ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΔΗΜΗΤΡΑ Σ ΧΑΡΙΣΗ

Χημικός

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΑΓΓΕΙΟΤΕΝΣΙΝΗΣ ΙΙ ΣΕ ΔΙΑΛΥΜΑ ΝΕΡΟΥ ΚΑΙ ΝΕΡΟΥ/ΑΙΘΑΝΟΛΗΣ (65% :35%) ΓΙΑ ΔΙΑΦΟΡΕΣ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΕΣ

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΕΙΑΣ

ΑΘΗΝΑ 2010

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΕΙΑΣ

ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΥ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ ΦΥΣΙΚΟΧΗΜΕΙΑΣ

ΔΗΜΗΤΡΑ Σ ΧΑΡΙΣΗ

Χημικός

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ:

Σάμιος Ιωάννης, Καθηγητής Τμήματος Χημείας

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Βύρας Κυριάκος, Καθηγητής Τμήματος Χημείας

Κούτσελος Ανδρέας, Αναπληρωτής Καθηγητής Τμήματος Χημείας

Σάμιος Ιωάννης, Καθηγητής Τμήματος Χημείας

Πρόλογος

Η εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια εκπόνησης διατριβής Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης, στο εργαστήριο Φυσικοχημείας του Τμήματος Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, υπό την επίβλεψη και καθοδήγηση του Καθηγητή Ιωάννου Σαμίου, κατά τη χρονική περίοδο από τον Οκτώβριο του έτους 2007 έως τον Δεκέμβριο 2009.

Στο σημείο αυτό, θα ήθελα να εκφράσω τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου στον επιβλέποντα Καθηγητή Ιωάννη Σάμιο για την άριστη συνεργασία μας. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα μέλη της ερευνητικής ομάδος Στατιστικής Μηχανικής και Μοριακών Προσομοιώσεων του Καθηγητού Ι. Σάμιου και ιδιαιτέρως τους: Δρ. Ντελλή Δ., Δρ Σκαρμούτσο Ι., Δρ Λιθοξόο Γ., Υποψήφιο Διδάκτορα Επλιδοφόρου Ν. καθώς επίσης τον Μεταπτυχιακό Φοιτητή Τσαμπαλή Κ. για την συμπαράσταση και την άριστη συνεργασία όλο αυτό το χρονικό διάστημα της ερευνητικής μου προσπάθειας.

Θα ήθελα επιπλέον να ευχαριστήσω όλα τα μέλη του Εργαστηρίου Φυσικοχημείας για το ευχάριστο περιβάλλον εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την οικογένεια μου για την ηθική συμπαράσταση που μου παρείχε.

Αθήνα, Φεβρουάριος 2010

Η εργασία αυτή αφιερώνεται στους δικούς μου

Πίνακας περιεχομένων

ΕΙΣΑΓΩΓΗ 2

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 6

1 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ 6

1.1 Στατιστική Μηχανική - Γενικά 6

1.2 Στατιστικά Μηχανικά Σύνολα - Δειγματοληψία 7

1.3 Υπολογισμός βασικών θερμοδυναμικών ιδιοτήτων 13

1.4 Συναρτήσεις μέσης διαμοριακής δομής 15

1.5 Βασικές ιδιότητες μελέτης εσωτερικής δομής μακρομορίων – βιομορίων 18

1.5.1 Γυροσκοπική ακτίνα (R_g) 18

1.5.2 Τετραγωνική Ρίζα της Μέσης απόκλισης (Root mean square deviation, RMSD) της διαμόρφωσης της δομής πολυατομικού μορίου 20

1.5.3 Πλησιέστερη προσιτή επιφάνεια μακρομορίου από τα μόρια του διαλύτη (Solvent Accessible Surfaces, SAS) 21

1.6 Δυναμικές ιδιότητες 21

1.6.1 Συναρτήσεις Συσχετισμού Χρόνου 22

1.6.2 Υπολογισμός ιδιοτήτων μεταφοράς 23

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 27

2 ΔΙΑΜΟΡΙΑΚΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ 27

2.1 Γενικά 27

2.2 Απωστικός και ελκτικός όρος στη διαμόρφωση αλληλεπιδράσεων. Δυναμικά 30

2.3 Εμπειρικά Δυναμικά 33

2.3.1 Δυναμικό Lennard – Jones (12 – 6) 34

2.3.2 Δυναμικό exp – 6 36

2.3.3 Ενεργά Δυναμικά – Προσαρμοζόμενοι όροι Αλληλεπιδράσεως 37

2.4 Πειραματικές πηγές πληροφοριών για τα δυναμικά αλληλεπιδράσεως 38

2.5 Δυναμικό αλληλεπιδράσεως μακρομορίων – βιομορίων 39

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 42

3 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΕΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ 42

3.1 Μοριακές Προσομοιώσεις 42

3.2 Μοριακή Δυναμική Μέθοδος 43

3.3 Τεχνικές Λεπτομέρειες στη Μοριακή Προσομοίωση 44

3.3.1 Περιοδικές Οριακές Συνθήκες ... 44
3.3.2 Ακτίνα αποκοπής ... 46
3.3.3 Μέθοδος Ewald ... 46
3.4 Μεθοδολογία Προσεγγιστικής Επίλυσης Εξισώσεων Κινήσεως στη Μοριακή Δυναμική ... 47
3.4.1 Αλγόριθμος Leap – Frog ... 48
3.5 Αλγόριθμοι τύπου SHAKE και LINCS ... 49
3.6 Ελαχιστοποίηση της Δυναμικής Ενέργειας Μοριακών Συστημάτων ... 50
3.7 Εφαρμογή διαφόρων υπολογιστικών τεχνικών στη μελέτη των βιομοριακών φαινομένων ... 51
3.8 Μοριακή Δυναμική τεχνική στα βιολογικά μόρια ... 52
3.8.1 Πεδία δυνάμεων ... 52
3.8.2 Προγράμματα Εφαρμογών Μοριακής Δυναμικής σε βιομόρια ... 54
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ... 56
4 ΜΟΡΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΥΠΟ ΜΕΛΕΤΗ– ΑΓΓΕΙΟΤΕΝΣΙΝΗ ΙΙ ... 56
4.1 Υπέρταση και Αγγειοτενσίνη ΙΙ ... 56
4.2 Μόριο της Αγγειοτενσίνης ΙΙ ... 56
4.3 Ρυθμιστικός ρόλος της Αγγειοτενσίνης ΙΙ στην αρτηριακή πίεση - Γενικά ... 61
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ... 64
5 ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΥΝΑΜΙΚΗ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ... 64
5.1 Υπολογιστικά Συστήματα – Λογισμικά Υπολογισμών ... 64
5.2 Πρότυπα Δυναμικού Αλληλεπίδρασης ... 64
5.3 Λεπτομέρειες για τις προσομοιώσεις ... 67
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ... 70
6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΕΩΝ ... 70
6.1 Αγγειοτενσίνη ΙΙ σε υδατικό διάλυμα ... 70
6.1.1 Βασικές Μακροσκοπικές Θερμοδυναμικές ιδιότητες ... 70
6.1.2 Γυροσκοπική ακτίνα (Radius of Gyration) R_g ... 73
6.1.3 Τετραγωνική ρίζα της Μέσης Απόκλισης της διαμόρφωσης της δομής της πρωτεΐνης (Root Mean Square Deviation, RMSD) ... 76
6.1.4 Συντελεστής Μεταφορικής Διάχυσης ... 77
6.1.5 Πλησιέστερη Προσιτή Επιφάνεια Μακρομορίου από τα μόρια του διαλύτη (Solvent Accessible Surface, SAS) ... 79
6.1.6 Μέσες αποστάσεις μεταξύ χαρακτηριστικών ομάδων της Αγγειοτενσίνης ΙΙ 82
6.1.7 Ιδιότητες Μέσης Διαμοριακής Δομής ... 84

6.1.8 Χαρακτηριστικές απεικονίσεις του μορίου AngII – Διερεύνηση των αποτελεσμάτων 109
6.2 Αγγειοτενσίνη II σε μίγμα Νερό/ Αιθανόλης 65% - 35% 111
6.2.1 Βασικές Μακροσκοπικές Θερμοδυναμικές Ιδιότητες 111
6.2.2 Γυροσκοπική ακτίνα (Radius of Gyration) R_g 114
6.2.3 Τετραγωνική ρίζα της Μέσης Απόκλισης της διαμόρφωσης της δομής της πρωτεΐνης (Root Mean Square Deviation, RMSD) 116
6.2.4 Συντελεστής Μεταφορικής Διάχυσης 118
6.2.5 Πλησιέστερη Προσιτή Επιφάνεια Μακρομορίου από τα μόρια του διαλύτη (Solvent Accessible Surface, SAS) 119
6.2.6 Μέσες αποστάσεις μεταξύ χαρακτηριστικών ομάδων της Αγγειοτενσίνης II 122
6.2.7 Ιδιότητες Μέσης Διαμοριακής Δομής 123
6.2.8 Χαρακτηριστικές διαμορφώσεις – απεικονίσεις της κύριας αλυσίδας (backbone) του πεπτιδίου – Διερεύνηση των αποτελεσμάτων 133
6.3 Σύγκριση συστημάτων της Αγγειοτενσίνης II στους διαφορετικούς διαλύτες 134
6.3.1 Γυροσκοπική ακτίνα (Radius of Gyration) R_g 134
6.3.2 Τετραγωνική ρίζα της Μέσης Απόκλισης της διαμόρφωσης της δομής της πρωτεΐνης (Root Mean Square Deviation, RMSD) 134
6.3.3 Συντελεστής Μεταφορικής Διάχυσης 138
6.3.4 Πλησιέστερη Προσιτή Επιφάνεια Μακρομορίου από τα μόρια του διαλύτη (Solvent Accessible Surface, SAS) 140
6.3.5 Ιδιότητες Μέσης διαμοριακής Δομής 140
Γενικά Συμπεράσματα – Συζήτηση 146
Περίληψη 150
Abstract 152
Βιβλιογραφία 153

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

Ala	A	Αλανίνη	Leu	L	Λευκίνη
Arg	R	Αργινίνη	Lys	K	Λυσίνη
Asn	N	Ασπαραγίνη	Met	M	Μεθειονίνη
Asp	D	Ασπαραγινικό οξύ	Phe	F	Φαινυλαλανίνη
Cys	C	Κυστεΐνη	Pro	P	Προλίνη
Gln	Q	Γλουταμίνη	Ser	S	Σερίνη
Glu	E	Γλουταμινικό οξύ	Thr	T	Θρεονίνη
Gly	G	Γλυκίνη	Trp	W	Τρυπτοφάνη
His	H	Ιστιδίνη	Tyr	Y	Τυροσίνη
Ile	I	Ισολευκίνη	Val	V	Βαλίνη

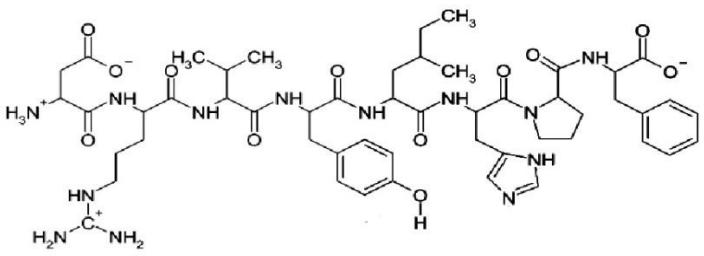
Å	Μονάδα μέτρησης που ισούται με 10^{-10} m (Angstrom)
ACE	Μετατρεπτικό Ένζυμο της Αγγειοτενσίνης
ACE2	Μετατρεπτικό Ένζυμο της Αγγειοτενσίνης 2
AngI	Αγγειοτενσίνη I
AngII	Αγγειοτενσίνη II
AngIII	Αγγειοτενσίνη III
AngIV	Αγγειοτενσίνη IV
Ang1-7	Αγγειοτενσίνη 1-7
AT1	Υποδοχέας τύπου 1 της Αγγειοτενσίνης II
AT2	Υποδοχέας τύπου 2 της Αγγειοτενσίνης II
PDB	Βάση δεδομένων πρωτεϊνών (**P**rotein **D**ata **B**ank)
RMSD	**R**oot **M**ean **S**quare **D**eviation (Μέση τετραγωνική απόκλιση διαμόρφωσης)
SAS	**S**olvent **A**ccessible **S**urface (Προσιτή επιφάνεια μορίου από μόρια διαλύτη)
LJ	**L**ennard – **J**ones
SPC	**S**imply **P**oint **C**harge
OPLS	**O**ptimized **P**otentials for **L**iquid **S**imulations
MD	**M**olecular **D**ynamics
MC	**M**onte **C**arlo
CM	**C**enter of **M**ass (Κέντρο Μάζας)
VMD	**V**irtual **M**olecular **D**ynamics

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ως γνωστόν, ένα υπαρκτό και ευρέως διαδεδομένο πρόβλημα χρόνιας ασθένειας στους ανθρώπους είναι αυτό της 'Υπέρτασης' του αίματος. Λόγω της σοβαρότητας των διαφόρων επιπτώσεων και επιπλοκών εξαιτίας της ασθένειας αυτής στους πάσχοντες οργανισμούς, τις τελευταίες δεκαετίες η διεθνής επιστημονική κοινότητα κατέβαλε σημαντική ερευνητική προσπάθεια στην προσέγγισή της με αξιοσημείωτα από πρακτικής – θεραπευτικής πλευράς αποτελέσματα[1].

Ένα πρωταρχικής σημασίας ερευνητικό αποτέλεσμα των παραπάνω προσπαθειών ήταν η ανακάλυψη του υπεύθυνου βιοχημικού μηχανισμού που οδηγεί στην υπέρταση. Μεταξύ των άλλων, κατέστη γνωστό ότι η εμπλοκή ενός οκταπεπτιδίου, που παράγει ο οργανισμός σε μη κανονική συγκέντρωση στο αίμα για διάφορους λόγους, οδηγεί τελικά στην υπέρταση. Μεταξύ των διαφόρων ερευνητών, στα τέλη της δεκαετίας του '50, οι Braun – Menendez και Page[2] συμφώνησαν να χρησιμοποιήσουν των γενικό όρο 'Angiotensin' (Αγγειοτενσίνη ή Αγγειοτανσίνη) για να εκφράσουν το οκταπεπτίδιο που είναι υπεύθυνο για την υψηλή πίεση στον άνθρωπο.

Υπάρχουν διάφορα είδη τέτοιων βιολογικών μορίων. Αναφέρουμε χαρακτηριστικά το Αγγειοτενσινογόνο, την Αγγειοτενσίνη I, την Αγγειοτενσίνη II, την Αγγειοτενσίνη III, την Αγγειοτενσίνη IV και την Αγγειοτενσίνη 1 – 7[3]. Η διαφορά του καθενός μορίου από το άλλο έγκειται στην ακολουθία των διαφόρων αμινοξέων και στον αριθμό αυτών που συνδέονται χημικά μεταξύ τους. Στο Σχήμα 1, παρουσιάζεται η μοριακή δομή του μορίου της Αγγειοτενσίνης II με την αλληλουχία των αμινοξέων του (βλ. Πίνακας 1). Στο κεφάλαιο 4 αναφερόμαστε εκτενέστερα στο μόριο της Αγγειοτενσίνης II και μπορούμε να δούμε την τρισδιάστατη μορφή του μορίου της στο Σχήμα 4.1.



Σχήμα 1 *Μοριακή δομή της Αγγειοτενσίνης II* .

Τα διάφορα ανάλογα όπως π.χ. το Αγγειοτενσινογόνο και η Αγγειοτενσίνη που οδηγούν στον σχηματισμό της Αγγειοτενσίνης ΙΙ έχουν χαρακτηριστεί και παρουσιάζονται στον Πίνακα 1. Η σύνθεση του πεπτιδίου της Αγγειοτενσίνης ΙΙ από τους Bumpus et al.[4] (1957) και από Rittel et al.[5] (1957) ακολουθήθηκε από μία συνεχή σειρά ερευνών για την σχέση δομής – δραστικότητας των αναλόγων της αγγειοτενσίνης, κυρίως με την ελπίδα εύρεσης ενός πεπτιδίου ανταγωνιστή[6].

Πίνακας 1 Ακολουθία αμινοξέων των πρόδρομων ενώσεων και μεταβολιτών της Αγγειοτενσίνης ΙΙ.

	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
Αγγειοτενσινογόνο	Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu-Leu-Val-Tyr-Ser
Ang I	Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu
Ang II	Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe
Ang III	Arg- Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe
Ang IV	Val- Tyr- Ile-His-Pro-Phe
Ang 1–7	Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro

Επιπρόσθετα, τα τελευταία χρόνια οι βασικές δομικές, φυσικοχημικές και βιολογικές ιδιότητες των τροποποιημένων δομών της αγγειοτενσίνης ΙΙ αποτελούν πεδίο υψηλού ερευνητικού ενδιαφέροντος από διάφορους ερευνητές ανά τον κόσμο και γίνεται μία συστηματική προσπάθεια καθορισμού και κατανόησης της επικρατέστερης διαμόρφωσης της ορμόνης σε διάφορα διαλύματα με σκοπό τη διερεύνηση των μοριακών αλληλεπιδράσεων κυρίως σε συμπλέγματα ορμονών με τους υποδοχείς (πχ ένα ένζυμο)[7,8,9]. Πάραυτα, εξαιτίας της πολυπλοκότητας των μοριακών συστημάτων που λαμβάνουν μέρος σε αυτό το είδος των μοριακών διαδικασιών, το πρόβλημα της κατανόησης του μηχανισμού της βιολογικής δράσης παραμένει ανοιχτό πεδίο ενδιαφέροντος μέχρι σήμερα.

Στα βιολογικά συστήματα, ως γνωστό, το νερό αποτελεί τον κοινό διαλύτη, κατά συνέπεια είναι λογικό οι περισσότερες, μέχρι σήμερα μελέτες πρωτεϊνών να έχουν πραγματοποιηθεί σε υδατικό περιβάλλον[10,11]. Επιπλέον, οι εν λόγω μελέτες έχουν επεκταθεί πρόσφατα και στην επίδραση άλλων διαλυτών σε πρωτεΐνες και πεπτίδια όπως για παράδειγμα αυτών των αλκοολών[12,13,14]. Αναφέρουμε χαρακτηριστικά τις ιδιότητες των πρωτεϊνών που σχετίζονται άμεσα με την κινητικότητα και το δίπλωμα (folding) αυτών. Πληροφορίες σε αυτή την περιοχή θεωρούνται για προφανής λόγους υψίστης σημασίας για τα συστήματα αυτά και οι οποίες είναι δυνατόν να αποκτηθούν, όπως έχει δείξει μέχρι σήμερα η έρευνα, από τη συστηματική μελέτη της μεταβολής ορισμένων φυσικοχημικών ιδιοτήτων των διαλυτών που χρησιμοποιούνται[15,16]. Αναφέρουμε χαρακτηριστικά ότι η επίδραση των μορίων της αιθανόλη επί των διαφόρων τμημάτων των πρωτεϊνών είναι πολύ σημαντική για αρκετούς λόγους. Παραδείγματος χάριν, πολλές πρωτεΐνες ή πεπτίδια, είναι γνωστό ότι αλληλεπιδρούν με

λιπιδικές διπλοστοιβάδες, όπως και η Αγγειοτενσίνη II[17,18]. Από τη συστηματική μελέτη μερικών από τα παραπάνω συστήματα, από την διεθνή βιβλιογραφία, είναι γνωστό ότι κάποια δυαδικά συστήματα μεταξύ των οποίων και αυτό του H_2O – EtOH, παρουσιάζουν ιδιότητες οι οποίες προσομοιάζουν αυτών της επιφάνειας των λιπιδικών διπλοστοιβάδων και κατά αυτούς δύνανται, σε ικανοποιητικό βαθμό, να προσεγγίσουν την υδρόφιλη / υδρόφοβη μοριακή συμπεριφορά της εν λόγω περιοχής.

Πρόσφατα, ο Gerig J.T. [19] μελέτησε πειραματικά με την τεχνική του Πυρηνικού Μαγνητικού Συντονισμού, NMR, την αλληλεπίδραση μεταξύ των μορίων του νερού και της αιθανόλης σε μίγμα 35% αιθανόλης και 65% νερό (v/v) σε αραιό διάλυμα με το οκταπεπτίδιο [val5]ΑγγειοτενσίνηII σε διάφορες θερμοκρασίες μεταξύ 0^oC – 25^oC. Το σύστημα Αγγειοτενσίνης II που χρησιμοποιήθηκε απαντάται στα βοοειδή και διαφέρει από την αντίστοιχη πρωτεΐνη του ανθρώπινου οργανισμού στο ότι στην θέση 5 της αλληλουχίας των αμινοξέων υπάρχει αντικατάσταση της Ile με Val (βλ. συντμήσεις σ.4). Από τη μελέτη των πειραματικών δεδομένων της παραπάνω εργασίας, προέκυψαν συμπεράσματα για την αλληλεπίδραση των μορίων του μεικτού διαλύτη επί της Αγγειοτενσίνης II και αναφέρουμε χαρακτηριστικά ότι οδηγούν στο συμπέρασμα ότι τα μόρια τους αλληλεπιδρούν ισχυρά με τα άτομα της κύριας αλυσίδας του πεπτιδίου. Συγκεκριμένα, τα αποτελέσματα αυτά οδηγούν στο συμπέρασμα ότι τα μόρια της αιθανόλης πλησιάζουν αρκετά κοντά των ατόμων της κύριας αλυσίδας και παραμένουν ασθενώς δεσμευμένα με δυνάμεις Van der Waals για μεγάλο χρονικό διάστημα το οποίο όπως δείχνουν τα δεδομένα είναι συγκρίσιμο του χρόνου συσχέτισης της περιστροφικής κινήσεως του πεπτιδίου. Με άλλα λόγια, ο χρόνος ζωής αυτών των ισχυρών αλληλεπιδράσεων είναι της τάξεως του 0.4 ns στην θερμοκρασία των $5\ ^oC$ και αναλόγως για τις υπόλοιπες θερμοκρασίες. Πάραυτα, μία ικανοποιητική ερμηνεία της παραπάνω διαμοριακής συμπεριφοράς δεν διαφαίνεται από τα περιεχόμενα και τα αποτελέσματα της παραπάνω πειραματικής εργασίας εφόσον μια τέτοια συμπεριφορά φαινομενολογικά θα ήταν κατανοητή για υψηλότερες συγκεντρώσεις αιθανόλης, πράγμα που θα οδηγούσε σε υψηλότερη συγκέντρωση μορίων της αιθανόλης αρκετά πλησίον του πεπτιδίου. Από την άλλη πλευρά, έχει βρεθεί ότι οι πλευρικές αλυσίδες (τμήματα των αμινοξέων) του πεπτιδίου δεν παρουσιάζουν ιδιαίτερη αλληλεπίδραση με τα μόρια της αιθανόλης. Μία πιθανή ποιοτική εξήγηση των παραπάνω θα μπορούσε να οδηγήσει στην άποψη ότι η επίδραση της προσθήκης των μορίων της αιθανόλης στην σταθερότητα της δομής του πεπτιδίου ή γενικά μίας πρωτεΐνης πιθανώς αυξάνεται από την αναδιάταξη σε ένα ορισμένο βαθμό της μέσης διαμοριακής δομής των μορίων του νερού στο μίγμα η οποία ως γνωστό παρουσιάζει ισχυρά δίκτυα δεσμών υδρογόνου από τα μόρια της αλκοόλης μέρος των οποίων δεσμεύεται από τα μόρια του νερού ενώ ένα άλλο παραμένει αδέσμευτο και ικανό να αλληλεπιδράσει με τα άτομα του πεπτιδίου απευθείας και σε αρκετά κοντινές αποστάσεις. Τα

παραπάνω ποιοτικά εκτεθέντα συμπεράσματα παραμένουν προς διερεύνηση και αποτελούν έναν από τους πρωταρχικούς στόχους της παρούσας θεωρητικής – υπολογιστικής μελέτης. Τέλος, έχει αναφερθεί σε πρόσφατη ερευνητική μελέτη[20] ότι τα μόρια της αιθανόλης του μικτού διαλύτη ευνοούν την τάση του πεπτιδίου να αναδιπλώνεται και μάλιστα σε μία πιο συμπαγή δομή. Η εν λόγω μελέτη βασίστηκε σε πειράματα κυκλικού διχροϊσμού (circular dichroism).

Σκοπός της παρούσας εργασίας

Στα πλαίσια της ερευνητικής εργασίας για την απόκτηση μεταπτυχιακού διπλώματος παρουσιάζεται μία συστηματική μελέτη Υπολογιστικής Μοριακής Δυναμικής Προσομοίωσης σε ατομικό επίπεδο του συστήματος της Αγγειοτενσίνης ΙΙ σε διαλύτη καθαρό νερό καθώς επίσης και της Αγγειοτενσίνης ΙΙ σε διαλύτη μίγματος αιθανόλης/νερού (35%65%) (v/v). Ο βασικός σκοπός και στόχος της παρούσας ερευνητικής εργασίας επικεντρώνεται στη μελέτη φυσικοχημικών ιδιοτήτων (στατικών και δυναμικών) του πεπτιδίου της Αγγειοτενσίνης ΙΙ στους δύο παραπάνω διαλύτες και σε διαφορετικές θερμοκρασίες. Η εν λόγω εργασία έχει καθαρό υπολογιστικό – θεωρητικό προσανατολισμό και προσπαθεί όσο αυτό είναι δυνατόν να ερμηνεύσει και να κατανοήσει αφενός πειραματικά αποτελέσματα που έχουν προηγηθεί της εργασίας αυτής, αφετέρου δε, να συμπληρώσει τη μέχρι σήμερα γνώση επάνω στη συμπεριφορά του συστήματος αυτού σε υδατικά διαλύματα και επιπλέον να προβάλει πληροφορίες σε διαμοριακό επίπεδο σχετικά με το σύστημα οι οποίες δεν είναι δυνατόν, από τα ήδη γνωστά μέχρι σήμερα δεδομένα να εξαχθούν.

Η παρούσα ερευνητική εργασία χωρίζεται σε δύο κύρια μέρη:

Το πρώτο μέρος – θεωρητικό, αποτελείται από τρία βασικά κεφάλαια (Κεφάλαια 1-3) στα οποία παρουσιάζονται πληροφορίες συνοπτικές για την απαραίτητη θεωρία της στατιστικής μηχανικής συμπεριφοράς των μοριακών συστημάτων σε ισορροπία, των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων και των τεχνικών μοριακών προσομοιώσεων με έμφαση στη μοριακή δυναμική προσομοίωση, στοιχείων που θεωρούνται απαραίτητα για την ολοκλήρωση και την κατανόηση της παρούσας εργασίας.

Το δεύτερο μέρος της εργασίας – υπολογιστικό, αποτελείται επίσης από τρία κεφάλαια (Κεφάλαια 4–6), στα οποία παρουσιάζονται λεπτομερώς οι διάφοροι υπολογισμοί που εκτελέστηκαν μέσω των μοριακών προσομοιώσεων των συστημάτων προς διερεύνηση. Στο Κεφάλαιο 6, παρουσιάζονται αναλυτικά τα δεδομένα που προκύπτουν από τις προσομοιώσεις των μοριακών συστημάτων καθώς, επίσης, και τα συμπεράσματα που εξήχθησαν για τις διάφορες ιδιότητες αυτών προς διερεύνηση. Η εργασία ολοκληρώνεται με το τελευταίο μέρος αυτής, το οποίο περιγράφεται ως ‘Γενικά Συμπεράσματα – Συζήτηση’ και στο οποίο

παρουσιάζονται συνοπτικά οι πιο σημαντικές πληροφορίες που εξήχθησαν στα πλαίσια της παρούσας εργασίας. Τέλος, γίνεται αναφορά στην αναγκαιότητα περαιτέρω διερεύνησης των φυσικοχημικών ιδιοτήτων του συστήματος σε αλληλεπίδραση συνθηκών λιπιδικής διπλοστοιβάδας έτσι ώστε να κατανοηθούν ανοιχτά ερωτήματα – προβλήματα στην περιοχή της έρευνας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΜΗΧΑΝΙΚΗ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ

1.1 Στατιστική Μηχανική - Γενικά

Είναι γνωστό ότι η κλασική θερμοδυναμική θεωρία η οποία διαμορφώνεται κυρίως από τρεις θεμελιώδεις νόμους έχει αναπτυχθεί και παρέχει δυνατότητες μελέτης των μακροσκοπικών ιδιοτήτων των διαφόρων θερμοδυναμικών συστημάτων χωρίς να γίνεται ιδιαίτερη αναφορά στο μικρόκοσμο (άτομα, μόρια, ιόντα κτλ). Η φαινομενολογική αυτή επιστήμη κατορθώνει μέσω των νόμων της, να συνδέει με διάφορες σχέσεις μακροσκοπικές ιδιότητες των συστημάτων (όπως πίεση, θερμοκρασία, όγκος, χημικό δυναμικό κτλ) δημιουργώντας με αυτόν τον τρόπο τις θεμελιώδεις καταστατικές εξισώσεις οι οποίες προβλέπουν τη μεταβολή μιας θερμοδυναμικής ιδιότητας σε σχέση με τη επιθυμητή μεταβολή των υπολοίπων θερμοδυναμικών μεταβλητών, πχ. καταστατική εξίσωση P= f(V,T).

Παρότι η κλασική θερμοδυναμική επιστήμη μέχρι σήμερα έχει αποδειχθεί ότι παρουσιάζει καθολική ισχύ, πάραυτα δεν παρέχει τη δυνατότητα διερεύνησης των διαφόρων διεργασιών της ύλης σε μικροσκοπικό (μοριακό – διαμοριακό) επίπεδο, οι οποίες είναι υπεύθυνες για τη συνολική μακροσκοπική συμπεριφορά των συστημάτων. Είναι γνωστό ότι με βάση τη μικροσκοπική μοριακή πληροφορία υλικού συστήματος, π.χ. θέσεις, ορμές, αλληλεπιδράσεις σωματιδίων κτλ., είναι δυνατή μία μετάβαση σε μακροσκοπική πληροφορία της συμπεριφοράς του συστήματος με τη βοήθεια της επιστήμης της Στατιστικής Θερμοδυναμικής – Μηχανικής. Η Στατιστική Θερμοδυναμική – Μηχανική[21] έχει ως απώτερο στόχο τη μελέτη των μακροσκοπικών φυσικοχημικών ιδιοτήτων αλλά και των χρονικά εξαρτημένων ενός μοριακού συστήματος κάτω από συγκεκριμένες θερμοδυναμικές καταστάσεις που καθορίζουν το σύστημα και οι οποίες ονομάζονται οριακές συνθήκες αυτού. Η Στατιστική Μηχανική, τόσο στην κλασική της μορφή αλλά και στην κβαντική της, αναπτύσσεται σε δύο κατευθύνσεις. Συγκεκριμένα, διακρίνουμε την Στατιστική Μηχανική Ισορροπίας και εκτός Ισορροπίας συστημάτων. Η παρούσα εργασία χρησιμοποιεί το θεωρητικό υπόβαθρο της Κλασικής Στατιστικής Μηχανικής Θεωρίας μοριακών συστημάτων σε Θερμοδυναμική Ισορροπία.

Η Στατιστική Μηχανική παρέχει τη δυνατότητα διασύνδεσης των φυσικών νόμων που διέπουν το μικρόκοσμο με εκείνους του μακρόκοσμου. Μέσω της θεωρίας αυτής η οποία έχει σαν βάση την θεωρία των πιθανοτήτων και κατανομών και με βάση την ατομική και μοριακή δομή της ύλης και τους νόμους που τη διέπουν, επιχειρείται η εξαγωγή των μέσων τιμών των ιδιοτήτων που χαρακτηρίζουν τη συμπεριφορά των μοριακών συστημάτων. Το επιστημονικό

ενδιαφέρον στη μελέτη ιδιοτήτων μοριακών συστημάτων της ύλης μέσω στατιστικών μηχανικών θεωριών, εκδηλώνεται από την ερευνητική κοινότητα τόσο από θεωρητικής – αναλυτικής σκοπιάς όσο και από την πλευρά των πρακτικών εφαρμογών. Με εφαρμογή της στατιστικής θεωρίας, στην εκτίμηση της κατά μέσο όρο συμπεριφοράς μοριακών συστημάτων πολλών σωματιδίων, επιτυγχάνεται η μακροσκοπική θερμοδυναμική περιγραφή του συστήματος μέσω του συνόλου των μικροσκοπικών μεταβλητών αυτού, που καθορίζονται από το συνολικό αριθμό των βαθμών ελευθερίας του. Στην περίπτωση της Στατιστικής Μηχανικής συστήματος εκτός ισορροπίας, χρησιμοποιούνται οι διάφορες μικροσκοπικές απεικονίσεις – καταστάσεις αυτού εκτός ισορροπίας προκειμένου να παραχθεί πρόβλεψη διαμέσου της οποίας το σύστημα θα προσεγγίσει την κατάσταση ισορροπίας. Τέτοιες θεωρητικές τεχνικές βρίσκουν εφαρμογή στη μελέτη προβλημάτων χημικής κινητικής, φαινομένων μεταφοράς, όπως επίσης και σε φαινόμενα μεταφοράς ενέργειας από εξωτερικούς σε εσωτερικούς βαθμούς ελευθερίας, και αντιστρόφως, μεταξύ των μορίων (relaxation processes) κλπ. Γενικά, η Στατιστική Μηχανική θεωρία βασιζόμενη σε ένα αυστηρό φορμαλισμό και με την προϋπόθεση ικανοποιητικής γνώσης και κατασκευής της Χαμιλτωνειανής του συστήματος παρέχει τη δυνατότητα υπολογισμού και προσέγγισης των ιδιοτήτων ενός συστήματος N – σωματιδίων (ατόμων, μορίων κτλ.).

1.2 Στατιστικά Μηχανικά Σύνολα - Δειγματοληψία

Η έννοια του συνόλου ή διαφορετικά στατιστικού μηχανικού ή θερμοδυναμικού συνόλου εισήχθη κατά πρώτον από τον J. Willard Gibbs το 1878 σε μία πρωταρχική δημοσίευσή του και τελειοποιήθηκε από τον ίδιο στο σύγγραμμα του περί Στατιστικής Μηχανικής το 1902[22, 23]. Ο αυστηρός προσδιορισμός των διαφόρων στατιστικών συνόλων βασίστηκε στην προϋπάρχουσα θεωρία της κλασικής θερμοδυναμικής η οποία ως γνωστό ασχολείται με τα διάφορα υλικά συστήματα τα οποία κατατάσσει ανάλογα με τις θερμοδυναμικές συνθήκες σε διακριτές κατηγορίες όπως παραδείγματος χάριν, κλειστό, ανοιχτό, απομονωμένο κτλ. Όπως θα αναφερθεί παρακάτω, ο καθορισμός των διαφόρων στατιστικών μηχανικών συνόλων μέσω θεωριών έχει ως απώτερο σκοπό τον υπολογισμό των μέσων τιμών των διαφόρων μακροσκοπικών και δυναμικών ιδιοτήτων των υλικών συστημάτων καθαρών ή μιγμάτων που απαρτίζονται από σωματίδια (μόρια, άτομα, ιόντα κτλ).

Είναι γνωστό ότι κάθε μοριακό σύστημα δύναται να περιγραφεί μακροσκοπικά με τη βοήθεια ορισμένων παραμέτρων οι οποίες μπορούν να προσδιορισθούν πειραματικά. Ονομάζουμε Στατιστικό Μηχανικό Σύνολο (Ensemble) την συλλογή ενός πολύ μεγάλου αριθμού πανομοιότυπων συστημάτων, το καθένα από τα οποία είναι ακριβές αντίγραφο του ιδίου μακροσκοπικού θερμοδυναμικού συστήματος και το οποίο θα μπορούσε να

αντιπροσωπεύει μία πιθανή κατάσταση (μικροκατάσταση) του πραγματικού αυτού συστήματος όσον αφορά τις μακροσκοπικές του ιδιότητες.

Κάθε μικροκατάσταση από το σύνολο των μικροκαταστάσεων του μακροσκοπικού συστήματος αναφέρεται σε N αλληλεπιδρώντα σωματίδια που ευρίσκονται π.χ. σε ένα σταθερό χώρο V, πίεση P, θερμοκρασία T ή γενικότερα, έχουν κάποιες κοινές θερμοδυναμικές ιδιότητες. Για κάθε τέτοιο Στατιστικό Μηχανικό σύνολο, οι προαναφερθείσες θερμοδυναμικές μεταβλητές (συνήθως τρεις) έχουν σταθερές τιμές. Με άλλα λόγια οι εν λόγω θερμοδυναμικές σταθερές αποτελούν τις οριακές συνθήκες αυστηρού καθορισμού ενός εκάστου Στατιστικού Μηχανικού συνόλου. Όλες οι υπόλοιπες θερμοδυναμικές και δυναμικές ιδιότητες του συστήματος προς μελέτη που περιγράφεται διαμέσου του επιλεγμένου Στατιστικού Μηχανικού συνόλου, προκύπτουν από τις βασικές ή πρωταρχικές μεταβλητές μέσω θεωρητικών σχέσεων της Στατιστικής Μηχανικής θεωρίας. Γενικώς, οι μικροκαταστάσεις ενός συστήματος οι οποίες ανήκουν σε ένα σύστημα δεν είναι απαραιτήτως ταυτόσημες η μία με την άλλη σε μικροσκοπικό επίπεδο π.χ. σε ένα σύστημα N σωματιδίων ενός μακροσκοπικού συστήματος συγκεκριμένων μεταβλητών οι συντεταγμένες των θέσεων των σωματιδίων αυτών για μία ορισμένη χρονική στιγμή διαφέρουν από μία άλλη. Τα περισσότερο γνωστά και εφαρμοζόμενα στους υπολογισμούς Στατιστικά Μηχανικά σύνολα είναι τα εξής:

i. <u>Μικροκανονικό (Microcanonical), (N,V,E)</u>

Είναι το Στατιστικό Μηχανικό σύνολο του οποίου τα συστήματα έχουν το ίδιο πλήθος σωματιδίων *N*, τον ίδιο όγκο *V* και την ίδια ολική ενέργεια *E*. Το σύνολο αυτό είναι κατάλληλο για την περιγραφή ενός πλήρως απομονωμένου συστήματος, δηλαδή ενός συστήματος που δεν ανταλλάσσει με το περιβάλλον ύλη και ενέργεια.

ii. <u>Κανονικό (Canonical), (N,V,T)</u>

Είναι το Στατιστικό Μηχανικό σύνολο του οποίου τα συστήματα έχουν το ίδιο πλήθος σωματιδίων *N*, τον ίδιο όγκο *V* και την ίδια θερμοκρασία *T*. Το σύνολο αυτό είναι κατάλληλο για την περιγραφή συστημάτων που βρίσκονται σε θερμική επαφή με ένα πολύ μεγαλύτερο σύστημα σταθερής θερμοκρασίας *T* (δεξαμενή θερμότητας). Σε κατάσταση θερμοδυναμικής ισορροπίας, τα διάφορα συστήματα που το αποτελούν έχουν την ίδια θερμοκρασία *T*, αλλά όχι την ίδια ενέργεια *E*. Αυτή διακυμαίνεται γύρω από τη μέση τιμή <E> του συστήματος, εξαιτίας του γεγονότος ανταλλαγής ενέργειας μεταξύ του συστήματος και της δεξαμενής θερμότητας.

iii. Ισόθερμο – Ισοβαρές (Isothermal-Isobaric), (N,P,T)

Είναι το Στατιστικό Μηχανικό σύνολο του οποίου τα συστήματα έχουν το ίδιο πλήθος σωματιδίων N, την ίδια πίεση P και την ίδια θερμοκρασία T. Το εν λόγω Σύνολο χρησιμοποιείται γενικότερα σε θεωρητικές υπολογιστικές εργασίες και ιδιαίτερα όταν αντικείμενο έρευνας είναι ιδιότητες υπό σταθερή πίεση.

iv. Μεγάλο - Κανονικό (Grand Canonical), (μ,V,T)

Είναι το Στατιστικό Μηχανικό σύνολο του οποίου τα συστήματα έχουν τον ίδιο όγκο V, την ίδια θερμοκρασία T και το ίδιο χημικό δυναμικό μ. Το στατιστικό αυτό σύνολο είναι κατάλληλο για την περιγραφή ανοιχτών θερμοδυναμικών συστημάτων, τα οποία μπορούν να ανταλλάσσουν ενέργεια και ύλη με το περιβάλλον τους.

Αποδεικνύεται ότι όλα τα Στατιστικά Μηχανικά Σύνολα καθίστανται ισοδύναμα στο Θερμοδυναμικό Όριο:

$$N \to \infty, \qquad V \to \infty, \qquad \frac{N}{V} \to \sigma\tau\alpha\theta\epsilon\rho\acute{o}$$

Όπως θα δούμε και στα παρακάτω κεφάλαια, η μελέτη των ιδιοτήτων διαφόρων μοριακών συστημάτων σε συγκεκριμένη θερμοδυναμική κατάσταση ή καταστάσεις από θεωρητικής πλευράς βασίζεται τα τελευταία χρόνια σε δύο κατευθύνσεις αλληλοσυμπληρούμενες. Η μία κατεύθυνση είναι αυτή της καθαρής αναλυτικής θεωρίας, η οποία κάνει χρήση των Στατιστικών Μηχανικών Συνόλων και των διαφόρων αναλυτικών θεωριών που έχουν αναπτυχθεί και εξελίσσονται ως προς αυτή την κατεύθυνση. Η δεύτερη κατεύθυνση είναι αυτή των μοριακών προσομοιώσεων των συστημάτων κάνοντας χρήση μεγάλων ηλεκτρονικών υπολογιστικών. Προς την κατεύθυνση αυτή, στην οποία βασίζεται και η παρούσα μελέτη, έχουν αναπτυχθεί μέχρι σήμερα διάφορες υπολογιστικές τεχνικές οι οποίες συνοψίζονται σε δύο γενικές κατηγορίες με την επωνυμία Monte Carlo και Μοριακή Δυναμική. Η παρούσα εργασία χρησιμοποιεί την τεχνική της Μοριακής Δυναμικής προσομοίωσης και θα παρουσιαστεί στα παρακάτω κεφάλαια.

Σχετικά με το Στατιστικό Μηχανικό δείγμα ή όπως διαφορετικά αναφέρεται ως ‘Δειγματοληψία’ ενός μοριακού συστήματος του οποίου η θερμοδυναμική του κατάσταση έχει επιλεχθεί να περιγραφεί μέσω ενός συγκεκριμένου Στατιστικού Μηχανικού συνόλου αναφέρουμε τα εξής:

Έστω[24] για απλότητα μοριακό σύστημα ενός συστατικού (άτομα, μόρια, ιόντα κτλ). Σύμφωνα με τα παραπάνω, η θερμοδυναμική του κατάσταση μπορεί να καθοριστεί κάθε

φορά μέσω τουλάχιστον τριών μακροσκοπικών θερμοδυναμικών παραμέτρων – ιδιοτήτων, όπως π.χ. ο αριθμός σωματιδίων N, η πίεση P και η θερμοκρασία T. Οι υπόλοιπες θερμοδυναμικές ιδιότητες, όπως η πυκνότητα ρ, το χημικό δυναμικό μ, οι θερμοχωρητικότητες C_V, C_P κτλ μπορούν να υπολογιστούν μέσω των καταστατικών εξισώσεων και των θεμελιωδών σχέσεων της Στατιστικής Μηχανικής. Επιπλέον, είναι δυνατόν να προκύψουν πληροφορίες για τις δυναμικές ιδιότητες του συστήματος αυτού όπως π.χ. ο συντελεστής μεταφορικής διάχυσης D των μορίων, το ιξώδες η κ.ά., αλλά και ιδιοτήτων μέσης διαμοριακής δομής που αναφέρονται στη μικροσκοπική δομή και στη δυναμική κατάσταση του συστήματος. Γενικά η Στατιστική Μηχανική με βάση τις μικροσκοπικές καταστάσεις του συστήματος και με την προϋπόθεση μίας ικανοποιητικής προσεγγιστικής εικόνας των διαμοριακών δυνάμεων του συστήματος επιτυγχάνει να εξάγει συμπεράσματα μέσων τιμών τόσο για τις μακροσκοπικές όσο και για τις ιδιότητες μέσης διαμοριακής δομής και δυναμικής των μοριακών συστημάτων.

Η εκτίμηση των μέσων τιμών των ιδιοτήτων βασίζεται σε έναν θεωρητικό φορμαλισμό του οποίου τα γενικά χαρακτηριστικά παρουσιάζονται παρακάτω. Έστω ένα κλασικό σύστημα N σωματιδίων (ατόμων, μορίων κτλ). Μία μικροκατάσταση του συστήματος από το άπειρο σύνολο των μικροκαταστάσεων αυτού (Χώρος των Φάσεων του συστήματος) για συγκεκριμένες θερμοδυναμικές μεταβλητές, καθορίζεται πλήρως από τις διάφορες θέσεις και ορμές των σωματιδίων αυτού. Στην περίπτωση N ατόμων το σύστημα σε μία μικροκατάσταση καθορίζεται από 6N διαστάσεις. Αν κάθε σωματίδιο i έχει s_i βαθμούς ελευθερίας, τότε απαιτούνται s_i γενικευμένες συντεταγμένες για να καθορίσουν τη θέση του σωματιδίου i καθώς και $\sum_{i=1}^{N} s_i$ για τον καθορισμό των θέσων όλων των σωματιδίων του συστήματος. Σε κάθε μια από αυτές τις συντεταγμένες θέσεως $\mathbf{q_j}$ (j=1,…, $\sum_{i=1}^{N} s_i$) αντιστοιχεί και μια συζυγής ορμή $\mathbf{p}_j$. Το σύνολο των συντεταγμένων θέσεως $\{\mathbf{q}_j\}$ και των αντιστοίχων ορμών $\{\mathbf{p_j}\}$ ορίζουν έναν υπερχώρο ο οποίος ονομάζεται Χώρος των Φάσεων. Μία μικροκατάσταση συμβολίζεται με το σύμβολο Γ του 6N – διάστατου χώρου. Η τιμή μίας οποιασδήποτε ιδιότητας A του συστήματος στη μικροκατάσταση Γ συμβολίζεται ως A(Γ(t)). Το σύστημα μας διέρχεται χρονικά μέσω διαδοχικών μικροκαταστάσεων γεγονός το οποίο οδηγεί στη μεταβολή της τιμής της ιδιότητας A(Γ(t)). Είναι λογικό να υποθέσουμε ότι η πειραματικά παρατηρούμενη μακροσκοπική ιδιότητα $A_{πειρ}$ είναι η μέση τιμή της A(Γ) στο χρόνο για ένα μεγάλο χρονικό διάστημα και δύναται να εκφραστεί μέσω τις σχέσεως (1.1).

$$A_{πειρ} = \langle A \rangle_t = \langle A(\Gamma(t)) \rangle_t = \lim_{t_{πειρ}\to\infty} \frac{1}{t_{πειρ}} \int_0^{t_{πειρ}} A\big(\Gamma(t)\big) dt \qquad (1.1)$$

Εδώ υποθέτουμε ότι όλες οι μικροκαταστάσεις προσπέλασης έχουν την ίδια πιθανότητα να λάβουν χώρα.

Από την πλευρά της κλασικής μηχανικής, οι εξισώσεις που καθορίζουν τη χρονική εξέλιξη του συστήματος των N σωματιδίων είναι οι εξισώσεις κίνησης του Νεύτωνα των σωματιδίων αυτών που αποτελούν ένα πεπλεγμένο σύστημα διαφορικών εξισώσεων κινήσεων δευτέρας τάξεως. Επιπρόσθετα, η αναλυτική επίλυση ενός τέτοιου συστήματος διαφορικών εξισώσεων κινήσεως των σωματιδίων ως γνωστόν δεν είναι εφικτή λόγω του προβλήματος των πολλών σωμάτων (αλληλεπιδρώντα N σωματίδια) [25] . Μία επίλυση προσεγγιστικής φύσεως του εν λόγου προβλήματος είναι εφικτή μόνο μέσω προσεγγιστικών αριθμητικών υπολογιστικών τεχνικών (αριθμητική προσεγγιστική επίλυση διαφορικών εξισώσεων). Συνήθως μία τέτοια επίπονη υπολογιστική διαδικασία δύναται να πραγματοποιηθεί σήμερα με τη χρήση ειδικών προγραμμάτων εφαρμογών χρησιμοποιώντας ισχυρούς ηλεκτρονικούς υπολογιστές[26]. Γενικά, επειδή ο χρόνος παρατήρησης δεν είναι δυνατό να είναι θεωρητικά άπειρος, η σχέση (1.1) ολοκληρώνεται σε ένα σχετικά μεγάλο χρονικό διάστημα $t_{πειρ}$. Αυτό ακριβώς πραγματοποιείται σε μία υπολογιστική διαδικασία Στατιστικής Μηχανικής Προσομοίωσης όπου οι διαφορικές εξισώσεις κινήσεως των σωματιδίων επιλύονται προσεγγιστικά βήμα προς βήμα για ένα μεγάλο αλλά πεπερασμένο αριθμό χρονικών βημάτων $τ_{πειρ}$, με βήμα ολοκλήρωσης $\delta t = \frac{t_{πειρ}}{\tau_{πειρ}}$. Η σχέση (1.1) τροποποιείται ως εξής :

$$A_{πειρ} = \langle A \rangle_t = \frac{1}{\tau_{πειρ}} \sum_{\tau=1}^{\tau_{πειρ}} A(\Gamma(\tau)) \qquad (1.2)$$

Γενικώς, λόγω της πολυπλοκότητας της χρονικής εξέλιξης των τιμών της ιδιότητας Α(Γ(t)) για μεγάλο αριθμό μορίων, όπως τα μακροσκοπικά συστήματα, ο Gibbs πρότεινε την αντικατάσταση της χρονικής μέσης τιμής, από την μέση τιμή ως προς το Στατιστικό Μηχανικό Σύνολο, με άλλα λόγια ως προς την συλλογή των σημείων Γ στον χώρο των φάσεων αυτού. Σε μία τέτοια διαδικασία δημιουργίας 'απείρου μεγέθους' μικροκαταστάσεων στηρίζεται η αλγοριθμική τεχνική Metropolis Monte Carlo δημιουργίας του Χώρου των Φάσεων. Εάν συμβολίσουμε με $\rho_{ens}(\Gamma)$ την πυκνότητα πιθανότητας υπάρξεως των μικροκαταστάσεων (σημείων) του χώρου των φάσεων, αυτή δύναται να εκφραστεί συναρτησιακά μέσω των βασικών μεταβλητών του συστήματος. Κάθε μικροκατάσταση (σημείο) του χώρου των φάσεων του συστήματος εξελίσσεται χρονικά, κατά συνέπεια η συνάρτηση της πυκνότητας πιθανότητας των μικροκαταστάσεων $\rho_{ens}(\Gamma)$ θα μεταβάλλεται χρονικά σύμφωνα με τη διαφορική εξίσωση του Liouville που δίνεται από την παρακάτω σχέση:

$$\frac{\partial \rho_{ens}(\Gamma,t)}{\partial t} = -iL\rho_{ens}(\Gamma,t) \tag{1.3}$$

όπου L παριστά τον τελεστή Liouville ο οποίος ορίζεται μέσω της σχέσεως (1.4):

$$iL = \sum_i \dot{\boldsymbol{r}}_{\boldsymbol{i}} \cdot \boldsymbol{\nabla}_{\boldsymbol{r}_i} + \sum_i \dot{\boldsymbol{p}}_{\boldsymbol{i}} \cdot \boldsymbol{\nabla}_{\boldsymbol{p}_i} = (\dot{\boldsymbol{r}} \cdot \boldsymbol{\nabla}_{\mathbf{r}} + \dot{\boldsymbol{p}} \cdot \boldsymbol{\nabla}_{\mathbf{p}}) \tag{1.4}$$

έτσι ώστε $\frac{\mathrm{d}}{\mathrm{dt}} = \frac{\partial}{\partial \mathrm{t}} + \mathrm{iL}$. και i φανταστική μονάδα. Στην παραπάνω σχέση, $\dot{r}$ και $\dot{p}$ είναι οι παράγωγοι ως προς τον χρόνο των θέσεων και των ορμών των σωματιδίων.

Όπως είδαμε η πυκνότητα πιθανότητας καταστάσεως κάποιου Στατιστικού Μηχανικού συνόλου είναι πρωταρχικής σημασίας στη μελέτη μέσω Στατιστικής Μηχανικής ενός συστήματος. Έστω ότι το $\rho_{ens}(\Gamma)$ χαρακτηρίζει ένα Στατιστικό Μηχανικό Σύνολο και παραμένει σταθερό $\frac{\partial \rho_{ens}}{\partial t} = 0$. Αυτό σημαίνει το εξής: Θεωρούμε ένα συντηρητικό σύστημα Ν σωματιδίων που εξελίσσεται στο χρόνο άλλα με σταθερή τη δυναμική του ενέργεια. Ένα τέτοιο σύστημα καθώς αναπτύσσεται, μετά από αρκετό χρόνο οδεύει στην ισορροπία του το οποίο ερμηνεύει το γεγονός ότι το $\rho_{ens}(\Gamma(t))$ οδεύει στην συνάρτηση ισορροπίας $\rho_{ισορ}(\Gamma)$. Αυτό ερμηνεύεται με το γεγονός ότι το $\rho_{ισορ}(\Gamma)$ είναι μία λύση της εξίσωσης του Liouville. Γενικώς, η προσπέλαση των σημείων του Χώρου των Φάσεων υποθέτουμε ότι είναι εργοδική.

Γενικώς, η έννοια της 'Δειγματοληψίας' από το Χώρο των Φάσεων μέσω της συναρτήσεως πυκνότητας πιθανότητας $\rho_{ens}(\Gamma)$, αποτελεί τη βασική αρχή της Monte Carlo μεθόδου προσομοιώσεως. Στην περίπτωση αυτή έχουμε ότι η πειραματικά μετρούμενη τιμή της ιδιότητας Α περιγράφεται από τη σχέση (1.5)

$$A_{πειρ} = \langle A \rangle_{ens} = \sum_{\Gamma} A(\Gamma)\rho_{ens}(\Gamma) \tag{1.5}$$

Συνήθως, ρ_{ens} αντικαθίσταται από το γινόμενο δύο συναρτήσεων όπως φαίνεται στις παρακάτω σχέσεις. και είναι μία η οποία ικανοποιεί τις παρακάτω εξισώσεις

$$\rho_{ens}(\Gamma) = Q_{ens}^{-1} w_{ens}(\Gamma) \tag{1.6}$$

$$Q_{ens} = \sum_{\Gamma} w_{ens}(\Gamma) \tag{1.7}$$

$$\langle A \rangle_{ens} = \frac{\sum_{\Gamma} w_{ens}(\Gamma) A(\Gamma)}{\sum_{\Gamma} w_{ens}(\Gamma)} \tag{1.8}$$

Η $w_{ens}(\Gamma)$ ονομάζεται συνάρτηση βάρους και είναι μία μη κανονικοποιημένη μορφή της $\rho_{ens}(\Gamma)$, ενώ η Q_{ens} αποτελεί την συνάρτηση καταμερισμού (partition function) η οποία δρα ως παράγοντας κανονικοποίησης και είναι χαρακτηριστική για κάθε Στατιστικό Μηχανικό Σύνολο. Η συνάρτηση καταμερισμού είναι μία συνάρτηση μακροσκοπικών ιδιοτήτων η οποία σχετίζεται με την κλασική θερμοδυναμική μέσω των θερμοδυναμικών ιδιοτήτων – συναρτήσεων X_{ens} σύμφωνα με τη σχέση (1.9)

$$X_{ens} = -lnQ_{ens} \tag{1.9}$$

Η συνάρτηση X_{ens} είναι χαρακτηριστική για κάθε Στατιστικό Μηχανικό Σύνολο, π.χ. η εντροπία S για το μοριακό σύστημα σε μία θερμοδυναμική κατάσταση το οποίο περιγράφεται από το Μικροκανονικό Στατιστικό Μηχανικό Σύνολο και σε μία άλλη κατάσταση π.χ. στην περίπτωση ενός Κανονικό Στατιστικού Μηχανικού Συνόλου αντιπροσωπεύει την ελεύθερη ενέργεια κατά Helmholtz σύμφωνα με τη σχέση

$$\frac{F}{k_B T} = -lnQ_{NVT} \tag{1.10}$$

Αναλόγως, για τα υπόλοιπα Στατιστικά Μηχανικά Σύνολα έχουμε αντίστοιχες θερμοδυναμικές σχέσεις.

1.3 Υπολογισμός βασικών θερμοδυναμικών ιδιοτήτων

Στο μέρος αυτό της εργασίας παρουσιάζονται οι βασικές σχέσεις μέσω των οποίων υπολογίζονται τα κυριότερα μακροσκοπικά θερμοδυναμικά μεγέθη – ιδιότητες, με βάση την κλασική θεώρηση, για σύστημα σωματιδίων αποτελούμενο από *N* μόρια:

α) **<u>Δυναμική Ενέργεια</u>**: Στην περίπτωση αυτή, υποθέτουμε ότι η δυναμική ενέργεια του συστήματος των N σωματιδίων προέρχεται από την αλληλεπίδραση των σωματιδίων ανά δύο λαμβανομένων καθ' όλους τους πιθανούς τρόπους. Επειδή μας ενδιαφέρει η μέση τιμή αυτής της ιδιότητας, αυτό επιτυγχάνεται μέσω της δειγματοληψίας όπως αναφέραμε στο προηγούμενο υποκεφάλαιο.

$$\langle U_P \rangle = \langle \sum_{i=1}^{N} \sum_{j=i+1}^{N} U(\boldsymbol{r}_i, \boldsymbol{r}_j, \boldsymbol{\Omega}_i, \boldsymbol{\Omega}_j) \rangle \tag{1.11}$$

β) **<u>Κινητική Ενέργεια</u>**: Η μέση κινητική ενέργεια του συστήματος αποτελείται κυρίως από δύο μέρη, και συγκεκριμένα, τη μεταφορική και την περιστροφική κίνηση των μορίων, κάτω από την υπόθεση ότι τα μόρια συμπεριφέρονται ως μη δονούμενα (rigid molecules). Στην περίπτωση, όμως, κατά την οποία στα μόρια περιλαμβάνονται και δονήσεις τότε ο όρος της

κινητικής ενέργειας συμπεριλαμβάνει και ένα μέρος αυτής που οφείλεται σε αυτές τις εσωτερικές χαρακτηριστικές κινήσεις του μορίου. Στην (1.12) παρουσιάζονται μόνο οι όροι για τους δύο πρώτους όρους της κινήσεως αυτής.

$$\langle E_K \rangle = \langle \sum_{i=1}^{N} \left(\sum_{a=x,y,z} \left(\frac{\boldsymbol{p}_{ia}^2}{2m_i} \right) + \frac{1}{2} \boldsymbol{\omega}_i^t \hat{I}_\iota \boldsymbol{\omega}_i \right) \rangle \tag{1.12}$$

γ) **<u>Ολική Ενέργεια</u>**: Ως ολική ενέργεια του μοριακού συστήματος εννοούμε το άθροισμα της δυναμικής και της κινητικής ενέργειας αυτού.

$$\langle E \rangle = \langle U_p \rangle + \langle E_k \rangle \tag{1.13}$$

δ) **<u>Θερμοκρασία</u>**: Η μέση θερμοκρασία του συστήματος, ως γνωστόν, εκτιμάται από τη μέση κινητική ενέργεια αυτού βάση της κινητικής θεωρίας.

$$\langle T \rangle = \frac{2}{3N_A k_B} \langle \sum_{i=1}^{N} \frac{\boldsymbol{p}_i^2}{2m_i} + \frac{1}{2} \boldsymbol{\omega}_i^t \hat{I}_i \boldsymbol{\omega}_i \rangle \tag{1.14}$$

ε) **<u>Πίεση</u>**: Η μέση πίεση του συστήματος εκτιμάται από την γενικευμένη σχέση της καταστατικής εξισώσεως η οποία αποτελείται από δύο μέρη. Το πρώτο μέρος αντιπροσωπεύει την ιδανική συμπεριφορά στην οποία προσαρτάται το μέρος που οφείλεται στην ενέργεια Virial.

$$PV = (N_A k_B T + E_{Virial}) \tag{1.15}$$

όπου τα σύμβολα **r**, **p**, **f** και **Ω** αντιστοιχούν σε ανύσματα θέσεως, ορμής, ολικής δύναμης και στερεών γωνιών Euler καθενός μορίου αντίστοιχα και U($\mathbf{r}_i$, $\mathbf{r}_j$, $\boldsymbol{\Omega}_\iota$, $\boldsymbol{\Omega}_j$) η συνάρτηση δυναμικής ενέργειας των μορίων(δυναμικό αλληλεπίδρασης). Στην περίπτωση όπου η ολική δύναμη σε ένα πολυατομικό μόριο π.χ. μόριο νερού, είναι το άθροισμα επιμέρους πλευρικών δυνάμεων, τότε τα απλά αθροίσματα στις σχέσεις μετατρέπονται σε πολλαπλά, με το δεύτερο άθροισμα να αναφέρεται στα επιμέρους κέντρα αλληλεπιδράσεως των μορίων. Για παράδειγμα η πίεση σε ένα σύστημα όπου οι αλληλεπιδράσεις αναπαρίστανται με δυναμικό 'πλευρικών αλληλεπιδράσεων' γίνεται:

$$PV = \left(N_A k_B T + \frac{1}{3} \langle \sum_{i=1}^{N} \sum_{a=1}^{l} \boldsymbol{r}_{ia} \boldsymbol{f}_{ia} \rangle \right) \tag{1.16}$$

όπου l είναι ο αριθμός των επιμέρους δυνάμεων που ασκούνται στο σωματίδιο i, με i=1(1)N.

1.4 Συναρτήσεις μέσης διαμοριακής δομής

Με τον όρο '*Μέση Διαμοριακή Δομή*' ρευστών μοριακών συστημάτων (αερίων υπό πίεση, υγρών, υπερκρισίμων) εννοούμε την κατά μέσο όρο διαμοριακή δομή του συστήματος επάνω από όλο το χώρο των μικροκαταστάσεων (φάσεων) αυτού. Είναι προφανές, ότι τα ρευστά μοριακά συστήματα δεν παρουσιάζουν κάποια καθορισμένη διαμοριακή δομή (γεωμετρία στο χώρο) όπως τα κρυσταλλικά στερεά και αυτό λόγω του γεγονότος της συνεχούς ευκινησίας των σωματιδίων που τα αποτελούν. Παρόλο αυτά, η διαφορετικότητα από την πλευρά της εντάσεως των πλευρικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των γειτονικών μορίων οδηγεί σε μία μέση διαμοριακή κατάσταση στα ρευστά συστήματα όπως έχουν δείξει πειραματικές μετρήσεις ακτινών Χ και νετρονίων σε ρευστά μοριακά συστήματα, απλά ή πολύπλοκα.

Από θεωρητικής πλευράς, η μέση διαμοριακή δομή μοριακών συστημάτων μελετάται μέσω της Στατιστικής Μηχανικής που περιγράφεται από ένα σύνολο ειδικών συναρτήσεων, με συνηθέστερη την 'Συνάρτηση Ακτινικής Κατανομής ανά ζεύγη' *g(r)* (Pair Distribution Function). Ανάλογα του μοριακού συστήματος προς διερεύνηση και σε περίπτωση πολυατομικών μορίων ή πλευρικών ομάδων αλληλεπίδρασης, μία πλήρης εικόνας μέσης διαμοριακής δομής αυτού μελετάται από το σύνολο των επιμέρους συναρτήσεων ακτινικής κατανομής πλευρικών κέντρων και της ακτινικής συναρτήσεως κέντρου μάζης – κέντρου μάζης. Στην περίπτωση του ρευστού συστήματος του CO_2, π.χ. για ορισμένη θερμοκρασία και πίεση οι απαιτούμενες ακτινικές συναρτήσεις μέσης διαμοριακής δομής είναι $g(r)_{O-O}$, $g(r)_{C-C}$, $g(r)_{O-C}$ όπου τα κέντρα αλληλεπίδρασης αναφέρονται σε διαφορετικά μόρια. Γενικά, η συνάρτηση 'ακτινικής κατανομής κατά ζεύγη' *g(r)* δίνει την πιθανότητα εύρεσης ενός ζεύγους μορίων, ή κέντρων πλευρικής αλληλεπίδρασης μορίων σε απόσταση *r*, σε σχέση με την πιθανότητα σε μια τυχαία κατανομή της ίδιας πυκνότητας.

Στο κανονικό Στατιστικό Μηχανικό σύνολο η κατανομή g(r) ορίζεται από την αναλυτική σχέση:

$$g(r_1, r_2) = \frac{N(N-1)}{\rho^2 Z_{NVT}} \int dr_3 dr_4 \dots dr_N \quad \exp(-\beta U(r_1, r_2, \dots, r_N)) \tag{1.17}$$

όπου $\beta = 1/k_B T$

και

$$Z_{NVT} = \int dr_1 dr_2 \dots dr_N \exp(-\beta U(r_1, r_2, \dots, r_N)) \tag{1.18}$$

είναι η συνάρτηση καταμερισμού (partition function) του συστήματος και ρ η μακροσκοπική αριθμητική πυκνότητα του συστήματος εκφρασμένη σε μόρια ανά όγκο (number density). Ισοδύναμη με την εξίσωση (1.17) είναι η (1.19), η οποία χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό των *g(r)*

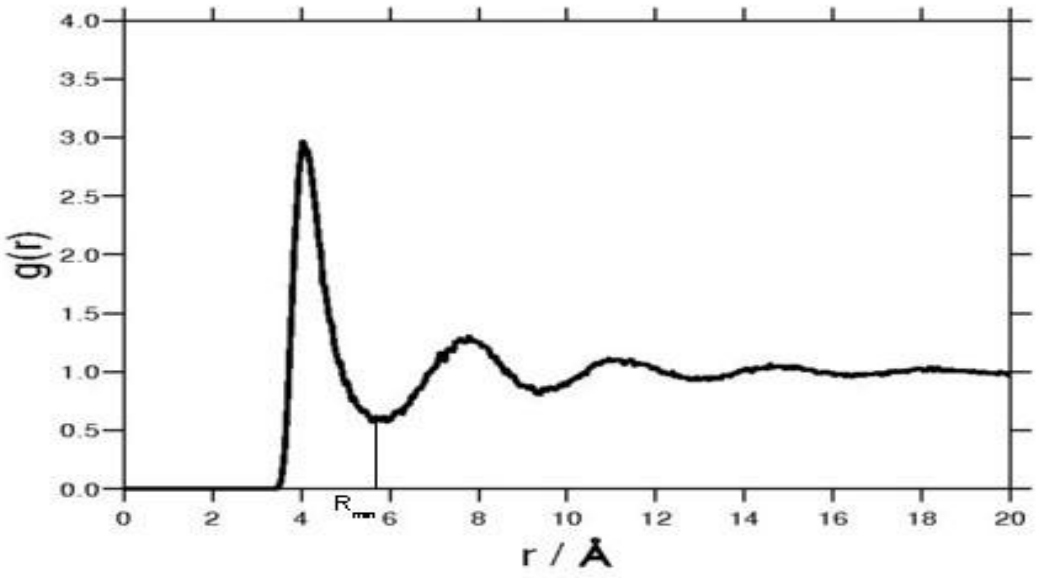
$$g(r) = \frac{V}{N^2}\langle \sum_i \sum_j \delta(r - r_{ij}) \rangle \tag{1.19}$$

όπου δ είναι η συνάρτηση Dirac.

Η ακριβής γνώση των συναρτήσεων g(r) (πειραματικά ή θεωρητικά) είναι δυνατόν να μελετηθούν περαιτέρω και να οδηγήσουν σε σημαντικές πληροφορίες σχετικά με το μέσο αριθμό των μορίων τα οποία ευρίσκονται στο διάστημα $[r_1,r_2]$ γύρω από ένα μόριο σύμφωνα με τη σχέση

$$n = \frac{N}{V}\int_{r_1}^{r_2} 4\pi r^2 g(r) dr \tag{1.20}$$

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει ο προσδιορισμός της πρώτης σφαίρας σύνταξης που δημιουργείται γύρω από κάθε σωματίδιο κατά μέσω όρο, ο οποίος οδηγεί στην εκτίμηση του μέσου αριθμού συντάξεως n μέσω ολοκληρώσεως της συναρτήσεως *g(r)* για διαμοριακή απόσταση στο διάστημα 0 μέχρι το πρώτο ελάχιστο της συναρτήσεως (αριθμός επιδιαλύτωσης μορίου).



Σχήμα1.1 *Η συνάρτηση ακτινικής κατανομής κέντρο μάζης – κέντρο μάζης g(r) και το πρώτο ελάχιστό της σε απόσταση R_{min} που οριοθετεί την πρώτη σφαίρα σύνταξης γύρω από ένα μόριο κατά μέσο όρο.*

Στο Σχήμα 1.1, παρουσιάζεται μία τυπική συμπεριφορά της συναρτήσεως g(r) με έντονα τα χαρακτηριστικά μέγιστα και ελάχιστα αυτής. Από το σχήμα αυτό παρατηρούμε μετά το πρώτο μέγιστο το πρώτο ελάχιστο αυτής όπως και μετά το δεύτερο μέγιστο το δεύτερο ελάχιστο αυτής, κ. ο. κ.. Οι θέσεις αυτές των αποστάσεων οριοθετούν κατά μέσο όρο την πρώτη και τη δεύτερη σφαίρα συντάξεως γύρω από κάθε μόριο κατά μέσο όρο.

Στην περίπτωση που το σύστημα μας αποτελείται από πολυατομικά μόρια είναι δυνατόν να προσδιοριστούν εκτός από τις μόριο – μόριο συναρτήσεις *g(r)* και οι πλευρικό κέντρο – πλευρικό κέντρο αντίστοιχες συναρτήσεις. Οι τελευταίες συναρτήσεις μας δίνουν την πληροφορία εύρεσης με κάποια πιθανότητα των ατόμων α και β διαφορετικών μορίων σε απόσταση r+δr μεταξύ αυτών. Οι συναρτήσεις αυτές είναι επιπλέον χρήσιμες, διότι πέρα από τις πληροφορίες για τη διαμοριακή δομή του συστήματος, μας παρέχουν επιπλέον γνώση για τον μέσο σχετικό προσανατολισμό των μορίων στο χώρο, ιδιαίτερα σε αυτόν που αναφέρεται στη πρώτη σφαίρα σύνταξης, αν συνδυάσουμε τη διαμόρφωση τους με την εσωτερική γεωμετρία των μορίων.

Επιπλέον, είναι δυνατόν από την ακτινική συνάρτηση κατανομής και δεδομένου του δυναμικού αλληλεπίδρασης μεταξύ των μορίων, να γίνει ακριβής προσδιορισμός της καταστατικής εξίσωσης του υπό μελέτη μοριακού συστήματος. Συγκεκριμένα στην περίπτωση του κανονικού Στατιστικού Μηχανικού συνόλου, η σχέση που οδηγεί στον υπολογισμό της μέσης πίεσης μονοατομικού ρευστού συστήματος είναι:

$$\langle P \rangle = \rho \quad k_B T - \frac{\rho^2}{6} \int_0^\infty 4\pi r^2 \left[r \cdot \frac{\partial U(r)}{\partial r} \right] g(r) dr \tag{1.21}$$

Στην περίπτωση του μεγάλου κανονικού Στατιστικού Μηχανικού συνόλου, όπου η πυκνότητα μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της προσομοίωσης, προκύπτει η εξής καταστατική εξίσωση:

$$\left(\frac{\partial \rho}{\partial P} \right)_{V,T} k_B T = 1 + \rho \int_0^\infty 4\pi r^2 (g(r) - 1) dr \tag{1.22}$$

Οι συναρτήσεις g(r) στα μοριακά συστήματα δύναται να προσδιορισθούν με πειραματικές τεχνικές ακτινών X και σκεδάσεως νετρονίων. Μέσω των πειραματικών αυτών τεχνικών εξάγεται ο στατικός παράγοντας δομής S(k) (Static Structure factor), ο οποίος συνδέεται με την συνάρτηση g(r) μέσω του μετασχηματισμό Fourier της συνάρτησης g(r):

$$S(\boldsymbol{k}) = 1 + 4\pi\rho \int_0^\infty 4\pi\rho \int_0^\infty r^2 \frac{\sin \boldsymbol{k}r}{kr} g(r) dr \qquad (1.23)$$

όπου **k** κυματάνυσμα. Είναι προφανές ότι με αντίστροφο μετασχηματισμό Fourier ανακτάται η συνάρτηση g(r) η οποία όταν είναι γνωστή κατευθείαν από το πείραμα είναι δυνατόν να συγκριθεί με την αντίσοιχη της θεωρίας.

1.5 Βασικές ιδιότητες μελέτης εσωτερικής δομής μακρομορίων – βιομορίων

Ιδιαίτερα στην περίπτωση πολυατομικών – βιολογικών μακρομοριακών συστημάτων, ενδιαφέρον παρουσιάζει η μελέτη της μεταβολής της εσωτερικής δομής αυτών κάτω από διαφορετικές συνθήκες. Παραδείγματος χάριν, στην περίπτωση των πρωτεϊνών το πρόβλημα της εσωτερικής διαμόρφωσής τους από εξωτερικούς παράγοντες, όπως είναι οι διαφορετικοί διαλύτες σε συνδυασμό με τη θερμοδυναμική κατάσταση του συστήματος (θερμοκρασία, πίεση, συγκέντρωση). Σε αυτές τις περιπτώσεις, μία τέτοια μελέτη στηρίζεται σε μία σειρά ιδιοτήτων όπως για παράδειγμα η γυροσκοπική ακτίνα R_g, η μέση τετραγωνική απόκλιση της δομής RMSD, η προσιτή επιφάνεια του μακρομορίου από τα μόρια του διαλύτη (SAS), η ανάλυση συνδιακύμανσης συντεταγμένων διαφορετικών ατόμων μακρομορίων, η μελέτη μεταβλητότητας δίεδρων γωνιών μέσω των γεωμετρικών χαρακτηριστικών τους και τέλος, η διερεύνηση των πιθανών δεσμών υδρογόνου τόσο εσωτερικών όσο και εξωτερικών ιδιαίτερα στα υδατικά διαλύματα. Η μεθοδολογία διερεύνησης του δικτύου των δεσμών υδρογόνου στα συστήματα θεωρητικά μπορεί να επιτευχθεί τόσο στα πλαίσια μοριακής δυναμικής αλλά και Monte Carlo προσομοίωσης. Η ως προς το χρόνο εξέλιξη τους και διαμόρφωση στο μοριακό σύστημα δύναται να διερευνηθεί μόνο με την Μοριακή Δυναμική.

