμών μεταξύ των ατόμων i , $i+1$, $i+2$ και $i+3$. Αυτά τα δυναμικά έχουν πολλαπλά ελάχιστα που αντιστοιχούν σε διαφορετικές καταστάσεις οι οποίες είναι οι *trans* με διέδρη γωνία $\varphi = 180^\circ$, οι *gauche* με $\varphi = \pm 60^\circ$ και οι *cis* με $\varphi = 0^\circ$. Αυτές οι καταστάσεις προκαλούν ενεργειακές μεταβολές ίδιας τάξης με την θερμική ενέργεια. Αυτή η συνεισφορά στην ενέργεια δεν μπορεί να μοντελοποιηθεί με μία αρμονική συνάρτηση λόγω των στερικών απώσεων. Για τέτοιου είδους αλληλεπιδράσεις, αναπτύχθηκε το δυναμικό *Ryckaert-Bell*:

$$U_{RB}(\varphi_i) = \sum_{n=0}^5 C_n \cos^n(\psi_i)$$

που αποτελείται από έξι συνημιτονοειδείς συναρτήσεις με τους ταιριασμένους συντελεστές C_n για την διέδρη γωνία $\psi = \varphi - 180^\circ$ που σχηματίζεται μεταξύ των ατόμων i και $i+3$, σε αντιστοιχία με τον δεσμό μεταξύ των ατόμων $i+1$ και $i+2$.

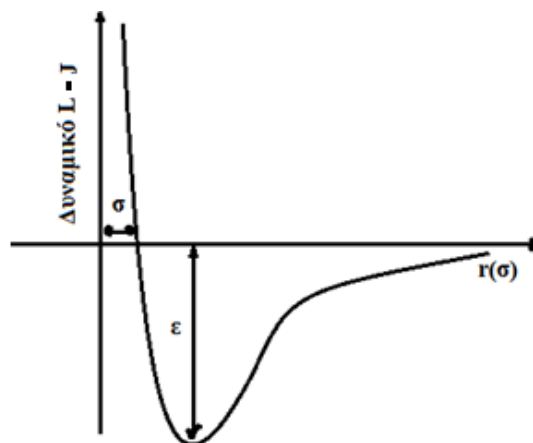
B. Για τις μη-δεσμικές αλληλεπιδράσεις, η γενική μορφή της δυναμικής ενέργειας, είναι:

$$U(r^N)_{nonbonded} = 4\varepsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{1}{4\pi\varepsilon_0\varepsilon_r} \frac{q_i q_j}{r_{ij}}$$

με τον πρώτο όρο να αναφέρεται στις αλληλεπιδράσεις *Lennard-Jones* (*L-J*) και ο δεύτερος στις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις *Coulomb*, που χρησιμοποιούνται για την περιγραφή των αλληλεπιδράσεων *van der Waals* (*vdW*) και των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων αντίστοιχα.

Ο ελκτικός όρος (r^{-6}) του δυναμικού *L-J* αντιπροσωπεύει τον όρο των αλληλεπιδράσεων που βασίζονται στις δυνάμεις διασποράς που οφείλονται στις επαγόμενες αλληλεπιδράσεις μεταξύ διπόλων. Ο απωστικός όρος (r^{-12}) προκύπτει από

την αλληλεπικάλυψη των ηλεκτρονιακών τροχιακών, και περιγράφει την απαγορευτική αρχή του *Pauli*, η οποία μπορεί να υπολογιστεί αποτελεσματικά υψώνοντας στο τετράγωνο τον ελκτικό όρο. Για κάθε συνδυασμό ατόμων i και j , το βάθος πηγαδιού ϵ_{ij} και η διάμετρος σύγκρουσης σ_{ij} απαιτούνται για τον υπολογισμό του δυναμικού $L-J$ (Εικ. 9), σε συνδυασμό με την διατομική απόσταση r_{ij} .



Εικόνα 9: Δυναμικό Lennard-Jones συναρτήσει της διατομικής απόστασης.

Όσο πιο βαθύ το πηγάδι (ϵ), τόσο πιο ισχυρή η αλληλεπίδραση μεταξύ των σωματιδίων. Όταν το δυναμικό είναι μηδέν, η απόσταση r μεταξύ των σωματιδίων είναι ίση με σ ενώ το ελάχιστο (ϵ) βρίσκεται σε απόσταση $r_{min} = 1.122\sigma$.

Η άλλη σημαντική συνεισφορά στο πεδίο δυνάμεων είναι η ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση μεταξύ ατόμων, η οποία υπολογίζεται χρησιμοποιώντας το δυναμικό *Coulomb* το οποίο εξαρτάται από την απόσταση r_{ij} και τα μερικά φορτία των ατόμων q_i και q_j . Επίσης, στην έκφραση περιέχεται και η ηλεκτρική διαπερατότητα του κενού ϵ_0 , καθώς και η διηλεκτρική σταθερά ϵ_r με ($\epsilon_r \geq 1$), για περιπτώσεις που το μέσο στο οποίο αλληλεπιδρούν τα φορτισμένα σωματίδια δεν είναι το κενό ($\epsilon_{r(κενό)} = 1$), όπως στην περίπτωση παρουσίας διαλύτη. Στην περίπτωση που υπάρχει κάποιο υλικό μέσο (και όχι το κενό), οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις *Coulomb*, είναι πιο ασθενείς. Τα φορτία των σωματιδίων συνήθως καθορίζονται μέσω κβαντομηχανικών υπολογισμών, ή ταιριάζοντάς τα με τις θερμοδυναμικές ιδιότητες μικρών μορίων.

Οι ανωτέρω αλληλεπιδράσεις είναι απαραίτητες για την περιγραφή των περισσότερων βιομοριακών συστημάτων. Από την στιγμή που οι ενεργειακές συνεισφορές μεταξύ των συνδεδεμένων ατόμων i και $i+3$ περιλαμβάνονται στις αλληλεπιδράσεις δεσμών, οι μη-δεσμικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτών των ατόμων πρέπει να εξαιρεθούν ώστε να αποφευχθεί η επανάληψη ενεργειακών όρων. Αν

αθροίσουμε όλους τους ενεργειακούς όρους μαζί, προκύπτει η συνολική δυναμική ενέργεια:

$$U = \sum u_1(r_i) + \sum_i u_{bond}(r_{i,i+1}) + \sum_i u_{angle}(\theta_{i,i+1,i+2}) \\ + \sum u_{dih}(\varphi) + \sum_i \sum_{j>i} u_{LJ}(r_{i,j}) + \sum_i \sum_{j>i} u_c(r_{i,j})$$

όπου, οι παράμετροι ταιριάσματος δεν φαίνονται, δηλαδή οι σταθερές δυνάμεων, οι τιμές ισορροπίας, οι παράμετροι αλληλεπιδράσεων $\sigma_{i,j}$ και $\epsilon_{i,j}$, και τα μερικά φορτία q_i και q_j . Αυτές οι παράμετροι συνήθως υπολογίζονται μέσω κβαντομηχανικών ή ημι-εμπειρικών υπολογισμών σε ενδεικτικά συστήματα¹⁰². Στην παραπάνω έκφραση, ο πρώτος όρος της δυναμικής ενέργειας ($\sum u_1(r_i)$), αναφέρεται στο δυναμικό κάποιου εξωτερικού πεδίου, και:

$$r_{ij} = |r_i - r_j|$$

είναι η συνάρτηση απόστασης μεταξύ των δύο σωματιδίων.

Οι δεσμικές αλληλεπιδράσεις είναι συναρτήσεις των αποστάσεων λίγων μόνο ατόμων κάθε φορά. Ωστόσο, οι μη δεσμικές αλληλεπιδράσεις, δηλαδή οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις *Coulomb* και οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις *Lennard-Jones*, είναι μακράς εμβέλειας, με αποτέλεσμα να αποτελούν αθροίσματα μεγάλου πλήθους όρων. Και τα δύο είδη αλληλεπιδράσεων, είναι αλληλεπιδράσεις ανά δύο ατόμων, και συνεπώς εξαρτώνται από δύο ατομικές θέσεις, με αποτέλεσμα ο αλγόριθμος υπολογισμού τους να εμφανίζει πολυπλοκότητα $O(N^2)$, όπου N ο αριθμός των ατόμων ή κέντρων αλληλεπίδρασης. Μία καλή μέθοδος για την επίλυση του μεγάλου αυτού αθροίσματος με μικρότερη πολυπλοκότητα, είναι ο ορισμός μιας ακτίνας αποκοπής, με την οποία για κάθε άτομο ορίζεται μια σφαίρα με κέντρο το άτομο αυτό και με μια ακτίνα, την ακτίνα αποκοπής. Σε αυτή τη προσέγγιση, η πολυπλοκότητα καταλήγει να είναι $O(N)$. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιείται η μέθοδος σωματιδιακού πλέγματος του *Ewald (Particle Mesh Ewald, PME)*^{103,104}, με την οποία η πολυπλοκότητα κλιμακώνεται ως $O(N \log N)$ όπου αντιστοιχεί στον προτιμητέο συμβιβασμό ακρίβειας και πολυπλοκότητας (καθώς $N \log N > N$).

Με τις σχέσεις για την δυναμική ενέργεια δεσμικών και μη-δεσμικών αλληλεπιδράσεων, τα ηλεκτρόνια δεν αντιμετωπίζονται ως διακριτά. Τα ατομικά μερικά φορτία προκύπτουν από την ηλεκτρονιακή κατανομή στο μόριο όπως

καθορίζονται από κβαντομηχανικούς υπολογισμούς. Σε αυτή την προσέγγιση, η συνεχής συνάρτηση της ηλεκτρονιακής πυκνότητας μετατρέπεται σε διακριτή κατανομή σημειακών φορτίων.

Σε αυτή την μέθοδο, οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις χωρίζονται σε δύο μέρη: (α) συνεισφορά μικρής εμβέλειας και (β) συνεισφορά μεγάλης εμβέλειας.

$$\varphi(\mathbf{r}) = \varphi_{short\ range}(\mathbf{r}) + \varphi_{long\ range}(\mathbf{r})$$

Η βασική ιδέα της άθροισης *PME*, είναι να αντικαταστήσει την απευθείας άθροιση των ενεργειών αλληλεπίδρασης μεταξύ σημειακών σωματιδίων:

$$E_{TOT} = \sum_{i,j} \varphi(\mathbf{r}_j - \mathbf{r}_i) = E_{short\ range} + E_{long\ range}$$

με δύο ξεχωριστά αθροίσματα:

(α) ένα για το δυναμικό μικρής εμβέλειας στον πραγματικό χώρο:

$$E_{short\ range} = \sum_{i,j} \varphi_{short\ range}(\mathbf{r}_j - \mathbf{r}_i)$$

με τον όρο αυτό να είναι για την λέξη «σωματιδιακό» της μεθόδου σωματιδιακού πλέγματος του *Ewald*, και (β) ένα άθροισμα για το τμήμα μεγάλης εμβέλειας στον χώρο *Fourier*:

$$E_{long\ range} = \sum_{\mathbf{k}} \Phi_{long\ range}(\mathbf{k}) |\rho(\mathbf{k})|^2$$

όπου, τα $\Phi_{long\ range}(\mathbf{k})$, και $\rho(\mathbf{k})$, δηλώνουν τους μετασχηματισμούς *Fourier* για το δυναμικό και την πυκνότητα φορτίου, με αντιστοιχία στην μέθοδο του *Ewald*. Οι μετασχηματισμοί *Fourier* χρειάζονται για την αποσύνθεση συναρτήσεων που εξαρτώνται από τον χώρο ή τον χρόνο, σε συναρτήσεις που εξαρτώνται από την χωρική και χρονική συχνότητα. Για τον ικανοποιητικό υπολογισμό του μετασχηματισμού κατά *Fourier* $\rho(\mathbf{k})$ του πεδίου πυκνότητας φορτίου, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ο γρήγορος μετασχηματισμός *Fourier*, που απαιτεί ότι το πεδίο πυκνότητας θα υπολογιστεί σε διακριτό πλέγμα στον χώρο, που αντιστοιχεί στην λέξη «πλέγμα» της μεθόδου.

Λόγω της υπόθεσης περιοδικότητας στην άθροιση κατά *Ewald*, οι εφαρμογές της μεθόδου *PME* σε φυσικά συστήματα, απαιτούν την επιβολή περιοδικής συμμετρίας.

Για αυτό τον λόγο, η μέθοδος αυτή είναι καλύτερη για συστήματα που μπορούν να προσομοιωθούν ως άπειρα σε χωρικό βαθμό. Στις προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής, αυτό συνήθως επιτυγχάνεται κατασκευάζοντας μία ηλεκτρικά ουδέτερη μοναδιαία κυψελίδα που μπορεί να αποτελέσει επ' αόριστον δομική μονάδα για δημιουργία μεγαλύτερων συνόλων. Αυτά τα σύνολα αναδιατάσσονται μέσα στο αρχικό κουτί προσομοίωσης. Το συνολικό αποτέλεσμα ονομάζεται περιοδική συνοριακή συνθήκη, και έτσι η μοναδιαία κυψελίδα θα πρέπει να έχει τέτοιο μέγεθος ώστε, να είναι αρκετά μεγάλο για αποφυγή ακατάλληλων συσχετίσεων κίνησης μεταξύ των επιφανειών σε επαφή, αλλά αρκετά μικρό ώστε να μπορεί να υπολογιστεί ικανοποιητικά. Να σημειωθεί εδώ ότι, ο καθορισμός του κατωφλίου μεταξύ αλληλεπιδράσεων μεγάλης και μικρής εμβέλειας μπορεί να εισάγει τεχνουργήματα στα αποτελέσματα. Ο περιορισμός του πεδίου πυκνότητας σε ένα πλέγμα, κάνει την μέθοδο *PME* πιο ικανοποιητική για συστήματα με ομαλές διαφοροποιήσεις στην πυκνότητα, ή συνεχείς συναρτήσεις δυναμικού.

Είναι χρήσιμο σε αυτό το σημείο να λάβουμε υπόψη τις προσεγγίσεις των προσομοιώσεων μοριακής δυναμικής:

A. Οι προσομοιώσεις είναι κλασικές.

Η χρήση των εξισώσεων κίνησης του Νεύτωνα αυτόματα υπονοεί την χρήση κλασικής μηχανικής για την περιγραφή της κίνησης των ατόμων. Αυτό είναι ικανοποιητικό για τα περισσότερα άτομα σε φυσιολογικές θερμοκρασίες, αλλά υπάρχουν και εξαιρέσεις. Τα άτομα υδρογόνου είναι ελαφριά και η κίνηση τους έχει σημαντικό κβαντομηχανικό χαρακτήρα. Για παράδειγμα, ένα πρωτόνιο μπορεί να εισχωρήσει μέσα σε ένα δυναμικό σύνορο κατά την διάρκεια μεταφοράς σε έναν δεσμό υδρογόνου. Τέτοιες διαδικασίες δεν μπορούν να αντιμετωπιστούν κατάλληλα μέσω κλασικής μηχανικής. Αυτό σημαίνει ότι πρακτικά, όλοι οι δεσμοί και οι δονήσεις δεσμών-γωνιών είναι στοιχεία μεγάλης απόκλισης, και ακόμη και οι κινήσεις που σχετίζονται με τους δεσμούς υδρογόνου ως δονήσεις δεσμών υδρογόνου, ξεπερνούν το κλασικό όριο. Για την αντιμετώπιση αυτών των προβλημάτων, και εκτός από τις πραγματικές κβαντομηχανικές προσομοιώσεις, υπάρχουν επιλογές, όπως:

(α). Αν πραγματοποιήσουμε προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής χρησιμοποιώντας για τους δεσμούς αρμονικούς ταλαντωτές, μπορούμε να κάνουμε διορθώσεις στην

συνολική εσωτερική ενέργεια $U=E_{kin}+E_{pot}$ (όπου E_{kin} είναι η κινητική και E_{pot} η δυναμική ενέργεια) και κυρίως στην θερμότητα C_v (και στην εντροπία S και ελεύθερη ενέργεια A ή G εάν αυτά υπολογίζονται). Οι διορθώσεις στην ενέργεια και στην θερμότητα ενός μονοδιάστατου αρμονικού ταλαντωτή με συχνότητα f , είναι:

$$U^{QM} = U^{el} + kT\left(\frac{1}{2}x - 1 + \frac{x}{e^x - 1}\right)$$

$$C_V^{QM} = C_V^{el} + k\left[\frac{x^2 e^x}{(e^x - 1)^2} - 1\right]$$

όπου $x=hf/kT$. Ο κλασικός ταλαντωτής απορροφά πολύ ενέργεια (kT), ενώ ο υψηλής συχνότητας κβαντικός ταλαντωτής βρίσκεται στην θεμελιώδη κατάσταση σε ενέργεια μηδενικού σημείου της τάξης του $hf/2$.

(β). Μπορούμε να διαχειριστούμε τους δεσμούς (και τις γωνίες δεσμών) σαν περιορισμούς στις εξισώσεις κίνησης. Η λογική πίσω από αυτό είναι ότι ο κβαντικός ταλαντωτής, στην θεμελιώδη κατάστασή του, αντιπροσωπεύει έναν περιορισμένο δεσμό σε σχέση με τον κλασικό ταλαντωτή. Μια καλή πρακτική εξήγηση αυτού, είναι ότι ο αλγόριθμος μπορεί να χρησιμοποιήσει μεγαλύτερα χρονικά βήματα όταν αφαιρεθούν οι υψηλές συχνότητες. Το υπολογιστικό πακέτο *GROMACS*, παρέχει αυτή την δυνατότητα για δεσμούς και γωνίες δεσμών. Η ελαστικότητα των τελευταίων, είναι αρκετά σημαντική για να επιτραπεί η ρεαλιστική κίνηση και κάλυψη του χώρου διαμόρφωσης^{105,106}.

B. Τα ηλεκτρόνια είναι στην θεμελιώδη κατάσταση.

Στις προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής χρησιμοποιείται ένα συντηρητικό πεδίο δυνάμεων το οποίο είναι συνάρτηση μόνον των θέσεων των ατόμων. Αυτό σημαίνει ότι οι ηλεκτρονιακές κινήσεις δεν λαμβάνονται υπόψη. Τα ηλεκτρόνια θεωρούνται ότι προσαρμόζουν ακαριαία την δυναμική τους όταν αλλάζουν οι ατομικές θέσεις (προσέγγιση *Born-Oppenheimer*) και παραμένουν στην θεμελιώδη τους κατάσταση. Ωστόσο, οι διαδικασίες μεταφοράς ηλεκτρονίων και οι διεγερμένες καταστάσεις ηλεκτρονίων δεν αντιμετωπίζονται με αυτή την μέθοδο, όπως επίσης και οι χημικές αντιδράσεις.

Γ. Τα πεδία δυνάμεων είναι προσεγγιστικά.

Τα πεδία δυνάμεων παρέχουν τις δυνάμεις. Στην πραγματικότητα, δεν αποτελούν μέρος της μεθόδου προσομοίωσης, και οι παράμετροί τους μπορούν να τροποποιηθούν από τον χρήστη όποτε χρειαστεί ή υπάρξει βελτίωση. Ωστόσο, η μορφή των δυνάμεων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε κάποιο συγκεκριμένο πρόγραμμα, υπόκειται σε περιορισμούς. Το πεδίο δυνάμεων που χρησιμοποιείται στο *GROMACS*, περιγράφηκε παραπάνω (*Ενότητα III. 1. 1. 3*). Στην έκδοση του προγράμματος που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη, το πεδίο δυνάμεων είναι *pair-additive* (βλ. παρακάτω, *Δ*) (εκτός από τις μεγάλης εμβέλειας ηλεκτροστατικές δυνάμεις), δεν μπορεί να συμπεριλάβει φαινόμενα πόλωσης, και δεν περιλαμβάνει βελτιστοποίηση των αλληλεπιδράσεων δεσμών.

Δ. Το πεδίο δυνάμεων είναι αθροιστικό για αλληλεπιδράσεις ζευγών (pair-additive).

Στην περίπτωση αυτή, όλες οι μη-δεσμικές δυνάμεις προκύπτουν από το άθροισμα των μη-δεσμικών αλληλεπιδράσεων ζευγών. Οι μη αθροιστικές αλληλεπιδράσεις ζευγών, των οποίων πιο σημαντικό παράδειγμα είναι η αλληλεπίδραση μεταξύ των ατομικών πόλωσης, αναπαρίστανται με ενεργά δυναμικά ζευγών. Μόνον οι μέσες συνεισφορές των μη-αθροιστικών αλληλεπιδράσεων ζευγών συμπεριλαμβάνονται. Αυτό σημαίνει επίσης ότι, οι αλληλεπιδράσεις ζευγών δεν είναι έγκυρες για απομονωμένα ζεύγη ή για καταστάσεις που διαφέρουν αισθητά από τα δοκιμασμένα συστήματα στα οποία τα μοντέλα έχουν υποστεί παραμετροποίηση. Η παράβλεψη της πολωσιμότητας, οδηγεί στο συμπέρασμα ότι τα ηλεκτρόνια στα άτομα δεν παρέχουν μία διηλεκτρική σταθερά όπως θα έπρεπε να συμβαίνει. Για παράδειγμα, τα πραγματικά υγρά αλκάνια, έχουν διηλεκτρική σταθερά λίγο μεγαλύτερη από 2, κάτι το οποίο μειώνει τις μεγάλης εμβέλειας ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των (μερικών) φορτίων. Επομένως, οι προσομοιώσεις υπερβάλουν στους μεγάλης εμβέλειας ηλεκτροστατικούς όρους. Ωστόσο, η επόμενη προσέγγιση αποζημιώνει έως ένα βαθμό για το παραπάνω.

E. Οι μεγάλης εμβέλειας αλληλεπιδράσεις αποκόπτονται.

Το υπολογιστικό πακέτο *GROMACS* χρησιμοποιεί μία ακτίνα αποκοπής για τις αλληλεπιδράσεις *van der Waals*, και κάποιες φορές, και για τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις. Η «σύμβαση ελάχιστης εικόνας» (*minimum-image convention*) που χρησιμοποιείται από το *GROMACS* απαιτεί ότι μόνον μία εικόνα από κάθε σωματίδιο στις περιοδικές συνοριακές συνθήκες λαμβάνεται υπόψη, και έτσι η ακτίνα αποκοπής δεν μπορεί να ξεπερνά το μισό του μεγέθους του κουτιού μελέτης. Αυτό βέβαια, είναι αρκετά σημαντικό για μεγάλα συστήματα, και αναμένεται να δημιουργήσει πρόβλημα μόνον για συστήματα που περιλαμβάνουν φορτισμένα σωματίδια. Ωστόσο, τότε μπορούν να δημιουργηθούν ανακρίβειες, όπως είναι η συσσώρευση φορτίων στο σύνορο αποκοπής ή μεγάλη απόκλιση στην ενέργεια. Για τέτοια συστήματα, καλό θα ήταν να χρησιμοποιηθεί κάποιος από τους ενσωματωμένους αλγόριθμους μεγάλης εμβέλειας ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων, όπως είναι ο αλγόριθμος *PME*.

ΣΤ. Οι συνοριακές συνθήκες είναι αφύσικες.

Από την στιγμή που το μέγεθος του συστήματος είναι μικρό (ακόμη και ένα σύστημα 10^4 σωματιδίων θεωρείται μικρό), ένα σύμπλεγμα (*cluster*) σωματιδίων θα έχει πολλά ανεπιθύμητα σύνορα με το περιβάλλον του (κενό). Για αυτό τον λόγο, χρησιμοποιούμε τις περιοδικές συνοριακές συνθήκες ώστε να αποφευχθούν συνθήκες πραγματικής φάσης. Πιο συγκεκριμένα, οι περιοδικές συνθήκες χρησιμοποιούνται ώστε να περιοριστούν οι επιδράσεις των επιφανειακών φαινομένων, μέσω της επανάληψης της μοναδιαίας κυψελίδας. Από την στιγμή που τα υγρά δεν είναι κρύσταλλοι, οι συνοριακές συνθήκες παραμένουν αφύσικες. Για μεγάλα συστήματα, τα σφάλματα είναι μικρά, αλλά για μικρά συστήματα με αρκετή εσωτερική χωρική συσχέτιση, οι συνοριακές συνθήκες μπορούν να ενισχύσουν την εσωτερική συσχέτιση. Σε αυτή την περίπτωση το μέγεθος του συστήματος είναι ιδιαίτερα σημαντικό όταν χρησιμοποιούμε αθροίσματα πλέγματος για μεγάλης εμβέλειας ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις.

II. 1. 1. 4. Ελαχιστοποίηση ενέργειας και μέθοδοι έρευνας

Όπως προαναφέρθηκε, η ελαχιστοποίηση της ενέργειας είναι βασική παράμετρος στους υπολογισμούς. Το υπολογιστικό πακέτο *GROMACS* προσφέρει ένα πλήθος μεθόδων για τοπική ενεργειακή ελαχιστοποίηση.

Η συνάρτηση δυναμικής ενέργειας ενός (μακρο)μοριακού συστήματος είναι πολύπλοκη. Έχει ένα χαμηλότερο σημείο, το ολικό ελάχιστο και ένα μεγάλο αριθμό τοπικών ελαχίστων, όπου όλες οι παράγωγοι της συνάρτησης δυναμικής ενέργειας σε αντιστοιχία με τις συντεταγμένες είναι μηδέν, και όλες οι δεύτερες παράγωγοι είναι μη-αρνητικές. Η μήτρα των δευτέρων παραγώγων, που ονομάζεται και *Εσσιανή μήτρα* (*Hessian Matrix*), έχει μη-αρνητικές ιδιοτιμές. Μόνον οι επιλεκτικές συντεταγμένες που αντιστοιχούν στην μετάφραση και περιστροφή, για ένα απομονωμένο μόριο, έχουν μηδενικές ιδιοτιμές. Μεταξύ των τοπικών ελαχίστων, υπάρχουν σημεία, όπου η *Εσσιανή μήτρα* έχει μόνον μία αρνητική ιδιοτιμή. Αυτά τα σαγματικά σημεία (*saddle points*), είναι τα μονοπάτια μέσω των οποίων το σύστημα μπορεί να περάσει από ένα τοπικό ελάχιστο σε άλλο.

Η γνώση αυτών των τοπικών ελαχίστων, συμπεριλαμβανομένου και του ολικού ελαχίστου, και όλων των υπολοίπων σαγματικών σημείων θα μπορούσε να μας επιτρέψει να περιγράψουμε τις σχετικές δομές και διαμορφώσεις, καθώς και τις ελεύθερες ενέργειές τους, όπως επίσης και την δυναμική των δομικών μεταβάσεων. Δυστυχώς, η μεγάλη διάσταση του χώρου διαμόρφωσης (*3D*) και ο αυξημένος αριθμός των τοπικών ελαχίστων καθιστούν αδύνατη την δειγματοληψία του χώρου σε έναν ικανοποιητικό αριθμό σημείων για την επίτευξη ντετερμινιστικής προσέγγισης. Ωστόσο, με δεδομένη αρχική διαμόρφωση, είναι πιθανόν να βρεθεί το κοντινότερο τοπικό ελάχιστο. Αυτό δεν υπονοεί πάντα το κοντινότερο σημείο από γεωμετρικής άποψης, δηλαδή το ελάχιστο άθροισμα των τετραγωνικών ριζών των διαφορών των συντεταγμένων, αλλά σημαίνει το ελάχιστο που μπορεί να επιτευχθεί μετακινώντας προς τα κάτω συστηματικά την πιο απότομη τοπική κλίση (*gradient descent*). Αυτό που πετυχαίνει το *GROMACS*, είναι να βρίσκει αυτό το κοντινότερο τοπικό ελάχιστο. Σε περίπτωση που θέλαμε να βρούμε κάποιο άλλο ελάχιστο, με την ελπίδα να βρούμε και το ολικό ελάχιστο, η καλύτερη επιλογή θα ήταν να δοκιμάσουμε μοριακή δυναμική σε συνδυασμό με την θερμοκρασία, μελετώντας το σύστημα σε υψηλή θερμοκρασία

για λίγο, και μεταφέροντάς το σιγά-σιγά στην απαραίτητη θερμοκρασία, επανειλημμένα (*annealing*).

Τρεις πιθανές μέθοδοι ελαχιστοποίησης ενέργειας^{59,107}, είναι:

A. Οι μέθοδοι που απαιτούν μόνον εκτιμήσεις συναρτήσεων. Παραδείγματα τέτοιων μεθόδων, είναι η συμπλεκτική μέθοδος (*simplex method*) και οι παραλλαγές της. Βασίζονται στα αποτελέσματα προηγούμενων εκτιμήσεων.

B. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούν παραγώγους. Από την στιγμή που οι μερικές παράγωγοι της δυναμικής ενέργειας σε αντιστοιχία με όλες τις συντεταγμένες, είναι γνωστές στα προγράμματα μοριακής δυναμικής (οι μερικές παράγωγοι της δυναμικής ενέργειας είναι ίσες με τις αρνητικές δυνάμεις), αυτή η κατηγορία μεθόδων είναι κατάλληλη ως τροποποίηση των προγραμμάτων μοριακής δυναμικής.

Γ. Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούν και επιπλέον πληροφορίες για τις δεύτερες παραγώγους. Το πρόβλημα, είναι ότι για N σωματίδια, πρέπει να υπολογιστεί, να αποθηκευτεί και να αντιστραφεί, μία μεγάλη *Εσσιανή μήτρα* και για τα περισσότερα συστήματα βιολογικού ενδιαφέροντος, αυτό ξεπερνά την διαθέσιμη χωρητικότητα.

Η μέθοδος *steepest descent* που χρησιμοποιεί το *GROMACS*, ανήκει στην δεύτερη κατηγορία μεθόδων. Ορίζει ένα βήμα στην κατεύθυνση της αρνητικής κλίσης, και άρα στην κατεύθυνση της δύναμης, χωρίς να λαμβάνει υπόψη τι έχει προηγηθεί σε προηγούμενα βήματα (σε μετέπειτα κύκλους). Το μέγεθος του βήματος προσαρμόζεται με τέτοιο τρόπο ώστε η έρευνα να γίνεται γρήγορα, αλλά η κίνηση να είναι καθοδική (*downhill*). Αυτή είναι μία απλή μέθοδος, αλλά η σύγκλιση μπορεί να γίνει λίγο αργά, ειδικά στην περιοχή του τοπικού ελαχίστου. Η πιο γρήγορη στη σύγκλιση μέθοδος *conjugate gradient*¹⁰⁷ χρησιμοποιεί πληροφορίες για την κλίση από προηγούμενα βήματα. Αν και τα *conjugate gradients* μας φέρνουν πιο γρήγορα κοντά στο τοπικό ελάχιστο, ωστόσο λειτουργούν χειρότερα μακριά από το ελάχιστο. Το *GROMACS* υποστηρίζει επίσης τον ελαχιστοποιητή *L-BFGS*, που συγκρίνεται με την μέθοδο *conjugate gradient*. Πιο συγκεκριμένα, το *GROMACS* χρησιμοποιεί τον αλγόριθμο *L-BFGS* του *Nocedal*^{108,109}, που προσεγγίζει την αντίστροφη *Εσσιανή μήτρα* με σταθερό αριθμό διορθώσεων από προηγούμενα βήματα. Οι απαιτήσεις στην υπολογιστική μνήμη με την μέθοδο αυτή είναι ανάλογες του αριθμού των σωματιδίων του συστήματος, πολλαπλασιασμένου με τα βήματα διόρθωσης.

II. 1. 2. Στατιστική Μηχανική-Σύνολα

Σε μία προσομοίωση μοριακής δυναμικής, συχνά χρειάζεται να μελετηθούν οι μακροσκοπικές ιδιότητες ενός συστήματος μέσω μικροσκοπικών προσομοιώσεων, όπως είναι για παράδειγμα, ο υπολογισμός των μεταβολών στην δεσμική ελεύθερη ενέργεια ενός συγκεκριμένου υπό μελέτη μορίου, ή για την μελέτη των ενεργειών και των μηχανισμών σε μια μεταβολή διαμόρφωσης. Η σύνδεση μεταξύ των μικροσκοπικών προσομοιώσεων και των μακροσκοπικών ιδιοτήτων, γίνεται με χρήση στατιστικής μηχανικής^{107,110,111}, που παρέχει αυστηρές μαθηματικές εκφράσεις που συσχετίζουν τις μακροσκοπικές ιδιότητες με την κατανομή και την κίνηση των ατόμων και μορίων του συστήματος N -σωματιδίων. Οι προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής παρέχουν τα μέσα για την επίλυση των εξισώσεων κίνησης των σωματιδίων και αξιολογούν αυτούς τους μαθηματικούς τύπους. Με τις προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής, μπορεί κανείς να μελετήσει και θερμοδυναμικές ιδιότητες και/ή χρονοεξαρτώμενα κινητικά φαινόμενα.

Η στατιστική μηχανική είναι ο κλάδος των φυσικών επιστημών που μελετά μακροσκοπικά συστήματα από την πλευρά των μορίων. Σκοπός είναι η κατανόηση και πρόβλεψη μακροσκοπικών φαινομένων από τις ιδιότητες μεμονωμένων μορίων που αποτελούν το σύστημα. Για την σύνδεση του μακροσκοπικού με το μικροσκοπικό σύστημα, εισάγονται συχνά ανεξάρτητες στατιστικές μέσες τιμές. Μερικοί από τους βασικούς ορισμούς αναφέρονται παρακάτω:

Η θερμοδυναμική κατάσταση ενός συστήματος συνήθως καθορίζεται από ένα μικρό σύνολο παραμέτρων, όπως είναι για παράδειγμα η θερμοκρασία T , η πίεση P , και ο αριθμός των σωματιδίων N . Η μηχανική ή η μικροσκοπική κατάσταση ενός συστήματος, καθορίζεται από τις ατομικές θέσεις q και τις ορμές p . Τα στοιχεία αυτά μπορούν να θεωρηθούν ως συντεταγμένες σε έναν πολυδιάστατο χώρο που ονομάζεται χώρος φάσεων. Για ένα σύστημα N -σωματιδίων, ο χώρος αυτός έχει $6N$ διαστάσεις. Ένα μοναδικό σημείο στον χώρο φάσεων, που δηλώνεται ως G , περιγράφει την κατάσταση του συστήματος. Ένα σύνολο είναι μία συλλογή από σημεία στον χώρο φάσεων, τα οποία ικανοποιούν τις συνθήκες για την συγκεκριμένη θερμοδυναμική κατάσταση, αλλά έχουν διαφορετικές μικροσκοπικές καταστάσεις. Μία προσομοίωση μοριακής δυναμικής παράγει μία σειρά σημείων στον χώρο φάσεων ως συνάρτηση του

χρόνου. Αυτά τα σημεία ανήκουν στο ίδιο σύνολο, και αντιστοιχούν στις διαφορετικές διαμορφώσεις του συστήματος και την αντίστοιχη ορμή του.

Τα σύνολα διακρίνονται σε: (α) μικροκανονικά (*NVE*) που προκύπτουν από προσομοίωση Νευτώνιας μοριακής δυναμικής και διατηρούν την συνολική ενέργεια, και (β) κανονικά (για παράδειγμα *NVT*) που εφαρμόζουν θερμοστάτες για λήψη δειγμάτων και παρουσιάζουν συμπεριφορά σχετική με την πραγματική συμπεριφορά του συστήματος σε ένα πείραμα. Στα μικροκανονικά σύνολα, θεωρώντας ένα απομονωμένο σύστημα με πλήρη μικροσκοπική περιγραφή της κατάστασης του συστήματος, οι πιθανότητες να βρεθεί το σύστημα σε μία συγκεκριμένη μικροκατάσταση είναι ομοιόμορφες για όλες τις πιθανές καταστάσεις. Το κανονικό σύνολο ακολουθεί μία κατανομή *Gibbs* για την πιθανότητα p_j βρισκόμενο σε μία κατάσταση j με ενέργεια E_j :

$$p_j = \frac{e^{-\beta E_j}}{Z_\beta}$$

$$\text{με: } Z_\beta = \sum_j e^{-\beta E_j}, \quad \beta = \frac{1}{k_B T}$$

που προκύπτουν από την αύξηση της εντροπίας, με T να είναι η απόλυτη θερμοκρασία, και k_B η σταθερά του *Boltzmann*.

A. Μικροκανονικό σύνολο *NVE*: η θερμοδυναμική κατάσταση χαρακτηρίζεται με έναν συγκεκριμένο αριθμό ατόμων N , συγκεκριμένο όγκο V , και συγκεκριμένη ενέργεια E . Το σύνολο αυτό ανταποκρίνεται σε ένα απομονωμένο σύστημα.

Αντιστοιχεί σε μία αδιαβατική μεταβολή, και συνεπώς χωρίς ανταλλαγή θερμότητας. Το αποτέλεσμα μικροκανονικής μοριακής δυναμικής μπορεί να φανεί ως μία ανταλλαγή δυναμικής και κινητικής ενέργειας, με την συνολική ενέργεια να διατηρείται σταθερή. Για ένα σύστημα N σωματιδίων με συντεταγμένες x και ταχύτητες u , το ακόλουθο ζεύγος πρωτοτάξιων διαφορικών εξισώσεων, μπορεί να γραφεί σε όρους Νευτώνιας μηχανικής, ως:

$$\overrightarrow{F}(x) = -\overrightarrow{\nabla}U(x) = M \frac{d\overrightarrow{u}(t)}{dt}, \quad \overrightarrow{u}(t) = \frac{d\overrightarrow{x}(t)}{dt}$$

Για κάθε χρονικό βήμα, η συντεταγμένη x του κάθε σωματιδίου, καθώς και η ταχύτητά του u , μπορούν να ολοκληρωθούν με χρήση ενός συμπλεκτικού ολοκληρωτή

όπως είναι η ολοκλήρωση *Verlet*. Δίνοντας τις αρχικές θέσεις και ταχύτητες, μπορούμε να υπολογίσουμε όλες τις μελλοντικές ή παρελθοντικές θέσεις και ταχύτητες.

Μία συχνή πηγή σύγχυσης, είναι η έννοια της θερμοκρασίας στις προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής. Συνήθως ασχολούμαστε με μακροσκοπικές θερμοκρασίες, που περιλαμβάνουν τεράστιο αριθμό σωματιδίων. Ωστόσο η θερμοκρασία είναι στατιστική ποσότητα. Εάν υπάρχει αρκετά μεγάλος αριθμός ατόμων, η στατιστική θερμοκρασία μπορεί να εκτιμηθεί από την στιγμιαία θερμοκρασία, που υπολογίζεται από την εξίσωση της κινητικής ενέργειας του συστήματος με το $nk_B T/2$, με το n να είναι ο αριθμός των βαθμών ελευθερίας του συστήματος, T η απόλυτη θερμοκρασία, και k_B η σταθερά του *Boltzmann*.

B. Κανονικό σύνολο NVT : είναι ένα σύνολο όλων των συστημάτων των οποίων η θερμοδυναμική κατάσταση χαρακτηρίζεται από συγκεκριμένο αριθμό ατόμων N , συγκεκριμένο όγκο V , και συγκεκριμένη θερμοκρασία T . Στο σύνολο NVT , η ενέργεια των ενδόθερμων και εξώθερμων διεργασιών ανταλλάσσεται με έναν θερμοστάτη.

Για την προσθήκη ή αφαίρεση ενέργειας από τα όρια μιας προσομοίωσης μοριακής δυναμικής με περισσότερο ή λιγότερο ρεαλιστικό τρόπο, υπάρχει μία μεγάλη ποικιλία θερμοστατικών αλγορίθμων που προσεγγίζουν το κανονικό σύνολο. Δημοφιλείς μέθοδοι για τον έλεγχο της θερμοκρασίας, περιλαμβάνουν την επαναλαμβανόμενη ανακλιμάκωση της ταχύτητας (*velocity rescaling*), τον θερμοστάτη *Nosé-Hoover*, αλυσίδες *Nosé-Hoover*, τον θερμοστάτη *Berendsen*, τον θερμοστάτη *Andersen* και την δυναμική *Langevin*.

Γ. Ισοβαρές-Ισόθερμο σύνολο NPT : είναι ένα σύνολο το οποίο χαρακτηρίζεται από συγκεκριμένο αριθμό ατόμων N , συγκεκριμένη θερμοκρασία T , και συγκεκριμένη πίεση P . Παράλληλα με τον θερμοστάτη, απαιτείται και η χρήση ενός βαροστάτη. Αντιστοιχεί περισσότερο, σε εργαστηριακές συνθήκες, με ένα δοχείο ανοιχτό στην περιβάλλουσα θερμοκρασία και πίεση.

Στην προσομοίωση βιολογικών μεμβρανών, ο έλεγχος ισοτροπικής πίεσης δεν είναι κατάλληλος. Για στρώματα λιπιδίων, ο έλεγχος της πίεσης πραγματοποιείται σε σταθερή επιφάνεια της μεμβράνης ($NPAT$) ή σταθερή επιφανειακή τάση «γάμμα» ($NP\gamma T$).

Δ. Μεγάλο κανονικό σύνολο mVT : η θερμοδυναμική κατάσταση για αυτό το σύνολο χαρακτηρίζεται από συγκεκριμένο χημικό δυναμικό m , συγκεκριμένο όγκο V , και συγκεκριμένη θερμοκρασία T .

Η μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας είναι μια εκτατική μεταβολή, δηλαδή εξαρτάται από το μέγεθος του συστήματος. Αν την κανονικοποιήσουμε ανά γραμμομόριο ή άτομο προκύπτει το χημικό δυναμικό:

$$m = \frac{\partial G}{\partial n_j} |_{P,T,j}$$

Ως χημικό δυναμικό ορίζεται το έργο το οποίο απαιτείται για να μετακινηθεί ένα άτομο από τον όγκο ενός στερεού στο άπειρο κάτω από συνθήκες σταθερής πίεσης και θερμοκρασίας ενώ όλες οι άλλες χημικές παράμετροι j παραμένουν σταθερές.

Τέλος, υπάρχουν και τα γενικευμένα σύνολα. Ένα γενικευμένο σύνολο, είναι για παράδειγμα η μέθοδος πανομοιότυπης ανταλλαγής (*replica exchange method*) η οποία στοχεύει στην βελτίωση των δυναμικών ιδιοτήτων της μεθόδου προσομοιώσεων *Monte Carlo* φυσικών συστημάτων. Αρχικά δημιουργήθηκε για την αντιμετώπιση της αργής δυναμικής συστημάτων άτακτων *spin*. Η μέθοδος μοριακής δυναμικής πανομοιότυπης ανταλλαγής (*REMD*)¹¹² προσπαθεί να ξεπεράσει το πρόβλημα πολλαπλών ελαχίστων, ανταλλάσσοντας την θερμοκρασία μη-αλληλεπιδρώντων αντιγράφων του συστήματος σε διάφορες θερμοκρασίες.

II. 1. 3. Υπολογισμός μέσων τιμών από προσομοίωση μοριακής δυναμικής

Ένα πείραμα συνήθως πραγματοποιείται σε ένα μακροσκοπικό δείγμα το οποίο περιλαμβάνει έναν πολύ μεγάλο αριθμό ατόμων ή μορίων, λαμβάνοντας δείγματα από έναν τεράστιο αριθμό διαμορφώσεων. Στην στατιστική μηχανική, οι μέσες τιμές που αντιστοιχούν σε πειραματικές παρατηρήσεις, καθορίζονται με όρους μέσων τιμών συνόλων. Μία εξήγηση για αυτό, είναι ότι υπάρχει καλή συμφωνία τους με τα πειραματικά δεδομένα. Μία μέση τιμή συνόλου, είναι η μέση τιμή που προκύπτει από τη μελέτη ενός μεγάλου αριθμού αντιγράφων του συστήματος σε χρόνο dt .

Το μέσο συνόλου δίνεται από την σχέση:

$$\langle A \rangle_{ensemble} = \iint dp^N dr^N A(p^N, r^N) \rho(p^N, r^N)$$

όπου $A(p^N, r^N)$, είναι η υπό μελέτη ποσότητα, και εκφράζεται ως συνάρτηση της ορμής p , και των θέσεων r του συστήματος. Η ολοκλήρωση πραγματοποιείται σε όλες τις μεταβλητές r και p . Επίσης, $\rho(p^N, r^N)$, είναι η πυκνότητα πιθανότητας του συνόλου, και δίνεται από την σχέση:

$$\rho(p^N, r^N) = \frac{1}{Q} \exp \left[-\frac{H(p^N, r^N)}{k_B T} \right]$$

όπου H είναι η Χαμιλτονιανή συνάρτηση του συστήματος, T η απόλυτη θερμοκρασία, k_B η σταθερά του Boltzmann και Q συνάρτηση που προσδιορίζεται μέσω της σχέσης:

$$Q = \iint dp^N dr^N \exp \left[-\frac{H(p^N, r^N)}{k_B T} \right]$$

Η ολοκλήρωση είναι εξαιρετικά δύσκολη στον υπολογισμό, διότι θα πρέπει κανείς να υπολογίσει όλες τις πιθανές καταστάσεις του συστήματος. Στις προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής, τα σημεία του συνόλου υπολογίζονται σειριακά με τον χρόνο, και έτσι για τον υπολογισμό του συνόλου μέσων, οι προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής πρέπει να περάσουν από όλες τις πιθανές καταστάσεις που αντιστοιχούν στους συγκεκριμένους θερμοδυναμικούς περιορισμούς.

Ένας άλλος τρόπος, ο οποίος χρησιμοποιείται στις προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής, είναι ο καθορισμός μίας μέσης χρονικής τιμής του A , που εκφράζεται από την σχέση:

$$\langle A \rangle_{time} = \lim_{\tau \rightarrow \infty} \frac{1}{\tau} \int_{t=0}^{\tau} A(p^N(t), r^N(t)) dt \approx \frac{1}{M} \sum_{t=1}^M A(p^N, r^N)$$

όπου t είναι ο χρόνος προσομοίωσης, M είναι ο αριθμός των χρονικών βημάτων στην προσομοίωση, και $A(p^N, r^N)$, είναι η στιγμιαία τιμή του A .

Το δίλημμα που εμφανίζεται, είναι ότι μπορεί κάποιος να υπολογίσει μέσες χρονικές τιμές με προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής, αλλά τα πειραματικά αποτελέσματα είναι μέσες τιμές συνόλου. Αυτό οδηγεί σε ένα από τα πιο θεμελιώδη αξιώματα της στατιστικής μηχανικής, την *Εργοδική Υπόθεση*, σύμφωνα με την οποία η μέση χρονική τιμή είναι ίση με την μέση τιμή του συνόλου.

$$\langle A \rangle_{ensemble} = \langle A \rangle_{time}$$

Η βασική ιδέα, είναι ότι, αν κανείς επιτρέψει στο σύστημα να εξελιχθεί με τον χρόνο επ' αόριστον, αυτό το σύστημα θα περάσει κάποια στιγμή τελικά από όλες τις πιθανές καταστάσεις. Για αυτό τον λόγο, επομένως, ένας στόχος της προσομοίωσης μοριακής δυναμικής είναι η παραγωγή αρκετών αντιπροσωπευτικών διαμορφώσεων, ώστε αυτή η ισότητα να ικανοποιείται. Με αυτό τον τρόπο, οι πειραματικά σχετικές πληροφορίες που αφορούν στις δομικές, δυναμικές και θερμοδυναμικές ιδιότητες μπορούν να υπολογιστούν χρησιμοποιώντας μία εφικτή ποσότητα υπολογιστικών πηγών. Επειδή οι προσομοιώσεις είναι πεπερασμένης χρονικής διάρκειας, πρέπει κανείς να είναι σίγουρος ότι θα λάβει δείγματα από μία ικανοποιητική ποσότητα του χώρου φάσεων.

II. 1. 4. Θερμοστάτες-Θερμοστάτης *Berendsen*

Ένα κανονικό σύνολο, το οποίο έχει σταθερή μέση ενέργεια, είναι μία κατανομή μικροκανονικών συνόλων, τα οποία έχουν σταθερή επιμέρους ενέργεια. Για την λήψη δειγμάτων από ένα κανονικό σύνολο, χρησιμοποιούνται θερμοστάτες^{113,114} οι οποίοι ρυθμίζουν την ενέργεια που προσφέρεται στο σύστημα ή αφαιρείται από αυτό. Οι θερμοστάτες αποτελούν μία τροποποίηση του Νευτώνειου μοντέλου μοριακής δυναμικής με σκοπό την παραγωγή στατιστικού συνόλου σε σταθερή θερμοκρασία.

Οι ταχύτητες περιγράφονται από την κατανομή *Maxwell-Boltzmann*:

$$P(u_{i,\alpha}) = \left(\frac{m}{2\pi k_B T} \right)^{\frac{1}{2}} e^{-\frac{mu_{i,\alpha}^2}{2k_B T}}$$

Η στιγμιαία θερμοκρασία ρυθμίζεται κλιμακώνοντας όλες τις ταχύτητες. Η μέση κινητική ενέργεια E_{kin} ανά βαθμό ελευθερίας σχετίζεται με την θερμοκρασία T μέσω του θεωρήματος:

$$\left\langle \frac{mu_{i,\alpha}^2}{2} \right\rangle = \frac{1}{2} k_B T$$

Το μέσο σύνολο δίνει το μέσο όλων των ταχυτήτων όλων των σωματιδίων, καθορίζοντας την στιγμιαία θερμοκρασία T_c για ένα πεπερασμένο σύστημα μέσω της σχέσης:

$$k_B T_c = \frac{1}{N_f} \sum_{i,\alpha} mu_{i,\alpha}^2$$

με $T_c \neq T$, μέχρι την ανακλιμάκωση των ταχυτήτων μέσω της σχέσης:

$$u'_{i,\alpha} = \left(\frac{T}{T_c} \right)^{\frac{1}{2}} u_{i,\alpha}$$

Τα μειονεκτήματα της ανακλιμάκωσης των ταχυτήτων, είναι ότι: τα αποτελέσματα δεν αντιστοιχούν σε κάποιο ιδιαίτερο σύνολο, δεν επιτρέπει διακυμάνσεις της θερμοκρασίας, και δεν είναι αντιστρέψιμη διαδικασία ως προς τον χρόνο. Ωστόσο, το πλεονέκτημα, είναι η άμεση εφαρμογή για την προετοιμασία και αρχικοποίηση της φάσης.

Υπάρχει μία ευρεία ποικιλία θερμοστατικών μεθόδων για την προσφορά ή αφαίρεση ενέργειας από τα σύνορα ενός συστήματος μοριακής δυναμικής με ρεαλιστικό τρόπο, προσεγγίζοντας το κανονικό σύνολο. Μερικές δημοφιλείς τεχνικές για έλεγχο της θερμοκρασίας περιλαμβάνουν τους θερμοστάτες *Andersen*, *Berendsen*, *Nosé-Hoover* και *Langevin*. Στόχος της χρήσης των θερμοστατών, είναι να

εξασφαλιστεί ότι η μέση θερμοκρασία θα είναι η επιθυμητή για το υπό μελέτη σύστημα. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε ο θερμοστάτης *Berendsen*.

Θερμοστάτης *Berendsen*

Το κύριο πρόβλημα της μεθόδου ανακλιμάκωσης της ταχύτητας, είναι ότι δεν επιτρέπει διακυμάνσεις της θερμοκρασίας που παρουσιάζονται στο κανονικό σύνολο. Για να ξεπεραστεί αυτό το πρόβλημα, ο *Berendsen* εισήγαγε μία μέθοδο ασθενούς σύνδεσης με μία εξωτερική δεξαμενή θερμότητας που πλέον ονομάστηκε θερμοστάτης *Berendsen*¹¹⁵. Ο θερμοστάτης αυτός προσπαθεί να διορθώσει τις διαφορές της πραγματικής θερμοκρασίας T από την προβλεπόμενη θερμοκρασία T_o , πολλαπλασιάζοντας τις ταχύτητες με μία συγκεκριμένη παράμετρο λ , με στόχο την μετατόπιση της δυναμικής του συστήματος προς την κατάσταση που αντιστοιχεί στην θερμοκρασία T_o . Ένα πλεονέκτημα του θερμοστάτη *Berendsen*, είναι ότι επιτρέπει διακυμάνσεις της θερμοκρασίας, χωρίς να την περιορίζει σε μία συγκεκριμένη τιμή. Το κίνητρο για τον θερμοστάτη αυτό, είναι η ελαχιστοποίηση των τοπικών διαταραχών ενός στοχαστικού θερμοστάτη, διατηρώντας αμετάβλητα τα γενικά φαινόμενα.

Στην μέθοδο του *Berendsen*, οι ταχύτητες κλιμακώνονται σε κάθε χρονικό βήμα με τέτοιο τρόπο, ώστε ο ρυθμός μεταβολής της θερμοκρασίας να είναι ανάλογος της διαφοράς θερμοκρασίας:

$$\frac{dT}{dt} = \frac{1}{\tau} (T_o - T)$$

όπου, τ είναι η παράμετρος σύνδεσης στον θερμοστάτη του *Andersen*¹¹⁶, και καθορίζει το πόσο ισχυρά συνδέονται η εξωτερική δεξαμενή με το σύστημα. Με αυτό τον τρόπο λοιπόν, φαίνεται ότι η μέθοδος *Berendsen* δημιουργεί μία εκθετική μείωση του συστήματος προς την επιθυμητή θερμοκρασία, μέσω της σχέσης:

$$T = T_o - C e^{-t/\tau}$$

Έτσι, αυτό οδηγεί σε μία μετατροπή της ορμής από p_i σε λp_i , όπου το λ είναι η παράμετρος κλιμάκωσης, που δίνεται μέσω της σχέσης:

$$\lambda^2 = 1 + \frac{\Delta t}{\tau} \left(\frac{T_o}{T} - 1 \right)$$

όπου, το τ , είναι η σταθερά χρόνου σύνδεσης που καθορίζει την κλίμακα χρόνου στην οποία επιτυγχάνεται η επιθυμητή θερμοκρασία.

II. 1. 5. Βαροστάτες

Σε μερικές περιπτώσεις, είναι σημαντικό να γίνει προσομοίωση συστήματος σε σταθερή πίεση. Ξεκινώντας από τις εξισώσεις κίνησης για σύστημα N σωματιδίων:

$$m \frac{d^2 \vec{r}_{ij}}{dt^2} = \vec{F}_i$$

με $j=1, 2, \dots, N$, και συντεταγμένες σωματιδίου r_i , μάζα m_i και δύναμη που ενεργεί στο σωματίδιο i , \vec{F}_i , αν πολλαπλασιάσουμε με r_i και χρησιμοποιήσουμε την σχέση:

$$\mathbf{r} \frac{d^2 \mathbf{r}}{dt^2} = \frac{d}{dt} \left(\mathbf{r} \frac{d\mathbf{r}}{dt} \right) - \left(\frac{d\mathbf{r}}{dt} \right)^2$$

έχουμε ότι:

$$\frac{d}{dt} \left(m_i \mathbf{r}_i \frac{d\mathbf{r}_i}{dt} \right) - m_i \left(\frac{d\mathbf{r}_i}{dt} \right)^2 = \mathbf{F}_i \mathbf{r}_i$$

Βρίσκοντας την μέση τιμή για όλα τα σωματίδια και για όλο τον χρόνο, ο πρώτος όρος, λόγω της παραγώγου ως προς τον χρόνο, μηδενίζεται. Ο δεύτερος όρος είναι η συνολική ενέργεια:

$$\sum \overline{m_i r_i^2} = 2E_{kin}$$

Ο τελευταίος όρος: $\sum_{t=1}^N \mathbf{F}_i \mathbf{r}_i$, αποκαλείται *virial*. Τελικά, προκύπτει ότι:

$$-2E_{kin} = \sum \overline{\mathbf{F}_i \mathbf{r}_i}$$

Με αυτό τον τρόπο, έχουμε μία πιο λεπτομερή εικόνα του όρου *virial*. Σε όλη αυτή την διαδικασία, θεωρούμε ότι τα σωματίδια είναι εγκλωβισμένα σε ένα κουτί όγκου V και ασκούν πίεση p στα τοιχώματα. Αυτό σημαίνει ότι, ένα στοιχείο του τοιχώματος ασκεί δύναμη πάνω στα κοντινά σωματίδια με κατεύθυνση προς το εσωτερικό του κουτιού, ως αντίδραση. Αυτό το τμήμα του όρου *virial* συμβολίζεται W_a . Το τμήμα του όρου που οφείλεται στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ σωματιδίων, αποκαλείται εσωτερικός όρος *virial* και συμβολίζεται με Ξ .

Ο τανυστής πίεσης \mathbf{P} , μπορεί να υπολογιστεί χρησιμοποιώντας το θεώρημα *Clausius virial*, από την σχέση:

$$\mathbf{P} = \frac{2}{V} (E_{kin} - \Xi)$$

όπου, V είναι ο όγκος του κουτιού προσομοίωσης, E_{kin} είναι η κινητική ενέργεια και Ξ είναι ο εσωτερικός τανυστής *virial*, που δίνεται από την σχέση:

$$E = -\frac{1}{2} \sum_{i < j} \mathbf{r}_{ij} \cdot \mathbf{F}_{ij}$$

Η ιστροπική πίεση υπολογίζεται μέσω του ίχνους του τανυστή πίεσης:

$$P = \text{Tr}(\mathbf{P})/3$$

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν οι βαροστάτες *Berendsen* και *Parrinello-Rahman*.

II. 1. 5. 1. Ισότροπος Βαροστάτης *Berendsen*

Στην μέθοδο *Berendsen*, το σύστημα συνδέεται ασθενώς με ένα εξωτερικό «λουτρό πίεσης», χρησιμοποιώντας την αρχή των ελάχιστων τοπικών διαταραχών. Ο αλγόριθμος *Berendsen*^{114,117}, μεταβάλλει ανά ένα συγκεκριμένο πλήθος επαναλήψεων τις διασωματιδιακές αποστάσεις, πολλαπλασιάζοντας τα διανύσματα θέσης με σταθερές, μέσω ενός πίνακα μ , που οδηγεί σε κινητική χαλάρωση πρώτης τάξης της πίεσης προς μία πίεση αναφοράς P_o . Αντίστοιχα με την θερμοκρασιακή σύνδεση με εξωτερική δεξαμενή, προστίθεται ένας επιπλέον όρος στις εξισώσεις κίνησης, που επηρεάζει την μεταβολή πίεσης σύμφωνα με την σχέση:

$$\frac{dP}{dt} = \frac{P_o - P}{\tau_\mu}$$

όπου, το τ_μ , είναι η σταθερά χρόνου σύνδεσης. Η ελαχιστοποίηση των τοπικών διαταραχών πραγματοποιείται μέσω μίας συνάρτησης κλιμάκωσης (*scaling factor*) συντεταγμένης, α , σε συνδυασμό με ανάλογη κλιμάκωση όγκου. Έτσι, προστίθεται ένας επιπλέον όρος στις εξισώσεις κίνησης:

$$\frac{dx}{dt} = u + \alpha x$$

ενώ, ο όγκος αλλάζει με ρυθμό όπως φαίνεται στην σχέση:

$$\frac{dV}{dt} = 3\alpha V$$

Η μεταβολή της πίεσης συνδέεται με την ισόθερμη συμπιεστότητα β , μέσω της σχέσης:

$$\frac{dP}{dt} = -\frac{1}{\beta V} \frac{dV}{dt} = -\frac{3\alpha}{\beta}$$

Η παράμετρος α , από τα παραπάνω υπολογίζεται ως:

$$\alpha = -\frac{\beta(p_o - p)}{3\tau_p}$$

και έτσι, η τροποποιημένη εξίσωση κίνησης είναι:

$$\frac{dx}{dt} = u - \frac{\beta(p_o - p)}{3\tau_p} x$$

και υποδεικνύει μία κλιμάκωση αναλογίας των συντεταγμένων.

Ο πίνακας κλιμάκωσης μ , δίνεται από την σχέση:

$$\mu_{ij} = \delta_{ij} - \frac{n_{PC}\Delta t}{3\tau_\mu} \beta_{ij} [\mathbf{P}_{ij0} - \mathbf{P}_{ij}(t)]$$

Στην σχέση αυτή, το μέγεθος β είναι η ισόθερμη συμπιεστότητα του συστήματος. Στις περισσότερες περιπτώσεις ο πίνακας μ είναι διαγώνιος με ισοδύναμα στοιχεία, η τιμή των οποίων γενικά δεν είναι γνωστή. Είναι αρκετό, να κάνουμε μία αδρή εκτίμηση, διότι η τιμή του β επηρεάζει μόνον την μη-κρίσιμη σταθερά χρόνου της χαλάρωσης της πίεσης, χωρίς να επηρεάζει την μέση τιμή της πίεσης. Όταν η κλιμάκωση γίνεται τελείως ανισοτροπικά, το σύστημα πρέπει να περιστραφεί. Αυτή η περιστροφή προσεγγίζεται σε πρώτη τάξη στην κλιμάκωση, η οποία, συνήθως, είναι μικρότερη από 10^{-4} . Ο πραγματικός πίνακας κλιμάκωσης μ' , είναι:

$$\mu' = \begin{pmatrix} \mu_{xx} & \mu_{xy} + \mu_{yx} & \mu_{xz} + \mu_{zx} \\ 0 & \mu_{yy} & \mu_{yz} + \mu_{zy} \\ 0 & 0 & \mu_{zz} \end{pmatrix}$$

Οι ταχύτητες δεν περιστρέφονται ούτε κλιμακώνονται. Από την στιγμή που οι εξισώσεις κίνησης τροποποιούνται μέσω σύνδεσης πίεσης, η διατηρούμενη ποσότητα ενέργειας θα πρέπει επίσης να τροποποιηθεί. Για σύνδεση πίεσης πρώτης τάξης, το έργο που εφαρμόζει ο βαροστάτης σε κάθε βήμα του συστήματος, πρέπει να αφαιρεθεί από την συνολική ενέργεια ώστε να προκύψει η διατηρούμενη ποσότητα ενέργειας:

$$-\sum_{i,j} (\mu_{ij} - \delta_{ij}) P_{ij} V = \sum_{i,j} 2(\mu_{ij} - \delta_{ij}) \Xi_{ij}$$

όπου, το δ_{ij} είναι το δέλτα του *Kronecker* και Ξ είναι ο *virial*. Να σημειωθεί εδώ ότι ο συντελεστής «2» προκύπτει από τον όρο « $\frac{1}{2}$ » στον ορισμό του *virial*. Η κλιμάκωση κατά *Berendsen* μπορεί να εφαρμοστεί και ισοτροπικά, που σημαίνει ότι αντί του \mathbf{P} , χρησιμοποιείται ένας πίνακας με στοιχεία μεγέθους ίχνους $(\mathbf{P})/3$. Για συστήματα με διεπιφάνειες, πιο χρήσιμη μπορεί να φανεί η ανισοτροπική κλιμάκωση. Σε αυτή την περίπτωση, οι διευθύνσεις x , y , κλιμακώνονται ισοτροπικά και η διεύθυνση z

κλιμακώνεται ανεξάρτητα. Η συμπίεστικότητα στην διεύθυνση x , y ή z , μπορεί να τεθεί ίση με την τιμή 0, ώστε να κλιμακωθούν οι υπόλοιπες διευθύνσεις.

Εάν επιτραπούν πλήρως ανισοτροπικοί μετασχηματισμοί και χρησιμοποιηθούν περιορισμοί, μπορεί να χρειαστεί η κλιμάκωση να πραγματοποιηθεί πιο αργά ή να μειωθεί το χρονικό βήμα για αποφυγή σφαλμάτων από τους αλγόριθμους περιορισμών. Είναι σημαντικό να σημειωθεί, ότι αν και ο αλγόριθμος ελέγχου της πίεσης κατά *Berendsen* διατηρεί την προσομοίωση με την σωστή μέση τιμή πίεσης, ωστόσο, δεν δίνει το ακριβές σύνολο *NPT*, και έτσι δεν είναι ακριβώς ξεκάθαρο το τι σφάλματα μπορούν να προκύψουν από αυτή την προσέγγιση.

II. 1.5.2. Ανισοτροπικός Βαροστάτης *Parrinello-Rahman*

Σε περιπτώσεις όπου οι διακυμάνσεις της πίεσης ή του όγκου είναι σημαντικές, για παράδειγμα, για τον υπολογισμό θερμοδυναμικών ιδιοτήτων, ειδικά για μικρά συστήματα, μπορεί να υπάρξει πρόβλημα με το γεγονός ότι το ακριβές σύνολο δεν είναι καλά καθορισμένο για την περίπτωση ασθενούς σύνδεσης, και έτσι δεν προσομοιώνει το πραγματικό σύνολο *NPT*.

Η προσέγγιση των *Parrinello-Rahman*¹¹⁸, θεωρητικά δίνει το πραγματικό σύνολο *NPT*. Με αυτό τον βαροστάτη, τα διανύσματα του κουτιού, όπως αναπαρίστανται με πίνακα, υπακούουν την εξίσωση κίνησης του πίνακα:

$$\frac{d^2\mathbf{b}}{dt^2} = V\mathbf{W}^{-1}\mathbf{b}'^{-1}(\mathbf{P} - \mathbf{P}_{ref})$$

όπου, V είναι ο όγκος του κουτιού, και W είναι ένας πίνακας παραμέτρων που καθορίζουν την ισχύ της σύνδεσης. Οι πίνακες P και P_{ref} , αναφέρονται αντίστοιχα στην παρούσα πίεση και την πίεση αναφοράς. Οι εξισώσεις κίνησης για τα σωματίδια, επίσης αλλάζουν, όπως με την σύνδεση *Nosé-Hoover*¹¹⁹. Για την τροποποίηση *Parrinello-Rahman*, η τροποποιημένη συνάρτηση *Hamilton* που θα διατηρηθεί, είναι:

$$E_{pot} + E_{kin} + \sum_i P_{ii}V + \sum_{i,j} \frac{1}{2} W_{ij} \left(\frac{db_{ij}}{dt} \right)^2$$

Οι εξισώσεις κίνησης για τα άτομα, που προκύπτουν από την συνάρτηση *Hamilton* (*Χαμιλτονιανή*) είναι:

$$\frac{d^2 \mathbf{r}_i}{dt^2} = \frac{\mathbf{F}_i}{m_i} - \mathbf{M} \frac{d\mathbf{r}_i}{dt}, \quad \mathbf{M} = \mathbf{b}^{-1} \left[\mathbf{b} \frac{d\mathbf{b}'}{dt} + \frac{d\mathbf{b}}{dt} \mathbf{b}' \right] \mathbf{b}'^{-1}$$

Αυτός ο επιπλέον όρος έχει την όψη τριβής (ωστόσο θα πρέπει να σημειωθεί ότι είναι φανταστικός) και μία επίδραση των εξισώσεων κίνησης κατά *Parrinello-Rahman*, που καθορίζονται με όλες τις συντεταγμένες σωματιδίων να αναπαρίστανται σχετικά με τα διανύσματα κουτιού. Επίσης, και η κινητική ενέργεια μπορεί να υπολογιστεί βάσει των ταχυτήτων σε σχέση με τα διανύσματα του κουτιού. Αυτό, θα μπορούσε να επηρεάσει, για παράδειγμα, στην περίπτωση εξωτερικής σταθερής τάσης.

Κατά την προσομοίωση κρυσταλλικών δομών, δεν είναι αρκετή η κλιμάκωση μόνον του όγκου. Οι *Parrinello* και *Rahman* επέκτειναν την μέθοδο που πρότεινε ο *Andersen*, επιτρέποντας στο κουτί προσομοίωσης να αλλάζει και ως προς το σχήμα του. Το κουτί μπορεί να έχει σχεδόν οποιοδήποτε σχήμα, με τον όγκο του να περιγράφεται από τρία διανύσματα: $\vec{\alpha}_1, \vec{\alpha}_2, \vec{\alpha}_3$. Τα διανύσματα αυτά μπορεί να έχουν διαφορετικά μήκη και διαφορετικές αμοιβαίες κατευθύνσεις. Μία εναλλακτική περιγραφή, μπορεί να αποκτηθεί, διατάσσοντας τα διανύσματα ως $\{\mathbf{a}_1, \mathbf{a}_2, \mathbf{a}_3\}$ σχηματίζοντας έναν πίνακα \mathbf{b} 3×3 , του οποίου οι στήλες είναι τα προηγούμενα διανύσματα. Ο όγκος δίνεται από την σχέση:

$$V = \det \mathbf{b} = \vec{\alpha}_1 \cdot (\vec{\alpha}_2 \times \vec{\alpha}_3)$$

Η θέση \vec{r}_i ενός σωματιδίου μπορεί να γραφεί συναρτήσει όρων του πίνακα \mathbf{b} και ενός διανύσματος στήλης s_i , με συνιστώσες ξ_i, η_i και ζ_i , ως εξής:

$$\mathbf{r}_i = \mathbf{b} s_i = \xi_i \vec{\alpha}_1 + \eta_i \vec{\alpha}_2 + \zeta_i \vec{\alpha}_3$$

με $0 \leq \xi_i, \eta_i, \zeta_i \leq 1$. Το τετράγωνο της απόστασης μεταξύ σωματιδίων i και j , δίνεται από την σχέση:

$$r_{ij}^2 = s_{ij}^T \mathbf{G} s_{ij}$$

όπου, ο μετρικός τανυστής \mathbf{G} , δίνεται από την σχέση:

$$\mathbf{G} = \mathbf{b}^T \mathbf{b}$$

Με αυτό τον τρόπο, η συνάρτηση *Lagrange* του συστήματος μπορεί να γραφεί στην μορφή:

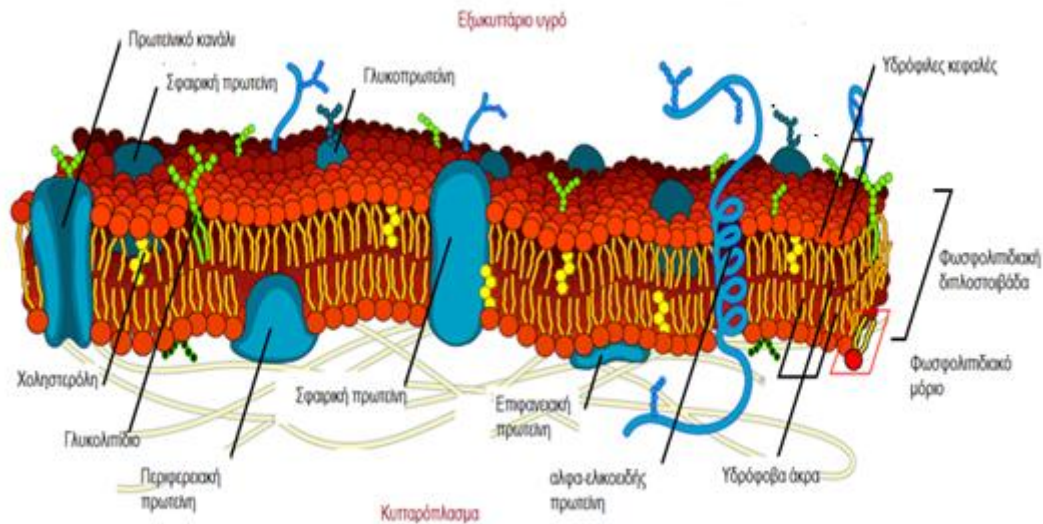
$$L = \frac{1}{2} \sum m_i \left(\frac{ds_i}{dt} \right)^T \mathbf{G} \frac{ds_i}{dt} - \sum \sum U(r_{ij}) + \frac{1}{2} M \text{Tr} \left[\left(\frac{d\mathbf{b}}{dt} \right)^T \frac{d\mathbf{b}}{dt} \right] - pV$$

II. 2. Βιολογικές μεμβράνες

II. 2. 1. Σύσταση μεμβρανών

Η πολυπλοκότητα των βιολογικών συστημάτων (*complex biosystems*) αποτελεί ένα σύγχρονο θέμα έρευνας και μπορεί πολύ εύκολα να επεκταθεί στις βιολογικές μεμβράνες. Μεταξύ όλων των έμβιων οργανισμών, εμφανίζεται ποικιλία μεμβρανών ως προς το μέγεθος, το σχήμα, τις λειτουργίες και την σύσταση. Οι βιολογικές μεμβράνες είναι οργανωμένα υπερμοριακά συγκροτήματα, αποτελούμενα από λιπίδια, πρωτεΐνες και υδατάνθρακες, τα οποία περιβάλλουν τα κύτταρα και τα διαχωρίζουν από το εξωτερικό περιβάλλον. Τα κύτταρα διακρίνονται σε προκαρυωτικά και ευκαρυωτικά. Τα προκαρυωτικά κύτταρα είναι μικρού σχετικά μεγέθους και η πλασματική τους μεμβράνη περιβάλλεται από ένα σκληρό κυτταρικό τοίχωμα. Στο εσωτερικό των προκαρυωτικών κυττάρων δεν υπάρχει οργανωμένος πυρήνας αλλά μία δομή χρωματίνης, το νουκλεοειδές. Σε αντίθεση με τα προκαρυωτικά, τα ευκαρυωτικά κύτταρα χαρακτηρίζονται από σαφή διαφοροποίηση του κυτταροπλάσματος, δηλαδή ξεχωρίζουν τα κυτταρικά οργανίδια και άλλες υποκυτταρικές δομές, όπως είναι τα μιτοχόνδρια, οι χλωροπλάστες, το ενδοπλασματικό δίκτυο και ο κυτταρικός σκελετός. Το γενετικό υλικό των ευκαρυωτικών κυττάρων διαχωρίζεται από το κυτταρόπλασμα με τον πυρηνικό φάκελο. Στην περίπτωση των ευκαρυωτικών κυττάρων, εκτός της κυτταρικής ή πλασματικής μεμβράνης υπάρχουν και άλλες μεμβράνες, που περιβάλλουν τα κυτταρικά οργανίδια και διαμερισματοποιούν το εσωτερικό των κυττάρων.

Η συνολική λιπιδική σύνθεση των κυτταρικών μεμβρανών είναι απαραίτητη, σε συνδυασμό με τις αντίστοιχες πρωτεΐνες, για την πραγματοποίηση των κυτταρικών λειτουργιών και για την παροχή του κατάλληλου περιβάλλοντος για τις χημικές αντιδράσεις σε κάθε κύτταρο. Η μεμβράνη περιέχει περίπου 15-30 % πρωτεϊνών που κατανέμονται ασύμμετρα πλευρικά εντός της δομής της μεμβράνης και μεταξύ των δύο στρωμάτων¹²⁰. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την υψηλή πολυπλοκότητα των βιολογικών μεμβρανών (*Εικ. 10*).

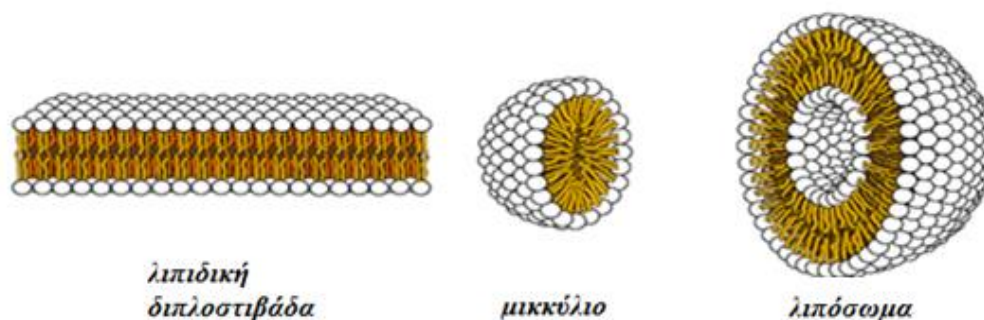


Εικόνα 10: Δομή κυτταρικής μεμβράνης. (<https://slidetodoc.com/lesson-7-cell-membranes-and-the-cytoskeleton-hank/>)

II. 2.2. Σύσταση λιπιδίων

Με τον όρο λιπίδια δηλώνεται η κατηγορία βιομορίων που διαλύονται εύκολα σε μη πολικούς διαλύτες και δύσκολα σε πολικούς (*διηλεκτρική σταθερά* (ϵ_r) > 15). Αν και η μορφή τους ποικίλει, τα λιπίδια προέρχονται από σχετικά παρόμοιες αρχικές ενώσεις, γεγονός που έχει σαν αποτέλεσμα να παρουσιάζουν παρόμοια φυσικοχημική συμπεριφορά. Τα λιπίδια έχουν διάφορες λειτουργίες, όπως είναι το να λειτουργούν ως αποθήκες ενέργειας, ως δομικά συστατικά των βιολογικών μεμβρανών, και να συμμετέχουν σε βιοχημικές αντιδράσεις. Επίσης, συμμετέχουν σε διαδικασίες κυτταρικής σηματοδότησης ως συντελεστές αντιδράσεων οξειδοαναγωγής. Η λιπιδική διπλοστιβάδα είναι ένα επιλεκτικό σύνορο που επιτρέπει σε συγκεκριμένα μόρια να διαχυθούν από τα εξωτερικά στα εσωτερικά διαμερίσματα του κυττάρου (παθητική διάχυση). Στα θηλαστικά, τα κυριότερα λιπίδια που αποτελούν τις μεμβράνες, είναι τα φωσφολιπίδια, οι στερόλες και τα γλυκολιπίδια. Τα φωσφολιπίδια και τα γλυκολιπίδια αποτελούνται από μία υδρόφιλη πολική κεφαλή και λιπόφιλες λιπιδικές αλυσίδες (*ουρές*). Για αυτό τον λόγο, τα λιπίδια αυτά είναι αμφιφιλικά. Αυτό ισχύει, σε μικρότερο βαθμό, και για τις στερόλες που έχουν μία πολική υδροξυλομάδα. Αυτή η

ιδιότητα έχει σαν αποτέλεσμα την ακαριαία και αυθόρμητη θερμοδυναμικά σύνδεση των λιπιδίων σε μικκύλια ή διπλοστιβάδες. Οι στερόλες είναι κωνικού σχήματος που ευνοεί περισσότερο τον σχηματισμό μικκυλίων, ενώ τα φωσφολιπίδια και τα γλυκολιπίδια είναι κυρίως κυλινδρικά, και συνεπώς σχηματίζουν διπλοστιβάδες. Για την μείωση ακραίων φαινομένων, οι διπλοστιβάδες μπορούν να υιοθετήσουν σφαιρικά σχήματα. Για παράδειγμα, τα λιποσώματα και οι κυτταρικές μεμβράνες είναι λιπιδικές διπλοστιβάδες που υιοθετούν σχήματα που μοιάζουν με σφαίρες. Στην επόμενη εικόνα (Εικ. 11) φαίνονται κάποιες σύνθετες λιπιδικές δομές.



