

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна
ННІ «Фізико-технічний факультет»
Кафедра медичної фізики та біомедичних нанотехнологій

Пояснювальна записка

До дипломної роботи бакалавра

на тему (укр. мова) Молекулярно-динамічне моделювання взаємодії
поліфенолів з модельними мембранами

на тему (англ. мова) Molecular dynamics modelling of polyphenol interaction
with model membrane

Виконав: студента 4 курсу, групи ТБ-41

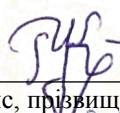
Напрямок підготовки 105 «Прикладна фізика та
наноматеріали»



Даніїл ЛОНІН

(підпис, прізвище та ініціали)

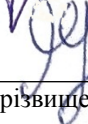
Науковий керівник:



Уляна МАЛОВИЦЯ

(підпис, прізвище та ініціали)

Рецензент:



Володимир ФАРАФОНОВ

(підпис, прізвище та ініціали)

Харків – 2025 року

АНОТАЦІЯ

Лонін Д. О. – Молекулярно-динамічне моделювання взаємодії поліфенолів з модельними мембранами. – Рукопис.

Дипломна робота бакалавра за спеціальністю 105 «Прикладна фізика та наноматеріали» – Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна, Харків, 2025.

66 с., 25 рис., 4 табл., 42 джерел.

У роботі проведено комплексне дослідження взаємодії низки поліфенольних сполук (кверцетин, саліцилова кислота, ресвератрол, куркумін, сезамін, галова кислота) з модельними ліпідними мембранами різного складу. Методом молекулярної динаміки (МД) тривалістю 100 нс вивчено взаємодію з бішарами чистого POPC та з домішками холестерину (Chol30) або кардіоліпіну (CL11). Додатково було використано веб-сервіс PerMM для оцінки термодинамічних параметрів зв'язування та коефіцієнтів проникності.

Встановлено, що більшість досліджених поліфенолів спонтанно проникають та стабільно вбудовуються у структуру ліпідних бішарів. Показано, що склад мембрани суттєво впливає на локалізацію поліфенолів: присутність холестерину викликає більш поверхнєве розташування, тоді як кардіоліпін може стабілізувати зв'язування та сприяти глибшому проникненню деяких сполук. Розрахунки за допомогою PerMM виявили найвищу спорідненість до мембрани для ресвератролу та енольної форми куркуміну, та значні енергетичні бар'єри для транслокації кверцетину та галової кислоти, що корелює з їх низькими коефіцієнтами проникності.

Отримані результати демонструють, що як структура поліфенолу, так і склад ліпідного бішару визначають характер їх взаємодії.

ABSTRACT

Lonin D. O. – Molecular dynamics modelling of polyphenol interaction with model membrane – Manuscript.

Bachelor's thesis in speciality 105 “Applied Physics and Nanomaterials” – V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, 2025.

66 pages, 25 pictures, 4 tables, 42 sources.

This work presents a comprehensive study of the interaction between a series of polyphenolic compounds (quercetin, salicylic acid, resveratrol, curcumin, sesamin, and gallic acid) and model lipid membranes of various compositions. Using 100 ns molecular dynamics (MD) simulations, the interactions with pure POPC bilayers, as well as those containing cholesterol (Chol30) or cardiolipin (CL11), were investigated. Additionally, the PerMM web service was employed to evaluate binding thermodynamics and permeability coefficients.

It was established that most of the studied polyphenols spontaneously penetrate and stably embed into the lipid bilayer structure. The results demonstrate that membrane composition significantly influences the localization of polyphenols: the presence of cholesterol leads to a more superficial positioning, whereas cardiolipin can stabilize their binding and promote deeper penetration for certain compounds. The PerMM calculations revealed the highest membrane affinity for resveratrol and the enol form of curcumin, and significant energy barriers for the translocation of quercetin and gallic acid, which correlates with their low permeability coefficients.

The obtained results demonstrate that both the polyphenol structure and the lipid composition of the bilayer critically determine the nature of their interaction.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	5
ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	7
1.1 Структура і фізико-хімічні властивості ліпідного бішару.....	7
1.1.1. Загальна характеристика ліпідного бішару як основи біологічних мембран.....	7
1.1.2. Молекулярна організація та динаміка ліпідного бішару.....	8
1.1.3. Фізико-хімічні властивості ліпідного бішару.....	11
1.2 Поліфеноли.....	14
1.2.1. Загальна характеристика, визначення та класифікація поліфенолів.....	14
1.2.2. Фундаментальні фізико-хімічні властивості поліфенолів.....	15
1.2.3. Антиоксидантні механізми та структурно-функціональні залежності.....	16
1.2.4. Взаємодія поліфенолів з біологічними мембранами.....	17
1.3 Метод молекулярної динаміки.....	18
1.4 PerMM.....	27
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.....	29
2.1 Підготовка вхідних файлів поліфенолів.....	29
2.2 Створення системи мембрана-поліфенол.....	33
2.3 Розрахунки молекулярної динаміки у Gromacs.....	34
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	36
3.1 Взаємодія поліфенолів з мембранами за результатами молекулярної динаміки.....	36
3.2 Взаємодія поліфенолів з мембранами за результатами сервісу PerMM.....	48
ВИСНОВКИ.....	57
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	60

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

CR enol	куркумін (енольна форма)
CR keto	куркумін (кето форма)
GA	галова кислота
PA	саліцилова кислота
QR	кверцетин
RS	ресвератрол
SES	сезамін
POPC	бішар, утворений виключно з 1-пальмітоїл-2-олеїл-sn-гліцеро-3-фосфатидилхоліну
CL11	гетерогенний ліпідний бішар, що складається з фосфатидилхоліну та аніонного ліпиду кардіоліпіну у співвідношенні 89:11
Chol30	гетерогенний ліпідний бішар, що складається з фосфатидилхоліну та холестерину у співвідношенні 7:3
МД	молекулярна динаміка

ВСТУП

Біологічні мембрани є фундаментальними структурно-функціональними компонентами клітин, що оточують як самі клітини, так і їхні органели, визначаючи внутрішні та зовнішні компартменти та беручи участь у численних клітинних процесах. Поліфеноли, велика група природних сполук рослинного походження, характеризуються значною структурною різноманітністю та широким спектром біологічної активності. Багато ефектів поліфенолів пов'язані з їхньою здатністю взаємодіяти з біологічними мембранами, спонтанно проникати та вбудовуватися в ліпідні бішари завдяки своїй амфіфільній природі. Розуміння молекулярних механізмів таких взаємодій має вирішальне значення для з'ясування їхньої біологічної дії та потенційних застосувань, зокрема, для розуміння біодоступності та механізмів антиоксидантної активності.

Для дослідження складних біомолекулярних взаємодій на атомістичному рівні потужним інструментом є методи комп'ютерного моделювання, зокрема метод молекулярної динаміки (МД). МД симуляції дозволяють вивчати фізичні рухи атомів та молекул у часі, надаючи детальне уявлення про поведінку систем, включаючи динамічні процеси та структурні перебудови, що є ключовими для розуміння впливу поліфенолів на властивості мембран та навпаки.

Метою даної бакалаврської роботи є молекулярно-динамічне моделювання та аналіз взаємодії обраних поліфенольних сполук з модельними ліпідними мембранами. У роботі досліджується вплив складу модельних мембран, зокрема присутності холестеролу або кардіоліпіну, на характер взаємодій та локалізацію поліфенолів у ліпідному бішарі.

Для досягнення цієї мети були поставлені і виконані наступні завдання:

- 1) Побудова структур поліфенолів в форматах *.pdb та *.mol2 у програмі MarvinSketch та оптимізація їх в Avogadro;

- 2) Створення систем «поліфенол-ліпідний бішар» та контрольних систем (загальна кількість – 24 шт) за допомогою веб-середовища CHARMM-GUI;
- 3) Молекулярно-динамічне моделювання систем «поліфенол-ліпідний бішар» за допомогою програмного пакету GROMACS;
- 4) Аналіз та візуалізація результатів розрахунків за допомогою вбудованих функцій програмного пакету GROMACS та програми VMD;
- 5) Оцінка пасивної транслокації поліфенолів через ліпідну мембрану DOPC за допомогою веб-серверу PerMM

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Структура і фізико-хімічні властивості ліпідного бішару.

1.1.1. Загальна характеристика ліпідного бішару як основи біологічних мембран

Біологічні мембрани є тонкими шарами, що оточують клітини та їхні органели, визначаючи внутрішній та зовнішній простір компартментів [1]. Вони виконують не лише структурну роль бар'єру, але й містять різноманітні функціональні молекули, такі як рецептори, іонні канали, переносники та ферменти [1]. Клітинна мембрана також підтримує нерівноважний стан у клітині, що є критично важливим [2].

Ліпіди є амфіфільними молекулами, що мають гідрофільну (полярну) частину з одного боку та гідрофобну (неполярну) з іншого. При контакті з водою більшість ліпідів спонтанно утворюють бішарні мембрани [1]. Цей процес самозбірки зумовлений головним чином гідрофобним ефектом, за якого неполярні ацильні ланцюги ліпідів прагнуть мінімізувати свій контакт з водним середовищем, групуючись разом, тоді як полярні головки взаємодіють з молекулами води на поверхні агрегату [1]. Спонтанність формування бішару вказує на термодинамічну вигідність такої структури, що забезпечує її стабільність в умовах клітини та лежить в основі здатності мембран до самовідновлення [1].

До основних класів ліпідів належать гліцерофосфоліпіди, сфінголіпіди та стероли. Гліцерофосфоліпіди, такі як фосфатидилхолін (PC), фосфатидилетаноламін (PE), фосфатидилсерин (PS) та фосфатидилінозитол (PI), складаються з полярної головної групи, гліцеринового залишку, до якого приєднані два гідрофобні ацильні ланцюги [1]. Ці ацильні ланцюги можуть відрізнятися за довжиною, зазвичай від 12 до 24 атомів вуглецю, та ступенем насиченості, тобто кількістю подвійних зв'язків [1]. Сфінголіпіди мають в основі церамід, який складається зі сфінгозину, зв'язаного амідним зв'язком з жирною кислотою, і можуть містити фосфохолінову головку, як у

сфінгомієліну (SM), або вуглеводні залишки, як у глікосфінголіпідів (цереброзиди, гангліозиди) [1].

Ліпідний бішар має товщину приблизно 5 нм, що є надзвичайно мало порівняно з розмірами клітин. Цей параметр не є сталим і залежить від типу ліпідів та їхнього фазового стану [1]. Мала товщина важлива для гнучкості мембрани, процесів везикулярного транспорту та правильного функціонування інтегральних мембранних білків, гідрофобна частина яких повинна відповідати товщині гідрофобного ядра мембрани [1].

1.1.2. Молекулярна організація та динаміка ліпідного бішару

Сучасне уявлення про структуру мембран базується на рідко-мозаїчній моделі Зінгера та Ніколсона (1972) [2]. Запропонована ними рідко-мозаїчна модель описувала мембрану як двовимірний розчин, що складається з плинного ліпідного бішару, в який занурені або з яким асоційовані білкові молекули [2]. Ця модель досі залишається фундаментальною, хоча й зазнала суттєвих доповнень та модифікацій. Важливим кроком у розвитку моделі стало припущення Моурітсена та Блума (1984) про латеральну гетерогенність мембрани, тобто наявність у ній ділянок з відмінним ліпідним складом та фізичним станом, відомих як ліпідні домени або «рафти» [3]. Це схематично зображено на Рис.1.1.1. Ці домени можуть вибірково асоціювати з певними білками, впливаючи на їхню функцію та локалізацію. Динамічний характер доменів, їхнє формування та розпад, вказує на те, що вони є не статичними структурами, а скоріше активними регуляторними платформами. Мембрани не є гомогенними, а містять домени (рафти), які мають специфічний ліпідний (наприклад, збагачені сфінголіпідами та холестеролом) та білковий склад [3]. Ці компоненти мають властивість до самоорганізації через переважні взаємодії, наприклад, холестерол та сфінголіпіди утворюють більш впорядковану LO-фазу [4,6].

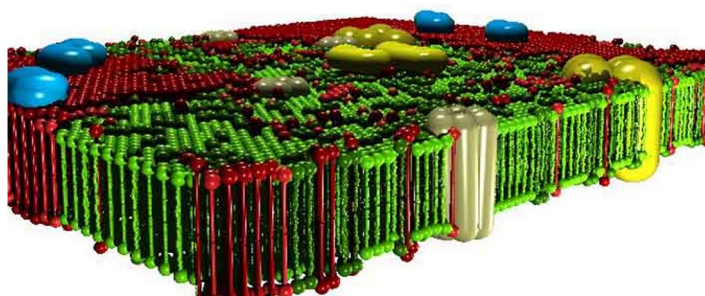


Рис.1.1.1 Схематичне зображення біологічної мембрани.

Найбільш поширеними фазовими станами є твердо-впорядкована фаза (SO, solid ordered), яку також називають гель-фазою, рідинно-впорядкована фаза (LO, liquid ordered) та рідинно-невпорядкована фаза (LD, liquid disordered), відома також як плинна або рідкокристалічна фаза (Рис. 1.1.2) [4].

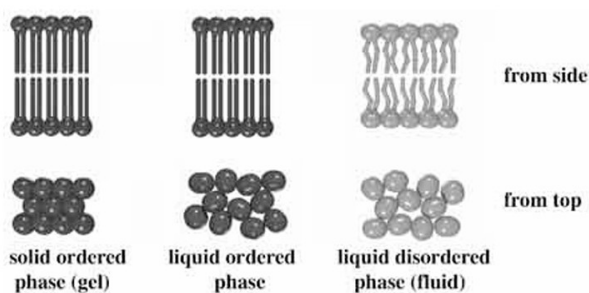


Рис 1.1.2 Три найпоширеніші фази мембрани фази, показані у вигляді поперечних перерізів і зверху: тверда впорядкована (SO), рідка впорядкована (LO) і рідка невідпорядкована (LD) фази [4].

У SO-фазі ліпідні молекули розташовані впорядковано, утворюючи, як правило, трикутну решітку в площині мембрани, а їхні вуглеводневі ланцюги перебувають у максимально витягнутій, переважно all-trans конформації [4]. На відміну від цього, у LD-фазі спостерігається втрата латерального впорядкування ліпідів, а їхні ацильні ланцюги є значно більш невідпорядкованими внаслідок обертання навколо одинарних С-С зв'язків та утворення гош-конформерів. Рідинно-впорядкована (LO) фаза поєднує в собі риси обох попередніх: вуглеводневі ланцюги в ній залишаються впорядкованими, подібно до SO-фази, але ліпіди зберігають високу

латеральну рухливість, характерну для рідини [4]. За фізіологічних умов біологічні мембрани зазвичай перебувають у плинній (LD) фазі, однак їхня близькість до температур фазових переходів дозволяє організму тонко налаштовувати їхній стан та властивості. Різні фазові стани мають кардинально відмінні фізичні властивості, такі як жорсткість, проникність, дифузійні характеристики ліпідів та білків [4].

Перехід вуглеводневих ланцюгів ліпідів із впорядкованого (гель-фаза) стану в неупорядкований (плинна фаза) називається плавленням ацильних ланцюгів [5]. Цей процес є кооперативним (відбувається узгоджено для групи молекул) і супроводжується поглинанням тепла (збільшенням ентальпії системи) та зростанням неупорядкованості (збільшенням ентропії) [5]. Температура, за якої відбувається цей фазовий перехід, позначається як T_m (температура плавлення), і її значення залежить від низки факторів: довжини вуглеводневих ланцюгів (довші ланцюги мають вищу T_m), ступеня їх насиченості (ненасичені ланцюги, особливо ті, що містять цис-подвійні зв'язки, мають значно нижчу T_m), тиску (підвищення тиску збільшує T_m), присутності розчинників (які зазвичай знижують T_m) та взаємодії з мембранними білками [5].

Холестерол є важливим компонентом мембран еукаріотичних клітин, який суттєво впливає на їхні фізичні властивості [6,9]. Він взаємодіє з фосфоліпідами, розташовуючись між їхніми ацильними ланцюгами таким чином, що його гідроксильна група орієнтована до полярної області мембрани, а жорстке стероїдне ядро та гнучкий вуглеводневий хвіст занурені в гідрофобну товщу бішару. Холестерол чинить так званий «ущільнюючий» або «впорядковуючий» ефект на мембрани, що перебувають у плинній (LD) фазі [8]. Він збільшує впорядкованість ацильних ланцюгів фосфоліпідів та зменшує їхню рухливість, що призводить до утворення рідинно-впорядкованої (LO) фази. Водночас холестерол «розріджує» мембрани, що перебувають у гель-фазі (SO), порушуючи щільне пакування насичених ацильних ланцюгів. Важливо зазначити, що ненасиченість алкільних

ланцюгів фосфоліпідів значно зменшує впорядковуючий та ожорсточуючий ефекти холестеролу [6]. Холестерол взаємодіє з фосфоліпідами, особливо зі сфінголіпідами та насиченими ліпідами. Ця взаємодія призводить до збільшення впорядкованості ацильних ланцюгів, але зберігає їхню латеральну рухливість – це і є LO-фаза [6].

Ліпіди в бішарі не є статичними, а проявляють різні типи молекулярної рухливості, що охоплюють широкий діапазон часових шкал. Одним з найшвидших процесів є транс-гош ізомеризація ацильних ланцюгів, яка полягає в обертанні навколо одинарних С-С зв'язків, що призводить до утворення гош-конформерів з транс-конформерів [7]. Цей процес є фундаментальною основою плинності мембран та їх здатності до фазових переходів, а частота таких ізомеризацій у плинній фазі становить близько 10^{10} s^{-1} [7]. Ліпіди також здатні до обертальної дифузії, тобто обертання навколо своєї довгої осі. Коефіцієнти обертальної дифузії ($D_{\parallel}$) для ліпідів у плинній фазі становлять близько 10^8 - 10^9 s^{-1} . Латеральна дифузія описує рух ліпідів у площині моношару. Коефіцієнти латеральної дифузії (D_t) для ліпідів у плинній (LD) фазі становлять 10^{-11} - $10^{-12} \text{ м}^2/\text{с}$. У гель-фазі ця дифузія значно повільніша, а в LO фазі, індукованій холестеролом, D_t може бути в 2-10 разів нижчим, ніж у LD фазі [7]. Нарешті, трансмембранний рух, або фліп-флоп, – це переміщення ліпідних молекул з одного моношару бішару в інший [8]. Для фосфоліпідів це дуже повільний процес, з періодом напівжиття від годин до днів, через необхідність переміщення полярної головної групи через гідрофобне ядро мембрани. Однак для таких ліпідів, як холестерол, церамід та діацилгліцерол, фліп-флоп відбувається значно швидше, за лічені секунди [8].

1.1.3. Фізико-хімічні властивості ліпідного бішару

Ліпідні бішари належать до категорії так званих «м'яких матеріалів» і характеризуються поєднанням пружних та в'язких властивостей. Їхні механічні властивості є анізотропними (залежать від напрямку прикладання

сили). Одним з ключових параметрів є модуль площинного стиснення (K_A), який характеризує опір бішару розтягуванню або стисненню в площині мембрани. Типові значення K_A для плинних фосфатидилхолінових бішарів становлять 100-250 мН/м [10]. Присутність холестеролу значно збільшує цей показник; наприклад, для мембран з SOPC додавання еквімолярної кількості холестеролу призводить до зростання K_A з 235 мН/м до 640 мН/м [10]. Іншою важливою характеристикою є модуль вигину (k_c), що описує опір бішару вигинанню. Для плинних фосфатидилхолінових бішарів типові значення k_c становлять порядку 10^{-19} Дж [10]. Холестерол також збільшує модуль вигину. Модуль поперечного стиснення ($E_{\perp}$) характеризує опір стисненню перпендикулярно площині мембрани і є чутливим до довжини та насиченості ацильних ланцюгів, а також до присутності холестеролу. Механічні властивості, такі як пружність та кривизна, залежать від ліпідного складу (наприклад, холестерол збільшує жорсткість).

Ліпідні бішари функціонують як вибірково проникні бар'єри, що є однією з їхніх найважливіших властивостей. Вони відносно легко пропускають малі неполярні молекули, такі як кисень (O_2) та діоксид вуглецю (CO_2), і, меншою мірою, малі полярні незаряджені молекули, наприклад, воду та гліцерол. Важливою особливістю є те, що проникність мембран для води, іонів та інших малих молекул значно зростає в області температур фазового переходу ліпідів [9, 10]. Для заряджених частинок, таких як іони, та великих полярних молекул, наприклад, глюкози та амінокислот, інтактний ліпідний бішар є практично непроникним. Збільшення проникності поблизу температури плавлення (T_m) пов'язане зі зростанням флуктуацій щільності пакування ліпідів та утворенням тимчасових дефектів або пор у структурі бішару.

