



Εθνικό Μετσόβιο Πολυτεχνείο  
Σχολή Χημικών Μηχανικών  
Τομέας ΙΙΙ – Επιστήμης και Τεχνικής των Υλικών  
Ομάδα Υπολογιστικής Επιστήμης και Τεχνικής των Υλικών

Διπλωματική Εργασία  
**Μοριακές Προσομοιώσεις Διφαινουδραμίνης  
σε Ενυδατωμένες Λιπιδικές Διπλοστιβάδες**

**Αλέξανδρος Τιμόθεος Λούκας**

Επιβλέπων: Καθ. Θεόδωρος Ν. Θεοδώρου

Συνεπιβλέπων: Δρ. Γρηγόριος Μεγαριώτης

Αθήνα, Ιούνιος 2022

This work was supported by computational time granted from the Greek Research & Technology Network (GRNET) in the National HPC facility –ARIS– under project ID pr010032\_thin (MUSIBIOSOB).

# Περιεχόμενα

Ευχαριστίες.....	6
Περίληψη .....	7
Abstract.....	8
<b>1. Θεωρητικό Μέρος.....</b>	<b>9</b>
1.1 Διφαινυδραμίνη.....	9
1.1.1 Δομή και χαρακτηριστικά .....	9
1.1.2 Εισαγωγή στο μηχανισμό της αλλεργίας.....	11
1.1.3 Διφαινυδραμίνη και Κεντρικό Νευρικό Σύστημα.....	12
1.2 Λιπιδική Διπλοστιβάδα DPPC .....	15
1.2.1 Χημεία του μορίου.....	15
1.2.2 Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των λιπιδικών διπλοστιβάδων .....	16
1.2.3 Βιολογική σημασία των λιπιδικών διπλοστιβάδων .....	20
<b>2. Μοριακές προσομοιώσεις και μεθοδολογία υπολογισμών .....</b>	<b>24</b>
2.1 Εισαγωγή.....	24
2.2 Έννοιες από την Κλασική Φυσική.....	26
2.3 Έννοιες από την Στατιστική Μηχανική .....	27
2.4 Στατιστικό σύνολο NPT .....	30
2.5 Αριθμητική Επίλυση Εξισώσεων Κίνησης.....	32
2.6 Πεδία Δυνάμεων.....	33
2.7 Περιοδικές Συνθήκες και ακτίνα αποκοπής .....	38
2.8 Υπολογισμός δεσμών υδρογόνου .....	40
2.9 Παράμετροι τάξης αλυσίδων.....	41
2.10 Υπολογισμός Ελεύθερης Ενέργειας.....	43
<b>3. Αποτελέσματα .....</b>	<b>46</b>
3.1 Εισαγωγή.....	46
3.2 Οπτικοποίηση .....	46
3.3 Προφίλ μαζικής πυκνότητας.....	49
3.4 Υπολογισμός δεσμών υδρογόνου .....	52
3.5 Πάχος διπλοστιβάδας.....	53

3.6 Επιφάνεια ανά λιπίδιο.....	56
3.7 Παράμετρος τάξης .....	57
3.8 Υπολογισμός Ελεύθερης Ενέργειας.....	59
<b>4. Συμπεράσματα .....</b>	<b>64</b>
<b>5. Προτάσεις για μελλοντική έρευνα .....</b>	<b>66</b>
<b>6. Βιβλιογραφία .....</b>	<b>68</b>



## Ευχαριστίες

Σε αυτό σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω όλες εκείνες και όλους εκείνους που βοήθησαν άμεσα ή έμμεσα στην εκπόνηση της παρούσας εργασίας.

Αρχικά, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Δώρο Θεοδώρου, τόσο για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε κατά την ανάθεση του θέματος, όσο και για την αμέριστη βοήθεια που προσέφερε κατά την συνέχεια. Επιπλέον, δεν θα μπορούσα να μην σταθώ στην μεγάλη μου εκτίμηση προς τον κ. Θεοδώρου, τόσο για τις σημαντικές και ενδιαφέρουσες γνώσεις που απέκτησα στα μαθήματα που τον είχα καθηγητή, όσο και για το ήθος του ως επιστήμονας και καθηγητής.

Έπειτα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Μεταδιδακτορικό ερευνητή Δρ. Γρηγόριο Μεγαριώτη και τον Υποψήφιο Διδάκτορα Γιώργο Μικαελιάν, για την καθοδήγηση τους κατά την πραγματοποίηση της διπλωματικής. Οι συμβουλές και οι υποδείξεις τους έπαιξαν καταλυτικό ρόλο για την διεύρυνση των γνώσεων μου πάνω στο αντικείμενο και στην επιστημονική μου κατάρτιση.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου, την αδελφή μου, αλλά και τους φίλους μου για την στήριξη που μου παρείχαν τόσο κατά την εκπόνηση της διπλωματικής, όσο και καθ' όλη την διάρκεια των σπουδών μου.

## Περίληψη

Στην παρούσα διπλωματική εργασία, διεξήχθησαν προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής για να μελετηθεί υπολογιστικά η αλληλεπίδραση της διφαινυδραμίνης με την λιπιδική διπλοστιβάδα, σε σύστημα με περίσσεια νερού. Η διφαινυδραμίνη είναι ένα υδρόφοβο αντισταμινικό φάρμακο πρώτης γενιάς, το οποίο διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Η λιπιδική διπλοστιβάδα δομείται από μόρια διπαλμιτοϋλοφωσφατιδυλοχολίνης (DPPC). Οι προσομοιώσεις λαμβάνουν χώρα σε θερμοκρασία 323 K, όπου η λιπιδική διπλοστιβάδα DPPC είναι πλήρως ενυδατωμένη και βρίσκεται στην υγροκρυσταλλική φάση  $L_\alpha$ .

Οι προσομοιώσεις διεξάγονται στο στατιστικό σύνολο NPT και υλοποιούνται μέσω του υπολογιστικού προγράμματος GROMACS, στον ελληνικό υπερυπολογιστή ARIS. Η θερμοκρασία διατηρείται σταθερή στους 323 K, μέσω του θερμοστάτη Nosé-Hoover, ενώ η πίεση διατηρείται ημι-ισότροπα σταθερή και ίση με 1 bar, κάνοντας χρήση του βαροστάτη Parrinello – Rahman. Η αριθμητική επίλυση των εξισώσεων κίνησης γίνεται μέσω του αλγόριθμου leap frog. Για την εύρεση των θερμοδυναμικών ιδιοτήτων του συστήματος, διεξάγονται προσομοιώσεις δειγματοληψίας κάλυψης και έτσι υπολογίζεται στο δυναμικό μέσης δύναμης.

Με βάση τα παραπάνω, υπολογίζεται το προφίλ μαζικής πυκνότητας του συστήματος στον άξονα Z, ο οποίος είναι κάθετος στην διπλοστιβάδα. Επιπλέον, μελετάται η αλληλεπίδραση της διφαινυδραμίνης με την λιπιδική διπλοστιβάδα DPPC, μέσω μεγεθών όπως οι δεσμοί υδρογόνου που σχηματίζονται, το πάχος της διπλοστιβάδας, η επιφάνεια ανά λιπίδιο και οι παράμετροι τάξης. Από το δυναμικό μέσης δύναμης και από τα προφίλ μαζικής πυκνότητας γίνεται εύρεση της προτιμητέας θέσης του φαρμάκου. Επιπλέον υπολογίζονται οι διαφορές της ελεύθερης ενέργειας Gibbs κατά την διείδυση από την υδατική στην λιπιδική φάση και το αντίστοιχο ενεργειακό φράγμα.

## Abstract

In the present diploma thesis, molecular dynamics simulations were performed to study the behavior of diphenhydramine in fully hydrated lipid bilayers. Diphenhydramine is a hydrophobic antihistamine first generation drug, which can cross the blood brain barrier. The lipid bilayer is made of dipalmitoylphosphatidylcholine molecules (DPPC). Simulations were performed at a temperature of 323 K, at which the fully hydrated DPPC lipid bilayers are found in the liquid-crystalline phase  $L_a$ .

The simulations were performed in the NPT ensemble using the computational package GROMACS, on the ARIS supercomputer. Temperature is kept constant at 323 K, by the Nosé - Hoover thermostat. On the other hand, pressure is kept semi-isotropically constant at 1 bar, by the Parrinello – Rahman barostat. The equations of motion are solved numerically by making use of leap frog algorithm. The thermodynamic properties of the system are computed by performing umbrella sampling simulations from which the potential of mean force is calculated.

Based on the above, mass density profiles of the system are computed along the Z axis, which is perpendicular to the two leaflets of the lipid bilayer. Apart from that, in this thesis, the interactions between diphenhydramine and the DPPC lipid bilayer are investigated. To this end, hydrogen bonds, the bilayer thickness, the area per lipid and order parameters are computed. Furthermore, the preferable positions of diphenhydramine, along the Z axis, are found both by the potential of mean force and by the mass density profiles. Moreover, the difference in Gibbs energy of diphenhydramine between the lipid and aqueous phases is calculated.



# 1. Θεωρητικό Μέρος

## 1.1 Διφαινυδραμίνη

### 1.1.1 Δομή και χαρακτηριστικά

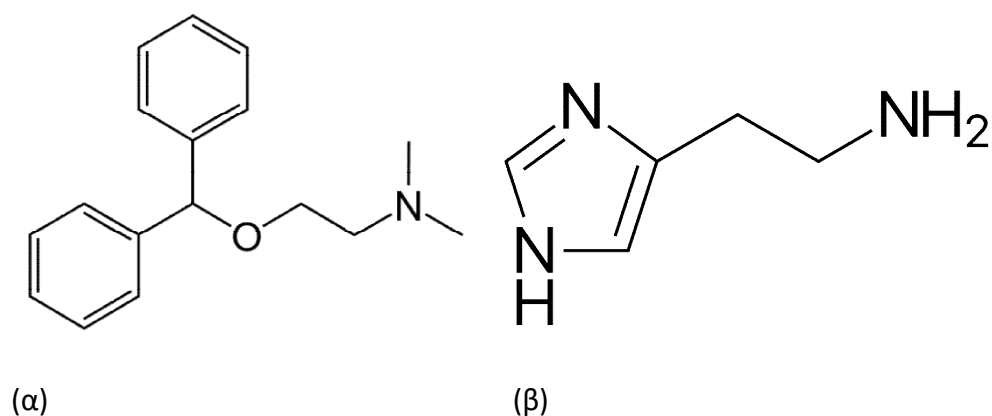
Η διφαινυδραμίνη ( $C_{17}H_{21}NO$ ) είναι ένα ευρέως χορηγήσιμο αντισταμινικό φάρμακο 1<sup>ης</sup> γενιάς, το οποίο μεταβολίζεται στο ήπαρ και δρα ως ανταγωνιστής στον H1 υποδοχέα. Η λειτουργία τόσο της διφαινυδραμίνης όσο και γενικότερα των αντισταμινικών 1<sup>ης</sup> γενιάς βασίζεται στην ομοιότητα των χημικών δομών τους με την χημική δομή της ισταμίνης. Έτσι η διφαινυδραμίνη αλληλεπιδρά με τον H1 υποδοχέα, καθιστώντας τον ανενεργό. Εμβαθύνοντας στην χημεία των αντισταμινικών 1<sup>ης</sup> γενιάς, η δομή τους περιέχει δύο αρωματικούς δακτυλίους και μία αιθυλική αλυσίδα που συνδέονται μεταξύ τους με ένα άτομο οξυγόνου, αζώτου ή άνθρακα. Η αιθυλική αλυσίδα καταλήγει σε ένα άτομο αζώτου που την συνδέει με άλλες δύο υδρογονανθρακικές αλυσίδες [1].

Κοινό χαρακτηριστικό των αντισταμινικών 1<sup>ης</sup> γενιάς είναι οι επιδράσεις τους στο κεντρικό νευρικό σύστημα [2]. Παρατηρώντας τη δομή της διφαινυδραμίνης, αυτή περιέχει δύο βενζολικούς δακτυλίους, ενώ λείπουν πολικές ομάδες, πέρα του οξυγόνου. Έτσι, όπως και τα περισσότερα αντισταμινικά 1<sup>ης</sup> γενιάς, η διφαινυδραμίνη είναι αρκετά λιπόφιλη. Πιο συγκεκριμένα, στον βενζολικό δακτύλιο, τα ηλεκτρόνια βρίσκονται σε κατάσταση συντονισμού όπου 6 π ηλεκτρόνια κατανέμονται εξίσου στους έξι άνθρακες του δακτυλίου και το ηλεκτρικό φορτίο κατανέμεται ομοιόμορφα. Αυτό τον καθιστά μη πολικό [3]. Αντίθετα, το νερό είναι ισχυρά πολικό μόριο, καθώς και τα δύο υδρογόνα σχηματίζουν ομοιοπολικούς δεσμούς με το οξυγόνο από την ίδια πλευρά, οπότε τα υπόλοιπα ηλεκτρόνια σθένους βρίσκονται στην άλλη πλευρά, σχηματίζοντας τον αρνητικό πόλο. Επιπλέον επειδή το οξυγόνο είναι πιο ηλεκτραρνητικό, τραβάει προς το μέρος το τα κοινά ηλεκτρόνια των ομοιοπολικών δεσμών, καθιστώντας τους πυρήνες των υδρογόνων τους θετικούς πόλους [4].

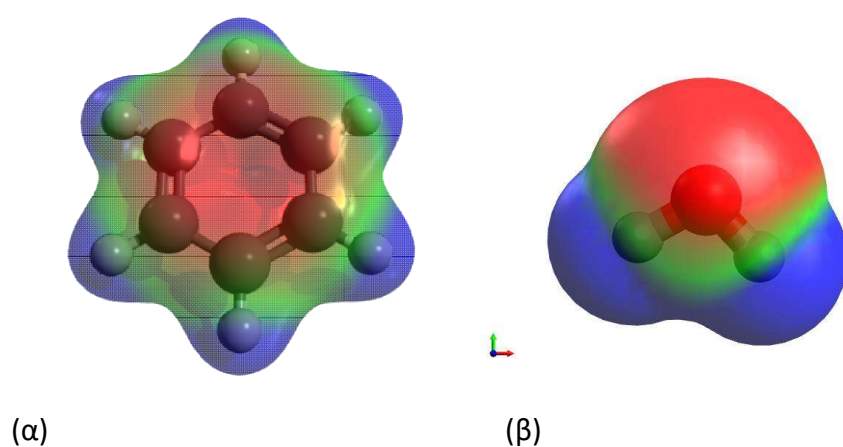
Μερικά σημαντικά πειραματικά αποτελέσματα για την διφαινυδραμίνη είναι τα παρακάτω [5]:

- Διαλυτότητα στο νερό στους 37 °C: 3060 mg/L.
- pKa στους 25 °C: 8.98
- Συντελεστής κατανομής οκτανόλης-νερού logP [6]: 3.27

Ανατρέχοντας στην δομή της διφαινουδραμίνης, διαπιστώνεται πως δεν υπάρχει κάποιος δότης  $H^+$ . Αντίθετα, τα N και O μπορούν να λειτουργήσουν σαν δέκτες  $H^+$ , συνεπώς η βασική τιμή για το pH είναι αναμενόμενη. Εξίσου αναμενόμενη είναι και η τιμή  $\log P$ , η οποία για τιμές μεγαλύτερες του 3 δείχνει λιπόφιλη τάση. Οι παραπάνω πληροφορίες συνηγορούν και σε άλλες φαρμακολογικές ιδιότητες. Πιο συγκεκριμένα, τα σκευάσματα για διά του στόματος χρήση δεν χρειάζονται προστατευτική κάψουλα, καθώς η διφαινουδραμίνη δεν αντιδρά με τα γαστρικά υγρά. Η απορρόφηση είναι επίσης αρκετά γρήγορη, γύρω στην μία ώρα. Επιπλέον, η λιπόφιλη φύση της διφαινουδραμίνης καθιστά δυνατή την απορρόφηση δια του δέρματος και την παρασκευή φαρμακευτικών κρεμών για την αντιμετώπιση οιδημάτων, καθώς σε αυτές κύριο συστατικό είναι υδρόφοβες ουσίες όπως η γλυκερίνη [5].



Εικόνα 1: Τα μόρια (α) της διφαινουδραμίνης (β) της ισταμίνης



Εικόνα 2: Ηλεκτρονιακή πυκνότητα (α) του βενζολίου (β) του νερού

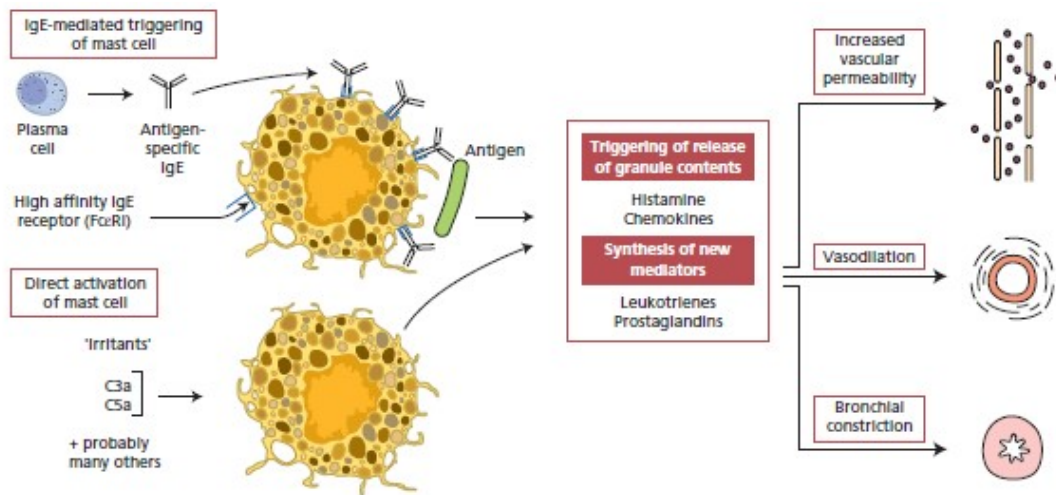
### 1.1.2 Εισαγωγή στο μηχανισμό της αλλεργίας

Ως αλλεργία αναφέρεται η κατάσταση κατά την οποία το ανοσοποιητικό σύστημα ενεργοποιεί τους αμυντικούς του μηχανισμούς, έναντι ενός εισερχόμενου παθογόνου, το οποίο δεν εισήλθε στο σώμα με σκοπό να το βλάψει. Αυτά τα παθογόνα ονομάζονται αλλεργιογόνα και μπορεί να είναι η γύρη, το τρίχωμα των ζώων, φρούτα, ξηροί καρποί, φάρμακα, κτλ. Η διαδικασία ξεκινά με την αναγνώριση των αλλεργιογόνων από τα IgE αντισώματα, πυροδοτώντας την απελευθέρωση ισταμίνης από τα μαστοκύτταρα του δέρματος και από τα βασεόφιλα και τα ηωσινόφιλα κύτταρα του αίματος [7].

Η ισταμίνη είναι μία χημική ουσία που παράγεται από το αμινοξύ ιστιδίνη και επιτελεί διάφορες λειτουργίες για την διατήρηση της ομοιόστασης, ενώ δρα και ως νευροδιαβιβαστής. Κατά την διάρκεια ενός αλλεργικού φαινομένου, η ποσότητα ισταμίνης στο σώμα είναι πολύ περισσότερη από την ιδανική, οπότε εμφανίζονται τα γνωστά συμπτώματα της αλλεργίας. Αυτά προκαλούνται με την αλληλεπίδραση της ισταμίνης με τους αντίστοιχους υποδοχείς που υπάρχουν σε κύτταρα.

Εστιάζοντας περισσότερο στον H1 υποδοχέα, πρόκειται για μία πρωτεΐνη η οποία ενεργοποιείται από την ισταμίνη. Οι H1 υποδοχείς είναι G πρωτεΐνες και βρίσκονται στις μεμβράνες των κυττάρων στους λείους μύες των βρόγχων και του εντέρου, στα αγγεία, στο δέρμα και στον εγκέφαλο [2]. Υπό κανονικές συνθήκες, δηλαδή όταν η ισταμίνη είναι σε φυσιολογικά επίπεδα, η πλειοψηφία των υποδοχέων βρίσκονται σε ανενεργή κατάσταση. Όταν οι υποδοχείς ενεργοποιηθούν απ' την ισταμίνη, προκαλούνται τα χαρακτηριστικά συμπτώματα της αλλεργίας, όπως βρογχοσυστολή (κάτι που έχει ως συνέπεια το αλλεργικό άσθμα), αγγειοδιαστολή όπου τα αγγεία γίνονται πιο διαπερατά και προκαλείται οίδημα, καταρροή και φαγούρα.

Η αδρανοποίηση του H1 υποδοχέα από την διφαινυδραμίνη, οδηγεί στην ανακούφιση των ασθενών από τα παραπάνω συμπτώματα. Μάλιστα, η διφαινυδραμίνη χορηγείται πέρα της καταπολέμησης της αλλεργίας και σε σκευάσματα για το κρύωμα. Φυσικά, η διφαινυδραμίνη δεν αντιμετωπίζει κανένα βακτήριο ή ιό, παρά μόνο τα συμπτώματα.



Εικόνα 3: Ο μηχανισμός της αλλεργίας [8]

### 1.1.3 Διφαινυδραμίνη και Κεντρικό Νευρικό Σύστημα

Για να φτάσει μία ουσία που βρίσκεται στο αίμα εντός του εγκεφάλου, θα πρέπει να περάσει από τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός είναι ένα σύνολο από ενδοθηλιακά κύτταρα στενά συνδεδεμένα μεταξύ τους, που βρίσκεται στα αγγεία που συνδέονται με τον εγκέφαλο, το οποίο φιλτράρει το αίμα που κινείται προς τον εγκέφαλο, έτσι ώστε να μην περνούν δυνητικά επικίνδυνες ουσίες. Για αυτόν τον λόγο, ούτε οι νευροδιαβιβαστές που χρησιμοποιεί ο εγκέφαλος μπορούν να διαπεράσουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό. Έτσι, στην περίπτωση που χρειάζεται να αυξηθεί η συγκέντρωση ενός νευροδιαβιβαστή στον εγκέφαλο για την αντιμετώπιση κάποιου ιατρικού προβλήματος, αυτός πρέπει να δοθεί σε μια πρόδρομη μορφή [9]. Μια γενική παρατήρηση είναι πως τα αντιισταμινικά 1<sup>ης</sup> γενιάς είναι πιο λιπόφιλα και επηρεάζουν περισσότερο το Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ) σε σχέση με τα φάρμακα 2<sup>ης</sup> γενιάς τα οποία σχεδιάστηκαν έτσι ώστε να είναι πιο υδρόφιλα για να μην διαπερνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, κάτι που σημαίνει λιγότερες παρενέργειες [10].

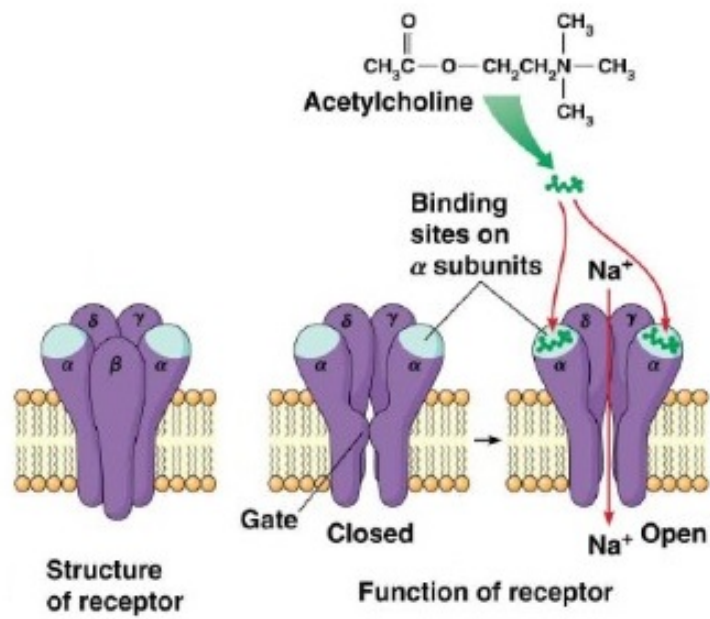
Ισταμίνη και υποδοχείς H1 και H3 υπάρχουν και στον εγκέφαλο. Η ισταμίνη δρα ως νευροδιαβιβαστής εντός του εγκεφάλου, με καίριο ρόλο στην λειτουργία του ύπνου. Πιο συγκεκριμένα, η αλληλεπίδραση της ισταμίνης με τον H1 υποδοχέα συμβάλλει στην κατάσταση της αφύπνισης. Το μπλοκάρισμα των H1 υποδοχέων από τα αντιισταμινικά που περνούν στον εγκέφαλο, παρεμποδίζει αυτή την λειτουργία και οδηγεί στην υπνηλία. [11]

Ένας άλλος νευροδιαβιβαστής που επηρεάζεται από την παρουσία της διφαινυδραμίνης, είναι η ακετυλοχολίνη. Η ακετυλοχολίνη παίζει σημαντικό ρόλο σε όλες τις εκφάνσεις του ΚΝΣ. Αυτές που επηρεάζονται από την παρουσία διφαινυδραμίνης είναι του αυτόνομου νευρικού συστήματος, δηλαδή αυτού που σχετίζεται με τις ακούσιες κινήσεις των μυών. Πιο συγκεκριμένη η ακετυλοχολίνη δρα διεγερτικά για να πραγματοποιούνται αυτές οι κινήσεις. Η διφαινυδραμίνη, όμως, έχει αντιχολινεργική δράση, δηλαδή δρα ανταγωνιστικά στους υποδοχείς της ακετυλοχολίνης. Αυτό σημαίνει πως επηρεάζονται και οι αντίστοιχες κινήσεις των μυών. Έτσι, μια χαρακτηριστική παρενέργεια της διφαινυδραμίνης είναι η ξηροστομία και η ξηρασία σε πνεύμονες και βλεννογόνους (αυτό μπορεί να είναι θετικό σε περιόδους αλλεργίας όπου παράγονται μεγάλες ποσότητες βλέννας) [12].