Εικόνα 11: Σχηματική αναπαράσταση διαφόρων σύνθετων λιπιδικών δομών.

Η αδυναμία των μη-πολικών αλυσίδων των υδρογονανθράκων να σχηματίσουν δεσμούς υδρογόνου με το νερό, έχει ως αποτέλεσμα τον προσανατολισμό της υδρόφοβης ουράς μακριά από τα μόρια του νερού, μια διαδικασία που σχετίζεται με εντροπικό όρο. Η μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας ΔG συνδέεται με την απόλυτη θερμοκρασία T , την μεταβολή στην εντροπία ΔS , και την μεταβολή στην ενθαλπία ΔH σύμφωνα με την σχέση:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

Η απουσία δεσμών υδρογόνου μεταξύ των υδρόφοβων ουρών των λιπιδίων και του νερού, θα οδηγούσε σε μια διάταξη μορίων νερού τύπου «κλουβιού» γύρω από τα υδρόφοβα μέρη των λιπιδίων, που θα προκαλούσε μείωση της μεταβολής της εντροπίας ΔS του νερού, που θα γινόταν αρνητική, και έτσι θα οδηγούσε σε θετική, και θερμοδυναμικά μη ευνοούμενη, μεταβολή ελεύθερης ενέργειας ΔG . Προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η επαφή με το νερό, και κατά συνέπεια, και η μείωση στην εντροπία, οι αλυσίδες υδρογονανθράκων ανασυναρμολογούνται και προσανατολίζονται μακριά από το υδατικό περιβάλλον. Σε αυτόν τον προσανατολισμό, οι ομάδες των πολικών

κεφαλών αλληλεπιδρούν με τα μόρια νερού και άλλες ομάδες των πολικών κεφαλών, που, μαζί, σχηματίζουν την περιοχή διεπαφής με το υδατικό περιβάλλον.

Τα λιπίδια των μεμβρανών μπορούν να μετακινούνται με διάφορους τρόπους. Αρχικά, κάθε αλυσίδα λιπαρού οξέος των φωσφολιπιδίων περιστρέφεται γύρω από τον εστερικό της δεσμό. Επίσης, κινείται και περιοδικά στο επίπεδο της μεμβράνης, όταν η μεμβράνη βρίσκεται σε υγρή-κρυσταλλική φάση. Επιπλέον, τα λιπίδια διαχέονται πλευρικά με μεγάλη ταχύτητα και, επίσης, μπορούν να κινηθούν εγκάρσια και να αλλάξουν θέση και προσανατολισμό από τη μια στιβάδα της μεμβράνης στην άλλη. Η εγκάρσια κίνηση των λιπιδίων είναι πολύ αργή και δεν ευνοείται θερμοδυναμικά, καθώς προϋποθέτει την αλληλεπίδραση των πολικών περιοχών με τις μη-πολικές. Στις βιολογικές μεμβράνες, ωστόσο, η εγκάρσια κίνηση γίνεται ταχύτερα, γεγονός που αποδίδεται στις μεμβρανικές πρωτεΐνες που διευκολύνουν την μετάβασή τους στην άλλη λιπιδική μονοστιβάδα.

II. 2.3. Φωσφολιπίδια

Τα φωσφολιπίδια είναι το κύριο λιπιδικό συστατικό των μεμβρανών. Αποτελούνται όλα από παρόμοια συστατικά, δηλαδή αποτελούνται από μία έως τέσσερις λιπιδικές ουρές, με την πλειοψηφία να εμφανίζει δύο ουρές συνήθως λιπαρών οξέων, ένα κεντρικό σώμα (*γλυκερόλη* ή *σφιγγοσίνη*), και μία πολική ομάδα κεφαλής αποτελούμενη από ένα φωσφορικό τμήμα και ένα πολικό αλκοολικό. Τα φωσφολιπίδια με κύρια αλυσίδα *γλυκερόλης*, ονομάζονται *γλυκεροφωσφολιπίδια*, ενώ *σφιγγολιπίδια* είναι εκείνα με κύρια αλυσίδα *σφιγγοσίνης*. Οι *κεραμίδες* είναι ειδική κατηγορία σφιγγολιπιδίων που δεν έχουν πολική ομάδα κεφαλής πέραν των υδροξυλομάδων της σφιγγοσίνης.

Τα λιπαρά οξέα είναι σημαντικά τμήματα των φωσφολιπιδίων που ποικίλουν σε μήκος, δηλαδή στον αριθμό ατόμων άνθρακα στις ουρές, και σε βαθμό ακορεστότητας. Τα πιο συχνά εμφανιζόμενα λιπαρά οξέα, έχουν από 16 έως 18 άτομα άνθρακα. Στην φυσική τους μορφή, οι διπλοί δεσμοί είναι *cis*, αλλά μπορούν να συντεθούν και *trans* μορφές με αφυδρογόνωση. Ο πρώτος διπλός δεσμός εμφανίζεται συνήθως στο 3^ο ή 6^ο άτομο άνθρακα από το τέλος της λιπιδικής αλυσίδας. Η σύνθεση των λιπαρών οξέων

της λιπιδικής διπλοστιβάδας, έχει σημαντική επίδραση στις φυσικές της ιδιότητες. Το μήκος των λιπιδικών αλυσίδων σχετίζεται άμεσα με το πάχος της μεμβράνης. Ο αριθμός των ακόρεστων *cis* λιπαρών οξέων επηρεάζει το πλησίασμα των αλυσίδων, και έτσι την θερμοκρασία τήξης T_m , δηλαδή την θερμοκρασία μετάβασης μεταξύ κατάστασης γέλης και υγρής φάσης. Στην υγρή-κρυσταλλική κατάσταση, οι βιολογικές μεμβράνες υιοθετούν το σχήμα μίας διπλοστιβάδας λιπιδίων, η οποία ενισχύει την κινητικότητα των συστατικών της μεμβράνης και την παθητική διαπερατότητα από νερό και άλλα μικρά μόρια. Σε αυτή την κατάσταση, οι ακυλικές αλυσίδες μπορούν να υπάρχουν σε *all-trans* ή σε μία από τις δύο *gauche*-διαμορφώσεις. Η τελευταία περίπτωση προκαλεί μια συστροφή στην ακυλική αλυσίδα, δημιουργώντας έτσι χώρο στην υδρόφοβη διπλοστιβάδα, αυξάνοντας την παθητική διαπερατότητά της. Αντίθετα, η μη φυσική ταξινομημένη φάση γέλης μιας λιπιδικής διπλοστιβάδας, σχηματίζεται όταν οι περισσότερες από τις ακυλικές αλυσίδες υιοθετούν την πολύ άκαμπτη κατάσταση *all-trans*.

Το άλλο τμήμα το οποίο χαρακτηρίζει ένα φωσφολιπίδιο, είναι οι πολικές ομάδες κεφαλής, που αποτελούνται από ένα φωσφορικό τμήμα συνδεδεμένο με μία αλκοόλη. Οι ομάδες των κεφαλών μπορούν να προσδώσουν διαφορετικά φορτία στα φωσφολιπίδια. Για παράδειγμα, οι *φωσφοχολίνες* (*phosphocholines, PC*) γενικά είναι αφόρτιστες, μιας και περιλαμβάνουν αρνητικό φορτίο στις φωσφορικές ομάδες και θετικό φορτίο στις ομάδες χολίνης. Παρόμοια, οι *φωσφορο-αιθανολαμίνες* (*phosphorethanolamines, PE*) είναι αφόρτιστες, ενώ οι *φωσφοσερίνες* (*phosphoserines, PS*), οι *φωσφογλυκερόλες* (*phosphoglycerols, PG*) και οι *φωσφοϊνοσιτόλες* (*phosphoinositols, PI*) έχουν αρνητικό φορτίο. Το ποσοστό των φορτισμένων λιπιδίων και η κατανομή τους στα δύο φύλλα της διπλοστιβάδας, μπορεί να προκαλέσει ένα επιφανειακό δυναμικό, το οποίο να επηρεάσει σημαντικά τις βιολογικές διαδικασίες. Στον παρακάτω πίνακα (*Πίνακας 1*) φαίνονται συχνά εμφανιζόμενα μεμβρανικά λιπίδια με τα ακρωνύμιά τους.

Πίνακας 1. Συχνά εμφανιζόμενα μεμβρανικά λιπίδια με τα ακρωνύμιά τους.

<i>Ακρωνύμιο</i>	<i>Όνομα χημικής ένωσης</i>
<i>DMPC</i>	<i>1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine</i>
<i>DPPC</i>	<i>1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine</i>
<i>DSPC</i>	<i>1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine</i>
<i>POPC</i>	<i>1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine</i>
<i>DOPC</i>	<i>1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine</i>
<i>DLPC</i>	<i>1,2-dilinoleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine</i>
<i>DOPE</i>	<i>1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine</i>
<i>POPS</i>	<i>1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phospho-L-serine</i>
<i>DPPG</i>	<i>1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phospho-(1'-rac-glycerol)</i>
<i>18:0 SM</i>	<i>N-stearoyl-D-erythro-sphingosylphosphorylcholine</i>

Η σύσταση των μεμβρανών σε λιπίδια ποικίλει ανάλογα με το είδος, και τους τύπους των κυττάρων, των οργανιδίων, των εισερχομένων θρεπτικών συστατικών, και άλλους παράγοντες. Κάποια λιπίδια εμφανίζονται μόνον σε βακτήρια, όπως είναι το λιπίδιο A^{121} , και άλλα εμφανίζονται σχεδόν αποκλειστικά σε μιτοχονδριακές μεμβράνες, όπως η καρδιολιπίνη¹²². Επιπλέον, όλα τα είδη ομάδων κεφαλής και λιπαρών οξέων μπορούν να ανασυνδυαστούν και να δημιουργηθούν πάνω από 1000 φωσφολιπίδια¹²³. Για αυτό τον λόγο, η ανάλυση των φωσφολιπιδίων συχνά κάνει διαχωρισμό μεταξύ της σύστασης των ομάδων κεφαλής και της σύστασης λιπαρών οξέων.

II. 2. 4. Φυσικές ιδιότητες μεμβρανών

Η κατανόηση των φυσικών ιδιοτήτων των μεμβρανών απαιτεί αρχικά την λεπτομερή γνώση της σύστασής τους. Μεταξύ άλλων χαρακτηριστικών, οι μεμβράνες χαρακτηρίζονται από το μέγεθος, το πάχος, την καμπυλότητα, την επιφάνεια ανά λιπίδιο, τις φάσεις των λιπιδίων, την τάξη, τις περιοχές, και τις λιπιδικές σχεδίες. Όλα αυτά τα χαρακτηριστικά επηρεάζονται άμεσα από κάθε βιολογική διαδικασία και αλληλεπίδραση φαρμάκου-μεμβράνης.

A. Πάχος μεμβράνης

Το πάχος της μεμβράνης είναι η πιο προφανής ιδιότητα των μεμβρανών. Το πιο σύνηθες πάχος μίας βιολογικής μεμβράνης είναι περίπου 5 nm. Στην φύση, το πάχος ποικίλει ανάλογα με το μήκος των λιπιδικών αλυσίδων, καθώς και με την λιπιδική φάση που σχετίζεται με την τάξη των αλυσίδων, δηλαδή αν αυξηθεί η τάξη (οι αλυσίδες σε ευθεία διεύθυνση) η διπλοστιβάδα έχει μεγαλύτερο πάχος. Για παράδειγμα, στην φάση γέλης η μεμβράνη είναι πιο πυκνόρρευστη από ότι μία μεμβράνη ίδιας σύστασης σε υγρή φάση. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν το πάχος της μεμβράνης, είναι η σύσταση της μεμβράνης και η θερμοκρασία που επηρεάζουν την λιπιδική φάση και συνεπώς, έμμεσα, και το πάχος της.

B. Καμπυλότητα

Για μικρά λιποσώματα, η καμπυλότητα της μεμβράνης εξαρτάται άμεσα από την διάμετρο του λιποσώματος, ενώ για μεγαλύτερες μεμβράνες, όπως είναι οι μεμβράνες πλάσματος, μπορεί να προκληθούν τοπικές καμπυλώσεις λόγω ασύμμετρης λιπιδικής σύστασης και στα δύο στρώματα. Οι τοπικές καμπυλώσεις είναι δυναμικές διαδικασίες που σχετίζονται με την λιπιδική δομή και ελαστικότητα¹²⁴. Λιπίδια με κυλινδρικό σχήμα σχηματίζουν ακαριαία επίπεδες διπλοστιβάδες, ενώ τα φωσφολιπίδια με κοντές λιπιδικές ουρές και μεγάλες ομάδες κεφαλής εμφανίζονται με κωνικές μορφές και προκαλούν θετική καμπυλότητα. Αντίστοιχα, λιπίδια με μακριές ακόρεστες αλυσίδες και μικρές ομάδες κεφαλής προκαλούν αρνητική καμπυλότητα¹²⁴. Μία απλή προσέγγιση για την πρόβλεψη της καμπυλότητας της μεμβράνης προτάθηκε από τον *J. Israelachvili*¹²⁵ και τους συναδέλφους του, με την παράμετρο πακεταρίσματος λιπιδίων

$P: P = \frac{V}{al}$, όπου V είναι ο όγκος του μορίου, a η επιφάνεια διασταύρωσης των πολικών κεφαλών, και l το μήκος του λιπιδίου.

Αν και η καμπυλότητα διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στα λιποσώματα, ωστόσο στις βιολογικές μεμβράνες, οι τοπικές καμπυλώσεις δεν συνεπάγονται συσχετίσεις λιπιδίων με παρόμοια σχήματα¹²⁴. Για αυτό τον λόγο, στις βιολογικές μεμβράνες υπάρχουν άλλες διαδικασίες που μπορεί να είναι υπεύθυνες για την καμπυλότητά τους^{126,127}. Λόγω ισχυρών τοπικών καμπυλώσεων, μπορεί να πραγματοποιηθεί σύντηξη των μεμβρανών που καθοδηγείται από μεμβρανικές πρωτεΐνες^{128,129}. Η καμπυλότητα της μεμβράνης μειώνει ή αυξάνει την οργανωμένη συσσωμάτωση των λιπιδικών ομάδων κεφαλών, και έτσι ευνοεί ή όχι, την διείσδυση ενός φαρμάκου στην μεμβράνη. Έχει βρεθεί ότι, η προσθήκη ελεύθερων λιπαρών αλυσίδων και λυσολιπιδίων, προκαλεί καμπύλωση της μεμβράνης και μειώνει την διαπερατότητά της¹³⁰.

Γ. Επιφάνεια ανά λιπίδιο

Η επιφάνεια ανά λιπίδιο δηλώνει την μέση καταλαμβανόμενη επιφάνεια από ένα λιπίδιο στην διπλοστιβάδα. Αν και η καμπυλότητα της μεμβράνης σχετίζεται με την επιφάνεια οργανωμένης συσσωμάτωσης των ομάδων κεφαλών, η επιφάνεια ανά λιπίδιο σχετίζεται με την συσσωμάτωση των λιπιδίων. Όπως το πάχος της διπλοστιβάδας έτσι και η καμπυλότητα, σχετίζεται με την λιπιδική σύσταση, την θερμοκρασία, και κατά συνέπεια την ρευστότητα και την τάξη των λιπιδίων.

Δ. Ρευστότητα και τάξη λιπιδίων

Τα συστατικά των βιολογικών μεμβρανών βρίσκονται σε συνεχή κίνηση. Με τον όρο ρευστότητα δηλώνεται η φυσική κατάσταση της μεμβράνης που επιτρέπει στα συστατικά της να μετακινούνται. Η ρευστότητα ορίζεται ως το αντίστροφο του ιξώδους. Συμβολίζεται με φ (ή F), όπου

$$\varphi = 1 / \mu$$

και μετράται σε $cm \cdot s \cdot g^{-1}$, ή *rhe*.

Στα κύτταρα ζωντανών οργανισμών, η ρευστότητα της μεμβράνης ρυθμίζεται μέσω της χοληστερόλης, της οποίας τα μόρια είναι μικρού μήκους και άκαμπτα, και γεμίζουν τον χώρο μεταξύ των γειτονικών μορίων φωσφολιπιδίων, τα οποία μένουν στους κόμβους των ακόρεστων υδρογονανθρακικών ουρών. Με αυτό τον τρόπο, η χοληστερόλη τείνει να κάνει την διπλοστιβάδα πιο άκαμπτη, και λιγότερο διαπερατή¹³¹.

Η ρευστότητα μπορεί να καθοριστεί από τον συντελεστή πλευρικής διάχυσης των λιπιδίων D_f . Όσο πιο υψηλή η τιμή του συντελεστή πλευρικής διάχυσης, τόσο πιο ρευστή είναι η μεμβράνη. Η ρευστότητα μπορεί επίσης να περιγραφεί μέσω της παραμέτρου τάξης, η οποία είναι μία αδιάστατη ποσότητα που περιλαμβάνει τόσο τον προτιμητέο προσανατολισμό που δηλώνεται μέσω της γωνίας θ , όσο και τις σχετιζόμενες αποκλίσεις από την μέση τιμή: $S = \frac{1}{2} (3 \langle \cos^2 \theta \rangle - 1)$, με τις αγκύλες να δηλώνουν μέση χρονική τιμή. Όταν $S = 0$ σημαίνει ότι τα λιπίδια είναι ατάκτως τοποθετημένα, ενώ αν $S = -0.5$ σημαίνει ότι η μεμβράνη βρίσκεται σε απόλυτη τάξη¹³².

Η κίνηση των μεμβρανικών λιπιδίων και πρωτεϊνών μπορεί να είναι αυθόρμητη ή διευκολυνόμενη από ειδικά ένζυμα. Ο υδρόφοβος πυρήνας της φωσφολιπιδικής διπλοστιβάδας είναι συνεχώς σε κίνηση εξαιτίας των περιστροφών γύρω από τους δεσμούς των λιπιδικών ουρών¹³³. Οι υδρόφοβες ουρές της διπλοστιβάδας κάμπτονται και «κλειδώνουν» μαζί. Ωστόσο, λόγω των δεσμών υδρογόνου με το νερό, οι υδρόφιλες κεφαλές παρουσιάζουν μικρότερη κίνηση καθώς η περιστροφή και η κινητικότητά τους είναι περιορισμένες¹³³. Αυτό οδηγεί σε αύξηση του ιξώδους της λιπιδικής διπλοστιβάδας κοντά στην περιοχή των υδρόφιλων κεφαλών¹³⁴. Κάτω από μία θερμοκρασία μετάβασης, μία λιπιδική διπλοστιβάδα χάνει την ρευστότητά της όταν πολύ κινητικά λιπίδια παρουσιάζουν μικρότερη κινητικότητα με αποτέλεσμα να μεταβαίνουν σε κατάσταση γέλης¹³⁵. Η θερμοκρασία, στην οποία γίνεται αυτή η μετάβαση, εξαρτάται από παράγοντες της λιπιδικής διπλοστιβάδας, όπως είναι το μήκος της αλυσίδας υδρογονανθράκων και ο βαθμός κορεσμού των λιπαρών οξέων. Η ρευστότητα επηρεάζεται και από το πολικό άκρο των λιπιδίων, καθώς και από την παρουσία ιόντων Ca^{2+} και Mg^{2+} που προκαλεί μείωση της ρευστότητας, διότι τα ιόντα αυτά ευνοούν το σχηματισμό ιοντικών δεσμών με τις φωσφορικές ομάδες των φωσφολιπιδίων.

Για όλα τα κύτταρα, η ρευστότητα της μεμβράνης επιτρέπει στις μεμβρανικές πρωτεΐνες να διαχυθούν γρήγορα στο επίπεδο της διπλοστιβάδας και να αλληλεπιδράσουν μεταξύ τους, κάτι το οποίο είναι πολύ σημαντικό, στην διαδικασία της κυτταρικής σηματοδότησης. Επιτρέπει στα λιπίδια των μεμβρανών και τις πρωτεΐνες, να διαχυθούν από περιοχές στις οποίες εισήχθησαν μέσα στην διπλοστιβάδα, μετά την σύνθεσή τους, σε άλλες περιοχές του κυττάρου. Επιτρέπει επίσης στις μεμβράνες να αναμιχθούν μεταξύ τους και με τα μόρια τους, και εξασφαλίζει ότι τα μόρια της μεμβράνης κατανέμονται ομοιόμορφα μεταξύ των κυττάρων που προκύπτουν μετά την κυτταρική διάσπαση.

E. Φάσεις λιπιδίων

Υπάρχουν τρεις φάσεις λιπιδίων. Αυτές είναι:

(α) η *υγρή χωρίς τάξη* φάση L_d , η οποία αποκαλείται και ρευστή ή υγρή κρυσταλλική φάση L_a , και χαρακτηρίζεται από υψηλή ρευστότητα και χαμηλή τάξη (*άτακτη οργάνωση λιπιδίων*). Αυτή είναι η κατάσταση στην οποία βρίσκονται οι καθαρά φωσφολιπιδικές μεμβράνες, όταν είναι σε θερμοκρασία μεγαλύτερη από την θερμοκρασία μετάβασης T_m από κατάσταση γέλης σε υγρή κατάσταση. Η κατάσταση αυτή ευνοείται από λιπίδια με κοντές και είτε κορεσμένες είτε ακόρεστες λιπιδικές αλυσίδες, που περιέχουν διπλούς *cis* δεσμούς.

(β) η *υγρή με τάξη* φάση L_o που χαρακτηρίζεται από υψηλή ρευστότητα και τάξη, και συνήθως εμφανίζεται σε διμερείς και τριμερείς ενώσεις που περιέχουν χοληστερόλη.

(γ) η φάση *γέλης* ή *στερεή κρυσταλλική* φάση S_o ή L_β , που χαρακτηρίζεται από χαμηλή ρευστότητα και υψηλή τάξη. Η κατάσταση αυτή ευνοείται από κορεσμένες και μακριές λιπιδικές αλυσίδες που μπορούν να ευθυγραμμιστούν ώστε να σχηματίσουν ένα κρύσταλλο απόλυτης τάξης, και έχοντας υψηλές τιμές θερμοκρασίας μετάβασης T_m ευνοούν την ύπαρξη της S_o φάσης σε θερμοκρασία δωματίου.

Πειραματικές και θεωρητικές μελέτες έχουν αναφερθεί επανειλημμένα στην επίδραση της θερμοκρασίας και της σύστασης της μεμβράνης στους συντελεστές κατανομής, και κατά συνέπεια στην επίδραση της λιπιδικής φάσης^{136,137}. Πολλοί παράγοντες, όπως η σύσταση της μεμβράνης, η πολικότητα του φαρμάκου και το μέγεθός του, επηρεάζουν την διαπερατότητα της μεμβράνης¹³⁶.

ΣΤ. Λιπιδικές σχεδίες

Οι βιολογικές μεμβράνες δεν είναι ομοιογενείς σε όλη τους την έκταση, αλλά περιέχουν περιοχές διαφορετικής ρευστότητας, με διακριτά όρια σε επίπεδο μακροκλίμακας ή μικροκλίμακας¹³⁸⁻¹⁴⁰. Η διαπίστωση αυτή οδήγησε στην διατύπωση του υποθετικού μοντέλου της *λιπιδικής σχεδίας*¹⁴⁰, σύμφωνα με το οποίο στην πλασματική μεμβράνη διακρίνονται ετερογενείς περιοχές με διακριτά όρια, που αποτελούνται σε μεγάλο ποσοστό από σφιγγολιπίδια και χοληστερόλη, οι οποίες αλληλεπιδρούν κυρίως με φωσφολιπίδια, με αποτέλεσμα την καλύτερη οργάνωση των περιοχών αυτών. Η συγκρότηση των περιοχών αυτών εξαρτάται από διάφορες δυνάμεις, όπως δεσμοί υδρογόνου, υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις και δυνάμεις *van der Waals*¹⁴¹. Η συγκρότηση τέτοιων περιοχών σε επίπεδο νανοκλίμακας, επηρεάζεται και από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως είναι η θερμοκρασία, σύμφωνα με πειράματα που έχουν πραγματοποιηθεί με μοντέλα μεμβρανών σύστασης παρόμοιας με αυτήν της πλασματικής μεμβράνης¹⁴². Επίσης, η προσαρμογή των κυττάρων σε διάφορες θερμοκρασίες, μπορεί να προκαλέσει ταχύτατη μεταβολή του κορεσμού των λιπαρών αλυσίδων και, κατά συνέπεια, της ρευστότητας της μεμβράνης.

Οι λιπιδικές σχεδίες εμφανίζουν σημαντική πολυπλοκότητα και χαρακτηριστικά, που πιθανότατα συνδέονται με φυσιολογικές λειτουργίες όπως είναι η κυτταρική σηματοδότηση, η διακίνηση κυστιδίων, η πρόσφυση και κινητικότητα των κυττάρων, και η είσοδος παθογόνων ιών και βακτηρίων στα κύτταρα. Μελέτες έχουν δείξει ότι η δομή των βιολογικών μεμβρανών και ειδικότερα των λιπιδικών σχεδιών, συνδέεται με νευρολογικά νοσήματα όπως του *Alzheimer*, του *Parkinson*¹⁴³, καθώς και τον καρκίνο¹⁴⁴.

II. 2. 5. Διαμεμβρανική μεταφορά μορίων

Η κυτταρική μεμβράνη είναι ημιπερατή που σημαίνει ότι επιτρέπει σε ορισμένες μόνο ουσίες να εισέρχονται και να εξέρχονται. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της ηλεκτροχημικής βαθμίδωσης που δημιουργείται στα εξωτερικά άκρα της μεμβράνης, λόγω του ηλεκτρικού φορτίου που περιέχει, αλλά και της διαφοράς συγκέντρωσης του εξωτερικού από το εσωτερικό υγρό, με συνέπεια να δημιουργείται διαφορά οσμωτικών πιέσεων.

Η *διάχυση*, χαρακτηρίζεται ως η τάση των μορίων μιας ουσίας να διασπείρονται από περιοχές υψηλότερης συγκέντρωσης προς τις περιοχές μικρότερης συγκέντρωσης. Η τάση αυτή εκδηλώνεται με αντίστοιχη μετακίνηση των μορίων. Αυτό σημαίνει πως η μετακίνηση των μορίων γίνεται και προς τις δύο κατευθύνσεις, με μεγαλύτερο ρυθμό από την περιοχή της υψηλότερης συγκέντρωσης. Κάποια στιγμή οι συγκεντρώσεις εξισώνονται, κάτι το οποίο όμως δεν εμποδίζει την μετακίνηση των μορίων, η οποία συνεχίζεται, αυτή τη φορά, με σταθερό ρυθμό. Η ταχύτητα μετακίνησης των μορίων είναι ανάλογη της διαφοράς συγκεντρώσεων, του φορτίου και του μεγέθους τους. Η διάχυση σταματά όταν τα σωματίδια κατανεμηθούν ομοιόμορφα στις δύο περιοχές και επέλθει κατάσταση ισορροπίας.

Η *διευκολυνόμενη διάχυση* αποτελεί ένα είδος διαμεσολαβούμενης μεταφοράς ουσιών, όπως η γλυκόζη, με τη βοήθεια ειδικών δομικών πρωτεϊνών, που ονομάζονται *μεταφορείς* ή απλώς *φορείς*. Σε αυτή την περίπτωση, η μεταφερόμενη ουσία συνδέεται αρχικά σε μία ειδική θέση του φορέα, που εκτίθεται στη μία πλευρά της μεμβράνης. Εξαιτίας της σύνδεσης αυτής, μεταβάλλεται η στερεοδιαμόρφωση ενός τμήματος του φορέα, με αποτέλεσμα τη μετατόπιση της θέσης, πάνω στην οποία βρίσκεται συνδεδεμένη η ουσία, προς την άλλη πλευρά της μεμβράνης. Η διαδικασία ολοκληρώνεται με την αποδέσμευση της ουσίας από τον φορέα και τη διακίνησή της προς οποιαδήποτε κατεύθυνση. Στην *διευκολυνόμενη διάχυση*, όπως και στην *απλή διάχυση*, η ροή της ουσίας γίνεται από την περιοχή υψηλής συγκέντρωσης προς την περιοχή χαμηλής συγκέντρωσης, μέχρι να εξισορροπηθούν οι συγκεντρώσεις της ουσίας και στις δυο πλευρές της μεμβράνης. Όταν επέλθει ισορροπία στη *διευκολυνόμενη διάχυση*, ο αριθμός των μορίων που δεσμεύονται στην εξωτερική πλευρά της μεμβράνης και απελευθερώνονται στην εσωτερική, είναι ίσος με τον αριθμό των μορίων που δεσμεύονται στην κυτταροπλασματική πλευρά και αποδεσμεύονται στο εξωκυττάριο περιβάλλον.

Η μεταφορά ενός μορίου διαμέσου της μεμβράνης μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε ενεργά είτε παθητικά. Η παθητική μεταφορά είναι εκείνη που πραγματοποιείται με φυσικές διεργασίες, όπως είναι η *διάχυση κατά Fick* και η ηλεκτροστατική αλληλεπίδραση στην περίπτωση που το μεταφερόμενο είδος είναι ηλεκτρικά φορτισμένο, χωρίς να πραγματοποιούνται χημικές αλληλεπιδράσεις. Με αυτό τον τρόπο, η διαμεμβρανική μεταφορά ενοείται από τη μεγάλη κλίση της συγκέντρωσης, και εξαρτάται από το φορτίο του ιόντος και τη διαφορά δυναμικού της μεμβράνης, της

οποίας η τιμή στην ισορροπία καθορίζεται από τις συνεχείς μεταφορές μέσα και έξω από αυτή των διαφόρων ιόντων, αποκτώντας μία μη μηδενική σταθερή διαφορά δυναμικού. Ωστόσο, ο μηχανισμός της παθητικής μεταφοράς είναι αργός και πολλές φορές δεν καταλήγει στο επιθυμητό αποτέλεσμα. Έτσι, υπάρχουν και μεμβρανικές πρωτεΐνες οι οποίες μέσω ειδικών αλληλεπιδράσεων επιτρέπουν τη μεταφορά των διαφόρων ειδών. Ο μηχανισμός αυτός λέγεται *ενεργός μεταφορά*.

Η ενεργός μεταφορά, όπως και η διευκολυνόμενη διάχυση, προαπαιτεί τη σύνδεση της μεταφερόμενης ουσίας με ειδικούς πρωτεϊνικούς φορείς της μεμβράνης. Στην ενεργό μεταφορά καταναλώνεται ενέργεια, προκειμένου να μεταφερθεί μία ουσία από τη μία πλευρά της μεμβράνης στην άλλη, από την περιοχή χαμηλής συγκέντρωσης προς την περιοχή υψηλής συγκέντρωσης. Η ενεργειακή τροφοδοσία του συστήματος αυτού μπορεί να προέρχεται είτε από υδρόλυση του *ATP* (*πρωτογενής μεταφορά*), είτε από τη διαφορά συγκεντρώσεων κάποιου ιόντος στις δύο πλευρές της μεμβράνης και τη συνακόλουθη ροή του από την πλευρά υψηλής συγκέντρωσης προς την πλευρά χαμηλής συγκέντρωσης (*δευτερογενής μεταφορά*).

Το φαινόμενο της διάχυσης περιγράφεται από τους νόμους του *Fick*. Ο πρώτος νόμος, ο οποίος ισχύει για την περίπτωση που η συγκέντρωση δεν εξαρτάται από τον χρόνο, ορίζεται μέσω της σχέσης:

$$J = -D \frac{dC}{dx}$$

όπου, J είναι η ροή, δηλαδή ο αριθμός των γραμμομορίων διαλυτής ουσίας που περνούν μέσα από επιφάνεια A σε χρόνο ενός δευτερολέπτου, D η σταθερά διάχυσης και $\frac{dC}{dx}$ η βαθμίδα συγκέντρωσης, δηλαδή η στιγμιαία τιμή μεταβολής της συγκέντρωσης ως προς την απόσταση. Η σταθερά διάχυσης D , δίνεται από την σχέση του *Einstein*:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi r \eta}$$

όπου: k_B είναι η σταθερά του *Boltzmann*, T η απόλυτη θερμοκρασία, r η ακτίνα του σωματιδίου, και η το ιξώδες. Η σταθερά διάχυσης προκύπτει σε m^2/sec . Στις περιπτώσεις που η συγκέντρωση εξαρτάται από τον χρόνο, ισχύει ο δεύτερος νόμος, που δίνεται από την ακόλουθη σχέση:

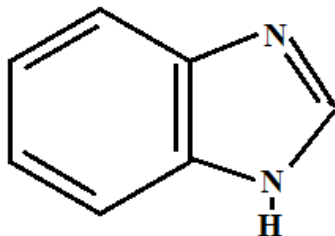
$$\frac{dC}{dt} = D \frac{d^2 C}{dx^2}$$

II. 3. Συστήματα που μελετήθηκαν

Στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήσαμε προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής (*MD*) σε ατομιστικό επίπεδο, για την μελέτη της αλληλεπίδρασης του μεμονωμένου μορίου *2-benzimidazolyl-urea* (*BZIMU*) και ενός συμπλόκου του με χαλκό (*II*) (*CuComplex*) με μοντέλα λιπιδικών διπλοστιβάδων *DPPC* (*dipalmitoyl-phosphatidylcholine*) και *DPPG* (*dipalmitoyl-phosphatidylglycerol*). Ο στόχος μας ήταν να γίνει σύγκριση της διάχυσης των μορίων στις μεμβράνες αξιολογώντας τον προσανατολισμό, την τοποθεσία και την συσσώρευση σε κάθε υπό μελέτη σύστημα. Για αυτό τον λόγο, αξιολογήσαμε επίσης την επίδραση της συγκέντρωσης του μορίου *BZIMU* στον συντελεστή κατανομής σε κάθε μοντέλο μεμβράνης.

II. 3. 1. Παράγωγα *2-benzimidazolyl-urea*

Τα παράγωγα της *2-benzimidazolyl-urea* έχουν κεντρίσει το ενδιαφέρον κατά τα τελευταία χρόνια, λόγω της μεγάλης φαρμακολογικής τους σημασίας, λειτουργώντας ως αντιφλεγμονώδεις, υποτασικοί, αναλγητικοί και αντισυγκεντρωτικοί πράκτορες. Μεταξύ των ετεροκυκλικών φαρμακοφόρων, ο δακτύλιος βενζιμιδαζόλης (*Εικ. 12*) είναι ένα από τα πιο διαδεδομένα συστήματα στην φύση, και είναι παρών σε μόρια σημαντικά για την ζωή των οργανισμών¹⁴⁵.



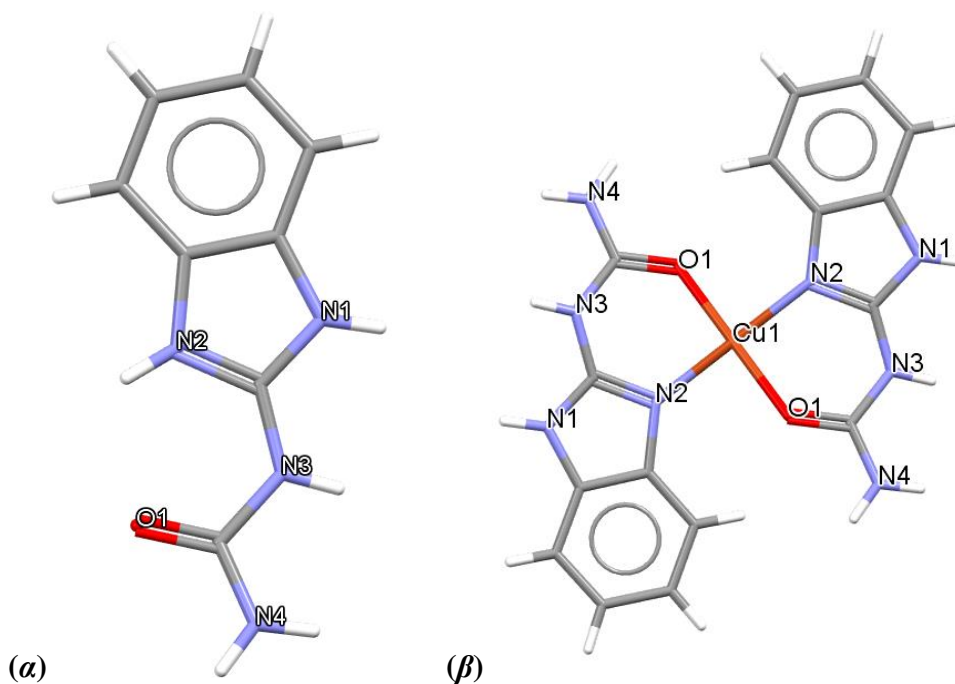
Εικόνα 12: Βενζιμιδαζόλη, C₇H₆N₂

Οι βιοενεργές ενώσεις με πυρήνα βενζιμιδαζόλης είναι ετερογενή μόρια σε δομή και δραστηριότητα. Λόγω των ιδιοτήτων και των ρόλων τους σε διάφορες ασθένειες,

έχει αναπτυχθεί μεγάλο ενδιαφέρον στην χημεία που βασίζεται στην βενζιμιδαζόλη¹⁴⁶⁻¹⁴⁹.

Η προτίμηση των μορίων που περιέχουν δακτύλιο βενζιμιδαζόλης, αναφέρεται στα λιπόφιλα μικροπεριβάλλοντα, που βοηθούν στην μεταφορά του μεταλλικού συμπλόκου στην βιομοριακή διεπιφάνεια λιπιδίων-νερού. Η λιποφιλικότητα ενός μορίου σχετίζεται με την ικανότητά του να διεισδύει στην μεμβράνη μέσω παθητικής διάχυσης, λόγω της διαφοράς δυναμικού κατά μήκος της μεμβράνης, και έχει παρατηρηθεί τόσο για οργανικά μόρια όσο και για μεταλλικά σύμπλοκα¹⁵⁰. Πιο συγκεκριμένα, για την *cisplatin*, που είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη αντικαρκινική ένωση, προτείνεται ότι, τουλάχιστον το 50 % της πρόσληψης του φαρμάκου πραγματοποιείται λόγω παθητικής διάχυσης, ως η μόνη γνωστή μέθοδος μεταφοράς μέσα από την μεμβράνη σε ενεργή μορφή¹⁵¹. Ο συντελεστής κατανομής εξαρτάται κυρίως από την υδροφοβικότητα. Παρ' όλα αυτά, ένα πιθανό φάρμακο πρέπει να είναι αρκετά υδρόφοβο ώστε να βρεθεί μέσα στην λιπιδική διπλοστιβάδα, αλλά ταυτόχρονα όχι πολύ υδρόφοβο ώστε να βρεθεί ξανά έξω από την διπλοστιβάδα. Για αυτό τον λόγο, η κατανομή του φαρμάκου μέσα στην μεμβράνη είναι σημαντική για τον προσδιορισμό του αν μπορεί να χορηγηθεί ένα φάρμακο, και αντιπροσωπεύει την σχετική διαλυτότητα του φαρμάκου στις λιπιδικές διπλοστιβάδες μίας κυτταρικής μεμβράνης και στο υδατικό περιβάλλον της. Αν και η κυτταρική συγκέντρωση μερικώς καθορίζει την βιολογική δραστηριότητα, η σωστή ρύθμιση της λιποφιλικότητας μπορεί να επηρεάσει τον βαθμό δέσμευσης των πρωτεϊνών, την κυτταρική πρόσληψη, την κατανομή των ιστών, την βιοδιαθεσιμότητα και την τοξικότητα¹⁵².

Δύο πρόσφατα παρασκευασμένες ενώσεις, βασιζόμενες σε μέταλλα, του παραγώγου ουρίας *2-benzimidazolyl-urea* (BZIMU) (Εικ. 13(α)), με τύπο $[Ag(TPP)_2(BZIMU)NO_3]$ (TPP = τρι-φένυλο-φωσφίνη) και $\{[Cu(BZIMU)_2](NO_3)_2\}$ (Εικ. 13(β)), δοκιμάστηκαν από την ομάδα μας, για την *in vitro* αντιπολλαπλασιαστική τους δράση εναντίον ανθρώπινων κυττάρων αδενοκαρκινωμάτων^{50,53} και παρουσίασαν σημαντική κυτταροτοξική δραστηριότητα, η οποία επηρεάζεται τόσο από την παρουσία του ιόντος μετάλλου όσο και τον τύπο του.



Εικόνα 13: (α) το μόριο BZIMU, (β) το σύμπλοκο χαλκού (II) που περιέχει δύο μόρια BZIMU (CuComplex) (οι δομές έχουν κατατεθεί στο Κέντρο Κρυσταλλογραφικών Δεδομένων του Cambridge (Cambridge Crystallographic Data Centre; CCDC 72 1517018 και CCDC 73 1517019))

Η αλληλεπίδραση ενός φαρμάκου με τα λιπίδια είναι πολύ σημαντικός παράγοντας λόγω της φαρμακολογικής του δράσης. Με στόχο να αποκτήσουμε καλύτερη γνώση της αλληλεπίδρασης του χαλκού (II) και την επίδραση του προσδέτη στην κυτταρική μεμβράνη, επιλέχθηκαν για την μελέτη συστήματα λιπιδίων *DPPC* (*dipalmitoylphosphatidylcholine*) που είναι μία βιολογική μεμβράνη, και *DPPG* (*dipalmitoylphosphatidylglycerol*) που είναι μία βακτηριδιακή μεμβράνη. Το λιπίδιο *DPPC* είναι ένα φωσφολιπίδιο αποτελούμενο από δύο ομάδες 16 ατόμων άνθρακα παλμιτικού οξέος συνδεδεμένες με μία ομάδα κεφαλής φωσφατιδυλοχολίνης, και είναι το κύριο συστατικό των επιφανειοδραστικών των πνευμόνων, που μειώνουν το έργο της αναπνοής, και αποτρέπουν την φατνιακή κατάρρευση κατά την διάρκεια της αναπνοής. Το λιπίδιο *DPPC* είναι ένα αφόρτιστο διπολικό (*zwitterionic*) λιπίδιο που προσομοιάζει τον όγκο των λιπιδίων των μεμβρανών των ευκαρυωτικών κυττάρων¹⁵³ και, για αυτό τον λόγο, από βιολογικής άποψης, θεωρείται ως το μοντέλο μεμβράνης των κυττάρων των θηλαστικών. Η μεμβράνη των ευκαρυωτικών κυττάρων αποτελείται σχεδόν αποκλειστικά από διπολικά λιπίδια όπως είναι η *phosphatidylcholine*, και εμφανίζεται αφόρτιστη. Από την άλλη μεριά, το λιπίδιο *DPPG* που παρουσιάζεται σε μεμβράνες βακτηρίων, εμφανίζεται να φέρει αρνητικό φορτίο.

Το πιο σημαντικό χαρακτηριστικό μιας βιολογικής μεμβράνης είναι το γεγονός ότι είναι μια δομή επιλεκτικής διαπερατότητας. Αυτό σημαίνει ότι το μέγεθος, το φορτίο και άλλες χημικές ιδιότητες των ατόμων και των μορίων που προσπαθούν να το διαπεράσουν, θα καθορίσουν το εάν θα το επιτύχουν ή όχι. Η επιλεκτική διαπερατότητα είναι σημαντική για τον αποτελεσματικό διαχωρισμό ενός κυττάρου ή οργανιδίου από το περιβάλλον του.

Τα μεταλλικά κατιόντα δεν διεισδύουν εύκολα στην βακτηριακή μεμβράνη των κυττάρων, και στη φύση η συλλογή σημαντικών μεταλλικών ιόντων επιτυγχάνεται μέσω πρωτεϊνών μεταφοράς που τυλίγουν αποτελεσματικά τα κατιόντα σε μία υδρόφοβη «κουβέрта». Το ίδιο αποτέλεσμα μπορεί να επιτευχθεί δημιουργώντας σύμπλοκα με έναν υδρόφοβο συνδέτη όπως οι φαινολικοί δακτύλιοι. Η λιπιδική μεμβράνη που περιβάλλει το βακτηριακό κύτταρο, διευκολύνει τη διέλευση ενώσεων διαλυτών στα λιπίδια, και η επαγόμενη αυξημένη διαλυτότητα λιπιδίων θεωρείται ένας σημαντικός παράγοντας για τον έλεγχο της αντιβακτηριακής δραστηριότητας. Επίσης, όσο συμβαίνει η συμπλοκοποίηση, η οποία περιλαμβάνει διαπερατούς από την μεμβράνη μορφοτροπείς όπως το φαινύλιο, η πολικότητα του μεταλλικού ιόντος μειώνεται σημαντικά λόγω της επικάλυψης των τροχιακών του προσδέτη και της μερικής κατανομής του θετικού φορτίου του μεταλλικού ιόντος με τις ομάδες-δότες, και μία αλλαγή στη θέση των π-ηλεκτρονίων πάνω από τον δακτύλιο στο σύνολό του, οδηγώντας σε αύξηση της λιποφιλικότητας και της ικανότητας του μεταλλικού συμπλόκου να διεισδύει στη λιπιδική μεμβράνη. Αυτή η διαδικασία μπορεί να επιτρέψει στα σύμπλοκα με φαινολικούς δακτυλίους να διεισδύσουν στην κυτταρική μεμβράνη βακτηριακών κυττάρων^{154,155}.

Επειδή οι αρνητικά φορτισμένες κυτταρικές μεμβράνες αποτελούνται από διπλοστιβάδες φωσφολιπιδίων ενσωματωμένες με πρωτεΐνες, θα μπορούσαν εύκολα να συζευχθούν με ιόντα μετάλλου, προσφέροντας έτσι μια βιομιμητική ταυτότητα για την *in vivo* διαδικασία μεταφοράς. Λόγω της δομής της φωσφολιπιδικής διπλοστιβάδας, η κυτταρική μεμβράνη έχει την ικανότητα να μεταφέρει υδρόφοβα φάρμακα μέσα στην λιπιδική στιβάδα¹⁵⁶. Η ειδική δομή της κυτταρικής μεμβράνης επιτρέπει επίσης την αποτελεσματική ενσωμάτωση μικρών μορίων φαρμάκων για την παροχή μιας νέας νανοπλατφόρμας χημειοθεραπείας.

II. 3. 2. Λιπίδια *DPPC* και *DPPG*

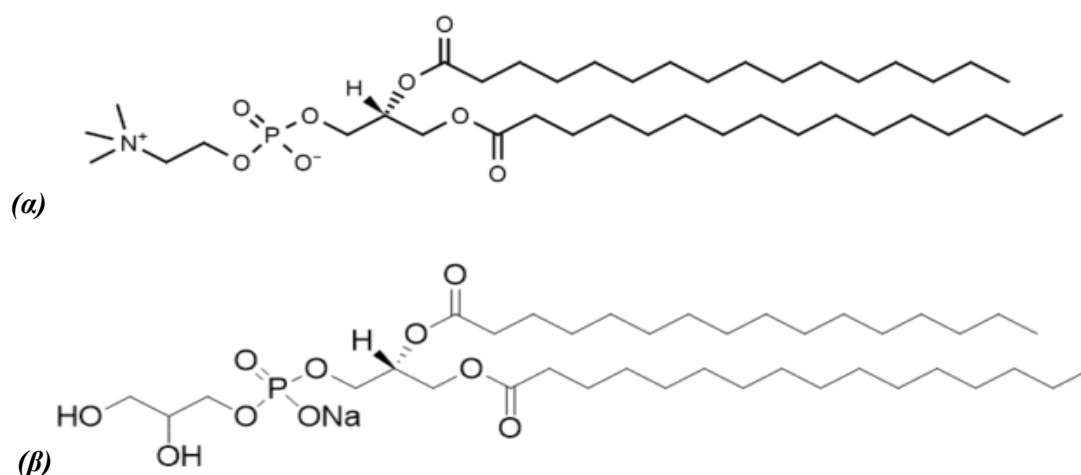
Ο όρος λιπίδια αναφέρεται στην κατηγορία βιομορίων που είναι εύκολα διαλυτά σε μη πολικούς διαλύτες και λιγότερο διαλυτά σε πολικούς. Αν και η μορφή τους ποικίλλει, τα λιπίδια έχουν παρόμοια φυσικοχημική συμπεριφορά. Τα λιπίδια μπορούν να λειτουργήσουν με διάφορους τρόπους: ως αποθήκες ενέργειας, ως δομικά συστατικά των βιολογικών μεμβρανών, ως συμμετέχοντα σε βιοχημικές αντιδράσεις και σε διαδικασίες κυτταρικής σηματοδότησης και ως παράγοντες αντιδράσεων οξειδοαναγωγής.

Τα κύρια λιπίδια που εμπλέκονται στο σχηματισμό βιολογικών μεμβρανών είναι τα φωσφολιπίδια, τα γλυκολιπίδια και η χοληστερόλη. Το πιο κοινό φωσφολιπίδιο είναι το μόριο φωσφατιδυλοχολίνης (*PC*) το οποίο είναι αδιάλυτο σε υδατικά διαλύματα. Τα μόρια των λιπιδίων διατάσσονται σε κοντινές αποστάσεις μεταξύ τους σε επίπεδα φύλλα διπλοστιβάδας για να ελαχιστοποιηθεί η δυσμενής επίδραση μεταξύ του όγκου της υδατικής φάσης και του μεγάλου μήκους των αλυσίδων των λιπαρών υδρογονανθράκων. Τα φωσφολιπίδια που περιέχουν γλυκερίνη είναι από τα πιο κοινά συστατικά που χρησιμοποιούνται για το σχηματισμό λιποσωμάτων, και αντιπροσωπεύουν πάνω από το 50 % του βάρους των λιπιδίων στις βιολογικές μεμβράνες.

Τα μοντέλα μονοστιβάδων στη διεπαφή αέρα-νερού διαφόρων φωσφολιπιδίων έχουν μελετηθεί εκτενώς, προκειμένου να ληφθούν πληροφορίες σχετικά με συγκεκριμένες διεργασίες σε βιολογικά συστήματα. Τα τελευταία χρόνια, οι διαδικασίες που πραγματοποιήθηκαν στο κυψελιδικό στρώμα των πνευμόνων έχουν προκαλέσει μεγάλο ενδιαφέρον. Τα λιπόφιλα μεταλλικά σύμπλοκα έχουν την ικανότητα να διεισδύουν στα κύτταρα μέσω παθητικής διάχυσης, λόγω της διαφοράς δυναμικού κατά μήκος της μεμβράνης¹⁵⁷.

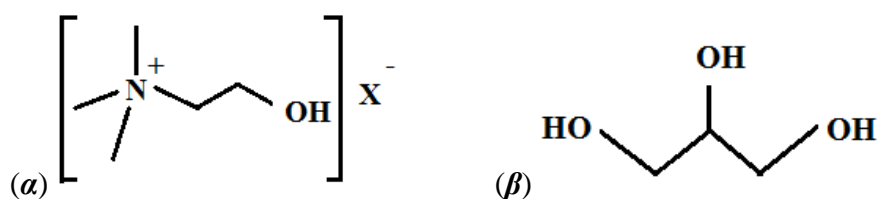
Για καλύτερη κατανόηση αυτής της πολύπλοκης στιβάδας, είναι σημαντικός ο χαρακτηρισμός των ιδιοτήτων των μονοστιβάδων, όπως η θερμοδυναμική, η συμπεριφορά φάσεων, η δομή και η σταθερότητα των σχετικών κύριων φωσφολιπιδίων. Έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος στην κατανόηση των βασικών ιδιοτήτων των μονοστιβάδων του κύριου φωσφολιπιδίου *DPPC* (*dipalmitoyl-phosphatidyl-choline*) (Εικ. 14(α)), ενώ οι αντίστοιχες πληροφορίες για το λιπίδιο *DPPG* (*dipalmitoyl-phosphatidyl-glycerol*) (Εικ. 14(β)), που είναι επίσης ένα πολύ

σημαντικό συστατικό της επιφανειοδραστικής ουσίας του πνεύμονα^{158,159}, δεν είναι ακόμη διαθέσιμες. Για διαφορετικά μη φορτισμένα λιπίδια μεμβράνης, βρέθηκε ότι το σχήμα και η δομή των περιοχών συμπυκνωμένης φάσης, διαφέρουν ανάλογα με τη μοριακή δομή των πολικών κεφαλών των λιπιδίων^{158,159}. Από την άλλη μεριά, υπάρχουν λιγότερες πληροφορίες σχετικά με το αν και πώς οι ιδιότητες μονοστιβάδων *DPPG* προκύπτουν από εκείνες των μη φορτισμένων μονοστιβάδων λιπιδίων.



Εικόνα 14: (α) λιπίδιο *DPPC*, $C_{40}H_{80}NO_8P$, (β) λιπίδιο *DPPG*, $C_{38}H_{74}NaO_{10}P$

Η μεγάλη διαφορά στην χημική δομή των λιπιδίων *DPPC* και *DPPG* είναι στην ομάδα κεφαλής των λιπιδίων. Το λιπίδιο *DPPC* περιλαμβάνει κεφαλή χολίνης, ενώ το *DPPG* κεφαλή γλυκερόλης (Εικ. 15).



Εικόνα 15: (α) Χολίνη, $C_5H_{14}NO$, (β) Γλυκερόλη, $C_3H_8O_3$

(α) Χολίνη

Η χολίνη είναι μια τεταρτοταγής κορεσμένη αμίνη και ένα σημαντικό θρεπτικό συστατικό για τον άνθρωπο¹⁶⁰. Εμφανίζεται ως κατιόν το οποίο σχηματίζει διάφορα άλατα, με το X^- να αντιπροσωπεύει ένα μη-καθορισμένο αντισταθμιστικό ιόν¹⁶¹. Στους περισσότερους οργανισμούς, τα φωσfolιπίδια χολίνης είναι σημαντικά συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών, των μεμβρανών των οργανιδίων των κυττάρων, και πολύ

χαμηλής πυκνότητας λιποπρωτεϊνών¹⁶⁰. Η χολίνη είναι μία οικογένεια υδατοδιαλυτών τετραεδρικών ενώσεων αμμωνίου¹⁶¹. Τα υδατικά διαλύματα χολίνης είναι σταθερά, αλλά η ένωση διασπάται αργά σε *αιθυλενική γλυκόλη*, *πολυαιθυλενικές γλυκόλες* και *τριμεθυλαμίνη*¹⁶². Η πιο σημαντική λειτουργία της, είναι ότι εξυπηρετεί ως πρόδρομος σύνθεσης για άλλα σημαντικά κυτταρικά συστατικά και για την σηματοδότηση μορίων, όπως είναι τα φωσφολιπίδια που σχηματίζουν τις κυτταρικές μεμβράνες, την νευροδιαβιβαστική *ακετυλοχολίνη* και την *τριμεθυλογλυκίνη* που ρυθμίζει την ώσμωση. Με την σειρά της η τριμεθυλογλυκίνη, λειτουργεί ως πηγή μεθυλικών ομάδων, συμμετέχοντας στην βιοσύνθεση της *S-αδενοσυλομεθιονίνης*, που είναι γενικός δότης μεθυλίων που σχετίζεται με την σύνθεση της *ομοκυστεΐνης*^{160,163,164}.

Η χολίνη μετασχηματίζεται σε διάφορα φωσφολιπίδια και σφιγγομυελίνες, που βρίσκονται σε όλες τις κυτταρικές μεμβράνες των περισσότερων κυτταρικών οργανιδίων¹⁶⁵. Οι φωσφατιδυλοχολίνες είναι σημαντικά δομικά συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών. Στον άνθρωπο, το 40-50 % των φωσφολιπιδίων, είναι φωσφατιδυλοχολίνες¹⁶³. Τα φωσφολιπίδια χολίνης, σχηματίζουν επίσης λιπιδικές σχεδίες στις κυτταρικές μεμβράνες, μαζί με την χοληστερόλη. Οι σχεδίες αυτές αποτελούν κέντρα για δέκτες και ένζυμα μεταγωγής σημάτων δεκτών¹⁶⁵.

(β) Γλυκερόλη

Η γλυκερόλη, είναι ένα άχρωμο, άοσμο, υγρό με γλυκιά γεύση. Η κύρια αλυσίδα της γλυκερόλης συναντάται σε λιπίδια, γνωστά ως *γλυκερίδες*. Λόγω του ότι έχει αντιμικροβιακές και αντιακές ιδιότητες, χρησιμοποιείται ευρέως για θεραπεία πληγών και εγκαυμάτων. Λόγω των τριών υδροξυλικών της ομάδων, η γλυκερόλη αναμιγνύεται με το νερό και είναι υγροσκοπική στην φύση¹⁶⁶, δηλαδή μπορεί να λάβει και να διατηρήσει μόρια νερού από το περιβάλλον. Αν και η γλυκερόλη δεν είναι χειρική, σε υποκατεστημένα παράγωγα, η στεροειδική αρίθμηση, δηλώνει το μόριο με το πρόθεμα *sn-* πριν το όνομα του στελέχους του μορίου¹⁶⁷⁻¹⁶⁹. Όπως και η αιθυλενική γλυκόλη, η γλυκερόλη είναι μη-ιοντική ένωση που δημιουργεί ισχυρούς δεσμούς με μόρια νερού, ανταγωνιζόμενη τους δεσμούς υδρογόνου μεταξύ μορίων και νερού. Η γλυκερόλη αποτελεί πρόδρομο σύνθεσης τριακυλογλυκερολών και φωσφολιπιδίων στο ήπαρ και στον λιπώδη ιστό.

II. 4. Υπολογιστικό Μέρος

Ένα πιθανό φάρμακο πρέπει να είναι αρκετά υδρόφοβο ώστε να βρεθεί μέσα στην λιπιδική διπλοστιβάδα, αλλά ταυτόχρονα όχι πολύ υδρόφοβο ώστε να βρεθεί ξανά έξω από την διπλοστιβάδα. Για αυτό τον λόγο, η κατανομή του φαρμάκου μέσα στην μεμβράνη είναι σημαντική και αντιπροσωπεύει την σχετική διαλυτότητα του φαρμάκου στις λιπιδικές διπλοστιβάδες μίας κυτταρικής μεμβράνης και στο υδατικό περιβάλλον της. Η πειραματική διερεύνηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ μεμβράνης και φαρμάκων είναι τόσο δαπανηρή όσο και χρονοβόρα. Οι θεωρητικοί υπολογισμοί προσφέρουν μια πολύτιμη εναλλακτική λύση στα πειράματα, μεταξύ των οποίων μπορεί να χρησιμοποιηθεί η μέθοδος μοριακής δυναμικής για τη διερεύνηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ του φαρμάκου και του μοντέλου μεμβράνης, την εκτίμηση της προτιμώμενης θέσης του, και την πρόβλεψη της διαπερατότητάς του. Η κατανομή των φαρμάκων μπορεί να προβλεφθεί με χρονοβόρες παραδοσιακές μεθόδους μοριακής δυναμικής¹⁷⁰⁻¹⁷³ ή με τη μέθοδο δυναμικού μέσης δύναμης (*Potential of Mean Force, PMF*) που υπολογίζει το προφίλ ελεύθερης ενέργειας ενός φαρμάκου κατά την μετακίνηση κατά μήκος του άξονα συμμετρίας της διπλοστιβάδας^{173, 174}.

Κατά τη διάρκεια των προσομοιώσεων των συστημάτων μεμβράνης-φαρμάκου, προκύπτουν ερωτήματα όπως το αν η στερεοδιάταξη ή ο ιοντικός χαρακτήρας ενός φαρμάκου μπορεί να επηρεάσει τόσο την απορρόφηση όσο και τη διείσδυση του φαρμάκου στη μεμβράνη¹⁷⁴⁻¹⁷⁶. Ένα άλλο ερώτημα είναι το αν η συγκέντρωση του φαρμάκου μπορεί να επηρεάσει την κατανομή του. Επίσης, ο τύπος της μεμβράνης παίζει σημαντικό ρόλο ως το περιβάλλον στο οποίο θα γίνει η κατάτμηση.

Στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήσαμε προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής (*MD*) σε ατομιστικό επίπεδο, για την μελέτη της αλληλεπίδρασης του μεμονωμένου μορίου *2-benzimidazolyl-urea (BZIMU)* και συμπλόκου του με χαλκό (*II*) (*Cu-Complex*), με μοντέλα λιπιδικών διπλοστιβάδων *DPPC (dipalmitoyl-phosphatidylcholine)* και *DPPG (dipalmitoyl-phosphatidylglycerol)*. Ο στόχος μας ήταν να γίνει σύγκριση της διάχυσης των μορίων στις μεμβράνες αξιολογώντας τον προσανατολισμό, την τοποθεσία και την συσσώρευση σε κάθε υπό μελέτη σύστημα. Για αυτό τον λόγο, αξιολογήσαμε επίσης την επίδραση της συγκέντρωσης του μορίου

BZIMU στον συντελεστή κατανομής σε κάθε μοντέλο μεμβράνης. Ακολούθως δίνονται πληροφορίες για τις υπολογιστικές μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν.

II. 4. 1. Κώδικας ώθησης (*pull code*)

Ο κώδικας ώθησης (*pull code*)¹¹⁴ εφαρμόζει δυνάμεις ή περιορισμούς μεταξύ των κέντρων των μαζών ενός ή περισσότερων ζευγών (ομάδων) ατόμων. Κάθε συντεταγμένη αντίδρασης ώθησης λειτουργεί σε δύο ομάδες που ωθούνται. Μία ομάδα που ωθείται μπορεί να είναι μέρος μίας ή περισσότερων συντεταγμένων ώθησης. Επιπλέον, μία συντεταγμένη μπορεί να λειτουργεί σε μία μόνον ομάδα σε απόλυτη θέση αναφοράς στον χώρο. Η απόσταση μεταξύ ενός ζεύγους ομάδων μπορεί να καθοριστεί στις τρεις διαστάσεις μέσω συντεταγμένων ή αναπαρίσταται με διάνυσμα. Η απόσταση αναφοράς μπορεί να είναι σταθερή ή να αλλάζει γραμμικά με τον χρόνο.

Στο υπολογιστικό πακέτο *GROMACS*, η απόσταση αναφοράς μπορεί να είναι σταθερή ή γραμμικά μεταβαλλόμενη με τον χρόνο και υλοποιείται ως:

A. Umbrella pulling: ένα αρμονικό δυναμικό εφαρμόζεται μεταξύ των κέντρων μαζών δύο ομάδων. Έτσι η δύναμη είναι ανάλογη της μετατόπισης.

B. Constraint pulling: Η απόσταση μεταξύ των κέντρων μαζών των δύο ομάδων είναι περιορισμένη ώστε να μην απομακρύνονται το ένα από το άλλο. Η περιοριστική δύναμη μπορεί να γραφεί σε ένα αρχείο. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιεί τον αλγόριθμο *SHAKE*¹¹⁴ αλλά χρειάζεται μόνον μία επανάληψη για να είναι ακριβής, αν περιορίζονται μόνον δύο ομάδες.

Γ. Constant force pulling: Μία σταθερή δύναμη εφαρμόζεται μεταξύ των κέντρων μαζών δύο ομάδων. Για αυτό τον λόγο, το δυναμικό είναι γραμμικό.

II. 4. 2. Αλγόριθμοι ολοκλήρωσης

Η δυναμική ενέργεια είναι μία συνάρτηση των ατομικών θέσεων ($3N$) όλων των ατόμων του συστήματος. Λόγω της πολύπλοκης φύσης της συνάρτησης αυτής, δεν υπάρχει αναλυτική λύση των εξισώσεων κίνησης (*N-body problem*) και πρέπει οι εξισώσεις να λυθούν αριθμητικά. Υπάρχουν πολλοί αριθμητικοί αλγόριθμοι που έχουν αναπτυχθεί για την ολοκλήρωση των εξισώσεων κίνησης. Τέτοιοι αλγόριθμοι, είναι οι αλγόριθμοι *Verlet*, *leap-frog*, *velocity Verlet*, και ο αλγόριθμος του *Beeman*^{114, 177-180}.

Για την επιλογή του κατάλληλου αλγορίθμου, θα πρέπει κανείς να λάβει υπ' όψιν τα εξής: ο αλγόριθμος θα πρέπει να διατηρεί σταθερή την ενέργεια και την ορμή, θα πρέπει να είναι υπολογιστικά συνεπής, και επίσης θα πρέπει να επιτρέπει μεγάλο χρονικό βήμα για ολοκλήρωση. Όλοι οι αλγόριθμοι ολοκλήρωσης υποθέτουν ότι οι θέσεις, οι ταχύτητες και οι επιταχύνσεις μπορούν να προσεγγιστούν μέσω σειράς *Taylor*:

$$r(t + \delta t) = r(t) + u(t)\delta t + \frac{1}{2}a(t)\delta t^2 + \dots$$

$$u(t + \delta t) = u(t) + a(t)\delta t + \frac{1}{2}b(t)\delta t^2 + \dots$$

$$a(t + \delta t) = a(t) + b(t)\delta t + \dots$$

όπου: r είναι η θέση, u είναι η ταχύτητα, a είναι η επιτάχυνση και t ο χρόνος.

A. Αλγόριθμος *Verlet*

Για να παραχθεί ο αλγόριθμος *Verlet*, μπορούμε να γράψουμε:

$$r(t + \delta t) = r(t) + u(t)\delta t + \frac{1}{2}a(t)\delta t^2, \quad r(t - \delta t) = r(t) - u(t)\delta t + \frac{1}{2}a(t)\delta t^2$$

Προσθέτοντας αυτές τις δύο εξισώσεις, έχουμε:

$$r(t + \delta t) = 2r(t) - r(t - \delta t) + a(t)\delta t^2$$

Ο αλγόριθμος *Verlet* χρησιμοποιεί θέσεις και επιταχύνσεις σε χρονική στιγμή t , καθώς και τις θέσεις σε χρονική στιγμή $t-\delta t$ για τον υπολογισμό νέων θέσεων σε χρονική στιγμή $t+\delta t$. Τα πλεονεκτήματα αυτού του αλγορίθμου, είναι ότι είναι άμεσος, και οι απαιτήσεις αποθήκευσης είναι μέτριες. Το μειονέκτημά του είναι ότι έχει μέτρια ακρίβεια διότι δεν υπολογίζονται οι επιμέρους ταχύτητες.

B. Αλγόριθμος *leapfrog*

$$r(t + \delta t) = r(t) + u\left(t + \frac{1}{2}\delta t\right) \delta t$$

$$u\left(t + \frac{1}{2}\delta t\right) = u\left(t - \frac{1}{2}\delta t\right) + a(t)\delta t$$

Σε αυτό τον αλγόριθμο, οι ταχύτητες υπολογίζονται αρχικά την χρονική στιγμή $t + \frac{1}{2}\delta t$, και χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό των θέσεων r την χρονική στιγμή $t+\delta t$. Να σημειωθεί ότι δύο σημαντικά χαρακτηριστικά αυτής της μεθόδου, είναι ότι (α) είναι χρονικά αντιστρεπτή, δηλαδή μπορούμε να ολοκληρώσουμε για n βήματα προς τα μπροστά, και στην συνέχεια να αντιστρέψουμε την ολοκλήρωση για n βήματα προς τα πίσω καταλήγοντας στην αρχική κατάσταση. (β) Το δεύτερο σημαντικό χαρακτηριστικό της, είναι ότι έχει συμπλεκτική φύση, και συνεπώς μπορεί να επιτρέψει σε ορισμένες περιπτώσεις την διατήρηση ενέργειας δυναμικού συστήματος με χρήση μεθόδων *Χαμιλτονιανής* μηχανικής για απλά συστήματα. Το πλεονέκτημα αυτού του αλγορίθμου, είναι ότι οι ταχύτητες υπολογίζονται σαφώς. Ωστόσο, το μειονέκτημα είναι ότι δεν υπολογίζονται την ίδια χρονική στιγμή με τις θέσεις. Οι ταχύτητες την χρονική στιγμή t μπορούν να προσεγγιστούν μέσω της σχέσης:

$$u(t) = \frac{1}{2}\left[u\left(t - \frac{1}{2}\delta t\right) + u\left(t + \frac{1}{2}\delta t\right)\right]$$

Γ. Αλγόριθμος velocity Verlet

Αυτός ο αλγόριθμος αποδίδει θέσεις, ταχύτητες και επιταχύνσεις την χρονική στιγμή t . Μοιάζει με τον αλγόριθμο *leapfrog*, με την διαφορά ότι οι ταχύτητες και οι θέσεις υπολογίζονται για την ίδια χρονική στιγμή. Δεν υπάρχει συμβιβασμός ως προς την ακρίβεια.

$$r(t + \delta t) = r(t) + u(t)\delta t + \frac{1}{2}a(t)\delta t^2$$

$$u(t + \delta t) = u(t) + \frac{1}{2}[a(t) + a(t + \delta t)]\delta t$$

Δ. Αλγόριθμος του Beeman

Αυτός ο αλγόριθμος σχετίζεται στενά με τον αλγόριθμο *Verlet*.

$$r(t + \delta t) = r(t) + u(t)\delta t + \frac{2}{3}a(t)\delta t^2 - \frac{1}{6}a(t - \delta t)\delta t^2 + O(\Delta t^4)$$

Οι ταχύτητες την χρονική στιγμή $t + \delta t$ προβλέπονται από τις θέσεις:

$$u(t + \delta t)_{pred} = u(t) + \frac{3}{2}a(t)\delta t - \frac{1}{2}a(t - \delta t)\delta t + O(\Delta t^3)$$

Οι επιταχύνσεις την χρονική στιγμή $t + \delta t$ υπολογίζονται στην συνέχεια από τις θέσεις και τις ταχύτητες που έχουν προβλεφθεί, ώστε να προκύψουν οι διορθωμένες ταχύτητες:

$$u(t + \delta t)_{cor} = u(t) + \frac{5}{12}a(t + \delta t)\delta t + \frac{2}{3}a(t)\delta t - \frac{1}{12}a(t - \delta t)\delta t + O(\Delta t^3)$$

Όπως φαίνεται από τις σχέσεις, ο όρος τοπικού σφάλματος για τις θέσεις είναι $O(\Delta t^4)$ και για τις ταχύτητες $O(\Delta t^3)$, οδηγώντας σε ένα συνολικό σφάλμα της τάξης $O(\Delta t^3)$, ενώ στον αλγόριθμο *Verlet* το σφάλμα στις θέσεις και τις ταχύτητες είναι της

τάξης $O(\Delta t^2)$. Το μειονέκτημα είναι ότι οι πιο πολύπλοκες εκφράσεις οδηγούν σε πιο ακριβούς υπολογισμούς.

II. 4. 3. Προσδιορισμός του κέντρου μάζας

Στα διάφορα υπολογιστικά πακέτα προσομοιώσεων, υπάρχουν ποικίλοι τρόποι για να καθοριστεί το κέντρο μάζας μιας ομάδας. Ο πιο συνηθισμένος τρόπος, είναι αυτός του «απλού» κέντρου μάζας που μπορεί να περιλαμβάνει και επιπρόσθετους παράγοντες βάρους. Όταν χρησιμοποιούνται περιοδικές συνοριακές συνθήκες, δεν είναι δυνατός ο μοναδικός καθορισμός του κέντρου μάζας μίας ομάδας ατόμων, και για αυτό τον λόγο χρησιμοποιείται ένα άτομο αναφοράς. Για τον καθορισμό του κέντρου μάζας, για όλα τα υπόλοιπα άτομα της ομάδας, χρησιμοποιείται η πλησιέστερη περιοδική απεικόνιση του ατόμου αναφοράς. Με αυτό τον τρόπο, καθορίζεται μοναδικά το κέντρο μάζας. Για συστήματα που περιλαμβάνουν υποστρώματα, για παράδειγμα μία λιπιδική διπλοστιβάδα, είναι δυνατός ο υπολογισμός του δυναμικού μέσης δύναμης του λιπιδίου συναρτήσει της απόστασής του από όλη την διπλοστιβάδα. Στην περίπτωση αυτή, μπορεί να χρησιμοποιηθεί ολόκληρη η διπλοστιβάδα ως ομάδα αναφοράς^{114,177,181}.

Για μία ομάδα μορίων σε ένα περιοδικό σύστημα, μία απλή ομάδα αναφοράς μπορεί να μην είναι καλά καθορισμένη, όπως, για παράδειγμα, σε ένα στρώμα νερού το οποίο συνδέεται περιοδικά στις x , y διευθύνσεις και έχει δύο διεπιφάνειες υγρής-αέριας φάσης κατά μήκος του άξονα z . Σε ένα τέτοιο σύστημα, τα μόρια του νερού μπορούν να εξατμιστούν από το υγρό, και θα μετακινηθούν μέσω του ατμού, διαμέσου του περιοδικού ορίου, στην άλλη διεπιφάνεια. Ένα τέτοιο σύστημα είναι εγγενώς περιοδικό και δεν υπάρχει κατάλληλος τρόπος ορισμού ενός απλού κέντρου μάζας κατά μήκος του άξονα z .

Ας θεωρήσουμε ένα σύστημα N σωματιδίων με συντεταγμένες x_i , και μάζες m_i το κάθε ένα. Τα σωματίδια αυτά αποτελούν μέρος ενός μεγαλύτερου συστήματος, του οποίου το μέγεθος δεν επηρεάζει τον συλλογισμό. Θεωρούμε ότι εφαρμόζουμε ένα δυναμικό $V_u(X)$ ή $V_u(X_1, X_2)$, που ενεργεί στην συντεταγμένη X του κέντρου μάζας ή την απόσταση μεταξύ των κέντρων μάζας. Για τους ακόλουθους υπολογισμούς

εργαζόμαστε σε μία διάσταση (για τις υπόλοιπες διαστάσεις οι υπολογισμοί είναι ανάλογοι). Θεωρούμε ως συντεταγμένη που ελαχιστοποιεί το σταθμισμένο άθροισμα μαζών $X(x)$ ως επιφανειακή συνάρτηση s :

$$\min_x \sum_{i=1}^N m_i s(x_i - X)$$

Για την ελαχιστοποίηση, θα πρέπει να λύσουμε ως προς X την εξίσωση:

$$\sum_{i=1}^N m_i s'(x_i - X) = 0$$

και να γίνει έλεγχος του προσήμου για την δεύτερη παράγωγο. Η δύναμη λόγω του δυναμικού στο σωματίδιο i , είναι:

$$F_i = -\frac{dV_u(X(x))}{dx_i} = -\frac{dV_u(X)}{dX} \frac{d(X(x))}{dx_i}$$

Για τον υπολογισμό της δύναμης F_i , θα πρέπει να υπολογίσουμε την παράγωγο του X ως προς το x_i . Αυτό μπορεί να γίνει αναπτύσσοντας σε πρώτη τάξη την σχέση $\sum_{i=1}^N m_i s'(x_i - X) = 0$ γύρω από το $(x_i - X)$. Ο όρος μηδενικής τάξης του αναπτύγματος είναι 0 εξ ορισμού, οπότε προκύπτει:

$$m_i s''(x_i - X) dx_i - \sum_{j=1}^N m_j s''(x_j - X) dX = 0$$

Συνεπώς, η παράγωγος θα είναι:

$$\frac{dX}{dx_i} = \frac{m_i s''(x_i - X)}{\sum_{j=1}^N m_j s''(x_j - X)} = \frac{m_i w_i}{\sum_{j=1}^N m_j w_j}$$

όπου w_i είναι το βάρος του σωματιδίου i .

Για $s(x) = x^2$ προσδιορίζουμε το κέντρο μάζας. Η εξίσωση $\sum_{i=1}^N m_i s'(x_i - X) = 0$ μπορεί να λυθεί απευθείας, διότι το s' είναι γραμμικό και τα βάρη από την σχέση της παραγώγου του X , με s'' σταθερά είναι ανάλογα των μαζών. Ωστόσο η λύση x^2 δεν είναι περιοδική συνάρτηση. Η πιο απλή επιλογή περιοδικής συνάρτησης για το s , είναι:

$$s(x) = \cos\left(\frac{2\pi x}{l}\right)$$

όπου l είναι το μήκος της περιοδικής μοναδιαίας κυψελίδας.

Με αυτή την επιλογή, η λύση του X , είναι:

$$X = \frac{l}{2\pi} \arctan \left(\frac{\sum_{i=1}^N m_i \sin(2\pi x_i/l)}{\sum_{i=1}^N m_i \cos(2\pi x_i/l)} \right)$$

Στην περίπτωση που δεν εφαρμόσουμε κάποιο δυναμικό στο κέντρο μάζας, μία άλλη επιλογή είναι αυτή του περιορισμένου κέντρου μάζας. Μπορούν να τεθούν περιορισμοί στην *Χαμιλτονιανή* συνάρτηση με την αρχή της ελάχιστης δράσης μέσω ενός πολλαπλασιαστή *Lagrange*. Για τον περιορισμό, απαιτείται επιπλέον η ενεργός μάζα του κέντρου μάζας, η οποία δίνεται από την σχέση:

$$m_X = \frac{(\sum_{i=1}^N m_i w_i)^2}{\sum_{i=1}^N m_i w_i^2}$$

II. 4. 4. Μέθοδος δειγματοληψίας *Umbrella Sampling*

Η μέθοδος *Umbrella Sampling*¹⁸², μπορεί να αντιμετωπίσει την δυναμική διαμορφώσεων συναρτήσει συντεταγμένων αντίδρασης (*reaction coordinates*), και έτσι μπορεί να εκτιμηθεί η σχετική ελεύθερη ενέργεια διαφορετικών καταστάσεων σε σχέση με την πρόοδο μεταξύ μετασταθών καταστάσεων. Σε μία γενική εφαρμογή της μεθόδου *Umbrella Sampling*, παρατίθενται πολλαπλά παράθυρα με αρχικές δομές σε διαφορετικές τιμές συντεταγμένων αντίδρασης. Ένα δυναμικό ώθησης της μορφής:

$$E_{bias} = E_{unbias} + \omega_i(\xi)$$

εφαρμόζεται σε κάθε παράθυρο, όπου το i δηλώνει το αντίστοιχο παράθυρο κατά την διάρκεια του *Umbrella Sampling*, σύμφωνα με μία αρμονική συνάρτηση ώθησης:

$$\omega_i(\xi) = \frac{1}{2} K (\xi - \xi_i)^2$$

όπου $\omega_i(\xi)$ είναι η δυναμική ενέργεια για τον περιορισμό του i -παραθύρου προσομοίωσης, K είναι η σταθερά δύναμης και ξ_i το σημείο αναφοράς της συντεταγμένης. Κατά την διάρκεια των προσομοιώσεων, εάν το σύστημα ξεφύγει από την συντεταγμένη αντίδρασης, τότε ένα δυναμικό ώθησης προστίθεται ώστε να

επαναφέρει το σύστημα. Για αυτό τον λόγο, το σύστημα σε κάθε παράθυρο θα μπορούσε να περιοριστεί ώστε να λαμβάνει δείγματα για ένα στενό χώρο φάσης κατά μήκος της συντεταγμένης αντίδρασης, ώστε να είναι σίγουρη η επικάλυψη της κατανομής δυναμικής ενέργειας μεταξύ κοντινών παραθύρων. Μετά τις προσομοιώσεις, μία μέθοδος μετά την επεξεργασία, η μέθοδος ανάλυσης ζυγισμένων ιστογραφημάτων (*Weighted Histogram Analysis Method (WHAM)*)¹⁸³, μπορεί να εξάγει την ελεύθερη ενέργεια χωρίς την ώθηση μέσω της ολοκλήρωσης τύπου *Umbrella*. Υπάρχουν πολλές μέθοδοι ολοκλήρωσης καθώς και πολλοί τύποι δυναμικών ώθησης, με πιο συχνά χρησιμοποιούμενα, την *WHAM* μέθοδο ολοκλήρωσης και το αρμονικό δυναμικό ώθησης.