Ліпідні бішари характеризуються низкою електричних властивостей, що відіграють важливу роль у функціонуванні клітин. Однією з таких властивостей є дипольний потенціал, який виникає через анізотропну (невпорядковану) орієнтацію дипольних моментів самих ліпідних молекул

(зокрема, карбонільних груп складноефірних зв'язків та фосфатних груп) та впорядкованих молекул води на межі поділу фаз ліпід-вода [11]. Для фосфатидилхолінових бішарів, що перебувають у рідинно-невпорядкованій (LD) фазі, дипольний потенціал становить приблизно 250 мВ, причому внутрішня частина бішару є позитивно зарядженою відносно водної фази. Іншою важливою характеристикою є поверхневий електростатичний потенціал, також відомий як потенціал Гуї-Чепмена [11]. Він зумовлений наявністю на поверхні мембрани ліпідів, що несуть сумарний електричний заряд, наприклад, негативно заряджених фосфатидилсерину або кардіоліпіну. Величина цього потенціалу залежить від густини поверхневого заряду та іонної сили навколишнього водного розчину. Нарешті, трансмембранний потенціал – це різниця електричних потенціалів між двома водними компартментами, розділеними ліпідним бішаром. Він виникає внаслідок нерівномірного розподілу іонів по обидва боки мембрани та їхньої різної здатності проникати через неї [11].

Внутрішня, гідрофобна частина ліпідного бішару, утворена вуглеводневими ланцюгами ліпідів, створює ефективний бар'єр для проникнення полярних молекул. Ефективність цього бар'єру значною мірою залежить від ступеня гідрофобності мембранного ядра, яка, в свою чергу, визначається ступенем проникнення молекул води в цю область. Дослідження показали, що ненасиченість алкільних ланцюгів фосфоліпідів та присутність холестеролу в мембрані значно підвищують гідрофобність її ядра, роблячи мембрану більш ефективним бар'єром для полярних молекул. Наприклад, мембрани, утворені з насичених фосфатидилхолінів, мають гідрофобність, порівнянну з гідрофобністю пропанолу, тоді як введення цис-подвійного зв'язку в ацильний ланцюг або додавання холестеролу підвищує гідрофобність [12].

Характерною рисою біологічних мембран є асиметричний розподіл ліпідів між зовнішнім та внутрішнім (цитоплазматичним) моношарами бішару. Наприклад, у мембрані еритроцитів людини сфінгомієлін та

фосфатидилхолін переважно локалізовані у зовнішньому моношарі, тоді як фосфатидилетаноламін та, особливо, фосфатидилсерин концентруються у внутрішньому, цитоплазматичному моношарі. Гліколіпіди, що відіграють роль у клітинному розпізнаванні, знаходяться виключно у зовнішньому моношарі, зверненому до позаклітинного простору. Ця асиметрія не є статичною, а підтримується завдяки комбінації двох факторів: дуже повільного спонтанного трансмембранного переміщення (фліп-флопу) фосфоліпідів та активності специфічних білків-транслокаторів (фліпаз, флопаз, скремблаз), які каталізують перенесення певних ліпідів між моношарами [12].

1.2 Поліфеноли

1.2.1. Загальна характеристика, визначення та класифікація поліфенолів

Поліфеноли – це велика група природних сполук з однією або декількома фенольними гідроксильними групами, приєднаними до ароматичних кілець. Вони є вторинними метаболітами рослин, що синтезуються для захисних та інших функцій, що пояснює їхню структурну різноманітність та функціональну універсальність [13].

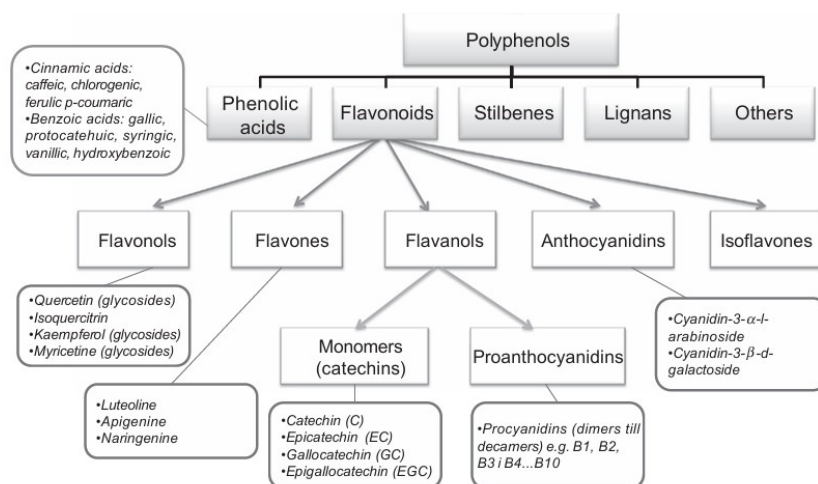


Рисунок 1.2.1. Основні класи поліфенолів за їхньою хімічною структурою

Сучасне хімічне визначення, запропоноване Квідо (Quideau) та співавторами у 2011 році, характеризує поліфеноли як «вторинні метаболіти

рослин, що походять виключно з шикіматного фенілпропаноїдного та/або полікетидного шляху(шляхів), що містять більше одного фенольного кільця та позбавлені будь-якої функціональної групи на основі азоту в їхній найбільш базовій структурній експресії». Це визначення акцентує на біосинтетичному походженні та специфічних структурних критеріях [14].

Класифікація поліфенолів найчастіше базується на особливостях їхньої хімічної структури (Рисунок 1.2.1) і виділяє декілька основних класів: фенольні кислоти, флавоноїди, стильбени та лігнани [13]. Фенольні кислоти є похідними бензойної (скелет C_6-C_1) або коричної кислоти (скелет C_6-C_3). Флавоноїди, найпоширеніший клас, мають скелет $C_6-C_3-C_6$ і поділяються на підкласи: флавоноли, флаваноли, флавони, ізофлавони, антоціанідини та флаванони. Стильбени мають структуру $C_6-C_2-C_6$, а лігнани – $(C_6-C_3)_2$ [13]. Це структурне різноманіття, зумовлене варіаціями в базових скелетах, кількості та положенні гідроксильних груп, їх модифікаціями (метилування, ацилювання, глікозилювання) та полімеризацією, є причиною широкого спектру фізико-хімічних властивостей поліфенолів. Кожна структурна модифікація впливає на електронну густину, стеричні характеристики, здатність до водневих зв'язків, баланс гідрофільності/ліпофільності та редокс-потенціал, що безпосередньо визначає взаємодію поліфенолу з біологічною мембраною.

1.2.2. Фундаментальні фізико-хімічні властивості поліфенолів

Фізико-хімічні властивості поліфенолів залежать від їхньої молекулярної структури, зокрема кількості та розташування фенольних гідроксильних груп. Ключовою є розчинність: поліфеноли зазвичай розчинні в полярних органічних розчинниках, а їхні глікозиди – у воді, тоді як аглікони менш водорозчинні. Водорозчинність зростає з кількістю гідроксильних груп. Поліфеноли поглинають УФ-світло, що може впливати на їхню стабільність та фотохімічну поведінку при взаємодії з біологічними мембранами, потенційно змінюючи їхню реакційну здатність або ініціюючи процеси, що впливають на окислення в мембрані [13].

Дві фундаментальні властивості лежать в основі біологічних активностей поліфенолів: відновлювальна активність та зв'язувальні властивості. Відновлювальна активність, зумовлена здатністю фенольних гідроксилів віддавати електрони або атоми водню, є основою їхніх антиоксидантних властивостей. Зв'язувальні властивості проявляються у здатності утворювати комплекси з іонами металів (металохелатна активність) та нековалентно взаємодіяти з біомолекулами, включаючи білки, через водневі зв'язки, гідрофобні та ван-дер-ваальсові сили. При взаємодії з біологічними мембранами саме поєднання цих властивостей визначає вплив поліфенолів на стабільність ліпідного бішару [13].

1.2.3. Антиоксидантні механізми та структурно-функціональні залежності

Антиоксидантна дія поліфенолів реалізується через пряме знешкодження активних форм кисню (АФК), хелатування іонів перехідних металів та інші механізми. Два основні механізми прямої нейтралізації вільних радикалів ($R\bullet$) поліфенолами ($ArOH$) – це перенесення атома водню ($HAT: ArOH + R\bullet \rightarrow ArO\bullet + RH$) та перенесення одного електрона ($SET: ArOH + R\bullet \rightarrow ArOH^{\bullet+} + R^-$). Ефективність HAT залежить від енергії дисоціації зв'язку $O-H$ (BDE), а SET – від потенціалу іонізації (IP) поліфенолу. Утворені феноксильні радикали ($ArO\bullet$) або радикал-катіони ($ArOH^{\bullet+}$) є стабільнішими за вихідні радикали завдяки делокалізації неспареного електрона [15].

Антиоксидантна активність суттєво залежить від хімічної структури поліфенолу: кількості та розташування гідроксильних груп, наявності інших замісників та просторової конфігурації. Для флавоноїдів, згідно з «критеріями Борса», високу активність забезпечують: 1) о-дигідроксильна (катехольна) структура в кільці В (стабілізація феноксильного радикала); 2) подвійний зв'язок $C_2=C_3$ в кільці С, кон'югований з 4-оксо групою (делокалізація електрона); 3) гідроксильні групи в положеннях 3 (кільце С) та 5 (кільце А) [15]. За відсутності катехолу в кільці В, аналогічна структура в кільці А може частково компенсувати це. Глікозилювання, особливо 3-ОН

групи, зазвичай знижує активність *in vitro*, тоді як полімеризація (утворення проантоціанідинів) може її посилювати [15]. При розгляді антиоксидантної активності поліфенолів у біологічних мембранах, їхня ефективність визначається не лише здатністю нейтралізувати радикали, але й здатністю проникати в мембрану, досягати місця пошкодження та приймати оптимальну орієнтацію, що залежить від структури поліфенолу, його розчинності та балансу гідрофільності/ліпофільності.

1.2.4. Взаємодія поліфенолів з біологічними мембранами

Взаємодія поліфенолів з біологічними мембранами визначається нековалентними взаємодіями: водневими зв'язками, гідрофобними ефектами та ван-дер-ваальсовими силами. Фенольні гідроксили утворюють водневі зв'язки з полярними головками ліпідів та гліцерином, а ароматичні кільця взаємодіють з гідрофобними ацильними ланцюгами через гідрофобний ефект та ван-дер-ваальсові сили. Розуміння цих взаємодій важливе для молекулярно-динамічного моделювання систем «поліфенол-мембрана», оскільки вони визначають спорідненість, глибину проникнення, локалізацію та орієнтацію поліфенолу в мембрані [13].

Завдяки амфіфільній природі (полярні гідроксили, неполярні ароматичні кільця), багато поліфенолів спонтанно проникають та вбудовуються в ліпідні бішари. Їхня локалізація та орієнтація залежать від структури поліфенолу та складу/стану мембрани. В мембрані поліфеноли модулюють окислювальне пошкодження, діючи як антиоксиданти, що розривають ланцюг перекисного окислення ліпідів, нейтралізуючи радикали в гідрофобній фазі або на межі фаз. Деякі можуть створювати фізичний бар'єр для окисників. Окрім прямої антиоксидантної дії, поліфеноли можуть впливати на стійкість мембрани до окиснення через модуляцію її фізичних властивостей (мікрров'язкість, товщина, організація ліпідів) [13].

1.3 Метод молекулярної динаміки

Метод молекулярної динаміки (МД) є потужним обчислювальним інструментом, що дозволяє досліджувати фізичні рухи атомів та молекул у часі, надаючи детальне уявлення про поведінку систем на атомному рівні. Суть методу полягає в тому, що кожен атом розглядається як окрема частинка, рух якої описується законами класичної фізики, зокрема рівняннями руху Ньютона. Процес моделювання складається з великої кількості послідовних часових кроків, тривалість яких зазвичай становить порядку фемтосекунд (10^{-15} с). На кожному такому кроці здійснюється розрахунок координат та швидкостей усіх атомів системи. Знаючи сили, що діють на кожний атом у даний момент часу, можна розрахувати його координати та швидкість у наступний момент, і так далі по всій траєкторії руху. Такий підхід є правомірним для систем, де динамічний опис не вимагає явного врахування квантових поправок. Ця умова, як правило, виконується для частинок з масою, що перевищує 10 атомних одиниць маси (а.о.м.), при температурах вищих за 10 К [16].

Історично метод МД був вперше застосований наприкінці 50-х років минулого сторіччя для опису взаємодії твердих сфер. Важливим кроком стало моделювання рідкого аргону з використанням реалістичного потенціалу у 1964 році, а згодом, через 10 років, були проведені МД розрахунки рідкої води. Перша МД симуляція білкової молекули, а саме інгібітору трипсину, була здійснена у 1977 році [16, 17, 18].

Молекулярна динаміка слугує своєрідним мостом між мікроскопічним світом атомів та макроскопічними властивостями речовини. Розраховуючи траєкторії окремих атомів, тобто їхні координати та швидкості в часі, та усереднюючи певні функції цих величин вздовж траєкторії, можна отримати макроскопічні термодинамічні характеристики системи, такі як енергія, тиск, температура. Теоретичним обґрунтуванням такого підходу є ергодична гіпотеза, яка стверджує, що для достатньо довгої траєкторії середнє за часом

значення будь-якої динамічної змінної стає еквівалентним середньому значенню цієї змінної по статистичному ансамблю.

В основі методу МД лежить інтегрування класичних рівнянь руху Ньютона [16]. Для системи, що складається з N частинок, динаміка кожної i -ї частинки описується другим законом Ньютона, який може бути записаний у вигляді:

$$m_i \frac{d^2 r_i}{dt^2} = F_i(r_1, \dots, r_N) \quad (1.3.1)$$

де m_i – маса i -ї частинки, r_i – її радіус-вектор, а F_i – сумарна сила, що діє на i -у частинку з боку всіх інших частинок системи. Цю силу можна виразити через потенційну енергію системи $U(r_1, \dots, r_N)$ як її негативний градієнт по відношенню до координат даної частинки:

$$F_i(r_1, \dots, r_N) = -\frac{\partial U(r_1, \dots, r_N)}{\partial r_i} \quad (1.3.2)$$

Таким чином, знання функції потенційної енергії U дозволяє визначити сили, що діють на частинки, а отже, і їхні траєкторії руху. Рівняння руху (1.3.1) є системою звичайних диференціальних рівнянь другого порядку. Їх також можна представити у гамільтоновій формі як систему диференціальних рівнянь першого порядку. Задання початкових умов, тобто координат $r_i(0)$ та швидкостей $v_i(0)$ (або імпульсів $p_i(0)$) усіх частинок системи в початковий момент часу $t=0$, дозволяє отримати єдине рішення цієї системи рівнянь – траєкторію системи у фазовому просторі. Ця траєкторія $\{r(t), p(t)\}$ містить максимально можливу інформацію про властивості класичної системи [16].

Класична молекулярна динаміка є детерміністичним методом: за однакових початкових умов та однакового опису взаємодій (силового поля) симуляція завжди приведе до тієї самої траєкторії. Однак, через хаотичну природу багаточастинкових систем та неминучі числові похибки при інтегруванні, навіть незначні відмінності в початкових умовах або в реалізації алгоритму можуть призвести до експоненційної розбіжності траєкторій на довгих часових проміжках [19]. Це підкреслює важливість

статистичного підходу до аналізу результатів МД та, зазвичай, необхідність проведення множинних незалежних симуляцій для отримання достовірних висновків. Для ізольованої системи, що моделюється в мікροканонічному ансамблі (NVE, де постійними є число частинок N , об'єм V та енергія E), повна енергія системи повинна зберігатися з високою точністю протягом усієї симуляції. Відхилення повної енергії від її початкового значення слугує важливим критерієм якості симуляції, вказуючи на точність процедури чисельного інтегрування та адекватність обраного часового кроку. Збереження енергії є фундаментальним наслідком того, що рівняння руху виводяться з гамільтоніана, який для консервативних систем є інтегралом руху [16].

Принциповою умовою успішного застосування методу МД є наявність адекватних моделей енергетичної поверхні системи, яка визначається потенціалами міжатомної взаємодії. У МД потенційна енергія системи U зазвичай задається у вигляді суми різних внесків, що описують взаємодії між атомами. Сукупність математичних функцій, що описують ці взаємодії, та відповідних їм параметрів називається силовим полем. Силові поля є емпіричними, тобто їхні параметри підбираються таким чином, щоб відтворювати експериментальні дані (наприклад, спектральні, термодинамічні, структурні властивості) або результати точніших квантово-хімічних розрахунків для невеликих модельних молекул [16]. Загалом, потенційна енергія в силовому полі представляється як сума внесків від ковалентних (або зв'язаних, *bonded*) та нековалентних (або незв'язаних, *non-bonded*) взаємодій:

$$U = U_{\text{bonded}} + U_{\text{non-bonded}} \quad (1.3.3)$$

Ковалентні взаємодії (U_{bonded}) описують енергію, пов'язану зі зміною геометрії власне ковалентних зв'язків у молекулах. Вони включають енергію деформації довжин валентних зв'язків (U_{bond}), енергію деформації валентних кутів (U_{angle}) та енергію торсійних кутів (U_{dihedral}), що пов'язана з обертанням

навколо ковалентних зв'язків. Загальний вигляд цього доданку може бути представлений так:

$$U_{\text{bonded}} = U_{\text{bond}} + U_{\text{angle}} + U_{\text{dihedral}} = \sum_{\text{bonds}} \frac{1}{2} k_{ij}^r (r_{ij} - r_0)^2 + \sum_{\text{angles}} \frac{1}{2} k_{ijk}^\theta (\theta_{ijk} - \theta_0)^2 + \sum_{\text{dihedrals}} \sum_m k_{ijkl}^{\varphi, m} (1 + \cos(m\varphi_{ijkl} - \gamma_m)) \quad (1.3.4)$$

Перший доданок у рівнянні (1.3.4) описує валентні зв'язки, де r_{ij} – поточна довжина зв'язку між атомами i та j , r_0 – його рівноважна довжина, а k_{ij}^r – силова константа зв'язку. Цей потенціал зазвичай є гармонічним. Другий доданок характеризує енергію валентних кутів θ_{ijk} , утворених трьома атомами i , j , k , де θ_0 – рівноважне значення кута, а k_{ijk}^θ – силова константа; цей потенціал також часто є гармонічним. Третій доданок відповідає за енергію торсійних взаємодій, що виникають при обертанні навколо зв'язку j – k в ланцюжку з чотирьох атомів i – j – k – l . Тут φ_{ijkl} – двогранний кут, m – кратність торсійного бар'єру, γ_m – зсув фази, а $k_{ijkl}^{\varphi, m}$ – висота потенційного бар'єру [16].

Нековалентні взаємодії ($U_{\text{non-bonded}}$) описують сили між атомами, які не зв'язані ковалентно, або зв'язані через декілька проміжних атомів (зазвичай, для атомів, розділених трьома або більше зв'язками, так звані 1-4 взаємодії та далі). Ці взаємодії є ключовими для визначення просторової структури макромолекул, їх укладки, та міжмолекулярних взаємодій. Зазвичай, енергія нековалентних взаємодій представляється у вигляді:

$$U_{\text{non-bonded}} = U_{\text{LJ}} + U_{\text{Coulomb}} + U_{\text{hb}} \quad (1.3.5)$$

де U_{LJ} – це потенціал Леннарда-Джонса, що описує ван-дер-ваальсові взаємодії, U_{Coulomb} – кулонівський потенціал для електростатичних взаємодій, а U_{hb} – потенціал, що описує водневі зв'язки, хоча останній часто не виділяється в окремий член, а є результатом комбінації U_{LJ} та U_{Coulomb} [16].

Ван-дер-ваальсові взаємодії, що описуються потенціалом Леннарда-Джонса, включають короткодійні сили відштовхування (пропорційні r^{-12}), що виникають при перекритті електронних оболонок атомів, та довгодійніші сили притягання (дисперсійні, або лондонівські сили, пропорційні r^{-6}) [16]. Його вигляд подано формулою (1.3.6) та проілюстровано на Рис. 1.3.1.

$$U_{LJ}(r) = 4 \varepsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (1.3.6)$$

де ε_{ij} – глибина потенційної ями для пари атомів i, j , σ_{ij} – відстань, на якій потенціал дорівнює нулю, а r_{ij} – відстань між атомами.