Μια άλλη χρήση της διφαινυδραμίνης και των αντισταμινικών 1<sup>ης</sup> γενιάς είναι για την καταπολέμηση της ναυτίας. Για την καταπολέμηση αυτού του φαινομένου απαιτείται το μπλοκάρισμα τόσο των υποδοχέων της ακετυλοχολίνης, όσο και της ισταμίνης στον εγκέφαλο [13]. Σημαντικό να αναφερθεί πως τα αντισταμινικά 2<sup>ης</sup> γενιάς αποτυγχάνουν να καταπολεμήσουν την ναυτία καθώς αφενός δεν περνούσε σε μεγάλο βαθμό τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, αφετέρου δεν αλληλεπιδρούν με τους υποδοχείς ακετυλοχολίνης [14].

Επιπροσθέτως, η διφαινυδραμίνη χρησιμοποιείται συνδυαστικά με το κυρίως φάρμακο levodopa [15] για την καταπολέμηση του Parkinson. Η ασθένεια αυτή έχει να κάνει με τα μειωμένα επίπεδα ντοπαμίνης και τα αυξημένα επίπεδα ακετυλοχολίνης. Το θεραπευτικό σχήμα περιλαμβάνει την levodopa που δρα κυρίως στον ντοπαμινικούς υποδοχείς, αλλά αυτό δεν λύνει πλήρως το πρόβλημα των ασθενών, γι' αυτό δίνεται συνδυαστικά διφαινυδραμίνη η οποία δρα στους υποδοχείς ακετυλοχολίνης [16].

Συνοψίζοντας, η διφαινυδραμίνη επηρεάζει σε πολύ μεγάλο βαθμό το ΚΝΣ. Η επίδρασή της πέρα από τα παραπάνω είναι σημαντική και σε άλλους υποδοχείς όπως αυτοί της σεροτονίνης και της νορεπριφίνης. Αυτό έχει και συνέπεια να επηρεάζεται σημαντικά η διάθεση και η διαύγεια του ασθενή [17]. Επίσης λαμβάνουν χώρα έρευνες για τις συνέπειες της μακροχρόνιας λήψης, που τα τελευταία χρόνια είναι σε υψηλά επίπεδα [18].

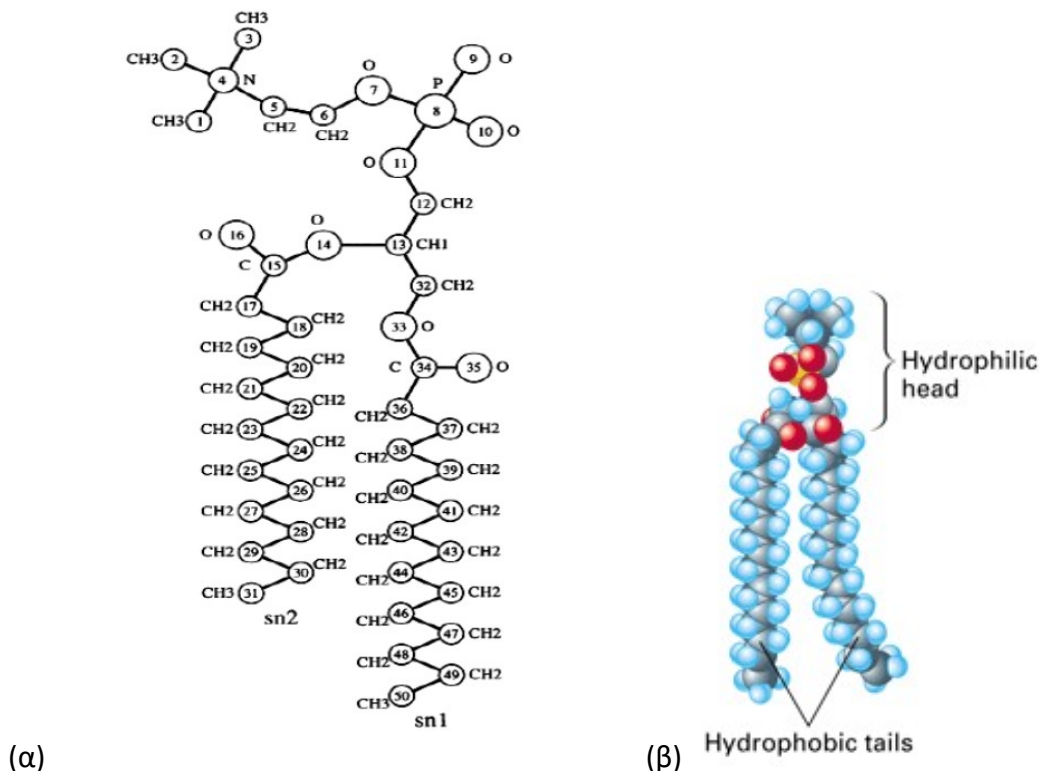


Εικόνα 4: Απεικόνιση υποδοχέα ακετυλοχολίνης (μεμβρανική πρωτεΐνη). Ο υποδοχέας βρίσκεται σε ανενεργή κατάσταση, μέχρι να προσδεθεί σε αυτόν ένα μόριο ακετυλοχολίνης και να επιτρέψει την ροή ιόντων [19]. Η πρόσδεση διφαινυδραμίνης στον υποδοχέα τον καθιστά ανενεργό.

## 1.2 Λιπιδική Διπλοστιβάδα DPPC

### 1.2.1 Χημεία του μορίου

Η διπαλμιτούλοφωσφατιδυλοχολίνη ( $C_{40}H_{80}NO_8P$ ) (DPPC) είναι ένα φωσφολιπίδιο μεγάλης βιολογικής σημασίας. Η κεφαλή του μορίου αποτελείται από μία ομάδα χολίνης και μία ομάδα φωσφορικού οξέος. Ακολουθεί μία ομάδα γλυκερόλης, η οποία συνδέεται με δύο αλυσίδες παλμιτικού οξέος. Οι ομάδες της χολίνης και του φωσφορικού οξέος είναι αρκετά πολικές, λόγω του ιοντικού τους χαρακτήρα, ενώ είναι γνωστό πως τα οξέα είναι υδρόφιλα και ευδιάλυτα στο νερό. Από την άλλη μεριά, πέρα από την καρβοξυλιομάδα που είναι ενωμένη με την γλυκερόλη, το παλμιτικό οξύ αποτελείται από μία αλυσίδα 15 μεθυλενίων. Μία τόσο μεγάλη υδρογονανθρακική αλυσίδα είναι σαφώς υδρόφοβη. Έτσι το μόριο DPPC είναι αμφιφιλικό με υδρόφιλη κεφαλή και δύο υδρόφοβες ουρές. [3] Οι δύο υδρογονανθρακικές αλυσίδες του μορίου ονομάζονται sn1 και sn2 και παρουσιάζουν διαφορές.

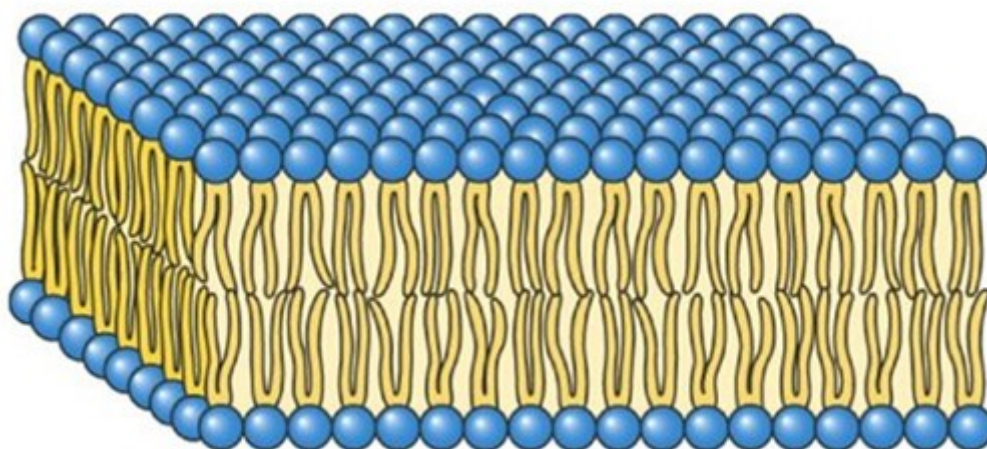


Εικόνα 5: (α) Συντακτικός τύπος του μορίου DPPC

(β) Τυπική μορφή αμφιφιλικού λιπιδίου

### 1.2.2 Φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των λιπιδικιών διπλοστιβάδων

Τα αμφιφιλικά λιπίδια, όπως τα φωσfolιπίδια, όταν βρίσκονται σε έναν πολικό διαλύτη, όπως το νερό, σχηματίζουν όσο το δυνατό ευνοϊκότερες ενεργειακά δομές. Πιο συγκεκριμένα, οι υδρόφιλες κεφαλές προσελκύονται από το νερό, ενώ οι υδρόφοβες αλυσίδες προσπαθούν να πλησιάσουν άλλες υδρόφοβες αλυσίδες. Έτσι σχηματίζεται μία στιβάδα από προσανατολισμένα λιπίδια. Μάλιστα τα άκρα των υδρόφοβων αλυσίδων για να αποφύγουν το νερό, πλησιάζουν άκρα άλλων αλυσίδων, δημιουργώντας μια διπλοστιβάδα. Αυτή η διπλοστιβάδα είναι και ενεργειακά πιο ευνοϊκή καθώς μειώνεται η ελεύθερη ενέργεια Gibbs [20]. Ο μηχανισμός του αυθόρμητου σχηματισμού της διπλοστιβάδας που βασίζεται σε ηλεκτροστατικές και υδροφοβικές δυνάμεις και δεσμούς van der Waals και υδρογόνου, ονομάζεται αυτοσυγκρότηση και παρατηρείται και σε άλλες οργανικές δομές, όπως οι πρωτεΐνες [21].



Εικόνα 6: Τυπική μορφή μιας λιπιδικής διπλοστιβάδας στον χώρο

Για να σχηματίσουν τα διαλυμένα στο νερό μόρια ενός λιπιδίου συσσωματώματα, τα οποία είναι γνωστά ως μικκύλια, απαιτούνται συγκεκριμένες συνθήκες. Θα πρέπει η συγκέντρωση του λιπιδίου στο διάλυμα να είναι μεγαλύτερη από την κρίσιμη συγκέντρωση μικκυλίου (CMC), καθώς σε μικρότερη συγκέντρωση



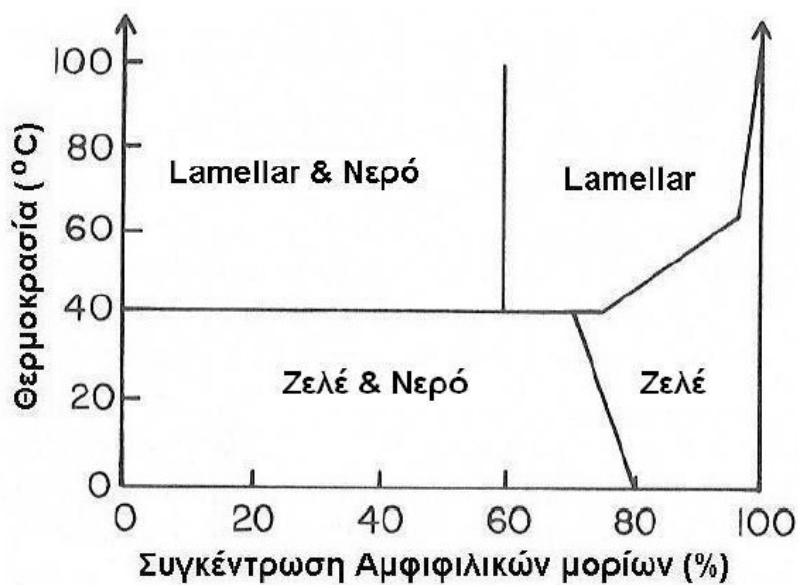
παρατηρείται πειραματικά πως δεν σχηματίζονται δομές. Η CMC είναι διαφορετική για κάθε ουσία και προσδιορίζεται πειραματικά [22]. Η δεύτερη προϋπόθεση είναι, η θερμοκρασία του διαλύματος να είναι μεγαλύτερη από την θερμοκρασία Krafft, καθώς στα πειράματα παρατηρείται πως δεν σχηματίζονται μικκύλια κάτω από αυτή [23]. Το σχήμα που θα έχουν στον χώρο τα μικκύλια από τα λιπίδια που είναι διαλυμένα στο νερό εξαρτάται από τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά του μορίου, φαινόμενο γνωστό ως πολυμορφισμός. Πιο συγκεκριμένα, ορίζεται η επιφανειοδραστική παράμετρος, η οποία ισούται με το πηλίκο του όγκου της υδρόφοβης ουράς προς το εμβαδόν της υδρόφιλης κεφαλής επί το μήκος της ουράς. Για τιμές μικρότερες του 0.33, η διαμόρφωση στον χώρο είναι σφαιρική, ενώ για τιμές μεταξύ 0.33 και 0.5 είναι κυλινδρική [20]. Τα φωσφολιπίδια όπως το DPPC έχουν αρκετά μεγάλη σε όγκο ουρά και η τιμή της παραμέτρου είναι 1, για την οποία σχηματίζεται η επίπεδη διπλοστιβάδα. Τέλος, για τιμές μεταξύ του 0.5 και του 1, σχηματίζεται κυστίδιο. Σε αυτά σχηματίζεται μία σφαιρική δομή, που περικλείεται από μια διπλοστιβάδα και περιέχει νερό στο εσωτερικό της, ενώ η εξωτερική της επιφάνεια είναι επίσης εκτεθειμένη στο νερό. Μία δομή παρόμοια με αυτήν του σφαιρικού μικκυλίου σχηματίζεται όταν τα λιπίδια βρεθούν σε έναν μη πολικό διαλύτη, όπου στο κέντρο των σφαιρικών συσσωματωμάτων βρίσκονται οι υδρόφιλες κεφαλές και στην διεπιφάνεια οι υδρόφοβες ουρές. Αυτές οι δομές καλούνται αντίστροφα μικκύλια [20].

Τα σφαιρικά λιποσώματα, δηλαδή κυστίδια των λιπιδίων, σχηματίζονται χάρις σε μια ενεργειακά ευνοϊκή καμπύλωση των διπλοστιβάδων, έτσι ώστε να δημιουργηθεί μια σφαιρική δομή στην οποία καμία υδρόφοβη ουρά δεν έρχεται σε επαφή με το νερό. Τέτοιες δομές υπάρχουν τόσο σε κυτταρικό επίπεδο, όσο και σε μεγαλύτερες βιολογικές δομές .

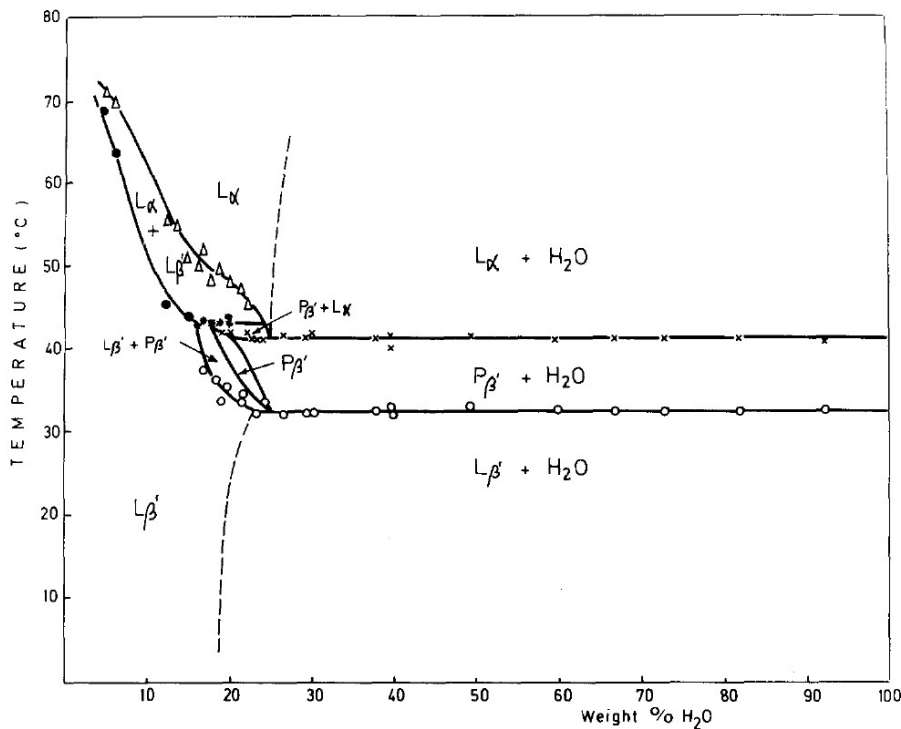
Παρατηρώντας τα χαρακτηριστικά της λιπιδικής διπλοστιβάδας, το ερώτημα που τίθεται είναι αν αυτή βρίσκεται σε στερεή ή σε υγρή φάση. Πιο συγκεκριμένα, η αλλαγή των φάσεων κατά την αύξηση της θερμοκρασίας, δεν είναι η συνηθισμένη αλλαγή από στερεό σε υγρό, αλλά παρατηρείται μια μεσοφάση που συνδυάζει ιδιότητες στερεού και υγρού. Οι ουσίες που παρουσιάζουν αυτό το φαινόμενο ονομάζονται υγροί κρύσταλλοι. Στην υγροκρυσταλλική φάση τα μόρια της διαλυμένης ουσίας τείνουν να προσανατολιστούν προς μια διεύθυνση, αλλά όχι με την αυστηρότητα που αυτό συμβαίνει στα στερεά. Επίσης, υπάρχει ανισοτροπία και σε άλλα μεγέθη όπως η ηλεκτρική αγωγιμότητα και ο δείκτης διάθλασης [24].

Οι φάσεις που θα σχηματίσουν τα διαλύματα φωσφολιπιδίου και νερού εξαρτώνται από την θερμοκρασία. Αυτό οφείλεται στο γεγονός πως η κρίσιμη συγκέντρωση μικκυλίου είναι εξαιρετικά μικρή (για το DPPC της τάξης  $10^{-6}$  M) . Σε χαμηλή θερμοκρασία είναι η φάση πήγματος (gel, ζελέ, γέλης). Σε αυτήν τη φάση, λόγω της χαμηλής θερμοκρασίας, οι υδρόφοβες ουρές μένουν ακίνητες. Σε μεγαλύτερες

Θερμοκρασίες γίνεται η μετάβαση στην φυλλιδική φάση (lamellar), όπου εν προκειμένω το σύστημα βρίσκεται σε υγροκρυσταλλική κατάσταση. Σε αυτήν τη φάση τα μόρια είναι πιο ευκίνητα και επιτρέπονται και οι περιστροφικές κινήσεις [25].



Διάγραμμα 1: Διάγραμμα Φάσης ενός τυπικού φωσφολιπιδίου. Για το εύρος μικρών συγκεντρώσεων σε σχέση με το νερό που μελετάται στην παρούσα εργασία, σύμφωνα με το διάγραμμα, η αλλαγή φάσης παρατηρείται γύρω στους 40 °C [24].



Διάγραμμα 2: Διάγραμμα Φάσης του συστήματος DPPC νερού. Η αλλαγή φάσης παρατηρείται λίγο πιο πάνω από τους 40 °C, και στους 50 °C το σύστημα βρίσκεται σε υγροκρυσταλλική φάση L<sub>α</sub> [26].

Το σύστημα που θα μελετηθεί σε αυτή την εργασία είναι στους 50 °C άρα θα βρίσκεται σε υγροκρυσταλλική lamellar φάση. Επίσης υπάρχει και περίσσεια νερού, οπότε οι διπλοστιβάδες καλούνται πλήρως ενυδατωμένες. Αυτό σημαίνει πως τα μόρια της διπλοστιβάδας έχουν υψηλή κινητικότητα, χωρίς όμως να καταστρέφεται η δομή. Με αυτόν τον τρόπο γίνεται και πλάγια μετακίνηση των μορίων της διπλοστιβάδας, ενώ σπάνια παρατηρείται και η κάθετη μεταπήδηση ενός λιπιδίου από την μία μονοστιβάδα στην άλλη. Η ευκινησία των μορίων των διπλοστιβάδων τους δίνει και την δυνατότητα να κινούνται στο χώρο, σαν ένα παχύρευστο ρευστό, και γι' αυτό το λόγο εμφανίζουν και το φαινόμενο του ιξώδους [27].

Επιπλέον, σε αυτή την φάση, μπορούν να υπάρξουν φαινόμενα διάχυσης εντός της διπλοστιβάδας [28]. Με βάση την πολική φύση του νερού και την υδρόφοβη φύση της διπλοστιβάδας, είναι πιο εύκολο να γίνει διάχυση μιας λιπόφιλης ουσίας, καθώς και αυτή θα έχει την τάση να απωθηθεί από την υδατική φάση [20]. Αυτό σημαίνει πως η διφαινυδραμίνη που είναι μια υδρόφοβη ένωση θα έχει την τάση να διαχυθεί εντός μιας λιπιδικής διπλοστιβάδας.

Αυτή, όμως, η διάχυση ενδέχεται να επηρεάσει την δομή της διπλοστιβάδας, αφού τα λιπίδια είναι ευκίνητα στην υγροκρυσταλλική φάση. Ειδικότερα, παρατηρούνται αλλαγές στο πάχος της διπλοστιβάδας, στην επιφάνεια ανά λιπίδιο και στις παραμέτρους τάξης των υδρογονανθρακικών αλυσίδων, ένα μέγεθος που δείχνει

κατά πόσο υπάρχει προσανατολισμός στον χώρο, όπως σε ένα στερεό [15] [29]. Παρόμοια, η δομή της διπλοστιβάδας είναι τέτοια που μπορεί να λειτουργήσει και σαν ημιπερατή μεμβράνη, στην οποία εμφανίζονται φαινόμενα ώσμωσης [20].

### 1.2.3 Βιολογική σημασία των λιπιδικών διπλοστιβαδων

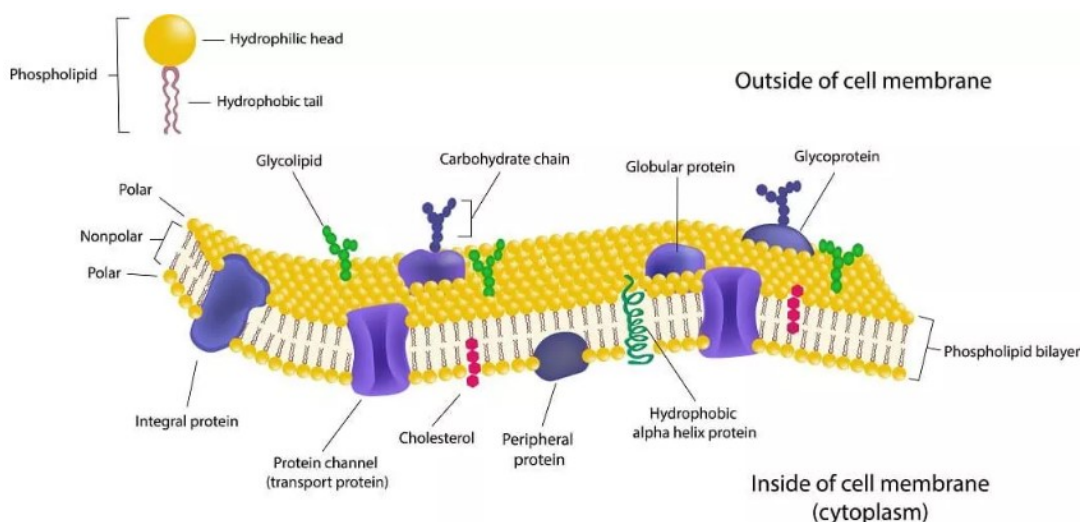
Η σημαντικότερη λιπιδική διπλοστιβάδα που απαντάται στην φύση είναι η κυτταρική μεμβράνη. Αυτή είναι δομή που διαχωρίζει το κύτταρο από το περιβάλλον, αλλά συντελεί και στην μεταφορά ουσιών. Δεδομένου ότι το εσωτερικό περιβάλλον του κυττάρου είναι ένα υδατικό διάλυμα όπου υπάρχουν τα διάφορα οργανίδια και το εξωτερικό περιβάλλον είναι επίσης υδατικό, το σύστημα μπορεί να χαρακτηριστεί υδροκρυσταλλικό. Η υδροκρυσταλλική δομή της κυτταρικής μεμβράνης είναι αυτή που εξασφαλίζει την απαραίτητη κινητικότητα που απαιτείται από τις θεμελιώδεις μονάδες της ζωής, εξ ου και η ονομασία «ρευστό μωσαϊκό» [30].