Όταν η απόσταση μεταξύ δύο ομάδων αλλάζει συνεχώς, προσφέρεται έργο στο σύστημα, που σημαίνει ότι το σύστημα δεν είναι πλέον σε ισορροπία. Αν και στο όριο της πολύ αργής ώθησης, το σύστημα βρίσκεται ξανά σε ισορροπία, σε πολλά συστήματα το όριο αυτό δεν είναι πάντα εύκολο να επιτευχθεί στα πλαίσια λογικού υπολογιστικού χρόνου. Ωστόσο μπορεί κανείς να χρησιμοποιήσει την εξίσωση του *Jarzynski* για να πετύχει την διαφορά ελεύθερης ενέργειας ΔG μεταξύ δύο αποστάσεων από πολλές προσομοιώσεις καταστάσεων μη-ισορροπίας:

$$\Delta G_{AB} = -k_B T \log \langle e^{-\beta W_{AB}} \rangle_A$$

όπου W_{AB} είναι το προσφερόμενο έργο στο σύστημα κατά μήκος του μονοπατιού από την κατάσταση A στην κατάσταση B , με τις γωνιακές παρενθέσεις να δηλώνουν την μέση τιμή στο κανονικό σύνολο της αρχικής κατάστασης A , και $\beta = 1/k_B T$, όπου k_B είναι η σταθερά του *Boltzmann* και T η απόλυτη θερμοκρασία. Στην παρούσα μελέτη, τα πειράματα προσομοίωσης πραγματοποιήθηκαν σε φυσιολογική θερμοκρασία, 310 K, στην οποία διατηρείται η ρευστότητα των μεμβρανών.

Για τον υπολογισμό της ελεύθερης ενέργειας χωρίς την ώθηση, πρέπει να χρησιμοποιηθεί η χωρίς ώθηση κατανομή της συντεταγμένης αντίδρασης, σύμφωνα με την ακόλουθη εξίσωση:

$$P_i^u(\xi) = \frac{\int \exp[-\beta E(r)] \delta[\xi^r(r) - \xi] d^N r}{\int \exp[-\beta E(r)] d^N r}$$

όπου $\beta = 1/k_B T$. Επίσης, η χωρίς ώθηση πιθανότητα $P_i^u(\xi)$ μπορεί να προσδιοριστεί από την σχέση:

$$P_i^u(\xi) = P_i^b(\xi) \exp[\beta \omega_i(\xi)] \exp[-\beta \omega_i(\xi)]$$

Από την προσομοίωση κάθε παραθύρου, η με ώθηση πιθανότητα $P_i^b(\xi)$ είναι γνωστή, και η ελεύθερη ενέργεια του παραθύρου, μπορεί να εξαχθεί από την σχέση:

$$E_{unbias} = -\left(\frac{1}{\beta}\right) \ln P_i^b(\xi) - \omega_i(\xi) + F_i$$

όπου το F_i είναι μία σταθερά, η οποία μπορεί να υπολογιστεί κάνοντας επαναλήψεις μέχρι την επίτευξη σύγκλισης¹⁸⁴. Άλλωστε, η χωρίς ώθηση ελεύθερη ενέργεια μπορεί να συνδυαστεί από όλα τα παράθυρα για την παραγωγή της συνολικής ελεύθερης ενέργειας κατά μήκος της συντεταγμένης αντίδρασης.

Η ενέργεια δέσμωσης (ΔG_{bind}) προκύπτει από το δυναμικό μέσης δύναμης (PMF) που δίνει την δυνατότητα υπολογισμού της ενέργειας δέσμωσης/αποδέσμωσης, και εξάγεται από μία σειρά προσομοιώσεων δειγματοληψίας τύπου *Umbrella*. Δημιουργείται μία σειρά από αρχικές διαμορφώσεις, με την κάθε μία από αυτές να αντιστοιχεί σε μία τοποθεσία μέσα στην οποία το υπό μελέτη μόριο είναι περιορισμένο αρμονικά με την αυξανόμενη από το κέντρο μάζας του συστήματος (COM) απόσταση από κάποια άλλη ομάδα μέσω ενός δυναμικού ώθησης τύπου *Umbrella*. Αυτός ο περιορισμός επιτρέπει στο μόριο να λάβει δείγματα από τον χώρο διαμόρφωσης σε μία καθορισμένη περιοχή κατά μήκος της συντεταγμένης αντίδρασης που ορίζεται μεταξύ των δύο ομάδων. Τα παράθυρα που προκύπτουν πρέπει να επιτρέπουν ελαφρά επικάλυψη μεταξύ τους για τις θέσεις του μορίου, ώστε να παραχθεί κατάλληλη καμπύλη του δυναμικού μέσης δύναμης. Η ενέργεια ΔG υπολογίζεται από την καμπύλη του δυναμικού μέσης δύναμης, απλά αφαιρώντας από την υψηλότερη τιμή την χαμηλότερη.

Τα βήματα για μία τέτοια διαδικασία, είναι τα εξής: δημιουργία σειράς διαμορφώσεων με χρήση ενός μόνον βαθμού ελευθερίας (*συντεταγμένη αντίδρασης*), (α) εξαγωγή απεικονίσεων που αντιστοιχούν στην επιθυμητή απόσταση από το κέντρο μάζας του συστήματος, (β) πραγματοποίηση προσομοιώσεων δειγματοληψίας τύπου *Umbrella* για κάθε διαμόρφωση για τον περιορισμό τους σε παράθυρα που αντιστοιχούν στην επιλεγμένη απόσταση από το κέντρο μάζας, (γ) χρήση της μεθόδου ανάλυσης σταθμισμένων ιστογραμμάτων (*WHAM*) για την εξαγωγή του δυναμικού μέσης δύναμης και τον υπολογισμό της ενέργειας ΔG_{bind} ¹¹⁴.

Το δυναμικό μέσης δύναμης (*PMF*), δηλώνει το ποσό του έργου που απαιτείται για την μετακίνηση και εγκατάσταση ενός μορίου από την περιοχή υδατικού διαλύματος σε συγκεκριμένο βάθος στην μεμβράνη, και είναι το δυναμικό που προκύπτει με ολοκλήρωση της μέσης δύναμης από ένα σύνολο διαμορφώσεων. Όταν η απόσταση μεταξύ δύο ατόμων ή των κέντρων μάζας δύο ομάδων είναι περιορισμένη (*constrained*), θα υπάρχει μία καθαρά εντροπική συνεισφορά στο δυναμικό μέσης δύναμης, λόγω της περιστροφής των δύο ομάδων¹⁸⁵. Για σύστημα δύο μη-αλληλεπιδρώντων μαζών το δυναμικό μέσης δύναμης δίνεται από την σχέση:

$$U_{PMF}(r) = -(n_c - 1)k_B T \log(r)$$

όπου n_c είναι ο αριθμός των διαστάσεων στις οποίες υπάρχει περιορισμός (για παράδειγμα, είναι $n_c=3$ για φυσιολογικό περιορισμό στην κίνηση, ενώ $n_c=1$ για την περίπτωση που μόνον η z -διεύθυνση είναι περιορισμένη). Κατά τον υπολογισμό δυναμικού μέσης δύναμης για δύο διαλύματα σε διαλύτη, με στόχο την προσομοίωση χωρίς διαλύτη η εντροπική συνεισφορά θα πρέπει να αφαιρείται.

Το προφίλ ελεύθερης ενέργειας μπορεί να υπολογιστεί από την ακόλουθη εξίσωση:

$$\Delta G(z) = -RT \ln P(z) + U(z)$$

όπου, $P(z)$ και $U(z)$ είναι οι κατανομές απόστασης και δυναμικού ώθησης κατά μήκος του άξονα συμμετρίας της διπλοστιβάδας, αντίστοιχα.

II. 4. 5. Παράμετροι δευτερεύουσας τάξης (*Deuterium order parameters*)

Οι παράμετροι δευτερεύουσας τάξης, είναι ένα μέτρο της κινητικής ανισοτροπίας του υπό μελέτη δεσμού $C-D$ και περιέχει τον μέσο χρονικό προσανατολισμό του ως προς τον άξονα συμμετρίας της διπλοστιβάδας, ο οποίος είναι συνήθως ο άξονας z σε μια προσομοίωση μεμβράνης, και υπολογίζεται κατά μέσο όρο σε όλα τα λιπίδια και σε όλο το χρόνο δειγματοληψίας^{186, 187} σύμφωνα με την εξίσωση:

$$S_{CD} = \langle 3\cos^2\theta - 1 \rangle / 2$$

Στην εξίσωση αυτή, θ είναι η γωνία μεταξύ του φορέα του δεσμού $C-D$ και του άξονα της διπλοστιβάδας. Οι γωνιακές αγκύλες αντιπροσωπεύουν χρονικούς μέσους όρους συνόλου. Το προφίλ τάξης της λιπιδικής διπλοστιβάδας δείχνει την μεταβολή της παραμέτρου S_{CD} με την θέση του δείγματος στην αλυσίδα, και είναι μία έκφραση των μέσων γωνιακών διακυμάνσεων γύρω από τον άξονα συμμετρίας της διπλοστιβάδας. Με τον υπολογισμό των παραμέτρων δευτερεύουσας τάξης, μπορεί να διαπιστωθεί αν η μεμβράνη έχει περάσει σε κατάσταση γέλης κατά την διάρκεια της προσομοίωσης.

Υπάρχουν πολλά διαθέσιμα εργαλεία και προγράμματα για την εκτέλεση μιας τέτοιας ανάλυσης του S_{CD} σε συστήματα με όλα τα άτομα. Το υπολογιστικό πακέτο *GROMACS*, χρησιμοποιεί την υπορουτίνα *gmx order*. Αξίζει να σημειωθεί εδώ ότι τα περισσότερα από αυτά τα εργαλεία ανάλυσης υπολογίζουν αυτόματα τον μέσο όρο των παραμέτρων τάξης για τα διαφορετικά άτομα υδρογόνου που συνδέονται με το ίδιο άτομο άνθρακα. Στις περισσότερες περιπτώσεις αυτό έχει μικρή διαφορά καθώς η γρήγορη περιστροφή γύρω από τον άξονα συμμετρίας προς το επίπεδο $H-C-H$ έχει ως αποτέλεσμα την πειραματική ισοδυναμία των δύο παραμέτρων τάξης^{186,188}. Ωστόσο, υπάρχουν ορισμένα παραδείγματα στα οποία πραγματοποιείται διάσπαση ή διακλάδωση, δηλαδή διαφορά στις παραμέτρους σειράς, μεταξύ τέτοιων ατόμων υδρογόνου, για παράδειγμα στον άνθρακα 2 σε φωσφολιπιδικές αλυσίδες *sn-2*^{188,189}. Επιπλέον, η υιοθέτηση μιας τέτοιας προσέγγισης υπολογισμού του μέσου όρου θα αποκρύψει, τυχόν πιθανή ακύρωση σφαλμάτων στις προσομοιώσεις λόγω του μέσου όρου.

II. 4. 6. Μέση τετραγωνική μετατόπιση (*Mean Squared Displacement, MSD*) και τετραγωνική ρίζα μέσης τετραγωνικής μετατόπισης (*Root Mean Squared Displacement, RMSD*)

Στην στατιστική μηχανική, η μέση τετραγωνική μετατόπιση (MSD)¹¹⁴, είναι το μέτρο της μεταβολής της θέσης ενός σωματιδίου σε σχέση με μία θέση αναφοράς με την πάροδο του χρόνου. Είναι το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο μέτρο της χωρικής έκτασης της τυχαίας κίνησης, και μπορεί να θεωρηθεί ως μέτρηση του τμήματος ενός συστήματος από τυχαίο παρατηρητή. Η μέση τετραγωνική μετατόπιση μετράται με την

πάροδο του χρόνου για τον καθορισμό της αυτόνομης μετακίνησης ενός σωματιδίου λόγω διάχυσης ή λόγω άσκησης επιπρόσθετης συνιστώσας δύναμης και την χρονική στιγμή t ορίζεται ως:

$$MSD \equiv \langle |\mathbf{x}(t) - \mathbf{x}_0|^2 \rangle = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |\mathbf{x}^{(i)}(t) - \mathbf{x}^{(i)}(0)|^2$$

όπου N είναι ο αριθμός των σωματιδίων, το διάνυσμα $\mathbf{x}^{(i)}(0) = \mathbf{x}_0^{(i)}$ είναι το διάνυσμα θέσης αναφοράς του i -σωματιδίου, και το διάνυσμα $\mathbf{x}^{(i)}(t)$ είναι το διάνυσμα θέσης του i -σωματιδίου την χρονική στιγμή t ¹⁹⁰.

Η τετραγωνική ρίζα μέσης τετραγωνικής μετατόπισης (*RMSD*) συγκεκριμένων ατόμων σε ένα μόριο σε σχέση με μία δομή αναφοράς, μπορεί να υπολογιστεί μέσω του εργαλείου *gmx rms* του υπολογιστικού πακέτου *GROMACS* με την μέθοδο παλινδρόμησης της υπό μελέτης δομής σε σχέση με την δομή αναφοράς ($t_2=0$). Το *RMSD* προκύπτει από την σχέση:

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

όπου $M = \sum_{i=1}^N m_i$ και $\mathbf{r}_i(t)$ είναι η θέση του ατόμου i την χρονική στιγμή t .

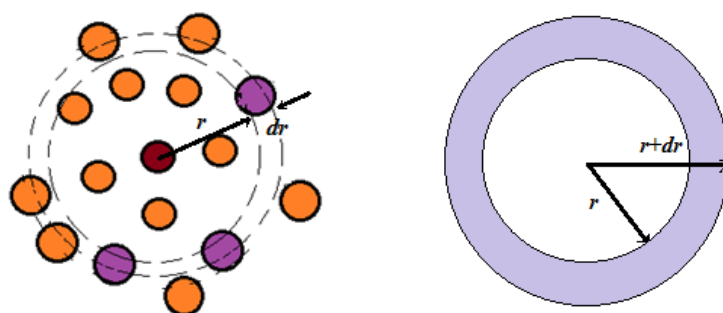
II. 4. 7. Συνάρτηση ακτινικής κατανομής (*Radial Distribution Function, RDF*)

Η συνάρτηση ακτινικής κατανομής (*RDF*)¹¹⁴ $g(r)$, σε ένα σύστημα σωματιδίων, περιγράφει τον τρόπο με τον οποίο ποικίλει η πυκνότητα ως συνάρτηση της απόστασης από ένα σωματίδιο αναφοράς. Είναι μία συνάρτηση που συνδέεται άμεσα με την οργάνωση ενός μορίου σε ένα διάλυμα γύρω από ένα σημείο. Ισούται με τον λόγο της τοπικής αριθμητικής πυκνότητας συγκεκριμένων ατόμων, προς την τοπική αριθμητική πυκνότητα των ατόμων αυτών σε καθαρό διάλυμα αντίστοιχα, και αποτελεί ένα μέτρο της πιθανότητας να βρεθεί ένα σωματίδιο σε απόσταση r μακριά από το σημείο αναφοράς.

$$g(r) = \frac{\rho(r)}{\rho_\infty} \quad , \quad \rho_\infty = \lim_{r \rightarrow \infty} \rho(r)$$

όπου: r η απόσταση από το σημείο αναφοράς, και ρ η αριθμητική πυκνότητα επιλεγμένων ατόμων/μορίων σε απόσταση r από το σημείο αναφοράς.

Εάν ένα σωματίδιο θεωρηθεί ότι βρίσκεται στην θέση O , και εάν $\rho = N/V$ είναι ο μέσος αριθμός πυκνότητας των σωματιδίων, τότε η χρονική μέση τιμή της τοπικής πυκνότητας σε απόσταση r από το O , είναι $\rho g(r)$. Αυτός ο απλοποιημένος ορισμός, ισχύει για ομογενή και ιστροπικά συστήματα. Στην παρακάτω εικόνα (Εικ. 16) φαίνεται σχηματικά η απόσταση μελέτης για την συνάρτηση ακτινικής κατανομής μεταξύ σωματιδίων. Ο γενικός αλγόριθμος περιλαμβάνει τον καθορισμό του αριθμού των σωματιδίων που βρίσκονται σε απόσταση r και $r+dr$ από το σημείο αναφοράς.



Εικόνα 16: Σχηματική αναπαράσταση της απόστασης μελέτης για την συνάρτηση ακτινικής κατανομής μεταξύ σωματιδίων. Στο αριστερό σχήμα, το κόκκινο σωματίδιο είναι το σωματίδιο αναφοράς, και τα μωβ είναι αυτά των οποίων τα κέντρα βρίσκονται μέσα στο κυκλικό κέλυφος.

Η συνάρτηση ακτινικής κατανομής μεταξύ σωματιδίων τύπων A και B ορίζεται σύμφωνα με την ακόλουθη σχέση:

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

όπου $\langle \rho_B(r) \rangle$ είναι η πυκνότητα του σωματιδίου τύπου B σε απόσταση r γύρω από τα σωματίδια τύπου A , και $\langle \rho_B \rangle_{local}$ είναι η πυκνότητα του σωματιδίου τύπου B ως μέση τιμή όλων των σφαιρών γύρω από τα σωματίδια τύπου A σε ακτίνα r_{max} .

III. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ ΚΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

III. 1. Μέθοδοι

Εφαρμόσαμε μία συνδυαστική προσέγγιση για την μελέτη της αλληλεπίδρασης κάθε μορίου με κάθε μοντέλο μεμβράνης. Αρχικά, πραγματοποιήσαμε προσομοίωση μοριακής δυναμικής χωρίς περιορισμούς, με τα μόρια να βρίσκονται στο πολικό τμήμα κάθε διπλοστιβάδας. Η προσομοίωση αναλύθηκε ενεργειακά με όρους προτιμητέας θέσης των μορίων, και πώς αυτή επηρεάζει τις ιδιότητες της κάθε διπλοστιβάδας. Στην συνέχεια εφαρμόσαμε την μέθοδο δειγματοληψίας τύπου *Umbrella* (*Umbrella Sampling*) για την παραγωγή των κατανομών των πιθανών θέσεων των υπό μελέτη μορίων, προσφέροντας ώθηση κατά μήκος του άξονα της διπλοστιβάδας. Η μέθοδος αυτή παρείχε το προφίλ ελεύθερης ενέργειας δηλώνοντας τα ενεργειακά σύνορα στο μονοπάτι μετακίνησης. Στην συνέχεια, αναλύσαμε τις δυναμικές και δομικές μεταβολές κατά την διάρκεια αυτής της διαδικασίας. Επίσης μελετήσαμε την δυναμική συμπεριφορά 15 μορίων *2-benzimidazolyl-urea* (*15BZIMU*) τυχαία τοποθετημένων στην διεπιφάνεια νερού-μεμβράνης, για την αξιολόγηση της επίδρασης της συγκέντρωσης στην κατανομή μέσα στην μεμβράνη, χρησιμοποιώντας την μέθοδο περιορισμού στον άξονα-z.

Η λιπιδική διπλοστιβάδα *DPPC*, αποτελούμενη από 128 λιπίδια, μοντελοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το πεδίο δυνάμεων *GROMOS-53A6* με μία τροποποιημένη έκδοση των παραμέτρων *53A6* ώστε να περιλαμβάνουν και τα λιπίδια *Berger*. Η μεμβράνη *DPPG* προήλθε από το μοντέλο της *DPPC* μεμβράνης αντικαθιστώντας κατάλληλα την ομάδα χολίνης με γλυκερόλη και προσθέτοντας 128 άτομα Na^+ ώστε το σύστημα να είναι αφόρτιστο, διότι το λιπίδιο *DPPG* φέρει αρνητικό φορτίο. Χρησιμοποιήθηκε το ίδιο σύνολο παραμέτρων. Οι ρυθμίσεις πλήρους ενυδάτωσης χρησιμοποιήθηκαν με αναλογίες περίπου 30:1 μόρια νερού ανά λιπίδιο. Το κουτί προσομοίωσης είχε μέσες διαστάσεις 6.8 nm σε x και y διάσταση για όλα τα συστήματα, και 5.5 nm στην z-διάσταση για τα συστήματα με μεμονωμένα μόρια *BZIMU* και *CuComplex* (σύμπλοκο

δύο μορίων *BZIMU* με χαλκό (*II*), ενώ 6.4 nm για τα συστήματα *DPPC-15* μόρια *BZIMU* και *DPPG-15* μόρια *BZIMU*, λόγω περιοδικών συνοριακών συνθηκών.

Ο διακομιστής *Dundee PRODRG*¹⁹¹, βασιζόμενος στο πεδίο δυνάμεων *GROMOS*, χρησιμοποιήθηκε για τη δημιουργία των απαραίτητων αρχείων τοπολογίας και συντεταγμένων, που χρησιμοποιήθηκαν ως αρχεία εισόδου για το υπολογιστικό πακέτο *GROMACS*. Χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος ηλεκτροστατικής *Particle Mesh Ewald* (*PME*) με πραγματικό κατώφλι αποκοπής *Coulomb* 1.4 nm , και με κατώφλι αποκοπής 1.4 nm και για τις αλληλεπιδράσεις *van der Waals*. Οι δεσμοί περιορίστηκαν με χρήση του αλγορίθμου *LINCS* (*Linear Constraint Solver*), ο οποίος είναι ένας αλγόριθμος γραμμικής επίλυσης με σκοπό την ενημέρωση των διανυσμάτων θέσης των ατόμων ώστε να ληφθούν υπόψη οι περιορισμοί. Τα μερικά φορτία για τα μόρια, υπολογίστηκαν με χρήση της μεθόδου *Hartree-Fock* με σύνολο βάσης *6-31G**. Τα μόρια νερού μοντελοποιήθηκαν σύμφωνα με το μοντέλο νερού *TIP3P*, παρέχοντας συμβατότητα με τις παραμέτρους των μορίων των λιπιδίων. Το μοντέλο νερού *TIP3P* (*Transferable Intermolecular Potential with 3 Points*), περιλαμβάνει τρία σημεία αλληλεπίδρασης ανά μόριο νερού, όλα τα μήκη και όλες οι γωνίες είναι σε ισορροπία και δεν επιτρέπονται ταλαντώσεις τους, και λαμβάνονται υπόψη μόνον οι μη-δεσμικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μορίων νερού. Η μερική πυκνότητα εκτιμήθηκε με την υπορουτίνα *gmx density* του υπολογιστικού πακέτου *GROMACS*, η οποία υπολογίζει την πυκνότητα ως συνάρτηση των στρωμάτων κατά μήκος του άξονα *z*, παράγοντας έναν διπλασιασμό ιστογράμματος πυκνότητας σε σχέση με το κέντρο, σε απόλυτες συντεταγμένες κουτιού.

Ακολουθούν πίνακες με τα άτομα των μορίων *BZIMU* (Πίνακας 2) και *CuComplex* (Πίνακας 3) με τους τύπους τους σύμφωνα με το πεδίο δυνάμεων *gromos53a6_lipid/ff*, τις μάζες και τα φορτία τους όπως προέκυψαν με χρήση του υπολογιστικού πακέτου *Gaussian03*.

Πίνακας 2: Τα άτομα του μορίου BZIMU με τους τύπους τους σύμφωνα με το πεδίο δυνάμεων *gromos53a6_lipid/ff*, τις μάζες και τα φορτία τους σύμφωνα με το υπολογιστικό πακέτο *Gaussian03*.

<i>Άτομο</i>	<i>Τύπος ατόμου</i>	<i>Μάζα (a.m.u.)</i>	<i>Φορτίο (e)</i>
1	<i>N1</i>	14.0067	-0.84041
2	<i>H</i>	1.008	0.38426
3	<i>C</i>	12.011	0.27688
4	<i>CH</i>	12.011	-0.23863
5	<i>HC</i>	1.008	0.2489
6	<i>CH</i>	12.011	-0.23698
7	<i>HC</i>	1.008	0.23358
8	<i>CH</i>	12.011	-0.24001
9	<i>HC</i>	1.008	0.23189
10	<i>CH</i>	12.011	-0.23991
11	<i>HC</i>	1.008	0.23995
12	<i>C</i>	12.011	0.26326
13	<i>N2</i>	14.0067	-0.82539
14	<i>H</i>	1.008	0.31503
15	<i>CH</i>	13.019	0.72561
16	<i>N3</i>	14.0067	-0.88675
17	<i>H</i>	1.008	0.34247
18	<i>C</i>	12.011	1.0698
19	<i>O</i>	15.9994	-0.64684
20	<i>N4</i>	14.0067	-0.86602
21	<i>H</i>	1.008	0.35916
22	<i>H</i>	1.008	0.33016

Πίνακας 3: Τα άτομα του μορίου *CuComplex* με τους τύπους τους σύμφωνα με το πεδίο δυνάμεων *gromos53a6_lipid/ff*, τις μάζες και τα φορτία τους σύμφωνα με το υπολογιστικό πακέτο *Gaussian03*.

<i>Άτομο</i>	<i>Τύπος ατόμου</i>	<i>Μάζα (a.m.u.)</i>	<i>Φορτίο (e)</i>
1	<i>N4</i>	14.0067	-0.64622
2	<i>H</i>	1.008	0.29809
3	<i>H</i>	1.008	0.27599
4	<i>CH</i>	13.019	0.69897
5	<i>O1</i>	15.9994	-0.72681
6	<i>N3</i>	14.0067	-0.79231
7	<i>H</i>	1.008	0.33569
8	<i>CH</i>	13.019	0.91236
9	<i>N1</i>	14.0067	-0.84059
10	<i>C</i>	12.011	0.26597
11	<i>CH</i>	12.011	-0.19769
12	<i>HC</i>	1.008	0.27208
13	<i>CH</i>	12.011	-0.23694
14	<i>HC</i>	1.008	0.25987
15	<i>CH</i>	12.011	-0.21507
16	<i>HC</i>	1.008	0.26129
17	<i>CH</i>	12.011	-0.21415
18	<i>HC</i>	1.008	0.25724
19	<i>C</i>	12.011	0.33462
20	<i>N2</i>	14.0067	-0.5935
21	<i>CU1</i>	63.546	1.20203
22	<i>O1</i>	15.9994	-0.71895
23	<i>N2</i>	14.0067	-1.03475
24	<i>C</i>	12.011	0.28676
25	<i>CH</i>	12.011	-0.24599
26	<i>HC</i>	1.008	0.2353
27	<i>CH</i>	12.011	-0.24742

<i>Άτομο</i>	<i>Τύπος ατόμου</i>	<i>Μάζα (a.m.u.)</i>	<i>Φορτίο (e)</i>
28	<i>HC</i>	1.008	0.2352
29	<i>CH</i>	12.011	-0.23247
30	<i>HC</i>	1.008	0.24048
31	<i>CH</i>	12.011	-0.23376
32	<i>HC</i>	1.008	0.24107
33	<i>C</i>	12.011	0.32975
34	<i>NI</i>	14.0067	-0.62978
35	<i>CHI</i>	13.019	0.91685
36	<i>N3</i>	14.0067	-0.79375
37	<i>H</i>	1.008	0.30811
38	<i>CH</i>	13.019	0.50768
39	<i>N4</i>	14.0067	-0.65537
40	<i>H</i>	1.008	0.29407
41	<i>H</i>	1.008	0.28605

III. 2. Εξισορρόπηση συστημάτων

Οι αρχικές δομές των διαμορφώσεων που επιλέχθηκαν για την παρούσα διατριβή, δεν ήταν κατάλληλες από την αρχή για άμεση προσομοίωση με σύνολο *NVT* καθώς προέκυψαν από κρυσταλλογραφικά δεδομένα. Για αυτό τον λόγο, πραγματοποιήθηκε ελαχιστοποίηση ενέργειας μετά την τοποθέτησή τους στο κουτί μελέτης, χρησιμοποιώντας τον αλγόριθμο *steepest-descent* 10^5 βημάτων. Η διάρκεια της διαδικασίας ελαχιστοποίησης ενέργειας των συστημάτων διέφερε χρονικά, ανάλογα με την πολυπλοκότητα του συστήματος. Πιο συγκεκριμένα, στα συστήματα με διπλοστιβάδα *DPPC* η ελαχιστοποίηση ενέργειας διήρκεσε περίπου 4 ns για την διπλοστιβάδα χωρίς εισαγωγή μορίου, ενώ από 0.3 έως 0.8 ns για τα συστήματα με τα υπό μελέτη μόρια. Στην περίπτωση των συστημάτων με διπλοστιβάδα *DPPG*, η διάρκεια της ελαχιστοποίησης ήταν περίπου 25 ns για την διπλοστιβάδα χωρίς εισαγωγή μορίου, ενώ από 17 έως 40 ns για τα συστήματα με τα υπό μελέτη μόρια. Οι δομές που προέκυψαν εξισορροπήθηκαν στην συνέχεια μέσω προσομοίωσης συνόλου *NVT* για 20 ns σε θερμοκρασία 310 K χρησιμοποιώντας περιοδικές συνοριακές συνθήκες σε όλες τις διευθύνσεις. Αυτές οι γενικές παράμετροι χρησιμοποιήθηκαν σε όλες τις προσομοιώσεις εξισορρόπησης και παραγωγής μοριακής δυναμικής, και για όλα τα συστήματα. Η ολοκλήρωση των εξισώσεων κίνησης πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας αλγόριθμο *leapfrog* (*GROMACS integrator md*). Οι αρχικές ταχύτητες τέθηκαν τυχαία από κατανομή *Maxwell* για την δεδομένη θερμοκρασία. Για να διατηρηθεί η μεμβράνη στο κέντρο του κουτιού προσομοίωσης, η κίνηση του κέντρου μάζας αφαιρούνταν σε κάθε βήμα της εξισορρόπησης. Οι ακόλουθες επιλογές ελήφθησαν υπόψη:

- (α) Επιλέχθηκε χρονικό βήμα 5 fs για καλύτερη σταθεροποίηση της ενέργειας.
- (β) Κατώφλι αποκοπής 1.4 nm για τις αλληλεπιδράσεις *van der Waals* και *Coulomb*.
- (γ) Η μέθοδος *Particle-Mesh Ewald (PME)* για τον υπολογισμό των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων.

Για αύξηση της υπολογιστικής απόδοσης χρησιμοποιήθηκαν στην μέθοδο *PME*, απόσταση πλέγματος (*grid spacing*) τάξης 0.16 και σειρά παρεμβολής (*interpolation order*) τάξης 4, που είναι οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες τιμές καθώς είναι οι πιο

αποδοτικές σε παράλληλους υπολογισμούς. Σε όλες τις εξισορροπήσεις χρησιμοποιήθηκε τροποποιημένος θερμοστάτης κλιμάκωσης ταχυτήτων *Berendsen* σε θερμοκρασία 310 K με σταθερά σύζευξης (*coupling constant*) 2 *picoseconds* (*ps*) λόγω της αποδοτικότητάς του, και επίσης, επειδή δίνει καλή περιγραφή του θερμοδυναμικού συνόλου. Τα μόρια, καθώς και τα λιπίδια μαζί με τα μόρια νερού και τα ιόντα Na^+ στην περίπτωση της *DPPG* μεμβράνης, είχαν ξεχωριστές ομάδες για την θερμοκρασιακή σύζευξη. Οι προκύπτουσες διαμορφώσεις χρησιμοποιήθηκαν ως δομές εισόδου για τις προσομοιώσεις *NPT* για επιπλέον 20 *ns*. Οι παράμετροι προσομοίωσης ήταν σχεδόν ίδιες με εκείνες των προσομοιώσεων *NVT*. Η διαφορά ήταν ότι προστέθηκε παράμετρος ισοτροπικής σύζευξης πίεσης. Χρησιμοποιήθηκε βαροστάτης *Berendsen* για την εξισορρόπηση των συστημάτων, με σύνολο *NPT*, με πίεση αναφοράς 1 *bar*, σταθερά σύζευξης 2 *ps* και συμπιεστότητα $4.5 \times 10^{-5} \text{ bar}^{-1}$. Για την δειγματοληψία τύπου *Umbrella*, χρησιμοποιήθηκαν οι ίδιες παράμετροι με διαφορά στον βαροστάτη, που στην προκειμένη περίπτωση επιλέχθηκε ανισοτροπικός βαροστάτης *Parrinello-Rahman*, ο οποίος θεωρείται πιο κατάλληλος για μελέτη κίνησης διαμέσου μεμβράνης, διότι επιτρέπει αλλαγές τόσο στο μέγεθος όσο και στο σχήμα του κουτιού μελέτης.

Έπειτα από τις προσομοιώσεις *NPT*, οι καταστάσεις των εξισορροπημένων συστημάτων μελετήθηκαν με χρήση των εργαλείων ανάλυσης *gmx energy* του υπολογιστικού πακέτου *GROMACS*. Έτσι διερευνήθηκε η ελαχιστοποίηση της δυναμικής ενέργειας, και οι διακυμάνσεις θερμοκρασίας και πίεσης.

III. 2. 1. Συστήματα με διπλοστιβάδα *dipalmitoyl-phosphatidyl-choline* (DPPC)

Παρατίθενται πίνακες με την αναλογία μορίων νερού-λιπιδίων που χρησιμοποιήθηκε για την ενυδάτωση κάθε συστήματος (Πίνακας 4), καθώς και οι σημαντικότερες ιδιότητες των συστημάτων, όπως είναι το πάχος της μεμβράνης και η επιφάνεια ανά λιπίδιο (Πίνακας 5).

Πίνακας 4: Αναλογία μορίων νερού-λιπιδίων για κάθε σύστημα με διπλοστιβάδα DPPC που μελετήθηκε.

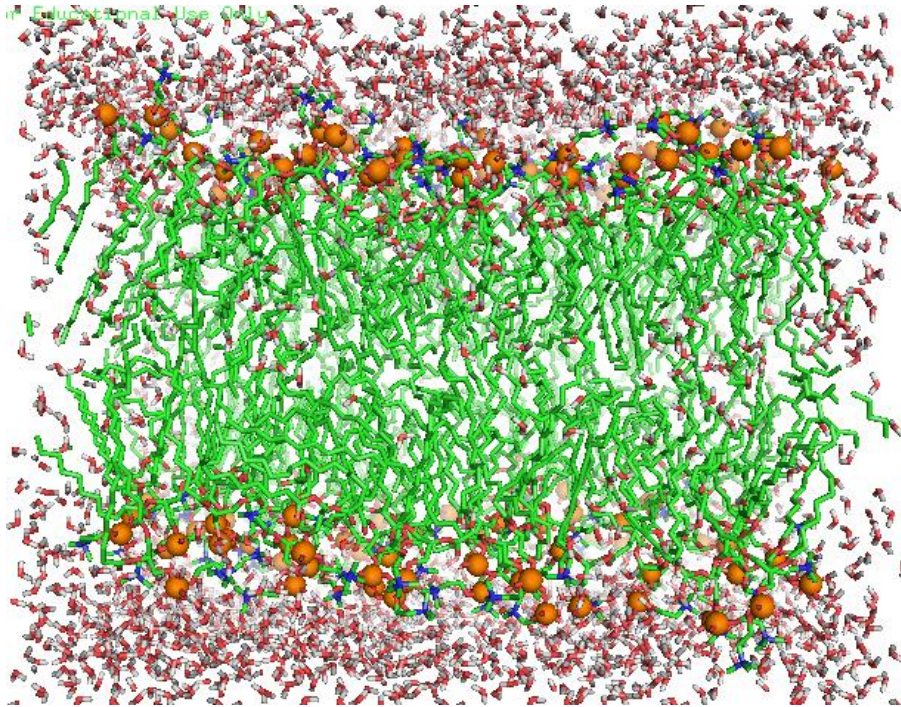
<i>Σύστημα</i>	<i>Αναλογία μορίων νερού-λιπιδίων</i>
<i>DPPC</i>	3036:128
<i>DPPC +BZIMU</i>	3037:128
<i>DPPC +CuComplex</i>	3054:128
<i>DPPC +15BZIMU</i>	4626:128

Πίνακας 5: Φυσικές ιδιότητες διπλοστιβάδας DPPC χωρίς και με εισαγωγή μορίων σε αυτή.

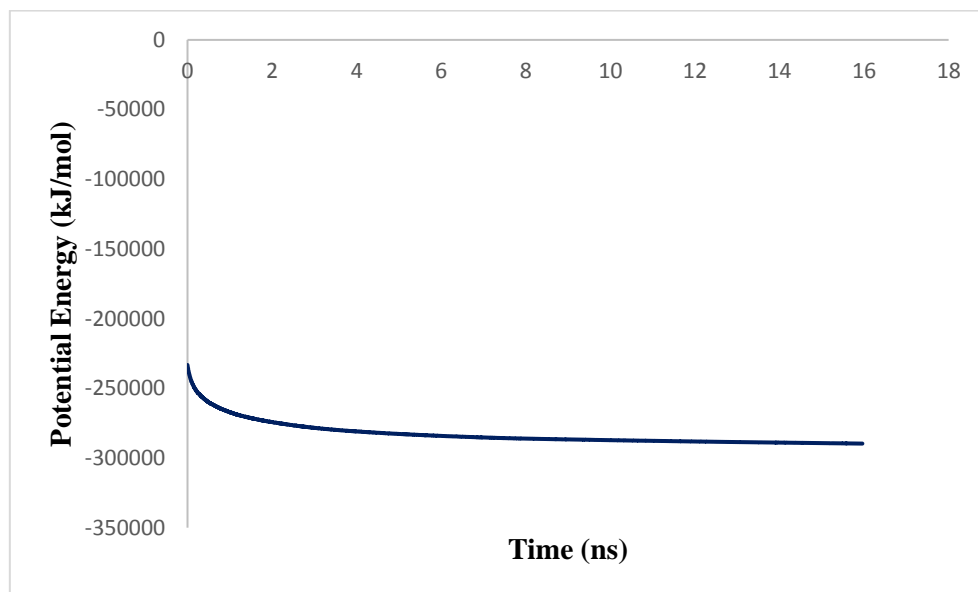
<i>Σύστημα</i>	<i>DPPC</i>	<i>DPPC+BZIMU</i>	<i>DPPC+CuComplex</i>	<i>DPPC+15BZIMU</i>
<i>Μέσες διαστάσεις κουτιού μελέτης σε nm (X, Y, Z)</i>				
<i>Μέσες διαστάσεις κουτιού μελέτης σε nm (X, Y, Z)</i>	6.708	6.710	6.828	6.803
<i>Μέσες διαστάσεις κουτιού μελέτης σε nm (X, Y, Z)</i>	6.657	6.659	6.776	6.752
<i>Μέσες διαστάσεις κουτιού μελέτης σε nm (X, Y, Z)</i>	5.426	5.427	5.843	6.420
<i>Επιφάνεια ανά λιπίδιο (nm²)</i>	0.349	0.349	0.361	0.365
<i>Πάχος μεμβράνης (nm)</i>	5.363	5.381	5.610	5.460

Ακολουθούν οι δομές των συστημάτων μετά από την εξισορρόπησή τους, καθώς και τα διαγράμματα ελαχιστοποίησης δυναμικής ενέργειας, και διακύμανσης της θερμοκρασίας και της πίεσης, κατά την εξισορρόπηση κάθε συστήματος με σύνολο *NVT* και *NPT* αντίστοιχα για χρονικό διάστημα 20 ns.

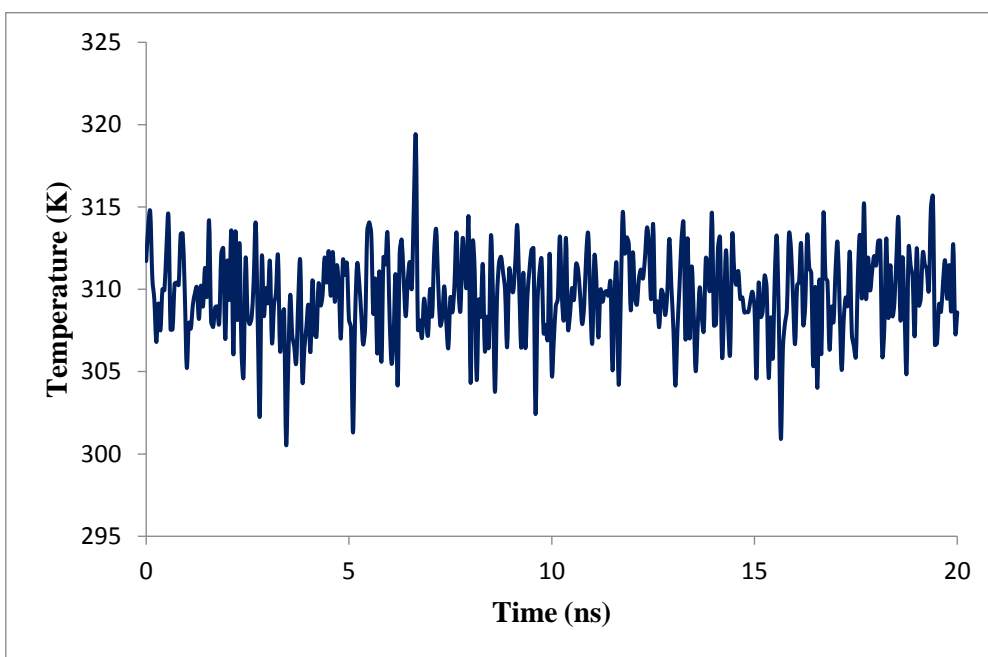
III. 2. 1. 1. Διπλοστιβάδα *DPPC* με νερό



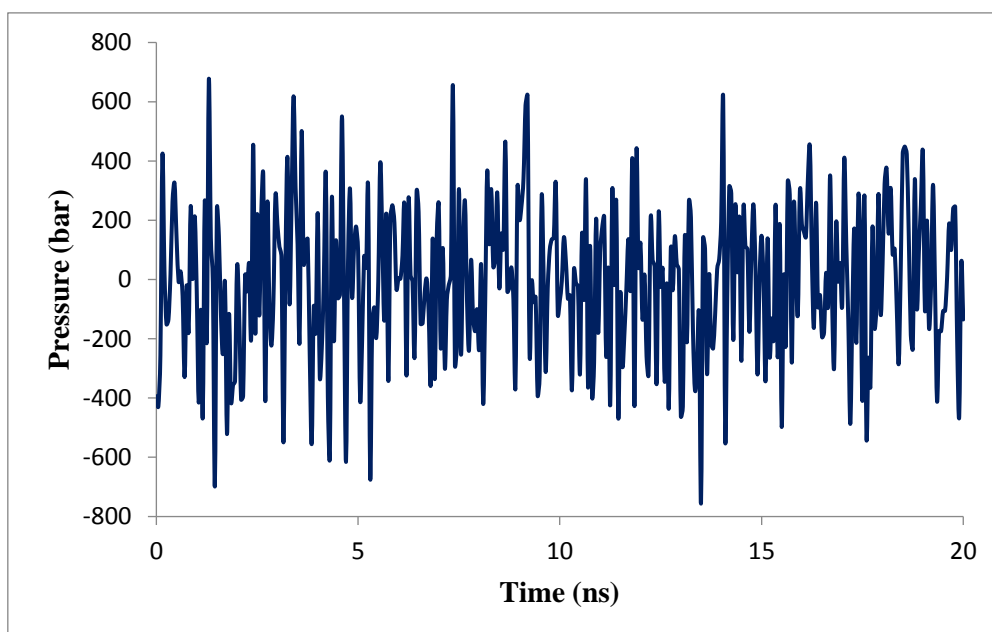
Εικόνα 17: Διπλοστιβάδα dipalmitoyl-phosphatidyl-choline (DPPC) με νερό. Με πορτοκαλί και μπλε χρώμα αντίστοιχα, φαίνονται τα άτομα φωσφόρου και αζώτου των πολικών κεφαλών, με πράσινο χρώμα οι υδρογονανθρακικές αλυσίδες, και με κόκκινο και λευκό χρώμα τα μόρια νερού.



Εικόνα 18: Ελαχιστοποίηση δυναμικής ενέργειας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με νερό.

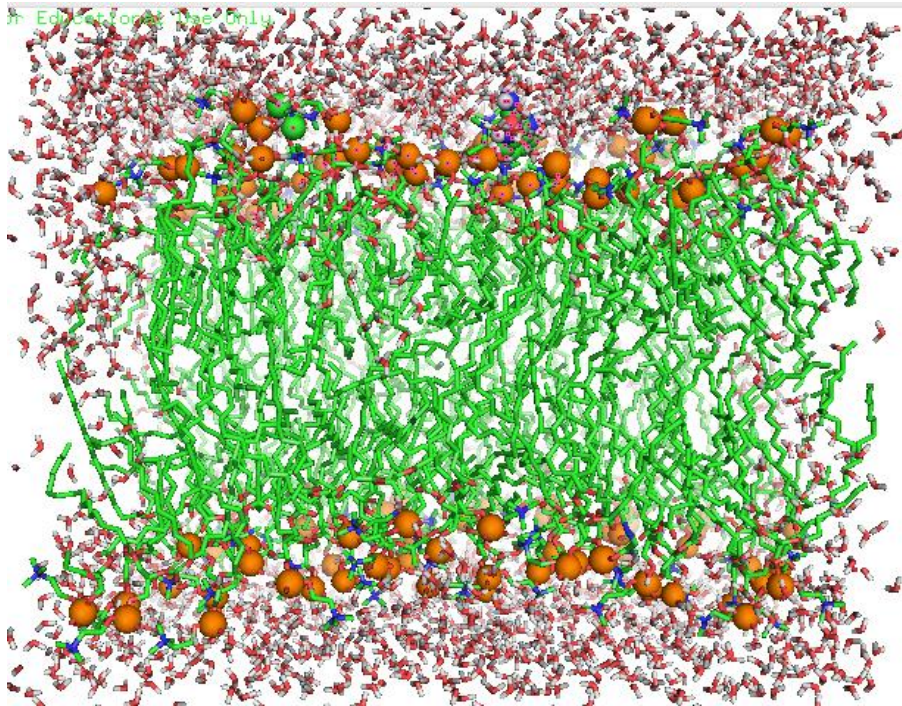


Εικόνα 19: Διακύμανση θερμοκρασίας έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPC με νερό, με σύνολο NVT για χρονικό διάστημα 20 ns.

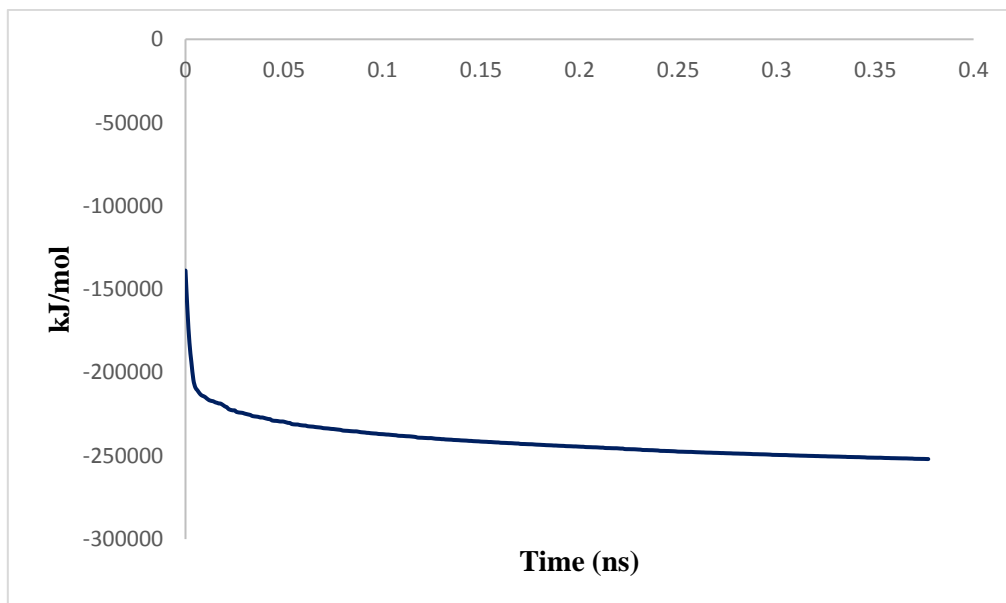


Εικόνα 20: Διακύμανση πίεσης έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPC με νερό, με σύνολο NPT για χρονικό διάστημα 20 ns.

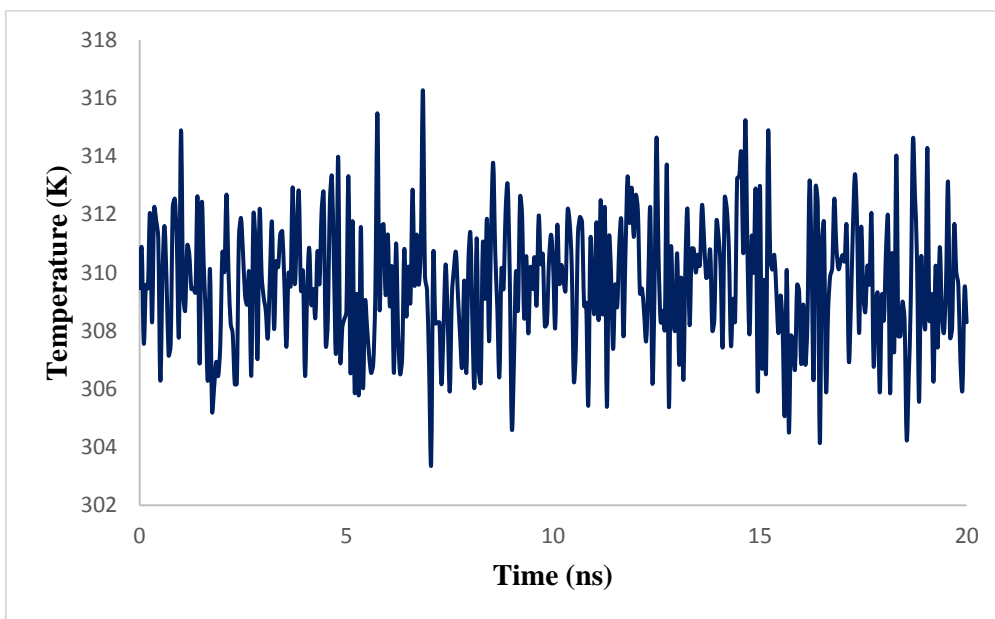
III. 2. 1. 2. Διπλοστιβάδα *DPPC* με ένα μόριο *BZIMU*



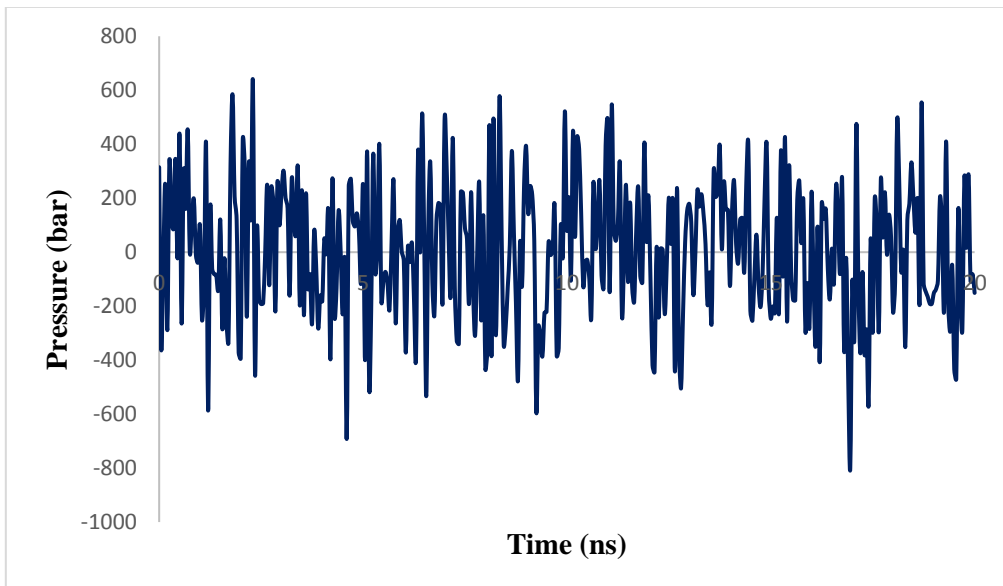
Εικόνα 21: Διπλοστιβάδα *dipalmitoyl-phosphatidyl-choline (DPPC)* με ένα μόριο *BZIMU* και νερό. Με πορτοκαλί και μπλε χρώμα αντίστοιχα, φαίνονται τα άτομα φωσφόρου και αζώτου των πολικών κεφαλών, με πράσινο χρώμα οι υδρογονανθρακικές αλυσίδες, και με κόκκινο και λευκό χρώμα τα μόρια νερού. Το μόριο *BZIMU* φαίνεται στο πάνω μέρος του συστήματος στην περιοχή των πολικών κεφαλών της διπλοστιβάδας.



Εικόνα 22: Ελαχιστοποίηση δυναμικής ενέργειας για το σύστημα διπλοστιβάδας *DPPC* με ένα μόριο *BZIMU* και νερό.

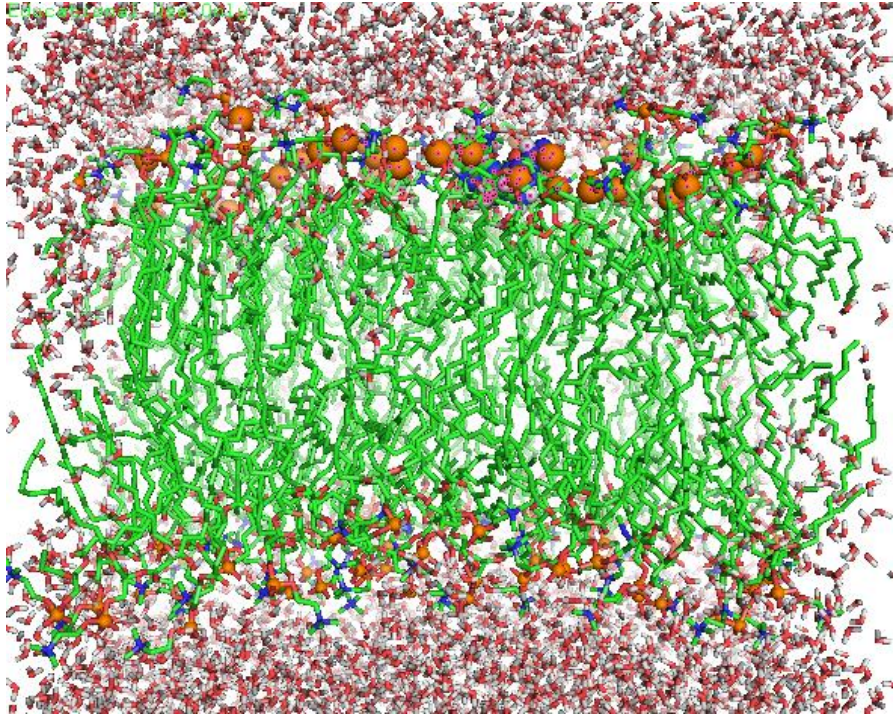


Εικόνα 23: Διακύμανση θερμοκρασίας έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPC με ένα μόριο BZIMU και νερό με σύνολο NVT για χρονικό διάστημα 20 ns.

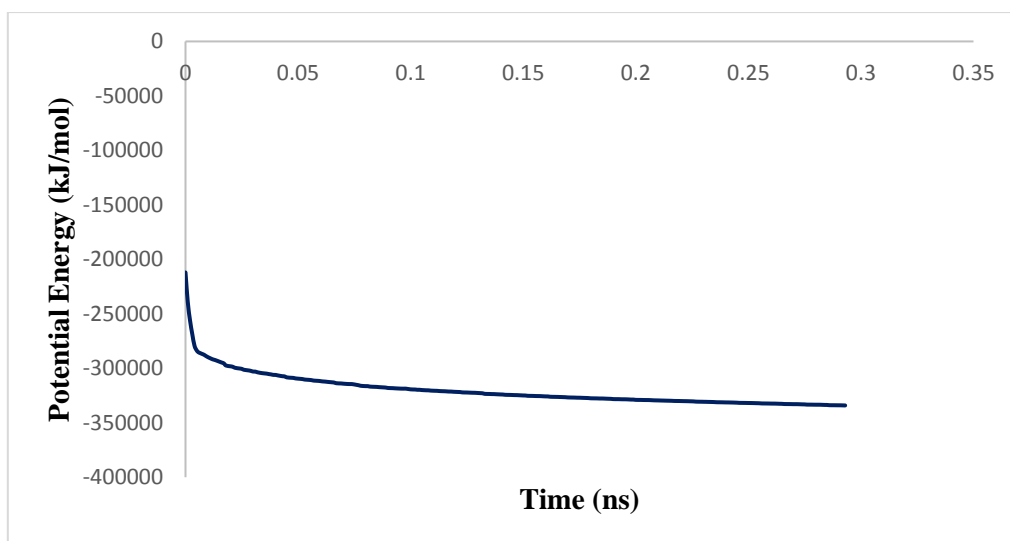


Εικόνα 24: Διακύμανση πίεσης έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPC με ένα μόριο BZIMU και νερό, με σύνολο NPT για χρονικό διάστημα 20 ns.

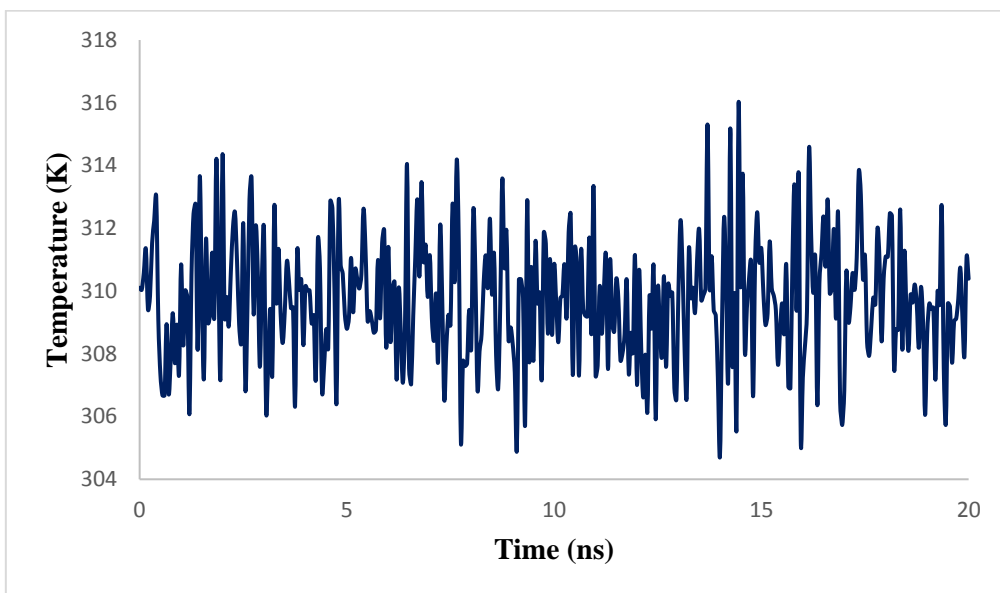
III. 2. 1. 3. Διπλοστιβάδα *DPPC* με ένα σύμπλοκο μόριο *CuComplex*



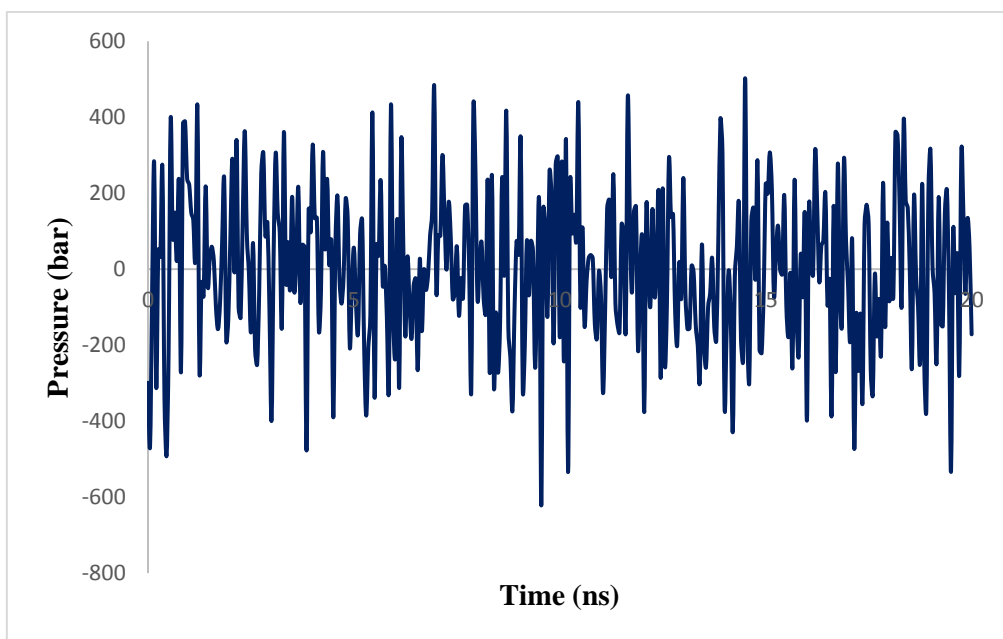
Εικόνα 25: Διπλοστιβάδα dipalmitoyl-phosphatidyl-choline (DPPC) με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex και νερό. Με πορτοκαλί και μπλε χρώμα αντίστοιχα, φαίνονται τα άτομα φωσφόρου και αζώτου των πολικών κεφαλών, με πράσινο χρώμα οι υδρογονανθρακικές αλυσίδες, και με κόκκινο και λευκό χρώμα τα μόρια νερού. Το σύμπλοκο μόριο CuComplex φαίνεται στο πάνω μέρος του συστήματος στην περιοχή των πολικών κεφαλών της διπλοστιβάδας.



Εικόνα 26: Ελαχιστοποίηση δυναμικής ενέργειας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex και νερό.

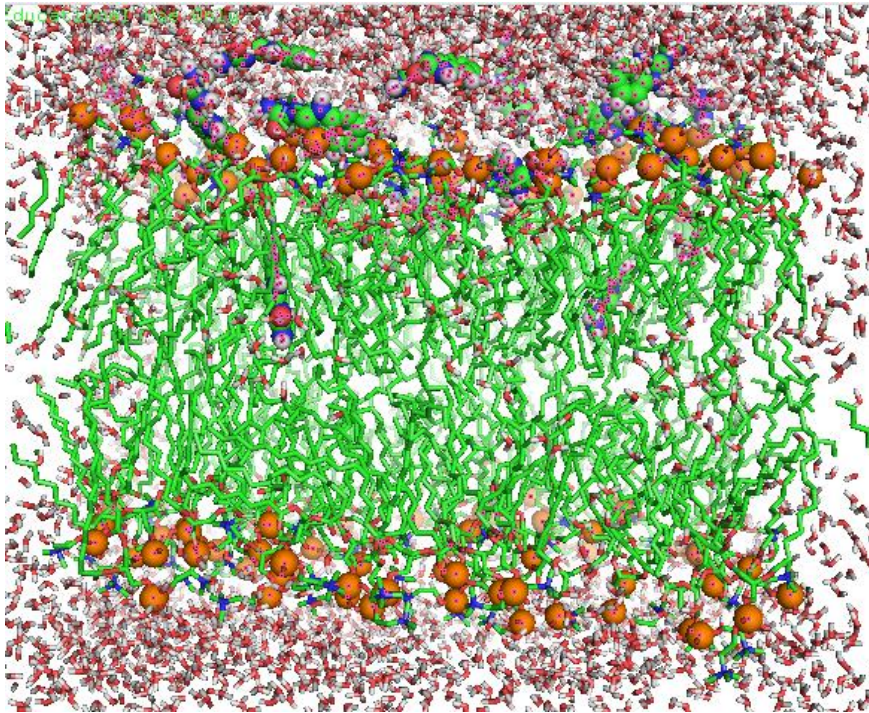


***Εικόνα 27:** Διακύμανση θερμοκρασίας έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPC με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex και νερό, με σύνολο NVT για χρονικό διάστημα 20 ns.*

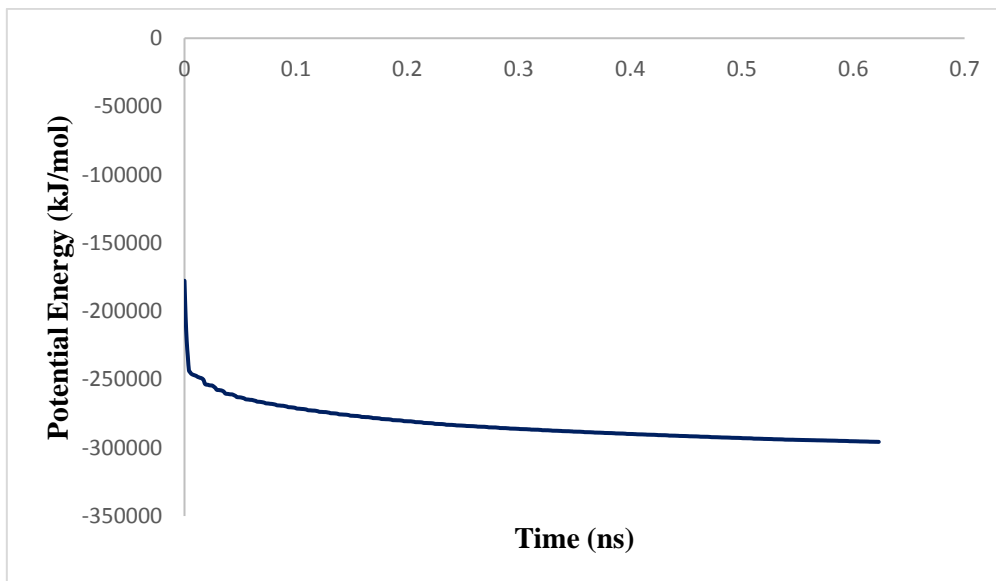


***Εικόνα 28:** Διακύμανση πίεσης έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPC με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex και νερό, με σύνολο NPT για χρονικό διάστημα 20 ns.*

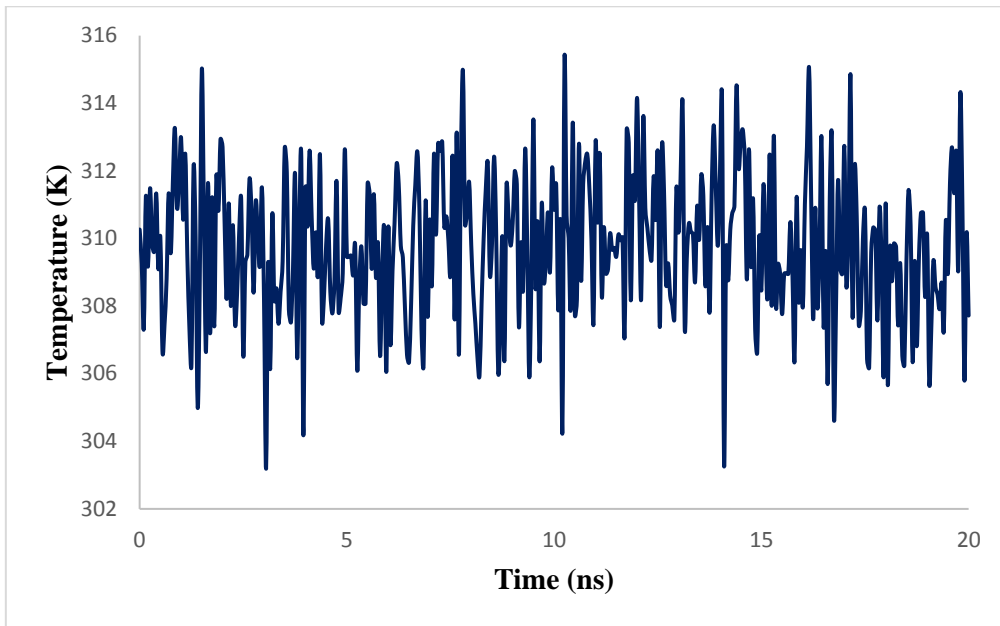
III. 2. 1. 4. Διπλοστιβάδα *DPPC* με 15 μόρια *BZIMU*



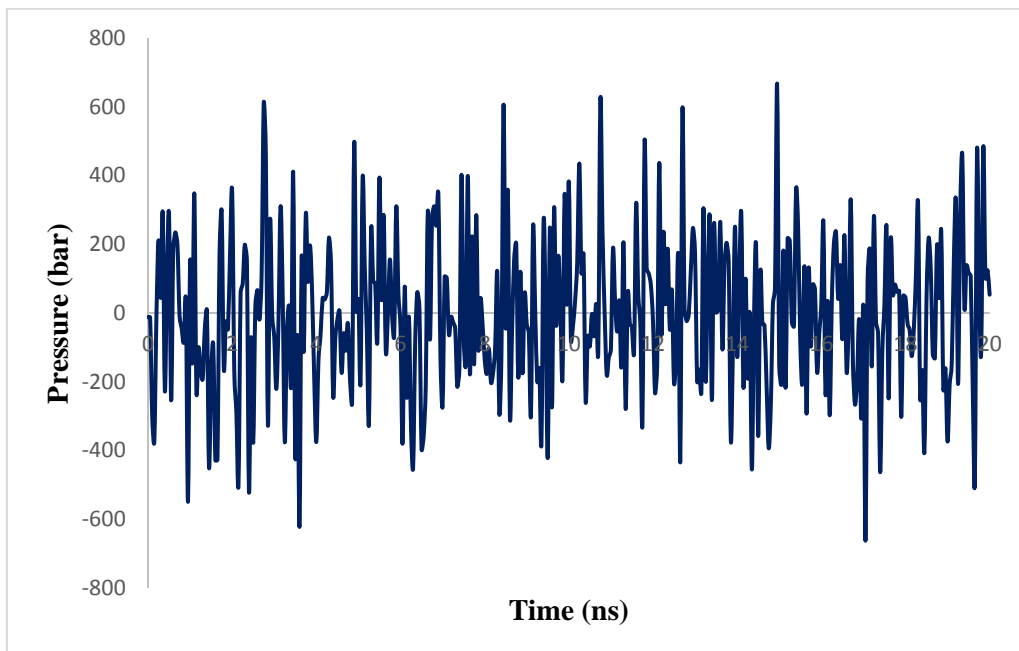
Εικόνα 29: Διπλοστιβάδα *dipalmitoyl-phosphatidyl-choline (DPPC)* με 15 μόρια *BZIMU* και νερό. Με πορτοκαλί και μπλε χρώμα αντίστοιχα, φαίνονται τα άτομα φωσφόρου και αζώτου των πολικών κεφαλών, με πράσινο χρώμα οι υδρογονανθρακικές αλυσίδες, και με κόκκινο και λευκό χρώμα τα μόρια νερού. Τα 15 μόρια *BZIMU* έχουν τοποθετηθεί με τέτοιο τρόπο έτσι ώστε τα περισσότερα να βρίσκονται στην περιοχή των πολικών κεφαλών της διπλοστιβάδας.



Εικόνα 30: Ελαχιστοποίηση δυναμικής ενέργειας για το σύστημα διπλοστιβάδας *DPPC* με 15 μόρια *BZIMU* και νερό.



Εικόνα 31: Διακύμανση θερμοκρασίας έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPC με 15 μόρια BZIMU και νερό, με σύνολο NVT για χρονικό διάστημα 20 ns.



Εικόνα 32: Διακύμανση πίεσης έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPC με 15 μόρια BZIMU και νερό, με σύνολο NPT για χρονικό διάστημα 20 ns.

Κατά την εξισορρόπηση των συστημάτων, παρατηρούμε ότι για την διπλοστιβάδα *DPPC* με νερό, ο απαιτούμενος χρόνος για να ελαχιστοποιηθεί η δυναμική ενέργεια, είναι μεγαλύτερος από ότι στα υπόλοιπα συστήματα. Από το διάγραμμα ελαχιστοποίησης της ενέργειας, φαίνεται ότι η αρχική μεμβράνη εξισορροπήθηκε ικανοποιητικά. Καθώς χρησιμοποιήθηκε ως βάση για τα μετέπειτα συστήματα, η εξισορρόπηση των συστημάτων διπλοστιβάδας *DPPC* και μορίων, πραγματοποιήθηκε σε μικρότερα χρονικά διαστήματα. Υπάρχουν σε όλα τα συστήματα, διακυμάνσεις στην θερμοκρασία και στην πίεση, ωστόσο γύρω από τις προεπιλεγμένες τιμές αναφοράς (θερμοκρασία 310 K και πίεση 1 bar). Οι διακυμάνσεις θα μπορούσαν να μειωθούν περαιτέρω, αν και θα ήταν παρούσες, αν τα χρονικά διαστήματα προσομοίωσης *NVT* και *NPT* ήταν μεγαλύτερα. Στο σύστημα διπλοστιβάδας *DPPC* με το σύμπλοκο χαλκού (*CuComplex*), παρατηρείται η μεγαλύτερη ενεργειακή διαφορά μεταξύ αρχικής κατάστασης και κατάστασης ελάχιστης ενέργειας, κάτι που υποδηλώνει ότι η παρουσία του χαλκού επηρεάζει την ενεργειακή κατάσταση του συστήματος.

III. 2. 2. Συστήματα με διπλοστιβάδα *dipalmitoyl phosphatidylglycerol* (DPPG)

Στην συνέχεια, παρατίθεται πίνακας (Πίνακας 6) με την αναλογία μορίων νερού-λιπιδίων που χρησιμοποιήθηκε για την ενυδάτωση κάθε συστήματος με διπλοστιβάδα *dipalmitoyl phosphatidylglycerol*, καθώς και κάποιες ιδιότητες των συστημάτων, όπως είναι το πάχος της μεμβράνης και η επιφάνεια ανά λιπίδιο (Πίνακας 7).

Πίνακας 6: Αναλογία μορίων νερού-λιπιδίων για κάθε σύστημα με διπλοστιβάδα DPPG που μελετήθηκε.

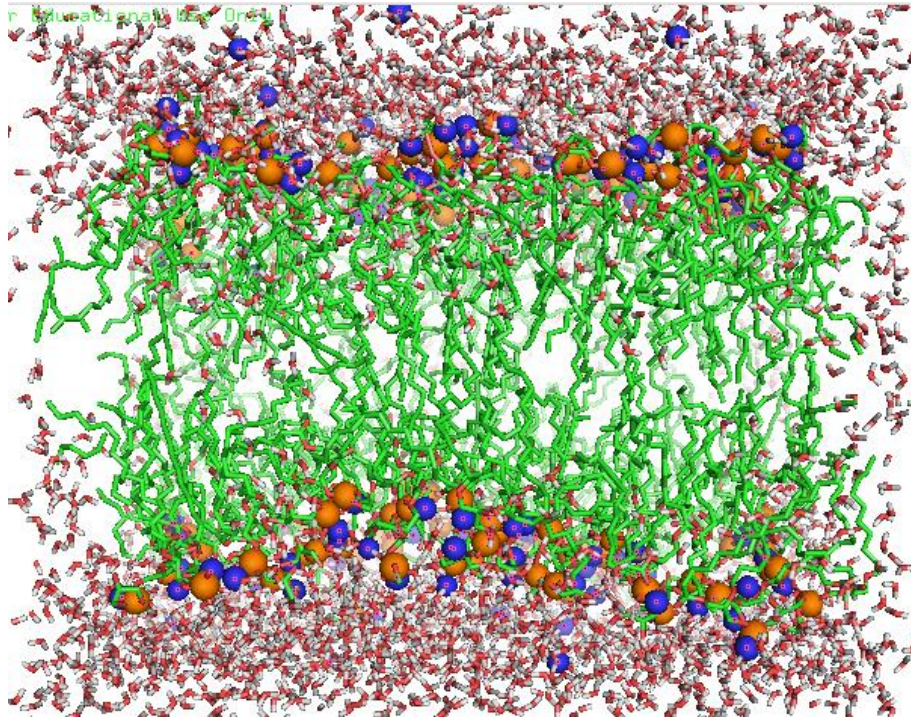
Σύστημα	Αναλογία μορίων νερού-λιπιδίων
DPPG	3807:128
DPPG+BZIMU	3793:128
DPPG+CuComplex	3781:128
DPPG+15BZIMU	5504:128

Πίνακας 7: Φυσικές ιδιότητες διπλοστιβάδας DPPG χωρίς και με εισαγωγή μορίων σε αυτή.

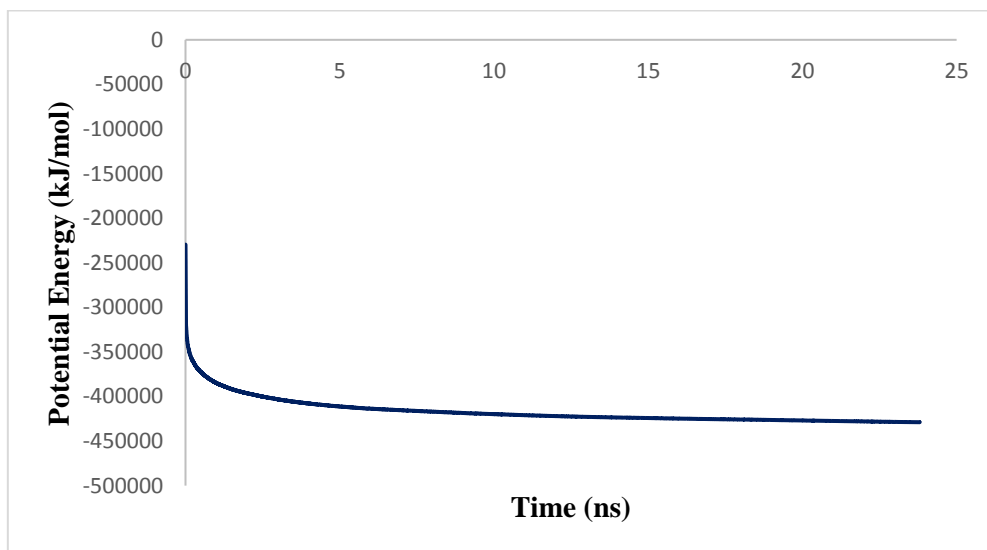
Σύστημα	DPPG	DPPG+BZIMU	DPPG+CuComplex	DPPG+15BZIMU
Μέσες διαστάσεις κουτιού μελέτης σε nm (X, Y, Z)	6.839	6.837	6.834	6.937
Επιφάνεια ανά λιπίδιο (nm ²)	6.787	6.785	6.782	6.884
Πάχος μεμβράνης (nm)	5.532	5.530	5.628	6.546
Επιφάνεια ανά λιπίδιο (nm ²)	0.363	0.362	0.362	0.373
Πάχος μεμβράνης (nm)	5.480	5.467	5.468	5.430

Ακολουθούν οι δομές των συστημάτων μετά από την εξισορρόπησή τους, καθώς και τα διαγράμματα ελαχιστοποίησης δυναμικής ενέργειας, και διακύμανσης της θερμοκρασίας και της πίεσης κατά την εξισορρόπηση κάθε συστήματος με σύνολο NVT και NPT αντίστοιχα για χρονικό διάστημα 20 ns.

