T.C.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BOR BİLEŞİKLERİNİN İLAÇ TASARIMI VE MOLEKÜLER MODELLEMESİ

BARIŞ KURT

DOKTORA TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR

Mayıs 2021

T.C. DİCLE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

DİYARBAKIR

Barış KURT tarafından yapılan "Bor Bileşiklerinin İlaç Tasarımı ve Moleküler Modellemesi" konulu bu çalışma, jürimiz tarafından KİMYA Anabilim Dalında DOKTORA tezi olarak oy birliğiyle kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Hamdi TEMEL

Üye : Prof. Dr. Binnur TEMEL

Üye :Doç. Dr. Mustafa Abdullah YILMAZ

Üye : Doç. Dr. Duran KARAKAŞ

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Abdullah BAYKAL

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 20/05/2021

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

…/…/2021

Prof. Dr. Neslihan DALKILIÇ

Enstitü Müdür V.

TEŞEKKÜR

Bilim insanı kimliğiyle daima örnek aldığım ve büyük saygı duyduğum danışman hocam Sayın Prof. Dr. Hamdi TEMEL'e ve akademik hayatta karşılaştığım bütün zorluklarda her zaman yanımda olarak bu tezin doğuşunda büyük pay sahibi olan aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR I
ÖZET V
ABSTRACT VI
ÇİZELGE LİSTESİ VII
ŞEKİL LİSTESİ VIII
KISALTMA VE SİMGELER IX
1. GİRİŞ 1
2. LİTERATÜR ÖZETİ 5
2.1. Kuantum Mekaniğin Gelişimi ve İlgili Çalışmalar 5
2.2. Moleküler Dinamik Simülasyonlara Giriş 11
2.3. Moleküler Dinamiğin Kısa Tarihçesi 12
2.4. Amber Kuvvet Alanıyla İlgili Çalışmalar 13
2.5. Genel Amber Kuvvet Alanı (GAFF) 13
2.6. Çinko Amber Kuvvet Alanı (ZAFF) 14
2.7. Amber Protein Kuvvet Alanları 14
2.8. Amber Nükleik Asit Kuvvet Alanları 16
2.9. Amber Karbonhidrat Kuvvet Alanı 17
2.10. Amber Lipit Kuvvet Alanları 18
2.11. Amber Çözücü Ve İyon Kuvvet Alanları 19
2.12. Yarı-Ampirik (Yarı Deneysel) Kuvvet Alanları AM1 ve PM3 22
2.13. Diğer Çalışmalar 22
2.14. Amber Dışındaki Kuvvet Alanları 24
2.14.1. Dreiding 25
2.14.2. Opls 25
2.14.3. Charmm 26
2.15. Yapılan Çalışmalar Kapsamında Üretilen Sunucular ve Programlar 29
2.16. Bor Kuvvet Alanları İle İlgili Çalışmalar 33
3. MATERYAL VE METOT 37
3.1. Kullanılan Donanımlar: 37
3.2. Bu Çalışmada Kullanılan Yazılımlar ve Kullanım Amaçları 37
3.3. Dosya Türleri: 39
3.4. Moleküler Dinamik Tasarım ve Algoritmalar: 44

3.5. Genel Parametrizasyon İşlemi: 47
3.6. Parametrizasyon Sırasında Kullanılan Yaklaşımlar: 48
3.6.1. Yerleştirme (Docking) Programları 50
3.6.2. Moleküler Dinamik Programları ve Kuvvet Alanları 51
3.7. Polarize Edilebilir Kuvvet Alanları 53
3.8. Amber Kuvvet Alanı Dosyaları 54
3.8.1. FF14SB Kuvvet Alanı Dosyası 54
3.8.2. FF15İPQ Kuvvet Alanı Dosyası 55
3.8.3. Diğer Amber Protein Kuvvet Alan Dosyaları 55
3.8.4. BSC OL15 Kuvvet Alanı Dosyaları 56
3.8.5. GLYCAM Kuvvet Alanı Dosyaları 56
3.8.6. LIPID11-14 Kuvvet Alanı Dosyaları 57
3.8.7. Diğer Amber Kuvvet Alanı Dosyaları 58
3.9. Amber Tools 16 Paket Programı: 58
3.10. İşlem Basamakları: 59
3.11. Molekülün Modellenmesi 60
3.12. Kuantum Mekanik Optimizasyon: 60
3.13. ESP ve RESP Yükleri 61
3.14. Boş Parametre Dosyasının Oluşturulması: 62
3.15. Bağsız Parametrelerin Elde Edilmesi: 62
3.16. Bağ ve Açı Parametrelerinin Elde Edilmesi: 63
3.17. Dihedral Parametrelerinin Elde Edilmesi: 63
3.18. Parametrelerin Test Edilmesi: 65
3.19. Kenetleme (Docking) İşlemi: 66
3.20. Kuantum Mekanik Hesaplamalar: 66
3.21. Moleküler Dinamik Simülasyon 65
3.21.1. Hazırlık İşlemleri: 67
3.21.2. Simülasyonun Gerçekleştirilmesi 68
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 71
4.1. Yükler ve Atom Tipleri 71
4.2. Bağ, Açı ve Dihedral Parametreleri 73
4.3. Parametrelerinin Test Sonuçları 79
4.3.1. BAFF-1 Parametreleri İle İlgili Sonuçlar 79