Το πιο κοινό φωσφολιπίδιο της κυτταρικής μεμβράνης είναι το γλυκεροφωσφολιπίδιο φωσφατιδυλοχολίνη, με χαρακτηριστικό εκπρόσωπο το DPPC, ενώ στον σχηματισμό της λιπιδικής διπλοστιβάδας συμμετέχουν και άλλα λιπίδια όπως η φωσφατιδυλοσερίνη και το γαλακτοκερεβροζίδιο. Εκτός από τα φωσφολιπίδια, στην κυτταρική μεμβράνη υπάρχουν και άλλες ενώσεις, όπως η χοληστερόλη και διάφορες πρωτεΐνες. Αυτές οι πρωτεΐνες εκτελούν διάφορες λειτουργίες και δρουν για παράδειγμα ως μεταφορείς, διάλυτοι ή υποδοχείς. Οι ενώσεις αυτές μπορούν είτε να βρίσκονται στην επιφάνεια της, είτε να την διαπερνούν διαμπερώς. Λόγω της υδροκρυσταλλικής δομής, μπορούν και αυτά τα μόρια να μετακινούνται πλαγίως εντός της μεμβράνης. Από την άλλη πλευρά η χοληστερόλη δίνει μία επιπλέον ρευστότητα στην μεμβράνη σε χαμηλές θερμοκρασίες [31]. Ένας άλλος παράγοντας που καθορίζει την ρευστότητα της μεμβράνης είναι οι δεσμοί της υδρογονανθρακικής αλυσίδας των φωσφολιπιδίων. Πιο συγκεκριμένα, όσο πιο πολλούς διπλούς δεσμούς έχει η αλυσίδα, τόσο πιο ρευστή είναι η μεμβράνη [30]. Έτσι, μια μεμβράνη από παλμιτοϋλο-ελαιοϋλο-φωσφατιδυλοχολίνη είναι πιο ρευστή από μια μεμβράνη από DPPC, καθώς η πρώτη έχει έναν διπλό δεσμό, ενώ το DPPC είναι πλήρως κορεσμένο.

Η κυτταρική μεμβράνη είναι αυτή που θα αλληλεπιδράσει με τις ουσίες που θα προσπαθήσουν να εισέλθουν ή να εξέλθουν από το κύτταρο. Οπότε η λιπιδική φύση της διπλοστιβάδας είναι αυτή που θα καθορίσει πόσο εύκολα ή δύσκολα θα συμβεί αυτό. Ο κύριος τρόπος μεταφοράς ουσιών εκατέρωθεν είναι η παθητική μεταφορά διαμέσου της μεμβράνης και βασίζεται στους μηχανισμούς της διάχυσης και της

ώσμωσης. Το φαινόμενο της διάχυσης είναι ιδιαίτερα σημαντικό, καθώς με αυτόν τον τρόπο το κύτταρο έχει την τάση να αποβάλλει τις ουσίες που βρίσκονται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση από την επιθυμητή και αντίστοιχα οι ουσίες που βρίσκονται σε μικρή συγκέντρωση εντός του κυττάρου έχουν την τάση να διαχυθούν εντός του. Η ώσμωση, από την άλλη, είναι πολύ σημαντική για να ώστε να επιτρέπεται στο νερό να περνά από την μία πλευρά της μεμβράνης στην άλλη, έτσι ώστε τόσο το νερό όσο και υδατοδιαλυτά ιόντα και ενώσεις να βρίσκονται πάντα στην ιδανική συγκέντρωση για το κύτταρο [30].

Πολλές φορές απαιτείται μια πιο πολύπλοκη διαδικασία για τη μεταφορά ουσιών, που πάλι επιτυγχάνεται με την ελαστικότητα της λιπιδικής διπλοστιβάδας. Πρόκειται για την ενδοκύττωση για την μεταφορά ουσιών εντός του κυττάρου και εξωκύττωση για την αποβολή ουσιών από το κύτταρο. Ειδικότερα, στην ενδοκύττωση η κυτταρική μεμβράνη πρέπει να δημιουργήσει μία εσοχή, η οποία θα καμπυλώνεται όλα και περισσότερο μέχρις ότου γίνει ένα κυστίδιο το οποίο θα αποκοπεί [32], ενώ αντιστρόφως στην εξωκύττωση οι αποβαλλόμενες ουσίες κλείνονται σε ένα κυστίδιο, του οποίου η μεμβράνη ενώνεται με την κυτταρική μεμβράνη και οι ουσίες απελευθερώνονται στον εξωκυτταρικό χώρο [33].



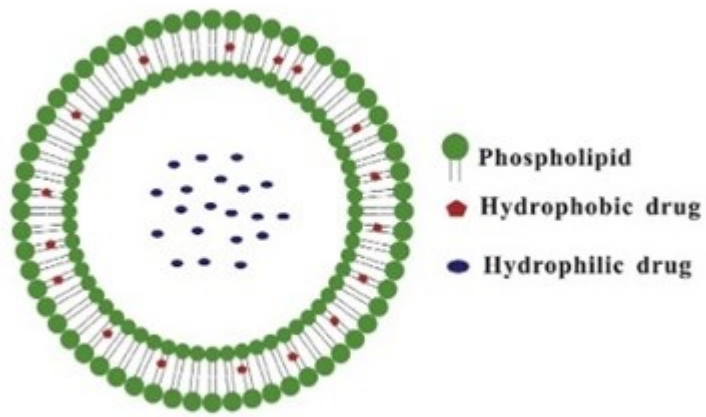
Εικόνα 7: Η κυτταρική μεμβράνη. Πέρα από την εύκαμπτη λιπιδική διπλοστιβάδα, συνυπάρχουν πληθώρα πρωτεϊνών, υδατανθράκων και χοληστερόλη.

Η δόμηση της κυτταρικής μεμβράνης γίνεται με τη δημιουργία νέων φωσφολιπιδίων από μεμβρανικά ένζυμα, τα οποία όταν φτιαχτούν οδηγούνται στη μεμβράνη. Επίσης η μετάβαση των φωσφολιπιδίων από τη μια μονοστιβάδα στην άλλη για την διατήρηση της ομοιομορφίας επιτελείται από ειδικά ένζυμα, ονομαζόμενα scramblases. Ενδιαφέρον παρουσιάζει και ο μηχανισμός άμεσης επιδιόρθωσης της διπλοστιβάδας σε περίπτωση που, είτε λόγω κάποιου παθογόνου είτε λόγω μηχανικής κόπωσης, δημιουργηθεί κάποιο κενό. Ο μηχανισμός της αντίδρασης περιλαμβάνει τη ροή κατιόντων ασβεστίου από το εξωτερικό του κυττάρου προς το εσωτερικό και την έναρξη εξωκύτωσης για την αποβολή τους [34].

Λιπιδικές διπλοστιβάδες υπάρχουν και σε άλλες δομές του κυττάρου, όπως το ενδοπλασματικό δίκτυο, το σύμπλεγμα Golgi και η πυρηνική μεμβράνη. Το ενδοπλασματικό δίκτυο είναι ο συνδετικός κρίκος του κυττάρου, μέσω του οποίου μεταφέρονται οι απαραίτητες ουσίες μέσα στο κύτταρο [35]. Το σύμπλεγμα Golgi είναι μια δομή από πολλές διπλοστιβάδες και ο ρόλος της είναι να προσδίδει στις παραγόμενες πρωτεΐνες την κατάλληλη διαμόρφωση στο χώρο. Τέλος η πυρηνική μεμβράνη, σε αντιστοιχία με την κυτταρική μεμβράνη, προστατεύει τον πυρήνα και επιτρέπει την είσοδο και έξοδο συγκεκριμένων ουσιών [30].

Τέτοιες μεμβράνες σχηματίζονται και σε μεγαλύτερες δομές. Χαρακτηριστική περίπτωση είναι ο επιφανειοδραστικός παράγοντας στους πνεύμονες, ο οποίος συντίθεται από πρωτεΐνες και DPPC και ρόλος του είναι η μείωση της επιφανειακής τάσης στους βρόγχους και η αύξηση του πνευμονικού όγκου. Αυτό επιτυγχάνεται με τον προσανατολισμό των υδρόφοβων ουρών προς τη κατεύθυνση που εισέρχεται ο αέρας. [36]

Όλες αυτές οι εφαρμογές συνηγορούν στην διενέργεια ερευνών σχετικά με τις νέες χρήσεις που μπορούν να προκύψουν για λιπίδια σαν το DPPC. Χαρακτηριστική είναι η έρευνα για χρήση λιποσωμάτων DPPC για στοχευμένη μεταφορά φαρμάκου (drug delivery). Τα φωσφολιπίδια όπως το DPPC είναι ιδανικοί υποψήφιοι, καθώς συνδυάζουν την βιοσυμβατότητα με τον ανθρώπινο οργανισμό και την δυνατότητα να σχηματίζουν κλειστές δομές, σφαιρικά λιποσώματα. Αυτά έχουν την δυνατότητα να μεταφέρουν τόσο τα πολικά φάρμακα, όσο και τα μη πολικά φάρμακα [37].



Εικόνα 8: Σφαιρικό λιπόσωμα για μεταφορά φαρμάκων [37].

## 2. Μοριακές προσομοιώσεις και μεθοδολογία υπολογισμών

### 2.1 Εισαγωγή

Η ανάπτυξη της τεχνολογίας τον 20<sup>ο</sup> αιώνα έδωσε ένα νέο εργαλείο στους επιστήμονες όλων των ειδικοτήτων, τον ηλεκτρονικό υπολογιστή. Με την ολοένα και μεγαλύτερη διαθέσιμη υπολογιστική ισχύ, αυτό το εργαλείο δίνει συνεχώς νέες δυνατότητες. Έτσι, η μελέτη της συμπεριφοράς των υλικών σε μικροσκοπικό και μακροσκοπικό επίπεδο, δεν επαφίεται μόνο στις θεωρητικές προβλέψεις και το πειραματικό σκέλος, αλλά υπάρχει και η δυνατότητα για υπολογιστικά πειράματα, τις μοριακές προσομοιώσεις. Παρομοίως, υπάρχουν και άλλα υπολογιστικά πειράματα για τις αντίστοιχες επιστήμες.

Παρόμοια με το κλασικό πείραμα, το υπολογιστικό πείραμα των μοριακών προσομοιώσεων ξεκινάει από κάποιες αρχικές συνθήκες και γίνεται παρατήρηση των αλλαγών που θα συμβούν στο σύστημα. Επιπλέον, αντίστοιχα με το κλασικό πείραμα, διαφορετικές συνθήκες στο σύστημα σε ένα υπολογιστικό πείραμα θα δώσουν και διαφορετικό αποτέλεσμα.

Στις μοριακές προσομοιώσεις, μελετάται η συμπεριφορά των μορίων και των ατόμων που τα αποτελούν. Η συμπεριφορά και η αλληλεπίδραση των μορίων δεν αφήνει τις μεγαλύτερες τάξεις μεγέθους ανηπερέαστες, αλλά αντίθετα έχει καίριες συνέπειες για τις ιδιότητες σε μακροσκοπικό επίπεδο. Αυτό είναι κάτι που παρατηρείται σε όλα τα συστήματα, από έναν υπεραγωγό σε εξαιρετικά χαμηλή θερμοκρασία μέχρι ένα μη νευτωνικό ρευστό. Έτσι, το μοριακό επίπεδο παίζει πολύ σημαντικό ρόλο και στις ιδιότητες του εξεταζόμενου συστήματος.

Στην μέθοδο της μοριακής δυναμικής, κεντρική ιδέα είναι η μελέτη της συμπεριφοράς των ατόμων στο χρόνο, μέσω της αριθμητικής επίλυσης των εξισώσεων του Νεύτωνα. Πιο συγκεκριμένα, δημιουργείται ένα απομονωμένο σύστημα από τα μόρια και τα άτομα που τα αποτελούν. Αυτά τα άτομα αλληλεπιδρούν μεταξύ τους, οπότε ασκούν δυνάμεις το ένα στο άλλο. Αυτές οι δυνάμεις είναι που θα καθορίσουν την ορμή, άρα και την μελλοντική τους θέση. Οι θέσεις και οι ορμές του στον χρόνο, αποτελούν την τροχιά του ατόμου και από τις τροχιές του συνόλου των ατόμων μπορούν να βρεθούν και οι ιδιότητες του συστήματος [38].



Οι τροχιές των μορίων αποτελούνται από τις συντεταγμένες  $\mathbf{r}$  και τις αντίστοιχες ορμές τους  $\mathbf{p}$ . Όμως, επειδή τα μόρια του συστήματος κινούνται και στις τρεις διαστάσεις, οι θέσεις και οι ορμές αποτελούνται από τις αντίστοιχες συνιστώσες τους.

$$\mathbf{r} \equiv (r_x, r_y, r_z) \quad (1)$$

$$\mathbf{p} \equiv (p_x, p_y, p_z) \quad (2)$$

Οι μέθοδοι μοριακής δυναμικής χωρίζονται σε δύο κύριες κατηγορίες, την κλασική και την *ab initio*. Η κλασική μοριακή δυναμική, η οποία χρησιμοποιείται σε αυτή την εργασία, διεξάγει τις προσομοιώσεις με τα ηλεκτρόνια των ατόμων να βρίσκονται στις θεμελιώδεις τους καταστάσεις, άρα υπάρχει απουσία κβαντικών φαινομένων. Η προσέγγιση *ab initio* είναι από την άλλη ιδιαίτερα χρήσιμη όταν πρέπει να ληφθούν υπόψη κβαντικά φαινόμενα, όπως ο σχηματισμός και η λύση ομοιοπολικών δεσμών [39]. Αυτό όμως αυξάνει ραγδαία το υπολογιστικό κόστος των προσομοιώσεων, καθιστώντας το πρόβλημα μη επιλύσιμο για μεγάλο αριθμό ατόμων. Έτσι οι *ab initio* προσομοιώσεις διεξάγονται με μικρό αριθμό μορίων, και ως συνέπεια οι υπολογισμοί πραγματοποιούνται με την παρουσία ελάχιστων ή καθόλου μορίων διαλύτη, κάτι που αποφέρει σφάλματα. Σε συστήματα όπου δεν χρειάζεται να ληφθούν υπόψη κβαντικά φαινόμενα, όπως το εξεταζόμενο, η κλασική μοριακή δυναμική είναι μία καλή επιλογή, καθώς μπορούν να γίνουν προσομοιώσεις μεγάλου αριθμού μορίων σε μεγαλύτερες χρονικές και χωρικές κλίμακες. Άλλος ένας παράγοντας που συνηγορεί σε αυτό είναι το θερμικό μήκος κύματος de Broglie  $\Lambda$ . Πιο συγκεκριμένα, η κλασική προσέγγιση γίνεται δεκτή όταν το  $\Lambda$  είναι αρκετά μικρότερο από τις διαστάσεις των σωματιδίων που μελετώνται [38].

$$\Lambda = \sqrt{\frac{h^2}{2\pi m k_B T}} \quad (3)$$

Η διφαινυδραμίνη έχει μοριακό βάρος 255 g/mol, οπότε το θερμικό της μήκος κύματος στους 323 K είναι  $6 \cdot 10^{-12}$  m, με την ακτίνα van der Waals ενός ατόμου άνθρακα να είναι  $1.7 \cdot 10^{-10}$  m, δηλαδή δύο τάξεις μεγέθους μεγαλύτερη.

Οι προσομοιώσεις διεξήχθησαν μέσω του υπολογιστικού προγράμματος GROMACS [40], στον ελληνικό υπερυπολογιστή ARIS [41]. Το GROMACS είναι ένα ελεύθερο λογισμικό, το οποίο διεξάγει προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής και διαθέτει πολλά υπολογιστικά εργαλεία για την ανάλυση των αποτελεσμάτων.

## 2.2 Έννοιες από την Κλασική Φυσική

Ο 2<sup>ος</sup> νόμος του Νεύτωνα συσχετίζει την δύναμη που δέχεται ένα σώμα με την μεταβολή της ταχύτητάς του και είναι γνωστός με τους εξής τύπους. Είναι σημαντικό να τονιστεί πως η δύναμη, η ορμή, και η θέση ενός σώματος είναι διανυσματικά μεγέθη, δηλαδή εκτός από μέτρο, έχουν και κατεύθυνση.

$$\mathbf{F} = \frac{d\mathbf{p}}{dt} = m \frac{d^2\mathbf{r}}{dt^2} \quad (4)$$

Η δύναμη που δέχεται ένα σώμα είναι το αποτέλεσμα της ύπαρξης ενός δυναμικού  $U$ . Ειδικότερα, η δύναμη είναι το αρνητικό της κλίσης του δυναμικού. Το δυναμικό είναι βαθμωτό μέγεθος, δηλαδή εξαρτάται μόνο από την αριθμητική του τιμή και ο διανυσματικός χαρακτήρας της δύναμης προκύπτει από την κλίση [42]. Επίσης, το δυναμικό είναι συνάρτηση μόνο της θέσης, δηλαδή δεν επηρεάζεται από τις άλλες ιδιότητες του σώματος, όπως η ορμή του. Για τα δυναμικά του εξεταζόμενου συστήματος θα γίνει αναφορά σε επόμενη ενότητα.

$$\mathbf{F} = - \frac{dU(\mathbf{r})}{d\mathbf{r}} \quad (5)$$

Εκτός από την δυναμική ενέργεια, υπάρχει και η κινητική ενέργεια του σώματος  $K$ , η οποία σε αντιδιαστολή με την δυναμική, εξαρτάται μόνο από την ορμή του σώματος.

$$K = \frac{1}{2} m \mathbf{u}^2 = \frac{\mathbf{p}^2}{2m} \quad (6)$$

Κατά την εξέλιξη της Φυσικής ανά του αιώνες έχουν προκύψει διάφοροι φορμαλισμοί για την ενέργεια. Κατά τον Lagrange, ορίζεται η Λαγκρανζιανή συνάρτηση  $L$ .

$$L = K(\mathbf{p}) - U(\mathbf{r}) \quad (7)$$

Με βάση αυτή την εξίσωση, η κίνηση ενός σώματος ικανοποιεί την παρακάτω εξίσωση που είναι αντίστοιχη αυτής του Νεύτωνα [42].

$$\frac{d}{dt} \left( \frac{\partial L}{\partial \mathbf{u}} \right) = \frac{\partial L}{\partial \mathbf{r}} \quad (8)$$

Χτίζοντας πάνω στην δουλειά του Lagrange, ο Hamilton εισήγαγε την συνάρτηση  $H$ , γνωστή ως Χαμιλτωνιανή, η οποία εκφράζει την ολική ενέργεια του συστήματος. Αυτή η συνάρτηση χρησιμοποιείται ευρέως και στην κβαντομηχανική, όπου

εμφανίζεται στην εξίσωση Schrödinger. Σε απομονωμένα συστήματα όπως το εξεταζόμενο, η ολική ενέργεια του συστήματος, άρα και η  $H$  παραμένει σταθερή [38].

$$H = K(\mathbf{p}) + U(\mathbf{r}) \quad (9)$$

Με βάση την παραπάνω εξίσωση, ορίζονται και οι εξισώσεις Hamilton για να εκφράσουν τον 2<sup>ο</sup> νόμο του Νεύτωνα και την σχέση ορμής και ταχύτητας, αντίστοιχα.

$$\frac{d\mathbf{p}}{dt} = -\frac{\partial H}{\partial \mathbf{r}} \quad (10)$$

$$\frac{d\mathbf{r}}{dt} = \frac{\partial H}{\partial \mathbf{p}} \quad (11)$$

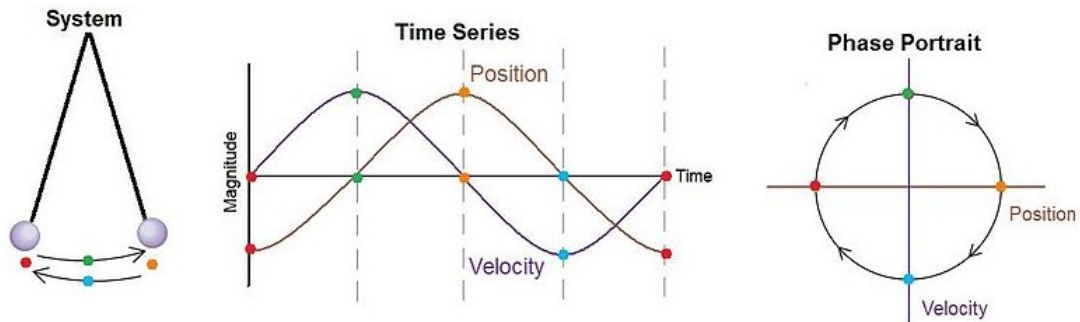
## 2.3 Έννοιες από την Στατιστική Μηχανική

Οι συντεταγμένες και οι ορμές ενός σωματιδίου, περιγράφουν την κατάσταση του σωματιδίου. Κατ' αντιστοιχία, σε ένα κλασσικό σύστημα με πολλά  $N$  σωματίδια, οι γενικευμένες συντεταγμένες και οι γενικευμένες ορμές τους, ορίζουν την μικροκατάσταση του συστήματος,  $6N$  παραμέτρων. Οι μικροκαταστάσεις του συστήματος, όμως, μεταβάλλονται κατά το χρόνο, αφού αλλάζει η θέση και η ορμή των σωματιδίων. Έτσι, η μικροκατάσταση ενός συστήματος, αποτυπώνεται σαν ένα σημείο στον χώρο φάσεων, έναν διανυσματικό χώρο  $6N$  διαστάσεων. Ο χώρος φάσεων αποτελεί μία διαφορίσιμη πολλαπλότητα, δηλαδή έναν τοπολογικό χώρο ο οποίος τοπικά προσεγγίζεται από τον ευκλείδειο χώρο. Η διαφορισιμότητα σημαίνει πως, γνωρίζοντας μία μικροκατάσταση του συστήματος μία χρονική στιγμή και τις αλληλεπιδράσεις, μπορούν να βρεθούν οι μικροκαταστάσεις στο εύρος του χρόνου.

Ο γεωμετρικός τόπος που σχηματίζουν στο χρόνο οι μικροκαταστάσεις εντός του χώρου φάσεων, είναι η τροχιά του συστήματος, δηλαδή οι συντεταγμένες και οι ορμές κάθε σωματιδίου στον χρόνο. Για τον χώρο φάσεων, αποδεικνύεται πως ισχύει και το θεώρημα Liouville, σύμφωνα με το οποίο η πυκνότητα των σημείων στον χώρο φάσεων διατηρείται σταθερή και ένας στοιχειώδης όγκος στον χώρο φάσεων συμπεριφέρεται σαν ασυμπίεστο ρευστό [43].

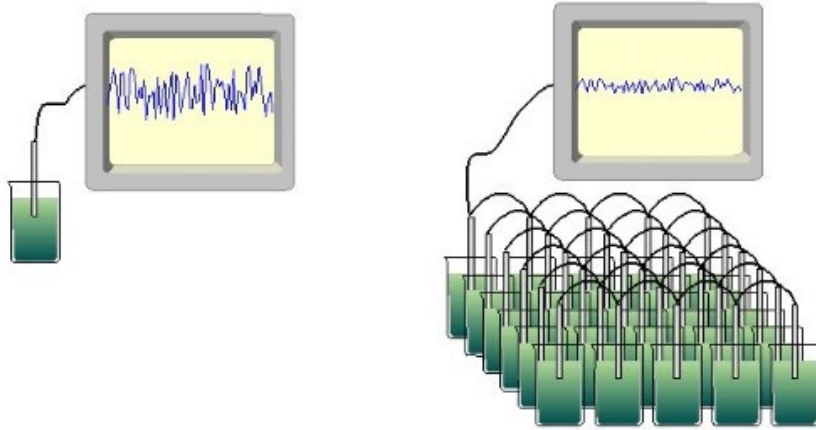
Στις προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής γίνεται επίκληση στην εργοδική υπόθεση, σύμφωνα με την οποία, ένα απομονωμένο σύστημα θα περάσει από όλες τις

δυνατές μικροκαταστάσεις που είναι συμβατές με τους μακροσκοπικούς περιορισμούς, αν του δοθεί αρκετός χρόνος. Αυτό απλοποιεί αρκετά το να εξαχθούν μέσες τιμές για τις μακροσκοπικές ιδιότητες του στατιστικού συνόλου [44].



Εικόνα 9: Η γραφική παράσταση του χώρου φάσεων ενός εκκρεμούς. Αν θεωρηθεί ο ένας άξονας η θέση και ο άλλος άξονας η ταχύτητα, ο χώρος φάσεων σχηματίζει έναν κύκλο στο επίπεδο.

Ένα σύνολο από πανομοιότυπα συστήματα που περιέχουν σωματίδια όπως περιγράφηκε παραπάνω, καλείται στατιστικό σύνολο. Κάθε σύστημα βρίσκεται σε διαφορετική μικροκατάσταση, όμως, με αυτόν τον τρόπο, μπορεί να υπολογιστεί μια ιδιότητα ενός συστήματος, σαν την μέση τιμή της ιδιότητας αυτής στα συστήματα του στατιστικού συνόλου. Άλλωστε, η μελέτη των μέσων τιμών έχει το φυσικό νόημα της μέσης συμπεριφοράς του συστήματος, ενώ η μελέτη μίας μόνο μικροκατάστασης δεν θα είχε την ίδια βαρύτητα. Μία ακόμα θεώρηση, είναι πως το στατιστικό σύνολο βρίσκεται απομονωμένο από το περιβάλλον, ενώ μπορούν να επιβληθούν και μακροσκοπικοί περιορισμοί [38].



Εικόνα 10: Αριστερά υπολογίζεται η τιμή για ένα σύστημα. Δεξιά, αναπαρίσταται η έννοια του στατιστικού συνόλου, όπου γίνονται μετρήσεις για πολλά συστήματα και προκύπτει μέση τιμή για όλα τα συστήματα με μικρές αποκλίσεις.