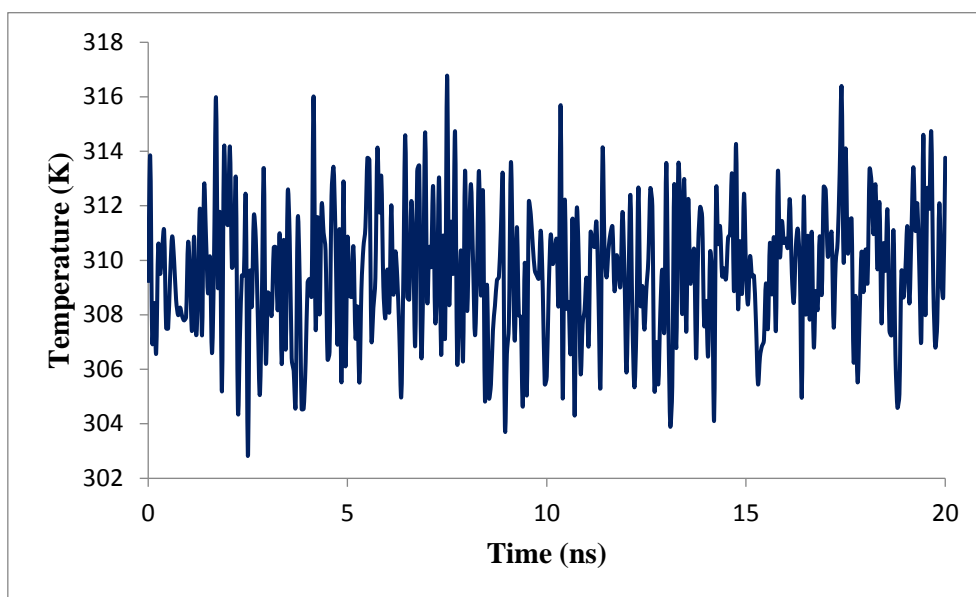
III. 2. 2. 1. Διπλοστιβάδα DPPG με νερό



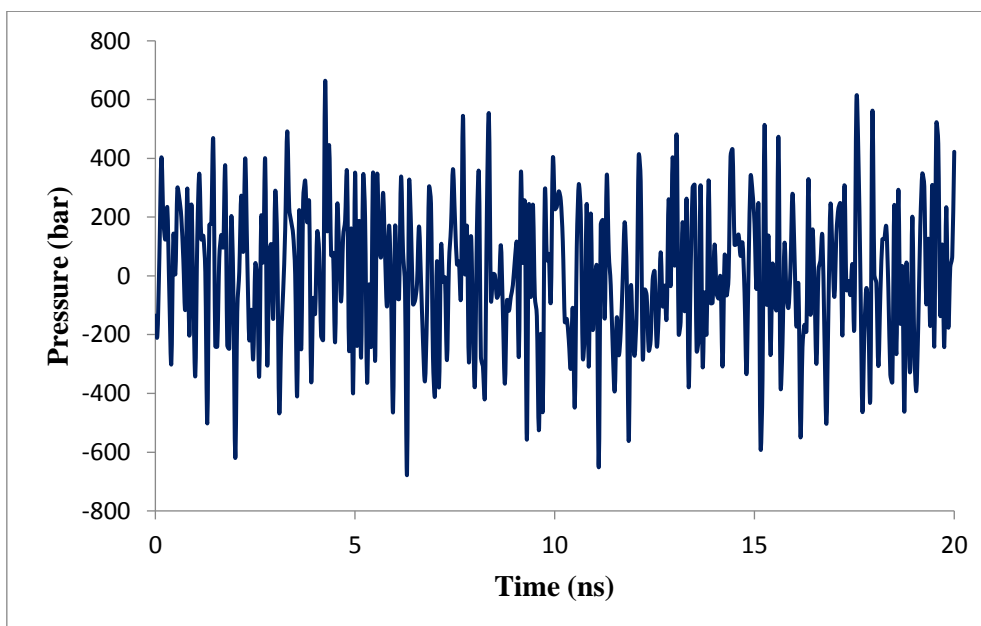
Εικόνα 33: Διπλοστιβάδα dipalmitoyl phosphatidylglycerol (DPPG) με νερό. Με πορτοκαλί χρώμα, φαίνονται τα άτομα φωσφόρου των πολικών κεφαλών, με μπλε χρώμα φαίνονται τα ιόντα νατρίου που προστέθηκαν στο σύστημα ώστε η διπλοστιβάδα να είναι στο σύνολό της αφόρτιστη, με πράσινο χρώμα οι υδρογονανθρακικές αλυσίδες, και με κόκκινο και λευκό χρώμα τα μόρια νερού.



Εικόνα 34: Ελαχιστοποίηση δυναμικής ενέργειας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με νερό.

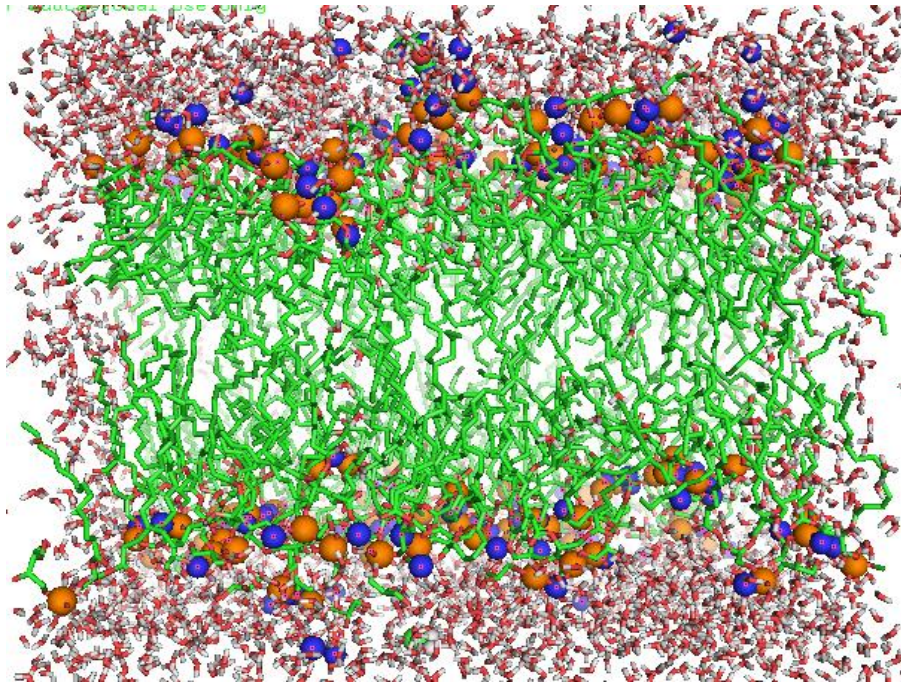


Εικόνα 35: Διακύμανση θερμοκρασίας έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPG με νερό, με σύνολο NVT για χρονικό διάστημα 20 ns.

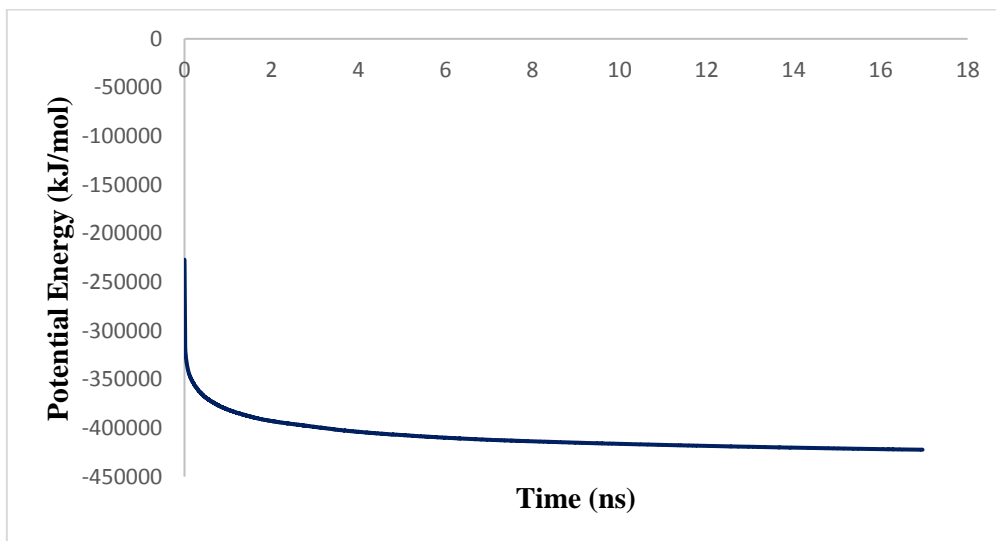


Εικόνα 36: Διακύμανση πίεσης έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPG με νερό, με σύνολο NPT για χρονικό διάστημα 20 ns.

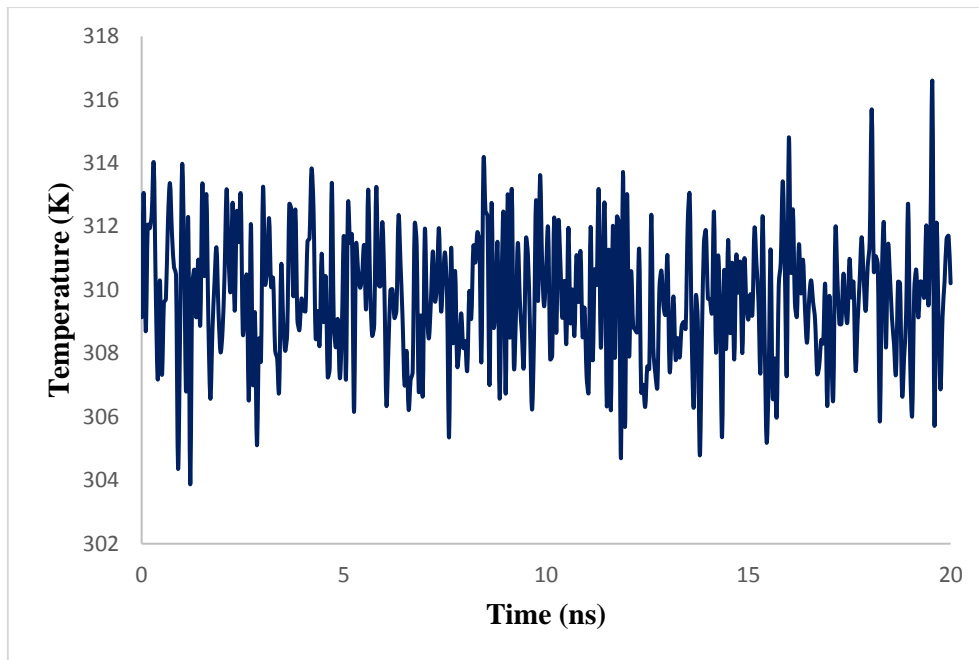
III. 2. 2. 2. Διπλοστιβάδα DPPG με ένα μόριο BZIMU



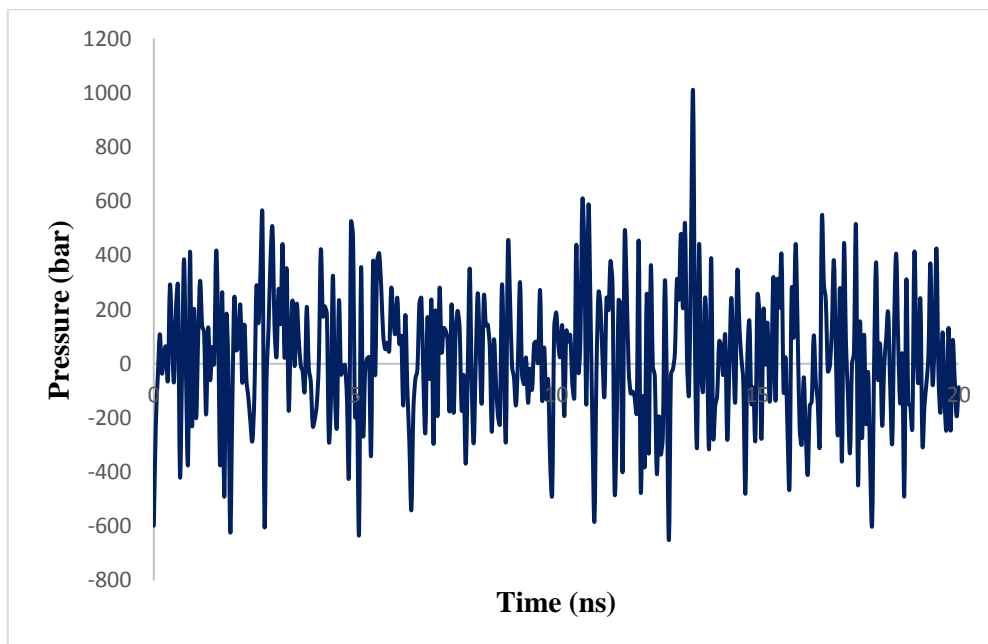
Εικόνα 37: Διπλοστιβάδα *dipalmitoyl phosphatidylglycerol* (DPPG) με ένα μόριο BZIMU και νερό. Με πορτοκαλί χρώμα, φαίνονται τα άτομα φωσφόρου των πολικών κεφαλών, με μπλε χρώμα φαίνονται τα ιόντα νατρίου που προστέθηκαν στο σύστημα ώστε η διπλοστιβάδα να είναι στο σύνολό της αφόρτιστη, με πράσινο χρώμα οι υδρογονανθρακικές αλυσίδες, και με κόκκινο και λευκό χρώμα τα μόρια νερού. Το μόριο BZIMU φαίνεται στο πάνω μέρος του συστήματος στην περιοχή των πολικών κεφαλών της διπλοστιβάδας.



Εικόνα 38: Ελαχιστοποίηση δυναμικής ενέργειας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με ένα μόριο BZIMU και νερό.

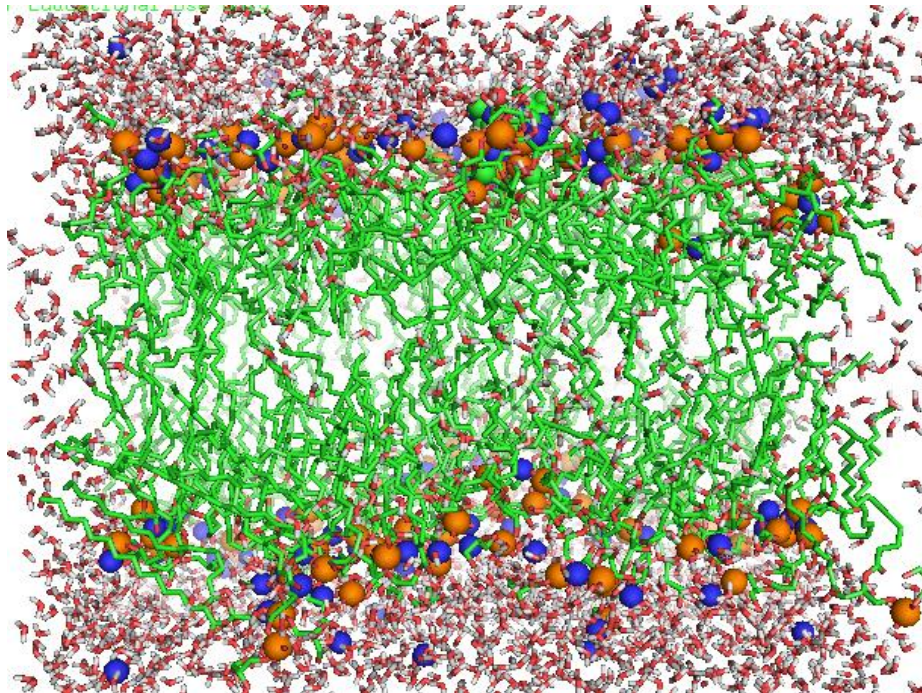


Εικόνα 39: Διακύμανση θερμοκρασίας έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPG με ένα μόριο BZIMU και νερό, με σύνολο NVT για χρονικό διάστημα 20 ns.

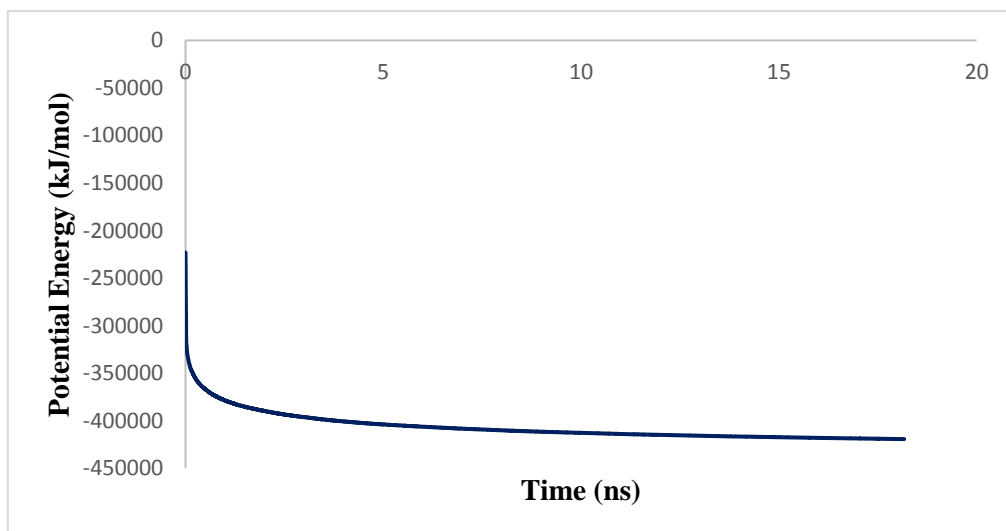


Εικόνα 40: Διακύμανση πίεσης έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPG με ένα μόριο BZIMU και νερό, με σύνολο NPT για χρονικό διάστημα 20 ns.

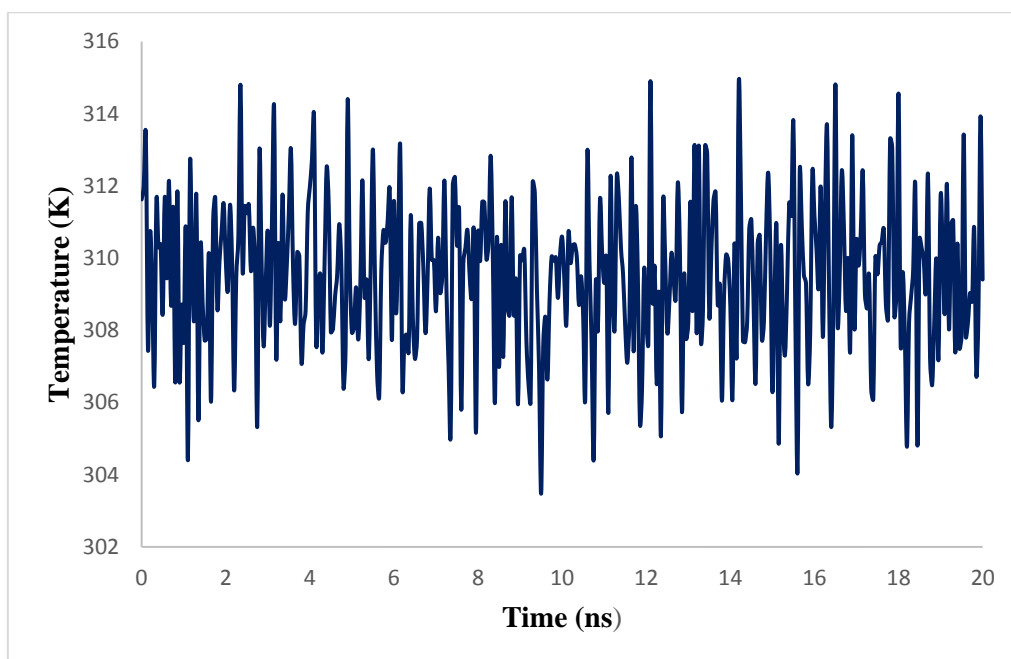
III. 2. 2. 3. Διπλοστιβάδα DPPG με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex



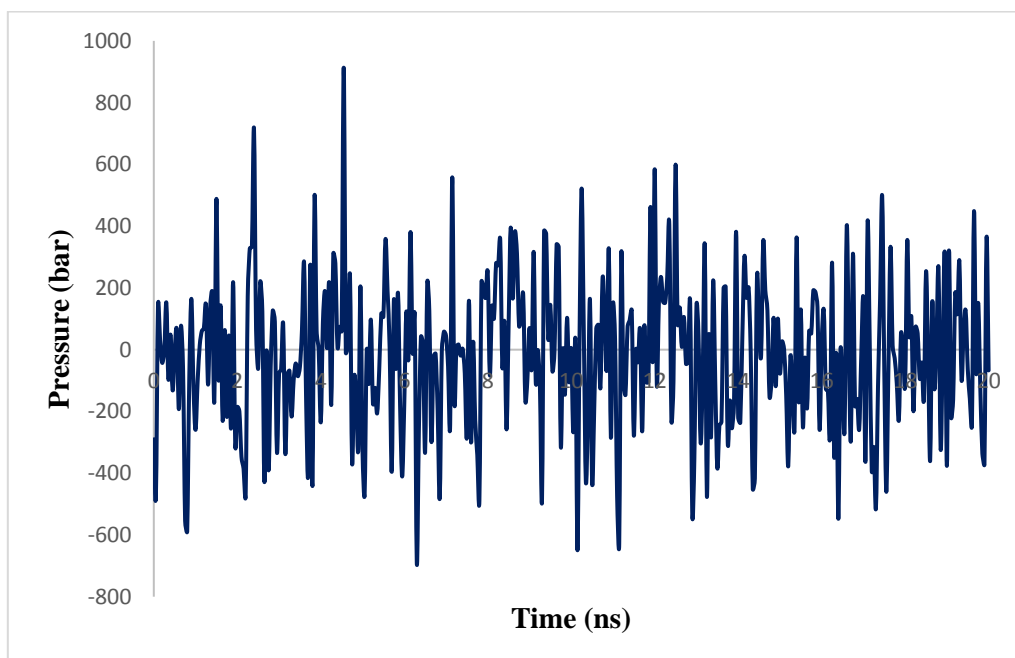
Εικόνα 41: Διπλοστιβάδα *dipalmitoyl phosphatidylglycerol* (DPPG) με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex και νερό. Με πορτοκαλί χρώμα, φαίνονται τα άτομα φωσφόρου των πολικών κεφαλών, με μπλε χρώμα φαίνονται τα ιόντα νατρίου που προστέθηκαν στο σύστημα ώστε η διπλοστιβάδα να είναι στο σύνολό της αφόρτιστη, με πράσινο χρώμα οι υδρογονανθρακικές αλυσίδες, και με κόκκινο και λευκό χρώμα τα μόρια νερού. Το σύμπλοκο μόριο CuComplex φαίνεται στο πάνω μέρος του συστήματος στην περιοχή των πολικών κεφαλών της διπλοστιβάδας.



Εικόνα 42: Ελαχιστοποίηση δυναμικής ενέργειας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex και νερό.

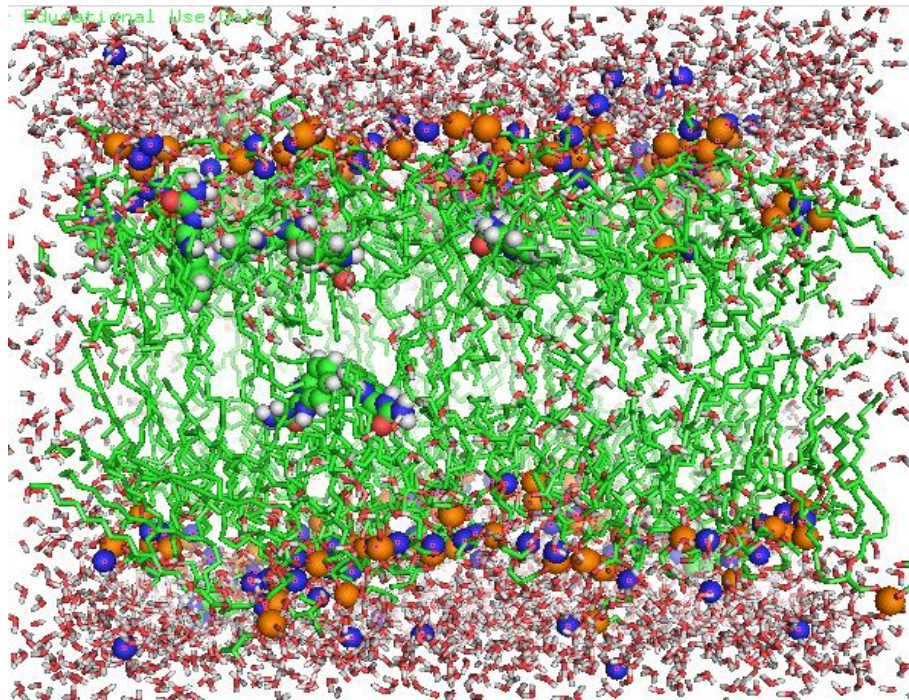


Εικόνα 43: Διακύμανση θερμοκρασίας έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPG με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex και νερό, με σύνολο NVT για χρονικό διάστημα 20 ns.

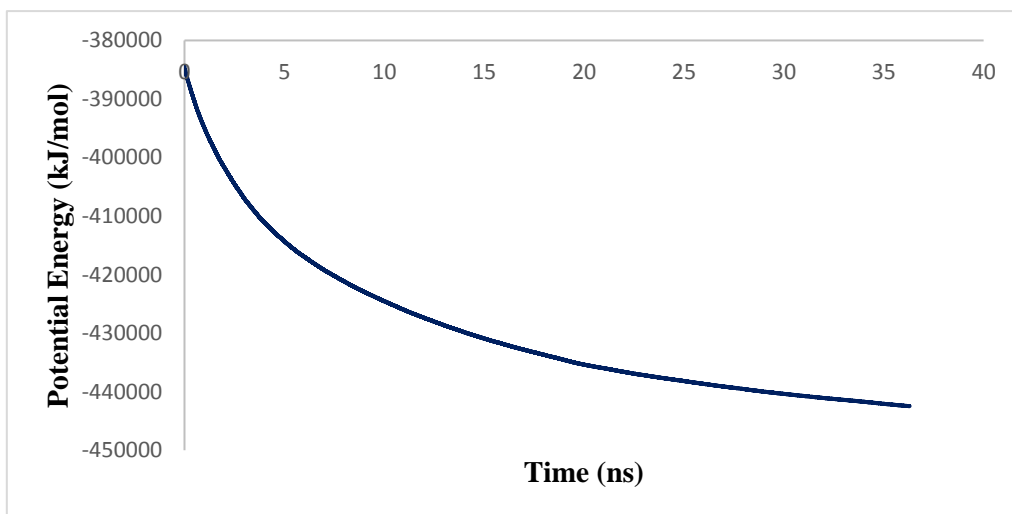


Εικόνα 44: Διακύμανση πίεσης έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPG με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex και νερό, με σύνολο NPT για χρονικό διάστημα 20 ns.

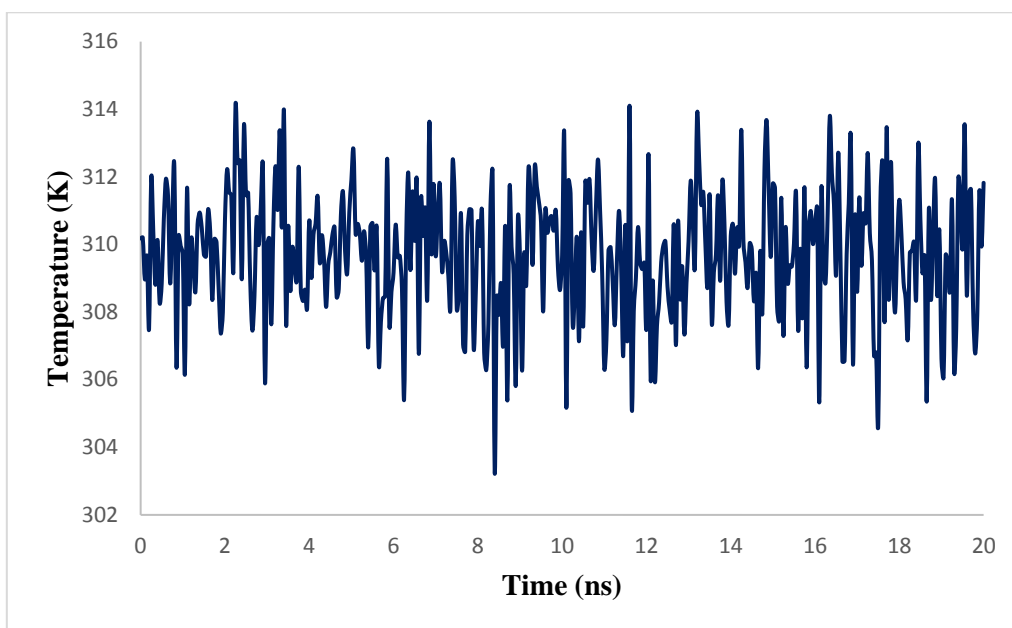
III. 2. 2. 4. Διπλοστιβάδα DPPG με 15 μόρια BZIMU



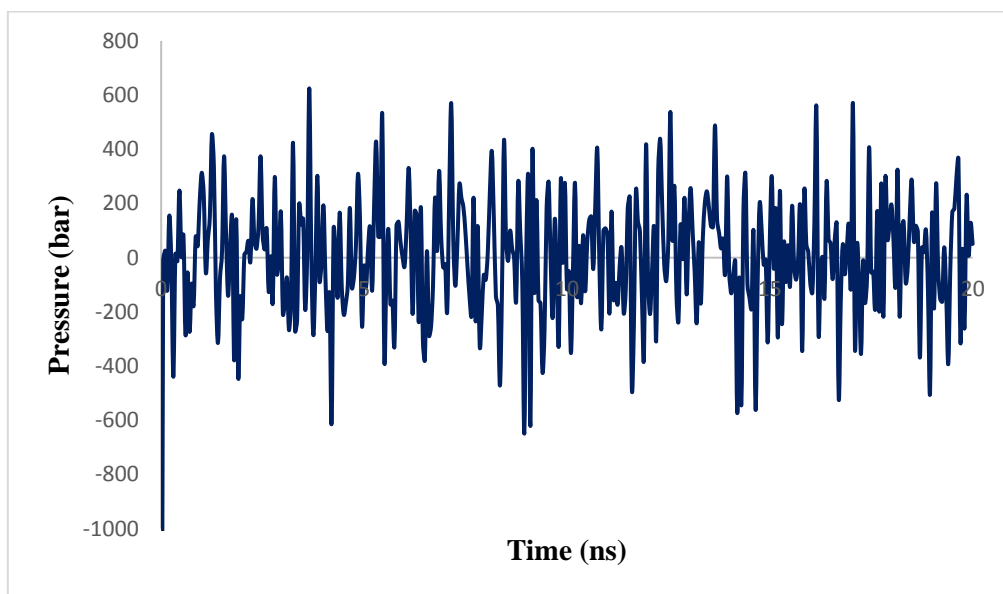
Εικόνα 45: Διπλοστιβάδα dipalmitoyl phosphatidylglycerol (DPPG) με 15 μόρια BZIMU και νερό. Με πορτοκαλί χρώμα, φαίνονται τα άτομα φωσφόρου των πολικών κεφαλών, με μπλε χρώμα φαίνονται τα ιόντα νατρίου που προστέθηκαν στο σύστημα ώστε η διπλοστιβάδα να είναι στο σύνολό της αφόρτιστη, με πράσινο χρώμα οι υδρογονανθρακικές αλυσίδες, και με κόκκινο και λευκό χρώμα τα μόρια νερού. Τα 15 μόρια BZIMU έχουν τοποθετηθεί με τέτοιο τρόπο έτσι ώστε τα περισσότερα να βρίσκονται στην περιοχή των πολικών κεφαλών της διπλοστιβάδας.



Εικόνα 46: Ελαχιστοποίηση δυναμικής ενέργειας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 15 μόρια BZIMU και νερό.



Εικόνα 47: Διακύμανση θερμοκρασίας έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPG με 15 μόρια BZIMU και νερό, με σύνολο NVT για χρονικό διάστημα 20 ns.



Εικόνα 48: Διακύμανση πίεσης έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPG με 15 μόρια BZIMU και νερό, με σύνολο NPT για χρονικό διάστημα 20 ns.

Κατά την εξισορρόπηση σε αυτήν την περίπτωση, παρατηρούμε ότι για την διπλοστιβάδα *DPPG* με νερό, ο απαιτούμενος χρόνος για να ελαχιστοποιηθεί η δυναμική ενέργεια, είναι, όπως και στα συστήματα με διπλοστιβάδα *DPPC*, μεγαλύτερος από ότι στα συστήματα με μεμονωμένα μόρια *BZIMU* και *CuComplex*, που είναι λογικό από την στιγμή που η ήδη εξισορροπημένη διπλοστιβάδα, χρησιμοποιήθηκε και για την μελέτη των συστημάτων της με τα αντίστοιχα μόρια. Το γεγονός ότι στο σύστημα διπλοστιβάδας *DPPG* με 15 μόρια *BZIMU*, η δυναμική ενέργεια δεν φτάνει σε ελάχιστο, οφείλεται πιθανότατα στην πολυπλοκότητα του συστήματος. Η εξισορρόπηση για μεγαλύτερο χρόνο, αν και θα μείωνε την ενέργεια περαιτέρω, κρίθηκε ως μη αποδοτική για το παρόν πείραμα και ως μη ανασταλτικός παράγοντας για τους επόμενους υπολογισμούς. Υπάρχουν σε όλα τα συστήματα, διακυμάνσεις στην θερμοκρασία και στην πίεση, ωστόσο γύρω από τις προεπιλεγμένες τιμές αναφοράς (θερμοκρασία 310 K και πίεση 1 bar). Στο σύστημα διπλοστιβάδας *DPPG* με τα 15 μόρια *BZIMU*, παρατηρείται η μεγαλύτερη ενεργειακή διαφορά μεταξύ αρχικής κατάστασης και κατάστασης ελάχιστης ενέργειας, κάτι που υποδηλώνει ότι η συγκέντρωση του *BZIMU* σε συνδυασμό με το φορτίο των λιπιδίων, επηρεάζει την ενεργειακή κατάσταση του συστήματος.

III. 3. Προσομοιώσεις Μοριακής Δυναμικής και *Umbrella Sampling*

Οι προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής διεξήχθησαν για χρονικό διάστημα 50 ns για κάθε σύστημα σε ατομιστικό επίπεδο, χρησιμοποιώντας τις ίδιες παραμέτρους προσομοίωσης όπως και στις εξισορροπήσεις με σύνολο *NPT*. Με την εκτέλεση προσομοιώσεων μοριακής δυναμικής, διερευνήθηκαν η πλευρική διάχυση των λιπιδίων, οι μερικές πυκνότητες μάζες των συστατικών των συστημάτων, οι παράμετροι δευτερεύουσας τάξης καθώς και η τετραγωνική ρίζα μέσης τετραγωνικής μετατόπισης.

Το προφίλ ελεύθερης ενέργειας κατά την μεταφορά του μορίου σε κάθε περίπτωση εκτιμήθηκε υπολογίζοντας το δυναμικό μέσης δύναμης (*PMF*). Γενικά το δυναμικό μέσης δύναμης υπολογίζεται μέσω μεροληπτικών προσομοιώσεων μοριακής δυναμικής (*biased MD simulations*) που περιλαμβάνουν είτε δειγματοληψία τύπου *Umbrella* είτε μέθοδο περιορισμού σε άξονα-*z*. Στην παρούσα μελέτη, το δυναμικό μέσης δύναμης υπολογίστηκε με χρήση της μεθόδου *Umbrella Sampling* για την μελέτη της διαπερατότητας, και την μέθοδο περιορισμού κατά μήκος του άξονα *z* για την αξιολόγηση της συγκέντρωσης του μορίου *BZIMU* στην μελέτη κατανομής. Στην πρώτη περίπτωση, κάθε ένα από τα δύο μόρια τοποθετήθηκε, σε κάθε τύπο μεμβράνης, στην περιοχή των πολικών κεφαλών. Στην συνέχεια ωθήθηκε να κινηθεί στο κέντρο κάθε διπλοστιβάδας κατά μήκος του άξονα *z*, χρησιμοποιώντας την μέθοδο *Umbrella Sampling*. Σε κάθε μόριο εφαρμόστηκε ένα αρμονικό δυναμικό 500 kJ/mol/nm² με ρυθμό 1.5 nm/ns για την απόσταση μεταξύ των κέντρων μάζας του μορίου και της λιπιδικής διπλοστιβάδας. Περίπου 10 διαμορφώσεις επιλέχθηκαν στην συνέχεια για κάθε σύστημα, που αντιπροσώπευαν διαφορετικές θέσεις των μορίων στον άξονα *z*, καθώς μετακινούνταν από το ένα πολικό τμήμα της μεμβράνης στο άλλο. Κάθε διαμόρφωση προσομοιώθηκε για 2 ns σε ισορροπία με το σύνολο *NPT* χρησιμοποιώντας ανισοτροπικό βαροστάτη *Parrinello-Rahman*, και για 10 ns για την μοριακή δυναμική. Ο ανισοτροπικός αυτός βαροστάτης παρέχει μεγαλύτερη ακρίβεια στην διατήρηση του συνόλου σε σχέση με τον βαροστάτη *Berendsen* ο οποίος παράγει μικρές διακυμάνσεις σε συστήματα τα οποία δεν είναι καλά εξισορροπημένα. Κατά την προσομοίωση, κάθε μόριο ήταν περιορισμένο σε συγκεκριμένες θέσεις του άξονα *z*,

αλλά ελεύθερο να κινείται στο x - y επίπεδο. Η μέθοδος *WHAM* χρησιμοποιήθηκε για να εκτιμηθεί το προφίλ ελεύθερης ενέργειας των μορίων σε κάθε λιπιδική διπλοστιβάδα προσέχοντας ώστε οι κατανομές των μορίων κοντινών παραθύρων να αλληλεπικαλύπτονται ικανοποιητικά. Για την μελέτη της επίδρασης συγκέντρωσης, πραγματοποιήθηκε εισαγωγή 15 μορίων *BZIMU* στο πολικό τμήμα της κάθε μεμβράνης. Στην συνέχεια εφαρμόσαμε ένα αρμονικό δυναμικό 500 kJ/mol/nm^2 , για να παρατηρήσουμε τον τόπο συσσώρευσης, καθώς και την αποτελεσματικότητα της συσσώρευσης στον σχηματισμό συστάδων.

Ακολούθως παρατίθενται τα αποτελέσματα που προέκυψαν μετά από προσομοίωση μοριακής δυναμικής για κάθε σύστημα ξεχωριστά, καθώς και από δειγματοληψία τύπου *Umbrella* για τα συστήματα μεμβράνης με ένα μόριο *BZIMU* και με ένα μόριο συμπλόκου *CuComplex*. Από τις προσομοιώσεις εξήχθησαν διαγράμματα για:

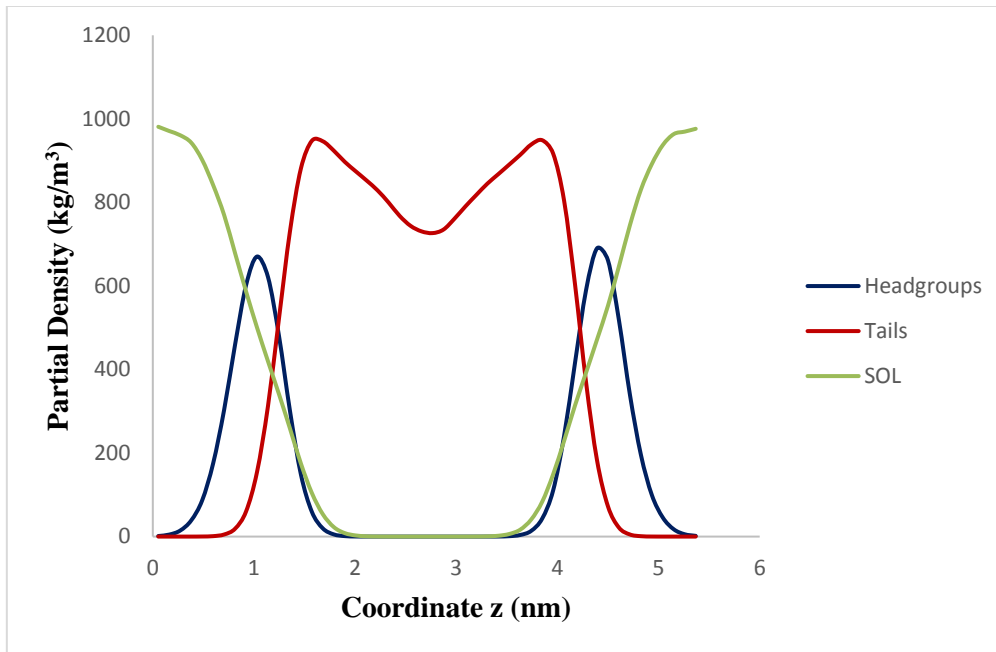
- (α) τις μερικές πυκνότητες μάζας των συστατικών των συστημάτων,
- (β) τις παραμέτρους δευτερεύουσας τάξης,
- (γ) την διάχυση (*MSD*),
- (δ) την τετραγωνική ρίζα της μέσης τετραγωνικής μετατόπισης (*RMSD*), και
- (ε) το δυναμικό μέσης δύναμης

Ο σχολιασμός των αποτελεσμάτων πραγματοποιείται σε τρεις φάσεις:

- (α) σύγκριση συστημάτων που περιλαμβάνουν μεμβράνη *DPPC*,
- (β) σύγκριση συστημάτων που περιλαμβάνουν μεμβράνη *DPPG*,
- (γ) σύγκριση συστημάτων που περιλαμβάνουν κοινό μόριο αλλά διαφορετική μεμβράνη.

III. 3. 1. Συστήματα με διπλοστιβάδα *dipalmitoyl-phosphatidyl-choline* (DPPC)

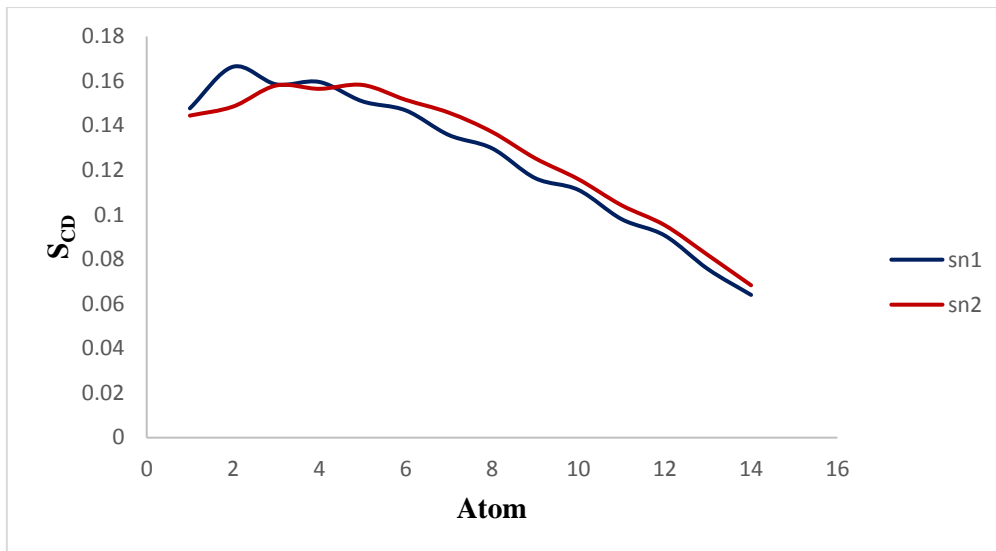
III. 3. 1. 1. Διπλοστιβάδα *dipalmitoyl-phosphatidyl-choline* (DPPC) με νερό



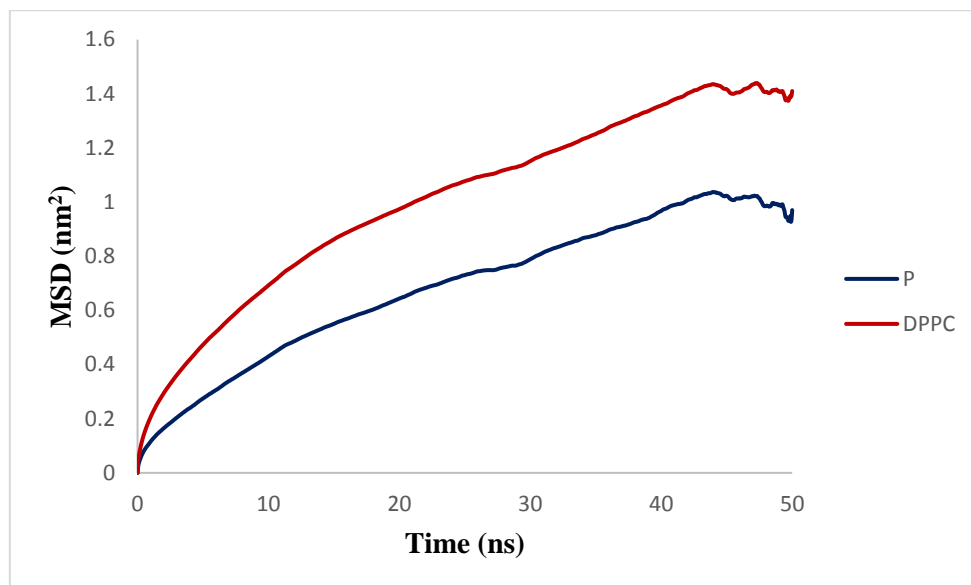
Εικόνα 49: Μερική πυκνότητα μάζας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με νερό συναρτήσει της συντεταγμένης z. Με μπλε χρώμα αναπαρίστανται οι πολικές κεφαλές της διπλοστιβάδας, με κόκκινο οι αλυσίδες υδρογονθράκων (ουρές), και με πράσινο το νερό.

Στο διάγραμμα για την μερική πυκνότητα μάζας του συστήματος (*Εικόνα 49*), είναι εμφανές το ελάχιστο στην πυκνότητα των υδρογονανθρακικών αλυσίδων στο εσωτερικό της μεμβράνης. Επίσης είναι σαφή τα όρια του υδρόφιλου και του υδρόφοβου τμήματος της μεμβράνης, με το συνολικό πάχος της να είναι περίπου 5 nm.

Από το παρακάτω διάγραμμα των παραμέτρων δευτερεύουσας τάξης (*Εικόνα 50*) φαίνεται ότι οι υδρογονανθρακικές αλυσίδες των ουρών των λιπιδίων δεν διπλώνουν, αλλά διατηρούν την τάξη τους στο εσωτερικό της μεμβράνης.



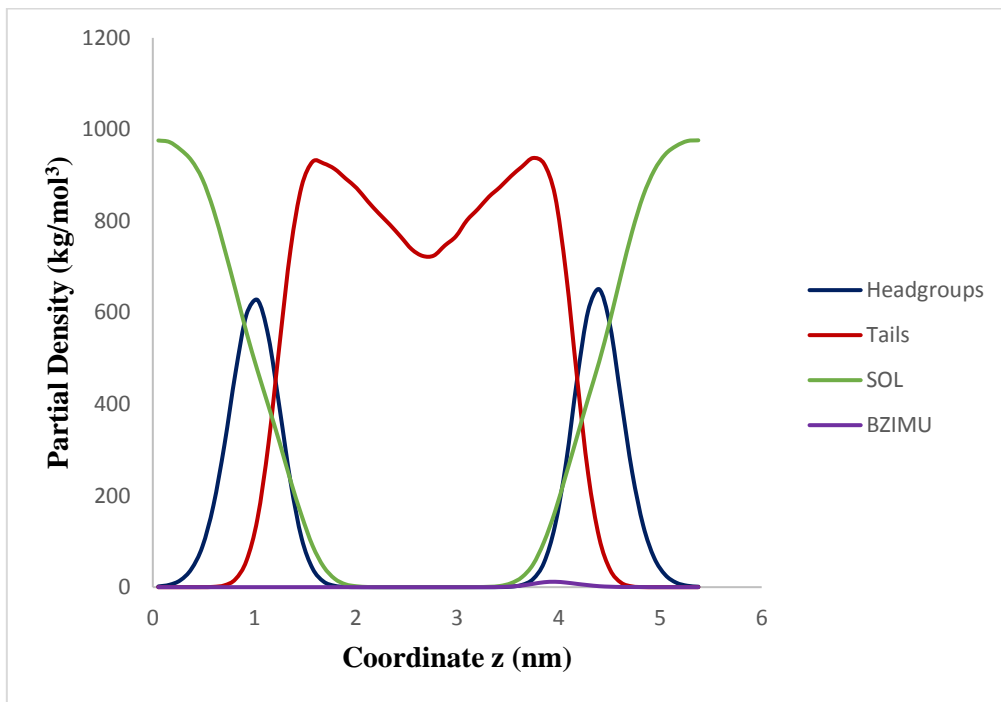
Εικόνα 50: Παράμετροι δευτερεύουσας τάξης για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με νερό. Τα sn-1 (μπλε χρώμα) και sn-2 (κόκκινο χρώμα) αντιστοιχούν στις δύο αλυσίδες υδρογονανθράκων των λιπιδίων.



Εικόνα 51: Πλευρική διάχυση για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με νερό. Με μπλε χρώμα φαίνεται η πλευρική διάχυση των ατόμων φωσφόρου των πολικών κεφαλών, και με κόκκινο συνολικά της διπλοστιβάδας DPPC.

Στο διάγραμμα για την πλευρική διάχυση των ατόμων φωσφόρου των πολικών κεφαλών (Εικόνα 51), παρατηρούμε μία διακύμανση με την πάροδο του χρόνου με τάση αυτών να απομακρύνονται σε σχέση με το κέντρο μάζας του συστήματος, λόγω των αλληλεπιδράσεων μεταξύ τους αλλά και με τα μόρια νερού.

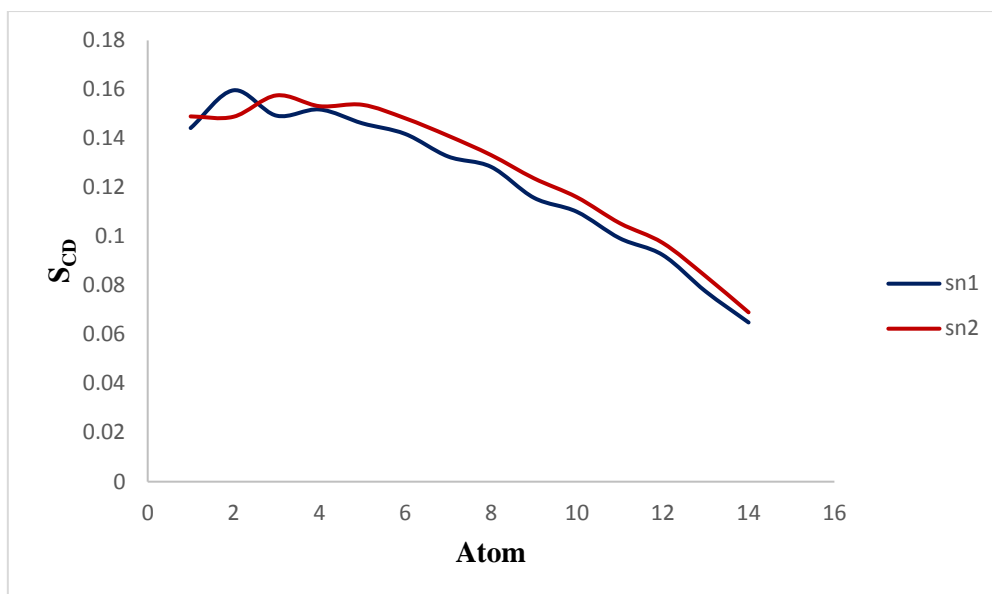
III. 3. 1. 2. Διπλοστιβάδα DPPC με ένα μόριο BZIMU



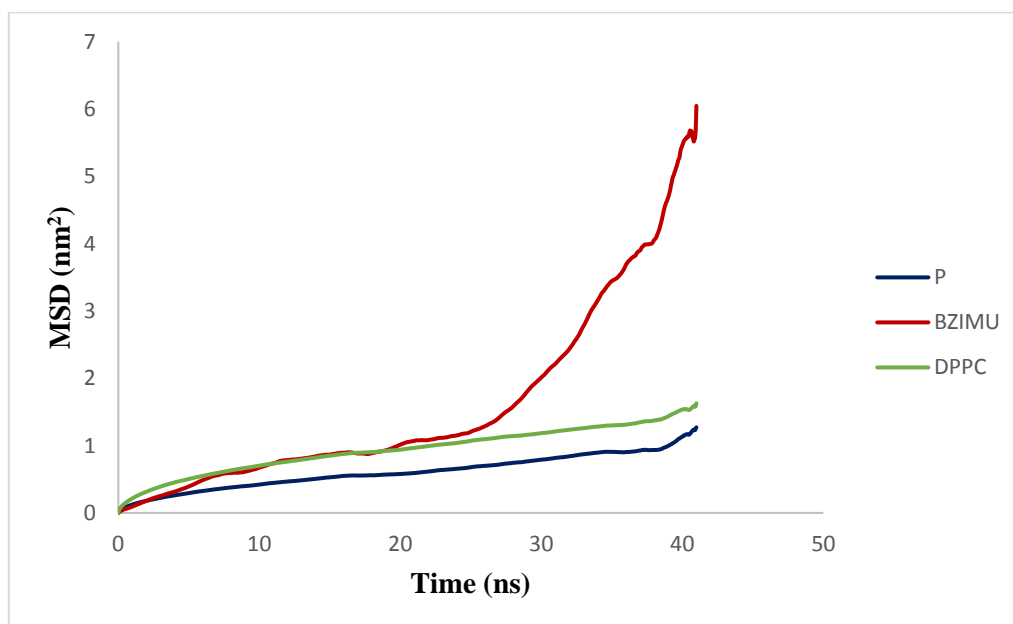
Εικόνα 52: Μερική πυκνότητα μάζας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα μόριο BZIMU. Με μπλε χρώμα αναπαρίστανται οι πολικές κεφαλές της διπλοστιβάδας, με κόκκινο οι αλυσίδες υδρογονθράκων (ουρές), με μωβ το μόριο BZIMU, και με πράσινο το νερό.

Στο διάγραμμα για την μερική πυκνότητα μάζας του συστήματος (Εικ. 52), φαίνεται το ελάχιστο στην πυκνότητα των ουρών των λιπιδίων στο εσωτερικό της μεμβράνης. Επίσης τα όρια της μεμβράνης είναι περίπου στα 5 nm, ενώ φαίνεται και η πυκνότητα μάζας του μορίου BZIMU στο πολικό τμήμα της μεμβράνης.

Από το διάγραμμα των παραμέτρων δευτερεύουσας τάξης (Εικ. 53) φαίνεται ότι οι υδρογοναθρακικές αλυσίδες των ουρών των λιπιδίων δεν διπλώνουν, αλλά διατηρούν την τάξη τους στο εσωτερικό της μεμβράνης.



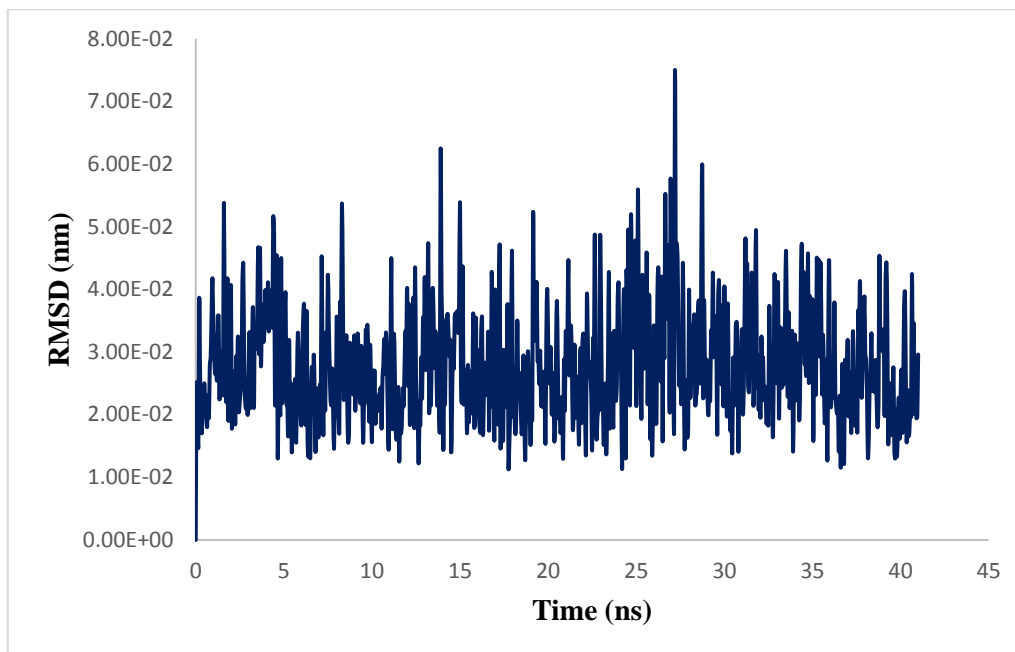
Εικόνα 53: Παράμετροι δευτερεύουσας τάξης για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα μόριο BZIMU. Τα sn-1 (μπλε χρώμα) και sn-2 (κόκκινο χρώμα) αντιστοιχούν στις δύο αλυσίδες υδρογονανθράκων των λιπιδίων.



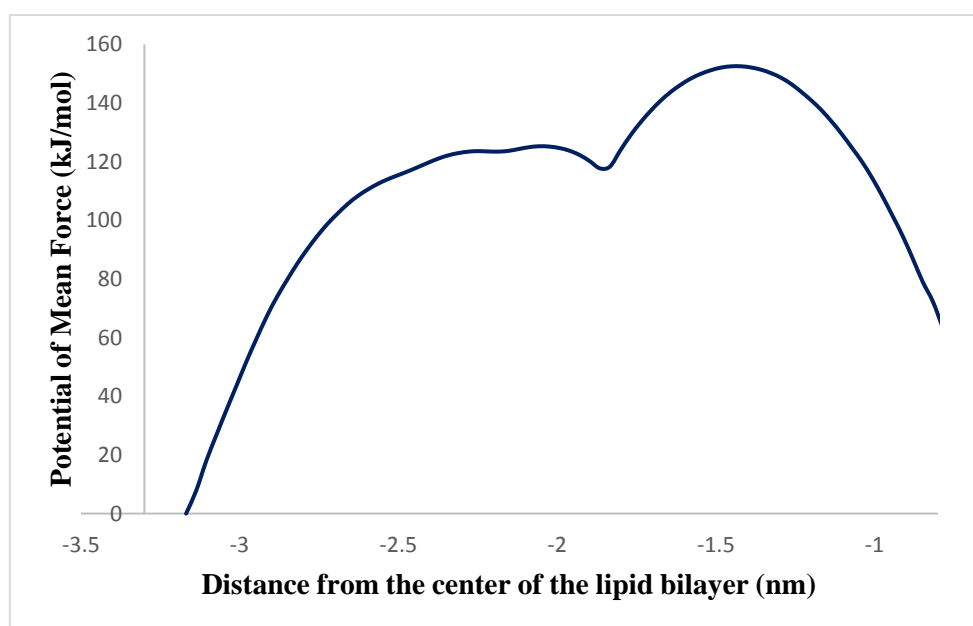
Εικόνα 54: Διάχυση για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα μόριο BZIMU. Με μπλε χρώμα φαίνεται η πλευρική διάχυση των ατόμων φωσφόρου των πολικών κεφαλών, με κόκκινο του μορίου BZIMU, και με πράσινο συνολικά της διπλοστιβάδας DPPC.

Στο διάγραμμα για την πλευρική διάχυση των ατόμων φωσφόρου των πολικών κεφαλών (Εικ. 54), παρατηρούμε, όπως και στην περίπτωση της διπλοστιβάδας DPPC χωρίς εισαγωγή μορίου, μία διακύμανση με την πάροδο του χρόνου με τάση αυτών να

απομακρύνονται σε σχέση με το κέντρο μάζας του συστήματος. Επίσης φαίνεται και η διάχυση του μορίου *BZIMU*, το οποίο από την απότομη κλίση της καμπύλης, παρουσιάζει πιθανότατα μία τάση να διαρρήξει την διπλοστιβάδα



Εικόνα 55: Τετραγωνική ρίζα μέσης τετραγωνικής μετατόπισης του μορίου BZIMU σε διπλοστιβάδα DPPC, σε συνάρτηση με τον χρόνο.

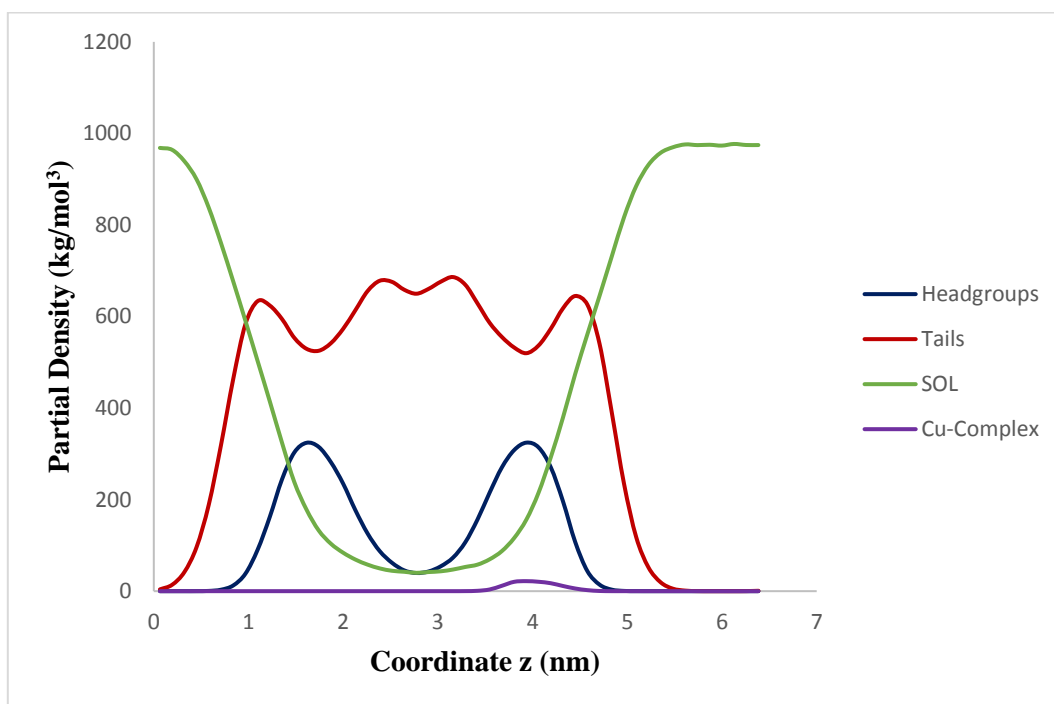


Εικόνα 56: Δυναμικό μέσης δύναμης συναρτήσει της συντεταγμένης z για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα μόριο BZIMU.

Από το διάγραμμα της τετραγωνικής ρίζας μέσης τετραγωνικής μετατόπισης του μορίου *BZIMU* (Εικ. 55), φαίνεται ότι το μόριο αυτό έχει μία τάση να σταθεροποιείται στην θέση του κατά την μελέτη στατικής δυναμικής, με τις διακυμάνσεις που εμφανίζονται να οφείλονται σε στερικές αλληλεπιδράσεις.

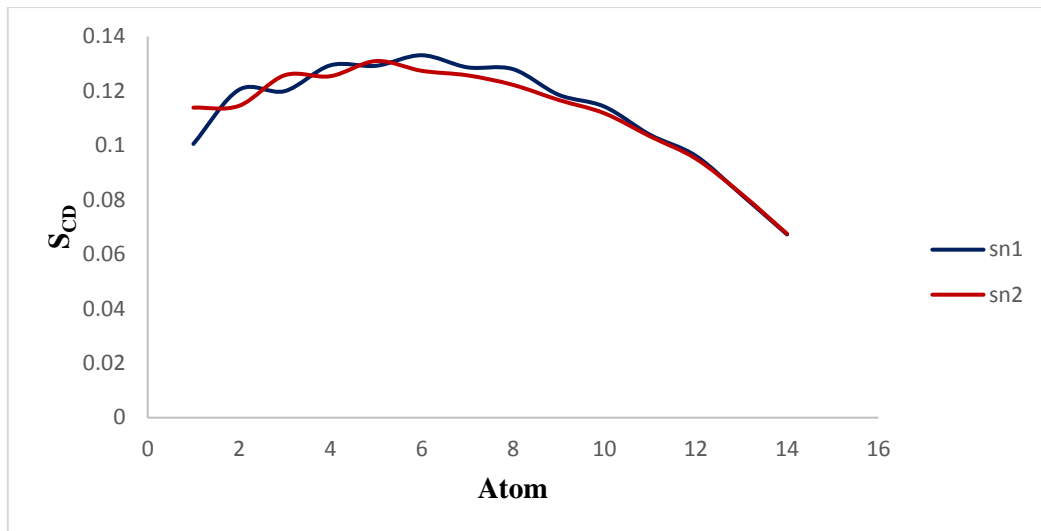
Από το διάγραμμα του δυναμικού μέσης δύναμης κατά την εφαρμογή δυναμικού στο μόριο *BZIMU* (Εικ. 56) φαίνονται τα ενεργειακά σύνορα κατά την μετακίνηση του μορίου από το πολικό τμήμα της μεμβράνης προς το εσωτερικό της. Επίσης βλέπουμε ότι καθώς το μόριο εισέρχεται στην διπλοστιβάδα, η ελεύθερη ενέργεια αυξάνεται μιας και η κίνηση είναι λιγότερο ευνοημένη λόγω της υδροφοβικότητας των ουρών των λιπιδίων στο εσωτερικό της διπλοστιβάδας.

III. 3. 1. 3. Διπλοστιβάδα DPPC με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex



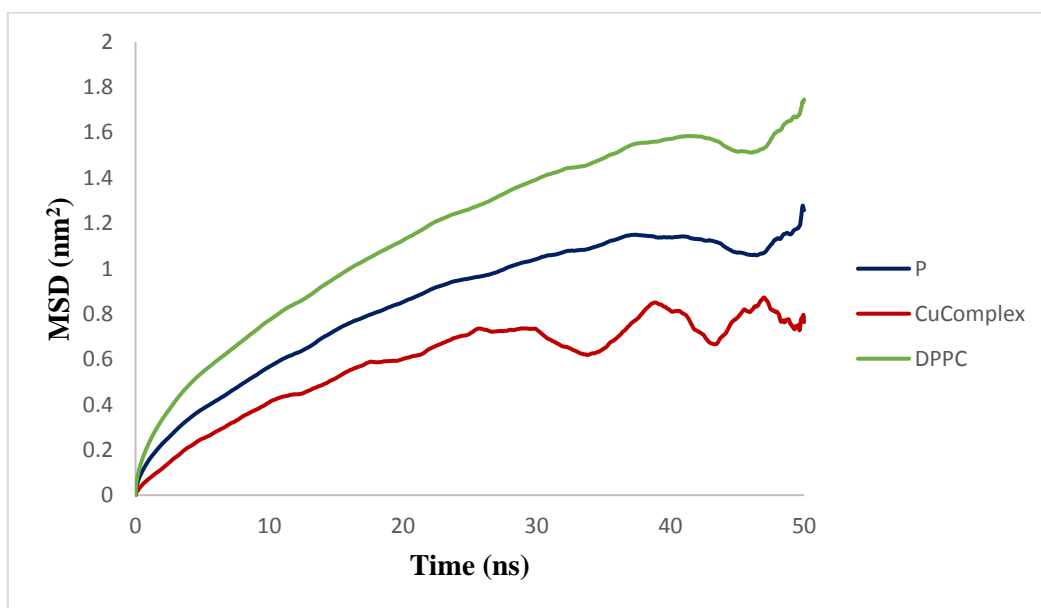
Εικόνα 57: Μερική πυκνότητα μάζας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex. Με μπλε χρώμα αναπαρίστανται οι πολικές κεφαλές της διπλοστιβάδας, με κόκκινο οι αλυσίδες υδρογονθράκων (ουρές), με μωβ το μόριο CuComplex, και με πράσινο το νερό.

Στο διάγραμμα για την μερική πυκνότητα μάζας του συστήματος διπλοστιβάδας DPPC με την εισαγωγή σε αυτή του συμπλόκου (Εικ. 57), φαίνεται το ελάχιστο στην πυκνότητα των ουρών των λιπιδίων στο εσωτερικό της μεμβράνης. Ωστόσο, η πυκνότητα στο κέντρο έχει υψηλότερη τιμή από ότι στα προηγούμενα συστήματα. Πιθανή αιτία για αυτό, είναι οι αλληλεπιδράσεις που οφείλονται στην παρουσία του μετάλλου του συμπλόκου στο εσωτερικό της μεμβράνης, προκαλώντας μία πύκνωση των υδρογονανθρακικών αλυσίδων των ουρών, χωρίς ωστόσο να προκαλεί δίπλωση αυτών, όπως φαίνεται και στο επόμενο διάγραμμα (Εικ. 58). Επίσης τα όρια της μεμβράνης είναι περίπου στα 5 nm, ενώ φαίνεται και η πυκνότητα μάζας του συμπλόκου (CuComplex) στο πολικό τμήμα της μεμβράνης.

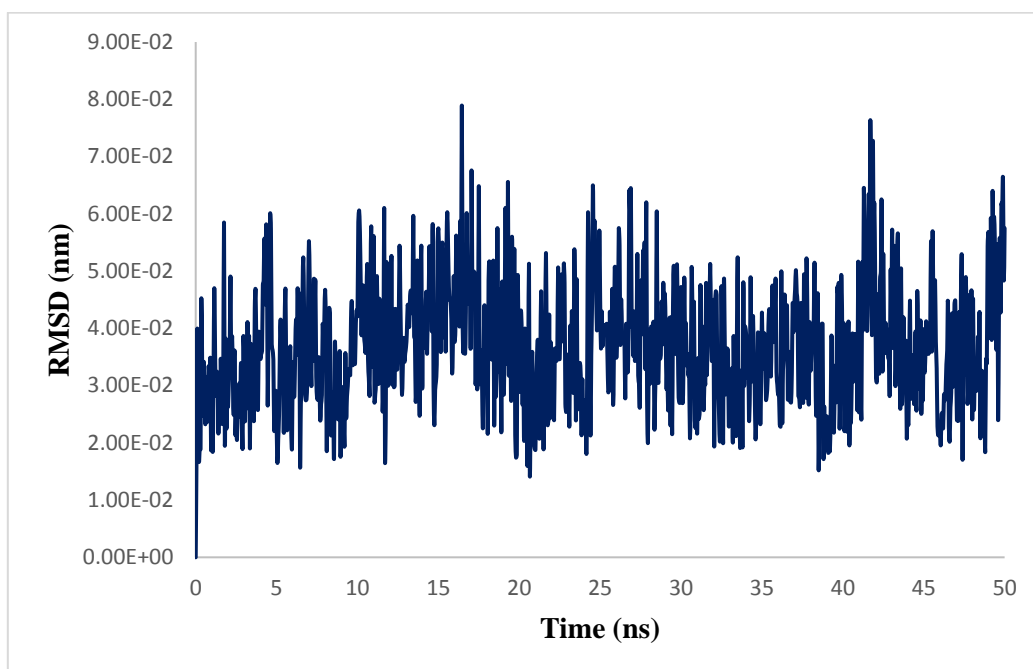


Εικόνα 58: Παράμετροι δευτερεύουσας τάξης για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex. Τα sn-1 (μπλε χρώμα) και sn-2 (κόκκινο χρώμα) αντιστοιχούν στις δύο αλυσίδες υδρογονανθράκων των λιπιδίων.

Στο διάγραμμα για την πλευρική διάχυση των ατόμων φωσφόρου των πολικών κεφαλών (Εικ. 59), παρατηρούμε, όπως και στην περίπτωση της διπλοστιβάδας DPPC χωρίς εισαγωγή μορίου, αλλά και με εισαγωγή του μορίου BZIMU, μία τάση αυτών να απομακρύνονται σε σχέση με το κέντρο μάζας του συστήματος. Επίσης φαίνεται και η διάχυση του μορίου CuComplex, το οποίο επίσης παρουσιάζει διακύμανση κατά την διάχυσή του

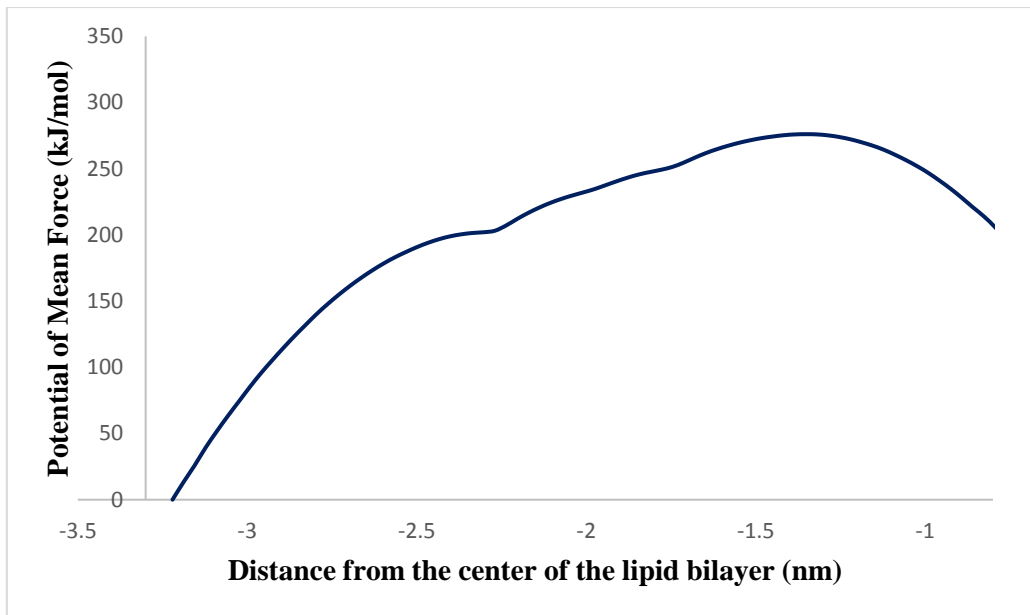


Εικόνα 59: Διάχυση για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex. Με μπλε χρώμα φαίνεται η πλευρική διάχυση των ατόμων φωσφόρου των πολικών κεφαλών, με κόκκινο του μορίου CuComplex, και με πράσινο συνολικά της διπλοστιβάδας DPPC.



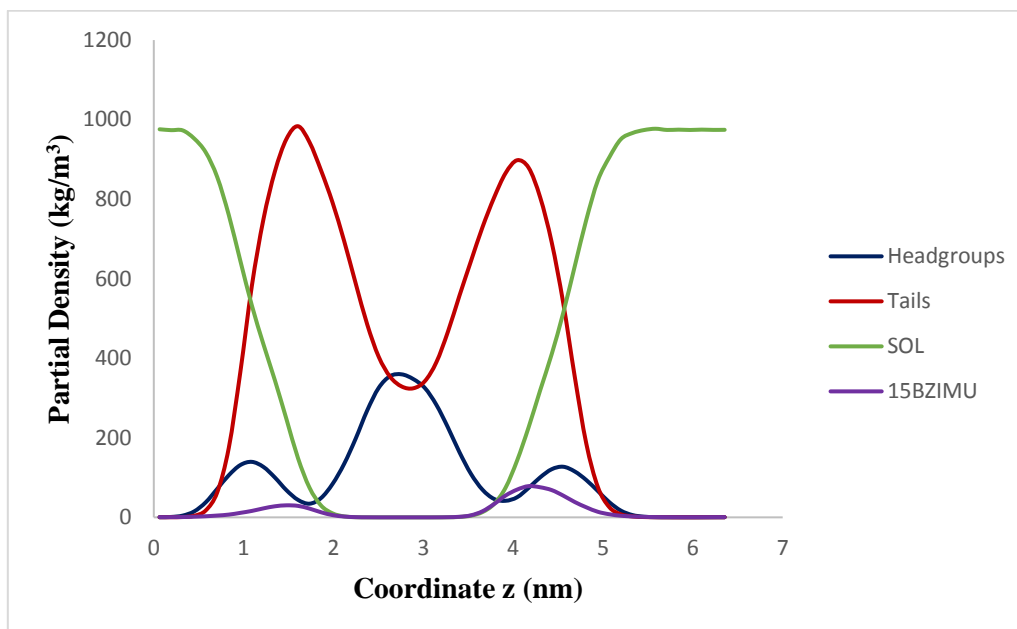
Εικόνα 60: Τετραγωνική ρίζα μέσης τετραγωνικής μετατόπισης του συμπλόκου *CuComplex* σε διπλοστιβάδα *DPPC*, σε συνάρτηση με τον χρόνο

Από το διάγραμμα της τετραγωνικής ρίζας μέσης τετραγωνικής μετατόπισης του μορίου *CuComplex* (Εικ. 60), φαίνεται ότι το μόριο έχει μία τάση να σταθεροποιείται στην θέση του κατά την μελέτη στατικής δυναμικής. Ωστόσο και σε αυτή την περίπτωση, όπως και με το μόριο *BZIMU*, λόγω στερικών αλληλεπιδράσεων υπάρχουν διακυμάνσεις. Από το διάγραμμα του δυναμικού μέσης δύναμης κατά την εφαρμογή δυναμικού στο μόριο *CuComplex* (Εικ. 61) φαίνονται τα ενεργειακά σύνορα κατά την μετακίνηση του μορίου από το πολικό τμήμα της μεμβράνης προς το εσωτερικό της. Επίσης βλέπουμε ότι καθώς το μόριο εισέρχεται στην διπλοστιβάδα, η ελεύθερη ενέργεια αυξάνεται.