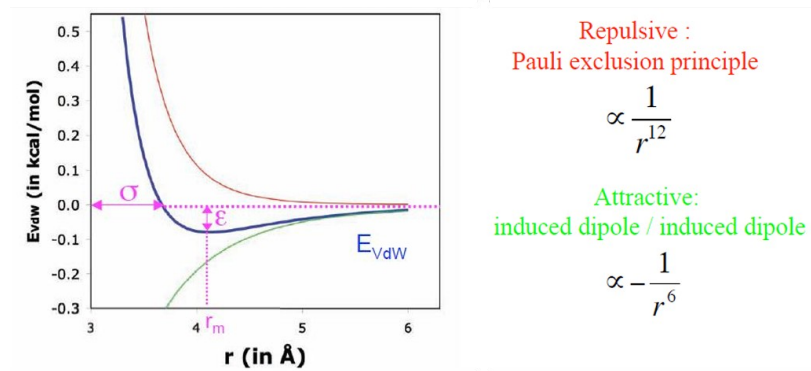


Рис. 1.3.1. Залежність потенціалу Леннарда-Джонса (E_{vdw}) від відстані між атомами (r), що ілюструє відштовхувальну (Repulsive, $1/r^{12}$) та притягувальну (Attractive, $-1/r^6$) компоненти. ε – глибина потенційної ями, σ – відстань, на якій $U_{LJ} = 0$, r_m – відстань, на якій потенціал мінімальний [16].

Електростатичні (кулонівські) взаємодії виникають між зарядженими атомами або атомами, що мають парціальні заряди q_i та q_j . Ці взаємодії описуються законом Кулона:

$$U_{Coulomb}(r_{ij}) = \frac{q_i q_j}{4 \pi \varepsilon_0 \varepsilon r_{ij}} \quad (1.3.7)$$

де ε_0 – електрична стала, ε – діелектрична проникність середовища, а r_{ij} – відстань між зарядами [16]. Розрахунок цих далекодіючих взаємодій є обчислювально складним завданням у МД симуляціях.

Водневі зв'язки є специфічними нековалентними взаємодіями, що відіграють надзвичайно важливу роль у стабілізації структур біомолекул. У деяких силових полях для їх опису використовують спеціальні потенціали, наприклад, потенціал Морзе, який враховує енергію дисоціації D_e та рівноважну відстань r_e водневого зв'язку (Рис. 1.3.2):

$$U_{hb} = D_e \left[1 - \exp(-a(r - r_e)) \right]^2 \quad (1.3.8)$$

де a – параметр, що визначає «ширину» потенційної ями.

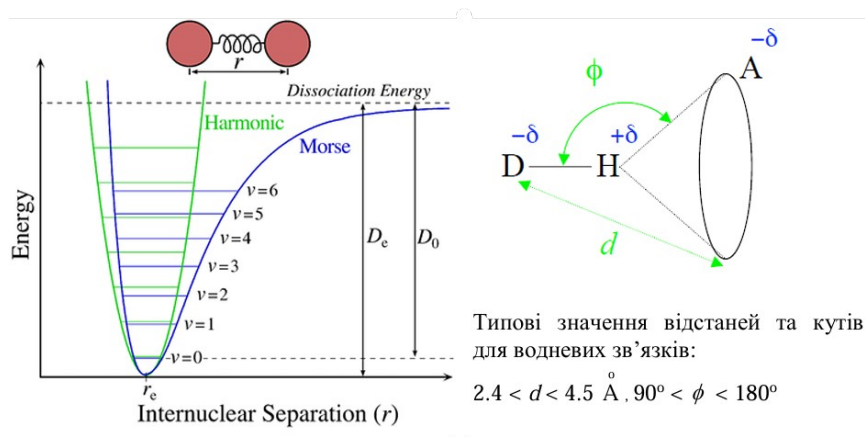


Рис. 1.3.2. Залежність потенціалу Морзе, що може використовуватися для опису водневих зв'язків, від відстані між атомами. D_e – глибина потенційної ями (енергія дисоціації), r_e – рівноважна відстань. Також показані типові значення відстаней (d) та кутів (ϕ) для водневих зв'язків [16].

Параметри для силових полів (силові константи, рівноважні довжини та кути, парціальні заряди, параметри Леннарда-Джонса тощо) визначаються шляхом ретельної підгонки до широкого набору експериментальних даних (спектроскопічних, калориметричних, кристалографічних) та/або результатів квантово-хімічних розрахунків для невеликих модельних молекул. Існує низка широко використовуваних силових полів, розроблених спеціально для моделювання біомакромолекул, серед яких найпопулярнішими є CHARMM, AMBER, GROMOS та OPLS [21-26]. Наявні силові поля не є універсальними; кожне з них призначене для певних типів молекулярних структур і працює найкраще у певному діапазоні зовнішніх параметрів, таких як температура та тиск.

Емпіричний характер силових полів означає, що вони є наближенням до реальної квантово-механічної природи міжатомних взаємодій. Вони, як правило, не описують утворення або розрив ковалентних зв'язків, що є обмеженням класичної МД, і зазвичай не враховують поляризаційні ефекти явно (хоча існують і складніші поляризовані силові поля). Точність

результатів МД симуляції безпосередньо залежить від якості параметризації обраного силового поля та адекватності його функціональних форм для конкретної задачі. Питання переносимості параметрів силового поля (тобто можливості використання параметрів, отриманих для одних молекул, для опису інших) є складним [25]; на практиці переносимість обмежена, і параметри часто оптимізуються для конкретних класів сполук.

Оскільки аналітичне розв'язання системи рівнянь руху Ньютона для багатоатомної системи є неможливим, в МД застосовуються чисельні методи інтегрування. Ці методи дозволяють покроково обчислювати координати та швидкості атомів у наступні моменти часу $t+\Delta t$, виходячи з їхніх значень у поточний момент часу t . Основою багатьох таких методів є розклад координат частинки $r(t+\Delta t)$ в околиці точки t у ряд Тейлора:

$$r(t+\Delta t)=r(t)+v(t)\Delta t+\frac{1}{2}a(t)\Delta t^2+\frac{1}{6}b(t)\Delta t^3+\dots \quad (1.3.9)$$

де $v(t)$ – швидкість, $a(t)$ – прискорення, $b(t)$ – ривок (похідна прискорення за часом), а Δt – часовий крок інтегрування. На практиці, для спрощення, рівняння (1.3.9) записують у дискретній формі, позначаючи координати на кроці n (в момент часу t_n) як r_n , а на кроці $n+1$ (в момент часу $t_n+\Delta t$) як r_{n+1} :

$$r_{n+1}=r_n+v_n\Delta t+\frac{1}{2}\frac{F_n}{m}\Delta t^2+O(\Delta t^3) \quad (1.3.10)$$

Вибір часового кроку інтегрування Δt є критично важливим. Він має бути достатньо малим, щоб точно описувати найшвидші рухи в системі (наприклад, коливання зв'язків за участю атомів водню, характерний час яких становить близько 10 фс) [27], але водночас достатньо великим, щоб дозволити симуляції охопити значущі часові масштаби досліджуваних процесів.

Існує декілька алгоритмів, розроблених для ефективного та стабільного чисельного інтегрування рівнянь руху в МД. Одним з найпростіших та найпоширеніших є алгоритм Верле (Verlet). Він базується на двох розкладах у ряд Тейлора для $r(t+\Delta t)$ та $r(t-\Delta t)$:

$$r_{n+1} = r_n + v_n \Delta t + \frac{1}{2} \frac{F_n}{m} \Delta t^2 + O(\Delta t^3) \quad (1.3.11)$$

$$r_{n-1} = r_n - v_n \Delta t + \frac{1}{2} \frac{F_n}{m} \Delta t^2 - O(\Delta t^3) \quad (1.3.11)$$

Сумуючи ці два рівняння, отримуємо формулу для розрахунку нових координат r_{n+1} :

$$r_{n+1} = 2r_n - r_{n-1} + \frac{F_n}{m} \Delta t^2 + O(\Delta t^4) \quad (1.3.12)$$

Цей алгоритм не вимагає явного обчислення швидкостей для оновлення позицій. Швидкості v_n можуть бути розраховані окремо, наприклад, шляхом віднімання рівняння (1.3.11b) з (1.3.11a):

$$v_n = \frac{r_{n+1} - r_{n-1}}{2\Delta t} + O(\Delta t^2) \quad (1.3.13)$$

Перевагами алгоритму Верле є його простота, обчислювальна ефективність (потребує лише одноразового обчислення сил на кроці) та те, що він є симплектичним (зберігає об'єм фазового простору) і оберненим у часі, що сприяє довготривалій стабільності симуляцій. Однак, він має недоліки: швидкості розраховуються з меншою точністю ($O(\Delta t^2)$), ніж координати ($O(\Delta t^4)$), і алгоритм не є самостартуючим (потребує r_n та r_{n-1}).

Алгоритм «стрибок жаби» (Leap-frog) є модифікацією алгоритму Верле, де швидкості та координати обчислюються зі зсувом на половину часового кроку відносно одне одного. Рівняння для цього алгоритму мають вигляд:

$$r_{n+1} = r_n + v_{n+1/2} \Delta t \quad (1.3.14a)$$

$$v_{n+1} = v_{n-1/2} + \frac{F_n}{m} \Delta t \quad (1.3.14b)$$

Швидкості в цілі моменти часу v_n (необхідні, наприклад, для розрахунку кінетичної енергії) оцінюються як середнє швидкостей на проміжних кроках: $v_n = (v_{n+1/2} + v_{n-1/2})/2$. Цей алгоритм покращує точність оцінки швидкостей та полегшує контроль температури, але швидкості та координати не визначаються одночасно.

Алгоритм Velocity Verlet є ще однією популярною варіацією, яка обчислює координати, швидкості та прискорення (сили) в один і той же момент часу. Рівняння для цього алгоритму:

$$r_{n+1} = r_n + v_n \Delta t + \frac{1}{2} \frac{F_n}{m} \Delta t^2 \quad (1.3.15a)$$

$$v_{n+1} = v_n + \frac{1}{2m} (F_n + F_{n+1}) \Delta t \quad (1.3.15b)$$

де F_{n+1} – сила, розрахована на основі нових координат r_{n+1} . Цей алгоритм забезпечує хорошу стабільність, точну оцінку швидкостей та кінетичної енергії, але є дещо більш ресурсоємним, ніж попередні два [16, 25, 26, 27].

Вибір конкретного алгоритму інтегрування залежить від специфіки задачі та необхідного компромісу між точністю, стабільністю та обчислювальною вартістю. Простіші алгоритми, як-от базовий алгоритм Верле, можуть бути менш точними для швидкостей або мати певні труднощі з ініціалізацією, але вони є обчислювально дешевшими. Більш складні алгоритми, наприклад, Velocity Verlet, можуть забезпечувати кращу точність для швидкостей і краще інтегруватися з методами контролю температури, але вимагають більше обчислень на кожному кроці.

Ключовим обмеженням для всіх алгоритмів є вибір часового кроку Δt . Він повинен бути значно меншим (приблизно на порядок) за період найшвидших коливань у системі. Для біомолекул такими рухами зазвичай є коливання довжин зв'язків, що з'єднують атоми водню з важчими атомами (наприклад, C-H, N-H, O-H), характерний період яких становить близько 10 фс. Тому типовий крок інтегрування в МД симуляціях біомолекул становить 1-2 фс. Якщо Δt обрано занадто великим, чисельний інтегратор стає нестабільним, і енергія системи не зберігається, що призводить до нефізичної поведінки. Це фундаментальне обмеження на тривалість симуляцій, оскільки для моделювання повільних біологічних процесів, що відбуваються на мікросекундних або навіть мілісекундних часових масштабах, потрібна величезна кількість таких малих часових кроків [25, 26, 27, 28, 29].

1.4 PerMM

Веб-сервер та база даних PerMM (Permeability of Molecules across Membranes) є публічно доступним ресурсом, розробленим для кількісного аналізу та візуалізації пасивної транслокації біоактивних молекул через ліпідні мембрани. Цей сервер обчислює енергії зв'язування з мембраною та коефіцієнти проникності для різноманітних молекул через штучні та природні мембрани, такі як фосфоліпідні бішари, модель PAMPA-DS, гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ) та клітинні мембрани Caco-2/MDCK [30]. Розробка PerMM була спрямована на створення інструменту, що пропонує компроміс між швидкістю емпіричних моделей кількісного співвідношення структура-проникність (QSPR) та деталізацією обчислювально витратних симуляцій молекулярної динаміки (МД). PerMM моделює саме пасивну проникність, використовуючи наближений метод, який поєднує гетерогенну теорію розчинності-дифузії та анізотропну модель розчинника ліпідного бішару.

Додаткова база даних PerMM містить експериментальні та розрахункові дані для понад 500 органічних молекул та препаратів, схвалених FDA, з молекулярними масами від 17 до 1202 Да. База даних дозволяє порівнювати обчислювально та експериментально визначені коефіцієнти проникності, сприяючи валідації досліджень та розробці нових обчислювальних методів [30].

Вхідні дані для сервера включають 3D структуру сполуки у форматі *pdb* з усіма атомами водню, експериментальні умови (температура, pH), вибір методу оптимізації для розрахунку енергетичних бар'єрів та опції для розрахунку коефіцієнтів проникності іонізуючих сполук. Користувач може обрати один з двох методів оптимізації для розрахунку шляху з найменшою енергією переносу: метод «drag» або глобальну обертальну оптимізацію, причому метод «drag» є рекомендованим. Також користувач може визначити опцію для стану іонізації, щоб розрахувати фактичні коефіцієнти проникності для кислот та основ, що залежать від pH, або внутрішні

коефіцієнти проникності для нейтральних молекул чи незаряджених форм іонізуючих сполук [30].

Вихідні дані сервера включають графічне представлення розрахованого профілю енергії переносу через бішар DOPC, енергію зв'язування з мембраною, оптимальну конформацію та орієнтацію молекули у зв'язаному стані, коефіцієнти проникності через бішар, інтерактивні 3D-зображення молекули вздовж шляху проникнення та у зв'язаному стані, а також завантажуваний файл координат з множинними положеннями молекули під час її руху через ліпідний бішар [30].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

2.1 Підготовка вхідних файлів поліфенолів

Підготовка точних тривимірних структур досліджуваних молекул є фундаментальним першим кроком для проведення молекулярно-динамічного (МД) моделювання їх взаємодії з модельними ліпідними мембранами. У цій роботі для створення початкових атомних координат поліфенолів та їх оптимізації було застосовано програмне забезпечення MarvinSketch (ChemAxon, версія 18.10) та Avogadro.

Об'єктами дослідження були обрані наступні поліфенольні сполуки: кверцетин, саліцилова кислота, ресвератрол, куркумін, сезамін та галова кислота. При цьому для куркуміну було вирішено розглянути дві його основні форми – енольну та кето-форму – з огляду на їх різну взаємодію з оточенням.

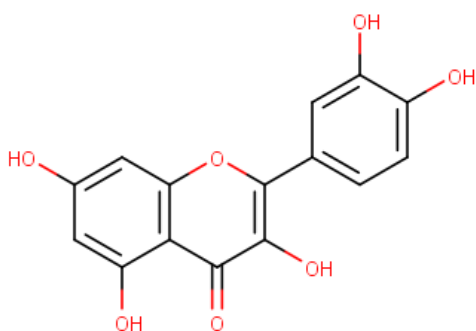
Детальний дизайн та початкова оптимізація хімічної структури поліфенолів продемонстровано на прикладі кверцетину, етапи якої ілюструє Рисунок 2.1.

Спочатку в графічному редакторі MarvinSketch була створена його двовимірна хімічна структура, що точно відображає всі атоми та зв'язки (Рисунок 2.1, панель А). Для стандартизації довжин зв'язків та валентних кутів у пласкому зображенні була застосована функція «Clean in 2D» (Рисунок 2.1, панель Б). Наступним обов'язковим кроком було додавання явних атомів водню за допомогою інструменту «Add Explicit Hydrogens» (Рисунок 2.1, панель В). Після цього, за допомогою функції «Clean in 3D», була згенерована початкова тривимірна конформація молекули кверцетину (Рисунок 2.1, панель Г), яка враховує базові стеричні фактори та стереохімію.

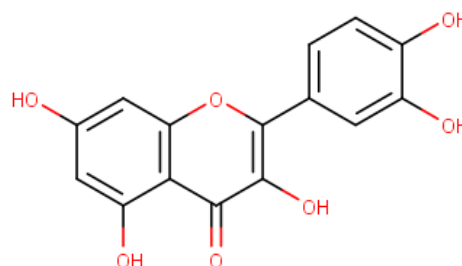
Отримана таким чином 3D структура була експортована з MarvinSketch та імпортована в програму Avogadro для подальшої оптимізації геометрії. В Avogadro за допомогою інструменту «Auto Optimization Tool», що використовує силове поле UFF (Universal Force Field), була проведена

процедура мінімізації енергії для отримання більш стабільної та реалістичної конформації. Кінцева, оптимізована в Avogadro, 3D-структура кверцетину, підготовлена для подальшого використання, показана на **Рисунку 2.1, панель Д**.

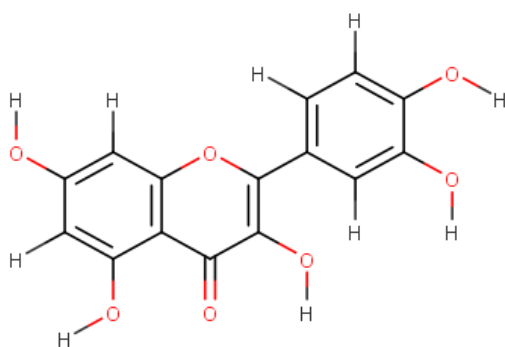
А



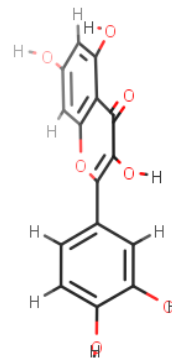
Б



В



Г



Д



Рис. 2.1. Етапи підготовки структури кверцетину: (А) початкова двовимірна структура молекули, створена в програмі MarvinSketch; (Б) вигляд структури після застосування функції «Clean in 2D»; (В) структура кверцетину після додавання явних атомів водню;

(Д) кінцева тривимірна структура кверцетину після оптимізації геометрії в програмі Avogadro.

Точно така ж послідовність операцій – побудова 2D структури, застосування «Clean in 2D», «Add Explicit Hydrogens», «Clean in 3D» у MarvinSketch, з наступною оптимізацією геометрії за допомогою «Auto Optimization Tool» (силове поле UFF) в Avogadro – була виконана для всіх

інших досліджуваних поліфенолів: саліцилової кислоти, ресвератролу, обох форм куркуміну (енольної та кето форми), сезаміну та галової кислоти.