Τα συστήματα είναι όλα τα ίδια μεταξύ τους, άρα περιέχουν τον ίδιο αριθμό σωματιδίων. Επιπλέον, τα συστήματα βρίσκονται σε επαφή μεταξύ τους, άρα όταν επιτευχθεί θερμική ισορροπία, θα βρίσκονται στην ίδια θερμοκρασία. Αν τα συστήματα έχουν και τον ίδιο όγκο, ορίζεται το κανονικό στατιστικό σύνολο, με  $N$ ,  $V$ ,  $T$  κοινά. Η πιθανότητα μιας μικροκατάστασης  $i$ , σύμφωνα με το θεώρημα Liouville και την εργοδική υπόθεση, είναι σταθερή ποσότητα. Έτσι, προκύπτει και η έννοια της θερμοδυναμικής ισορροπίας, η οποία είναι η κατάσταση στην οποία οι μακροσκοπικές μεταβλητές του συστήματος δεν εξαρτώνται από τον χρόνο. Στο στατιστικό σύνολο  $NVT$ , η συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητας ορίζεται ως:

$$\rho = \frac{1}{Q} e^{-\beta H(\mathbf{r}, \mathbf{p})} \quad (12)$$

όπου

$$\beta = \frac{1}{k_B T} \quad (13)$$

Η συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητας, πρέπει να είναι κανονικοποιημένη, δηλαδή

$$\iint \rho(\mathbf{r}, \mathbf{p}) d^{3N} \mathbf{r} d^{3N} \mathbf{p} = 1 \quad (14)$$

οπότε προκύπτει η ανάγκη για έναν παράγοντα κανονικοποίησης, την συνάρτηση επιμερισμού  $Q$ , μέσω της οποίας υπολογίζονται τα ενεργειακά μεγέθη του στατιστικού συνόλου. Έτσι, προκύπτει πως

$$Q = \sum_i^\infty e^{-\beta H_i(\mathbf{r}, \mathbf{p})} \quad (15)$$

Με βάση την συνάρτηση επιμερισμού  $Q$ , υπολογίζεται η ελεύθερη ενέργεια Helmholtz  $A$  από το οποίο εξάγονται και άλλες ιδιότητες του συστήματος [38].

$$A = -\frac{1}{\beta} \ln Q \quad (16)$$

## 2.4 Στατιστικό σύνολο $NPT$

Οι προσομοιώσεις της εργασίας αυτής διεξήχθησαν στο ισοβαρές ισοθερμοκρασιακό στατιστικό σύνολο  $NPT$ , στο οποίο διατηρείται σταθερή τόσο η θερμοκρασία, όσο και η πίεση του συστήματος, σε αντίθεση με το κανονικό στατιστικό σύνολο  $NVT$ , στο οποίο διατηρείται σταθερός ο όγκος και μεταβάλλεται η πίεση.

Η πρώτη προσέγγιση για να διατηρείται η πίεση σταθερή ο βαροστάτης Berendsen [45]. Το σύστημα τοποθετείται σε ένα εξωτερικό λουτρό πίεσης  $P_0$ , και έτσι η πίεση του συστήματος  $P$  μεταβάλλεται σύμφωνα με τον τύπο

$$\frac{dP}{dt} = \frac{P_0 - P}{\tau_p} \quad (17)$$

όπου  $\tau_p$  το χρονικό βήμα της μεταβολής της πίεσης από το λουτρό.

Ολοκληρώνοντας αυτή την εξίσωση, προκύπτει μια συνάρτηση που μειώνεται εκθετικά, άρα, παρερχόμενου του χρόνου όλο το σύστημα θα έχει την επιθυμητή πίεση  $P_0$ . Για να διατηρείται η πίεση σταθερή, κατά την διάρκεια των προσομοιώσεων αλλάζει ο όγκος του συστήματος κατά έναν λόγο μεγέθυνσης  $\mu$ . Η διατήρηση της πίεσης γίνει ανισότροπα. Πιο συγκεκριμένα, διατηρείται σταθερή η πίεση στους άξονες  $x$  και  $y$ , με το άθροισμα των πιέσεων  $P_{xx} + P_{yy}$  να διατηρείται σταθερό και ίσο με 1 bar. Αντίστοιχα, διατηρείται σταθερή και η πίεση στον άξονα  $z$ ,  $P_{zz}=1$  bar. Έτσι ο λόγος μεγέθυνσης  $\mu$  είναι διαφορετικός για τον κάθε άξονα, και μπορεί να δοθεί και σε μορφή τανυστή, όπως και η πίεση, ως εξής:

$$\mu = 1 - \frac{\beta \Delta t}{3\tau_p} (P_0 - P) \quad (18)$$

όπου  $\beta$  το μέτρο συμπιεστότητας υπό σταθερή θερμοκρασία [46].

Για να διατηρηθεί η θερμοκρασία σταθερά, χρειάζεται το σύστημα να τοποθετηθεί σε ένα λουτρό της επιθυμητής θερμοκρασίας  $T_0$ . Για αυτόν τον σκοπό, ο Berendsen ανέπτυξε έναν θερμοστάτη αντίστοιχο με τον παραπάνω βαροστάτη [45]. Όμως, αυτός ο θερμοστάτης δίνει σημαντικά σφάλματα, οπότε χρησιμοποιείται ο θερμοστάτης Nosé-Hoover [47, 48]. Σε αυτόν τον θερμοστάτη, εισάγεται στις εξισώσεις της κίνησης, μια παράμετρος  $\zeta$ , η οποία αυξάνει ή μειώνει την ταχύτητα των ατόμων, έως ότου επιτευχθεί η επιθυμητή θερμοκρασία.

$$\frac{du_i}{dt} = \frac{F_i}{m_i} - \zeta u_i \quad (19)$$

$$\frac{d\zeta}{dt} = \frac{1}{Q} \left( \sum_{i=1}^N m_i \frac{u_i^2}{2} - \frac{3N+1}{2} k_B T_0 \right) \quad (20)$$

Ο βαροστάτης που χρησιμοποιείται στην εργασία είναι ο Parrinello – Rahman, ο οποίος έχει έναν παρόμοιο μηχανισμό δράσης με τον θερμοστάτη Nosé-Hoover και πιο συγκεκριμένα εισάγεται στις εξισώσεις κίνησης μια παράμετρος  $M$  με ρόλο ανάλογο ενός συντελεστή τριβής [49, 50]. Επιπλέον, σε αυτόν τον βαροστάτη υπάρχει ο βαθμός ελευθερίας που επιτρέπει στο σύστημα να αλλάζει σχήμα.

$$\frac{du_i}{dt} = \frac{F_i}{m_i} - M u_i \quad (21)$$

$$M = b^{-1} \left( b \frac{db^T}{dt} + \frac{db}{dt} b^T \right) b^{T-1} \quad (22)$$

$$\frac{d^2 b}{dt^2} = V W^{-1} b^{T-1} (P - P_0) \quad (23)$$

Η πίεση  $P$  και η επιθυμητή πίεση  $P_0$  είναι σε μορφή τανυστή. Επίσης,  $V$  ορίζεται ο όγκος του κουτιού,  $W$  ο πίνακας που καθορίζει την ισχύς του βαροστάτη σε κάθε άξονα και  $b$  είναι ο πίνακας που περιέχει τα διανύσματα που περιγράφουν τους άξονες του συστήματος. Τέλος, οι συμβολισμοί  $b^{-1}$  και  $b^T$  παραπέμπουν στους αντίστροφους και τους ανάστροφους πίνακες, αντίστοιχα [51].

## 2.5 Αριθμητική Επίλυση Εξισώσεων Κίνησης

Για την επίλυση διαφορικών εξισώσεων αριθμητικά γίνεται χρήση του αναπτύγματος Taylor.

$$f(x) = f(a) + f'(a)(x - a) + \frac{f''(a)}{2!}(x - a)^2 + \dots \quad (24)$$

Στην αριθμητική ανάλυση, ορίζεται ένα μικρό βήμα μεταβολής και υπολογίζεται η επόμενη τιμή της συνάρτησης  $f$ , από τις προηγούμενες τιμές. Έτσι, για την συνάρτηση  $r$  της θέσης, ορίζεται ένα μικρό χρονικό διάστημα  $\Delta t$ .

$$r(t + \Delta t) = r(t) + u(t)\Delta t + \frac{a(t)}{2}\Delta t^2 \quad (25)$$

Η επιτάχυνση υπολογίζεται διαιρώντας την δύναμη που δέχεται το σώμα, με την μάζα του, έχοντας υπολογίσει την δύναμη ως αρνητική κλίση του δυναμικού (εξίσωση 5).

Στις μοριακές προσομοιώσεις, γίνεται ευρεία χρήση του αλγόριθμου Verlet [52] που δίνει την μέλλουσα θέση του σωματιδίου ως:

$$r(t + \Delta t) = 2r(t) - r(t - \Delta t) + a(t)\Delta t^2 \quad (26)$$

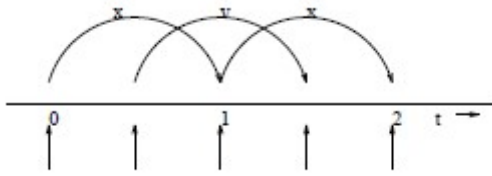
Μια βελτιωμένη εκδοχή αυτού του αλγορίθμου είναι η leap frog, η οποία χρησιμοποιείται εν προκειμένω, υπολογίζοντας την ταχύτητα με μισό βήμα διαφορά, και δίνει ορθότερα αποτελέσματα [53].

$$r(t + \Delta t) = r(t) + u\left(t + \frac{1}{2}\Delta t\right)\Delta t \quad (27)$$

$$u\left(t + \frac{1}{2}\Delta t\right) = u\left(t - \frac{1}{2}\Delta t\right) + \Delta t a(t) \quad (28)$$

Σε αυτή την προσομοίωση, το βήμα ολοκλήρωσης έχει επιλεγεί  $\Delta t=2$  fs, ενώ η συνολική διάρκεια είναι 400 ns, άρα γίνονται  $2 \cdot 10^8$  βήματα ολοκλήρωσης για την θέση κάθε μορίου και άλλα τόσα για την ταχύτητα του.





Εικόνα 11: Σχηματική αναπαράσταση του αλγόριθμου leap frog.

Για την επίλυση των εξισώσεων, πρέπει να είναι γνωστές οι αρχικές θέσεις και οι αρχικές ταχύτητες. Για τις αρχικές θέσεις συνήθως χρησιμοποιούνται πειραματικά ή εμπειρικά δεδομένα και μετά γίνεται ενεργειακή ελαχιστοποίηση. Αυτό είναι απαραίτητο γιατί αν τοποθετηθούν σε θέσεις όπου προκύπτει υψηλή ενέργεια (για παράδειγμα τοποθετώντας δύο θετικά ιόντα πολύ κοντά μεταξύ τους), θα προκύψουν σφάλματα που θα επηρεάσουν και τα μετέπειτα αποτελέσματα. Όσον αφορά τις ταχύτητες, αυτές επιλέγονται έτσι ώστε να ακολουθούν την κατανομή Maxwell για την θερμοκρασία του συστήματος  $T$  (εν προκειμένω 323 K) [42].

$$p(\mathbf{u}) = \left(\frac{m}{2\pi k_B T}\right)^{\frac{3}{2}} e^{-\frac{1}{2}\beta m \mathbf{u}^2} \quad (29)$$

Από τον τύπο, προκύπτει πως η κατανομή Maxwell είναι μια κατανομή Gauss, οπότε εύκολα μπορεί να υπολογιστεί ο μέσος όρος και η τυπική της απόκλιση. Με αυτά τα δεδομένα, μια γεννήτρια τυχαίων αριθμών μπορεί να δώσει την αρχική ταχύτητα στα μόρια.

## 2.6 Πεδία Δυνάμεων

Για να υπολογιστεί η επιρροή των δυνάμεων που ασκεί το ένα άτομο στο άλλο, ορίζονται τα πεδία δυνάμεων, τα οποία ορίζουν τα δυναμικά και τις παραμέτρους που χρησιμοποιούνται για την αλληλεπίδραση των ατόμων στις προσομοιώσεις. Οι δύο κύριες κατηγορίες αλληλεπιδράσεων είναι οι δεσμικές, που αφορούν στις δυνάμεις που αναπτύσσουν άτομα του ίδιου μορίου μέχρι τον τρίτο γείτονα, και οι μη δεσμικές που λαμβάνουν χώρα και για άτομα διαφορετικών μορίων. Όλα τα

παραπάνω περιέχονται στο πεδίο δυνάμεων CHARMM [54] που χρησιμοποιήθηκε στις προσομοιώσεις μέσω του GROMACS, για τα μόρια DPPC και διφαινουδραμίνης. Για τα μόρια του νερού λαμβάνονται υπόψη μόνο οι μη δεσμικές αλληλεπιδράσεις, μέσω του πεδίου δυνάμεων TIP3P.

Το πρώτο δυναμικό των δεσμικών αλληλεπιδράσεων είναι αυτό του μήκους δεσμού. Πιο συγκεκριμένα, το μήκος δεσμού  $l$  κυμαίνεται κοντά στο μήκος δεσμού ισορροπίας  $l_0$ . Η σχετική θέση δύο ατόμων που σχηματίζουν δεσμό μπορεί να παρομοιαστεί με έναν αρμονικό ταλαντωτή, όπου το ένα άτομο είναι ακίνητο και το άλλο ταλαντώνεται με θέση ισορροπίας  $l_0$  [38]. Έτσι, το δυναμικό της έκτασης του δεσμού είναι:

$$\mathcal{V}_{bond} = \frac{1}{2}k_b(l - l_0)^2 \quad (30)$$

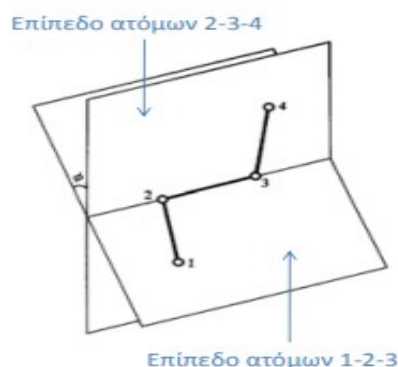
Εκτός από το μήκος δεσμού, τα άτομα σχηματίζουν δεσμούς υπό συγκεκριμένους προσανατολισμούς, καθώς οι ηλεκτροστατικές δυνάμεις των τροχιακών των ατόμων, καθορίζουν το πώς επιτρέπεται τα άτομα να σχηματίσουν δεσμό [3, 4]. Έτσι, οι δεσμοί που σχηματίζει κάθε άτομο, σχηματίζουν μεταξύ τους μία συγκεκριμένη γωνία. Αυτή η γωνία ταλαντώνεται παρόμοια με το μήκος δεσμού, γύρω από μία γωνία ισορροπίας  $\theta_0$ , και η παραμόρφωση της προκαλεί δυναμικό, το οποίο υπολογίζεται μέσω αρμονικού δυναμικού.

$$\mathcal{V}_{angle} = \frac{1}{2}k_\theta(\theta - \theta_0)^2 \quad (31)$$

Πέρα από τις επιρροές που ασκούν το ένα άτομο στο άλλο στο πρώτο και στο δεύτερο διαδοχικό άτομο, η τελευταία δεσμική αλληλεπίδραση αφορά και το τρίτο γειτονικό άτομο. Έστω 4 διαδοχικά άτομα Α, Β, Γ και Δ σε ένα μόριο. Τα άτομα Β και Γ σχηματίζουν μία ευθεία στον χώρο, και αυτή η ευθεία σχηματίζει με τα σημεία Α και Δ δύο επίπεδα. Η γωνία μεταξύ των δύο επιπέδων ονομάζεται διέδρη. Θεωρώντας την ευθεία ΒΓ σταθερή στον χώρο, παρατηρείται πως η διέδρη γωνία των δύο επιπέδων δεν είναι σταθερή. Αυτό έχει ως συνέπεια τα άτομα Α και Δ να ασκούν στρέψη το ένα στο άλλο. Το δυναμικό που προκαλείται από αυτή την διαδικασία είναι:

$$\mathcal{V}_{dih} = k_{dih}(1 + \cos(n\varphi)) \quad (32)$$

όπου  $\varphi$  η δίεδρη γωνία,  $k$  η σταθερά και  $n$  η πολλαπλότητα. Πολλαπλότητα ενός ατόμου ή ενός συνόλου ατόμων όπως εν προκειμένω, ονομάζεται η ακέραια τιμή  $2S+1$ , όπου  $S$  το ολικό σπιν των ηλεκτρονίων των ατόμων [20].



Εικόνα 12: Η δίεδρη γωνία  $\varphi$  που σχηματίζουν τα επίπεδα των ατόμων 1-3 και 2-4.

Προχωρώντας στις μη δεσμικές αλληλεπιδράσεις, αυτές μπορεί να είναι και διαμοριακές. Ξεκινώντας με την ηλεκτροστατική, παρ' ότι στις προσομοιώσεις τα άτομα βρίσκονται στις θεμελιώδεις τους καταστάσεις και δεν υπάρχουν ελεύθερα ιόντα ή ηλεκτρόνια, κάποια άτομα είναι πιο ηλεκτραρνητικά από τα άλλα, παίρνοντας τα ηλεκτρόνια προς το μέρος τους. Αυτό έχει ως συνέπεια να δημιουργούνται δίπολα, τα οποία προκαλούν ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις. Αυτό έχει συνέπειες και στην δομή των μορίων, καθώς τα ηλεκτραρνητικά άτομα προκαλούν διπολική ροπή [3]. Αυτό έχει ως συνέπεια, να παρουσιάζονται μερικά φορτία στα άτομα, δηλαδή μη ακέραια θετικά ή αρνητικά ηλεκτρικά φορτία τα οποία οφείλονται στην ηλεκτραρνητικότητα των ατόμων. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές υπολογίζονται μέσω του δυναμικού Coulomb.

$$V_C = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{q_i q_j}{r_{ij}} \quad (33)$$

Τέλος, μεταξύ των ατόμων αναπτύσσονται αλληλεπιδράσεις τύπου van der Waals, για τις οποίες τα άτομα θεωρούνται σφαίρες. Για να αποτυπωθεί το αποτέλεσμα τους, χρησιμοποιείται το δυναμικό Lennard Jones [55, 56]. Αυτό περιλαμβάνει το απωστικό μέρος, το οποίο κυριαρχεί στις μικρές αποστάσεις, καθώς έχει εκθέτη 12 και οφείλεται στην αλληλεπικάλυψη των ηλεκτρονιακών νεφών, η οποία παραβιάζει την απαγορευτική αρχή του Pauli. Αντίθετα, το ελκτικό κομμάτι

κυριαρχεί στις μεγάλες δυνάμεις γιατί έχει εκθέτη 6 και οφείλεται κυρίως στις δυνάμεις London.

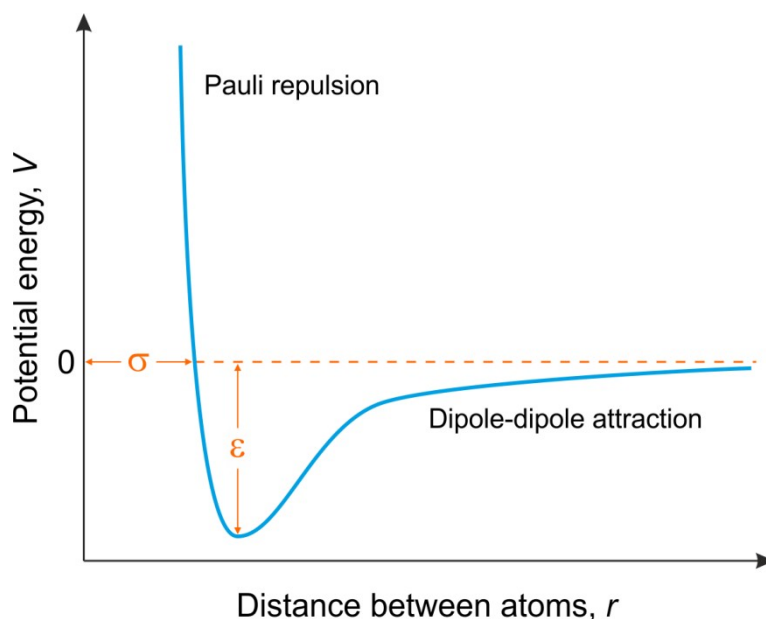
Οι δυνάμεις London ή διασποράς, είναι ηλεκτροστατικές δυνάμεις που εκδηλώνονται λόγω των στιγμιαίων διπολικών ροπών που αναπτύσσονται στα μόρια λόγω της τυχαίας κίνησης των ηλεκτρονίων. Αυτά τα μόρια ονομάζονται στιγμιαία δίπολα και η συμπεριφορά τους αυτή έχει σαν αποτέλεσμα να επάγει τα γειτονικά δίπολα. Παρ' ότι η ισχύς των δυνάμεων London είναι συγκριτικά ασθενής, αυτές οι δυνάμεις εμφανίζονται συνέχεια, άρα επηρεάζουν και την δομή της ύλης [57].

$$\mathcal{V}_{LJ} = 4\varepsilon_{ij} \left[ \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left( \frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (34)$$

$$\sigma_{ij} = \frac{\sigma_{ii} + \sigma_{jj}}{2} \quad (35)$$

$$\varepsilon_{ij} = \sqrt{\varepsilon_{ii} \varepsilon_{jj}} \quad (36)$$

Για αλληλεπιδράσεις ανάμοιων μορίων  $i$  και  $j$ , τα μεγέθη  $\varepsilon$  και  $\sigma$  υπολογίζονται ως συνάρτηση των αντίστοιχων μεγεθών για τις αλληλεπιδράσεις όμοιων μορίων  $i-i$  και  $j-j$ . Το  $\varepsilon$  είναι το βάθος του πηγαδιού του δυναμικού και  $\sigma$  η απόσταση στην οποία μηδενίζεται το δυναμικό, ενώ βέλτιστη διαμοριακή απόσταση δύο μορίων είναι  $\sigma_o = 2^{1/6} \sigma$ .



Διάγραμμα 3: Γραφική παράσταση του δυναμικού Lennard-Jones

Συνοψίζοντας, για τα οργανικά μόρια της παρούσας εργασίας, το δυναμικό υπολογίζεται ως άθροισμα των πέντε παραπάνω δυναμικών για κάθε άτομο.

$$\mathcal{V} = \sum \mathcal{V}_{bond} + \sum \mathcal{V}_{angle} + \sum \mathcal{V}_{dih} + \sum \mathcal{V}_C + \sum \mathcal{V}_{LJ} \quad (37)$$

Όσο αφορά το νερό, τα μόρια του, σε αντίθεση με τα οργανικά μόρια, θεωρούνται πλήρως άκαμπτα, δηλαδή το μήκος δεσμού και η γωνία δεν ταλαντώνονται. Επίσης, αφού το νερό έχει τρία μόνο άτομα, δεν υπάρχουν διεδρες γωνίες. Γι' αυτούς τους λόγους, το νερό προσομοιώνεται με το μοντέλο Transferable Intermolecular Potential with 3 Points (TIP3P) [58]. Σε αυτό, το μόριο αποτελείται από τρία σημεία, ένα για κάθε άτομο, στο οποίο δίνεται και ένα σημειακό φορτίο, το οποίο προκύπτει από την πολικότητα του οξυγόνου. Έτσι, το μόριο του νερού είναι ουδέτερο, ενώ το οξυγόνο έχει φορτίο  $-0.82 e^-$ , ενώ τα υδρογόνα έχουν φορτίο  $+0.41 e^-$ . Συνεπώς, για το νερό, υπολογίζονται μόνο οι μη δεσμικές αλληλεπιδράσεις Coulomb και van der Waals. Αυτές οι αλληλεπιδράσεις υπολογίζονται μόνο ανά ζεύγη, κάτι που μειώνει σημαντικά την υπολογιστική πολυπλοκότητα [40].

$$\mathcal{V} = \sum \mathcal{V}_C + \sum \mathcal{V}_{LJ} \quad (38)$$

## 2.7 Περιοδικές Συνθήκες και ακτίνα αποκοπής

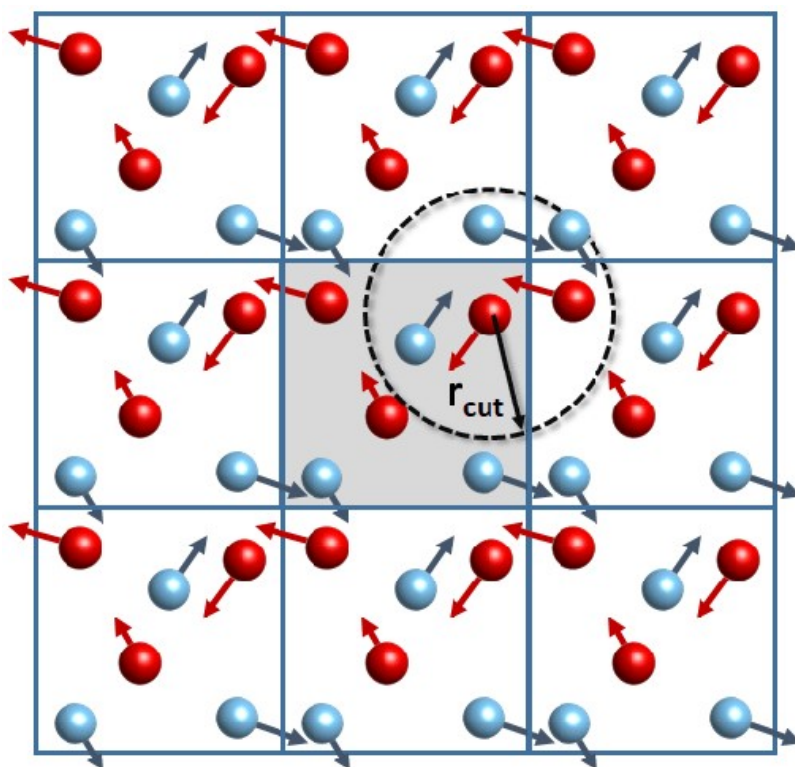
Οι παραπάνω μη δεσμικές αλληλεπιδράσεις, πραγματοποιούνται για κάθε πιθανό ζεύγος μορίων. Όμως λόγω της περιορισμένης υπολογιστικής δύναμης, δεν είναι δυνατό να γίνουν μετρήσεις για όλους τους συνδυασμούς. Επειδή αυτές οι αλληλεπιδράσεις φθίνουν όσο μεγαλώνει η απόσταση των μορίων, ορίζεται μια ακτίνα αποκοπής  $r_c$ , η οποία ορίζει το εύρος στο οποίο τα άτομα αλληλεπιδρούν μέσω μη δεσμικών αλληλεπιδράσεων. Αυτή η απότομη αποκοπή στην περίπτωση των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων φέρει σημαντικά σφάλματα καθώς ο όρος  $1/r$  αργεί να μηδενιστεί κατά την αύξηση της απόστασης, οπότε χάνεται σημαντικό κομμάτι των αλληλεπιδράσεων. Επιπλέον, δημιουργείται ασυνέχεια στην κατανομή του δυναμικού.