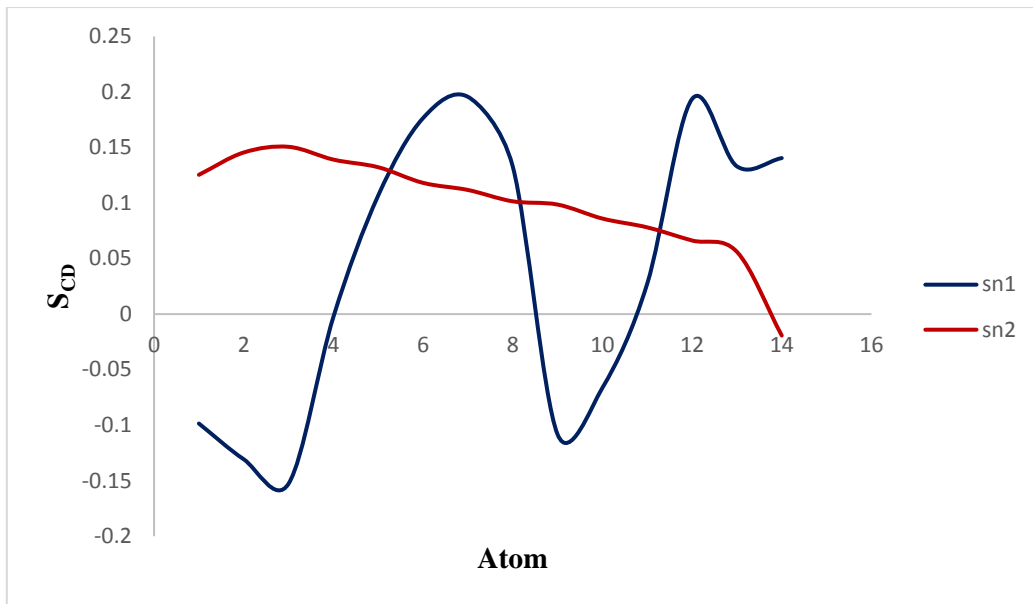
Εικόνα 61: Δυναμικό μέσης δύναμης ως συνάρτηση της συντεταγμένης z για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex.

III. 3. 1. 4. Διπλοστιβάδα *dipalmitoyl-phosphatidyl-choline (DPPC)* με 15 μόρια *BZIMU*

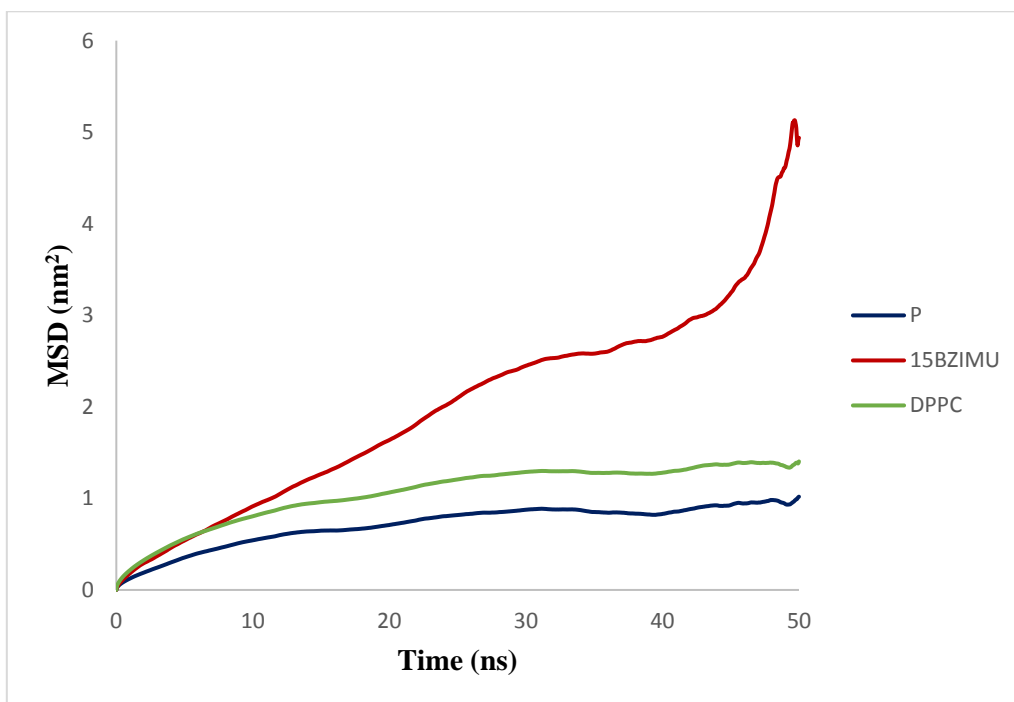


Εικόνα 62: Μερική πυκνότητα μάζας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με 15 μόρια BZIMU. Με μπλε χρώμα αναπαρίστανται οι πολικές κεφαλές της διπλοστιβάδας, με κόκκινο οι αλυσίδες υδρογονθράκων (ουρές), με μωβ τα μόρια BZIMU, και με πράσινο το νερό.

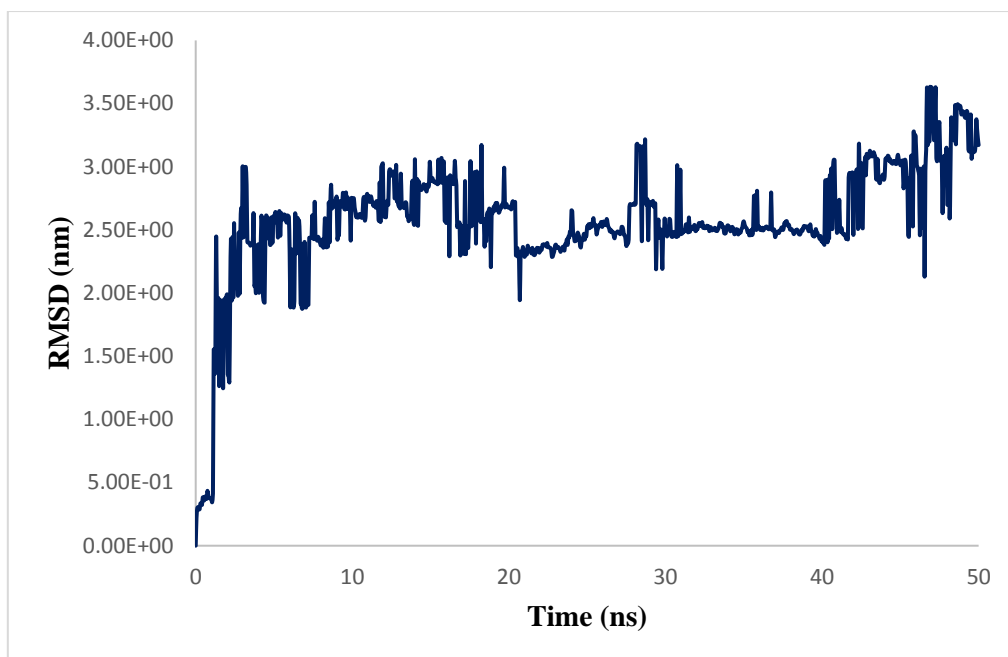
Στο διάγραμμα για την μερική πυκνότητα μάζας του συστήματος διπλοστιβάδας DPPC με την εισαγωγή σε αυτή 15 μορίων BZIMU (Εικ. 62), φαίνεται το ελάχιστο στην πυκνότητα των ουρών των λιπιδίων στο εσωτερικό της μεμβράνης. Σε αυτή την περίπτωση, η πυκνότητα των πολικών κεφαλών παρουσιάζει μέγιστο στο εσωτερικό της διπλοστιβάδας. Πιθανή αιτία για αυτό, είναι ότι με την εισαγωγή των 15 μορίων BZIMU πιέζονται τα λιπίδια να αναδιαταχθούν παρουσιάζοντας με αυτό τον τρόπο πυκνώματα. Αυτό διαφαίνεται και στο παρακάτω διάγραμμα παραμέτρων δευτερεύουσας τάξης (Εικ. 63) όπου είναι προφανής η δίπλωση των υδρογονανθρακικών αλυσίδων των λιπιδικών ουρών. Τα όρια της μεμβράνης είναι περίπου στα 5 nm, ενώ φαίνεται και η πυκνότητα μάζας των μορίων BZIMU (15BZIMU) στην μεμβράνη.



Εικόνα 63: Παράμετροι δευτερεύουσας τάξης για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με 15 μόρια BZIMU. Τα sn-1 (μπλε χρώμα) και sn-2 (κόκκινο χρώμα) αντιστοιχούν στις δύο αλυσίδες υδρογονανθράκων των λιπιδίων.



Εικόνα 64: Διάχυση για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με 15 μόρια BZIMU. Με μπλε χρώμα φαίνεται η πλευρική διάχυση των ατόμων φωσφόρου των πολικών κεφαλών, με κόκκινο των μορίων BZIMU, και με πράσινο συνολικά της διπλοστιβάδας DPPC.



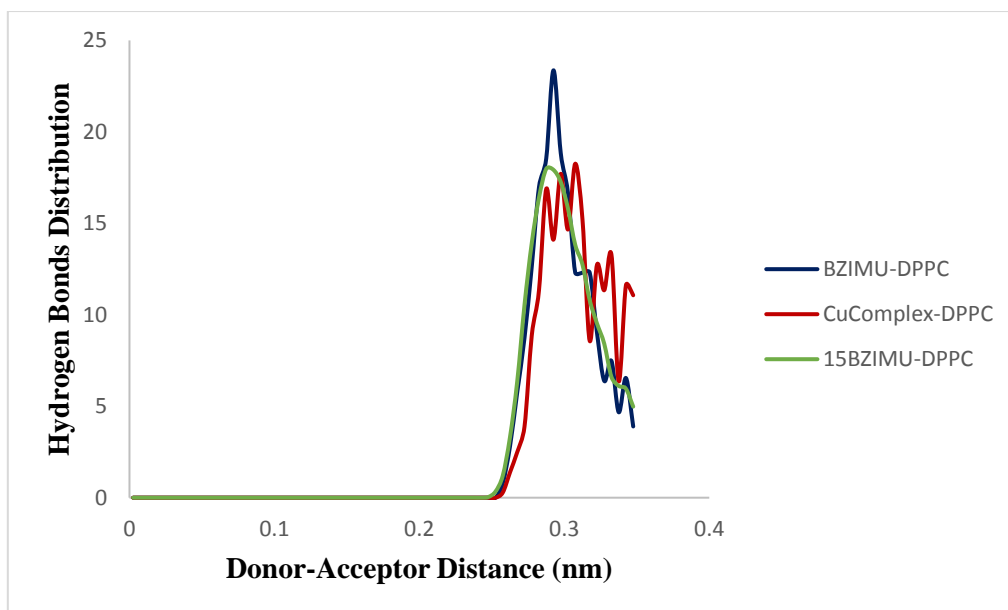
Εικόνα 65: Τετραγωνική ρίζα μέσης τετραγωνικής μετατόπισης των 15 μορίων *BZIMU* σε διπλοστιβάδα *DPPC*, σε συνάρτηση με τον χρόνο.

Στο διάγραμμα για την διάχυση (Εικ. 64) και από την καμπύλη για τα 15 μόρια *BZIMU*, παρατηρούμε μία υψηλή τάση αυτών να διαχυθούν διαμέσου της διπλοστιβάδας. Από το διάγραμμα της τετραγωνικής ρίζας μέσης τετραγωνικής μετατόπισης των 15 μορίων *BZIMU* (Εικ. 65), φαίνεται ότι τα μόρια έχουν την τάση να αποσταθεροποιούνται από τις θέσεις τους κατά την μελέτη στατικής δυναμικής. Οι διακυμάνσεις λόγω στερικών αλληλεπιδράσεων είναι και εδώ εμφανείς.

III. 3. 1. 5. Αξιολόγηση αποτελεσμάτων και σύγκριση συστημάτων με διπλοστιβάδα *DPPC*

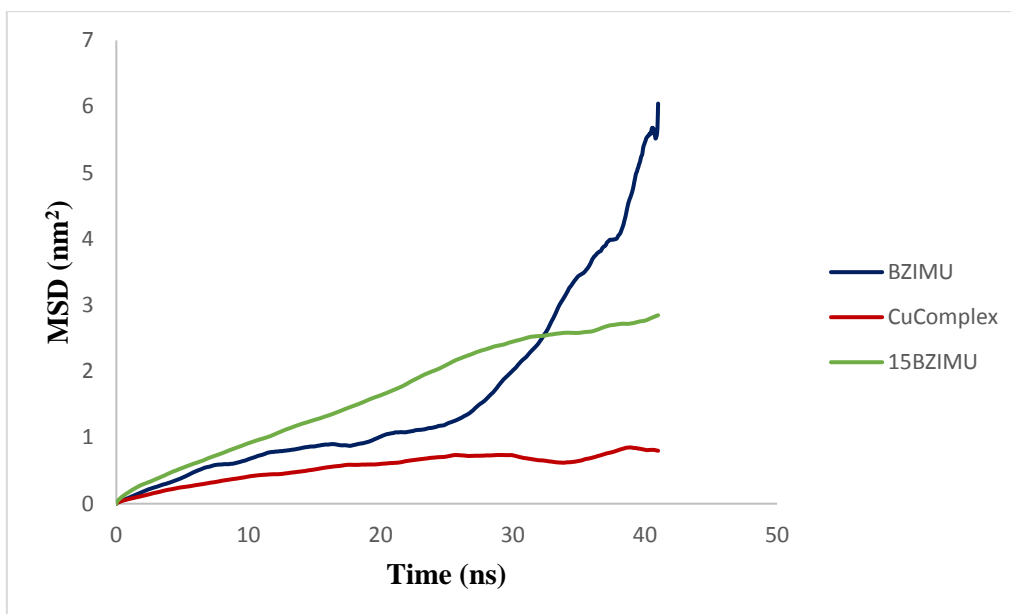
Για την αξιολόγηση του πρωτοκόλλου κατασκευής των διπλοστιβάδων, κατασκευάσαμε το προφίλ μερικής πυκνότητας των συστημάτων. Καθώς οι μεμβράνες είναι πολύπλοκα συστήματα για να προσομοιωθούν, η σωστή ρευστότητα ελέγχθηκε σχεδιάζοντας το προφίλ μερικής πυκνότητας του συστήματος. Το προφίλ πυκνότητας για το σύστημα διπλοστιβάδας *DPPC* συμφωνεί με τα ήδη δημοσιευμένα πειραματικά αποτελέσματα¹⁹², καθώς και με τα αποτελέσματα προσομοιώσεων¹⁹³, που σημαίνει ότι το αντίστοιχο σύστημα είναι σωστά εξισορροπημένο. Το πάχος της μεμβράνης *DPPC* είναι περίπου 5 nm. Το ευδιάκριτο ελάχιστο στο κέντρο της διπλοστιβάδας, λόγω της αταξίας των ουρών των λιπιδίων είναι επίσης παρόν. Η απόσταση στην οποία η πυκνότητα των πολικών κεφαλών μειώνεται από το 90 % στο 10 % της μέγιστης τιμής, είναι το πάχος της διεπιφάνειας. Προσομοίωση πλήρως ενυδατωμένης μεμβράνης *DPPC*, δίνει τιμή μικρότερη από 1 nm, κάτι το οποίο υποδηλώνει ελάχιστη εγκάρσια κίνηση των λιπιδίων και διείσδυση νερού.

Τα σχήματα για τις μερικές πυκνότητες μάζας (*Εικ. 49, 52, 57, 62*) δείχνουν ότι τόσο το μόριο *BZIMU* όσο και το σύμπλοκό του με χαλκό (*II*) βρίσκονται μέσα στις διπλοστιβάδες, κοντά στις περιοχές των κεφαλών των λιπιδίων, που αντιπροσωπεύουν την πυκνή περιοχή των μεμβρανών. Ακολούθως, δίνεται το διάγραμμα κατανομής δεσμών υδρογόνου συναρτήσει της απόστασης δότη και δέκτη για κάθε σύστημα διπλοστιβάδας *DPPC* (*Εικ. 66*).



Εικόνα 66: Κατανομή δεσμών υδρογόνου μεταξύ διπλοστιβάδας DPPC και μορίου BZIMU (μπλε χρώμα), συμπλόκου CuComplex (κόκκινο χρώμα), και 15 μορίων BZIMU (πράσινο χρώμα).

Λόγω της παρουσίας πολικών κεφαλών, τα λιπίδια της μεμβράνης έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου μεταξύ τους και με τα μόρια του νερού. Παρουσία ενός μορίου ή κατά την εφαρμογή διαφορετικών συνθηκών από τις κανονικές, όπως η θερμοκρασία και η ιοντική ισχύς, αυτή η ικανότητα μεταβάλλεται. Παρουσία αλληλεπιδρώντος μορίου ο αριθμός των δεσμών υδρογόνου αυξάνεται, πράγμα που συνάδει με το γεγονός ότι η διείσδυση των μορίων νερού στη μεμβράνη αυξάνεται και συνεπώς η εσωτερική δομή της μεμβράνης αλλάζει. Πρέπει να σημειωθεί ότι όταν τα μόρια διεισδύουν στη μεμβράνη, διέρχονται από μια περιοχή με ομάδες φορτισμένων κεφαλών λιπιδίων, οι οποίες έχουν υψηλό ιξώδες, παρουσία ενός εκτεταμένου δικτύου δεσμών υδρογόνου με χαμηλή διαπερατότητα. Για το λόγο αυτό, η διείσδυση μορίων στη μεμβράνη εξαρτάται από το πάχος της μεμβράνης, τον τύπο των πολικών κεφαλών, την παρουσία πόρων και εναλλακτικούς μηχανισμούς, όπως κυκλικές τομές ή διακλαδώσεις μεθυλίου, για την παροχή κενών ή κοιλοτήτων εντός της μεμβράνης επιτρέποντας την μεταφορά μέσω αυτών. Ο μέγιστος αριθμός δεσμών υδρογόνου παρατηρείται όταν το κάθε μεμονωμένο μόριο (BZIMU και CuComplex) βρίσκεται στο υδρόφιλο τμήμα της μεμβράνης και κοντά στην περιοχή του υδάτινου περιβάλλοντος. Καθώς το μόριο κινείται από την υδάτινη περιοχή σε ισορροπία, συμβαίνει μείωση του αριθμού των δεσμών υδρογόνου, η οποία παρατηρείται καθώς μετατοπίζεται εντός της διπλοστιβάδας.



Εικόνα 67: Διάχυση σε συνάρτηση με τον χρόνο για τα μόρια που εισήχθησαν στην διπλοστιβάδα DPPC: για το μόριο BZIMU (μπλε χρώμα), το σύμπλοκο μόριο CuComplex (κόκκινο χρώμα), και τα 15 μόρια BZIMU (πράσινο χρώμα).

Η δυναμική της πλευρικής διάχυσης των λιπιδίων σε κάθε σύστημα, αναλύθηκε σχεδιάζοντας την μέση τετραγωνική μετατόπιση (Εικ. 67), και υπολογίζοντας τον συντελεστή διάχυσης από τις αντίστοιχες προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής. Για τα συστήματα με την μεμβράνη DPPC, και με χρήση του υπολογιστικού προγράμματος GROMACS, προέκυψαν οι συντελεστές πλευρικής διάχυσης για τα άτομα φωσφόρου των πολικών κεφαλών των λιπιδίων (Πίνακας 8), καθώς και οι συντελεστές διάχυσης των μορίων που εισήχθησαν στην διπλοστιβάδα (Πίνακας 9).

Πίνακας 8: Συντελεστής πλευρικής διάχυσης για τα άτομα φωσφόρου των πολικών κεφαλών της διπλοστιβάδας DPPC ($\cdot 10^{-5} \text{cm}^2/\text{sec}$), όπως προέκυψαν από το υπολογιστικό πακέτο GROMACS.

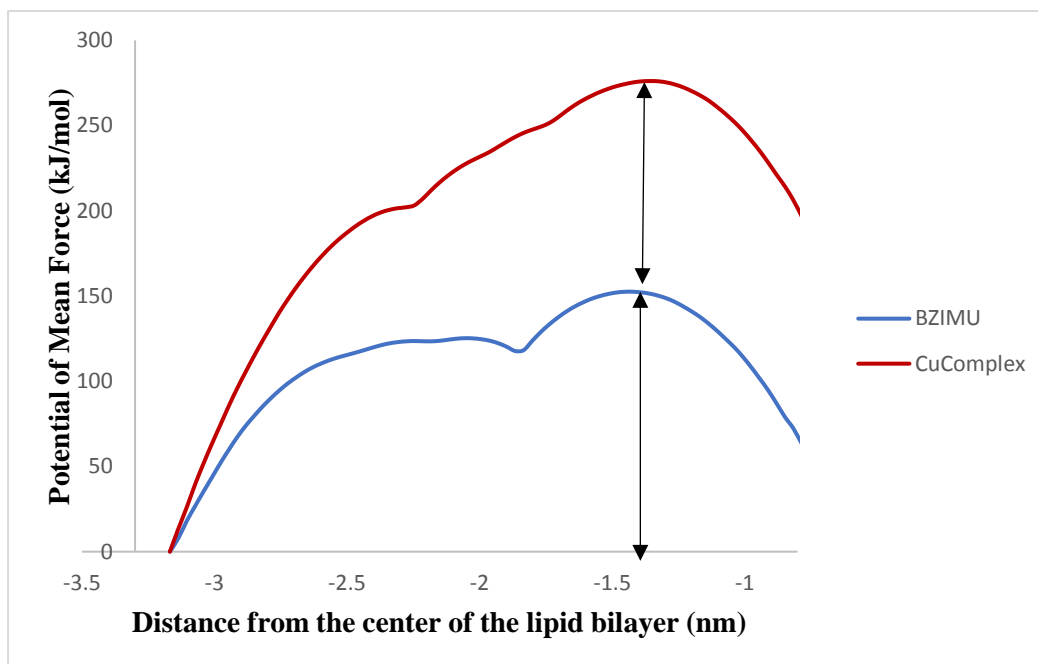
Σύστημα	DPPC	DPPC-BZIMU	DPPC-CuComplex	DPPC-15BZIMU
Μέσος Συντελεστής πλευρικής διάχυσης (P) ($\cdot 10^{-5} \text{cm}^2/\text{s}$)	4.5×10^{-3}	4.8×10^{-3}	4.7×10^{-3}	2.9×10^{-3}

Πίνακας 9: Συντελεστής διάχυσης των μορίων που εισήχθησαν σε διπλοστιβάδα DPPC (*10⁻⁵ cm²/s), όπως προέκυψαν από το υπολογιστικό πακέτο GROMACS

<i>Μόρια σε διπλοστιβάδα DPPC</i>	<i>Μέσος Συντελεστής διάχυσης μορίων (*10⁻⁵ cm²/s)</i>
<i>BZIMU</i>	2.1x10 ⁻²
<i>CuComplex</i>	3x10 ⁻³
<i>15BZIMU</i>	1.6x10 ⁻²

Από το διάγραμμα διάχυσης σε συνάρτηση με τον χρόνο για τα μόρια που εισήχθησαν (Εικ. 67), και σε συνδυασμό με τον πίνακα για τους συντελεστές πλευρικής διάχυσης (Πίνακας 8), διαπιστώνουμε ότι μεγαλύτερη διάχυση παρατηρείται στο σύστημα με το ένα μόριο *BZIMU*, σε σχέση με τα υπόλοιπα συστήματα. Αντίθετα, στην περίπτωση του συμπλόκου παρατηρούμε ότι ο συντελεστής έχει την μικρότερη τιμή, που δηλώνει πιθανότατα ότι η παρουσία του μετάλλου στο σύμπλοκο οδηγεί σε μία τάση να παραμείνει το μόριο στην πολική περιοχή της διπλοστιβάδας αλληλεπιδρώντας με τις πολικές κεφαλές. Αυτό διαφαίνεται και παρακάτω από την σύγκριση μεταξύ των ενεργειακών συνόρων διεύθυνσης για τα δύο μόρια στην διπλοστιβάδα DPPC.

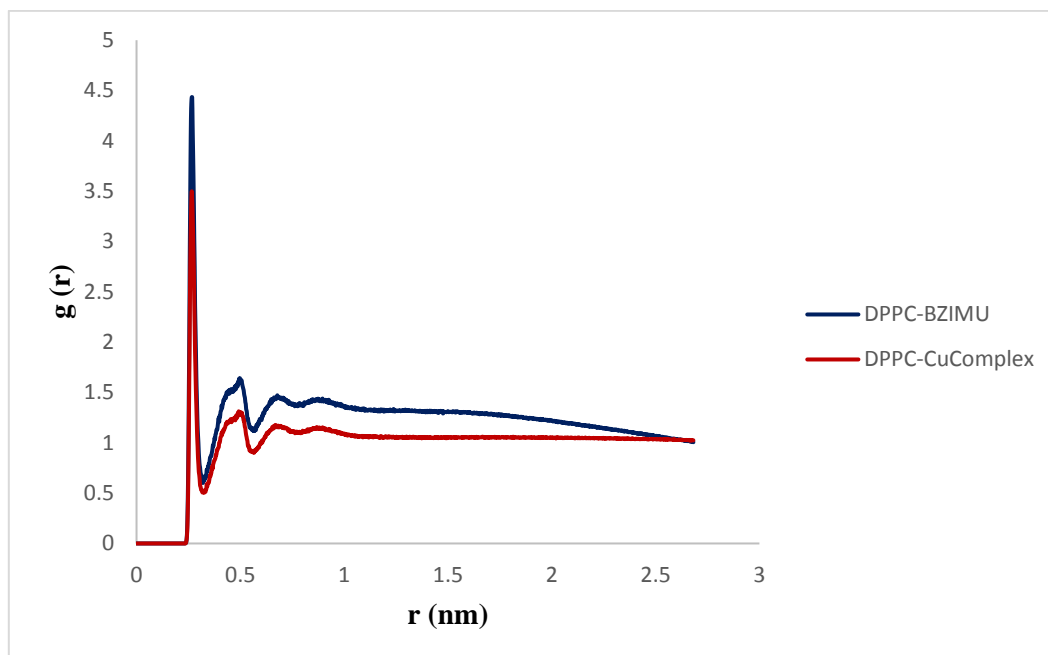
Από τα διαγράμματα της τετραγωνικής ρίζας μέσης τετραγωνικής μετατόπισης σε συνάρτηση με τον χρόνο για την στατική δυναμική μελέτη (Εικ. 55, 60), παρατηρούμε ότι το μεμονωμένο μόριο *BZIMU* και το σύμπλοκο μόριο χαλκού II (*CuComplex*), έχουν γενικά την τάση να μένουν σταθερά στις θέσεις τους με διακυμάνσεις που οφείλονται σε στερικές αλληλεπιδράσεις. Ωστόσο, στην περίπτωση των 15 μορίων *BZIMU* (Εικ. 65), διαφαίνεται μία τάση των μορίων να αποσταθεροποιούνται και να αποσπαστούν από τις καθορισμένες θέσεις τους στην διπλοστιβάδα. Επίσης από τα διαγράμματα παραμέτρων δευτερεύουσας τάξης (Εικ. 53, 58), παρατηρούμε ότι στα συστήματα όπου εισήχθησαν ένα μόριο *BZIMU*, και ένα μόριο συμπλόκου (*CuComplex*) οι λιπιδικές ουρές διατηρούν την τάξη τους σε μεγάλο βαθμό, ενώ στην περίπτωση των 15 μορίων *BZIMU* (Εικ. 63), παρατηρείται μία κάμψη τους, που πιθανότατα υποδηλώνει την διάρρηξη της μεμβράνης λόγω της συγκέντρωσης των μορίων.



Εικόνα 68: Δυναμικό Μέσης Δύναμης για τα μόρια BZIMU (μπλε χρώμα) και CuComplex (κόκκινο χρώμα) κατά την διέλευσή τους μέσα από διπλοστιβάδα DPPC υπό την επίδραση αρμονικού δυναμικού.

Στο σύστημα της διπλοστιβάδας DPPC, τυπικά, η ελεύθερη ενέργεια τέθηκε να είναι μηδενική στον όγκο του νερού, δηλαδή για $z < -3.17 \text{ nm}$. Και οι δύο ενώσεις δείχνουν μία αρχική αντίδραση σταθεροποίησης στο όριο των $115\text{-}200 \text{ kJ/mol}$, όταν εγκαταλείπουν τον διαλύτη και εισέρχονται στην περιοχή των πολικών κεφαλών της μεμβράνης, σε απόσταση περίπου 2.5 nm από το κέντρο. Μπορούν να εντοπιστούν δύο ενεργειακά σύνορα (Εικ. 68) με το πρώτο σε απόσταση περίπου 1 nm από το κέντρο, όπου η πυκνότητα παίρνει την μέγιστη τιμή της. Όταν τα πολικά μόρια εισέρχονται στην διπλοστιβάδα, η ελεύθερη ενέργεια αυξάνεται καθώς η κίνηση είναι λιγότερο ευνοημένη, λόγω των υδρόφοβων ουρών των λιπιδίων στο μέσον της διπλοστιβάδας. Η αντίστροφη συμπεριφορά εκδηλώνεται στο κέντρο της διπλοστιβάδας, όπου υπάρχει η μικρότερη πυκνότητα, και εκεί εμφανίζεται το δεύτερο ενεργειακό σύνορο. Το πρώτο ελάχιστο εμφανίζεται σε απόσταση 1.8 και 2.2 nm για το μόριο BZIMU και το σύμπλοκο (CuComplex) αντίστοιχα, που αποδίδεται στην θερμικά προσβάσιμη περιοχή του ενεργειακού συνόρου RT , δηλαδή 2.51 kJ/mol στους 323 K . Η απότομη πτώση της ενέργειας στο κέντρο της μεμβράνης οφείλεται στο σπάσιμο των δεσμών υδρογόνου μεταξύ των μορίων και του διαλύτη. Συνολικά, και για τα δύο μόρια

υπάρχει υψηλό ενεργειακό όριο διείσδυσης στην τιμή $\Delta G^{(pen)} = 275.9 \text{ kJ/mol}$ και 152.1 kJ/mol για το σύμπλοκο (*CuComplex*) και το μόριο *BZIMU*, αντίστοιχα.

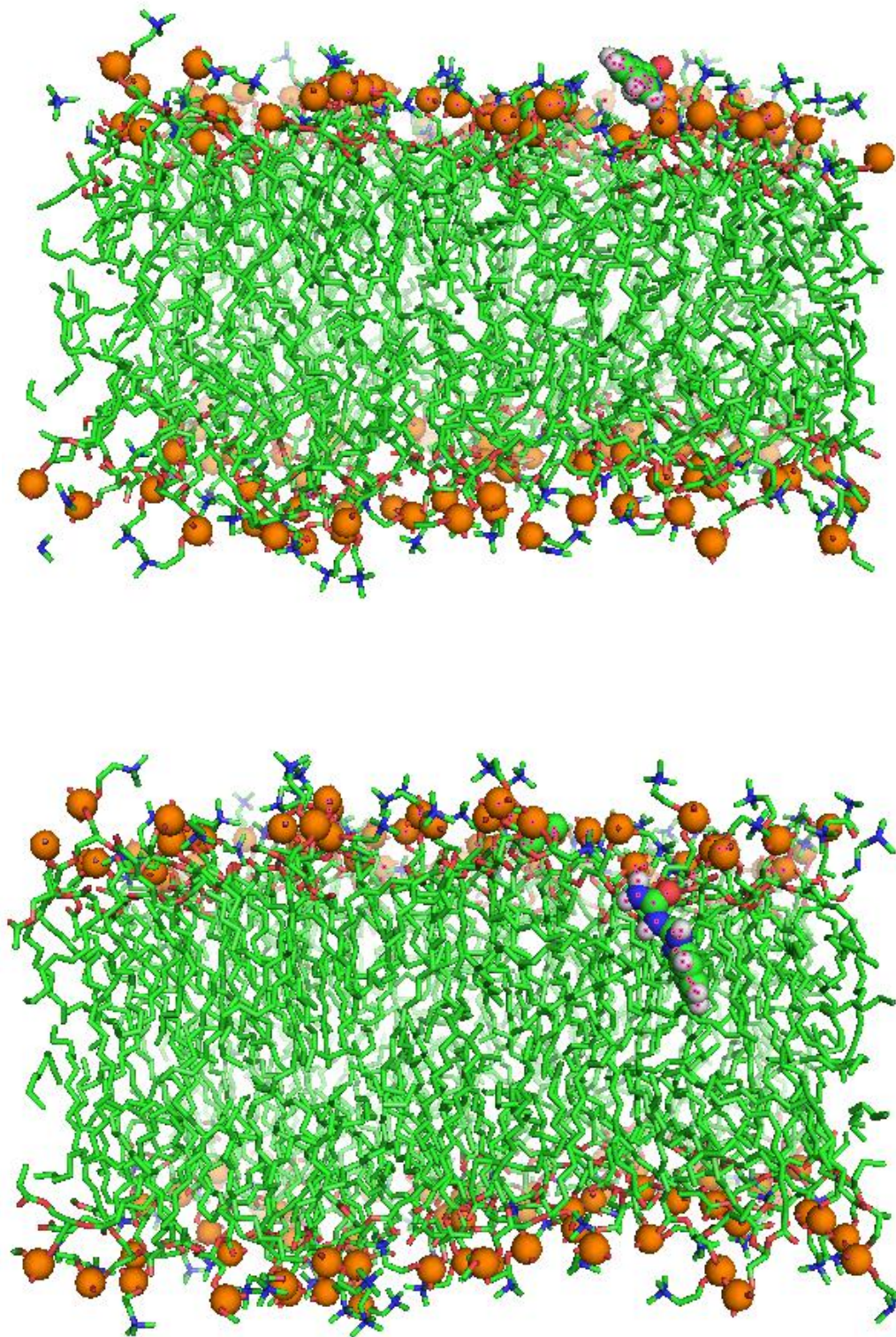


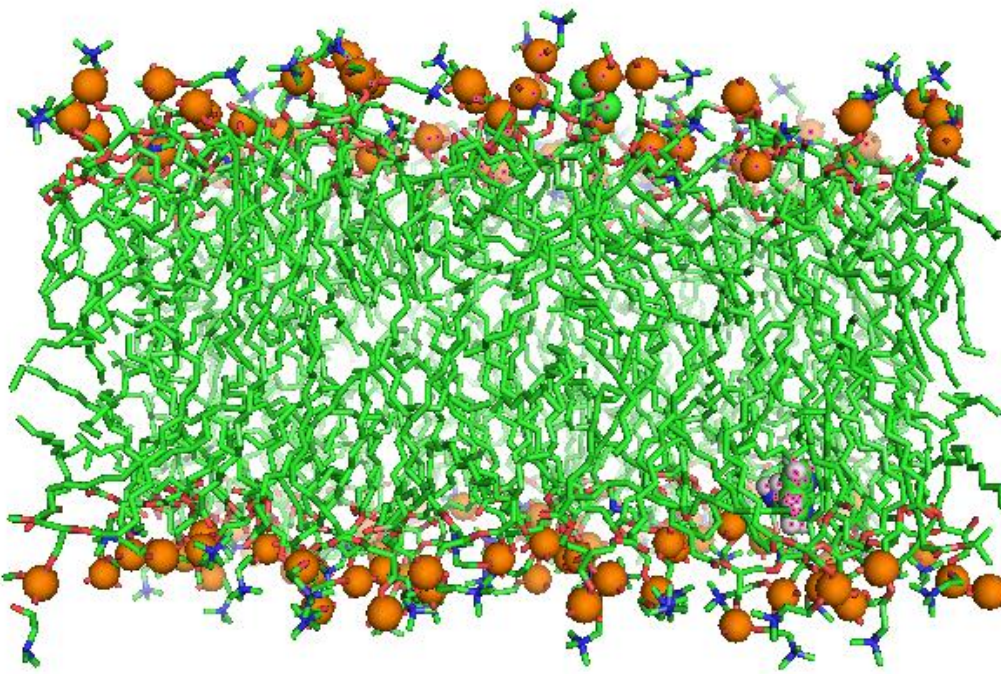
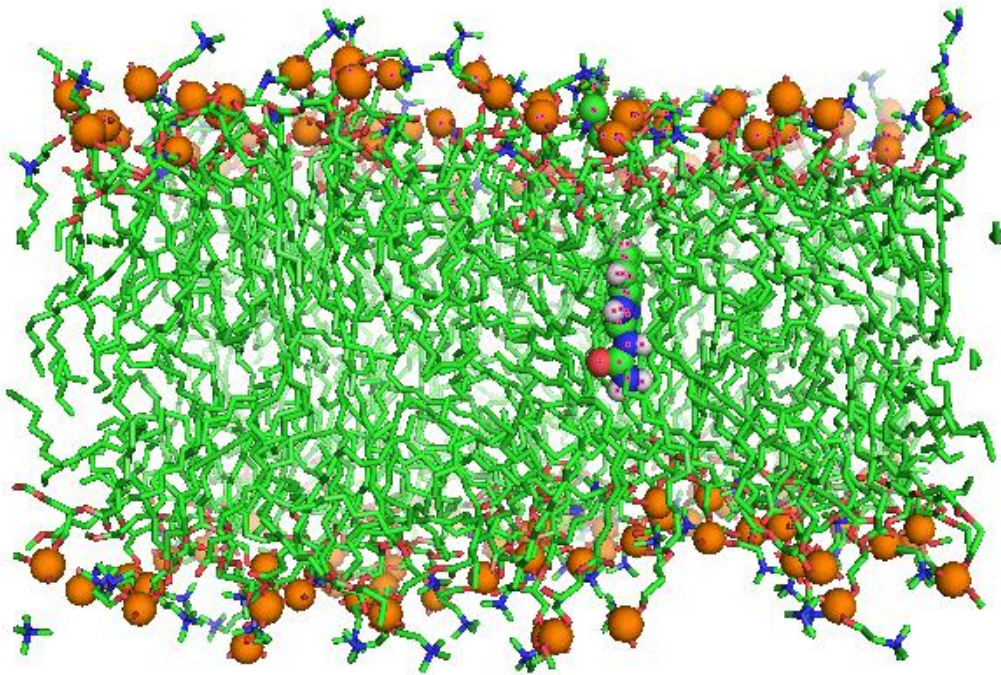
Εικόνα 69: Συνάρτηση ακτινικής κατανομής με σημείο αναφοράς την ομάδα *O-P-OW* της πολικής κεφαλής των λιπιδίων της διπλοστιβάδας *DPPC*, για τα υπό μελέτη συστήματα με μόριο *BZIMU* (μπλε χρώμα) και σύμπλοκο *CuComplex* (κόκκινο χρώμα).

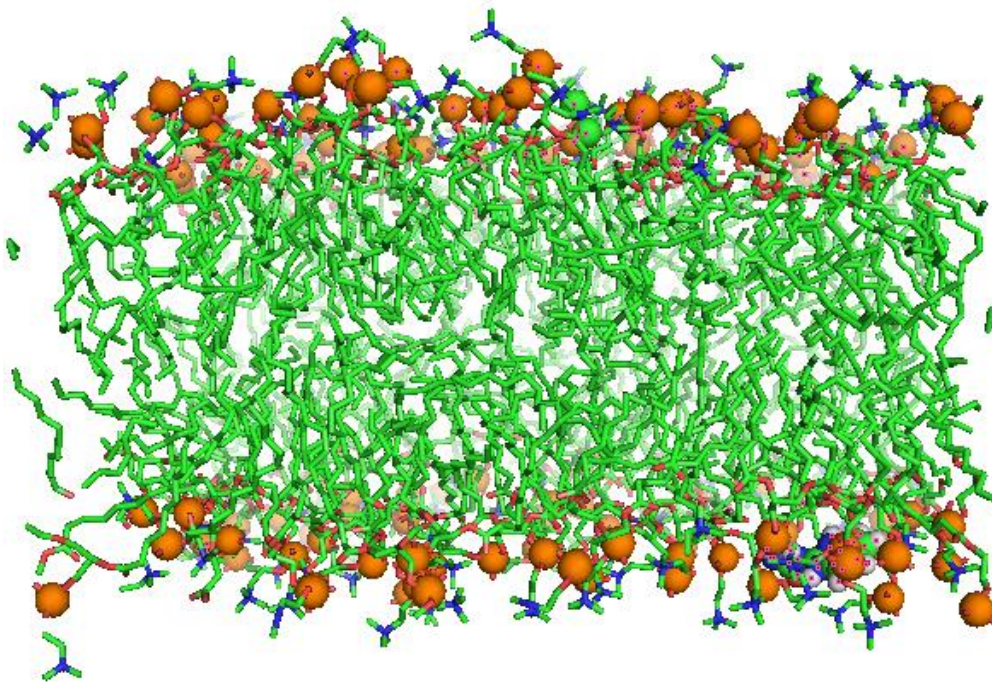
Από την σύγκριση των καμπυλών συνάρτησης ακτινικής κατανομής με σημείο αναφοράς την ομάδα *O-P-OW* της πολικής κεφαλής των λιπιδίων της διπλοστιβάδας *DPPC*, για τα υπό μελέτη συστήματα (Εικ. 69), εξάγουμε το συμπέρασμα ότι μεγαλύτερη συνδεσιμότητα υπάρχει μεταξύ διπλοστιβάδας και μορίου *BZIMU* αντί με το σύμπλοκο μόριο *CuComplex*, καθώς υπάρχει μικρότερη πυκνότητα κατανομής γύρω από το σύμπλοκο, κάτι το οποίο ίσως δικαιολογεί και την μικρότερης διάρκειας παραμονή του συμπλόκου στην πολική περιοχή της μεμβράνης, και την πιθανή διάρρηξη της μεμβράνης.

Στην συνέχεια, παρατίθενται στιγμιότυπα κατά την μετακίνηση του μορίου *BZIMU* και του συμπλόκου *CuComplex* διαμέσου της μεμβράνης *DPPC*, υπό την επίδραση δυναμικού με χρήση της μεθόδου *Umbrella Sampling*. (Εικ. 70, 71) Όπως φαίνεται, το σύμπλοκο *CuComplex* διαπερνά πιο γρήγορα την διπλοστιβάδα, σε σχέση με το μόριο *BZIMU*, που σημαίνει ότι η παρουσία του μετάλλου διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην μεταφορά του μορίου. Από τα αποτελέσματα συμπεραίνουμε, ότι δεν ευνοείται ενεργειακά η παθητική μεταφορά των μορίων *BZIMU* και του συμπλόκου του με χαλκό (*II*) (*CuComplex*) διαμέσου της μεμβράνης.

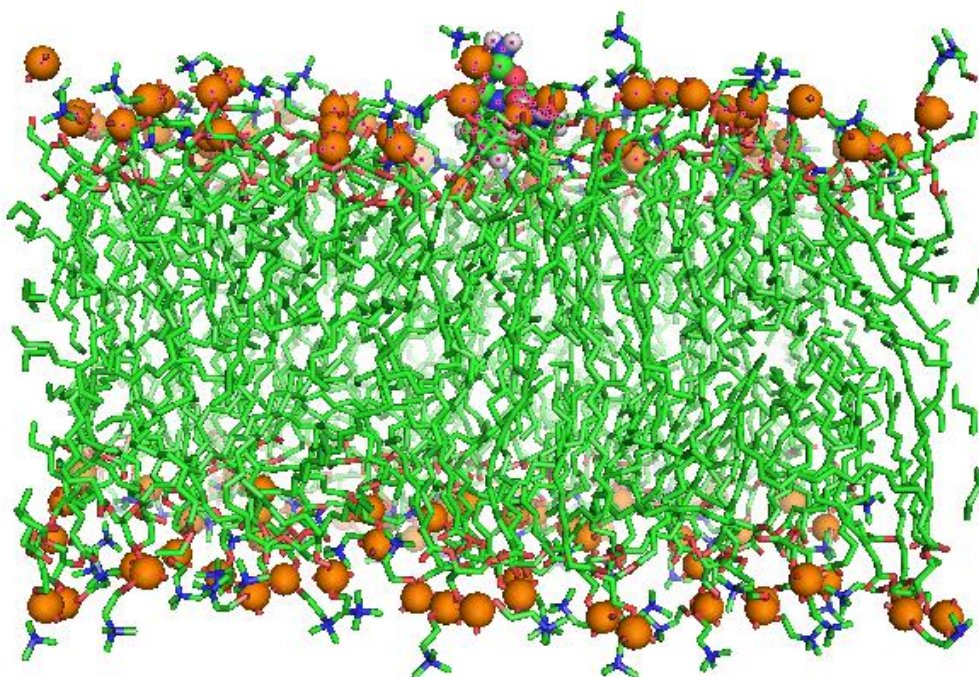
Εικόνα 70: Μετατόπιση του μεμονωμένου μορίου BZIMU καθώς διαπερνά την μεμβράνη DPPC. Τα στιγμιότυπα έχουν ληφθεί τις χρονικές στιγμές 2.0, 2.3, 2.8, 3.8 και 4.1 ns. Με πορτοκαλί και μπλε χρώμα αντίστοιχα, φαίνονται τα άτομα φωσφόρου και αζώτου των πολικών κεφαλών, με πράσινο χρώμα οι υδρογονανθρακικές αλυσίδες, και με κόκκινο και λευκό χρώμα τα μόρια νερού.

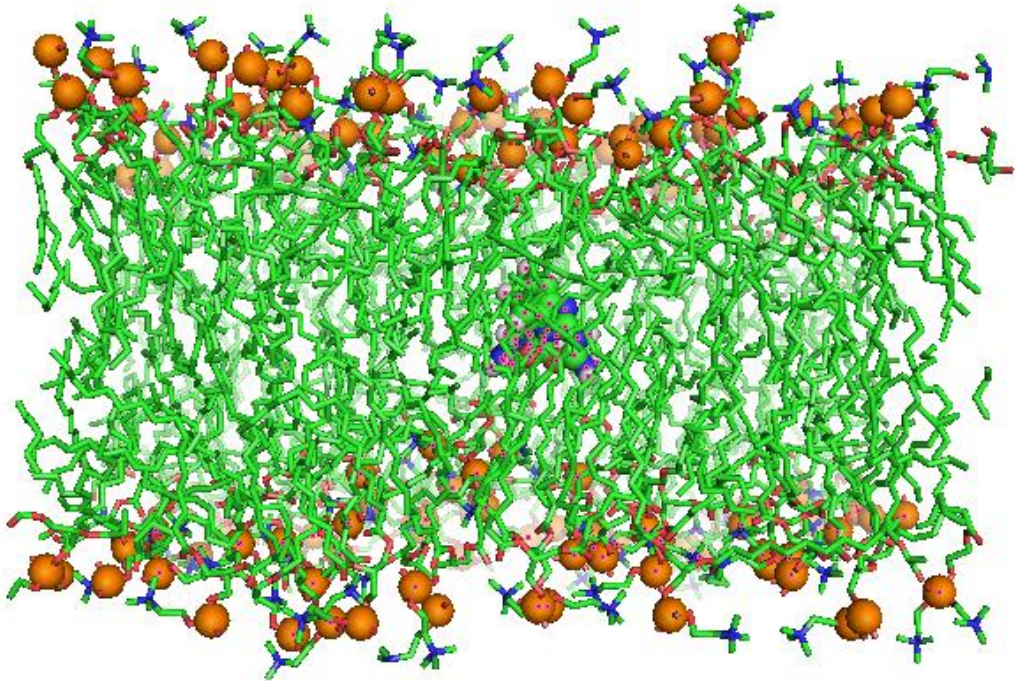
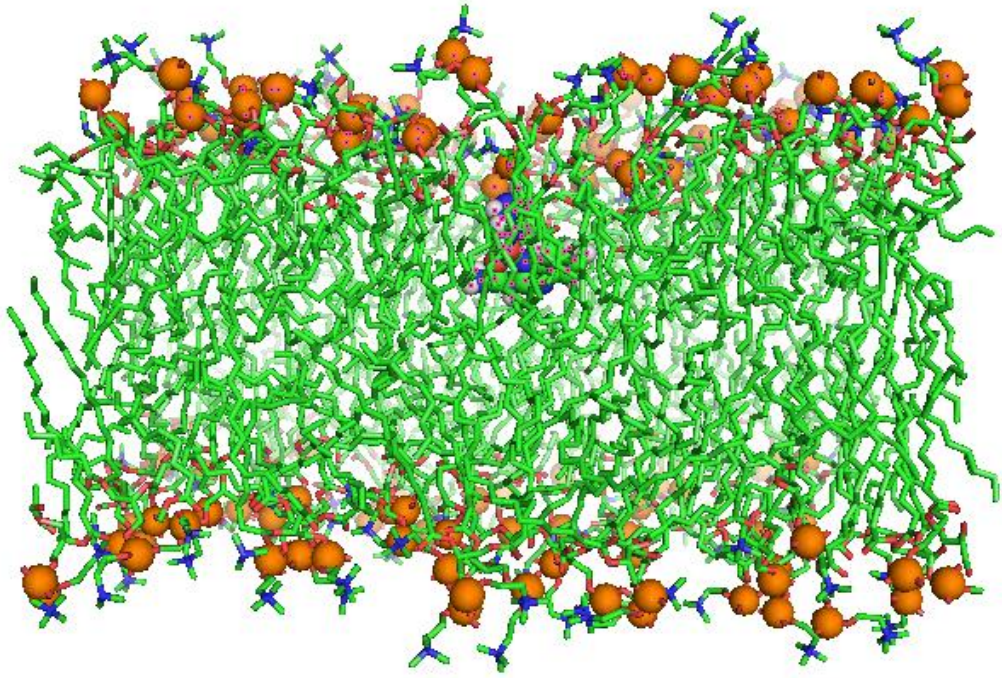


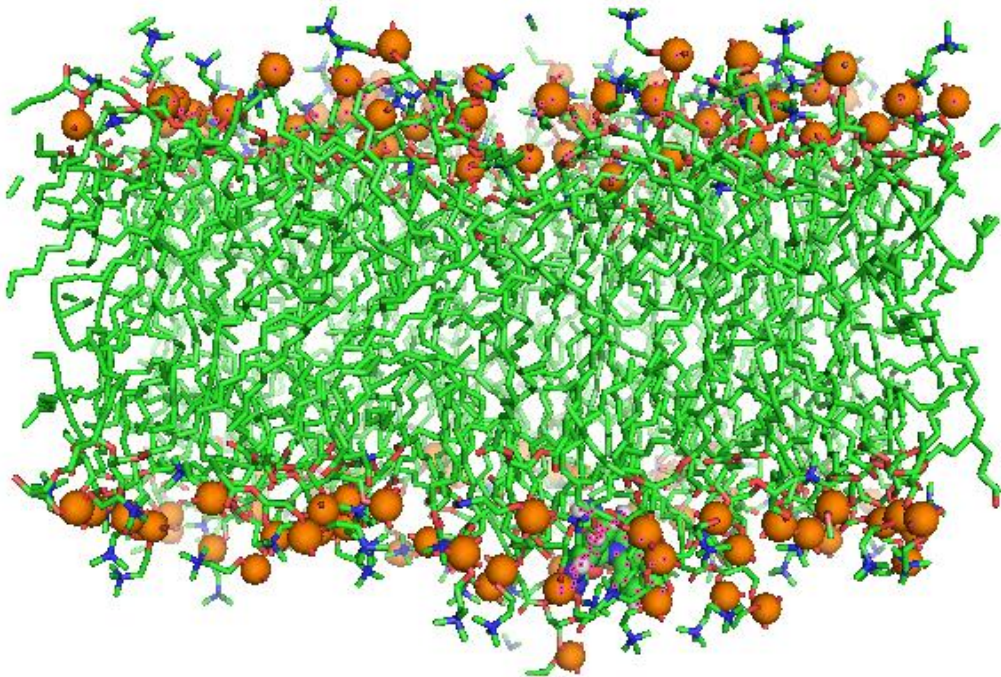
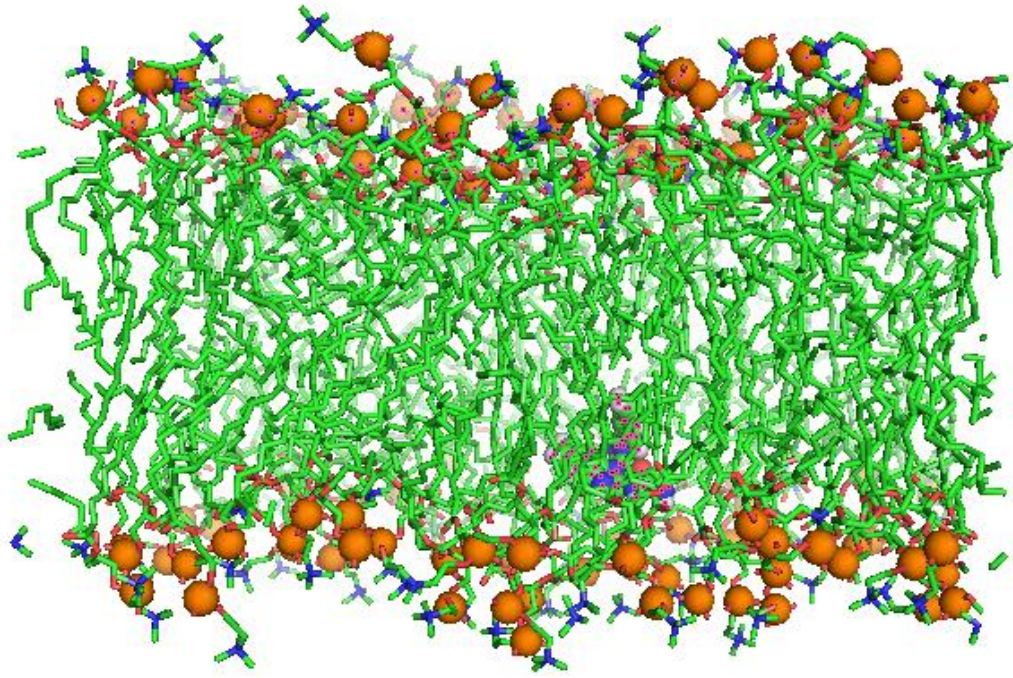




Εικόνα 71: Μετατόπιση του συμπλόκου μορίου με χαλκό (II) (CuComplex) καθώς διαπερνά την μεμβράνη DPPC. Τα στιγμιότυπα έχουν ληφθεί τις χρονικές στιγμές 1.5, 1.7, 2.3, 2.6 και 3.1 ns. Με πορτοκαλί και μπλε χρώμα αντίστοιχα, φαίνονται τα άτομα φωσφόρου και αζώτου των πολικών κεφαλών, με πράσινο χρώμα οι υδρογονανθρακικές αλυσίδες, και με κόκκινο και λευκό χρώμα τα μόρια νερού.



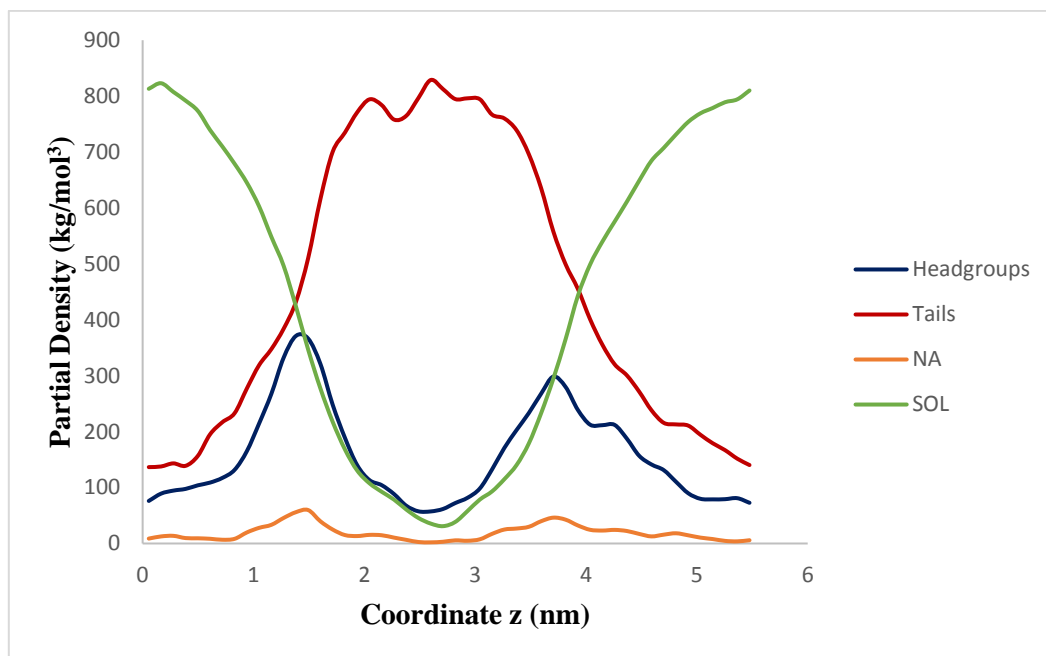




III. 3. 2. Συστήματα με διπλοστιβάδα *dipalmitoyl phosphatidylglycerol (DPPG)*

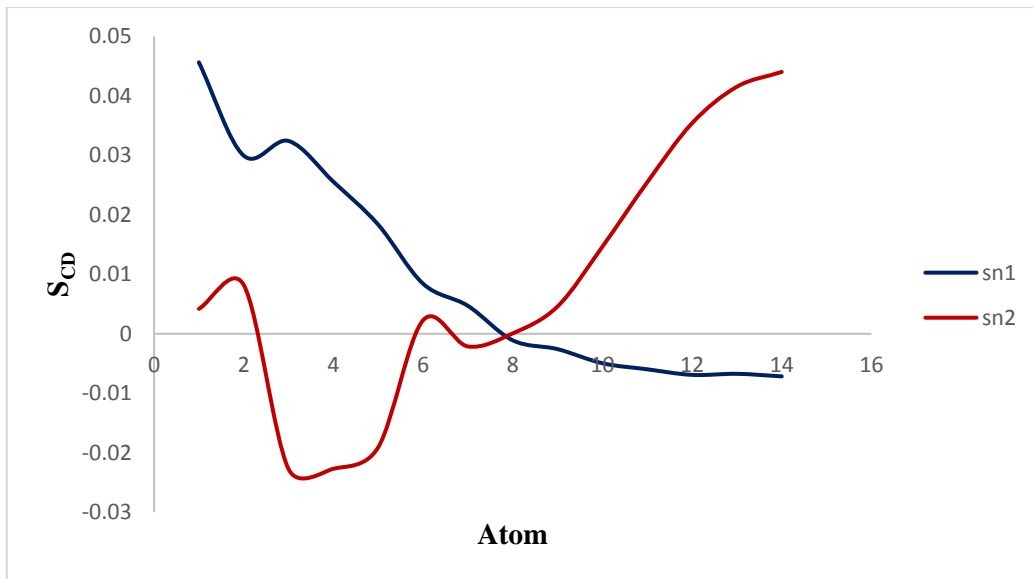
III. 3. 2. 1. Διπλοστιβάδα *DPPG* με νερό

Στο διάγραμμα για την μερική πυκνότητα μάζας του συστήματος διπλοστιβάδας *DPPG* (Εικ. 72), φαίνονται τα όρια της διπλοστιβάδας, με το πάχος της να είναι περίπου 5 nm. Είναι ευδιάκριτη η κατανομή των πολικών κεφαλών και των υδρόφοβων ουρών, ωστόσο δεν είναι αρκετά ευκρινές το ελάχιστο στην πυκνότητα των ουρών στο κέντρο της μεμβράνης. Επίσης φαίνεται και η τυχαία κατανομή των ιόντων Na^+ στο πολικό τμήμα της μεμβράνης.



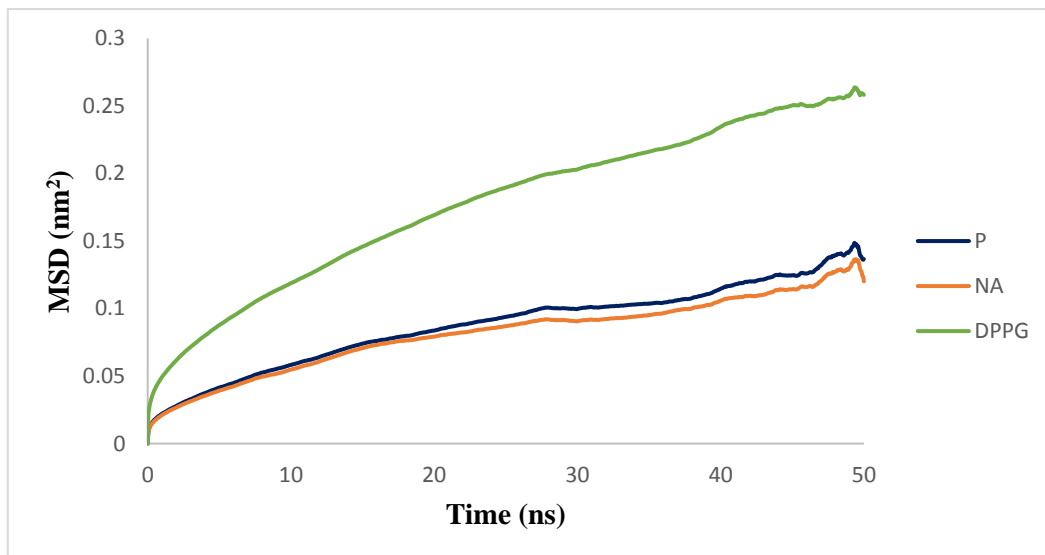
Εικόνα 72: Μερική πυκνότητα μάζας για το σύστημα διπλοστιβάδας *DPPG* με 128 ιόντα Na^+ και νερό. Με μπλε χρώμα αναπαρίστανται οι πολικές κεφαλές της διπλοστιβάδας, με κόκκινο οι αλυσίδες υδρογονθράκων (ουρές), με πορτοκαλί τα ιόντα Na^+ , και με πράσινο το νερό.

Από το διάγραμμα των παραμέτρων δευτερεύουσας τάξης (Εικ. 73) φαίνεται ότι οι υδρογοναθρακικές αλυσίδες των ουρών των λιπιδίων διπλώνουν, με αποτέλεσμα να μην διατηρούν την τάξη τους στο εσωτερικό της μεμβράνης.



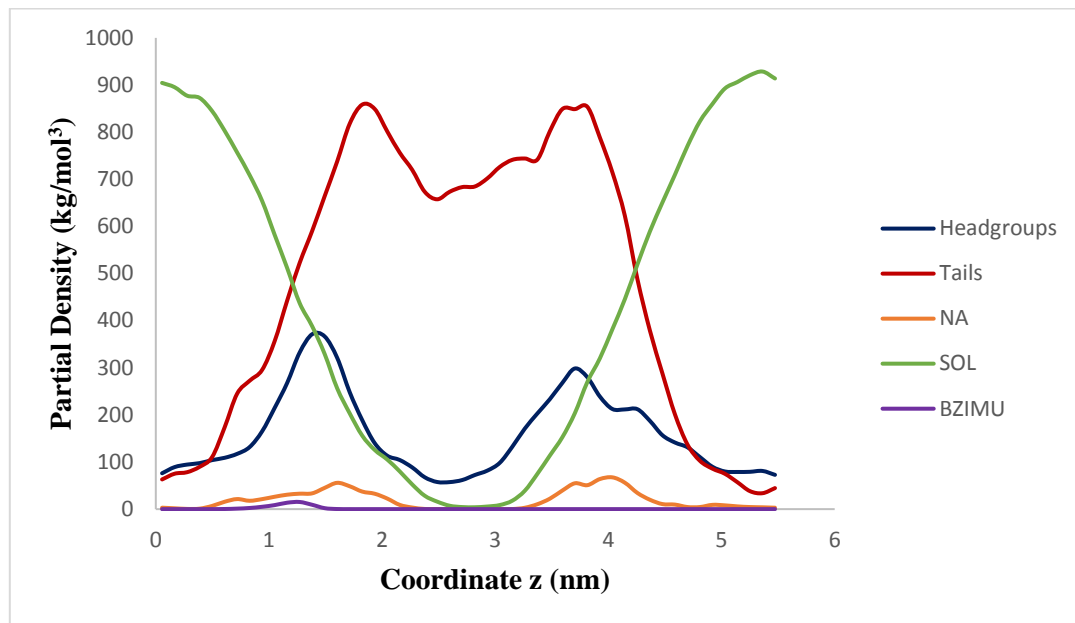
Εικόνα 73: Παράμετροι δευτερεύουσας τάξης για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και νερό. Τα sn-1 (μπλε χρώμα) και sn-2 (κόκκινο χρώμα) αντιστοιχούν στις δύο αλυσίδες υδρογονανθράκων των λιπιδίων.

Στο διάγραμμα για την πλευρική διάχυση των ατόμων φωσφόρου των πολικών κεφαλών (Εικ. 74), παρατηρούμε μία διακύμανση με την πάροδο του χρόνου με τάση αυτών να απομακρύνονται σε σχέση με το κέντρο μάζας του συστήματος, λόγω των αλληλεπιδράσεων μεταξύ τους αλλά και με τα μόρια νερού. Ανάλογη συμπεριφορά παρατηρείται και στα ιόντα Na^+ που έχουν εισαχθεί ώστε η μεμβράνη DPPG να είναι στο σύνολό της αφόρτιστη.



Εικόνα 74: Διάχυση για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και νερό. Με μπλε χρώμα φαίνεται η πλευρική διάχυση των ατόμων φωσφόρου των πολικών κεφαλών, με πορτοκαλί των ιόντων Na^+ , και με πράσινο συνολικά της διπλοστιβάδας DPPG.

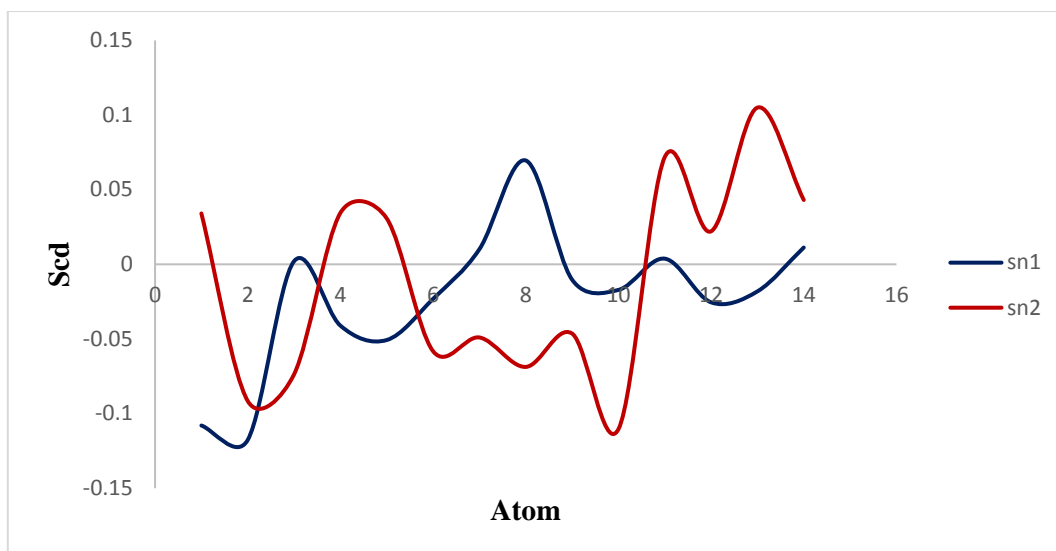
III. 3. 2. 2. Διπλοστιβάδα DPPG με ένα μόριο BZIMU



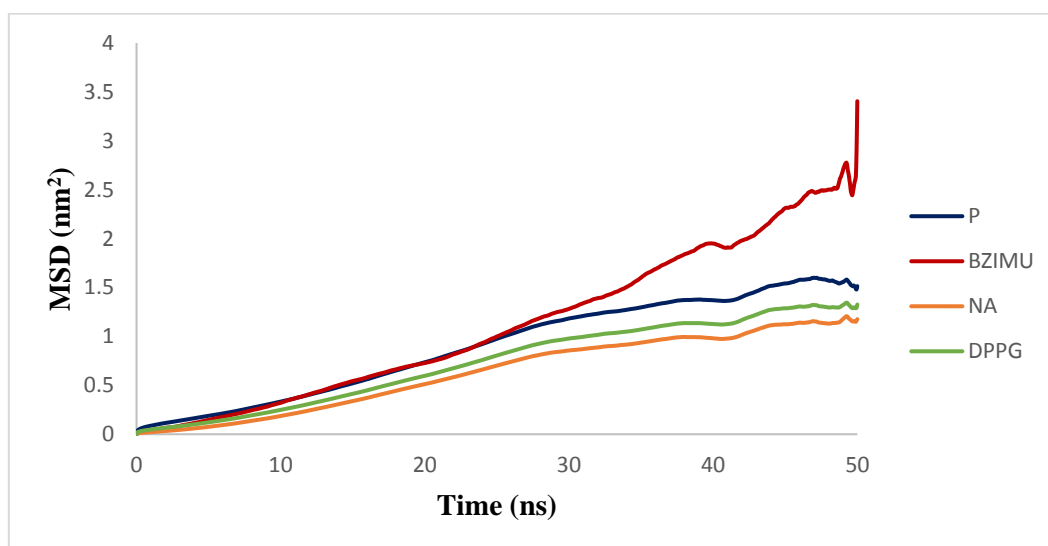
Εικόνα 75: Μερική πυκνότητα μάζας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και ένα μόριο BZIMU. Με μπλε χρώμα αναπαρίστανται οι πολικές κεφαλές της διπλοστιβάδας, με κόκκινο οι αλυσίδες υδρογονθράκων (ουρές), με πορτοκαλί τα ιόντα Na^+ , με μωβ το μόριο BZIMU, και με πράσινο το νερό.

Από το διάγραμμα για την μερική πυκνότητα μάζας του συστήματος διπλοστιβάδας DPPG με ένα μόριο BZIMU (Εικ. 75), φαίνεται πιο καθαρά το ελάχιστο στην πυκνότητα των ουρών των λιπιδίων στο εσωτερικό της μεμβράνης. Επίσης τα όρια της μεμβράνης είναι περίπου στα 5 nm, ενώ φαίνονται και η πυκνότητα μάζας του μορίου BZIMU στο πολικό τμήμα της μεμβράνης, καθώς και των ιόντων Na^+ .

Από το ακόλουθο διάγραμμα των παραμέτρων δευτερεύουσας τάξης (Εικ. 76) φαίνεται ότι οι υδρογοναθρακικές αλυσίδες των ουρών των λιπιδίων διπλώνουν σε αρκετά μεγάλο βαθμό στο εσωτερικό της μεμβράνης, καθώς εισάγουμε το μόριο BZIMU.

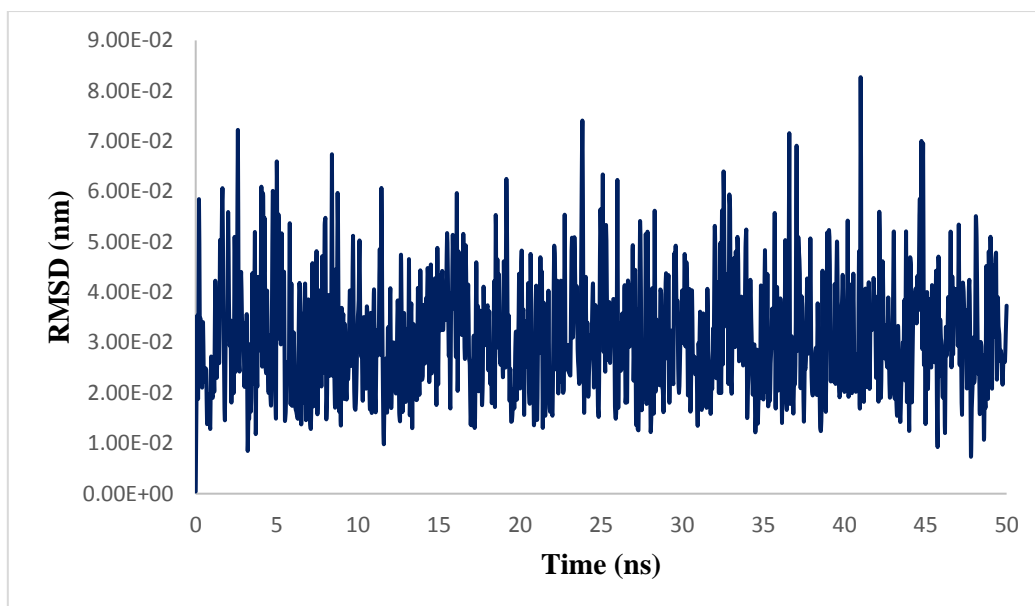


Εικόνα 76: Παράμετροι δευτερεύουσας τάξης για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και ένα μόριο BZIMU. Τα sn-1 (μπλε χρώμα) και sn-2 (κόκκινο χρώμα) αντιστοιχούν στις δύο αλυσίδες υδρογονανθράκων των λιπιδίων.



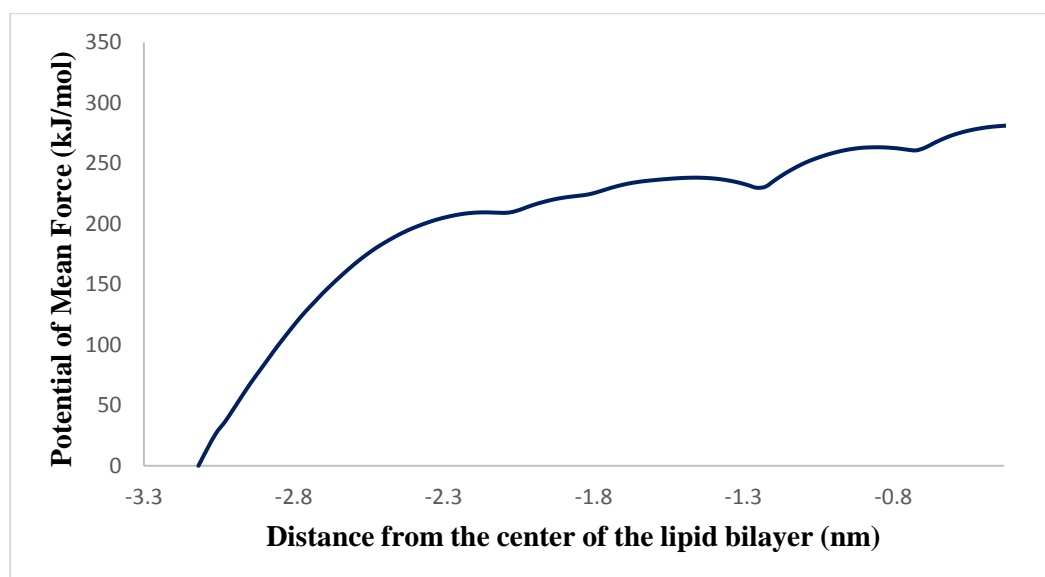
Εικόνα 77: Διάχυση για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και ένα μόριο BZIMU. Με μπλε χρώμα φαίνεται η πλευρική διάχυση των ατόμων φωσφόρου των πολικών κεφαλών, με κόκκινο του μορίου BZIMU, με πορτοκαλί των ιόντων Na^+ , και με πράσινο συνολικά της διπλοστιβάδας DPPG.

Στο διάγραμμα για την πλευρική διάχυση των ατόμων φωσφόρου των πολικών κεφαλών (Εικ. 77), διαφαίνεται, όπως και στην περίπτωση της διπλοστιβάδας DPPG χωρίς εισαγωγή μορίου, μία τάση των ατόμων αυτών να απομακρύνονται σε σχέση με το κέντρο μάζας του συστήματος. Ανάλογη συμπεριφορά παρουσιάζουν και τα ιόντα Na^+ , ενώ το μόριο BZIMU, παρουσιάζει πιθανότατα μία τάση να διαρρήξει την διπλοστιβάδα, όπως και στην περίπτωση της διπλοστιβάδας DPPC.



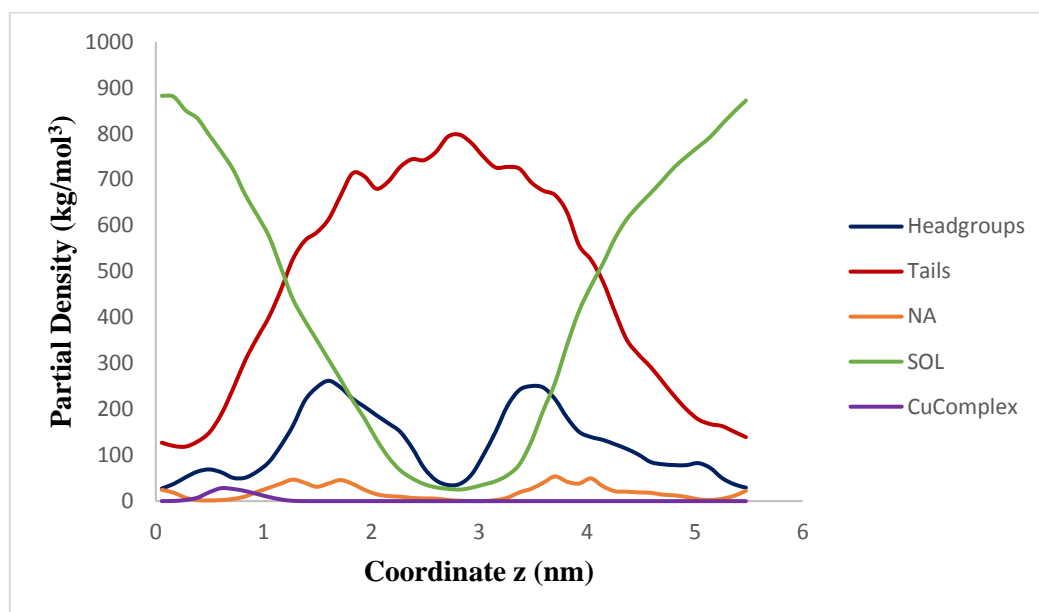
Εικόνα 78: Τετραγωνική ρίζα μέσης τετραγωνικής μετατόπισης του μορίου *BZIMU* σε διπλοστιβάδα *DPPG* με 128 ιόντα Na^+ και ένα μόριο *BZIMU*, σε συνάρτηση με τον χρόνο.