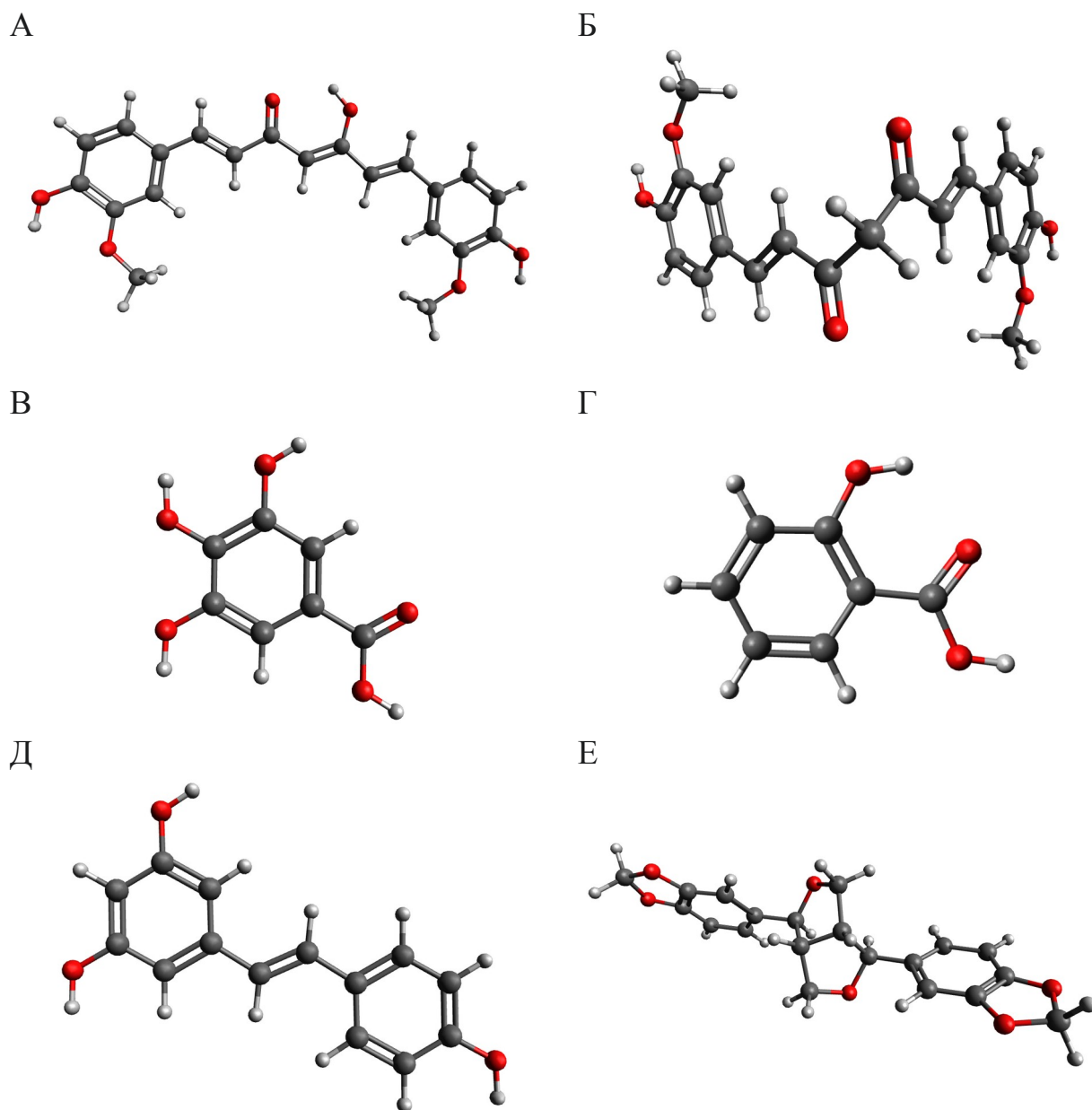


Рис. 2.2. Кінцеві тривимірні структури досліджуваних поліфенолів, оптимізовані в програмі Avogadro: (А) куркумін (енольна форма); (Б) куркумін (кето форма); (В) галова кислота; (Г) саліцилова кислота; (Д) ресвератрол; (Е) сезамін.

Кінцеві структури всіх досліджуваних поліфенолів після оптимізації в Avogadro були збережені у форматах .mol2, .pdb та .sdf для використання на

наступних етапах роботи. Оптимізовані тривимірні структури інших досліджуваних поліфенолів (куркуміну в енольній та кето-формі, галової кислоти, саліцилової кислоти, ресвератролу та сезаміну), підготовлені за описаним методом, представлені на Рисунку 2.2.

Після отримання оптимізованих тривимірних структур поліфенолів в програмі Avogadro, наступним кроком була їх параметризація для використання в моделюванні молекулярної динаміки з силовим полем CHARMM36m. Для цього використовувався модуль Ligand Reader & Modeler веб-сервісу CHARMM-GUI (<https://www.charmm-gui.org/>). Оптимізовані структури поліфенолів у форматі .mol2 завантажувалися на сервер. Модуль Ligand Reader & Modeler, використовуючи програму CGenFF (CHARMM General Force Field), автоматично генерував файли топології та параметрів для кожного ліганду. На Рисунку 2.3 панель А показано приклад інтерфейсу Ligand Reader & Modeler під час обробки кверцетину.

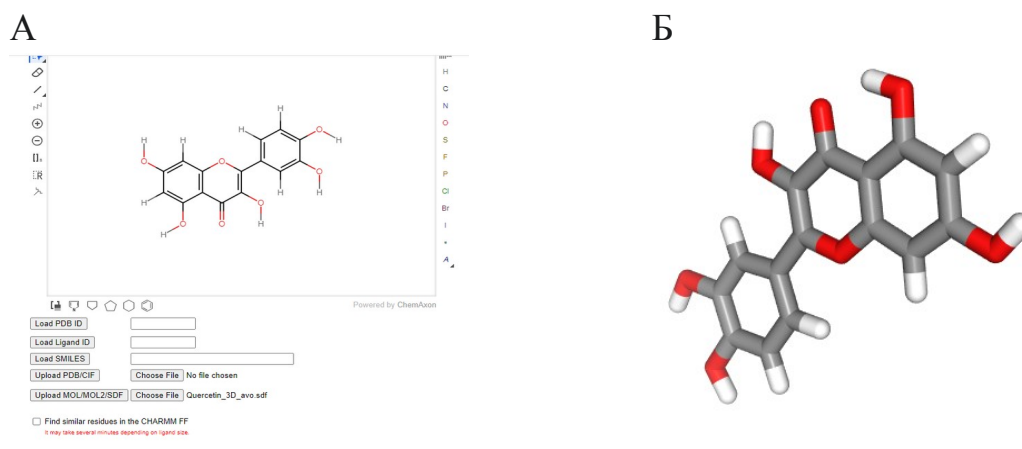


Рис. 2.3. Генерація топології для кверцетину в CHARMM-GUI Ligand Reader & Modeler: (А) вигляд інтерфейсу модуля під час завантаження кверцетину; (Б) тривимірне представлення кверцетину після завершення параметризації.

Таким чином, завдяки послідовному застосуванню програм MarvinSketch для побудови та первинної 2D/3D обробки, Avogadro для ретельної оптимізації тривимірної геометрії, та модуля Ligand Reader & Modeler веб-сервісу CHARMM-GUI, було отримано повний набір коректно підготовлених вхідних файлів для всіх досліджуваних поліфенолів. Ці файли,

що включають оптимізовані координати атомів та відповідні файли топології, є необхідною основою для подальшого створення комплексних систем «мембрана-поліфенол» та проведення достовірних розрахунків молекулярної динаміки.

2.2 Створення системи мембрана-поліфенол

Після завершення підготовки файлів топології для всіх досліджуваних поліфенолів, а саме кверцетину, саліцилової кислоти, ресвератролу, куркуміну в енольній та кето-формах, сезаміну та галової кислоти, наступним кроком було формування початкових конфігурацій систем «ліпідний бішар – поліфенол». Ці системи призначалися для подальшого моделювання методом молекулярної динаміки. Для побудови зазначених систем використовувався спеціалізований модуль Membrane Builder (Bilayer Builder), інтегрований у веб-середовище CHARMM-GUI [31].

На початковому етапі побудови кожної системи визначалося взаємне розташування індивідуальної молекули поліфенолу відносно модельного ліпідного бішару. Молекули поліфенолів розміщувалися на відстані 20 Å вздовж осі Z, що є нормаллю до поверхні мембрани, від геометричного центру мас бішару. Для всіх систем було встановлено значення рН 7.0.

На наступному етапі здійснювався вибір складу та визначалися розміри модельних мембран. У межах даного дослідження було розглянуто три різні типи ліпідних бішарів з майже однаковою кількістю ліпідів:

1. Бішар, утворений виключно з 1-пальмітоїл-2-олеїл-sn-гліцери-3-фосфатидилхоліну (POPC), що складався зі 146 молекул у верхньому та 147 молекул у нижньому моношарі.
2. Гетерогенний ліпідний бішар (CL11), що складається з POPC та аніонного ліпиду кардіоліпіну (LOCCL2) у співвідношенні POPC:LOCCL2 89:11.
3. Ліпідний бішар (Chol30), що складається зі 119 молекул POPC та 51 молекули холестерину в кожному моношарі (молярне співвідношення POPC:Chol 7:3).

Після визначення ліпідного складу, кожна система сольватувалася шаром молекул води. Для нейтралізації можливого загального заряду системи та створення іонної сили, що відповідає фізіологічним умовам, в водний шар додавалися іони Na^+ та Cl^- до кінцевої концентрації 0.15 M. Температура, за якої планувалося проведення всіх етапів моделювання, була встановлена на рівні 310 K. Розрахунки мали проводитися в рамках NPT ансамблю, що забезпечує постійне число частинок, тиск та температуру в системі. Веб-сервіс CHARMM-GUI послідовно об'єднував усі компоненти системи та генерував набір вхідних файлів, необхідних для подальшого проведення розрахунків молекулярної динаміки за допомогою програмного пакету GROMACS.

2.3 Розрахунки молекулярної динаміки у Gromacs

Молекулярно-динамічне моделювання взаємодії поліфенолів з модельними мембранами проводили за допомогою програмного пакету GROMACS 2024.2, використовуючи силове поле CHARMM36m [32]. Процес розпочинався з мінімізації енергії системи методом найшвидшого спуску протягом 50000 кроків, доки максимальна сила на атом не ставала меншою за $1000.0 \text{ кДж моль}^{-1} \text{ нм}^{-1}$. Для стабілізації поліфенолів та ліпідної мембрани застосовували сильні позиційні та дієдричні рестрейнти, що дозволяло розчиннику адаптуватися навколо ключових молекул. Незв'язані взаємодії розраховували за схемою Верле з радіусом обрізання 1.2 нм, використовуючи функцію перемикавання для ван-дер-ваальсових сил та метод PME для електростатики. Довжини зв'язків з атомами водню обмежували алгоритмом LINCS [34].

Далі система проходила шестистадійне врівноваження загальною тривалістю 1.875 нс для поступового досягнення температури 310 K та тиску 1.0 бар, належної сольватації та плавного зняття рестрейнтів. На всіх етапах врівноваження використовували термостат V-rescale, видаляли рух центру мас та обмежували довжини зв'язків водню алгоритмом LINCS, при цьому параметри незв'язаних взаємодій залишалися сталими [32, 34]. Перші два

етапи, кожен тривалістю 125 пс з кроком інтегрування 0.001 пс, проводили в NVT ансамблі, поступово послаблюючи сильні початкові рестрейнти. Починаючи з третього етапу, який також тривав 125 пс з кроком 0.001 пс, було введено контроль тиску за допомогою баростата C-rescale, що відповідає переходу до NPT ансамблю, та продовжено послаблення рестрейнтів. На четвертому та п'ятому етапах, кожен тривалістю 500 пс зі збільшеним до 0.002 пс кроком інтегрування, симуляція продовжувалася в NPT ансамблі з подальшим зменшенням рестрейнтів. На завершальному, шостому етапі врівноваження, що тривав 500 пс з кроком 0.002 пс, усі позиційні та дієдричні рестрейнти були повністю зняті, дозволяючи системі вільно релаксувати в NPT ансамблі при цільових температурі та тиску. Такий поетапний підхід забезпечив плавну адаптацію системи.

Після завершення підготовки було проведено продуктивне молекулярно-динамічне моделювання тривалістю 100 нс з кроком інтегрування 0.002 пс в NPT ансамблі. Температуру системи підтримували на рівні 310 K за допомогою термостата V-rescale, а тиск – на рівні 1.0 бар за допомогою баростата C-rescale з напівізотропним контролем. Довжини зв'язків за участю атомів водню обмежувалися алгоритмом LINCS. Параметри обробки незв'язаних взаємодій та видалення руху центру мас були аналогічні тим, що використовувалися на останніх етапах врівноваження. Для подальшого аналізу координати атомів системи зберігалися кожні 100 пс, а енергетичні параметри системи та інформація для лог-файлу – кожні 2 пс.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1 Взаємодія поліфенолів з мембранами за результатами молекулярної динаміки

Візуальний аналіз отриманих МД траєкторій, приклади якого для всіх досліджуваних поліфенолів наведені на Рис. 3.1.1-3.1.7, свідчить про загальну тенденцію до спонтанного проникнення та вбудовування молекул у структуру ліпідних бішарів протягом часу моделювання.

Ці рисунки ілюструють положення поліфенолу відносно мембрани в ключові моменти часу (0, 20, 50, 80 та 100 нс). Спостережуване самочинне вбудовування більшості поліфенолів у мембранне середовище вказує на термодинамічну вигідність цього процесу. Ймовірно, це зумовлено комбінацією гідрофобних взаємодій між аполярними фрагментами поліфенолів (наприклад, ароматичними кільцями) та внутрішньою частиною бішару, а також можливістю утворення водневих зв'язків між гідроксильними групами поліфенолів та полярними компонентами ліпідів (фосфатними групами, гліцериновим остовом) в інтерфейсній зоні.

За винятком специфічної поведінки сезаміну в чистому РОРС бішарі, де спостерігався його вихід з мембрани, інші поліфеноли залишалися вбудованими в ліпідний бішар протягом усього 100-наносекундного періоду симуляції. Цей час, як правило, є достатнім для досягнення рівноважної або квазірівноважної локалізації для молекул такого розміру, що підтверджується подальшим кількісним аналізом.

Для кількісної оцінки динаміки проникнення поліфенолів та стабільності їхнього положення було проаналізовано залежність відстані (різниці z-координат центрів мас) між центром мас (ЦМ) кожної молекули поліфенолу та ЦМ відповідного ліпідного бішару від часу симуляції (Рис. 3.1.8 та Рис. 3.1.9).

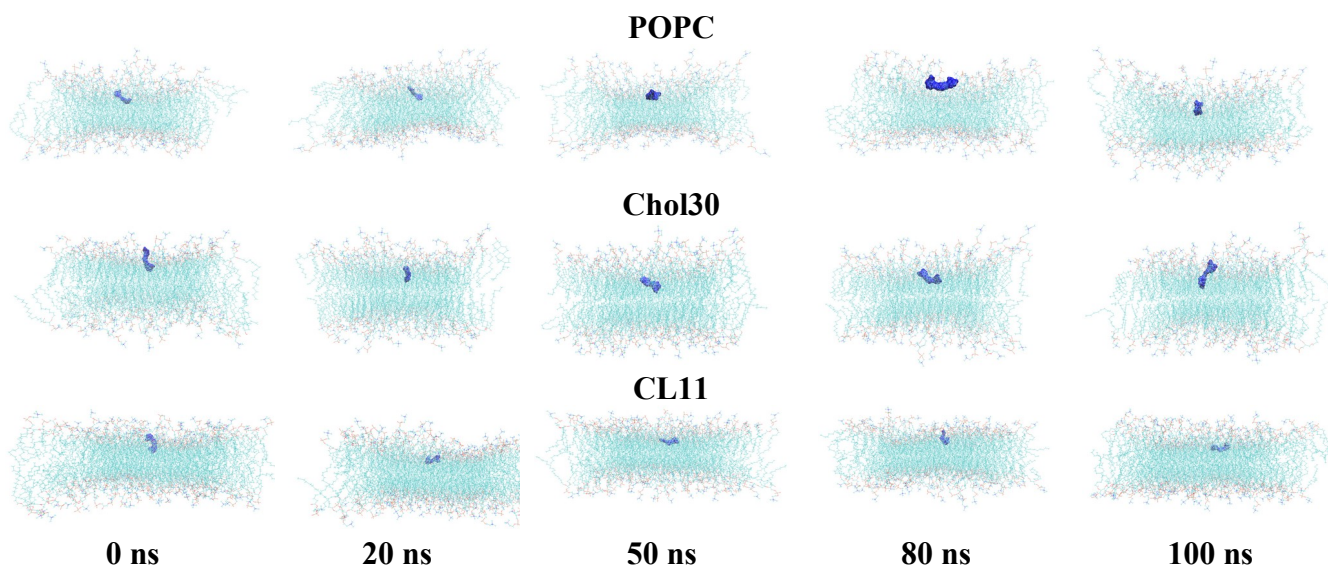


Рис. 3.1.1. Конфігурації системи «поліфенол-мембрана», що демонструють проникнення та локалізацію куркуміну (енольна форма) в модельних ліпідних бішарах POPC (верхній ряд), Chol30 (середній ряд) та CL11 (нижній ряд) у моменти часу 0, 20, 50, 80 та 100 нс. Молекула поліфенолу зображена темно-синім кольором, ліпідний бішар – світло-блакитним.

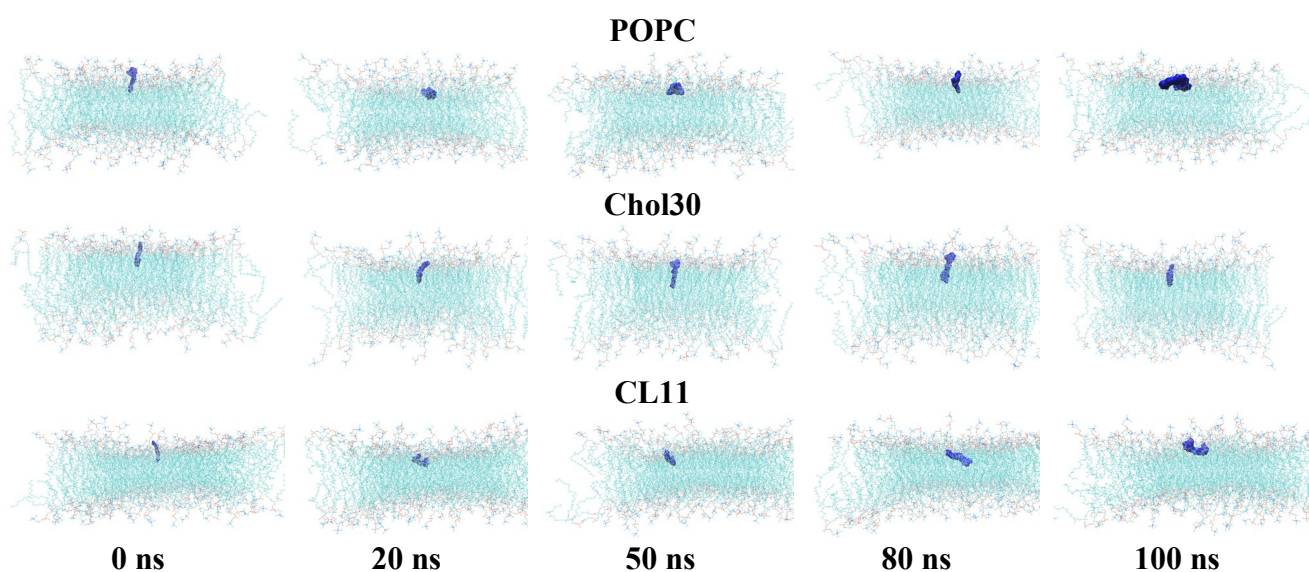


Рис. 3.1.2. Конфігурації системи «поліфенол-мембрана», що демонструють проникнення та локалізацію куркуміну (кето форма) в модельних ліпідних бішарах POPC (верхній ряд), Chol30 (середній ряд) та CL11 (нижній ряд) у моменти часу 0, 20, 50, 80 та 100 нс. Молекула поліфенолу зображена темно-синім кольором, ліпідний бішар – світло-блакитним.

POPC

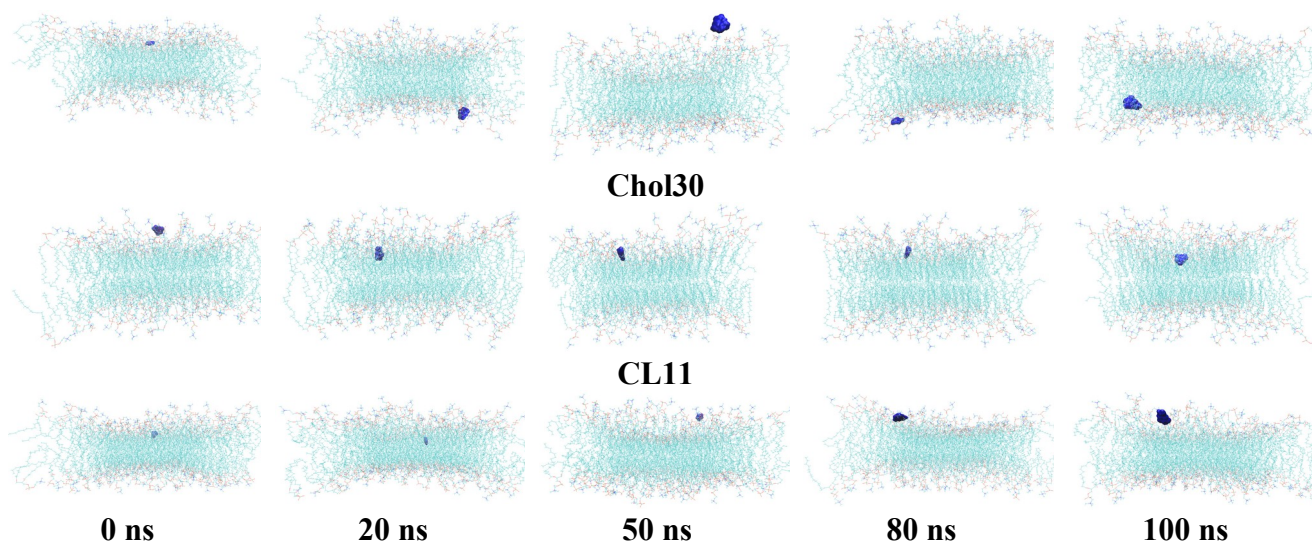


Рис. 3.1.3. Конфігурації системи «поліфенол-мембрана», що демонструють проникнення та локалізацію галової кислоти в модельних ліпідних бішарах POPC (верхній ряд), Chol30 (середній ряд) та CL11 (нижній ряд) у моменти часу 0, 20, 50, 80 та 100 нс. Молекула поліфенолу зображена темно-синім кольором, ліпідний бішар – світло-блакитним.