Για αυτούς τους λόγους πρέπει να χρησιμοποιείται μια μέθοδος που αθροίζει προσεγγιστικά τις αλληλεπιδράσεις πέρα από την ακτίνα αποκοπής. Η μέθοδος που χρησιμοποιείται εν προκειμένω καλείται Smooth Particle Mesh Ewald Method και προσεγγίζει το δυναμικό αξιοποιώντας τις περιοδικές οριακές συνθήκες που χαρακτηρίζουν το σύστημα, ρίχνοντας παράλληλα την πολυπλοκότητα των υπολογισμών, μέσω μετασχηματισμού Fourier [59, 60]. Πιο συγκεκριμένα, σε αυτήν οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις δεν προκύπτουν από σημειακά φορτία, αλλά το φορτίο κατανέμεται σε γκαουσιανές καμπύλες. Έτσι, δεν υπολογίζονται οι αλληλεπιδράσεις μία μία, κάτι που ρίχνει την υπολογιστική πολυπλοκότητα από  $O(N^2)$  σε  $O(N \cdot \log N)$  [61], όπου  $V_0$  ο όγκος του κουτιού των προσομοιώσεων.

$$\mathcal{V} = \frac{1}{2V_0 \epsilon_0} \sum_k \frac{4\pi e^{-k^2/4a^2}}{k^2} * \left| \sum_j q_j e^{-ikr} \right|^2 + \sum q_i q_j \frac{\text{erfc}(\sqrt{a}r)}{r} - \sqrt{\frac{a}{\pi}} \sum_i q_i^2 \quad (39)$$

Στις υπολογιστικές προσομοιώσεις, όσο μεγαλύτερο είναι το μέγεθος, τόσο πιο σωστά βγαίνουν τα αποτελέσματα. Όμως λόγω των περιορισμών από την διαθέσιμη υπολογιστική δύναμη, περιορίζεται και ο αριθμός των μορίων που προσομοιώνονται. Αυτό έχει ως συνέπεια ένας μεγάλος αριθμός μορίων να βρίσκεται στην επιφάνεια του κουτιού στο οποίο λαμβάνει χώρα η προσομοίωση. Αυτό αποφέρει τεράστια σφάλματα, καθώς δεν υπολογίζονται όλες οι δυνάμεις που δέχεται ένα μόριο αλλά αντίθετα παρατηρούνται επιφανειακά φαινόμενα τα οποία επηρεάζουν τις ιδιότητες του υλικού [62].

Για να αποφευχθούν όλα τα παραπάνω χρησιμοποιούνται περιοδικές συνθήκες. Πιο συγκεκριμένα, δημιουργείται το πρωτεύον κουτί της προσομοίωσης, στο οποίο τοποθετούνται τα μόρια και διεξάγονται οι μετρήσεις και μετά δημιουργούνται αντίγραφα του κουτιού σε όλες τις διαστάσεις και κατευθύνσεις. Με αυτόν τον τρόπο δημιουργείται ένα κυβικό σύστημα, στο οποίο μηδενίζεται η επίδραση των επιφανειακών φαινομένων, χωρίς να δημιουργούνται άλλα σφάλματα. Επιπλέον, όταν ένα μόριο βγαίνει από το πρωτεύον κουτί, εισέρχεται από την άλλη μεριά ένα ταυτόσημο του.



Εικόνα 13: Περιοδικές συνθήκες, με το πρωτεύον κουτί στο κέντρο. Για κάθε μόριο που βγαίνει απ' το κουτί, μπαίνει ένα όμοιο από την αντίθετη κατεύθυνση [63].

Για να μην επηρεάσουν οι περιοδικές συνθήκες τις θερμοδυναμικές ιδιότητες του συστήματος, το πρωτεύον κουτί θα πρέπει να έχει τουλάχιστον το διπλάσιο πλάτος σε σχέση με την ακτίνα αποκοπής, ειδάλλως το μόριο θα αλληλεπιδράσει δύο φορές με το ίδιο μόριο [38].

$$L \geq 2r_c$$

## 2.8 Υπολογισμός δεσμών υδρογόνου

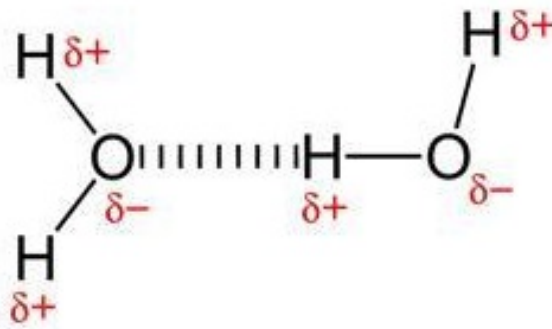
Οι δεσμοί υδρογόνου είναι ελκτικές διαμοριακές δυνάμεις που αναπτύσσονται λόγω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων. Πιο συγκεκριμένα, όταν ένα άτομο υδρογόνου σχηματίζει ομοιοπολικό δεσμό με ένα ηλεκτραρνητικό άτομο, όπως συμβαίνει για παράδειγμα στο νερό, τότε το ηλεκτρόνιο του υδρογόνου έλκεται από το ηλεκτραρνητικό άτομο και το υδρογόνο αποκτά ένα θετικό μερικό φορτίο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα το υδρογόνο να αναπτύσσει ελκτικές δυνάμεις με ηλεκτραρνητικά άτομα άλλων μορίων, ενώ κάποιες φορές εμφανίζονται και ενδομοριακοί δεσμοί υδρογόνου.

Με αυτόν τον τρόπο, μια δομή A-H μπορεί να σχηματίσει έναν ασθενή δεσμό με ένα άλλο ηλεκτραρνητικό άτομο B και έχει την μορφή A-H...B. Αυτός ο δεσμός έχει αρκετά μικρότερη ενέργεια από τους ιοντικούς και τους ομοιοπολικούς, όμως παίζει σημαντικό ρόλο στις ιδιότητες των δομών που σχηματίζονται. Κατά τον σχηματισμό του δεσμού συνήθως επιτυγχάνεται η αντισυμμετρική διάταξη, κατά την οποία ο δεσμός A-H είναι μικρότερος από τον δεσμό H...B. Επιπλέον, ο δεσμός υδρογόνου ευνοείται ενεργειακά όταν τα άτομα A, H και B σχηματίζουν έναν γραμμικό δεσμό, καθώς έτσι τα αρνητικά φορτία των A και B βρίσκονται σε μεγαλύτερη απόσταση [20].

Με βάση αυτή την συμπεριφορά, κατά τον σχηματισμό ενός δεσμού υδρογόνου υπάρχουν οι δότες και οι δέκτες. Οι δότες A σχηματίζουν ομάδες της μορφής A-H και χαρακτηριστικά παραδείγματα ομάδων είναι οι ομάδες -OH και -NH. Αντίθετα, οι δέκτες είναι άτομα με ασύζευκτα τροχιακά ηλεκτρονίων όπως το οξυγόνο και το άζωτο. Για αυτό τον λόγο, τα μόρια του νερού λειτουργούν τόσο σαν δέκτες όσο και σαν δότες δεσμού υδρογόνου.

Τα παραπάνω υλοποιούνται στην εντολή hbond του GROMACS, για τον υπολογισμό των δεσμών υδρογόνου που σχηματίζονται στο σύστημα [40]. Τα γεωμετρικά κριτήρια που αναγνωρίζουν κατά πόσο σχηματίζεται δεσμός υδρογόνου είναι, αφ' ενός η απόσταση μεταξύ δότη και δέκτη να είναι μικρότερη από 0.35 nm, αφ' ετέρου η γωνία που σχηματίζεται να είναι μικρότερη από 30 μοίρες.





Εικόνα 14: Ο δεσμός υδρογόνου που σχηματίζεται μεταξύ δύο μορίων νερού

## 2.9 Παράμετροι τάξης αλυσίδων

Για να διερευνηθεί κατά πόσο οι ουρές των λιπιδίων επαναλαμβάνονται με τάξη όπως συμβαίνει στα κρυσταλλικά στερεά, υπολογίζεται η παράμετρος τάξης. Πιο συγκεκριμένα, οι άξονες των λιπιδίων έχουν την τάση να είναι παράλληλοι, καθώς έτσι εξασφαλίζεται η λιγότερη δυνατή επαφή με το νερό στις υδρόφοβες ουρές των διπλοστιβάδων. Όμως η υγροκρυσταλλική φύση της διπλοστιβάδας σημαίνει πως οι αλκυλικές ουρές παρουσιάζουν κινητικότητα, οπότε έχει περισσότερο νόημα να μελετηθεί η μέση τιμή αυτής τάξης.

Η παράμετρος τάξης των αλυσίδων επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες. Κατ' αρχάς, η παράμετρος τάξης αυξάνεται με την μείωση της θερμοκρασίας, καθώς σε μικρότερες θερμοκρασίες είναι γνωστό πως μειώνεται η κινητικότητα των μορίων και αυξάνεται η τάξη τους. Κάτι άλλο που ενδέχεται να επηρεάσει τις παραμέτρους τάξης είναι η πρόσδεση άλλων ουσιών εντός της διπλοστιβάδας, καθώς αυτό θα προκαλέσει υδρόφιλες ή υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις [24].

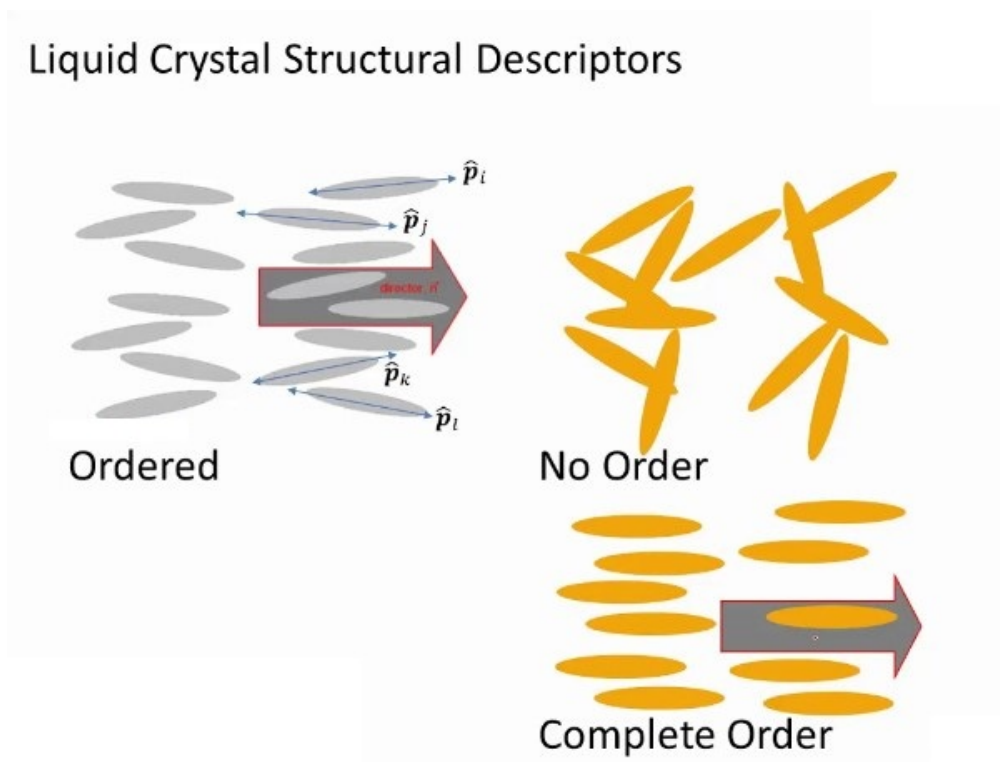
Για να μελετηθεί κατά πόσο οι άνθρακες των υδρόφοβων ουρών σχηματίζουν γραμμικές διατάξεις, για κάθε άνθρακα μετρείται η γωνία  $\theta$  που σχηματίζει ο κάθετος στην διπλοστιβάδα, άξονας  $Z$  με το διάνυσμα που σχηματίζουν ο προηγούμενος και ο επόμενος άνθρακας. Η μαθηματική έκφραση για την παράμετρο τάξης  $S$  είναι η εξής.

$$-S_{CD} = \frac{2}{3}S_{xx} + \frac{1}{3}S_{yy} \quad (40)$$

$$S_{ij} = \frac{1}{2} \langle \cos(\theta_i) \cos(\theta_j) - \delta_{ij} \rangle \quad (41)$$

Η παράμετρος τάξης έχει τη μορφή τανυστή. Τα στοιχεία  $S_{xx}$  και  $S_{yy}$  εκφράζουν τις τιμές των αντίστοιχων διαστάσεων [15]. Τέλος, με  $\delta_{ij}$  συμβολίζεται το δέλτα του Kronecker [51].

Η παράμετρος  $S$  παίρνει τιμές από -0.5 έως 1, με  $S=1$  να δείχνει πλήρως κρυσταλλική στερεή φάση, ενώ  $S=0$  χαρακτηρίζει ισότροπο υγρό.



Εικόνα 15: Η τάξη ενός υγροκρυσταλλικού συστήματος, με βάση τον μοριακό άξονα, υπολογίζεται μέσω της παραμέτρου τάξης.

## 2.10 Υπολογισμός Ελεύθερης Ενέργειας

Ο υπολογισμός των θερμοδυναμικών ιδιοτήτων του συστήματος στο πλαίσιο αυτής της διπλωματικής γίνεται μέσω του δυναμικού μέσης δύναμης [64]. Το δυναμικό μέσης δύναμης (PMF) είναι το δυναμικό της συνισταμένης δύναμης που δέχεται ένα μόριο, εν προκειμένω ένα μόριο διφαινυδραμίνης, από τα υπόλοιπα μόρια του συστήματος, συναρτήσει μιας μεταβλητής του συστήματος (εν προκειμένω οι συντεταγμένες στον άξονα Z). Είναι σαφές πως αυτή η δύναμη αλλάζει συναρτήσει της θέσης του μορίου. Επιπλέον, στο στατιστικό σύνολο NPT, το δυναμικό μέσης δύναμης ταυτίζεται με την ελεύθερη ενέργεια Gibbs υπό τον περιορισμό το μόριο να βρίσκεται σε συγκεκριμένη θέση Z.

Για τον υπολογισμό του PMF, χρησιμοποιείται η ανάλυση σταθμισμένου ιστογράμματος [63], η οποία παρέχεται στο GROMACS μέσω της εντολής `g_wham` [66]. Το πρώτο βήμα είναι να επιλεγούν σημεία  $r_0$  κατά τον άξονα Z, στα οποία τοποθετείται ένα μόριο φαρμάκου. Έτσι, η προς μελέτη περιοχή χωρίζεται σε παράθυρα κάλυψης, με κέντρο το  $r_0$ . Έπειτα, πέρα από το άθροισμα των δυναμικών που υπάρχουν στην προσομοίωση  $\mathcal{V}_u$ , προστίθεται και ένα αρμονικό δυναμικό  $\omega$ . Αυτό βοηθάει στο να μπορεί το μόριο να ξεπεράσει τα μεγάλα ενεργειακά φράγματα που υπάρχουν, χωρίς να απαιτείται μεγάλη ποσότητα υπολογιστικού χρόνου. Παράλληλα, όμως, η μέθοδος δεν παράγει σημαντικά σφάλματα. Με βάση το νέο δυναμικό  $\mathcal{V}_b$ , υπολογίζεται η κατανομή πιθανότητας της θέσης του μορίου.

$$\mathcal{V}_b(\mathbf{r}) = \mathcal{V}_u + \omega(\mathbf{r}) = \mathcal{V}_u + \frac{1}{2}k(\mathbf{r} - \mathbf{r}_0)^2 \quad (42)$$

Αφού λάβει χώρα για κάθε σημείο  $r_0$  ο υπολογισμός κατανομής πιθανότητας  $P_b$ , αποτυπώνονται στο ίδιο διάγραμμα, ως συνάρτηση της συντεταγμένης της αντίδρασης (reaction coordinate), η οποία είναι ο άξονας Z, κάθετος στις δύο μονοστιβάδες της μεμβράνης. Οι κατανομές που θα προκύψουν πρέπει να αλληλοκαλύπτονται. Η σταθερά ελατηρίου  $k$  δεν πρέπει να είναι πολύ χαμηλή, καθώς έτσι δεν θα υπάρχει αρκετή ενέργεια για να υπερβούν τυχόν υψηλά ενεργειακά φράγματα. Επιπλέον, μεγάλο  $k$  θα οδηγήσει σε λεπτόκυρτες κατανομές και δεν θα υπάρχει η απαραίτητη αλληλοεπικάλυψη. Η αλληλοεπικάλυψη μπορεί να αυξηθεί αν αυξηθούν τα σημεία που πραγματοποιούνται υπολογισμοί, όμως αυτό αυξάνει το υπολογιστικό κόστος.

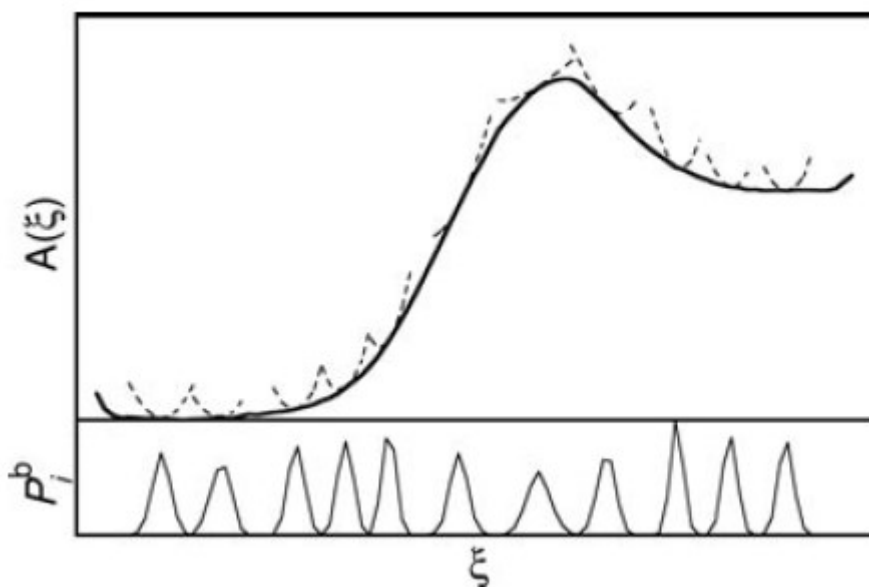
Η κατανομή της πιθανότητας  $P_b$ , για κάθε παράθυρο κάλυψης, λαμβάνοντας υπόψη και τη νέα συνάρτηση επιμερισμού  $Q_b$ , δίνεται από τον τύπο:

$$P_b i = \frac{1}{Q_b} e^{-\beta H_i} \quad (43)$$

$$Q_b = \sum_i e^{-\beta H_i} \quad (44)$$

Όμως, ο στόχος αυτής της μεθόδου είναι να υπολογιστούν οι κατανομές των πιθανοτήτων  $P_u$  και η συνάρτηση επιμερισμού  $Q_u$ , για το αρχικό σύστημα, χωρίς το αρμονικό δυναμικό. Για την αρχική συνάρτηση επιμερισμού αποδεικνύεται πως μπορεί να υπολογιστεί ως εξής [65].

$$Q_u(\mathbf{r}) = Q_b(\mathbf{r}) e^{\beta^* \omega(\mathbf{r})} \langle e^{\beta \omega(\mathbf{r})} \rangle \quad (45)$$



Διάγραμμα 4: Παραδείγματα διαγραμμάτων για το σύστημα της αναφοράς 67. Στο πάνω διάγραμμα αποτυπώνονται τα αρμονικά δυναμικά που προστέθηκαν, κατά μήκος της συντεταγμένης της αντίδρασης  $\xi$ . Από αυτά θα προκύψει το PMF και η ελεύθερη ενέργεια Helmholtz, καθώς οι προσομοιώσεις διεξήχθησαν στο στατιστικό σύνολο NVT. Κάτω αποτυπώνονται οι κατανομές πιθανότητες ως προς την θέση [67].

Στο στατιστικό σύνολο NPT, η ελεύθερη ενέργεια Gibbs συνδέεται με την συνάρτηση επιμερισμού  $Q$  [38].

$$G = -\frac{1}{\beta} \ln Q \quad (46)$$

Κάνοντας αντικατάσταση την εξίσωση 46 στην εξίσωση 45, υπολογίζεται η ενέργεια Gibbs του αρχικού συστήματος.

$$G_u(\mathbf{r}) = -\frac{1}{\beta} \ln Q_b(\mathbf{r}) - \omega(\mathbf{r}) - \frac{1}{\beta} \langle e^{\beta\omega(\mathbf{r})} \rangle \quad (47)$$

Ο τελευταίος όρος καλείται εν συντομία  $F$ , και είναι το μόνο που μένει να υπολογιστεί [68]. Για την εύρεση του  $F$ , επιλύονται αριθμητικά οι παρακάτω 4 εξισώσεις ως προς  $F$  με τη μέθοδο δοκιμής και σφάλματος, έως ότου υπάρξει ικανοποιητική λύση.  $Q_u$  είναι η ολική συνάρτηση επιμερισμού, ενώ  $Q_{ui}$  είναι η συνάρτηση επιμερισμού κάθε παραθύρου. Τέλος, το πλήθος των παραθύρων συμβολίζεται  $N_w$ , ενώ  $N_i$  είναι ο αριθμός των σημείων που δειγματοληπτούνται σε κάθε παράθυρο κάλυψης.

$$e^{-\beta F_i} = \int Q_u(\mathbf{r}) e^{\beta\omega(\mathbf{r})} d\mathbf{r} \quad (48)$$

$$Q_u(\mathbf{r}) = \sum_i^{N_w} p_i(\mathbf{r}) Q_{ui}(\mathbf{r}) \quad (49)$$

$$p_i(\mathbf{r}) = \frac{a_i(\mathbf{r})}{\sum_i^{N_w} a_i(\mathbf{r})} \quad (50)$$

$$a_i(\mathbf{r}) = N_i e^{\beta F_i - \beta\omega(\mathbf{r})} \quad (51)$$

## 3. Αποτελέσματα

### 3.1 Εισαγωγή

Στην παρούσα διπλωματική έγιναν προσομοιώσεις για δύο συστήματα. Το πρώτο περιλαμβάνει 14416 μόρια νερού, 288 μόρια DPPC και 10 μόρια διφαινουδραμίνης. Το δεύτερο σύστημα περιλαμβάνει 14416 μόρια νερού, 288 μόρια DPPC και 20 μόρια διφαινουδραμίνης. Η συγκέντρωση διφαινουδραμίνης στα παραπάνω υγροκρυσταλλικά συστήματα, εκφράζεται σε σχέση με τα μόρια DPPC. Πιο συγκεκριμένα:

$$C\% = \frac{N_{diph}}{N_{DPPC} + N_{diph}} * 100\% \quad (52)$$

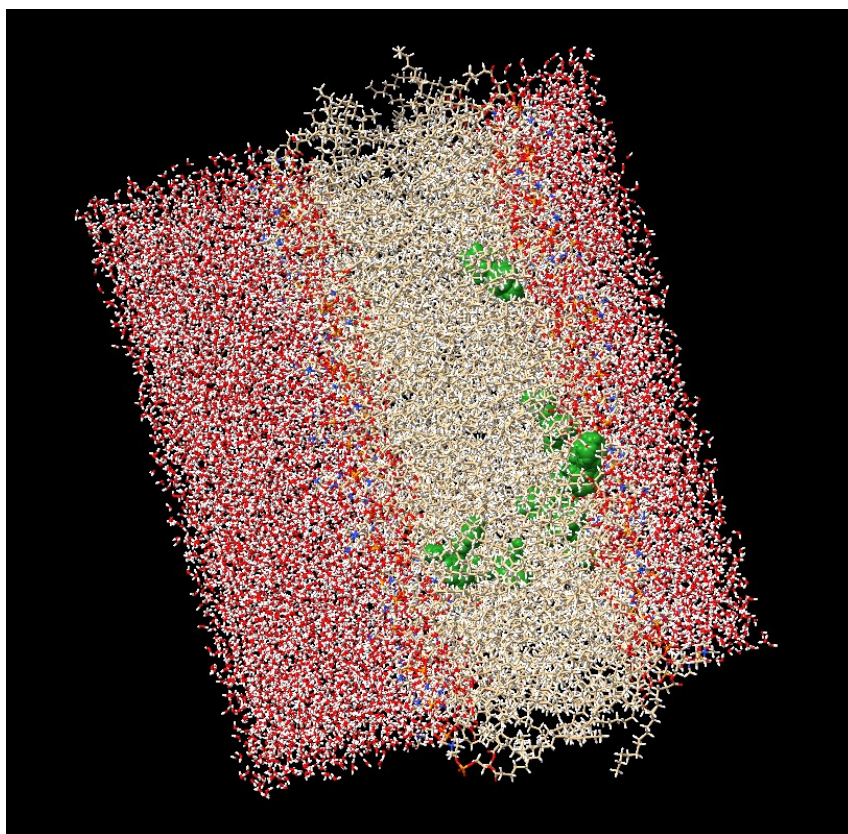
Έτσι το πρώτο σύστημα με 10 μόρια διφαινουδραμίνης έχει συγκέντρωση 3.36% mol, ενώ το δεύτερο σύστημα με 20 μόρια διφαινουδραμίνης έχει συγκέντρωση 6.49% mol.

Οι μοριακές προσομοιώσεις διεξήχθησαν στο πρόγραμμα GROMACS [40]. Τα συστήματα οπτικοποιήθηκαν μέσω του προγράμματος Chimera [69], ενώ τα διαγράμματα για τα αποτελέσματα των προσομοιώσεων έγιναν στο υπολογιστικό περιβάλλον Matlab [70].