Από το διάγραμμα της τετραγωνικής ρίζας μέσης τετραγωνικής μετατόπισης του μορίου *BZIMU* (Εικ. 78), φαίνεται ότι το μόριο αυτό διατηρεί την θέση του κατά την μελέτη στατικής δυναμικής. Από το διάγραμμα του δυναμικού μέσης δύναμης κατά την εφαρμογή δυναμικού στο μόριο *BZIMU* (Εικ. 79) φαίνονται τα ενεργειακά σύνορα κατά την μετακίνηση του μορίου διαμέσου της μεμβράνης. Επίσης είναι εμφανής η αύξηση στην ελεύθερη ενέργεια του συστήματος, καθώς το μόριο εισέρχεται στην διπλοστιβάδα.



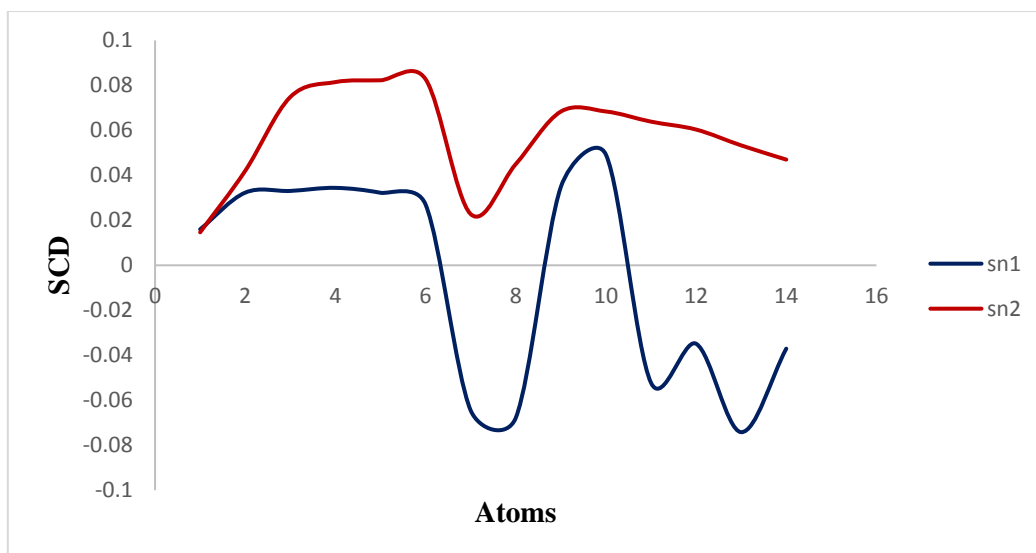
Εικόνα 79: Δυναμικό μέσης δύναμη ως συνάρτηση της συντεταγμένης z για το σύστημα διπλοστιβάδας *DPPG* με 128 ιόντα Na^+ και ένα μόριο *BZIMU*.

III. 3. 2. 3. Διπλοστιβάδα DPPG με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex



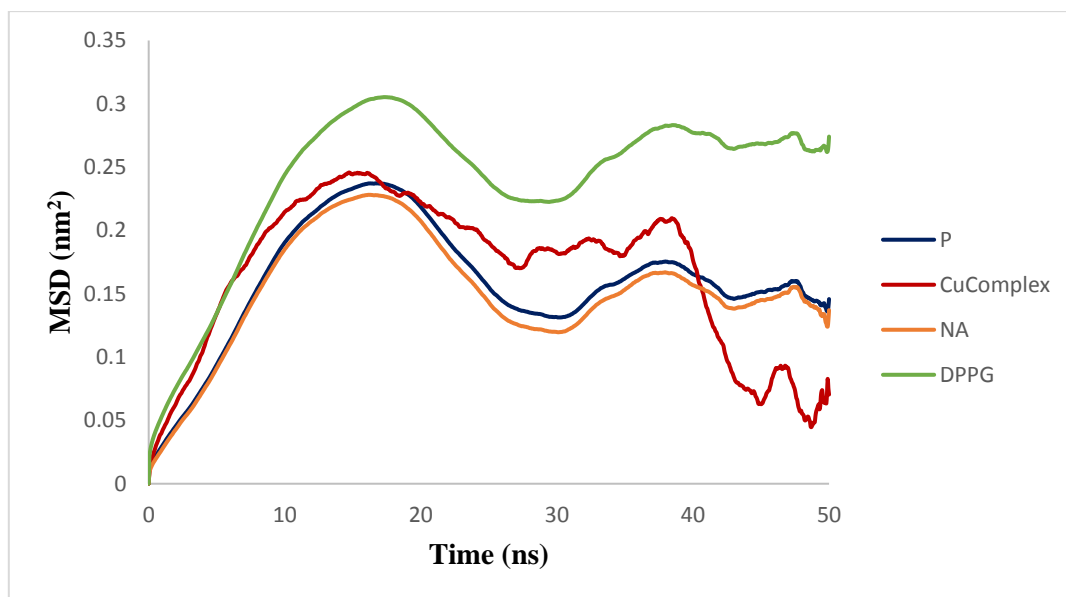
Εικόνα 80: Μερική πυκνότητα μάζας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex. Με μπλε χρώμα αναπαρίστανται οι πολικές κεφαλές της διπλοστιβάδας, με κόκκινο οι αλυσίδες υδρογονθράκων (ουρές), με πορτοκαλί τα ιόντα Na^+ , με μωβ το μόριο CuComplex, και με πράσινο το νερό.

Στο διάγραμμα για την μερική πυκνότητα μάζας του συστήματος διπλοστιβάδας DPPG με την εισαγωγή σε αυτή του μορίου CuComplex (Εικ. 80), το ελάχιστο στην πυκνότητα των ουρών των λιπιδίων στο εσωτερικό της μεμβράνης απουσιάζει. Αντιθέτως παρουσιάζει μέγιστο. Πιθανόν η παρουσία του μετάλλου σε συνδυασμό με την ιδιαίτερη φύση της διπλοστιβάδας DPPG να προκαλούν αυτή την διαφορά στην πυκνότητα. Ωστόσο, η πυκνότητα των πολικών κεφαλών εμφανίζει ελάχιστο στο εσωτερικό της μεμβράνης. Η ιδιομορφία στην πυκνότητα της μεμβράνης συμφωνεί για το σύστημα αυτό και με την κάμψη των υδρόφοβων ουρών των λιπιδίων, όπως φαίνεται και από το αντίστοιχο διάγραμμα για τις παραμέτρους δευτερεύουσας τάξης, για το υπό μελέτη σύστημα (Εικ. 81). Η πυκνότητα μάζας του συμπλόκου (CuComplex) στο πολικό τμήμα της μεμβράνης είναι επίσης εμφανής.

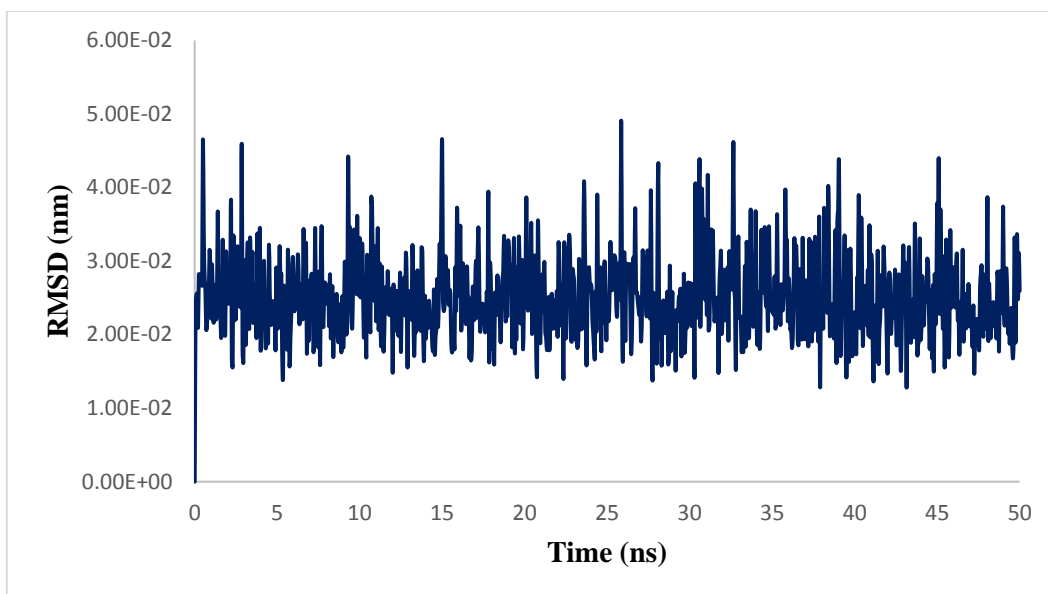


Εικόνα 81: Παράμετροι δευτερεύουσας τάξης για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και ένα σύμπλοκο μόριο *CuComplex*. Τα *sn-1* (μπλε χρώμα) και *sn-2* (κόκκινο χρώμα) αντιστοιχούν στις δύο αλυσίδες υδρογονανθράκων των λιπιδίων.

Στο επόμενο διάγραμμα για την πλευρική διάχυση των ατόμων φωσφόρου των πολικών κεφαλών (Εικ. 82), παρατηρούμε, όπως και στην περίπτωση της διπλοστιβάδας *DPPG* χωρίς εισαγωγή μορίου, αλλά και με εισαγωγή του μορίου *BZIMU*, μία τάση απομάκρυνσης αυτών ως προς το κέντρο μάζας του συστήματος. Επίσης φαίνεται η διάχυση του μορίου *CuComplex*.

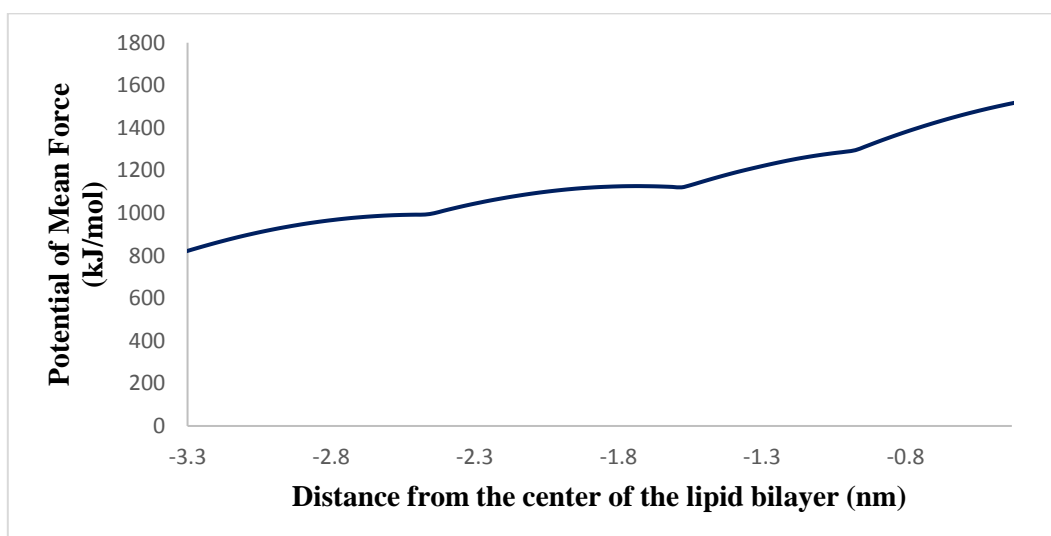


Εικόνα 82: Διάχυση για το σύστημα διπλοστιβάδας *DPPG* με 128 ιόντα Na^+ και ένα σύμπλοκο μόριο *CuComplex*. Με μπλε χρώμα φαίνεται η πλευρική διάχυση των ατόμων φωσφόρου των πολικών κεφαλών, με κόκκινο του μορίου *CuComplex*, με πορτοκαλί των ιόντων Na^+ , και με πράσινο συνολικά της διπλοστιβάδας *DPPG*.



Εικόνα 83: Τετραγωνική ρίζα μέσης τετραγωνικής μετατόπισης του συμπλόκου *CuComplex* σε διπλοστιβάδα *DPPG*, σε συνάρτηση με τον χρόνο

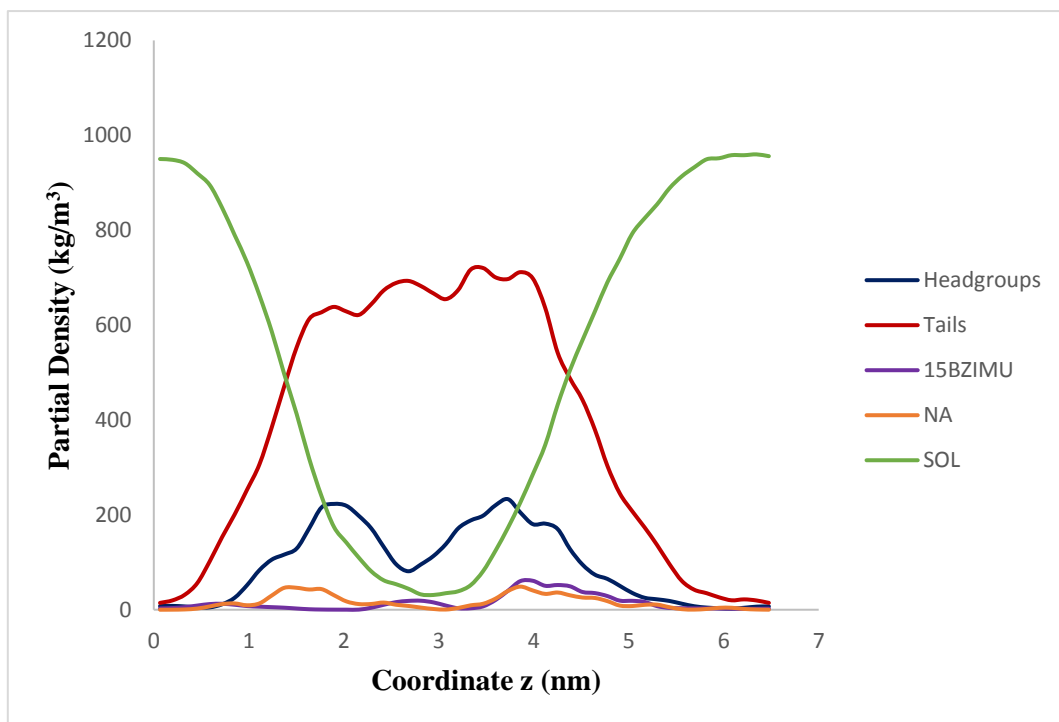
Από το διάγραμμα της τετραγωνικής ρίζας μέσης τετραγωνικής μετατόπισης του μορίου *CuComplex* (Εικ. 83), φαίνεται ότι το μόριο παρουσιάζει συμπεριφορά ανάλογη με το μόριο *BZIMU*, ώστε να σταθεροποιείται στην θέση του. Ωστόσο και σε αυτή την περίπτωση, όπως και με το μόριο *BZIMU*, υπάρχουν διακυμάνσεις. Από το διάγραμμα του δυναμικού μέσης δύναμης κατά την εφαρμογή δυναμικού στο μόριο *CuComplex* (Εικ. 84) φαίνεται η μεταβολή της ελεύθερης ενέργειας του συστήματος με αύξηση αυτής, καθώς το σύμπλοκο μόριο εισέρχεται στην διπλοστιβάδα.



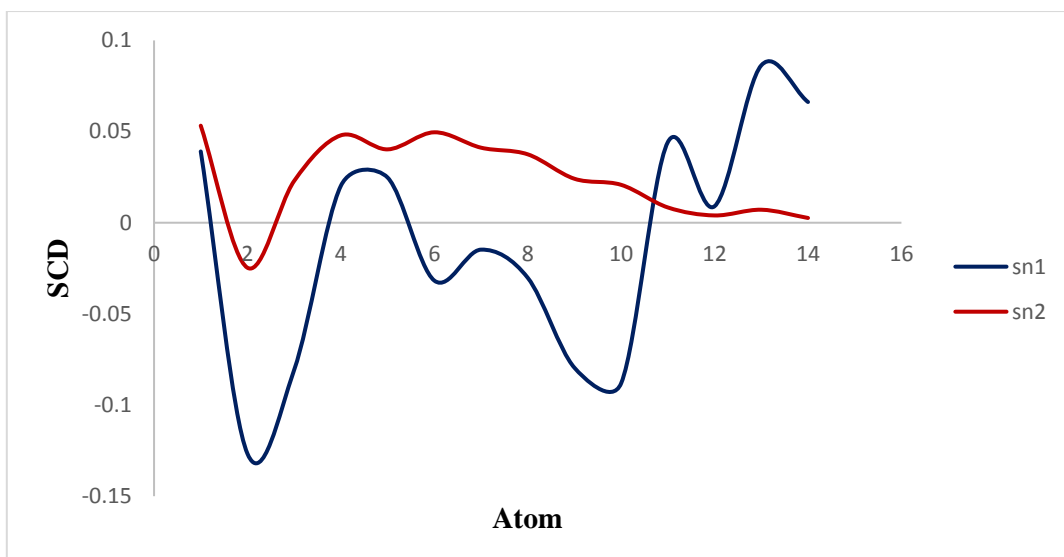
Εικόνα 84: Δυναμικό μέσης δύναμη ως συνάρτηση της συντεταγμένης z για το σύστημα διπλοστιβάδας *DPPG* με 128 ιόντα Na^+ και ένα σύμπλοκο μόριο *CuComplex*.

III. 3. 2. 4. Διπλοστιβάδα DPPG με 15 μόρια BZIMU

Στο διάγραμμα για την μερική πυκνότητα μάζας του συστήματος διπλοστιβάδας DPPG με την εισαγωγή σε αυτή 15 μορίων BZIMU (Εικ. 85), το ελάχιστο στην πυκνότητα των ουρών των λιπιδίων στο εσωτερικό της μεμβράνης απουσιάζει. ενώ η πυκνότητα των πολικών κεφαλών παρουσιάζει ελάχιστο στο εσωτερικό της διπλοστιβάδας. Στο διάγραμμα φαίνεται επίσης, η πυκνότητα μάζας των μορίων BZIMU (15BZIMU) που έχουμε εισάγει στην μεμβράνη. Η ανομοιομορφία στην κατανομή πυκνότητας στο εσωτερικό της μεμβράνης, δικαιολογείται και στο παρακάτω διάγραμμα παραμέτρων δευτερεύουσας τάξης (Εικ. 86) όπου φαίνεται η κάμψη των υδρογονανθρακικών αλυσίδων των λιπιδικών ουρών.

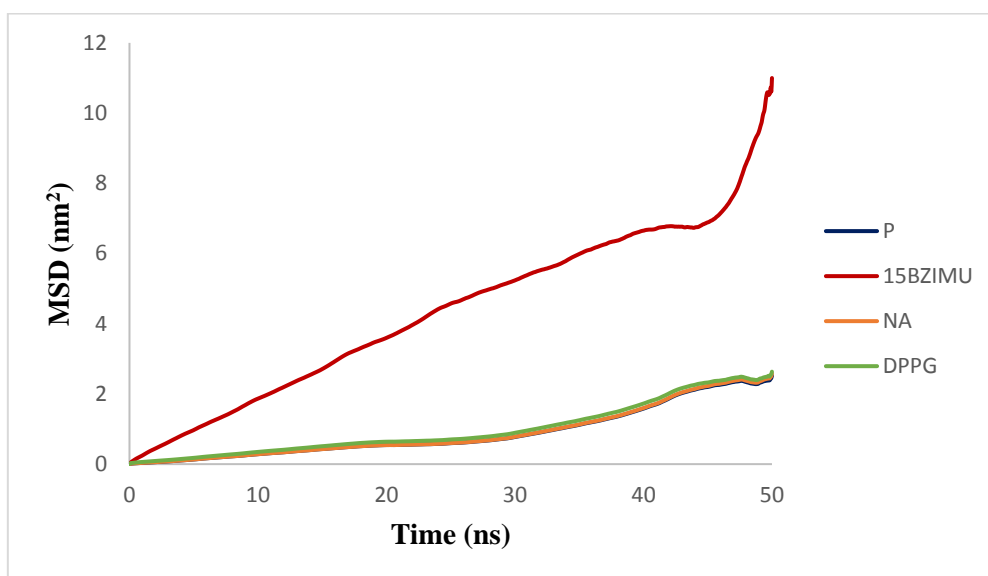


Εικόνα 85: Μερική πυκνότητα μάζας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και 15 μόρια BZIMU. Με μπλε χρώμα αναπαρίστανται οι πολικές κεφαλές της διπλοστιβάδας, με κόκκινο οι αλυσίδες υδρογονθράκων (ουρές), με πορτοκαλί τα ιόντα Na^+ , με μωβ τα μόρια BZIMU, και με πράσινο το νερό.



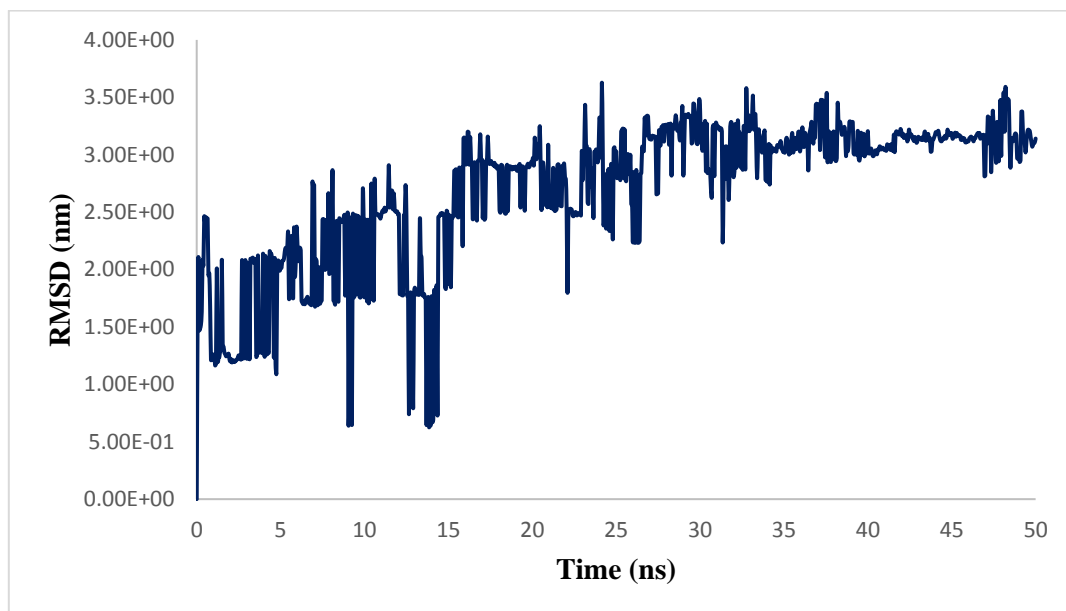
Εικόνα 86: Παράμετροι δευτερεύουσας τάξης για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και 15 μόρια BZIMU. Τα sn-1 (μπλε χρώμα) και sn-2 (κόκκινο χρώμα) αντιστοιχούν στις δύο αλυσίδες υδρογονανθράκων των λιπιδίων.

Στο ακόλουθο διάγραμμα για την διάχυση (Εικ. 87) και από την καμπύλη για τα 15 μόρια BZIMU, παρατηρούμε μία υψηλή τάση αυτών να διαχυθούν διαμέσου της διπλοστιβάδας. Αντίστοιχη συμπεριφορά παρατηρήθηκε και στην περίπτωση της διπλοστιβάδας DPPC (Εικ. 64).



Εικόνα 87: Διάχυση για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και 15 μόρια BZIMU. Με μπλε χρώμα φαίνεται η πλευρική διάχυση των ατόμων φωσφόρου των πολικών κεφαλών, με κόκκινο των 15 μορίων BZIMU, με πορτοκαλί των ιόντων Na^+ , και με πράσινο συνολικά της διπλοστιβάδας DPPG.

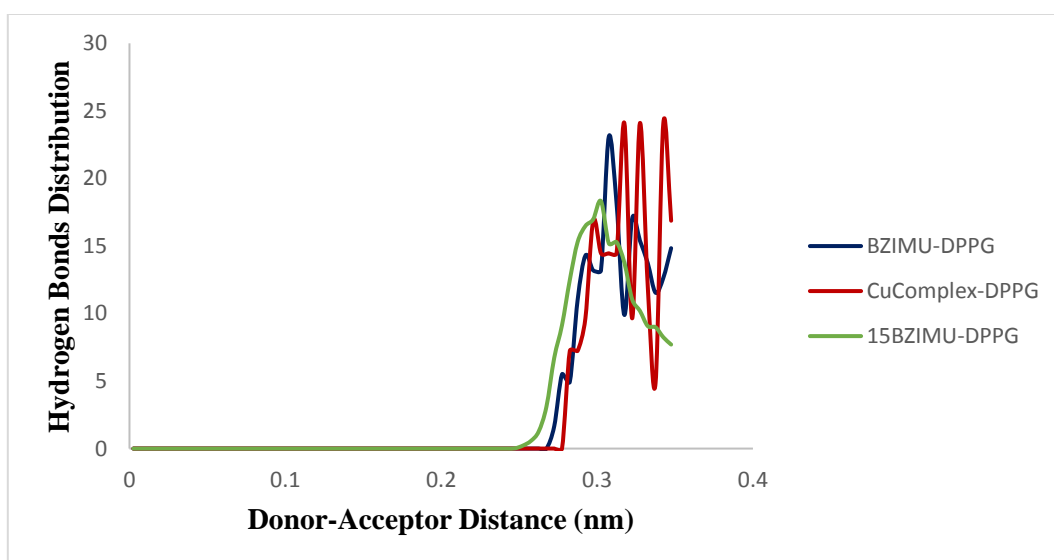
Από το διάγραμμα της τετραγωνικής ρίζας μέσης τετραγωνικής μετατόπισης των 15 μορίων *BZIMU* (Εικ. 88), φαίνεται ότι τα μόρια έχουν την τάση να αποσταθεροποιούνται από τις θέσεις τους κατά την μελέτη στατικής δυναμικής με εμφανείς διακυμάνσεις λόγω στερικών αλληλεπιδράσεων.



Εικόνα 88: Τετραγωνική ρίζα μέσης τετραγωνικής μετατόπισης των 15 μορίων *BZIMU* σε διπλοστιβάδα *DPPG* με 128 ιόντα Na^+ , σε συνάρτηση με τον χρόνο.

III. 3. 2. 5. Αξιολόγηση αποτελεσμάτων και σύγκριση συστημάτων με διπλοστιβάδα DPPG

Για την αξιολόγηση του πρωτοκόλλου κατασκευής των διπλοστιβάδων, κατασκευάσαμε το προφίλ μερικής πυκνότητας των συστημάτων. Η σωστή ρευστότητα ελέγχθηκε σχεδιάζοντας το προφίλ μερικής πυκνότητας του συστήματος. Το προφίλ πυκνότητας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG (Εικ. 72, 75, 80, 85) παρουσιάζει κάποιες διακυμάνσεις πιθανότατα λόγω της παρουσίας και των ιόντων Na^+ , και λόγω ιδιομορφίας της διπλοστιβάδας DPPG σε σχέση με την DPPC. Η καμπύλη μερικής πυκνότητας μάζας των υδρόφοβων υδρογονανθρακικών αλυσίδων παρουσιάζει τις μεγαλύτερες αποκλίσεις, που σημαίνει ότι πιθανόν οι αλυσίδες κάμπτονται, κάτι που φαίνεται και από τα αντίστοιχα διαγράμματα παραμέτρων δευτερεύουσας τάξης (Εικ. 73, 76, 81, 86). Ωστόσο, για την εξαγωγή ποιοτικών συμπερασμάτων, μπορεί να θεωρηθεί ικανοποιητική. Το ελάχιστο στο κέντρο της διπλοστιβάδας, λόγω της αταξίας των ουρών των λιπιδίων, είναι ευδιάκριτο. Τα διαγράμματα δείχνουν ότι τόσο το μόριο BZIMU όσο και το σύμπλοκό του με χαλκό (II) (CuComplex) βρίσκονται μέσα στις διπλοστιβάδες, κοντά στις περιοχές των κεφαλών των λιπιδίων, που αντιπροσωπεύουν την πυκνή περιοχή των μεμβρανών.



Εικόνα 89: Κατανομή δεσμών υδρογόνου μεταξύ διπλοστιβάδας DPPG και μορίων που εισήχθησαν σε αυτή. Με μπλε χρώμα φαίνεται η κατανομή δεσμών υδρογόνου μεταξύ του μορίου BZIMU και της διπλοστιβάδας, με κόκκινο μεταξύ του συμπλόκου μορίου CuComplex και της διπλοστιβάδας, και με πράσινο χρώμα μεταξύ των 15 μορίων BZIMU και της διπλοστιβάδας DPPG.

Όπως προαναφέρθηκε, λόγω της παρουσίας πολικών κεφαλών, τα λιπίδια της μεμβράνης έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου μεταξύ τους και με τα μόρια του νερού. Στα συγκεκριμένα συστήματα με διπλοστιβάδα *DPPG*, η παρουσία ιόντων Na^+ , προκαλεί μία αύξηση στην κατανομή δεσμών υδρογόνου της μεμβράνης σε σχέση με την περίπτωση των συστημάτων με διπλοστιβάδα *DPPC*. Παρουσία του αλληλεπιδρώντος μορίου ή όταν εφαρμόζονται διαφορετικές συνθήκες από τις κανονικές, ο αριθμός των δεσμών υδρογόνου αυξάνεται, κάτι το οποίο συμφωνεί με το γεγονός ότι η διείδυση των μορίων νερού στη μεμβράνη αυξάνεται και συνεπώς η δομή της μεμβράνης αλλάζει. Ο μέγιστος αριθμός δεσμών υδρογόνου παρατηρείται όταν κάθε μόριο βρίσκεται στο υδρόφιλο τμήμα της μεμβράνης και κοντά στην περιοχή του υδάτινου περιβάλλοντος. Καθώς κάθε μόριο κινείται από την υδάτινη περιοχή σε ισορροπία, υπάρχει μια μείωση του αριθμού των δεσμών υδρογόνου. Η μεγαλύτερη διακύμανση της κατανομής δεσμών υδρογόνου στην περίπτωση του συμπλόκου χαλκού, είναι παρούσα όπως και στην περίπτωση της *DPPC* μεμβράνης, ωστόσο σε αυτή την περίπτωση δεν διαφέρουν πολύ οι τιμές συγκριτικά με το μόριο *BZIMU*. Και σε αυτή την περίπτωση παρατηρείται αστάθεια και πιθανόν αποδόμηση της μεμβράνης (*Εικ. 89*).

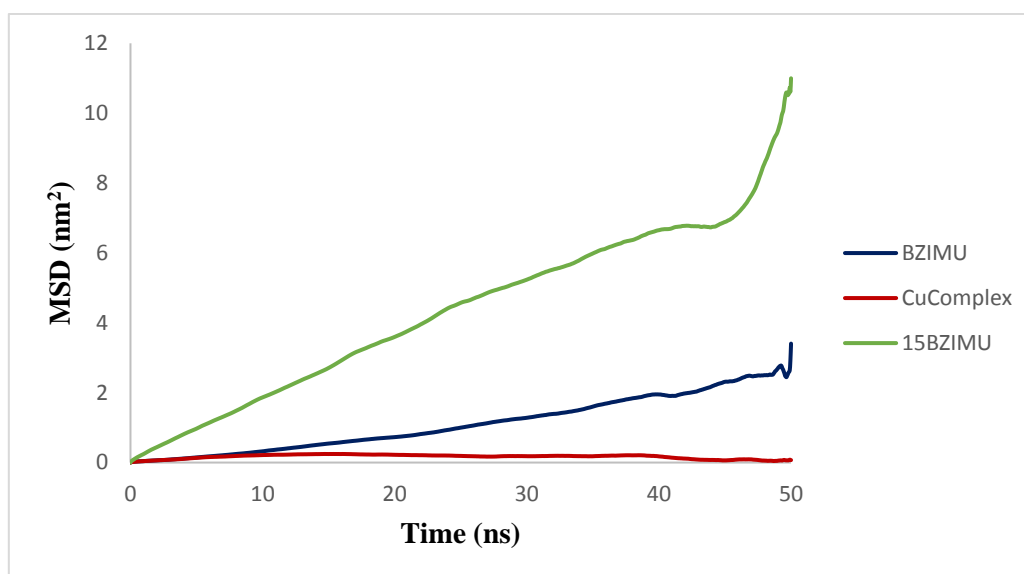
Η δυναμική της πλευρικής διάχυσης των λιπιδίων σε κάθε σύστημα, αναλύθηκε, υπολογίζοντας τον συντελεστή διάχυσης και σχεδιάζοντας την μέση τετραγωνική μετατόπιση από τις αντίστοιχες προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής (*Πίνακες 10, 11, Εικ. 90*).

Πίνακας 10: Συντελεστής πλευρικής διάχυσης για τα άτομα φωσφόρου των πολικών κεφαλών της διπλοστιβάδας *DPPG* ($*10^{-5} cm^2/s$), όπως προέκυψαν με χρήση του υπολογιστικού πακέτου *GROMACS*.

<i>Σύστημα</i>	<i>DPPG</i>	<i>DPPG-BZIMU</i>	<i>DPPG-CuComplex</i>	<i>DPPG-15BZIMU</i>
<i>Μέσος Συντελεστής πλευρικής διάχυσης (P) (*10⁻⁵ cm²/s)</i>	5.0x10 ⁻⁴	9.0x10 ⁻³	3.0x10 ⁻⁴	1.1x10 ⁻²

Πίνακας 11: Συντελεστής διάχυσης των μορίων που εισήχθησαν σε διπλοστιβάδα DPPG ($\cdot 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$), όπως προέκυψαν με χρήση του υπολογιστικού πακέτου GROMACS.

Μόρια σε διπλοστιβάδα DPPG	Μέσος Συντελεστής διάχυσης μορίων ($\cdot 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$)
BZIMU	1.3×10^{-2}
CuComplex	5.0×10^{-4}
15BZIMU	3.9×10^{-2}

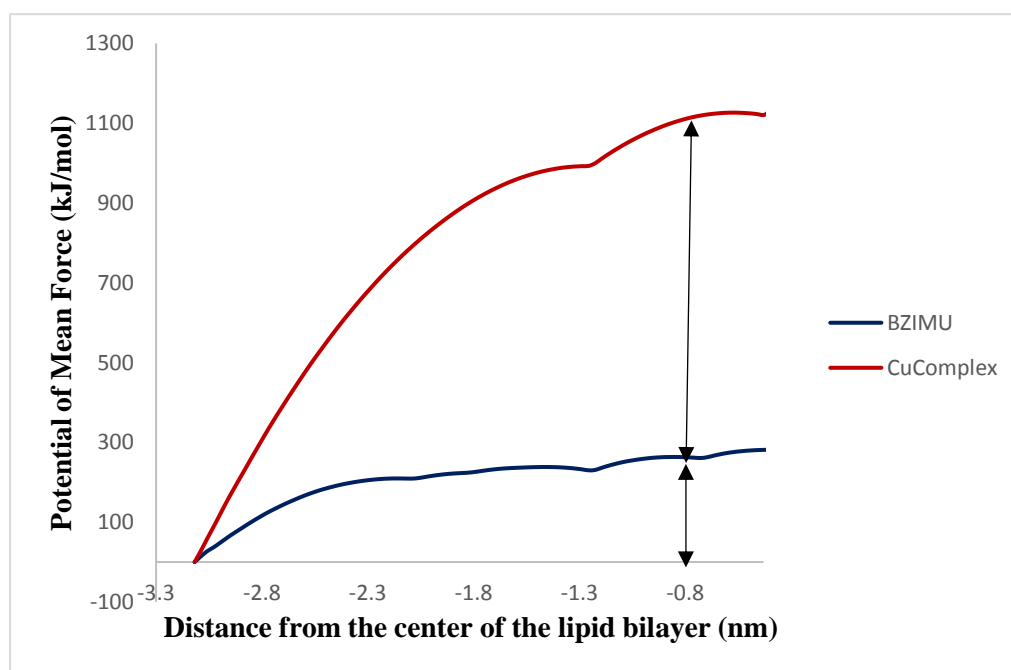


Εικόνα 90: Διάχυση σε συνάρτηση με τον χρόνο για τα μόρια που εισήχθησαν στην διπλοστιβάδα DPPG. Με μπλε χρώμα φαίνεται η διάχυση του μορίου BZIMU, με κόκκινο μεταξύ του συμπλόκου μορίου CuComplex, και με πράσινο χρώμα των 15 μορίων BZIMU στην διπλοστιβάδα DPPG με 128 ιόντα Na^+ , σε συνάρτηση με τον χρόνο.

Από το διάγραμμα διάχυσης σε συνάρτηση με τον χρόνο (Εικ. 90) για τα μόρια που εισήχθησαν, και σε συνδυασμό με τον πίνακα για τους συντελεστές διάχυσης για τα υπό μελέτη μόρια (Πίνακας 11), διαπιστώνουμε ότι μεγαλύτερη διάχυση παρατηρείται στο σύστημα με το ένα μόριο BZIMU, σε σχέση με τα υπόλοιπα συστήματα. Στην περίπτωση του συμπλόκου παρατηρούμε ότι ο συντελεστής έχει την μικρότερη τιμή, που δηλώνει πιθανότατα ότι η παρουσία του μετάλλου στο σύμπλοκο οδηγεί σε μία τάση να παραμείνει το μόριο στην πολική περιοχή της διπλοστιβάδας αλληλεπιδρώντας με τις πολικές κεφαλές. Αυτό διαφαίνεται και παρακάτω από την

σύγκριση μεταξύ των ενεργειακών συνόρων διείσδυσης για τα δύο μόρια στην διπλοστιβάδα *DPPG*.

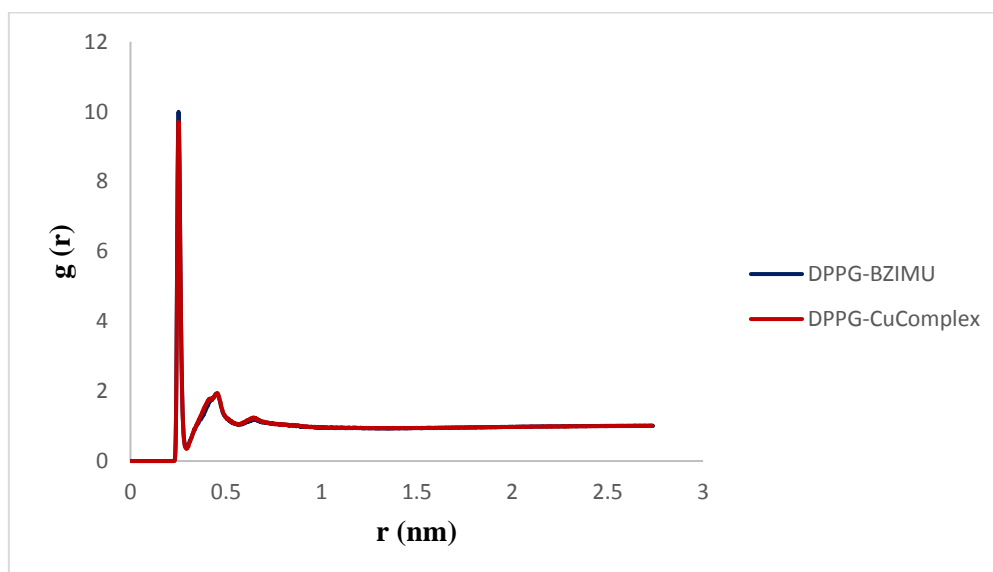
Από τα διαγράμματα της τετραγωνικής ρίζας μέσης τετραγωνικής μετατόπισης σε συνάρτηση με τον χρόνο (Εικ. 78, 83, 88) για την στατική δυναμική μελέτη, παρατηρούμε ότι το μεμονωμένο μόριο *BZIMU* και το σύμπλοκο μόριο χαλκού (*CuComplex*), έχουν γενικά την τάση να μένουν σταθερά στις θέσεις τους με διακυμάνσεις που οφείλονται στις στερικές αλληλεπιδράσεις. Τα μεμονωμένα μόρια μέσα στην διπλοστιβάδα *DPPG* παρουσιάζουν μία μεγαλύτερη τάση αποσταθεροποίησης σε σχέση με την διπλοστιβάδα *DPPC*, χωρίς όμως να απομακρύνονται από τις καθορισμένες θέσεις τους. Ωστόσο, και σε αυτό το σύστημα, στην περίπτωση των 15 μορίων *BZIMU*, διαφαίνεται μία τάση των μορίων να αποσταθεροποιούνται με τάση να αποσπαστούν από τις καθορισμένες θέσεις τους στην διπλοστιβάδα. Επίσης από τα διαγράμματα για τις παραμέτρους δευτερεύουσας τάξης (Εικ. 73, 76, 81, 86), φαίνεται ότι σε όλα τα συστήματα οι λιπιδικές ουρές διπλώνουν, πιθανότατα λόγω δυνάμεων διασποράς και ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων.



Εικόνα 91: Δυναμικό Μέσης Δύναμης για τα μόρια *BZIMU* και *CuComplex* κατά την διέλευσή τους μέσα από την διπλοστιβάδα *DPPG* με 128 ιόντα Na^+ υπό την επίδραση αρμονικού δυναμικού.

Στο σύστημα της *DPPG* μεμβράνης, τυπικά, η ελεύθερη ενέργεια τέθηκε να είναι 0 στον όγκο του νερού, δηλαδή για $z < -3.12 \text{ nm}$. Και οι δύο ενώσεις δείχνουν μία

αρχική αντίδραση σταθεροποίησης στο όριο των 234-990 kJ/mol , όταν εγκαταλείπουν τον διαλύτη και εισέρχονται στην περιοχή των πολικών κεφαλών της μεμβράνης, σε απόσταση περίπου 2 nm από το κέντρο. Το πρώτο ελάχιστο ενέργειας εμφανίζεται σε απόσταση 2.08 και 1.22 nm για το μόριο *BZIMU* και το σύμπλοκο (*CuComplex*) αντίστοιχα από το κέντρο της διπλοστιβάδας (Εικ. 91). Η απότομη πτώση της ενέργειας στο κέντρο της μεμβράνης οφείλεται στο σπάσιμο των δεσμών υδρογόνου μεταξύ των μορίων και του διαλύτη. Συνολικά, και για τα δύο μόρια υπάρχει υψηλό ενεργειακό όριο διείσδυσης στην τιμή $\Delta G^{(pen)} = 1119.6 \text{ kJ/mol}$ και 260.8 kJ/mol για το σύμπλοκο (*CuComplex*) και το μόριο *BZIMU*, αντίστοιχα. Κατά την μετακίνηση των μορίων *BZIMU* και *CuComplex*, παρατηρούμε ότι ο χρόνος διέλευσης του πρώτου (*BZIMU*) είναι αρκετά μικρότερος από το αντίστοιχο χρονικό διάστημα που απαιτείται για την διέλευση του συμπλόκου *CuComplex* από την μία πολική περιοχή της διπλοστιβάδας *DPPG* στην άλλη, κάτι που συμφωνεί με το υψηλό ενεργειακό σύνορο που εμφανίζεται στο διάγραμμα δυναμικού μέσης δύναμης για το σύμπλοκο μόριο.

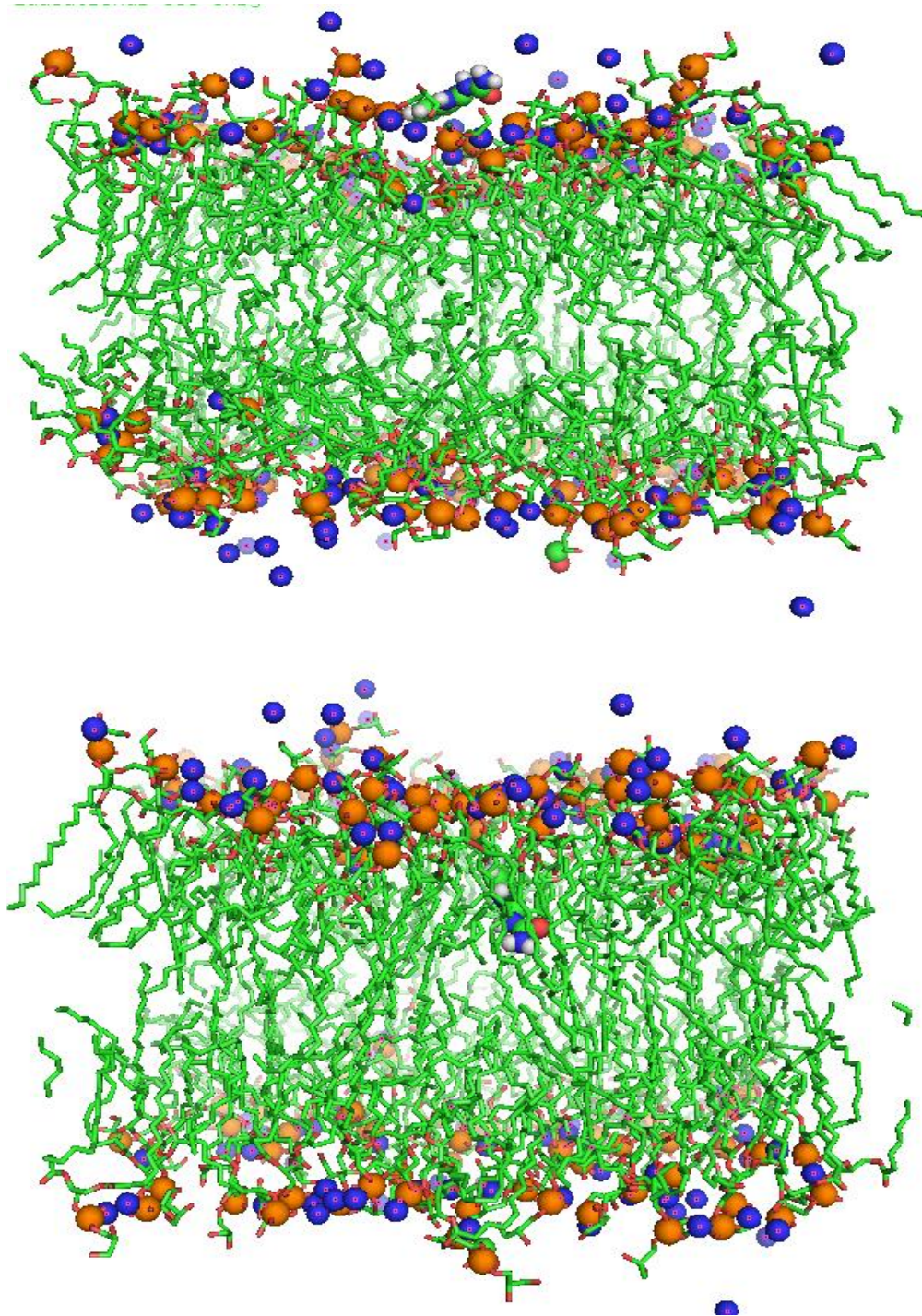


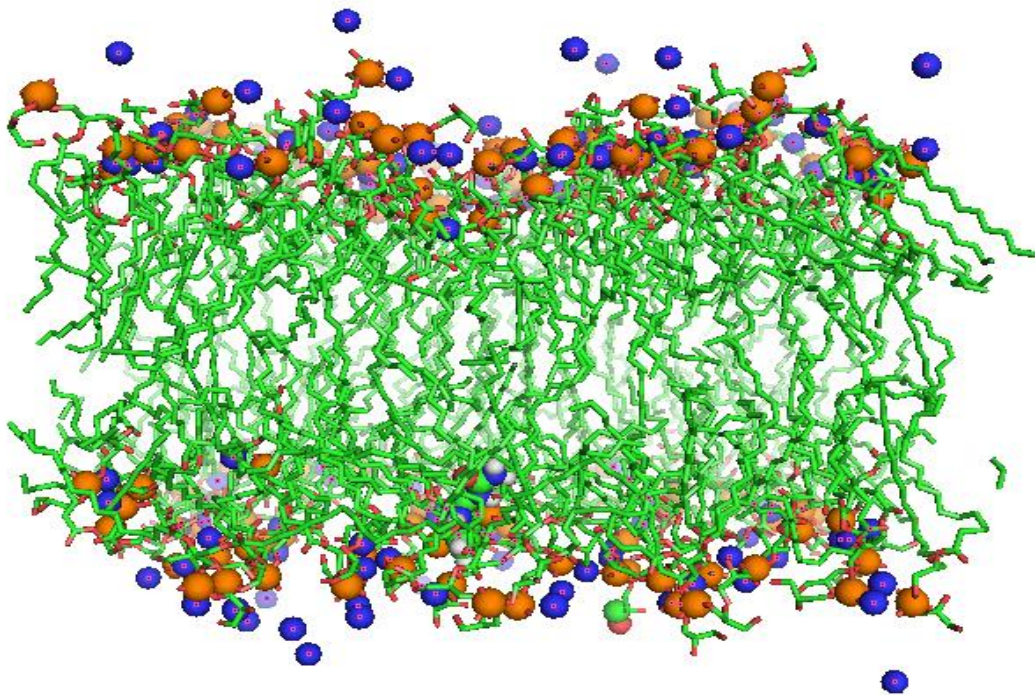
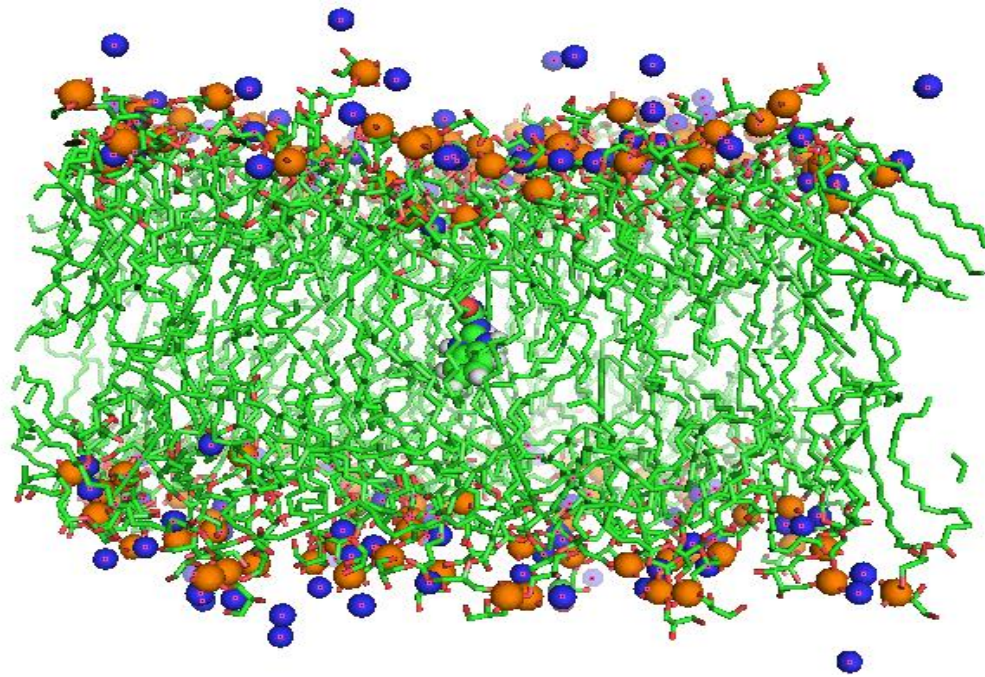
Εικόνα 92: Συνάρτηση ακτινικής κατανομής με σημείο αναφοράς την ομάδα *O-P-OW* της πολικής κεφαλής των λιπιδίων της διπλοστιβάδας *DPPG* με 128 ιόντα Na^+ , για τα υπό μελέτη συστήματα με μόριο *BZIMU* και σύμπλοκο *CuComplex*

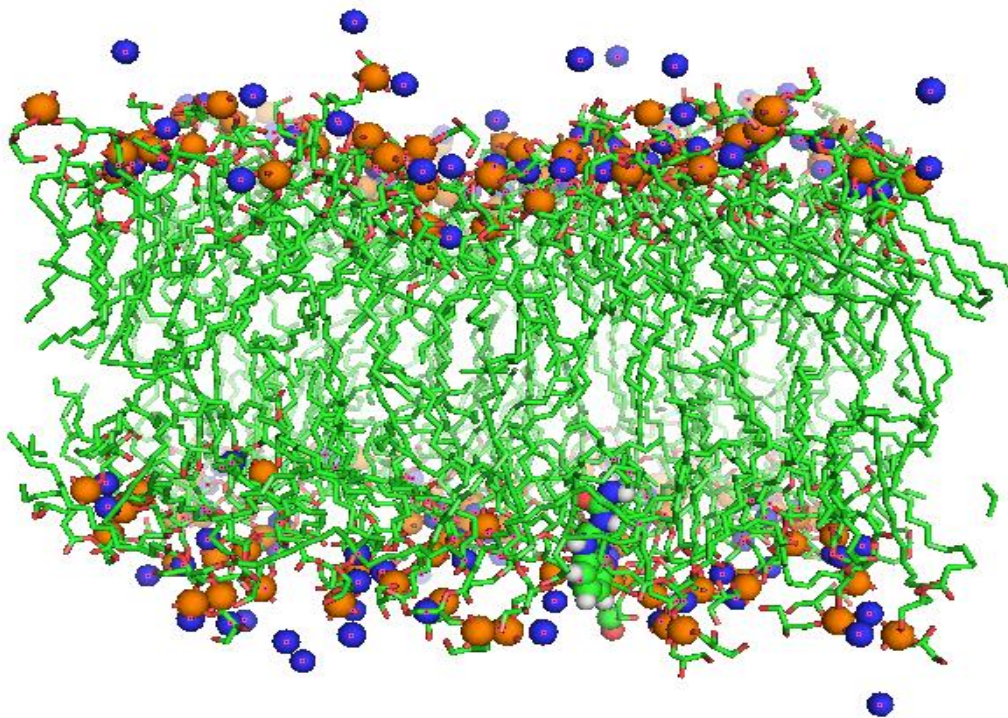
Από την σύγκριση των καμπυλών συνάρτησης ακτινικής κατανομής με σημείο αναφοράς την ομάδα *O-P-OW* της πολικής κεφαλής των λιπιδίων της διπλοστιβάδας *DPPG* (Εικ. 92), για τα υπό μελέτη συστήματα, εξάγουμε το συμπέρασμα ότι μεγαλύτερη συνδεσιμότητα για αλληλεπίδραση, υπάρχει μεταξύ διπλοστιβάδας και μορίου *BZIMU* αντί με το σύμπλοκο μόριο *CuComplex*, μιας και υπάρχει ελαφρώς

μικρότερη πυκνότητα κατανομής στο σύμπλοκο, κάτι το οποίο ίσως δικαιολογεί και την μικρότερης διάρκειας παραμονή του συμπλόκου στην πολική περιοχή της μεμβράνης. Ωστόσο, αν και η πυκνότητα κατανομής των ομάδων *O-P-OW* είναι μικρότερη στην περίπτωση του συμπλόκου, πιθανότητα το φορτίο της διπλοστιβάδας επηρεάζει τη διαμόρφωση, επάγοντας αλληλεπιδράσεις μεταξύ μεμβράνης και συμπλόκου χαλκού, δικαιολογώντας την μεγαλύτερης διάρκειας παραμονή του συμπλόκου μέσα στην διπλοστιβάδα. Στην συνέχεια, παρατίθενται στιγμιότυπα κατά την μετακίνηση του μορίου *BZIMU* (Εικ. 93) και του συμπλόκου *CuComplex* (Εικ. 94) διαμέσου της μεμβράνης *DPPG*, υπό την επίδραση δυναμικού με χρήση της μεθόδου *Umbrella Sampling*. Όπως φαίνεται, το μόριο *BZIMU* διαπερνά πιο γρήγορα την διπλοστιβάδα, σε σχέση με το σύμπλοκο *CuComplex*. Στην περίπτωση του συμπλόκου (Εικ. 94), παρατηρούμε ότι το μόριο διαρρηγνύει βίαια την μεμβράνη, προκαλώντας αλλαγή στην καμπυλότητά της. Όπως φάνηκε και προηγουμένως, το ενεργειακό σύνορο που πρέπει να ξεπεράσει το σύμπλοκο μόριο είναι αρκετά υψηλό, με αποτέλεσμα, η διέλευση του μορίου διαμέσου της μεμβράνης, ως μη ευνοημένη, να προκαλεί μεταβολές στην μορφολογία της διπλοστιβάδας.

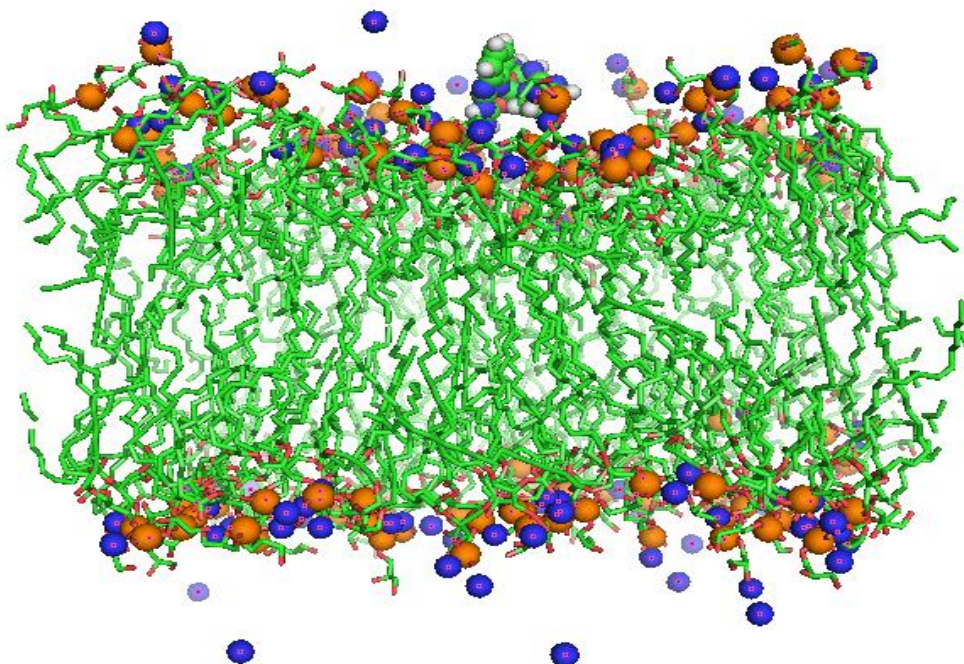
Εικόνα 93: Μετατόπιση του μεμονωμένου μορίου BZIMU καθώς διαπερνά την μεμβράνη DPPG. Τα στιγμιότυπα έχουν ληφθεί τις χρονικές στιγμές: 0.1, 1.3, 1.8, 2.2 και 2.5 ns αντίστοιχα. Με πορτοκαλί χρώμα, φαίνονται τα άτομα φωσφόρου των πολικών κεφαλών, με μπλε χρώμα φαίνονται τα ιόντα νατρίου που προστέθηκαν στο σύστημα ώστε η διπλοστιβάδα να είναι στο σύνολό της αφόρτιστη, με πράσινο χρώμα οι υδρογονανθρακικές αλυσίδες, και με κόκκινο και λευκό χρώμα τα μόρια νερού.

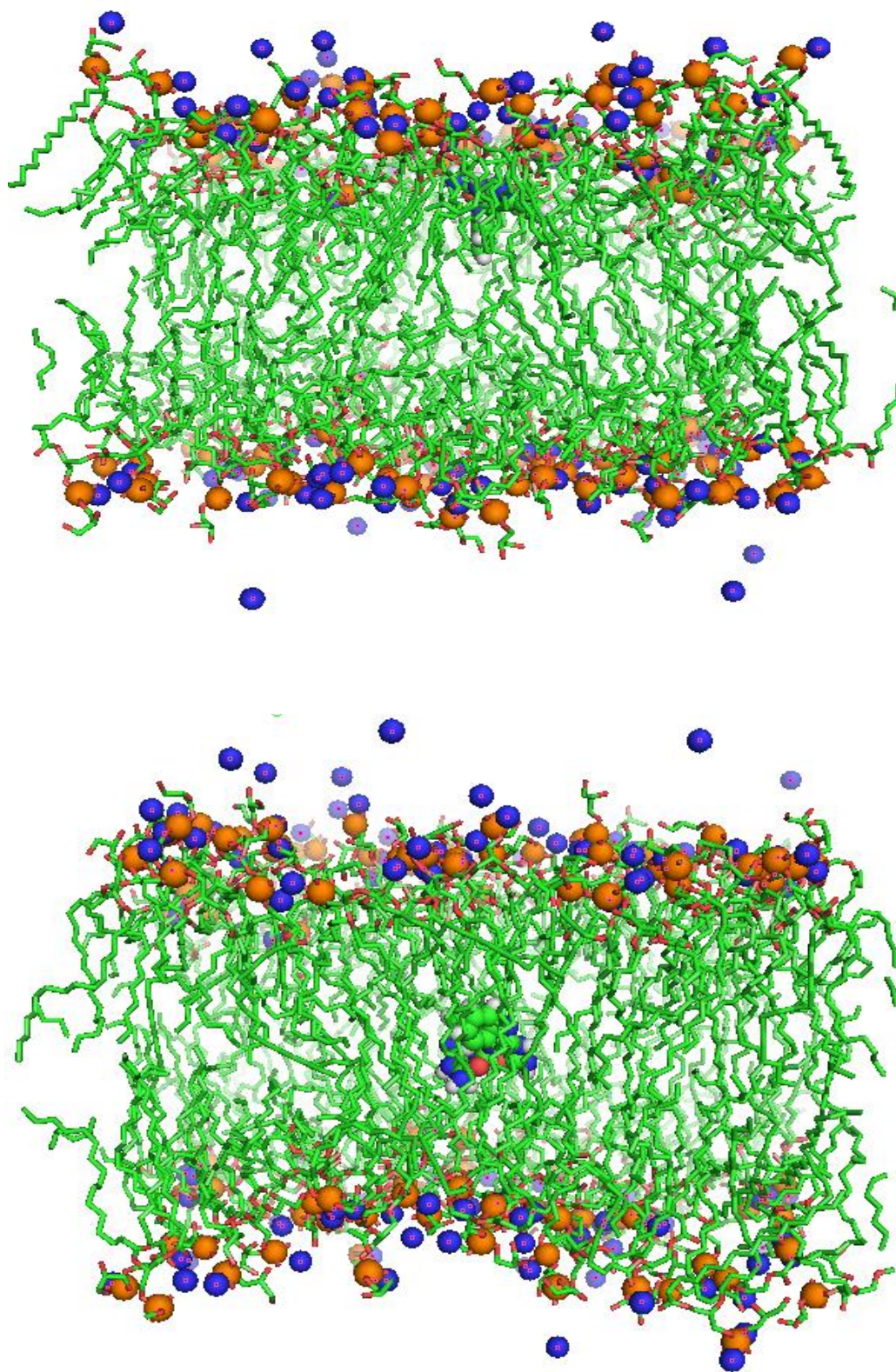


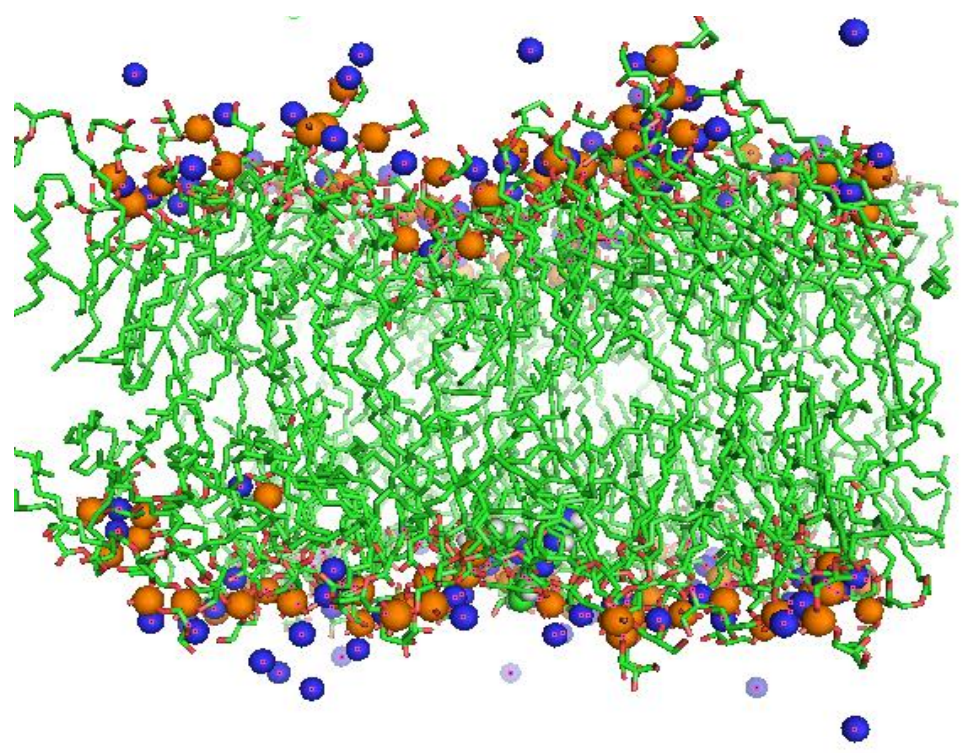
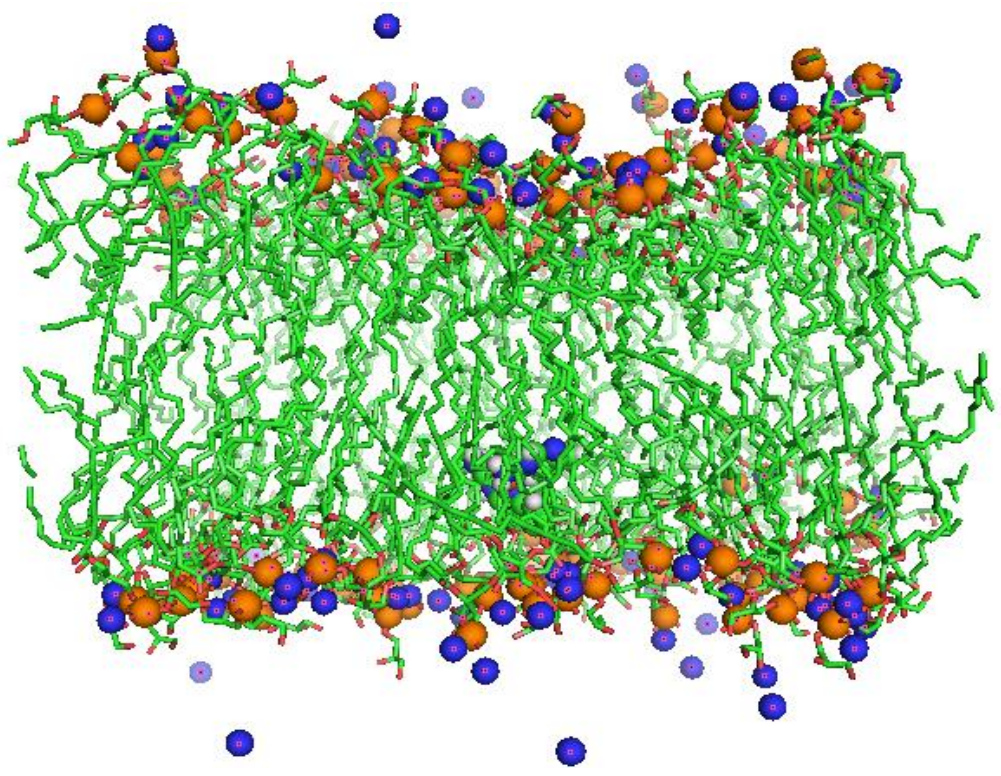




Εικόνα 94: Μετατόπιση του συμπλόκου μορίου με χαλκό II CuComplex καθώς διαπερνά την μεμβράνη DPPG. Τα στιγμιότυπα έχουν ληφθεί τις χρονικές στιγμές: 0.7, 1.5, 3.1, 3.6 και 4.2 ns αντίστοιχα. Με πορτοκαλί χρώμα, φαίνονται τα άτομα φωσφόρου των πολικών κεφαλών, με μπλε χρώμα φαίνονται τα ιόντα νατρίου που προστέθηκαν στο σύστημα ώστε η διπλοστιβάδα να είναι στο σύνολό της αφόρτιστη, με πράσινο χρώμα οι υδρογονανθρακικές αλυσίδες, και με κόκκινο και λευκό χρώμα τα μόρια νερού.







III. 4. Μελέτη επίδρασης συγκέντρωσης μορίων

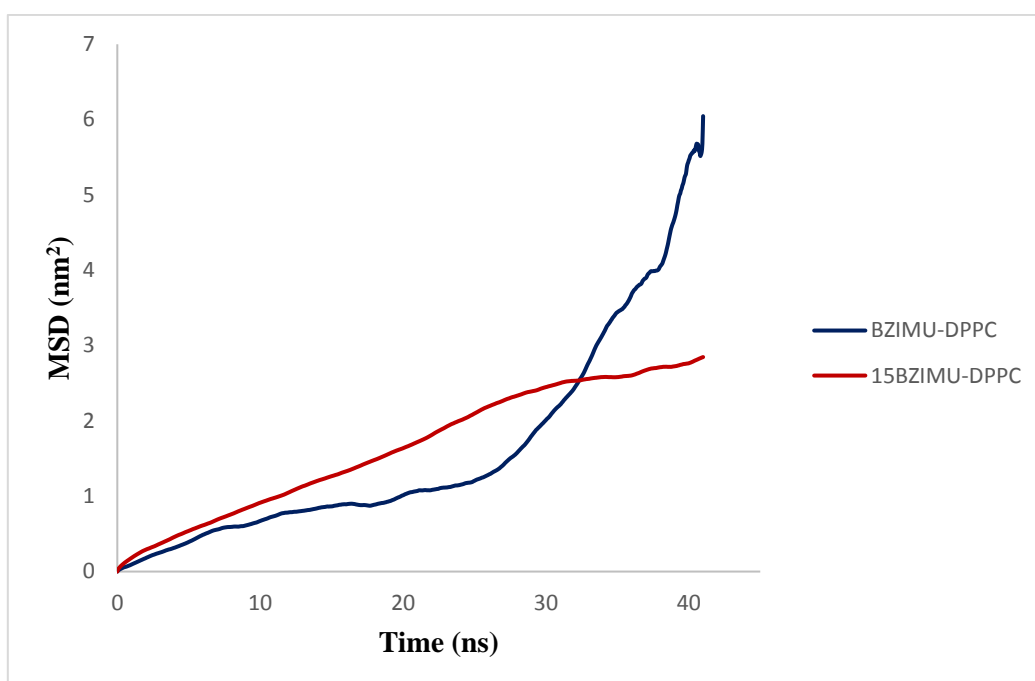
Για την μελέτη της επίδρασης της συγκέντρωσης μορίων *BZIMU* στην διάχυση των μορίων σε κάθε σύστημα διπλοστιβάδας, αυξήσαμε την συγκέντρωση του διαλύματος με την προσθήκη 15 μορίων *BZIMU*. Στην συνέχεια εφαρμόσαμε ένα αρμονικό δυναμικό κατά μήκος του άξονα z .

Ο σχηματισμός συσσωματωμάτων μορίων *BZIMU*, βρήκαμε ότι προκαλεί τη δημιουργία πόρων κάτι το οποίο προτάθηκε και σε παλαιότερη μελέτη⁴³. Οι πόροι γεμίζουν με μόρια νερού, ενώ τα λιπίδια απομακρύνονται από τις θέσεις τους στην διπλοστιβάδα. Η εσωτερική αυτή διάρρηξη της μεμβράνης, οφείλεται στις ισχυρές αλληλεπιδράσεις διασποράς μεταξύ των sp^2 ατόμων άνθρακα του μορίου *BZIMU* και των ουρών των λιπιδίων^{43,194}. Η αύξηση της συγκέντρωσης μορίων που μοιάζουν με φάρμακα μέσα στην μεμβράνη, φαίνεται να επηρεάζει την αποτελεσματικότητα της διάχυσης και της πρόσληψής τους από την μεμβράνη. Επομένως, ο σχηματισμός πόρων μπορεί να προσφέρει αποδείξεις για την προηγουμένως μελετημένη κυτταροτοξικότητα αυτών των ενώσεων, καταστρέφοντας την μεμβράνη με διάρρηξη.

III. 4.1. Διπλοστιβάδα *DPPC* με 15 μόρια *BZIMU*

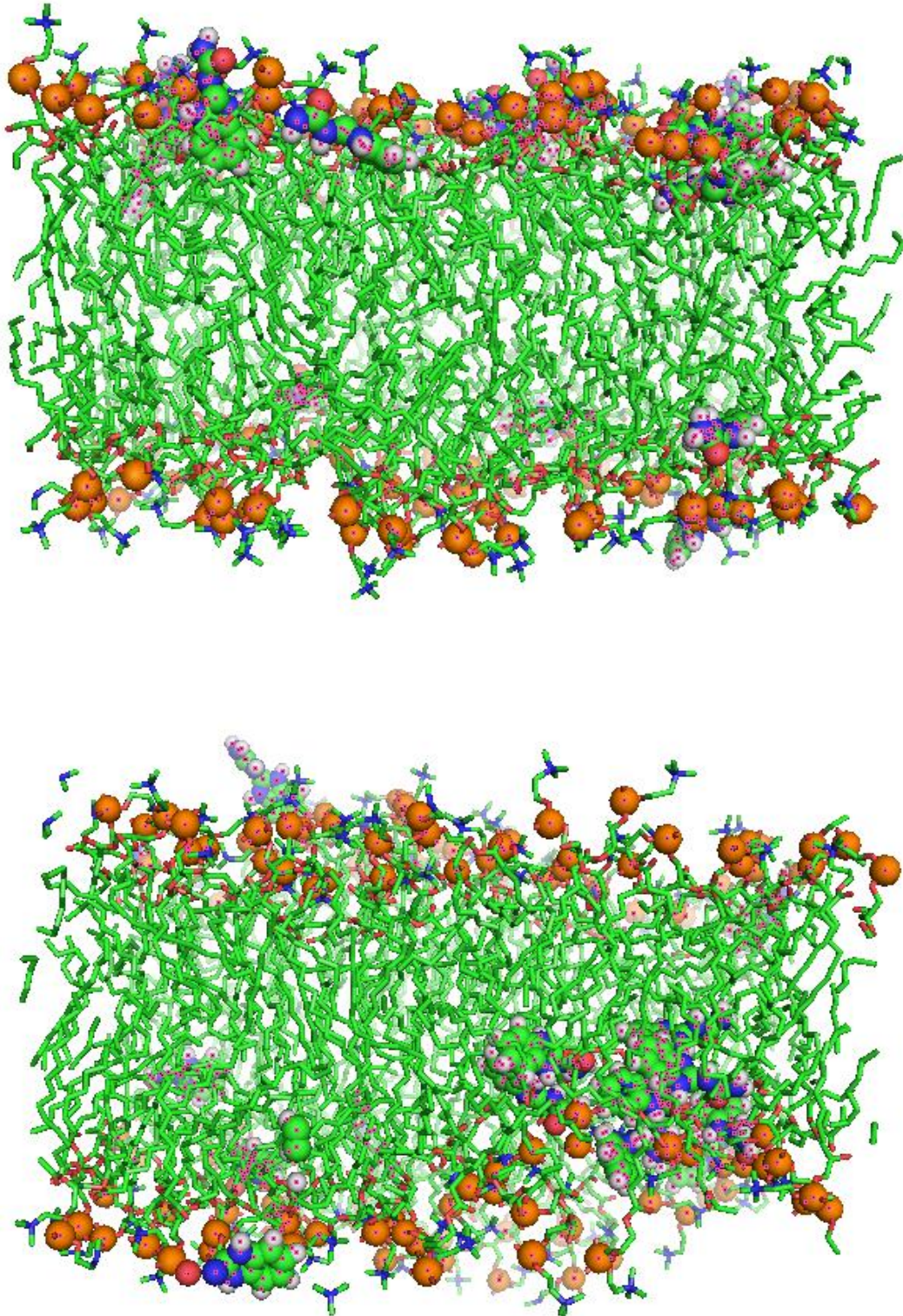
Όπως φαίνεται και στα αντίστοιχα στιγμιότυπα (*Εικ. 96*), η αυξημένη συγκέντρωση *BZIMU* (*15BZIMU*) σχηματίζει ένα συσσωμάτωμα την χρονική στιγμή $t = 7 \text{ ns}$, κοντά στο κέντρο της διπλοστιβάδας *DPPC*, με μόνον 3 μόρια *BZIMU* να απέχουν από την συσσώρευση. Παρόμοια συμπεριφορά έχει επίσης αναφερθεί σε αντίστοιχη μελέτη μοριακής δυναμικής σχετικά με την διάχυση του *bisphenol-A* διαμέσου μεμβράνης *DPPC*¹⁹⁵, αν και σε αυτή την περίπτωση η διάχυση ήταν ενεργειακά προτιμώμενη ($\Delta G < 0$). Το προφίλ πυκνότητας μάζας αλλάζει κατά την διέλευση από το κέντρο της διπλοστιβάδας, σε σχέση με το αντίστοιχο προφίλ για το ένα μόριο *BZIMU* στην μεμβράνη, υποδηλώνοντας την χαμηλή διαλυτότητα των λιπιδίων παρά τον υδρόφοβο χαρακτήρα του μορίου. Η σταθερά διάχυσης του *BZIMU*

αυξάνει όταν είναι παρόντα στην μεμβράνη 15 μόρια. Οι τιμές που προέκυψαν με χρήση του εργαλείου ανάλυσης *gmx msd* του υπολογιστικού πακέτου *GROMACS* για την πλευρική διάχυση των πολικών κεφαλών των λιπιδίων, ήταν $0.004769 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ και $0.02928 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ για το ένα μόριο *BZIMU* και τα 15 μόρια (*15BZIMU*), αντίστοιχα. Επομένως η σταθερά διάχυσης αυξάνει καθώς αυξάνει ο αριθμός των μορίων (Εικ. 95). Ως αποτέλεσμα, η διάχυση των λιπιδίων στην μεμβράνη *DPPC* μειώνεται καθώς τα 15 μόρια *BZIMU* (*15BZIMU*) καταλαμβάνουν περισσότερο χώρο κατά την διείσδυση. Έχει προταθεί ότι η μεταφορική κινητικότητα των λιπιδίων σχετίζεται με την ικανότητα διείσδυσης μικρών μορίων κατά μήκος της μεμβράνης¹⁹⁶.