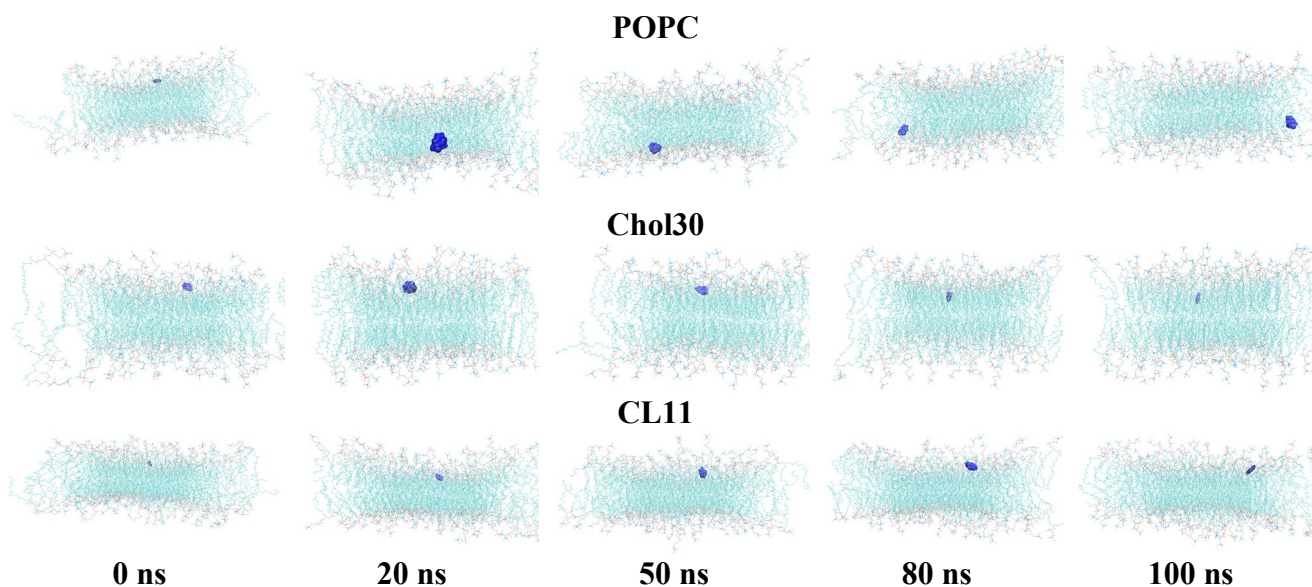


Рис. 3.1.4. Конфігурації системи «поліфенол-мембрана», що демонструють проникнення та локалізацію саліцилової кислоти в модельних ліпідних бішарах POPC (верхній ряд), Chol30 (середній ряд) та CL11 (нижній ряд) у моменти часу 0, 20, 50, 80 та 100 нс. Молекула поліфенолу зображена темно-синім кольором, ліпідний бішар – світло-блакитним.

POPC

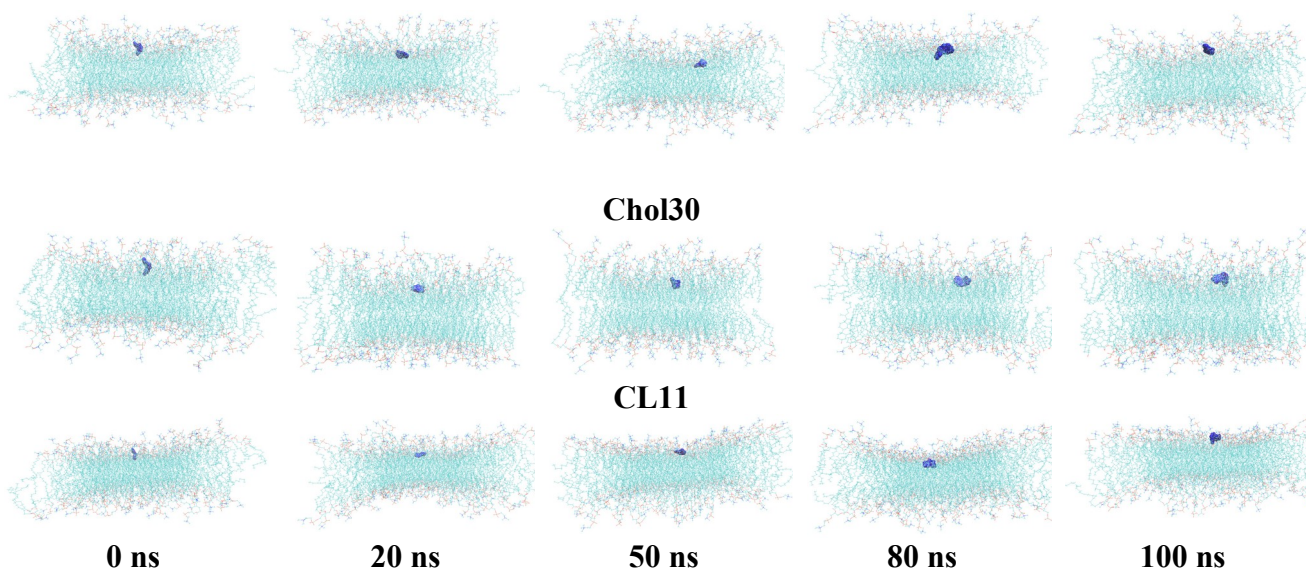


Рис. 3.1.5. Конфігурації системи «поліфенол-мембрана», що демонструють проникнення та локалізацію кверцетину в модельних ліпідних бішарах POPC (верхній ряд), Chol30 (середній ряд) та CL11 (нижній ряд) у моменти часу 0, 20, 50, 80 та 100 нс. Молекула поліфенолу зображена темно-синім кольором, ліпідний бішар – світло-блакитним.

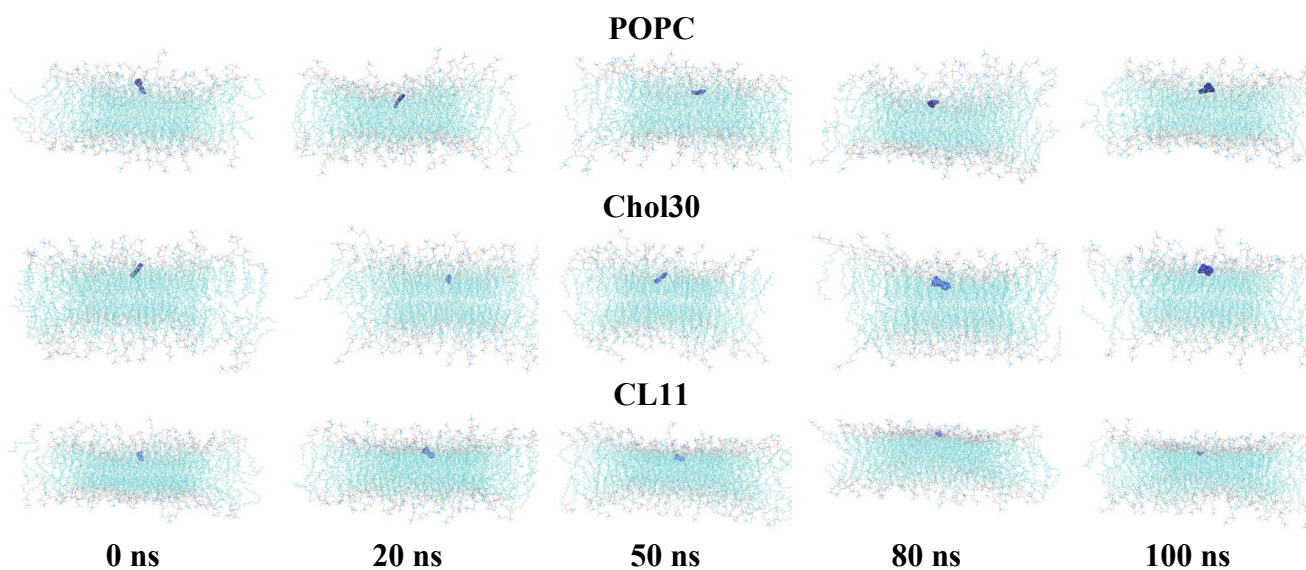


Рис. 3.1.6. Конфігурації системи «поліфенол-мембрана», що демонструють проникнення та локалізацію ресвератролу в модельних ліпідних бішарах POPC (верхній ряд), Chol30 (середній ряд) та CL11 (нижній ряд) у моменти часу 0, 20, 50, 80 та 100 нс. Молекула поліфенолу зображена темно-синім кольором, ліпідний бішар – світло-блакитним.

POPC

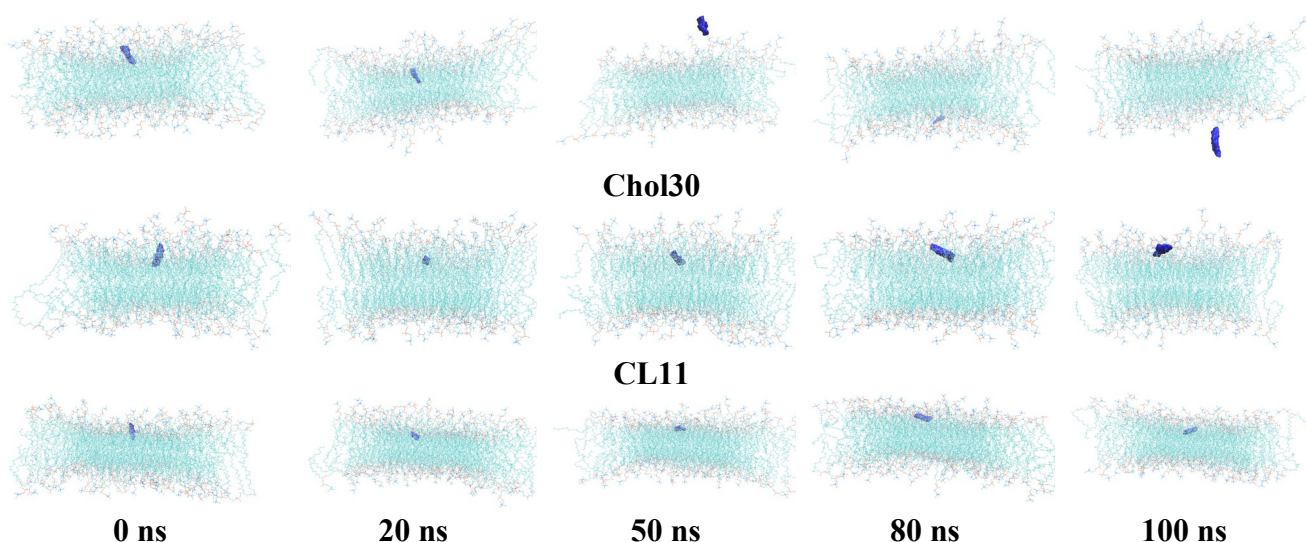


Рис. 3.1.7. Конфігурації системи «поліфенол-мембрана», що демонструють проникнення та локалізацію сезаміну в модельних ліпідних бішарах POPC (верхній ряд), Chol30 (середній ряд) та CL11 (нижній ряд) у моменти часу 0, 20, 50, 80 та 100 нс. Молекула поліфенолу зображена темно-синім кольором, ліпідний бішар – світло-блакитним.

Аналіз графіків на Рис. 3.1.8 (А, Б) показує, що обидві форми куркуміну (енольна та кето) швидко проникають у всі три типи мембран. Вже протягом перших 5-10 нс відстань до центру бішару значно зменшується, що свідчить про досягнення відносно стабільного положення всередині мембрани. Швидкість проникнення та стабільність кінцевого положення є прямими показниками початкової спорідненості та сили взаємодії між поліфенолом та мембраною. Швидке та рішуче проникнення до стабільної глибини свідчить про сприятливі взаємодії, які спрямовують поліфенол у мембрану, та сильні сили, що утримують його там.

Для галової кислоти (Рис. 3.1.8 В) спостерігається дещо відмінна поведінка. У мембранах CL11 (світло-зелена лінія) та Chol30 (коричнева лінія) вона також швидко досягає рівноважного стану. Однак у чистому POPC бішарі (темно-зелена лінія) після початкового проникнення спостерігаються значні флуктуації відстані, і лише приблизно після 70 нс її положення стабілізується на певній відстані від центру, що узгоджується з даними про утримання її позиції на межі поділу фаз ліпід-вода протягом 70

нс симуляції в POPC. Це може вказувати на менш визначене або менш стабільне зв'язування з POPC мембраною порівняно з CL11 та Chol30. Саліцилова кислота (Рис. 3.1.8 Г) демонструє швидке проникнення та стабільну локалізацію в усіх трьох типах мембран, подібно до куркуміну.

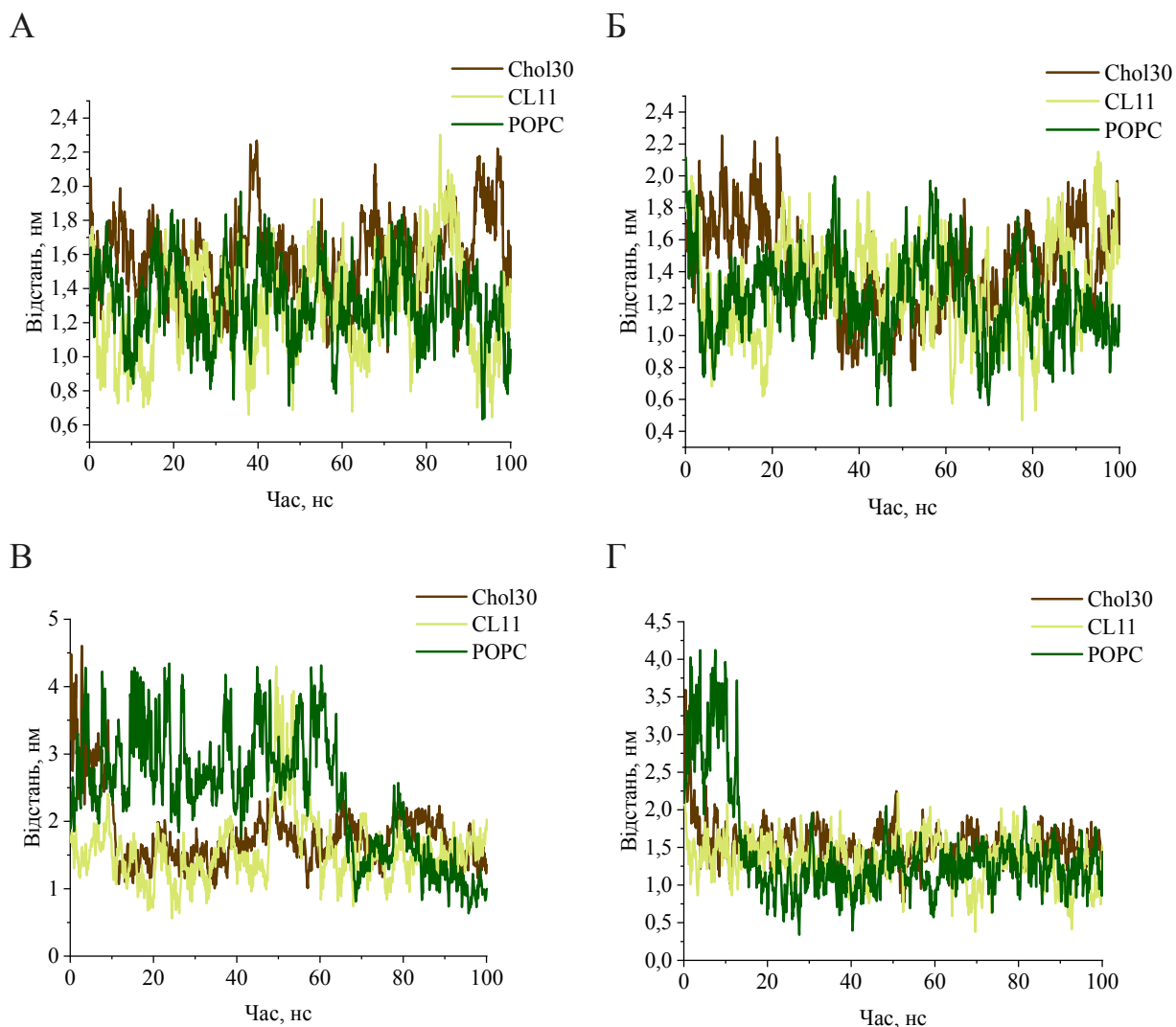


Рис. 3.1.8. Залежність відстані між центром мас (А) куркуміну (енольна форма), (Б) куркуміну (кето форма), (В) гальної кислоти, (Г) саліцилової кислоти, і центром відповідного ліпідного бішару (POPC – темно-зелена лінія, CL11 – світло-зелена лінія, Chol30 – коричнева лінія) від часу симуляції (нс).

Кверцетин (Рис. 3.1.9А) та ресвератрол (Рис. 3.1.9Б) також швидко проникають у всі типи мембран і досягають стабільного положення.

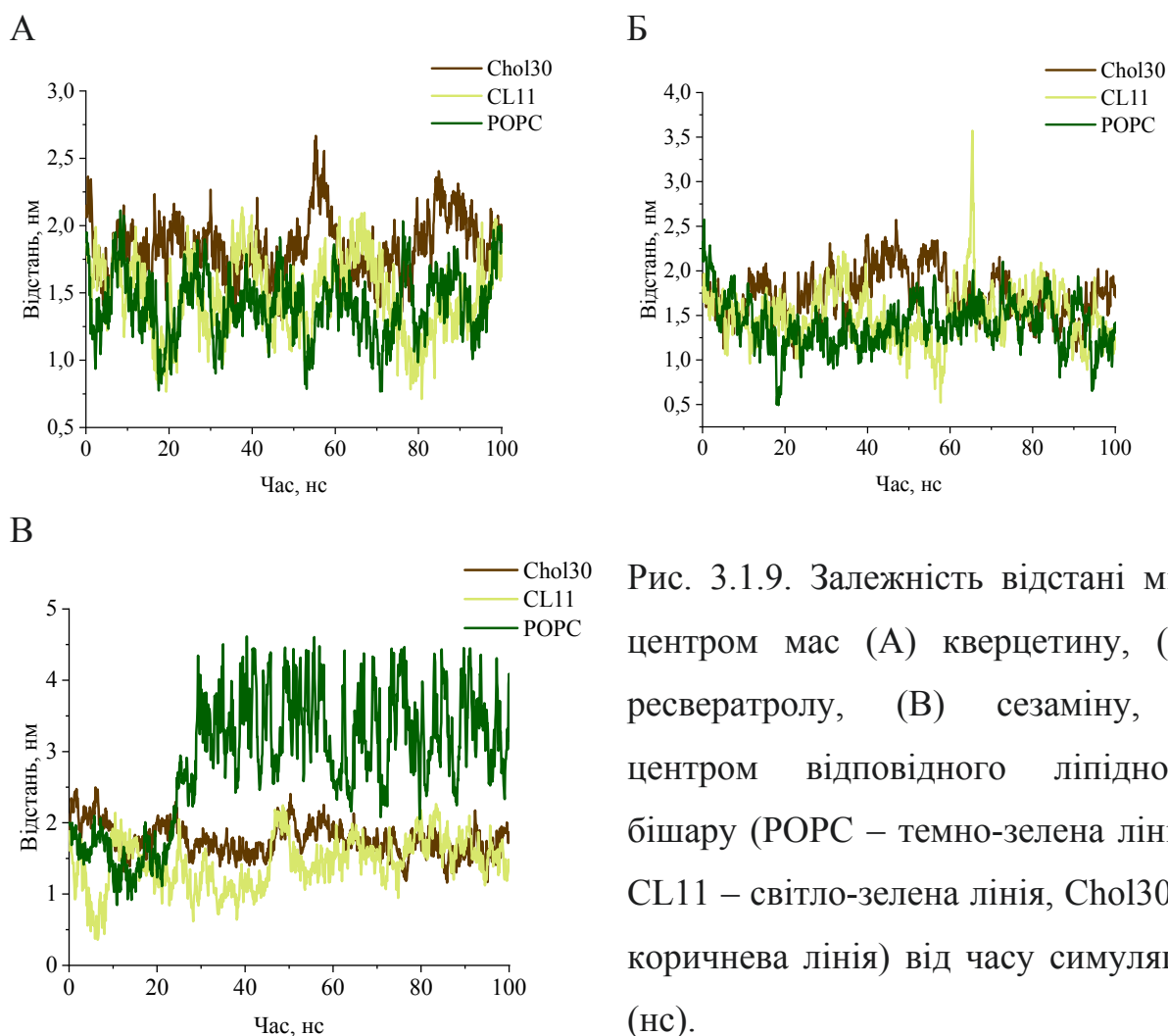


Рис. 3.1.9. Залежність відстані між центром мас (А) кверцетину, (Б) ресвератролу, (В) сезаміну, і центром відповідного ліпідного бішару (POPC – темно-зелена лінія, CL11 – світло-зелена лінія, Chol30 – коричнева лінія) від часу симуляції (нс).