4.3.2. BAFF-2 Parametreleri İle İlgili Sonuçlar....82
5. SONUÇ VE ÖNERİLER....87
6. KAYNAKLAR:....89
ÖZGEÇMİŞ....100

ÖZET

BOR BİLEŞİKLERİNİN İLAÇ TASARIMI VE MOLEKÜLER MODELLEMESİ

DOKTORA TEZİ

BARIŞ KURT

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

2021

Bor bileşikleri ve aromatik bileşikler biyolojik olarak aktif moleküllerdir. Bu tür moleküllerle ilişkili biyokimyasal reaksiyonları aydınlatmanın en ucuz ve en hızlı yolu moleküler dinamik simülasyonlar olup bu simülasyonların gerçekleştirilmesi kuvvet alanı dosyalarına bağlıdır. Bu çalışmada, hem aromatik yapı içeren bor bileşiklerinin hem de boronat ve borik asit türevlerinin simülasyonları için gerekli parametreler piyasada en çok kullanılan Amber simülasyon programına uyumlu olacak şekilde BAFF1(Bor Amber Force Field) ve BAFF2 adıyla üretilmiş ve test edilmiştir. Frekans ve potansiyel enerji yüzey taramalarının tamamı B3LYP/6,311G ++(2d, 2p) düzeyinde yapılırken RESP yükleri HF/6-31G* düzeyinde hesaplanmış ve elde edilen parametreler kuvvet alanı dosyasında bir araya getirilmiştir. Oluşturulan yeni bor kuvvet alanının, deneysel yapıyı yeniden üretme gücü ise Cambridge Kristalografik Bilgi Merkezi'inden alınan x-ray yapılarıyla test edilmiş ve bu kuvvet alanı ile minimize edilen yapıların deneysel X-ray yapılarını kuantum mekanik ile optimize edilen geometrilere oldukça yakın şekilde yeniden üretebildiği anlaşılmıştır. İkinci testte, literatürde MCF-7 meme kanserine karşı anti-kanser özelliği bilinen bir ligand DNA ile simüle edilmiş ve 10 ns boyunca ligandın DNA'ya kenetleme işlemi ile bağlı olduğu minör oyuk konumunun değişmediği ve anti-kanser özelliğini simülasyon boyunca gösterdiği görülmüş ve deneysel veri simülasyonla desteklenmiştir. Sonuç olarak, BAFF-1 ve BAFF-2 adında iki ayrı kuvvet alanı üretilmiş ve bu kuvvet alanları ile bor bileşiklerinin moleküler dinamik simülasyonları gerçekleştirilerek ilaç tasarımında kullanılması mümkün hale getirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bor, AMBER, kuvvet alanı, parametrizasyon

ABSTRACT

DRUG DESIGN AND MOLECULAR MODELLING OF BORON COMPOUNDS

PhD THESIS

BARIS KURT

DICLE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCES
DEPARTMENT OF CHEMISTRY

2021

Boron and aromatic compounds are biologically active molecules. Molecular dynamics simulations are the cheapest and the fastest way to illuminate the biochemical reactions associated with such molecules. The performing of molecular simulations depends on the force field files. In this study, parameters required for the simulations of both boron compounds, containing aromatic structure, and boronate derivatives were produced and tested under the names BAFF1 and BAFF2, in accordance with the Amber simulation program which is the most used in the market. To develop force field parameters, all of the frequency and potential energy surface scans were performed at the B3LYP / 6,311G ++ (2d, 2p) level, the RESP charges were calculated at the HF/6-31G* level. Then obtained parameters were combined in the force field file. The power of the novel boron force field to reproduce the experimental structure was tested against x-ray structures taken from the Cambridge Crystallographic Data Center and the results showed that the experimental X-ray structures and optimized geometries with force field are in very good agreement. In the second test, the ligand, proven to have the anti-cancer property against MCF-7 breast cancer by experimental data in the literature, was simulated with DNA. It was observed that the minor cavity binding position where the ligand was bound to the DNA by docking process did not change for 10 ns. This result showed that experimental data has been supported by the simulation. Consequently, two sperate force fields were generated, called BAFF1 and BAFF2, and molecular dynamics simulations of boron compounds were carried out, making it possible to use them in drug design.

Key Words: Boron, AMBER, force field, parameterization

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge No **Sayfa**

Çizelge 3.1. C ve H için Gaff Atom Tipleri (Wang ve ark. 2004) 40

Çizelge 3.2. H, F, Cl, Br, I, N,O,P İçin Gaff Atom Tipleri (Wang ve ark. 2004) 41

Çizelge 3.3. P ve S İçin Gaff Atom Tipleri (Wang ve ark. 2004) 42

Çizelge 3.4. sp^2 hibritlenmiş Bor atomu (B) ve (ob) için literatürden alınan bağsız parametreler 63

Çizelge 4.1. Optimize dietoksi boronik asit üzerinden elde edilen bağ ve açı parametreleri 74

Çizelge 4.2. Tasarlanan bileşik için VFFDT ile elde edilen bağ ve açı parametreleri 74

Çizelge 4.3. Dietoksi boronik asit üzerinden üretilen dihedral parametreler 75

Çizelge 4.4. Diokso borol bileşikleri için üretilen dihedraller (tamamı BAFF2 parametresi) 76

Çizelge 4.5. Düzlem dışı dihedraller (BAFF1 ve BAFF2 için ortak parametre) 76

Çizelge 4.6. BAFF-1 için Kristallografik data ile minimize edilmiş geometri arasındaki farklar 80

Çizelge 4.7. Minimize edilmiş geometriler ile X-ray yapıları arasındaki farklar 82

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 1.1.	Hesaplamalı Kimyasal Yöntemler	2
Şekil 1.2.	Lennard-Jones parametrelerinin hesaplanmasında kullanılan grafik	4
Şekil 2.1.	Kuantum Tünellemede E enerjisine sahip elektron	11
Şekil 2.2.	Phi, Psi ve Omega açıları	15
Şekil 2.3	Sağdan sola doğru sırasıyla B-DNA, A-DNA ve Z-DNA	27
Şekil 3.1.	sybyl mol2 dosya formatı	43
Şekil 3.2	Kuvvet Alanı Dosyası ve Kuvvet Alanı Denklemi Arasındaki İlişki	52
Şekil 3.3	Dietoksiboronik Asit molekülünün B3LYP/6,311G ++ (2d, 2p) optimize geometrisi	61
Şekil 3.4	B1 bileşiği için atanan atom tipleri	69
Şekil 3.5	B1 bileşiği için hesaplanan RESP yükleri (a.u.)	69
Şekil 4.1	Moleküller için hesaplanan ESP yükleri ve atanmış atom tipleri	72
Şekil 4.2	Tasarlanan (fenil hidrojen fenilboronat) bileşiği için atom tipleri	73
Şekil 4.3	Tasarlanan (fenil hidrojen fenilboronat) ait RESP yükleri	73
Şekil 4.4	h1-ob-b-ob dihedrali için kuantum mekanik ve moleküler mekanik tarama	77
Şekil 4.5	ob-B-ob-c3 dihedrali için kuantum mekanik ve moleküler mekanik tarama	77
Şekil 4.6	ob-B-ca-ca (ca-ca-B-ob) için kuantum mekanik ve moleküler mekanik tarama	78
Şekil 4.7	ca-B-ob-ca (X-ob-ca-ca) için kuantum mekanik ve moleküler mekanik tarama	78
Şekil 4.8	ca-B-ob-ho (X-ob-B-x) için kuantum mekanik ve moleküler mekanik tarama	79
Şekil 4.9	IVEKAW02 moleküler dinamik sırasında elde edilen RMSD	81
Şekil 4.10	TEAMBO04 moleküler dinamik simülasyon sırasında elde edilen RMSD	81
Şekil 4.11	BAFF-2 ile minimize edilmiş geometriler ve X-ray yapıları arasındaki farklar	83
Şekil 4.12	DNA ile bor bileşiğinin minor oyuk bağlanması	84
Şekil 4.13	DNA, ligand ve DNA-Ligand kompleksi RMSD değerleri	85
Şekil 4.14	DNA-Ligand moleküler dinamik simülasyonu için Potansiyel Enerji Grafiği	85