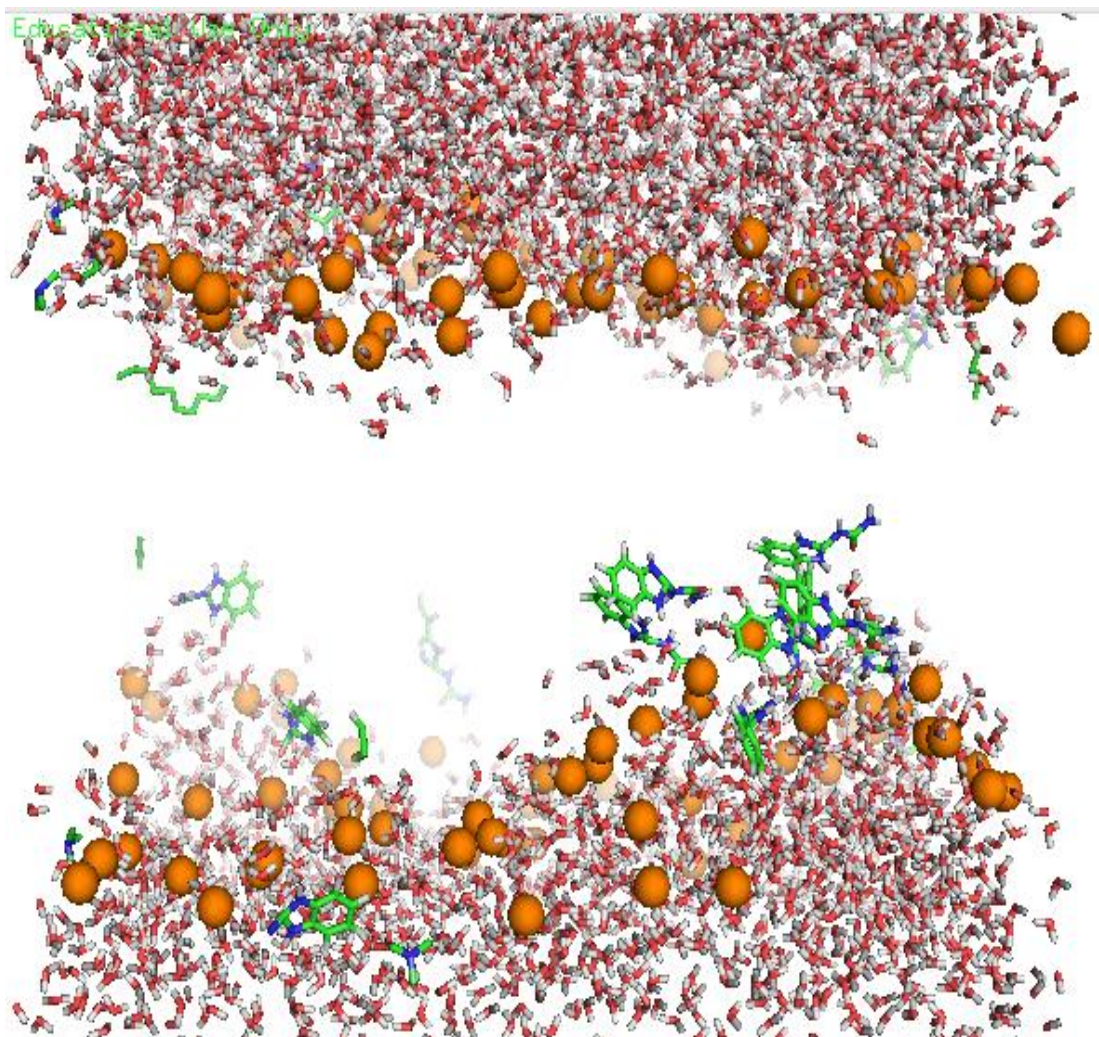


Εικόνα 95: Διάχυση σε συνάρτηση με τον χρόνο για το μεμονωμένο μόριο και τα 15 μόρια *BZIMU* που εισήχθησαν στην διπλοστιβάδα *DPPC*. Με μπλε χρώμα για το ένα μόριο *BZIMU* και με κόκκινο χρώμα για τα 15 μόρια *BZIMU*.

Στην συνέχεια, φαίνονται δύο στιγμιότυπα (Εικ.96) από την αρχική διαμόρφωση του συστήματος διπλοστιβάδας *DPPC* με 15 μόρια *BZIMU*, λίγο πριν αρχίσει η κίνηση των μορίων διαμέσου της διπλοστιβάδας, και κατά την δημιουργία συσσωματωμάτων. Επίσης παρατίθεται εικόνα κατά την δημιουργία πόρων στην διπλοστιβάδα, λόγω της συσσωμάτωσης των μορίων *BZIMU* (Εικ. 97).



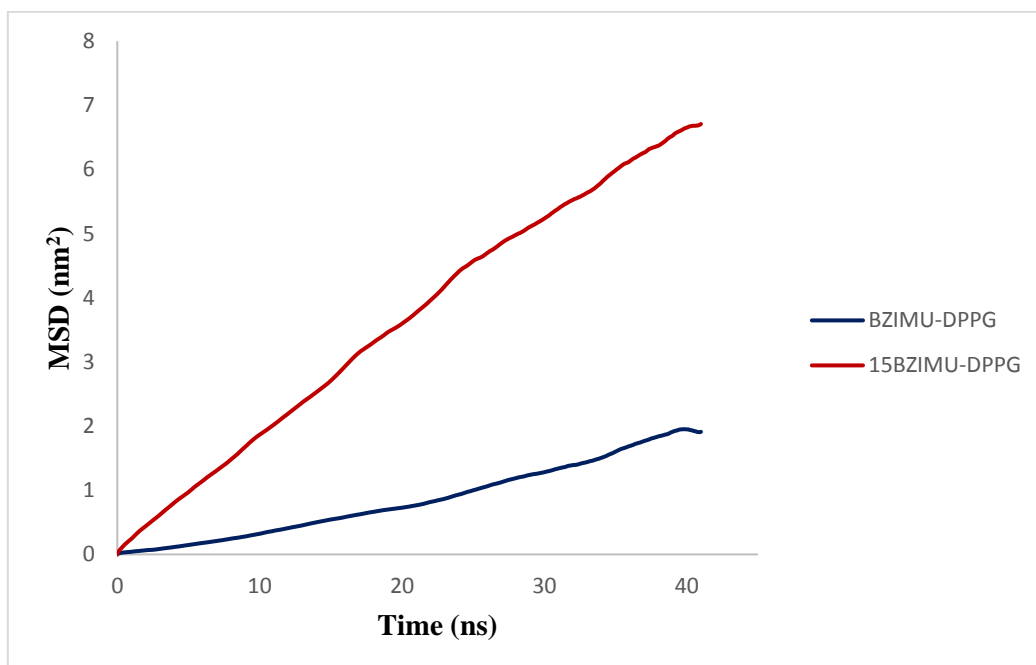
Εικόνα 96: Δημιουργία συσσωματωμάτων των μορίων BZIMU υπό την επίδραση δυναμικού κατά μήκος του άξονα-z στην διπλοστιβάδα DPPC. Τα στιγμιότυπα λήφθηκαν τις χρονικές στιγμές 0.3, και 7.4 ns. Με πορτοκαλί και μπλε χρώμα αντίστοιχα, φαίνονται τα άτομα φωσφόρου και αζώτου των πολικών κεφαλών, με πράσινο χρώμα οι υδρογονανθρακικές αλυσίδες.



Εικόνα 97: Δημιουργία πόρων στην διπλοστιβάδα DPPC κατά την δημιουργία συσσωματωμάτων των 15 μορίων BZIMU που εισήχθησαν. Με πορτοκαλί χρώμα φαίνονται τα άτομα φωσφόρου των πολικών κεφαλών των λιπιδίων, και με κόκκινο και λευκό χρώμα τα μόρια νερού. Τα λιπίδια της διπλοστιβάδας έχουν αποκρυφθεί ώστε να είναι πιο ευδιάκριτη η δημιουργία πόρων.

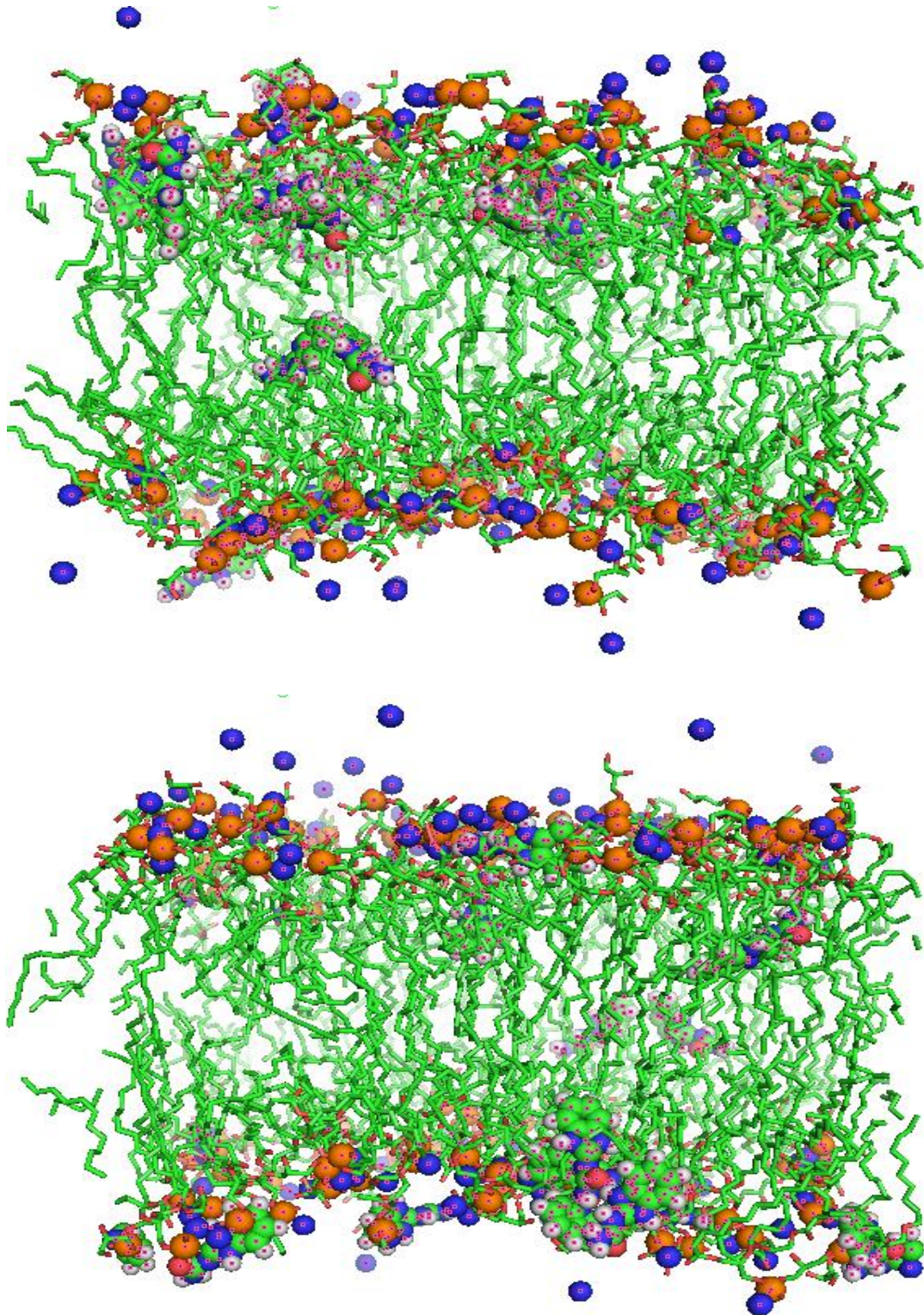
III. 4. 2. Διπλοστιβάδα DPPG με 15 μόρια BZIMU

Στην περίπτωση της διπλοστιβάδας DPPG, οι τιμές για την πλευρική διάχυση των ατόμων φωσφόρου των πολικών κεφαλών των λιπιδίων, που προέκυψαν με χρήση του εργαλείου ανάλυσης *gmx msd* του υπολογιστικού πακέτου GROMACS, ήταν $0.008922 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ και $0.0110 \times 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ για το ένα μόριο BZIMU και τα 15 μόρια (15BZIMU), αντίστοιχα. Τα μόρια BZIMU (15BZIMU) σχηματίζουν 3 συσσωματώματα την χρονική στιγμή $t = 6.87 \text{ ns}$, κοντά στην απέναντι, ως προς την αρχική, πολική περιοχή της διπλοστιβάδας, με περίπου 5 μόρια BZIMU να απέχουν από την συσσώρευση. Η σταθερά διάχυσης και πάλι αυξάνει καθώς αυξάνει ο αριθμός των μορίων, σε αυτή την περίπτωση όμως πιο απότομα από ότι στην περίπτωση της διπλοστιβάδας DPPC (Εικ. 98). Το προφίλ πυκνότητας μάζας άλλαξε κατά την διέλευση από το κέντρο της διπλοστιβάδας, σε σχέση με το αντίστοιχο προφίλ για το ένα μόριο BZIMU στην μεμβράνη, παρουσιάζοντας υψηλότερη μεταβολή. Πιθανή αιτία για αυτό, είναι ότι η αύξηση της συγκέντρωσης της ουσίας προκαλεί διάρρηξη της μεμβράνης, λόγω των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των μορίων, σε συνδυασμό και με την παρουσία των υδροξυλίων των PG λιπιδίων που προκαλούν αλληλεπιδράσεις και στο εσωτερικό της διπλοστιβάδας.

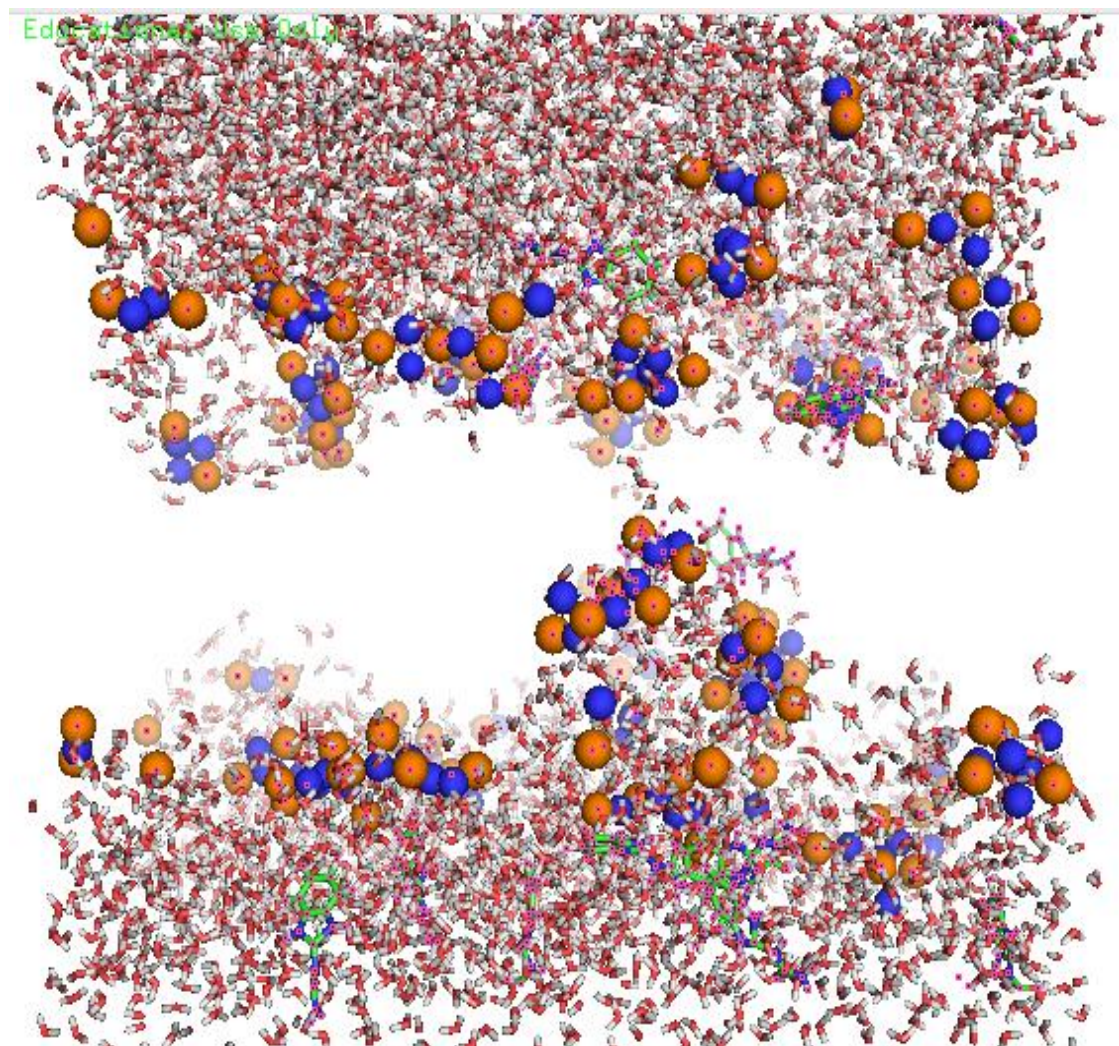


Εικόνα 98: Διάχυση σε συνάρτηση με τον χρόνο για το μεμονωμένο μόριο και τα 15 μόρια BZIMU που εισήχθησαν στην διπλοστιβάδα DPPG. Με μπλε χρώμα για το ένα μόριο BZIMU και με κόκκινο χρώμα για τα 15 μόρια BZIMU.

Ακολουθούν δύο στιγμιότυπα (Εικ. 99) από την αρχική διαμόρφωση του συστήματος διπλοστιβάδας *DPPG* με 15 μόρια *BZIMU*, λίγο πριν αρχίσει η κίνηση των μορίων διαμέσου της διπλοστιβάδας, και κατά την δημιουργία συσσωματωμάτων. Επίσης παρατίθεται εικόνα κατά την δημιουργία πόρων στην διπλοστιβάδα, λόγω της συσσωμάτωσης των μορίων *BZIMU* (Εικ. 100).



Εικόνα 99: Δημιουργία συσσωματωμάτων των μορίων BZIMU υπό την επίδραση δυναμικού κατά μήκος του άξονα-z στην μεμβράνη DPPG. Τα στιγμιότυπα ελήφθησαν τις χρονικές στιγμές 0.01, και 6.87 ns. Με πορτοκαλί χρώμα, φαίνονται τα άτομα φωσφόρου των πολικών κεφαλών, με μπλε χρώμα φαίνονται τα ιόντα νατρίου που προστέθηκαν στο σύστημα ώστε η διπλοστιβάδα να είναι στο σύνολό της αφόρτιστη, με πράσινο χρώμα οι υδρογονανθρακικές αλυσίδες, και με κόκκινο και λευκό χρώμα τα μόρια νερού.



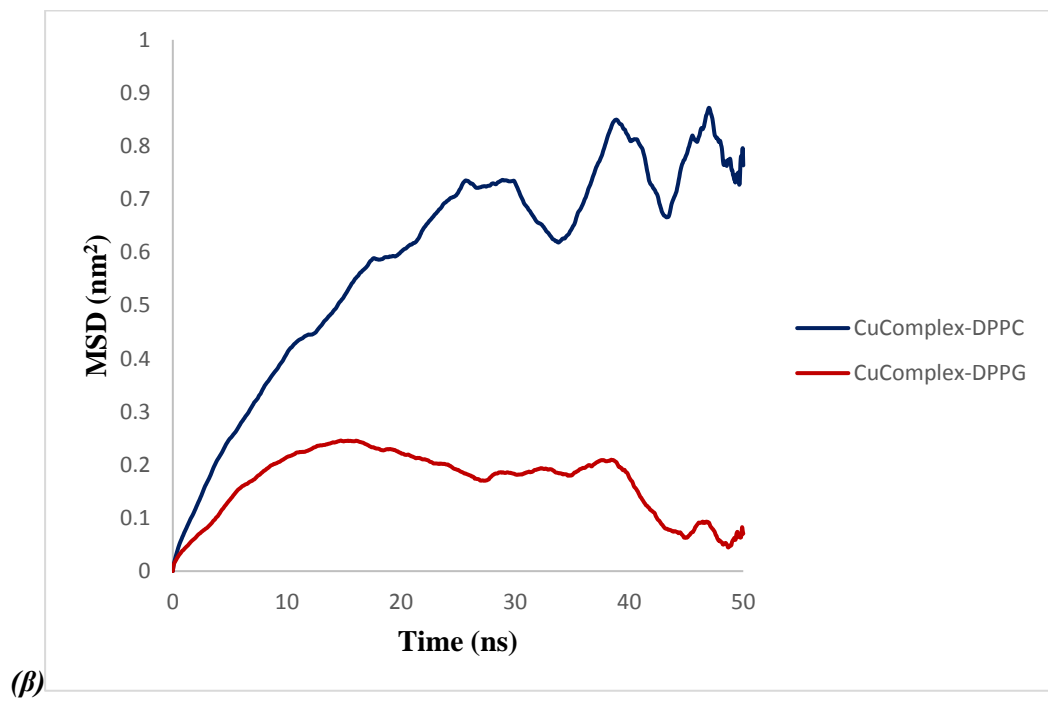
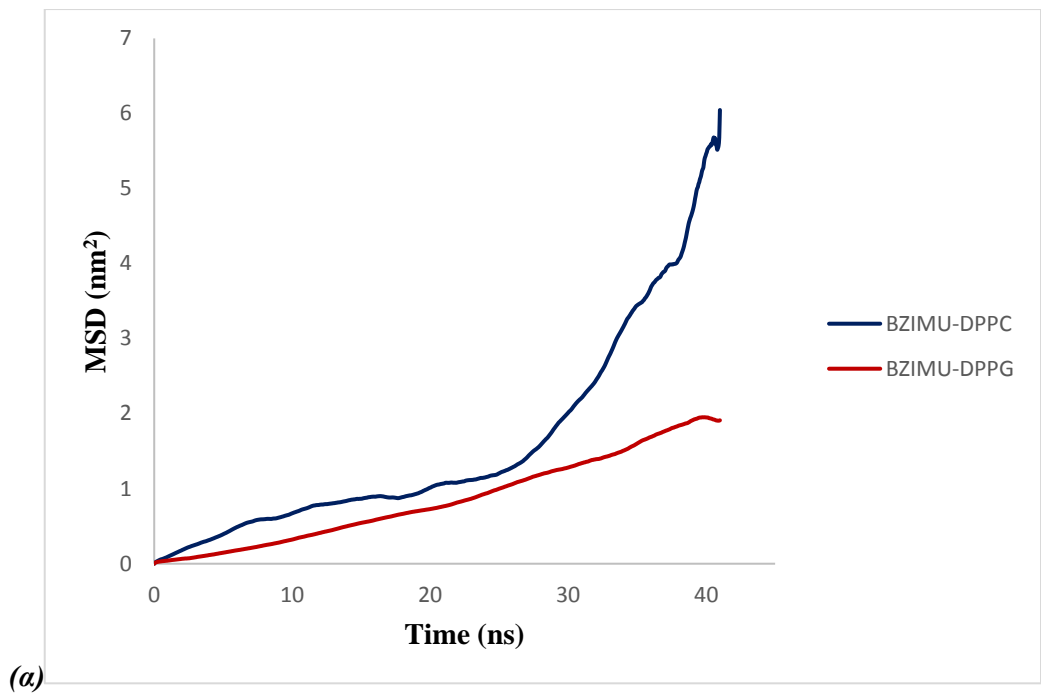
Εικόνα 100: Δημιουργία πόρων στην διπλοστιβάδα DPPG κατά την δημιουργία συσσωματωμάτων των 15 μορίων BZIMU που εισήχθησαν. Με πορτοκαλί και μπλε χρώμα αντίστοιχα, φαίνονται τα άτομα φωσφόρου των πολικών κεφαλών των λιπιδίων και τα ιόντα νατρίου που προστέθηκαν στο σύστημα ώστε η διπλοστιβάδα να είναι αφόρτιστη. Με κόκκινο και λευκό χρώμα φαίνονται τα μόρια νερού. Τα λιπίδια της διπλοστιβάδας έχουν αποκρυσθθεί ώστε να είναι πιο ευδιάκριτη η δημιουργία πόρων.

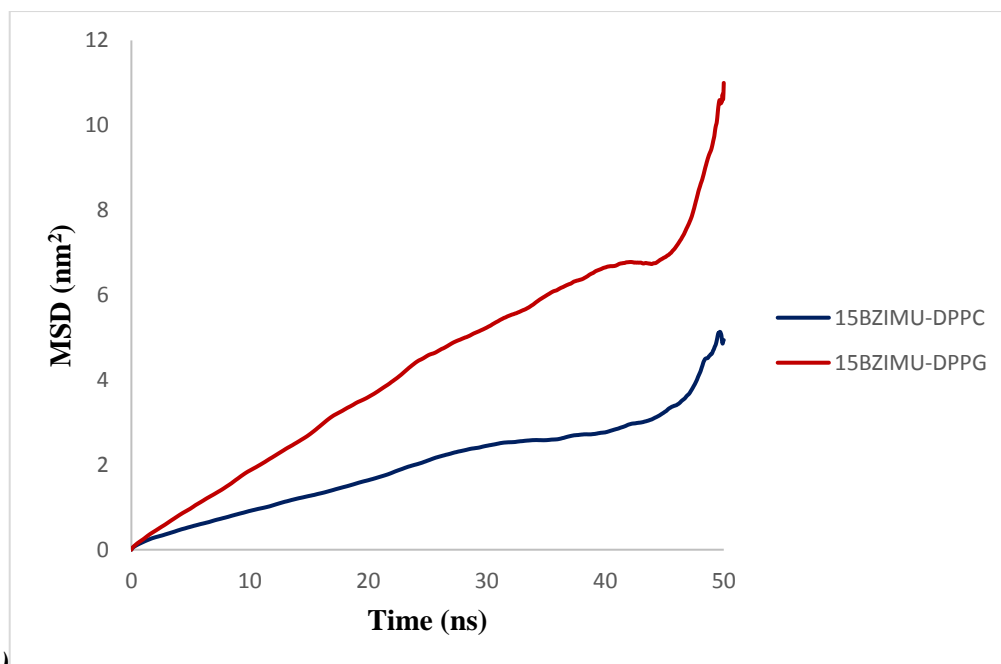
III. 5. Σύγκριση συστημάτων διπλοστιβάδων *DPPC* και *DPPG*

Συγκρίνοντας τα διαγράμματα για την κατανομή των δεσμών υδρογόνου για τα συστήματα με διπλοστιβάδες *DPPC* και *DPPG* εισάγοντας τα μόρια (*Εικ. 66, 89*), φαίνεται ότι για τα συστήματα στα οποία τοποθετείται μόνο ένα μόριο *BZIMU* η κατανομή είναι παρόμοια αν και η καμπύλη είναι ελαφρώς μετατοπισμένη στην περίπτωση της *DPPG* μεμβράνη προς το υδρόφιλο τμήμα, λόγω των ομάδων υδροξυλίου της γλυκερόλης. Στην περίπτωση του μεταλλοσυμπλόκου, και ειδικά στην διπλοστιβάδα *DPPG*, οι δεσμοί υδρογόνου εμφανίζονται ελαφρώς αυξημένοι σε σύγκριση με τη διπλοστιβάδα *DPPC* αλλά εξίσου ασταθείς υποδηλώνοντας την απουσία κατάλληλου περιβάλλοντος για πιθανή αλληλεπίδραση.

Παρατηρήθηκε όμως ότι ο σχηματισμός δεσμών υδρογόνου μεταξύ ενός μορίου και μεμβράνης *DPPC* δεν επηρεάζει στερεοχημικά το σύστημα καθώς η κατανομή παραμένει σχεδόν η ίδια είτε στην περίπτωση του μορίου είτε του συμπλόκου. Ο μέγιστος αριθμός δεσμών υδρογόνου, όπως αναμένεται, παρατηρείται όταν κάθε μόριο βρίσκεται στο υδρόφιλο τμήμα της μεμβράνης και κοντά στην περιοχή του υδάτινου περιβάλλοντος. Καθώς κάθε μόριο κινείται από την υδάτινη περιοχή σε ισορροπία, υπάρχει μια μείωση του αριθμού των δεσμών υδρογόνου, η οποία παρατηρείται καθώς γενικά κινείται εντός της διπλοστιβάδας. Το ίδιο φαινόμενο παρατηρείται και στις δύο μεμβράνες. Επιπλέον, περισσότεροι δεσμοί υδρογόνου εμφανίζονται μεταξύ των μεμονωμένων μορίων και της γλυκερόλης στην διπλοστιβάδα *DPPG*.

Από την σύγκριση των διαγραμμάτων διάχυσης σε συνάρτηση με τον χρόνο (*Εικ. 101*), για τα συστήματα κάθε μεμβράνης με εισαγωγή ενός μορίου *BZIMU*, ενός μορίου συμπλόκου χαλκού (*CuComplex*) και 15 μορίων *BZIMU* αντίστοιχα, παρατηρούμε ότι το μεμονωμένο μόριο *BZIMU* και το σύμπλοκο παρουσιάζουν μεγαλύτερη τάση για διάχυση στην περίπτωση της *DPPC* μεμβράνης από ότι στην *DPPG*. Αντίθετα, τα 15 μόρια *BZIMU* παρουσιάζουν μεγαλύτερη τάση διάχυσης στην *DPPG* μεμβράνη από ότι στην *DPPC*. Η συγκέντρωση των μορίων σε συνδυασμό με το περιβάλλον της μεμβράνης οδηγούν σε διαφορετικά αποτελέσματα ανάλογα με την περίπτωση, που σημαίνει ότι η διαδικασία εξαρτάται πράγματι και από το είδος των λιπιδίων.

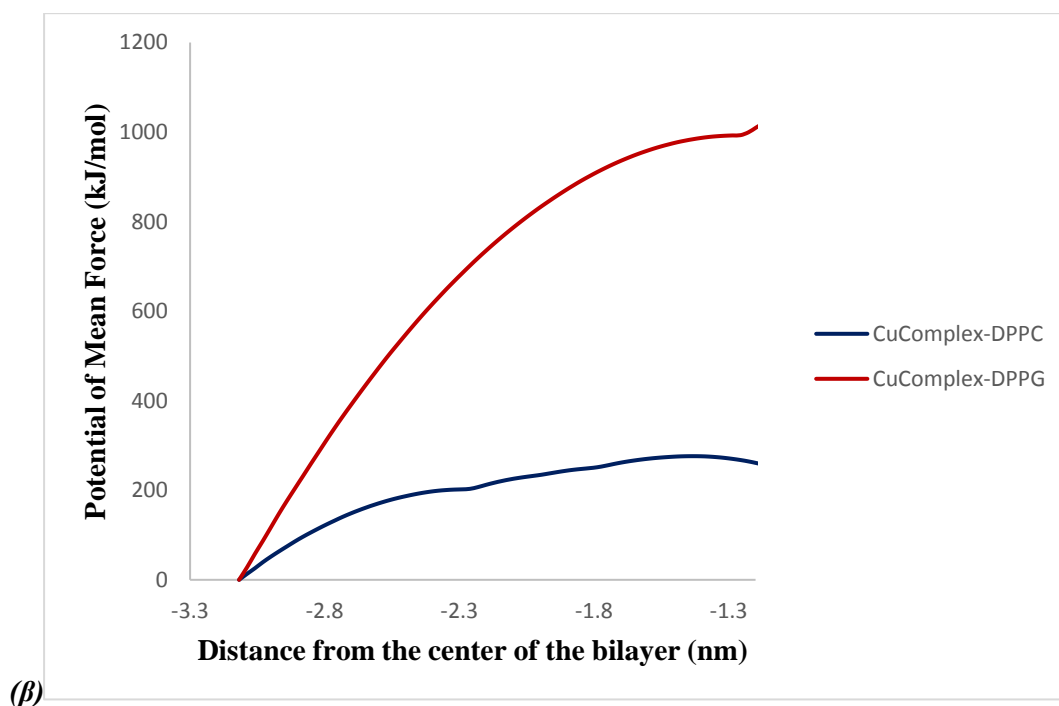
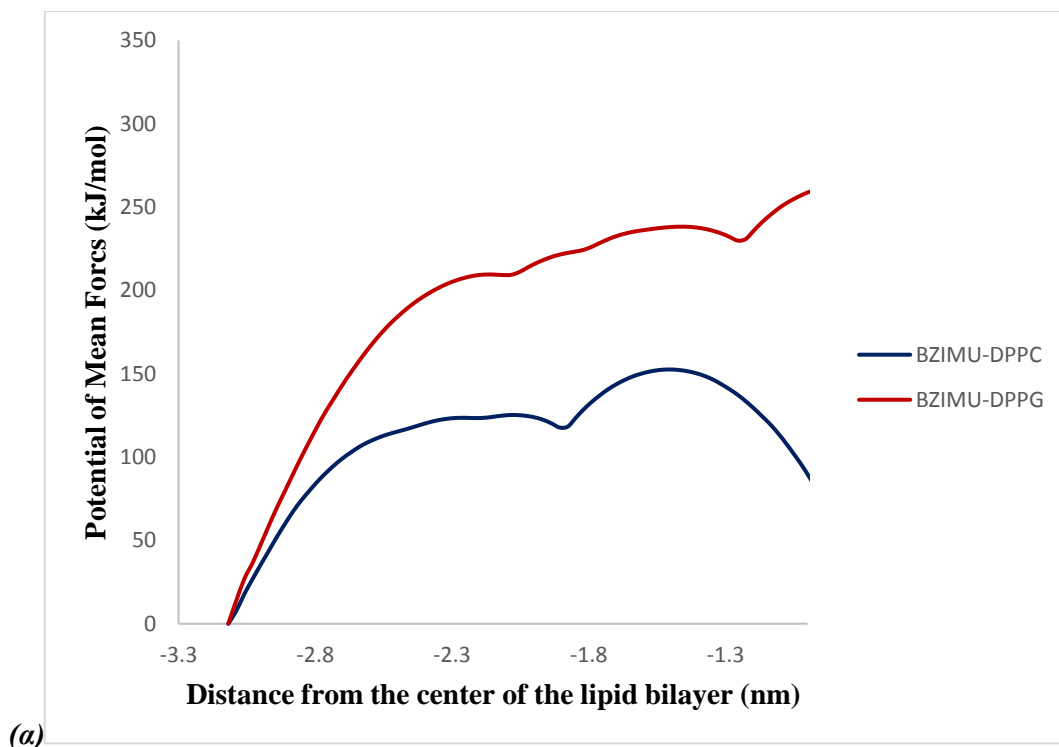




(γ)

Εικόνα 101: Πλευρική διάχυση σε συνάρτηση με τον χρόνο για (α) το μεμονωμένο μόριο BZIMU, (β) το σύμπλοκο χαλκού II (CuComplex) και (γ) τα 15 μόρια BZIMU που εισήχθησαν σε διπλοστιβάδα DPPC και DPPG. Με μπλε χρώμα φαίνεται η διάχυση του κάθε μορίου σε σύστημα διπλοστιβάδας DPPC, και με κόκκινο χρώμα η διάχυση σε διπλοστιβάδα DPPG.

Τα προφίλ ελεύθερης ενέργειας των μορίων στις λιπιδικές διπλοστιβάδες DPPC και DPPG (Εικ. 102), εξήχθησαν με υπολογισμούς κατά τη μεταφορά τους από τη μία πολική μεμβράνη στην άλλη, με την προϋπόθεση ότι είναι συμμετρικά γύρω από το κέντρο της διπλοστιβάδας. Όπως φάνηκε από τα διαγράμματα δυναμικού μέσης δύναμης (PMF), το κάθε μόριο παρουσιάζει ένα παρόμοιας μορφής προφίλ ελεύθερης ενέργειας για τις δύο διπλοστιβάδες, με διαφορές ως προς τα ενεργειακά σύνορα. Καθώς το κάθε μόριο κινείται στο πολικό τμήμα της κεφαλής της μεμβράνης, η ελεύθερη ενέργεια αλλάζει από την τιμή μηδέν που υπάρχει στην περιοχή του νερού. Όταν εισέρχονται στο κάτω μέρος των κεφαλών, το μέσο δυναμικό ισχύος μειώνεται ελαφρώς, λόγω της κίνησης του μορίου σε ένα όλο και περισσότερο υδρόφοβο περιβάλλον, καθώς και λόγω της ηλεκτροστατικής έλξης των πολικών ομάδων τους με τις φορτισμένες κεφαλές των λιπιδίων.



Εικόνα 102: Δυναμικό μέσης δύναμης σε συνάρτηση με την συντεταγμένη κατά μήκος του άξονα z για (α) το μόριο BZIMU και (β) το σύμπλοκο με χαλκό (II) (CuComplex) στις διπλοστιβάδες DPPC και DPPG. Με μπλε χρώμα για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC, και με κόκκινο χρώμα για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG.

Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι τα δύο μόρια (*BZIMU* και *CuComplex*) έχουν μεγαλύτερη δέσμευση στην *DPPG* διπλοστιβάδα απ' ό,τι στην *DPPC*. Αυτό μπορεί να οφείλεται στις ηλεκτροστατικές και επαγόμενες αλληλεπιδράσεις ιόντων-διπόλων των μορίων με τις υδροξυλομάδες της γλυκερόλης της διπλοστιβάδας *DPPG*. Επομένως, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι η συνδεσιμότητα των μορίων στις λιπιδικές διπλοστιβάδες εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη σύνθεση και τη δομή της διπλοστιβάδας. Καθώς τα μόρια κινούνται μέσα από την μεμβράνη, υπάρχει αύξηση της ελεύθερης ενέργειας στο πολικό τμήμα της μεμβράνης *DPPG*, η οποία ωστόσο δεν παρατηρείται σε τέτοιο βαθμό στην μεμβράνη *DPPC*.

Από τα αποτελέσματα συμπεραίνουμε, ότι και στις δύο περιπτώσεις διπλοστιβάδας, δεν ευνοείται ενεργειακά η μεταφορά των μορίων *BZIMU* και συμπλόκου (*CuComplex*) διαμέσου των μεμβρανών. Η κατανομή ενός μορίου εξαρτάται από την αντίστοιχη ενέργεια, ωστόσο η διείσδυση εξαρτάται από το σύνολο της ελεύθερης ενέργειας. Για αυτό τον λόγο, μπορούμε να προβλέψουμε την διεισδυτικότητα του μορίου με χρήση της μεθόδου δυναμικού μέσης δύναμης (*PMF*). Πιο συγκεκριμένα στην περίπτωση αυτών των συστημάτων η μέθοδος *PMF* δηλώνει ένα μεγάλο ερώτημα σχετικά με το αν αντίστοιχες ενώσεις με μέταλλα μεταφοράς, που λειτουργούν ως πιθανά φάρμακα, μπορούν να ξεπεράσουν το ενεργειακό φράγμα κατά την διαμεμβρανική τους μετακίνηση ή αν ασκούν την δράση τους ως βιολογικά ενεργά μεταλλικά ιόντα. Υποστηρίζουμε ότι τα σύμπλοκα μετάλλων, όπως το *CuComplex*, και στις δύο περιπτώσεις, πιθανότατα διαρρηγνύουν την μεμβράνη παρά ότι διεισδύουν παθητικά καθώς δεν έχουμε πληροφορίες για δράση μεταφορικών πρωτεϊνών για τα εν λόγω συστήματα.

Στην μελέτη επίδρασης της συγκέντρωσης των μορίων, η διαφορά στον χρόνο διέλευσης και συσσώρευσης των 15 μορίων *BZIMU* συμφωνεί και με τα διαγράμματα διάχυσης των 15 μορίων σε κάθε διπλοστιβάδα από όπου φαίνεται ότι στην μεμβράνη *DPPC* τα μόρια δεν διαχέονται το ίδιο εύκολα με την περίπτωση της μεμβράνης *DPPG*. Ωστόσο, το γεγονός ότι στην περίπτωση της διπλοστιβάδας *DPPG* δημιουργούνται περισσότερα μικρά συσσωματώματα από ό,τι στην *DPPC*, πιθανόν να οφείλεται στην παρουσία φορτίου στην διπλοστιβάδα και συνεπώς ισχυρότερων επαγόμενων αλληλεπιδράσεων. Από τα διαγράμματα των ενεργειών αλληλεπιδράσεων *Lennard-Jones* μικρής εμβέλειας για τα δύο συστήματα μεμβρανών με 15 μόρια *BZIMU*, φαίνεται ότι στην περίπτωση της *DPPG* μεμβράνης το δυναμικό *Lennard-Jones* είναι

δεκαπλάσιο σχεδόν από το αντίστοιχο της περίπτωσης της *DPPC* μεμβράνης, που ίσως να σημαίνει ότι στην περίπτωση της *DPPG* μεμβράνης τα μόρια εμπλέκονται σε σημαντικά περισσότερες αλληλεπιδράσεις στο εσωτερικό της μεμβράνης.

Συμπερασματικά, παρατηρείται μία αντίστοιχη συμπεριφορά των συστημάτων διπλοστιβάδας με μεμονωμένα μόρια *BZIMU* και συμπλόκου *CuComplex*, με το σύμπλοκο και στις δύο περιπτώσεις να παρουσιάζει μικρότερο συντελεστή διάχυσης, σε σχέση με το *BZIMU*. Και για τα δύο μόρια μεγαλύτερος συντελεστής διάχυσης εμφανίζεται στην περίπτωση της *DPPC* μεμβράνης, σε σχέση με τα αντίστοιχα συστήματα μεμβράνης *DPPG*. Ωστόσο, η συγκέντρωση των 15 μορίων *BZIMU* δίνει αντίστροφα αποτελέσματα, με την περίπτωση της μεμβράνης *DPPG* να εμφανίζει μεγαλύτερο συντελεστή διάχυσης των μορίων. Και στις δύο περιπτώσεις διαφαίνεται πως οι μεμβράνες διαρρηγνύονται κατά το πέρασμα των μορίων διαμέσου αυτών, που στην περίπτωση των 15 μορίων *BZIMU* ακολουθείται από δημιουργία πόρων.

IV. Περίληψη

Τα παράγωγα των βενζιμιδαζολών έχουν κεντρίσει το ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια λόγω της ευρείας φαρμακολογικής τους δράσης και δρουν ως αντιφλεγμονώδεις, υποτασικές, αναλγητικές και αντισυσσωματικές ενώσεις. Είναι επίσης κοινοί προσδέτες (*ligands*) στη χημεία ενώσεων συναρμογής μετάλλων μεταπτώσεως. Σχηματίζουν σύμπλοκες ενώσεις με βελτιωμένες βιολογικές ιδιότητες ειδικά στη στοχευμένη θεραπεία κατά του καρκίνου. Ένα βασικό ερώτημα για την κατανόηση των επιδράσεων κατά των καρκινικών όγκων είναι η διαπερατότητα του φαρμάκου διαμέσου των κυτταρικών μεμβρανών, καθώς πιθανή χαμηλή διαπερατότητα μπορεί να αποτρέψει περαιτέρω μάταιη ανάπτυξη φαρμάκων. Σε αυτήν την εργασία, πραγματοποιήσαμε προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής (*MD*) σε ατομιστικό επίπεδο και προσομοιώσεις *biased MD* για να διερευνήσουμε τις αλληλεπιδράσεις της *2-benzimidazolyl-urea* (*BZIMU*) με δύο διαφορετικές διπλοστιβάδες φωσφολιπιδίων. Η πρώτη αποτελείται από 128 λιπίδια *DPPC* (*dipalmitoyl phosphatidylcholine*) και η δεύτερη αποτελείται από 128 λιπίδια *DPPG* (*dipalmitoyl phosphatidylglycerol*), μαζί με μια πρόσφατα συντεθειμένη ένωση συμπλόκου *BZIMU* με χαλκό. Ο στόχος ήταν να μελετηθεί η διαπερατότητα αυτών των ενώσεων αξιολογώντας το προφίλ ελεύθερης ενέργειάς τους κατά μήκος του άξονα της διπλοστιβάδας. Οι προσομοιώσεις έδειξαν ότι τόσο ο προσδέτης (*2-benzimidazolyl-urea*) όσο και το σύμπλοκο έχουν παρόμοια συμπεριφορά παρουσιάζοντας, και για τα δύο συστήματα διπλοστιβάδων, σύνορα υψηλής ενέργειας κατά τη διαδικασία διείσδυσης. Ωστόσο, με την αυξανόμενη συγκέντρωση του *BZIMU*, τα μόρια τείνουν να συσσωματώνονται, προκαλώντας τον σχηματισμό πόρων. Η συσσωμάτωση των μορίων και ο σχηματισμός πόρων, μπορεί πιθανώς να εξηγήσει την προηγουμένως παρατηρηθείσα κυτταροτοξικότητα του μορίου *BZIMU* μέσω διάρρηξης της μεμβράνης. Η σύγκριση των δύο λιπιδικών διπλοστιβάδων, έδειξε υψηλότερη αλληλεπίδραση των δύο μορίων με τα λιπίδια, και επομένως μεγαλύτερη παραμονή τους, στο εσωτερικό της μεμβράνης *DPPG* παρά στη διπλοστιβάδα λιπιδίων *DPPC*, ενώ με την αυξανόμενη συγκέντρωση του *BZIMU*, η διάχυση αυξήθηκε για τη μεμβράνη *DPPG* σε σύγκριση με την διπλοστιβάδα *DPPC*.

V. Abstract

Derivatives of *2-aminobenzimidazoles* have gained attention during the last years due to their wide pharmacological activity acting as anti-inflammatory, hypotensive, analgesic, and anti-aggregatory agents. They are also common ligands in transition metal coordination chemistry forming complex compounds with enhanced biological properties especially in targeted cancer therapy. A key issue to understand anti-tumor effects is drug permeability through cellular membranes as poor permeability outcomes can avert further futile drug development. In this work, we carried out atomistic molecular dynamics (*MD*) simulations and biased *MD* simulations to explore the interactions of *2-benzimidazolyl-urea* (*BZIMU*) with two different phospholipid bilayers, one consisting of 128 *DPPC* (*dipalmitoyl phosphatidylcholine*) lipids and the other consisting of 128 *DPPG* (*dipalmitoyl phosphatidylglycerol*) lipids, alongside with a previously synthesized copper (*II*) complex compound of *BZIMU*. The aim was to study the permeability of these compounds by assessing their free energy profile along the bilayer normal. The simulations indicated that both the ligand (*2-benzimidazolyl-urea*) and the complex show a similar behavior yielding high energy barriers for the permeation process for both bilayer systems. However, with increasing concentration of *BZIMU*, the molecules tend to aggregate and form a cluster, leading to the formation of a pore. Clustering and pore formation can possibly explain the previously observed cytotoxicity of the *BZIMU* molecule via membrane damage. Comparison of the two lipid bilayers, showed higher affinity of the two molecules, thus longer stay, in the interior of the *DPPG* membrane rather than the *DPPC* lipid bilayer, whereas with the increasing concentration of *BZIMU*, the diffusion was increased for the *DPPG* membrane compared with the *DPPC* bilayer.

VI. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Klasczyk B., Knecht V., Lipowsky R, and. Dimova R, Interactions of Alkali Metal Chlorides with Phosphatidylcholine Vesicles. *Langmuir*, 2010; 26, 18951–18958.
2. Yeap P. K., Lim K. O., Chong C. S. and Teng T. T., Effect of calcium ions on the density of lecithin and its effective molecular volume in lecithin–water dispersions. *Chem. Phys. Lipids*, 2008; 151, 1–9.
3. Tsai H.-H. G., Lai W, -X., Lin H.-D., Lee J.-B., Juang W.-F., and Tseng W.-H., Molecular dynamics simulation of cation-phospholipid clustering in phospholipid bilayers: Possible role in stalk formation during membrane fusion. *Biochim. Biophys. Acta*, 2012; 1818, 2742–2755.
4. Szekely O., Schilt Y., Steiner A., and Raviv U., The Structure of Ions and Zwitterionic Lipids Regulates the Charge of Dipolar Membranes. *Langmuir*, 2011; 27, 14767–14775.
5. Kewalramani S., Hlaing H., Ocko B. M., Kuzmenko I., and Fukuto M., Effects of Divalent Cations on Phase Behavior and Structure of a Zwitterionic Phospholipid (DMPC) Monolayer at the Air–Water Interface. *J. Phys. Chem. Lett.*, 2010; 1, 489–495.
6. Uhrikova D., Teixeira J., Lengyel A., Almasy L. and Balgavy P., Formation of unilamellar dipalmitoylphosphatidylcholine vesicles promoted by Ca^{2+} ions: A small-angle neutron scattering study. *Spectroscopy*, 2007; 21, 43–52.
7. Martin-Molina A., Rodriguez-Beas C., and Faraudo J., Effect of Calcium and Magnesium on Phosphatidylserine Membranes: Experiments and All-Atomic Simulations. *Biophys. J.*, 2012; 102, 2095–2103.
8. Gurtovenko A. A., and Vattulainen I., Effect of NaCl and KCl on Phosphatidylcholine and Phosphatidylethanolamine Lipid Membranes: Insight from Atomic-Scale Simulations for Understanding Salt-Induced Effects in the Plasma Membrane. *J. Phys. Chem. B*, 2008; 112, 1953–1962.
9. Uhrikova D., Kučerka N., Teixeira J., Gordeliy V., and Balgavy P., Structural changes in dipalmitoylphosphatidylcholine bilayer promoted by Ca^{2+} ions: a small-angle neutron scattering study. *Chem. Phys. Lipids*, 2008; 155, 80–89.
10. Yang J., Calero C., Bonomi M., and Marti J., Specific Ion Binding at Phospholipid Membrane Surfaces. *J. Chem. Theory Comput.*, 2015; 11, 4495–4499.

11. Melcrova A., Pokorna S., Pullanchery S., Kohagen M., Jurkiewicz P., Hof M., Jungwirth P., Cremer P. S. and Cwiklik L., The complex nature of calcium cation interactions with phospholipid bilayers. *Sci. Rep.*, 2016; 6, 38035.
12. Jurkiewicz P., Cwiklik L., Vojtíšková A., Jungwirth P., and Hof M, Structure, dynamics, and hydration of POPC/POPS bilayers suspended in NaCl, KCl, and CsCl solutions. *Biochim.Biophys.Acta*, 2012; 1818, 609–616.
13. Pabst G., Hodzic A., Strancar J., Danner S., Rappolt M., and Laggner P., Rigidification of Neutral Lipid Bilayers in the Presence of Salts. *Biophys. J.*, 2007; 93, 2688–2696.
14. Alsop R. J., Schober R. M., and Rheinstädter M. C., Swelling of phospholipid membranes by divalent metal ions depends on the location of the ions in the bilayers. *Soft Matter*, 2016, 12, 6737-6748.
15. Adams E. M., Casper C. B., and Allen H. C., Effect of cation enrichment on dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC) monolayers at the air-water interface. *J. Colloid Interface Sci.*, 2016; 478, 353-364.
16. Melcr J., Bonhenry D., Timr S. and Jungwirth P., Transmembrane Potential Modeling: Comparison between Methods of Constant Electric Field and Ion Imbalance. *J. Chem. Theory Comput.*, 2016; 12,2418–2425.
17. Peetla C., Stine A., and Labhasetwar V., Biophysical interactions with model lipid membranes: applications in drug discovery and drug delivery, *Mol Pharm.* 2009; 6(5): 1264–1276.
18. Merino S., Vázquez JL, Domènech O., Berlanga M., Vinàs M., Montero M. T., and Hernández-Borrell J., Fluoroquinolone-Biomembrane Interaction at the DPPC_PG Lipid-Bilayer Interface, *Langmuir* 2002; 18, 3288-3292.
19. Nagle J. F., Tristram-Nagle S., Structure of lipid bilayers. *Biochim Biophys Acta*, 2000;1469:159–195.
20. Marsh D., Lipid-binding proteins: structure of the phospholipid ligands, *Protein Sci* 2003; 12:2109–2117.
21. Mouritsen O. G., Zuckermann M. J., What's so special about cholesterol? *Lipids* 2004; 39:1101–1113.
22. Lee A.G., How lipids affect the activities of integral membrane proteins, *Biochim Biophys Acta* 2004; 1666:62–87.
23. Lee A. G., How lipids and proteins interact in a membrane: a molecular approach. *Mol BioSyst* 2005; 1:203–212.
24. Mu L., Seow P. H., Ang S. N., Feng S. S., Study on surfactant coating of polymeric nanoparticles for controlled delivery of anticancer drug. *Colloid Polym Sci* 2004; 283:58–65.

25. Aqil A., Vasseur S., Duguet E., Passirani C., Benoit J. P., Roch A., Muller R., Jerome R., Jerome C., PEO coated magnetic nanoparticles for biomedical application, *Eur Poly J* 2008; 44:3191–3199.
26. Dennison S. R., Baker R. D., Nicholl I. D., Phoenix D. A., Interactions of cell penetrating peptide Tat with model membranes: a biophysical study. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 363:178–182.
27. Mano M., Henriques A., Paiva A., Prieto M., Gavilanes F., Simoes S., de Lima M. C., Interaction of S413-PV cell penetrating peptide with model membranes: relevance to peptide translocation across biological membranes. *J Pept Sci* 2007; 13:301–313.
28. Taetz S., Nafee N., Beisner J., Piotrowska K., Baldes C., Murdter T. E., Huwer H., Schneider M., Schaefer U. F., Klotz U., Lehr C. M., The influence of chitosan content in cationic chitosan/PLGA nanoparticles on the delivery efficiency of antisense 2'-O-methyl-RNA directed against telomerase in lung cancer cells. *Eur J Pharm Biopharm.* 2008; 72:358-69.
29. Pavinatto F. J., Pavinatto A., Caseli L., Santos D. S. Jr, Nobre T. M., Zaniquelli M. E., Oliveira O. N. Jr, Interaction of chitosan with cell membrane models at the air-water interface. *Biomacromolecules* 2007; 8:1633–1640.
30. Pavinatto F. J., Caseli L., Pavinatto A., dos Santos D. S. Jr, Nobre T. M., Zaniquelli M. E., Silva H. S., Miranda P. B., de Oliveira O. N. Jr., Probing chitosan and phospholipid interactions using Langmuir and Langmuir-Blodgett films as cell membrane models. *Langmuir* 2007; 23:7666–7671.
31. Ho S. W., Jung D., Calhoun J. R., Lear J. D., Okon M., Scott W. R. P., Hancock R. E. W., Straus S. K., Effect of divalent cations on the structure of the antibiotic daptomycin, *Eur. Biophys. J.*, 2008; 37:421–433.
32. Lin J., Zhang H., Chen Z., and Zheng Y., Penetration of lipid membranes by gold nanoparticles: insights into cellular uptake, cytotoxicity, and their relationship. *ACS nano*, 2010; 4(9):5421–5429.
33. Lin J. Q., Zheng Y. G., Zhang H. W., and Chen Z., A simulation study on nanoscale holes generated by gold nanoparticles on negative lipid bilayers. *Langmuir*, 2011; 27(13):8323–8332.
34. Lupyan D., Mezei M., Logothetis D. E., and Osman R., A Molecular Dynamics Investigation of Lipid Bilayer Perturbation by PIP₂, *Biophys. J.* 2010; 98, 240–247.
35. Jurkiewicz P., Cwiklik L., Vojtíšková A., Jungwirth P., and Hof M., Structure, dynamics, and hydration of POPC/POPS bilayers suspended in NaCl, KCl, and CsCl solutions, *Biochim.Biophys.Acta*, 2012; 1818, 609–616.

36. Pabst G., Hodzic A., Strancar J., Danner S., Rappolt M., and Laggner P., Rigidification of Neutral Lipid Bilayers in the Presence of Salts, *Biophys. J.*, 2007; 93, 2688–2696.
37. Nademia Y., Iranagh S.A., Yousefpour A., Mousavi S. M., and Modarress H. Molecular dynamics simulations and free energy profile of Paracetamol in DPPC, DMPC lipid bilayers, *J. Chem. Sci.* 2013: Vol. 126, No 3, pp. 637–647.
38. Gkeka P., Sarkisov L., Angelikopoulos P. Homogeneous hydrophobic–hydrophilic Surface Patterns enhance Permeation of Nanoparticles through Lipid Membranes. *J. Phys. Chem. Lett.*, 2013; 4:1907.
39. Gkeka P., Angelikopoulos P., Sarkisov L., and Cournia Z., Membrane Partitioning of Anionic, Ligand-Coated Nanoparticles Is Accompanied by Ligand Snorkeling, Local Disordering, and Cholesterol Depletion. *PLoS Comput. Biol.*, 2014; 10(12).
40. Yin Q., Shi X., Ding H., Dai X., Wan G., and Qiao Y. Interactions of Borneol with DPPC Phospholipid Membranes, *Int. J. Mol. Sci.* 2014; 15, 20365-20381.
41. Montis C., Maiolo D., Alessandri I., Bergese P., and Berti D., Interaction of nanoparticles with lipid membranes: a multiscale perspective. *Nanoscale*, 2014; 6:6452–6457.
42. Himeno H., Ito H., Higuchi Y., Hamada T., Shimokawa N., Takagi M., Coupling between pore formation and phase separation in charged lipid membranes *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys.* 2015; E 92, 062713.
43. Chen L., Chen J., Zhou G., Wang Y., Xu C., Wang X., Molecular Dynamics Simulations of the Permeation of Bisphenol A and Pore Formation in a Lipid Membrane. *Sci. Rep.* 2016; 6, 33399.
44. Malaspina T., Colherinhas G., de Oliveira Outi F., and Fileti E. E., Assessing the interaction between surfactant-like peptides and lipid membranes. *RSC Adv.*, 2017; 57, 35973–35981
45. Le C. T. M., Hourri A., Balage N., Smith B. J., Mechler A., Interaction of Small Ionic Species with Phospholipid Membranes: The Role of Metal Coordination. *Front. Mater.* 2019; 5:80.
46. Sariisik E., Koçak M., Baloglu F. K., Severcan F., Interaction of the cholesterol reducing agent simvastatin with zwitterionic DPPC and charged DPPG membranes, *BBA - Biomembranes* 2019; 1861, 810–818.
47. Schroera C. F. E., Baldauf L., van Burenc L., Wassenaar T. A., Meloe M. N., Koenderink G. H., Marrinka S. J., Charge-dependent interactions of monomeric and filamentous actin with lipid bilayers, *PNAS*, 2020; vol. 117, no 11, 5861–5872.

48. Wang J., Prajapati J. D., Kleinekathöfer U., Winterhalter M., Dynamic interaction of fluoroquinolones with magnesium ions monitored using bacterial outer, *Chem. Sci.*, 2020; 11, 10344.
49. Kabedev A., Hossain S., Hubert M., Larsson P., Bergström C.A.S. Molecular Dynamics Simulations Reveal Membrane Interactions for poorly water_soluble drugs, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2021; 110, 176-185.
50. Poyraz M., Sari M., Banti C.N., Hadjikakou S.K., Synthesis, Characterization and Biological Activities of Copper (II) Complex of 2-Benzimidazolyl-Urea and the Nitrate Salt of 2-Benzimidazolyl-Urea. *J. Mol. Struct.* 2017; 1146, 809–813.
51. Yadav G., Ganguly S., Structure Activity Relationship (SAR) Study of Benzimidazole Scaffold for Different Biological Activities: A Mini-Review. *Eur. J. Med. Chem.* 2015; 97, 419–443.
52. Di Gioia M. L., Cassano R., Costanzo P., Herrera Cano N., Maiuolo, L., Nardi M., Nicoletta F.P., Oliverio M., Procopio A., Green Synthesis of Privileged Benzimidazole Scaffolds Using Active Deep Eutectic Solvent. *Molecules* 2019; 24, 2885.
53. Banti C. N.; Poyraz M., Sainis I., Sari M., Rossos G., Kourkoumelis N., Hadjikakou S. K., The Periodic Table of Urea Derivative: Small Molecules of Zinc (II) and Nickel (II) of Diverse Antimicrobial and Antiproliferative Applications. *Mol. Divers.* 2020; 24, 31–43.
54. Abdel-Mohsen H. T., Ragab F. A. F., Ramla M. M., El Diwani H. I., Novel Benzimidazole–Pyrimidine Conjugates as Potent Antitumor Agents. *Eur. J. Med. Chem.* 2010; 45, 2336–2344.
55. Wang W., Kong D., Cheng H., Tan L., Zhang Z., Zhuang X., Long H., Zhou Y., Xu Y., Yang X. et al. New Benzimidazole-2- Urea Derivates as Tubulin Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2014; 24, 4250–4253.
56. Perković I., Antunović M., Marijanović I., Pavić K., Ester K., Kralj M., Vlanić J., Kosalec I., Schols D., Hadjipavlou-Litina D. et al. Novel Urea and Bis-Urea Primaquine Derivatives with Hydroxyphenyl or Halogenphenyl Substituents: Synthesis and Biological Evaluation. *Eur. J. Med. Chem.* 2016; 124, 622–636.
57. Hasegawa M., Nishigaki N., Washio Y., Kano K., Harris P. A., Sato H., Mori I., West R. I., Shibahara M., Toyoda H. et al. Discovery of Novel Benzimidazoles as Potent Inhibitors of TIE-2 and VEGFR-2 Tyrosine Kinase Receptors. *J. Med. Chem.* 2007; 50, 4453–4470.
58. Shao J., Li M., Guo Z., Jin C., Zhang F., Ou C., Xie Y., Tan S., Wang Z., Zheng S. et al. TPP-Related Mitochondrial Targeting Copper (II) Complex Induces P53-Dependent

- Apoptosis in Hepatoma Cells through ROS-Mediated Activation of Drp1. *Cell Commun. Signal.* 2019; 17, 149.
59. Abraham M. J., Murtol T., Schulz R., Páll S., Smith J. C., Hess B., Lindahl E., GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers, *SoftwareX*, 2015; Vol 1–2, pp 19-25.
 60. Bekker H., Berendsen H. J. C., Dijkstra E. J., Achterop S., van Drunen R., van der Spoel D., Sijbers A., Keegstra H., Reitsma B., Renardus M. K. R. Gromacs: A parallel computer for molecular dynamics simulations. In *Physics Computing 92* (Singapore, 1993). de Groot, R. A., Nadrchal, J., eds. World Scientific.
 61. Berendsen H. J. C., van der Spoel D., van Drunen R. GROMACS: A message-passing parallel molecular dynamics implementation. *Comp. Phys. Comm.*, 1995; 91:43–56.
 62. Lindahl E., Hess B., van der Spoel D. GROMACS 3.0: A package for molecular simulation and trajectory analysis. *J. Mol. Mod.* , 2001; 7:306–317.
 63. van der Spoel D., Lindahl E., Hess B., Groenhof G., Mark A. E., Berendsen H. J. C. GROMACS: Fast, Flexible and Free. *J. Comp. Chem.*, 2005; 26:1701–1718.
 64. Hess B., Kutzner C., van der Spoel D., Lindahl E. GROMACS 4: Algorithms for Highly Efficient, Load-Balanced, and Scalable Molecular Simulation. *J. Chem. Theory Comput.* 2008; 4(3):435–447.
 65. Pronk S., Páll S., Schulz R., Larsson P., Bjelkmar P., Apostolov R., Shirts M. R., Smith J. C., Kasson P. M., van der Spoel D., Hess B., Lindahl E., GROMACS 4.5: a high through put and highly parallel open-source molecular simulation toolkit. *Bioinformatics* 2013; 29(7):845–854.
 66. Marinko J. T., Huang H., Penn W. D., Capra J. A., Schleich J. P., Sanders C. R., Folding and misfolding of human membrane proteins in health and disease: from single molecules to cellular proteostasis. *Chem Rev.* 2019; 119(9):5537–5606.
 67. Murata K., Wolf M., Cryo-electron microscopy for structural analysis of dynamic biological macromolecules. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* 2018; 1862(2):324–334.
 68. Berman H. M., Westbrook J., Feng Z. et al. The protein data bank. *Nucleic Acids Res.* 2000; 28(1):235–242.
 69. Burley S. K., Berman H. M., Bhikadiya C. et al., RCSB protein data bank: biological macromolecular structures enabling research and education in fundamental biology, biomedicine, biotechnology and energy. *Nucleic Acids Res.* 2018; 47(D1): D464–D474.
 70. Lomize M. A., Lomize A. L., Pogozheva I. D., Mosberg H. I., OPM: orientations of proteins in membranes database. *Bioinformatics.* 2006; 22(5):623–625.
 71. Kox A., Michels J., Wiegel F., Simulation of a lipid monolayer using molecular dynamics. *Nature.* 1980; 287:317–319.

72. van der Ploeg P., Berendsen H. J. C., Molecular dynamics simulation of a bilayer membrane. *J Chem Phys.* 1982; 76(6):3271–3276.
73. van der Ploeg P., Berendsen H. J. C., Molecular dynamics of a bilayer membrane. *Mol Phys.* 1983; 49(1):233–248.
74. Marrink S. J., Berendsen H. J. C., Simulation of water transport through a lipid membrane. *J Phys Chem.* 1994; 98(15):4155–4168.
75. Tieleman D. P., Berendsen H. J. C., Molecular dynamics simulations of a fully hydrated dipalmitoylphosphatidylcholine bilayer with different macroscopic boundary conditions and parameters. *J Chem Phys.* 1996; 105(11):4871–4880.
76. Heller H., Schaefer M., Schulten K., Molecular dynamics simulation of a bilayer of 200 lipids in the gel and in the liquid crystal phase. *J Phys Chem.* 1993; 97(31):8343–8360.
77. Damodaran K. V., Merz Jr K. M., Gaber B. P., Structure and dynamics of the dilauroylphosphatidylethanolamine lipid bilayer. *Biochemistry.* 1992; 31(33):7656–7664.
78. Damodaran K. V., Merz Jr K. M., Head group-water interactions in lipid bilayers: a comparison between DMPC- and DLPE-based lipid bilayers. *Langmuir.* 1993; 9(5):1179–1183.
79. Edholm O., Johansson J., Lipid bilayer polypeptide interactions studied by molecular dynamics simulation. *Eur Biophys J.* 1987; 14(4):203–209.
80. Zhou F., Schulten K., Molecular dynamics study of phospholipase A2 on a membrane surface. *Proteins.* 1996; 25(1):12–27.
81. Woolf T. B., Roux B., Molecular dynamics simulation of the gramicidin channel in a phospholipid bilayer. *Proc Natl Acad Sci.* 1994; 91(24):11631–11635.
82. Zhong Q., Jiang Q., Moore P. B., Newns D. M., Klein M. L., Molecular dynamics simulation of a synthetic ion channel. *Biophys J.* 1998; 74(1):3–10.
83. Perilla J. R., Goh B. C., Cassidy C. K. et al. Molecular dynamics simulations of large macromolecular complexes. *Curr Opin Struct Biol.* 2015; 31:64–74.
84. Li J., Lü S., Liu Y. et al. Identification of the conformational transition pathway in PIP2 opening Kir channels. *Sci Rep.* 2015; 1858(7, Pt. B):1610–1618.
85. Kirsch S. A., B€ockmann R. A. Membrane pore formation in atomistic and coarse-grained simulations. *Biochim Biophys Acta Biomembr.* 2016; 1858(10):2266–2277.
86. Reddy T., Sansom M. S. P., Computational virology: from the inside out. *Biochim Biophys Acta Biomembr.* 2016; 1858(7, Part B):1610–1618.
87. Risselada H. J., Marrink S. J., The molecular face of lipid rafts in model membranes. *Proc Natl Acad Sci.* 2008; 105(45):17367–17372.

88. Ingólfsson H. I., Melo M. N., van Eerden F. J. et al. Lipid organization of the plasma membrane. *J Am Chem Soc.* 2014; 136(41):14554–14559.
89. Muller M. P., Jiang T., Sun C. et al., Characterization of lipid-protein interactions and lipid-mediated modulation of membrane protein function through molecular simulation. *Chem Rev.* 2019; 119(9):6086–6161.
90. Marrink S. J., Corradi V., Souza P. C. T. et al. Computational modeling of realistic cell membranes. *Chem Rev.* 2019; 119(9):6184–6226.
91. Marrink S. J., de Vries A. H., Mark A. E., Coarse grained model for semiquantitative lipid simulations. *J Phys Chem B.* 2004; 108(2):750–760.
92. Marrink S. J., Risselada H. J., Yefimov S., Tieleman D. P., de Vries A. H., The MARTINI force field: coarse grained model for biomolecular simulations. *J Phys Chem B.* 2007; 111(27):7812–7824.
93. Ohkubo Y. Z., Pogorelov T. V., Arcario M. J., Christensen G. A., Tajkhorshid E., Accelerating membrane insertion of peripheral proteins with a novel membrane mimetic model. *Biophys J.* 2012; 102(9):2130–2139.
94. Kmiecik S., Gront D., Kolinski M., Wieteska L., Dawid A. E., Kolinski A., Coarse-grained protein models and their applications. *Chem Rev.* 2016; 116(14):7898–7936.
95. Schalley C. A., Analytical Methods in Supramolecular Chemistry, 2nd ed. 2012, Wiley.
96. Ciferri A., Perico A., Ionic Interactions in Natural and Synthetic Macromolecules. *John Wiley & Sons. eds., 2012.*
97. Schneider H.-J., "Binding mechanisms in supramolecular complexes". *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2009; 48 (22): 3924–3977.
98. Induced-Dipole Forces. 11 November 2013.
(<https://www.chem.purdue.edu/gchelp/liquids/inddip.html>)
99. Scheiner S., Noncovalent Forces., *Springer. ed. (2015).*
100. P. Hobza and K. Müller-Dethlefs Non-Covalent Interactions: Theory and Experiment (Theoretical and Computational Chemistry Series) *Royal Society of Chemistry; 2009.*
101. Silverman R. B., The organic chemistry of drug design and drug action: Amsterdam, 2nd ed., *Elsevier, 2004.*
102. Mackerell A. D., Empirical force fields for biological macromolecules: Overview and issues. *Journal of Computational Chemistry* 2004; 25:1584–1604.
103. Darden T., York D., Pedersen L., Particle mesh Ewald: a N_Log(N) method for Ewald sums in large systems. *J Chem Phys.* 1993; 98(12):10089–10092.
104. Essmann U, Perera L, Berkowitz M. L., A smooth particle mesh Ewald method. *J Chem Phys.* 1995; 103(19):8577–8593.
105. van Gunsteren W. F., Berendsen H. J. C., Algorithms for macromolecular dynamics and constraint dynamics. *Mol. Phys.* 1977; 34:1311–1327.

106. van Gunsteren W. F., Karplus M., Effect of constraints on the dynamics of macromolecules. *Macromolecules* 1982; 15:1528–1544.
107. Zimmerman K., All-purpose molecular mechanics simulator and energy minimize, *J. Comp. Chem.* 12:310–319, 1991.
108. Byrd R. H., Lu P., Nocedal J., A limited memory algorithm for bound constrained optimization. *SIAM J. Scientific. Statistic. Comput.* 1995; 16:1190–1208.
109. Zhu, C., Byrd, R. H., Nocedal, J. L-BFGS-B: Algorithm 778: L-BFGS-B, FORTRAN routines for large scale bound constrained optimization. *ACM Trans. Math. Softw.* 1997; 23:550–560.
110. McQuarrie D., *Statistical Mechanics*, Harper & Row, New York, 1976
111. Chandler D., *Introduction to Modern Statistical Mechanics*, Oxford University Press, New York, 1987.
112. Wilde R. E., and Singh S., *Statistical Mechanics, Fundamentals and Modern Applications*, John Wiley & Sons, Inc, New York, 1998
113. Sugita Y., Okamoto Y., Replica-exchange molecular dynamics method for protein folding, *Chemical Physics Letters*. 1999; 314 (1–2): 141–151.
114. *GROMACS Documentation, Release 2021*
115. Berendsen H. J. C., Postma J. P. M., van Gunsterne W. F., DiNola A., Haak J. R., Molecular dynamics with coupling to an external bath, *Computer Physics Communications*, 2008.
116. Anderson H. C., Molecular dynamics simulations at constant pressure and/or temperature, *J. Chem. Phys*, 1980; 72(4).
117. Berendsen H. J. C., Transport Properties Computed by Linear Response through Weak Coupling to a Bath. In: Meyer M., Pontikis V., editors. *Computer Simulation in Materials Science*. Springer Netherlands; 1991; pp. 139–155.
118. Parrinello M., Rahman A., Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method. *J Appl Phys*. 1981; 52: 7182–7190.
119. Nosé S., Klein M. L., Constant pressure molecular dynamics for molecular systems. *Mol Phys*. 1983; 50: 1055–1076.
120. Lyman E, Hsieh C. L., Eggeling C., From dynamics to membrane organization: experimental breakthroughs occasion a “modeling manifesto”. *Biophys J*. 2018; 115(4): 595–604.
121. Gabin Fabre, *Molecular interaction of natural compounds with lipid bilayer membranes: Towards a better understanding of their biological and pharmaceutical action*. Université de Limoges; Univerzita Palackého (Olomouc, République Tchèque), 2015.

122. Nowicki M, Müller F, Frentzen M. Cardiolipin synthase of *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett.* 2005; 579: 2161–2165.
123. van Meer G, Voelker DR, Feigenson GW. Membrane lipids: where they are and how they behave. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008; 9: 112–124.
124. Kamal M. M., Mills D., Grzybek M., Howard J., Measurement of the membrane curvature preference of phospholipids reveals only weak coupling between lipid shape and leaflet curvature. *Proc Natl Acad Sci.* 2009; 106: 22245–22250.
125. Israelachvili J. N., Mitchell D. J., Ninham B. W., Theory of self-assembly of hydrocarbon amphiphiles into micelles and bilayers. *J Chem Soc Faraday Trans 2 Mol Chem Phys.* 1976; 72: 1525–1568.
126. Cooke I. R., Deserno M., Coupling between Lipid Shape and Membrane Curvature. *Biophys J.* 2006; 91: 487–495.
127. Callan-Jones A., Sorre B., Bassereau P., Curvature-Driven Lipid Sorting in Biomembranes. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2011; 3: a004648.
128. Martens S., McMahon H. T., Mechanisms of membrane fusion: disparate players and common principles. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008; 9: 543–556.
129. McMahon H. T., Gallop J. L., Membrane curvature and mechanisms of dynamic cell membrane remodelling. *Nature.* 2005; 438: 590–596.
130. Jespersen H., Andersen J. H., Ditzel H. J., Mouritsen O. G., Lipids, curvature stress, and the action of lipid prodrugs: Free fatty acids and lysolipid enhancement of drug transport across liposomal membranes. *Biochimie.* 2012; 94: 2–10.
131. Alberts B., Hopkin J., Lewis R., Roberts W., Bruce D., Karen A., Julian M., Keith P.. *Essential Cell Biology third edition*, 2010.
132. Berkowitz M. L., Detailed molecular dynamics simulations of model biological membranes containing cholesterol. *Biochim Biophys Acta BBA - Biomembr.* 2009; 1788: 86–96.
133. Vitrac H., MacLean D. M., Jayaraman V., Bogdanov M., Dowhan W., Dynamic membrane protein topological switching upon changes in phospholipid environment. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2015; 112 (45): 13874-13879.
134. Voet D., Fundamentals of Biochemistry: Life at the Molecular Level (4 ed.). Wiley, 2012.
135. Rojko N., Anderluh G., How Lipid Membranes Affect Pore Forming Toxin Activity. *Accounts of Chemical Research.* 2015; 48 (12): 3073–3079.
136. Wennberg C. L., van der Spoel D., Hub J. S., Large Influence of Cholesterol on Solute Partitioning into Lipid Membranes. *J Am Chem Soc.* 2012; 134: 5351–5361.

137. Luxnat M., Galla H.-J., Partition of chlorpromazine into lipid bilayer membranes: the effect of membrane structure and composition. *Biochim Biophys Acta BBA - Biomembr.* 1986; 856: 274–282.
138. Gheber L. A., Edidin M., A Model for Membrane Patchiness: Lateral Diffusion in the Presence of Barriers and Vesicle Traffic. *Biophys J*, 1999; 77(3)163-3175.
139. Jain M. K., White H., Long range order in biomembranes. *Adv Lipid Res*, 1977; 15:1-60.
140. Simons K., van Meer G., Lipid sorting in epithelial cells. *Biochemistry*, 1988; 27:6197-6202.
141. Simons K., Ikonen E., () Functional rafts in cell membrane. *Nature*, 1997; 387:569-572.
142. Quinn P. J., Wolf C., The liquid ordered phase in membranes. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1746:193-202.
143. Silvius J. R., Nabi I. R., Fluorescence-quenching and resonance energy transfer studies of lipid microdomains in model and biological membranes. *Mol Membr Biol*, 2006; 23(1):5-16.
144. Michel V., Bakovic M., Lipid rafts in health and disease. *Biol Cell*, 2007; 99(3):129-140.
145. Alaqeel S. I., Synthetic approaches to benzimidazoles from o-phenylenediamine: A literature review. *J. Saudi Chem. Soc.* 2017; 21, 229–237.
146. Zhu G.-D., Gandhi V. B., Gong J., Thomas S., Luo Y., Liu X., Shi Y., Klinghofer V., Johnson E. F., Frost D. et al. Synthesis and SAR of novel, potent and orally bioavailable benzimidazole inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) with a quaternary methylene-amino substituent. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008; 18, 3955–3958.
147. Ogino Y., Ohtake N., Nagae Y., Matsuda K., Moriya M., Suga T., Ishikawa M., Kanesaka M., Mitobe Y., Ito J. et al. Design, syntheses, and structure-activity relationships of novel NPY Y5 receptor antagonists: 2-{3-Oxospiro[isobenzofuran-1(3H),40-piperidin]-10-yl} benzimidazole derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008; 18, 5010–5014.
148. Bansal Y., Silakari O., The therapeutic journey of benzimidazoles: A review. *Bioorg. Med. Chem.* 2012; 20, 6208–6236.
149. Rathod C. P., Rajurkar R. M., Thonte S. S., Benzimidazole synthesis and biological evaluation: A review. *Indo Am. J. Pharm. Res.* 2013; 3, 2323–2329.
150. Puckett C. A., Ernst R. J., Barton J. K. Exploring the Cellular Accumulation of Metal Complexes. *Dalton Trans.* 2010; 39, 1159–1170.