Особливо цікавою є поведінка сезаміну (Рис. 3.1.9В). У мембранах CL11 (світло-зелена лінія) та Chol30 (коричнева лінія) сезамін швидко проникає та стабільно локалізується всередині бішару. Однак у чистому POPC бішарі (темно-зелена лінія) сезамін після початкового неглибокого проникнення поступово виходить з мембрани, і приблизно після 20-30 нс відстань до центру бішару починає зростати, досягаючи значень, що вказують на його дисоціацію від мембрани. Порівняння профілів час-відстань для одного й того ж поліфенолу в різних мембранах дозволяє виявити специфічний вплив компонентів мембрани, таких як кардіоліпін та холестерин, на кінетику взаємодії, а не лише на кінцеву рівновагу. Наприклад, якщо поліфенол проникає в мембрану Chol30 повільніше, але потім залишається дуже стабільним, це може свідчити про те, що холестерин

створює початковий бар'єр, але також і добре визначену кишеню для зв'язування.

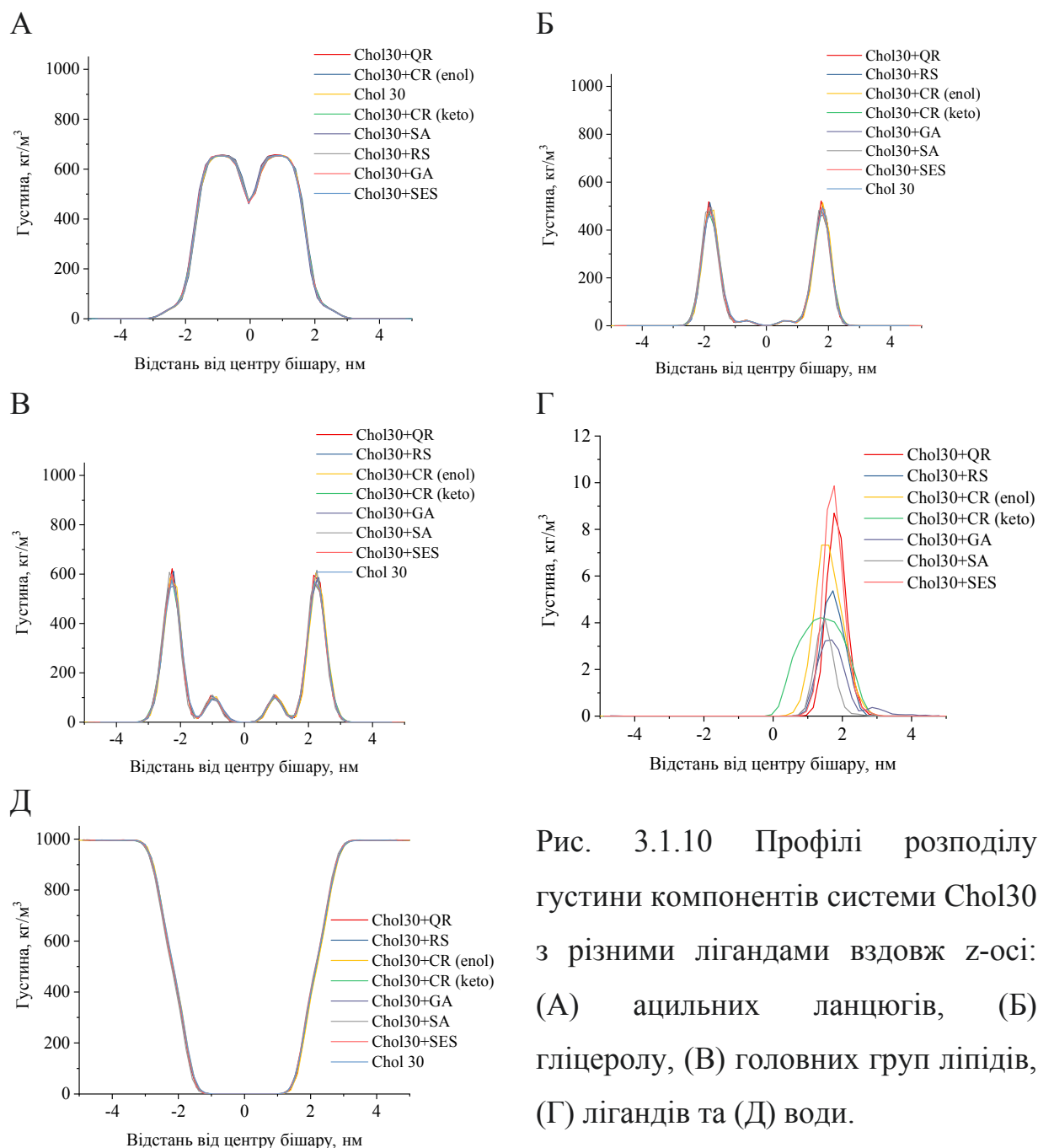


Рис. 3.1.10 Профілі розподілу густини компонентів системи Chol30 з різними лігандами вздовж z-осі: (А) ацильних ланцюгів, (Б) гліцеролу, (В) головних груп ліпідів, (Г) лігандів та (Д) води.

Також було розраховано профілі розподілу густини мас різних компонентів системи вздовж осі Z, перпендикулярної до площини мембрани. Ці профілі для систем Chol30, CL11 та POPC представлені на Рис. 3.1.10, Рис. 3.1.11 та Рис. 3.1.12 відповідно. На кожному з цих рисунків панелі А, Б, В та

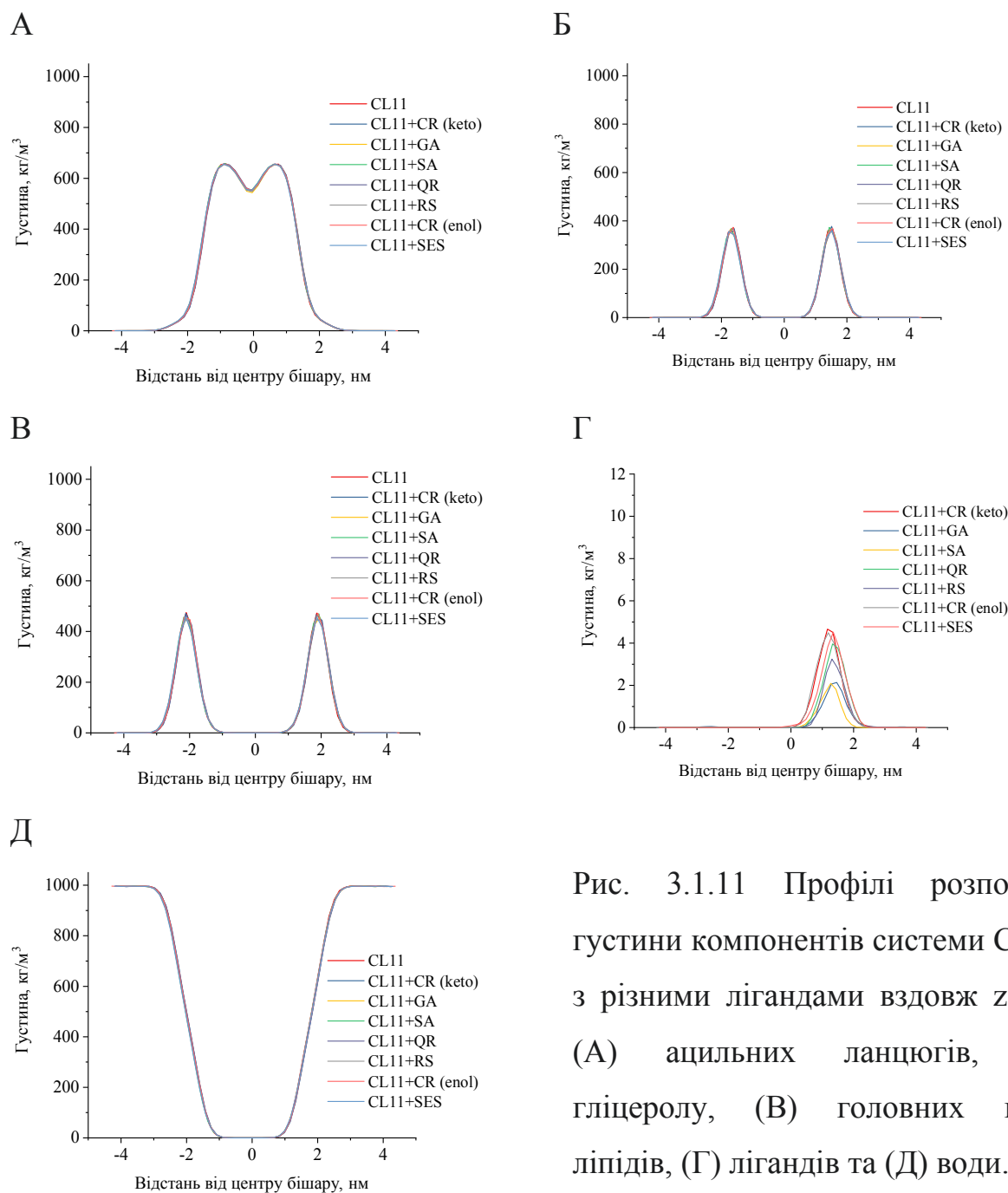


Рис. 3.1.11 Профілі розподілу густини компонентів системи CL11 з різними лігандами вздовж z-осі: (А) ацильних ланцюгів, (Б) гліцеролу, (В) головних груп ліпідів, (Г) лігандів та (Д) води.

Д ілюструють розподіл ацильних ланцюгів ліпідів, гліцеринових залишків, полярних головних груп ліпідів та води. Панель Г на кожному рисунку показує сукупний профіль розподілу густини для всіх досліджуваних

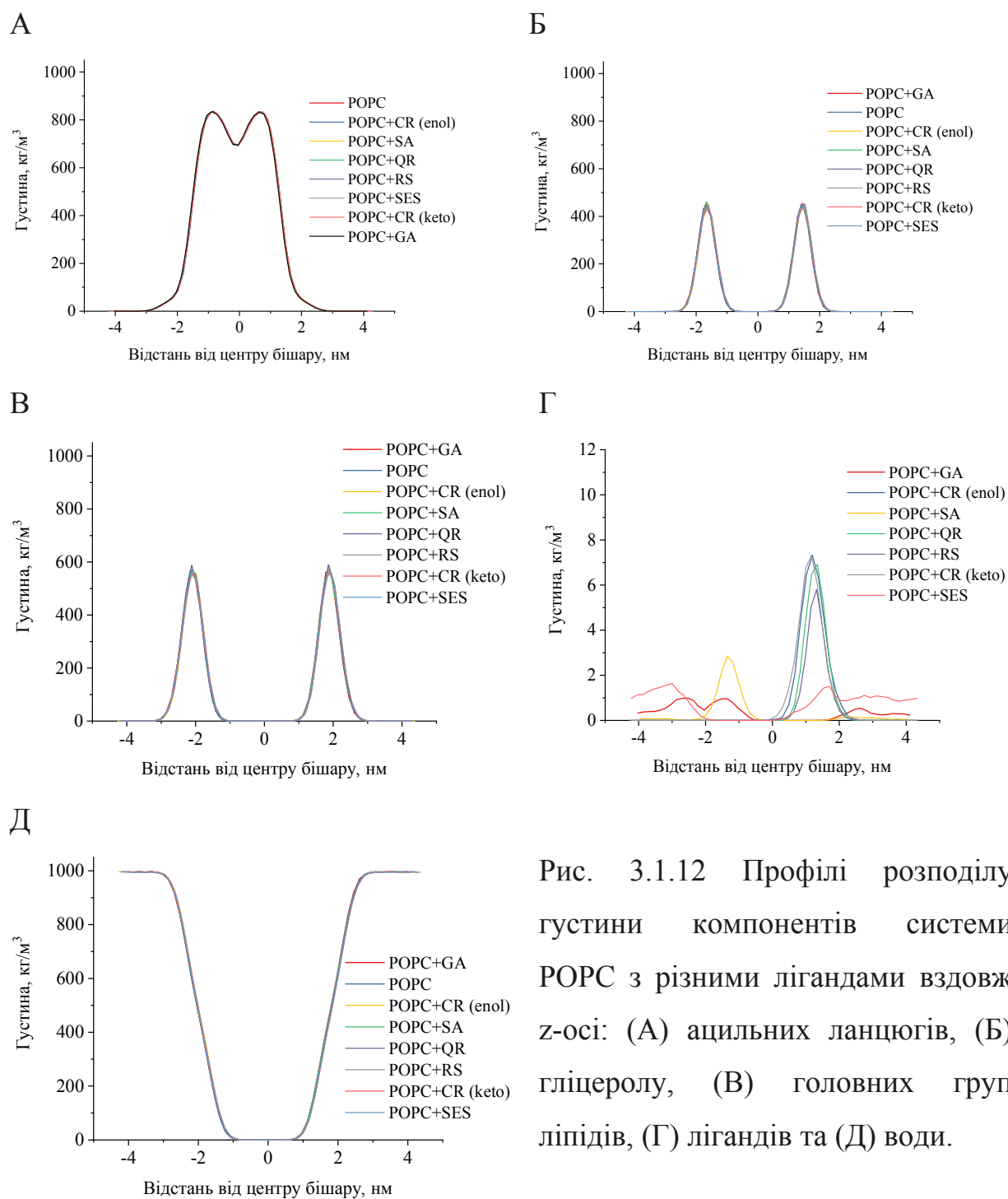


Рис. 3.1.12 Профілі розподілу густини компонентів системи РОРС з різними лігандами вздовж z-осі: (А) ацильних ланцюгів, (Б) гліцеролу, (В) головних груп ліпідів, (Г) лігандів та (Д) води.

поліфенолів (лігандів). Для точного визначення положення кожного окремого поліфенолу використовувалися дані з Таблиці 3.1, яка узагальнює положення максимумів у профілях розподілу густини мас поліфенолів відносно центру бішару. Таблиця 3.1 надає кількісні дані про середнє положення поліфенолів. Більші значення в Chol30 для всіх поліфенолів підтверджують «виштовхуючий» ефект холестерину. Два значення для

галової кислоти та сезаміну в POPC вказують на множинні місця локалізації або нестабільність.

Таблиця 3.1

Положення максимумів у профілях розподілу густини мас поліфенолів відносно центру бішару (нм).

Поліфенол	POPC	CL11	Chol30
Куркумін (енольна форма)	1.146	1.148	1.344
Куркумін (кетон форма)	1.127	1.126	1.314
Галова кислота	1.411; 2.574	1.416	1.648
Саліцилова кислота	1.391	1.231	1.439
Кверцетин	1.295	1.287	1.708
Ресвератрол	1.274	1.269	1.677
Сезамін	1.654; 3.047	1.302	1.712

Аналізуючи дані з Таблиці 3.1 та відповідні профілі густини (Рис. 3.1.12 для POPC), можна охарактеризувати локалізацію поліфенолів у чистому POPC бішарі. Обидві форми куркуміну (енольна та кетон) локалізуються на відстані приблизно 1.1 нм від центру бішару. Це відповідає інтерфейсній ділянці між верхніми атомами вуглецю гідрофобних хвостів та гліцериновим остовом ліпідів. Така локалізація створює умови для утворення водневих зв'язків з фосфатними або гліцериновими групами ліпідів. Галова кислота в POPC демонструє два піки густини: один на 1.411 нм, а інший – на 2.574 нм. Перший пік свідчить про інтерфейсну локалізацію поблизу полярних головок та гліцерину, що узгоджується з її полярною природою та здатністю утворювати водневі зв'язки з фосфохоліновими головками. Другий, більш віддалений пік (2.574 нм), знаходиться значно ближче до водної фази, що може вказувати на менш стабільний, більш гідратований стан або на популяцію молекул, що частково десорбувалися, як це підтверджується даними про її стабільність на межі поділу фаз протягом 70 нс. Саліцилова кислота (1.391 нм) також розташовується в інтерфейсній зоні, ймовірно, взаємодіючи з полярними головками та гліцерином. Кверцетин

(1.295 нм) та ресвератрол (1.274 нм) знаходяться в ділянці між гліцерином та верхньою частиною ацильних ланцюгів, причому для них характерна нахилена орієнтація відносно нормалі до бішару. Сезамін у РОРС також показує два піки (1.654 нм та 3.047 нм). Перший пік відповідає поверхневій локалізації поблизу гліцерину/полярних головок, тоді як другий, дуже віддалений пік, чітко вказує на десорбцію у водну фазу, що узгоджується з даними про його вихід з мембрани. Така поведінка для відносно гідрофобної молекули сезаміну свідчить про слабкі специфічні взаємодії з РОРС.

У мембранах CL11, що містять аніонний ліпід кардіоліпін (Рис. 3.1.11, Таблиця 3.1), більшість поліфенолів розташовуються на схожих або дещо глибших позиціях порівняно з РОРС, або їхнє зв'язування стабілізується. Аніонна природа кардіоліпіну, може суттєво впливати на локалізацію поліфенолів через електростатичні взаємодії та утворення специфічних місць зв'язування. Куркумін (обидві форми) локалізується приблизно на 1.1 нм, подібно до РОРС. Галова кислота (1.416 нм) має один чіткий пік, глибина якого близька до основного піку в РОРС; спорідненість галоїльних груп до аніонних ліпідних головок може стабілізувати її положення. Саліцилова кислота (1.231 нм) розташовується помітно глибше, ніж у РОРС. Її аніонна форма при рН 7.0 може сприятливо взаємодіяти з негативно зарядженим поверхневим середовищем мембрани, можливо, через контріони або специфічне пакування ліпідів, індуковане кардіоліпіном. Кверцетин (1.287 нм) та ресвератрол (1.269 нм) мають схожу локалізацію, як і в РОРС. Сезамін (1.302 нм) утворює єдиний стабільний пік, розташовуючись значно глибше та стабільніше, ніж у РОРС. Це свідчить про специфічні сприятливі взаємодії з мембраною CL11, які запобігають його виходу, що узгоджується зі спостереженням про його «швидше зв'язування» з CL-вмісними мембранами.

У мембранах Chol30, збагачених холестеринем (Рис. 3.1.10, Таблиця 3.1), спостерігається універсальна тенденція: всі досліджені поліфеноли локалізуються далі від центру бішару порівняно з мембранами РОРС та CL11. Це повністю узгоджується з відомим «ущільнюючим ефектом»

холестерину, який збільшує впорядкованість ліпідних ацильних ланцюгів і може «виштовхувати» амфифільні молекули до поверхні бішару або в інтерфейсну зону. Куркумін (обидві форми) зміщується до приблизно 1.3 нм. Галова кислота (1.648 нм) чітко локалізується на рівні гліцерину/полярних головок. Саліцилова кислота (1.439 нм) також зміщена назовні. Кверцетин (1.708 нм) та ресвератрол (1.677 нм) значно зміщуються до ділянки гліцерину/полярних головок, як зазначено в тезах. Сезамін (1.712 нм) стабілізується на поверхневому рівні гліцерину/полярних головок.