1.5.1 Γυροσκοπική ακτίνα (R_g)

Γενικά είναι γνωστό ότι όταν ένα μακρομόριο βρεθεί σε ένα κατάλληλο διαλύτη τότε τα διάφορα τμήματά του λόγω διαμοριακών δυνάμεων τείνουν να περιβάλλονται από μόρια του διαλύτη με συνέπεια να παρουσιάζει εκτεταμένο μέγεθος ενώ στην αντίθετη περίπτωση το μακρομόριο συρρικνώνεται με αποτέλεσμα να μειώνονται οι διαστάσεις του. Υπό την επίδραση ενός Θ – διαλύτη και σε ανάλογες συνθήκες (Θ – θερμοκρασία) οι δυνάμεις έλξης και άπωσης αλληλοαναιρούνται και το πολυμερές αποκτά σε αυτές τις συνθήκες αδιατάρακτες διαστάσεις (unperturbed dimensions). Σε αυτήν την περίπτωση, οι μακρομοριακές αλυσίδες ονομάζονται '*αδιατάρακτες*' και οι διαμορφώσεις της μοριακής τους δομής διέπονται αποκλειστικά από αλληλεπιδράσεις μικρής εμβέλειας[27].

Σύμφωνα με τον Flory[28], όταν ένα μακρομόριο βρεθεί σε δεδομένες συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας υπάρχουν δύο αντίρροπες τάσεις που καθορίζουν το μέγεθος των αλυσίδων του. Μεταξύ των διαφόρων ομάδων και ατόμων ενός μακρομορίου που γειτνιάζουν αναπτύσσονται όπως είναι φυσιολογικό απωστικές, μη δεσμικές αλληλεπιδράσεις οι οποίες δεν επιτρέπουν στα εν λόγω διαφορετικά τμήματα αυτού να πλησιάσουν μεταξύ τους, δημιουργώντας κατά αυτό τον τρόπο ένα φαινόμενο που καλείται φαινόμενο του αποκλειόμενου όγκου (excluded volume). Αυτό το φαινόμενο έχει σαν αποτέλεσμα τη διεύρυνση των διαστάσεων του πολυμερούς. Πάραυτα, το παραπάνω φαινόμενο δεν προσλαμβάνει πέρα του επιτρεπτού απεριόριστα εκτεταμένες διαστάσεις λόγω διαμοριακών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των τμημάτων των περιβαλλουσών αλυσίδων.

Η παραπάνω θεώρηση όπως είναι φυσιολογικό οδήγησε τους ερευνητές στην αναζήτηση μιας μεθοδολογίας προσδιορισμού και καταγραφής των διαστάσεων των μακρομορίων κυρίως σε διάφορους διαλύτες. Πληροφορία η οποία αποδείχτηκε υψίστης σημασίας στην περίπτωση επίσης βιομορίων σε υδατικά διαλύματα και κάτω από διαφορετικές θερμοκρασίες. Στην περίπτωση αυτή ένα μέγεθος το οποίο μπορεί να προσδιοριστεί πειραματικά και θεωρητικά είναι η γυροσκοπική ακτίνα R_g. Στην περίπτωση που έχουμε μία πρωτεΐνη αποτελούμενη από N άτομα στο χώρο και της οποίας η δομή (οι συντεταγμένες θέσεως ενός εκάστου ατόμου αυτής είναι καθορισμένες) είναι γνωστή, τότε η ιδιότητα R_g υπολογίζεται με τη βοήθεια της σχέσεως (1.24)

$$R_g = \sqrt{\frac{\sum_i^N m_i \left|\overrightarrow{r_i}\right|^2}{\sum_i^N m_i}} \qquad (1.24)$$

όπου m_i είναι η μάζα του ατόμου i και $\vec{r}_i$ είναι το διάνυσμα θέσεως αυτού από το κέντρο μάζας C_M της πρωτεΐνης. Από πειραματικής πλευράς, η δομή ενός βιομορίου είναι δυνατόν να χαρακτηριστεί μέσω κρυσταλλογραφίας με τη βοήθεια ακτινών Χ με μεγάλη ακρίβεια. Πληροφορία η οποία οδηγεί εύκολα στον υπολογισμό της ιδιότητας R_g. Ενδιαφέρον παρουσιάζει η μεταβολή της δομής του βιομορίου σε διάφορους διαλύτες, η οποία οδηγεί και σε μεταβολή της ακτίνας R_g και η οποία, όπως είναι αναμενόμενο, παρουσιάζει θερμοκρασιακή εξάρτηση. Η παραπάνω ιδιότητα δύναται να υπολογιστεί εύκολα και μέσω μοριακών προσομοιώσεων των συγκεκριμένων συστημάτων.

Εκτός του μεγέθους της γυροσκοπικής ακτίνας, στην περίπτωση που έχουμε διακριτές ομάδες σε μακρομόρια ή γενικά σε βιομόρια (π.χ. στην AngII τα διάφορα αμινοξέα αυτής), ενδιαφέρον παρουσιάζει η εκτίμηση της μέσης και της ελαχίστης τιμής των αποστάσεων μεταξύ των γεωμετρικών κέντρων των ομάδων αυτών ανά δύο λαμβανομένων.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η ύπαρξη διαφόρων αμινοξέων σε ένα μόριο πρωτεΐνης όπου υπολογίζουμε την ελάχιστη δυνατή απόσταση μεταξύ των κέντρων μάζης δύο διαφορετικών αμινοξέων ή μεταξύ των ατόμων διαφορετικών αμινοξέων.

1.5.2 Τετραγωνική Ρίζα της Μέσης απόκλισης (Root mean square deviation, RMSD) της διαμόρφωσης της δομής πολυατομικού μορίου

Όταν ελέγχουμε τις διαμορφώσεις ενός μακρομοριακού – βιολογικού συστήματος στα πλαίσια προσομοίωσής του, κατά κανόνα μία ιδιότητα που χρησιμοποιείται είναι αυτή της RMSD των χαρακτηριστικών ατόμων ενός μακρομορίου σε σχέση με μία δομή αναφοράς που έχει καθοριστεί εκ των προτέρων. Συγκεκριμένα, για δύο διαφορετικούς χρόνους t_1 και t_2 η εν λόγω ιδιότητα υπολογίζεται από την παρακάτω σχέση

$$RMSD(t_1, t_2) = \left[\frac{1}{M}\sum_{i=1}^{N} m_i \|\boldsymbol{r}_i(t_1) - \boldsymbol{r}_i(t_2)\|^2\right]^{\frac{1}{2}} \tag{1.25}$$

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

Σε αυτό το σημείο μπορούμε να αναφέρουμε ότι η δομή αναφοράς συνήθως είναι η δομή μίας πρωτεΐνης που αντιστοιχεί σε ένα χρόνο t=0 π.χ. στην κρυσταλλική της μορφή. Επίσης, η παραπάνω σχέση μπορεί να εφαρμοστεί για μία δομή στη χρονική στιγμή $t_2 = t_1 - \tau$. Ένας τέτοιος υπολογισμός παρέχει μία εικόνα σχετικά με την ευκινησία των ομάδων της πρωτεΐνης ως συνάρτηση του τ. Επίσης, μέσω του υπολογισμού του RMSD μπορούμε να κατασκευάζουμε έναν πίνακα ο οποίος παρέχει μία παραστατική γραφική εικόνα της τροχιάς των ατόμων του μορίου. Μία τέτοια απεικόνιση της τροχιάς είναι πολύ χρήσιμη επειδή στην περίπτωση που υπάρχουν σημαντικές μεταβολές (transitions) στην τροχιά, αυτές καθίστανται ορατές και κατά συνέπεια καταγράφονται. Συμπληρωματικά με τον υπολογισμό του RMSD μπορούμε να υπολογίζουμε μία παρόμοια ιδιότητα μέσω της σχέσεως

$$RMSD(t) = \left[\frac{1}{N^2}\sum_{i=1}^{N}\sum_{j=1}^{N} \left\|\boldsymbol{r}_{ij}(t) - \boldsymbol{r}_{ij}(0)\right\|^2\right]^{\frac{1}{2}} \tag{1.26}$$

στην οποία η ατομική απόσταση $\boldsymbol{r}_{ij}$ μεταξύ διαφορετικών ατόμων κατά την χρονική στιγμή t συγκρίνεται με την απόσταση μεταξύ των ίδιων ατόμων στο χρόνο 0.

1.5.3 Πλησιέστερη προσιτή επιφάνεια μακρομορίου από τα μόρια του διαλύτη (Solvent Accessible Surfaces, SAS)

Μία άλλη ιδιότητα στη συστηματική μελέτη της διαμοριακής δομής μεταξύ ενός μακρομορίου με τα μόρια του διαλύτη είναι αυτή η οποία σχετίζεται με την πλησιέστερη περιβάλλουσα επιφάνεια του βιομορίου την οποία δύναται να την πλησιάσουν (κατώτερο όριο προσπέλασης) μόρια διαλύτη (solvent accessible surface – SAS). Η επιφάνεια SAS προτάθηκε για πρώτη φορά από τους Lee και Richards στις αρχές της δεκαετίας του 1970[29]. Η μεθοδολογία του υπολογισμού αυτής αναπτύχθηκε από τους Shrake και Rupley[30]οι οποίοι ανέπτυξαν τον αλγόριθμο της 'κυλιόμενης μπάλας' (rolling ball) ο οποίος τελειοποιήθηκε από τους Richards[31] και Connolly[32,33]. Λόγω της εκτεταμένης έρευνας του Connolly σε αυτές τις επιφάνειες, μερικές φορές καλείται και επιφάνεια Connolly. Στην συγκεκριμένη περίπτωση και σύμφωνα με τον ορισμό μίας τέτοιας επιφάνειας, η οποία είναι η εξωτερική επιφάνεια ενός μορίου η οποία δημιουργείται εάν σχεδιάσουμε μία σφαίρα με ακτίνα την ακτίνα Van der Waals ενός εκάστου ατόμου του μακρομορίου. Η τελική SAS που δημιουργείται με αυτό τον τρόπο καθορίζεται από την τομή των γειτονικών σφαιρών των ατόμων. Κατά συνέπεια, η αντίστοιχη SAS ενός εκάστου ατόμου του μορίου αποτελεί μόνο ένα μικρό μέρος της επιφάνειας της σφαίρας του και στην πραγματικότητα συνεισφέρει με ένα μικρό μέρος στην συνολική μοριακή εξωτερική επιφάνεια SAS. Είναι προφανές ότι σύμφωνα με τα παραπάνω, η SAS ενός μακρομορίου ως ιδιότητα προσδιορίζεται από τα παραπάνω αλλά και από τη διαμόρφωση του μακρομορίου μέσα στον διαλύτη εν γένει. Επιπλέον, η ακριβής γνώση της επιφάνειας SAS είναι δυνατόν να οδηγήσει στον καθορισμό του υδρόφοβου και του υδρόφιλου μέρους των εξωτερικών τμημάτων του βιομορίου.

1.6 Δυναμικές ιδιότητες

Με την έννοια 'Δυναμικές ιδιότητες' αναφερόμαστε σε όλες τις ιδιότητες ενός μοριακού συστήματος οι οποίες εξαρτώνται από το χρόνο (χρονικά εξαρτημένες ιδιότητες). Προφανώς, στη συγκεκριμένη περίπτωση, αναφερόμαστε στη γραμμική όπως και στη γωνιακή ταχύτητα των μορίων καθώς επίσης και άλλων ιδιοτήτων οι οποίες σχετίζονται άμεσα στα πλαίσια της μοριακής δυναμικής με τις αποκαλούμενες συναρτήσεις συσχετισμού χρόνου δυναμικών ιδιοτήτων $C_A(t)$. Σε αυτές τις ιδιότητες συμπεριλαμβάνουμε και τις ιδιότητες μεταφοράς π.χ. μάζης, φορτίου, θερμότητας, φαινόμενα τα οποία χαρακτηρίζονται ως μεταφορική διάχυση, ηλεκτρική αγωγιμότητα και θερμική αγωγιμότητα. Οι παραπάνω ιδιότητες, εκτός από την πρωταρχική θεωρία ιδιοτήτων μεταφοράς κατά Fick και με βάση τη κινητική θεωρία των αερίων, είναι δυνατόν να μελετηθούν στα πλαίσια της γενικευμένης θεωρίας γραμμικής αποκρίσεως (linear response theory) στην οποία οι ιδιότητες μεταφοράς των σωματιδίων

σχετίζονται άμεσα με τις συναρτήσεις συσχετισμού χρόνου χαρακτηριστικών δυναμικών ιδιοτήτων.

1.6.1 Συναρτήσεις Συσχετισμού Χρόνου

Οι συναρτήσεις συσχετισμού χρόνου δυναμικών ιδιοτήτων A(t) (Time correlation function) εισήχθησαν για πρώτη φορά στη δεκαετία του 1950 από τους Green και Gubo[24]. Με τις εν λόγω συναρτήσεις είναι δυνατόν να μελετήσουμε στατιστικά μηχανικά τη χρονική εξέλιξη δυναμικών φαινομένων μοριακών συστημάτων σε συγκεκριμένη θερμοδυναμική κατάσταση.

Στην κλασική περιγραφή μοριακών συστημάτων, αν θεωρήσουμε με $\boldsymbol{p}(t)$ και $\boldsymbol{q}(t)$ τα γενικευμένα διανύσματα ορμής και θέσης των μορίων του συστήματος τη χρονική στιγμή t με αρχικές τιμές αυτών για t = 0, τα $\boldsymbol{p}(0)$ και $\boldsymbol{q}(0)$, τότε αυτά συνδέονται μεταξύ τους μέσω των εξισώσεων (1.27) και (1.28)

$$\boldsymbol{p}(t) = P(\boldsymbol{p}(0), \boldsymbol{q}(0); t) \tag{1.27}$$

$$\boldsymbol{q}(t) = Q(\boldsymbol{p}(0), \boldsymbol{q}(0); t) \tag{1.28}$$

Υποθέτουμε στη συνέχεια ότι για μία χρονική στιγμή t, μία δυναμική ιδιότητα είναι συνάρτηση των θέσεων και των ορμών των σωματιδίων, A(t)≡A(p(t),q(t)). Ορίζουμε ως συνάρτηση συσχετισμού χρόνου αυτής της ιδιότητας το πολλαπλό ολοκλήρωμα από τη σχέση (1.29)

$$C(t) = \langle A(0)A(t)\rangle = \int \dots \int dpdqA(p,q;0)A(p,q;t)f(p,q) \tag{1.29}$$

όπου f(p,q) είναι η συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητας στο χώρο των φάσεων και με το σύμβολο < ..> συμβολίζουμε την ανανμενώμενη ή μέση τιμή της δυναμικής ιδιότητας A.

Ως παράδειγμα αναφέρουμε τη γραμμική ταχύτητα $\boldsymbol{v}(t)$των σωματιδίων ενός μοριακού συστήματος που ορίζεται από την συνάρτηση συσχετισμού μέσω της ακόλουθης εξίσωσης

$$C_v(t) = \langle \boldsymbol{v}_i(0) \cdot \boldsymbol{v}_i(t)\rangle \tag{1.30}$$

Διάφορες συναρτήσεις συσχετισμού $C_{A(t)}$, αντιστοιχούν κάθε φορά σε μία διαφορετική ιδιότητα A και η χρονική συμπεριφορά αυτών καθορίζεται από τη χρονική εξέλιξη του μεγέθους του συσχετισμού αυτής ως προς τον εαυτό της σε διαφορετικές χρονικές στιγμές. Είναι προφανές ότι ο υπολογισμός μίας τέτοιας συναρτήσεως συσχετισμού σε μοριακό σύστημα υπό μελέτη σχετίζεται άμεσα με τη γνώση των τροχιών των σωματιδίων του συστήματος, γεγονός το οποίο απαιτεί την προσεγγιστική επίλυση των εξισώσεων κίνησης

των σωματιδίων αυτού. Μία τέτοια διαδικασία είναι δυνατή στα πλαίσια των υπολογιστικών τεχνικών των μοριακών προσομοιώσεων συστημάτων Μοριακής Δυναμικής (MD) τόσο στην κλασική της μορφή όσο και στην κβαντική της θεώρηση (π.χ. QM - MD όπως Car Parinello Technique[34]).

Με το σύμβολο $C_A(t)$ εννοούμε την κανονικοποιημένη συνάρτηση συσχετισμού της ιδιότητας A(t) η οποία δύναται να είναι διανυσματικό ή μονόμετρο μέγεθος και υπολογίζεται από την εξίσωση (1.31)

$$C_A(t) = \frac{\langle A(0) \cdot A(t) \rangle}{\langle A(0) \cdot A(0) \rangle} \tag{1.31}$$

Στην περίπτωση που η ιδιότητα είναι διανυσματικό μέγεθος το σύμβολο "·" δηλώνει εσωτερικό γινόμενο διανυσμάτων.

Επιπρόσθετα, άλλη μία φυσική ποσότητα που υπολογίζεται μέσω των συναρτήσεων συσχετισμού χρόνου είναι ο χρόνος αποκατάστασης (relaxation time) τ_A, ο οποίος ορίζεται από το ακόλουθο ολοκλήρωμα

$$\tau_A = \int_0^{+\infty} C_A(t) dt \tag{1.32}$$

1.6.2 Υπολογισμός ιδιοτήτων μεταφοράς

Ως φαινόμενα μεταφοράς ορίζουμε τις διαδικασίες εκείνες που παρατηρούνται σε υλικά συστήματα και κατά τις οποίες έχουμε μεταφορά 'ύλης' ή 'ενέργειας' ή 'ηλεκτρικού φορτίου' εντός του χώρου που βρίσκονται.

Τα φαινόμενα αυτά έχουν ως αρχή τη βάθμωση (gradient) των αντιστοίχων δυναμικών των παρά πάνω ιδιοτήτων και περιγράφονται με διαφορικές εξισώσεις 'Μεταφοράς' πρώτης τάξεως ως προς το χρόνο του δυναμικού ξ σύμφωνα με τη σχέση (1.33), η οποία παριστά φαινόμενα μεταφοράς σε μία διάσταση ενώ στην γενική της μορφή η πλήρης περιγραφή είναι και στις τρεις διαστάσεις (x,y,z).

$$\frac{\partial \xi}{\partial t} = a^2 \frac{\partial^2 \xi}{\partial x^2} \tag{1.33}$$

όπου το σύμβολο α συμβολίζει μία σταθερά η οποία είναι χαρακτηριστική για το κάθε φαινόμενο μεταφοράς (συντελεστής μεταφοράς). Ως παράδειγμα αναφέρουμε τη μεταφορά ύλης από μία περιοχή σε μία άλλη στο σύστημα, όπου εδώ το 'Δυναμικό' αντιστοιχεί στο φαινόμενο της 'Διάχυσης' λόγω μεταφοράς σωματιδίων (ατόμων, μορίων κ.τ.λ.) από περιοχή

μεγάλης συγκέντρωσης σε περιοχή μικρής συγκέντρωσης του συστήματος και από μικροσκοπική άποψη[35] περιγράφεται από το νόμο του Fick για τη διάχυση

$$j = -D\frac{\partial n}{\partial x} \tag{1.34}$$

όπου j συμβολίζει την πυκνότητα ροής μάζας, $\frac{\partial n}{\partial x}$ τη βάθμωση της συγκέντρωσης ανά μονάδα μήκους και D το συντελεστή διάχυσης.

Παρόμοιες σχέσεις με τις παραπάνω ισχύουν και για τα υπόλοιπα φαινόμενα μεταφοράς όπως το 'ιξώδες' ροής, η, τη 'θερμική αγωγιμότητα', k, και την 'ηλεκτρική αγωγιμότητα', κ.

Από πλευράς Στατιστικής Μηχανικής, ο υπολογισμός όλων των συντελεστών μεταφοράς δύναται να υπολογιστεί στα πλαίσια της Θεωρίας Γραμμικής Αποκρίσεως με βάση τις συναρτήσεις συσχετισμού χρόνου. Οι βασικές αρχές αυτού του Φορμαλισμού εισήχθησαν αρχικά από τον Green[36,37,38].

Σύμφωνα με αυτόν τον φορμαλισμό, τα φαινόμενα μεταφοράς ορίζονται σε σχέση με την απόκριση του συστήματος κάτω από μία 'Διατάραξη' πρώτης τάξεως αυτού. Εισάγοντας κάποια μορφή διατάραξης στη Χαμιλτωνειανή του συστήματος ή απευθείας στις εξισώσεις κίνησης που περιγράφουν αυτό, είναι δυνατόν να υπολογίσουμε τις επιδράσεις της διατάραξης στη συνάρτηση πυκνότητας πιθανότητας των μικροκαταστάσεων $\rho_{ισορ}$ του συστήματος. Γενικώς ισχύει

$$\rho(t) = \rho_{ισορ} + \Delta\rho(t) \tag{1.35}$$

όπου Δρ(t) είναι ο όρος διατάραξης και επιπλέον υποθέτουμε ότι είναι γραμμική ως προς το χρόνο. Στη συνέχεια διατηρώντας τους γραμμικούς όρους της διαταράξεως και συγκρίνοντας την εξίσωση για την απόκριση (response) με μία εξίσωση μεταφοράς μακροσκοπική, μπορούμε να εξάγουμε τον συντελεστή μεταφοράς ζ. Το παραπάνω εκφράζεται με το χρονικό ολοκλήρωμα μίας αντιστοίχου συναρτήσεως συσχετισμού χρόνου του συστήματος σε ισορροπία που δίνεται από τη σχέση (1.36)

$$\zeta = \int_0^\infty \langle \dot{A}(t)\dot{A}(0)\rangle dt \tag{1.36}$$

όπου Α είναι μία δυναμική μεταβλητή – ιδιότητα που εμπλέκεται στον όρο διαταράξεως της Χαμιλτωνειανής[24].

Στην περίπτωση αρκετά μεγάλων χρονικών διαστημάτων σε μοριακά συστήματα συγκρινόμενα με τον χρόνο συσχετισμού της δυναμικής ιδιότητας Α, ο οποίος είναι αρκετά

μικρός, οι συντελεστές μεταφοράς μπορούν να υπολογιστούν με τη σχέση ‘Einstein’ στην οποία ισχύει

$$\zeta = \frac{\langle (A(t) - A(0))^2 \rangle}{2t} \tag{1.37}$$

Η διασύνδεση των δύο ανωτέρων σχέσεων μπορεί εύκολα να αποκαλυφθεί με ολοκλήρωση κατά τμήματα της παραπάνω σχέσεως. Σε αυτό το σημείο θα ήταν χρήσιμο να επισημάνουμε ότι υπάρχει ένας μικρός αριθμός δυναμικών ιδιοτήτων Α των οποίων οι αντίστοιχοι συντελεστές μεταφοράς ζ έχουν φυσική σημασία και είναι δυνατόν να μετρηθούν μέσω εξειδικευμένων πειραμάτων[39].

Στα πλαίσια των μοριακών προσομοιώσεων, οι διάφοροι συντελεστές μεταφοράς εκτιμούνται είτε με τη μεθοδολογία ‘Green – Kubo’ είτε με τη μεθοδολογία ‘Einstein’.

Συγκεκριμένα, ο συντελεστής μεταφοράς ‘Διαχύσεως’ D ο οποίος μελετήθηκε και στην μελέτη της παρούσα εργασίας είναι δυνατόν να υπολογισθεί από τη σχέση

$$D = \frac{1}{3}\int_0^\infty \langle \boldsymbol{v}_i(t) \cdot \boldsymbol{v}_i(0) \rangle dt \tag{1.38}$$

όπου $\boldsymbol{v}_i$ είναι η ταχύτητα του κέντρου μάζης ενός εκάστου μορίου.

Η αντίστοιχη σχέση Einstein για μεγάλα χρονικά διαστήματα είναι

$$2tD = \langle |\boldsymbol{r}_i(t) - \boldsymbol{r}_i(0)|^2 \rangle \tag{1.39}$$

όπου $\boldsymbol{r}_i$ είναι το διάνυσμα θέσεως του κέντρου μάζης του μορίου και αναφέρεται ως ‘Μέση Τετραγωνική Απομάκρυνση’ (Mean Square Displasement, MSD). Στις εφαρμογές οι παραπάνω μέσες τιμές υπολογίζονται πάνω από όλα τα σωματίδια του προσωμοιομένου συστήματος και για ένα μεγάλο αριθμό μικροαπεικονίσεων που παράγονται μέσω της Μοριακής Δυναμικής Προσομοίωσης και για ένα μεγάλο χρονικό διάστημα εντός της ισορροπίας.

Ο υπολογισμός του συντελεστή μεταφορικής διάχυσης των μορίων σε ένα σύστημα είναι σημαντική πληροφορία και σχετίζεται άμεσα τόσο με την θερμοδυναμική κατάσταση αυτού όσο και με τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις και την τοπική διαμοριακή δομή του. Στην περίπτωση που τα μόρια του συστήματος αποτελούνται από μικρό αριθμό ατόμων το φαινόμενο της μεταφορικής διαχύσεως συνήθως αναφέρεται στο κέντρο μάζας του μορίου. Εάν όμως τα μόρια αποτελούνται από μεγάλο αριθμό ατόμων, διαφορετικών ομάδων κ.τ.λ. και είναι μεγάλου μοριακού βάρους (μακρομόρια, βιομόρια), τότε το φαινόμενο της μεταφορικής διαχύσεως εξειδικεύεται στα χαρακτηριστικά τμήματα αυτών και στην

περίπτωση αυτή αναφερόμαστε στη διαχυτική κίνηση των επιμέρους τμημάτων των μορίων κάτω από ορισμένες συνθήκες.

Εκτός των παραπάνω και με βάση την υδροδυναμική θεωρία, ο συντελεστής μεταφορικής διάχυσης ενός μορίου συσχετίζεται με τις μοριακές διαστάσεις αυτού μέσω της εξίσωσης Stokes – Einstein όπου k_B είναι η σταθερά Boltzmann, T η απόλυτη θερμοκρασία, η το ιξώδες και r η υδροδυναμική ακτίνα της σφαίρας επιδιαλύτωσης των σωματιδίων

$$D_{trans} = \frac{k_B T}{6\pi\eta r} \tag{1.40}$$

Η παραπάνω σχέση παρατηρούμε ότι συνδέει δύο διαφορετικούς συντελεστές μεταφοράς, συγκεκριμένα τη διάχυση D και το ιξώδες η, γεγονός το οποίο οδηγεί πολλούς ερευνητές στην εκτίμηση του ενός διαμέσου του άλλου στην περίπτωση που είναι γνωστός, π.χ. μέσω πειράματος ένας εξ αυτών. Μία τέτοια διαδικασία έχει αποδειχθεί ότι δεν είναι απόλυτα ορθή, και δεν έχει καθολική ισχύ όπως έχουν δείξει αρκετές πειραματικές εργασίες μέχρι σήμερα ιδιαίτερα σε υγρά μοριακά συστήματα των οποίων οι διαμοριακές δυνάμεις είναι πολύπλοκες και με σημαντική δυσκολία στον υπολογισμό και προσέγγιση της υδροδυναμικής ακτίνας του μορίου αυτού.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2 ΔΙΑΜΟΡΙΑΚΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ

2.1 Γενικά

Η υπόθεση περί υπάρξεως και συστάσεως της ύλης από στοιχειώδη σωματίδια έχει τις ρίζες της στους διανοητές της αρχαίας Ελλάδας. Παρόλα αυτά, η χρησιμοποίηση των απόψεων και ιδεών αυτών στη μελέτη της συμπεριφοράς της ύλης άργησε αρκετούς αιώνες να έλθει στο προσκήνιο του ενδιαφέροντος. Με βάση την αποδοχή ότι η ύλη απαρτίζεται από σωματίδια (άτομα, μόρια, ιόντα κτλ.), είναι λογικό να τεθεί το βασικό ερώτημα των αιτίων που καθορίζουν τη διαφορετικότητα των υλικών συστημάτων η οποία σχετίζεται με τη μορφή τους καθώς και τις ιδιότητές τους. Η παραπάνω βασική θεώρηση οδήγησε τους εκάστοτε ερευνητές στην διερεύνηση αυτών των αιτίων μεταξύ των οποίων η μορφή και ο τρόπος των αλληλεπιδράσεων των σωματιδίων υπήρξε και εξακολουθεί να υπάρχει αντικείμενο συστηματικής έρευνας μέχρι σήμερα.

Η μικροσκοπική κατάσταση ενός συστήματος N σωματιδίων (ατόμων, μορίων κ.τ.λ.) μπορεί να περιγραφεί από τις συγκεκριμένες θέσεις και ορμές αυτών ως προς ένα ακλόνητο σύστημα συντεταγμένων. Σε κάθε περίπτωση, οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των σωματιδίων ενός μοριακού συστήματος θεωρούνται απαραίτητο στοιχείο καθορισμού και περιγραφής της Χαμιλτωνιανή $H(\boldsymbol{r}, \boldsymbol{p})$ αυτού, η οποία είναι μία πολύπλοκη συνάρτηση των γενικευμένων συντεταγμένων θέσεως $\boldsymbol{r}_i$ και ορμής $\boldsymbol{p}_i$ κάθε σωματιδίου[40].

Γενικά, η Χαμιλτωνιανή μπορεί να χωριστεί σε δύο μέρη,

$$H(\boldsymbol{q}, \boldsymbol{p}) = E_K(\boldsymbol{p}) + U(\boldsymbol{q}) \tag{2.1}$$

όπου

$$\boldsymbol{q} = (q_{1,} q_2, \dots, q_{N,})$$

$$\boldsymbol{p} = (p_{1,} p_2, \dots, p_{N,})$$

Ο όρος E_K εκφράζει την κινητική ενέργεια των μορίων ενώ ο όρος U το μέρος της δυναμικής αυτών που οφείλεται στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των.

Η κινητική ενέργεια E_K εκφράζεται από την παρακάτω σχέση

$$E_K = \sum_{i=1}^{N} \sum_{a} \frac{p_{ia}^2}{2m_i} \tag{2.2}$$

η οποία στην προκειμένη περίπτωση εκφράζει τη μεταφορική κίνηση των ατόμων. Ανάλογες σχέσεις δύνανται να γραφούν στην περίπτωση των μοριακών κινήσεων περιστροφής και δόνησης. Στη σχέση (2.2), m_i εκφράζει τη μοριακή μάζα του σωματιδίου i και ο δείκτης α τις διαφορετικές συνιστώσες της ορμής αυτού. Από τους δύο όρους της Χαμιλτωνιανής ο όρος της κινητικής ενέργειας είναι συνήθως εύκολα προσδιοριζόμενος μέσω των μοριακών ταχυτήτων (άρα και των ορμών) για δεδομένη θερμοκρασία. Η συνάρτηση όμως της δυναμικής ενέργειας U αποτελεί ένα ουσιαστικό πρόβλημα προσδιορισμού σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις μοριακών συστημάτων εξαιτίας της πολυπλοκότητας της. Γενικά, η ακριβής γνώση της συνάρτησης αυτής εξαρτάται όχι μόνο από το είδος των αλληλεπιδρώντων σωματιδίων αλλά και από τη θερμοδυναμική κατάσταση αυτού. Συγκεκριμένα, το διαμοριακό δυναμικό ενός συστήματος διαφοροποιείται σημαντικά στην περίπτωση υψηλών πιέσεων αυτού σε κανονικές πιέσεις. Σε γενικές γραμμές, η γνώση της συνάρτησης του δυναμικού αλληλεπίδρασης είναι σημαντική διότι παρέχει πληροφορίες για τις διαμοριακές δυνάμεις οι οποίες είναι καθοριστικός παράγοντας διαμόρφωσης των ιδιοτήτων των μοριακών συστημάτων.

Σχετικά με το πραγματικό δυναμικό αλληλεπίδρασης συστήματος N σωματιδίων, αυτό δύναται να περιγραφεί από ένα άθροισμα όρων οι οποίοι προκύπτουν από την αλληλεπίδραση των σωματιδίων ανά δύο, ανά τρία, ανά τέσσερα κοκ. σύμφωνα με την γενική σχέση [41]

$$U(r) = \sum_{i<j} U(r_{ij}) + \sum_{i<j<k} U(r_{ijk}) + \sum_{i<j<k<l} U(r_{ijkl}) + \cdots \qquad (2.3)$$

Στην παραπάνω σχέση, ο πρώτος όρος αναφέρεται στην αλληλεπίδραση ανά δύο, ο δεύτερος ανά τρία κτλ των μορίων λαμβανομένων με όλους τους δυνατούς τρόπους. Καθώς η τάξη των όρων αυξάνεται, η συνεισφορά αυτών στο συνολικό δυναμικό μειώνεται σημαντικά, έτσι ώστε για θερμοδυναμικές καταστάσεις χαμηλής πιέσεως αρκετοί από αυτούς τους όρους να μην έχουν ουσιαστική σημασία. Συγκεκριμένα, η σημασία στην συνεισφορά των ανωτέρω όρων του δυναμικού εξαρτάται από την απόσταση μεταξύ των ατόμων που βρίσκονται σε διαφορετικά μόρια. Από πρακτικής πλευράς και για τις εφαρμογές, το πραγματικό – ουσιαστικό δυναμικό αλληλεπίδρασης μεταξύ των σωματιδίων δύναται να καθοριστεί αυστηρά μόνο σε ελάχιστες περιπτώσεις και μάλιστα απλών μοριακών συστημάτων. Η βασική δυσκολία στον καθορισμό αυτού οφείλεται στο γεγονός ότι αποτελεί μία υπερεπιφάνεια ενός μεγάλου αριθμού παραμέτρων με φυσικοχημική σημασία. Μία τέτοια συνάρτηση δυναμικού εξαρτάται, επιπλέον, και από τις θερμοδυναμικές συνθήκες κάτω από τις οποίες βρίσκεται το μοριακό σύστημα (πυκνότητα, πίεση κτλ.)

Στην περίπτωση δυναμικού αλληλεπίδρασης το οποίο είναι δυνατό να προσεγγιστεί με τον πρώτο όρο της εξίσωσης (2.3), θεωρώντας τις αλληλεπιδράσεις δύο σωματιδίων ως τις πλέον σημαντικές, έχουμε τα εξής: Ως "Δυναμικό Μοριακής Αλληλεπίδρασης" δύο σωματιδίων ορίζεται η διαφορά της ενέργειας του συστήματος των δύο μορίων, U_{AB}, και του αθροίσματος των ενεργειών των δύο απομονωμένων μορίων U_A και U_B σύμφωνα με τη γενική σχέση

$$U = U_{AB} - U_A - U_B \tag{2.4}$$

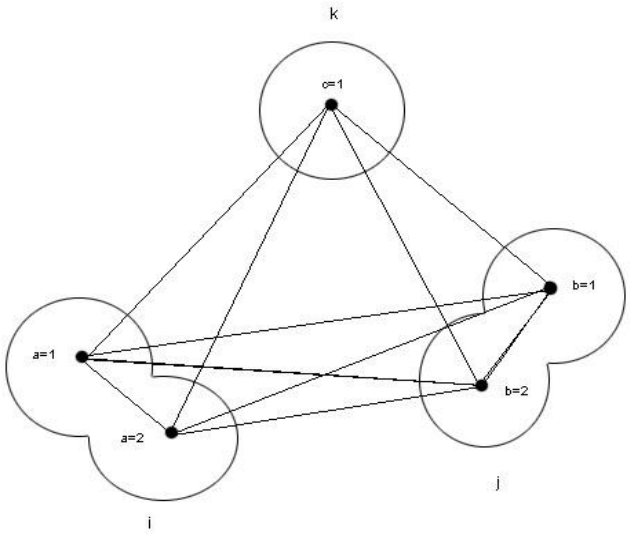
Γενικά, το δυναμικό αλληλεπίδρασης[26,28,42,43] είναι συνάρτηση της διαμοριακής απόστασης και του σχετικού προσανατολισμού των αλληλεπιδρώντων μορίων. Για απλούστευση, το δυναμικό αλληλεπίδρασης μεταξύ δύο μορίων i και j, δίνεται από την γενική σχέση

$$U_{ij}(r_{ij}, \Omega_i\Omega_j) = \sum_{a}^{i}\sum_{b}^{j} U_{ab}(r_{ab}) \tag{2.5}$$

όπου

$$\boldsymbol{F}_{ab} = -\boldsymbol{\nabla} U_{ab}(r_{ab}) \tag{2.6}$$

που προκύπτει από την αλληλεπίδραση του ατόμου α στο μόριο i με το άτομο β στο μόριο j.



Σχήμα 2.1 *Τυχαία απεικόνιση αλληλεπίδρασης μεταξύ μορίων και ατόμων συναρτήσει των αποστάσεων αλληλεπίδρασης διαφορετικών κέντρων και των σχετικών προσανατολισμών αυτών.*

Εάν η διαμοριακή απόσταση και οι γωνίες Euler[25] των αλληλεπιδρώντων μορίων είναι γνωστές τότε μπορούμε να υπολογίσουμε το δυναμικό αλληλεπίδρασης μεταξύ των δύο μορίων, δεδομένης της συνάρτησης δυναμικού $U(r_{ij}\Omega_i\Omega_j)$.

Από θεωρητικής – υπολογιστικής πλευράς, μία υπερεπιφάνεια δυναμικών μεταξύ δύο αλληλεπιδρώντων μορίων είναι δυνατόν να προσδιοριστεί με κατάλληλους υπολογισμούς πρώτων αρχών (ab – initio) και στην περίπτωση κατά την οποία τα εν λόγω συστήματα είναι μικρού αριθμού ατόμων και σχετικά απλά.

2.2 Απωστικός και ελκτικός όρος στη διαμόρφωση αλληλεπιδράσεων. Δυναμικά

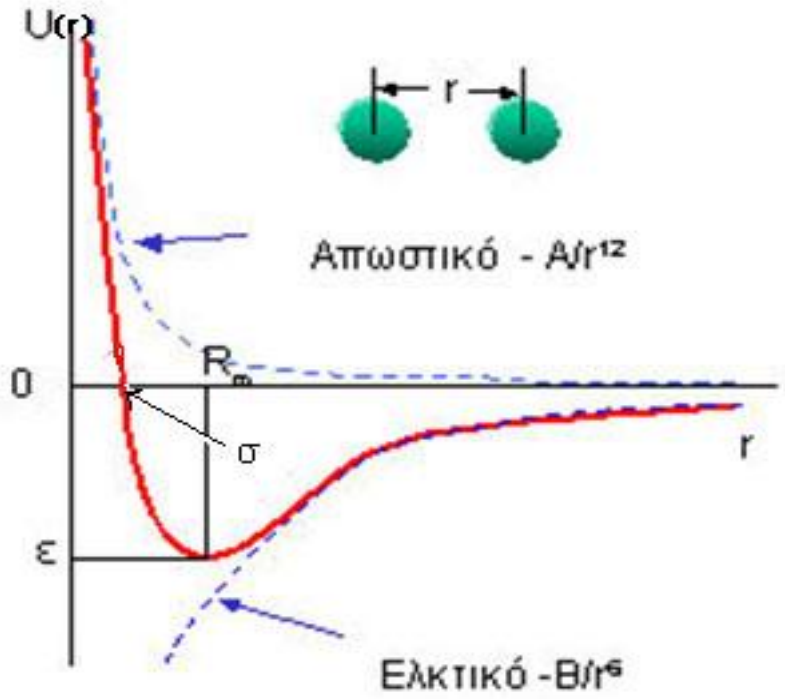
Είναι προφανές ότι για την κατανόηση των διαφόρων τύπων αλληλεπιδράσεων οι οποίοι αναπτύσσονται μεταξύ ατόμων, μορίων, ιόντων κ.τ.λ. θα πρέπει να διερευνήσουμε το πρόβλημα λόγω των δυσκολιών που παρουσιάζει σε βάθος χρησιμοποιώντας όχι μόνο πειραματικές πληροφορίες αλλά και εφαρμόζοντας κατάλληλες θεωρητικές τεχνικές στη διερεύνησή του[39]. Λεπτομερής αναφορά σε αυτόν τον προβληματισμό καταγράφεται τόσο σε αρκετά επιστημονικά άρθρα καθώς και σε σχετικά βιβλία περί διαμοριακών δυνάμεων.

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία μέχρι σήμερα, οι διαμοριακές δυνάμεις γενικά δύναται να κατηγοριοποιηθούν ανάλογα με τον τρόπο προέλευσής των σε δύο βασικές κατηγορίες – αυτές που παρουσιάζουν συμπεριφορά μικρής εμβέλειας και σε αυτές μεγάλης εμβέλειας. Η υπόσταση των πρώτων είναι εμφανής στην περίπτωση κατά την οποία τα μόρια πλησιάζουν μεταξύ των αρκετά έτσι ώστε τα ηλεκτρονιακά τους νέφη να επικαλύπτονται. Πειραματικά δεδομένα για την φύση των δυνάμεων μικρής εμβέλειας προέρχονται εκτός των άλλων συνήθως από κρυσταλλογραφικές μελέτες μοριακών συστημάτων και από τις ιδιότητες των διεπιφανειών. Επιπλέον, σημαντικές πληροφορίες σχετικά με αυτές τις δυνάμεις είναι δυνατόν να αποκτηθούν από κβαντομηχανικούς υπολογισμούς πρώτων αρχών. Από την άλλη πλευρά, οι δυνάμεις μεγάλης εμβέλειας συμπεριλαμβάνουν αλληλεπιδράσεις ηλεκτροστατικής – πολυπολικής φύσεως, καθώς επίσης αλληλεπιδράσεις διασποράς, και εξ επαγωγής[39]. Από πρακτικής απόψεως και για τις εφαρμογές, στην περίπτωση που το σύστημα μας αποτελείται από μόρια τα οποία είναι φορτισμένα ή παρουσιάζουν μόνιμες ηλεκτρικές ροπές, είναι σκόπιμο να εντοπίσουμε φορτία στα άτομα (είτε στις "πλευρικές ομάδες αλληλεπιδράσεως") και να προσθέσουμε στα δυναμικά τους όρους ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων.

Οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις είναι οι κλασικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των κατανομών φορτίων των μορίων ενώ οι αλληλεπιδράσεις εξ επαγωγής οφείλονται στην επίδραση (πόλωση) του ηλεκτρικού πεδίου που δημιουργείται από την κατανομή φορτίων ενός μορίου στην κατανομή των ηλεκτρικών φορτίων των άλλων μορίων που βρίσκονται στο χώρο αυτού. Η ενέργεια διασποράς οφείλεται στις διακυμάνσεις των κατανομών φορτίου γειτονικών μορίων. Στις ενέργειες μεγάλης εμβέλειας προστίθονται άλλες δύο κατηγορίες

αλληλεπιδράσεων όπως η ενέργεια συντονισμού και μαγνητικής αλληλεπίδρασης. Η ενέργεια συντονισμού εμφανίζεται όταν ένα από τα αλληλεπιδρώντα μόρια βρίσκεται σε διεγερμένη κατάσταση[28, 44]. Τέλος, η ενέργεια μαγνητικής αλληλεπιδράσεως υφίσταται μόνο στην περίπτωση κατά την οποία κάποιο από τα μόρια βρίσκεται σε ηλεκτρονικά μη εκφυλισμένες καταστάσεις και είναι αρκετά ασθενής. Τέλος, η συναρτησιακή μορφή των αλληλεπιδράσεων μεγάλης εμβέλειας είναι ανάλογη του όρου r^{-n} όπου ο εκθέτης n εξαρτάται από τη φύση των μορίων. Στην περίπτωση, δε, μικρών αποστάσεων η συναρτησιακή μορφή αυτών των αλληλεπιδράσεων είναι εκθετικής μορφής του τύπου $\exp[-\frac{r}{R_m}]$.

Χάρη απλότητας εάν παραλείψουμε την εξάρτηση του δυναμικού αλληλεπίδρασης δύο μορίων από των σχετικό προσανατολισμό τους, όπως π.χ. στην περίπτωση μελέτης ισότροπων μορίων ή ατόμων, τότε αναφερόμαστε για ένα κεντρικό ή σφαιρικό δυναμικό, η μορφή του οποίου παρίσταται γραφικά στο Σχήμα 2.2



Σχήμα 2.2 *Εξάρτηση κεντρικού δυναμικού (σφαιρικής συμμετρίας) από την απόσταση.*

Συγκεκριμένα, από το Σχήμα 2.2 συμπεραίνουμε ότι ένα δυναμικό της παραπάνω μορφής παρουσιάζει ελάχιστο, η τιμή του οποίου συμβολίζεται με ε (βάθος δυναμικού), σε μία απόσταση r που συμβολίζεται με R_m. Για μεγάλες τιμές του r, το δυναμικό πλησιάζει ασυμπτωτικά το μηδέν από αρνητικές τιμές ενώ σε μικρές διέρχεται από το μηδέν και τείνει στο άπειρο με σχεδόν κατακόρυφη κλίση. Η τιμή του ε ποικίλει από μοριακό σύστημα σε

μοριακό σύστημα αλλά συνήθως λαμβάνει τιμές στην περιοχή ολίγων KJ/mol. Αναφέρουμε για παράδειγμα το σύστημα του Αργού του οποίου τυπική τιμή του ε είναι της τάξεως των 1.18 KJ/mol.

Γενικά, η συνολική μορφή της συναρτήσεως του δυναμικού U(r) συνίσταται από δύο επιμέρους κλάδους, τον απωστικό και τον ελκτικό, όπως παρουσιάζονται στο Σχήμα 2.2. Το απωστικό μέρος αυτού, το οποίο έχει θετικές τιμές για κάθε διαμοριακή απόσταση, οφείλεται κυρίως στις επικαλύψεις των ηλεκτρονιακών νεφών των αλληλεπιδρώντων μορίων. Όπως αναφέραμε και παραπάνω, η γενική συμπεριφορά του απωστικού κλάδου δύναται να περιγραφεί με συνάρτηση της μορφής $exp\left(-\frac{r}{\rho}\right)$ με την παράμετρο ρ της τάξεως του R_m και εναλλακτικά με όρο $-A/r^n$ Αντίθετα, ο ελκτικός όρος U_α αποδίδεται σε διάφορους μηχανισμούς αλληλεπίδρασης ελκτικού χαρακτήρα που όμως παρουσιάζουν κοινή συμπεριφορά και περιγράφονται συναρτησιακά από μορφές r^{-n}, όπου n είναι ακέραιος. Η τιμή του εκθέτη n εξαρτάται από τη φύση των μορίων.

Ενώ στα μόρια σφαιρικής συμμετρίας, μπορούμε να αγνοήσουμε τον όρο που σχετίζεται με το σχετικό προσανατολισμό για μεγάλες σχετικά αποστάσεις, στη μελέτη πραγματικών μοριακών συστημάτων ο σχετικός προσανατολισμός είναι αναγκαίο να συμπεριλαμβάνεται στις διάφορες θεωρήσεις μας.

Ο υπολογισμός του όρου που αναφέρεται στον προσανατολισμό μπορεί να πραγματοποιηθεί ως εξής: Ένας τρόπος είναι να ληφθούν υπόψη τα σχετικά στοιχεία προσανατολισμού του κάθε μορίου μέσω των γωνιών Euler[45], με βάση την εξίσωση

$$U = \sum_{l_1,l_2} u_{l_1,l_2,m}(r) \cdot C_{l_1,m}(\theta_1\varphi_1) \cdot C_{l_2,m}(\theta_2\varphi_2) \qquad (2.7)$$

όπου το γινόμενο των συναρτήσεων C αναπαριστά το γωνιακό τμήμα του δυναμικού αλληλεπιδράσεως. Οι συναρτήσεις C είναι κανονικοποιημένες σφαιρικές αρμονικές, έτσι ώστε $C_{l,0}(0,0) = 1$. Η συνάρτηση $u_{l_1,l_2,m}$ είναι ο ακτινικός όρος, που θα πρέπει να είναι πραγματική, έτσι ώστε η συνάρτηση του ολικού δυναμικού U να παραμένει πραγματική. Οι δείκτες l, m αντιστοιχούν στον τροχιακό (στροφορμής) και μαγνητικό (z – στροφορμής) κβαντικό αριθμό.

Ο δεύτερος τρόπος περιγραφής της συναρτήσεως δυναμικού αλληλεπιδρώντων μορίων περιλαμβάνει τον σχετικό προσανατολισμό των αλληλεπιδρώντων μορίων κατά έμμεσο τρόπο ως εξής: Στην συγκεκριμένη περίπτωση, σε κάθε μόριο καθορίζονται διάφορα κέντρα

αλληλεπίδρασης τα οποία συνιστούν τα διάφορα άτομα ή μικρές ομάδες σε αυτά και ονομάζουμε κέντρα αλληλεπίδρασης. Συνεπώς, θεωρούμε όλους τους δυνατούς συνδυασμούς ανά δύο των αλληλεπιδρώντων κέντρων μεταξύ των α, b που βρίσκονται σε διαφορετικά μόρια i, j σύμφωνα με την εξίσωση

$$U(r) = \sum_{a}^{i} \sum_{b}^{j} u_{a-b}(r) \tag{2.8}$$

2.3 Εμπειρικά Δυναμικά

Από το προηγούμενο υποκεφάλαιο είναι προφανές ότι, η θεωρία προτείνει τη συναρτησιακή μορφή των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων, η ακριβής περιγραφή των οποίων, όπως φαίνεται, μόνο σε ελάχιστες περιπτώσεις συστημάτων είναι δυνατόν να περιγραφεί με μεγάλη ακρίβεια στην συμπυκνωμένη κατάσταση. Από πρακτικής σκοπιάς και για τις εφαρμογές, ακολουθείται μία διαφορετική μεθοδολογία και στην θέση του πραγματικού δυναμικού αλληλεπίδρασης μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε τα επονομαζόμενα Ενεργά ή Δραστικά Δυναμικά τα οποία ονομάζονται και Εμπειρικά (Effective Potentials). Τα εν λόγω δυναμικά έχουν μορφή παραμετροποιημένων συναρτήσεων με παραμέτρους που παρουσιάζουν φυσική σημασία. Η ακριβής γνώση αυτών των δυναμικών είναι δυνατή στην περίπτωση κατά την οποία μπορούμε να εκτιμήσουμε μέσω μίας επιλεγμένης μεθοδολογίας τις τιμές των παραμέτρων αυτών. Συνήθως, προς τον σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται πειραματικά δεδομένα (θερμοδυναμικά, φασματοσκοπικά – σκέδαση μοριακών δεσμών κ.τ.λ.) καθώς επίσης, αποτελέσματα κβαντομηχανικών υπολογισμών διμερών από όπου καθορίζονται ισοδυναμικές επιφάνειες (potential surfaces). Οι εν λόγω ισοδυναμικές επιφάνειες καθορίζονται από μία συλλογή σημείων, των οποίων η ακριβής συναρτησιακή δομή είναι συνήθως άγνωστη. Συνεπώς, πάντα τίθεται το ερώτημα της καταλληλότερης προσαρμοζόμενης συναρτήσεως που θα μπορούσε να αποδώσει τα εν λόγω σημεία της επιφάνειας ακριβέστερα. Στην συγκεκριμένη περίπτωση το παραπάνω πρόβλημα φέρει την ονομασία ‘Πρόβλημα Προσαρμογής Μοντέλου Συναρτήσεως’ (Fitting Function). Είναι σημαντικό να γίνει σε αυτό το σημείο κατανοητό ότι τα δυναμικά αυτά (Προσαρμοσμένες συναρτήσεις) δεν αναπαριστούν κατ’ ανάγκη επ’ ακριβώς την συναρτησιακή μορφή των διαφόρων όρων του πραγματικού δυναμικού αλλά αναλυτικά προσεγγίζουν την από κοινού συνεισφορά τους σ’ αυτό. Γι’ αυτό και ελέγχεται πάντοτε η καταλληλότητα εφαρμογής τους ανάλογα με το προς μελέτη μοριακό σύστημα, την θερμοδυναμική κατάσταση στην οποία βρίσκεται και στο κατά πόσο ικανοποιητικά αναπαράγουν τις μακροσκοπικές και δυναμικές ιδιότητες του συστήματος σε μία ευρεία θερμοδυναμική περιοχή του χώρου των Φάσεων.

Γενικά, η πορεία που ακολουθείται για τον προσδιορισμό των παραμέτρων του εμπειρικού δυναμικού αλληλεπίδρασης που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί σε θεωρητικούς υπολογισμούς είναι η ακόλουθη:

Από πειραματικές τιμές για κάποιες ιδιότητες του μοριακού συστήματος σε ευρεία κλίμακα συνθηκών (θερμοδυναμικά δεδομένα όπως π.χ. ο δεύτερος συντελεστής Virial B(T), ιδιότητες μεταφοράς, ιδιότητες σε σχέση με τη διαμοριακή δομή από σκέδαση νετρονίων, κ.α.), πραγματοποιούμε προσαρμογή του επιλεγμένου είδος συναρτήσεως του δραστικού δυναμικού προσδιορίζοντας κατά αυτόν τον τρόπο τις παραμέτρους του. Το εν λόγω δυναμικό που προκύπτει χρησιμοποιείται ευρύτερα σε υπολογισμούς για την εκτενέστερη μελέτη των περισσότερων ιδιοτήτων του μοριακού συστήματος. Τέλος, η καταλληλότητά του ή όχι, διαπιστώνεται στο κατά πόσο οι συγκεκριμένοι υπολογισμοί με βάση αυτό το δυναμικό αναπαράγουν σε ικανοποιητικό βαθμό τις περισσότερες των ιδιοτήτων του συστήματος, από άποψη θερμοδυναμική και δυναμική συμπεριφορά αυτού [46].

Τα τελευταία χρόνια στη διεθνή βιβλιογραφία παρουσιάζεται πληθώρα εργασιών με απώτερο σκοπό την εύρεση εμπειρικών δυναμικών διαφόρων τύπων και για διάφορα μοριακά συστήματα. Σε γενικές γραμμές, όπως είδαμε ανωτέρω, μπορούμε να τα διαχωρίσουμε σε δυναμικά εξαρτώμενα από γωνιακούς όρους και σε δυναμικά που δεν εξαρτώνται από αυτούς. Χαρακτηριστικά παραδείγματα δυναμικών της πρώτης κατηγορίας είναι τα δυναμικά τύπου Kihara και Stockmayer[30,31,47], ενώ στην δεύτερη κατηγορία βρίσκονται τα δυναμικά τύπου σκληρών σφαιρών[28], μαλακών σφαιρών[33], τετραγωνικού φρέατος[30], Sutherland[31], τύπου Lennard – Jones (n – m)[48], τύπου Buckingham[49] και τύπου Morse[50]κτλ. Τέλος, στο σημείο αυτό θα πρέπει να αναφερθεί ότι τα πλέον δημοφιλέστερα και ευρύτερα χρησιμοποιούμενα εμπειρικά δυναμικά για μοριακές προσομοιώσεις στατιστικής μηχανικής συμπυκνωμένων φάσεων μοριακών συστημάτων, είναι αυτά του τύπου Lennard – Jones (12 – 6), καθώς και τα δυναμικά τύπου Buckingham (exp – 6).

2.3.1 Δυναμικό Lennard – Jones (12 – 6)

Μία από τις γενικές μορφές συναρτήσεως δυναμικού αλληλεπίδρασης στην οποία εκφράζεται από κοινού το ελκτικό και απωστικό μέρος δίδεται από την γενική σχέση

$$U_{ij}(r) = D_e \frac{1}{n-m}\left(\frac{n^n}{m^m}\right)^{\frac{1}{n-m}}\left[\left(\frac{\sigma}{r_{ij}}\right)^n - \left(\frac{\sigma}{r_{ij}}\right)^m\right] \tag{2.9}$$

και αναφέρετε στην διεθνή βιβλιογραφία με την ονομασία Mie[41,51], όπου n, m ακέραιοι αριθμοί και n>m.

Στην περίπτωση κατά την οποία θέσουμε όπου n = 12 και m = 6, λαμβάνουμε τη μορφή του δυναμικού

$$U_{ij}(r) = 4\varepsilon\left[\left(\frac{\sigma}{r_{ij}}\right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r_{ij}}\right)^{6}\right] \tag{2.10}$$

που φέρει την ονομασία 'δυναμικό Lennard – Jones (12 – 6)'.

Το δυναμικό Lennard – Jones (12 – 6) είναι από τα ευρέως χρησιμοποιούμενα δραστικά δυναμικά αλληλεπιδράσεως και εφαρμόζεται με πολλές παραλλαγές ανάλογα με το είδος του μοριακού συστήματος.

Το δυναμικό αυτό περιλαμβάνει δύο παραμέτρους που εξαρτώνται από το μόριο στο οποίο αναφέρεται. Οι παράμετροι είναι το ε, που προσδιορίζει το βάθος του δυναμικού και τη διαμοριακή απόσταση σ, η οποία αντιστοιχεί κατά προσέγγιση στην ακτίνα van der Waals του μορίου (μέση διάμετρος σωματιδίου). Οι δύο όροι από τους οποίους το δυναμικό απαρτίζεται αντιστοιχούν στον απωστικό (r^{-12}) και στον ελκτικό όρο (r^{-6}),αντίστοιχα. Ο ελκτικός όρος είναι σύμφωνος με τους όρους που προβλέπει η θεωρία για μεγάλες αποστάσεις, όπως αναφέραμε στα προηγούμενα υποκεφάλαια, ενώ ο απωστικός παρουσιάζει μικρότερη πτώση σε σχέση με τον θεωρητικά προβλεπόμενο όρο $\exp(-r/\rho)$ για μικρές αποστάσεις μεταξύ των μορίων.

Αλληλεπιδράσεις μεταξύ ανόμοιων ατόμων από διαφορετικά μόρια αποτελούν ένα σημαντικό πρόβλημα σχετικά με τον ακριβή προσδιορισμό τους γενικά. Στην περίπτωση αυτή, το σημαντικό αυτό πρόβλημα προσεγγίζεται θεωρητικά με τη χρήση των διαφόρων κανόνων ανάμιξης. Κανόνες ανάμιξης οι οποίοι αναφέρονται στη βιβλιογραφία και χρησιμοποιούνται σε εφαρμογές είναι π.χ. οι κανόνες Lorentz – Berthelot όπως επίσης και ο κανόνας του Kong. Σύμφωνα με τους κανόνες Lorentz – Berthelot οι παράμετροι σ και ε για τους διασταυρούμενους όρους των αλληλεπιδράσεων, ορίζονται ως ο αριθμητικός και ο γεωμετρικός μέσος όρος, αντίστοιχα, πολλαπλασιαζόμενοι με κάποιο συντελεστή κάθε φορά πλησίον της μονάδος. Οι συντελεστές θ και μ στις σχέσεις (2.11) και (2.12) καταδεικνύουν την απόκλιση των διασταυρούμενων παραμέτρων από τον αριθμητικό και γεωμετρικό μέσο όρο αυτών, είναι δε δυνατόν, όμως, να εκτιμηθούν κατά προσέγγιση μέσω στατιστικής μηχανικής θεωρίας

$$\varepsilon_{ij} = \theta\sqrt{\varepsilon_{ii}\varepsilon_{jj}} \tag{2.11}$$

$$\sigma_{ij} = \frac{1}{2}\mu\left(\sigma_{ii} + \sigma_{jj}\right) \tag{2.12}$$

Συνήθως, οι τιμές θ και μ διαφοροποιούνται ελαφρά σε σχέση με τη μονάδα, για πολυατομικά μοριακά συστήματα και στις περισσότερες των περιπτώσεων η επικρατέστερη τιμή είναι 1.

Εναλλακτικά, αντί του κανόνα ανάμιξης Lorentz – Berthelot χρησιμοποιείται ο αρμονικός μέσος όρων των παραμέτρων ε μέσω της εξισώσεως

$$\frac{1}{\varepsilon_{ij}} = \frac{1}{\varepsilon_{ii}} + \frac{1}{\varepsilon_{jj}} \tag{2.13}$$

ενώ το σ_{ij} προσδιορίζεται όπως και προηγουμένως. Σε πολλές περιπτώσεις αντί του κανόνα ανάμιξης των Lorentz-Berthelot, εφαρμόζεται ο κανόνας του Kong[52]μέσω των σχέσεων που ακολουθούν

$$\sigma_{ij} = \left[\frac{1}{2^{13}} \frac{\varepsilon_{ii}\sigma_{ii}^{12}}{\sqrt{\varepsilon_{ii}\sigma_{ii}^{6}\varepsilon_{ij}\sigma_{ij}^{6}}}\left(1 + \left(\frac{\varepsilon_{jj}\sigma_{jj}^{12}}{\varepsilon_{ii}\sigma_{ii}^{12}}\right)^{1/13}\right)^{13}\right]^{1/6} \tag{2.14}$$

$$\varepsilon_{ij} = \frac{\sqrt{\varepsilon_{ii}\sigma_{ii}^{6}\varepsilon_{jj}\sigma_{jj}^{6}}}{\sigma_{ij}^{6}} \tag{2.15}$$

Στην περίπτωση κατά την οποία το σύστημα μας απαρτίζεται από μόρια με περισσότερα από ένα άτομο, χρησιμοποιούμε LJ δυναμικό μεταξύ επιμέρους κέντρων αλληλεπιδράσεως εντοπισμένα πάνω στα μόρια, τα οποία συνήθως συμπίπτουν με τους πυρήνες των ατόμων που τα απαρτίζουν. Τα δυναμικά αυτά είναι γνωστά ως "πολυκεντρικά" ή "αλληλεπιδράσεως πλευρικών ομάδων" (site – site) δυναμικά. Η γενική μορφή αυτών των δυναμικών είναι:

$$U_{ij}(r) = \sum_{a=1}^{n(i)} \sum_{b=1}^{m(j)} 4\varepsilon_{ab}^{ij}\left[\left(\frac{\sigma_{ab}^{ij}}{r_{ab}^{ij}}\right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ab}^{ij}}{r_{ab}^{ij}}\right)^{6}\right] \tag{2.16}$$

όπου οι δείκτες α και b για τα άτομα λαμβάνονται πάνω στα μόρια i και j, αντίστοιχα.

Η χρήση τέτοιων δυναμικών αλληλεπίδρασης παρέχει τη δυνατότητα περιγραφής αλληλεπιδράσεων μεταξύ πολύπλοκων μορίων χωρίς να χρησιμοποιούνται γωνιακές εξαρτήσεις στη συναρτησιακή μορφή τους, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως.

2.3.2 Δυναμικό exp – 6

Όπως ήδη αναφέραμε, ένα άλλο ευρέως χρησιμοποιούμενο δυναμικό αλληλεπίδρασης είναι αυτό της εκθετικής μορφής exp – 6 ή δυναμικό Buckingham, του οποίου η γενική μορφή περιγράφεται από τη σχέση

$$U_{ij}(r) = \frac{\varepsilon}{1-6/\alpha}\left\{\frac{6}{\alpha} exp\left[a\left(\frac{1-r}{r_{min}}\right)\right] - \left(\frac{r_{min}}{r}\right)^6\right\} \quad (2.17)$$

όπου r_{min} είναι η τιμή του r για την οποία το δυναμικό παρουσιάζει ελάχιστο. Η παράμετρος ε παριστά το ελάχιστο (βάθος) του δυναμικού και η α καθορίζει την κλίση του απωστικού μέρους αυτού.

Συνεπώς, στο δυναμικό αυτό περιέχονται τρεις χαρακτηριστικές παράμετροι οι οποίες πρέπει να προσδιοριστούν κατάλληλα έτσι ώστε το δυναμικό αυτό να χρησιμοποιηθεί σε υπολογισμούς ιδιοτήτων συγκεκριμένου μοριακού συστήματος για συγκεκριμένη περιοχή του χώρου των φάσεων. Στο σημείο αυτό θα πρέπει να αναφερθεί ότι από αποτελέσματα προηγούμενων εργασιών, το εν λόγω δυναμικό παρουσιάζει πλεονεκτήματα ακριβέστερης συμπεριφοράς έναντι του LJ δυναμικού, γεγονός που αποδίδεται στον απωστικό όρο ο οποίος είναι της μορφής που προβλέπει η θεωρία για τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις. Όπως και στην προηγούμενη περίπτωση για LJ δυναμικά, στην περίπτωση πολυατομικών μοριακών συστημάτων το δυναμικό αυτό έχει την δυνατότητα να εφαρμοστεί και σαν δυναμικό "αλληλεπιδράσεως πλευρικών ομάδων", με κάθε αλληλεπιδρών ζεύγος ομάδων να έχει συγκεκριμένες τιμές παραμέτρων αλληλεπίδρασης, ανάλογα με το είδος των ατόμων ή των ομάδων αλληλεπιδράσεων στα μόρια. Τέλος, η αποτελεσματικότητα του δυναμικού exp – 6 καθίσταται ιδιαίτερα εμφανής στην περιγραφή αλληλεπιδράσεων μεταξύ πλευρικών διαφορετικών μορίων τα οποία βρίσκονται σε σχετικά μικρές διαμοριακές αποστάσεις όπως στην περίπτωση των υγρών και υπερκρισίμων ρευστών.

2.3.3 Ενεργά Δυναμικά – Προσαρμοζόμενοι όροι Αλληλεπιδράσεως

Στην περίπτωση μοριακών συστημάτων υπό μορφή ιόντων ή ακόμη όταν τα μόρια αυτά παρουσιάζουν μόνιμες ηλεκτρικές ροπές (δίπολο, τετράπολο, οκτάπολο κτλ) όπως π.χ. στα μόρια HCl, H_2O, CO_2, CO κτλ, από πρακτικής πλευράς είναι προτιμότερο να αναπαραστήσουμε επί των μορίων τις εν λόγω ηλεκτρικές ροπές μέσω εντοπισμού φορτίων στα άτομα (είτε στις 'πλευρικές ομάδες αλληλεπιδράσεως') και να προσθέσουμε στα δυναμικά όρους ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων κουλομπικής μορφής. Συνεπώς, σε αυτές τις περιπτώσεις η πλήρης περιγραφή του δυναμικού αλληλεπιδράσεως προκύπτει από την προσθήκη του όρου της ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης κατά Coulomb στην σχέση (2.8). Ο ηλεκτροστατικός προσαρμοζόμενος όρος δίνεται από την σχέση

$$E(r) = \sum_{a=1}^{n(i)} \sum_{b=1}^{m(j)} \frac{q_a^{ij} q_b^{ij}}{r_a^{ij}} \quad (2.18)$$

Εναλλακτικά, μπορούμε να προσθέσουμε στο δυναμικό αλληλεπιδράσεως ξεχωριστούς όρους οι οποίοι αποδίδονται στις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις που προέρχονται από τις υπάρχουσες μόνιμες ηλεκτρικές ροπές, όπως επίσης και σε έναν επιπλέον όρο ο οποίος αντιπροσωπεύει τις αλληλεπιδράσεις εξ' απαγωγής (φαινόμενο πολώσεως). Η επιλογή κάποιου προσαρμοζόμενου όρου εξαρτάται από το είδος του συστήματος προς μελέτη και ανάλογα με την αναγκαιότητα επιλεγόμενης προσέγγισης του προβλήματος προς επίλυση.

2.4 Πειραματικές πηγές πληροφοριών για τα δυναμικά αλληλεπιδράσεως

Από την θεωρία των διαμοριακών δυνάμεων είναι γνωστό ότι αυτές διασυνδέονται άμεσα με διάφορες ιδιότητες που χαρακτηρίζουν τα μοριακά συστήματα. Από πειραματικές μελέτες οι οποίες μας παρέχουν πληροφορίες και δεδομένα γενικώς της συμπεριφοράς των μοριακών συστημάτων δύναται να εξαχθούν πληροφορίες σχετικά με την κατασκευή των συναρτήσεων των δυναμικών αυτών. Αναφέρουμε συνοπτικά κάποιες από αυτές τις πληροφορίες που είναι χρήσιμες σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία.

α) Ο δεύτερος συντελεστής της καταστατικής εξίσωσης Virial, B(T), ο οποίος συνδέεται άμεσα με την συνάρτηση διαμοριακής αλληλεπίδρασης σύμφωνα με την σχέση:

$$B(T) = -\frac{2\pi}{\Omega^2}\int_0^\infty r_{ij}^2 dr_{ij}\int d\Omega_i \int d\Omega_j \left[exp\left(-\frac{U(r_{ij},\Omega_i,\Omega_j)}{k_B T}\right) - 1\right] \qquad (2.19)$$

η οποία στην περίπτωση μονοατομικών συστημάτων απλοποιείται σημαντικά απαλείφοντας τους γωνιακούς όρους:

$$B(T) = -2\pi N_A \int_0^\infty \left[exp\left(-\frac{U(r_{ij})}{k_B T}\right) - 1\right] r_{ij}^2 dr_{ij} \qquad (2.20)$$

Ο τρίτος συντελεστής της εξίσωσης Virial C(T), παρέχει σημαντικές πληροφορίες για τις αλληλεπιδράσεις μορίων ανά τρία λαμβανομένων κατά όλους τους δυνατούς τρόπους, όμως το πειραματικό σφάλμα το οποίο προκύπτει από τη μέτρηση του C(T) ανάλογα με τις θερμοδυναμικές συνθήκες είναι αρκετά μεγάλο. Γενικώς, οι συντελεστές Virial ενός μοριακού συστήματος προέρχονται από θερμοδυναμικές μετρήσεις (P,V,T) αυτού για διάφορες θερμοδυναμικές καταστάσεις.

β) Το απωστικό μέρος του δυναμικού αλληλεπίδρασης είναι δυνατόν να υπολογιστεί αρκετά ικανοποιητικά από πειράματα σκέδασης μοριακών δεσμών.

γ) Πειράματα μέτρησης θερμοχωρητικοτήτων και συμπιεστότητας μοριακών συστημάτων τα οποία σχετίζονται επίσης με τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις σε αυτά.

δ) Ιδιότητες μεταφοράς των μοριακών συστημάτων, όπως ο συντελεστής θερμικής αγωγιμότητας, το ιξώδες και οι διάφοροι συντελεστές διαχύσεως. Αυτές οι ιδιότητες έχουν άμεση εξάρτηση από τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις, διότι από αυτές καθορίζεται η κινητικότητα των μορίων. Οι ιδιότητες αυτές οφείλονται σε βαθμίδες δυναμικού, συγκέντρωσης, ορμής και θερμοκρασία.

Θεωρητικά, τα δυναμικά αλληλεπίδρασης είναι δυνατόν να εξαχθούν από ακριβείς πρώτων αρχών (ab – initio) κβαντομηχανικούς υπολογισμούς διμερών. Επιπλέον, για μεγαλύτερα συστήματα εφαρμόζονται υπολογισμοί DFT (Density Functional Theory) οι οποίοι όμως είναι μικρότερης ακριβείας σε σχέση με τους προηγούμενους. Στην συνέχεια τα κβαντομηχανικής προελεύσεως δυναμικά διορθώνονται σε ένα ορισμένο επίπεδο και ανάλογα με την περίπτωση από διάφορες πειραματικές πηγές πληροφοριών για τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις. Τέλος, τα εν λόγω δυναμικά βελτιστοποιούνται μέσω σειράς επαναληπτικών και δοκιμαστικών προσομοιώσεων των συστημάτων στα οποία και αναφέρονται.

2.5 Δυναμικό αλληλεπιδράσεως μακρομορίων – βιομορίων

Η επιλογή ενός κατάλληλου διαμοριακού δυναμικού με απώτερο σκοπό την ικανοποιητική εκτίμηση της δυναμικής ενέργειας των διαμοριακών και ενδομοριακών αλληλεπιδράσεων στην περίπτωση μελέτης μακρομοριακών – βιομοριακών συστημάτων αποτελεί πρόβλημα μεγίστης σημασίας για μία επιτυχή προσομοίωση αυτών. Ως γνωστόν, σε συνήθεις προσομοιώσεις μοριακής δυναμικής, η συνάρτηση που περιγράφει το δυναμικό της ενέργειας στην περίπτωση μη δεσμικών αλληλεπιδράσεων τείνει να είναι μία απλής μορφής συνάρτηση προσθετική ανά ζεύγη αλληλεπιδράσεων διαφορετικών κέντρων. Μία τέτοια χρήση των συντεταγμένων των πυρηνών στην θέση των ατόμων έχει σαν βάση την προσέγγιση Born – Oppenheimer[53]. Στην περίπτωση δεσμικών ομάδων των ατόμων επί των μορίων, οι οποίοι σχηματίζουν ομοιοπολικούς δεσμούς, δεσμικές γωνίες, ή δίεδρες γωνίες, χρησιμοποιούνται όροι από συνεισφορές ανά δύο, τρία, τέσσερα κέντρα αλληλεπίδρασης, όπως περιγράφεται παρακάτω.

Οι συναρτήσεις της ενέργειας αυτής της μορφής συνήθως αποτελούνται από ένα μεγάλο αριθμό παραμετροποιημένων όρων. Σε γενικές γραμμές, ο καθορισμός των συναρτήσεων αυτών είναι δυνατός μέσω του καθορισμού των παραμέτρων με βάση πειραματικά και από κβαντικούς υπολογισμούς δεδομένα σχετικά μικρών μορίων ή θραυσμάτων, έτσι ώστε οι εν λόγω παράμετροι να μπορούν να χρησιμοποιηθούν στα επί μέρους τμήματα των δυναμικών

αθροιστικά στην περιγραφή του δυναμικού μεγάλων μορίων. Γενικά, το σύνολο των συναρτήσεων δυναμικού και σε συνδυασμό με τις απαιτούμενες αυστηρά καθορισμένες παραμέτρους αυτών, αναφέρεται σαν πεδίο δυνάμεων για το συγκεκριμένο μακρομοριακό σύστημα. Στην περίπτωση μελέτης πρωτεϊνικών συστημάτων και σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία έχουν αναπτυχθεί αρκετά πεδία δυνάμεων ειδικά για τις προσομοιώσεις τέτοιων είδων μορίων.

Ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο πεδίο δυνάμεων στην περιοχή αυτή της έρευνας, είναι αυτό με την ονομασία CHARMM (**Ch**emistry at **HAR**vard **M**acromolecular **M**echanics)[54]. Το πεδίο δυνάμεων αυτό συνίσταται από διάφορους συγκεκριμένους όρους. Κάθε όρος εκφράζεται μέσω μίας απλής συναρτησιακής σχέσεως και περιγράφει μία συγκεκριμένη διαμοριακή ή ενδομοριακή αλληλεπίδραση στο μοριακό σύστημα μέσω των σχετικών θέσεων των ατόμων όπως στη συνάρτηση (2.21).

$$V(\vec{r}) = \sum_{\text{δεσμοί}} K_d(d - d_0)^2 + \sum_{\text{Urey−Bradle}} K_{UB}(S - S_0)^2 + \sum_{\text{γωνία}} K_\theta(\theta - \theta_0)^2 + \sum_{\text{δίεδρες}} K_\chi(1 + \cos(n\chi - \delta)) + \sum_{\text{impropers}} K_\varphi(\varphi - \varphi_0)^2 + \sum_{\text{nonbond}} \left\{ \varepsilon_{ij} \left[\left(\frac{R_{ij}^{\min}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{R_{ij}^{\min}}{r_{ij}} \right)^{6} \right] + \frac{q_i q_j}{\varepsilon_l r_{ij}} \right\} \quad (2.21)$$

Τα σύμβολα K_d, K_{UB}, K_θ, K_χ και K_φ αντιστοιχούν σε σταθερές – παραμέτρους για τα μήκη δεσμών, το μήκος δεσμού στις θέσεις 1 – 3 κατά Urey – Bradley, τις γωνίες δεσμών, τις δίεδρες γωνίες και, τέλος, τις improper δίεδρες γωνίες αντίστοιχα. Ομοίως, τα d, S, θ, χ και φ είναι το μήκος των δεσμών, το μήκος δεσμών 1 – 3 κατά Urey-Bradley, η γωνία δεσμού, η δίεδρη γωνία, και η Improper δίεδρη γωνία, αντίσοιχα, τα οποία είναι τιμές που αναφέρονται στην παρούσα διαμόρφωση του μορίου ενώ τα αντίστοιχα μεγέθη με δείκτη μηδέν αντιπροσωπεύουν την τιμή αναφοράς ή ισορροπίας για κάθε ένα από αυτά. Οι όροι αυτοί αντιπροσωπεύουν τις δεσμικές αλληλεπιδράσεις του μορίου. Ο τελευταίος όρος της εξίσωσης (2.21) αντιστοιχεί στις μη δεσμικές αλληλεπιδράσεις, συνδυάζοντας τις αλληλεπιδράσεις Coulomb και μικρής εμβέλειας Lennard – Jones. Στην περίπτωση διαφορετικών ατόμων ή κέντρων αλληλεπιδράσεως χρησιμοποιείται ο κανόνας Lorentz – Berthelodt για τον καθορισμό των σχετικών παραμέτρων. Οι τιμές των εντοπισμένων φορτίων q_i επί των διαφόρων κέντρων αλληλεπίδρασης των μορίων χρησιμοποιούνται έτσι ώστε να αναπαράγονται ηλεκτρικές ιδιότητες των μοριακών συστημάτων π.χ. η διπολική ροπή, όπου υπάρχει, διηλεκτρική σταθερά κ.τ.λ..

Χρησιμοποιώντας την σχέση (2.21), μπορούμε να υπολογίσουμε τη δυναμική ενέργεια V(r) του συστήματος από ένα ενιαίο σύνολο ατομικών συντεταγμένων αφού οι σχετικές αποστάσεις και γωνίες εύκολα προσδιορίζονται διαμέσου προσομοίωσης. Η συνάρτηση δυναμικού V(r) εμπεριέχει συνεισφορές, όπως αναφέραμε προηγουμένως, ενδομοριακής μορφής από κάθε γωνία δεσμού καθώς και δίεδρη γωνία του συστήματος. Ωστόσο, μπορούμε να σημειώσουμε ότι πολλοί από τους όρους που αναφέρονται στις συνεισφορές κατά Urey-Bradley καθώς και σε αυτούς του αναφέρονται σε improper δίεδρες γωνίες δεν λαμβάνονται υπόψη πάντοτε σε όλες τις μελέτες. Επιπρόσθετα, χρησιμοποιούνται μόνο αυτές που είναι απαραίτητες για την προσαρμογη υπολογιστικών αποτελεσμάτων, με απώτερο σκοπό την αναπαραγωγή δονητικών φασμάτων. Επιπλέον, ο γραμμικός όρος στην αρχική σχέση κατά Urey-Bradley δεν έχει ενσωματωθεί. Αυτό είναι μία προσέγγιση είναι ικανοποιητική, διότι έχει αποδειχθεί ότι όταν χρησιμοποιούνται Καρτεσιανές συντεταγμένες, μόνο οι όροι τετραγωνικής μορφής απαιτούνται για τον καθορισμό δονητικών συχνοτήτων[55]. Οι μη δεσμικοί όροι εφαρμόζονται σε όλα τα άτομα εκτός από εκείνα που δεσμεύονται μέσω ενός ή δύο ομοιοπολικών δεσμών. Σε ορισμένες ειδικές περιπτώσεις, ο όρος Lennard – Jones είναι προσαρμοσμένος για άτομα που συνδέονται μέσω τριών ομοιοπολικών δεσμών με σκοπό την, όσο το δυνατό, ακριβέστερη αναπαραγωγή των πειραματικά παρατηρούμενων δομών. Ως παράδειγμα τέτοιας συμπεριφοράς μπορούμε να αναφέρουμε τα άτομα του αζώτου και του οξυγόνου των αμιδίων.

Συγκεκριμένα, για τους σκοπούς μίας Μοριακής Δυναμικής προσομοίωσης, επιδιώκεται η συνάρτηση που περιγράφει το πεδίο δυνάμεων να έχει πρώτη και δεύτερη παράγωγο ως προς τις συντεταγμένες των ατόμων, οι οποίες αντιστοιχούν στην δύναμη επί των ατόμων και στη βάθμωση των πεδίων δυνάμεων, αντιστοίχως. Γεγονός που αποτελεί το βασικό λόγο έτσι ώστε η αναζητούμενη συναρτησιακή σχέση του δυναμικού να είναι πολύ απλή από μαθηματικής άποψη.

Από τη διεθνή βιβλιογραφία είναι γνωστό ότι πεδία δυνάμεων όπως το CHARMM και το GROMOS έχουν παραμετροποιηθεί κατάλληλα και ανάλογα με την περίπτωση όπως για τις πρωτεΐνες[56], τα νουκλεϊκά οξέα[57] και τα λιπίδια[58] με στόχο την συνοχή μεταξύ αυτών των συνόλων έτσι ώστε να είναι δυνατή η προσομοίωση ετερογενών συστημάτων. Εκτός των παραπάνω, στη διεθνή βιβλιογραφία έχουν δημοσιευθεί μέχρι σήμερα πεδία δυνάμεων απλούστερης συναρτησιακής μορφής για την περίπτωση μικρών οργανικών μορίων[59] και πολυμερών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

3 ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΜΟΡΙΑΚΩΝ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΕΩΝ ΣΥΣΤΗΜΑΤΩΝ

3.1 Μοριακές Προσομοιώσεις

Με βάση το δυναμικό αλληλεπιδράσεως μεταξύ των μορίων του συστήματος προς προσομοίωση, είναι δυνατόν να μελετήσουμε τις ιδιότητες αυτού με χρήση ισχυρών υπολογιστών συστημάτων. Είναι γνωστό ότι ο κλάδος των Ηλεκτρονικών Υπολογιστών έτυχε αξιοσημείωτης ανάπτυξης τα τελευταία χρόνια και έπαιξε σημαντικό ρόλο στην συστηματική εφαρμογή αριθμητικών αναλυτικών τεχνικών στη μελέτη των μοριακών ιδιοτήτων της ύλης. Σε αυτήν την περιοχή της έρευνας, αναπτύχθηκε ο κλάδος των Μοριακών Προσομοιώσεων Στατιστικής Μηχανικής, ένα σημαντικό ερευνητικό εργαλείο στη Φυσικοχημική επιστήμη με τα δικά του προβλήματα και τους δικούς του στόχους. Οι Μοριακές Προσομοιώσεις Στατιστικής Μηχανικής συνδυάζονται ερευνητικά με την καθαρή αναλυτική θεωρία και το πείραμα με απώτερο στόχο την απόκτιση της πληροφορίας σχετικά με τη συμπεριφορά των μοριακών συστημάτων κάτω από ορισμένες θερμοδυναμικές συνθήκες. Οι περισσότερες των προσεγγιστικών υπολογιστικών μεθόδων που χρησιμοποιούνται στην Υπολογιστική – Θεωρητική Χημεία βασίζονται σε τρία βασικά πεδία. Συγκεκριμένα, στο λογισμό των πεπερασμένων αριθμητικών μικροδιαφορών, στη γραμμική άλγεβρα και στη θεωρία πιθανοτήτων και κατανομών.

Οι ευρύτερα χρησιμοποιούμενες τεχνικές μοριακών προσομοιώσεων Στατιστικής Μηχανικής είναι η Monte Carlo (MC) και η Μοριακή Δυναμική (MD). Και οι δύο αυτές τεχνικές προσπαθούν να επιλύσουν το φυσικό πρόβλημα των πολλών σωματιδίων, προσεγγίζοντάς το η κάθε μία από διαφορετική σκοπιά. Το σύνολο των σωματιδίων προς προσομοίωση κάθε φορά καθορίζεται κατά κανόνα από μόρια της τάξεως των 100 - 10^3 και τα τελευταία χρόνια με την βοήθεια ειδικού προγραμματισμού και κατάλληλων ηλεκτρονικών υπολογιστών μεγάλης ισχύος (Super Computers) κάποιων χιλιάδων. Τα μόρια προς προσομοίωση αντιπροσωπεύουν ένα μέρος του mole, και κατά αυτό τον τρόπο είναι δυνατόν να αντιληφθούμε ότι με την προσομοίωση προσπαθούμε, μελετώντας ένα απειροελάχιστο τμήμα του συστήματος, να εξάγουμε πληροφορίες για το σύνολο αυτού. Στην πράξη αυτό επιτυγχάνεται με τη χρήση των περιοδικών συνθηκών, που οδηγούν στην άπειρη επανάληψη του μικρού δείγματος σε σχέση με το συνολικό σύστημα. Τα τελευταία χρόνια η τεχνολογική εξέλιξη οδήγησε στη μελέτη μοριακών προσομοιώσεων απαιτητικών μοριακών συστημάτων, από άποψη πολυπλοκότητας, μέσω υπερυπολογιστικών συστημάτων ούτως ώστε να έχουμε τη δυνατότητα στατιστικής επεξεργασίας διαφόρων πολύπλόκων ιδιοτήτων σε ικανοποιητικό επίπεδο.

Η μέθοδος Monte Carlo[26] αναπτύχθηκε από τους von Neumann, Ulam και Metropolis[60] στα μέσα του εικοστού αιώνα για τη μελέτη της διάχυσης των νετρονίων στις πυρηνικές σχάσεις. Αυτή η μέθοδος βασίζεται σε στοχαστικές διαδικασίες και σε ακολουθία ψευδοτυχαίων αριθμών, προκειμένου να δημιουργήσει μία σειρά μικροαπεικονίσεων του μοριακού συστήματος, με βάση ένα επιλεγμένο Στατιστικό Μηχανικό Σύνολο, έτσι ώστε να παραχθεί ένα αποδεχτό δείγμα (sampling) μικροκαταστάσεων αυτού. Από την αρχική μικροκατάσταση του συστήματος επιχειρούμε με τυχαίες μετατοπίσεις των σωματιδίων να δημιουργήσουμε τις σταθερότερες ενεργειακά άρα και πιθανότερες μικροκαταστάσεις του. Με αυτόν τον τρόπο παράγεται ένα αποδεκτό σύνολο μικροκαταστάσεων (αλληλουχία) οι οποίες λαμβάνονται υπόψη στον υπολογισμό των μέσων τιμών των ιδιοτήτων του συστήματος. Η μέθοδος αυτή, λόγω της αρχής λειτουργίας της δεν μπορεί να εξάγει αποτελέσματα χρονικά εξαρτώμενων ιδιοτήτων του συστήματος.

Από την άλλη πλευρά, η μέθοδο της Μοριακής Δυναμικής επιλύει αριθμητικά – προσεγγιστικά το πεπλεγμένο σύστημα διαφορικών εξισώσεων κίνησης των μορίων. Η μεθοδολογία αυτή έχει το πλεονέκτημα της εκτίμησης επιπλέον των δυναμικών ιδιοτήτων ενός μοριακού συστήματος, εκτός των θερμοδυναμικών και των δομικών αυτού.

3.2 Μοριακή Δυναμική Μέθοδος

Η μέθοδος της Μοριακής Δυναμικής[26, 61 , 62] λαμβάνει υπόψη ότι τα σωματίδια του συστήματος κινούνται με βάση τους κλασικούς νόμους της Νευτώνειας Μηχανικής. Πρώτη φορά που χρησιμοποιήθηκε αυτή η μέθοδος ήταν για ένα σύστημα σκληρών σφαιρών από τους Alder και Wainwright[63,64]

Η Μοριακή Δυναμική παράγει τροχιές για ένα ορισμένο χρονικό διάστημα για N σωματίδια μοριακού συστήματος, κατόπιν αριθμητικής επίλυσης του διαφορικού συστήματος των πεπλεγμένων εξισώσεων κίνησης (μεταφορικής, περιστροφικής και δονητικής) αυτών. Με βάση τις θέσεις, τις ταχύτητες, τις δυνάμεις και τις ροπές των σωματιδίων κάθε χρονική στιγμή, είναι δυνατό να εκτιμηθεί η μελλοντική κίνηση και τροχιά των σωματιδίων του συστήματος με προσεγγιστικές μεθόδους αριθμητικής ανάλυσης (αλγόριθμους).

Έστω ένα σύστημα N σωματιδίων με μάζες m_i και θέσεις $\boldsymbol{r}_i$ Οι εξισώσεις κινήσεως αυτών, στην κλασική τους μορφή είναι

$$\frac{\partial^2 \boldsymbol{r}_i(t)}{\partial t^2} = \frac{\boldsymbol{F}_i(t)}{m_i} \quad i = 1,2,\dots,N \tag{3.1}$$

όπου $\boldsymbol{F}_i$ είναι η συνολική συνισταμένη δύναμη που ασκείται στο σωματίδιο i από τα υπόλοιπα N – 1. Αν οι αλληλεπιδράσεις των σωματιδίων λαμβάνονται ανά δύο τότε ισχύει

$$\boldsymbol{F}_i = \sum_{j \neq i} \boldsymbol{F}_{ij} \tag{3.2}$$

Στην περίπτωση συντηρητικών δυνάμεων, ο υπολογισμός γίνεται ως εξής

$$\boldsymbol{F}_{ij} = -\boldsymbol{F}_{ji} = -\boldsymbol{\nabla} \mathrm{U}(\mathrm{r_{ij}}) \tag{3.3}$$

Όταν το δυναμικό αλληλεπιδράσεως είναι πολυκεντρικής μορφής (site – site), τότε υπολογίζονται οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πλευρικών ομάδων. Σε αυτήν την περίπτωση, η διαμοριακή αλληλεπίδραση υπολογίζεται από την σχέση

$$\boldsymbol{F}(r_{ij}) = \sum_{a(i)} \sum_{b(j)} \boldsymbol{F}(r_{ab}) \tag{3.4}$$

Η χρήση αριθμητικών μεθόδων είναι απαραίτητη, εξαιτίας της αδυναμίας αναλυτικής επίλυσης των εξισώσεων κίνησης N μορίων (πρόβλημα πολλών σωμάτων). Οι αριθμητικές μέθοδοι υπολογίζουν την κίνηση των σωματιδίων του συστήματος για μία σειρά χρονικών στιγμών δt, όπου δt το βήμα της προσομοίωσης το οποίο είναι της τάξεως π.χ. ~ 10^{-14} – 10^{-15}s. Η γνώση της δυναμικής κατάστασης του συστήματος στα παρόντα και προηγούμενα χρονικά διαστήματα, χρησιμεύει στον προσδιορισμό της θέσης των σωματιδίων στο επόμενο χρονικό βήμα $t + \delta t$. Η επίλυση του προβλήματος γίνεται χρονικά εξαρτημένα, λαμβάνοντας υπόψιν την ύπαρξη δυναμικού αλληλεπίδρασης. Για τους λόγους αυτούς χρειάζεται να γίνουν κάποιες παραδοχές για τα σωματίδια που απαρτίζουν το σύστημα[26].

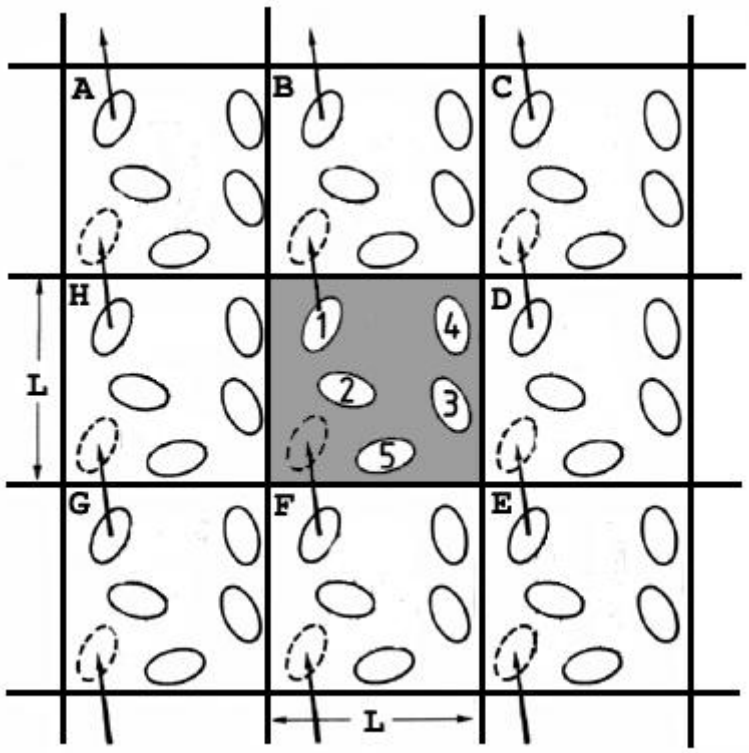
3.3 Τεχνικές Λεπτομέρειες στη Μοριακή Προσομοίωση

Είναι απαραίτητο στο σημείο αυτό να αναφερθούμε σε κάποιες τεχνικές που αφορούν τις Μοριακές Δυναμικές Προσομοιώσεις, οι οποίες αποτελούν αναπόσπαστο τμήμα αυτών.

3.3.1 Περιοδικές Οριακές Συνθήκες

Στις μοριακές προσομοιώσεις, χρησιμοποιείται ένα σύνολο σωματιδίων της τάξεως κάποιων εκατοντάδων μορίων. Αν θεωρήσουμε ότι τα μόρια καταλαμβάνουν κυβική κυψελίδα με διάσταση μερικά nm, είναι προφανές ότι πολλά μόρια βρίσκονται σε άμεση αλληλεπίδραση με τα τοιχώματα της κυψελίδας. Κατά αυτό τον τρόπο, για την αποφυγή του προβλήματος των επιφανειακών φαινομένων γίνεται χρήση των «Περιοδικών Οριακών Συνθηκών». Θεωρούμε ότι η κυψελίδα της προσομοίωσης περιστοιχίζεται από πανομοιότυπες κυψελίδες, οι οποίες περιέχουν τον ίδιο ακριβώς αριθμό μορίων, και βρίσκονται στις ίδιες θέσεις μέσα σε κάθε κυψελίδα, με ίδιο προσανατολισμό και ταχύτητες. Με ακριβώς τον ίδιο τρόπο, μετακινούνται τα μόρια στο πρότυπο κουτί, καθώς επίσης και

στα γειτονικά αυτού. Κατά αυτό τον τρόπο, δεν υπάρχουν τοιχώματα στα όρια των κυψελίδων οπότε δεν υφίστανται επιφανειακά μόρια και κατά συνέπεια, δεν προκύπτουν προβλήματα επιφανειακών φαινομένων και μη διατήρησης σταθερού αριθμού σωματιδίων στην κυψελίδα. Ένα σύστημα βασικής κυψελίδας περιστοιχιζόμενης από πανομοιότυπες κυψελίδες παρουσιάζεται από το σχήμα (3.1)



Σχήμα3.1 *Σύστημα βασικής κυψελίδας προσομοίωσης με περιοδικές συνθήκες σε δύο διαστάσεις.*

Από το παραπάνω σχήμα είναι φανερό ότι τα μόρια της βασικής κυψελίδας που βρίσκονται πλησίον τοιχωμάτων αυτής βρίσκονται σε μικρότερες αποστάσεις από τα αντίστοιχα είδωλα στις περιστοιχιζόμενες κυψελίδες. Εξαιτίας του φαινομένου αυτού στον υπολογισμό των διαμοριακών δυνάμεων και για τον πληρέστερο υπολογισμό αυτών εισάγεται η συνθήκη Πλησιέστερου Ειδώλου. Όπως φαίνεται από το σχήμα (3.1), το μόριο 1 βρίσκεται στο κέντρο μίας περιοχής η οποία έχει το ίδιο σχήμα και μέγεθος με την βασική κυψελίδα. Το μόριο 1 αλληλεπιδρά με όλα τα μόρια των οποίων το κέντρο τους βρίσκεται σε αυτήν την περιοχή και εντός της ακτίνας αποκοπής, ακόμα και εάν αυτά ανήκουν σε γειτονικές κυψελίδες. Αυτή η προσέγγιση ονομάζεται «Συνθήκη Πλησιέστερου Ειδώλου». Με αυτόν τον τρόπο, αποφεύγονται προβλήματα λόγω ασυμμετρίας του περιβάλλοντος του μορίου 1.

Αυτή η τεχνική, η οποία είναι φυσική συνέπεια των περιοδικών οριακών συνθηκών, χρησιμοποιήθηκε αρχικά από το Metropolis et al[65]. το1953.

3.3.2 Ακτίνα αποκοπής

Στην περίπτωση αυτή λόγω του γεγονότος ότι το διαμοριακό δυναμικό προσεγγίζει το μηδέν για άπειρες θεωρητικά αποστάσεις και προκειμένου να εξοικονομηθεί χρόνος κατά τους υπολογισμούς, χρησιμοποιείται μία ακτίνα αποκοπής δυναμικού R_{cut} γύρω από το κεντρικό μόριο. Κατά αυτό τον τρόπο, στον υπολογισμό της δυναμικής ενέργειας δεν λαμβάνονται υπόψη τα μόρια που βρίσκονται εκτός της ακτίνας αποκοπής. Η συνολική ενέργεια του συστήματος σε αυτή την περίπτωση προκύπτει από την σχέση (3.5)

$$U(r) = \sum_{r<R_{cut}} U_{ij}(r) + U_{LRC} \tag{3.5}$$

Στην σχέση αυτή, όταν αναφερόμαστε σε αποστάσεις μικρότερες της R_{cut} υπολογίζονται οι όροι του αθροίσματος, ενώ για αποστάσεις μεγαλύτερες του R_{cut} λαμβάνεται ο διορθωτικός όρος μακράς ακτίνας δυναμικού U_{LRC} (Long Range Correlation). Συνήθως, ως R_{cut} λαμβάνεται το μισό του μήκους της κυψελίδας. Με βάση την στατιστική μηχανική, η σχέση που χρησιμοποιείται στη διόρθωση της ενέργειας για τις μεγάλες αποστάσεις, είναι η ακόλουθη

$$U = U_c + 2\pi N\rho \int_{R_c}^{\infty} r^2 U(r) g(r) dr \tag{3.6}$$

Η εν λόγω σχέση προκύπτει για μονοατομικά συστήματα, ενώ στην περίπτωση πολυατομικών συστημάτων διαμορφώνεται καταλλήλως. Η συνάρτηση g(r) αναφέρεται στη μέση διαμοριακή δομή του συστήματος και υπολογίζεται στα πλαίσια της προσομοίωσης ή από πειράματα νετρονίων ή από πειράματα ακτινών Χ.

3.3.3 Μέθοδος Ewald

Η μέθοδος Ewald[66] είναι μία τεχνική για τον υπολογισμό των αλληλεπιδράσεων των ενεργειών σε ένα περιοδικά επαναλαμβανόμενο σύστημα, ιδιαίτερα των ηλεκτροστατικών, μεταξύ ενός ιόντος και των πλησιέστερων περιοδικών ειδώλων του. Αυτή η τεχνική αναπτύχθηκε κατά τη μελέτη ιοντικών κρυστάλλων.

Το άθροισμα Ewald θεωρεί, όπως και η συνθήκη πλησιέστερου ειδώλου, ότι το σύστημα αποτελείται από μία περιοδική επανάληψη της κεντρικής κυψελίδας.

Σε κάθε φορτίο θεωρούμε ότι υπάρχει μία κατανομή ίσου και αντίθετου φορτίου που συνήθως είναι μία κατανομή Gauss.

$$\rho_i^k(r) = \frac{q_i \kappa^3 e^{-k^2 r^2}}{\pi^{\frac{3}{2}}} \tag{3.7}$$

όπου η αυθαίρετη παράμετρος κ είναι το εύρος της κατανομής. Στη συνέχεια προστίθεται μία ίδια αλλά αντίθετου φορτίου κατανομή φορτίων η οποία λαμβάνεται υπόψη στις εξωτερικές κυψελίδες. Μετά από αυτή τη διόρθωση η ενέργεια αλληλεπίδρασης γίνεται

$$V_{qq} = \frac{1}{2}\sum_{i=1}^{N}\sum_{j=1}^{N}\sum_{|n|=0}^{\infty} q_i q_j \frac{erfc\left(\kappa\left|\overrightarrow{r_{ij}} - n\right|\right)}{\left|\overrightarrow{r_{ij}} - n\right|} + \frac{1}{\pi L^3}\sum_{k\neq 0} q_i q_j \frac{4\pi^2}{k^2} e^{-\frac{k^2}{4x^2}} cos\left(k\overrightarrow{r_{ij}}\right)) + \frac{\kappa}{\sqrt{\pi}}\sum_{i=1}^{N} q_i^2 + \frac{2\pi}{3L^3}\left|\sum_{i=1}^{N} q_i \vec{r_i}\right|^2 \tag{3.8}$$

όπου $erfc(x) = \frac{2}{\sqrt{\pi}}\int_x^\infty e^{-t^2} dt$ και $k = \frac{2\pi n}{L^2}$. Με την προϋπόθεση ότι το κ έχει επιλεγεί αρκετά μεγάλο ώστε η μόνη συνεισφορά να προέρχεται από τον πρώτο όρο ο οποίος είναι η αλληλεπίδραση στην κεντρική κυψελίδα με n = 0. Οι δυνάμεις που οφείλονται στις αλληλεπιδράσεις αυτές προκύπτουν με παραγώγιση της παραπάνω σχέσης. Στην πράξη χρησιμοποιούνται περίπου 1418 διανύσματα k και το κ είναι περίπου 5/L. Οι κυψελίδες που λαμβάνονται υπόψη είναι αυτές που απέχουν λιγότερο από κάποια απόσταση ώστε αυξάνοντας τον αριθμό των κυψελίδων αυτών, ο όγκος της προσομοίωσης να τείνει οριακά σε σφαίρα.

3.4 Μεθοδολογία Προσεγγιστικής Επίλυσης Εξισώσεων Κινήσεως στη Μοριακή Δυναμική

Στη Μοριακή Δυναμική γνωρίζοντας τις συντεταγμένες θέσεως των μορίων της βασικής κυψελίδας και τις συνισταμένες δυνάμεις, προσπαθούμε να επιλύσουμε το πεπλεγμένο διαφορικό σύστημα εξισώσεων κίνησης του συστήματος πεπερασμένου αριθμού σωματιδίων. Δηλαδή, γνωρίζοντας τα ανύσματα θέσης σε χρόνο t, προσπαθούμε να τα υπολογίσουμε σε χρόνο t + δt. Αυτού του είδους οι εξισώσεις επιλύονται με την χρήση διαφορικών ή βηματικών μεθόδων. Το βήμα επίλυσης δt πρέπει να είναι τέτοιας τάξης μεγέθους, ώστε να οδηγεί σε αποδεκτές αριθμητικές επιλύσεις του προβλήματος. Οι απαιτήσεις ενός αλγόριθμου εφαρμογής μοριακή δυναμική προσομοίωση ενός μοριακού συστήματος σε γενικές γραμμές είναι οι ακόλουθες:

a. Να είναι γρήγορος στην εκτέλεσή του και να απαιτεί μικρό χώρο στη μνήμη του Η/Υ.

b. Να επιτρέπει τη χρήση ενός σχετικά μικρού χρονικού βήματος dt, της τάξεως 10^{-14} – 10^{-15} s.
c. Να αναπαριστά όσο το δυνατόν καλύτερα την πραγματική τροχιά του σωματιδίου σύμφωνα με τους νόμους της κλασικής μηχανικής.
d. Να ικανοποιεί τις αρχές διατήρησης της ενέργειας και της ορμής.
e. Να περιγράφεται με απλή μαθηματική μορφή έτσι ώστε να είναι απλός στον προγραμματισμό του.

Κατά καιρούς στη διεθνή βιβλιογραφία έχουν δημοσιευθεί διαφορετικοί αλγόριθμοι που γενικά χρησιμοποιούνται σε θεωρητικές μελέτες με βάση τη Μοριακή Δυναμική προσομοίωση. Οι πλέον δημοφιλείς από αυτούς είναι ο αλγόριθμος Gear Πρόβλεψης Διόρθωσης (Predictor – Corrector), οι αλγόριθμοι τύπου Verlet καθώς και ο Leap – Frog, αλγόριθμος που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία[26].

Οι εξισώσεις κίνησης επιλύονται ως προς το κέντρο μάζας του κάθε σωματιδίου και είναι οι εξής

$$\textit{Μεταφορική Κίνηση} \qquad \boldsymbol{F}_i = m_i \frac{d^2 \boldsymbol{r}_i}{dt^2} \tag{3.9}$$

$$\textit{Περιστροφική Κίνηση} \qquad \boldsymbol{T}_i = \frac{d}{dt}\left(\hat{I}_i \boldsymbol{\omega}_i\right) \tag{3.10}$$

όπου m_i και $\boldsymbol{r}_i$ είναι η μάζα και η θέση του σωματιδίου i, αντιστοίχως, ενώ $\hat{I}_i$ και $\boldsymbol{\omega}_i$ είναι αντιστοίχως ο τανυστής της ροπής αδρανείας και η γωνιακή ταχύτητα.

Η εξίσωση της περιστροφικής κίνησης δεν μπορεί να επιλυθεί άμεσα και πρέπει να προχωρήσουμε σε κάποιους μετασχηματισμούς. Συνήθως, χρησιμοποιούμε τη μέθοδο των τετραδικών παραμέτρων q_0, q_1, q_2, q_3 (quaternion parameters)[26], οι οποίες περιέχουν τις γωνίες Euler που καθορίζουν τον προσανατολισμό των μορίων.

3.4.1 Αλγόριθμος Leap – Frog

Οι εξισώσεις μεταφορικής κίνησης που επιλύονται για κάθε σωματίδιο του προσομοιωμένου συστήματος είναι της κίνησης του κέντρου μάζης αυτών και ακολουθούν τη Σχέση (3.7), και της περιστροφικής κίνησης που ακολουθούν τη Σχέση (3.10).

Η εξίσωση της περιστροφικής κίνησης δε μπορεί να επιλυθεί άμεσα και χρειάζεται κάποιο μετασχηματισμό. Η κίνηση του κέντρου μάζας μπορεί να αντιμετωπιστεί άμεσα χρησιμοποιώντας τον αλγόριθμο Leap – Frog. Η αναλυτική του έκφραση δίνεται από τις παρακάτω σχέσεις

$$\boldsymbol{v}_{\iota}^{n+\frac{1}{2}} = \boldsymbol{v}_{\iota}^{n-\frac{1}{2}} + \delta t \frac{\boldsymbol{F}_i^n}{m_i} \tag{3.11}$$

$$\boldsymbol{r}_{\iota}^{n+1} = \boldsymbol{r}_{\iota}^{n} + \delta t \boldsymbol{v}_{\iota}^{n+\frac{1}{2}} \tag{3.12}$$

Στον αλγόριθμο Leap – Frog, η δύναμη στο σωματίδιο i στο βήμα χρόνου n, $\vec{F}_i^n$, χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της ταχύτητας $\boldsymbol{v}_{\iota}^{n+\frac{1}{2}}$ του επόμενου βήματος χρόνου, από την ταχύτητα $\boldsymbol{v}_{\iota}^{n-\frac{1}{2}}$ του προηγούμενου βήματος (δt είναι το μέγεθος του βήματος χρόνου). Η ταχύτητα που υπολογίζεται χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό της νέας θέσης $\boldsymbol{r}_{\iota}^{n+1}$. Ο αλγόριθμος αυτός έχει αποδειχτεί ιδιαίτερα σταθερός.

3.5 Αλγόριθμοι τύπου SHAKE και LINCS

Στην περίπτωση που έχουμε μοριακά συστήματα με πολλούς εσωτερικούς βαθμούς ελευθερίας στα μόρια, οι διάφορες κινήσεις αυτών προσομοιώνονται με τεχνικές τύπου SHAKE και LINCS. Στην συγκεκριμένη περίπτωση, όλα τα άτομα επί των μορίων ή οι αντίστοιχες πλευρικές ομάδες αλληλεπίδρασης διαχειρίζονται σαν ξεχωριστές οντότητες επιδεχόμενες τις αλληλεπιδράσεις από τα υπόλοιπα μόρια μέσω των εν λόγω τεχνικών. Κατά αυτό τον τρόπο γίνεται πρόβλεψη των νέων θέσεών τους στο χώρο μία προς μία και στην συνέχεια με την εφαρμογή των χαρακτηριστικών περιοριστικών συνθηκών (constraint) των μορίων (μήκη δεσμών, γωνίες, δίεδρες γωνίες κ.τ.λ.) επιτυγχάνεται η εκ νέου συγκρότηση του μορίου στην προβλεπόμενη νέα θέση αυτού στο χώρο.

Μέσω του προγράμματος GROMACS, το οποίο και αποτελεί την βάση των σχεδιαζόμενων προσομοιώσεων των συστημάτων προς μελέτη, οι περιοριστικές συνθήκες που αναφέραμε καθώς επίσης η προσομοίωση των διαφόρων κινήσεων των μορίων πραγματοποιούνται μέσω εφαρμογής των αλγορίθμων SHAKE και LINCS.

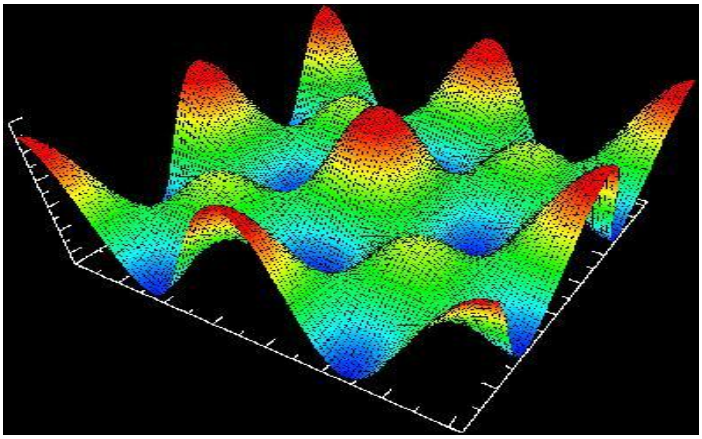
Ο αλγόριθμος SHAKE [67] που αναφέρεται στις περιοριστικές συνθήκες των δεσμών αναπτύχθηκε από τους Ryckaert et al. το 1977 και χρησιμοποιείται ευρέως στις μοριακές προσομοιώσεις.

Μία εναλλακτική μέθοδος για την εφαρμογή περιοριστικών συνθηκών είναι ο LINCS (Linear Constraint Solver), η οποία αναπτύχθηκε το 1997 από τους Hess, Bekker, Berendsen και Fraaije[68] και βασίζεται στη μέθοδο των Edberg, Evans και Morriss[69] του 1986.

3.6 Ελαχιστοποίηση της Δυναμικής Ενέργειας Μοριακών Συστημάτων

Γενικά, είναι γνωστό ότι στην περίπτωση ενός μακρομοριακού συστήματος το πρόβλημα ευρέσεως της ελαχίστης δυναμικής ενέργειας (global minimum) αυτού παρουσιάζει σημαντική πολυπλοκότητα εξαιτίας του γεγονότος ότι η ειδική συνάρτηση που περιγράφει τη δυναμική ενέργεια δεν είναι δυνατόν υπολογιστικά να πραγματοποιηθεί μέσω μίας γραμμικής μεθόδου βελτιστοποίησης. Ως συνήθως, η δυναμική ενέργεια ενός τέτοιου μοριακού συστήματος παρουσιάζει ένα βαθύτατο ελάχιστο (global minimum), και αρκετά τοπικά ελάχιστα, όπου όλες οι παράγωγοι πρώτης τάξεως της συναρτήσεως της δυναμικής ενέργειας ως προς τις συντεταγμένες θέσεως είναι μηδέν και όλες οι δεύτερες είναι μη αρνητικές.

Γενικά μία επιφάνεια δυναμικής ενέργειας με ελάχιστα και μέγιστα παρουσιάζεται στο Σχήμα 3.4. Η γνώση όλων των τοπικών ελαχίστων, συμπεριλαμβάνοντας και του ολικού παρέχει την δυνατότητα περιγραφής των σχετικών δομών και διαμορφώσεων καθώς επίσης και των δυναμικών ιδιοτήτων.



Σχήμα3.3 *Τρισδιάστατη απεικόνιση των τοπικών ελαχίστων και μεγίστων του δυναμικού.*

Στην γενική περίπτωση N ανεξάρτητων μεταβλητών r,όπου r = (r_1, r_2,…, r_N), το ζητούμενο είναι η εύρεση εκείνων των τιμών των μεταβλητών, τις οποίες ονομάζουμε r_{min}, και για τις οποίες η εξίσωση V(r) παρουσιάζει ένα ολικό ελάχιστο (global minimum). Στην περίπτωση μοριακής δυναμικής μελέτης μίας πρωτεΐνης, το σύνολο N είναι συνήθως τρεις φορές ο αριθμός των ατόμων (που προκύπτει από τους τρεις βαθμούς ελευθερίας (x, y, z) για τις συντεταγμένες των ατόμων), όπου r συμβολίζει τις Καρτεσιανές συντεταγμένες των ατόμων και το V(r) είναι η δυναμική ενέργεια του συστήματος η οποία, όπως αναφέρεται στην υποπαράγραφο 2.5 δύναται να περιγραφεί από μία εξίσωση της μορφής μέσω της σχέσεως (2.21).

Για την επίλυση τέτοιου είδους μη γραμμικών προβλημάτων κατά καιρούς έχουν προταθεί διάφοροι αλγόριθμοι αλλά, σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία μόνο ένας μικρός αριθμός από αυτούς βρίσκουν εφαρμογή κατά κανόνα στη μοριακή μηχανική (ΜΜ) μοντελοποίηση των πρωτεϊνών.

Είναι γνωστό από τη μαθηματική ανάλυση ότι η εύρεση του ολικού ελαχίστου μίας γενικά μη γραμμικής συναρτήσεως πολλών μεταβλητών είναι εξαιρετικά δύσκολο πρόβλημα. Στην συγκεκριμένη περίπτωση ενός τυπικού βιομοριακού συστήματος π.χ. της τάξεως 300 – 600 μεταβλητών (100 – 200 άτομα) είναι συνήθως αδύνατο να καθοριστεί η πρόβλεψη του ολικού ελαχίστου της ενέργειάς του. Επιπρόσθετα, ενώ οι μέθοδοι ελαχιστοποίησης της ενέργειας μπορούν να χρησιμοποιηθούν αποτελεσματικά για τη βέλτιστη πρόβλεψη των μοριακών διαμορφώσεων, είναι εντελώς αναποτελεσματικές για επαρκή δειγματοληψία του χώρου των φάσεων.

Όπως αναφέραμε και προηγουμένως, έχουν αναπτυχθεί μία σειρά από τέτοιες μεθόδους από τις οποίες οι πιο δημοφιλείς μέθοδοι είναι εκείνες οι οποίες χρησιμοποιούν παραγώγους διάφορων τάξεων. Για παράδειγμα αναφέρουμε τη μέθοδο πρώτης τάξεως όπως επίσης αυτή της δευτέρας τάξεως η οποία ονομάζεται και μέθοδος Newton – Raphson. Μία εκτενής περιγραφή και συγκριτική μελέτη των δυνατοτήτων αυτών των αλγορίθμων παρουσιάζεται από μία σειρά εργασιών.

3.7 Εφαρμογή διαφόρων υπολογιστικών τεχνικών στη μελέτη των βιομοριακών φαινομένων

Με βάση την ενδομοριακή δομή μίας πρωτεΐνης ή ενός νουκλεϊκού οξέος καθώς επίσης και έχοντας εξασφαλίσει κατά προσέγγιση τη μορφή των διαμοριακών και ενδομοριακών αλληλεπιδράσεων του συστήματος μέσω μίας συνάρτησης δυναμικής ενέργειας αυτού, είναι δυνατόν να μελετηθεί η δυναμική των μορίων με εφαρμογή διαφόρων υπολογιστικών τεχνικών. Σε αυτή την παράγραφο, θα αναφερθούμε συνοπτικά σε κάποιες από αυτές τις μεθόδους.

Μία απλή προσέγγιση στη μελέτη γενικά της κίνησης στα βιομόρια είναι αυτή κατά την οποία επιχειρείται να εντοπιστούν διαδρομές ελαχίστης ενέργειας για εξειδικευμένες κινήσεις. Η εν λόγω μέθοδος φέρει την ονομασία Μέθοδος Αδιαβατικής Απεικόνισης (adiabatic mapping). Σύμφωνα με αυτή την μέθοδο, επιχειρείται δοκιμαστική αλλαγή των αρχικών θέσεων των ατόμων του συστήματος κινούμενα σε μία συγκεκριμένη διαδρομή. Τα υπόλοιπα άτομα επιτρέπονται να κινηθούν έτσι ώστε να μειώσουν ή να ελαχιστοποιήσουν τη δυναμική ενέργεια ολόκληρου του συστήματος σε κάθε σημείο της διαδρομής. Αυτή η μέθοδος είναι απλή στη χρήση και μπορεί να εφαρμοστεί στη μελέτη τόσο σε μικρής όσο και

μεγάλης κλίμακας αλλαγών δομής του συστήματος. Επιπλέον, η εν λόγω μέθοδος δε παρέχει πληροφορία χρονικά εξαρτημένη για ιδιότητες του συστήματος καθώς επίσης δεν λαμβάνει υπόψη διάφορες επιδράσεις στις διάφορες διαμορφώσεις που επιτελούνται και τέλος, τα ποσοτικά σφάλματα δύνανται να αυξηθούν δραματικά στην περίπτωση κατά την οποία το σύστημα οδηγηθεί σε ασταθή ισορροπία.

Μία εναλλακτική μέθοδος που χρησιμοποιείται για τη μελέτη των ατομικών εσωτερικών κινήσεων στα βιομόρια είναι η ανάλυση κανονικών δονήσεων (normal mode analysis). Στην εν λόγω τεχνική, η κίνηση των ατόμων περιγράφεται ως μία υπέρθεση (superposition) αρμονικών ταλαντώσεων των οποίων τα χαρακτηριστικά ανιχνεύονται από τη μορφή της δυναμικής επιφάνειας που προκύπτει πλησίον του ενεργειακού ελαχίστου. Τέλος, οι περισσότερο διαδεδομένες τεχνικές προσομοίωσης και για τα βιομόρια είναι οι τεχνικές της Μοριακής Δυναμικής και του Monte Carlo. Για τις γενικές αρχές των συγκεκριμένων υπολογιστικών τεχνικών έχει γίνει εκτενής αναφορά στα προηγούμενα κεφάλαια.

3.8 Μοριακή Δυναμική τεχνική στα βιολογικά μόρια

Η ευρεία πρακτική εφαρμογή της Μοριακής Δυναμικής προσομοίωσης στην περίπτωση βιολογικών συστημάτων τις τελευταίες δεκαετίες και η ανάπτυξή της γενικά στον τομέα αυτό είναι ολοφάνερη από τη μεγάλη διαθεσιμότητα ειδικών λογισμικών προγραμμάτων προσομοιώσεων (προγράμματα εφαρμογών μοριακής δυναμικής σε μακρομόρια) που βρίσκουν εφαρμογή κυρίως σε υπέρ υπολογιστικά συστήματα τόσο από άποψη ταχύτητας εκτελέσεων πράξεων άλλα και χωρητικότητας δεδομένων και τα οποία έχουν αναπτυχθεί σε διάφορα ερευνητικά – υπολογιστικά κέντρα ανά τον κόσμο.

Στις παραγράφους που ακολουθούν παρουσιάζονται περιληπτικά πληροφορίες σχετικά με τα πεδία δυνάμεων τα οποία χρησιμοποιούνται σε ειδικά πακέτα ειδικών προγραμμάτων μοριακής δυναμικής προσομοίωσης και τα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί στην παρούσα ερευνητική μελέτη.

3.8.1 Πεδία δυνάμεων

Όπως αναφέραμε και παραπάνω, η καταλληλότητα των συναρτήσεων περιγραφής και υπολογισμού της δυναμικής ενέργειας του μοριακού συστήματος υπό μελέτη είναι κυρίαρχης σημασίας για τα αποτελέσματα τα οποία προκύπτουν στα πλαίσια προσομοιώσεων Μοριακής Δυναμικής πρωτεϊνικών μοριακών συστημάτων κάτω από ορισμένες συνθήκες. Όπως έχουμε ήδη αναφέρει, η μορφή της συνάρτησης της δυναμικής ενέργειας πρέπει να είναι απλή από μαθηματικής πλευράς έτσι ώστε τόσο αυτή καθώς και οι παράγωγοι μικρής τάξεως αυτής να παρουσιάζουν δεδομένη ευκολία ως προς τον προγραμματισμό τους.

Τα διάφορα πεδία δυνάμεων μέσω ειδικών συναρτησιακών σχέσεων που χρησιμοποιούνται στις Προσομοιώσεις Μοριακής Δυναμικής πρωτεϊνών έχουν αρκετά κοινά χαρακτηριστικά σημεία. Παραδείγματος χάριν, τα μέρη αυτών που εκφράζονται μέσω αρμονικών όρων περιγράφουν εσωτερικές συντεταγμένες των μακρομορίων, οι σειρές Fourier περιγράφουν στρέψεις ενώ οι ατομικές αλληλεπιδράσεις κατά ζεύγη περιγράφονται χρησιμοποιώντας δυναμικα Lennard – Jones και Coulomb. Οι κύριες διαφορές μεταξύ των διάφορων πεδίων δυνάμεων είναι αποτέλεσμα των διαφορετικών προσεγγίσεων που λαμβάνονται υπόψη για την προσαρμογή των ανεξάρτητων παραμέτρων στα διάφορα δεδομένα. Κατά κοινή ομολογία, οι διάφοροι παράμετροι των δυναμικών που εκτιμώνται με διάφορους τρόπους ελέγχονται ως προς την αποτελεσματικότητά τους ανάλογα με τα αποτελέσματα που προκύπτουν από την προσομοίωση του συστήματος και σχετικά με την αναπαραγωγή των επιθυμητών πειραματικών δεδομένων σε ικανοποιητική προσέγγιση. Είναι σημαντικό στο σημείο αυτό να αναφέρουμε, ότι αν και σχετικά μικρές φαινομενολογικές διαφορές υφίστανται στο τρόπο που τα διάφορα πακέτα εφαρμογών λογισμικού μοριακής δυναμικής χειρίζονται τις απαραίτητες τεχνικές λεπτομέρειες στην προσομοίωση, όπως π.χ. η διαχείριση των μεγάλης εμβέλειας ηλεκτροστατικών επιδράσεων ή των αλληλεπιδράσεων μεταξύ ατόμων που συνδέονται μέσω ενός μικρού αριθμού ενδιάμεσων ατόμων, είναι δυνατόν να οδηγήσουν σε σημαντικές αποκλίσεις στον υπολογισμό της ενέργεια λόγω της εναλλακτικής μορφής εξισώσεως για την ενέργεια που χρησιμοποιούν. Τέλος, θα πρέπει να αναφερθεί ότι οι παράμετροι ενός συγκεκριμένου τύπου δυναμικού στην περιγραφή των αλληλεπιδράσεων μεταξύ συγκεκριμένων ατόμων του συστήματος δεν είναι δυνατόν να εφαρμοστούν ως παράμετροι δυναμικού των ιδίων κέντρων αλληλεπίδρασης του μοριακού συστήματος στην περίπτωση δυναμικού αναφοράς το οποίο περιγράφεται μέσω διαφορετικής συναρτησιακής σχέσεως. Γενικώς, η άμεση μεταφορά και εφαρμογή των τιμών των παραμέτρων από το ένα πεδίο δυνάμεων σε κάποιο άλλο παρεμφερές, για το ίδιο μοριακό σύστημα ή σε πανομοιότυπα δεν έχει καθολική ισχύ.

3.8.1.1 Πεδίο δυνάμεων Gromos

Από τη διεθνή βιβλιογραφία, ένα δυναμικό αλληλεπιδράσεων σε μακρομοριακά συστήματα φέρει την επωνυμία Gromos96[70,71]. Το δυναμικό αυτό αναπτύχθηκε σε διαδοχικά στάδια τις τελευταίες δεκαετίες σε πανεπιστημιακό ερευνητικό επίπεδο για την έρευνα στο πεδίο των προσομοιώσεων βιομορίων. Η αποτελεσματικότητα του πεδίου δυνάμεων Gromos φαίνεται από τη μεγάλη σειρά ερευνητικών προσπαθειών στις οποίες έχει χρησιμοποιηθεί μέσω προσομοιώσεων. Γενικά συμπεράσματα από την εφαρμογή του εν λόγω πεδίου δυνάμεων καταλήγουν στην εγκυρότητα του δυναμικού και στην ευκολία που αυτό χρησιμοποιείται στις διάφορες εφαρμογές.

Το πεδίο δυνάμεων Gromos[72] αναπτύχθηκε αρχικά από τους Berendsen H. J. C και van Gunsteren W. F και τους συνεργάτες τους στο πανεπιστήμιο του Groningen (Ολλανδία) και στο τμήμα Φυσικοχημείας του ETH της Ζυρίχης (Ελβετία). Στη συνέχεια τόσο στα ίδια ιδρύματα όσο και στο πανεπιστήμιο Harvard (USA) υπήρξε μία συνεχής ανάπτυξη γύρω από αυτό το υπολογιστικό εργαλείο. Σήμερα το πεδίο δυνάμεων Gromos είναι ευρύτατα διαδεδομένο λόγω του ότι έχει σχεδιαστεί με απλό τρόπο και υφίσταται ως υπολογιστικό εργαλείο στην περιοχή προσομοιώσεων στατιστικής μηχανικής στα περισσότερα υπολογιστικά κέντρα των ιδρυμάτων ανά τον κόσμο. Στα πλαίσια των υπολογισμών της μοριακής δυναμικής προσομοίωσης στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε το εν λόγω πεδίο δυνάμεων σε συνδυασμό με το λογισμικό μοριακής δυναμικής προσομοίωσης GROMACS.

3.8.2 Προγράμματα Εφαρμογών Μοριακής Δυναμικής σε βιομόρια

Όπως αναφέραμε και παραπάνω, η μοριακή δυναμική προσομοίωση βιολογικών συστημάτων τα τελευταία χρόνια πραγματοποιείται μέσω εξειδικευμένων λογισμικών προγραμμάτων εφαρμογών. Διερευνώντας τις δυνατότητες αυτών των ειδικών προγραμμάτων διαπιστώνουμε την ύπαρξη ενός ευρέως φάσματος δυνατοτήτων σχετικά με τη μελέτη των ιδιοτήτων των βιομορίων και επιπλέον το καθένα από αυτά διαθέτει ορισμένα χαρακτηριστικά ή πλεονεκτήματα που το διαφοροποιεί από τα άλλα.

Διάφοροι ερευνητές χρησιμοποιούν συγκεκριμένο λογισμικό πρόγραμμα για την προσομοίωση και μελέτη κάποιου βιομοριακού συστήματος. Εκ κατασκευής, όμως, τα διάφορα υπολογιστικά προγράμματα μοριακής δυναμικής για βιομόρια έχουν τη δυνατότητα μέσω μικροαλλαγών να χρησιμοποιήσουν τα αυτά πεδία δυνάμεων, καθώς επίσης δεδομένα για μικροδομές, μοριακές τροχιές σε μορφές αρχείων δεδομένων, τα οποία αρχικά είχαν χρησιμοποιηθεί ή παραχθεί με εφαρμογή άλλων ειδικών προγραμμάτων. Συνεπώς, μία τέτοια υπολογιστική διαδικασία κατά την οποία χρησιμοποιούνται διαφορετικά προγράμματα οδηγεί πολλές φορές σε ασφαλέστερη αποδοχή αποτελεσμάτων γεγονός που είναι επιτακτική ανάγκη για μελέτες στην υπολογιστική χημεία.

Τα πιο διαδεδομένα λογισμικά προγράμματα για μελέτες Μοριακής Δυναμικής μακρομορίων και βιομορίων, γενικά, είναι αυτά με την ονομασία GROMACS, AMBER, και NAMD Επιπλέον, τα προγράμματα με την ονομασία CHARMM, NWChem χρησιμοποιούνται σε συγκεκριμένες περιπτώσεις.

3.8.2.1 Λογισμικό Πρόγραμμα Προσομοίωσης GROMACS

Όπως αναφέραμε προηγουμένως, στα πλαίσια της μελέτης αυτής όλες οι προσομοιώσεις των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκαν με το λογισμικό GROMACS και το αντίστοιχο

πεδίο δυνάμεων GROMOS. Το Gromacs[73] είναι ένα ακρώνυμο για τα GROninger MAchine for Chemical Simulation. Το πρόγραμμα αυτό αναπτύχθηκε μέσω συνεργασίας μίας ερευνητικής ομάδας του τμήματος Χημείας του πανεπιστημίου Groningen (Ολλανδία), με το τμήμα Πληροφορικής και υπολογιστικό κέντρο υψηλών επιδόσεων του ίδιου πανεπιστημίου με απώτερο σκοπό την κατασκευή του προγράμματος σε παράλληλη υπολογιστική διαδικασία (MPI) για τις ανάγκες των μοριακών προσομοιώσεων.

Το Gromacs είναι ένα ευέλικτο πρόγραμμα αρκετών δυνατοτήτων που στο πρωταρχικό στάδιο ανάπτυξή του σχεδιάστηκε για τη διεξαγωγή των προσομοιώσεων μοριακής δυναμικής βιολογικών μορίων όπως πρωτεΐνες και λιπίδια. Στην συνέχεια, εξαιτίας του γεγονότος ότι το εν λόγω πρόγραμμα παρουσιάζεται να διαθέτει σχετικά γρήγορους αλγορίθμους και ακριβείς στην εκτέλεση υπολογισμών μη δεσμικών αλληλεπιδράσεων, πολλές ερευνητικές ομάδες με μικρές τροποποιήσεις εμφανίζονται στη διεθνή βιβλιογραφία να το χρησιμοποιούν στην έρευνα όχι μόνο βιολογικών συστημάτων αλλά και στην διερεύνησης των ιδιοτήτων των πολυμερών όπως επίσης και στα μοριακά ρευστά.

Τα κύρια πλεονεκτήματα του GROMACS έναντι των άλλων λογισμικών προγραμμάτων είναι η εύκολη χρήση του και η εξαιρετική επίδοσή του ιδίως λόγω της παραλληλοποίησης του. Επιπλέον, εκτός από το κύριο πρόγραμμα μοριακής δυναμικής προσομοίωσης για την παραγωγή των μοριακών τροχιών και άλλων δεδομένων, το GROMACS διαθέτει μία πληθώρα εξειδικευμένων υποπρογραμμάτων (subroutines), η εκτέλεση των οποίων αποσκοπεί στη μελέτη συγκεκριμένων ιδιοτήτων του συστήματος που έχουν επιλεγεί προς μελέτη κάθε φορά από τους ερευνητές. Παρόλα αυτά, στην περίπτωση κατά την οποία υπάρχει ενδιαφέρον για μελέτη σειράς ιδιοτήτων που δεν καλύπτονται από τα εν λόγω υποπρογράμματα οι ενδιαφερόμενοι έχουν τη δυνατότητα κατασκευής ειδικών υποπρογραμμάτων και διασυνδέσεως αυτών με εύκολο τρόπο με το μητρικό. Βεβαίως, μία τέτοια ενέργεια προϋποθέτει συγκεκριμένες και εξειδικευμένες γνώσεις προγραμματισμού από τους ενδιαφερόμενους.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

4 ΜΟΡΙΑΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΥΠΟ ΜΕΛΕΤΗ– ΑΓΓΕΙΟΤΕΝΣΙΝΗ ΙΙ

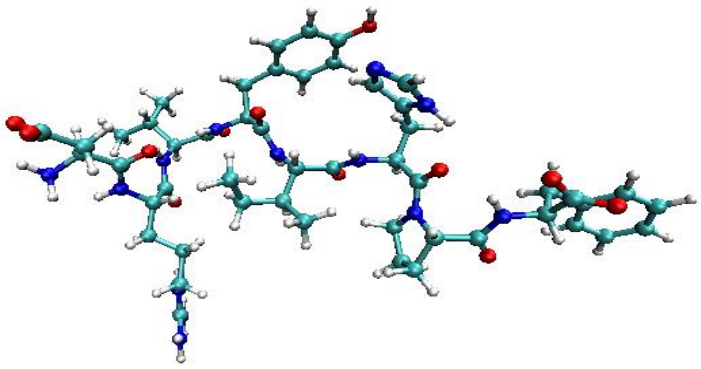
4.1 Υπέρταση και Αγγειοτενσίνη ΙΙ

Η προσπάθεια η οποία έχει καταβληθεί κατά τις τελευταίες δεκαετίες για αποτελεσματική επίλυση του προβλήματος της υπέρτασης στον ανθρώπινο οργανισμό έχει συμβάλει σημαντικά στη συστηματική αντιμετώπιση παθήσεων που σχετίζονται άμεσα με αυτό το πρόβλημα. Παρά την εντυπωσιακή πρόοδο στη διάγνωση και τη θεραπεία, οι παθήσεις αυτές εξακολουθούν να αποτελούν μάστιγα στις βιομηχανοποιημένες κοινωνίες σε όλο τον κόσμο. Μολονότι είναι γνωστοί οι κίνδυνοι από τη μη ελεγχόμενη αρτηριακή υπέρταση σε πολλούς ανθρώπους, η εν λόγω ασθένεια εξακολουθεί να αντιμετωπίζεται όχι ικανοποιητικά στη πλειονότητα της. Η αδυναμία αυτή οφείλεται στα διάφορα συμβατικά αντιυπερτασικά φάρμακα να αντιμετωπίσουν τους κρίσιμους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς που οδηγούν στην αύξηση της πίεσης του αίματος και της βιολογικής φθοράς των οργάνων – στόχων.

Τα αποτελέσματα των διαφόρων ερευνών μέχρι σήμερα έχουν οδηγήσει στην θεαματική ανάπτυξη νέας γενιάς φαρμακευτικών σκευασμάτων τα οποία στοχεύουν εκτός από την ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης του αίματος και επακόλουθες παρενέργειες αυτής. Σημαντική θέση μεταξύ αυτών των φαρμακευτικών σκευασμάτων αποτελούν διάφορες χημικές ενώσεις οι οποίες επιδρούν στο σύστημα Ρενίνης – Αγγειοτενσίνης (Renin – Angiotensin System, RAS). Τέτοιες ουσίες είναι π.χ. οι αναστολείς του Μετατρεπτικού Ενζύμου της Αγγειοτενσίνης (Angiotensin Converting Enzyme, ACE), οι αναστολείς του υποδοχέα τύπου 1 της Αγγειοτενσίνης ΙΙ (AT_1) καθώς, επίσης, και οι εκλεκτικοί ανταγωνιστές του υποδοχέα της Αλδοστερόνης.

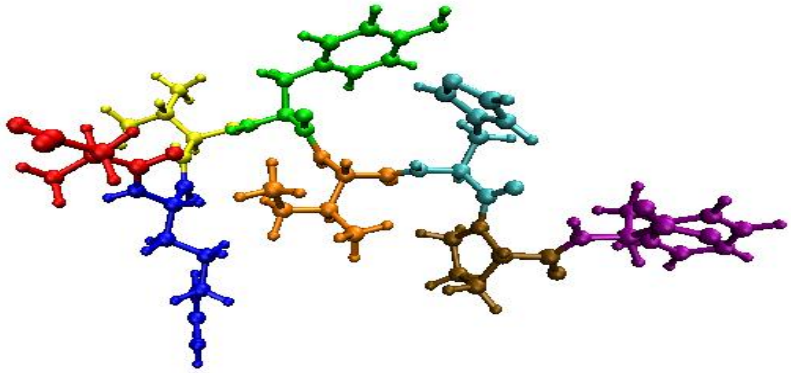
4.2 Μόριο της Αγγειοτενσίνης ΙΙ

Η Αγγειοτενσίνη ΙΙ, όπως έχουμε αναφέρει και στα προηγούμενα κεφάλαια, είναι ένα πεπτίδιο που αποτελείται από οκτώ αμινοξέα. Στα παρακάτω σχήματα φαίνεται η μοριακή δομή καθώς και η τρισδιάστατη απεικόνιση της εν λόγω πρωτεΐνης.



Σχήμα 4.1 Μοριακή δομή σε *τρισδιάστατη απεικόνιση της Αγγειοτενσίνης ΙΙ. Στο μόριο με το κυανό χρώμα αναπαρίστανται τα άτομα του άνθρακα, με το λευκό τα άτομα του υδρογόνου, με κόκκινο τα άτομα του οξυγόνου και τέλος, με μπλε χρώμα τα άτομα του αζώτου.*

Η αλληλουχία των αμινοξέων που σχηματίζουν την Αγγειοτενσίνης ΙΙ είναι : Asp – Arg – Val – Tyr – Ile – His – Pro – Phe. Στο παρακάτω Σχήμα 4.2 αναπαρίσταται γραφικά η Αγγειοτενσίνη ΙΙ ως προς την αλληλουχία και καταγραφή των αμινοξέων σε αυτή. Με το κόκκινο χρώμα παρίσταται το Ασπαραγινικό οξύ (Asp), με το μπλε η Αργινίνη (Arg), με το κίτρινο η Βαλίνη (Val), με το πράσινο η Τυροσίνη (Tyr), με το πορτοκαλί η Ισολευκίνη (Ile), με το κυανό η Ιστιδίνη (His), με το καφέ η Προλίνη (Pro) και, τέλος, με μωβ η Φαινυλαλανίνη (Phe).



Σχήμα 4.2 *Έγχρωμη τρισδιάστατη απεικόνιση της Αγγειοτενσίνης ΙΙ. Τα διαφορετικά αμινοξέα στο μόριοεκτίθενται με διαφορετικά χρώματα..*

Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία, η πρώτη μελέτη για τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης του αίματος δημοσιεύθηκε από τους Tigerstedt και Bergmann το 1897. Ονόμασαν τον παράγοντα στον οποίο οφείλεται η πίεση παράγοντας «ρενίνη» διότι προέρχεται από τα

νεφρά. Η πρωτοποριακή αυτή μελέτη οδήγησε στην περιγραφή της αγγειακής υπέρτασης τόσο για τα ζώα όσο και για τον άνθρωπο[74]. Ωστόσο, το 1940[75] απομονώθηκε μια αγγειοσυσταλτική ουσία από το αίμα ενός υπερτασικού κύονος. Ανάλογη έρευνα έγινε ταυτόχρονα και ανεξάρτητα από τους Page[76] και Helmer[77] μετά από εισαγωγή με ενέσιμη μορφή του συστήματος ρενίνης σε ένα υγιές ζώο. Η τελευταία ερευνητική ομάδα απομόνωσε χημικά, επίσης, το λεγόμενο «ενεργοποιητή ρενίνης» που αργότερα αποδείχτηκε ότι ήταν το αγγειοτενσινογόνο. Η διεγερτική ουσία ονομάστηκε "hypertensin" στην Αργεντινή και "angiotonin" στις Ηνωμένες Πολιτείες, απομονώθηκε αργότερα και αποδείχθηκε ότι είναι ένα οκταπεπτίδιο[78,79,80].

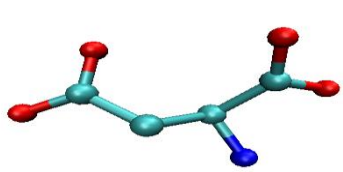
Υπήρξαν διαφορές μεταξύ των παραπάνω ερευνητικών ομάδων σχετικά με τις ερμηνείες και την ονοματολογία, αλλά στην πραγματικότητα τόσο η 'hypertensin' όσο και η 'angiotonin' επρόκειτο για το ίδιο βιολογικό σύστημα. Το 1958, οι Braun – Menendez και Page συμφώνησαν με τον υβριδικό όρο '*Αγγειοτενσίνη*' να δηλώνουν αυτό το πολύ ισχυρό διεγερτικό οκταπεπτίδιο. Όπως αναφέραμε και προηγουμένως, η ακολουθία των αμινοξέων της σύνθεσης της αγγειοτενσίνης ΙΙ στον ανθρώπινο οργανισμό, στο άλογο, και στους χοίρους είναι Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe. Τέλος έχει βρεθεί ότι στα βοοειδή, το αμινοξύ ισολευκίνη, Ile, στη θέση 5 της αλληλουχίας των αμονιξέων της αγγειοτενσίνης ΙΙ, αντικαθίσταται από βαλίνη, Val.

Μετά από αυτή τη σημαντική ανακάλυψη και χαρακτηρισμό της Αγγειοτενσίνης ΙΙ, επήλθε πρόοδος σχετικά με τον χαρακτηρισμό των διαφόρων χημικών στοιχείων που εμπλέκονται στη σύνθεση της αγγειοτενσίνης ΙΙ, όπως είναι το αγγειοτενσινογόνο, οι αναστολείς του μετατρεπτικού ενζύμου (ACE), καθώς και για τις αγγειοτενσίνες Ι και ΙΙΙ (πίνακας 1.1). Η πρώτη σύνθεση στο εργαστήριο του πεπτιδίου αγγειοτενσίνης ΙΙ πραγματοποιήθηκε από τους Bumpus et al.[76] και από τους Rittel et al.[81]το 1957 και η εν λόγω έρευνα επεκτάθηκε στη διερεύνηση της σχέσεως δομής – δραστικότητας των αναλόγων της αγγειοτενσίνης συστημάτων, με απώτερο σκοπό και στόχο την εύρεση ενός πεπτιδίου ανταγωνιστή της Αγγειοτενσίνης ΙΙ.

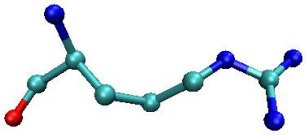
Σε αυτό το σημείο θα ήταν χρήσιμο για την παρούσα μελέτη, να αναφέρουμε συνοπτικά κάποια στοιχεία – πληροφορίες για τα μόρια των αμινοξέων που απαρτίζουν την Αγγειοτενσίνη ΙΙ.

Γενικά στη φύση απαντώνται 20 αμινοξέα. Αυτά χωρίζονται σε δύο βασικές κατηγορίες ως προς τη λήψη αυτών ή όχι μέσω της διατροφής των ζώντων οργανισμών. Η πρώτη περιέχει τα αμινοξέα τα οποία μπορεί να συντεθούν από τον οργανισμό και ονομάζονται *μη απαραίτητα* αμινοξέα, ενώ η δεύτερη κατηγορία περιέχει τα αμινοξέα που πρέπει να λαμβάνονται μέσω της διατροφής και ονομάζονται *βασικά* ή *απαραίτητα* αμινοξέα.

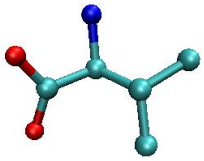
Όπως είδαμε παραπάνω, το πρώτο αμινοξύ στην αλληλουχία των αμινοξέων της Αγγειοτενσίνης ΙΙ είναι το Ασπαραγινικό οξύ. Αυτό έχει Μοριακό Τύπο $C_4H_7NO_4$. Το Asp θεωρείται μη απαραίτητο αμινοξύ για τον οργανισμό του ανθρώπου καθ' ότι αυτός είναι σε θέση να το συνθέσει. Στην συνέχεια της αλληλουχίας βρίσκεται η Αργινίνη, Arg, η οποία έχει το μοριακό τύπο $C_6H_{14}N_4O_2$. Η Arg είναι απαραίτητο αμινοξύ για τον οργανισμό. Η Αργινίνη βρίσκεται, συνήθως, στερεοχημικά στην εξωτερική επιφάνεια των διαφόρων πρωτεϊνών και έρχεται σε απευθείας αλληλεπίδραση με τα μόρια πολικών διαλυτών. Μία τέτοια συμπεριφορά παρουσία υδατικού διαλύματος παρουσιάζει υδρόφιλο χαρακτήρα. Η Βαλίνη, Val, είναι το τρίτο αμινοξύ της αλληλουχίας. Έχει μοριακό τύπο $C_5H_{11}NO_2$ και θεωρείται απαραίτητο αμινοξύ. Η Βαλίνη είναι ένα μη πολικό ή υδρόφοβο αμινοξύ. Στην συνέχεια της εν λόγω σειράς παρουσιάζεται η Τυροσίνη, Tyr, με μοριακό τύπο $C_9H_{11}NO_3$. Είναι ένα μη απαραίτητο αμινοξύ με μία πολική ομάδα. Το πέμπτο στη σειρά αμινοξύ είναι η Ισολευκίνη, Ile. Έχει μοριακό τύπο $C_6H_{13}NO_2$ και είναι απαραίτητο αμινοξύ για τον οργανισμό. Είναι υδρόφοβο λόγω της ανθρακικής αλυσίδας του. Το επόμενο αμινοξύ είναι η Ιστιδίνη, His, με μοριακό τύπο $C_6H_9N_3O_2$. Είναι απαραίτητο αμινοξύ. Λόγω του ιμιδαζολίου που περιέχει, οι διάφοροι τύποι Ιστιδίνης ευρίσκονται ως απαραίτητο συστατικό διαφόρων ενζύμων με ουσιαστικό ρόλο στο καταλυτικό κύκλο αυτών π.χ. Κυττοχρωμική οξειδάση. Το έβδομο αμινοξύ κατά σειρά είναι η Προλίνη, Pro, με μοριακό τύπο $C_5H_9NO_2$. Θεωρείται ως μη απαραίτητο αμινοξύ. Τέλος, στην αλληλουχία παρουσιάζεται η Φαινυλαλανίνη, Phe, με μοριακό τύπο $C_9H_{11}NO_2$ και το οποίο θεωρείται απαραίτητο αμινοξύ για τον ανθρώπινο οργανισμό. Παρουσιάζει υδρόφιλη συμπεριφορά εξαιτίας της βενζυλικής πλευρικής ομάδας που διαθέτει. Η στερεοχημεία των παραπάνω αμινοξέων παρατίθεται με την σειρά που παρουσιάζονται στην Αγγειοτενσίνη ΙΙ στο Σχήμα 4.3.



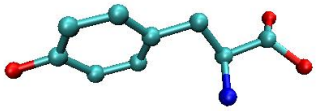
(α)



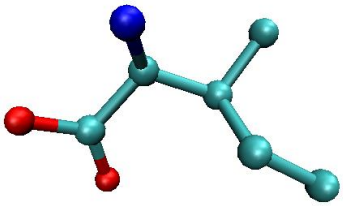
(β)



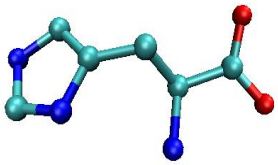
(γ)



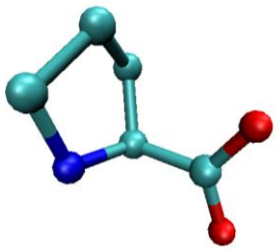
(δ)



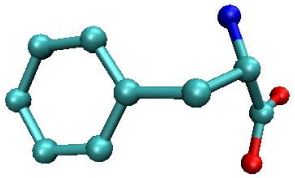
(ε)



(στ)



(ζ)

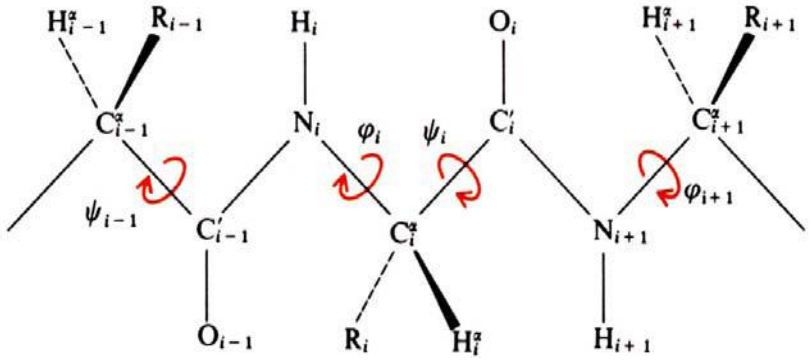


(η)

Σχήμα 4.3 *Τρισδιάστατη Στερεοχημική απεικόνιση των 8 αμινοξέων που απαρτίζουν την Αγγειοτενσίνη ΙΙ κατά σειρά, (α) Ασπαραγινικό οξύ, (β) Αργινίνη, (γ) Βαλίνη, (δ) Τυροσίνη, (ε) Ισολευκίνη, (στ) Ιστιδίνη, (ζ) Προλίνη και (η) Φαινυλαλανίνη.*

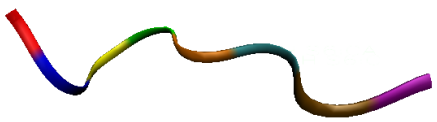
Τέλος, θα αναφερθούμε στην κύρια αλυσίδα των ατόμων (backbone) που απαρτίζουν τον σκελετό του μορίου της Αγγειοτενσίνης ΙΙ. Γενικά, η κύρια αλυσίδα μίας πρωτεΐνης είναι το μέρος αυτής που αποτελείται από διαδοχικούς ομοιοπολικούς δεσμούς της μορφής $(\text{-N–C}_\alpha\text{–C–N–C}_\alpha\text{–C-})_n$. Στην κύρια αλυσίδα παρατηρείται δυνατότητα περιστροφής μόνο

γύρω από το δεσμό N – C_α (γωνία φ) και γύρω από το δεσμό C_α – C, ενώ ο πεπτιδικός δεσμός C – N θεωρείται άκαμπτος (συνήθως σε διάταξη trans).



Σχήμα 4.4 *Στερεοχημική Δομή της κύριας αλυσίδας μίας πρωτεΐνης.*

Η κύρια αλυσίδα για το μόριο της Αγγειοτενσίνης ΙΙ για συγκεκριμένη διαμόρφωση αυτής στο κενό παρατίθεται στο σχήμα που ακολουθεί, όπου με διαφορετικά χρώματα δηλώνονται οι θέσεις των αμινοξέων της αλληλουχίας σε αυτή. Συγκεκριμένα στη θέση με το κόκκινο χρώμα βρίσκεται το Ασπαραγινικό οξύ, με μπλε η Αργινίνη, με κίτρινο η Βαλίνη, με πράσινο η Τυροσίνη, με πορτοκαλί η Ισολευκίνη, με κυανό η Ιστιδίνη, με καφέ η Προλίνη και τέλος, με μωβ η Φαινυλαλανίνη.