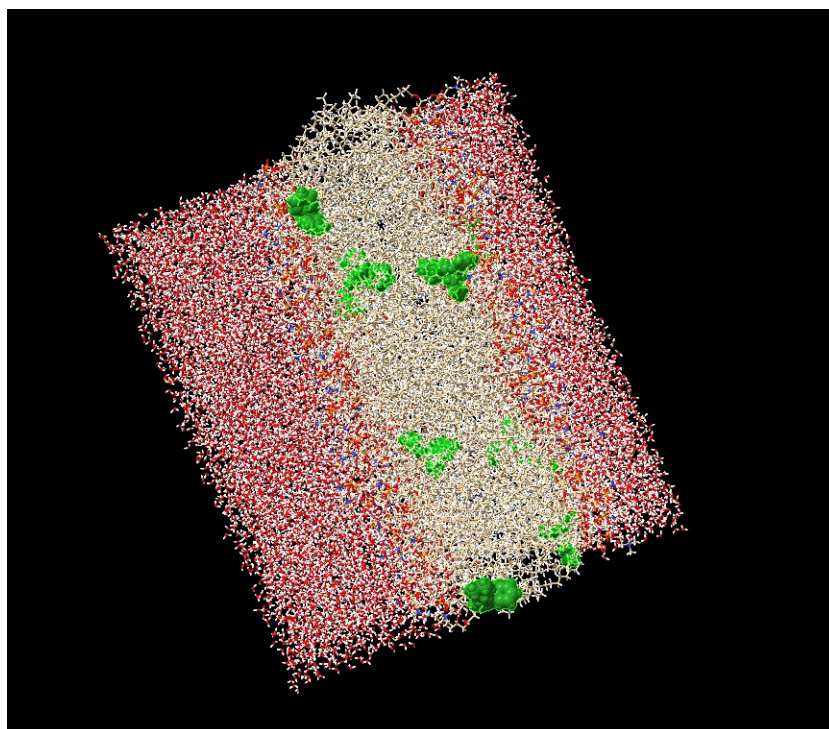
### 3.2 Οπτικοποίηση

Για την καλύτερα κατανόηση των συστημάτων, γίνονται οπτικοποιήσεις μέσω του προγράμματος Chimera. Τα στιγμιότυπα ελήφθησαν και για τα δύο συστήματα συγκεντρώσεων 3.36% mol και 6.49% mol, τις χρονικές στιγμές 50 ns και 200 ns. Τα στιγμιότυπα έχουν ληφθεί με τέτοιο προσανατολισμό, ώστε να φαίνεται η λιπιδική διλοστιβάδα.

Τα μόρια του νερού απεικονίζονται με κόκκινο χρώμα, τα μόρια DPPC απεικονίζονται με κίτρινο χρώμα, ενώ τα μόρια διφαινουδραμίνης απεικονίζονται με πράσινο χρώμα. Επιπλέον, τα μόρια διφαινουδραμίνης έχουν μεγεθυνθεί για λόγους ευκρίνειας.

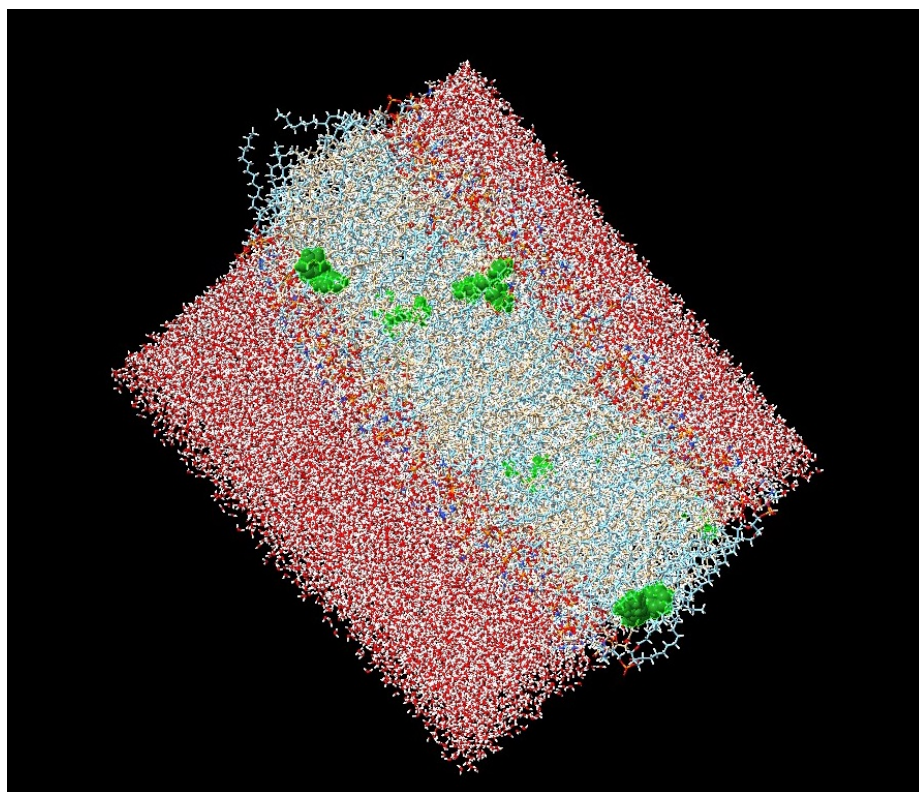


Εικόνα 16: Στιγμιότυπο του συστήματος συγκέντρωσης 3.36% mol, την χρονική στιγμή 50 ns.

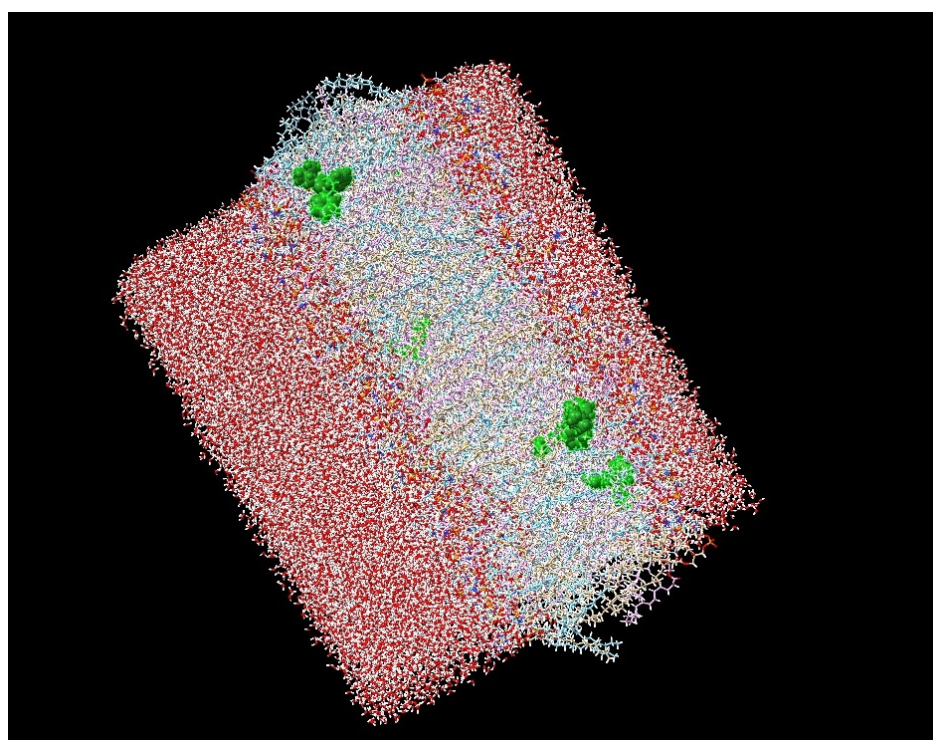


Εικόνα 17: Στιγμιότυπο του συστήματος συγκέντρωσής 3.36% mol, την χρονική στιγμή 200 ns.





Εικόνα 18: Στιγμιότυπο του συστήματος συγκέντρωσης 6.49% mol, την χρονική στιγμή 50 ns.



Εικόνα 19: Στιγμιότυπο του συστήματος συγκέντρωσης 6.49% mol, την χρονική στιγμή 200 ns.



Από τις παραπάνω εικόνες, είναι σαφές πως το σύνολο των μορίων της διφαινυδραμίνης έχουν διεισδύσει εντός της λιπιδικής διπλοστιβάδας κατά την χρονική στιγμή 50 ns. Επιπλέον, για όλα τα συστήματα φαίνεται πως τα μόρια του φαρμάκου προτιμούν τις ενδιάμεσες θέσεις, και όχι το κέντρο τις διπλοστιβάδας, ούτε φυσικά τις περιοχές κοντά στην υδατική φάση.

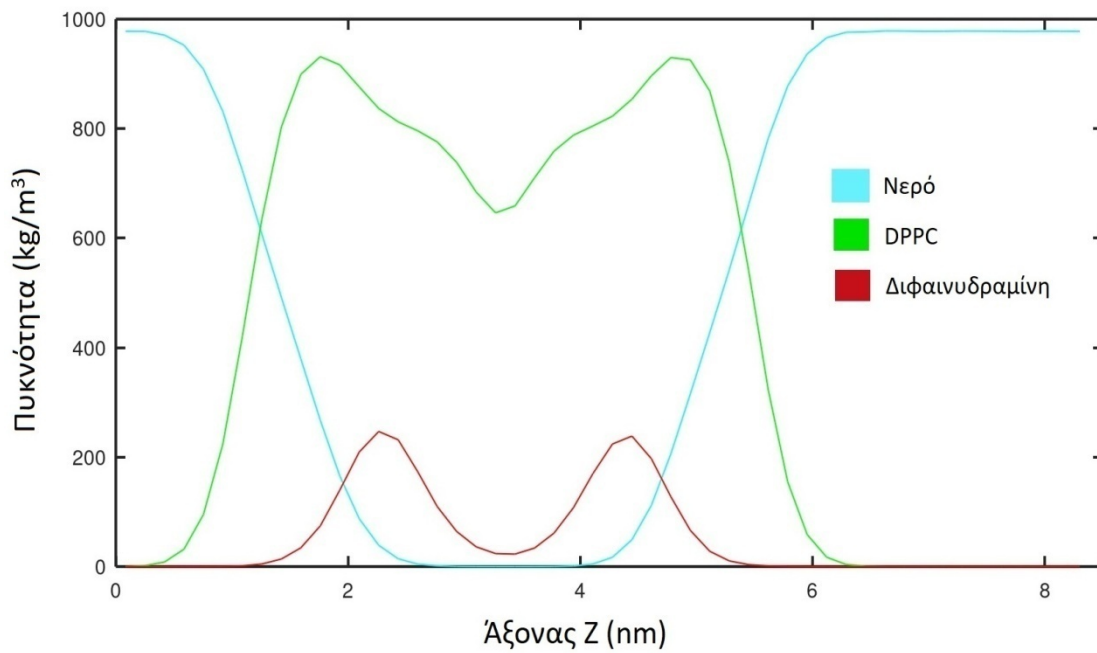
### 3.3 Προφίλ μαζικής πυκνότητας

Για να διερευνηθεί η προτιμητέα θέση των μορίων του συστήματος στον χώρο, κατασκευάζονται τα προφίλ μαζικής πυκνότητας. Αυτό γίνεται, εν προκειμένω, μέσω της εντολής *density* που διαθέτει GROMACS. Μάλιστα, έχει γίνει η επιλογή, οι υπολογισμοί να γίνουν κατά μήκος του άξονα Z, ο οποίος είναι κάθετος στην διπλοστιβάδα.

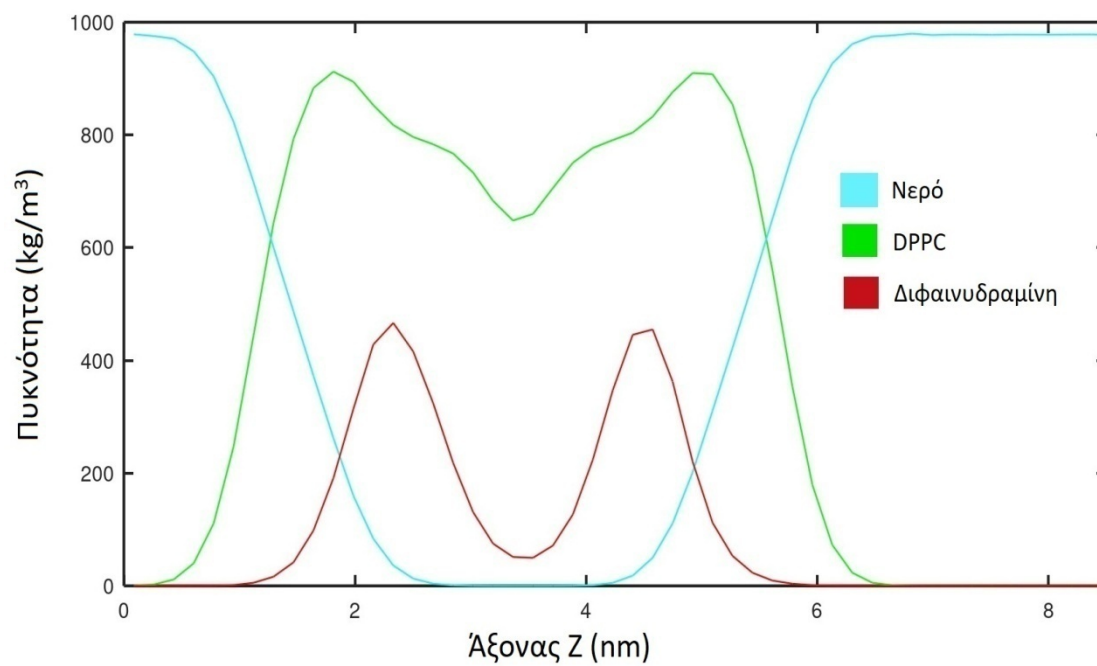
Οι τιμές για την πυκνότητα προκύπτουν από τις μέσες τιμές κατά την χρονική περίοδο 150-200 ns, στην οποία το σύστημα είχε έλθει σε θερμοδυναμική ισορροπία.

Στα παρακάτω διαγράμματα, η πυκνότητα του νερού έχει γαλάζιο χρώμα, η πυκνότητα του DPPC έχει πράσινο χρώμα, ενώ η διφαινυδραμίνη έχει κόκκινο χρώμα. Επιπλέον η πυκνότητα της διφαινυδραμίνης έχει πολλαπλασιαστεί και στα δύο διαγράμματα επί 10, για λόγους ευκρίνειας.

Η ανάλυση που ακολουθεί είναι ίδια με αυτή των αναφορών 15 και 29, οι οποίες αφορούν την *levodopa*, ένα φάρμακο που διαπερνά τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό, και την ντοπαμίνη, έναν σημαντικό νευροδιαβιβαστή, σε ενυδατωμένες λιπιδικές διπλοστιβάδες.



Διάγραμμα 5: Προφίλ μαζικής πυκνότητας του συστήματος, για συγκέντρωση διφαινουδραμίνης 3.36%



Διάγραμμα 6: Προφίλ μαζικής πυκνότητας του συστήματος, για συγκέντρωση διφαινουδραμίνης 6.49%

Από τα διαγράμματα φαίνεται πως όλα τα μόρια της διφαινυδραμίνης διεισδύουν αυθόρμητα και κατανέμονται εντός της λιπιδικής διπλοστιβάδας, κάτι που σημαίνει πως το φάρμακο είναι λιπόφιλο. Τα παραπάνω αποτελέσματα συμφωνούν με την πειραματική τιμή του συντελεστή κατανομής οκτανόλης νερού  $\log P$  για την διφαινυδραμίνη [6]. Αυτός ο συντελεστής για τιμές μεγαλύτερες του 3, δείχνει πως η εξεταζόμενη ουσία είναι λιπόφιλη. Για την διφαινυδραμίνη ο συντελεστής παίρνει την τιμή 3.27 [5]. Τα παραπάνω επιβεβαιώνονται πειραματικά και στην αναφορά [71].

Στα κέντρα των διπλοστιβάδων παρατηρείται μια μείωση της πυκνότητας του DPPC, καθώς υπάρχει ένα μικρό κενό ανάμεσα στις δύο μονοστιβάδες [30]. Επιπλέον, κάποιες μικρές διαφορές που παρατηρούνται εντός των μεμβρανών οφείλονται και στο γεγονός πως όλες οι διπλοστιβάδες παρουσιάζουν φαινόμενα ασυμμετρίας [72].

Τα μόρια του φαρμάκου, ακολουθούν μια παρόμοια κατανομή και προτιμούν τις θέσεις με μεγαλύτερη πυκνότητα DPPC και όχι τόσο το κέντρο της διπλοστιβάδας. Επιπλέον φαίνεται πως η ποσότητα φαρμάκου στις δύο μονοστιβάδες είναι περίπου η ίδια, οπότε δεν υπάρχει κάποια προτίμηση ως προς τη μία μονοστιβάδα ή την άλλη. Τέλος το γεγονός πως η πυκνότητα του φαρμάκου στο κέντρο της διπλοστιβάδας δεν είναι μηδενική, σημαίνει πως λαμβάνουν χώρα φαινόμενα μεταπήδησης από την μία μονοστιβάδα στην άλλη.

Στο πρώτο σύστημα με συγκέντρωση 3.36% mol φαρμάκου, το κέντρο της διπλοστιβάδας παρατηρείται σε απόσταση 3.27 nm, ως προς την αρχή των αξόνων του κουτιού της προσομοίωσης. Τα δύο μέγιστα του προφίλ πυκνότητας του φαρμάκου παρατηρούνται σε αποστάσεις 2.43 και 4.45 nm. Έτσι οι μέγιστες πυκνότητες του φαρμάκου βρίσκονται σε αποστάσεις 0.84 και 1.17 nm από το κέντρο της διπλοστιβάδας. Η μέση απόσταση, λοιπόν, της πυκνότητας της διφαινυδραμίνης από το κέντρο της διπλοστιβάδας είναι 1.01 nm.

Στο δεύτερο σύστημα με συγκέντρωση 3.36% mol φαρμάκου, το κέντρο της διπλοστιβάδας βρίσκεται σε απόσταση 3.37 nm, ως προς την αρχή των αξόνων του κουτιού της προσομοίωσης. Τα δύο μέγιστα του προφίλ πυκνότητας της διφαινυδραμίνης παρατηρούνται σε αποστάσεις 2.33 και 4.57 nm. Έτσι οι μέγιστες πυκνότητες του φαρμάκου βρίσκονται σε αποστάσεις 1.02 και 1.20 nm από το κέντρο της διπλοστιβάδας. Η μέση απόσταση, λοιπόν, της πυκνότητας του φαρμάκου από το κέντρο της διπλοστιβάδας είναι 1.11 nm.

### 3.4 Υπολογισμός δεσμών υδρογόνου

Παρατηρώντας την δομή των μορίων τόσο της διφαινυδραμίνης, όσο και του DPPC, είναι σαφές πώς κανένα από τα δύο μόρια δεν διαθέτει κάποια ομάδα η οποία να είναι θέση να λειτουργήσει ως δότης δεσμού υδρογόνου. Έπεται, λοιπόν, πως η διφαινυδραμίνη και το DPPC δεν σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου. Επιπλέον, τα μόρια της διφαινυδραμίνης δεν μπορούν να σχηματίσουν δεσμούς υδρογόνου ούτε με άλλα μόρια διφαινυδραμίνης.

Οι μόνοι δεσμοί υδρογόνου που σχηματίζει η διφαινυδραμίνη είναι αυτοί με το νερό, το οποίο μπορεί να δράσει τόσο σαν δέκτης, όσο και σαν δότης δεσμών υδρογόνου. Πιο συγκεκριμένα, σαν δότες δεσμού υδρογόνου δρουν οι ομάδες  $-OH$  του νερού, ενώ σαν δέκτες δεσμού υδρογόνου δρουν τα άτομα  $-O$  και  $-N$  της διφαινυδραμίνης.

Επιπλέον, πρέπει να επισημανθεί πως αυτοί οι δεσμοί υδρογόνου λαμβάνουν χώρα εντός της λιπιδικής φάσης, καθώς εκεί βρίσκονται όλα τα μόρια διφαινυδραμίνης. Από τα διαγράμματα 5 και 6 φαίνεται πως κάποια μόρια νερού έχουν καταφέρει να διεισδύσουν εντός της λιπιδικής διπλοστιβάδας. Άρα, υπάρχει η δυνατότητα να σχηματιστούν δεσμοί υδρογόνου μεταξύ αυτών των μορίων νερού και της διφαινυδραμίνης

Οι δεσμοί υδρογόνου που σχηματίζει το φάρμακο υπολογίζονται μέσω της εντολής `hbond` του GROMACS ως εξής.

Πίνακας 1: Δεσμοί υδρογόνου συναρτήσει της συγκέντρωσης του φαρμάκου

Συγκέντρωση διφαινυδραμίνης	Δεσμοί υδρογόνου ανά μόριο διφαινυδραμίνης
3.36 % mol	0.40±0.05
6.49 % mol	0.40±0.05

Οι δεσμοί υδρογόνου που σχηματίζει ένα μόριο, είναι, φυσικά, ακέραιος αριθμός. Όμως, εν προκειμένω, γίνεται διαίρεση με το πλήθος των μορίων διφαινυδραμίνης, για να διερευνηθεί κατά πόσο η συγκέντρωση της διφαινυδραμίνης αυξάνει ή μειώνει την συχνότητα εμφάνισης του φαινομένου. Το φυσικό νόημα του

αποτελέσματος είναι πως σε 10 μόρια διφαινυδραμίνης σχηματίζονται περίπου 4 δεσμοί υδρογόνου.

Από τα αποτελέσματα προκύπτει πως η διφαινυδραμίνη σχηματίζει ένα ασθενές δίκτυο δεσμών υδρογόνου με τα μόρια νερού που βρίσκονται εντός της λιπιδικής διπλοστιβάδας. Επιπλέον, η αύξηση της συγκέντρωσης της διφαινυδραμίνης δεν διαφαίνεται να αυξάνει την ποσότητα των δεσμών υδρογόνου που σχηματίζει ένα μόριο φαρμάκου.

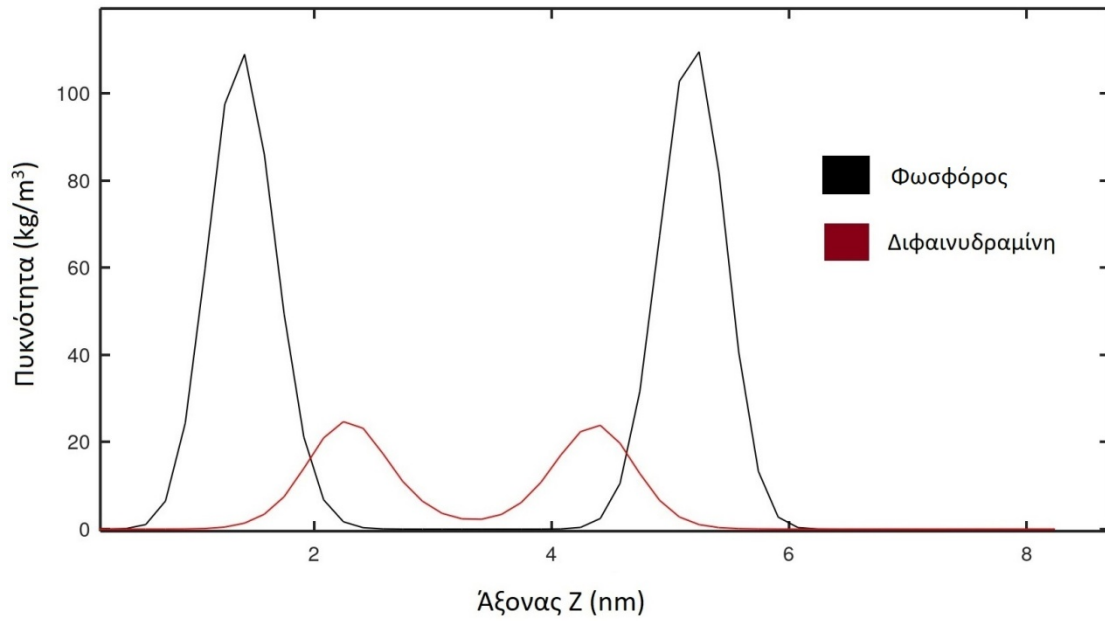
### 3.5 Πάχος διπλοστιβάδας

Το μόριο ενός λιπιδίου αποτελείται από την υδρόφιλη κεφαλή και τις υδρόφοβες ουρές. Το υδρόφιλο τμήμα περιέχει μια ομάδα φωσφορικού οξέος [30]. Αυτή η ιδιότητα χρησιμεύει στον καθορισμό ενός ορισμού για το πάχος της διπλοστιβάδας. Το πάχος μιας λιπιδικής διπλοστιβάδας ορίζεται ως η απόσταση των ατόμων φωσφόρου κατά μήκος του άξονα  $Z$ , ο οποίος είναι κάθετος στην διπλοστιβάδα.