KISALTMA VE SİMGELER

AM1 : Austin Model 1

AU : Atomik birim (Atomic Unit)

Amber : Assisted Model Building with Energy Refinement isimli MD programı

BAFF : Bor Amber Kuvvet Alanı (Bor Amber Force Field)

CCDC : The Cambridge Crystallographic Data Centre (Cambridge Kristalografik Veri Merkezi)

Charmm : Chemistry at Harvard Macromolecular Mechanics isimli MD programı ve kuvvet alanı

CPU : İşlemci (Central Processing Unit)

DFT : Yoğunluk Fonksiyon Teorisi (Density Functional Theory)

Gaff : Genel Amber Kuvvet Alanı (General Amber Force Field)

GPU : Ekran Kartı **(**Graphics Processing Unit)

ESP : Elektrostatik Potansiyel (Electrostatic Potential)

HMR : Hidrojen Kütlesinin Yeniden Bölümlendirilmesi (Hydrogen Mass Repartitioning) algoritması

LFMM : Ligand Alanı Moleküler Mekaniği (Ligand Field Molecular Mechanics)

LJ : Lennard- Jones (Bağsız parametreler için kullanılan değer)

MD : Moleküler Dinamik Simülasyon

MP2 : Möller-Plesset Second Order

MP3 : Möller-Plesset Third Order

MP4 : Möller-Plesset Fourth Order

MM : Moleküler Mekanik

Opls : "Optimized Potentials for Liquid Simulations" isimli MD programı ve kuvvet alanı

PM3 **:** Parametrik Model 3 **(**Parametric Model Number 3)

PM6 **:** Parametrik Model 6 **(**Parametric Model Number 6)

QM **:** Kuantum Mekanik (Quantum Mechanic)

RAM **:** Bellek (Random Access Memory)

REMD **:** Kopya Değişimli Moleküler Dinamik (Replica Exchange Molecular Dynamics)

RESP **:** Restrained Electrostatic potential (Sınırlandırılmış Elektrostatik Potansiyel)

RMSD **:** Kök Ortalama Kare Sapması (Root Mean Square Deviation)

PME **:** "Partical Ewald Mesh" adıyla bilinen yöntem

WHAM **:** Weighted Histogram Analiz Methodu

ZAFF **:** Çinko Amber Kuvvet Alanı (Zinc Amber Force Field)

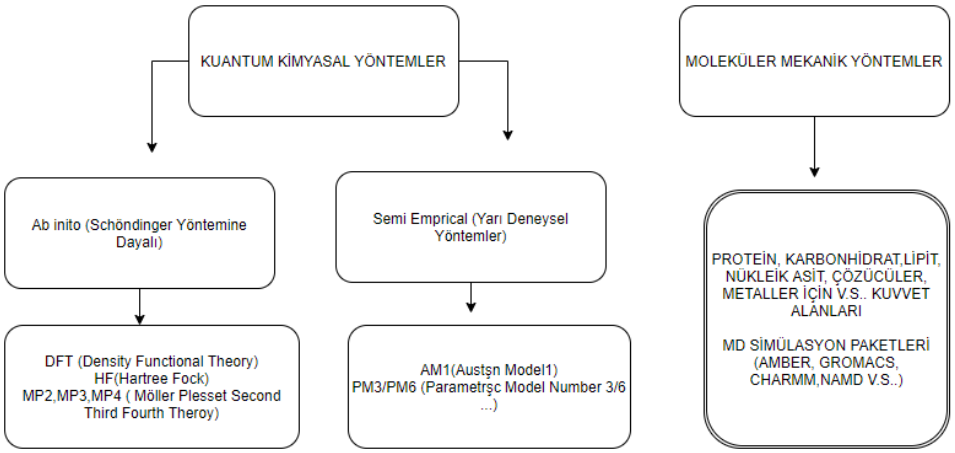
1. GİRİŞ

Hesaplamalı kimya, adından da anlaşılacağı gibi, karmaşık kimyasal problemleri çözmek için bilgisayar programları kullanarak hesaplamalar yapan bir bilim dalıdır ve bu işlemi yaparken teorik kimyanın metotlarını algoritmalar ve programlar haline dönüştürür. Böylece en genel anlamda moleküllerin yapılarını, etkileşimlerini ve özelliklerini aydınlatırken kendine has metotlarını da oluşturmuş olur (Ciofani 2016). Hesaplamalı kimya metotlarını kısaca kuantum mekaniksel hesaplamalar, moleküler mekanik yöntemler ile bu ikisinin bir arada kullanıldığı QM/MM olarak bilinen hibrit yöntemler olarak üçe ayırabiliriz (Case ve ark. 2016).

Moleküler mekanik yöntemlerde, Schröndinger denklemi hesaplamalarının yerini Newton mekaniği alır. Bu yöntemde bazı başlangıç verilerine ihtiyaç vardır. Bunun için deneysel veriler kullanılır. Deneysel veriler yoksa kuantum mekanik hesaplama sonuçları kullanılabilir. Örnek vermek gerekirse, moleküler dinamik simülasyon programları, ilerleyen bölümlerde daha ayrıntılı bir şekilde anlatılacağı üzere aslında simüle edilecek moleküllerin geometrisi, FTIR verisi ile atomlara ait yükleri içeren dosyalardan elde edilen parametreleri kullanırlar (Kurt ve Temel 2020) ve sonuçta kuantum mekaniğine göre çok daha kısa süren hesaplamalar gerçekleştirirler.

Kuantum mekaniksel hesaplamalar, Schröndinger Denklemi'ne dayanır. Bu hesaplamalar da kendi içinde denklemi çözmek için kullandıkları yöntem ve teorilere göre dallara ayırılırlar. Hesaplamaları, başlıca ab-inito yöntemler ve yarı deneysel yöntemler olarak ikiye ayırmak mümkündür. Ab-inito hesaplamalarda hiçbir deneysel veri kullanılmaz ve tamamen Schröndinger denkleminin çözümüne dayalı olarak çözümler üretilir. Bu nedenle bu tür hesaplamalarda hesaplanacak olan molekülle ilgili sadece hangi atomlardan oluştuğu, kaç bağ yaptığı ve nötr mü yoksa yüklü mü olduğu gibi bilgiler dışında neredeyse hiç bilgiye gerek duyulmaz. Bu açıdan oldukça kullanışlı olsa bile, hesaplamalar fazla miktarda bilgisayar gücüne ve zamana ihtiyaç duyarlar. Bu nedenle özellikle büyük moleküllerde bu metot yerine yarı-deneysel metotlar kullanılır. Yarı-deneysel metotlarda ise, adından da anlaşılacağı üzere bazı parametreler denklem çözümüne gerek kalmaksızın

doğrudan deneysel verilerden alınır böylece hesaplanacak işlem miktarı önemli oranda azaltılır bu da daha büyük moleküllerin daha kısa zamanda hesaplanmasının önünü açar. Ancak proteinler gibi dev moleküllerin çözelti içinde bir başka molekülle etkileşiminin hesaplanmasını gerektiren çok fazla atomun ve dolayısıyla değişkenin bulunduğu bir ortamın hesaplanmasında bu yöntem de yetersiz kalır ve moleküler mekanik yöntemlere geçilir (Christensen ve ark. 2016). Şekil 1.1.'de özet şema görülebilir.