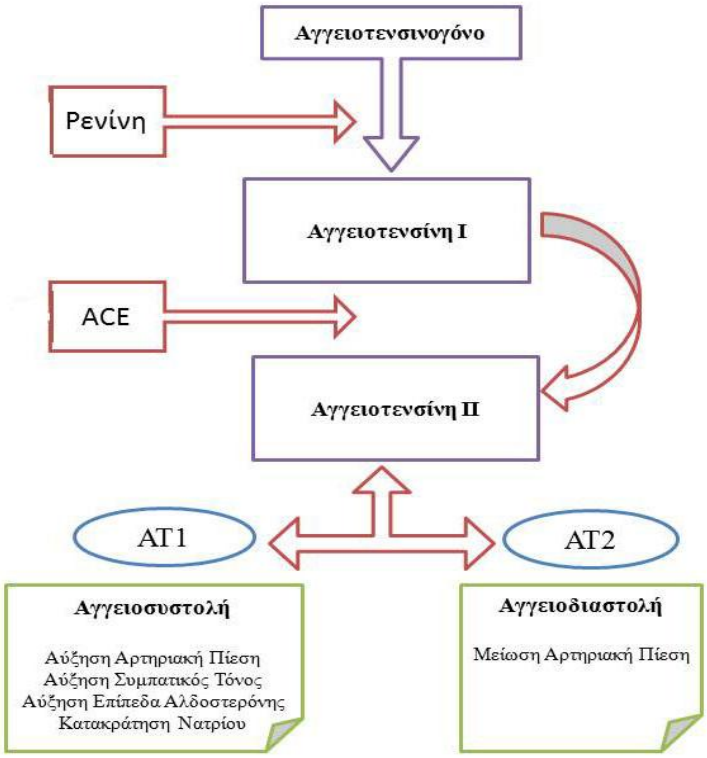


Σχήμα 4.5 *Κύρια αλυσίδα (Backbone) της Αγγειοτενσίνης ΙΙ για μία συγκεκριμένη διαμόρφωση αυτής.*

4.3 Ρυθμιστικός ρόλος της Αγγειοτενσίνης ΙΙ στην αρτηριακή πίεση - Γενικά

Από βιοχημικές μελέτες σχετικά με την ρύθμιση της αρτηριακής πιέσεως του αίματος στον ανθρώπινο οργανισμό είναι πλέον γνωστό ότι η Αγγειοτενσίνη ΙΙ, με την σχετική βιοχημική επίδρασή της, παίζει σημαντικό ρόλο σε αυτόν το μηχανισμό. Συγκεκριμένα, συστηματικές έρευνες έχουν οδηγήσει στο ασφαλές συμπέρασμα ότι το μοριακό σύστημα Ρενίνης – Αγγειοτενσίνης (RAS) είναι ένα ενδοκρινές σύστημα υπεύθυνο για τη ρύθμιση της αρτηριακής πίεσης. Είναι ο πιο γνωστός ρυθμιστής της πίεσης του αίματος και καθοριστικός παράγοντας της βιοχημικής φθοράς των ζωτικών οργάνων του οργανισμού τα οποία μπορούν

να θεωρηθούν ως στόχοι επίδρασης της υπέρτασης με καταστρεπτικές συνέπειες. Σύμφωνα με ερευνητικά αποτελέσματα, η ρενίνη[82], η οποία είναι μία ορμόνη, απελευθερώνεται από τους νεφρούς και διασπά το Αγγειοτενσινογόνο (βλ. Εισαγωγή) που συντίθεται στο ήπαρ και με τη σειρά του απελευθερώνεται στην κυκλοφορία του αίματος για να παραχθεί Αγγειοτενσίνη I σε αυτό, ένα δεκαπεπτίδιο το οποίο είναι βιολογικά ανενεργό[83]. Στη συνέχεια το μετατρεπτικό ένζυμο της αγγειοτενσίνης (ACE) [84], το οποίο είναι σχετικά μία μη εκλεκτική καρβόξυ – διπεπτιδάση με επίδραση σε διάφορα πεπτιδικά υποστρώματα (συμπεριλαμβανομένων της Αγγειοτενσίνης I και της Βραδυκινίνης), δρα καταλυτικά στην υδρόλυση της Βραδυκινίνης προς ανενεργά προϊόντα και μετατρέπει την ανενεργή Αγγειοτενσίνη I στο βιολογικά ενεργό οκταπεπτίδιο Αγγειοτενσίνη II[85,86].



Σχήμα4.5 Κύκλος παραγωγής Αγγειοτενσίνης II με επίδραση του ACE από Αγγειοτενσιογόνο. Επίδραση αυτής σε διάφορους υποδοχείς.

Πλην του ACE, ποικίλα άλλα ένζυμα μοιράζονται τη δυνατότητα να παράγουν Αγγειοτενσίνη II από την Αγγειοτενσίνη I, ενώ κάποια άλλα είναι δυνατό να παράγουν Αγγειοτενσίνη II άμεσα από το Αγγειοτενσινογόνο. Εν τούτοις, είναι γνωστό σήμερα ότι η σημαντικότερη σύνθεση της Αγγειοτενσίνης II συντελείται από τη δράση του ACE στην Αγγειοτενσίνη I.

Η ενζυμική σύνθεση της Αγγειοτενσίνης ΙΙ *in vivo* χωρίζεται σε δύο κατηγορίες, η πρώτη αναφέρεται στην περίπτωση κατά την οποία το ACE είναι υπεύθυνο για την ενδοαγγειακή διαδικασία, ενώ η δεύτερη όταν επιπλέον άλλα ένζυμα είναι υπεύθυνα για επιπλέον παραγωγή της Αγγειοτενσίνης ΙΙ. Η Αγγειοτενσίνη ΙΙ φθάνει στους στόχους της μέσω της μεταφοράς του αίματος και κυρίως στον υποδοχέα AT_1 που εντοπίζεται στους λείους μύες των αγγειακών κυττάρων και στους νεφρούς. Η ενεργοποίηση του υποδοχέα AT_1, παρουσία της Αγγειοτενσίνης ΙΙ έχει βρεθεί ότι οδηγεί σε άμεση αγγειοσυστολή, επιπλέον, σε διέγερση του νευρικού συστήματος σε κεντρικό και περιφερειακό επίπεδο καθώς επίσης στην σύνθεση και απελευθέρωση Αλδοστερόνης (μίας ορμόνης με μοριακό τύπο $C_{21}H_{28}O_5$) με συνέπεια την κατακράτηση νατρίου και νερού από τους νεφρούς. Από την άλλη πλευρά, η Αγγειοτενσίνη ΙΙ ενεργοποιεί, επίσης, και τον υποδοχέα AT_2 ο οποίος επιφέρει αντίθετα αποτελέσματα σε σχέση με τον AT_1, αν και η λειτουργία του είναι λιγότερο γνωστή. Τέλος, η μετατόπιση της ισορροπίας του συστήματος AT_1 – AT_2 [87]για διάφορους βιοχημικούς λόγους οδηγεί στην απορύθμιση της αρτηριακής πίεσης του ανθρωπίνου οργανισμού. Κατά συνέπεια, η συστηματική μελέτη όλων των επιμέρους παραγόντων που παίζουν σημαντικό ρόλο σε αυτό το πρόβλημα τόσο από βιοχημικής αλλά και πρωτίστως από φυσικοχημικής πλευράς, καταδεικνύει την αναγκαιότητα της διερεύνησής των. Όπως αναφέραμε και στην εισαγωγή, η παρούσα εργασία στρέφει το ενδιαφέρον της σε ένα μέρος του εν λόγω προβλήματος από φυσικοχημικής σκοπιάς. Συγκεκριμένα, η Αγγειοτενσίνη ΙΙ, όπως και αρκετές άλλες πρωτεΐνες δρουν σε λιπιδικές διπλοστοιβάδες. Από τη συστηματική μελέτη μερικών από τα παραπάνω συστήματα, από την διεθνή βιβλιογραφία, είναι γνωστό ότι κάποια δυαδικά συστήματα μεταξύ των οποίων και αυτό του H_2O – EtOH, παρουσιάζουν ιδιότητες οι οποίες προσομοιάζουν αυτών της επιφάνειας των λιπιδικών διπλοστοιβάδων και κατά αυτούς δύνανται, σε ικανοποιητικό βαθμό, να προσεγγίσουν την υδρόφιλη/υδρόφοβη μοριακή συμπεριφορά της εν λόγω περιοχής.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

5 ΜΟΡΙΑΚΗ ΔΥΝΑΜΙΚΗ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΗ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

5.1 Υπολογιστικά Συστήματα – Λογισμικά Υπολογισμών

Οι υπολογισμοί της παρούσας ερευνητικής εργασίας πραγματοποιήθηκαν στα ακόλουθα υπολογιστικά συστήματα:

1. SunFire V120 του Εργαστηρίου Φυσικοχημείας
2. Υπερυπολογιστικό σύστημα Aegean του υπολογιστικού κέντρου του Πανεπιστημίου Αθηνών. Ο υπερυπολογιστής Aegean είναι μοντέλο HP – V2600 που περιέχει 32 επεξεργαστές HP 64 bit PA – RISC 8600 (στα 552 MHz), οι οποίοι διαθέτουν κοινή μνήμη 16 GB.
3. Υπερυπολογιστικό σύστημα Uranus του υπολογιστικού κέντρου του Πανεπιστημίου Αθηνών. Ο υπερυπολογιστής Uranus είναι μοντέλο HP 9000/SD64 - Superdome που περιέχει 64 επεξεργαστές HP 64 bit PA – RISC 8600 (στα 552 MHz), οι οποίοι διαθέτουν κοινή μνήμη 40 GB.

5.2 Πρότυπα Δυναμικού Αλληλεπίδρασης

Όπως αναφέραμε στα προηγούμενα κεφάλαια, στην παρούσα εργασία μελετώνται τα παρακάτω συστήματα: (α) Αγγειοτενσίνη ΙΙ σε υδατικό περιβάλλον και (β) Αγγειοτενσίονη ΙΙ σε διάλυμα H_2O/EtOH 65%:35% (v/v). Γενικά, οι διάφορες αλληλεπιδράσεις οι οποίες απαιτούνται στην περιγραφή των ιδιοτήτων των δύο συστημάτων και έχουν ληφθεί υπόψη στην παρούσα εργασία είναι *ενδομοριακές* και *διαμοριακές*. Οι ενδομοριακές δυνάμεις που παρουσιάζονται και έχουν σχέση με το μόριο της Αγγειοτενσίνης ΙΙ περιέχουν την ελαστικότητα δεσμών, την κάμψη γωνιών, την στρέψη κατάλληλων και ακατάλληλων διέδρων, δυνάμεις van der waals, καθώς και ηλεκτροστατικές δυνάμεις μεταξύ αλληλεπιδρώντων πλευρών της AngII που απέχουν μεταξύ τους τρεις ή περισσότερους δεσμούς. Οι διαμοριακές αλληλεπιδράσεις λαμβάνουν χώρα μεταξύ των μορίων του διαλύτη καθώς επίσης και μεταξύ των πλευρών αλληλεπίδρασης των μορίων του διαλύτη με αυτές του μορίου της AngII. Η συναρτησιακή μορφή των παραπάνω αλληλεπιδράσεων περιγράφεται από τις παρακάτω σχέσεις

$$V_{Stretch}(r_{ij}) = \frac{1}{4} k_{stretch}(r_{ij}^2 - r_0^2)^2 \tag{5.1}$$

$$V_{bend}(\theta) = \frac{1}{2} k_{bend}(\cos(\theta) - \cos(\theta_0))^2 \tag{5.2}$$

$$V_{impr}(\xi) = \frac{1}{2} k_{impr}(\xi - \xi_0)^2 \tag{5.3}$$

$$V_{tors}(\varphi) = \frac{1}{2}\sum_{m=1}^{4}\left(k_{tors,m}[1-(-1)^m\cos(m\varphi)]\right) \quad (5.4)$$

$$V_{vdW}(r_{ij}) = 4\varepsilon_{ij}\left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}}\right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}}\right)^{6}\right] \quad (5.5)$$

$$V_{coul}(r_{ij}) = \frac{q_i q_j}{4\pi\varepsilon_0 r_{ij}} \quad (5.6)$$

Οι τιμές των διαφόρων παραμέτρων που υπεισέρχονται στην περιγραφή όλων των μορφών αλληλεπιδράσεων ελήφθησαν από το πεδίο δυνάμεως GROMOS96, τα δε γεωμετρικά χαρακτηριστικά και η κατανομή φορτίων στο μόριο της Ang II ελήφθησαν από την παρακάτω διεθνή τράπεζα δεδομένων Protein Data Bank (www.rcsb.org). Επιπλέον θα πρέπει να αναφέρουμε ότι στην περίπτωση του νερού και της αιθανόλης, τα δυναμικά αλληλεπιδράσεως που έχουν χρησιμοποιηθεί στην παρούσα ερευνητική εργασία για την περιγραφή των διαφόρων αλληλεπιδράσεων στο σύστημα έχουν ως εξής. Για το μόριο του νερού χρησιμοποιήθηκε το εμπειρικό δυναμικό SPC[88,89] ενώ για την Αιθανόλη το μοντέλο OPLS[90].

Το πρότυπο SPC (**S**imply **P**oint **C**harge) για το μόριο του νερού στην υγρή φάση είναι ένα από τα βασικότερα διαμοριακά δυναμικά αλληλεπίδρασης εμπειρικού τύπου του συστήματος αυτού, το οποίο έχει χρησιμοποιηθεί μέχρι σήμερα επιτυχώς σε διάφορες μελέτες μέσω προσομοιώσεων MD & MC. Η επιλογή του εν λόγω δυναμικού μεταξύ μίας πληθώρας παρομοίων δυναμικών για το σύστημα αυτό είχε σαν βάση ότι αυτό συνδυαζόμενο με το OPLS της αιθανόλης οδηγεί σε ικανοποιητικά αποτελέσματα σχετικά με τις ιδιότητες του μίγματος σε αυτή την αναλογία. Στο πρωταρχικό αυτό συμπέρασμα καταλήξαμε μέτα από δοκιμαστικές προσομοιώσεις του μίγματος H_2O/EtOH, στις οποιες δοκιμάστηκαν συνδυασμός και άλλων δυναμικών των εν λόγω συστημάτων από τη βιβλιογραφία.

Σε αυτό το δυναμικό, το μόριο του νερού διαθέτει τρία εντοπισμένα φορτία στα κέντρα των ατόμων του: τα θετικά φορτία βρίσκονται στα άτομα του Η ενώ το αρνητικό στο Ο. Τα στοιχεία του συγκεκριμένου προτύπου δυναμικού παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.1. Η παραδοχή περί υπάρξεως σημειακών φορτίων στα μόρια της υγρής καταστάσεως αποτελεί γενικώς μία προσέγγιση που οδηγεί σε ικανοποιητικά αποτελέσματα σχετικά με τη μέση διπολική ροπή του μορίου του νερού στην υγρή κατάσταση, η οποία λόγω φαινομένων πολώσεως παρουσιάζεται διαφορετική αυτής της αερίου φάσεως. Γενικά, οι διάφορες γωνίες μεταξύ των ατόμων ενός μορίου υπό μελέτη προσαρμόζονται, ως προς την πειραματική τιμή, έτσι ώστε να οδηγούν σε αποδεκτά αποτελέσματα και συγκρίσιμα με τα πειραματικά κάποιων ιδιοτήτων του μορίου, όπως π.χ. η διπολική ροπή αυτού κ.τ.λ... Κατά αυτό τον τρόπο, και

στην περίπτωση του μορίου του ύδατος, για τις διαφαινόμενες ανάγκες του μοντέλου η γωνία H – O – H λαμβάνεται ίση με 109.42 μοίρες, τιμή η οποία διαφέρει ελαφρώς από την αντίστοιχη πειραματική του μορίου του ύδατος στην αέριο φάση.

Στην περίπτωση του μορίου της αιθανόλης, το πρότυπο δυναμικό αλληλεπίδρασης που χρησιμοποιήθηκε, όπως αναφέραμε και ανωτέρω, είναι αυτό που προτάθηκε από τον Jorgensen W.L.[86] και τους συνεργάτες του τύπου OPLS (Optimized Potentials for Liquid Simulations). Σε αυτό το δυναμικό, η αιθανόλη προσεγγίζεται μέσω τεσσάρων κέντρων αλληλεπίδρασης, τα οποία ταυτίζονται στο άτομο του άνθρακα του μεθυλίου, του μεθυλενίου, του οξυγόνου και, τέλος, στο άτομο του υδρογόνου. Στα ίδια άτομα εντοπίζονται τα φορτία της κατανομής οι τιμές των οποίων οδηγούν σε ικανοποιητική προσέγγιση και αναπαράσταση της διπολικής ροπής του υγρού.

Καθ' όλη την διάρκεια της μοριακής δυναμικής προσομοίωσης του μίγματος τόσο το μόριο του νερού όσο και της αιθανόλης εθεωρήθησαν ως άκαμπτα μόρια, σε αντίθεση με το μόριο της AngII το οποίο θεωρήθηκε ως εύκαμπτο σύστημα.

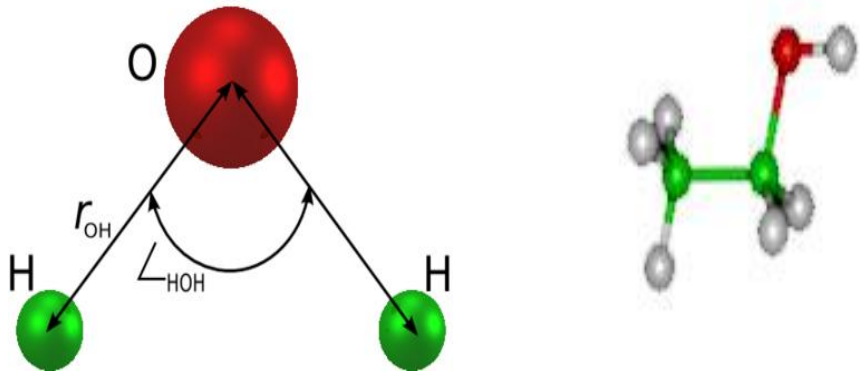
Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά του μορίου του νερού καθώς και της αιθανόλης που ελήφθησαν υπόψη στα δυναμικά αυτών, καθώς και οι διάφοροι παράμετροι τους παρουσιάζονται στους Πίνακες 5.1 και 5.2. Στο Σχήμα 5.1 φαίνονται σχηματικά τα πρότυπα μόρια του νερού και της αιθανόλης.

Πίνακας 5.1 *Παράμετροι των εμπειρικών δυναμικών προτύπων SPC & OPLS για το νερό και την αιθανόλη που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία.*

H_2O (Μοντέλο SPC)	**σ(nm)**	**ε(KJ/mol)**	**q(e)**
H	0.000	0.000	0.424
O	0.3166	0.650	-0.848
EtOH (Μοντέλο OPLS)			
Me	0.3905	0.732	0.000
CH_2	0.3905	0.494	0.265
OE	0.3070	0.711	-0.700
HE	0.000	0.000	0.435

Πίνακας 5.2 *Γεωμετρικά χαρακτηριστικά των δύο προτύπων.*

EtOH (Μοντέλο OPLS)		**H_2O (Μοντέλο SPC)**	
<CCO (deg)	108	**<HOH (deg)**	109.47
<COH (deg)	108.5	**r_{OH}(nm)**	0.10
$r_{(CH3)(CH2)}$(nm)	0.153		
$r_{(CH2)O}$(nm)	0.143		
r_{OH}(nm)	0.094		



Σχήμα 5.1 *Ενδομοριακή γεωμετρία προτύπων μορίων H_2O για το μοντέλο SPC και EtOH για το μοντέλο OPLS.*

5.3 Λεπτομέρειες για τις προσομοιώσεις

Όπως αναφέρθηκε και στην Εισαγωγή, ο απώτερος σκοπός της παρούσας μελέτης, επικεντρώνεται στη μελέτη της δομής και δυναμικής του μορίου της Αγγειοτενσίνης ΙΙ σε καθαρό νερό αλλά και σε μείγμα Νερού/Αιθανόλης 65% - 35% (v/v) για τέσσερεις διαφορετικές θερμοκρασίες όπως 278, 298, 310 και 323 K και σε πίεση 1atm. Είναι απαραίτητο στο σημείο αυτό να εκθέσουμε τα διάφορα στάδια και τη μεθοδολογία – πρωτόκολλο που χρησιμοποιήσαμε για την εκτέλεση των διαφόρων MD προσομοιώσεων των συστημάτων και στη συνέχεια τον υπολογισμό των διαφόρων ιδιοτήτων του ενδιαφέροντός μας.

Συγκεκριμένα, αναφέρουμε τα εξής. Για την πραγματοποίηση της μελέτης αυτής, εκτελέστηκαν τόσο δοκιμαστικές (υπό μορφή ελέγχου) όσο και τελικές προσομοιώσεις Μοριακής Δυναμικής και για δύο συστήματα στο Κανονικό Στατιστικό Μηχανικό Σύνολο (NVT).

Σύστημα AngII/Νερό: στην συγκεκριμένη περίπτωση, η βασική κυψελίδα προσομοίωσης περιείχε 2125 μόρια νερού και το μόριο του πεπτιδίου το οποίο τοποθετήθηκε καταλλήλως στο κέντρο της κυψελίδας προσομοίωσης χρησιμοποιώντας κυβικές περιοδικές οριακές συνθήκες.

Σύστημα AngII/Νερό – Αιθανόλη: στην συγκεκριμένη περίπτωση, η βασική κυψελίδα περιείχε 632 μόρια νερού και 338 αιθανόλης με το μόριο του πεπτιδίου τοποθετημένο καταλλήλως στο κέντρο της κυψελίδας προσομοίωσης χρησιμοποιώντας κυβικές περιοδικές οριακές συνθήκες.

Και στις δύο περιπτώσεις, η βασική κυψελίδα προσομοίωσης με τα μόρια προς προσομοίωση κατασκευάστηκε έτσι ώστε να αντιστοιχεί σε πυκνότητα ταυτόσημη με αυτές από πειραματικά δεδομένα για τις αντίστοιχες συνθήκες.

Οι συνθήκες για την κάθε κατάσταση παρουσιάζονται στον Πίνακα 5.3.

Οι διάφορες διαμοριακές αλληλεπιδράσεις, όπως αναφέραμε στην προηγούμενη παράγραφο, είναι προσθετικές τύπου Lennard – Jones και ηλεκτροστατικές Coulomb. Στην περίπτωση ανόμοιων πλευρικών αλληλεπιδράσεων από διαφορετικά μόρια χρησιμοποιήσαμε τους κανόνες Lorentz – Berthelot προκειμένου να καθορίσουμε τις διάφορες παραμέτρους των δυναμικών.

Το πρωτόκολλο εκτελέσεως της μοριακής δυναμικής προσομοίωσης κάθε συστήματος περιείχε τρία συγκεκριμένα στάδια. Στο πρώτο στάδιο, μέσω ειδικού προγράμματος (l-bfgs) από το πρόγραμμα GROMACS 4.0 και με εφαρμογή του καθώς και μίας σειράς διαφόρων διαμορφώσεων της AngII πραγματοποιήθηκε η διαδικασία της ελαχιστοποίησης της ενέργειας αυτού η οποία οδήγησε σε μία χαρακτηριστική εσωτερική διαμόρφωση του μορίου. Στο δεύτερο στάδιο, ο κάθε ένας διαλύτης (Νερό, Νερό – Αιθανόλη) προσομοιώθηκαν χωρίς το πεπτίδιο και το κάθε ένα σύστημα οδηγήθηκε σε θερμοδυναμική ισορροπία. Οι τελικές μικροαπεικονίσεις που παρήχθησαν μέσω αυτής της διαδικασίας χρησιμοποιήθηκαν στο τρίτο και τελικό στάδιο της προσομοίωσης ως εξής. Στο τρίτο στάδιο, η τελική μικροαπεικόνιση του διαλύτη που παρήχθη από το δεύτερο στάδιο χρησιμοποιήθηκε ως αρχική απεικόνιση στην οποία προσετέθη στο κέντρο αυτής το πεπτίδιο με την τελική διαμόρφωσή του από το πρώτο στάδιο. Η προσθαφαίρεση κάποιων μορίων του διαλύτη από την περιοχή του χώρου τοποθέτησης του βιολογικού μορίου είχε ως αποτέλεσμα την διατήρηση της πυκνότητας του μίγματος. Στην συνέχεια, το κάθε ένα με τον τρόπο αυτό διαμορφούμενο σύστημα προσομοιώθηκε για τουλάχιστον 500 ps έως ότου αποκατασταθεί θερμοδυναμική ισορροπία αυτού. Από το σημείο αυτό και ακολούθως ξεκίνησε μία MD προσομοίωση της τάξεως 2 ns για κάθε θερμοκρασία από την οποία παρήχθησαν κάθε φύσεως μοριακές τροχιές (phase space) του συστήματος. Με βάση το χώρο φάσεων κατά την διάρκεια της προσομοίωσης θερμοδυναμικής ισορροπίας των 2 ns υπολογίστηκαν μέσω ειδικών υποπρογραμμάτων του GROMACS οι δομικές και δυναμικές ιδιότητες ενδιαφέροντος του εκάστου συστήματος. Οι εξισώσεις κίνησης που ελήφθησαν υπόψη στις προσομοιώσεις ολοκληρώθηκαν χρησιμοποιώντας προσεγγιστική αλγοριθμική διαδικασία τύπου leapfrog με χρονικό βήμα ολοκλήρωσης 1 fs (10^{-15} s) ενώ αυτές που αντιστοιχούν στις ενδομοριακές κινήσεις διαχειρίστηκαν με τη μέθοδο LINCS. Επίσης, σε κάθε προσομοίωση χρησιμοποιήθηκε, η τεχνική θερμοστάτισης τύπου Berendsen και με χρόνο χαλάρωσης 5 ps. Επιπρόσθετα, αναφέρουμε ότι όλες οι Lennard – Jones αλληλεπιδράσεις συνυπολογίστηκαν

εντός ακτίνας αποκοπής (cutoff) ίσης με 1.2 nm και ελήφθησαν υπόψη διορθώσεις από το σημείο αυτό θεωρητικά έως το άπειρο. Οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις υπολογίστηκαν με την τεχνική Ewald.

Πίνακας 5.3. *Βασική κυψελίδα προσομοίωσης των συστημάτων με τον αντίστοιχο αριθμό μορίων για τις επιλεγμένες θερμοδυναμικές καταστάσεις αυτών. Ο γραμμομορικός όγκος των συστημάτων υπολογίστηκε από πειραματικά δεδομένα πυκνότητας*[91,92,93].

Κατάσταση		**N(άτομα)**	**T(K)**	**V(nm^3)**
A_1	**AngII + H_2O**	1+2125	278 K	65.53
B_1	**AngII + H_2O**	1+2125	300 K	65.96
Γ_1	**AngII + H_2O**	1+2125	310 K	66.97
Δ_1	**AngII + H_2O**	1+2125	323K	62.69
A_2	**AngII + H_2O/EtOH**	1+632/338	278 K	49.229
B_2	**AngII + H_2O/EtOH**	1+632+338	300 K	49.836
Γ_2	**AngII + H_2O/EtOH**	1+632+338	310 K	51.474
Δ_2	**AngII + H_2O/EtOH**	1+632+338	323K	52.104

Όπως αναφέραμε και προηγουμένως στην παρούσα εργασία, η αρχική γεωμετρία της Αγγειοτενσίνης ΙΙ λαμβάνεται από πειραματικά δεδομένα της εργασία των Spyroulias et al[94] που συμπεριλαμβάνεται στο Protein Data Bank.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

6 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΟΣΟΜΟΙΩΣΕΩΝ

6.1 Αγγειοτενσίνη ΙΙ σε υδατικό διάλυμα

Σε αυτό το μέρος του Κεφαλαίου 6 θα εστιάσουμε στη σύγκριση της συμπεριφοράς του πεπτιδίου σε υδατικό διάλυμα για διάφορες θερμοκρασίες όπως: 278, 298, 310 και 323K. Οι χαρακτηριστικές διαμορφώσεις – απεικονίσεις της κύριας αλυσίδας (backbone) του πεπτιδίου για τις τέσσερεις θερμοδυναμικές καταστάσεις του συστήματος που προβλέπονται μέσω της προσομοίωσης παρουσιάζονται και συζητούνται στην παράγραφο 6.1.8.

6.1.1 Βασικές Μακροσκοπικές Θερμοδυναμικές ιδιότητες

Η Αγγειοτενσίνη ΙΙ προσομοιώθηκε σε καθαρό νερό και για τις θερμοδυναμικές καταστάσεις A_1, B_1, Γ_1, και Δ_1 που παραθέτουμε στον Πίνακα 6.1. Οι διάφορες τεχνικές λεπτομέρειες και γενικές πληροφορίες σχετικά με την προσομοίωση παρουσιάζονται στο Κεφάλαιο 5, §5.3. Διάφορα θερμοδυναμικά μεγέθη του συστήματος υπολογίστηκαν όπως π.χ. η μέση δυναμική ενέργεια *U/mole*, η πίεση *P*, η θερμοκρασία *T*, η συνολική ενέργεια του συστήματος $E_{ολ}$*/mole*, όπου $E_{ολ} = E_{KIN} + U$, κ.τ.λ.. Η δυναμική ενέργεια περιέχει δύο όρους, ο πρώτος με τις ενέργειες των δεσμικών ενδομοριακών αλληλεπιδράσεων και ο δεύτερος με τις ενέργειες μη δεσμικών αλληλεπιδράσεων όπως οι ενέργειες Lennard – Jones και Coulomb. Μερικά από αυτά τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.2.

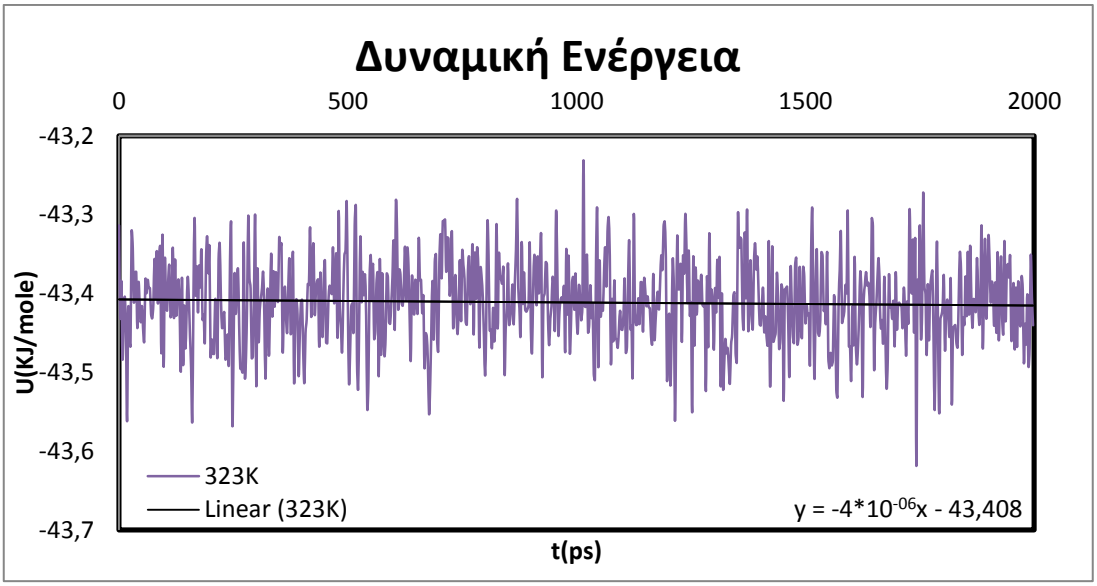
Πίνακας 6.1 *Θερμοδυναμικές καταστάσεις του συστήματος Αγγειοτενσίνης ΙΙ σε υδατικό περιβάλλον. Οι τιμές των πυκνοτήτων είναι οι αντίστοιχες από πειραματικές εργασίες*[91,92,93]

Κατάσταση	T(K)	P(bar)	ρ(g/cm^3)
A_1	278	1.01325	1.000834
B_1	298	1.01325	0.997957
Γ_1	310	1.01325	0.994364
Δ_1	323	1.01325	0.989121

Πίνακας 6.2 *Θερμοδυναμικά αποτελέσματα από την MD προσομοίωση του συστήματος Ang II/Νερό για τις τέσσερεις θερμοδυναμικές καταστάσεις. Η αναλογία των μορίων στο διάλυμα είναι AngII/Νερό = 1/2125.*

Ιδιότητα	A_1		B_1		Γ_1		Δ_1	
	Μέση Τιμή	**Διακύμανση**	**Μέση Τιμή**	**Διακύμανση**	**Μέση Τιμή**	**Διακύμανση**	**Μέση Τιμή**	**Διακύμανση**
U(KJ/mole)*	-43.584	0.226	-42.325	0.138	-44.194	0.141	-43.411	0.146
$E_{\omega\lambda}$(KJ/mole)*	-36.488	0.158	-34.668	0.167	-36.285	0.171	-35.170	0.178
T (K)	278.150	3.432	300.150	3.695	310.000	3.812	323.000	4.007
P (bar)	-58.715	267.479	102.612	269.915	135.215	301.246	63.167	302.925

* Η Συστηματική Απόκλιση (Drift) των υπολογισμένων μέσων τιμών των ιδιοτήτων είναι της τάξεως ~0.003.



Σχήμα 6.1 *Χρονική εξάρτηση της δυναμικής ενέργειας του προσομοιωμένου συστήματος για T = 323K.*

Στο Σχήμα 6.1 παρουσιάζεται η γραφική παράσταση της Δυναμικής Ενέργειας του συστήματος συναρτήσει του χρόνου προσομοίωσης. Συγκεκριμένα, οι διάφορες τιμές αυτής καταγράφονται ανά διάστημα 2500 βημάτων προσομοίωσης ή ανά 2.5 ps. Η ευθεία γραμμή σε αυτό παριστά τη μέση τιμή, η οποία είναι περίπου -43.4 KJ/mole και η οποία, όπως παρατηρούμε από το σχήμα, παραμένει σταθερή και παράλληλη ως τον άξονα του χρόνου. Η ευθεία αυτή έχει εκτιμηθεί μέσω μίας γραμμικής συναρτήσεως y = αx+β, η οποία έχει προσαρμοστεί στα αποτελέσματα. Στην συγκεκριμένη περίπτωση η κλίση είναι $\alpha = -4 \cdot 10^{-6}$ και το $\beta = -43.4$, από όπου παρατηρούμε σχεδόν παραλληλία με τον άξονα του χρόνου προσομοίωσης λόγω της πάρα πολύ μικρής κλίσεως α. Παρόμοια Σχήματα και συμπεριφορά της μέσης δυναμικής ενέργειας του συστήματος παρατηρείται και για τις άλλες καταστάσεις που έχουν προσομοιωθεί, οι οποίες δεν παρουσιάζονται γραφικά.

Από τα παραπάνω δεδομένα είναι εμφανές ότι σε όλες τις καταστάσεις η υπολογισμένη μέση ενέργεια τους κυμαίνεται γύρω από μία τιμή με μικρές διακυμάνσεις από αυτή και παρουσιάζει σημαντικά μικρή αλλά αποδεκτή απόκλιση για τέτοιου είδους υπολογισμών στο παράθυρο χρόνου της προσομοίωσης και εντός θερμοδυναμικής ισορροπίας. Αυτό το γεγονός μας υποδεικνύει ότι το προσομοιωμένο σύστημα έχει οδηγηθεί επιτυχώς σε θερμοδυναμική ισορροπία. Επιπλέον, οι υπολογισμένες μέσες τιμές της δυναμικής ενέργειας του συστήματος για τις εν λόγω καταστάσεις βρίσκονται αρκετά πλησίον αυτών του καθαρού νερού όπως φαίνεται από τα αποτελέσματα εργασιών MD προσομοίωσης του νερού για παρόμοιες καταστάσεις.

Τέλος, από τον Πίνακα 6.2 φαίνεται, επιπλέον, ότι η μέση τιμή της δυναμική ενέργεια του συστήματος δεν μεταβάλλεται συστηματικά σε αυτό το θερμοκρασιακό εύρος.

6.1.2 Γυροσκοπική ακτίνα (Radius of Gyration) R_g

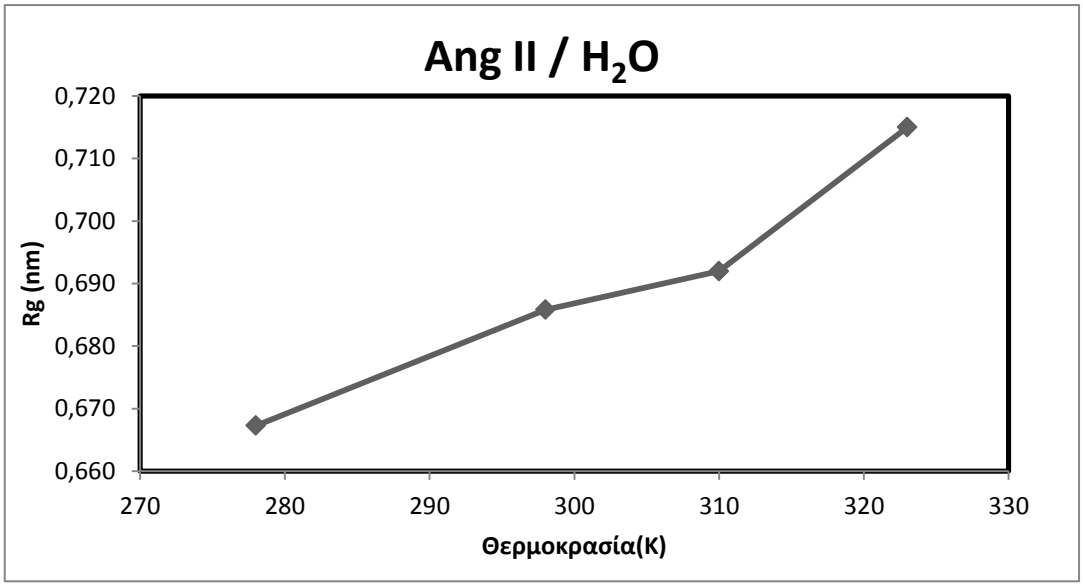
Η γυροσκοπική ακτίνα R_g, όπως αναφέραμε στην παράγραφο 1.5.1, ορίζεται από τη μέση απόσταση των ατόμων της πρωτεΐνης από το κέντρο μάζας της (βλ. σχέση (1.24)). Γενικά, όταν ένα μακρομοριακό σύστημα βρεθεί σε περιβάλλον διαλύτη εξαιτίας των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων και λόγω της ευκαμψίας του, το μέσο μέγεθός του παρουσιάζει αυξομειώσεις. Ένα μέτρο αυτών των αυξομειώσεων του μέσου μεγέθους του μορίου αποδίδεται με τη γυροσκοπική ακτίνα, η οποία μας δίνει μία εικόνα της έκτασης ή, αντιστοίχως, της συρρίκνωσης αυτού. Κατά συνέπεια, από τη μελέτη αυτής της ιδιότητας, μπορούμε να εξάγουμε συμπεράσματα για τη διαμόρφωση της πρωτεΐνης κάτω από ορισμένες συνθήκες του διαλύτη με κάποια ακρίβεια. Ο μηχανισμός της αναδίπλωσης της πρωτεΐνης έχει σχέση με την αναζήτηση του κατάλληλου χώρου από το μόριο έτσι ώστε να οδηγηθεί στην ενεργειακά σταθερότερη διαμόρφωση. Για την παρούσα εργασία, τα αποτελέσματα αυτής της ιδιότητας συνοψίζονται στον Πίνακα 6.3, όπου παρουσιάζονται οι μέσες τιμές της R_g στις διάφορες καταστάσεις που έχουν προσομοιωθεί. Οι μέσες τιμές είναι σε nm.

Πίνακας 6.3 *Μετρήσεις της γυροσκοπικής ακτίνας του μορίου της Αγγειοτενσίνης ΙΙ σε υδατικό διάλυμα για διάφορες καταστάσεις.*

R_g*(nm)*	A_1	B_1	Γ_1	Δ_1
Ang II	0.667	0.686	0.692	0.715

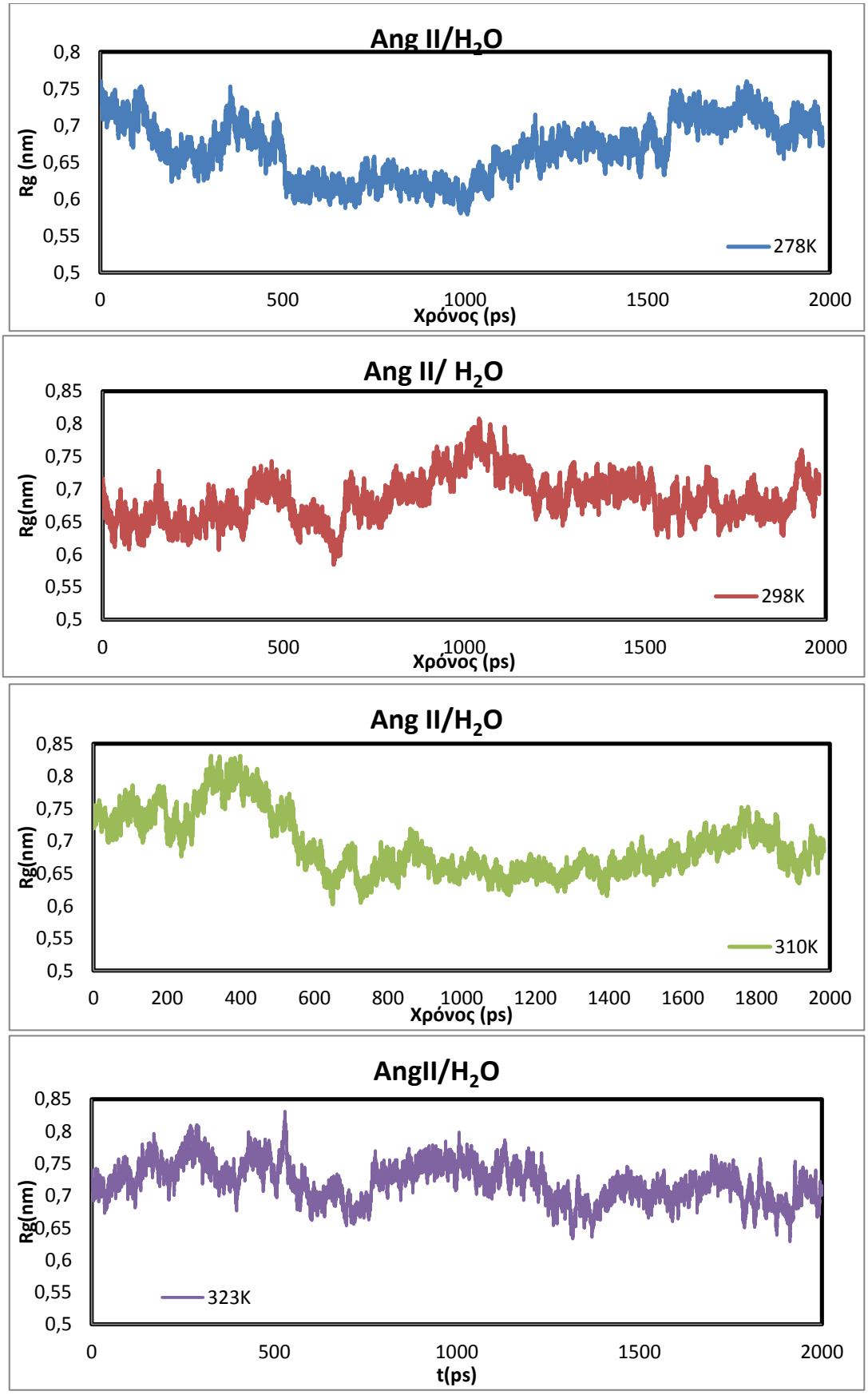
Η γυροσκοπική ακτίνα R_g της πρωτεΐνης συναρτήσει της θερμοκρασίας παρουσιάζεται στο Σχήμα 6.2, ενώ η χρονική εξάρτηση του μεγέθους αυτής δίνεται στο Σχήμα 6.3.

Από το Σχήμα 6.2, συμπεραίνουμε ότι υπάρχει μία μικρή αύξηση της έκτασης του μορίου όσο αυξάνεται η θερμοκρασία. Αυτό σημαίνει ότι η Αγγειοτενσίνη ΙΙ έχει την τάση να ξεδιπλώνεται ελαφρώς με την αύξηση της θερμοκρασίας.



Σχήμα 6.2 *Εξάρτηση γυροσκοπικής ακτίνας του μορίου της AngII από την θερμοκρασία σε υδατικό διάλυμα από την παρούσα εργασία.*

Συγκεκριμένα, από το Σχήμα 6.2 συμπεραίνουμε, επίσης, ότι η τάση της AngII για ξεδίπλωμα στο καθαρό νερό είναι μικρή της τάξεως του 0.5 Å στην περιοχή των θερμοκρασιών από 280 – 320 K.. Στο Σχήμα 6.3 παρουσιάζεται η γυροσκοπική ακτίνα της πρωτεΐνης για κάθε κατάσταση (A_1, B_1, Γ_1, Δ_1) ξεχωριστά ως προς τον χρόνο προσομοίωσης του συστήματος εντός θερμοδυναμικής ισορροπίας. Από τα γραφήματα αυτά είναι δυνατόν να παρατηρηθεί η χρονική εξάρτηση της διαμόρφωσης του μορίου της πρωτεΐνης για κάθε θερμοκρασία και να εξαχθούν συμπεράσματα επί του μεγέθους της χρονικής διαμόρφωσης της δομής του μορίου. Συγκεκριμένα, παρατηρούμε ότι η μέση δομή της πρωτεΐνης δεν έχει μεγάλες διακυμάνσεις στη διαμόρφωσή της σε όλες τις θερμοκρασίες που μελετάμε, γεγονός που μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι έχει υπεισέλθει ισορροπία στο σύστημα Ang II/Νερό και τα συστήματα βρίσκονται σε ελάχιστη ενεργειακή διαμόρφωση.

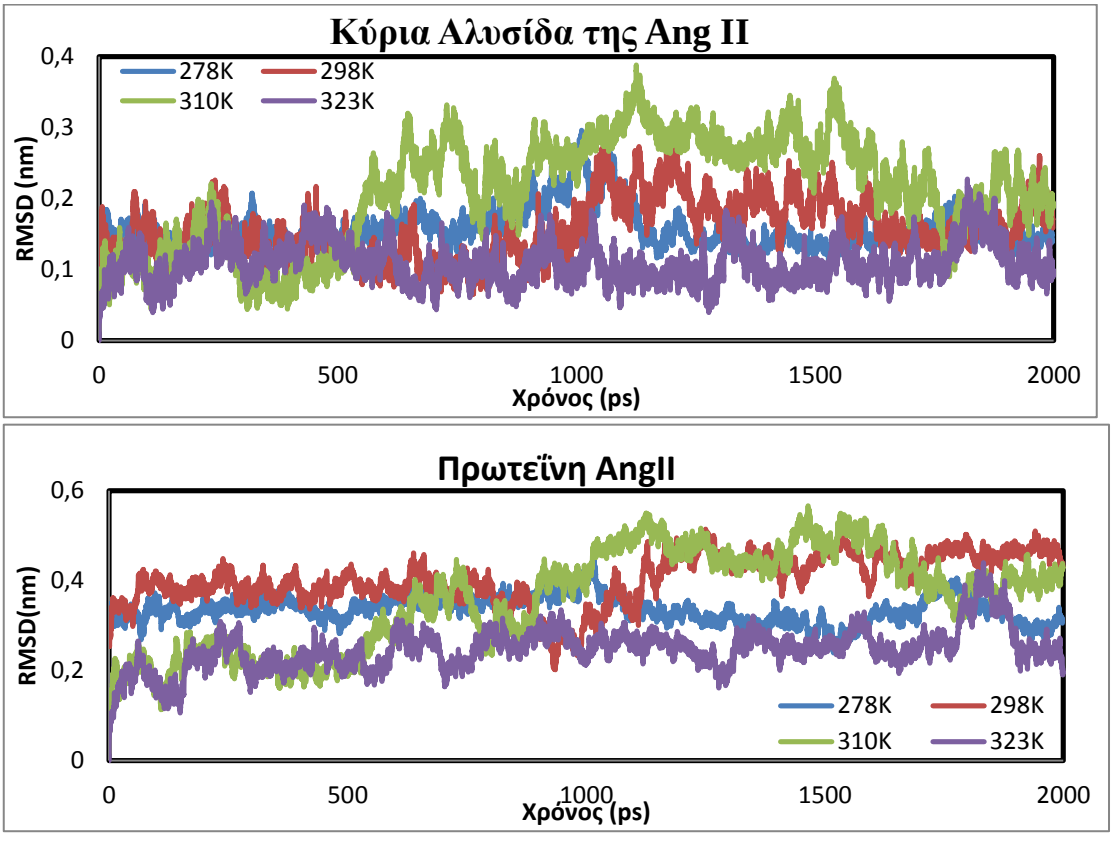


Σχήμα 6.3 *Χρονική εξάρτηση της γυροσκοπικής ακτίνας του μορίου της AngII σε υδατικό διάλυμα σε διάφορες θερμοκρασίες.*

6.1.3 Τετραγωνική ρίζα της Μέσης Απόκλισης της διαμόρφωσης της δομής της πρωτεΐνης (Root Mean Square Deviation, RMSD)

Στην παρούσα εργασία, όπως περιγράψαμε και στην παράγραφο 1.5.2, ως μέτρο της πρωτεϊνικής σταθερότητας και ελαστικότητας χρησιμοποιήθηκε η τετραγωνική ρίζα της μέσης απόκλισης (RMSD), η οποία αποτελεί αριθμητικό δείκτη της αλλαγής της διαμόρφωσης του μορίου σε σχέση με κάποια δομή αναφοράς, π.χ. την αρχική ή τη μέση δομή.

Συγκεκριμένα, η ιδιότητα RMSD υπολογίσθηκε για δύο περιπτώσεις: στην πρώτη περίπτωση το RMSD εκτιμήθηκε για τα άτομα της κύριας αλυσίδας της πρωτεΐνης, που χαρακτηρίζεται και ως σπονδυλική στήλη της πρωτεΐνης (backbone), ενώ στην δεύτερη περίπτωση έχουν ληφθεί υπόψη όλα τα άτομα που συνθέτουν την πρωτεΐνη θέτοντας ως αρχική δομή αυτής, τη μέση δομή που προκύπτει στο δεύτερο στάδιο της προσομοίωσης (εντός ισορροπίας) καθώς το σύστημα έχει οδηγηθεί σε θερμοδυναμική ισορροπία. Τα δύο αυτά διαφορετικά αποτελέσματα παρουσιάζονται στο Σχήμα 6.4 για διάφορες θερμοκρασίες.



Σχήμα 6.4 *Χρονική εξάρτηση του RMSD της κύριας αλυσίδας και ολόκληρου του μορίου της AngII σε υδατικό διάλυμα σε διάφορες θερμοκρασίες.Ως δομή αναφοράς έχει ληφθεί η μέση δομή που προκύπτει στο δεύτερο στάδιο της προσομοίωσης, καθώς το σύστημα έχει οδηγηθεί σε θερμοδυναμική ισορροπία.*

Από το Σχήμα 6.4, παρατηρούνται αλλαγές μικρής κλίμακας καθ' όλη τη διάρκεια του χρόνου της προσομοίωσης και στα δύο διαγράμματα, τόσο σε αυτό το οποίο αναφέρεται στην κύρια αλυσίδα της πρωτεΐνης αλλά και σε αυτό που αντιστοιχεί σε ολόκληρη την πρωτεΐνη. Τα δεδομένα αυτά υποδηλώνουν ότι δεν υπάρχουν μεγάλες αλλαγές στη διαμόρφωση της αρχικής δομής κατά τη διάρκεια της προσομοίωσης, ένα αποτέλεσμα το οποίο τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά βρίσκεται σε συμφωνία με αυτό που έχει εξαχθεί για την γυροσκοπική ακτίνα. Συγκεκριμένα, παρατηρούμε ότι η μέση τιμή του RMSD στις προσομοιώσεις για τα άτομα της κύριας αλυσίδας σε όλες τις θερμοκρασίες είναι ~0.1 nm ενώ η αντίστοιχη μέση τιμή αυτού του μεγέθους για όλα τα άτομα της πρωτεΐνης είναι ~0.3 nm, αποτελέσματα που θεωρούνται ικανοποιητικά σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία για την εκτίμηση τέτοιων ιδιοτήτων. Σε μία πιο λεπτομερή ανάλυση των αποτελεσμάτων, μπορούμε να αναφέρουμε ότι στις θερμοκρασίες των 298 και 310K, παρουσιάζεται κάποια αλλαγή στις διαμορφώσεις της δομής των αντίστοιχων αρχικών τους, με πιο έντονη να παρατηρείται στην περίπτωση για T=310K και για το παράθυρο χρόνου από τα 1000 – 1600 ps της προσομοίωσης και στη συνέχεια να σταθεροποιούνται ξανά. Γενικά, παρατηρούμε ότι τα άτομα της κύριας αλυσίδας της Ang II παρουσιάζουν διαμορφώσεις πλησιέστερα στην αρχική δομή από ότι η συνολική πρωτεΐνη, καθώς και το εύρος των διακυμάνσεων της απόκλισής τους να είναι ελαφρώς μικρότερο. Η τελευταία παρατήρηση οφείλεται στο γεγονός ότι στην περίπτωση της συνολικής πρωτεΐνης, η σημαντικότερη επίδραση παρουσιάζεται, όπως είναι φυσιολογικό, από τις πλευρικές ομάδες των αμινοξέων που είναι περισσότερο εύκαμπτες.

6.1.4 Συντελεστής Μεταφορικής Διάχυσης

Στην παράγραφο 1.6.2 παρουσιάζεται συνοπτική περιγραφή του φαινομένου της μεταφορικής διαχύσεως της μάζης των σωματιδίων σε ένα μοριακό σύστημα καθώς επίσης και η σχετική θεωρία, βάση της οποίας πραγματοποιείται ο υπολογισμός της ιδιότητας αυτής. Στην παρούσα εργασία οι διάφοροι υπολογισμοί και η εκτίμηση των συντελεστών της μεταφορικής Διάχυσης του μορίου του υδατικού διαλύματος έγιναν με βάση τη μέση τετραγωνική απομάκρυνση του κέντρου μάζης αυτού (**M**ean **S**quare **D**isplacement, MSD) μέσω της εξίσωσης του Einstein (βλ. Σχέση 1.35)

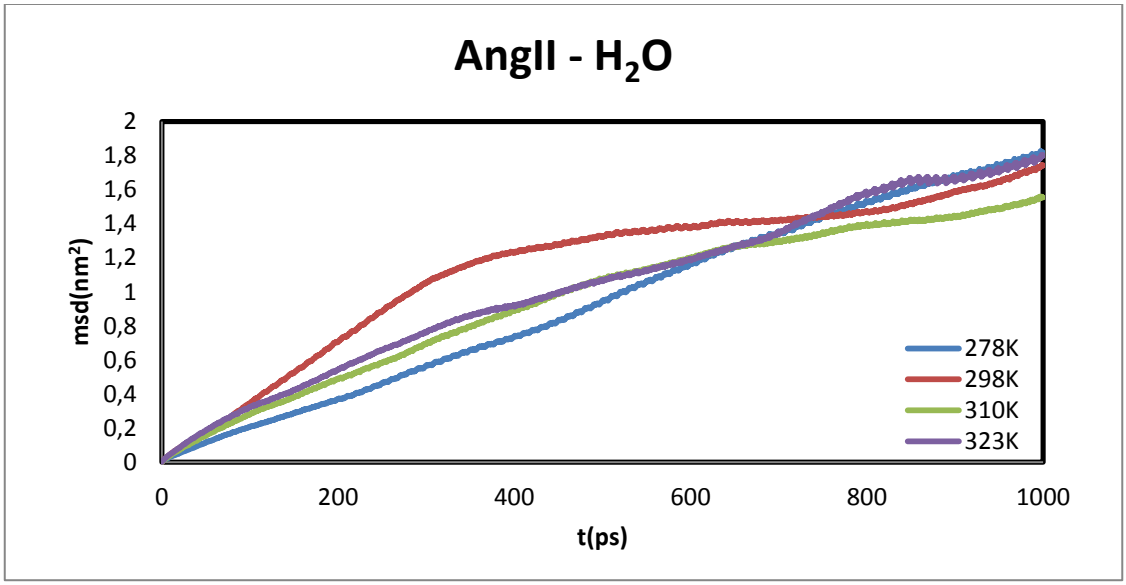
Συγκεκριμένα, στα συστήματα του μορίου Ang II σε υδατικό διάλυμα που μελετήθηκαν, ενδιαφέρον παρουσιάζει ο συντελεστής διάχυσης του κέντρου μάζας ολοκλήρου του μορίου της AngII, D_S^{AngII}, του κέντρου μάζης των διαφόρων αμινοξέων της πρωτεΐνης και, τέλος, του κέντρου μάζης των μορίων του διαλύτη (μόρια νερού). Στην τελευταία περίπτωση ενδιαφέρον παρουσιάζει η εύρεση του συντελεστή διαχύσεως των μορίων του νερού που βρίσκονται κλειστά – αρκετά πλησίον της πρωτεΐνης σε

αντιδιαστολή με τα μόρια αυτού που βρίσκονται στη δεύτερη και στη τρίτη σφαίρα επιδιαλύτωσης του μακρομορίου, τα οποία προφανώς θα διαχέονται εντός του συστήματος παρομοίως με τα μόρια του καθαρού ύδατος στην ίδια θερμοδυναμική κατάσταση.

Τα αποτελέσματα των συντελεστών διάχυσης από τις προσομοιώσεις της παρούσας εργασίας για την AngII σε υδατικό διάλυμα εκτίθενται γραφικά στο Σχήμα 6.5 και συνοψίζονται στον Πίνακα 6.4.

Πίνακας 6.4 *Μετρήσεις του συντελεστή μεταφορικής διάχυσης του μορίου της AngII σε υδατικό διάλυμα για διάφορες θερμοκρασίες.*

	A_1	B_1	Γ_1	Δ_1
D ($x10^{-5}$ cm^2s^{-1})	1.90	2.10	1.80	2.00



Σχήμα 6.5 *Σύγκριση των μέσων τετραγωνικών απομακρύνσεων (MSD) του κέντρου μάζας του μορίου της AngII σε υδατικό διάλυμα για διάφορες θερμοκρασίες από την παρούσα εργασία.*

Στο Σχήμα 6.5, οι τιμές του MSD υπολογίστηκαν διαδοχικά ανά 100 βήματα προσομοίωσης. Η εκτίμηση, δε, του συντελεστή διαχύσεως έγινε για το διάστημα 0–1000 ps. Οι υπολογίσιμες τιμές του συντελεστή διαχύσεως για το μόριο της Ang II συνοψίζονται στον Πίνακα 6.4.

Τα αποτελέσματα του συντελεστή διάχυσης της πρωτεΐνης που προκύπτουν για τις διάφορες θερμοκρασίες που μελετήθηκαν, δεν μας δίνουν με τη πρώτη ματιά ασφαλή συμπεράσματα για αυτήν την ιδιότητα. Όμως, εάν παρατηρήσουμε το Σχήμα 6.5, θα διαπιστώσουμε ότι ενώ το msd για τις θερμοκρασίες 278 και 323K είναι κατά μεγάλη προσέγγιση γραμμικό, στις άλλες δύο θερμοκρασίες φαίνονται περισσότερες από μία κλίσεις. Αυτό οφείλεται στην αλλαγή της διαμόρφωσης που παρατηρήθηκε και από την

ιδιότητα RMSD και είναι μία πολύ σημαντική διαπίστωση για την ολοκληρωμένη μελέτη της δομής αυτής της πρωτεΐνης. Επιπρόσθετα, παρατηρείται ότι ο συντελεστής διάχυσης του μορίου της πρωτεΐνης δεν μεταβάλλεται συστηματικά συναρτήσει της θερμοκρασίας και οι τιμές του είναι μικρότερες, όπως και αναμένεται, από την διάχυση του μορίου του καθαρού νερού (~ 2.6 10^{-5} cm^2/s).

6.1.5 Πλησιέστερη Προσιτή Επιφάνεια Μακρομορίου από τα μόρια του διαλύτη (Solvent Accessible Surface, SAS)

Στο μέρος αυτό της εργασίας παρουσιάζεται η μελέτη της πλησιέστερης προσβάσιμης επιφάνειας της πρωτεΐνης από τα μόρια του διαλύτη. Αυτή η ιδιότητα θα αναφέρεται συνοπτικά με το ακρωνύμιο SAS, όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Η περιγραφή της ιδιότητας αυτής και η σημασία της για την συμπεριφορά της πρωτεΐνης σε κάποιον επιλεγμένο διαλύτη ή μίγμα διαλυτών αναφέρεται στην παράγραφο 1.5.3. Συγκεκριμένα, οι μεταβολές που παρουσιάζονται στην προσβάσιμη επιφάνεια των αμινοξέων της πρωτεΐνης από τα μόρια του διαλύτη συναρτήσει της θερμοκρασίας παρουσιάζουν επιστημονικό ενδιαφέρον. Με αυτήν την ιδιότητα έχουμε τη δυνατότητα διερεύνησης της προσβάσιμης επιφάνειας της πρωτεΐνης ή μέρος αυτής από το διαλυτη καθώς και την ταυτοποίηση της σε υδρόφιλη και υδρόφοβη περιοχή. Στον Πίνακα 6.5, παρατίθονται οι τιμές για την ολική προσβάσιμη επιφάνεια SAS της AngII στις διάφορες θερμοκρασίες που μελετήθηκαν καθώς επίσης και ο διαχωρισμός της σε υδρόφοβη και υδρόφιλη περιοχή.

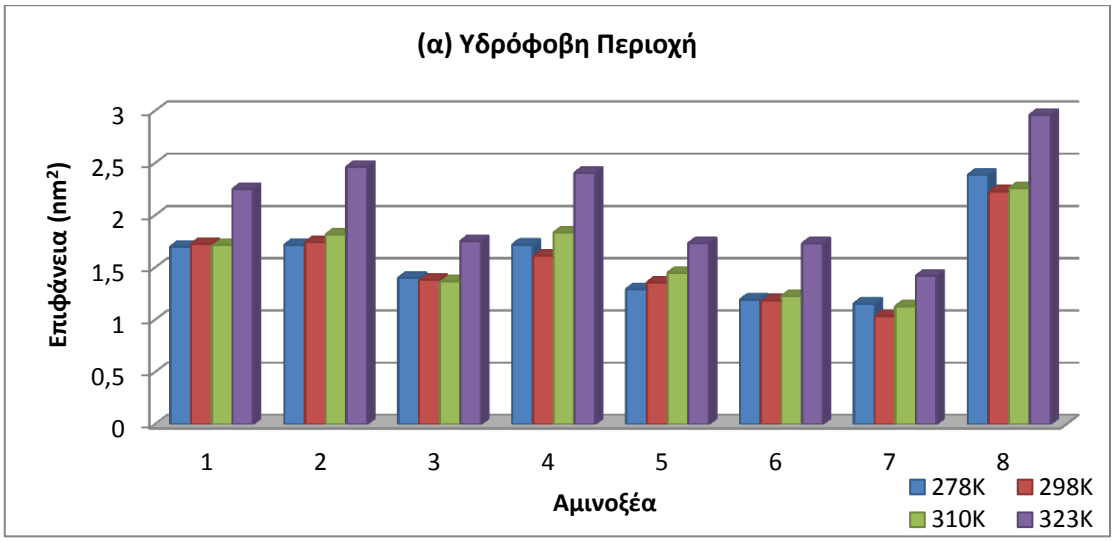
Πίνακας 6.5 *Μετρήσεις για την προσβάσιμη προσιτή επιφάνεια SAS καθώς και για τα υδρόφιλα και υδρόφοβα τμήματα του μορίου της AngII σε υδατικό διάλυμα.*

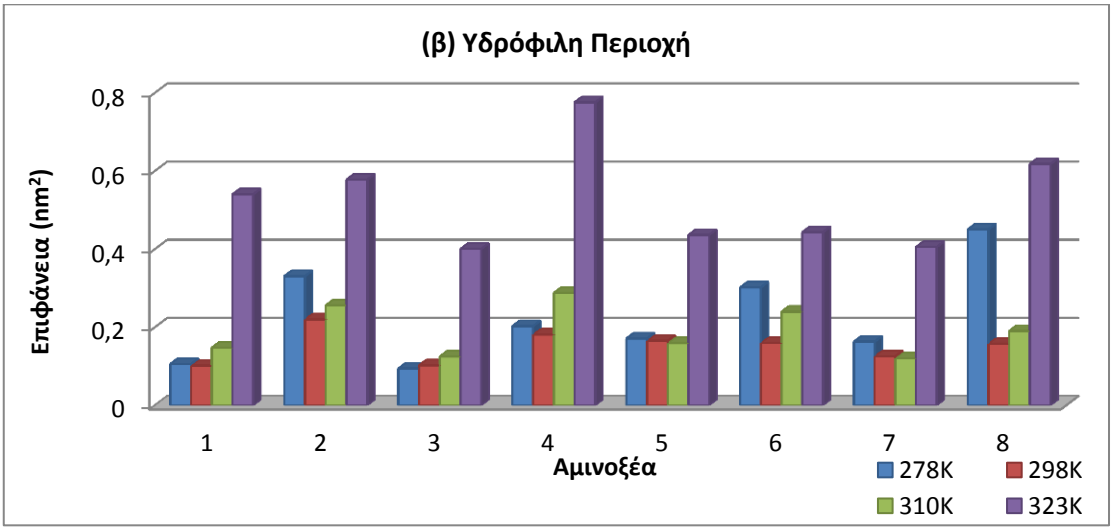
SAS (nm^2)	A_1	B_1	Γ_1	Δ_1
Ολική επιφάνεια	14.396	13.494	14.340	20.929
Υδρόφοβη επιφάνεια	12.575	12.279	12.813	16.731
Υδρόφιλη επιφάνεια	1.821	1.214	1.527	4.198

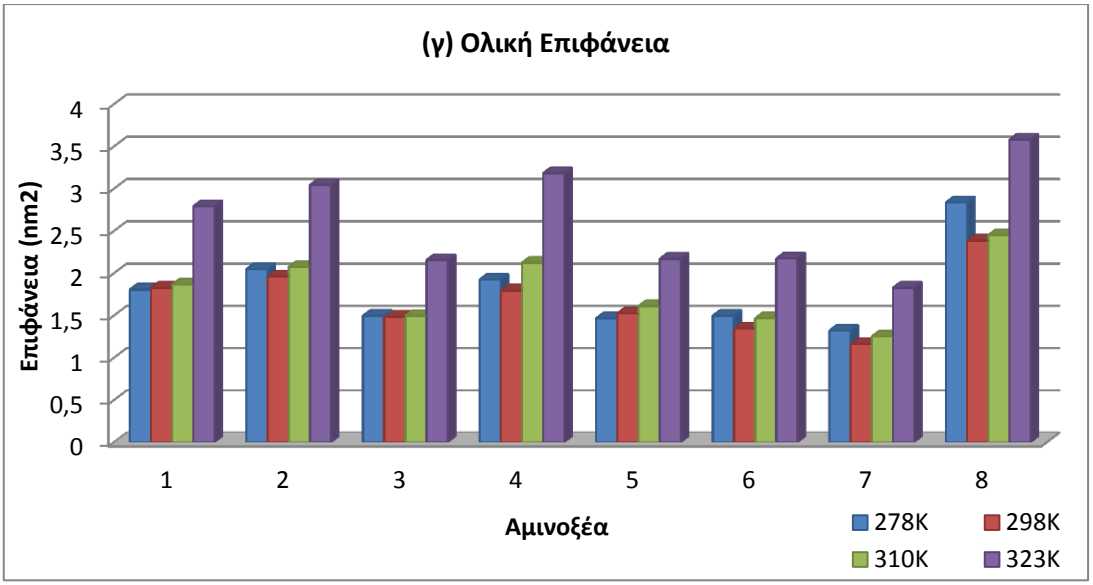
Από τα δεδομένα του Πίνακα 6.5, μπορούμε να εξάγουμε μερικές χρήσιμες πληροφορίες που αφορούν τη επιδιαλύτωση της AngII συναρτήσει της θερμοκρασίας από τα μόρια του διαλύτη. Τέτοιες πληροφορίες μπορούν να μας οδηγήσουν σε συμπεράσματα σχετικά με την επίδραση των μορίων του διαλύτη στην αναδίπλωση (folding) του μακρομορίου εξαιτίας των αλληλεπιδράσεων μεταξύ αυτών. Συγκεκριμένα, από τα δεδομένα αυτά διαφαίνεται ότι για τις τρεις θερμοκρασίες 278, 298 και 310 K η προσβάσιμη επιφάνεια SAS του μορίου για τα μόρια του διαλύτη παραμένει σχεδόν αμετάβλητη ενώ παρουσιάζει μία ραγδαία αύξηση για την υψηλότερη θερμοκρασία των

323K. Αυτή η συμπεριφορά έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα που παρουσιάσαμε για την γυροσκοπική ακτίνα R_g, όπου παρουσιάζεται μία αντίστοιχη σημαντική μεταβολή του ξεδιπλώματος του μορίου στους 323K. Τελικά, από τις τιμές του τμήματος της SAS που αντιστοιχεί στο υδρόφοβο και στο υδρόφιλο μέρος της πρωτεΐνης παρατηρούμε τα εξής: Σε κάθε θερμοκρασία, το υδρόφοβο μέρος της SAS είναι συστηματικά μεγαλύτερο του αντιστοίχου υδρόφιλου με αντίστοιχα ποσοστά 6.905, 10.114, 8.391, 3.985.

Στα διαγράμματα που ακολουθούν μέσω του Σχήματος 6.6 α, β, γ, παρουσιάζονται με τη μορφή ιστογραμμάτων τα αποτελέσματα λεπτομερούς ανάλυσης της υδρόφοβης, υδρόφιλης και της συνολικής επιφάνειας SAS του κάθε αμινοξέος χωριστά συναρτήσει της θερμοκρασίας μέσω διαφορετικών χρωμάτων. Οι αριθμοί 1 – 8 κατά σειρά αντιστοιχούν στα οκτώ αμινοξέα της AngII (Asp, Arg, Val, Tyr, Ile, His, Pro, Phe).







Σχήμα 6.6 *Σύγκριση της συμπεριφοράς των αμινοξέων του μορίου της AngII σε υδατικό διάλυμα σε διάφορες θερμοκρασίες. Τα διαγράμματα αναφέρονται στην (α) υδρόφοβη, (β) υδρόφιλη καθώς και (γ) στην συνολική επιφάνεια SAS της πρωτεΐνης. Στο σχήμα, με το 1 συμβολίζεται το αμινοξύ Asp, με το 2 το Arg κ.ο.κ.*

Από τα παραπάνω ιστογράμματα, μπορούμε εύκολα να διαπιστώνουμε ότι η προσβάσιμη προσιτή επιφάνεια των αμινοξέων της πρωτεΐνης είναι στο μεγαλύτερο τους μέρος υδρόφοβη. Αυτό έρχεται σε πλήρη συμφωνία με τα αποτελέσματα του Πίνακα 6.5, που μας δείχνουν ότι γενικά η προσβάσιμη επιφάνεια της πρωτεΐνης είναι και αυτή υδρόφοβη στο μεγαλύτερό της μέρος. Συγκεκριμένα, από το διάγραμμα του Σχήματος 6.6(α) που αναφέρεται στην υδρόφοβη επιφάνεια των αμινοξέων της πρωτεΐνης, διαπιστώνουμε ότι για τις τρεις θερμοκρασίες 278, 298, 310 K παρατηρούνται παρόμοιες τιμές ενώ υπάρχει αύξηση στην υδρόφοβη περιοχή όλων των αμινοξέων για T = 323K. Από αυτό το διάγραμμα, επιπλέον, φαίνεται ότι τα αμινοξέα 1, 2 και 4 που αντιστοιχούν στα Asp, Arg και Tyr, παρουσιάζουν παρόμοια συμπεριφορά σε όλες τις θερμοκρασίες, η δε αύξηση της υδρόφοβης επιφάνειας για την τέταρτη θερμοκρασία είναι της τάξεως ~0.6 nm^2. Επίσης, τα αμινοξέα 3, 5 και 6, που αντιστοιχούν στα Val, Ile και His, παρουσιάζουν αντίστοιχη συμπεριφορά συναρτήσει της θερμοκρασίας. Για τις τρεις πρώτες θερμοκρασίες η τιμή της υδρόφοβης περιοχής αυτών είναι της τάξεως ~1.2 nm^2 και για την τέταρτη αυξάνεται ελαφρώς κατά ~0.4 nm^2. Το λιγότερο υδρόφοβο αμινοξύ ευρέθει ότι είναι η Pro σε όλες τις θερμοκρασίες και με αύξηση της θερμοκρασίας αυξάνει κατά 0.3 nm^2. Τέλος, το περισσότερο υδρόφοβο αμινοξύ είναι η Phe για όλες τις θερμοκρασίες, στην οποία για τις θερμοκρασίες 278, 298, 310 K η υδρόφοβη περιοχή είναι ~2.2 nm^2 και αυξάνεται για T=323K σε ~2.8 nm^2.

Από την άλλη πλευρά, οι τιμές των υδρόφιλων περιοχών του πεπτιδίου σε όλα τα αμινοξέα και για όλες τις θερμοκρασίες, που ευρέθει να είναι χαμηλότερες από ότι αυτές

των υδρόφοβων, έχουν την τάση να αυξάνονται σημαντικά με την αύξηση της θερμοκρασίας. Μία πρώτη ποιοτική ερμηνεία του φαινομένου αυτού σχετίζεται, όπως είναι φυσιολογικό, με τη μερική έκταση του μορίου με την θερμοκρασία στο σύστημα, γεγονός που οδηγεί σε μεγαλύτερη προσβάσιμη επιφάνεια από τα μόρια του διαλύτη στην πρώτη σφαίρα επιδιαλύτωσης. Συγκεκριμένα, από το διάγραμμα 6.6(β) παρατηρούμε ότι τα αμινοξέα 1, 3, 5 και 7 που αντιστοιχούν στα Asp, Val, Ile και Pro, έχουν την ίδια συμπεριφορά στο υδατικό διάλυμα για τις τρεις πρώτες θερμοκρασίες και αυξάνεται ελαφρά η υδρόφιλη επιφάνεια τουςγια T = 323K. Επίσης, η Ile παρατηρείται να έχει τη μικρότερη υδρόφιλη επιφάνεια σε όλες τις θερμοκρασίες. Για τα αμινοξέα 2, 4, 6 και 8 που αντιστοιχούν στα Arg, Tyr, His και Phe, η υδρόφιλή τους επιφάνεια παρουσιάζει κάποιες αυξομειώσεις συναρτήσει της θερμοκρασίας. Το αμινοξύ με την περισσότερο υδρόφιλη επιφάνεια είναι η Tyr για T = 323K και η Phe για T = 310K. Στις άλλες δυο θερμοκρασίες οι υδρόφιλες περιοχές των αμινοξέων δεν παρουσιάζουν μεγάλες διακυμάνσεις.