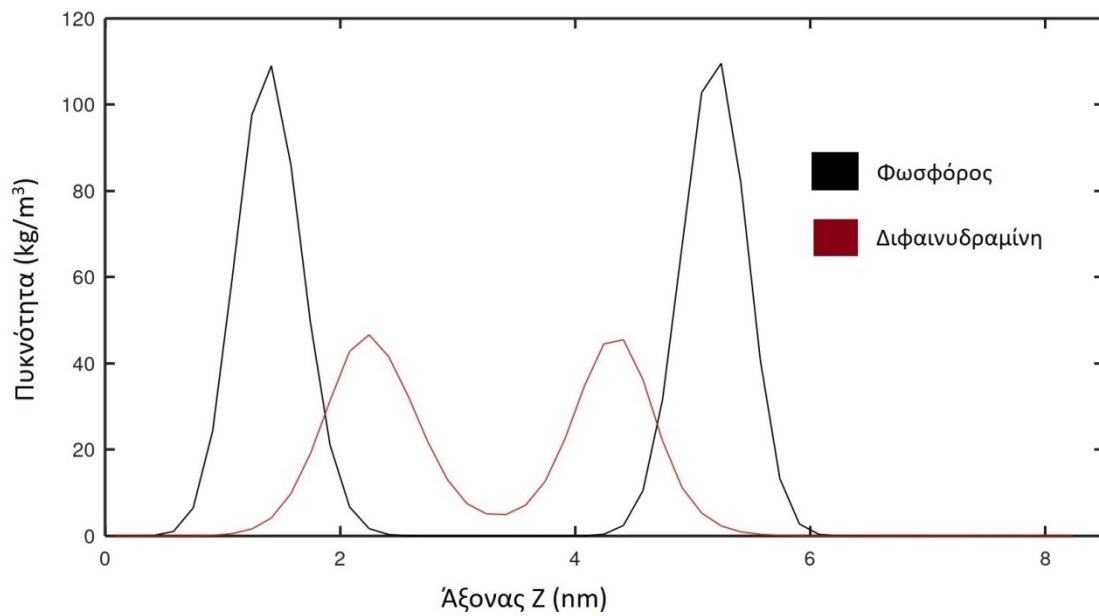
Το πάχος της διπλοστιβάδας προσδιορίζεται και πειραματικά μέσω πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού και περίθλασης ακτίνων  $X$  [73]. Δύο παράγοντες που προκύπτει πως επηρεάζουν το πάχος της διπλοστιβάδας είναι η θερμοκρασία και η παρουσία άλλων ουσιών. Η αύξηση της θερμοκρασίας προκαλεί μετάβαση στην υγροκρυσταλλική φάση, οπότε το πάχος της διπλοστιβάδας μειώνεται [74].

Στην παρούσα εργασία διερευνάται αν επηρεάζει η παρουσία της διφαινυδραμίνης το πάχος της διπλοστιβάδας, με την θερμοκρασία σταθερή στους 323 K. Αυτό επιτυγχάνεται με την κατασκευή των προφίλ μαζικής πυκνότητας για τον φωσφόρο, ο οποίος καθορίζει τα σύνορα της διπλοστιβάδας, κατά μήκος του άξονα  $Z$ .

Οι υπολογισμοί γίνονται μέσω της εντολής `density` του GROMACS, για το χρονικό διάστημα 150-200 ns. Η μεθοδολογία είναι παρόμοια με αυτή που ακολουθήθηκε για τα διαγράμματα 5 και 6. Στα παρακάτω διαγράμματα η πυκνότητα του φωσφόρου απεικονίζεται με μαύρο χρώμα, ενώ η πυκνότητα του φαρμάκου με κόκκινο χρώμα.



Διάγραμμα 7: Προφίλ μαζικής πυκνότητας του φωσφόρου και της διφαινουδραμίνης κατά μήκος του άξονα Z, για συγκέντρωση φαρμάκου 3.36 % mol.



Διάγραμμα 8: Προφίλ μαζικής πυκνότητας του φωσφόρου και της διφαινουδραμίνης κατά μήκος του άξονα Z, για συγκέντρωση φαρμάκου 6.49 % mol.

Ως μέση θέση των ατόμων του φωσφόρου στον άξονα Z θεωρούνται τα σημεία όπου η πυκνότητα του φωσφόρου γίνεται μέγιστη. Μετρώντας το πάχος της διπλοστιβάδας με βάση την απόσταση των ατόμων φωσφόρου από τα διαγράμματα 7 και 8, αυτό διαμορφώνεται ως εξής.

Πίνακας 2: Πάχος διπλοστιβάδας συναρτήσει της συγκέντρωσης του φαρμάκου

Συγκέντρωση διφαινυδραμίνης	Πάχος διπλοστιβάδας (nm)
3.36 % mol	3.83
6.49 % mol	3.78

Για το πάχος της διπλοστιβάδας DPPC σε υδατικό περιβάλλον, χωρίς την παρουσία κάποιας ουσίας υπάρχουν τόσο πειραματικά δεδομένα, όσο και αποτελέσματα προσομοιώσεων μοριακής δυναμικής. Πιο συγκεκριμένα, οι Katsaras et al, προσδιόρισαν το πάχος της διπλοστιβάδας DPPC στους 323 K, στην ίδια θερμοκρασία δηλαδή με την παρούσα εργασία, με ακτίνες X, στην τιμή 3.90 nm [75]. Οι Porasso et al διεξήγαγαν προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής για διπλοστιβάδα DPPC σε υγροκρυσταλλική φάση, στο στατιστικό σύνολο NPT, σε πίεση 1 bar και θερμοκρασία 350 K [76]. Για την καθαρή DPPC, υπολόγισαν το πάχος της διπλοστιβάδας στην τιμή 3.93 nm.

Τα παραπάνω βιβλιογραφικά δεδομένα, είναι ικανοποιητικά κοντά στα δεδομένα που προέκυψαν στον πίνακα 2. Επιπλέον, από τα αποτελέσματα του πίνακα 2 παρατηρείται πως κατά την αύξηση της συγκέντρωσης της διφαινυδραμίνης, υπάρχει μια μικρή μείωση στο πάχος της διπλοστιβάδας. Αυτή οφείλεται στις υδρόφοβες ελκτικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των υδρόφοβων ουρών της διπλοστιβάδας και του φαρμάκου. Το παραπάνω φαινόμενο παρατηρείται και για άλλα υδρόφοβα φάρμακα τα μειώνουν το πάχος λιποσωμάτων που έχουν ως στόχο την στοχευμένη μεταφορά τους [77].

### 3.6 Επιφάνεια ανά λιπίδιο

Η επιφάνεια ανά λιπίδιο είναι ένα αρκετά σημαντικό μέγεθος που εμφανίζεται σε βιολογικές μεμβράνες. Για την επιφάνεια ανά λιπίδιο μιας μονοστιβάδας, διαιρείται το εμβαδόν της με το πλήθος των λιπιδικών μορίων που την αποτελούν. Ο πειραματικός προσδιορισμός του μεγέθους πάλι βασίζεται στον μαγνητικό πυρηνικό συντονισμό [78] και τις ακτίνες X [79].

Στην παρούσα εργασία, η επιφάνεια ανά λιπίδιο μελετάται υπολογιστικά μέσω του GROMACS. Στο κουτί της προσομοίωσης, η λιπιδική διπλοστιβάδα είναι παράλληλη και καταλαμβάνει όλο το εμβαδόν στο επίπεδο που ορίζουν οι άξονες  $X$  και  $Y$ . Πιο συγκεκριμένα, με την εντολή `energy` του GROMACS μετρείται η έκταση του κουτιού στους άξονες  $X$  και  $Y$  κατά την διάρκεια του χρόνου της προσομοίωσης. Οι προσομοιώσεις διεξάγονται στο στατιστικό σύνολο NPT, και για να διατηρείται η πίεση σταθερή, αλλάζει ο όγκος. Έπειτα, μέσω της παρακάτω εξίσωσης, υπολογίζεται η επιφάνεια ανά λιπίδιο συναρτήσει του χρόνου.

$$A = \frac{L_x L_y}{N/2} \quad (52)$$

$L_x$  και  $L_y$  είναι τα μήκη των αξόνων  $X$  και  $Y$ , συναρτήσει του χρόνου, ενώ  $N$  είναι τα μόρια της διπλοστιβάδας στην προσομοίωση, εν προκειμένω 288. Έπειτα ακολουθεί στατιστική ανάλυση μέσω του GROMACS και της εντολής `analyze`. Μέσω αυτής, υπολογίζεται τόσο η μέση τιμή μέσα στον χρόνο, όσο και η τυπική απόκλιση. Τα αποτελέσματα για τα συστήματα που προσομοιώθηκαν παρουσιάζονται στον πίνακα 3.

Πίνακας 3: Επιφάνεια ανά λιπίδιο συναρτήσει της συγκέντρωσης του φαρμάκου

Συγκέντρωση διφαινυδραμίνης	Επιφάνεια ανά λιπίδιο ( $\text{nm}^2/\text{lipid}$ )
3.36 % mol	$0.6512 \pm 0.0002$
6.49 % mol	$0.6624 \pm 0.0002$

Με βάση τα πειραματικά δεδομένα, η επιφάνεια ανά λιπίδιο μια διπλοστιβάδας DPPC στους 323 K είναι  $0.62 \pm 0.02 \text{ nm}^2$  [80]. Επιπλέον, υπάρχουν βιβλιογραφικά δεδομένα και για προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής λιπιδικής διπλοστιβάδας DPPC, στο στατιστικό σύνολο NPT, στους 323 K και σε πίεση 1 bar [81]. Στην εργασία



των Modarress et al η επιφάνεια ανά λιπίδιο υπολογίζεται 0.642 nm<sup>2</sup>. Τα αποτελέσματα από την προσομοίωση, λοιπόν, είναι ικανοποιητικά κοντά στα πειραματικά δεδομένα.

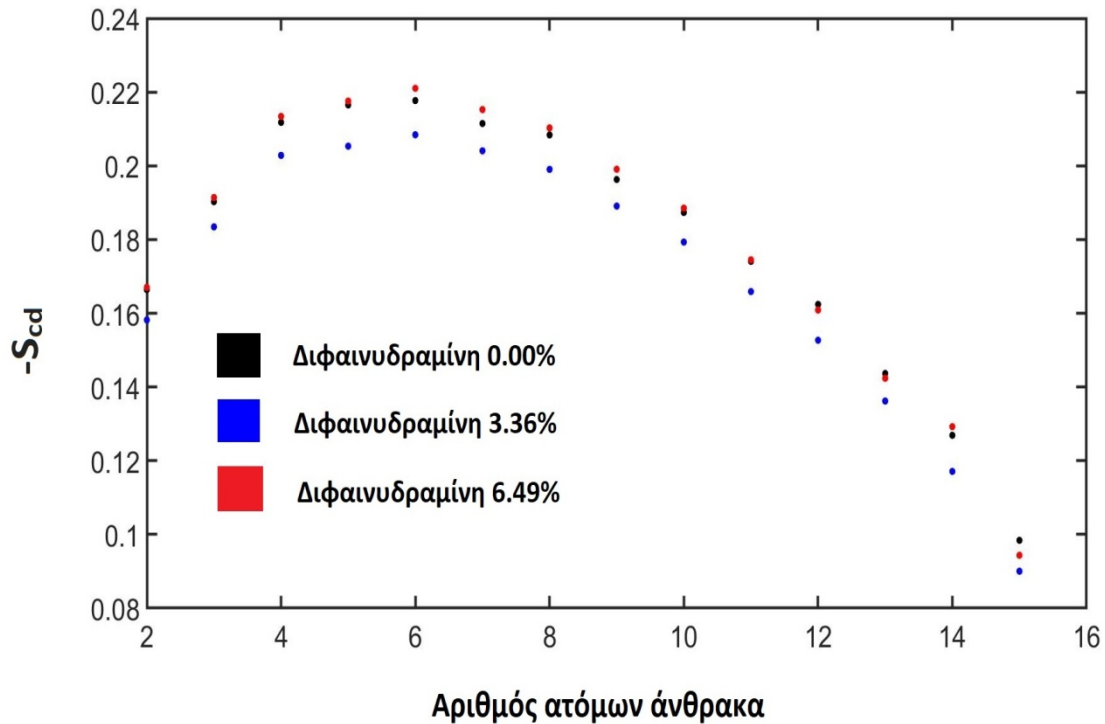
Με βάση τα αποτελέσματα του πίνακα 3, παρατηρείται μια μικρή αύξηση της επιφάνειας ανά λιπίδιο κατά την αύξηση της συγκέντρωσης της διφαινυδραμίνης. Παρόμοια συμπεριφορά παρουσιάζει η διπλοστιβάδα DPPC και στις αναφορές 81 και 82.

### 3.7 Παράμετρος τάξης

Για να διερευνηθεί κατά πόσο η παρουσία της διφαινυδραμίνης επηρεάζει την διαμόρφωση των αλκυλικών αλυσίδων της διπλοστιβάδας, χρησιμοποιείται η παράμετρος τάξης. Το μόριο DPPC διαθέτει δύο ανισομερείς αλκυλικές αλυσίδες sn1 και sn2 με μήκος 16 άνθρακες η καθεμία, όπως φαίνονται στην εικόνα 5. Επομένως, υπολογίζονται οι παράμετροι τάξης της κάθε αλυσίδας και έπειτα ο μέσος όρος τους.

Τα παραπάνω πραγματοποιούνται με την εντολή order του GROMACS. Επισημαίνεται πως φυσικό νόημα έχουν μόνο οι υπολογισμοί από το δεύτερο έως τον προτελευταίο άνθρακα των αλυσίδων.

Έτσι, στο παρακάτω διάγραμμα αποτυπώνονται οι τιμές της παραμέτρου τάξης για κάθε άνθρακα. Με μαύρο χρώμα είναι οι τιμές της παραμέτρου τάξης χωρίς την παρουσία φαρμάκου στο σύστημα, ενώ με μπλε και κόκκινο χρώμα δίνονται οι τιμές για συγκέντρωση φαρμάκου 3.36% mol και 6.49% mol αντίστοιχα.



Διάγραμμα 9: Παράμετροι τάξης των ατόμων άνθρακα των υδρόφοβων ουρών των μορίων DPPC για τις διάφορες συγκεντρώσεις του φαρμάκου.

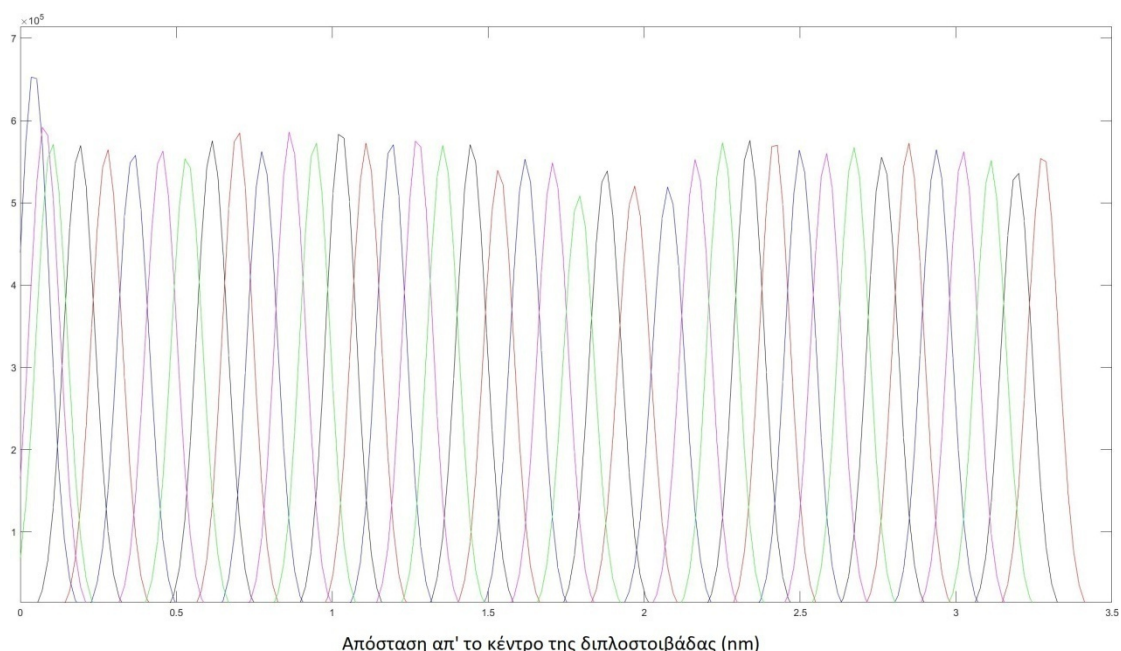
Τα αποτελέσματα που προκύπτουν είναι αρκετά κοντά στα πειραματικά αποτελέσματα μέσω μαγνητικού πυρηνικού συντονισμού [83-84] όσο και στα αποτελέσματα άλλων προσομοιώσεων μοριακής δυναμικής για λιπιδικές διπλοστιβάδες DPPC [85].

Από το διάγραμμα 9 παρατηρείται πως οι παράμετροι τάξεις και στις τρεις περιπτώσεις, δεν παρουσιάζουν σημαντική διαφορά. Μάλιστα, υπολογίστηκε ο συντελεστής μεταβλητότητας της μέσης τιμής των τριών περιπτώσεων της παραμέτρου τάξης κάθε άνθρακα. Και για τους 14 άνθρακες, ο συντελεστής μεταβλητότητας είναι μικρότερος από 5%.

### 3.8 Υπολογισμός Ελεύθερης Ενέργειας

Ο υπολογισμός της κατανομής της ελεύθερης ενέργειας Gibbs και του δυναμικού μέσης δύναμης PMF του συστήματος γίνεται με την μέθοδο ανάλυσης σταθμισμένου ιστογράμματος. Αυτή υλοποιείται στο GROMACS μέσω της εντολής wham [66]. Για να είναι ακριβής η περιγραφή του συστήματος, πρέπει τα ιστογράμματα που προέκυψαν από κάθε δειγματοληψία να αλληλεπικαλύπτονται και να καλύπτουν πλήρως την επιλεχθείσα συντεταγμένη της αντίδρασης [86]. Στην παρούσα εργασία, συντεταγμένη της αντίδρασης είναι ο άξονας Z, ο οποίος είναι κάθετος στην διπλοστιβάδα, ενώ διεξήχθησαν συνολικά 42 προσομοιώσεις εξαναγκασμένης ταλάντωσης ενός μορίου διφαινυδραμίνης .

Έτσι, κατασκευάζεται το παρακάτω διάγραμμα που περιλαμβάνει τα ιστογράμματα που περιγράφουν την πιθανότητα να βρεθεί το μόριο της διφαινυδραμίνης στην συγκεκριμένη θέση. Τα διαδοχικά διαγράμματα σχεδιάζονται με διαφορετικό χρώμα για λόγους ευκρίνειας. Οι δειγματοληψίες ξεκινούν από το κέντρο της διπλοστιβάδας και εκτίνονται κατά μήκος του άξονα Z.

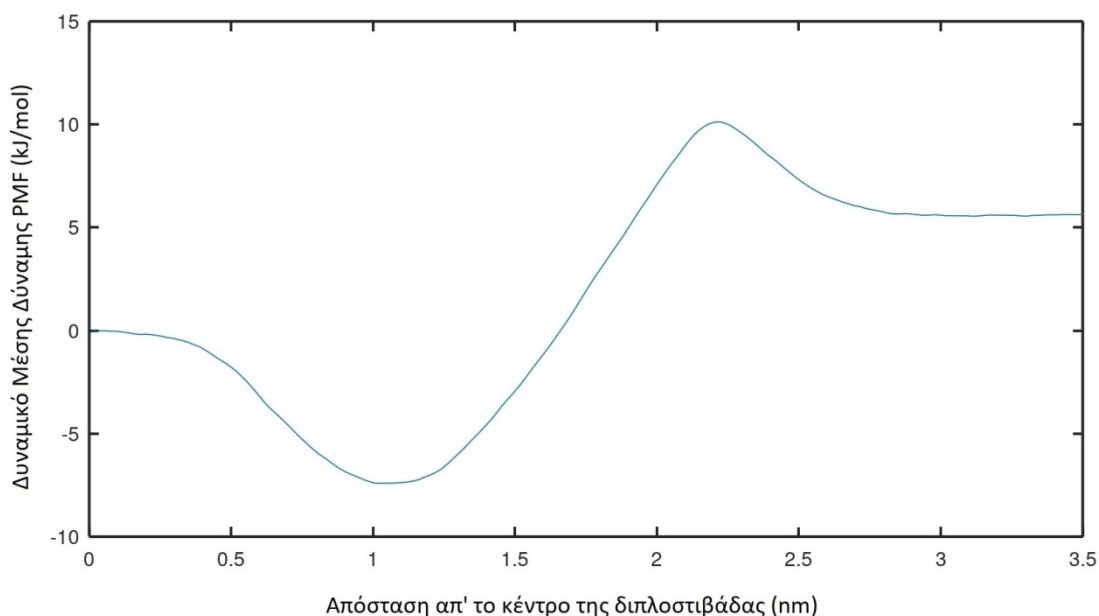


Διάγραμμα 10: Ιστογράμματα παραθύρων δειγματοληψίας κάλυψης κατά μήκος του κάθετου στην διπλοστιβάδα άξονα Z, με αρχή των αξόνων το κέντρο της διπλοστιβάδας.

Το διάγραμμα 10 παρουσιάζει παρόμοια αποτελέσματα με τη βιβλιογραφία [87]. Από το διάγραμμα 10 προκύπτει πως υπάρχει πλήρης κάλυψη των παραθύρων δειγματοληψίας. Άρα τα αποτελέσματα που θα προκύψουν για το δυναμικό μέσης δύναμης PMF είναι ορθά.

Για τον υπολογισμό του δυναμικού μέσης δύναμης συναρτήσεως των συντεταγμένων της αντίδρασης, η μεθοδολογία των υπολογισμών που εκτελεί το GROMACS κατά την μέθοδο WHAM είναι αυτή που περιγράφεται στην ενότητα 2.10. και χρησιμοποιείται ευρέως στην βιβλιογραφία [15], [87]. Επισημαίνεται πως στο στατιστικό σύνολο NPT, το δυναμικό μέσης δύναμης ταυτίζεται με την ενέργεια Gibbs, οπότε από τις τιμές και το διάγραμμα που θα προκύψει μπορούν να εξαχθούν οι θερμοδυναμικές ιδιότητες του συστήματος.

Έτσι, στο παρακάτω διάγραμμα αποτυπώνεται το δυναμικό μέσης δύναμης κατά μήκος του άξονα Z, ο οποίος είναι κάθετος στην διπλοστιβάδα. Οι άξονες ξεκινούν από το κέντρο της διπλοστιβάδας, στο η τιμή του PMF τίθεται ίση με μηδέν.



Διάγραμμα 11: Δυναμικό μέσης δύναμης PMF συναρτήσεως της απόστασης από το κέντρο της διπλοστιβάδας.

Το διάγραμμα 11 δίνει παρόμοια αποτελέσματα για το δυναμικό μέσης δύναμης με δημοσιεύσεις που αφορούν επίσης φάρμακα που διεισδύουν σε διπλοστιβάδες [88, 89].

Από το διάγραμμα 11 προκύπτει πως η ενέργεια Gibbs και το δυναμικό μέσης δύναμης παρουσιάζουν το ολικό ελάχιστο στην θέση  $\zeta=1.03$  nm από το κέντρο της διπλοστιβάδας, όπου το δυναμικό μέσης δύναμης παίρνει την τιμή  $PMF=-7.412$  kJ/mol. Αυτή η θέση, λοιπόν είναι η προτιμητέα θερμοδυναμικά θέση του μορίου της διφαινυδραμίνης εντός της διπλοστιβάδας.

Η προτιμητέα θέση που προσδιορίστηκε μέσω αυτής της μεθόδου που βασίζεται στην θερμοδυναμική του συστήματος, ταυτίζεται με τα αποτελέσματα της ενότητας 3.3, όπου η προτιμητέα θέση του φαρμάκου με βάση τα προφίλ μαζικής πυκνότητας, βρέθηκε σε απόσταση 1.01 nm για συγκέντρωση 3.36% mol και σε απόσταση 1.11 nm για συγκέντρωση 6.49% mol, από το κέντρο της διπλοστιβάδας. Η συμβατότητα των αποτελεσμάτων της προτιμητέας μέσα από διαφορετικές μεθόδους επιβεβαιώνει πλήρως τα ευρήματα.

Μέσω των αποτελεσμάτων για το δυναμικό μέσης δύναμης, μπορούν να υπολογιστούν οι ελεύθερες ενέργειες Gibbs που απαιτούνται ή απελευθερώνονται κατά την διείσδυση της διφαινυδραμίνης στην διπλοστιβάδα.

Όταν το φάρμακο βρίσκεται στην υδατική φάση και σε μεγάλη απόσταση από την διπλοστιβάδα, παρατηρείται μία σταθερή τιμή για το δυναμικό μέσης δύναμης, ίση με 5.687 kJ/mol. Καθώς η διφαινυδραμίνη πλησιάζει την διπλοστιβάδα, το δυναμικό συνεχώς αυξάνεται, διαμορφώνοντας ένα φράγμα δυναμικού. Αυτό παίρνει την μέγιστη τιμή του σε απόσταση 2.22 nm από το κέντρο της διπλοστιβάδας, όπου παίρνει την τιμή 10.121 kJ/mol.

Με βάση τα παραπάνω, υπολογίζεται το ενεργειακό φράγμα  $E_a$  που πρέπει να υπερβεί η διφαινυδραμίνη, έτσι ώστε να εισέλθει εντός της λιπιδικής διπλοστιβάδας.

$$E_a = PMF(\max) - PMF(> 3.5 \text{ nm}) \quad (53)$$

Σύμφωνα με την εξίσωση 53, το ενεργειακό φράγμα που πρέπει να υπερβεί το φάρμακο, διαμορφώνεται στα 4.434 kJ/mol.

Οι θερμοδυναμικές ιδιότητες τέτοιων συστημάτων μοριακών προσομοιώσεων μπορούν να εκτιμηθούν σχηματίζοντας εξισώσεις με βάση το δυναμικό μέσης δύναμης όπως στην αναφορά 90. Θερμοδυναμικές ιδιότητες πρόσδεσης φαρμάκου σε διπλοστιβάδα μπορούν να υπολογιστούν και πειραματικά, προσδιορίζοντας κινητικές παραμέτρους [91].