Şekil 1.1. Hesaplamalı Kimyasal Yöntemler

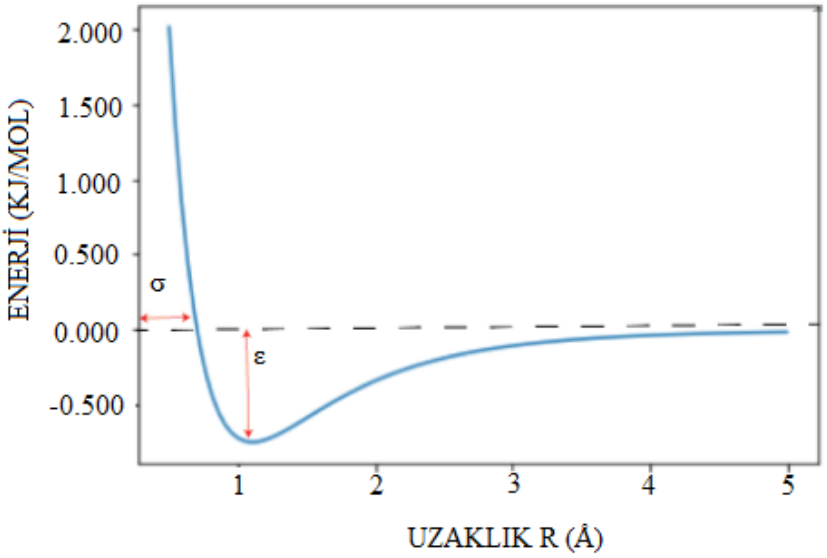
Moleküler modelleme, genel anlamdaki bilimsel modellemenin moleküller üzerine uygulanmış halidir. Bilimsel modelleme ise, doğrudan üzerinde çalışılması, gözlem ya da deney yapılması zor olan gerçek bir fenomenin fiziksel, matematiksel ya da kavramsal bir temsilinin oluşturulmasıdır. Bu nedenle bilimsel modeller, gerçek sistemlerin ve/veya nesnelerin davranışını tahmin etmekte kullanılırlar, bu anlamda bilimsel modeller, şu anki teknik ve bilgiyle bir sistemi bire-bir kopyalayamazlar. Tamamı tahminden ibarettir ancak bu tahmin oranı bazen öyle yüksektir ki deneysel veri ile aralarında fark olduğunda deneysel veri yerine bilimsel model esas alınır. Bu da tüm modellerin her zaman doğruya yakın sonuçlar vereceği anlamına gelmez, örneğin Bohr atom modeli, kuantum kuramının öncüsü olsa da birden fazla elektrona sahip atomların enerjilerini doğru hesaplayamıyordu bu açıdan modelleme yapılırken seçilecek teoriler önemlidir. Bunlar gözönüne alındığında bir bileşiğin iki veya üç boyutlu olarak bilgisayar ortamına aktarılması ve devamındaki bütün hesaplamalar moleküler modellemedir denilebilir. Bu anlamda docking (kenetleme)

işlemleri, moleküler dinamik simülasyonlar ve kuantum mekanik hesaplamaların tamamı kısaca hesaplamalı ya da teorik bütün bilgisayarlı işler moleküller modellemenin konusu içindedir. Bilimsel modelleme ise bundan çok daha geniş olup DNA'nın deneysel verilerden oluşturulmuş üç boyutlu sarmalının görselleştirilmesinden hava durumu tahminleri ya da salgın hastalıkların bulaşma hızı, hisse senedi fiyat tahminleri gibi çok farklı alanlarda kullanılabilirler (Michael P ve ark. 2017).

Bilimsel modellemeler teknolojik gelişmelere doğrudan bağlıdır. 2007 yılında, NVIDIA tarafından, bilimsel hesaplamalar için özel bir ekran kartı geliştirildi. Bunun öncesinde de ekran kartları özellikle moleküler modellemede görselleştirme için kullanılıyordu. Bu alandaki yenilik, NVIDIA'nın CUDA adında yeni bir uygulama ("application programming interface" kısa adıyla API) geliştirmesi ve bu sayede kullanıcıların paralel işlemler için (özellikle C ve C++ programlama dillerinde) program yazmasının önünün açılmasıydı. Böylece modellemelerde işlem gücüne hız bakımından 10 kata varan avantajlar sağlandı. Günümüzde, özellikle uzun süren moleküler dinamik simülasyonlarda, CPU yerine paralel işlemlerde daha hızlı olması sebebiyle GPU (Graphics Processing Unit) destekli yazılımlar tercih edilmektedir (Stone ve ark. 2007).

Bu tezde, bor bileşiklerinin moleküler modellemesi yapılarak deney ortamına gerek kalmadan simülasyon ortamında bor bileşiklerinin biyolojik özelliklerinin (DNA bağlanması ve anti kanser özellikler) aydınlatılması sağlanacak ve bu konuda literatüre katkı sağlanacaktır. Ayrıca simülasyon parametrelerinin oluşturulması konusunda da teknik detaya yer verilecek böylece moleküler modelleme konusunda geniş bir kaynak sunulacaktır.

Tezde, modellenen moleküllerin Lennard-Jones değerleri doğrudan literatürden alınmış, geri kalan parametrelerin tamamı kuantum mekanikten türetilmiştir. Lennard-Jones parametreleri, iki atom çekirdeğinin birbirine yaklaşması sırasında ortaya çıkan enerji grafiği-uzaklık grafiğinden hesaplanır. Örnek grafik şekil 1.2'de verilmiştir.



Şekil 1.2. Lennard-Jones parametrelerinin hesaplanmasında kullanılan grafik

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Moleküler dinamikteki parametrelerin kaynağı kuantum mekanik ya da deneysel verilerdir. Bu nedenle bu bölümdeki çalışmalarda kuantum mekaniğin gelişimine de yer verilecektir. Çok sayıda moleküler dinamik simülasyon yazılımı var olup bunlar için ayrı ayrı kuvvet alanları üretilmiştir, bu kuvvet alanlarının bir kısmı aynı anda farklı yazılımlar tarafından kullanılabilmektedir. Bunun dışında parametrizasyon işleminin basit kısımlarını otomatikleştiren sunucu ve yazılımlar da üretilmiştir. Bunların tamamı ayrı başlıklar altında incelenecektir.