Τέλος, από τη διερεύνηση του Σχήματος 6.6γ βγάζουμε τα εξής συμπεράσματα: Στην θερμοκρασία 323K αυξάνεται η συνολική προσβάσιμη επιφάνεια SAS σε όλα τα αμινοξέα, γεγονός που έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα του Πίνακα 6.5. Επίσης, το αμινοξύ με τη λιγότερη SAS επιφάνεια είναι η Pro για όλες τις θερμοκρασίες, ενώ με τη περισσότερη είναι η Phe.

6.1.6 Μέσες αποστάσεις μεταξύ χαρακτηριστικών ομάδων της Αγγειοτενσίνης ΙΙ

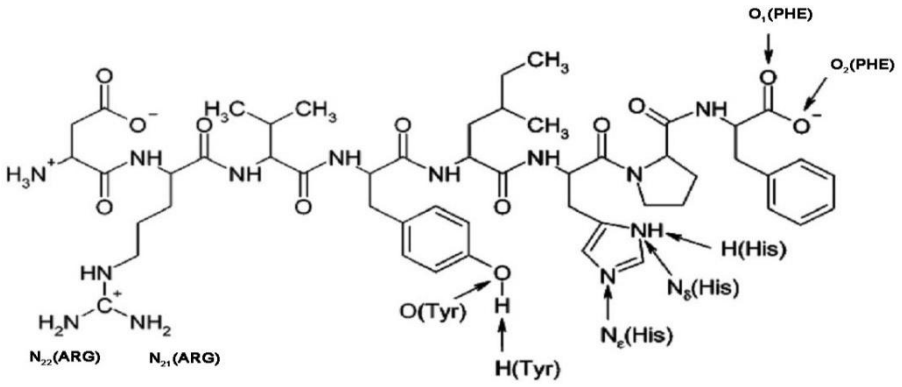
Με σκοπό την καλύτερη διερεύνηση της διαμόρφωσης της δομής του μορίου της Ang II, μελετήθηκαν οι μέσες αποστάσεις μεταξύ χαρακτηριστικών περιφερειακών ατόμων επί των αμινοξέων του πεπτιδίου οι οποίες θεωρούμε ότι συμβάλλουν περαιτέρω στην κατανόηση των διαμορφώσεων των πεπτιδίων συναρτήσει της θερμοκρασίας. Οι μέσες τιμές των αποστάσεων αυτών προέκυψαν στατιστικά από μία μεγάλη σειρά διαμορφώσεων του πεπτιδίου σε όλο το εύρος της προσομοίωσης και για κάθε θερμοκρασία. Συγκεκριμένα αναφέρουμε ότι οι αποστάσεις αυτές που μελετήθησαν είναι κατά σειρά οι εξής:

1. H(Tyr) – N_d(His)
2. N_e(His) – O_1(Phe)
3. H(Tyr) – N_{21}(Arg)
4. H(Tyr) – N_{22}(Arg)
5. N_d(His) – O_1(Phe)
6. N_d(His) – O_1(Phe)
7. H(Tyr) – N_e(His)

Τα διάφορα άτομα με τους χαρακτηριστικούς δείκτες τους επί των αμινοξέων του μορίου Ang II δηλώνονται στο Σχήμα 6.7 για την ευκολότερη κατανόηση και συζήτηση των αποτελεσμάτων. Στον Πίνακα 6.6 παρουσιάζονται οι μέσες αποστάσεις των επτά διαφορετικών χαρακτηριστικών ομάδων για τις τέσσερεις διαφορετικές καταστάσεις που μελετήθηκαν.

Πίνακας 6.6 *Μέσες αποστάσεις μεταξύ χαρακτηριστικών πλευρικών αλληλεπιδράσεων του μορίου της Ang II σε υδατικό διάλυμα για διάφορες θερμοκρασίες.*

d(nm)	$\mathbf{A_1}$	$\mathbf{B_1}$	$\mathbf{\Gamma_1}$	$\mathbf{\Delta_1}$
H(Tyr)-N_d(His)	0.674	0.617	1.034	0.594
N_E(His)-O_1(Phe)	1.385	0.782	0.937	0.931
H(Tyr)-N_{21}(Arg)	1.165	0.966	1.331	1.131
H(Tyr)-N_{22}(Arg)	1.280	0.967	1.318	1.098
N_d(His)-O_1(Phe)	0.977	0.846	0.611	0.952
N_d(His)-O_2(Phe)	0.983	0.855	0.616	0.978
H(Tyr)-N_E(His)	0.757	0.730	1.034	0.666



Σχήμα 6.7 *Μοριακή δομή του μορίου της Ang II και χαρακτηρισμός των ατόμων υπό μελέτη.*

Τα άτομα ή οι πλευρικές ομάδες αλληλεπίδρασης τα οποία λαμβάνονται υπόψη στη μελέτη αυτή βρίσκονται στις πλευρικές αλυσίδες των αμινοξέων και παρουσιάζουν μεγάλο ερευνητικό ενδιαφέρον διότι έρχονται σε άμεση επαφή με τα μόρια του διαλύτη. Μέσω αυτών των διατομικών αποστάσεων είναι δυνατόν να κατανοήσουμε την εσωτερική μεταβολή της δομής της Ang II στο υδατικό διάλυμα και να εξάγουμε συμπεράσματα σχετικά με το ερώτημα, ποια συγκεκριμένα μέρη ή άτομα από αυτές τις πλευρικές ομάδες του μορίου AngII πλησιάζουν ή απομακρύνονται μεταξύ τους σε ένα παράθυρο

πραγματικού χρόνου ανάπτυξης του μορίου, και ποια είναι η επίδραση διαφόρων παραγόντων όπως στην συγκεκριμένη περίπτωση η θερμοκρασία T στη διαμόρφωση του φαινομένου.

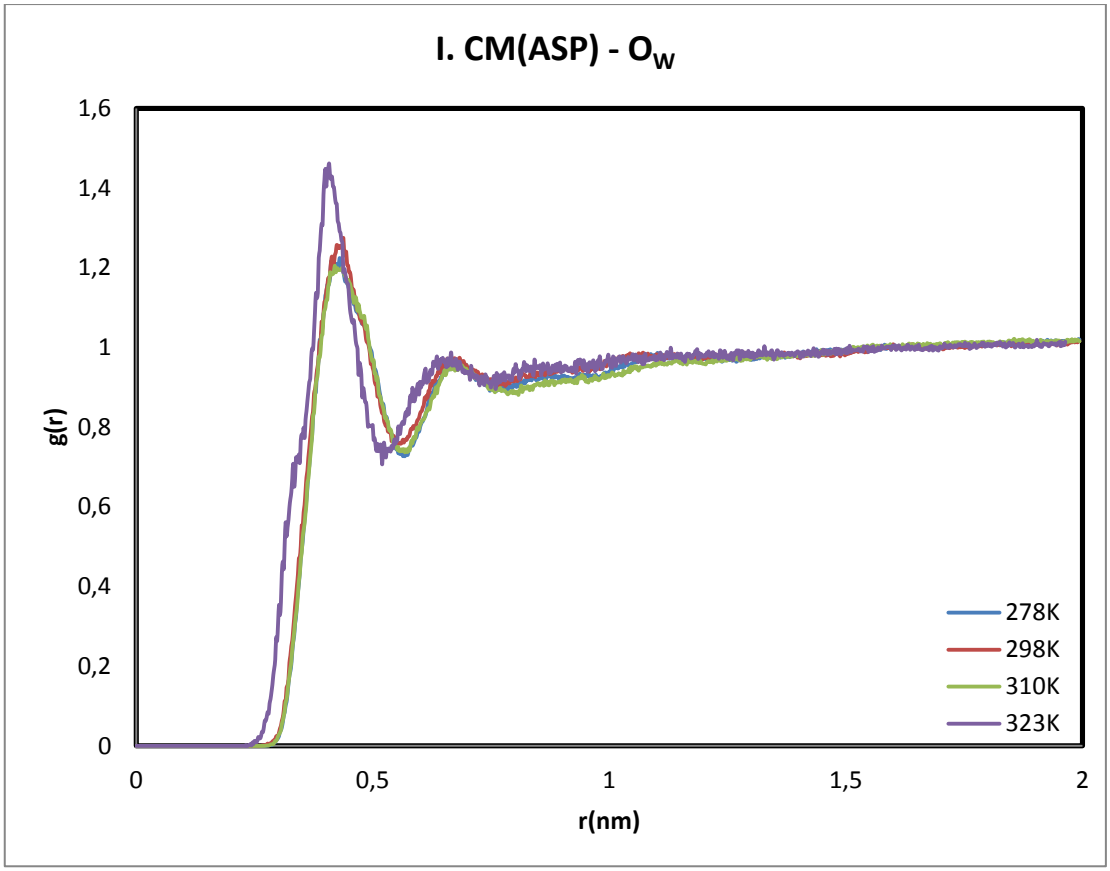
Από τη μελέτη των αποτελεσμάτων του Πίνακα 6.6 διαφαίνεται ότι με αύξηση της θερμοκρασίας η μέση τιμή της απόστασης του υδρογόνου της Tyr τόσο με το N_d όσο και με το N_ε της His αυξάνει σημαντικά στην θερμοκρασία των 310K, γεγονός που μας υποδεικνύει ότι το μόριο εκτείνεται στην περιοχή αυτή ενώ με περαιτέρω αύξηση της θερμοκρασίας στους 323K αναδιπλώνεται αρκετά. Από την άλλη πλευρά, φαίνεται ότι η μέση τιμή της απόστασης των N_E και N_d της His με το O_1 της Phe είναι μεγαλύτερη στους 278K ενώ για τις άλλες τρεις θερμοκρασίες φαίνεται ότι έχουν μία παρόμοια συμπεριφορά. Στην περίπτωση του H της Tyr με τα άζωτα της Arg παρατηρούμε μία παρόμοια μέση τιμή της απόστασης για όλες τις καταστάσεις που μελετάμε. Τελικά παρατηρούμε ότι τα αποτελέσματα αυτών των διαμοριακών αποστάσεων δεν παρουσιάζουν συστηματική συμπεριφορά με αύξηση της θερμοκρασίας σε αυτή τη στενή θερμοκρασιακή περιοχή που μελετάμε.

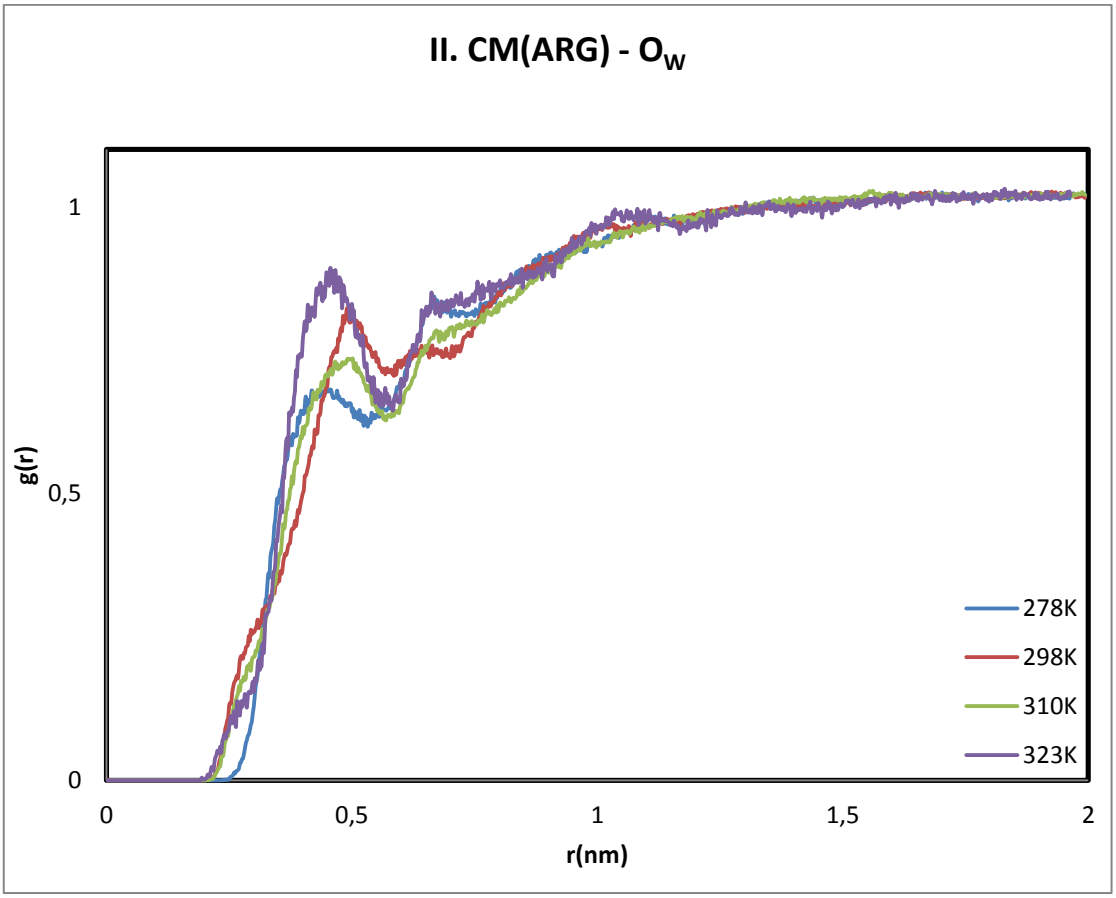
Τα αποτελέσματα αυτά στη συνέχεια θα συσχετιστούν με τα αντίστοιχα των μέσων απεικονίσεων της κύριας αλυσίδας και ολόκληρης της πρωτεΐνης στις διάφορες καταστάσεις που παρουσιάζονται στην §6.1.8.

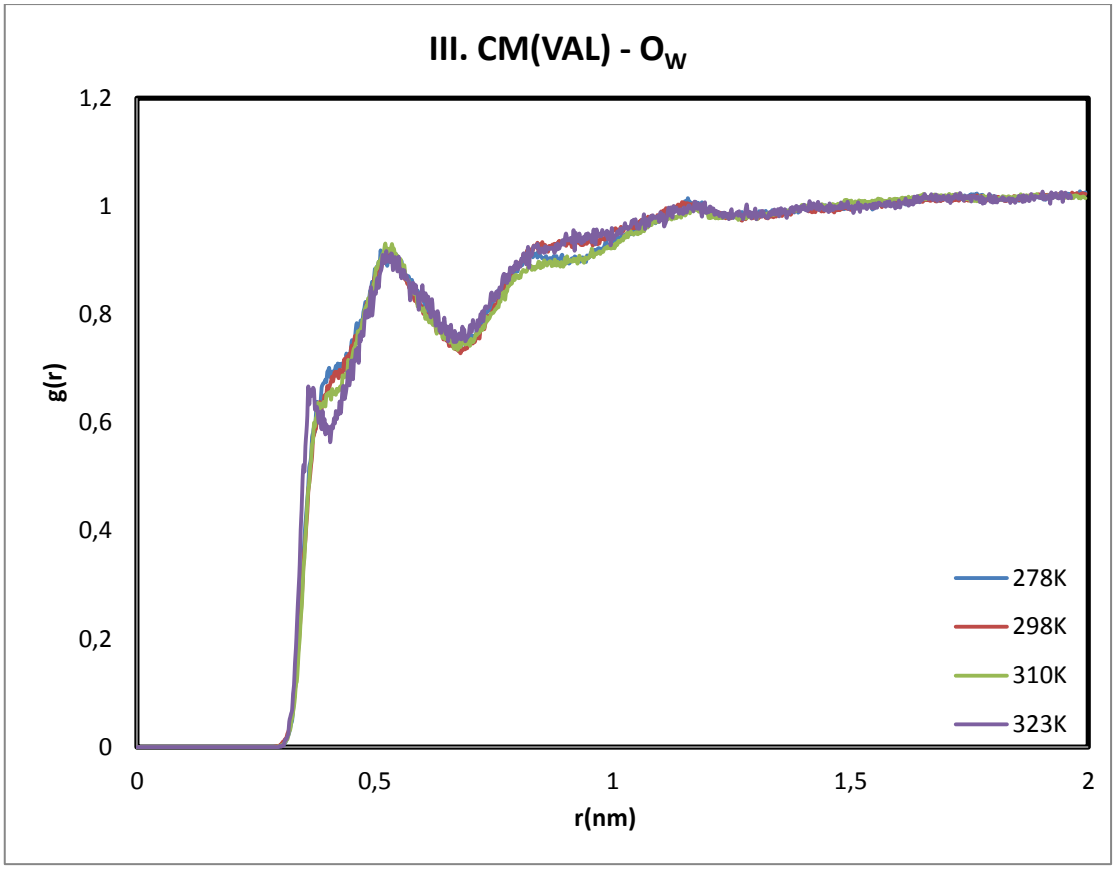
6.1.7 Ιδιότητες Μέσης Διαμοριακής Δομής

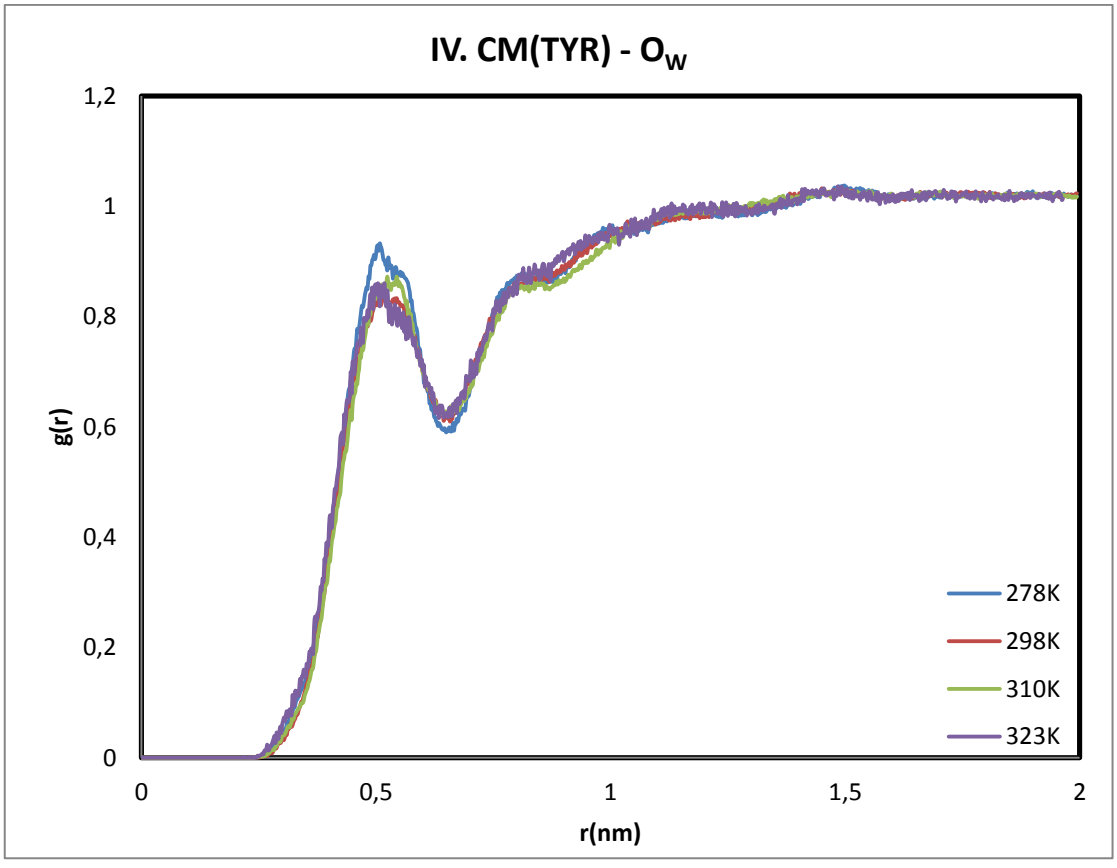
Η μέση διαμοριακή δομή του μοριακού συστήματος Ang II/H_2O μελετήθηκε μέσω των ακτινικών συναρτήσεων κατανομής g(r) (βλ.1.4). Συγκεκριμένα, εξετάστηκαν οι παρακάτω ακτινικές συναρτήσεις κατανομής μέσης διαμοριακής δομής που καθορίζονται από το κέντρο μάζης κάθε αμινοξέος του μορίου με το οξυγόνο, O_W, και το υδρογόνο, H_W, του διαλύτη. Εκτός των ανωτέρων, εξετάστηκαν συναρτήσεις αυτού του είδους για χαρακτηριστικά άτομα επί των αμινοξέων της πρωτεΐνης με το O_W, και το H_W του μορίου του διαλύτη. Συγκεκριμένα μελετήθηκαν τα άτομα N_{12} της Arg, το H_{11} της Arg, το H και το O της Tyr,το N_d της His και τα O_1 και O_2 της Phe.

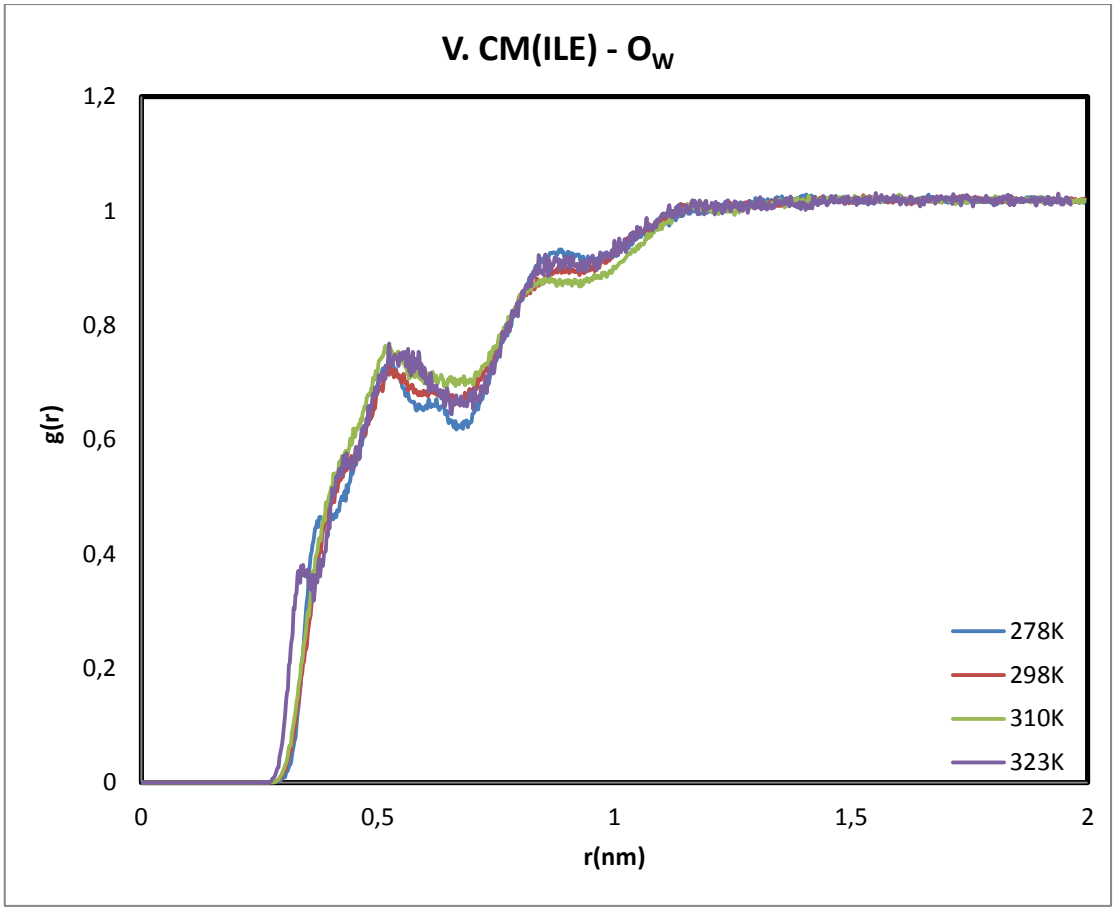
Στο Σχήμα 6.8 που ακολουθεί, παρουσιάζονται οι συναρτήσεις μέσης διαμοριακής δομής των κέντρων μάζης των αμινοξέων της Ang II με το O_W του νερού. Στη συνέχεια ακολουθεί ο Πίνακας 6.7 στον οποίο αναγράφονται τα χαρακτηριστικά (ένταση, θέση) αυτών των συναρτήσεων.

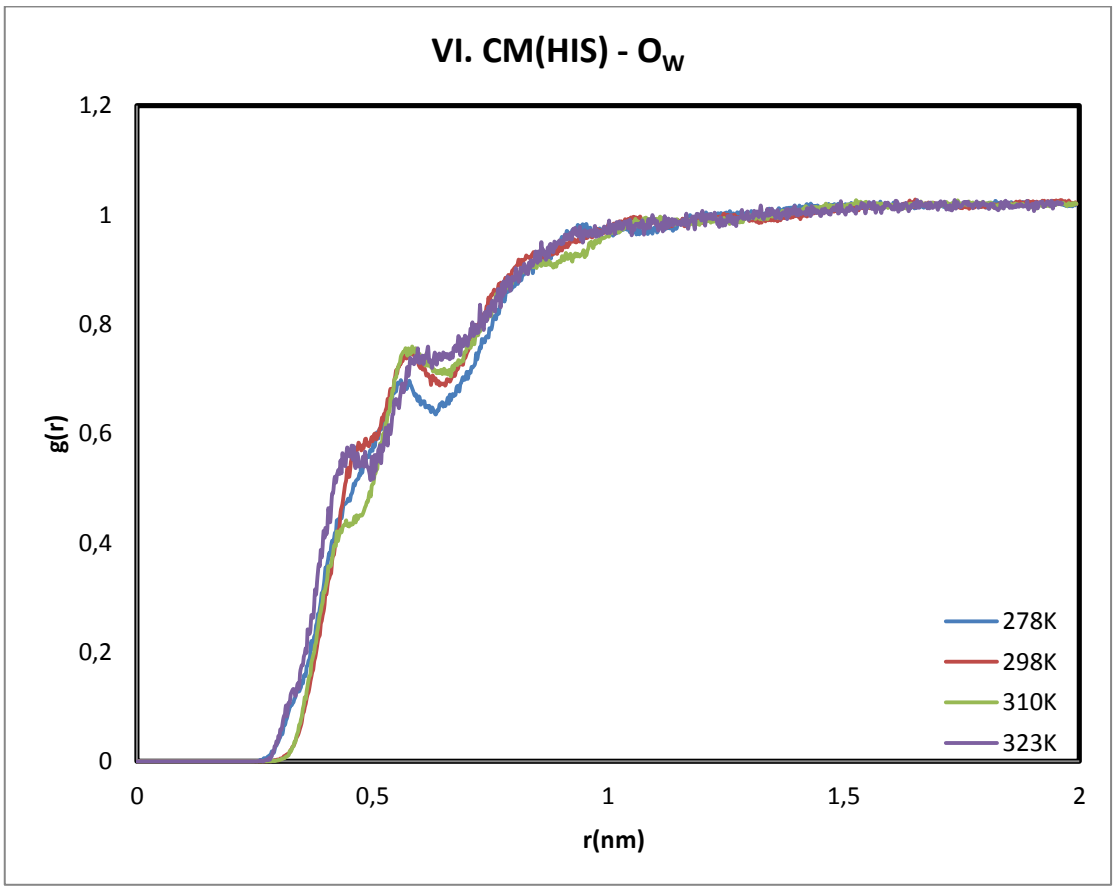

I. CM(ASP) - O_W
1,6
1,4
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K

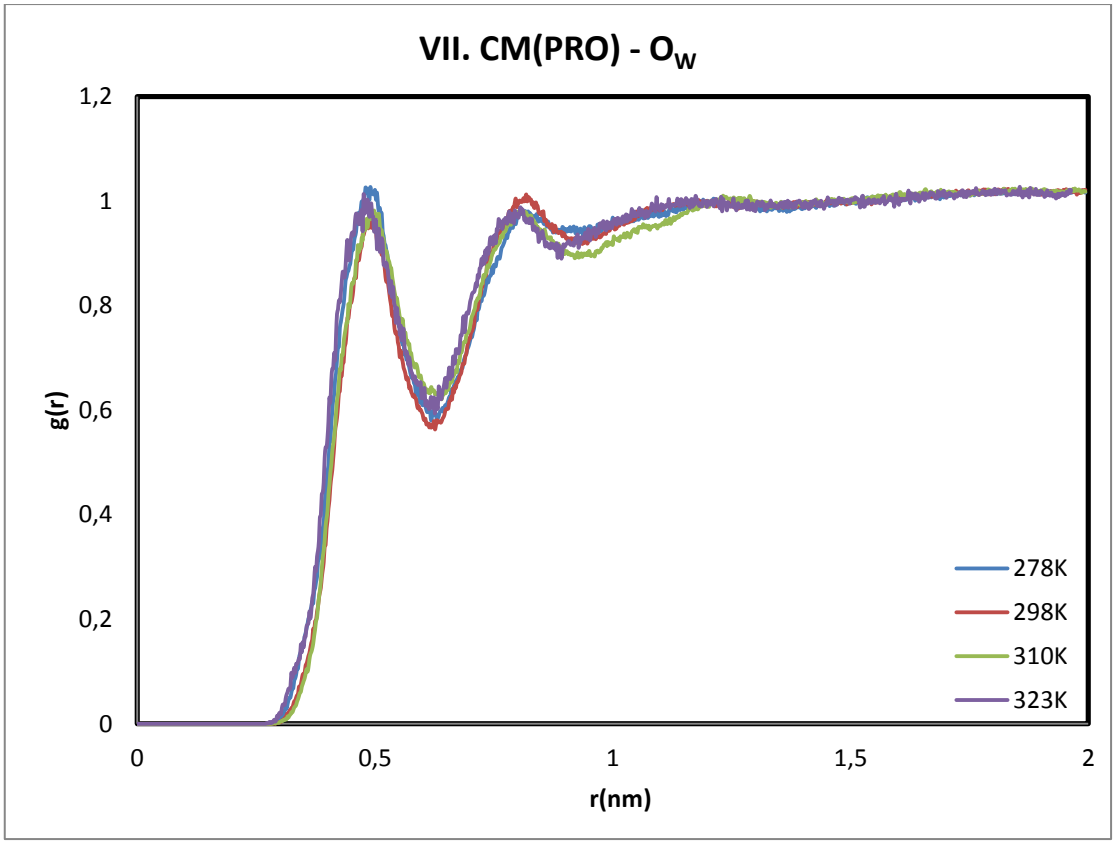

II. CM(ARG) - O_W
1
0,5
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K

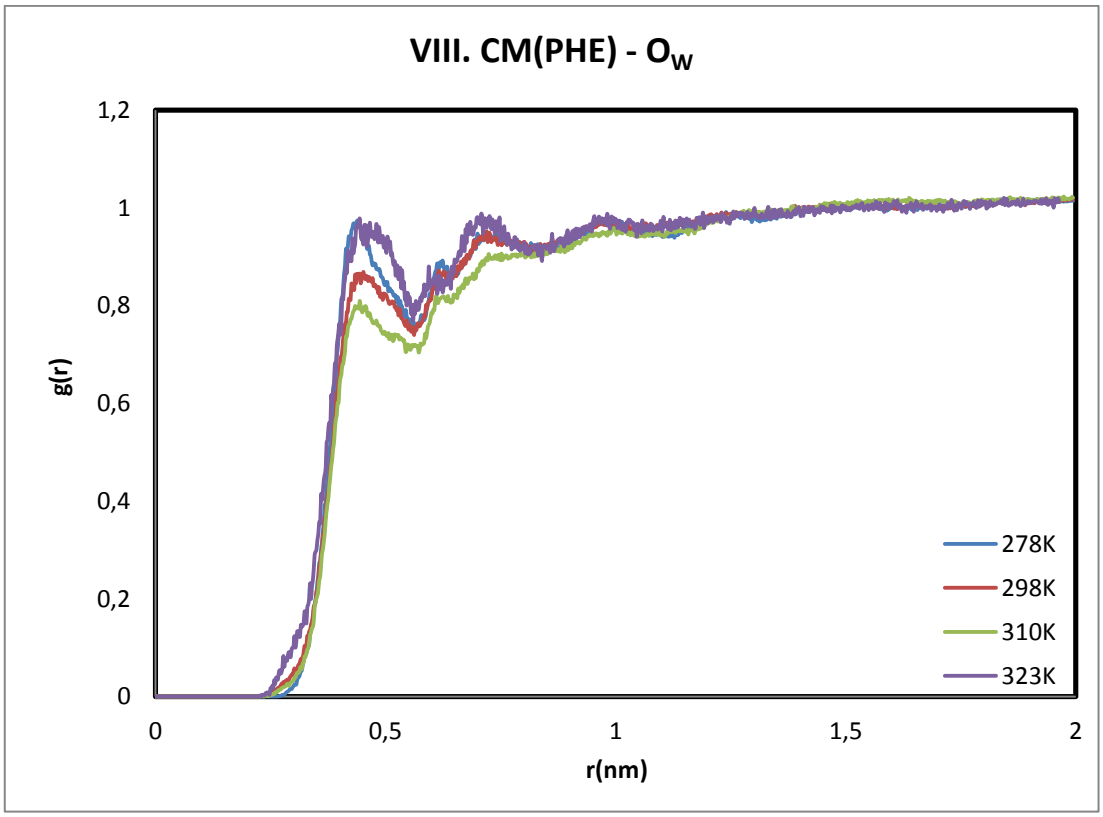

III. CM(VAL) - O_W
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K


IV. CM(TYR) - O_W
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K


V. CM(ILE) - O_W
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K


VI. CM(HIS) - O_W
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K





Σχήμα 6.8 *Σύγκριση της συμπεριφοράς των κέντρων μάζης των αμινοξέων του μορίου της AngII σε σχέση με τα άτομα του οξυγόνου του νερού για διάφορες θερμοκρασίες.*

Πίνακας 6.7 *Χαρακτηριστικά (ένταση, θέση) του πρώτου μεγίστου της συναρτήσεως κατανομής των κέντρων μάζης αμινοξέων του μορίου της AngII με το O_W του νερού για διάφορες θερμοκρασίες.*

	ASP		**ARG**		**VAL**		**TYR**	
	g(r)	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**
A_1	1.224	0.430	0.681	0.456	0.912	0.544	0.929	0.504
B_1	1.275	0.654	0.810	0.502	0.919	0.528	0.836	0.522
Γ_1	1.205	0.420	0.735	0.492	0.930	0.536	0.873	0.524
Δ_1	1.461	0.408	0.894	0.456	0.917	0.524	0.861	0.518
	ILE		**HIS**		**PRO**		**PHE**	
	g(r)	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**
A_1	0.733	0.528			1.027	0.490	0.974	0.440
B_1	0.721	0.532			0.961	0.490	0.865	0.438
Γ_1	0.764	0.516			0.980	0.492	0.810	0.444
Δ_1	0.768	0.524			0.996	0.492	0.978	0.444

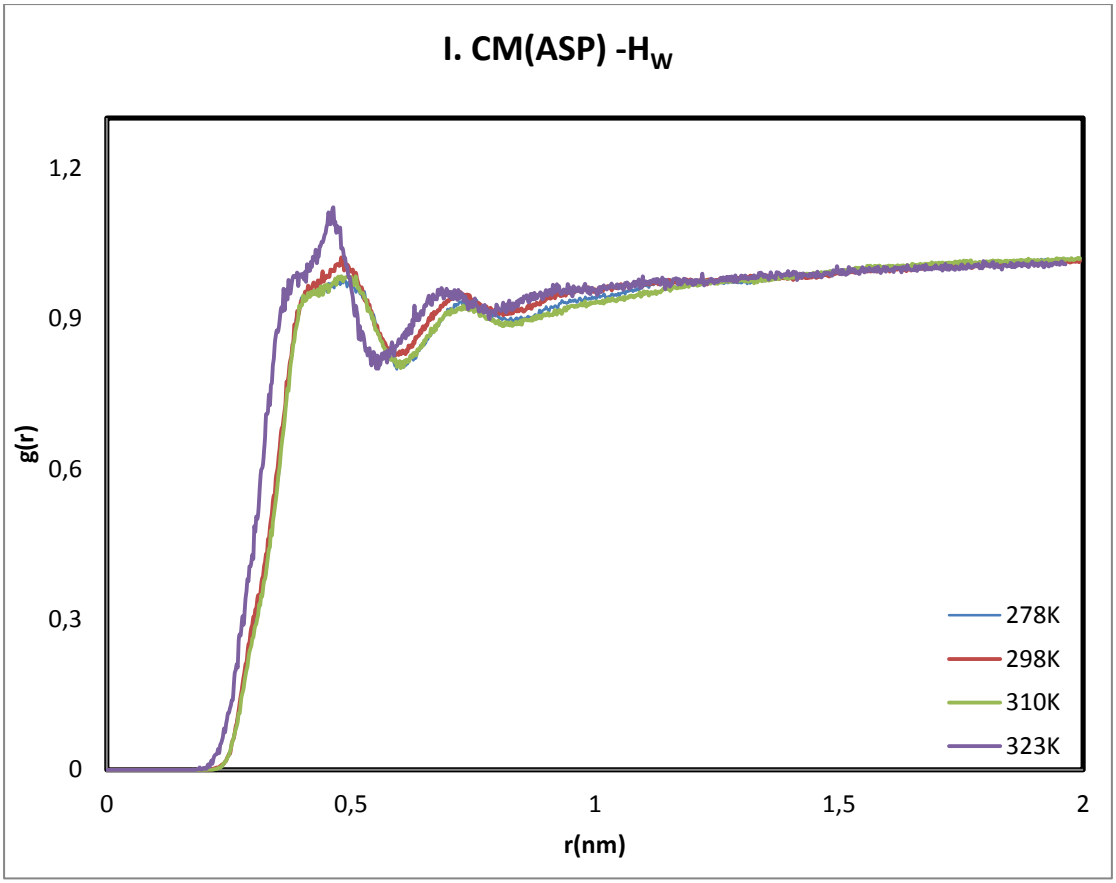
Από τις γραφικές παραστάσεις του Σχήματος 6.8 I – VIII και από τον Πίνακα 6.7 μέσω σύγκρισης των διαφόρων τιμών του πρώτου μεγίστου των συναρτήσεων g(r), συμπεραίνουμε τα ακόλουθα: Αρχικά, από τα γραφικά αυτών των συναρτήσεων παρατηρούμε ότι όλες οι συναρτήσεις g(r) και για κάθε κατάσταση, έκτος αυτών που αντιστοιχούν στο αμινοξύ Asp με το O_W, έχουν τιμές προ του πρώτου κυρίου μεγίστου μικρότερες από τη μονάδα και, όπως αναμένεται για μεγάλες αποστάσεις, συγκλίνουν στη μονάδα. Ένα αποτέλεσμα το οποίο βρίσκεται σε συμφωνία και με προηγούμενες εργασίες παρόμοιων συστημάτων σε διαλύτες. Στην περίπτωση του κέντρου μάζης της Asp, η τιμή του πρώτου μεγίστου της συναρτήσεως g(r) κυμαίνεται μεταξύ του 1.205 – 1.461 και με θέση εντοπισμού του μεγίστου από 0.420 – 0.438 nm, αντίστοιχα. Θα πρέπει να αναφερθεί στο σημείο αυτό, ότι οι θέσεις του μεγίστου της συναρτήσεως g(r) αυτού του αμινοξέος είναι οι μικρότερες που έχουν βρεθεί μεταξύ όλων των αμινοξέων γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι κατά μέσο όρο ενεργειακά το άτομο του οξυγόνου του μορίου του νερού βρίσκεται πλησιέστερα στο κέντρο μάζης της Asp από ότι στα υπόλοιπα αμινοξέα. Επιπλέον, από την ολοκλήρωση των εν λόγω συναρτήσεων g(r) μέχρι του πρώτου ελαχίστου αυτών παρατηρούμε ότι ο αριθμός των ατόμων (O_W) που περιβάλλουν κάθε αμινοξύ είναι διαφορετικός και μεγαλύτερος στην περίπτωση της Asp. Εάν υποθέσουμε, επιπλέον, ότι το οξυγόνο του μορίου του ύδατος βρίσκεται πολύ κοντά στο κέντρο μάζης του H_2O τότε το ίδιο συμπέρασμα εξάγεται αβίαστα και για το μέσο αριθμό επιδιαλύτωσης με τα μόρια του ύδατος γύρω από αυτά τα αμινοξέα.

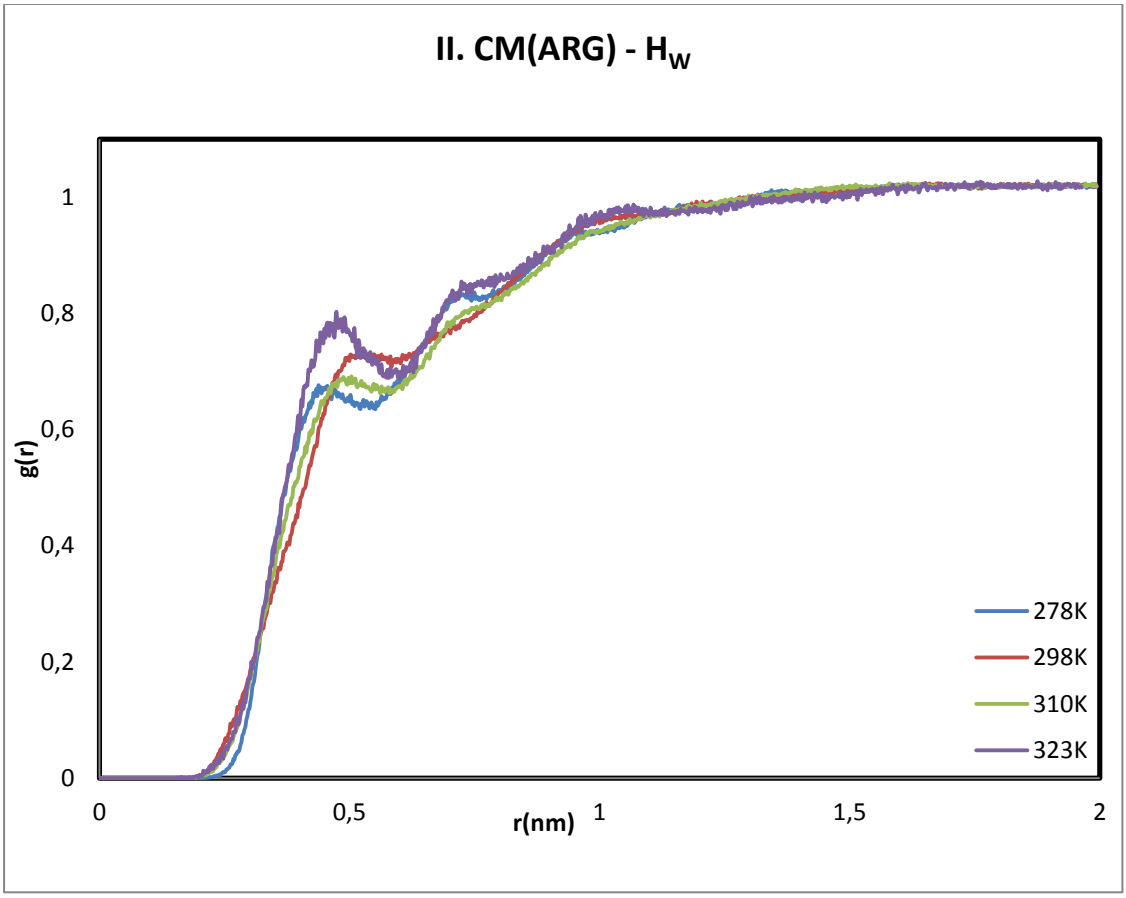
Στην περίπτωση του κέντρου μάζης της Phe, η τιμή του πρώτου μεγίστου της g(r) κυμαίνεται από 0.810 – 0.978 και η θέση εντοπισμού του μεγίστου στο διάστημα από 0.438 – 0.444 nm για όλες τις θερμοκρασίες. Αυτό το αμινοξύ είναι το επόμενο της πρωτεΐνης μετά από την Asp που το άτομο του O_W και κατά συνέπεια το μόριο του ύδατος έρχεται πλησιέστερα σε επαφή με αυτό. Σε αυτή την αλληλουχία μικροδομής των μορίων του ύδατος σε αποστάσεις επαφής με τα διάφορα αμινοξέα της πρωτεΐνης που μελετάμε, ευρέθει ότι ακολουθούν τα αμινοξέα Arg και Pro στα οποία παρατηρείται παρόμοια συμπεριφορά μεταξύ τους ως τις συναρτήσεις g(r). Συγκεκριμένα, η τιμή του πρώτου μεγίστου της g(r) και της θέσεως του μεγίστου κυμαίνεται για το καθένα από 0.681 – 0.894 και 0.456 – 0.502 nm και από 0.961 – 1.027 και 0.490 – 0.492 nm, αντίστοιχα. Με ολοκλήρωση των κορυφών αυτών παρατηρούμε ότι στην δεύτερη περίπτωση έχουμε μεγαλύτερο αριθμό ατόμων O_W πλησίον του κέντρου μάζης του. Στην συνέχεια, τα αμινοξέα Tyr και Ile παρουσιάζουν παρόμοια θέση του μεγίστου τους από 0.502 – 0.524 nm και 0.516 – 0.532 nm, αντίστοιχα. Παρατηρείται, όμως, ότι στην περίπτωση της Tyr η τιμής της g(r) είναι μεγαλύτερη και συγκεκριμένα από 0.836 - 0.929 ενώ στην περίπτωση της Ile η αντίστοιχη περιοχή τιμών είναι από 0.721 – 0.768 nm. Τέλος, το αμινοξύ που έχει τη μεγαλύτερη θέση εντοπισμού του μεγίστου του είναι η Val με τιμές από 0.524 – 0.544 και η τιμή της g(r) κυμαίνεται από 0.912 – 0.930 nm.

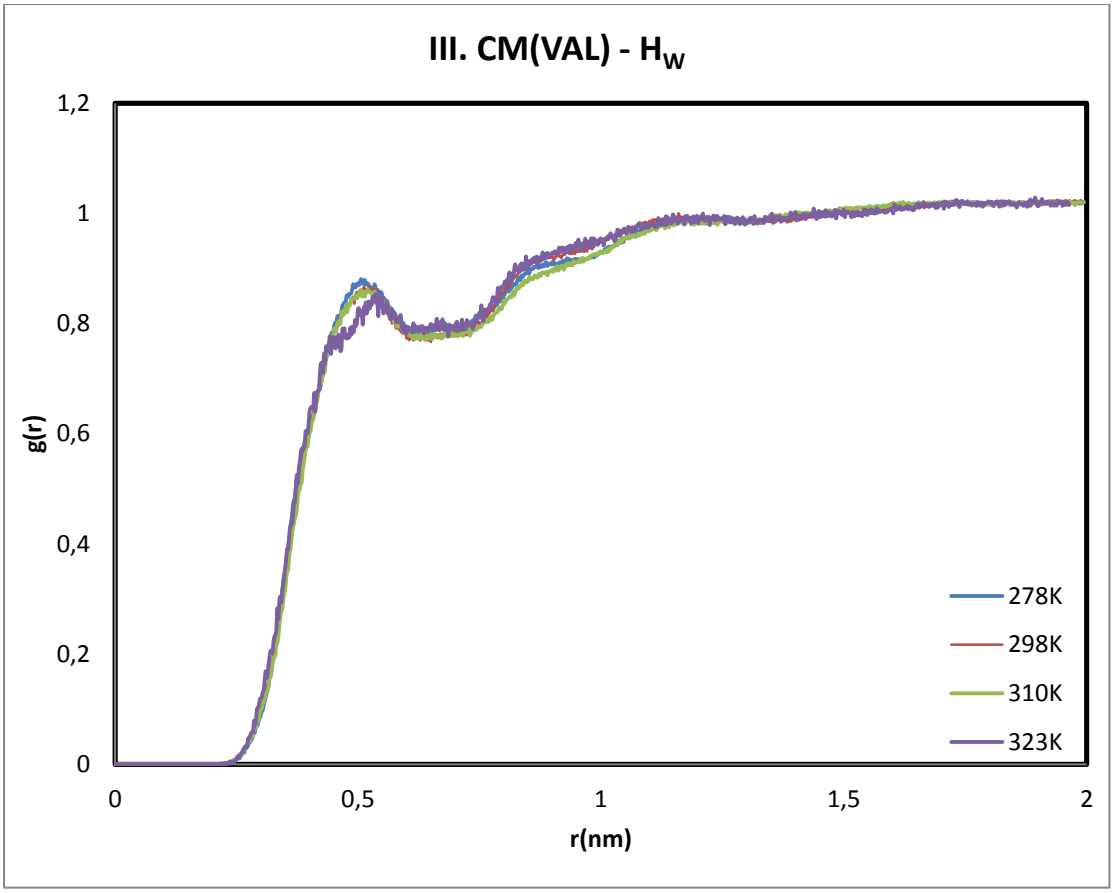
Παρατηρείται, λοιπόν, ότι μεγάλος σχετικά αριθμός μορίων νερού βρίσκεται γύρω από το κέντρο μάζης αυτού του αμινοξέος αλλά εντοπισμένο σε σχετικά μεγαλύτερη απόσταση από τα άλλα αμινοξέα.

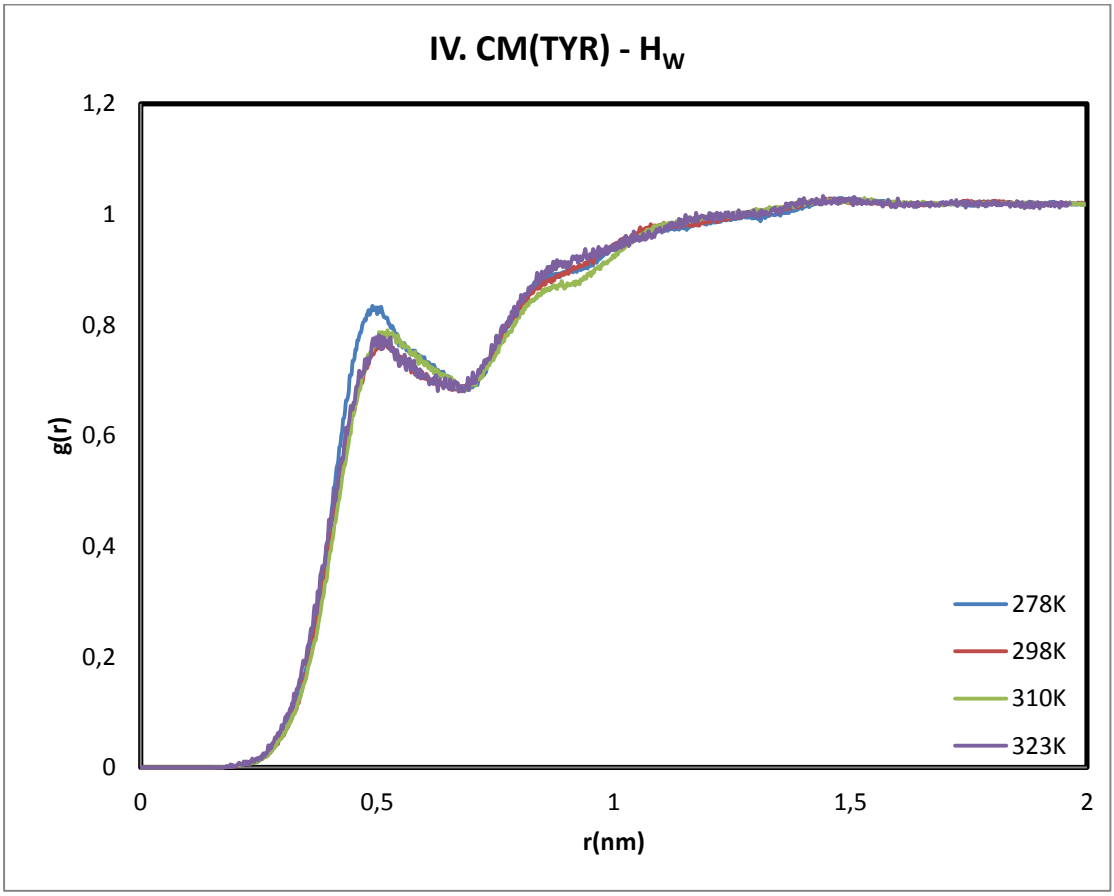
Για την περίπτωση της His, δεν αναγράφουμε τιμές στον Πίνακα 6.7 για τα ακρότατα της g(r) λόγω ότι δεν παρουσιάζει κάποια χαρακτηριστική κορυφή μεγίστου μεγαλύτερη της μονάδος το διάγραμμα της με το O_W. Συγκεκριμένα, η κάθε συνάρτηση g(r) για κάθε θερμοκρασία διαφοροποιείται για αποστάσεις 0 - 1 nm παρουσιάζοντας δύο χαρακτηριστικούς ώμους (σημείο καμπής) και στην συνέχεια για αποστάσεις μεγαλύτερες του 1 nm τείνουν προς τη μονάδα.

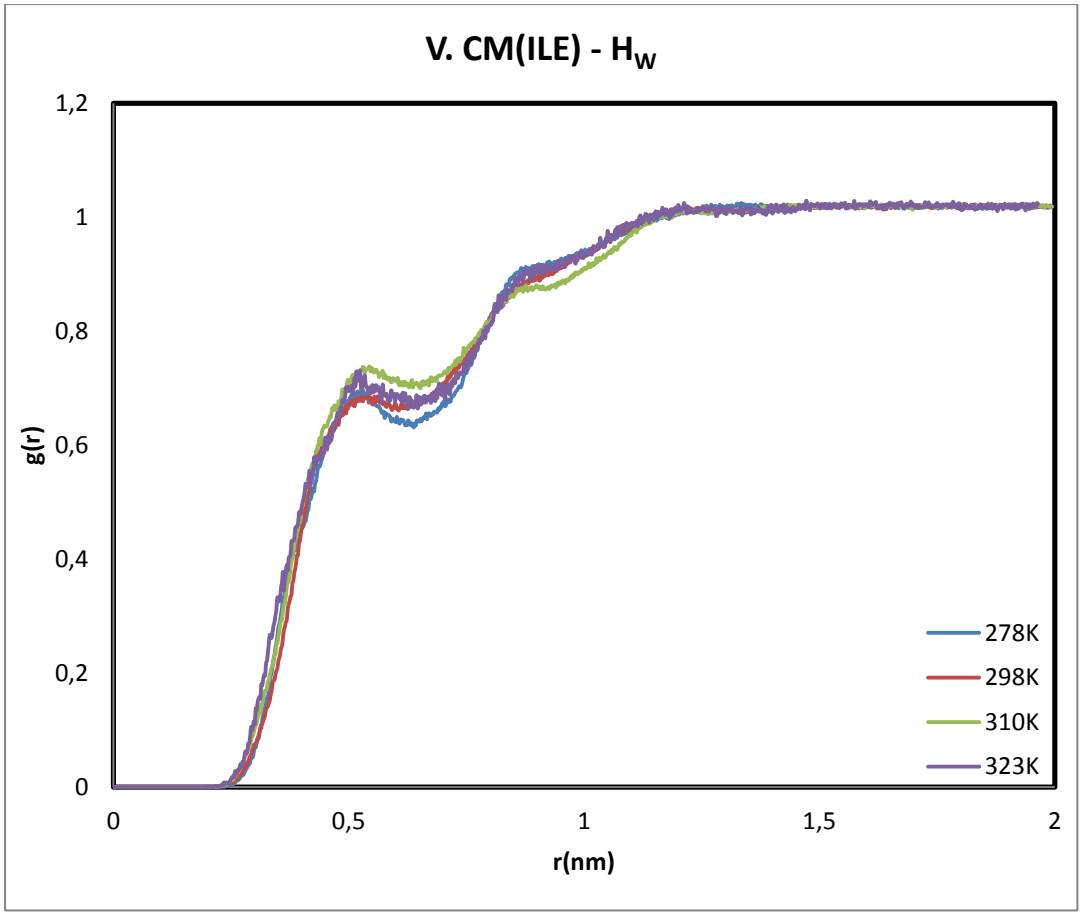
Στο Σχήμα 6.9 που ακολουθεί, παρουσιάζονται οι συναρτήσεις μέσης διαμοριακής δομής των κέντρων μάζης των αμινοξέων της Ang II με το H_W των μορίων του νερού. Στη συνέχεια ακολουθεί ο Πίνακας 6.8 στον οποίο αναγράφονται τα χαρακτηριστικά (ένταση, θέση) αυτών των συναρτήσεων.

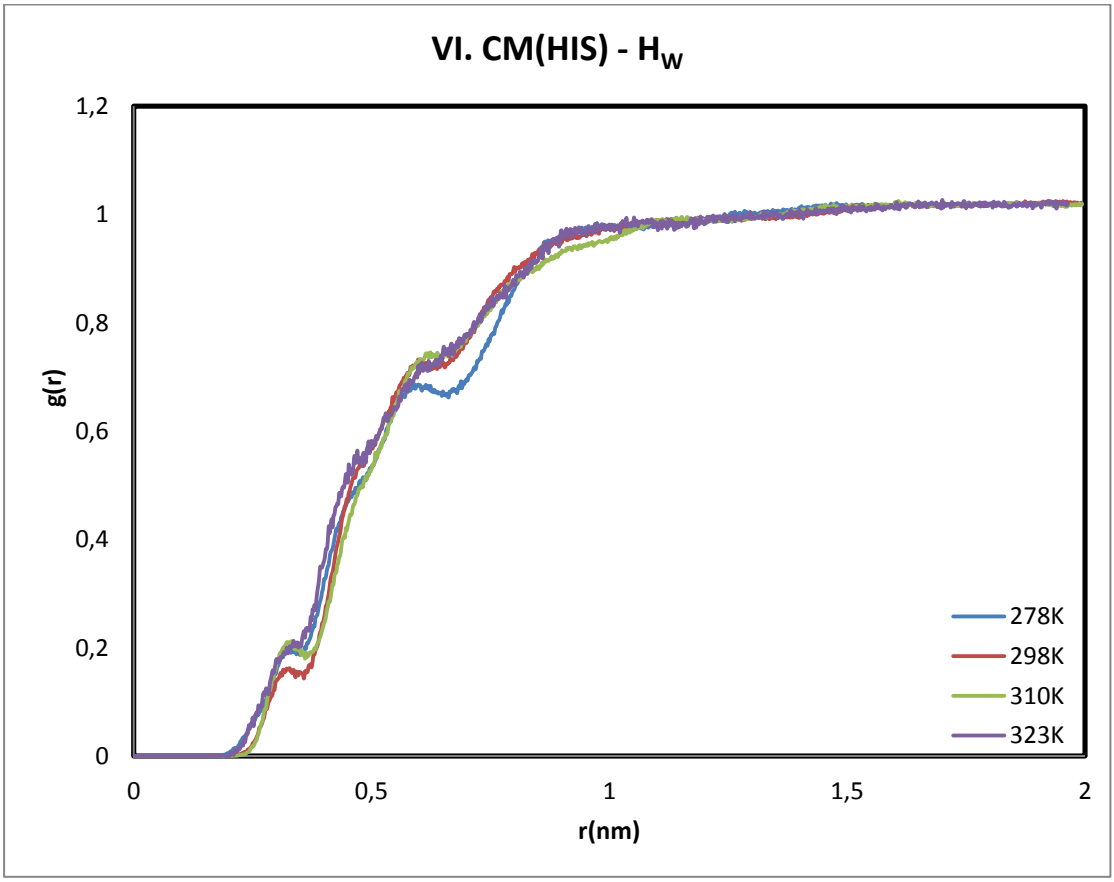

I. CM(ASP) -H$_W$
1,2
0,9
0,6
0,3
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K

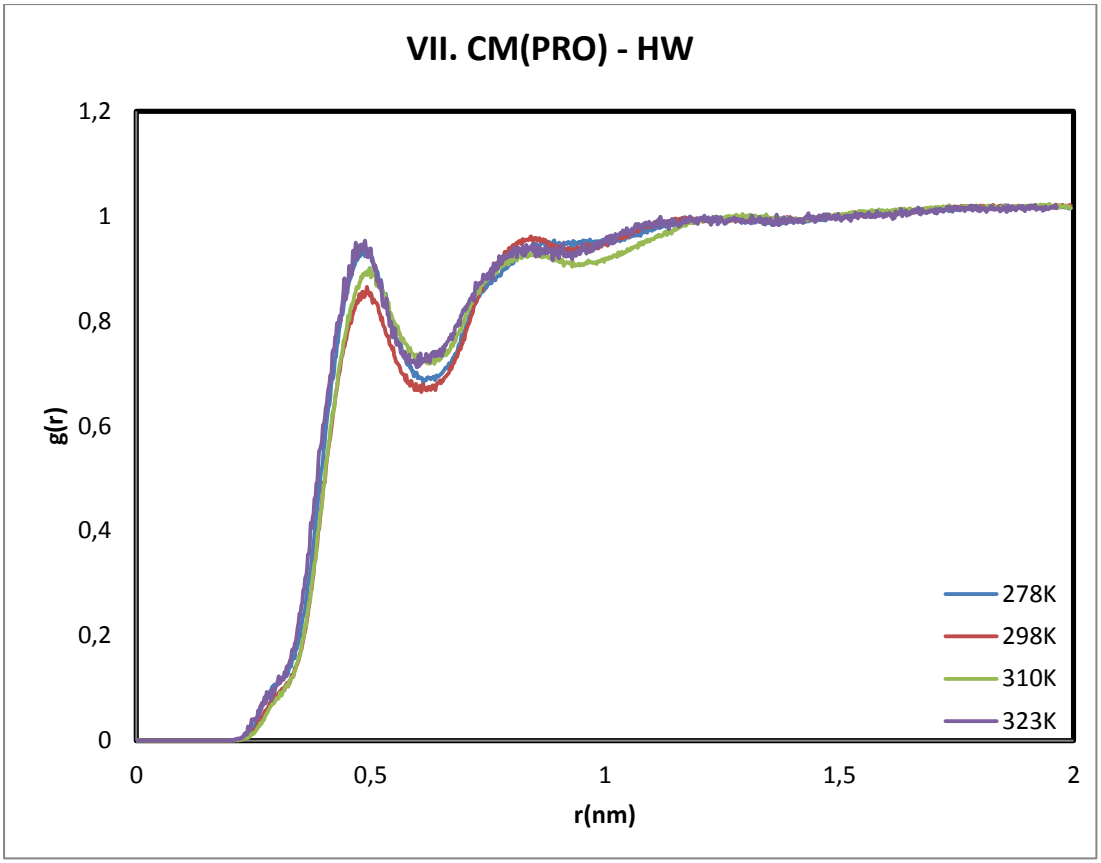

II. CM(ARG) - H$_W$
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K

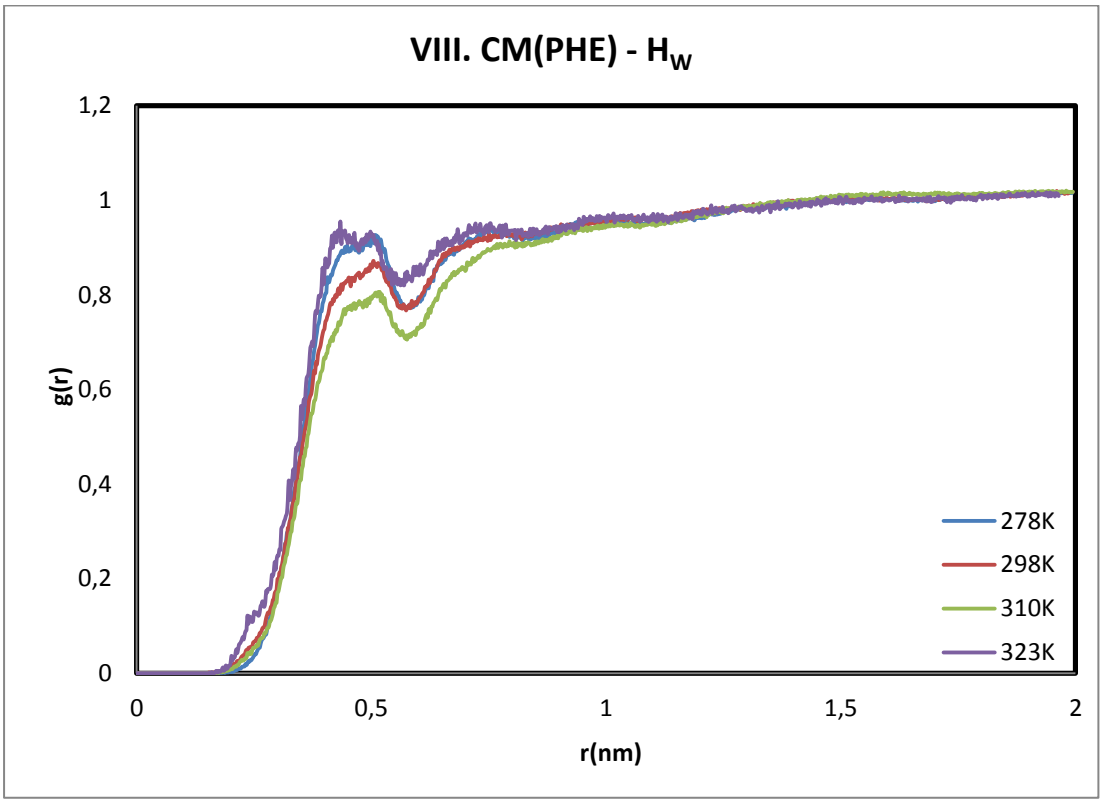

III. CM(VAL) - H_W
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K


IV. CM(TYR) - H_W
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K


V. CM(ILE) - H_W
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K


VI. CM(HIS) - H_W
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K





Σχήμα 6.9 *Σύγκριση της συμπεριφοράς των κέντρων μάζας των αμινοξέων του μορίου της AngII σε σχέση με τα άτομα του υδρογόνου του νερού στο υδατικό διάλυμα για διάφορες θερμοκρασίες.*

Πίνακας 6.8 *Χαρακτηριστικά (ένταση, θέση) των συναρτήσεων δομής των κέντρων μάζης των αμινοξέων του μορίου της AngII σε σχέση με τα άτομα του υδρογόνου του νερού για διάφορες θερμοκρασίες.*

	ASP		**ARG**		**VAL**		**TYR**	
	H_W		H_W		H_W		H_W	
	g(r)	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**
A_1	0.980	0.482	0.676	0.438	0.881	0.506	0.835	0.490
B_1	1.022	0.480	0.680	0.466	0.866	0.512	0.770	0.512
Γ_1	0.984	0.474	0.692	0.504	0.861	0.506	0.787	0.510
Δ_1	1.093	0.468	0.803	0.471	0.854	0.536	0.778	0.510
	ILE		**HIS**		**PRO**		**PHE**	
	H_W		H_W		H_W		H_W	
	g(r)	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**
A_1	0.697	0.530			0.937	0.480	0.904	0.460
B_1	0.685	0.540			0.865	0.492	0.872	0.504
Γ_1	0.738	0.544			0.901	0.498	0.806	0.518
Δ_1	0.729	0.516			0.953	0.488	0.927	0.504

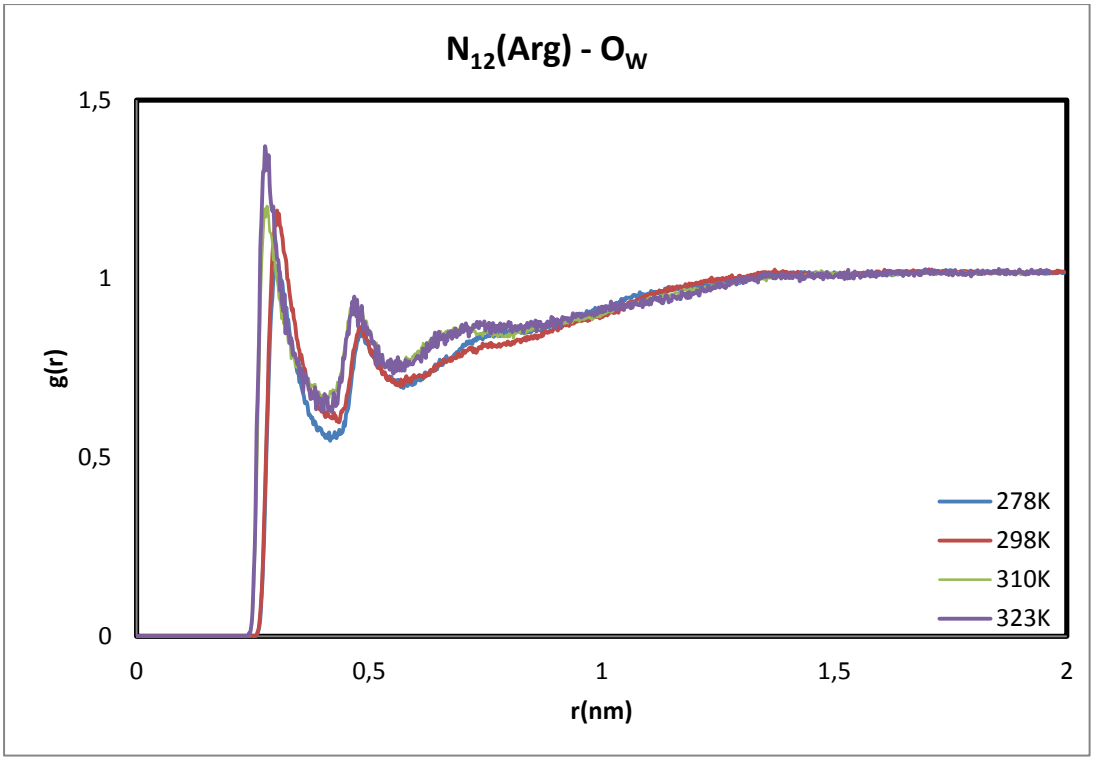
Από τις γραφικές παραστάσεις του Σχήματος 6.9 I – VIII και από τον Πίνακα 6.8 μέσω σύγκρισης των διαφόρων τιμών του πρώτου μεγίστου των συναρτήσεων g(r) συμπεραίνουμε τα ακόλουθα: Αρχικά, μπορούμε να διαπιστώσουμε από τις γραφικές παραστάσεις του Σχήματος 6.9 ότι όλες οι συναρτήσεις g(r) για όλα τα αμινοξέα, έκτος από την περίπτωση που αντιστοιχεί στο αμινοξύ Asp με το H_W, οι τιμές των μεγίστων τους είναι μικρότερες από τη μονάδα, ενώ στην περίπτωση της Asp είναι οριακά μεγαλύτερη. Συγκεκριμένα, στην περίπτωση του κέντρου μάζης της Asp, η τιμή της συναρτήσεως g(r) κυμαίνεται μεταξύ του 0.980 – 1.093 και με θέση εντοπισμού του μεγίστου από 0.468 – 0.482 nm αντίστοιχα. Οι αποστάσεις του μεγίστου αυτού του αμινοξέος είναι οι μικρότερες που έχουν βρεθεί μεταξύ όλων των αμινοξέων γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι τα άτομα του υδρογόνου του μορίου του νερού βρίσκονται πλησιέστερα στο κέντρο μάζης της Asp από ότι στα υπόλοιπα αμινοξέα. Αυτά τα αποτελέσματα έρχονται σε πλήρη ταύτιση με τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη μελέτη των αντίστοιχων γραφικών παραστάσεων με το άτομο του οξυγόνου του ύδατος. Στην περίπτωση του κέντρου μάζης της Arg, η τιμή της g(r) κυμαίνεται από 0.676–0.803 και η θέση εντοπισμού του μεγίστου είναι από 0.438–0.504 nm. Αυτό το αμινοξύ είναι το επόμενο της πρωτεΐνης μετά από την Asp που το άτομο του H_W έρχεται πλησιέστερα σε αυτό. Από την άλλη, με ολοκλήρωση του μεγίστου αυτής της γραφικής παράστασης, παρατηρούμε ότι ο αριθμός των ατόμων που περιβάλλουν το αμινοξύ αυτό είναι ο μικρότερος από όλα τα αμινοξέα της πρωτεΐνης. Σε αυτή την αλληλουχία θέσεως του ατόμου υδρογόνου του μορίου ύδατος σε σχέση με τα αμινοξέα της πρωτεΐνης που μελετάμε, ακολουθούν τα αμινοξέα Phe και Pro στα οποία παρατηρείται παρόμοια συμπεριφορά. Συγκεκριμένα, η τιμή της g(r) και της θέσεως του μεγίστου κυμαίνεται για το καθένα από 0.806 – 0.927 και 0.460 – 0.518 nm και από 0.865 – 0.953 και 0.480 – 0.498 nm, αντίστοιχα. Στην συνέχεια, τα αμινοξέα Tyr και Val παρουσιάζουν παρόμοια θέση του μεγίστου τους από 0.490 – 0.512 nm και 0.506 – 0.536 nm, αντίστοιχα. Τέλος, το αμινοξύ που έχει τη μεγαλύτερη θέση εντοπισμού του μεγίστου του είναι η Ile με τιμές από 0.516 – 0.544 και η τιμή της g(r) κυμαίνεται από 0.697 – 0.738 nm.