151. Arnesano F., Losacco M., Natile G., An Updated View of Cisplatin Transport. *Eur. J. Inorg. Chem.* 2013; 2701–2711.
152. Zhang R., Qin X.; Kong F., Chen P., Pan G., Improving Cellular Uptake of Therapeutic Entities through Interaction with Components of Cell Membrane. *Drug Deliv.* 2019; 26, 328–342.
153. Bensikaddour H., Snoussi K., Lins L., van Bambeke F., Tulkens P. M., Brasseur R., Goormaghtigh E., Mingeot-Leclercq M.-P., Interactions of Ciprofloxacin with DPPC and DPPG: Fluorescence Anisotropy, ATR-FTIR and ³¹P NMR Spectroscopies and Conformational Analysis. *Biochim. Biophys. Acta BBA Biomembr.* 2008; 1778, 2535–2543.
154. Raman N., Dhaveethu Raja J., Sakthive A., Synthesis, spectral characterization of Schiff base transition metal complexes: DNA cleavage and antimicrobial activity studies. *J. Chem. Sci.*, 2007; 119, 303-310.
155. Oladipo M. A., Olaoye O. J., Antimicrobial, DNA cleavage and antitumoral properties of some transition metal complexes of 1, 10-phenanthroline and 2, 2'-bipyridine: a review. *Int. J. Res. Pharm. Biomed. Sci.*, 2013, 4, 1160-1171.
156. a) Liu J., Jiang X., Ashley C., Brinker C. J., *Am J. Chem. Soc.* 2009, 131, 7567; b) Daraee H., Etemadi A., Kouhi M., Alimirzalu S., Akbarzadeh A., *Artif. Cells, Nanomed., Biotechnol.* 2016; 44, 381.
157. Puckett C. A., Ernst R. J., Barton J. K., Exploring the cellular accumulation of metal complexes. *Dalton Trans* 2010; 39:1159–1170.
158. Moy V. T., Keller D. J., McConnell H. M., Surface phase behavior in Langmuir monolayers of diethylene glycol mono-*n*-hexadecyl ether at the air-water interface, *J. Phys. Chem.* 1988; 92, 5233.
159. Koppenol S., Tsao F. H. C., Yu H., Zografi G., The interaction of lung annexin I with phospholipid monolayers at the air/water interface. *Biochim. Biophys. Acta* 1998; 1369, 221.
160. Choline. Micronutrient Information Center, Linus Pauling Institute, Oregon State University. *February 2015, Retrieved 11 November 2019.*
161. "Choline". Human Metabolome Database. The Metabolomics Innovation Centre, University of Alberta, Edmonton, Canada. *17 August 2016. Retrieved 13 September 2016.*
162. Kirk R. E, et al., Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology. *Volume 6 (4th ed.). John Wiley & Sons. 2000, pp. 100–102.*
163. Glier M. B., Green T. J., Devlin A. M., Methyl nutrients, DNA methylation, and cardiovascular disease, *Molecular Nutrition & Food Research.* 2014; 58 (1): 172–82.

164. Barak A. J., Beckenhauer H. C., Junnila M., Tuma D. J., Dietary betaine promotes generation of hepatic S-adenosylmethionine and protects the liver from ethanol-induced fatty infiltration, *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*. 1993; 17 (3): 552–5.
165. Rucker R. B., Zempleni J., Suttie J. W., McCormick D. B., *Handbook of vitamins* (4th ed.). Taylor & Francis. 2007, pp. 459–477.
166. Ralf C., Bernd S., Udo S., Wolfgang D., Reetta K., Glycerol, *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 2006.
167. Hirschmann H., The Nature of Substrate Asymmetry in Stereoselective Reactions, *Journal of Biological Chemistry*. 1960; 235 (10): 2762–2767.
168. IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (CBN), *European Journal of Biochemistry*, 1967; 2 (2): 127–131.
169. Alfieri A., Imperlini E., Nigro E., Vitucci D., Orrù S., Daniele A., Buono P., Mancini A., Effects of Plant Oil Interesterified Triacylglycerols on Lipemia and Human Healthy, *International Journal of Molecular Sciences*. 2017; 19 (1): E104.
170. Czub J., Neumann A., Borowski E. et al. Influence of a lipid bilayer on the conformational behavior of amphotericin B derivatives. *Biophys. Chem.* 2009; 141:105–116.
171. Raghunathan M., Zubovski Y., Venable R. M. et al. Structure and elasticity of lipid membranes with genistein and daidzein bioflavonoids using X-ray scattering and MD simulation. *J. Phys. Chem. B*. 2012; 116:3918–3927.
172. Kyrychenko A., Waluk J., Distribution and favorable binding sites of pyrroloquinoline and its analogues in a lipid bilayer studied by molecular dynamics simulations. *Biophys. Chem.* 2008; 136:128–135.
173. Kyrychenko A., Sevriukov I. Y., Syzova Z. A. et al. Partition of 2,6-Bis(1H-Benzimidazol-2-yl) pyridine fluorophore into a phospholipid bilayer. *Biophys. Chem.* 2011; 154:8–17.
174. Ulander J., Haymet A. D. J., Permeation across hydrated DPPC lipid bilayers: simulation of titrable amphiphilic drug valproic acid. *Biophys. J.* 2003; 85:3475–3484.
175. Boggara M. B., Krishnamoorti R., Partitioning of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in lipid membranes: a molecular dynamics simulation study. *Biophys. J.* 2010; 98:586–595.
176. Liu W., Zhang S. J., Meng F. C. et al. Molecular simulation of ibuprofen passing across POPC membrane. *J. Theor. Comput. Chem.* 2014; 13:1450033.

177. Hockney R. W., Goel S. P., Eastwood J. Quiet High Resolution Computer Models of a Plasma. *J. Comp. Phys.* 1974; 14:148–158.
178. Verlet L. Computer experiments on classical fluids. I. Thermodynamical properties of Lennard-Jones molecules. *Phys. Rev.* 1967; 159:98–103.
179. Berendsen H. J. C., van Gunsteren W. F., Practical algorithms for dynamics simulations. *Molecular-Dynamics Simulations of Statistical-Mechanical Systems*, 1986,43-65.
180. Swope W. C., Andersen H. C., Berens P. H., Wilson K. R. A computer-simulation method for the calculation of equilibrium-constants for the formation of physical clusters of molecules: Application to small water clusters. *J. Chem. Phys.* 1982; 76:637–649.
181. Engin O., Villa A., Sayar M., Hess B., Driving forces for adsorption of amphiphilic peptides to air-water interface. *J. Phys. Chem. B*, 2010; 114, 34, 11093–11101.
182. Kästner J., Umbrella Sampling. *WIREs Comput. Mol. Sci.* 2011; 1, 932–942.
183. Kumar S., Rosenberg J. M., Bouzida D., Swendsen R. H., The weighted histogram analysis method for free-energy calculations on biomolecules. I. The method, *Journal of computational chemistry* 1992; 13 (8): 1011–1021.
184. Huang N., Banavali N., MacKerell J., Protein-facilitated base flipping in DNA by cytosine-5-methyltransferase, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2003; 100, 68.
185. Neumann R. M., Entropic approach to Brownian Movement. *Am. J. Phys.* 1980; 48:354–357
186. Seelig J., Deuterium Magnetic Resonance: Theory and Application to Lipid Membranes, *Q. Rev. Biophys.* 1977; 10 (3) 353– 418
187. Vermeer L. S., de Groot B. L., Réat V., Milon A., Czaplicki J., Acyl Chain Order Parameter Profiles in Phospholipid Bilayers: Computation from Molecular Dynamics Simulations and Comparison with ²H NMR Experiments, *Eur. Biophys. J.* 2007; 36 (8) 919– 931
188. Engel A. K., Cowburn D., The Origin of Multiple Quadrupole Couplings in the Deuterium NMR Spectra of the 2 Chain of 1,2 Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphorylcholine, *FEBS Lett.* 1981: 126 (2) 169– 171.
189. Seelig J., Waespe-Šarčević N., Molecular Order in Cis and Trans Unsaturated Phospholipid Bilayers, *Biochemistry* 1978; 17 (16) 3310– 3315
190. Frenkel D., Smit B., Understanding molecular simulation: From algorithms to applications. *Academic Press*, 1996 (2nd Ed.), p. 97.
191. Schüttelkopf A. W., van Aalten D. M. F. PRODRG: A Tool for High-Throughput Crystallography of Protein–Ligand Complexes. *Acta Crystallogr. Sect. D* 2004, 60, 1355–1363.

- 192.** Nagle J.F., Zhang R., Tristram-Nagle S., Sun W., Petrache H. I., Suter R. M., X-Ray Structure Determination of Fully Hydrated L, Alpha Phase Dipalmitoylphosphatidylcholine Bilayers. *Biophys. J.* 1996: 70, 1419–1431.
- 193.** Pinisetty D., Moldovan D., Devireddy R., The Effect of Methanol on Lipid Bilayers: An Atomistic Investigation. *Ann. Biomed. Eng.* 2006: 34, 1442–1451.
- 194.** Tu Y., Lv M., Xiu P., Huynh T., Zhang M., Castelli M., Liu Z., Huang Q., Fan C., Fang H. et al., Destructive Extraction of Phospholipids from Escherichia Coli Membranes by Graphene Nanosheets. *Nat. Nanotechnol.* 2013: 8, 594–601.
- 195.** Ruano L., Cárdenas G., Nogueira J. J., The Permeation Mechanism of Cisplatin Through a Dioleoylphosphocholine Bilayer. *Comput. Theor. Chem.* 2021: 22, 1251–1261.
- 196.** Ashrafuzzaman M., Khan Z., Alqarni A., Alanazi M., Alam M. S., Cell Surface Binding and Lipid Interactions behind Chemotherapy-Drug-Induced Ion Pore Formation in Membranes. *Membranes* 2021: 11, 501.

VII. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

VII. 1. Κατάλογος συντημήσεων

<i>BZIMU</i>	<i>2-benzimidazolyl-urea</i>
<i>CuComplex</i>	<i>{[Cu (BZIMU)₂] (NO₃)₂}</i>
<i>15BZIMU</i>	<i>15 μόρια 2-benzimidazolyl-urea</i>
<i>DPPC</i>	<i>dipalmitoyl-phosphatidyl-choline</i>
<i>DPPG</i>	<i>dipalmitoyl phosphatidylglycerol</i>
<i>MD</i>	<i>Molecular Dynamics</i>
<i>GROMACS</i>	<i>GRoningen MAchine for Chemical Simulations</i>
<i>LINCS</i>	<i>Linear Constraint Solver</i>
<i>TIP3P</i>	<i>Transferable Intermolecular Potential with 3 Points</i>
<i>COM</i>	<i>Centre of Mass</i>
<i>L-J</i>	<i>Lennard-Jones</i>
<i>RDF</i>	<i>Radial Distribution Function</i>
<i>MSD</i>	<i>Mean Squared Displacement</i>
<i>RMSD</i>	<i>Root Mean Squared Displacement</i>
<i>PMF</i>	<i>Potential of Mean Force</i>

VII. 2. Κατάλογος Πινάκων και Εικόνων

VII. 2. 1. Πίνακες

Πίνακας 1: Συχνά εμφανιζόμενα λιπίδια με τα ακρωνύμιά τους.

Πίνακας 2: Τα άτομα του μορίου BZIMU με τους τύπους τους σύμφωνα με το πεδίο δυνάμεων *gromos53a6_lipid/ff*, τις μάζες και τα φορτία τους σύμφωνα με το υπολογιστικό πακέτο *Gaussian03*.

Πίνακας 3: Τα άτομα του μορίου *CuComplex* με τους τύπους τους σύμφωνα με το πεδίο δυνάμεων *gromos53a6_lipid/ff*, τις μάζες και τα φορτία τους σύμφωνα με το υπολογιστικό πακέτο *Gaussian03*.

Πίνακας 4: Αναλογία μορίων νερού-λιπιδίων για κάθε σύστημα με διπλοστιβάδα DPPC που μελετήθηκε

Πίνακας 5: Φυσικές ιδιότητες διπλοστιβάδας DPPC χωρίς και με εισαγωγή μορίων σε αυτή.

Πίνακας 6: Αναλογία μορίων νερού-λιπιδίων για κάθε σύστημα με διπλοστιβάδα DPPG που μελετήθηκε.

Πίνακας 7: Φυσικές ιδιότητες διπλοστιβάδας DPPG χωρίς και με εισαγωγή μορίων σε αυτή.

Πίνακας 8: Συντελεστής πλευρικής διάχυσης για τα άτομα φωσφόρου των πολικών κεφαλών της διπλοστιβάδας DPPC ($*10^{-5} \text{cm}^2/\text{sec}$), όπως προέκυψαν από το υπολογιστικό πακέτο GROMACS.

Πίνακας 9: Συντελεστής διάχυσης των μορίων που εισήχθησαν σε διπλοστιβάδα DPPC ($*10^{-5} \text{cm}^2/\text{sec}$), όπως προέκυψαν από το υπολογιστικό πακέτο GROMACS

Πίνακας 10: Συντελεστής πλευρικής διάχυσης για τα άτομα φωσφόρου των πολικών κεφαλών της διπλοστιβάδας DPPG ($*10^{-5} \text{cm}^2/\text{sec}$), όπως προέκυψαν με χρήση του υπολογιστικού πακέτου GROMACS.

Πίνακας 11: Συντελεστής διάχυσης των μορίων που εισήχθησαν σε διπλοστιβάδα DPPG ($*10^{-5} \text{cm}^2/\text{sec}$), όπως προέκυψαν με χρήση του υπολογιστικού πακέτου GROMACS.

VII. 2. 2. Εικόνες

Εικόνα 1: Απλοποιημένη δομή αλγορίθμου Μοριακής Δυναμικής.

Εικόνα 2: Ανακατανομή ηλεκτρονίων λόγω κάποιου εξωτερικού αιτίου, με αποτέλεσμα την δημιουργία διπόλου.

Εικόνα 3: Αλληλεπίδραση μεταξύ δύο διπόλων

Εικόνα 4: Αλληλεπίδραση μεταξύ δύο διπόλων με κατακόρυφο προσανατολισμό.

Εικόνα 5: Στιγμαίο δίπολο πλησιάζει σε άτομο και επάγει σε αυτό διπολική ροπή.

Εικόνα 6: Επαγόμενα δίπολα και αλληλεπιδράσεις επαγόμενων διπόλων.

Εικόνα 7: Δεσμός Υδρογόνου

Εικόνα 8: Οι πιο συνηθισμένοι τύποι δυναμικών. Οι μη-δεσμικές αλληλεπιδράσεις περιλαμβάνουν τα δυναμικά Lennard-Jones και Coulomb. Οι δεσμικές αλληλεπιδράσεις περιγράφουν τους δεσμούς, τις γωνίες και τις δίεδρες γωνίες.

Εικόνα 9: Δυναμικό Lennard-Jones συναρτήσει της διατομικής απόστασης.

Εικόνα 10: Δομή κυτταρικής μεμβράνης.

Εικόνα 11: Σχηματική αναπαράσταση διαφόρων σύνθετων λιπιδικών δομών.

Εικόνα 12: Βενζιμιδαζόλη, $C_7H_6N_2$

Εικόνα 13: (α) το μόριο BZIMU, (β) το σύμπλοκο χαλκού (II) που περιέχει δύο μόρια BZIMU (CuComplex).

Εικόνα 14: (α) λιπίδιο DPPC, $C_{40}H_{80}NO_8P$, (β) λιπίδιο DPPG, $C_{38}H_{74}NaO_{10}P$

Εικόνα 15: (α) Χολίνη, $C_5H_{14}NO$, (β) Γλυκερόλη, $C_3H_8O_3$.

Εικόνα 16: Σχηματική αναπαράσταση της απόστασης μελέτης για την συνάρτηση ακτινικής κατανομής μεταξύ σωματιδίων.

Εικόνα 17: Διπλοστιβάδα dipalmitoyl-phosphatidyl-choline (DPPC) με νερό.

Εικόνα 18: Ελαχιστοποίηση δυναμικής ενέργειας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με νερό.

Εικόνα 19: Διακύμανση θερμοκρασίας έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPC με νερό, με σύνολο NVT για χρονικό διάστημα 20 ns.

Εικόνα 20: Διακύμανση πίεσης έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPC με νερό, με σύνολο NPT για χρονικό διάστημα 20 ns.

Εικόνα 21: Διπλοστιβάδα dipalmitoyl-phosphatidyl-choline (DPPC) με ένα μόριο BZIMU και νερό.

Εικόνα 22: Ελαχιστοποίηση δυναμικής ενέργειας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα μόριο BZIMU και νερό.

Εικόνα 23: Διακύμανση θερμοκρασίας έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPC με ένα μόριο BZIMU και νερό με σύνολο NVT για χρονικό διάστημα 20 ns.

Εικόνα 24: Διακύμανση πίεσης έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPC με ένα μόριο BZIMU και νερό, με σύνολο NPT για χρονικό διάστημα 20 ns.

Εικόνα 25: Διπλοστιβάδα dipalmitoyl-phosphatidyl-choline (DPPC) με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex και νερό.

Εικόνα 26: Ελαχιστοποίηση δυναμικής ενέργειας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex και νερό.

Εικόνα 27: Διακύμανση θερμοκρασίας έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPC με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex και νερό, με σύνολο NVT για χρονικό διάστημα 20 ns.

Εικόνα 28: Διακύμανση πίεσης έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPC με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex και νερό, με σύνολο NPT για χρονικό διάστημα 20 ns.

Εικόνα 29: Διπλοστιβάδα dipalmitoyl-phosphatidyl-choline (DPPC) με 15 μόρια BZIMU και νερό.

Εικόνα 30: Ελαχιστοποίηση δυναμικής ενέργειας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με 15 μόρια BZIMU και νερό.

Εικόνα 31: Διακύμανση θερμοκρασίας έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPC με 15 μόρια BZIMU και νερό, με σύνολο NVT για χρονικό διάστημα 20 ns.

Εικόνα 32: Διακύμανση πίεσης έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPC με 15 μόρια BZIMU και νερό, με σύνολο NPT για χρονικό διάστημα 20 ns.

Εικόνα 33: Διπλοστιβάδα dipalmitoyl phosphatidylglycerol (DPPG) με νερό.

Εικόνα 34: Ελαχιστοποίηση δυναμικής ενέργειας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με νερό.

Εικόνα 35: Διακύμανση θερμοκρασίας έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPG με νερό, με σύνολο NVT για χρονικό διάστημα 20 ns.

Εικόνα 36: Διακύμανση πίεσης έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPG με νερό, με σύνολο NPT για χρονικό διάστημα 20 ns.

Εικόνα 37: Διπλοστιβάδα *dipalmitoyl phosphatidylglycerol* (DPPG) με ένα μόριο BZIMU και νερό.

Εικόνα 38: Ελαχιστοποίηση δυναμικής ενέργειας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με ένα μόριο BZIMU και νερό.

Εικόνα 39: Διακύμανση θερμοκρασίας έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPG με ένα μόριο BZIMU και νερό, με σύνολο NVT για χρονικό διάστημα 20 ns.

Εικόνα 40: Διακύμανση πίεσης έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPG με ένα μόριο BZIMU και νερό, με σύνολο NPT για χρονικό διάστημα 20 ns.

Εικόνα 41: Διπλοστιβάδα *dipalmitoyl phosphatidylglycerol* (DPPG) με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex και νερό.

Εικόνα 42: Ελαχιστοποίηση δυναμικής ενέργειας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex και νερό.

Εικόνα 43: Διακύμανση θερμοκρασίας έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPG με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex και νερό, με σύνολο NVT για χρονικό διάστημα 20 ns.

Εικόνα 44: Διακύμανση πίεσης έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPG με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex και νερό, με σύνολο NPT για χρονικό διάστημα 20 ns.

Εικόνα 45: Διπλοστιβάδα *dipalmitoyl phosphatidylglycerol* (DPPG) με 15 μόρια BZIMU και νερό.

Εικόνα 46: Ελαχιστοποίηση δυναμικής ενέργειας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 15 μόρια BZIMU και νερό.

Εικόνα 47: Διακύμανση θερμοκρασίας έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPG με 15 μόρια BZIMU και νερό, με σύνολο NVT για χρονικό διάστημα 20 ns.

Εικόνα 48: Διακύμανση πίεσης έπειτα από εξισορρόπηση του συστήματος διπλοστιβάδας DPPG με 15 μόρια BZIMU και νερό, με σύνολο NPT για χρονικό διάστημα 20 ns.

Εικόνα 49: Μερική πυκνότητα μάζας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με νερό συναρτήσει της συντεταγμένης z.

Εικόνα 50: Παράμετροι δευτερεύουσας τάξης για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με νερό.

Εικόνα 51: Πλευρική διάχυση για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με νερό.

Εικόνα 52: Μερική πυκνότητα μάζας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα μόριο BZIMU.

Εικόνα 53: Παράμετροι δευτερεύουσας τάξης για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα μόριο BZIMU.

Εικόνα 54: Διάχυση για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα μόριο BZIMU.

Εικόνα 55: Τετραγωνική ρίζα μέσης τετραγωνικής μετατόπισης του μορίου BZIMU σε διπλοστιβάδα DPPC, σε συνάρτηση με τον χρόνο.

Εικόνα 56: Δυναμικό μέσης δύναμης συναρτήσει της συντεταγμένης z για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα μόριο BZIMU.

Εικόνα 57: Μερική πυκνότητα μάζας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex.

Εικόνα 58: Παράμετροι δευτερεύουσας τάξης για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex.

Εικόνα 59: Διάχυση για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex.

Εικόνα 60: Τετραγωνική ρίζα μέσης τετραγωνικής μετατόπισης του συμπλόκου CuComplex σε διπλοστιβάδα DPPC, σε συνάρτηση με τον χρόνο

Εικόνα 61: Δυναμικό μέσης δύναμης ως συνάρτηση της συντεταγμένης z για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex.

Εικόνα 62: Μερική πυκνότητα μάζας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με 15 μόρια BZIMU.

Εικόνα 63: Παράμετροι δευτερεύουσας τάξης για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με 15 μόρια BZIMU.

Εικόνα 64: Διάχυση για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με 15 μόρια BZIMU.

Εικόνα 65: Τετραγωνική ρίζα μέσης τετραγωνικής μετατόπισης των 15 μορίων BZIMU σε διπλοστιβάδα DPPC, σε συνάρτηση με τον χρόνο.

Εικόνα 66: Κατανομή δεσμών υδρογόνου μεταξύ διπλοστιβάδας DPPC και μορίου BZIMU, συμπλόκου CuComplex, και 15 μορίων BZIMU.

Εικόνα 67: Διάχυση σε συνάρτηση με τον χρόνο για τα μόρια που εισήχθησαν στην διπλοστιβάδα DPPC: για το μόριο BZIMU, το σύμπλοκο μόριο CuComplex, και τα 15 μόρια BZIMU.

Εικόνα 68: Δυναμικό Μέσης Δύναμης για τα μόρια BZIMU και CuComplex κατά την διέλευσή τους μέσα από διπλοστιβάδα DPPC υπό την επίδραση αρμονικού δυναμικού.

Εικόνα 69: Συνάρτηση ακτινικής κατανομής με σημείο αναφοράς την ομάδα O - P -OW της πολικής κεφαλής των λιπιδίων της διπλοστιβάδας DPPC, για τα υπό μελέτη συστήματα με μόριο BZIMU και σύμπλοκο CuComplex.

Εικόνα 70: Μετατόπιση του μεμονωμένου μορίου BZIMU καθώς διαπερνά την μεμβράνη DPPC.

Εικόνα 71: Μετατόπιση του συμπλόκου μορίου με χαλκό (II) (CuComplex) καθώς διαπερνά την μεμβράνη DPPC.

Εικόνα 72: Μερική πυκνότητα μάζας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και νερό.

Εικόνα 73: Παράμετροι δευτερεύουσας τάξης για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και νερό.

Εικόνα 74: Πλευρική διάχυση για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και νερό.

Εικόνα 75: Μερική πυκνότητα μάζας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και ένα μόριο BZIMU.

Εικόνα 76: Παράμετροι δευτερεύουσας τάξης για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και ένα μόριο BZIMU.

Εικόνα 77: Διάχυση για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και ένα μόριο BZIMU.

Εικόνα 78: Τετραγωνική ρίζα μέσης τετραγωνικής μετατόπισης του μορίου BZIMU σε διπλοστιβάδα DPPG με 128 ιόντα Na^+ και ένα μόριο BZIMU, σε συνάρτηση με τον χρόνο.

Εικόνα 79: Δυναμικό μέσης δύναμη ως συνάρτηση της συντεταγμένης z για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και ένα μόριο BZIMU.

Εικόνα 80: Μερική πυκνότητα μάζας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex.

Εικόνα 81: Παράμετροι δευτερεύουσας τάξης για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex.

Εικόνα 82: Διάχυση για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex.

Εικόνα 83: Τετραγωνική ρίζα μέσης τετραγωνικής μετατόπισης του συμπλόκου CuComplex σε διπλοστιβάδα DPPG, σε συνάρτηση με τον χρόνο

Εικόνα 84: Δυναμικό μέσης δύναμη ως συνάρτηση της συντεταγμένης z για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex.

Εικόνα 85: Μερική πυκνότητα μάζας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και 15 μόρια BZIMU.

Εικόνα 86: Παράμετροι δευτερεύουσας τάξης για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και 15 μόρια BZIMU.

Εικόνα 87: Διάχυση για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και 15 μόρια BZIMU.

Εικόνα 88: Τετραγωνική ρίζα μέσης τετραγωνικής μετατόπισης των 15 μορίων BZIMU σε διπλοστιβάδα DPPG με 128 ιόντα Na^+ , σε συνάρτηση με τον χρόνο.

Εικόνα 89: Κατανομή δεσμών υδρογόνου μεταξύ διπλοστιβάδας DPPG και μορίων που εισήχθησαν σε αυτή.

Εικόνα 90: Διάχυση σε συνάρτηση με τον χρόνο για τα μόρια που εισήχθησαν στην διπλοστιβάδα DPPG.

Εικόνα 91: Δυναμικό Μέσης Δύναμης για τα μόρια BZIMU και CuComplex κατά την διέλευσή τους μέσα από την διπλοστιβάδα DPPG με 128 ιόντα Na^+ υπό την επίδραση αρμονικού δυναμικού.

Εικόνα 92: Συνάρτηση ακτινικής κατανομής με σημείο αναφοράς την ομάδα O-P-OW της πολικής κεφαλής των λιπιδίων της διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ , για τα υπό μελέτη συστήματα με μόριο BZIMU και σύμπλοκο CuComplex

Εικόνα 93: Μετατόπιση του μεμονωμένου μορίου BZIMU καθώς διαπερνά την μεμβράνη DPPG.

Εικόνα 94: Μετατόπιση του συμπλόκου μορίου με χαλκό II CuComplex καθώς διαπερνά την μεμβράνη DPPG.

Εικόνα 95: Διάχυση σε συνάρτηση με τον χρόνο για το μεμονωμένο μόριο και τα 15 μόρια BZIMU που εισήχθησαν στην διπλοστιβάδα DPPG.

Εικόνα 96: Δημιουργία συσσωματωμάτων των μορίων BZIMU υπό την επίδραση δυναμικού κατά μήκος του άξονα-z στην διπλοστιβάδα DPPG.

Εικόνα 97: Δημιουργία πόρων στην διπλοστιβάδα DPPG κατά την δημιουργία συσσωματωμάτων των 15 μορίων BZIMU που εισήχθησαν.

Εικόνα 98: Διάχυση σε συνάρτηση με τον χρόνο για το μεμονωμένο μόριο και τα 15 μόρια BZIMU που εισήχθησαν στην διπλοστιβάδα DPPG.

Εικόνα 99: Δημιουργία συσσωματωμάτων των μορίων BZIMU υπό την επίδραση δυναμικού κατά μήκος του άξονα-z στην μεμβράνη DPPG.

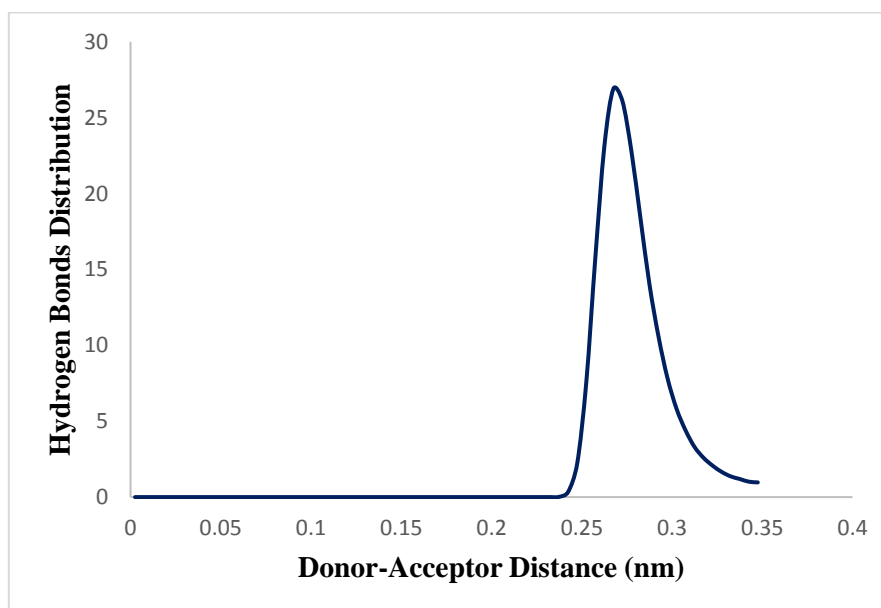
Εικόνα 100: Δημιουργία πόρων στην διπλοστιβάδα DPPG κατά την δημιουργία συσσωματωμάτων των 15 μορίων BZIMU που εισήχθησαν.

Εικόνα 101: Πλευρική διάχυση σε συνάρτηση με τον χρόνο για (α) το μεμονωμένο μόριο BZIMU, (β) το σύμπλοκο χαλκού II (CuComplex) και (γ) τα 15 μόρια BZIMU που εισήχθησαν σε διπλοστιβάδα DPPC και DPPG.

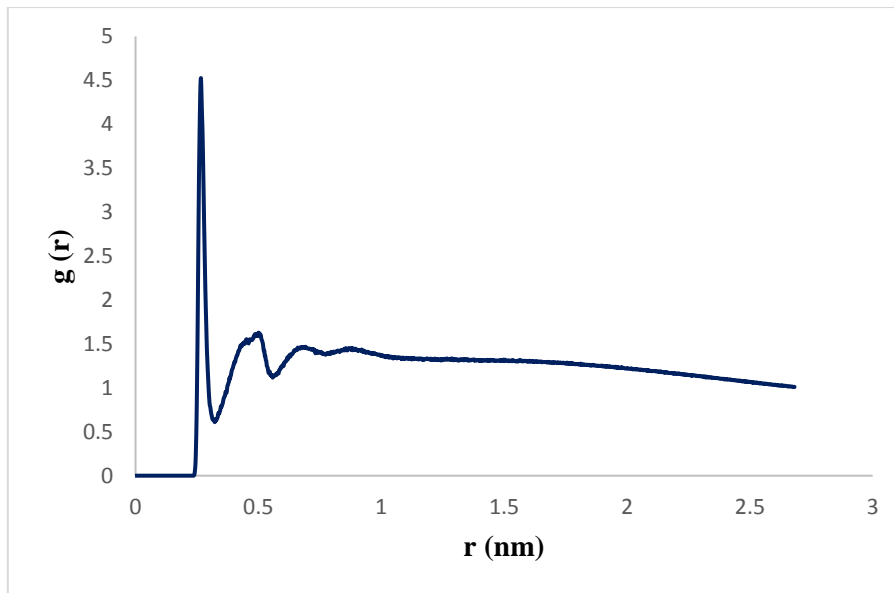
Εικόνα 102: Δυναμικό μέσης δύναμης σε συνάρτηση με την συντεταγμένη κατά μήκος του άξονα z για (α) το μόριο BZIMU και (β) το σύμπλοκο με χαλκό (II) (CuComplex) στις διπλοστιβάδες DPPC και DPPG.

VII. 3. Επιπλέον αποτελέσματα

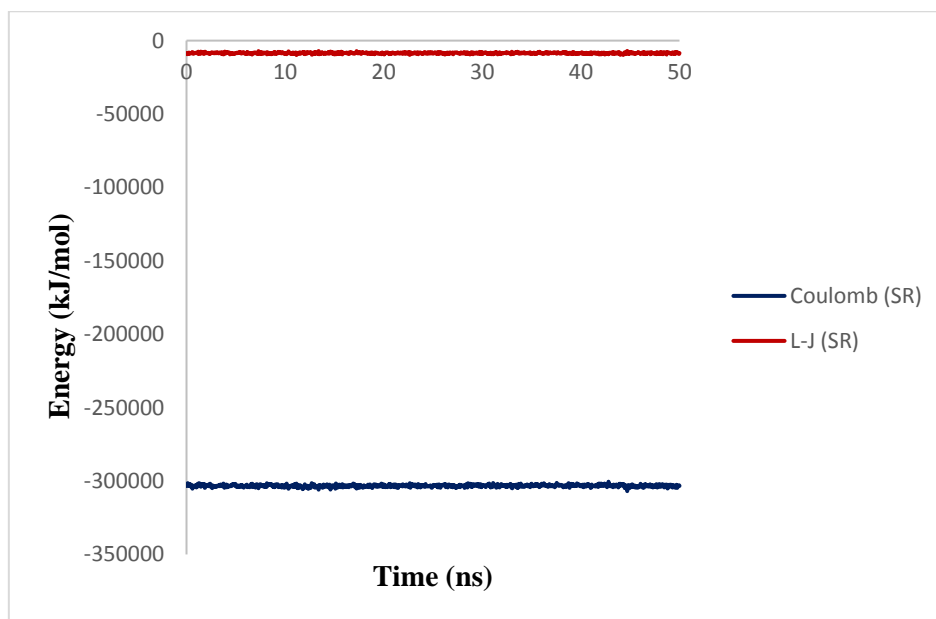
Διαγράμματα κατανομής δεσμών υδρογόνου, συνάρτησης ακτινικής κατανομής (RDF), και αλληλεπιδράσεων Coulomb και Lennard-Jones μικρής εμβέλειας, για κάθε σύστημα που μελετήθηκε.



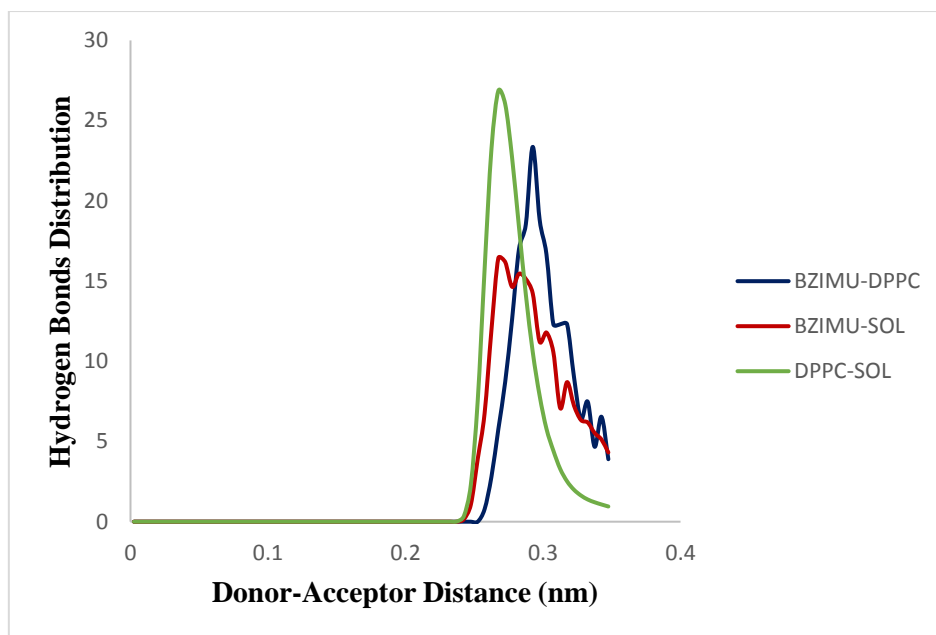
Εικόνα VIII: Κατανομή δεσμών υδρογόνου για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με νερό.



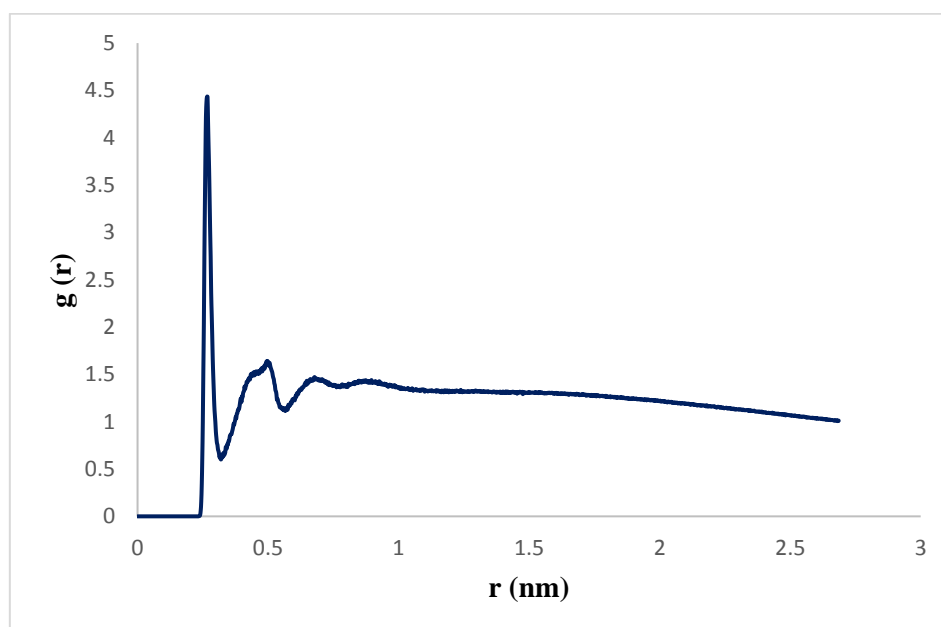
Εικόνα VII2: Συνάρτηση ακτινικής κατανομής για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με νερό.



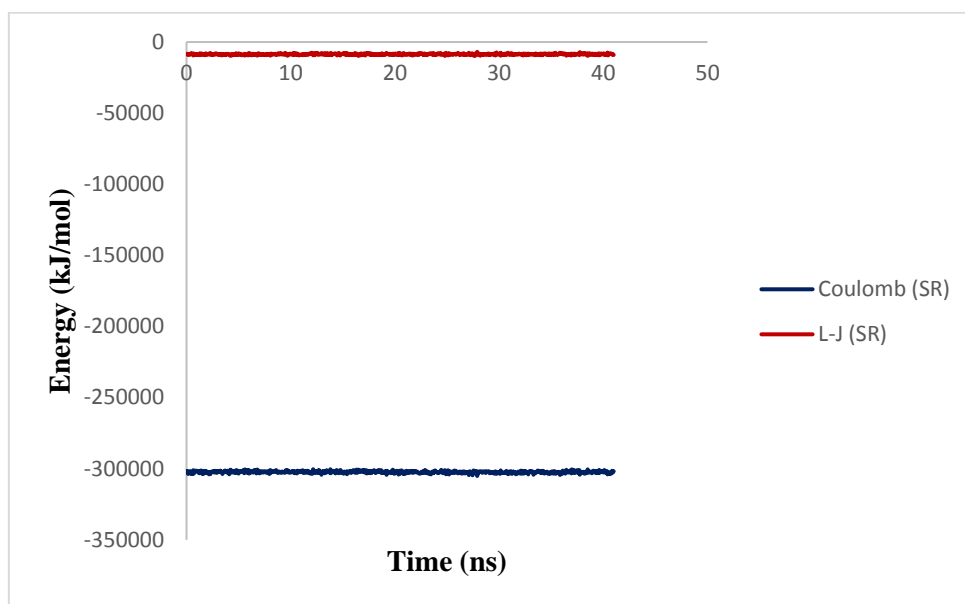
Εικόνα VII3: Αλληλεπιδράσεις Coulomb (με μπλε χρώμα) και Lennard-Jones (με κόκκινο χρώμα) μικρής εμβέλειας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με νερό.



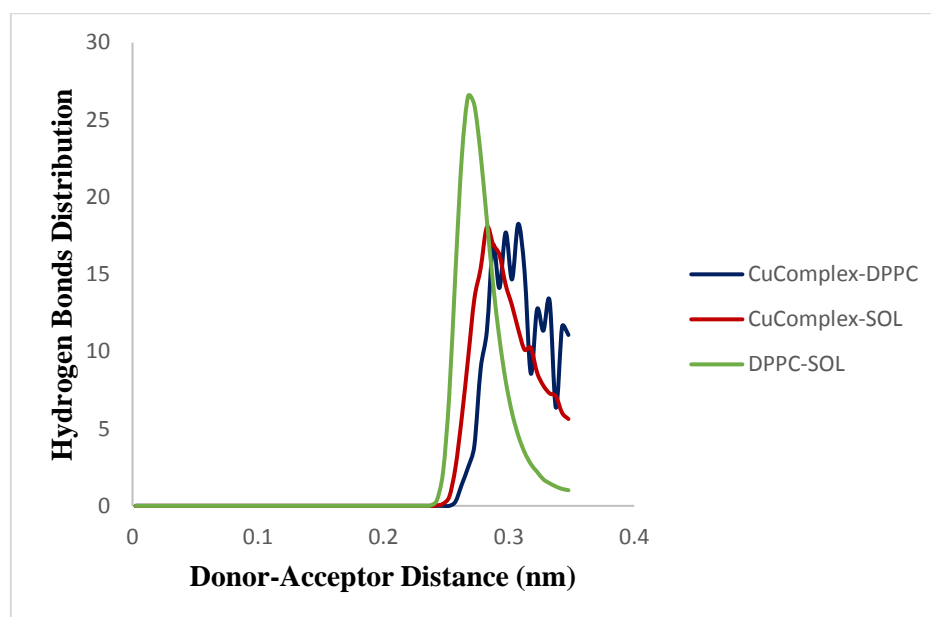
Εικόνα VII4: Κατανομή δεσμών υδρογόνου για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα μόριο BZIMU. Με μπλε χρώμα φαίνεται η κατανομή δεσμών υδρογόνου μεταξύ μορίου BZIMU και διπλοστιβάδας DPPC, με κόκκινο μεταξύ μορίου BZIMU και μορίων νερού, και με πράσινο η αντίστοιχη κατανομή μεταξύ διπλοστιβάδας DPPC και μορίων νερού.



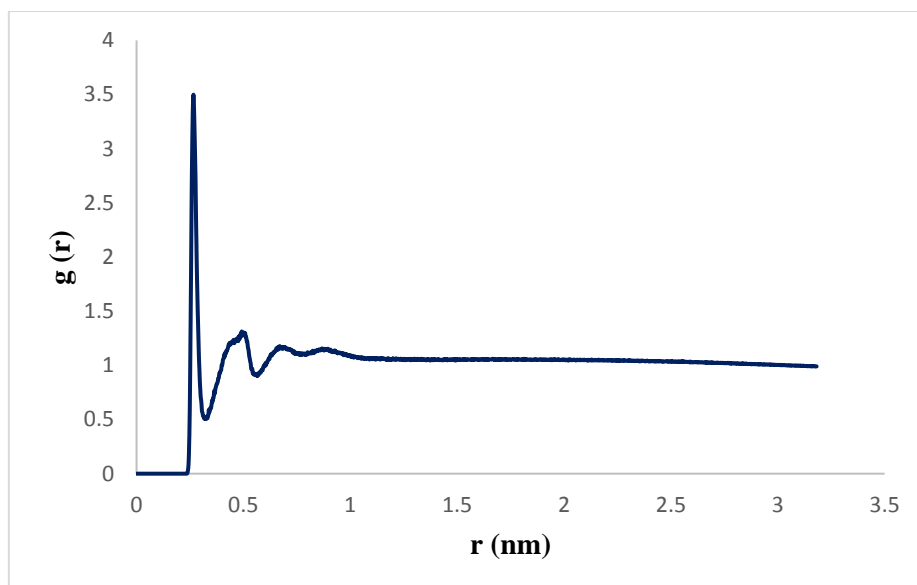
Εικόνα VII5: Συνάρτηση ακτινικής κατανομής για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα μόριο BZIMU.



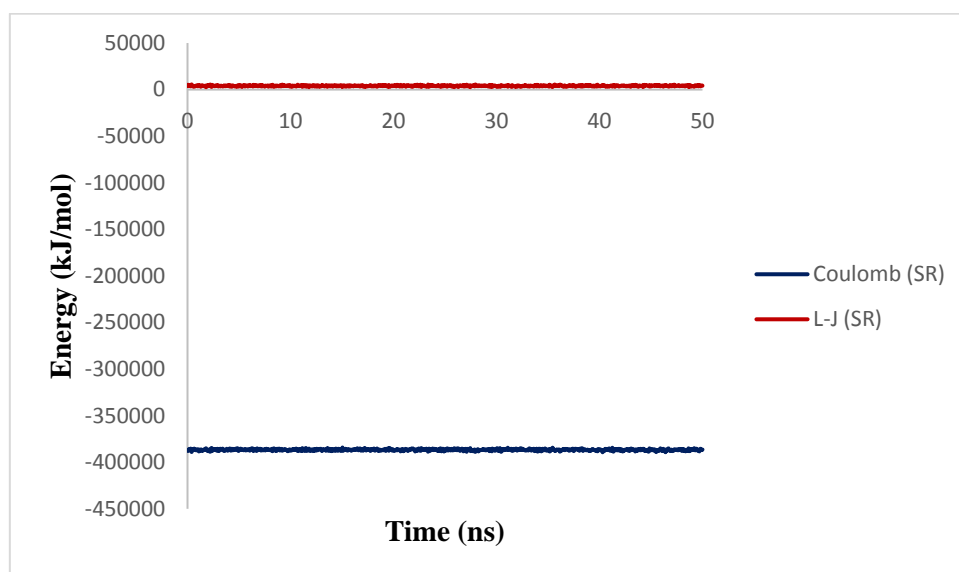
Εικόνα VII6: Αλληλεπιδράσεις Coulomb (με μπλε χρώμα) και Lennard-Jones (με κόκκινο χρώμα) μικρής εμβέλειας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα μόριο BZIMU.



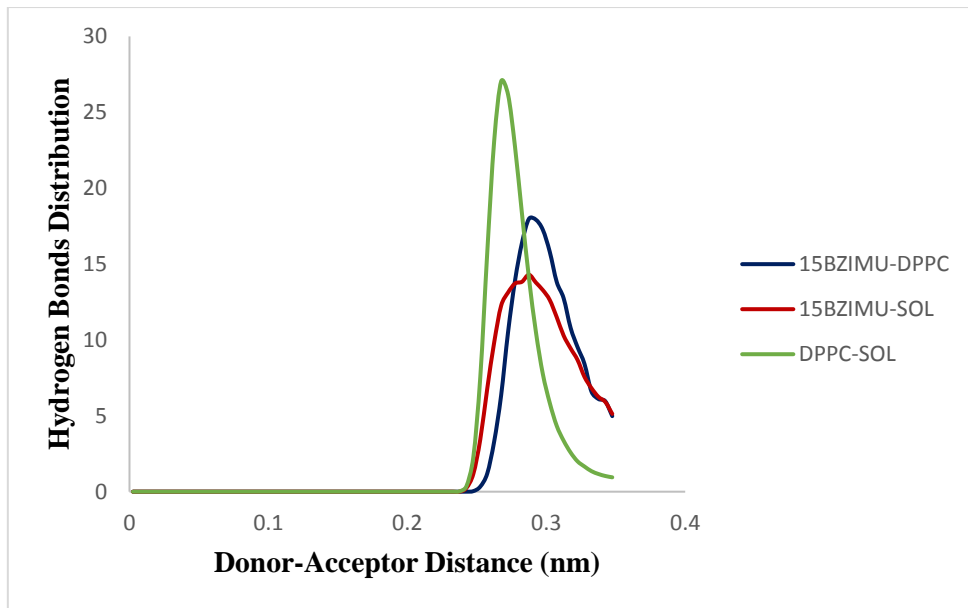
Εικόνα VII7: Κατανομή δεσμών υδρογόνου για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex. Με μπλε χρώμα φαίνεται η κατανομή δεσμών υδρογόνου μεταξύ μορίου CuComplex και διπλοστιβάδας DPPC, με κόκκινο μεταξύ μορίου CuComplex και μορίων νερού, και με πράσινο η αντίστοιχη κατανομή μεταξύ διπλοστιβάδας DPPC και μορίων νερού.



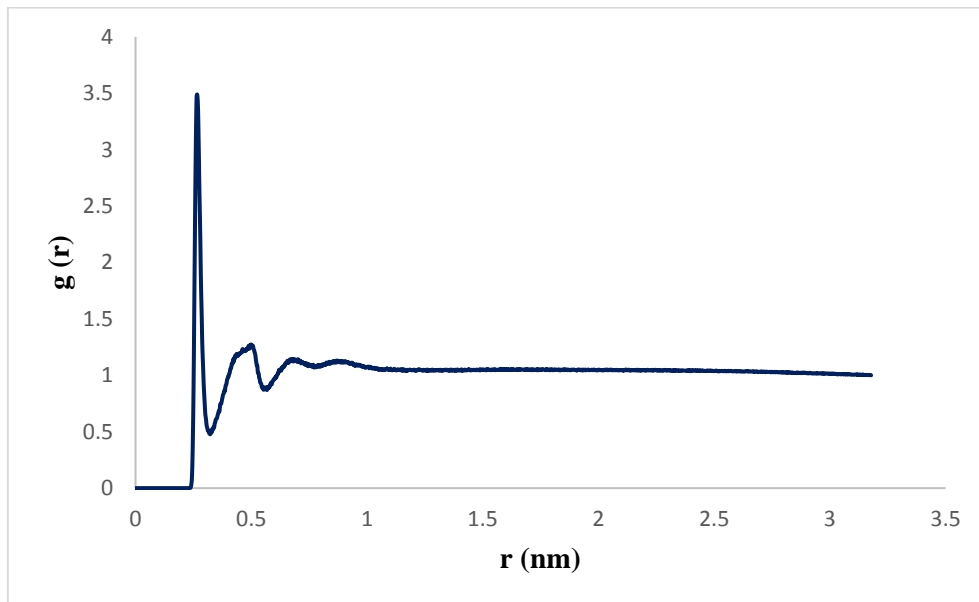
Εικόνα VII8: Συνάρτηση ακτινικής κατανομής για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex.



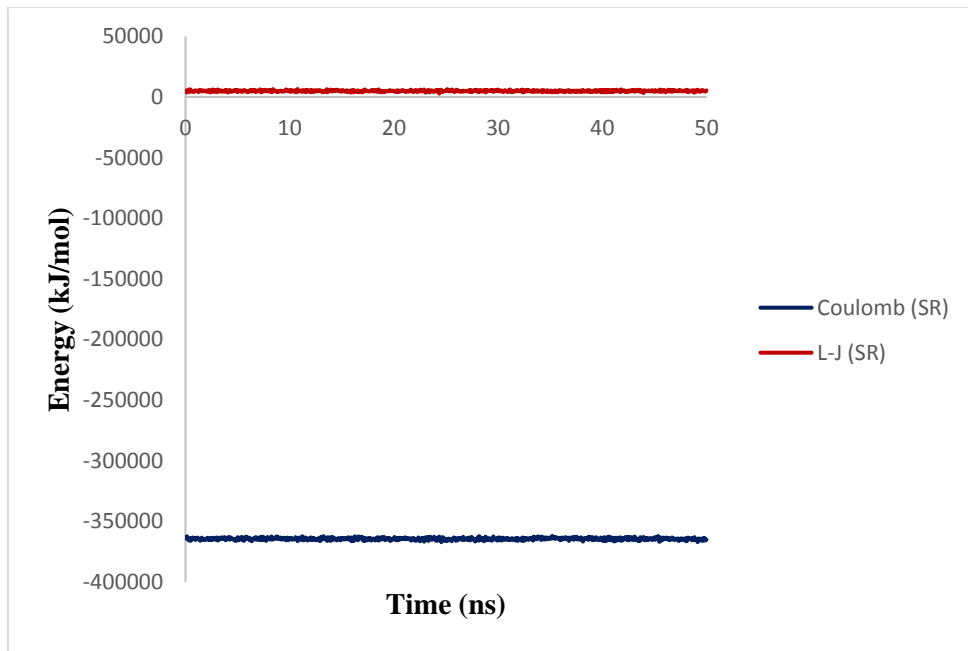
Εικόνα VII9: Αλληλεπιδράσεις Coulomb (με μπλε χρώμα) και Lennard-Jones (με κόκκινο χρώμα) μικρής εμβέλειας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex.



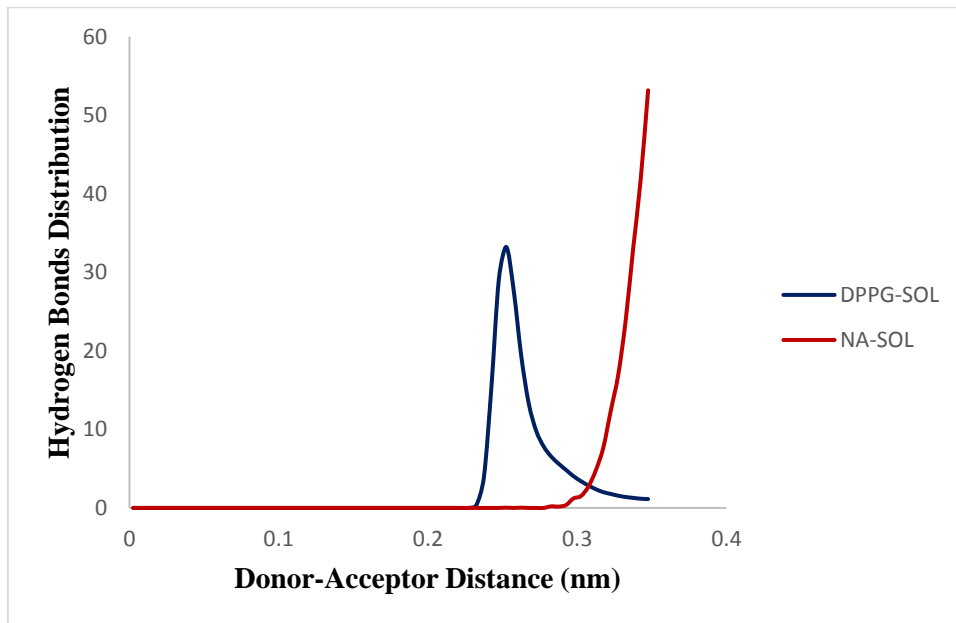
Εικόνα VIII10: Κατανομή δεσμών υδρογόνου για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με 15 μόρια BZIMU. Με μπλε χρώμα φαίνεται η κατανομή δεσμών υδρογόνου μεταξύ μορίων BZIMU και διπλοστιβάδας DPPC, με κόκκινο μεταξύ μορίων BZIMU και μορίων νερού, και με πράσινο η αντίστοιχη κατανομή μεταξύ διπλοστιβάδας DPPC και μορίων νερού.



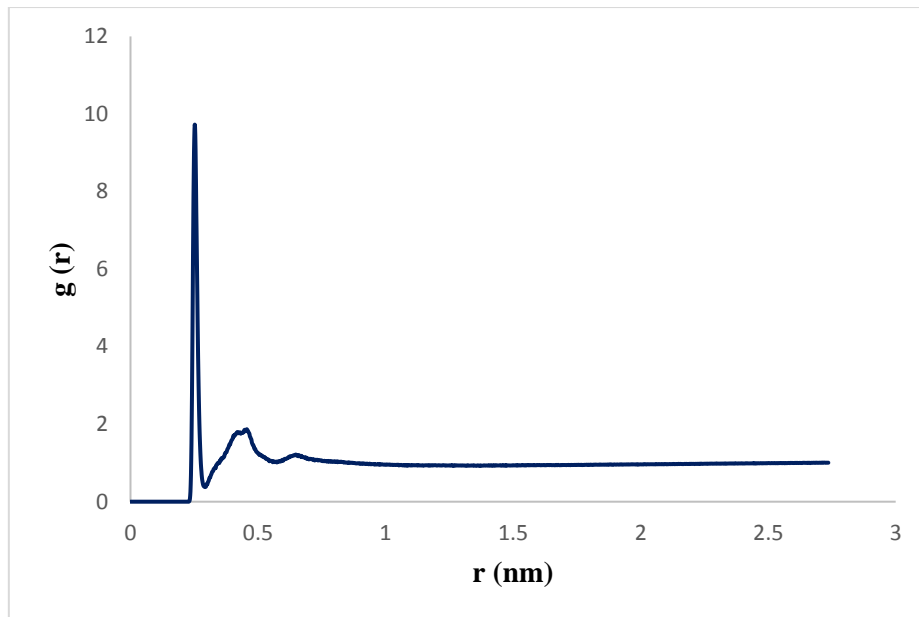
Εικόνα VIII11: Συνάρτηση ακτινικής κατανομής για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με 15 μόρια BZIMU.



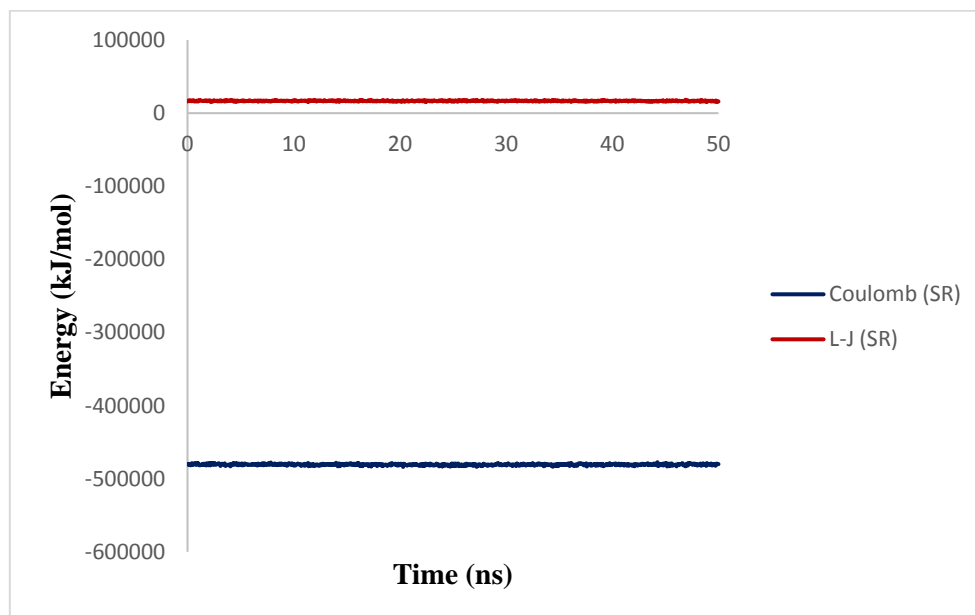
Εικόνα VIII2: Αλληλεπιδράσεις Coulomb (με μπλε χρώμα) και Lennard-Jones (με κόκκινο χρώμα) μικρής εμβέλειας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPC με 15 μόρια BZIMU.



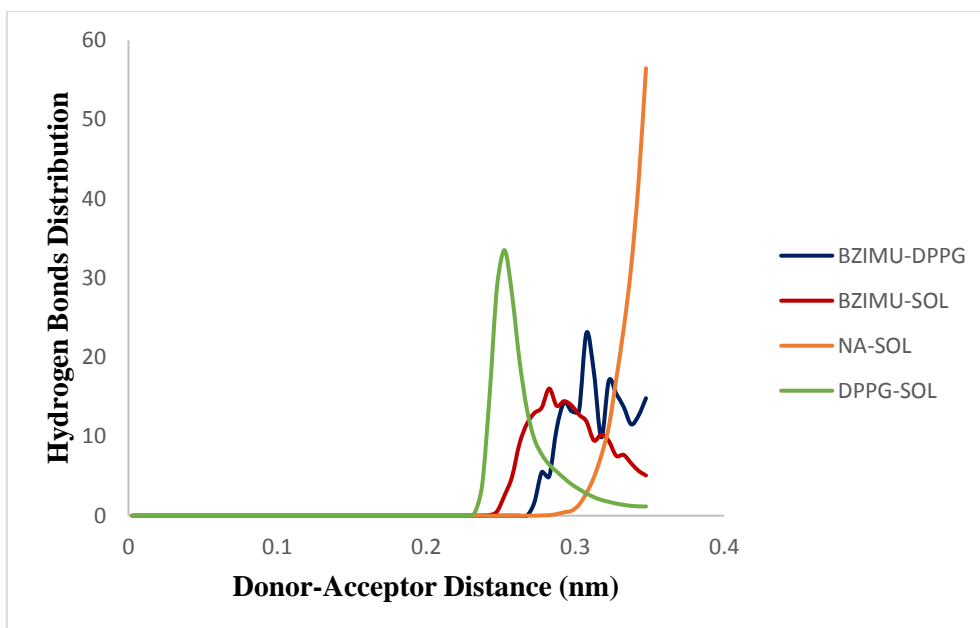
Εικόνα VIII3: Κατανομή δεσμών υδρογόνου για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και νερό, για την διπλοστιβάδα με τα μόρια νερού (μπλε χρώμα) και τα ιόντα Na^+ με τα μόρια νερού (πορτοκαλί χρώμα).



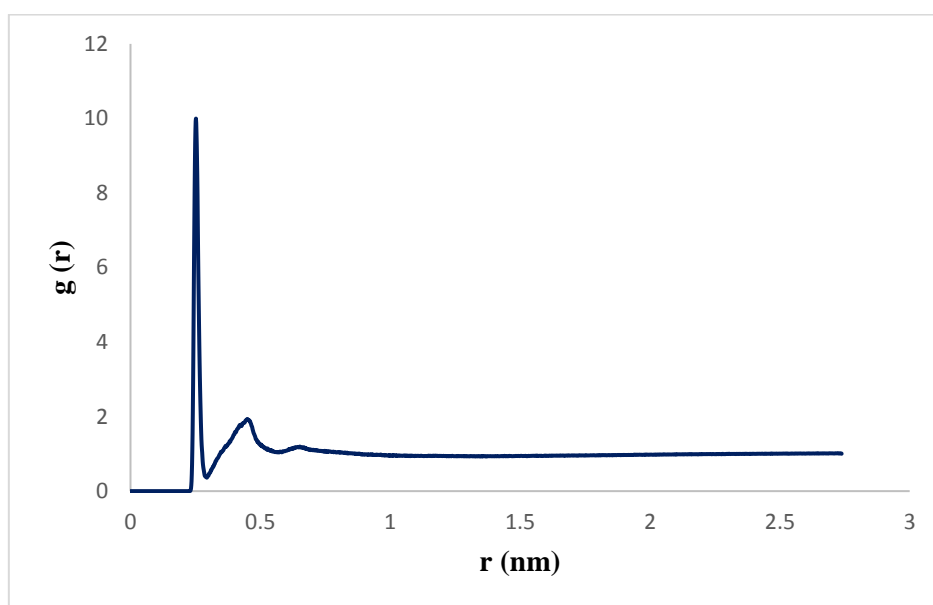
Εικόνα VIII14: Συνάρτηση ακτινικής κατανομής για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και νερό.



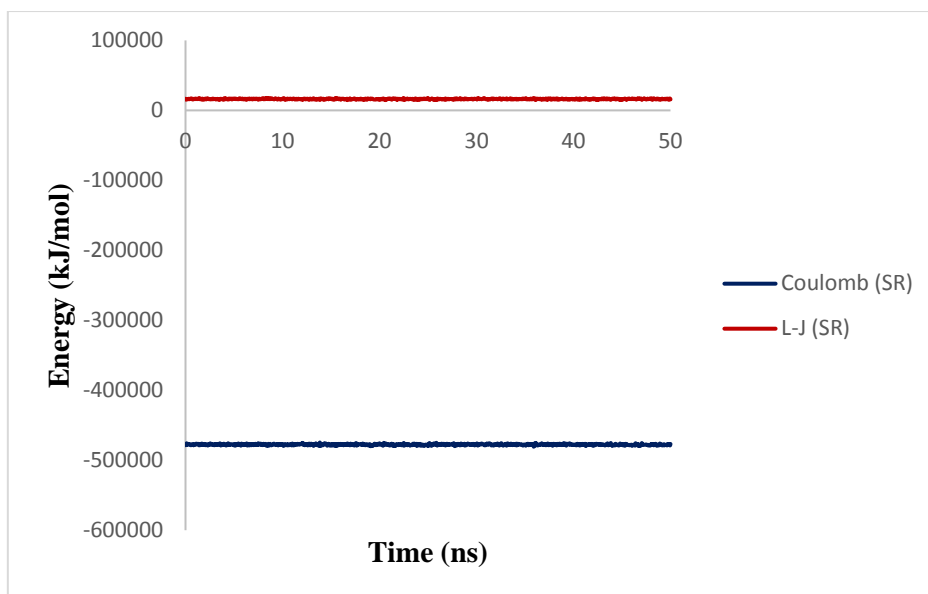
Εικόνα VIII15: Αλληλεπιδράσεις Coulomb (μπλε χρώμα) και Lennard-Jones (κόκκινο χρώμα) (L-J) μικρής εμβέλειας (SR) για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και νερό.



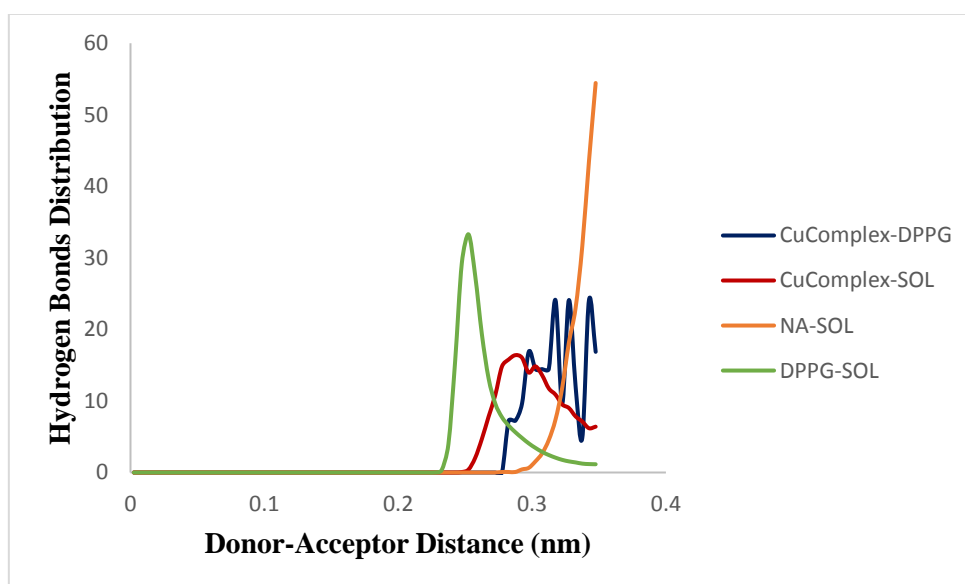
Εικόνα VIII16: Κατανομή δεσμών υδρογόνου για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και ένα μόριο BZIMU. Με μπλε χρώμα φαίνεται η κατανομή δεσμών υδρογόνου μεταξύ του μορίου BZIMU και της διπλοστιβάδας DPPG, με κόκκινο μεταξύ του μορίου BZIMU και των μορίων νερού, με πορτοκαλί μεταξύ των ιόντων Na^+ και των μορίων νερού, και με πράσινο η αντίστοιχη κατανομή μεταξύ διπλοστιβάδας DPPG και μορίων νερού.



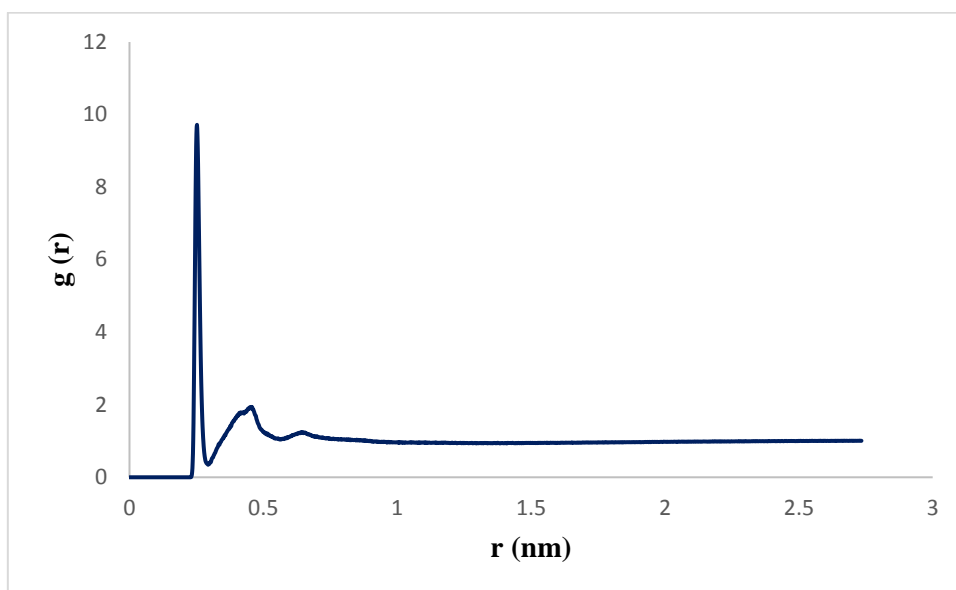
Εικόνα VIII17: Συνάρτηση ακτινικής κατανομής για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και ένα μόριο BZIMU.



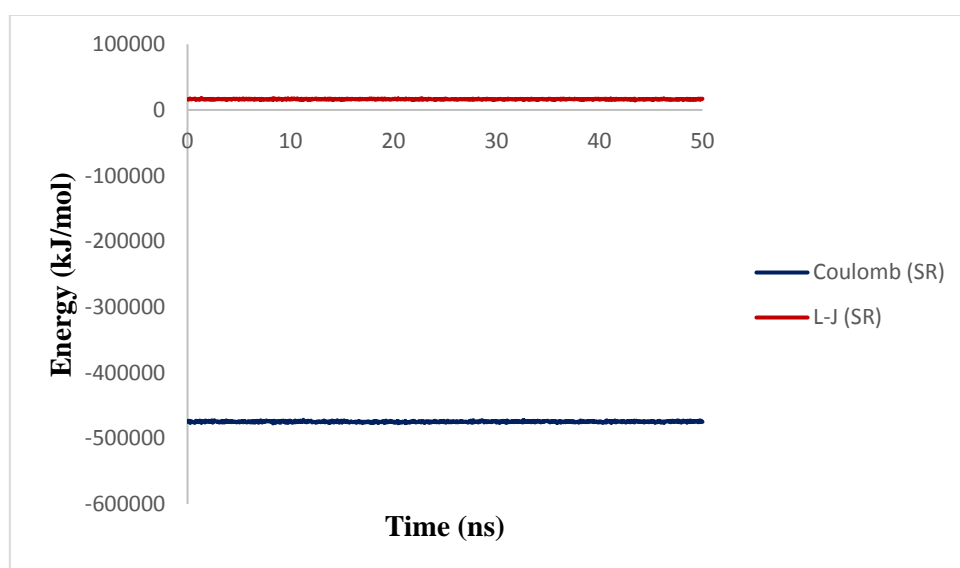
Εικόνα VIII18: Αλληλεπιδράσεις Coulomb (μπλε χρώμα) και Lennard-Jones (κόκκινο χρώμα) μικρής εμβέλειας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και ένα μόριο BZIMU.



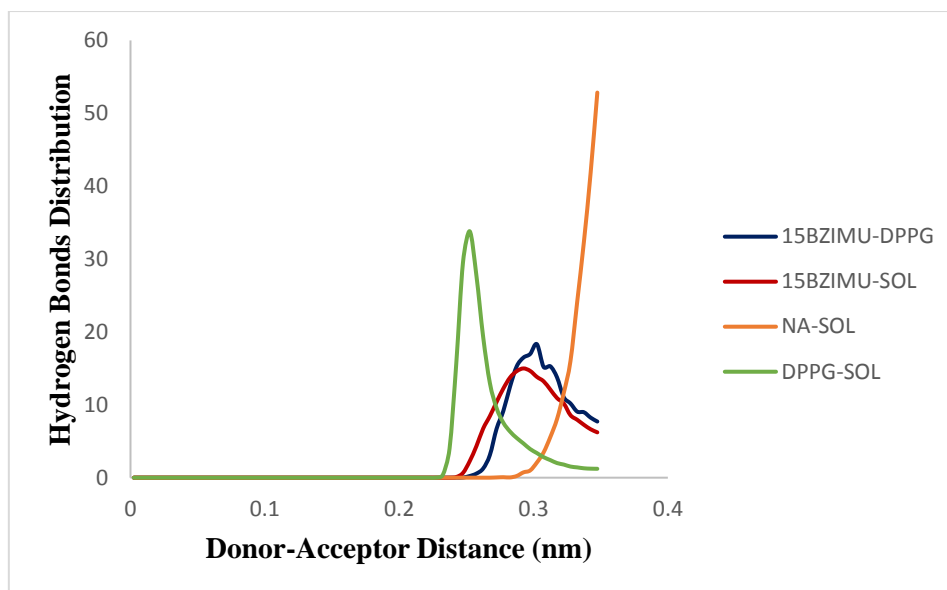
Εικόνα VIII19: Κατανομή δεσμών υδρογόνου για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και ένα σύμπλοκο μόριο CuComplex. Με μπλε χρώμα φαίνεται η κατανομή δεσμών υδρογόνου μεταξύ του μορίου CuComplex και της διπλοστιβάδας DPPG, με κόκκινο μεταξύ του μορίου CuComplex και των μορίων νερού, με πορτοκαλί μεταξύ των ιόντων Na^+ και των μορίων νερού, και με πράσινο η αντίστοιχη κατανομή μεταξύ διπλοστιβάδας DPPG και μορίων νερού.



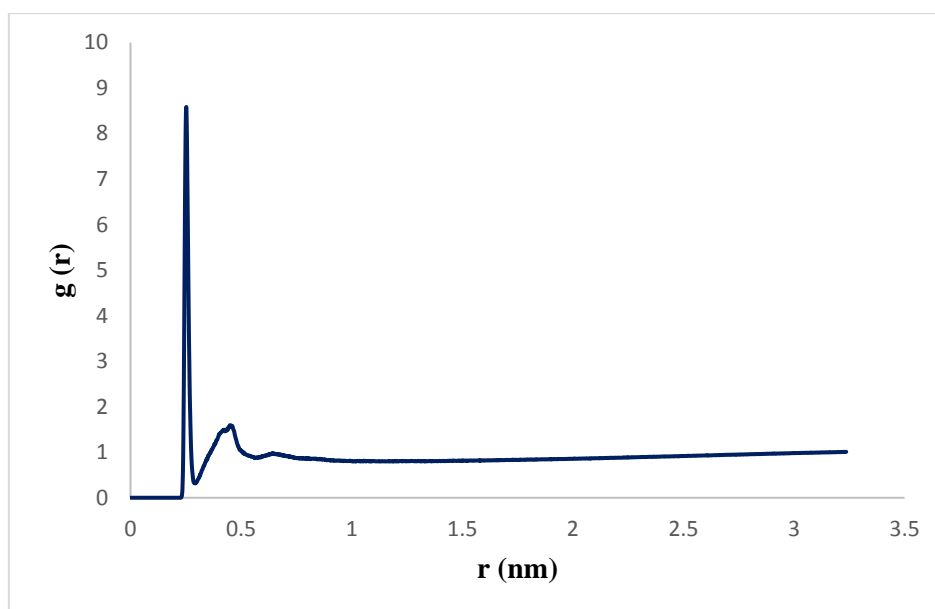
Εικόνα VII20: Συνάρτηση ακτινικής κατανομής για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και ένα σύμπλοκο μόριο *CuComplex*.



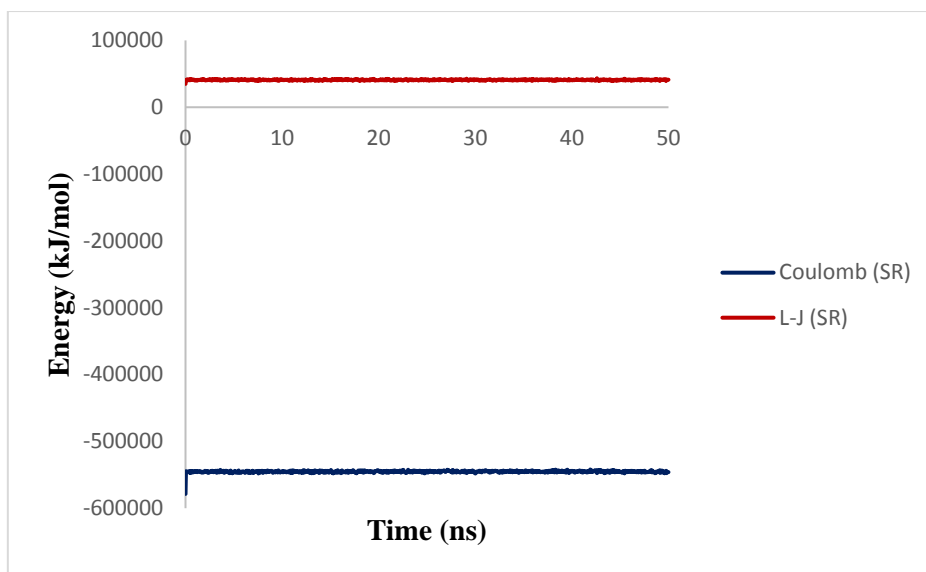
Εικόνα VII21: Αλληλεπιδράσεις *Coulomb* (μπλε χρώμα) και *Lennard-Jones* (κόκκινο χρώμα) μικρής εμβέλειας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και ένα σύμπλοκο μόριο *CuComplex*.



Εικόνα VII22: Κατανομή δεσμών υδρογόνου για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και 15 μόρια BZIMU. Με μπλε χρώμα φαίνεται η κατανομή δεσμών υδρογόνου μεταξύ των 15 μορίων BZIMU και της διπλοστιβάδας DPPG, με κόκκινο μεταξύ των 15 μορίων BZIMU και των μορίων νερού, με πορτοκαλί μεταξύ των ιόντων Na^+ και των μορίων νερού, και με πράσινο η αντίστοιχη κατανομή μεταξύ διπλοστιβάδας DPPG και μορίων νερού.



Εικόνα VII23: Συνάρτηση ακτινικής κατανομής για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και 15 μόρια BZIMU.



Εικόνα VII24: Αλληλεπιδράσεις Coulomb (μπλε χρώμα) και Lennard-Jones (κόκκινο χρώμα) μικρής εμβέλειας για το σύστημα διπλοστιβάδας DPPG με 128 ιόντα Na^+ και 15 μόρια BZIMU.