2.1. Kuantum Mekaniğin Gelişimi ve İlgili Çalışmalar

Kuantum mekaniği, ışık ve maddenin atom ve atom altı ölçekte davranışlarını açıklamaya yönelik bir bilimdir. Moleküllerin ve atomların özelliklerini ve atomların protonlar, nötronlar elektronlar, kuarklar ve gluonlar gibi parçacıklarını açıklamaya çalışır. Bu özellikler, parçacıkların hem elektromanyetik radyasyonla hem de birbirleriyle olan etkileşimlerini içerir (Born 1926) .

Kuantum mekaniği, uygulandığı hemen hemen her durumda doğru sonuçlar vermede son derece başarılı olmuştur ancak bu başarı kuantum mekanikteki en temel sorun olan ve sistemi etkilemeden ölçmenin imkânsızlığını ilan eden belirsizlik ilkesi ile bir paradoks oluşturmaktadır.

18. yüzyılda fizikçilerinin çoğu, Newton'un da etkisiyle, ışığın “zerrecik” denilen parçacıklardan oluştuğuna inanıyordu. Çünkü 1800’lü yılların sonuna kadar klasik mekanik ile ilgili çok hızlı ilerleme kaydedildi. Newton mekaniği sayesinde gezegenlerin hareketleri bile açıklanabiliyordu. 1800'lerden itibaren, ışığın dalga teorisi için kanıtlar birikmeye başladı: Thomas Young, monokromatik bir ışını çift yarıktan geçirdi. Ekranda koyu ve parlak desenlerin olduğu görüldü. Bu deneyi, ışığı parçacık olarak gören modele göre açıklamak imkânsızdı. Oysaki ışığın dalgalardan oluştuğu kabul edildiğinde şöyle bir açıklama yapmak mümkündü: İki yarıktan da ışık dalgaları geçiyordu. Gelen dalgaların tepelerinin kesiştiği yerlerde ekranda parlak ışık bantları görünürken dalgaların tepe ve çukurlarının kesiştiği yerlerde iki dalga birbirini söndürdüğü için karanlık bantlar ortaya çıkıyordu. Böylece ışığın

dalga modeli Young olayını açıklamakta başarılı olmuştu. Işığın dalga modeline olan ihtiyaç bununla sınırlı değildi. Elektromanyetik teoriye göre, çekirdeğin etrafında dönen elektronlar ivmelendikleri zaman ışıma yapıyorlardı ancak bu doğruysa, dairesel bir yörüngede dönen elektronların sahip oldukları ivme nedeniyle her dönüşte ışıma yapmaları ve ışıma yaptıkları için azalan enerjileri nedeniyle çekirdeğe düşmeleri beklenirdi. Ancak böyle bir olay gerçekleşmiyordu bu da yeni yorumlara ve yaklaşımlara ihtiyaç olduğu ve elektronun hareketini gezegenlerin güneş sistemi etrafındaki hareketlerine benzeten klasik fiziğin dışına çıkılması gerektiği anlamına geliyordu. Klasik mekanik aynı zamanda ısıtılan bir metalin değişik renkler saçmasını, prizmadan geçirilen ışığın renk tayfı oluşturmasını ya da kara cisim ışıması gibi olayları da açıklayamıyordu. Bu nedenle ışığın dalga modeli giderek popülerlik kazanmaya başlamıştı. 1900'de Alman teorik fizikçi Max Planck, ışık enerjisinin sürekli olarak değil "quanta" adını verdiği paketlerle kesikli bir şekilde yayıldığını öne sürdü. Planck'a göre, quanta ya da günümüzdeki ismiyle kuantumun E enerjisi, $E = h\nu$ şeklinde formülüze edilebilirdi. Bu denklemde ν frekansı, h ise şimdi Planck sabiti olarak bilinen $6{,}62607 \times 10^{-34}$ joule · saniye değerine sahip evrensel bir sabiti temsil ediyordu. Planck, hesaplanan enerji spektrumunun daha sonra tüm dalga boyu aralığı boyunca gözlemle uyumlu olduğunu gösterdi. 1905 yılında ise Albert Einstein, Planck'ın teorisini genişletirken bir metal üzerine düşürülen ışığın, devrede elektrik akımı oluşturmasının sebebini ışığın fotonlar ya da enerji paketi adı verilen parçacıklardan oluşmasına dayandırdı ve ışığın parçacık modelini yeniden gündeme getirerek parçacık-dalga tartışmasını bir kez daha başlattı. Sonrasında, klasik mekanikle açıklanamayan olaylara yeni yaklaşımlar getirildi ve tartışmalar kuantum mekanik bulununcaya değin sürdü. Örneğin elektronun dairesel yörüngede dolanırken ivmesi nedeniyle ışınım yaparak neden atomun çekirdeğine düşmediğine ilişkin probleme ilk olarak Niels Bohr tarafından 1913 yılında farklı bir yaklaşım getirildi. Bohr'a göre elektronlar atom çevresinde rasgele yörüngelerde dolanmıyorlardı bunun yerine "kuant" denilen yörünge katmanlarında dolanıyorlardı ve elektronun ışıma yapması ya da ışığı soğurması için bir katmandan diğerine geçmesi gerekiyordu (Encyclopædia Britannica 2021).

Bohr'un görüşlerine biraz daha ayrıntılı bakılacak olursa üç varsayımda bulunduğu görülür: İlk olarak, klasik mekanik, sonsuz sayıda yörüngenin mümkün olduğunu yani

orbitallerin var olmadığını öngörürken bunun tam tersine Bohr, bir elektronun ayrı bir yörünge kümesinden yalnızca birinde olabileceğini varsaydı ve bunlara "durağan durumlar" adını verdi. İkincisi, izin verilen tek yörüngelerin, elektronun açısal momentumu ($m_e vr=n\hbar$ ve $\hbar=h/2\pi$, h: planck sabiti, m_e: elektronun kütlesi r: çekirdekten uzaklık v: hız) olmak kaydıyla, n ile $\hbar$ 'ın çarpımına eşit olduğunu ve n'nin tam sayı olduğunu varsaydı. Üçüncüsü, Bohr, Newton'un hareket yasalarının Güneş etrafındaki gezegenlerin yollarını hesaplamada çok başarılı olduğunu belirterek bu modeli çekirdeğin yörüngesindeki elektronlara da uygulanabileceğini bu kez güneş ile gezegen arasındaki yerçekimi yerine elektron ile proton arasındaki elektrostatiğin kullanılabileceğini ileri sürdü. Bohr tarafından öne sürülen bu model, hidrojen atomunun çapını hesaplamada oldukça başarılıydı. Böylece, kuantum mekaniğinin ilk temelleri de atılmış oldu (Encyclopædia Britannica 2021).