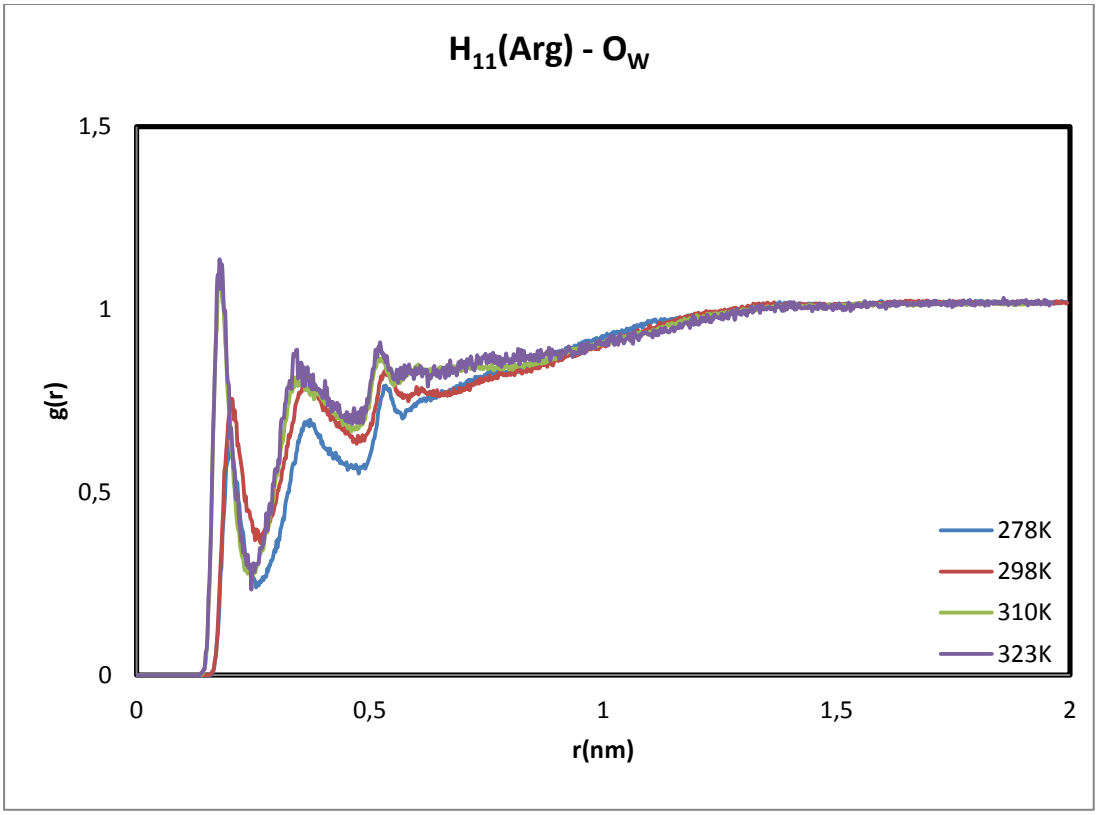
Για την περίπτωση της His, δεν αναγράφουμε τιμές στον Πίνακα 6.8 λόγω ότι δεν παρουσιάζει κάποια χαρακτηριστική κορυφή το διάγραμμα της με το H_W.

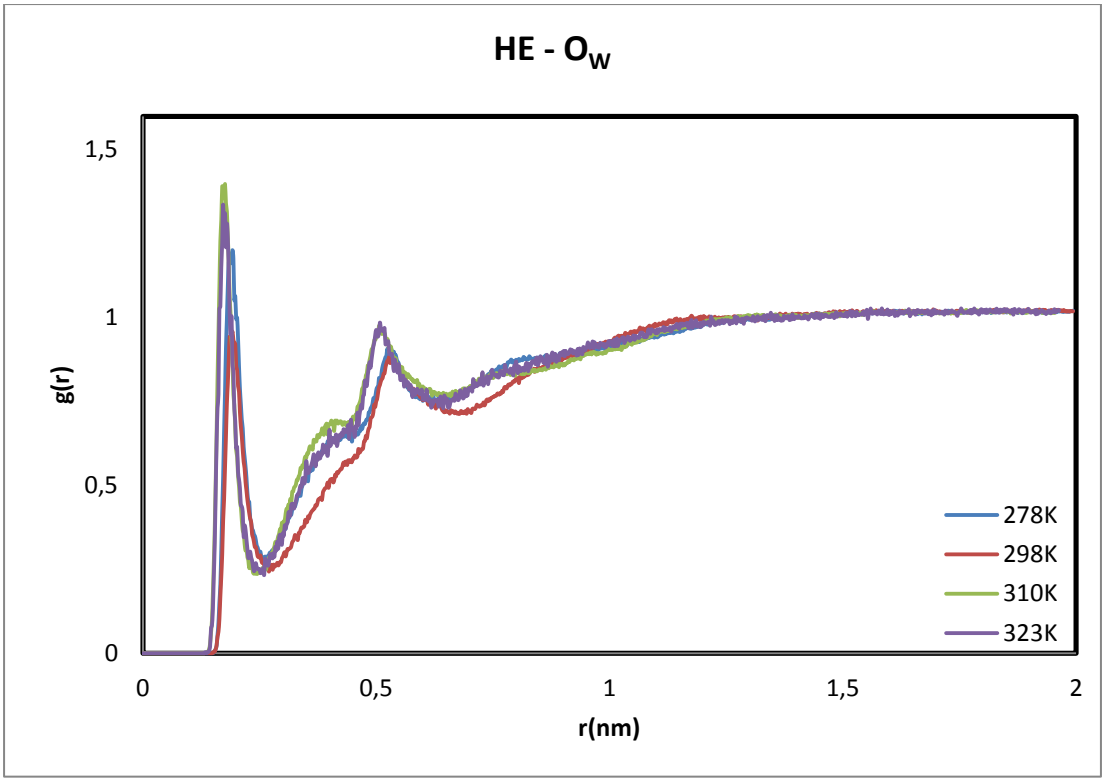
Ένα επιπλέον συμπέρασμα που μπορούμε να εξάγουμε από τα παραπάνω γραφήματα και τον αντίστοιχο πίνακα ως προς την θερμοκρασία της μικροδομής του μορίου της Ang II με τα μόρια του διαλύτη είναι το ακόλουθο: Η εν λόγω μικροδομή και επιδιαλύτωση του συστήματος των μορίων του νερού γύρω από τις αμινομάδες της Ang II δεν μεταβάλλεται σημαντικά συναρτήσει της θερμοκρασίας.

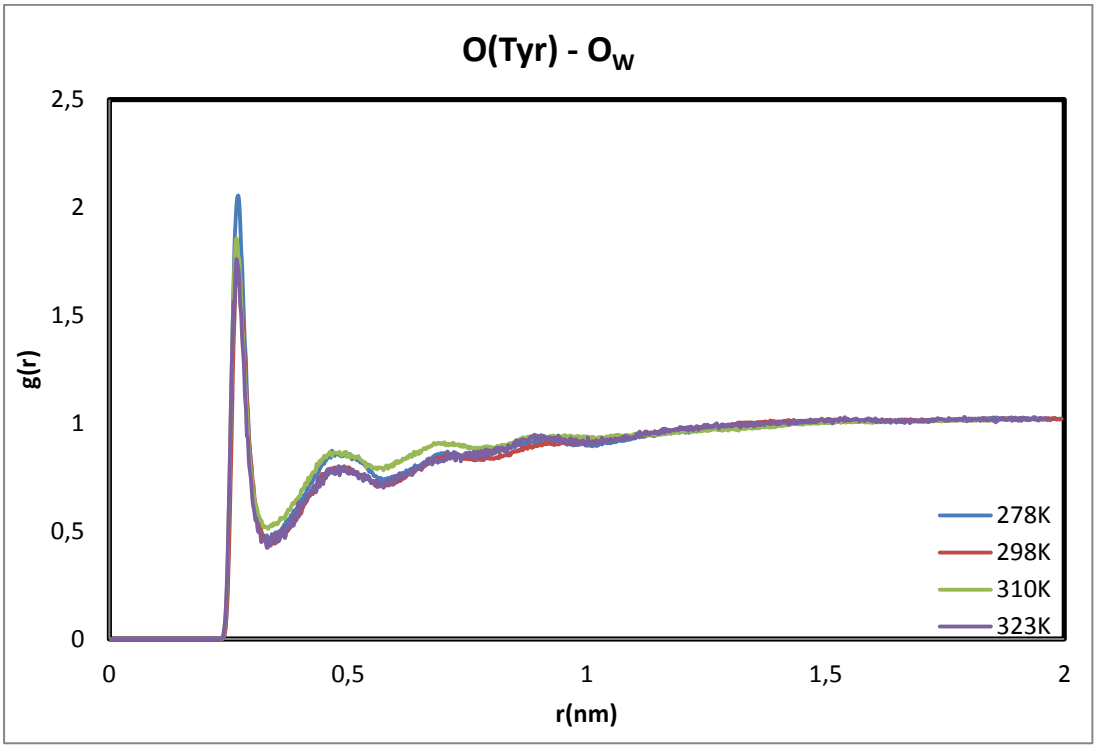
Με μία πιο λεπτομερή ανάλυση, μικρές διαφορές μπορούμε να παρατηρήσουμε σε κάποιες από αυτές τις γραφικές παραστάσεις. Συγκεκριμένα, στην περίπτωση της Asp, για την θερμοκρασία 323K παρατηρείται το μέγιστο έχει υψηλότερη κορυφή. Για τις περιπτώσεις των Val, Tyr, Ile, His και Pro, δεν παρατηρούνται αξιόλογες μεταβολές στο σχήμα των παραστάσεων συναρτήσει της θερμοκρασίας. Τέλος, στην Arg και Phe παρατηρούνται κάποιες αυξομειώσεις με την θερμοκρασία.

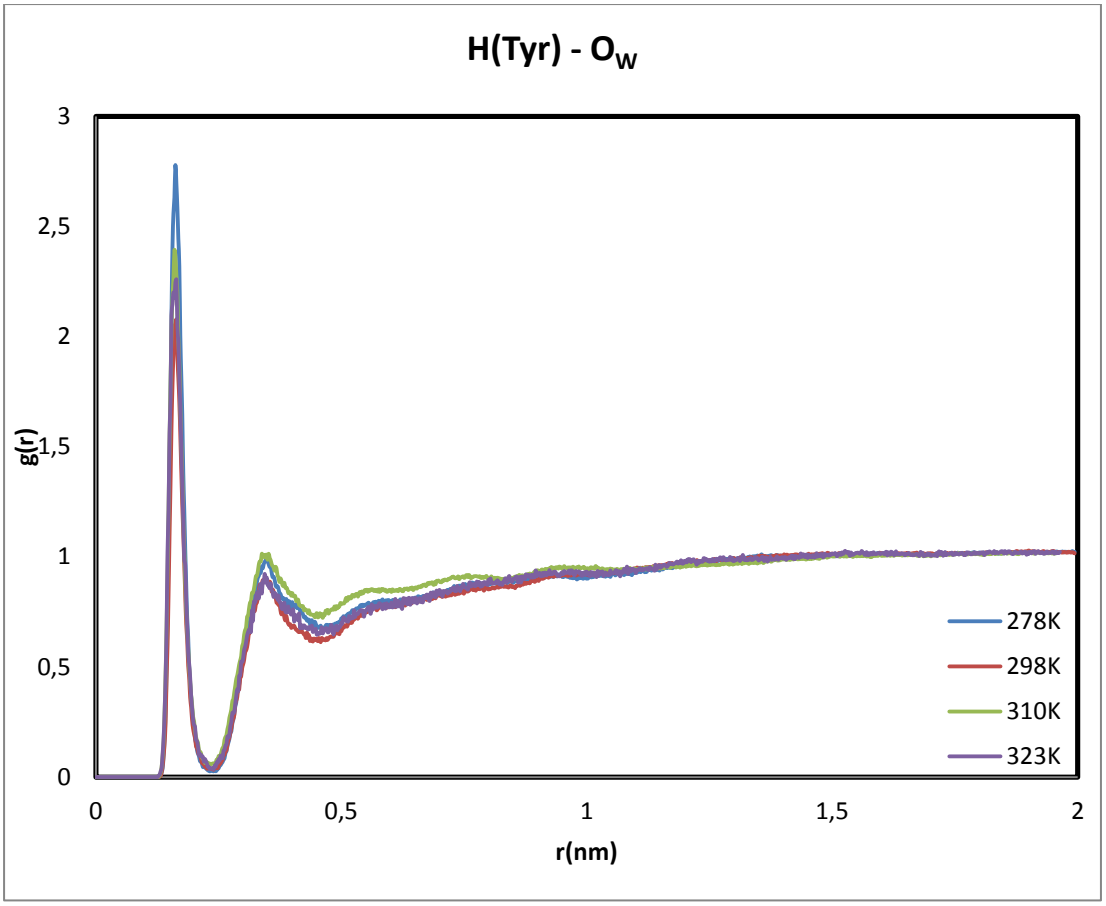
Στη συνέχεια, στο Σχήμα 6.10 ακολουθούν οι γραφικές παραστάσεις συναρτήσεων ακτινικής κατανομής κάποιων χαρακτηριστικών ομάδων του πεπτιδίου με τα άτομα του νερού. Αυτές οι ομάδες επιλέχθηκαν λόγω της πιθανής αλληλεπίδρασής τους με τα μόρια του διαλύτη. Στον Πίνακα 6.9, αναγράφονται κάποια χαρακτηριστικά (ένταση, θέση) του πρώτου μεγίστου αυτών των γραφικών παραστάσεων.

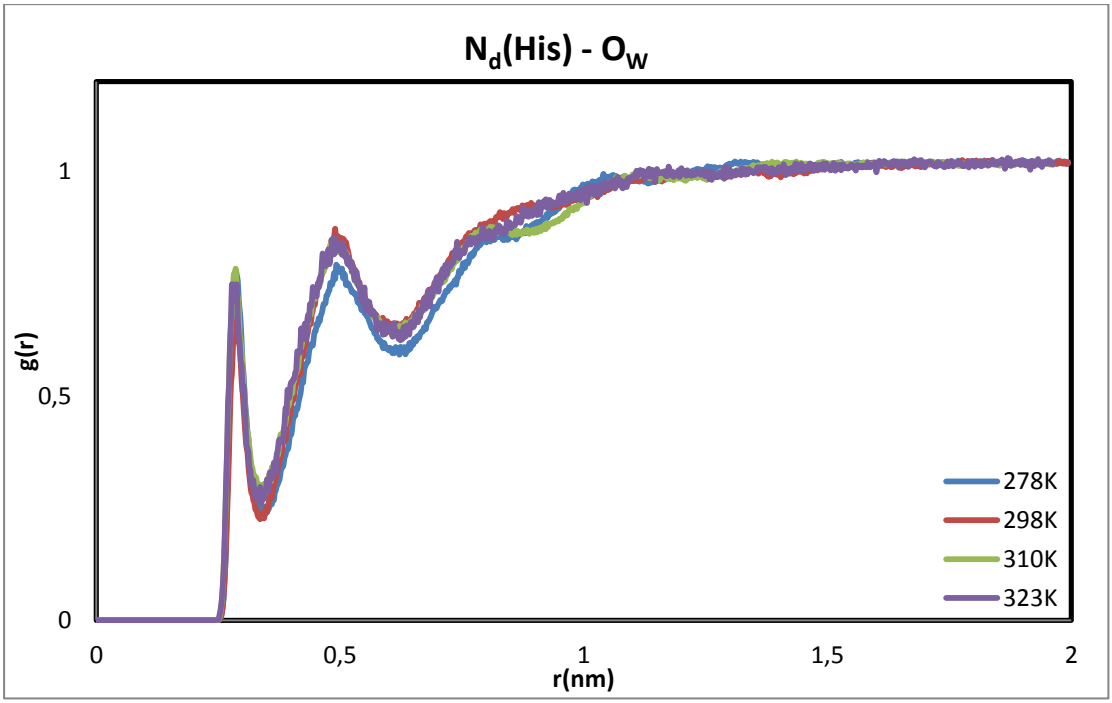

N12(Arg) - OW
1,5
1
0,5
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K

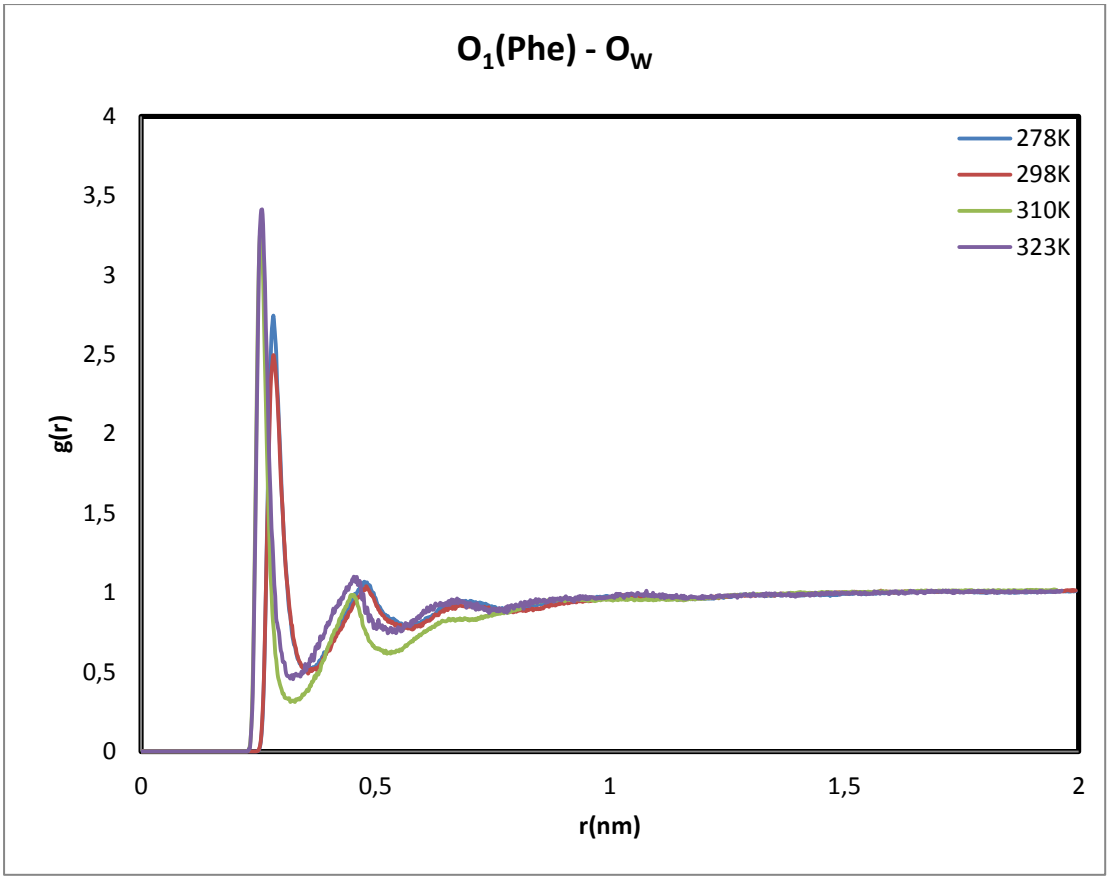

H11(Arg) - OW
1,5
1
0,5
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K

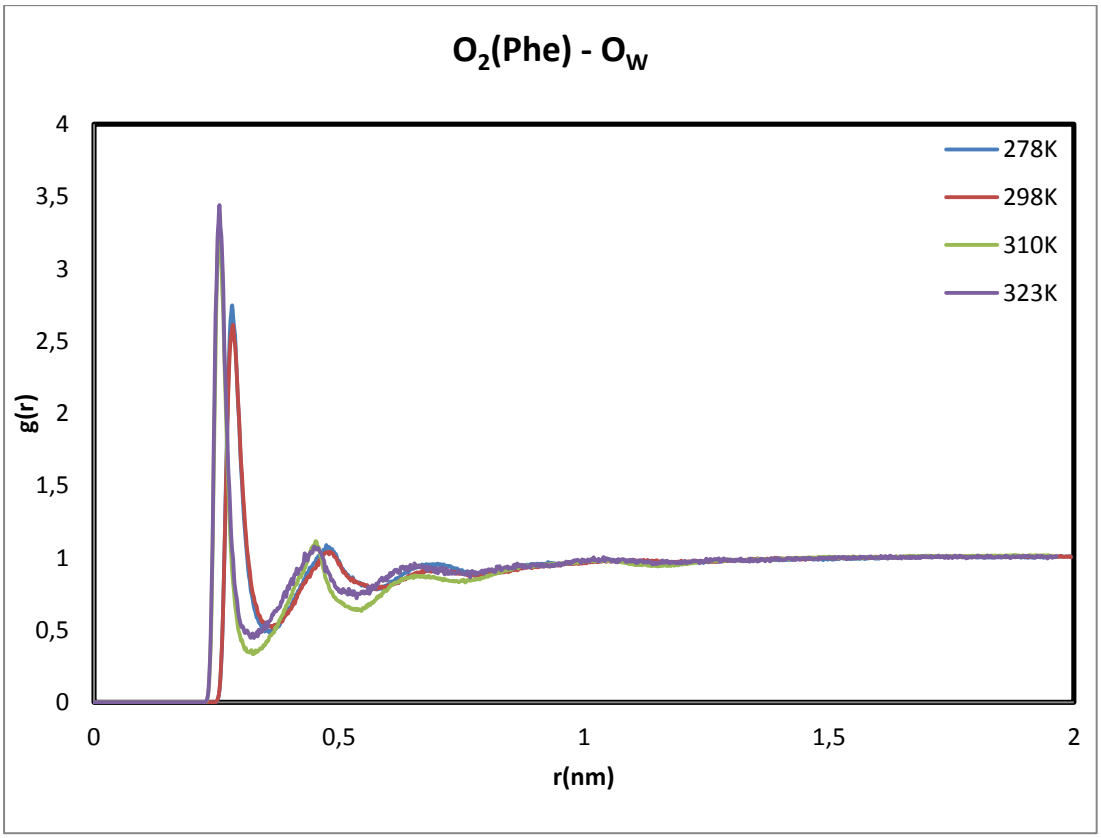

HE - O_W
1,5
1
0,5
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K


O(Tyr) - O_W
2,5
2
1,5
1
0,5
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K


H(Tyr) - O_W
3
2,5
2
1,5
1
0,5
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K


N_d(His) - O_W
1
0,5
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K

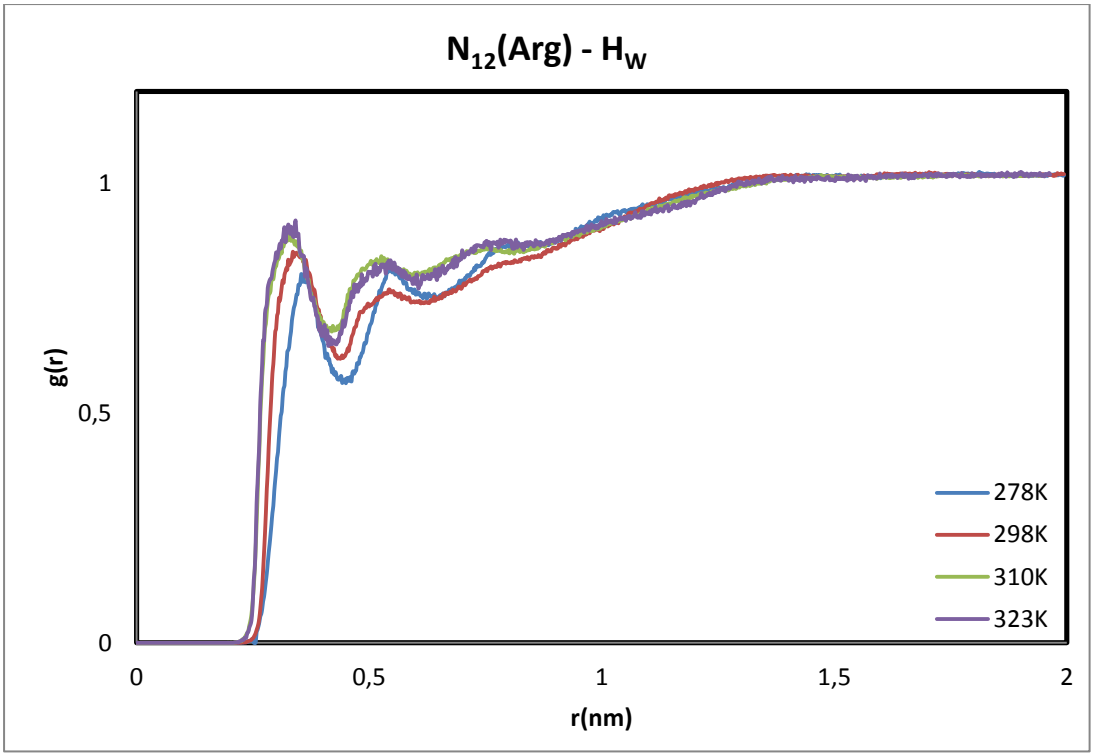


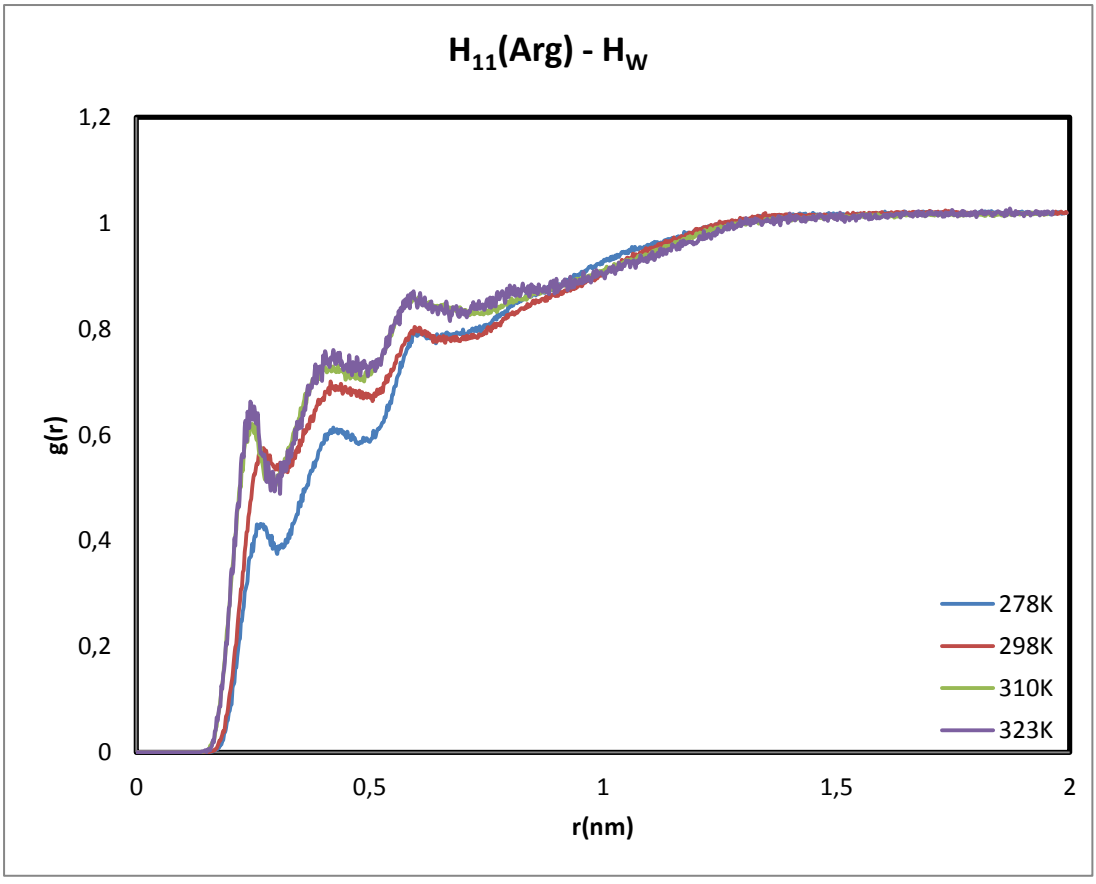


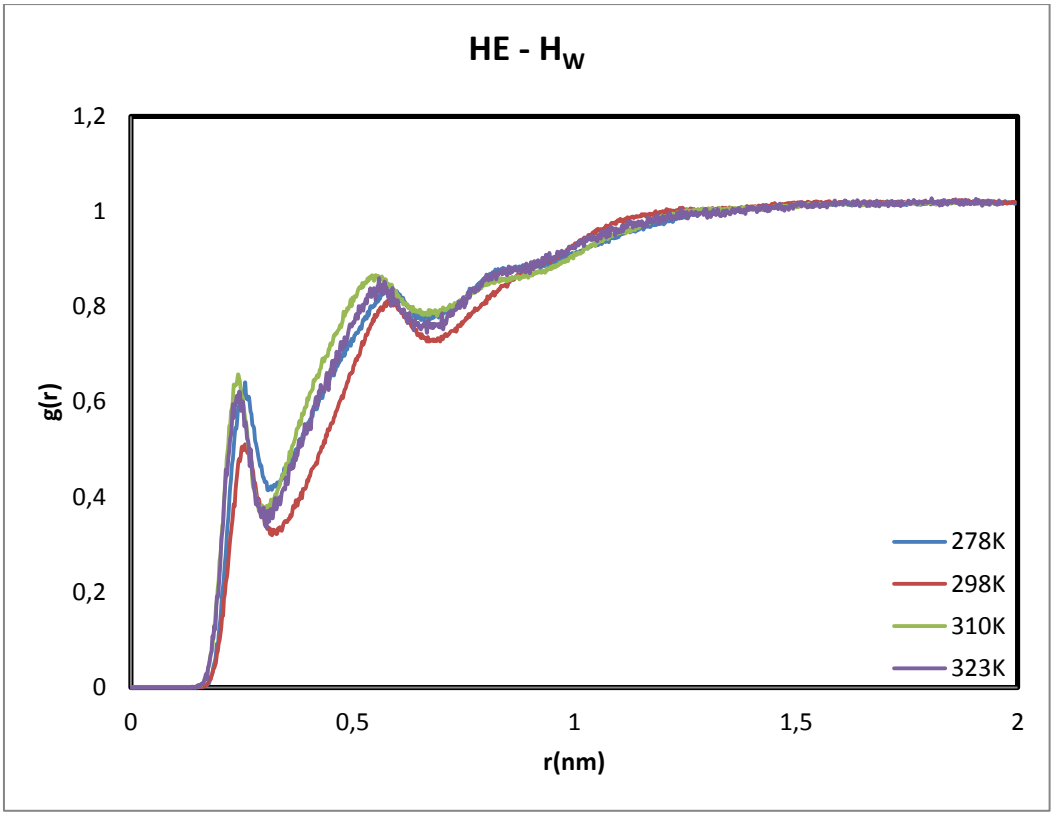
Σχήμα 6.10 *Σύγκριση της συμπεριφοράς χαρακτηριστικών ατόμων των αμινοξέων του μορίου της AngII σε σχέση με τα άτομα του οξυγόνου του νερού για διάφορες θερμοκρασίες.*

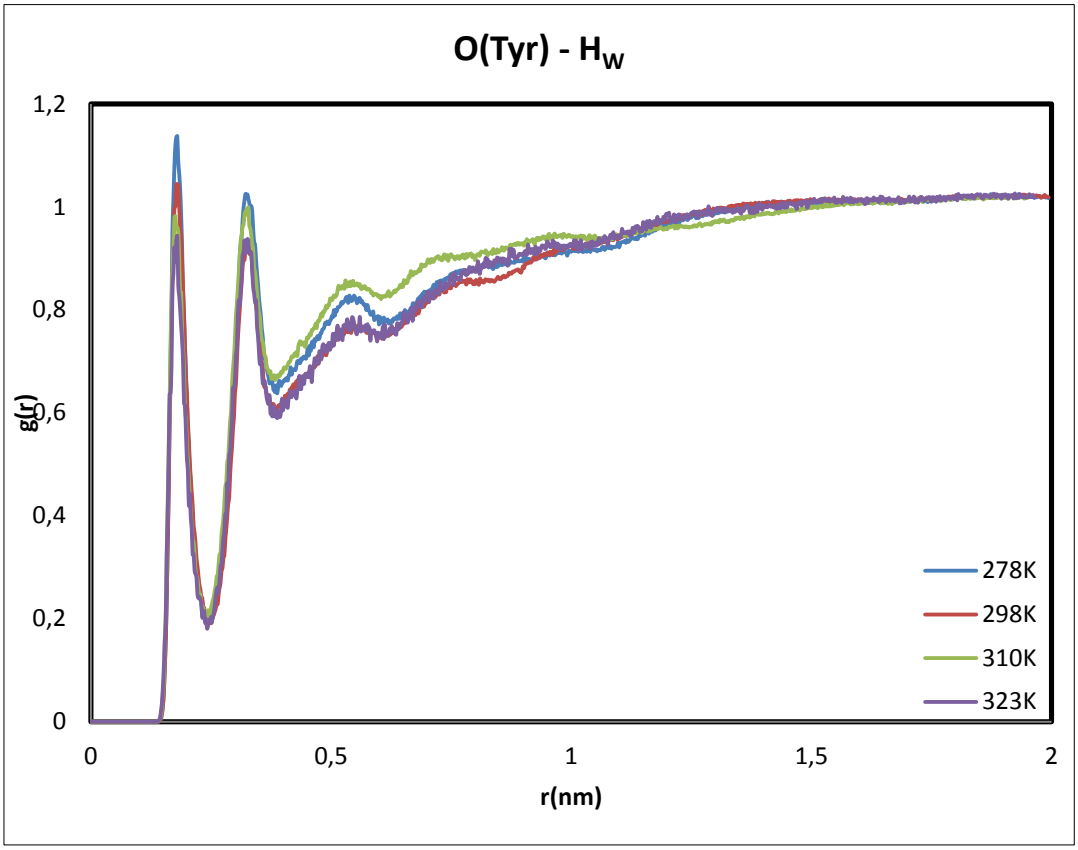
Πίνακας 6.9 *Χαρακτηριστικά (ένταση, θέση) των συναρτήσεων δομής κάποιων χαρακτηριστικών ατόμων επί των αμινοξέων του μορίου της AngII σε σχέση με τα άτομα του οξυγόνου του νερού για διάφορες θερμοκρασίες*

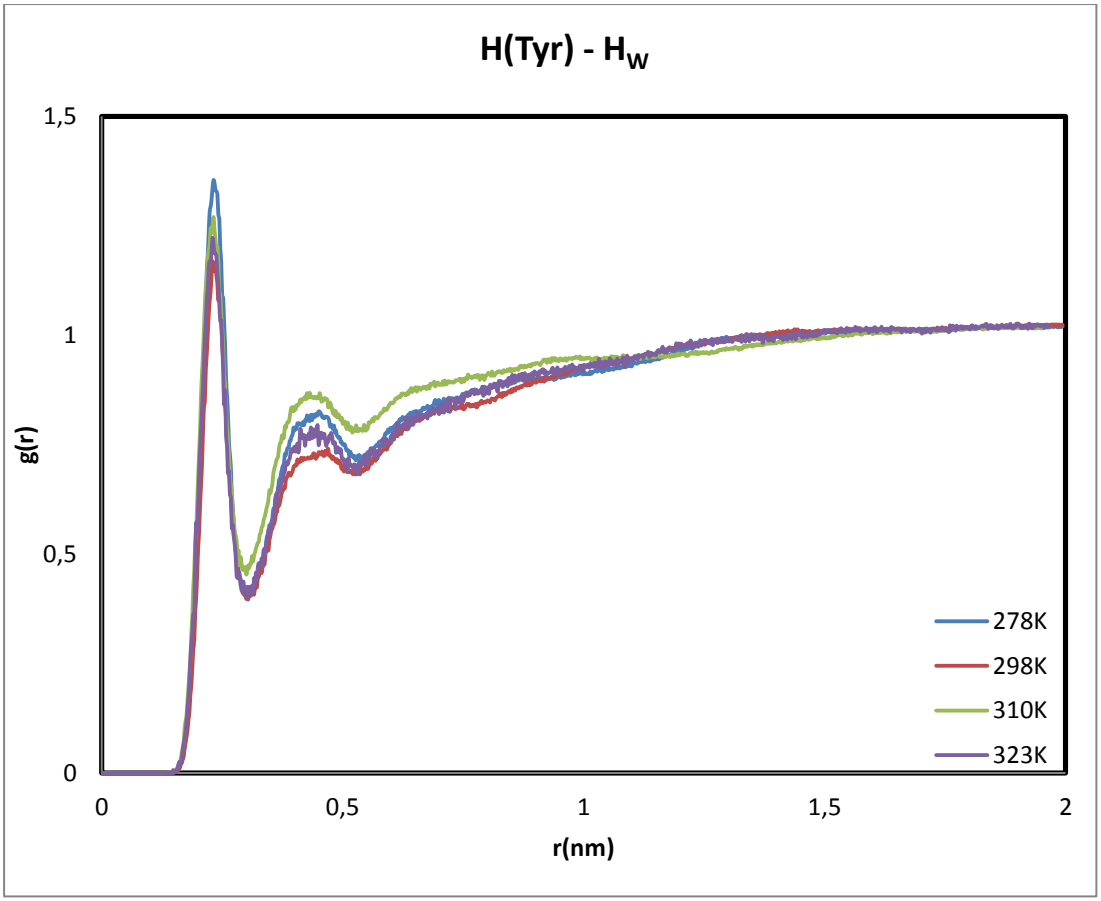
	N_{12}(Arg)		H_{11}(Arg)		HE		O(Tyr)	
	O_W		O_W		O_W		O_W	
	g(r)	r(nm)	g(r)	r(nm)	g(r)	r(nm)	g(r)	r(nm)
A_1	1.037	0.304	0.692	0.360	0.910	0.532	2.055	0.270
B_1	1.191	0.302	0.807	0.364	0.883	0.534	1.722	0.270
Γ_1	1.203	0.280	0.814	0.340	0.975	0.506	1.858	0.266
Δ_1	1.369	0.276	0.890	0.344	0.985	0.508	1.759	0.266
	H(Tyr)		N_d(His)		O_1(Phe)		O_2(Phe)	
	O_W		O_W		O_W		O_W	
	g(r)	r(nm)	g(r)	r(nm)	g(r)	r(nm)	g(r)	r(nm)
A_1	2.799	0.162	0.780	0.286	2.745	0.282	2.747	0.282
B_1	2.076	0.164	0.670	0.286	2.250	0.282	2.608	0.284
Γ_1	2.391	0.160	0.782	0.286	3.278	0.254	3.277	0.256
Δ_1	2.258	0.164	0.749	0.278	3.413	0.258	3.440	0.256

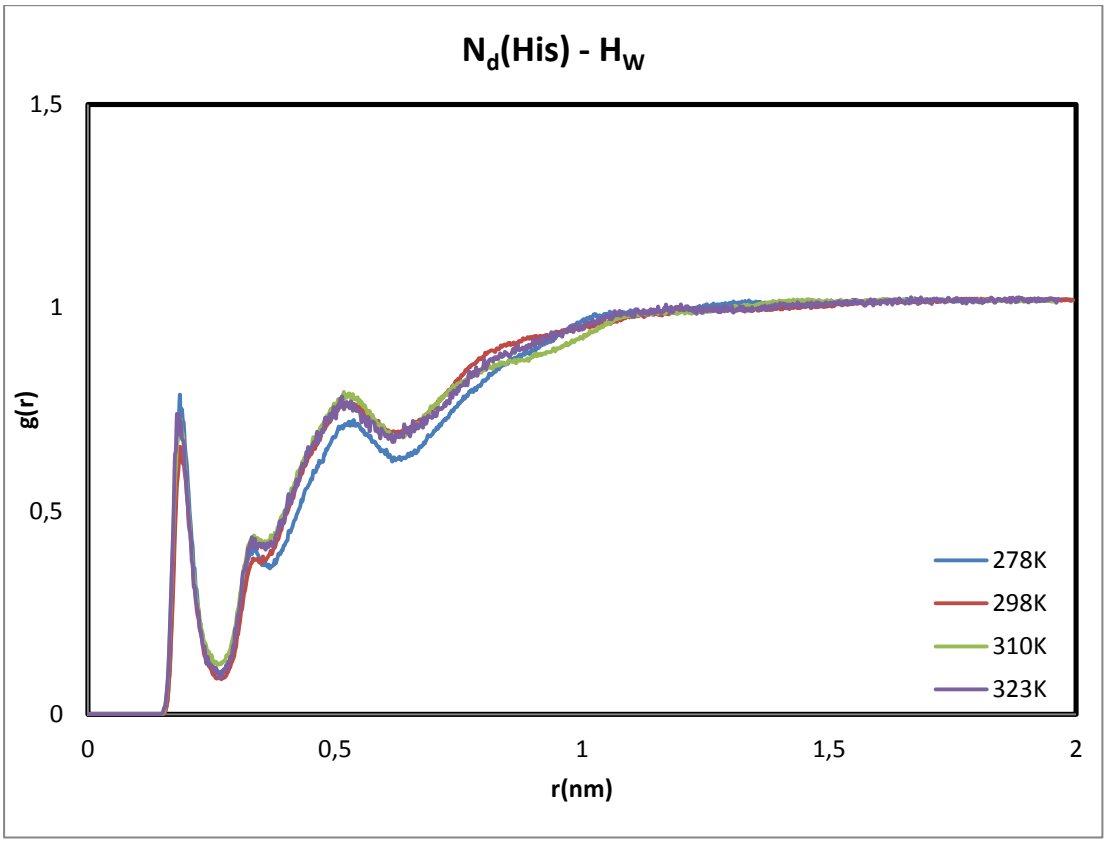

N12(Arg) - HW
1
0,5
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K

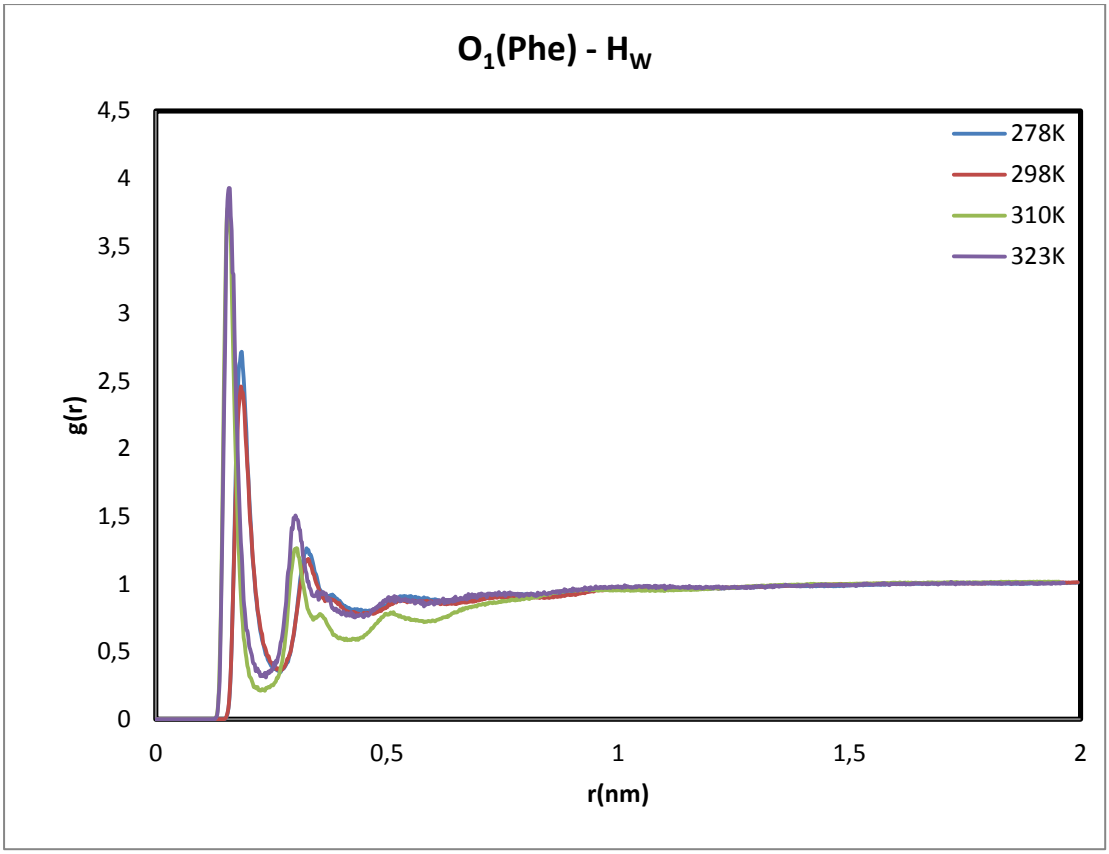

H11(Arg) - HW
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K

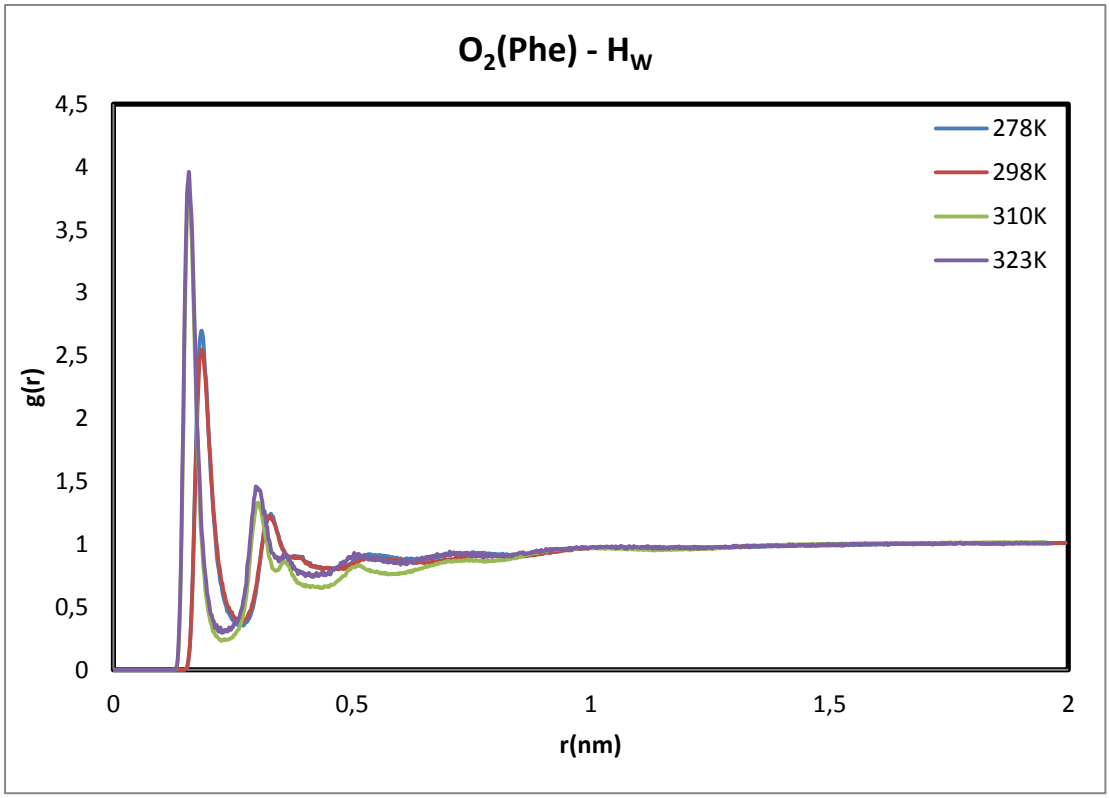

HE - Hw
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K


O(Tyr) - Hw
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K


H(Tyr) - Hw
1,5
1
0,5
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K


Nd(His) - Hw
1,5
1
0,5
0
g(r)
0
0,5
1
1,5
2
r(nm)
278K
298K
310K
323K





Σχήμα 6.11 *Σύγκριση της συμπεριφοράς χαρακτηριστικών ομάδων του μορίου της AngII σε σχέση με τα άτομα του υδρογόνου του νερού αντίστοιχα στο υδατικό διάλυμα σε διάφορες θερμοκρασίες.*

Πίνακας 6.10 *Χαρακτηριστικά (ένταση, θέση) των συναρτήσεων δομής κάποιων χαρακτηριστικών ατόμων επί των αμινοξέων του μορίου της AngII σε σχέση με τα άτομα του υδρογόνου του νερού για διάφορες θερμοκρασίες*

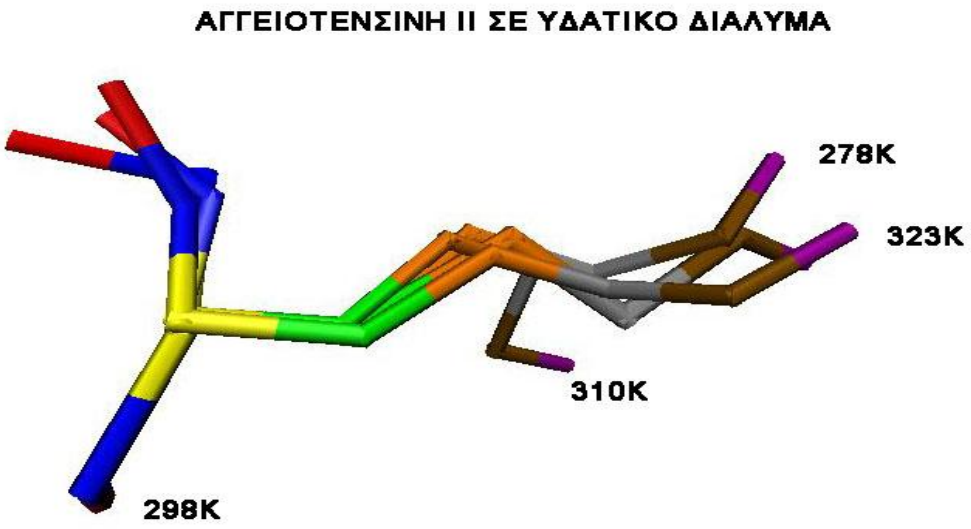
	N_{12}(Arg)		**H_{11}(Arg)**		**HE**		**O(Tyr)**	
	H_W		**H_W**		**H_W**		**H_W**	
	g(r)	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**
A_1	0.807	0.368	0.614	0.422	0.833	0.594	1.025	0.322
B_1	0.885	0.364	0.700	0.416	0.812	0.578	0.925	0.328
Γ_1	0.923	0.332	0.729	0.416	0.866	0.544	0.999	0.328
Δ_1	0.987	0.342	0.760	0.422	0.860	0.560	0.938	0.326
	H(Tyr)		**N_d(His)**		**O_1(Phe)**		**O_2(Phe)**	
	H_W		**H_W**		**H_W**		**H_W**	
	g(r)	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**
A_1	1.354	0.232	0.416	0.336	2.716	0.186	2.698	0.184
B_1	1.169	0.230	0.383	0.334	2.461	0.184	2.545	0.184
Γ_1	1.270	0.232	0.440	0.336	3.805	0.158	3.790	0.158
Δ_1	1.223	0.230	0.435	0.332	3.929	0.158	3.960	0.158

Γενικά, από τα παραπάνω διαγράμματα μπορούμε να διαπιστώσουμε ότι οι περισσότερες χαρακτηριστικές ομάδες, που αναλύσαμε παραπάνω, αλληλεπιδρούν με τα άτομα του νερού άλλες ασθενέστερα και άλλες ισχυρότερα. Συγκεκριμένα, παρατηρούμε ότι το υδρογόνο της Τυροσίνης πλησιάζει περισσότερο τα άτομα του οξυγόνου του νερού και η θέση εντοπισμού του μεγίστου κυμαίνεται από 0.160 – 0.164 nm και η ένταση της g(r) κυμαίνεται από 2.076 - 2.779. Στην συνέχεια, εντοπίζονται τα οξυγόνα στην Phe (O_1 και O_2) με θέση εντοπισμού του μεγίστου από 0.254 – 0.282 nm και μέγιστο στα 2.250 – 3.413 και 2.608 – 3.440 αντίστοιχα. Αυτές οι χαρακτηριστικές ομάδες φαίνεται ότι αλληλεπιδρούν πολύ ισχυρά με τα άτομα του νερού. Οι αντίστοιχες γραφικές παραστάσεις για τις ακτινικές συναρτήσεις κατανομής, μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι δημιουργείται δεσμός υδρογόνου μεταξύ των ατόμων αυτών και ανάλογα με την θερμοκρασία παρατηρούμε ότι είναι σταθερότερος ή ασθενέστερος. Διαπιστώνουμε, δηλαδή, ότι για τους 323K ο δεσμός που σχηματίζεται είναι πολύ σταθερότερος. Στην συνέχεια της αλληλουχίας βρίσκεται το οξυγόνο της Τυροσίνης με μέγιστο από 1.722 – 2.055 και η θέση εντοπισμού του στα 0.266 – 0.270 nm. Αντίστοιχα, από τις γραφικές παραστάσεις για τα άτομα του οξυγόνου και υδρογόνου της Tyr, παρατηρούμε ότι η κορυφή της g(r) αυξάνεται με την μείωση της θερμοκρασίας. Παρατηρούμε, δηλαδή, ότι σε πιο χαμηλές θερμοκρασίες έχουμε σταθερότερους δεσμούς υδρογόνου των ομάδων αυτών με τα άτομα του διαλύτη. Για τις υπόλοιπες ομάδες η συμπεριφορά είναι ανάλογη σε όλες τις θερμοκρασίες και δεν παρατηρούνται μεγάλες αλληλεπιδράσεις.

Αντίστοιχες συμπεριφορές έχουμε και στην περίπτωση του υδρογόνου του νερού με τις χαρακτηριστικές αυτές ομάδες. Στην περίπτωση αυτή, τα άτομα του οξυγόνου της Phe (O_1 και O_2) πλησιάζουν περισσότερο και ισχυρότερα τα άτομα του υδρογόνου του νερού. Συγκεκριμένα, η θέση εντοπισμού του μεγίστου είναι από 0.158 – 0.186 nm και το μέγιστο της γραφικής τους παράστασεις κυμαίνεται από 2.461 – 3.929 και 2.545 – 3.960 αντίστοιχα. Παρατηρούμε ότι στους 323K η αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο αυτών ατόμων είναι πολύ ισχυρότερη από τις άλλες θερμοκρασίες. Στην συνέχεια ακολουθούν τα άτομο του υδρογόνου και του οξυγόνου της Tyr, με θέση εντοπισμού τα 0.160 – 0.164 και 0.322 – 0.328 nm και το μέγιστο της g(r) τα 1.169 – 1.270 και 0.925 – 1.025 αντίστοιχα. Σε αυτή την περίπτωση δεν διαπιστώνεται ότι τα άτομα αυτά έχουν ισχυρή αλληλεπίδραση με τα άτομα του υδρογόνου του νερού. Για τις υπόλοιπες ομάδες δεν παρατηρούνται μεγάλες αλληλεπιδράσεις.

6.1.8 Χαρακτηριστικές απεικονίσεις του μορίου AngII – Διερεύνηση των αποτελεσμάτων

Σε αυτό το υποκεφάλαιο θα μελετήσουμε τη δομή της Ang II μέσω κάποιων χαρακτηριστικών απεικονίσεων που λαμβάνουμε με τη βοήθεια του Μοριακών γραφημάτων από το πρόγραμμα VMD (Virtual Molecular Dynamics).



Σχήμα 6.12 *Σύγκριση της συμπεριφοράς χαρακτηριστικών απεικονίσεων της κύριας αλυσίδας του μορίου της AngII στο υδατικό διάλυμα για διάφορες θερμοκρασίες.*

Από το παραπάνω Σχήμα παρατηρούμε ότι σε γενικές γραμμές η έκταση της κύριας αλυσίδας (backbone) του μορίου της AngII παρουσιάζεται με κάποιες μικρές μεταβολές σε όλες τις θερμοκρασίες που οφείλονται σε διαφορετικές διαμορφώσεις των αμινοξέων της. Αυτό έρχεται σε πλήρη συμφωνία με τα ποσοτικά και ποιοτικά αποτελέσματα των προηγούμενων ιδιοτήτων που μελετήσαμε για το σύστημα αυτό. Συγκεκριμένα, οι παραπάνω απεικονίσεις έρχονται σε πλήρη συμφωνία με την γυροσκοπική ακτίνα της πρωτεΐνης η οποία, όπως αναφέραμε στην §6.1.2, έχει την τάση να αυξηθεί με την αύξηση της θερμοκρασίας αλλά η μεταβολή της είναι πολύ μικρή, γεγονός που δεν μπορούμε να την διαπιστώσουμε εύκολα στις απεικονίσεις.

.

6.2 Αγγειοτενσίνη ΙΙ σε μίγμα Νερό/ Αιθανόλης 65% - 35%

Αυτό το μέρος της εργασίας εστιάζεται στη μελέτη της συμπεριφοράς του πεπτιδίου AngII σε μίγμα Νερό / Αιθανόλης 65% - 35% για διάφορες θερμοκρασίες, όπως και προηγουμένως στην περίπτωση του καθαρού νερου (278, 298, 310 και 323K).

Όπως αναφέραμε και στην Εισαγωγή, τα τελευταία χρόνια έχει στραφεί η μελέτη των ιδιοτήτων των πρωτεϊνών και σε άλλους διαλύτες εκτός από το νερό, και συγκεκριμένα στα υδατικά διαλύματα των αλκοολών[12,13,14]. Σε αυτές τις μελέτες, διερευνόνται ιδιότητες των μακρομορίων σχετικά με τις διαμορφώσεις τους που σχετίζονται με τις διαμοριακές αλληλεπιδράσεις αυτών με τα μόρια του διαλύτη.

Η επιλογή του μίγματος Νερού/ Αιθανόλης ως διαλύτη της AngII έγινε λόγω της μεγάλης έκτασης του αριθμού των πειραματικών εργασιών που έχουν δημοσιοποιηθεί μέχρι σήμερα στη διεθνή βιβλιογραφία για ανάλογα συστήματα και του βασικού ερωτήματος σχετικά με την επίδραση των μορίων των διαλυτών στα διάφορα τμήματα της πρωτεΐνης υπό μελέτη. Από αυτές τις μελέτες έχει προκύψει το γενικό συμπέρασμα ότι κάποια δυαδικά συστήματα, όπως και το παραπάνω, παρουσιάζουν ιδιότητες παραπλήσιες ως τις αλληλεπιδράσεις με τις λιπιδικές διπλοστοιβάδες με αποτέλεσμα να μπορούν να προσεγγίσουν την υδρόφιλη/υδρόφοβη συμπεριφορά της πρωτεΐνης. Η AngII[17,18], είναι γνωστό από προηγούμενες εργασίες, ότι αλληλεπιδρά με λιπιδικές διπλοστοιβάδες σε βιολογικά συστήματα, με αποτέλεσμα να είναι χρήσιμη η προσομοίωση αυτού του πεπτιδίου σε αυτό το μίγμα διαλυτών έτσι ώστε να γίνει μία αρχική προσέγγιση των δομικών και δυναμικών ιδιοτήτων της κάτω από την υδρόφιλη/ υδρόφοβη συμπεριφορά των μορίων του διαλύτη ως προς αυτή.

Τέλος, όπως και στην προηγούμενη παράγραφο, παραθέτουμε τις χαρακτηριστικές διαμορφώσεις – απεικονίσεις της κύριας αλυσίδας (backbone) του πεπτιδίου για τις τέσσερεις θερμοδυναμικές καταστάσεις του συστήματος στην §6.2.8.

6.2.1 Βασικές Μακροσκοπικές Θερμοδυναμικές Ιδιότητες

Η Αγγειοτενσίνη ΙΙ προσομοιώθηκε σε μίγμα Νερό/Αιθανόλη 65% - 35%. Οι διάφορες τεχνικές λεπτομέρειες και οι γενικές πληροφορίες σχετικά με την προσομοίωση αυτή παρουσιάζονται στο Κεφάλαιο 5, §5.3. Οι θερμοδυναμικές καταστάσεις A_2, B_2, Γ_2, και Δ_2 που μελετήθηκαν παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.11. Τα αποτελέσματα των υπολογισμών διαφόρων θερμοδυναμικών μεγεθών του συστήματος, όπως π.χ. η μέση δυναμική ενέργεια U/mole, η πίεση P, η θερμοκρασία T, η συνολική ενέργεια του συστήματος $E_{ολ}$/mole, όπου $E_{ολ}= E_{KIN}+U$, κ.τ.λ. παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.12.

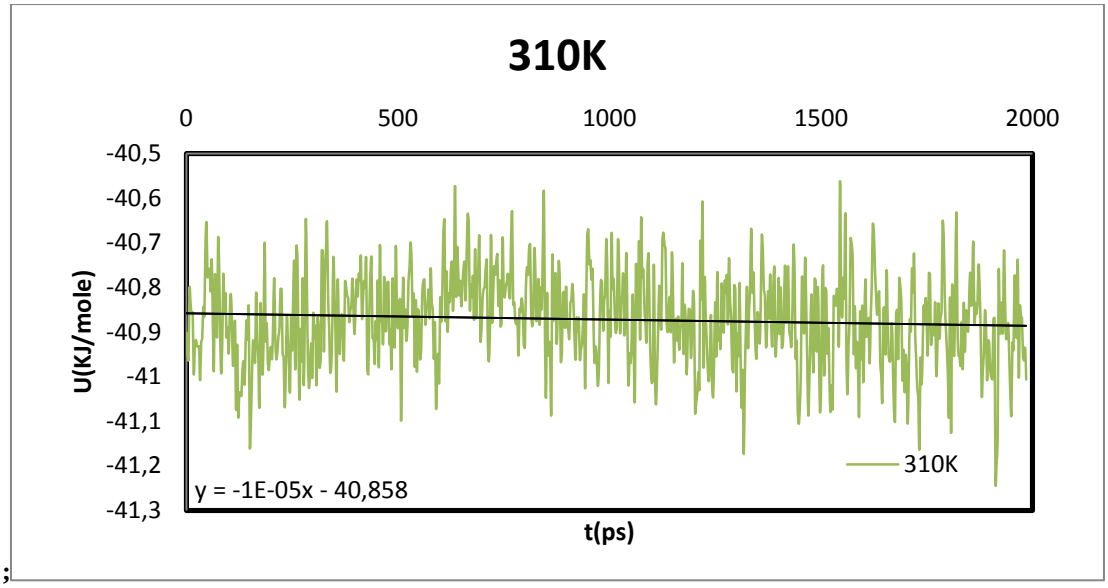
Πίνακας 6.11 *Θερμοδυναμικές καταστάσεις του συστήματος Αγγειοτενσίνης ΙΙ σε H_2O/EtOH. Οι τιμές των πυκνοτήτων είναι οι αντίστοιχες πειραματικές από διεθνή εργασίες*[91,92,93]

Κατάσταση	T(K)	P(bar)	ρ(g/cm^3)
A_2	278	1.01	0.904
B_2	298	1.01	0.881
Γ_2	310	1.01	0.869
Δ_2	323	1.01	0.858

Πίνακας 6.12 *Θερμοδυναμικά αποτελέσματα MD προσομοιώσεων του συστήματος AngII/(H_2O/EtOH) για τις τέσσερεις θερμοδυναμικές καταστάσεις. Η αναλογία των μορίων στο διάλυμα είναι Ang II/ (H_2O/EtOH)=1/968*

	A_2		B_2		Γ_2		Δ_2	
	Μέση Τιμή	**Διακυμάνσεις**	**Μέση Τιμή**	**Διακυμάνσεις**	**Μέση Τιμή**	**Διακυμάνσεις**	**Μέση Τιμή**	**Διακυμάνσεις**
U(KJ/mole)*	-45.331	0.093	-43.672	0.213	-42.267	0.220	-41.888	0.225
$E_{ολ}$(KJ/mole)*	-37.6472	0.112	-35.489	0.258	-33.516	0.269	-32.9708	0.275
T(K)	278	4.917	298.006	5.244	318	5.601	323	5.695
P(bar)	216.206	294.958	195.436	296.848	151.455	296.893	-85.6652	291.687

*Η Συστηματική Απόκλιση (Drift) των υπολογισμένων μέσω τιμών των ιδιοτήτων είναι της τάξεως ~3x 10^{-3}.



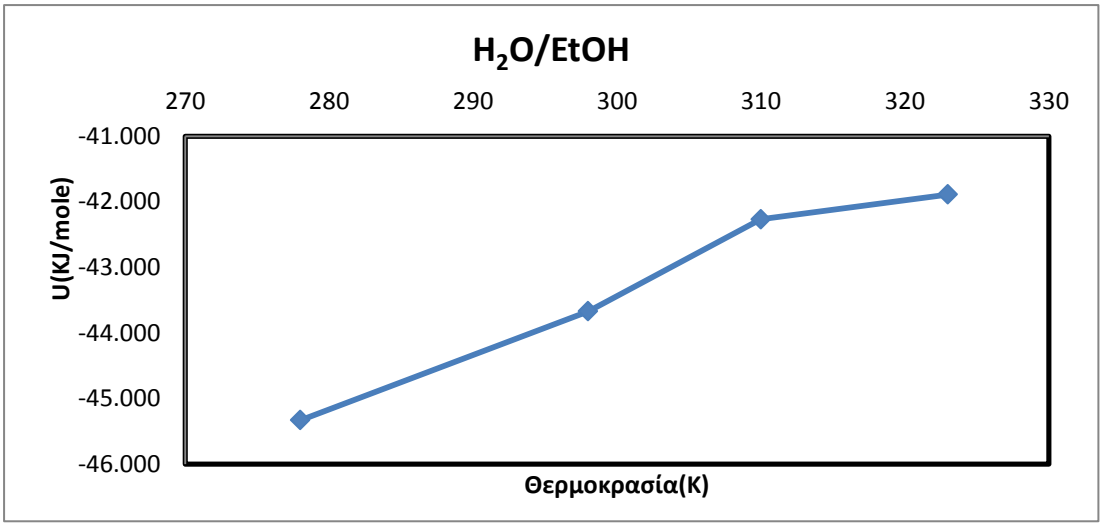
;

Σχήμα 6.13 *Χρονική εξάρτηση της δυναμικής ενέργειας του προσομοιωμένου συστήματος για T = 310K.*

Στο Σχήμα 6.13 παρουσιάζεται η χρονική εξάρτηση της δυναμικής ενέργειας του συστήματος σε θερμοκρασία 310K καθώς και η ευθεία μέσω της οποίας υπολογίζεται η μέση τιμή της ιδιότητας αυτής, η οποία είναι περίπου – 41 KJ/mole. Η ευθεία αυτή είναι σχεδόν παράλληλη με τον άξονα του χρόνου, με κλίση $a = -1 \cdot 10^{-5}$. Οι τιμές της δυναμικής ενέργειας καταγράφονται ανά 2.5 ps κατά τη διάρκεια της προσομοίωσης σε ισορροπίας. Παρόμοια Σχήματα της δυναμικής ενέργειας του συστήματος παρατηρούνται και για τις άλλες θερμοδυναμικές καταστάσεις που έχουν προσομοιωθεί.

Όπως και στην περίπτωση του συστήματος σε υδατικό διάλυμα που παρουσιάστηκε στην προηγούμενη παράγραφο, έτσι και στην περίπτωση του μικτού διαλύτη, η υπολογισμένη ενέργεια κάθε κατάστασης κυμαίνεται γύρω από μία μέση τιμή με μικρές διακυμάνσεις από αυτή και παρουσιάζει απόκλιση τρίτου δεκαδικού ψηφίου στο παράθυρο χρόνου προσομοίωσης και εντός θερμοδυναμικής ισορροπίας. Αυτό το γεγονός μας υποδεικνύει ότι το προσομοιωμένο σύστημα έχει οδηγηθεί επιτυχώς σε θερμοδυναμική ισορροπία.

Τέλος, από τον Πίνακα 6.12 καθώς και από το Σχήμα 6.14, παρατηρείται επιπλέον, ότι η μέση τιμή της δυναμικής ενέργειας του συστήματος μεταβάλλεται συναρτήσει της θερμοκρασίας και συγκεκριμένα, υπάρχει μία συστηματική μείωση αυτής όπως και αναμένεται.



Σχήμα 6.14 *Εξάρτηση της μέσης δυναμικής ενέργειας του συστήματος AngII σε μίγμα Νερό – Αιθανόλης από την θερμοκρασία από την παρούσα εργασία.*

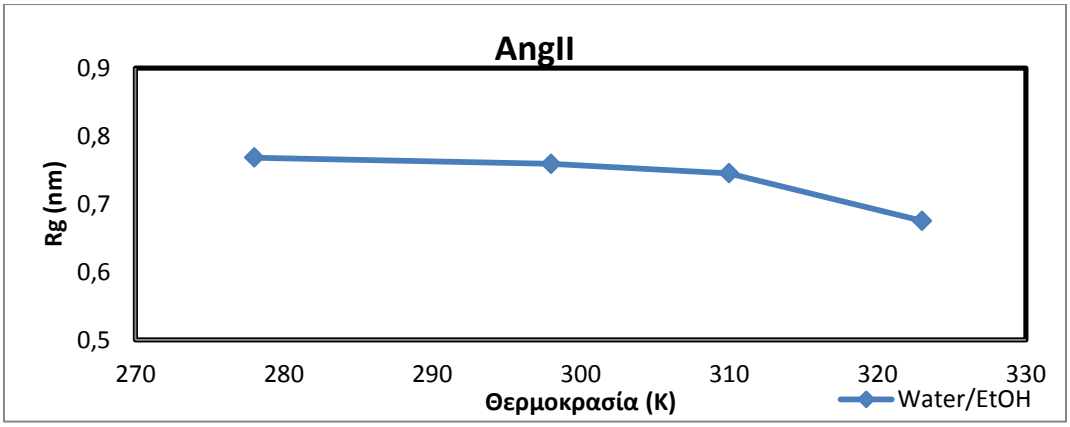
6.2.2 Γυροσκοπική ακτίνα (Radius of Gyration) R_g

Όπως αναφέραμε στην §6.1.2, από τη μελέτη της γυροσκοπικής ακτίνας εξάγουμε ενδεικτικά συμπεράσματα για τη διαμόρφωση της πρωτεΐνης κάτω από ορισμένες συνθήκες του διαλύτη. Για την παρούσα εργασία, τα αποτελέσματα αυτής της ιδιότητας συνοψίζονται στον Πίνακα 6.13, όπου παρουσιάζονται οι μέσες τιμές της R_g στις διάφορες καταστάσεις που έχουν προσομοιωθεί. Οι μέσες τιμές υπολογίζονται σε nm.

Πίνακας 6.13 *Μετρήσεις της γυροσκοπική ακτίνα του μορίου της Ang II σε H_2O/EtOH για τις διάφορες καταστάσεις.*

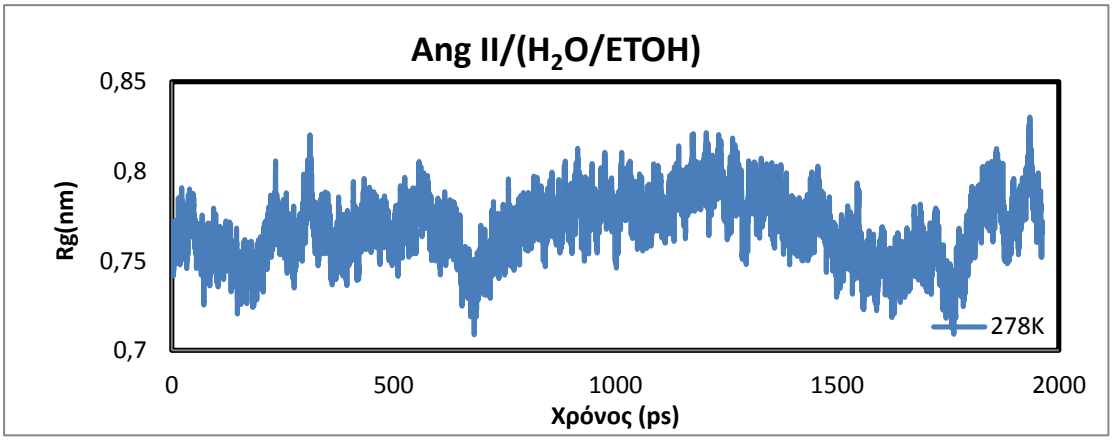
R_g(nm)	A_2	B_2	Γ_2	Δ_2
Ang II	0.768	0.759	0.745	0.675

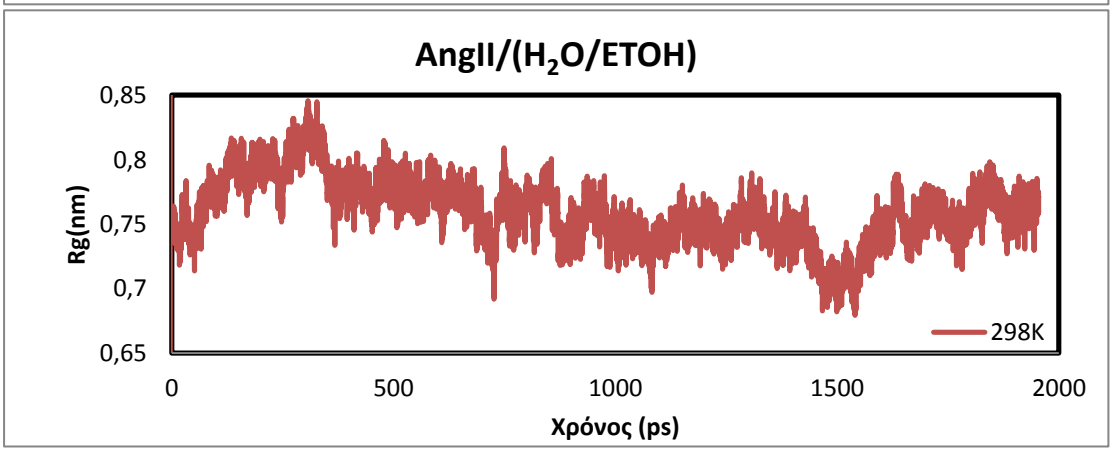
Η συνάρτηση της R_g της πρωτεΐνης συναρτήσει της θερμοκρασίας δίνεται στο Σχήμα 6.15, ενώ η χρονική εξάρτηση του μεγέθους δίνεται στο Σχήμα 6.16.