Άλλο ένα κρίσιμο ερώτημα για το σύστημα είναι το κατά πόσο η διείσδυση του φαρμάκου από την υδατική φάση στην λιπιδική φάση είναι ενεργειακά ευνοϊκή. Για αυτόν τον λόγο πρέπει να υπολογισθεί η διαφορά της ελεύθερης ενέργειας Gibbs μεταξύ των δύο καταστάσεων.

$$\Delta G_{partitioning} = PMF(\min) - PMF(> 3.5 \text{ nm}) \quad (54)$$

Η διαφορά της ελεύθερης ενέργειας Gibbs στις δύο αυτές φάσεις, σύμφωνα με την εξίσωση 54, είναι ίση με -13.099 kJ/mol, με το αρνητικό πρόσημο στην διαφορά ελεύθερης ενέργειας Gibbs να σημαίνει πως η τελική φάση είναι θερμοδυναμικά ευνοϊκότερη και πως η διφαινυδραμίνη διεισδύει αυθόρμητα εντός της λιπιδικής διπλοστιβάδας.

Επιπλέον, από τα προφίλ μαζικής πυκνότητας για το φάρμακο, όπως διαμορφώθηκαν στα διαγράμματα 5 και 6, προκύπτει πως το φάρμακο έχει την ικανότητα να μεταπηδά από την μία μονοστιβάδα στην άλλη. Η ενέργεια που απαιτείται για να μετακινηθεί ένα μόριο φαρμάκου από την προτιμητέα του θέση στο κέντρο της διπλοστιβάδας, απ' όπου μπορεί να μεταπηδήσει στην άλλη μονοστιβάδα, υπολογίζεται ως εξής.

$$\Delta G_{jump} = PMF(0) - PMF(\min) \quad (55)$$

Λαμβάνοντας υπόψη, πως το δυναμικό μέσης δύναμης παίρνει την τιμή 0 στο κέντρο της διπλοστιβάδας, η ενέργεια που απαιτείται για να μεταπηδήσει ένα μόριο διφαινυδραμίνης από την μία μονοστιβάδα στην άλλη, υπολογίζεται σύμφωνα με την εξίσωση 55 σε 7.412 kJ/mol.

## 4. Συμπεράσματα

Ξεκινώντας τις προσομοιώσεις, ενώ η διφαινυδραμίνη βρίσκεται στην υδατική φάση, σε μικρό χρονικό διάστημα, διεισδύει αυθόρμητα στην λιπιδική διπλοστιβάδα. Μάλιστα, από τα προφίλ μαζικής πυκνότητας προκύπτει πως όλη ποσότητα της διφαινυδραμίνης περνάει στην λιπιδική φάση.

Από τα προφίλ μαζικής πυκνότητας προκύπτει πως η προτιμητέα θέση του φαρμάκου είναι σε απόσταση 1.01 nm από το κέντρο της διπλοστιβάδας, για συγκέντρωση 3.36 % mol, ενώ για το δεύτερο σύστημα με συγκέντρωση 6.49 % mol η προτιμητέα θέση του φαρμάκου βρέθηκε σε απόσταση 1.11 nm από το κέντρο της διπλοστιβάδας.

Επιπλέον, στα διαγράμματα μαζικής πυκνότητας φαίνεται πως η συγκέντρωση της διφαινυδραμίνης στο κέντρο της διπλοστιβάδας είναι μη μηδενική, κάτι που σημαίνει πως λαμβάνουν χώρα φαινόμενα μεταπήδησης από τη μία μονοστιβάδα στην άλλη.

Λόγω της χημικής δομής των μορίων, η διφαινυδραμίνη σχηματίζει δεσμούς υδρογόνου μόνο με τα μόρια του νερού. Επιπλέον επειδή σχεδόν όλη η ποσότητα του φαρμάκου βρίσκεται εντός της διπλοστιβάδας, η διφαινυδραμίνη σχηματίζει δεσμούς υδρογόνου με τα μόρια του νερού που έχουν διεισδύσει εντός της λιπιδικής φάσης. Το δίκτυο δεσμών υδρογόνου που σχηματίζεται είναι σχετικά ασθενές.

Για τη μελέτη του πάχους της μεμβράνης, χρησιμοποιείται η απόσταση μεταξύ των δύο ατόμων φωσφόρου στον άξονα Z, ο οποίος είναι κάθετος στην διπλοστιβάδα. Αυτή η απόσταση προκύπτει από την μελέτη των προφίλ μαζικής πυκνότητας του φωσφόρου. Οι τιμές που υπολογίστηκαν συμφωνούν τόσο με την πειραματική όσο και την υπολογιστική βιβλιογραφία. Επιπλέον, κατά την αύξηση της συγκέντρωσης της διφαινυδραμίνης παρατηρείται μια μικρή μείωση του πάχους της διπλοστιβάδας.

Παρομοίως, υπολογίζεται η επιφάνεια ανά λιπίδιο για την λιπιδική διπλοστιβάδα. Οι μετρήσεις συμφωνούν με τα βιβλιογραφικά δεδομένα και κατά την αύξηση της συγκέντρωσης του φαρμάκου αυξάνεται και η επιφάνεια ανά λιπίδιο.

Για την δομή και την τάξη του υδροκρυσταλλικού συστήματος της λιπιδικής διπλοστιβάδας, χρησιμοποιείται η παράμετρος τάξης. Από την σύγκριση των τιμών της παραμέτρου τάξης της λιπιδικής διπλοστιβάδας DPPC, τόσο με την παρουσία φαρμάκου, όσο και χωρίς αυτή, προκύπτει πως δεν υπάρχει διαφορά μεταξύ αυτών



των τιμών. Έτσι η διφαινυδραμίνη δεν επηρεάζει την τάξη της λιπιδικής διπλοστιβάδας.

Κατά τον υπολογισμό του δυναμικού μέσης δύναμης PMF, υπολογίζεται η ενεργειακά προτιμητέα θέση του φαρμάκου, σε απόσταση 1.03 nm από το κέντρο της διπλοστιβάδας. Αυτό το αποτέλεσμα ταυτίζεται με τα ευρήματα από τα προφίλ μαζικής πυκνότητας. Επιπλέον, οι θερμοδυναμικοί υπολογισμοί για το σύστημα δείχνουν πως υπάρχει ένα ενεργειακό φράγμα που πρέπει να διαβεί η διφαινυδραμίνη ώστε να περάσει από την υδατική στην λιπιδική φάση. Όμως, από την διαφορά ελεύθερης ενέργειας Gibbs προκύπτει πως η διείσδυση του φαρμάκου στην διπλοστιβάδα, είναι αυθόρμητη και θερμοδυναμικά ευνοϊκή.

## 5. Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

Κατά την εκπόνηση της διπλωματικής εργασίας αναδύθηκαν καινούρια ερωτήματα με ιδιαίτερο επιστημονικό ενδιαφέρον.

- i. Προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής για το υγροκρυσταλλικό σύστημα DPPC και διφαινυδραμίνης σε μεγαλύτερες χωρικές και χρονικές κλίμακες. Σε αυτή την περίπτωση μπορούν να υπολογιστούν με μεγάλη ακρίβεια ελαστικές ιδιότητες της μεμβράνης ως συνάρτηση της συγκέντρωσης του φαρμάκου.
- ii. Προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής για την διφαινυδραμίνη και την διπλοστιβάδα DPPC, όπου η διπλοστιβάδα αποτελείται και από άλλα μόρια, όπως η χοληστερόλη, πρωτεΐνες και υδατάνθρακες οι οποίες απαντώνται σε βιολογικές μεμβράνες. Έτσι μπορεί να διερευνηθεί κατά πόσο λαμβάνει χώρα και ενεργή μεταφορά της διφαινυδραμίνης.
- iii. Προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής μεταξύ της διφαινυδραμίνης και λιπιδικής διπλοστιβάδας αποτελούμενη από άλλο φωσφολιπίδιο, όπως η 1-παλμιτοϋλ-2-ολεοϋλφωσφατιδοχολίνη (POPC).
- iv. Προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής και *ab initio* για την αλληλεπίδραση της διφαινυδραμίνης με τμήματα πρωτεϊνών που λειτουργούν ως υποδοχείς της ισταμίνης και της ακετυλοχολίνης. Το σύστημα θα μπορούσε να περιέχει και λιπιδική διπλοστιβάδα και να λάβει χώρα υπολογιστική ηλεκτροφυσιολογική ανάλυση για την μεταφορά ιόντων μέσω των υποδοχέων.
- v. Συλλογή δεδομένων από την βιβλιογραφία αλλά και από αποτελέσματα που παρήχθησαν στην Ομάδα Υπολογιστικής Επιστήμης και Τεχνικής των Υλικών, για προσομοιώσεις φαρμάκων παρόμοιων με την διφαινυδραμίνη, στις ίδιες συνθήκες. Από αυτά μπορεί να εκπαιδευτεί μοντέλο βαθιάς μηχανικής μάθησης για τον υπολογισμό ιδιοτήτων φαρμάκων.



## 6. Βιβλιογραφία

1. Κόκοτος Γεώργιος, Μαγκριώτη Βικτώρια, Φαρμακοχημεία, Εκδόσεις Κάλλιπος, 2015
2. Simon, F.E.R. and Simons, K.J., 2008. H1 antihistamines: current status and future directions. *World Allergy Organization Journal*, 1(9), pp.145-155.
3. McMurry John, Οργανική Χημεία, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 2017
4. Τραχανάς Στέφανος, Κβαντομηχανική 1, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 2007
5. Wishart, D.S., Feunang, Y.D., Guo, A.C., Lo, E.J., Marcu, A., Grant, J.R., Sajed, T., Johnson, D., Li, C., Sayeeda, Z. and Assempour, N., 2018. DrugBank 5.0: a major update to the DrugBank database for 2018. *Nucleic acids research*, 46(D1), pp.D1074-D1082.
6. Adlard, M., Okafo, G., Meenan, E. and Camilleri, P., 1995. Rapid estimation of octanol–water partition coefficients using deoxycholate micelles in capillary electrophoresis. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, (21), pp.2241-2243.
7. Thangam, E.B., Jemima, E.A., Singh, H., Baig, M.S., Khan, M., Mathias, C.B., Church, M.K. and Saluja, R., 2018. The role of histamine and histamine receptors in mast cell-mediated allergy and inflammation: the hunt for new therapeutic targets. *Frontiers in immunology*, 9, p.1873.
8. Chapel Helen, Haeney Mansel, Misbah Siraj, Snowden Neil, Essentials of Clinical Immunology, Wiley Blackwell, 2014
9. Ballabh, P., Braun, A. and Nedergaard, M., 2004. The blood–brain barrier: an overview: structure, regulation, and clinical implications. *Neurobiology of disease*, 16(1), pp.1-13.
10. Tiligada, E. and Ennis, M., 2020. Histamine pharmacology: from Sir Henry Dale to the 21st century. *British Journal of Pharmacology*, 177(3), pp.469-489.
11. Thakkar, M.M., 2011. Histamine in the regulation of wakefulness. *Sleep medicine reviews*, 15(1), pp.65-74.
12. Liu, H. and Farley, J.M., 2005. Effects of first and second generation antihistamines on muscarinic induced mucus gland cell ion transport. *BMC pharmacology*, 5(1), pp.1-10.
13. Karrim, N., Magula, N. and Saman, Y., 2017. Antihistamines for motion sickness. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2017(7).
14. Cheung, B.S., Heskin, R. and Hofer, K.D., 2003. Failure of cetirizine and fexofenadine to prevent motion sickness. *Annals of Pharmacotherapy*, 37(2), pp.173-177.

15. Megariotis, G., Romanos, N., Avramopoulos, A., Mikaelian, G. and Theodorou, D.N., 2021. In silico study of levodopa in hydrated lipid bilayers at the atomistic level. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 107, p.107972.
16. Brocks, D.R., 1999. Anticholinergic drugs used in Parkinson's disease: An overlooked class of drugs from a pharmacokinetic perspective. *J Pharm Pharm Sci*, 2(2), pp.39-46.
17. Kay, G.G., Berman, B., Mockoviak, S.H., Morris, C.E., Reeves, D., Starbuck, V., Sukenik, E. and Harris, A.G., 1997. Initial and steady-state effects of diphenhydramine and loratadine on sedation, cognition, mood, and psychomotor performance. *Archives of internal medicine*, 157(20), pp.2350-2356.
18. Richardson, K., Fox, C., Maidment, I., Steel, N., Loke, Y.K., Arthur, A., Myint, P.K., Grossi, C.M., Mattishent, K., Bennett, K. and Campbell, N.L., 2018. Anticholinergic drugs and risk of dementia: case-control study. *bmj*, 361.
19. Williams, C.H., 2014. Malignant hyperthermia: A runaway thermogenic futile cycle at the sodium channel level. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 2014.
20. Atkins Peter, De Paula Julio, Φυσικοχημεία, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 2014
21. Χαριτίδης Κωνσταντίνος, Νανοδομές Νανοϋλικά, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις ΕΜΠ, 2018
22. Shinoda, K., Yamaguchi, T. and Hori, R., 1961. The surface tension and the critical micelle concentration in aqueous solution of  $\beta$ -D-alkyl glucosides and their mixtures. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 34(2), pp.237-241.
23. Manojlović, J.Ž., 2012. The Krafft temperature of surfactant solutions. *Thermal Science*, 16(suppl. 2), pp.631-640.
24. Κουή Μαρία, Υγροί Κρύσταλλοι, Εκδόσεις Κάλλιπος, 2018
25. Smith, R. and Tanford, C., 1972. The critical micelle concentration of l- $\alpha$ -dipalmitoylphosphatidylcholine in water and water/methanol solutions. *Journal of molecular biology*, 67(1), pp.75-83.
26. Grabielle-Madlmont, C. and Perron, R., 1983. Calorimetric studies on phospholipid—water systems: I. dl-Dipalmitoylphosphatidylcholine (DPPC)—water system. *Journal of colloid and interface science*, 95(2), pp.471-482.
27. den Otter, W.K. and Shkulipa, S.A., 2007. Intermonolayer friction and surface shear viscosity of lipid bilayer membranes. *Biophysical journal*, 93(2), pp.423-433.
28. Cicuta, P., Keller, S.L. and Veatch, S.L., 2007. Diffusion of liquid domains in lipid bilayer membranes. *The journal of physical chemistry B*, 111(13), pp.3328-3331.

29. Megariotis, G., Romanos, N.A. and Theodorou, D.N., 2021, March. Molecular simulations of dopamine in a lipid bilayer. In *AIP Conference Proceedings* (Vol. 2343, No. 1, p. 130007). AIP Publishing LLC.
30. Alberts Bruce et al., Βασικές Αρχές Κυτταρικής Βιολογίας, Εκδόσεις Πασχαλίδης, 2018
31. Yeagle, P.L., 1985. Cholesterol and the cell membrane. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Biomembranes*, 822(3-4), pp.267-287.
32. Silverstein, S.C., Steinman, R.M. and Cohn, Z.A., 1977. Endocytosis. *Annual review of biochemistry*, 46(1), pp.669-722.
33. Almers, W., 1990. Exocytosis. *Annual Review of Physiology*, 52(1), pp.607-624.
34. Cooper, S.T. and McNeil, P.L., 2015. Membrane repair: mechanisms and pathophysiology. *Physiological reviews*, 95(4), pp.1205-1240.
35. Palade, G.E., 1956. The endoplasmic reticulum. *The Journal of biophysical and biochemical cytology*, 2(4), p.85.
36. Bernhard, W., 2016. Lung surfactant: Function and composition in the context of development and respiratory physiology. *Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger*, 208, pp.146-150.
37. Li, J., Wang, X., Zhang, T., Wang, C., Huang, Z., Luo, X. and Deng, Y., 2015. A review on phospholipids and their main applications in drug delivery systems. *Asian journal of pharmaceutical sciences*, 10(2), pp.81-98.
38. Θεοδώρου Δώρος, Σύνδεση Μικροσκοπικών Μακροσκοπικών Ιδιοτήτων μέσω Η/Υ, Σημειώσεις ΕΜΠ, 2010
39. Hehre, W.J., 1976. Ab initio molecular orbital theory. *Accounts of Chemical Research*, 9(11), pp.399-406.
40. Van Der Spoel, D., Lindahl, E., Hess, B., Groenhof, G., Mark, A.E. and Berendsen, H.J., 2005. GROMACS: fast, flexible, and free. *Journal of computational chemistry*, 26(16), pp.1701-1718.
41. <https://hpc.grnet.gr/supercomputer/>
42. Kittel Charles et al, Μηχανική, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις ΕΜΠ, 1998
43. Κούτσελος Ανδρέας, Στατιστική Θερμοδυναμική, Εκδόσεις Κάλλιπος, 2015
44. Οικονόμου Ελευθέριος, Στατιστική Φυσική και Θερμοδυναμική, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 2001
45. Berendsen, H.J., Postma, J.V., Van Gunsteren, W.F., DiNola, A.R.H.J. and Haak, J.R., 1984. Molecular dynamics with coupling to an external bath. *The Journal of chemical physics*, 81(8), pp.3684-3690.
46. Παπαϊωάννου Άγγελος, Μηχανική των Ρευστών, Εκδόσεις Κοράλι, 2002
47. Nosé, S., 1984. A molecular dynamics method for simulations in the canonical ensemble. *Molecular physics*, 52(2), pp.255-268.
48. Hoover, W.G., 1985. Canonical dynamics: Equilibrium phase-space distributions. *Physical review A*, 31(3), p.1695.

49. Parrinello, M. and Rahman, A., 1981. Polymorphic transitions in single crystals: A new molecular dynamics method. *Journal of Applied physics*, 52(12), pp.7182-7190.
50. Nosé, S. and Klein, M.L., 1983. Constant pressure molecular dynamics for molecular systems. *Molecular Physics*, 50(5), pp.1055-1076.
51. Παντελίδης Γιώργος et al, Γραμμική Άλγεβρα, Εκδόσεις Τσότρας, 2016
52. Verlet, L., 1967. Computer "experiments" on classical fluids. I. Thermodynamical properties of Lennard-Jones molecules. *Physical review*, 159(1), p.98.
53. Hockney, R.W., Goel, S.P. and Eastwood, J.W., 1974. Quiet high-resolution computer models of a plasma. *Journal of Computational Physics*, 14(2), pp.148-158.
54. Klauda, J.B., Venable, R.M., Freites, J.A., O'Connor, J.W., Tobias, D.J., Mondragon-Ramirez, C., Vorobyov, I., MacKerell Jr, A.D. and Pastor, R.W., 2010. Update of the CHARMM all-atom additive force field for lipids: validation on six lipid types. *The journal of physical chemistry B*, 114(23), pp.7830-7843.
55. Lennard-Jones, J.E., 1924. On the determination of molecular fields. II. From the equation of state of gas. *Proc. Roy. Soc. A*, 106, pp.463-477.
56. Lennard-Jones, J.E., 1931. Cohesion. *Proceedings of the Physical Society (1926-1948)*, 43(5), p.461.
57. Πολυμένης Στυλιανός, Φυσικοχημεία 1, Σημειώσεις ΕΜΠ, 2016
58. Jorgensen, W.L., Chandrasekhar, J., Madura, J.D., Impey, R.W. and Klein, M.L., 1983. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *The Journal of chemical physics*, 79(2), pp.926-935.
59. Essmann, U., Perera, L., Berkowitz, M.L., Darden, T., Lee, H. and Pedersen, L.G., 1995. A smooth particle mesh Ewald method. *The Journal of chemical physics*, 103(19), pp.8577-8593.
60. Ewald, P.J.A.P., 1921. Evaluation of optical and electrostatic lattice potentials. *Ann. Phys.*, 64, pp.253-287.
61. Darden, T., York, D. and Pedersen, L., 1993. Particle mesh Ewald: An N · log (N) method for Ewald sums in large systems. *The Journal of chemical physics*, 98(12), pp.10089-10092.
62. Yeh, I.C. and Hummer, G., 2004. System-size dependence of diffusion coefficients and viscosities from molecular dynamics simulations with periodic boundary conditions. *The Journal of Physical Chemistry B*, 108(40), pp.15873-15879.
63. Chapman, J.B.J., 2018. *Improving the Functional Control of Ferroelectrics Using Insights from Atomistic Modelling* (Doctoral dissertation, UCL (University College London)).

64. Kirkwood, J.G., 1935. Statistical mechanics of fluid mixtures. *The Journal of chemical physics*, 3(5), pp.300-313.
65. Kumar, S., Rosenberg, J.M., Bouzida, D., Swendsen, R.H. and Kollman, P.A., 1992. The weighted histogram analysis method for free-energy calculations on biomolecules. I. The method. *Journal of computational chemistry*, 13(8), pp.1011-1021.
66. Hub, J.S., De Groot, B.L. and Van Der Spoel, D., 2010. g\_wham A Free Weighted Histogram Analysis Implementation Including Robust Error and Autocorrelation Estimates. *Journal of chemical theory and computation*, 6(12), pp.3713-3720.
67. Kästner, J., 2011. Umbrella sampling. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 1(6), pp.932-942.
68. Roux, B., 1995. The calculation of the potential of mean force using computer simulations. *Computer physics communications*, 91(1-3), pp.275-282.
69. Pettersen, E.F., Goddard, T.D., Huang, C.C., Couch, G.S., Greenblatt, D.M., Meng, E.C. and Ferrin, T.E., 2004. UCSF Chimera—a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of computational chemistry*, 25(13), pp.1605-1612.
70. The Math Works, Inc. MATLAB. Version R2022a, The Math Works, Inc., 2022. Computer Software.
71. Premanarayani Menon, N.N., 2017. *Formulation and physicochemical characterization of diethylaminoethyl dextran coated liposome as a drug carrier and its effect on the rheological properties of carbopol gel*/Premanarayani Menon Narayanan Nair (Doctoral dissertation, University of Malaya).
72. Bretscher, M.S., 1972. Asymmetrical lipid bilayer structure for biological membranes. *Nature New Biology*, 236(61), pp.11-12.
73. Seiter, C.H.A. and Chan, S.I., 1973. Molecular motion in lipid bilayers. Nuclear magnetic resonance line width study. *Journal of the American Chemical Society*, 95(23), pp.7541-7553.
74. Leekumjorn, S. and Sum, A.K., 2007. Molecular studies of the gel to liquid-crystalline phase transition for fully hydrated DPPC and DPPE bilayers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1768(2), pp.354-365.
75. Kučerka, N., Nieh, M.P. and Katsaras, J., 2011. Fluid phase lipid areas and bilayer thicknesses of commonly used phosphatidylcholines as a function of temperature. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1808(11), pp.2761-2771.
76. Frigini, E.N., Cascales, J.L. and Porasso, R.D., 2018. Molecular dynamics simulations of glyphosate in a DPPC lipid bilayer. *Chemistry and physics of lipids*, 213, pp.111-117.



77. Mohammed, A.R., Weston, N., Coombes, A.G.A., Fitzgerald, M. and Perrie, Y., 2004. Liposome formulation of poorly water soluble drugs: optimisation of drug loading and ESEM analysis of stability. *International journal of pharmaceutics*, 285(1-2), pp.23-34.
78. Kinnun, J.J., Mallikarjunaiah, K.J., Petrache, H.I. and Brownb, M.F., 2014. Area Per Lipid and Elastic Deformation of Membranes: Atomistic View From Solid-State Deuterium NMR Spectroscopy.
79. Kučerka, N., Heberle, F.A., Pan, J. and Katsaras, J., 2015. Structural significance of lipid diversity as studied by small angle neutron and X-ray scattering. *Membranes*, 5(3), pp.454-472.
80. Nagle, J.F., 1993. Area/lipid of bilayers from NMR. *Biophysical journal*, 64(5), pp.1476-1481.
81. Nademi, Y., AMJAD IRANAGH, S.E.P.I.D.E.H., Yousefpour, A., Mousavi, S.Z. and Modarress, H., 2014. Molecular dynamics simulations and free energy profile of Paracetamol in DPPC and DMPC lipid bilayers. *Journal of Chemical Sciences*, 126(3), pp.637-647.
82. Μικαελιάν, Γ., 2021. In Silico μελέτη φαρμάκου του κεντρικού νευρικού συστήματος σε ενυδατωμένες λιπιδικές διπλοστιβάδες. Διπλωματική εργασία, ΕΜΠ
83. Ferrarini, A., Nordio, P.L., Moro, G.J., Crepeau, R.H. and Freed, J.H., 1989. A theoretical model of phospholipid dynamics in membranes. *The Journal of chemical physics*, 91(9), pp.5707-5721.
84. Douliez, J.P., Ferrarini, A. and Dufourc, E.J., 1998. On the relationship between CC and CD order parameters and its use for studying the conformation of lipid acyl chains in biomembranes. *The Journal of chemical physics*, 109(6), pp.2513-2518.
85. Smondyrev, A.M. and Berkowitz, M.L., 1999. Molecular dynamics study of Sn-1 and Sn-2 chain conformations in dipalmitoylphosphatidylcholine membranes. *The Journal of chemical physics*, 110(8), pp.3981-3985.
86. Mills, M. and Andricioaei, I., 2008. An experimentally guided umbrella sampling protocol for biomolecules. *The Journal of chemical physics*, 129(11), p.114101.
87. Αμπντουλχάντι, Β., 2017. Ατομιστικές προσομοιώσεις φαρμάκων εντός λιπιδικών μεμβρανών. Διπλωματική εργασία, ΕΜΠ
88. Carpenter, T.S., Kirshner, D.A., Lau, E.Y., Wong, S.E., Nilmeier, J.P. and Lightstone, F.C., 2014. A method to predict blood-brain barrier permeability of drug-like compounds using molecular dynamics simulations. *Biophysical journal*, 107(3), pp.630-641.
89. Meng, F. and Xu, W., 2013. Drug permeability prediction using PMF method. *Journal of molecular modeling*, 19(3), pp.991-997

90. Menichetti, R., Kanekal, K.H., Kremer, K. and Bereau, T., 2017. In silico screening of drug-membrane thermodynamics reveals linear relations between bulk partitioning and the potential of mean force. *The Journal of Chemical Physics*, 147(12), p.125101.
91. Gerebtzoff, G., Li-Blatter, X., Fischer, H., Frentzel, A. and Seelig, A., 2004. Halogenation of drugs enhances membrane binding and permeation. *ChemBioChem*, 5(5), pp.676-684.