Kısa süre sonra 1912 yılında, Alman bilim insanları Max von Laue ve ekibi tarafından yapılan deneylerde, düzenli kafes şeklinde düzenlenmiş bir kristale ait atomların X-ışınlarını saçtığı tespit edildi. Işığın dalga modeli kullanıldığında ve kristaldeki atomlar arası mesafeler ve yapıcı girişimin yönleri göz önüne alındığında, dalgaların dalga boyu hesaplanabiliyordu. Yani bu deney, ışığın dalga modelini destekliyordu. Ancak, 1922 yılında Amerikalı fizikçi Arthur Holly Compton, X ışınlarının elektronlardan parçacıklarmış gibi saçıldığını gösterdi. Dahası bu deneyde fotonları bilardo topları gibi düşünerek yaptığı hesaplamalar deney sonucunu destekliyordu ve önceki deneyin aksine ışığın tanecik modelini destekliyordu (Chen ve ark. 2006).

1924 yılında, Fransız Louis-Victor de Broglie, maddenin hem parçacık hem de dalga özelliği taşıdığını ve dalga boylarının λ, parçacığın doğrusal momentumu p ile $\lambda = h / p$ ile ilişkili olduğunu ileri sürdü. Broglie'nin hipotezi, 1927'de ABD'den Lester Germer ile Clinton Davisson tarafından doğrulandı. İkili, bir nikel kristali kullanarak, bir monoenerjetik elektron demetini kırdılar ve dalgaların dalga boyunun de Broglie denklemi ile elektronların momentumuyla ilişkili olduğunu gösterdiler (Albert 1994), (Larder ve ark. 2019).

Schrödinger, Broglie'nin hipotezini genişletti ve dalga boyu yeterince küçük hale geldiğinde parçacık benzeri yayılıma izin verecek bir dalga denklemi türetmeyi başardı. Klasik fiziğe göre, x, y, z koordinatlarında duran V(x, y, z) potansiyel enerjisine sahip bir

cisim harekete zorlanırsa kazandığı $p^2/2m_e$ olarak ifade edilen kinetik enerjisiyle potansiyel enerjisinin toplamı sabittir. Bu nedenle parçacığın toplam enerjisi;

$$\boldsymbol{V(x,y,z) + \frac{p^2}{2m_e} = E}$$

Şeklinde ifade edilir. Bu denklemde, potansiyel enerji parçacığın konumu ile birlikte değiştiğinden dolayı, momentumun ve momentum da Broglie'ye göre dalga boyunu değiştireceğinden dolayı dalga boyunun da değişmesi gerekir. Schrödinger, denklemdeki p yi de Broglie ile ilişkili diferansiyel opertatörü ile değiştirerek konuma göre değişen Ψ(x, y, z) dalga boyu için şu eşitliği elde etti:

$$\boldsymbol{v(x,y,z)\Psi + \frac{-h^2}{2m_e}\left(\frac{\partial^2\Psi}{\partial x^2} + \frac{\partial^2\Psi}{\partial y^2} + \frac{\partial^2\Psi}{\partial z^2}\right) = E\Psi}$$

Bu denklem, zamandan bağımsız Schröndinger denklemi olarak bilinir. Schröndinger, bu denklemdeki E enerjisini bir zaman türevi operatörü ile değiştirerek elde ettiği zamana bağlı denklem sayesinde bir parçacığın bir durumdan başka bir duruma geçiş olasılığını hesaplamayı başardı.

Schröndinger, elektronun uzayda yayıldığını ve x,y,z koordinatları ile ifade edilen noktadaki elektron yoğunluğunun, o noktadaki dalga fonksiyonu olan Ψ (pisi)'nin karesi tarafından verildiğini varsayıyordu. Born ise, şu anda da kabul edilen yorumunda, Ψ^2'nin elektronun x, y ve z de bulunma olasılığını verdiğini ileri sürdü. Benzer gibi görünse de iki yorum arasındaki fark önemlidir: ilk yoruma göre, Ψ^2 ne kadar küçükse, bir elektronun küçük bir kısmının orada olacağını ima eder. Born'a göre ise orada çoğu zaman elektron tespit edilemeyecektir ancak tespit edilirse de bu kesinlikle bir elektron olacaktır. Böylece, çekirdek etrafındaki belirli yörüngelerde (orbitallerde) hareket eden "nokta" şeklinde ifade edilen elektronun yerini, dalga mekaniğinde elektronların farklı durumlardaki olası konumlarını tanımlayan "bulutlar" almış oldu.

Takvimler 1928 yılını gösterdiğinde, İngiliz fizikçi Paul A.M. Dirac, Schröndinger'in dalga denklemi ile Einstein'in özel görelilik teorisini birleştiren yeni bir eşitlik türetti. Dirac'a göre Schröndinger'in dalga denklemi tek başına rölatif olmayan kinetik enerjiye ($p^2/2me$)

dayandığı için yeterince tatmin edici değildi. Dirac, bir elektronun ek bir kuantum sayısına (m_s) sahip olduğunu gösterdi, ilk üç kuantum sayısından farklı olarak m_s tam sayı değildi ve + ½ ve – ½ değerlerine sahipti ve spin açısal momentumu temsil ediyordu. Aslında bu kavram, 1925 yılında, G.E. Uhlenbeck ve S.A. Goudsmit adlı iki yüksek lisans öğrencisi tarafından, manyetik moment ölçümlerini açıklamak için geliştirilmişti. Buna göre, bir parçacığın momenti, açısal momentiyle doğru orantılıdır; açısal momentum sıfır ise, manyetik moment de sıfırdır. Yine, Gerlach ve Stern sıfır yörüngesel açısal momentuma sahip olduğu bilinen gümüş atomlarındaki elektronlar için manyetik bir moment gözlemlemişlerdi. Goudsmit ve Uhlenbeck, gözlemlenen manyetik momentin spin açısal momentuma atfedilebileceğini öne sürdüler yani ölçülen açısal momentum, elektronun yörüngesel hareketinden değil kendi ekseni etrafında dönüşünden kaynaklanmaktaydı (spin açısal momentum). Elektron-spin hipotezi, sadece gözlemlenen manyetik momenti açıklamakla kalmadı aynı zamanda atomik spektroskopide görülen bazı olaylar için de açıklama sağladı bunlara alkalilerin spektrumunda görülen çift çizgiler, manyetik alan içinde spektrum çizgilerinin kayması gibi olaylar da dâhildir (Encyclopædia Britannica 2021).