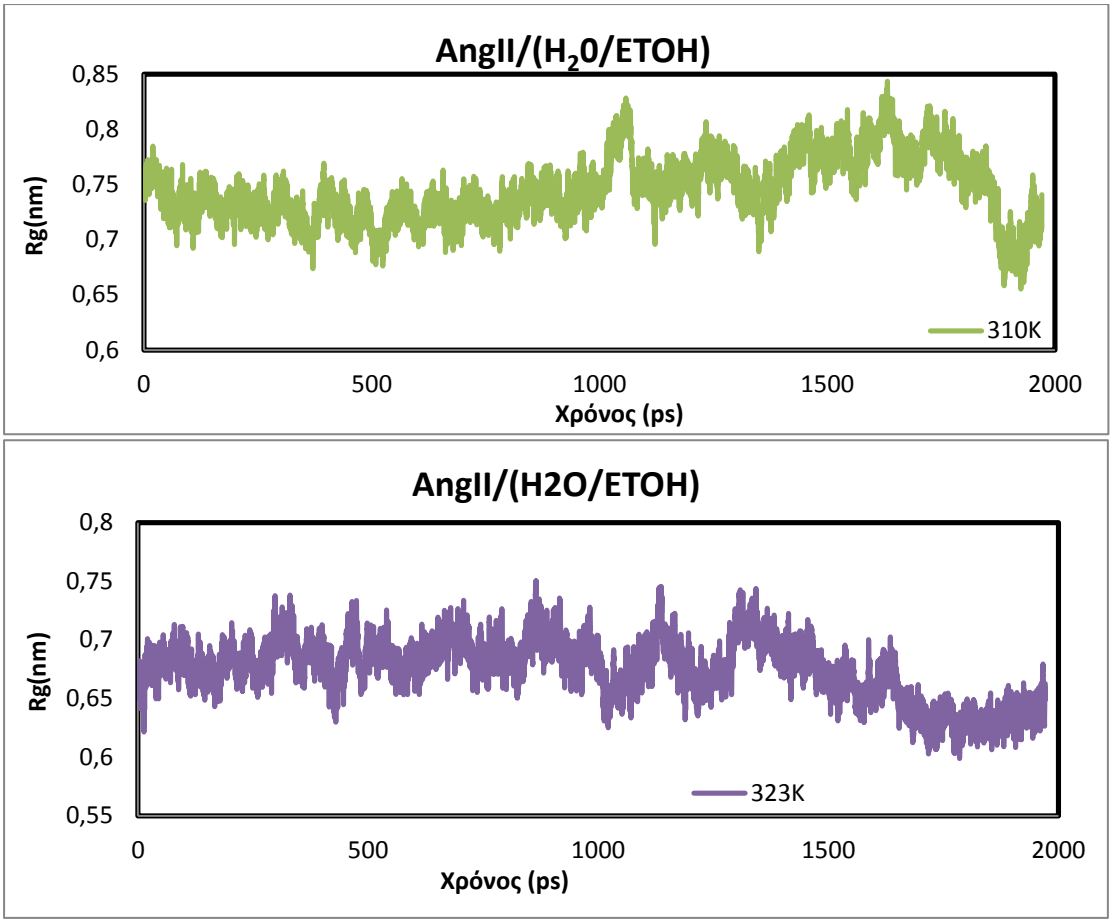


Σχήμα 6.15 *Εξάρτηση γυροσκοπικής ακτίνας του κέντρου μάζας του μορίου της AngII σε μίγμα Νερό – Αιθανόλης από την θερμοκρασία από την παρούσα εργασία.*

Από το Σχήμα 6.15, συμπεραίνουμε ότι για τις θερμοκρασίες 278, 298 και 310 K, η Rg παραμένει σχεδόν αμετάβλητη με μία πολύ μικρή ελάττωση στην έκτασή της, της τάξεως ~0.2 Å. Αυτή η διαφορά δεν μπορεί να θεωρηθεί σημαντική λόγω του μεγέθους της πρωτεΐνης. Με την αύξηση, όμως, της θερμοκρασίας στους 323K σημειώνεται ελάττωση της Rg της πρωτεΐνης της τάξεως ~0.7 Å από την προηγούμενη θερμοκρασία. Θα πρέπει να σημειωθεί στο σημείο αυτό, ότι η συμπεριφορά του εν λόγω μεγέθους δεν είναι ακόμα γνωστή για μεγαλύτερες θερμοκρασίες.







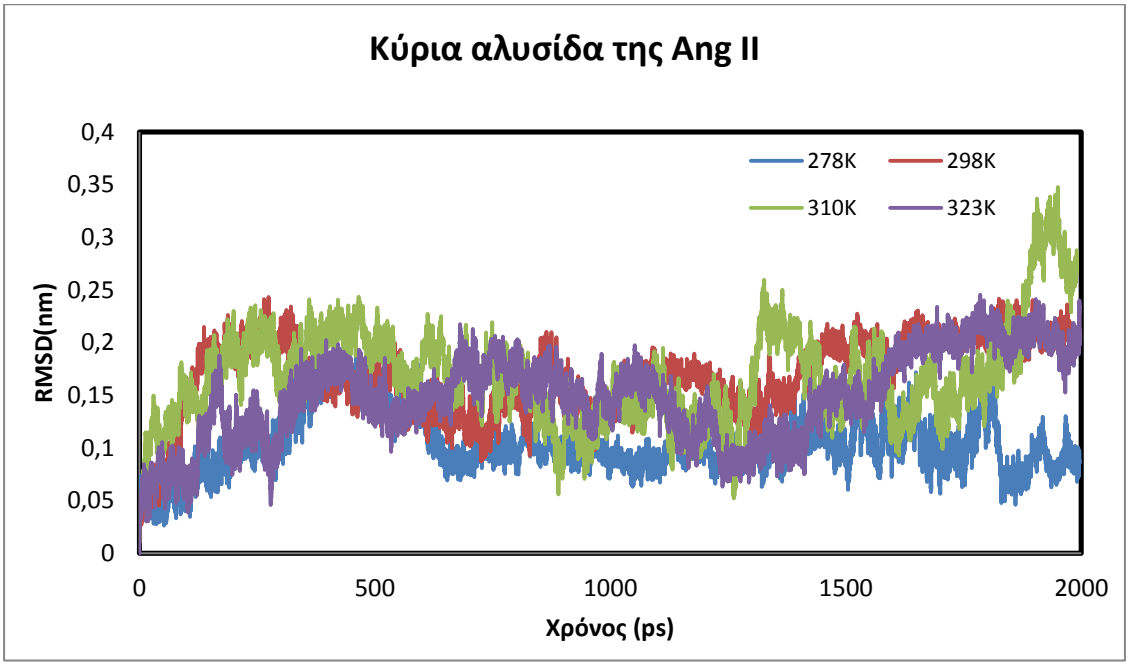
Σχήμα 6.16 *Χρονική εξάρτηση της γυροσκοπικής ακτίνας του μορίου της AngII στο μίγμα (H_2O/EtOH) σε διάφορες θερμοκρασίες.*

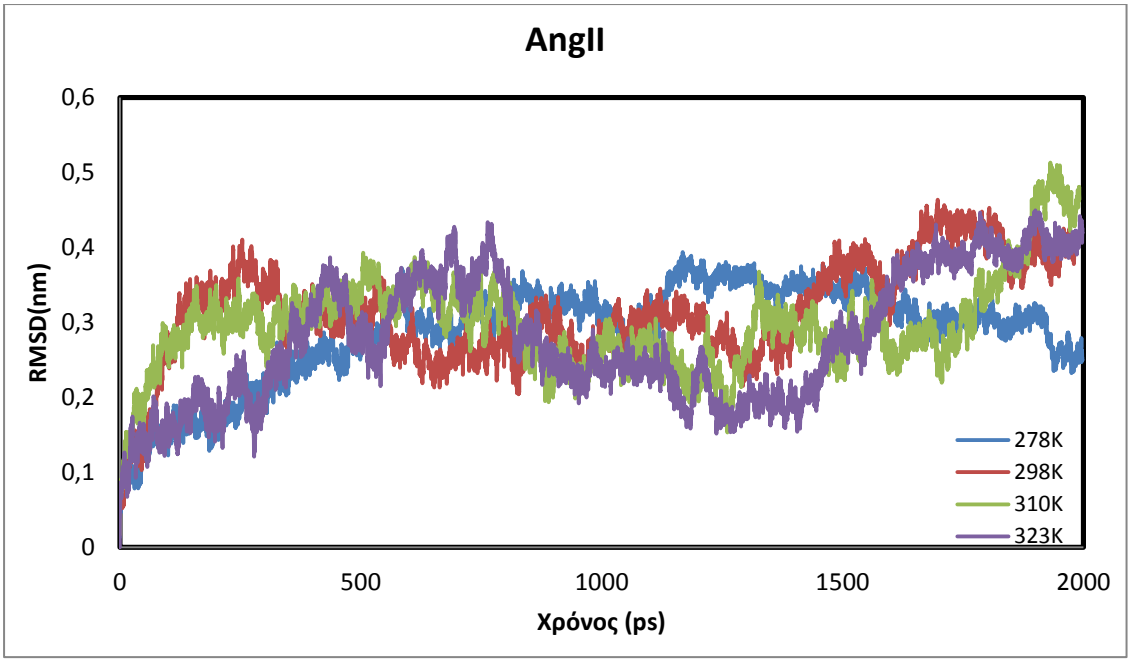
Στο Σχήμα 6.16 παρουσιάζεται η γυροσκοπική ακτίνα της πρωτεΐνης για κάθε κατάσταση (A_2, B_2, Γ_2, Δ_2) ως προς τον χρόνο προσομοίωσης του συστήματος εντός θερμοδυναμικής ισορροπίας. Από το Σχήμα αυτό είναι δυνατόν να παρατηρηθεί η χρονική εξάρτηση της διαμόρφωσης του μορίου της πρωτεΐνης για κάθε θερμοκρασία και να εξαχθούν συμπεράσματα επί του μεγέθους της χρονικής διαμόρφωσης της δομής του μορίου. Συγκεκριμένα, παρατηρούμε ότι η μέση δομή της πρωτεΐνης δεν έχει μεγάλες διακυμάνσεις στη διαμόρφωσή της σε όλες τις θερμοκρασίες που μελετάμε, γεγονός που μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι έχει υπεισέλθει ισορροπία στο σύστημα και τα πεπτίδια βρίσκονται σε ελάχιστη ενεργειακή διαμόρφωση.

6.2.3 Τετραγωνική ρίζα της Μέσης Απόκλισης της διαμόρφωσης της δομής της πρωτεΐνης (Root Mean Square Deviation, RMSD)

Σε αυτό το μέρος της εργασίας, υπολογίζεται το RMSD τόσο για τα άτομα της κύριας αλυσίδας του μορίου της AngII όσο και για ολόκληρη την πρωτεΐνη. Και σε αυτή την περίπτωση, λαμβάνουμε ως αρχική δομή αυτής, τη μέση δομή που προκύπτει στο δεύτερο στάδιο της προσομοίωσης (βλ.§5.3) καθώς το σύστημα έχει οδηγηθεί σε θερμοδυναμική

ισορροπία. Τα δύο αυτά διαφορετικά αποτελέσματα παρουσιάζονται στο Σχήμα 6.17 για διάφορες θερμοκρασίες συναρτήσει του χρόνου.





Σχήμα 6.17 *Χρονική εξάρτηση του RMSD για την κύρια αλυσίδα της AngII καθώς και για ολόκληρης της πρωτεΐνης σε μίγμα Νερό/ Αιθανόλης σε διάφορες θερμοκρασίες.*

Από το Σχήμα 6.17, παρατηρούνται αλλαγές μικρής κλίμακας καθ' όλη τη διάρκεια του χρόνου της προσομοίωσης σε όλα τα διαγράμματα, τόσο σε αυτά τα οποία αναφέρονται στην κύρια αλυσίδα της πρωτεΐνης αλλά και σε αυτά που αντιστοιχούν σε ολόκληρη την πρωτεΐνη.

Τα δεδομένα αυτά υποδηλώνουν ότι δεν υπάρχουν μεγάλες αλλαγές στην διαμόρφωση της αρχικής δομής κατά τη διάρκεια της προσομοίωσης. Συγκεκριμένα, παρατηρούμε ότι η μέση τιμή του RMSD στις προσομοιώσεις για τα άτομα της κύριας αλυσίδας σε όλες τις θερμοκρασίες είναι ~0.1 nm ενώ η αντίστοιχη μέση τιμή αυτού του μεγέθους για όλα τα άτομα της πρωτεΐνης είναι ~0.3 nm. Τα παραπάνω διαγράμματα μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι στην περίπτωση της συνολικής πρωτεΐνης, σημαντικότερη επίδραση παρατηρείται να έχουν οι πλευρικές ομάδες των αμινοξέων, οι οποίες είναι περισσότερο εύκαμπτες, με αποτέλεσμα οι διαμορφώσεις της κύριας αλυσίδας της Ang II να είναι πλησιέστερες στην αρχική δομή από ότι οι διαμορφώσεις της συνολική πρωτεΐνης.

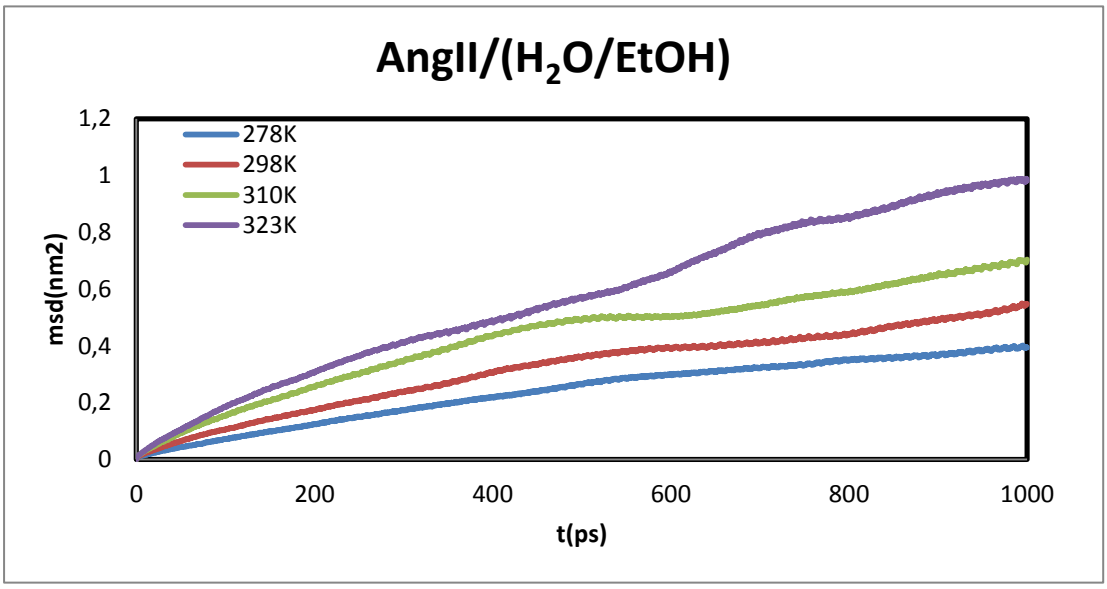
6.2.4 Συντελεστής Μεταφορικής Διάχυσης

Στο υποκεφάλαιο αυτό θα μελετήσουμε τον συντελεστή διάχυσης του κέντρου μάζας ολοκλήρου του μορίου της AngII, D_S^{AngII}, στο μίγμα Νερό/ Αιθανόλης για τις διάφορες καταστάσεις.

Τα αποτελέσματα των συντελεστών διάχυσης συνοψίζονται στον Πίνακα 6.14 και εκτίθενται στο Σχήμα 6.18.

Πίνακας 6.14 *Μετρήσεις του συντελεστή μεταφορικής διάχυσης της AngII σε μίγμα Νερό/ Αιθανόλης.*

	A_2	B_2	Γ_2	Δ_2
D ($x10^{-5}$ cm^2s^{-1})	0.50	0.60	0.80	1.10



Σχήμα 6.18 *Σύγκριση των συντελεστών μεταφορικής διάχυσης της AngII σε μίγμα Νερό/ Αιθανόλης*

Στο Σχήμα 6.18, οι τιμές του MSD υπολογίστηκαν διαδοχικά ανά 0.1 ps. Η εκτίμηση, δε, του συντελεστή διαχύσεως έγινε για το διάστημα 0 – 1000 ps. Από τα παραπάνω αποτελέσματα συμπεραίνουμε ότι όσο αυξάνεται η θερμοκρασία τόσο αυξάνεται και η διάχυση του κέντρου μάζας της πρωτεΐνης. Αυτό το φαινόμενο είναι αναμενόμενο καθόσον η διάχυση είναι αναλόγη της μέσης ταχύτητας των σωματιδίων και κατά συνέπεια της θερμοκρασίας. Επίσης, από το παραπάνω Σχήμα παρατηρούμε ότι το διάγραμμα της χρονικής εξάρτησης της msd για κάθε θερμοκρασία δεν παρουσιάζει ασυνήθιστη συμπεριφορά σε αυτό το χρονικό παράθυρο της προσομοίωσης, γεγονός που μας υποδεικνύει, σύμφωνα με άλλες ερευνητικές εργασίες, ότι σε αυτή την περιοχή χρόνου η πρωτεΐνη έχει σταθερή διαμόρφωση.

6.2.5 Πλησιέστερη Προσιτή Επιφάνεια Μακρομορίου από τα μόρια του διαλύτη (Solvent Accessible Surface, SAS)

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, με αυτή την ιδιότητα έχουμε τη δυνατότητα υπολογισμού της προσβάσιμης επιφάνειας της πρωτεΐνης ή μέρος αυτής καθώς και τον διαχωρισμό της σε υδρόφιλη και υδρόφοβη περιοχή από τα μόρια του διαλύτη. Στον Πίνακα 6.15, παρουσιάζονται οι τιμές για την ολική προσβάσιμη επιφάνεια SAS της Ang II στις διάφορες θερμοκρασίες που μελετήθηκαν καθώς επίσης και το μέγεθος της υδρόφοβης και υδρόφιλης περιοχής αυτής κάθε φορά.

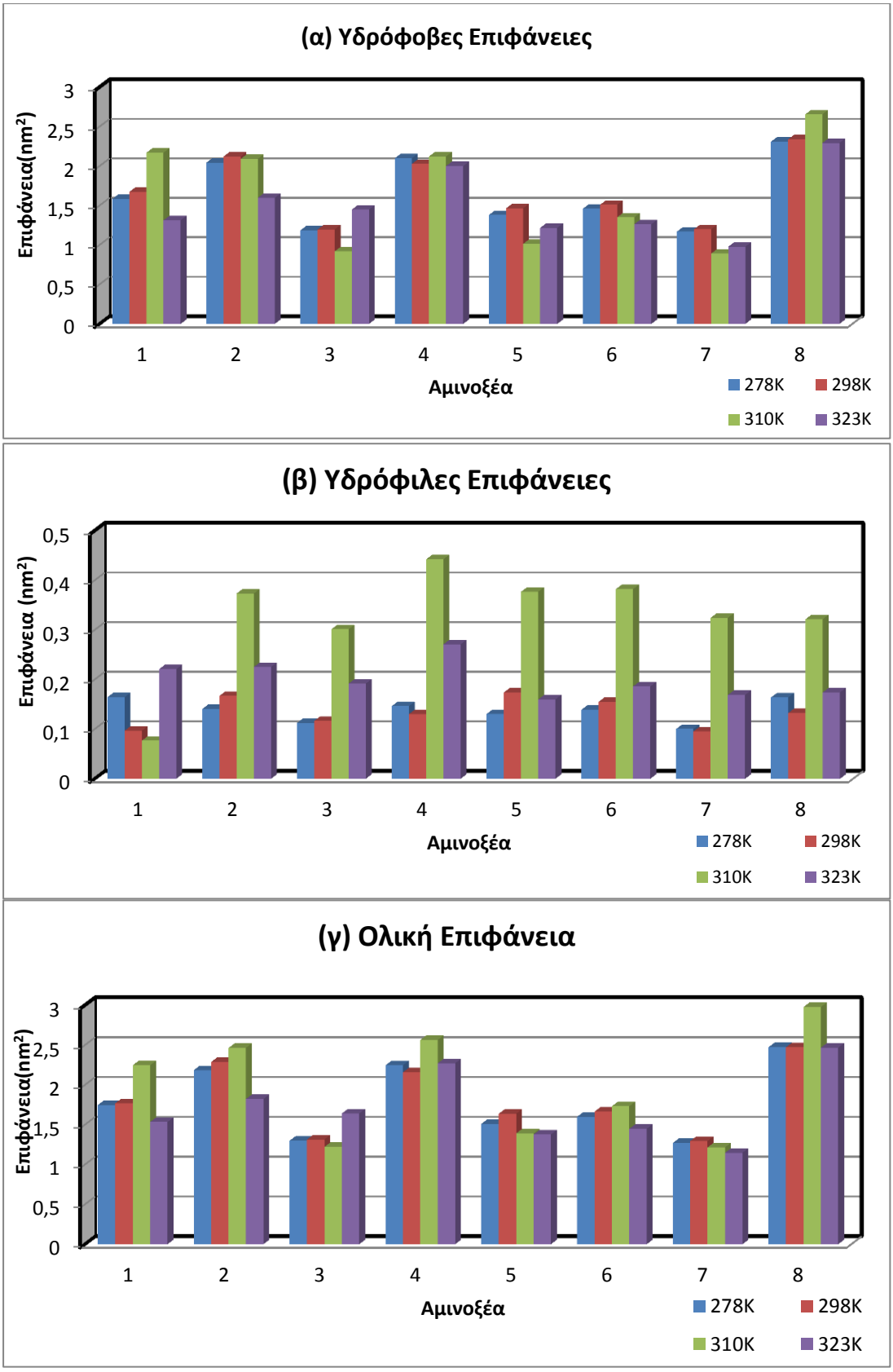
Πίνακας 6.15 *Υπολογισμοί για την Προσβάσιμη προσιτή επιφάνεια SAS καθώς και για τα υδρόφιλα και υδρόφοβα τμήματα του μορίου της AngII σε διάλυμα H_2O/EtOH.*

SAS (nm^2)	A_2	B_2	Γ_2	Δ_2
Ολική επιφάνεια	14.335	14.602	15.816	13.714
Υδρόφοβη επιφάνεια	13.237	13.534	13.216	12.115
Υδρόφιλη επιφάνεια	1.098	1.068	2.600	1.599

Από τα δεδομένα του Πίνακα 6.15, μπορούμε να εξάγουμε μερικές χρήσιμες πληροφορίες που αφορούν την επιδιαλύτωση της Ang II συναρτήσει της θερμοκρασίας από τα μόρια του διαλύτη. Τέτοιες πληροφορίες μπορούν να μας οδηγήσουν σε συμπεράσματα σχετικά με την επίδραση των μορίων του διαλύτη στην αναδίπλωση του μακρομορίου εξαιτίας των αλληλεπιδράσεων μεταξύ αυτών. Συγκεκριμένα, από τα δεδομένα αυτά διαφαίνεται ότι για τις τρεις θερμοκρασίες 278, 298 και 310 K η προσβάσιμη επιφάνεια SAS του μορίου στα μόρια του διαλύτη αυξάνεται με αύξηση της θερμοκρασίας ενώ παρουσιάζει και σημαντική αύξηση της υδρόφιλης επιφάνειας για την θερμοκρασία των 310K. Επίσης, παρατηρείται μία ραγδαία μείωση στην υψηλότερη θερμοκρασία των 323K. Αυτή η συμπεριφορά έρχεται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα που παρουσιάσαμε για την γυροσκοπική ακτίνα R_g, όπου

παρουσιάζεται μία αντίστοιχη σημαντική μεταβολή του ξεδιπλώματος του μορίου στους 323K. Τελικά, από τις τιμές του τμήματος της SAS που αντιστοιχεί στο υδρόφοβο και στο υδρόφιλο μέρος της πρωτεΐνης παρατηρούμε τα εξής: Σε κάθε θερμοκρασία, το υδρόφοβο μέρος της SAS είναι συστηματικά μεγαλύτερο του αντιστοίχου υδρόφιλου με αντίστοιχο λόγο 12.054, 12.671, 5.083 και 7.576 φορές του υδρόφοβου προς το υδρόφιλο μέρος.

Στα διαγράμματα που ακολουθούν μέσω του Σχήματος 6.19 α, β, γ παρουσιάζονται με τη μορφή ιστογραμμάτων τα αποτελέσματα εκτίμησης της υδρόφοβης, της υδρόφιλης και της συνολικής επιφάνειας SAS του κάθε αμινοξέος χωριστά συναρτήσει της θερμοκρασίας μέσω διαφορετικών χρωμάτων. Οι αριθμοί 1 – 8 κατά σειρά αντιστοιχούν στα οκτώ αμινοξέα της AngII (Asp, Arg, Tyr,Val, Ile, His, Pro, Phe).



Σχήμα 6.19 *Σύγκριση της συμπεριφοράς επιδιαλύτωσης των αμινοξέων του μορίου της AngII σε διάλυμα H_2O/EtOH σε διάφορες θερμοκρασίες. Τα διαγράμματα αναφέρονται στην (α) υδρόφοβη, (β) υδρόφιλη καθώς και (γ) στην συνολική επιφάνεια SAS της πρωτεΐνης. Στο σχήμα, με το 1 συμβολίζεται το αμινοξύ Asp, με το 2 το Arg κ.ο.κ.*

Από τα παραπάνω ιστογράμματα, μπορούμε εύκολα να διαπιστώνουμε ότι η προσβάσιμη προσιτή επιφάνεια των αμινοξέων της πρωτεΐνης είναι στο μεγαλύτερο τους μέρος υδρόφοβη. Αυτό έρχεται σε πλήρη συμφωνία με τα αποτελέσματα του Πίνακα 6.15, που μας δείχνουν ότι γενικά η προσβάσιμη επιφάνεια της πρωτεΐνης είναι και αυτή στο μεγαλύτερό της μέρος υδρόφοβη. Συγκεκριμένα, από το Σχήμα 6.6(α), παρατηρούμε ότι για όλες τις θερμοκρασίες που μελετήσαμε η μικρότερη τιμή για την υδρόφοβή περιοχή των αμινοξέων του μορίου της AngII είναι η Pro ενώ, αντίθετα, το αμινοξύ με την περισσότερη υδρόφοβη περιοχή είναι η Phe σε όλες τις θερμοκρασίες. Επίσης, από το διάγραμμα αυτό φαίνεται ότι για την θερμοκρασία των 323K έχουμε σε όλα τα αμινοξέα μικρότερη υδρόφοβη περιοχή σε σχέση με τις άλλες θερμοκρασίες, με εξαίρεση την Tyr που η υδρόφοβη περιοχή της αυξάνει σε αυτήν την θερμοκρασία.

Από το Σχήμα 6.6(β) είναι εύκολο να παρατηρήσουμε ότι για όλα τα αμινοξέα εκτός από την Asp, η επιφάνεια της υδρόφιλης περιοχής είναι πολύ μεγαλύτερη στους 310K σε σχέση με τις άλλες θερμοκρασίες. Επιπρόσθετα, οι επιφάνειες αυτές για τις θερμοκρασίες 278, 298K είναι περίπου ισοδύναμες με κάποιες αυξομειώσεις. Αυτό που πρέπει να σημειώσουμε, επίσης, από αυτό το διάγραμμα είναι ότι οι επιφάνειες αυτές για την θερμοκρασία 323K είναι οι δεύτερες μεγαλύτερες κάτι που έρχεται σε αντιδιαστολή με την περίπτωση των υδρόφοβων περιοχών που ήταν κατά βάση οι μικρότερες. Σε αυτό οφείλεται και το μικρό ποσοστό που βρήκαμε προηγουμένως μεταξύ υδρόφοβων/ υδρόφιλων περιοχών.

Τέλος, από το Σχήμα 6.6(γ) παρατηρούμε ότι η συνολική προσβάσιμη επιφάνεια SAS είναι μεγαλύτερη στην Phe και μικρότερη στην Pro για όλες τις θερμοκρασίες. Γενικά, η συμπεριφορά είναι παρόμοια σε όλες τις θερμοκρασίες, εκτός από την θερμοκρασία των 323K που είναι μικρότερη σε όλα τα αμινοξέα εκτός από την Tyr.

6.2.6 Μέσες αποστάσεις μεταξύ χαρακτηριστικών ομάδων της Αγγειοτενσίνης ΙΙ

Με σκοπό την καλύτερη διερεύνηση της δομής της AngII, μελετήθηκαν κάποιες αποστάσεις χαρακτηριστικών ομάδων του πεπτιδίου. Αυτές οι αποστάσεις, είναι οι ίδιες που μελετήθηκαν και στην §6.1.6.

Πίνακας 6.16 *Αποστάσεις μεταξύ χαρακτηριστικών ομάδων της Αγγειοτενσίνης ΙΙ σε μίγμα Νερό/ Αιθανόλης σε διάφορες θερμοκρασίες,*

D(nm)	**A_2**	**B_2**	**Γ_2**	**Δ_2**
H(Tyr)-N_d(His)	0.873	1.355	1.076	1.282
N_E(His)-O_1(Phe)	0.504	0.605	0.997	0.984
H(Tyr)-N_{21}(Arg)	1.418	1.543	1.420	1.527
H(Tyr)-N_{22}(Arg)	1.443	1.513	1.428	1.404
N_d(His)-O_1(Phe)	0.592	0.579	0.980	0.986
N_d(His)-O_2(Phe)	0.637	0.677	0.987	0.966
H(Tyr)-N_E(His)	1.021	1.430	1.128	1.408

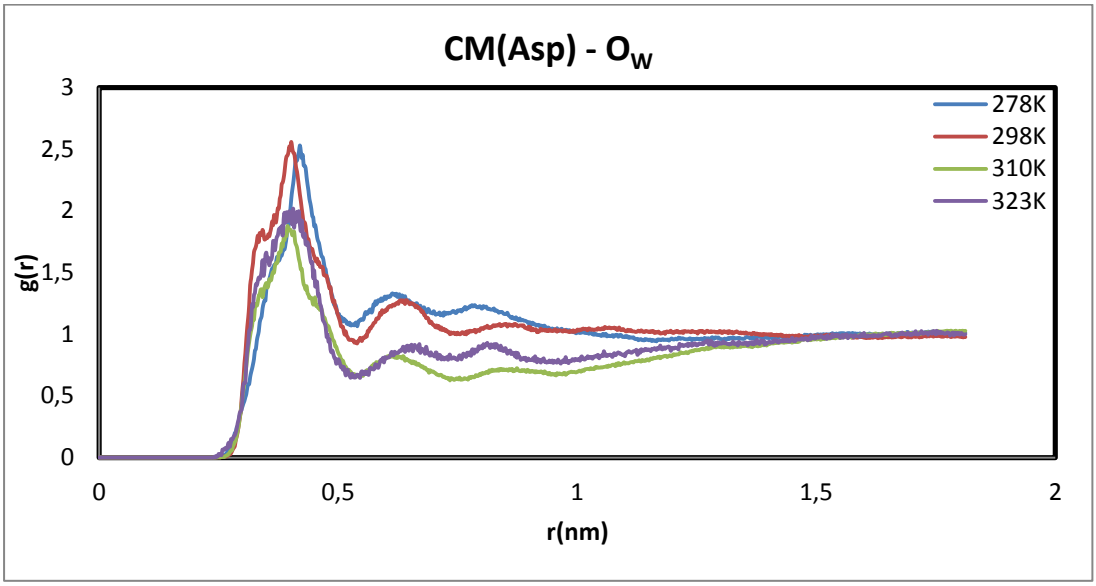
Από τον Πίνακα 6.16, και έχοντας υπόψη μας το Σχήμα 6.7 της §6.1.6, μπορούμε να βγάλουμε τις εξής χρήσιμες πληροφορίες για την διαμόρφωση της δομής της Ang II στο μίγμα H_2O / EtOH, οι οποίες θα μας βοηθήσουν στην κατανόηση και συζήτηση των απεικονίσεων της δομής της πρωτεΐνης που θα ακολουθήσει.

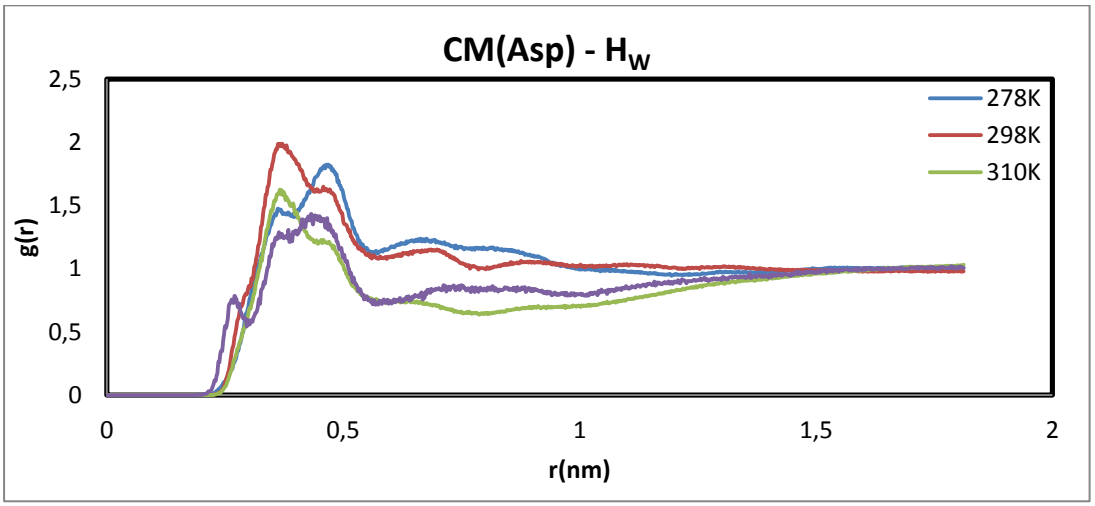
Το πρώτο συμπέρασμα που μπορούμε να βγάλουμε από τον Πίνακα 6.16 είναι ότι οι δομές μεταξύ των καταστάσεων A_2 – B_2 και αντίστοιχα Γ_2 – Δ_2 έχουν παρόμοια συμπεριφορά. Συγκεκριμένα, από τα παραπάνω αποτελέσματα φαίνεται ότι η απόσταση της His με την Phe αυξάνει με την αύξηση της θερμοκρασίας. Επιπλέον, όσον αφορά την απόσταση της Tyr με την Arg είναι παρόμοια σε όλες τις θερμοκρασίες. Τέλος, παρατηρούμε ότι η απόσταση της Tyr με την His αυξάνει με την αύξηση της θερμοκρασίας εκτός από την περίπτωση των 298K που παρατηρείται μία μεγάλη αύξηση που προκαλεί ασυνέχεια σε αυτήν την τάση.

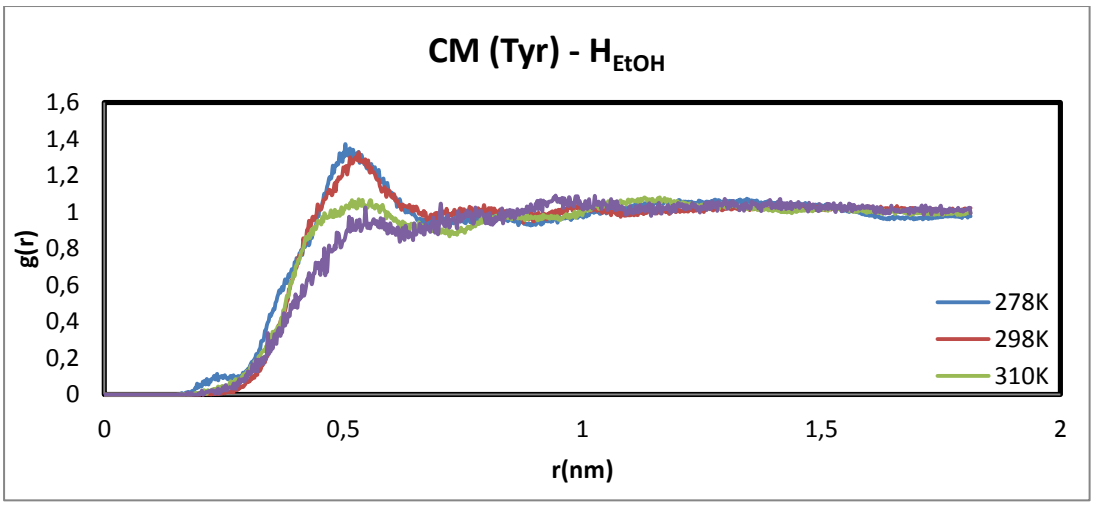
6.2.7 Ιδιότητες Μέσης Διαμοριακής Δομής

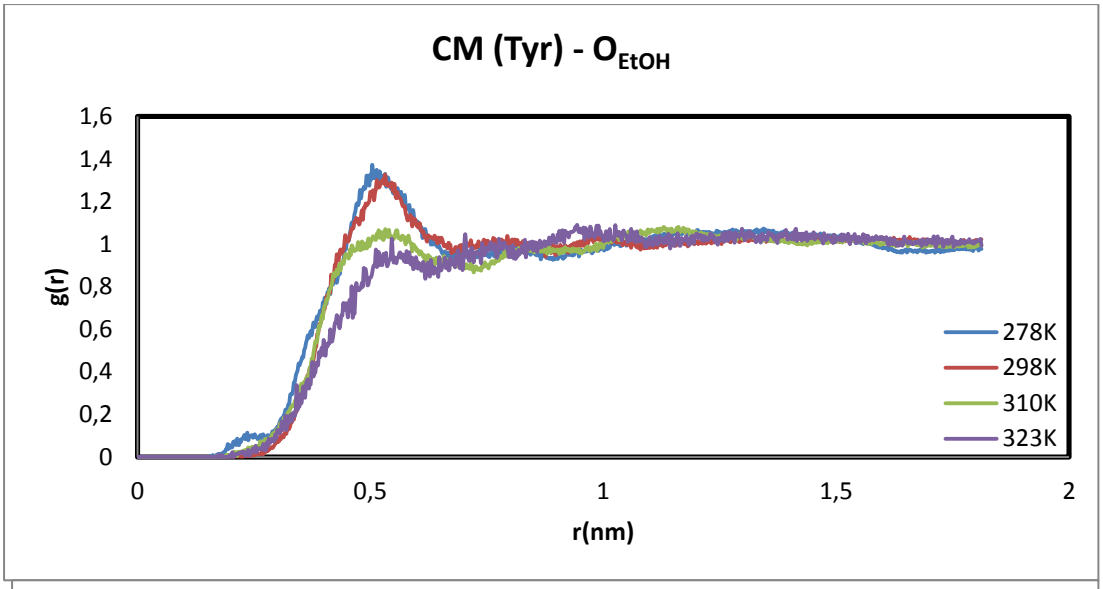
Όπως αναφέραμε και προηγουμένως, οι ακτινικές συναρτήσεις κατανομής μέσης διαμοριακής δομής που εξετάστηκαν, καθορίζονται από το κέντρο μάζης του κάθε αμινοξέος του μορίου της πρωτεΐνης με το οξυγόνο, O_W, και το υδρογόνο, H_W, του διαλύτη. Εκτός των ανωτέρων, εξετάστηκαν συναρτήσεις αυτού του είδους για χαρακτηριστικά άτομα επί των αμινοξέων της πρωτεΐνης με το O_W, και το H_W του μορίου του διαλύτη. Συγκεκριμένα μελετήθηκαν τα άτομα N_{12} της Arg, το H_{11} της Arg, το H και το O της Tyr,το και τα O_1 και O_2 της Phe.

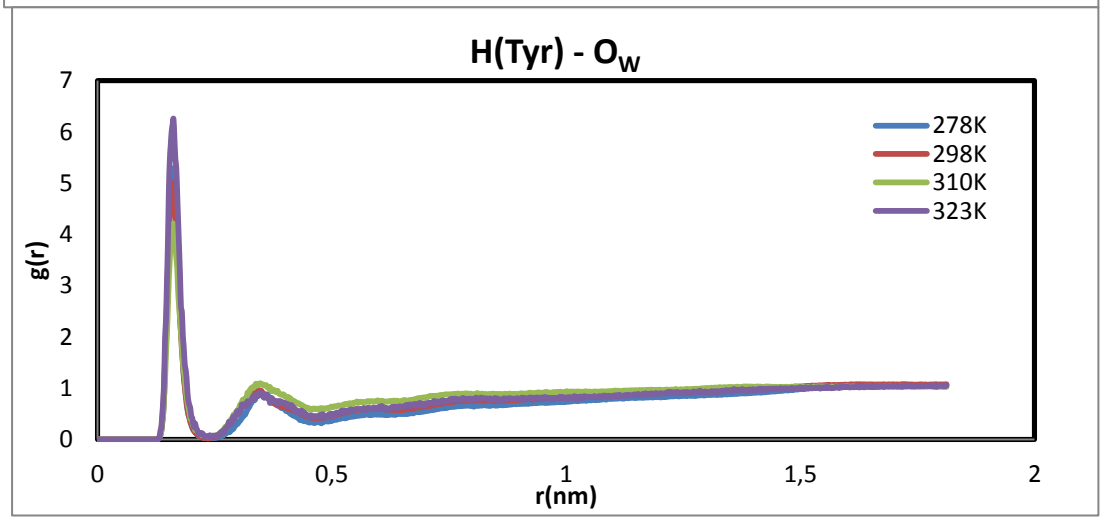
Για λόγους συντομίας παραθέτουμε κάποιες ενδεικτικές γραφικές παραστάσεις για αυτά τα συστήματα και στην συνέχεια παραθέτουμε τους αντίστοιχους πίνακες με τα κύρια χαρακτηριστικά (ένταση, θέση) του πρώτου μεγίστου της συνάρτησης αυτής.

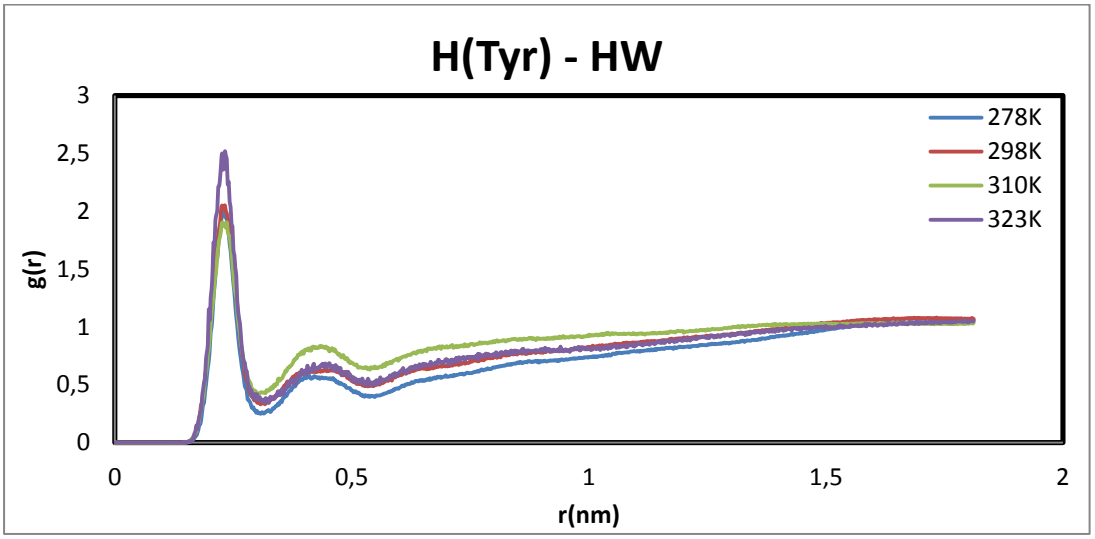












Σχήμα 6.20 *Ενδεικτικές συναρτήσεις διαμοριακής δομής των κέντρων μάζης των αμινοξέων του μορίου της AngII με το οξυγόνο και το υδρογονου του Νερού και το οξυγόνο και υδρογόνο της αιθανόλης του μίγματος H_2O/EtOH για διάφορες θερμοκρασίες*

Από τις γραφικές παραστάσεις του Σχήματος 6.20, φαίνεται ότι υπάρχει μεγάλη επίδραση της θερμοκρασίας στο σύστημα με αποτέλεσμα να παρουσιάζονται σημαντικές αυξομειώσεις περισσότερο στην ένταση του πρώτου μεγίστου της g(r) των διαφόρων ομάδων που μελετήθηκαν.

Στη συνέχεια ακολουθούν πίνακες με τα χαρακτηριστικά (ένταση, θέση) του πρώτου μεγίστου των συναρτήσεων αυτών έτσι ώστε να γίνει και μία ποσοτική μελέτη των ιδιοτήτων αυτών.

Πίνακας 6.17 *Χαρακτηριστικά (ένταση, θέση) του πρώτου μεγίστου της συναρτήσεως κατανομής των κέντρων μάζης αμινοξέων του μορίου της AngII με το O_W του νερού για διάφορες θερμοκρασίες*

	ASP		**ARG**		**VAL**		**TYR**	
	g(r)	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**
A_2	2.481	0.422	1.372	0.410	0.531	0.578	0.692	0.572
B_2	2.560	0.402	1.249	0.422	0.356	0.358	0.556	0.582
Γ_2	1.878	0.394	0.869	0.384	0.345	0.360	0.616	0.582
Δ_2	2.019	0.406	0.974	0.376	0.911	0.362	0.805	0.582
	ILE		**HIS**		**PRO**		**PHE**	
	g(r)	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**
A_2	0.471	0.398	0.523	0.320	0.414	0.528	0.890	0.432
B_2	0.600	0.522	0.965	0.426	0.853	0.358	1.086	0.422
Γ_2	0.391	0.526	0.591	0.576	0.724	0.470	0.965	0.436
Δ_2	0.470	0.422	0.542	0.386	0.827	0.448	1.044	0.420

Πίνακας 6.18 *Χαρακτηριστικά (ένταση, θέση) του πρώτου μεγίστου της συναρτήσεως κατανομής των κέντρων μάζης αμινοξέων του μορίου της AngII με το H_W του νερού για διάφορες θερμοκρασίες.*

	ASP		**ARG**		**VAL**		**TYR**	
	g(r)	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**
A_2	1.823	0.464	1.258	0.456	0.418	0.500	0.536	0.626
B_2	1.989	0.370	1.055	0.454	0.385	0.432	0.480	0.672
Γ_2	1.626	0.366	0.681	0.452	0.355	0.418	0.544	0.660
Δ_2	1.434	0.432	1.018	0.480	0.533	0.420	0.649	0.554
	ILE		**HIS**		**PRO**		**PHE**	
	g(r)	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**
A_2	0.376	0.418	0.418	0.266	0.440	0.428	0.870	0.402
B_2	0.518	0.500	0.302	0.288	0.908	0.408	1.042	0.386
Γ_2	0.378	0.506	0.183	0.300	0.670	0.480	0.920	0.408
Δ_2	0.446	0.458	0.428	0.302	0.815	0.478	1.011	0.412

Με σύγκριση των τιμών του πρώτου μεγίστου των συναρτήσεων g(r) από τους Πίνακες 6.17, 6.18, εξάγουμε τα ακόλουθα συμπεράσματα: Αρχικά, παρατηρούμε ότι όλες οι συναρτήσεις g(r) και για κάθε κατάσταση, έκτος αυτών που αντιστοιχούν στα αμινοξέα Asp, Arg και Phe, έχουν τιμές προ του πρώτου μεγίστου μικρότερες από τη μονάδα. Επιπλέον, παρατηρούμε ότι τα άτομα των μορίων του νερού, τόσο το O_W όσο και το H_W, πλησιάζουν περισσότερο στην His με θέση εντοπισμού του πρώτου μεγίστου από 0.320 – 0.582 nm και 0.266 – 0.302 nm αντίστοιχα, ενώ έχουν τη μεγαλύτερη απόσταση με την Tyr, και συγκεκριμένα από 0.572 – 0.582 και 0.554 – 0.672 nm αντίστοιχα. Τα υπόλοιπα αμινοξέα έχουν παραπλήσια απόσταση από τα άτομα των μορίων του νερού και περίπου 0.4 nm.

Επιπρόσθετα, με μελέτη της έντασης του πρώτου μεγίστου των συναρτήσεων g(r) διαπιστώνουμε ότι έχουν παρόμοια συμπεριφορά και στα δύο είδη ατόμων των μορίων του νερού. Συγκεκριμένα, παρατηρούμε ότι η Asp έχει την μεγαλύτερη ένταση και ακολουθούν στην αλληλουχία η Arg και η Phe. Τα υπόλοιπα αμινοξέα έχουν παρόμοιες τιμές για την ένταση του πρώτου μεγίστου της g(r). Επομένως, από την ολοκλήρωση των εν λόγω συναρτήσεων g(r) μέχρι του πρώτου ελαχίστου αυτών παρατηρούμε ότι ο αριθμός των ατόμων που περιβάλλουν κάθε αμινοξύ είναι διαφορετικός και μεγαλύτερος σε αυτά τα αμινοξέα.

Στη συνέχεια ακολουθούν οι Πίνακες 6.19 και 6.20 στον οποίο αναγράφονται τα χαρακτηριστικά (ένταση, θέση) των συναρτήσεων για χαρακτηριστικές ομάδες της πρωτεΐνης.

Πίνακας 6.19 *Χαρακτηριστικά (ένταση, θέση) του πρώτου μεγίστου της συναρτήσεως κατανομής των κέντρων μάζης χαρακτηριστικών ομάδων του μορίου της AngII με το O_W του νερού και το O_E της EtOH για διάφορες θερμοκρασίες.*

	N_{12}(Arg)				H_{12}(Arg)				O(Tyr)			
	O_W		O_E		O_W		O_E		O_W		O_E	
	g(r)	r(nm)	g(r)	r(nm)	g(r)	r(nm)	g(r)	r(nm)	g(r)	r(nm)	g(r)	r(nm)
A_2	3.045	0.276	1.834	0.276	2.977	0.178	1.152	0.182	3.127	0.266	3.819	0.268
B_2	3.277	0.276	1.170	0.274	2.906	0.180	1.362	0.176	3.224	0.266	2.780	0.266
Γ_2	2.359	0.276	2.740	0.276	2.047	0.176	2.682	0.174	2.924	0.266	3.322	0.264
Δ_2	3.157	0.276	1.584	0.276	2.346	0.180	2.099	0.178	3.618	0.264	2.386	0.268
	H(Tyr)				O_1(Phe)				O_2(Phe)			
	O_W		O_E		O_W		O_E		O_W		O_E	
	g(r)	r(nm)	g(r)	r(nm)	g(r)	r(nm)	g(r)	r(nm)	g(r)	r(nm)	g(r)	r(nm)
A_2	5.289	0.160	4.474	0.160	4.425	0.254	10.491	0.252	7.311	0.254	5.451	0.254
B_2	5.023	0.160	4.042	0.162	8.300	0.254	2.643	0.254	7.115	0.256	4.709	0.254
Γ_2	4.207	0.162	5.011	0.160	5.797	0.256	7.043	0.254	5.398	0.256	7.065	0.256
Δ_2	6.249	0.162	1.871	0.158	6.381	0.256	5.712	0.256	6.790	0.256	4.928	0.256

Πίνακας 6.20 *Χαρακτηριστικά (ένταση, θέση) του πρώτου μεγίστου της συναρτήσεως κατανομής των κέντρων μάζης χαρακτηριστικών ομάδων του μορίου της AngII με το H_W του νερού και το H_E της EtOH για διάφορες θερμοκρασίες.*

	N_2(Arg)				**H_2(Arg)**				**O(Tyr)**			
	H_W		**H_E**		**H_W**		**H_E**		**H_W**		**H_E**	
	g(r)	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**
A_2	1.959	0.336	1.516	0.336	1.532	0.246			1.237	0.176	4.969	0.180
B_2	1.960	0.334	1.098	0.326	1.424	0.244	0.849	0.236	1.475	0.176	2.604	0.182
Γ_2	1.280	0.332	1.882	0.330	0.926	0.246	1.483	0.246	1.420	0.180	2.829	0.178
Δ_2	2.141	0.346	9.032	0.322	1.307	0.244	0.980	0.234	1.197	0.178	3.436	0.182
	H(Tyr)				**O_1(Phe)**				**O_2(Phe)**			
	H_W		**H_E**		**H_W**		**H_E**		**H_W**		**H_E**	
	g(r)	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**	**g(r)**	**r(nm)**
A_2	1.992	0.230	2.923	0.226	5.304	0.158	3.536	0.158	8.731	0.158	5.821	0.158
B_2	2.050	0.232	2.414	0.226	5.866	0.160	6.553	0.158	8.405	0.158	10.848	0.162
Γ_2	1.905	0.236	2.843	0.232	6.720	0.156	15.867	0.162	6.274	0.158	15.987	0.162
Δ_2	2.515	0.232	2.028	0.234	7.469	0.158	12.576	0.162	7.884	0.158	11.060	0.162

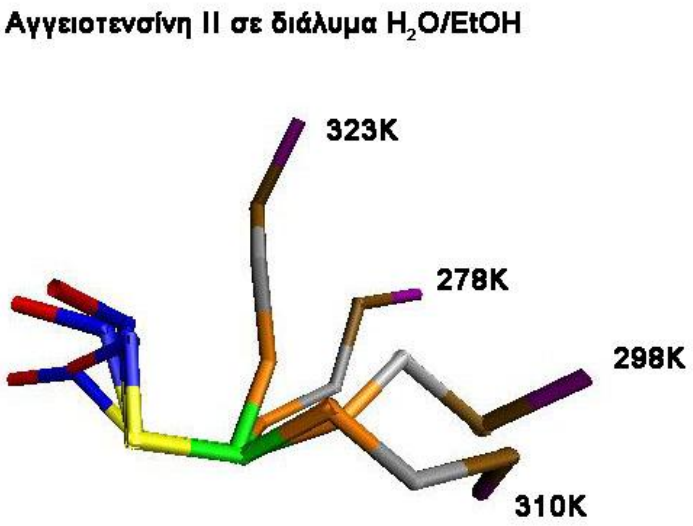
Γενικά, από τους παραπάνω Πίνακες μπορούμε να διαπιστώσουμε ότι οι περισσότερες χαρακτηριστικές ομάδες, που αναλύσαμε παραπάνω, αλληλεπιδρούν με τα άτομα του νερού άλλες ασθενέστερα και άλλες ισχυρότερα. Συγκεκριμένα, παρατηρούμε ότι το οξυγόνο της Tyr πλησιάζει περισσότερο τα άτομα του οξυγόνου του νερού και η θέση εντοπισμού του πρώτου μεγίστου κυμαίνεται από 0.160 – 0.162 nm και η ένταση του κυμαίνεται από 4.207 – 6.249. Στην συνέχεια, εντοπίζονται το H_{11}(Arg) στα 0.176 – 0.180 nm και η ένταση του πρώτου μεγίστου της συνάρτησης αυτής από 2.047 – 2.977 και ακολουθούν τα οξυγόνα στην Phe (O_1 και O_2) με θέση εντοπισμού του πρώτου μεγίστου από 0.254 – 0.256 nm και ένταση στα 4.425 – 8.300 και 5.398 – 7.311 αντίστοιχα. Αυτές οι χαρακτηριστικές ομάδες φαίνεται ότι αλληλεπιδρούν πολύ ισχυρά με τα άτομα του οξυγόνου του νερού. Οι αντίστοιχες γραφικές παραστάσεις για τις ακτινικές συναρτήσεις κατανομής, μας οδηγούν στο συμπέρασμα ότι δημιουργείται δεσμός υδρογόνου μεταξύ των ατόμων αυτών και ανάλογα με την θερμοκρασία παρατηρούμε ότι είναι σταθερότερος ή ασθενέστερος. Για τις υπόλοιπες ομάδες η συμπεριφορά είναι ανάλογη σε όλες τις θερμοκρασίες και δεν παρατηρούνται μεγάλες αλληλεπιδράσεις. Από την άλλη πλευρά, αν συγκρίνουμε τα παραπάνω αποτελέσματα με τα αντίστοιχα που προκύπτουν από την αλληλεπίδραση των χαρακτηριστικών ομάδων με το οξυγόνο των μορίων της αιθανόλης, διαπιστώνουμε ότι οι θέσεις των πρώτων μεγίστων της συνάρτησης g(r) σε όλες τις περιπτώσεις είναι οι ίδιες που παρατηρήθηκαν και στις αντίστοιχες περιπτώσεις του ατόμου του οξυγόνου του νερού. Επιπρόσθετα, διαπιστώνουμε ότι η ένταση των πρώτων μεγίστων σε όλες τις περιπτώσεις είναι μεγαλύτερη για τα άτομα του οξυγόνου του νερού. Τέλος, από τα αποτελέσματα του Πίνακα 6.19 διαφαίνεται ότι η ένταση του πρώτου μεγίστου της g(r) στην περίπτωση του ατόμου του οξυγόνου της αιθανόλης έχει μεγαλύτερο εύρος τιμών από ότι του νερού.

Αντίστοιχες συμπεριφορές έχουμε και στην περίπτωση του υδρογόνου του νερού με τις χαρακτηριστικές αυτές ομάδες. Στην περίπτωση αυτή, τα άτομα του οξυγόνου της Phe (O_1 και O_2) πλησιάζουν περισσότερο και ισχυρότερα τα άτομα του υδρογόνου του νερού. Συγκεκριμένα, η θέση εντοπισμού του πρώτου μεγίστου είναι από 0.156 – 0.160 nm και η ένταση του μεγίστου της γραφικής τους παράστασεις κυμαίνεται από 5.304 – 7.469 και 6.274 – 8.731 αντίστοιχα. Στην συνέχεια ακολουθούν τα άτομα του υδρογόνου και του οξυγόνου της Tyr, με θέση εντοπισμού του πρώτου μεγίστου τα 0.182 – 0.190 και 0.230 – 0.236 nm και η έντασή του στα 0.860 – 1.778 και 1.905 – 2.515 αντίστοιχα. Για τις υπόλοιπες ομάδες δεν παρατηρούνται μεγάλες αλληλεπιδράσεις. Από την άλλη πλευρά, με σύγκριση των αποτελεσμάτων αυτών με τα αντίστοιχα για τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ του υδρογόνου της αιθανόλης προκύπτουν τα εξής συμπεράσματα: Αρχικά από τον Πίνακα 6.20 διαφαίνεται ότι οι θέσεις εντοπισμού του πρώτου μεγίστου της συνάρτησης g(r) είναι σχεδόν οι ίδιες και στις δύο περιπτώσεις με πολύ μικρές διακυμάνσεις. Επιπρόσθετα, παρατηρούμε ότι η ένταση του

πρώτου μεγίστου είναι μεγαλύτερη στην περίπτωση του υδρογόνου των μορίων της αιθανόλης για τις περισσότερες περιπτώσεις. Επομένως, από την ολοκλήρωση των εν λόγω συναρτήσεων g(r) μέχρι του πρώτου ελαχίστου αυτών παρατηρούμε ότι ο αριθμός των ατόμων υδρονόγου της αιθανόλης που περιβάλλουν αυτά τα χαρακτηριστικά άτομα της πρωτεΐνης είναι μεγαλύτερος από τον αντίστοιχο των υδρογόνων του νερού.

6.2.8 Χαρακτηριστικές διαμορφώσεις – απεικονίσεις της κύριας αλυσίδας (backbone) του πεπτιδίου – Διερεύνηση των αποτελεσμάτων

Στο παρακάτω Σχήμα παραθέτουμε τις διαμορφώσεις – απεικονίσεις της κύριας αλυσίδας της AngII, από τις τροχιές μέσω της προσομοίωσης των συστημάτων που μελετάμε με τη βοήθεια του Μοριακών γραφημάτων από το πρόγραμμα VMD (Virtual Molecular Dynamics).



Σχήμα 6.21 *Σύγκριση της συμπεριφοράς χαρακτηριστικών απεικονίσεων της κύριας αλυσίδας του μορίου της AngII στο μίγμα H_2O/EtOH για διάφορες θερμοκρασίες.*

Από το Σχήμα 6.21 φαίνεται η τάση του μορίου να ξεδιπλωθεί για τις θερμοκρασίες 278, 298, 310 K ενώ αντίθετα φαίνεται η αναδίπλωση του μορίου στους 323K. Αυτή η χαρακτηριστική συμπεριφορά του μορίου έρχεται σε απόλυτη συμφωνία με τα αποτελέσματα που έχουμε αναφέρει σε αυτήν την παράγραφο.

6.3 Σύγκριση συστημάτων της Αγγειοτενσίνης ΙΙ στους διαφορετικούς διαλύτες

Σε αυτό το μέρος της εργασίας, θα συγκρίνουμε τα αποτελέσματα που παρήχθησαν στα δύο συστήματα υπό μελέτης στις διαφορετικές θερμοκρασίες.

6.3.1 Γυροσκοπική ακτίνα (Radius of Gyration) R_g

Η τιμή της R_g ορίζεται από τη μέση απόσταση των ατόμων της πρωτεΐνης από το κέντρο μάζας της. Κατά συνέπεια, αυτό το μέγεθος μας δίνει μία εικόνα για την έκταση της πρωτεΐνης. Στον πίνακα 6.21, συνοψίζονται οι τιμές της R_g για την AngII στα διαφορετικά συστήματα που μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη για τις διάφορες θερμοδυναμικές καταστάσεις.

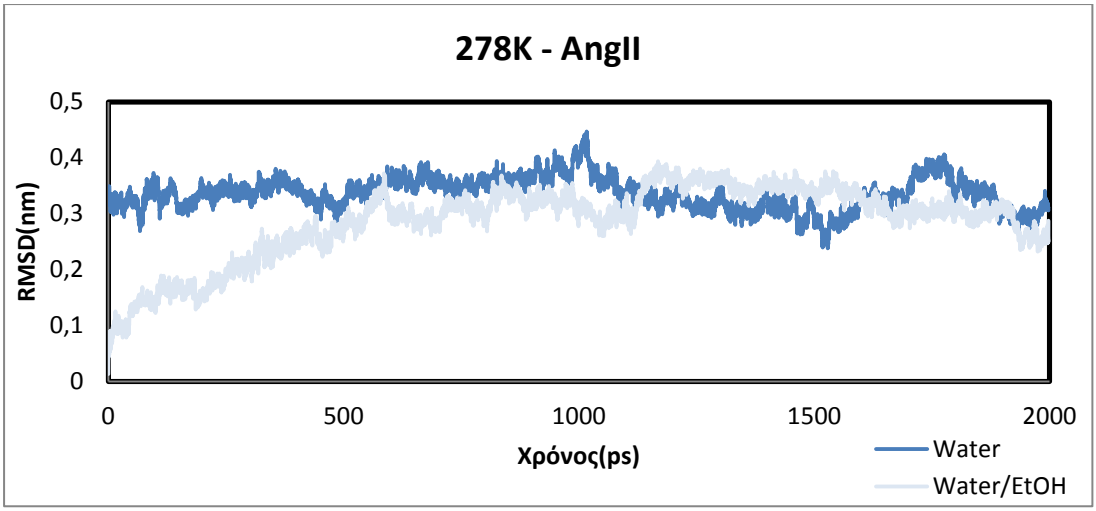
Πίνακας 6.21 *Μετρήσεις της γυροσκοπική ακτίνα της Αγγειοτενσίνης ΙΙ σε καθαρό Νερό και σε μίγμα Νερό/Αιθανόλη για διάφορες θερμοκρασίες.*

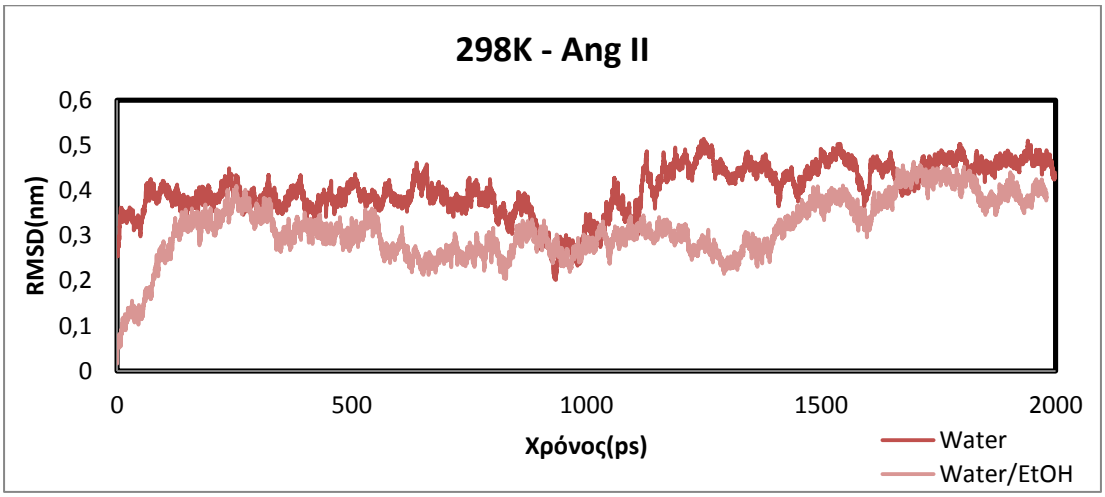
$R_g(nm)$	Νερό	Νερό/EtOH
278K	0.667	0.768
298K	0.686	0.759
310K	0.692	0.745
323K	0.715	0.675

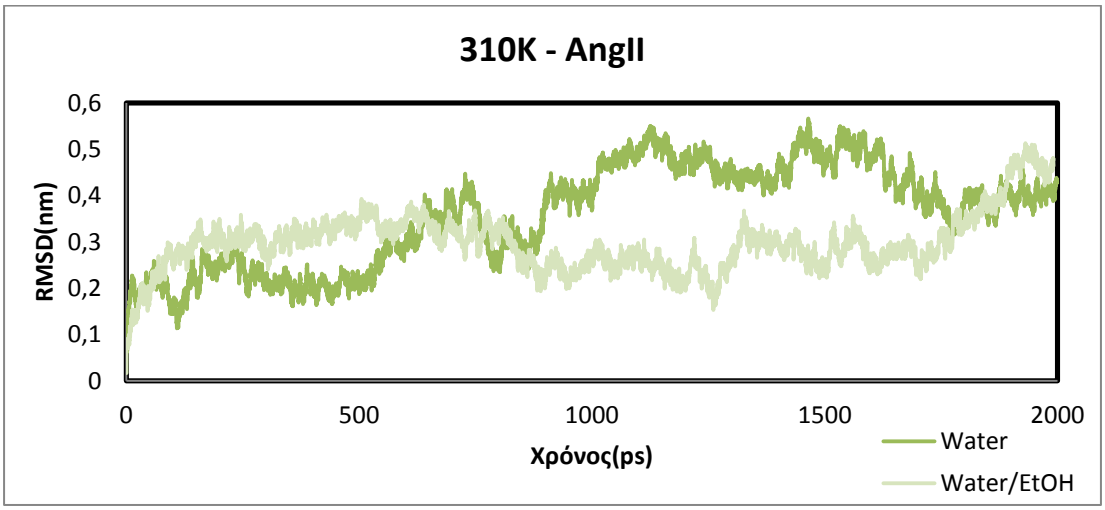
Από τα παραπάνω αποτελέσματα διαπιστώνουμε ότι το μόριο της AngII έχει μικρότερη έκταση στο σύστημα του καθαρού νερού από ότι σε αυτό του μίγματος Νερού/Αιθανόλης σε θερμοκρασίες από 278 – 310 K. Με αύξηση της θερμοκρασίας στους 323K παρατηρείται αναδίπλωση του μορίου στο μίγμα του Νερού /Αιθανόλης και η έκταση του είναι μικρότερη από αυτή σε διάλυμα καθαρού νερού στην ίδια θερμοκρασία.

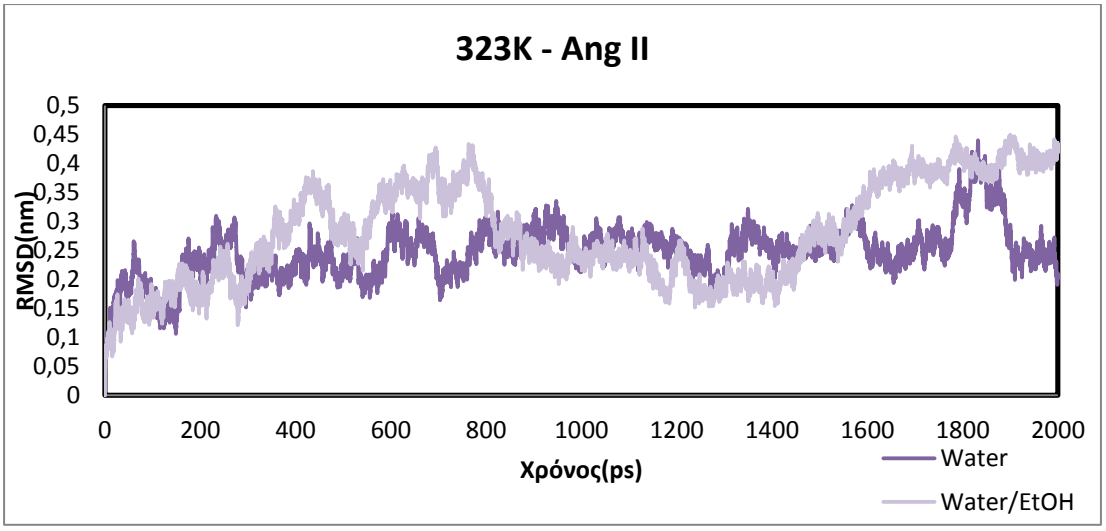
6.3.2 Τετραγωνική ρίζα της Μέσης Απόκλισης της διαμόρφωσης της δομής της πρωτεΐνης (Root Mean Square Deviation, RMSD)

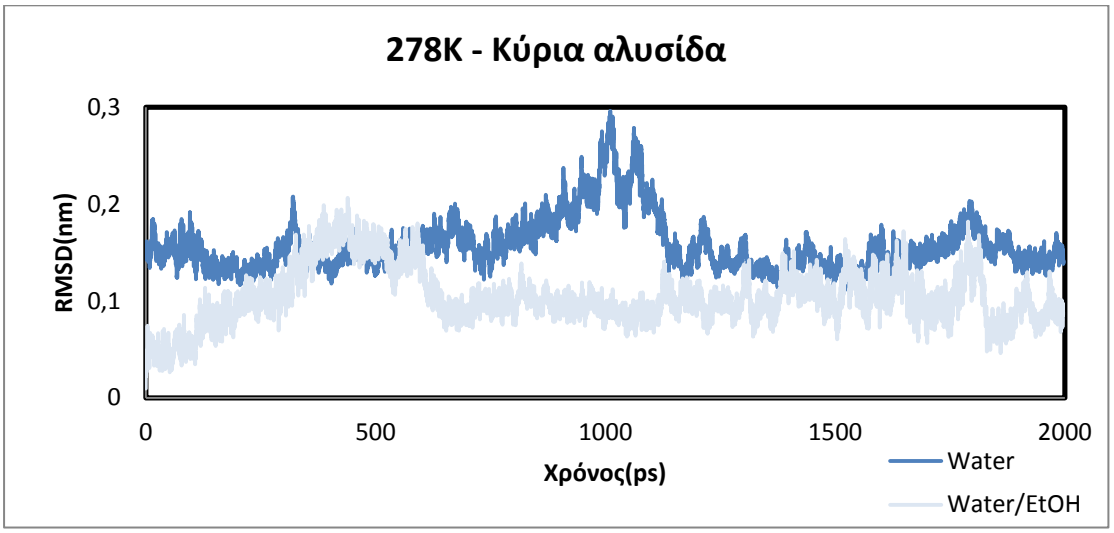
Σε αυτό το μέρος της παρούσας εργασίας, παρουσιάζεται η σύγκριση των αποτελεσμάτων του RMSD των ατόμων της κύριας αλυσίδας της πρωτεΐνης καθώς και των ατόμων ολόκληρης της πρωτεΐνης από την αρχική δομή πριν την προσομοίωση για τα δύο συστήματα που έχουν μελετηθεί. Οι γραφικές παραστάσεις του RMSD της AngII συναρτήσει του χρόνου φαίνεται στο Σχήμα 6.22.