Групування поліфенолів значною мірою підтверджується даними Таблиці 3.1. Однак ступінь зміщення під впливом холестерину або стабілізації кардіоліпіном варіюється навіть у межах цих груп. Наприклад, хоча і кверцетин, і ресвератрол виштовхуються холестерином на рівень гліцерину, точні значення в нанометрах відрізняються. Це означає, що хоча загальний ефект (наприклад, ущільнення холестерином) має місце, специфічні молекулярні властивості кожного поліфенолу (розмір, форма, характер утворення водневих зв'язків) точно налаштовують його кінцеве положення. Спостереження, що сезамін виходить з POPC, але стабілізується в CL11 та Chol30, свідчить про те, що його взаємодія з чистим POPC є кінетично або термодинамічно несприятливою впродовж тривалого часу, можливо, через відсутність сильних, специфічних точок заякорювання (наприклад, донорів водневих зв'язків). Середовища CL11 та Chol30 пропонують альтернативні, більш сприятливі взаємодії (наприклад, зі складною головною групою CL або більш структурованим інтерфейсом у Chol30). Це підкреслює, що взаємодія з мембраною залежить не лише від загальної гідрофобності, але й від специфічного молекулярного розпізнавання та динамічної природи мембранного середовища.

Кількісний аналіз дозволяє обговорити механізми взаємодії. Структура поліфенолу (співвідношення гідрофобних/гідрофільних частин, кількість/розташування гідроксильних груп, розмір/форма, орієнтація) визначає глибину занурення та стабільність.

Склад мембрани модулює взаємодію. POPC – базова модель (водневі зв'язки, гідрофобний ефект). CL11 (кардіоліпін) додає електростатичний компонент та може створювати специфічні місця зв'язування. Chol30 (холестерин) ущільнює ацильні ланцюги, «виштовхуючи» поліфеноли до інтерфейсної зони та знижує проникність мембрани.

Локалізація поліфенолів в інтерфейсній зоні/верхній частині ацильних ланцюгів є типовою. Залежність від холестерину – відоме явище.¹⁴ Кінцеве положення визначається балансом між прагненням поліфенолу до певної глибини та обмеженнями мембранного середовища. Специфічна орієнтація (наприклад, нахил кверцетину/ресвератролу) є стратегією максимізації сприятливих взаємодій.

3.2 Взаємодія поліфенолів з мембранами за результатами сервісу PerMM

Для подальшого дослідження взаємодії обраних поліфенолів з ліпідними мембранами було використано веб-сервіс PerMM (Permeability of Molecules across Membranes). Розрахунки проводилися за температури 310 К

Таблиця 3.2.1

Розраховані параметри

	CR enol	CR keto	GA	PA	QR	RS	SES
Вільна енергія зв'язування (POPC), ккал/моль	-3.07	-2.11	-1.72	-2.74	-2.05	-3.29	-1.91
Коефіцієнт BLM	-4.35	-5.75	-8.24	-2.65	-9.92	-2.69	-2.61
Коефіцієнт BBB	-4.43	-4.92	-5.80	-3.83	-6.39	-3.84	-3.82
Коефіцієнт CACO2	-4.59	-4.95	-5.59	-4.16	-6.02	-4.17	-4.15
Коефіцієнт PAMPA-DS	-5.24	-6.53	-8.83	-3.67	-10.38	-3.71	-3.64
Коефіцієнт проникності	-5.40	-6.53	-8.55	-4.03	-9.91	-4.06	-3.99

та pH 7.0. Для іонізуючих сполук оцінка проникності через BLM включала енергію деіонізації; для BBB, Caco-2 та PAMPA-DS розраховувалася

внутрішня проникність (P_0), припускаючи незарядженість іонізуючих молекул у воді [35-37].

Розраховані PerMM параметри взаємодії досліджуваних поліфенолів з мембраною DOPC, включаючи вільну енергію зв'язування та коефіцієнти проникності для різних мембранних моделей, представлені в Таблиці 3.2.1. Ці дані оцінюють спорідненість поліфенолів до мембрани та їх здатність долати біологічні бар'єри.

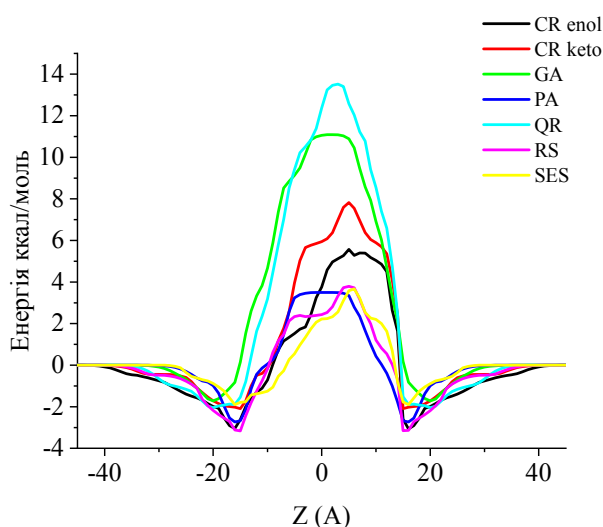


Рис. 3.2.1 Профіль енергії молекули уздовж нормалі мембрани

Аналіз вільних енергій зв'язування (ΔG_{bind}) показує найвищу спорідненість до мембрани DOPC у ресвератролу (RS, -3.29 ккал/моль), далі йдуть енольна форма куркуміну (CR enol, -3.07 ккал/моль) та саліцилова кислота (PA, -2.74 ккал/моль). Найменш сприятливе зв'язування у галової кислоти (GA, -1.72 ккал/моль), кверцетину (QR, -2.05 ккал/моль) та сезаміну (SES, -1.91 ккал/моль). Кето-форма куркуміну (CR keto) має помірну енергію зв'язування (-2.11 ккал/моль). Ці значення відображають термодинамічну вигідність переходу молекули з водного середовища в мембранне. Більш ліпофільні поліфеноли (ресвератрол, куркумін) з великими гідрофобними фрагментами мають більш негативні ΔG_{bind} , що вказує на сильніше спонтанне зв'язування через гідрофобні взаємодії з ацильними ланцюгами

ліпідів. Більш полярні молекули (гало́ва кислота) демонструють менш сприятливі енергії зв'язування. Це підтверджує залежність спорідненості до мембрани від ліпофільності, важливого фактора пасивної дифузії.

Оптимальне положення поліфенолів у мембрані DOPC, що відповідає найнижчій енергії перенесення, та відповідні значення енергії наведені в Таблиці 3.2.2. Візуалізація цих зв'язаних станів для куркуміну (енольна та кето форми) та гало́вої кислоти представлена на Рис. 3.2.2, а для саліцилової кислоти, кверцетину, ресвератролу та сезаміну – на Рис. 3.2.3.

Таблиця 3.2.2

Енергія зв'язування та рівноважне положення (Z-координата) досліджуваних поліфенолів у центрі ліпідного бішару DOPC.

Поліфенол	Z (Å)	Енергія, ккал/моль
CR enol	15	-3.1
CR keto	15	-2.1
GA	20	-1.7
PA	16	-2.7
QR	20	-2
RS	15	-3.3
SES	16	-1.9

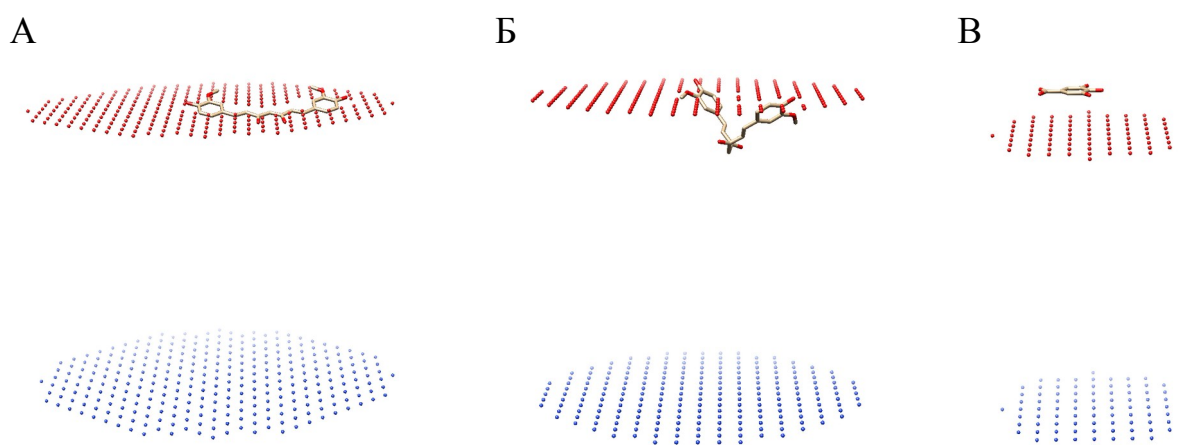


Рис. 3.2.2 Зв'язаний стан мембрани та (А) куркуміну (енольна форма), (Б) куркуміну (кето форма), (В) гало́вої кислоти.

За даними PerMM, більшість поліфенолів у найстабільнішому стані локалізуються на відстані 15-20 Å від центру бішару DOPC. Енольна та кето-

форми куркуміну, і ресвератрол мають мінімум енергії при $Z = 15$ Å. Галова кислота та кверцетин розташовуються далі ($Z = 20$ Å), саліцилова кислота та сезамін – при $Z = 16$ Å. Це вказує на локалізацію поліфенолів в інтерфейсній зоні або верхній частині гідрофобного ядра, а не в центрі бішару. Порівняння з результатами молекулярно-динамічного моделювання (МД) для мембран POPC (підрозділ 3.1, Таблиця 3.1) виявляє розбіжності в прогнозованій глибині локалізації. Наприклад, для енольної форми куркуміну PerMM прогнозує $Z = 15$ Å, а МД для POPC – близько 11.46 Å. Для кверцетину PerMM дає $Z = 20$ Å, а МД – близько 12.95 Å. Загалом, МД симуляції для POPC

часто

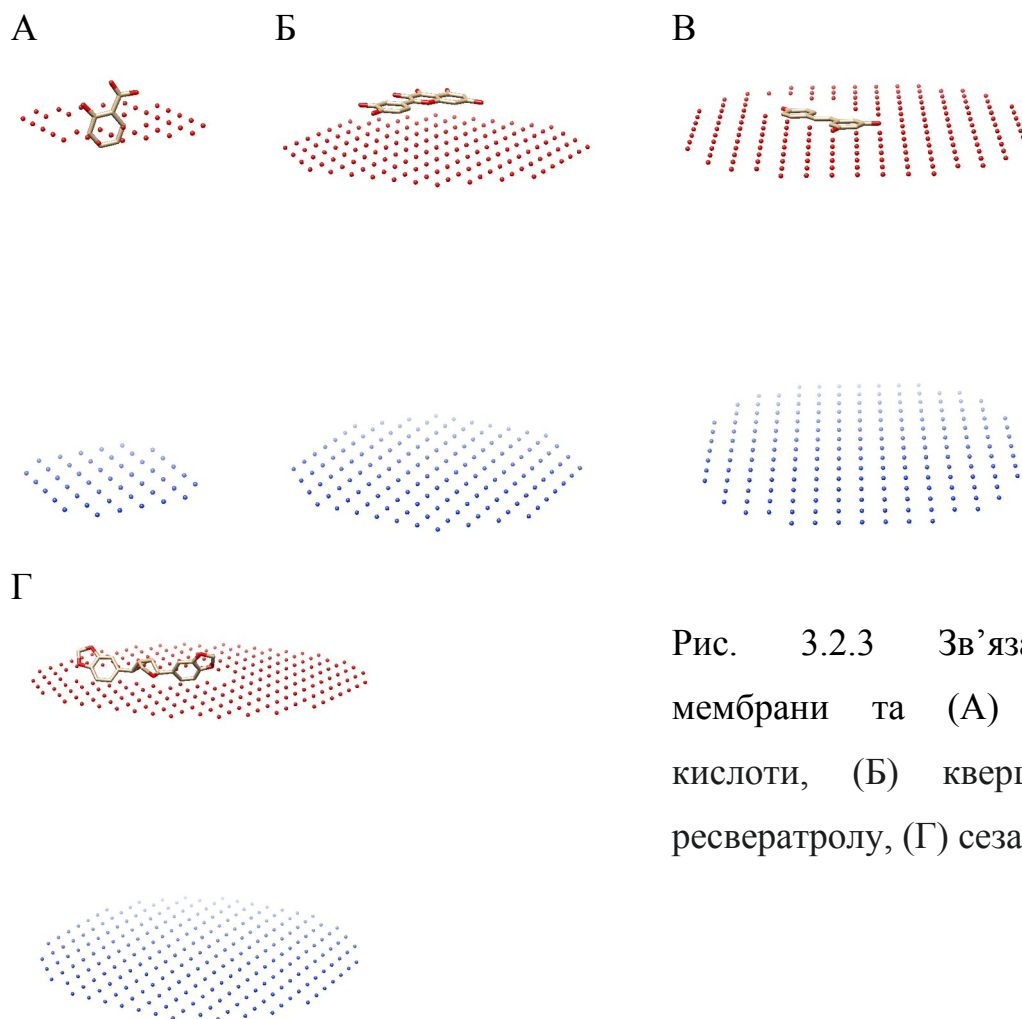


Рис. 3.2.3 Зв'язаний стан мембрани та (А) саліцилової кислоти, (Б) кверцетину, (В) ресвератролу, (Г) сезаміну.

передбачають глибше проникнення поліфенолів порівняно з PerMM для DOPC. Відмінності можуть бути зумовлені різницею методологій (явний розчинник та динаміка в МД проти неявного розчинника та статичного підходу в PerMM), силовими полями та структурними відмінностями ліпідів DOPC та POPC, що впливають на пакування та взаємодію з лігандами.

Для детального аналізу процесу проникнення поліфенолів через мембрану розглянуто профілі вільної енергії транслокації ($\Delta G_{\text{transf}}(z)$) вздовж нормалі до поверхні бішару (осі Z). Ці дані, що відображають енергетичні зміни молекули при її русі від одного боку мембрани до іншого, наведені в Таблиці 3.2.3. Графічне представлення цих профілів для всіх досліджуваних поліфенолів показано на Рис. 3.2.1.

Таблиця 3.2.3

Енергетичні профілі (ккал/моль) переміщення поліфенолів крізь мембрану

	Z (Å)	CR enol	CR keto	GA	PA	QR	RS	SES
1	-28	-1	-0.4	-0.3	-0.1	-0.9	-0.5	0
2	-24	-1.5	-0.8	-0.9	-0.4	-1.3	-0.9	-0.5
3	-20	-2	-1.7	-1.7	-1	-2	-2.2	-0.9
4	-16	-3	-2	-0.8	-2.7	-1.9	-3.1	-1.9
5	-12	-1.4	-0.7	3.1	-0.5	1.2	-1.3	-1.4
6	-8	0.7	1.1	7.3	0.7	5.5	1.1	-0.5
7	-4	1.6	4.9	9.5	3.4	10.2	2.3	0.7
8	0	3.7	5.9	11.1	3.5	12.4	2.4	2.2
9	4	5.3	7.6	11	3.5	13.4	3.7	3.1
10	8	5.4	6.4	8.6	1.6	10.6	2.5	2.5
11	12	4	5.3	4.5	-0.4	6.5	0.5	1.6
12	16	-3.1	-2	-0.8	-2.7	-1.9	-3.1	-1.9
13	20	-2	-1.7	-1.7	-1	-2	-2.2	-0.9
14	24	-1.5	-0.8	-0.9	-0.4	-1.3	-0.9	-0.5
15	28	-1	-0.4	-0.3	-0.1	-0.9	-0.5	0

Аналіз енергетичних профілів (Рис. 3.2.1) виявляє значні енергетичні бар'єри для транслокації більшості поліфенолів через центр мембрани ($Z=0$). Найвищі бар'єри у кверцетину (QR, 12.4 ккал/моль) та галової кислоти (GA, 11.1 ккал/моль). Кето-форма куркуміну (CR keto) також має відносно високий бар'єр (5.9 ккал/моль). Нижчі бар'єри характерні для енольної

форми куркуміну (CR enol, 3.7 ккал/моль), саліцилової кислоти (PA, 3.5 ккал/моль), сезаміну (SES, 2.2 ккал/моль) та ресвератролу (RS, 2.4 ккал/моль). Висота цього центрального енергетичного бар'єру є критичним фактором швидкості пасивної дифузії через гідрофобне ядро мембрани [38]. Спостерігається чітка кореляція: поліфеноли з високими центральними бар'єрами (QR, GA) мають дуже низькі прогнозовані коефіцієнти проникності через BLM ($\log P_{BLM}$ -9.92 та -8.24 відповідно). Навпаки, сполуки з нижчими бар'єрами (PA, RS, SES) демонструють значно вищі значення $\log P_{BLM}$ (від -2.61 до -2.69). Це підкреслює, що енергетична вартість переміщення через центр мембрани є ключовим лімітуючим фактором пасивної пермеації. Локальні енергетичні мінімуми, що відповідають найбільш стабільним положенням молекул, зазвичай знаходяться в інтерфейсних областях (приблизно $Z = \pm 15\text{-}20 \text{ \AA}$), що узгоджується з даними Таблиці 3.2.2.

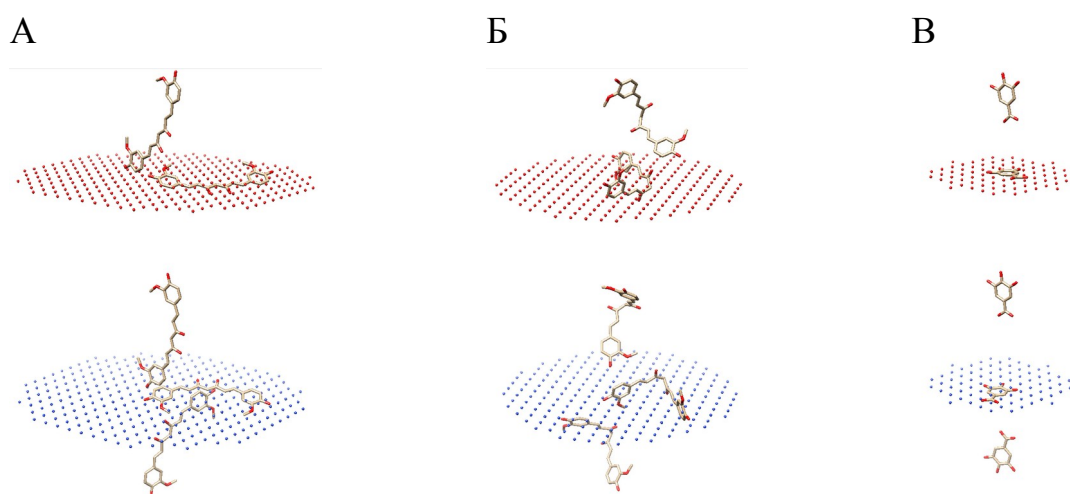


Рис. 3.2.4 Приклади конформацій та орієнтацій (А) куркуміну (енольна форма), (Б) куркуміну (кето форма), (В) галової кислоти в різних положеннях ($z = -28 \text{ \AA}$, $-16 \text{ \AA}$, $0 \text{ \AA}$, $+16 \text{ \AA}$, $+28 \text{ \AA}$) під час їх змодельованого переміщення через мембрану DOPC за даними сервісу PerMM.

Візуалізація шляхів транслокації (Рис. 3.2.4 та Рис. 3.2.5) дозволяє простежити зміну конформації та орієнтації поліфенолів під час їх руху через

бішар. PerMM оптимізує орієнтацію молекули на кожному кроці вздовж осі Z для мінімізації енергії. Для амфіфільних поліфенолів очікується орієнтація, що максимізує сприятливі взаємодії. Наприклад, при вході в мембрану гідроксильні групи можуть взаємодіяти з полярними головками ліпідів, а ароматичні системи – з ацильними ланцюгами. У центрі мембрани орієнтація може змінюватися для мінімізації контакту полярних груп з гідрофобним середовищем. Необхідність значної зміни орієнтації (flip-flop) може створювати додатковий енергетичний бар'єр.