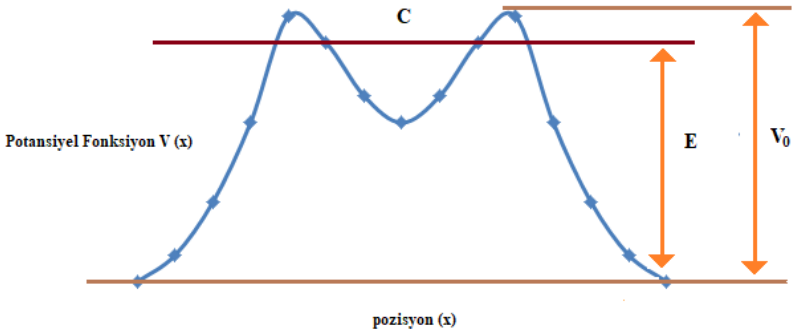
1927 yılında, Alman fizikçi Werner Heisenberg tarafından belirsizlik ilkesi tanımlandı. Bu ilkeye göre, bir parçacığın konumu ne kadar kesin bir şekilde tespit edilirse, momentumu o kadar az kesinlikle bilinecekti. Kısaca $\boldsymbol{\Delta x \Delta p_x = h/2}$ şeklinde ifade edilen (Δx: konum, Δp_x: momentumdaki değişimi, h: planck sabitini gösterir) bu formül, h değerinin aşırı derecede küçük olması sebebiyle sadece atom düzeyindeki ölçümlerde meydana gelen belirsizliği gösterir ve günlük hayattaki ölçümlerde önemini yitirir. Örneğin, 1 gramlık bir nesnenin konumu 10^{-6} m hassasiyetle ölçülürse, bu denklem bu cismin hızının 10^{-25} m/s'den daha hassas ölçülemeyeceğini belirtir. Günlük hayatta sorun olmayan bu belirsizlik, 10^{-10} m. boyutundaki bir atomda bulunan elektron için 10^6 m/s gibi oldukça yüksek derecededir (Encyclopædia Britannica 2021).

Elektronlar birbirleriyle özdeş olduklarından, aynı atomdaki iki elektronu birbirinden ayırt etmenin bir yolu yoktur. Özdeş parçacık sorunu olarak bilinen bu durum, nesnelerin büyük ölçekli ve ayırt edilebilir olduğu klasik fizikte ortaya çıkmaz ancak atomaltı düzeye inildiğinde dalga fonksiyonu bu gerçeği yanıstmalıdır. Bu tür bir dalga fonksiyonu, her

elektronun uzaydaki konumu farklı olacağından parçacıkların koordinatlarına bağlıdır. Elektronlar kendi arasında yer değiştirirse dalga fonksiyonunun değişmeden kalması ya da sadece işaret değiştirmesi gerekir. Değişim simetrik ise, dalga fonksiyonunun işareti de değişmez, asimetrik ise işareti değişir (Elion ve ark. 1994).

Dirac denklemine göre her parçacığın yalnızca yük bakımından farklılık gösteren bir karşı parçacığı olması gerekiyordu ancak bu tür anti-parçacık o güne kadar gözlemlenmemişti. Deneysel doğrulama, birkaç yıl sonra geldi. 1932'de Amerikalı fizikçi Carl David Anderson, elektronun anti parçacığı olan, elektronla özdeş özelliklere sahip ancak elektrondan farklı olarak -1 yerine +1 yüklü pozitronu keşfetti (Encyclopædia Britannica 2021).

Kuantum mekaniğindeki ilerlemeler bu kadarla sınırlı kalmadı, klasik fizikte karşılığı olmayan tünelleme olgusu, kuantum mekaniğinin önemli bir sonucu olacak ortaya çıktı. Şekil 2.1'de gösterildiği gibi, tek boyutlu bir potansiyel kuyusunun (potansiyel kuyusu, komşu bölgeye göre daha düşük bir potansiyele sahiptir) V(x) iç bölgesinde enerjisi E olan bir elektronun parçacık olduğu kabul edilirse: Klasik mekaniğe göre, eğer $E<V_0$ ise, parçacık kuyudan çıkamaz; $E>V_0$ ise, parçacık kuyudan kaçabilir ancak kuantum mekaniğinde durum bu kadar basit değildir ve klasik mekaniğin aksine $E<V_0$ olsa bile parçacık kuyudan kaçabilir. Bu durumu, tepeyi aşmak için yeteri kadar enerjisi olmayan bir trenin, tepenin üzerine çıkmadan tünelden geçerek tepeyi aşmasına benzetebiliriz. Bu nedenle, bu duruma “kuantum tünelleme” adı verilir ve parçacık tepeyi aşacak enerjisi olmasa bile bulunduğu durumdan kurtulabilir (Encyclopædia Britannica 2021).



Şekil 2.1. Kuantum Tünellemede E enerjisine sahip elektron V_0 potansiyeline sahip olmadan da C yolunu katedebilir.

Böylece kuantum mekaniği, yukarıda bahsedilen gelişmelerle birlikte günümüzde artık atomların ve moleküllerin davranışını açıklamada oldukça başarılı bir model haline gelmiştir.

2.2. Moleküler Dinamik Simülasyonlara Giriş

Moleküler dinamik simülasyon, atom ve moleküllerin fiziksel hareketlerinin bilgisayar (yüksek hesaplama gücü) kullanılarak tahmin edilebilmesini sağlayan bir simülasyon çeşididir. Bu simülasyon sırasında, atom ve moleküller kütlesi, potansiyel enerjisi, kinetik enerjisi, elektrostatik etkileşimleri ile dihedral enerji potansiyelleri olan ve birbirlerine belirli bir yay sabiti ile bağlanan topların kapalı bir sistemi gibi düşünülür ve sistem içindeki elemanların Newton'un hareket denklemlerine göre birbirleriyle etkileşimlerine belirlenen süre boyunca ve belirlenen şartlar altında (ısı, pH, basınç, çözelti v.s..) izin verilir (Alder ve Wainwright 1959).

Moleküler dinamik simülasyonlara gerek duyulmasının en büyük sebebi, çoklu taneciklerden oluşan sistemlerin hesaplanmasındaki zorluklardır. Moleküler dinamik, kuantum hesaplamalara göre benzer işleri yaparken çok daha az hesaplama kaynağı ve zaman kullanır. Bu nedenle özellikle proteinler gibi dev moleküllerin simülasyonu söz konusu olduğunda oldukça kullanışlıdır ancak kuantum mekanikten farklı olarak önceden kuvvet alanı ("force field") adı verilen parametre dosyalarına ihtiyaç duyar, bu parametrelerin

oluşturulması işlemine parametrizasyon adı verilir (bu tezde de parametrizasyon işlemi yapılmaktadır) ve bu işlem olmadan bütün molekülleri doğrudan hesaplayamaz. Ayrıca moleküler dinamik ile kovalent bağ oluşum ve kırılımları ve bununla ilişkili reaksiyonlar, homo-lumo enerjileri gibi detaylar da hesaplanamaz, bu hesaplamalar kuantum mekanik ile yapılabilir. Modern moleküler dinamik yazılımlarının kullandığı modern kuvvet alanlarında hidrojen bağlarına doğrudan yer verilmez bu tür etkileşimler dolaylı olarak elektrostatik etkileşim şeklinde hesaplamalara dahil edilir oysaki hidrojen bağları kısmen kuantum kısmen de kimyasal bir karaktere sahiptir bu nedenle bu yaklaşım oldukça kaba bir yaklaşımdır. Bu tür sınırlamalar olsa da moleküler dinamik simülasyonun gücü, deneysel veriyi yeniden üretme kabiliyetiyle ölçülür ve yapılan çalışmalar, moleküler dinamik simülasyonların doğru yöntemler kullanılması şartıyla deneysel verileri üretme konusunda hayli başarılı olduğunu göstermiştir (Wang ve ark. 2004).