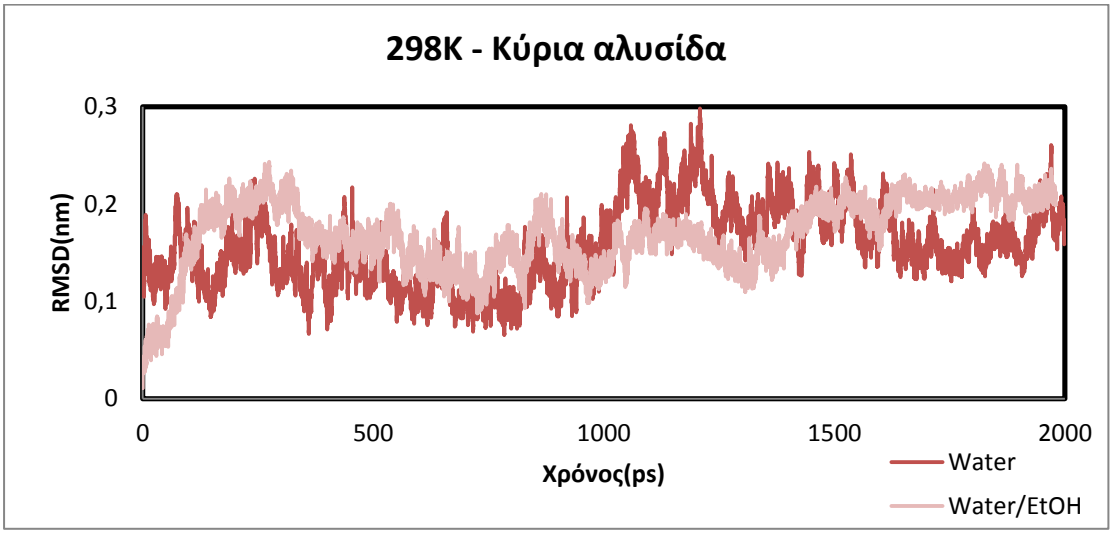

278K - AngII
RMSD(nm)
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
0
500
1000
1500
2000
Χρόνος(ps)
Water
Water/EtOH

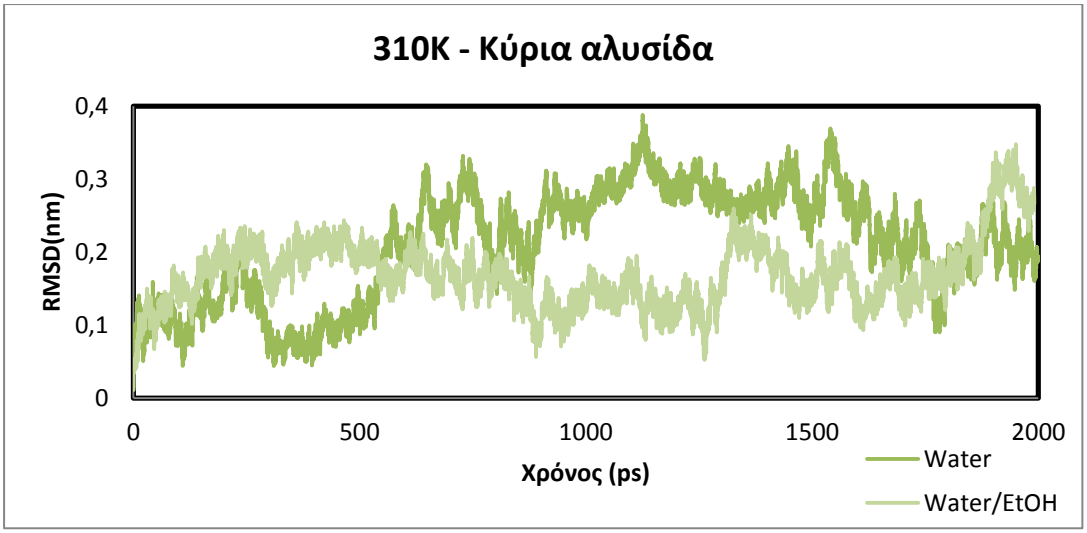

298K - Ang II
RMSD(nm)
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
0
500
1000
1500
2000
Χρόνος(ps)
Water
Water/EtOH

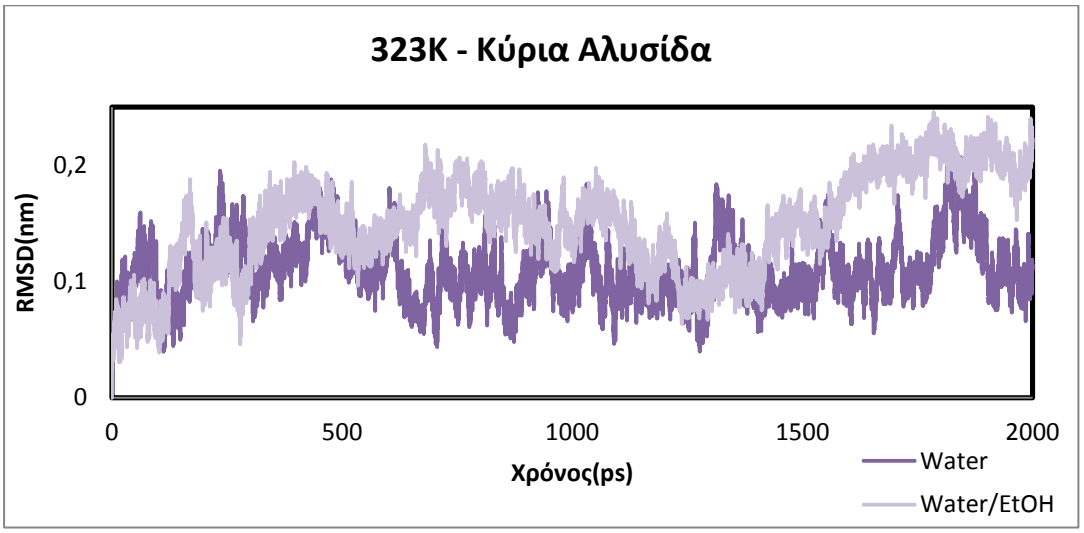

310K - AngII
RMSD(nm)
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
0
500
1000
1500
2000
Χρόνος(ps)
Water
Water/EtOH


323K - Ang II
RMSD(nm)
0,5
0,45
0,4
0,35
0,3
0,25
0,2
0,15
0,1
0,05
0
0
200
400
600
800
1000
1200
1400
1600
1800
2000
Χρόνος(ps)
Water
Water/EtOH


278K - Κύρια αλυσίδα
RMSD(nm)
0,3
0,2
0,1
0
0
500
1000
1500
2000
Χρόνος(ps)
Water
Water/EtOH


298K - Κύρια αλυσίδα
RMSD(nm)
0,3
0,2
0,1
0
0
500
1000
1500
2000
Χρόνος(ps)
Water
Water/EtOH



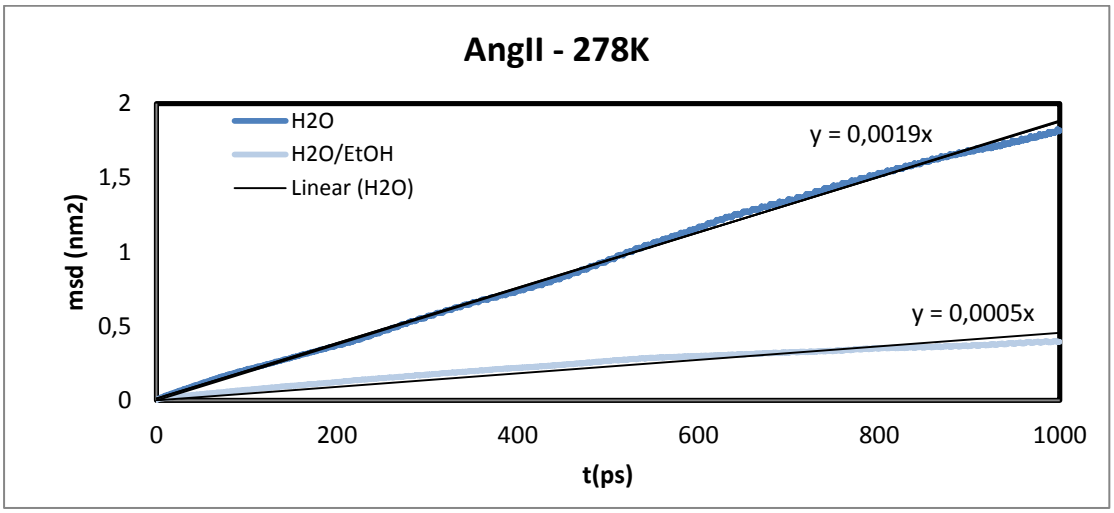


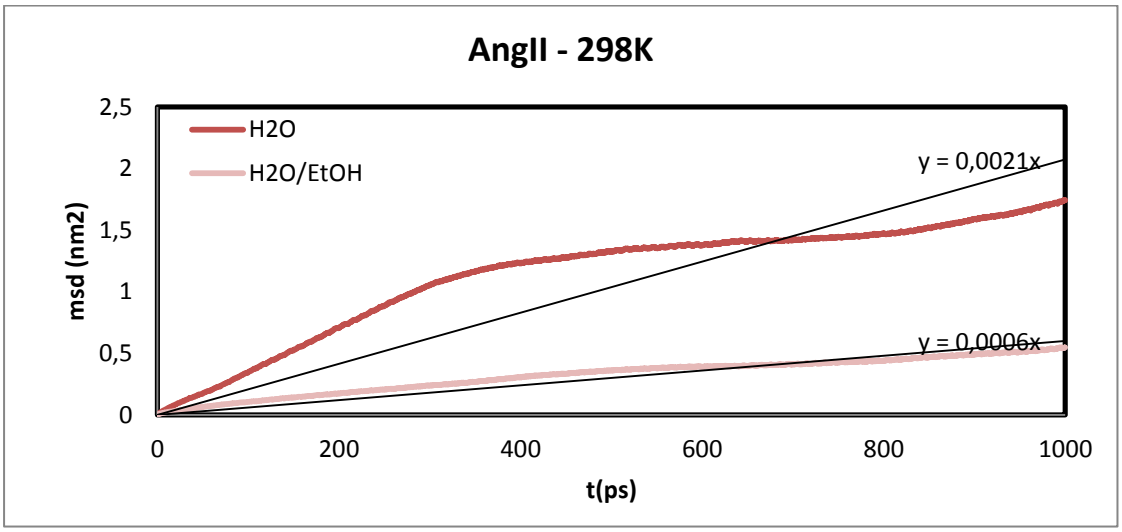
Σχήμα 6.22 *Χρονική εξάρτηση του RMSD της κύριας αλυσίδας και ολόκληρου του μορίου της AngII σε διάλυμα καθαρού Νερού και Νερού/Αιθανόλης για διάφορες θερμοκρασίες.Ως δομή αναφοράς έχει ληφθεί η μέση δομή που προκύπτει στο δεύτερο στάδιο της προσομοίωσης, καθώς το σύστημα έχει οδηγηθεί σε θερμοδυναμική ισορροπία*

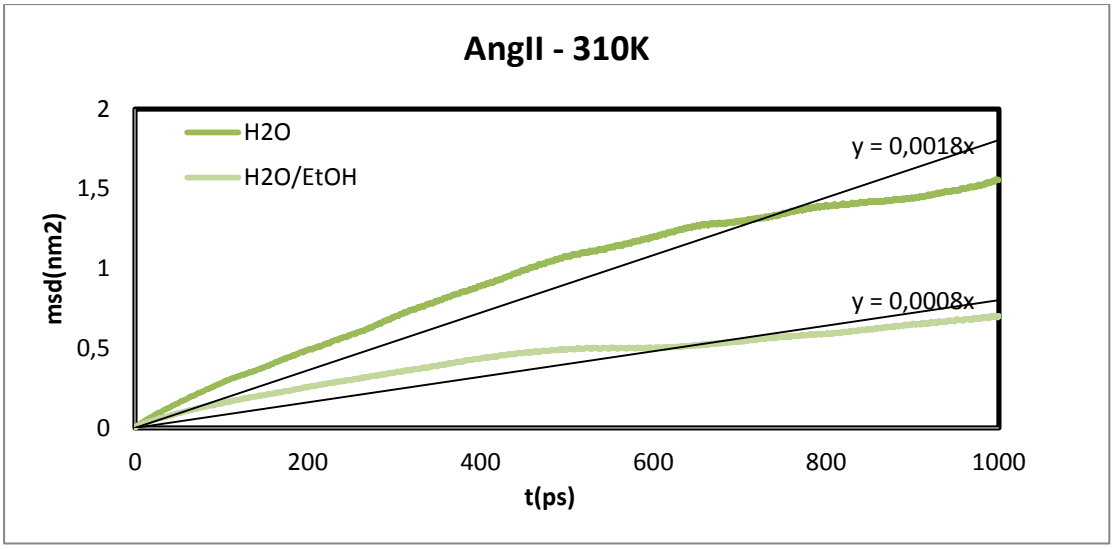
Από τις παραπάνω γραφικές παραστάσεις διαπιστώνουμε ότι το μόριο της Ang II έχει αλλαγές μικρής κλίμακας καθ' όλη τη διάρκεια του χρόνου της προσομοίωσης και στα δύο συστήματα τόσο σε αυτά τα οποία αναφέρονται στην κύρια αλυσίδα της πρωτεΐνης αλλά και σε αυτά που αντιστοιχούν σε ολόκληρη την πρωτεΐνη. Συγκεκριμένα, παρατηρούμε ότι σε όλες τις θερμοκρασίες ο μέσος όρος του RMSD για την κύρια αλυσίδα είναι ~0.1 nm ενώ για ολόκληρη την πρωτεΐνη είναι 0.3 nm. Στην θερμοκρασία των 310K παρατηρούμε ότι υπάρχει μία αύξηση του RMSD και για τις δύο περιπτώσεις υπό μελέτη στο διάλυμα του καθαρού νερού από 1000 – 1500 ps και στην συνέχεια μειώνεται η τιμή της ιδιότητας αυτής πλησίον της μέσης τιμής. Γενικά, παρατηρούμε μία κοινή συμπεριφορά και στα δύο συστήματα για όλες τις θερμοκρασίες.

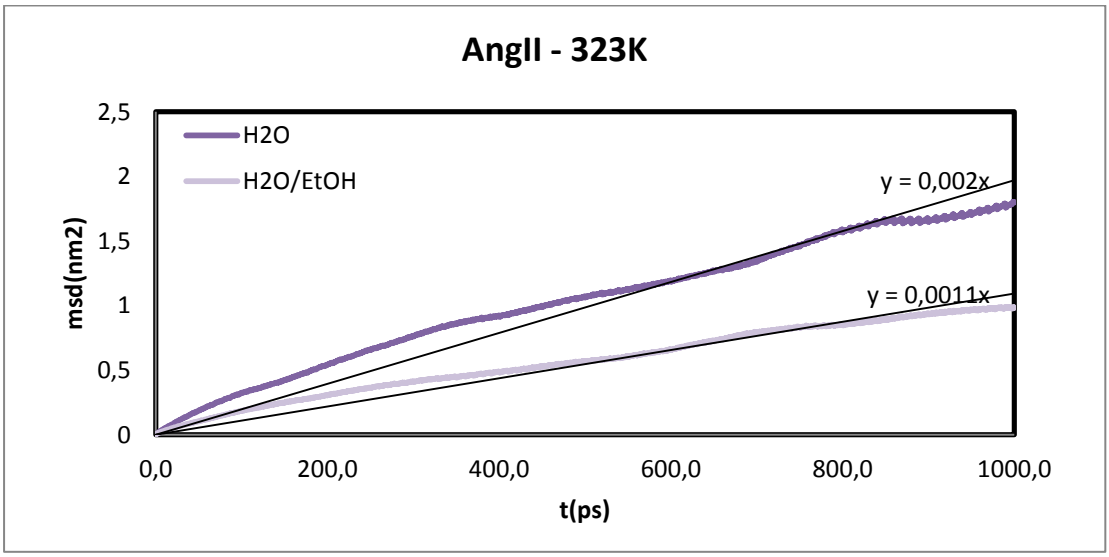
6.3.3 Συντελεστής Μεταφορικής Διάχυσης

Τα αποτελέσματα των συντελεστών διάχυσης από τις προσομοιώσεις της παρούσας εργασίας για την AngII σε υδατικό διάλυμα και σε μίγμα νερό/ αιθανόλης εκτίθενται στο Σχήμα 6.23 και τα αποτελέσματα για τους συντελεστές διαχύσεως εκτίθενται στον Πίνακα 6.22.









Σχήμα 6.23 *Σύγκριση των συντελεστών μεταφορικής διάχυσης της AngII σε μίγμα Νερό/ Αιθανόλης και σε καθαρό νερό.*

Πίνακας 6.22 *Μετρήσεις του συντελεστή μεταφορικής διάχυσης της AngII σε μίγμα Νερό/ Αιθανόλης.*

D ($x10^{-5}$ cm^2s^{-1})	Water	Water/EtOH
278K	1.90	0.50
298K	2.10	0.60
310K	1.80	0.80
323K	2.00	1.10

Από τα παραπάνω αποτελέσματα, διαπιστώνουμε ότι ο συντελεστής διαχύσεως της AngII είναι αρκετά μεγαλύτερος στην περίπτωση του καθαρού νερού από ότι στο μίγμα για όλες τις

θερμοκρασίες. Αυτό εξηγείται λόγω της ισχυρής αλληλεπίδρασης που φαίνεται να έχουν τα άτομα της πρωτεΐνης με τα μόρια των διαλυτών στην περίπτωση του μίγματος Νερού /Αιθανόλης σε σύγκριση με τις αντίστοιχες αλληλεπιδράσεις που αναπτύσσονται στο διάλυμα του καθαρού νερού. Επιπρόσθετα, παρατηρείται ότι ο συντελεστής διάχυσης της AngII στο καθαρό νερό δεν έχει μία συστηματική μεταβολή συναρτήσει της θερμοκρασίας ενώ στην περίπτωση του μίγματος παρατηρείται αύξηση της ιδιότητας αυτής με την αύξηση της θερμοκρασίας.

6.3.4 Πλησιέστερη Προσιτή Επιφάνεια Μακρομορίου από τα μόρια του διαλύτη (Solvent Accessible Surface, SAS)

Στον Πίνακα 6.23, παρατείθονται οι τιμές για την ολική προσβάσιμη επιφάνεια SAS της Ang II στις διάφορες θερμοκρασίες που μελετήθηκαν καθώς επίσης και ο διαχωρισμός της – το μέγεθος της υδρόφοβης και υδρόφιλης περιοχής για τα δύο συστήματα.

Πίνακας 6.23 *Μετρήσεις για την Προσβάσιμη προσιτή επιφάνεια SAS καθώς και για τα υδρόφιλα και υδρόφοβα τμήματα του μορίου της AngII σε διάλυμα H_2O και H_2O/EtOH για τις διάφορες καταστάσεις.*

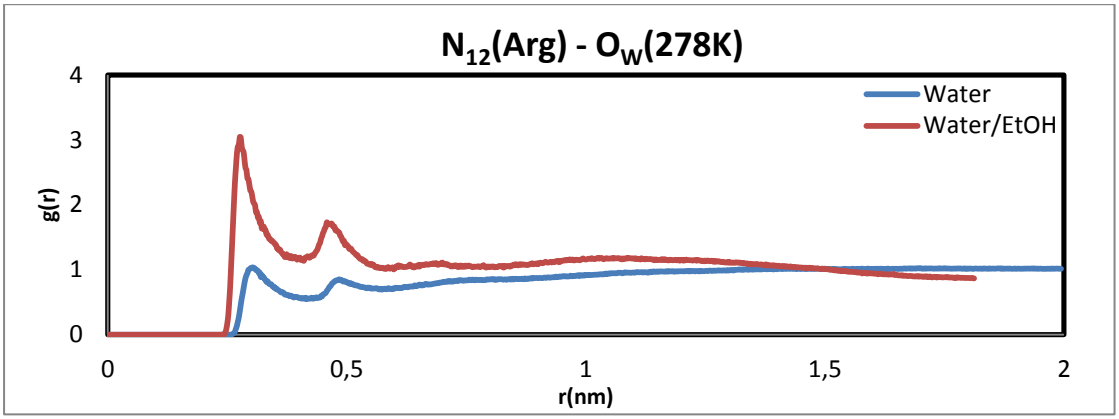
SAS(nm^2)	A		B		Γ		Δ	
	H_2O	H_2O/EtOH	H_2O	H_2O/EtOH	H_2O	H_2O/EtOH	H_2O	H_2O/EtOH
Ολική επιφάνεια	14.396	14.335	13.49	14.602	14.340	15.816	20.929	13.714
Υδρόφοβη επιφάνεια	12.575	13.237	12.279	13.534	12.813	13.216	16.731	12.115
Υδρόφιλη επιφάνεια	1.821	1.098	1.214	1.068	1.527	2.600	4.198	1.599

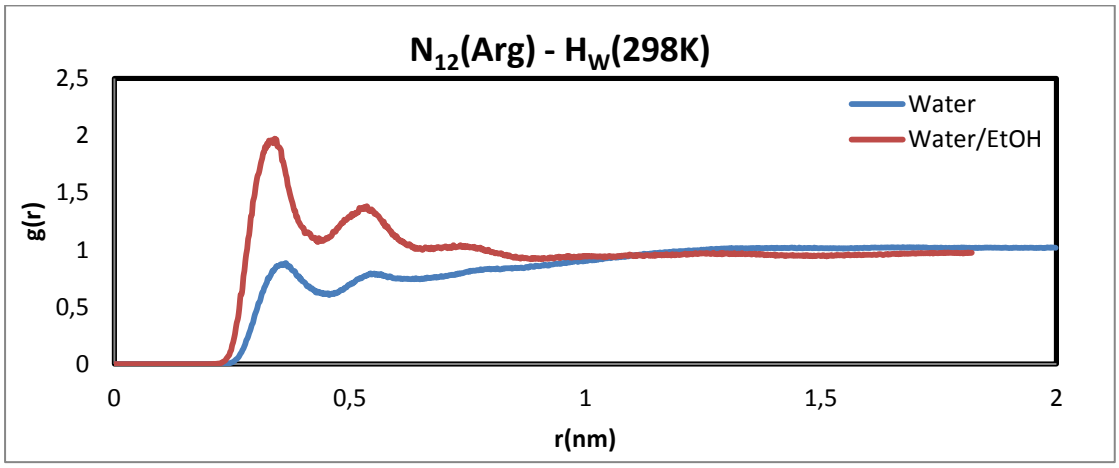
Από τον παραπάνω πίνακα διαπιστώνουμε ότι η προσβάσιμη προσιτή επιφάνεια του μορίου της AngII από τα μόρια του διαλύτη, είναι μεγαλύτερη στην περίπτωση του συστήματος Νερό/Αιθανόλης εκτός από την θερμοκρασία των 323K όπου η προσιτή επιφάνεια του εν λόγω συστήματος μειώνεται σημαντικά, λόγω της μικρότερης έκτασης του μορίου, όπως αναφέραμε και στην παράγραφο 6.2.2.

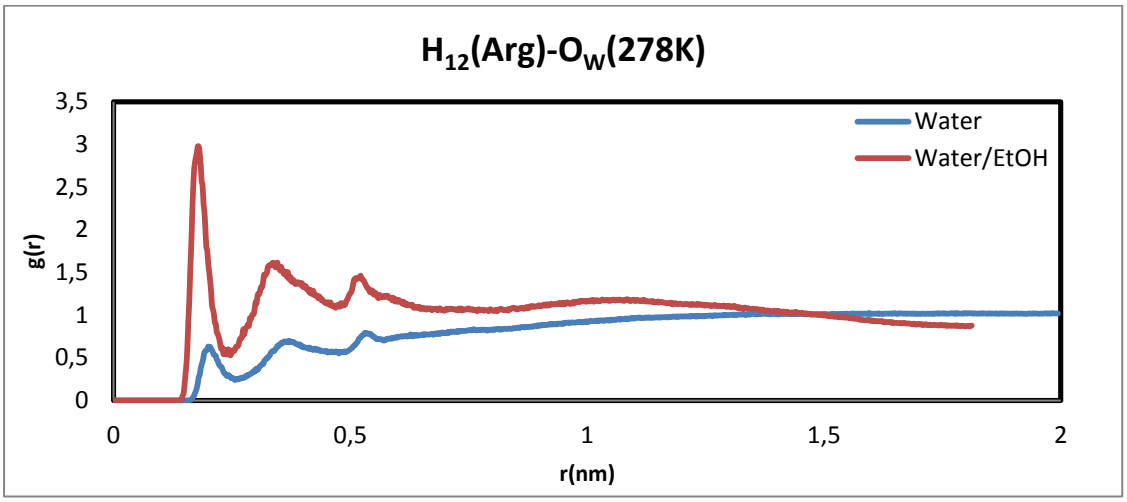
6.3.5 Ιδιότητες Μέσης διαμοριακής Δομής

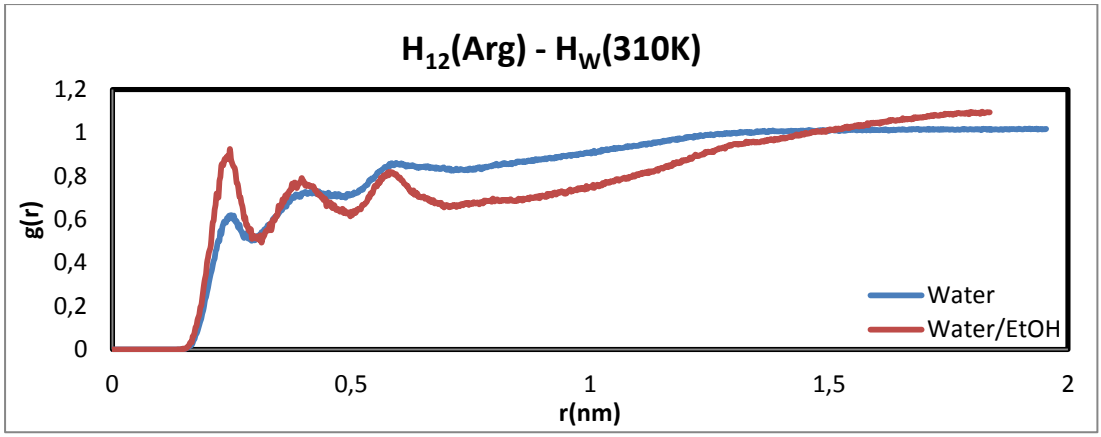
Σε αυτό το μέρος της εργασίας, θα αναφερθούμε στην συσχέτιση των συναρτήσεων μέσης διαμοριακής δομής μεταξύ χαρακτηριστικών ατόμων των αμινοξέων της πρωτεΐνης με τα άτομα του νερού στα δύο συστήματα υπό μελέτη. Στην συνέχεια παραθέτουμε διαγράμματα των συναρτήσεων αυτών των διατομικών ομάδων. Σε αυτό το σημείο, θα ήταν χρήσιμο να αναφέρουμε ότι η συμπεριφορά των ίδιων ομάδων είναι παρόμοια σε όλες τις θερμοκρασίες

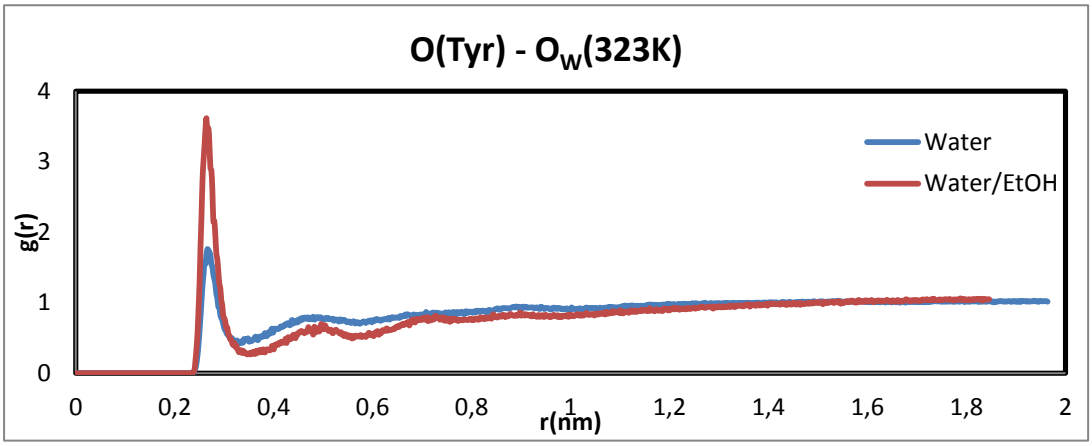
που έχουν μελετηθεί στην παρούσα εργασία και για το λόγο αυτό έχουμε παραθέσει μία γραφική παράσταση για κάθε διατομικό σύστημα σε κάθε θερμοκρασία. Οι αναλυτικοί πίνακες με τα χαρακτηριστικά (ένταση, θέση) των πρώτων μεγίστων της κάθε χαρακτηριστικής ομάδας έχουν παρουσιαστεί στις § 6.1.7 και 6.2.7.

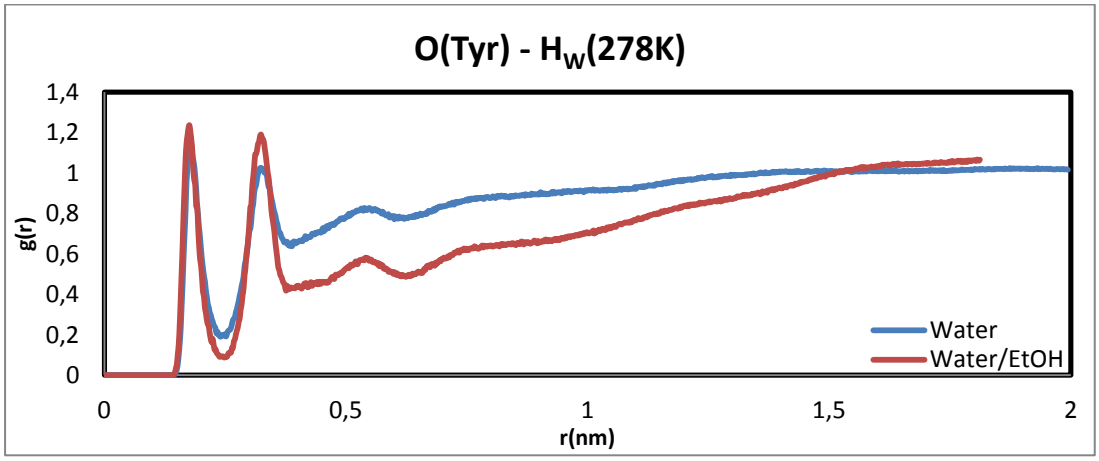


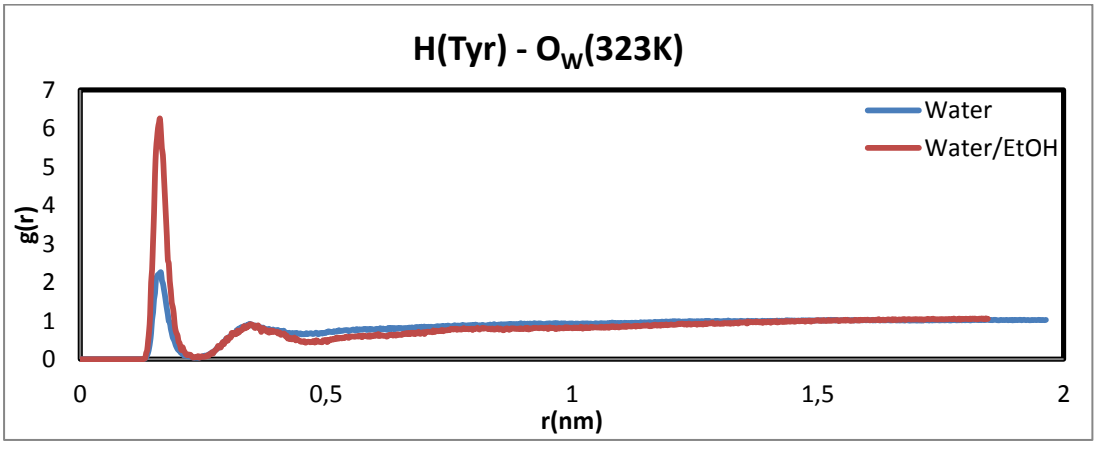


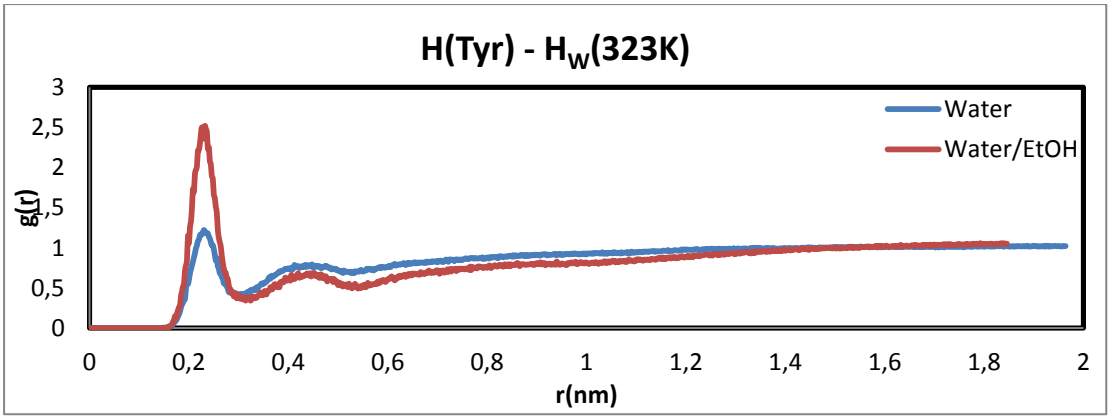


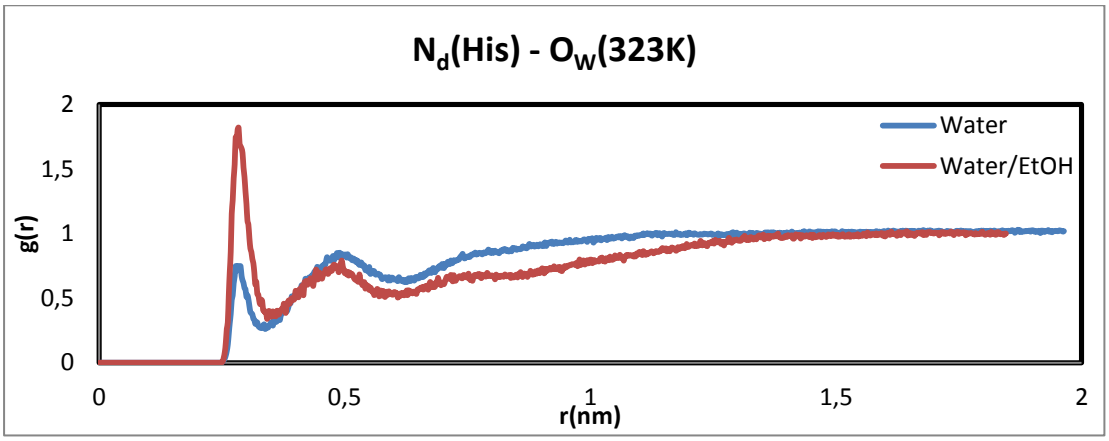

H12(Arg) - HW(310K)
g(r)
r(nm)
Water
Water/EtOH

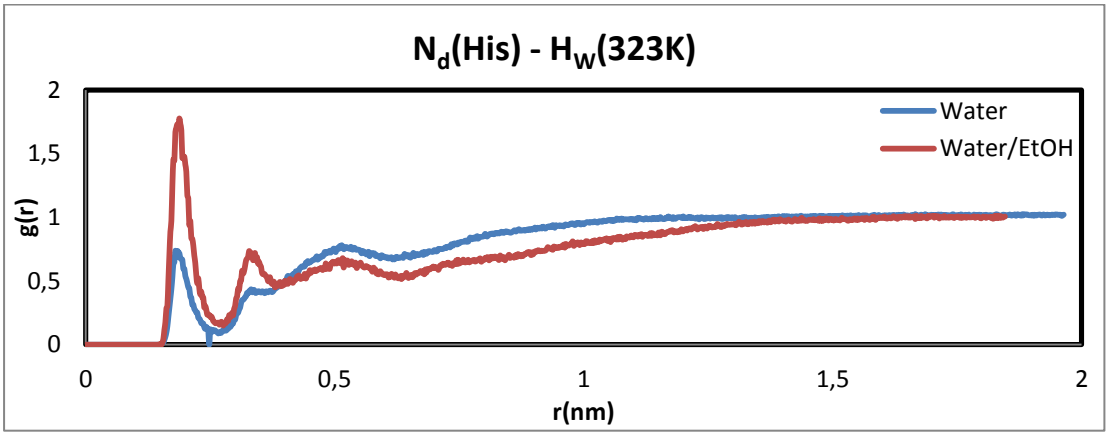

O(Tyr) - OW(323K)
g(r)
r(nm)
Water
Water/EtOH

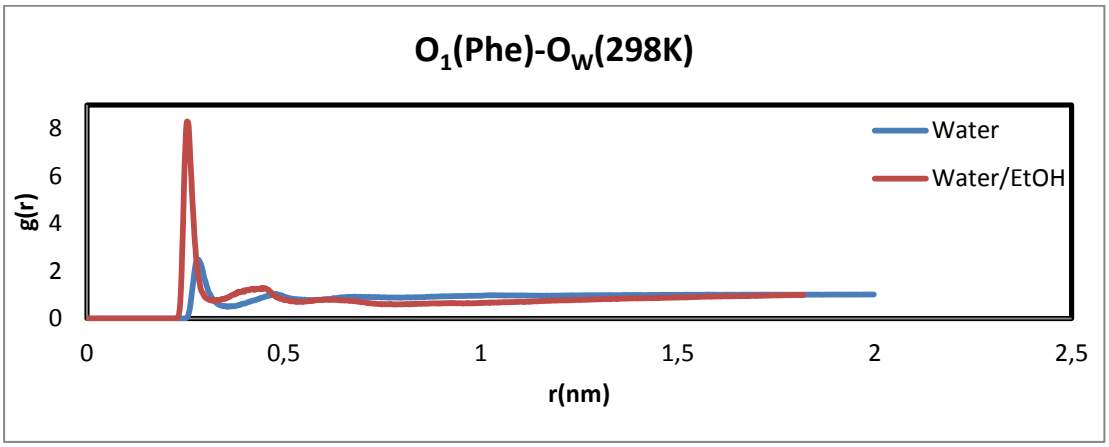

O(Tyr) - HW(278K)
g(r)
r(nm)
Water
Water/EtOH

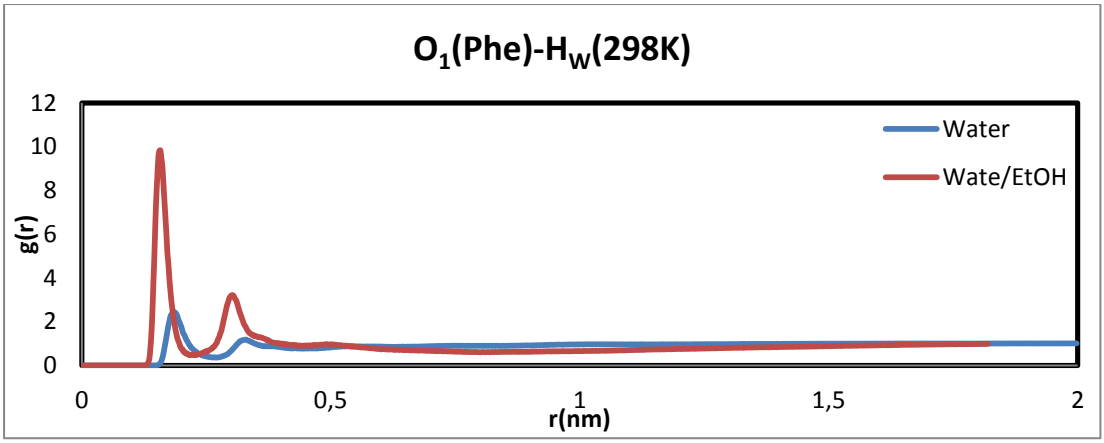

H(Tyr) - OW(323K)
g(r)
r(nm)
Water
Water/EtOH

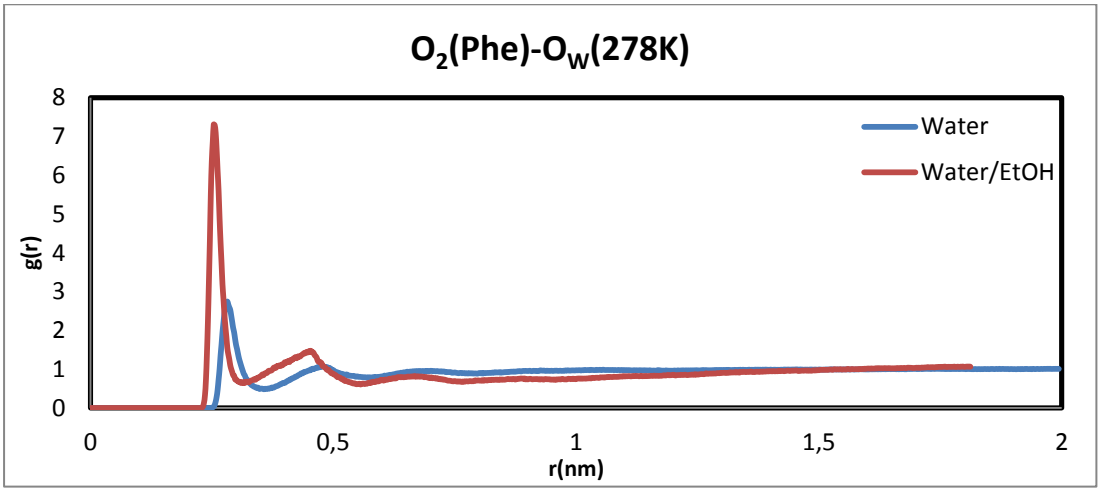

H(Tyr) - H$_W$(323K)
g(r)
r(nm)
Water
Water/EtOH

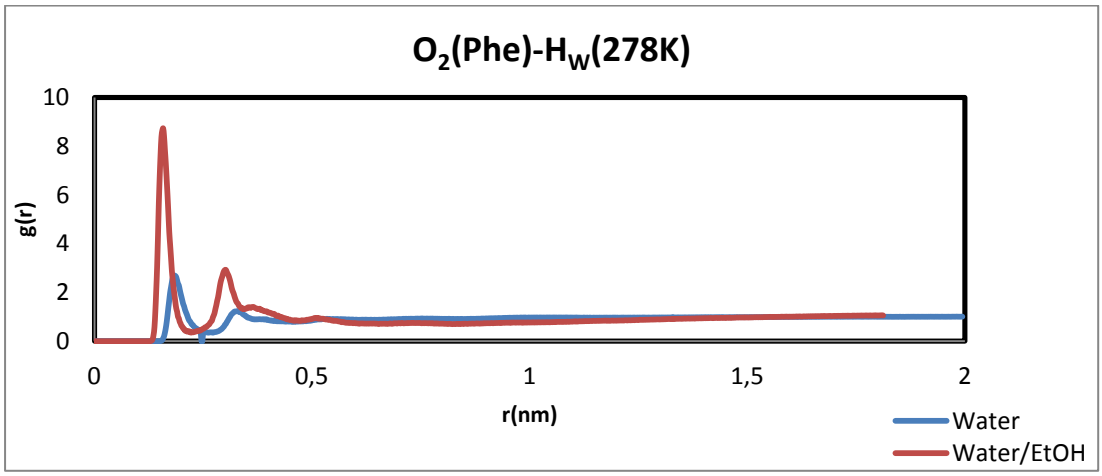

N$_d$(His) - O$_W$(323K)
g(r)
r(nm)
Water
Water/EtOH


N$_d$(His) - H$_W$(323K)
g(r)
r(nm)
Water
Water/EtOH


O$_1$(Phe)-O$_W$(298K)
g(r)
r(nm)
Water
Water/EtOH







Σχήμα 6.24 *Ενδεικτικές συναρτήσεις διαμοριακής δομής χαρακτηριστικών ομάδων των αμινοξέων του μορίου της AngII με το οξυγόνο και το υδρογονου του Νερού και δτα δύο μοριακά συστήματα για διάφορες θερμοκρασίες*

Από τα παραπάνω διαγράμματα του Σχήματος 6.24, είναι φανερό ότι οι αλληλεπιδρασεις μεταξύ των ατόμων της πρωτεΐνης με τα άτομα του νερού είναι πολύ ισχυρότερες στο σύστημα του μίγματος Νερού/Αιθανόλης από ότι σε αυτό του καθαρού νερού. Επίσης παρατηρείται ότι τα άτομα του νερού στο μίγμα πλησιάζουν περισσότερο κάποια

χαρακτηριστικά άτομα του μορίου της AngII από ότι στο σύστημα του καθαρού νερού. Αυτά τα πολύ σημαντικά αποτελέσματα έρχονται σε συμφωνία με τα συμπεράσματα που έχουν εξαχθεί από τις προηγούμενες ιδιότητες και αναφέρονται στις ισχυρές αλληλεπιδράσεις που αναπτύσσονται μεταξύ των διαλυτών του μίγματος Νερού / Αιθανόλης με τα άτομα της πρωτεΐνης σε σύγκριση με τα μόρια του καθαρού Νερού. Από τα διαγράμματα αυτά θα μπορούσαμε να ισχυριστούμε ότι διαφαίνεται δημιουργία πιθανών δεσμών υδρογόνου μεταξύ αυτών των χαρακτηριστικών ατόμων με τα μόρια των διαλυτών και στην περίπτωση του μίγματος είναι πολύ ισχυρότεροι από τους αντίστοιχους στο καθαρό νερό. Αυτή η ποιοτική ερμηνεία χρήζει μία περαιτέρω ποσοτική διευκρίνιση, η οποία θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί με μία συστηματική μελέτη του δικτύου των δεσμών υδρογόνου και για τα δύο συστήματα.

Γενικά Συμπεράσματα – Συζήτηση

Η παρούσα εργασία είναι μία Στατιστική Μηχανική υπολογιστική μελέτη μέσω της MD τεχνικής προσομοίωσης της πρωτεΐνης Αγγειοτενσίνη ΙΙ σε καθαρό νερό και σε μίγμα H_2O/EtOH 65% - 35%. Και τα δύο μοριακά συστήματα προσομοιώθηκαν για διάφορες θερμοδυναμικές καταστάσεις στις θερμοκρασίες 278K, 298K, 310K και 323K και για κανονική πίεση. Τα δυναμικά που χρησιμοποιήθηκαν για την περιγραφή των διαμοριακών αλληλεπιδράσεων τόσο μεταξύ των διαφόρων τμημάτων του μακρομορίου όσο και αυτών των διαλυτών, ήταν αυτά, από τη διεθνή βιβλιογραφία, και τα οποία αποδεδειγμένα επιτυγχάνουν την καλύτερη αναπαραγωγή των θερμοδυναμικών ιδιοτήτων τόσο των καθαρών συστατικών όσο και κατά την ανάμιξη τους. Τα σπουδαιότερα συμπεράσματα τα οποία εξήχθησαν από την παρούσα μελέτη συνοψίζονται ως εξής:

1. Στην περίπτωση του πρώτου συστήματος που μελετήθηκε, δηλαδή του μορίου της AngII σε καθαρό υδατικό διάλυμα, παρατηρήθηκε ότι με αύξηση της θερμοκρασίας του συστήματος από 278 – 323K, το μόριο εκτείνεται αλλά όχι σε μεγάλο βαθμό. Η εν λόγω μικρή έκταση του μορίου σε καθαρό νερό φανερώνει τη μικρή επίδραση της θερμοκρασίας στη μικροδομή και διαμόρφωση του μορίου. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι για οποιαδήποτε θερμοκρασία κατά το χρόνο και εντός του χρονικού διαστήματος της προσομοίωσης του συστήματος σε θερμοδυναμική ισορροπία (2 ns), η διαμόρφωση της μικροδομής της πρωτεΐνης δεν διακυμαίνεται σημαντικά, γεγονός που μας υποδεικνύει ότι το σύστημά μας έχει βρεθεί σε ενεργειακή ισορροπία. Άλλο ένα πολύ σημαντικό αποτέλεσμα για το σύστημα αυτό είναι ότι η γενική συμπεριφορά του μορίου Ang II στο καθαρό νερό είναι περισσότερο υδρόφοβη παρά υδρόφιλη με κάποιες, όμως, μικρές αυξομειώσεις συναρτήσει της θερμοκρασίας. Επιπρόσθετα, ένα γενικό συμπέρασμα που εξάγεται από τις συναρτήσεις μέσης διαμοριακής δομής μεταξύ κέντρων μάζης των αμινοξέων στο μόριο και των ατόμων των μορίων του ύδατος, είναι ότι έχουν κοινή συμπεριφορά σχεδόν σε όλες τις θερμοκρασίες ως προς τη μορφή τους (εντάσεις, θέσεις μεγίστων και ελαχίστων), ένα αποτέλεσμα το οποίο οδηγεί στο συμπέρασμα ότι οι αριθμοί επιδιαλύτωσης αυτών από τα μόρια του ύδατος δεν μεταβάλλεται σημαντικά με τη θερμοκρασία. Επιπλέον, στο σημείο αυτό θα πρέπει να αναφερθεί ότι τα μόρια του νερού πλησιάζουν εγγύτερα στην περιοχή αλληλεπίδρασης του αμινοξύ της Asp σε σχέση με τα άλλα αμινοξέα. Τέλος, διαπιστώθηκαν σημαντικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ χαρακτηριστικών ατόμων επί των αμινοξέων της πρωτεΐνης και των ατόμων των μορίων του ύδατος και παρατηρήθηκαν συμπεριφορές που ταυτίζονται με αυτές της υπάρξεως πιθανών δεσμών υδρογόνου.
2. Για την περίπτωση του δεύτερου συστήματος που μελετήθηκε, δηλαδή της AngII σε μίγμα H_2O/EtOH (65% - 35%), παρατηρήθηκε ότι η έκταση του μορίου παραμένει

σχεδόν αμετάβλητη συναρτήσει της θερμοκρασίας στην περιοχή από 278 – 310K. Καθώς όμως η θερμοκρασία αυξάνεται στους 323K, παρατηρείται μία σημαντική αναδίπλωση του μορίου. Και στην περίπτωση του συστήματος αυτού οι διάφορες διακυμάνσεις της μικροδομής της πρωτεΐνης κατά τη χρονική διάρκεια της προσομοίωσης και για κάθε θερμοκρασία παρουσιάζουν μικρές αυξομειώσεις, γεγονός που υποδηλώνει ότι το σύστημα βρίσκεται σε ενεργειακή ισορροπία. Όπως και στο παραπάνω σύστημα του καθαρού νερού παρομοίως και εδώ, το μόριο της πρωτεΐνης παρουσιάζεται να είναι περισσότερο υδρόφοβο παρά υδρόφιλο με κάποια όμως τάση αύξησης της υδροφιλικότητάς του με αύξηση της θερμοκρασίας έως τους 310K. Στην συνέχεια, όπως αναφέραμε παραπάνω, στους 323K παρατηρείται μία σχετική αναδίπλωση της πρωτεΐνης, γεγονός που οδηγεί, όπως είναι φυσιολογικό, σε ελάττωση της προσβάσιμης επιφάνειας, SAS, του μορίου από τα μόρια του μίγματος του διαλύτη. Τέλος, παρατηρήθηκε ότι αναπτύσσονται σημαντικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ χαρακτηριστικών ατόμων επί των αμινοξέων της πρωτεΐνης και των ατόμων των μορίων του ύδατος στο μίγμα H_2O/EtOH και παρατηρήθηκαν συμπεριφορές που ταυτίζονται με αυτές της υπάρξεως πιθανών δεσμών υδρογόνου.

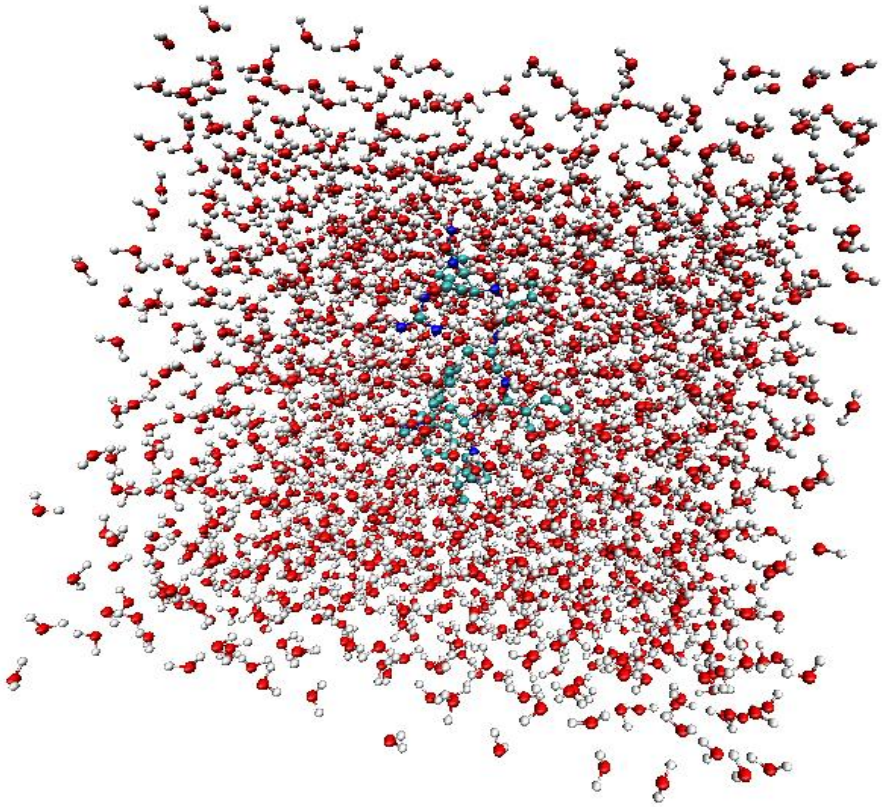
3. Η σύγκριση των αποτελεσμάτων που εξήχθησαν από τα δύο συστήματα μας οδηγεί στα παρακάτω συμπεράσματα. Η έκταση του μορίου της Ang II είναι μεγαλύτερη στο μίγμα H_2O/EtOH από ότι στο καθαρό νερό με εξαίρεση την κατάσταση για θερμοκρασία 323K όπου παρατηρείται αναδίπλωση του μορίου στο μίγμα. Μία συμπεριφορά η οποία από ότι φαίνεται χρήζει περαιτέρω αναλύσεως και περαιτέρω συστηματικής μελέτης τόσο πειραματικής όσο και θεωρητικής. Επιπροσθέτως, αναφέρουμε ότι από την εκτίμηση του φαινομένου της διαχύσεως του μορίου της πρωτεΐνης στους δύο διαφορετικούς διαλύτες αυτό που παρουσιάζεται να είναι υψηλότερο στο καθαρό Νερό από ό,τι στο μίγμα H_2O/EtOH. Ένα ακόμα σημαντικό αποτέλεσμα που εξάγεται από τη μελέτη είναι ότι στην περίπτωση του μίγματος H_2O/EtOH ως διαλύτη, και στην περιοχή της πλησιέστερης προσιτής επιφάνειας, SAS, μεταβάλλεται αισθητά η σχετική θέση των μορίων του ύδατος ως προς την περιοχή των αμινοξέων από την επίδραση του μορίου της αιθανόλης. Στο σημείο αυτό θα μπορούσαμε να ισχυριστούμε ότι διαφαίνεται μία σχετική μεταβολή μικρής έκτασης πιθανών δεσμών υδρογόνου μεταξύ χαρακτηριστικών ατόμων των αμινοξέων από το καθαρό νερό ως διαλύτη σε σύγκριση με το μίγμα H_2O/EtOH. Η εν λόγω ποιοτική ερμηνεία χρήζει μίας περαιτέρω ποσοτικής διερεύνησης η οποία θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί με μία συστηματική μελέτη του δικτύου των δεσμών υδρογόνου και στα δύο συστήματα.

Τα αποτελέσματα της παρούσας ερευνητικής εργασίας αποτελούν κίνητρο για περαιτέρω μελέτη τόσο αυτών των συστημάτων όσο και άλλων αντιστοίχων έτσι ώστε να μας

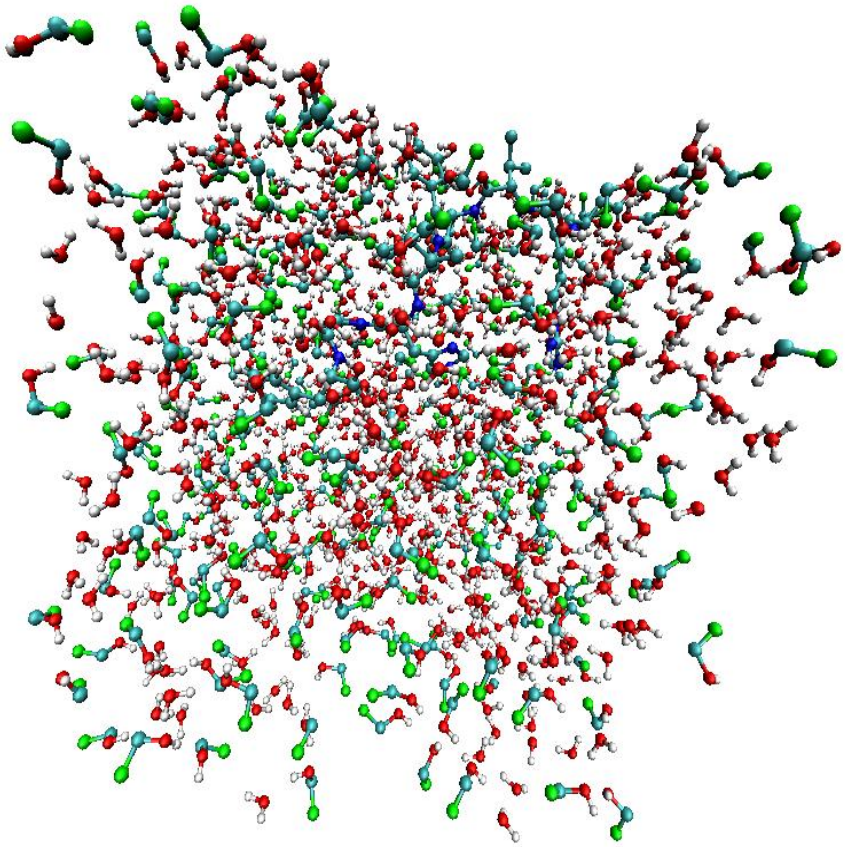
οδηγήσουν σε μία σαφή εικόνα της λειτουργίας και συμπεριφοράς της πρωτεΐνης αυτής σε διαφορετικό περιβάλλον, όπως π.χ. σε ένα περιβάλλον διπλοστοιβάδας της οποίας οι αλληλεπιδράσεις προσομοιάζουν σύμφωνα με τους ειδικούς με αυτές του μίγματος H_2O/EtOH (65% - 35%). Τέλος, αυτή η γνώση θα ήταν αρκετά σημαντική για την κατανόηση των βιοχημικών μηχανισμών που εμπλέκεται το μόριο της AngII.

Στα παρακάτω Σχήματα, παρατίθενται οι μικροαπεικονίσεις (snapshots) των συστημάτων στους 298K. Τα μόρια με κόκκινο – άσπρο είναι τα μόρια νερού, με πράσινο – κυανό – άσπρο είναι τα μόρια της αιθανόλης και το κεντρικό μόριο με μπλε χρώμα είναι η AngII.

Απεικόνιση του συστήματος AngII / H_2O για T = 298K



Απεικόνιση του συστήματος AngII / (H_2O / EtOH) για T = 298K



Δήμητρα Σ Χαρίση

<u>Τίτλος Εργασίας</u>: Στατιστική Μηχανική Μελέτη της Αγγειοτενσίνης ΙΙ σε διάλυμα Νερού και Νερού/Αιθανόλης (65% :35%) για Διάφορες Θερμοκρασίες

Περίληψη

Στην παρούσα εργασία *Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης Φυσικοχημείας* γίνεται μία συστηματική προσπάθεια Θεωρητικής Μελέτης μέσω Μοριακής Δυναμικής προσομοίωσης στατιστικής μηχανικής των ιδιοτήτων του μορίου της πρωτεΐνης AngII σε διαλύτη καθαρό νερό καθώς επίσης και σε μίγμα Νερού/Αιθανόλης (65% - 35%). Η επιλογή ιδιαίτερα του δεύτερου συστήματος στην παρούσα μελέτη βασίστηκε σε προηγούμενες πειραματικές μελέτες σύμφωνα με τις οποίες οι αλληλεπιδράσεις του συστήματος Νερού / Αιθανόλης παρουσιάζουν πανομοιότυπη συμπεριφορά με τις λιπιδικές διπλοστοιβάδες σε παρόμοια πρωτεϊνικά συστήματα. Τα δύο αυτά μοριακά συστήματα (AngII – H_2O και AngII – EtOH) προσομοιώθηκαν για τέσσερεις διαφορετικές θερμοδυναμικές καταστάσεις και, συγκεκριμένα, για τις θερμοκρασίες 278, 298, 310 και 323 K και για κανονική πίεση. Όλες οι προσομοιώσεις Μοριακής Δυναμικής αυτών των συστημάτων εκτελέστηκαν σε Κανονικό στατιστικό μηχανικό σύνολο (NVT). Στην παρούσα εργασία ήταν δυνατόν να μελετηθούν διάφορες δομικές και δυναμικές ιδιότητες των μοριακών συστημάτων και να διερευνηθούν πιθανές διαφοροποιήσεις αυτών από την προσθήκη αιθανόλης στο διάλυμα σε συνάρτηση και με τη θερμοκρασία. Παρόμοια μελέτη, από πειραματικής όμως πλευράς (μετρήσεις NMR) στα ίδια συστήματα η οποία δημοσιεύθηκε το 2007αποτέλεσε το έναυσμα για την παρούσα θεωρητική μελέτη. Τα αποτελέσματα που εξήχθησαν από την παρούσα εργασία σε γενικές γραμμές παρουσιάζουν ικανοποιητική ταύτιση με τα αντίστοιχα πειραματικά. Επιπλέον, λόγω της δυνατότητας της Μοριακής Δυναμικής στον υπολογισμό χαρακτηριστικών ιδιοτήτων π.χ. όπως η ιδιότητα «Solvent Accessible Surface», SAS, που δεν είναι δυνατόν να εκτιμηθούν πειραματικά, η παρούσα μελέτη οδήγησε στην λεπτομερή κατανόηση των μεταβολών της εσωτερικής μικροδομής που υφίσταται το μόριο της πρωτεΐνης από τα μόρια των συγκεκριμένων διαλυτών. Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε ότι η πρωτεΐνη σε καθαρό νερό εκτείνεται ελαφρά με αύξηση της θερμοκρασίας. Από την άλλη πλευρά, η AngII στο μίγμα Νερό/Αιθανόλης, ενώ για όλες τις θερμοκρασίες παρατηρείται μία πανομοιότυπη συμπεριφορά, παρουσιάζει μία σημαντική αναδίπλωση στην θερμοκρασία των 323K. Τα πιο σημαντικά, όμως, συμπεράσματα εξάγονται από την σύγκριση των συναρτήσεων των μέσων διαμοριακών δομών χαρακτηριστικών ατόμων επί των αμινοξέων του πεπτιδίου αυτού με τα άτομα του διαλύτη (Νερό ή Αιθανόλης). Από αυτά τα αποτελέσματα διαπιστώνουμε ότι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ αυτών των ατόμων είναι πολύ πιο έντονες στην περίπτωση του

μίγματος (Νερού/Αιθανόλης) και σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρούνται συμπεριφορές δημιουργίας δεσμών υδρογόνου μεταξύ των διαλυτών και σχετικών υποδοχέων των αμινοξέων.

Dimitra S Charisi

Title: Statistical Mechanical Study of Angiotensin II in pure H_2O and (H_2O / EtOH) 65/35 solvents at different temperatures

Abstract

In present Thesis a theoretical study on the behavior of the protein AngII in pure water and in the mixture of (Water / Ethanol) 65%:35% is carried out and reported. The employed Molecular Dynamics simulation techniques (MD) were used to study the thermodynamic, structural and dynamic properties of these two molecular systems under four different thermodynamic conditions, namely at T = 278, 298, 310 and 323 K and normal pressure. The MD simulations for these thermodynamic state points were executed in Canonical statistical mechanical ensemble (NVT) and on the basis of GROMACS software package. The MD data obtained have been found to be in good accordance with previous experimental results from NMR measurements for the same systems. Moreover, in the frame work of the present study, it was possible to compare the microstructure of the molecule of AngII in these two specific solvents and to extract information regarding the influence of EtOH molecules inserting in the solution. In addition, our interest has been extended to study the dependence of the AngII on the temperature in these two solvents. For the results obtained it was found that the microstructure of the molecule does not show systematic dependence on the temperature. We note here, that the unfolding of the molecule AngII in pure aqueous solution was slightly small with temperature increase. On the other hand, it was found the molecule AngII in the mixed solvent Water / Ethanol show a similar behavior for temperatures up 310K while its maximum folding was noticed in T=323K. Nevertheless, the most important finding obtained from the comparison of the interactions between characteristic atoms of the peptide sites and those of the two solvent molecules, demonstrates that the stronger interactions take place in the case of the mixed solvent of Water / Ethanol and AngII.

Βιβλιογραφία

1. Mendlowitz, M., *Hypertension*, **1979**, 1, 435-441
2. Braun-Menendez, E., Page, I.H., Science, 1958, 127, 242.
3. Santos, R.A.S., Ferreira, A.J., Pinheiro, S.V., Sampaio, W.O., Touyz, R., Campagnole – Santos, M.J., *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, **2007,** 292, 2485 – 2490
4. Bumpus, F.M., Schwarz, H., Page, I.H., Science, 1957, 125, 3253, 886-887
5. Von Rittel, W., Iselin, B., Kappeler, H., Riniker, B., Schwyzer, R., *Helv. Chim. Acta.*, **1957**, 40 ,3, 614-623
6. Preto, M.A.C., Melo, A., Rodrigues, L.M., Maia, H.L.S., Ramos, J.M., *J. Phys. Chem. B*, **2008,** 112 (43), 13620-13628
7. Cappelli, A., Mohr, G.L.P., Gallelli, A., Rizzo, M., Anzini, M., Vomero, S., Mennuni, L., Ferrari, F., Makovec, F., Menziani, M.C., De Benedetti, P.G., Gianluca, G., *J. Med.Chem,*. **2004**, 47, 2574-2586
8. Scold, C., Karlen, A., *J. Mol. Graph. Model.*, **2007**, 26, 145-153
9. Patny, A., Desai, P.V., Avery, M.A., *Proteins: Structure, Function and Genetics*, **2006**, 65 (4), 824-842
10. Smith, J.C., Mercel, F., Bondar, A.N., Tournier, A., Fischer, S., *Phil.Trans.R. Soc. Lond. B*, **2004**, 359, 1181-1190
11. Halle, B., *Phil.Trans.R.Soc.Lond. B*, **2004**, 359, 1207-1224
12. Chatterjee, C. Martinez, D., Gerig, J.T., *J. Phys. Chem. B*, **2007**, 111, 9355-9362
13. Munishkina, L.A., Phelan, C., Uversky, V.N., Fink, A.L., *Biochemistry*, **2003**, 42, 2720-2730
14. Roccatano, D., Colombo, G., Fioroni, M., Mark, A.E., *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **2002**, 99 (19), 12179-12184
15. Liu, Y.F., Bolen, D.W., *Biochemistry*, **1995**, 34 (39), 12884-12891
16. Walgers, R., Lee, T.C., Cammers-Goodwin, A., *J. Am. Chem. Soc.*, **1998**, 120 (20), 5073-5079
17. Valensin, G., Delfini, M., Gaggelli, E., *Biophys. Chem.*, **1986**, 24 (1), 25-31
18. Theodoropoulou, E., Marsh, D., *Biochim Biophys Acta*, **2000**, 1509, 346-360
19. Gerig, J.T., *J. Phys.Chem. B*, **2008**, 112 (26), 7967-7976
20 Fermandjlan, S., Fromageot, P., Tistchenko, A.M., Leicknam, J.P., Lutz, M., *Eur. J.Biochem.*, **1972**, 28, 174 – 182
21. McQuarrie, D.A., Statistical Mechanics, Harper & Row, **1976**
22. Kittel, C., Herbert Kroemer, Thermal Physics, Second Edition, W.H.Freeman and Company, San Francisco, **1980**

23. Landau, L.D., Lifshitz, E.M., Statistical Physics, Pergamon Press, **1980**
24. Allen, M.P., Tildesley D.J., Computer Simulation of Liquids, Clarendon Press Oxford, **1987**
25. Goldstein, H., Poole, C.P., Safko, J.L., Classical Mechanics, Addison Wesley, **2002**
26. Hansen, J.P., McDonald, I.R., Theory of Simply Liquids, Academic Press, **1976**
27. Hiemenz, P., Lodge, T., 'Polymer Chemistry', Boca Raton, CRC Press, Florida, **2007**
28. Flory, P.J., Statistical Mechanics of Chain Molecules, Interscience, New York, **1969**
29. Lee B., Richards F.M., *J Mol Biol*, **1971**, 55 (3), 379
30. Shrake A., Rupley J.A., *J Mol Biol*, **1973**, 79 (2), 351
31. Richards F.M., Annu Rev Biophys Bioeng, **1977**, 6, 151
32. Connolly, M. L., *J Appl Cryst*, **1983**, 16 (5), 548
33. Connolly, M. L., *J Mol Graphics*, **1992**, 11 (2),139
34. Car, R., Parrinello, M., *Phys.Rev Lett* 55, **1985**, 2471
35. Reid, R.C., Prausnitz, J.M., Sherwood, T.K., The properties of Gases and Liquids, 3rd Edition, McGraw Hill, New York, **1977**
36. Green, M.S., *Physica*, **1958**, 24, 393
37. Green, M.S., *J. Chem. Phys.*, **1956**, 25,836
38. Kubo, R., *J.Phys. Soc.Japan*, **1957**, 12, 570
39 Tyrell, H. J.V., Harris, K.R., 'Diffusion in Liquids', Butterworths, London, **1984**
40. Goldstein, H., Classical Mechanics, Narosa Publ., **1998**
41. Stone, A.J., The theory of Intermolecular Forces, Chalendon Press, Oxford, **2000**
42. Maitland, G., Rigby, M., Smith, B.E., Wakeham, W.A., Intermolecular Forces: Their Origin and Determination, Chalendon Press, Oxford, **1987**
43. Hirchfelder, J.O., Curtis, C.F., Bird, R.B., 'Molecular Theory of Gases and Liquids', John Wiley & Sons Inc., New York, **1964**
44. Rigby, M., Smith, E.B., Wakeham, W.A., Maitland, G.C., The Forces Between Molecules, Clanderon Press, Oxford, **1986**
45 Goldstein, H., 'Classical Mechanics' (2nd ed.), Reading, MA: Addison-Wesley, **1980**
46. Hill, T.L., Statistical Mechanics, Dover Pubs, NY, **1987**
47. Rowlinson, J.S., Liquids and Liquid Mixtures, Butterworth, London, **1971**
48. Lennard-Jones, J.E., *Proc. Roy. Soc.*, **1924**, 106A, 463
49. Rice, W.E., Hirschfelder, J.O., *J. Chem. Phys.*, **1954**, 22, 187
50. Morse, P.M., *Phys. Rev.*, **1929**, 34, 57-64
51. Mie, G., *Annalen der Physik*, **1903**, 11, 657-697

52. Sutmann, G., Classical Molecular Dynamics in Quantum Simulations of Complex Many – Body System: From Theory to Algorithms, edited by Grotendorst, J., Marx, D., Muramatsu, A., NIC Series, **2002**

53. Born, M., Oppenheimer, J.R., *Ann. Phys*., **1927**, 84, 457

54 Brooks, B.R., Bruccoleri, R.E., Olafson, B.D., States, D.J., Swaminathan, S., Karplus, M., *J Comp Chem*, **1983**, 4, 187 – 217

55 Pettitt, B.M., Karplus, M., *J. Am. Chem. Soc*., **1985**, 107, 1166

56. MacKerell, A. D., Bashford, D., Bellott, M., Dunbrack, R. L., Evanseck, J. D., Field, M. J., Fischer, S., Gao, J., Guo, H., Ha, S., Joseph-McCarthy, D., Kuchnir, L., Kuczera, K., Lau, F. T. K., Mattos, C., Michnick, S., Ngo, T., Nguyen, D. T., Prodhom, B., Reiher, W. E., Roux, B., Schlenkrich, M., Smith, J. C., Stote, R., Straub, J., Watanabe, M., Wiorkiewicz-Kuczera, J., Yin, D., Karplus,M., *J. Phys. Chem. B*, **1998**, 102, 3586.

57. MacKerell, A. D., Wiorkiewiczkuczera, J., Karplus, M., *J. Comput. Chem*., **1995**, 117, 11946

58. Feller, S. E., MacKerell, A. D., *J. Phys. Chem. B*, **2000**, 104, 7510

59. Cournia, Z., Vaiana, A. C., Ullmann, G. M., Smith, J. C., *Pure Appl.Chem*., **2004**, 76, 189.

60. Metropolis, N, Rosenbluth, A.W., Rosenbluth, M.N, Teller, A.H., Teller, E., *J. Chem. Phys*., **1970**, 52, 729

61. Rapaport, D.C., The Art of Molecular Dynamics Simulation, Cambridge University Press, **1995**

62. Haile, J.M., Molecular Dynamics Simulation: Elementary Methods, John Wiley &Sons, **1997**

63. Alder, B,J., Wainwright, T.E., *J. Chem Phys*., **1957**, 27, 1208 – 1209.

64. Alder, B,J., Wainwright, T.E., *J. Chem Phys*., **1959**, 31, 459 - 466.

65. Metropolis, N., Rosenbluth, A.W., Rosenbluth, M.N., Teller, A.H., Teller, E., *J. Chem. Phys*., **1953**, 21, 1087 – 1092

66. Ewald, P., *Ann. Phys*., **1921**,369, 253–287

67. Ryckaert, J. P; Ciccotti, G, Berendsen, H. J. C., *J. Comput. Phys*.,**1977**. 23, 327 – 341

68. Hess, B., Bekker, H., Berendsen, H.J.C., Fraaije, J.G.E.M., *J. Comp. Chem*., **1997**, 18, 1463 – 1472

69. Edberg, R; Evans D J, Morriss G P, *J. Chem. Phys*., **1986,** 84, 6933 – 6939

70. van Gunsteren, W.F., Billeter,S.R., Eising, A.A., Hunenberger P.H., Kruger, P., Mark, A.E., Scott, W.R.P.,Tironi, I.G., "Biomolecular Simulation, The GROMOS96 Manual and User Guide. ,Zürich, vdf Hochschulverlag AG an der ETH Zürich and BIOMOS b.v, **1996**

71. Scott, W.R.P., Hunenberger, P.H., Tironi, I.G., Mark, A.E., Billeter,S.R., Fennen, J., Torda, A.E., Huber, T., Kruger, P, van Gunsteren., W.F., *J. Phys. Chem. A*, **1999**, 103, 3596 – 3607

72. van Gunsteren, W. F., Berendsen H. J. C., Groningen Molecular Simulation (GROMOS) Library Manual, BIOMOS b.v., Groningen, **1987**.

73 Van der Spoel, D., Lindahl, E., Hess, B., Groenhof, G., Mark, A.E., Berendsen, H. J. C., *J. Comput. Chem.*,**2005**, 26, 16,1701 – 1718

74. Goldblatt, H., Lynch, J., Hanzal, R. F., Summerville, W.W., *J Exp Med*, **1934**, 59, 347–349.

75. Braun-Menendez, E, Fasciolo, J.C., Leloir, L.F., Munoz, J.M., *J Physiol*, **1940**, 98, 283–298

76. Page, I. H., *Hypertension*, **1990**, 16, 199–200.

77. Page, I. H., Helmer, O. M., *J Exp Med*, **1940**, 71, 29–42.

78. Skeggs, L. T., Lentz, K. E., Kahn, Jr, Shumway, N.P., Woods, K.R., *J Exp Med*,**1956**, 104, 193–197.

79. Bumpus, F.M., Schwartz, H., Page, I.H., *Science* (Wash DC), **1957**, 125, 886–887.

80. Elliott, D.F., Peart, W.S., *Nature* (Lond), **1956**, 177, 527–528.

81. Rittel, W., Iselin, B., Kappeler, H., Riniker, B., Schwyzer, R., *Helv Chim Acta*, **1957**, 40, 614–624.

82. Αποστολάκης, Μ., 'Στοιχεία Φυσιολογίας του ανθρώπου', Τόμος Β, Αφοί Κυριακίδη, **1995**

83. Σαραφίδης, Π.Α., Λαζαρίδης, Α.Ν., Τουρκαντώνης, Α.Α., *Αρτηριακή Υπέρταση*, **2001**, 10, 29 - 43

84. NG, K. K. F., Vane, J. R, *Nature*, **1967**, 216, 762-766.

85. Zaman, M.A., Oparil, S., Calhoun, D.A., *Nature Reviews/Drug Discovery*, **2002**, 1, 621

86. Pagliaro, P., Penna, C., *Cardiovascular Drugs and Therapy*, **2005**, 19, 77–87.

87. AdbAlla, S., Lother, H., Abdel-tawab, M. A., Quitterer, U., *J. Biol.Chem*., **2001,** 276, 39721 – 39726.

88. Toukan, K., Rahman, A., *Phys. Rev. B*, **1985**, 31, 2643–2648

89. Berendsen, H. J. C., Grigera, J. R., Straatsma, T. P., *J. Phys. Chem*., **1987**, 91, 6269–6271

90. Jorgensen, L.W., Maxwell, S.D., Tirado-Rives, J., *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, 118 (45), 11225–11236

91 Pires, R.M., Costa, H.F., Ferreira, A.G.M., Fonseca, I.M.A, *J. Chem. Eng. Data*, **2007**, 52, 1240 – 1245

92. Lide, D. R.,. CRC Handbook of Chemistry and Physics (70th Edn.)., Boca Raton (FL): CRC Press, **1990**

93. www.nist.gov

94 Spyroulias, G.A.,Nikolakopoulou, P., Tzakos, A., Gerothanassis, P.I., Magafa,V., Manessi-Zoupa, E., Cordopatis, P., *Eur. J. Biochem*, **2003**, 270, 2163-2173