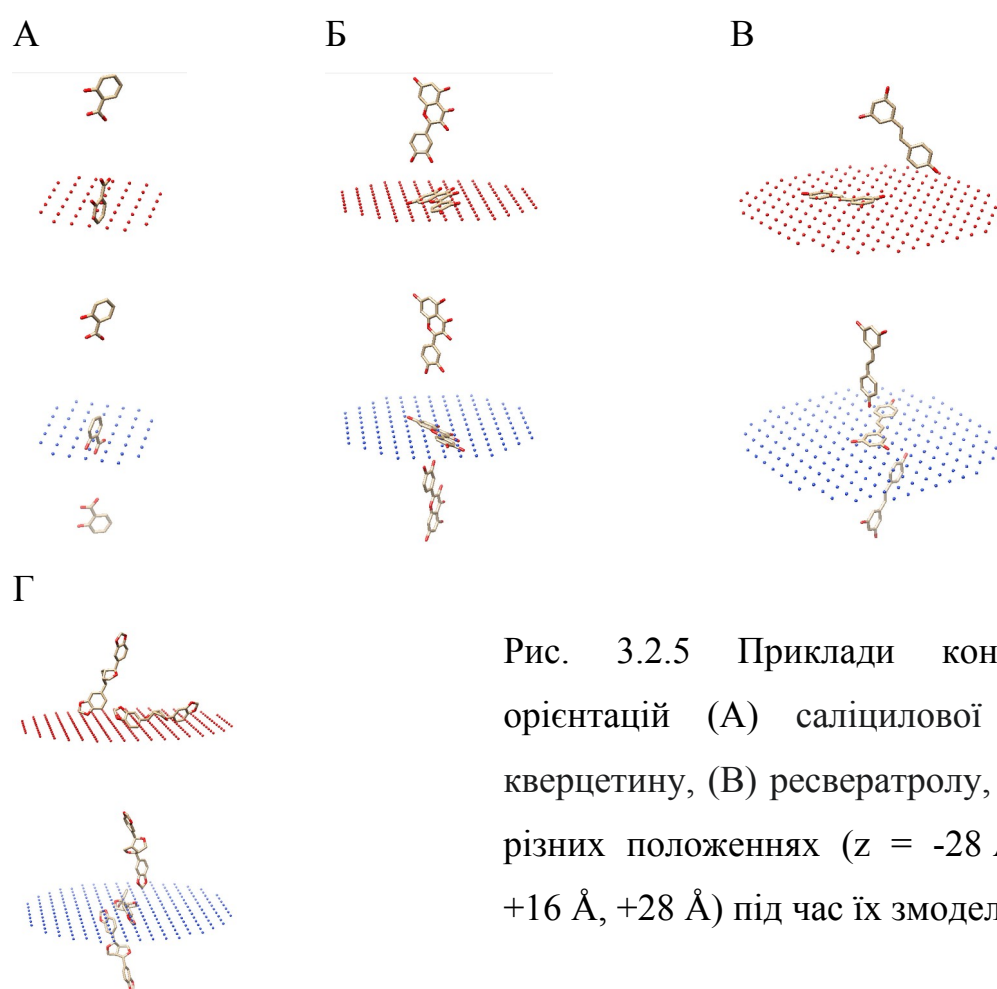


Рис. 3.2.5 Приклади конформацій та орієнтацій (А) саліцилової кислоти (Б) кверцетину, (В) ресвератролу, (Г) сезаміну в різних положеннях ($z = -28 \text{ Å}, -16 \text{ Å}, 0 \text{ Å}, +16 \text{ Å}, +28 \text{ Å}$) під час їх змодельованого пе-

Обговорення розрахованих коефіцієнтів проникності (Таблиця 3.2.1) важливе для прогнозування біологічної активності поліфенолів. Значення $\log P_{BBV}$ вказують на здатність сполук долати гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ). PerMM визначає поріг проникності через ГЕБ як $\log P_{0calcBBV} = -4.35$;

сполуки з вищими значеннями вважаються проникними, якщо не є субстратами ефлюксних транспортерів. Згідно з цим, саліцилова кислота (РА, -3.83), ресвератрол (RS, -3.84) та сезамін (SES, -3.82) прогножуються як здатні проникати через ГЕБ пасивною дифузією [39-42]. Енольна форма куркуміну (CR enol, -4.43) близька до порогу, тоді як кето-форма куркуміну (CR keto, -4.92), галова кислота (GA, -5.80) та кверцетин (QR, -6.39) мають значно нижчі значення, що свідчить про їх низьку здатність до пасивного подолання ГЕБ. Це важливо для потенційного терапевтичного застосування цих поліфенолів при захворюваннях центральної нервової системи.

Порівняння енольної та кето-форм куркуміну виявляє суттєві відмінності. Енольна форма (CR enol) демонструє сильнішу енергію зв'язування (-3.07 проти -2.11 ккал/моль для кето-форми), нижчий центральний енергетичний бар'єр (3.7 проти 5.9 ккал/моль) та кращі прогнозовані коефіцієнти проникності через усі типи мембран. Наприклад, logPBLM для енолу -4.35, для кето – -5.75. Ці відмінності зумовлені структурними особливостями таутомерів, зокрема різним розподілом зарядів та здатністю до утворення водневих зв'язків, що впливає на їх взаємодію з мембраною. Це підкреслює, що навіть незначні структурні модифікації, як таутомерія, можуть суттєво змінювати мембранну проникність.

Загалом, спостерігається узгодженість між різними параметрами, розрахованими PerMM: сильніше зв'язування з мембраною (більш негативне ΔG_{bind}) зазвичай корелює з нижчими енергетичними бар'єрами в центрі мембрани ($\Delta G_{transf}(0)$) та вищими коефіцієнтами проникності (logP). Така тенденція простежується для ресвератролу та сезаміну. І навпаки, слабе зв'язування, високі бар'єри та дуже низькі значення logP характерні для галової кислоти та кверцетину. Ця внутрішня узгодженість результатів підвищує довіру до прогнозів PerMM.

Аналіз за допомогою сервісу PerMM надав цінну інформацію щодо термодинамічних та кінетичних аспектів взаємодії досліджуваних поліфенолів з модельним ліпідним бішаром DOPC. Було кількісно оцінено

спорідненість поліфенолів до мембрани, визначено їхні найбільш імовірні місця локалізації, проаналізовано енергетичні профілі транслокації та розраховано коефіцієнти проникності через різні біологічні бар'єри. Ці дані загалом узгоджуються з очікуваннями, що базуються на структурних властивостях поліфенолів, зокрема їхній ліпофільності. Хоча існують кількісні розбіжності з результатами молекулярно-динамічного моделювання (підрозділ 3.1) щодо точної глибини локалізації, обидва методи вказують на переважне розташування поліфенолів в інтерфейсній зоні мембрани. PerMM є ефективним інструментом для швидкої попередньої оцінки мембранної проникності, але слід пам'ятати про його наближений характер, оскільки він не враховує динамічних аспектів взаємодії ліганд-ліпід та впливу специфічного складу мембрани поза межами вбудованих моделей.

ВИСНОВКИ

У даній роботі було проведено комплексне дослідження взаємодії обраного набору поліфенольних сполук (кверцетин, саліцилова кислота, ресвератрол, куркумін в енольній та кето-формах, сезамін, галова кислота) з модельними ліпідними мембранами різного складу (чистий POPC, POPC з холестерином – Chol30, POPC з кардіоліпіном – CL11) методом молекулярної динаміки (МД) тривалістю 100 нс. Додатково, для оцінки термодинамічних аспектів зв'язування та проникності було використано веб-сервіс PerMM.

1. Детальний аналіз МД траєкторій виявив загальну тенденцію до спонтанного проникнення та стабільного вбудовування більшості досліджених поліфенолів у структуру всіх трьох типів модельних ліпідних бішарів. Це свідчить про термодинамічну сприятливість таких взаємодій, зумовлену амфіфільною природою поліфенолів, що мають як гідрофобні ароматичні фрагменти, так і полярні гідроксильні групи, здатні утворювати водневі зв'язки.
2. Аналіз профілів розподілу густини мас та середніх відстаней поліфенолів до центру мембрани кількісно охарактеризував вплив складу мембрани на їх локалізацію:
 - У чистому POPC бішарі більшість поліфенолів (обидві форми куркуміну, саліцилова кислота, кверцетин, ресвератрол) стабільно локалізувалися в інтерфейсній зоні або у верхній частині гідрофобних ацильних ланцюгів. Галова кислота показала менш стабільне зв'язування, а сезамін поступово дисоціював з бішару.
 - Включення кардіоліпіну (мембрана CL11) суттєво вплинуло на взаємодію: сезамін стабільно локалізувався на більшій глибині, а саліцилова кислота також демонструвала глибше проникнення порівняно з POPC, що вказує на роль електростатичних взаємодій та/або специфічних сайтів

зв'язування.

- Присутність холестерину (мембрана Chol30) викликала універсальну тенденцію до більш поверхневої локалізації всіх поліфенолів порівняно з POPC та CL11, що узгоджується з «ущільнюючим» ефектом холестерину.

3. Дослідження за допомогою веб-сервісу PerMM дозволило кількісно оцінити вільні енергії зв'язування (ΔG_{bind}) та коефіцієнти проникності поліфенолів. Найвищу спорідненість до мембрани DOPC продемонстрували ресвератрол (-3.29 ккал/моль) та енольна форма куркуміну (-3.07 ккал/моль), тоді як галова кислота (-1.72 ккал/моль) та кверцетин (-2.05 ккал/моль) показали найменш сприятливе зв'язування. Розраховані профілі вільної енергії транслокації виявили значні енергетичні бар'єри для кверцетину (12.4 ккал/моль) та галової кислоти (11.1 ккал/моль), що корелює з їх низькими коефіцієнтами проникності ($\log P_{\text{BLM}} -9.92$ та -8.24 відповідно). Сполуки з нижчими бар'єрами, як ресвератрол (2.4 ккал/моль) та саліцилова кислота (3.5 ккал/моль), мали значно вищі $\log P_{\text{BLM}}$ (-2.69 та -2.65 відповідно). Прогнози проникності через гематоенцефалічний бар'єр (ГЕБ) вказують на здатність саліцилової кислоти, ресвератролу та сезаміну долати ГЕБ, на відміну від кверцетину та галової кислоти.
4. Суттєві відмінності у параметрах взаємодії з мембраною були виявлені для енольної та кето-форм куркуміну за даними PerMM. Енольна форма продемонструвала сильнішу енергію зв'язування, нижчий центральний енергетичний бар'єр транслокації та кращі прогнозовані коефіцієнти проникності порівняно з кето-формою.
5. Порівняння результатів МД моделювання та сервісу PerMM показало, що розрахунки PerMM (модель DOPC, статичний підхід) часто прогнозували менш глибоке проникнення поліфенолів порівняно з МД симуляціями (POPC, динамічний підхід). Однак

обидва методи узгоджено вказують на переважне розташування поліфенолів в інтерфейсній зоні мембрани.

6. Проведене дослідження дозволило отримати детальне уявлення про молекулярні механізми взаємодії низки поліфенолів з модельними ліпідними мембранами. Продемонстровано, що як індивідуальна структура поліфенолу, так і склад ліпідного бішару (наявність холестерину та кардіоліпіну) суттєво впливають на характер цих взаємодій. Отримані дані важливі для розуміння біодоступності поліфенолів, механізмів їхньої антиоксидантної активності та можуть бути корисними для розробки систем доставки ліків.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Nagle J.F., Tristram-Nagle S. Structure of lipid bilayers // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Biomembranes*. 2000. Vol. 1469, Issue 3. P. 159-195.
2. Singer S.J., Nicolson G.L. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes // *Science*. 1972. Vol. 175. P. 720-731.
3. Mouritsen O.G., Bloom M. Mattress model of lipid-protein interactions in membranes // *Biophysical Journal*. 1984. Vol. 46. P. 141-153.
4. Heimburg T. Physical Properties of Biological Membranes // arXiv:0902.2454v2 [physics.bio-ph]. 2009.
5. Subczynski W.K., Wisniewska A. Physical properties of lipid bilayer membranes: relevance to membrane biological functions // *Acta Biochimica Polonica*. 2000. Vol. 47, No. 3. P. 613-625.
6. Ipsen J.H., Karlström G., Mouritsen O.G., Wennerström H., Zuckermann M.J. Phase equilibria in the phosphatidylcholine-cholesterol system // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*. 1987. Vol. 905. P. 162-172.
7. Vaz W.L.C. Lipid Bilayers: Properties // eLS. John Wiley & Sons, Ltd, Chichester. 2008. DOI: 10.1002/9780470048672.wech281.
8. van Meer G., Voelker D.R., Feigenson G.W. Membrane lipids: where they are and how they behave // *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2008. Vol. 9. P. 112-124.
9. Pasenkiewicz-Gierula M., Rog T., Kitamura K., Kusumi A. Cholesterol effects on the phosphatidylcholine bilayer polar region: A molecular simulation study // *Biophysical Journal*. 2000. Vol. 78. P. 1376-1389.
10. Hianik T. Structure and physical properties of biomembranes and model membranes // *Acta Physica Slovaca*. 2006. Vol. 56, No. 6. P. 687-805.
11. Paula S., Volkov A.G., Van Hoek A.N., Haines T.H., Deamer D.W. Permeation of protons, potassium ions, and small polar molecules through

- phospholipid bilayers as a function of membrane thickness // *Biophysical Journal*. 1996. Vol. 70. P. 339-348.
12. Genova J., Chamati H., Petrov M. Physico-chemical characterizations of lipid membranes in presence of cholesterol // *Advances in Biomembranes and Lipid Self-Assembly*. 2020. Vol. 31. P. 1-39.
 13. Belščak-Cvitanović A., Durgo K., Huđek A., Bačun-Družina V., Komes D. Overview of polyphenols and their properties // *Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications* / Ed. by Galanakis C.M. Elsevier, 2018. P. 1-46.
 14. Quideau S., Deffieux D., Douat-Casassus C., Pouységu L. Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis // *Angewandte Chemie (International Edition)*. 2011. Vol. 50. P. 586-621.
 15. Perron N.R., Brumaghim J.L. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding // *Cell Biochemistry and Biophysics*. 2009. Vol. 53. P. 75-100.
 16. Трусова В.М., Горбенко Г.П., Гірич М.С. Основи молекулярно-динамічного моделювання біополімерів: Навчальний посібник. Харків : ХНУ імені В.Н. Каразіна, 2016. 184 с.
 17. Karplus M., McCammon J.A. Molecular dynamics simulations of biomolecules // *Nature Structural Biology*. 2002. Vol. 9. P. 646-652.
 18. Hollingsworth S.A., Dror R.O. Molecular dynamics simulation for all // *Neuron*. 2018. Vol. 99, No. 6. P. 1129-1143.
 19. Zhytniakivska O. Interactions of novel phosphonium dye with lipid bilayers: A molecular dynamics study // *East European Journal of Physics*. 2022. Vol. 1. P. 77-84.
 20. Allen M.P., Tildesley D.J. *Computer simulation of liquids*. Oxford: Clarendon Press, 1987. 385 p.
 21. Abraham M.J., Murtola T., Schulz R., Páll S., Smith J.C., Hess B., Lindahl E. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers // *SoftwareX*. 2015. Vol. 1-2. P. 19-25.

- 22.Huang J., Rauscher S., Nawrocki G., Ran T., Feig M., de Groot B.L., Grubmüller H., MacKerell A.D. Jr. CHARMM36m: an improved force field for folded and intrinsically disordered proteins // *Nature Methods*. 2017. Vol. 14. P. 71-73.
- 23.Klada J.B., Venable R.M., Freites J.A., O'Connor J.W., Tobias D.J., Mondragon-Ramirez C., Vorobyov I., MacKerell A.D. Jr., Pastor R.W. Update of the CHARMM All-Atom Additive Force Field for Lipids: Validation on Six Lipid Types // *Journal of Physical Chemistry B*. 2010. Vol.114. P. 7830-7843.
- 24.Jorgensen W.L., Maxwell D.S., Tirado-Rives J. Development and Testing of the OPLS All-Atom Force Field on Conformational Energetics and Properties of Organic Liquids // *Journal of the American Chemical Society*. 1996. Vol. 118. P. 11225-11236.
- 25.Berendsen H.J.C., Postma J.P.M., van Gunsteren W.F., DiNola A., Haak J.R. Molecular dynamics with coupling to an external bath // *Journal of Chemical Physics*. 1984. Vol. 81. P. 3684-3690.
- 26.Badar M., Shamsi S., Faisal S.M., Mohammad T. *Molecular Dynamics Simulations: Concept, Methods, and Applications* // *Computational Biology and Chemistry* / Ed. by Saxena A., Shankar A. Springer, Cham. 2020. P. 1-29.
- 27.Ryckaert J.P., Ciccotti G., Berendsen H.J.C. Numerical integration of the Cartesian equations of motion of a system with constraints: molecular dynamics of n-alkanes // *Journal of Computational Physics*. 1977. Vol. 23. P. 327-341.
- 28.Durrant J.D., McCammon J.A. Molecular dynamics simulations and drug discovery // *BMC Biology*. 2011. Vol. 9. P. 71.
- 29.Lindorff-Larsen K., Piana S., Dror R.O., Shaw D.E. How fast-folding proteins fold // *Science*. 2011. Vol.334, No. 6055. P. 517-520.
- 30.Lomize A.L., Pogozheva I.D., Mosberg H.I. PerMM: A Web Tool and Database for Analysis of Passive Membrane Permeability and Translocation

- Pathways of Bioactive Molecules // Journal of Chemical Information and Modeling. 2019. Vol. 59, No. 7. P. 3094-3099.
31. Jo S., Kim T., Iyer V.G., Im W. CHARMM-GUI: A web-based graphical user interface for CHARMM // Journal of Computational Chemistry. 2008. Vol. 29. P. 1859-1865.
 32. Phillips J.C., Braun R., Wang W., Gumbart J., Tajkhorshid E., Villa E., Chipot C., Skeel R.D., Kale L., Schulten K. Scalable molecular dynamics with NAMD // Journal of Computational Chemistry. 2005. Vol. 26. P. 1781-1802.
 33. Darden T., York D., Pedersen L. Particle mesh Ewald: An $N \log(N)$ method for Ewald sums in large systems // Journal of Chemical Physics. 1993. Vol. 98. P. 10089-10092.
 34. Hess B., Bekker H., Berendsen H.J.C., Fraaije J.G.E.M. LINC: A GROMACS algorithm for constrained molecular dynamics // Journal of Computational Chemistry. 1997. Vol. 18. P. 1463-1472.
 35. Diamond J.M., Katz Y. Interpretation of nonelectrolyte partition coefficients between dimyristoyl lecithin and water // Journal of Membrane Biology. 1974. Vol. 17. P. 121-154.
 36. Dickson C.J., Hornak V., Pearlstein R.A., Duca J.S. Structure-kinetic relationships of passive membrane permeation from multiscale modeling // Journal of the American Chemical Society. 2017. Vol. 139. P. 442-452.
 37. Shinoda W. Permeability across lipid membranes // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes. 2016. Vol. 1858. P. 2254-2265.
 38. Bemporad D., Essex J.W., Luttmann C. Permeation of small molecules through a lipid bilayer: A computer simulation study // The Journal of Physical Chemistry B. 2004. Vol. 108. P. 4875-4884.
 39. Bennion B.J., Be N.A., McNerney M.W., Lao V., Carlson E.M., Valdez C.A., Lightstone F.C. Predicting blood-brain barrier permeability for drug discovery: a new computational model // Journal of Chemical Information and Modeling. 2017. Vol. 57, No. 8. P. 1815-1820.

- 40.Cheng F., Li W., Zhou Y., Shen J., Wu Z., Liu G., Lee P.W., Tang Y.
admetSAR: a comprehensive source and free tool for assessment of
chemical ADMET properties // Journal of Chemical Information and
Modeling. 2012. Vol. 52, No. 11. P. 3099-3105.
- 41.Pires D.E.V., Blundell T.L., Ascher D.B. pkCSM: predicting small-molecule
pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures //
Journal of Medicinal Chemistry. 2015. Vol. 58, No. 9. P. 4066-4072.
- 42.Daina A., Michielin O., Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate
pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of
small molecules // Scientific Reports. 2017. Vol. 7. P. 42717.