2.3. Moleküler Dinamiğin Kısa Tarihçesi

Moleküler dinamiğin tarihçesini 1941 yılı ile başlatabiliriz: O yıl, analog bilgisayarlarla çoklu cisimden oluşan sistemlerin hareket denklemleri kullanıldı. Amaç, sıvıların dinamik davranışlarını anlamaktı. 1955'e gelindiğinde o zamanın süper bilgisayarı sayılabilecek MANIAC I hareket denklemlerini çözmek için kullanıldı ve 64 parçadan oluşan sistemin hareketleri simüle edilmeye çalışıldı (Fermi E. ve Pasta J. 1955). 1957'de Wainwright ve Alder sert kürelerin esnek çarpışmalarını simüle etmek için IBM 704 kullandılar. Nihayet 1960 yılında o zamanki şartlara göre en gerçekçi simülasyon yapıldı, Gibson ve ekibi, katı bakır yüzeyi üzerindeki radyasyon hasarını hesapladılar (Gibson ve ark. 1960). Rahman, 1964 yılında sıvı argon simülasyonunu yayınladı ve kendi kendine yayılma katsayısını simüle ederek deneysel verilerle karşılaştırdı. Bu makalede ilk kez Lennard-Jones potansiyelleri kullanıldı. 1970'lere doğru simülasyonlar önce malzeme alanında sonra biofizik alanında yaygınlaştı (Rahman 1964). Günümüzde ise ilerleyen bilgisayar ve yazılım teknolojileri moleküler dinamik simülasyon, protein katlanması için de kullanılmaktadır ve birbirinden farklı moleküler dinamik yazılımları mevcuttur (J.D. 1964), (Pande 2013).

2.4. Amber Kuvvet Alanıyla İlgili Çalışmalar

Amber moleküler dinamik programı ilk olarak 1975 yılında University of California'da Prof. Peter A. Kollman tarafından geliştirilmeye başlanmış ve ilerleyen zamanlarda bu program için kuvvet alanları yazılma denemeleri başlanmış nihayet ilk Amber kuvvet alanı yine aynı kişinin önderliğindeki bir ekip (bu ekip, Kollman Grup adıyla hala bilimsel çalışmalar yapmaktadır) tarafından tanımlanmış olup kuvvet sabitleri HF/STO-3G düzeyinde hesaplanarak bu kuvvet alanıyla birlikte kullanılan ve aynı düzeyde hesaplanan yüklere ise ESP adı verilmiştir (Weiner ve Kollman 1981).

Marques ve arkadaşları tarafından kobalt korrinoidler için daha önce geliştirilmiş MM2 kuvvet alanı parametreleri Amber kuvvet alanına çevrilmiş korrinlerin katlanma açısı, B12 vitaminin bağlanma sabiti gibi değerlerin karşılaştırılmasında deneysel datalarla uyumlu sonuçlar alındığı rapor edilmiştir (Marques ve ark. 2001).

Amber paketi içinde var olan kuvvet alanları hakkındaki çalışmalar 7 ana grup içinde toplanabilir: Küçük moleküller için üretilen kuvvet alanları (GAFF), Çinko Kuvvet Alanı (ZAFF), Protein Kuvvet Alanları, Karbonhidrat Kuvvet Alanları, Lipit Kuvvet Alanları, Nükleik Asitler Kuvvet Alanları ve Çözelti Kuvvet Alanları (su tipleri ve diğer çözeltiler). Bunların dışında literatürde tamamlanmamış kuvvet alanları bulmak da mümkündür. Örneğin demir için parametreler hemoglobin molekülü üzerinden üretilmiştir ancak bütün bir demir kuvvet alanı henüz yoktur. Benzer durum Bakır ve kobalt için de geçerlidir.

2.5. Genel Amber Kuvvet Alanı (GAFF)

Amber kuvvet alanı parametrelerinin geliştirilmesi konusunda en büyük çalışma GAFF (General Amber Force Field) kuvvet alanı makalesidir (Wang ve ark. 2004). Bu çalışmada, 1 800 model molekül kullanılarak 20 000 bağ ve açı üzerinde kuantum mekanik hesaplama yapılmış ve neredeyse bütün organik molekülleri kapsayacak kadar geniş bir kuvvet alanı türetilmiş sonuçta 56 adet yeni atom tipi oluşturulmuştur. Kuantum mekanik hesaplamalar MP2/6-31G* ve MP4/6-311G(d,p) seviyesinde yapılırken, RESP yükleri HF/6-31G* düzeyinde yapılmıştır. Parametreler üç şekilde test edilmiştir, ilkinde moleküler mekanik olarak minimize edilen geometriler deneysel x-ray yapılarıyla kıyaslanmış,

ikincisinde, moleküller arası enerjiler kuantum mekanik ve moleküler mekanikle karşılaştırılmış; son testte ise moleküllerin rölatif konformasyonel enerjilerinin QM/MM (kauntum mekanik / moleküler mekanik) karşılaştırması yapılmıştır. Gaff, eski bir kuvvet alanı olmasına rağmen hâlâ geliştirilmeye devam edilmektedir. AmberTools paketi içinde yer alan Gaff2 kütüphanesi için henüz resmi bir makale yayınlanmamış olsa da bu kuvvet alanı Gaff'ın güncel hali olup AmberTools paketi içinde kullanılabilir haldedir.

2.6. Çinko Amber Kuvvet Alanı (ZAFF)

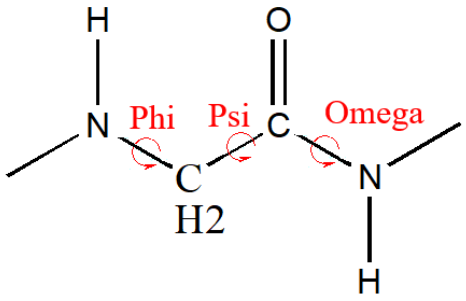
Bunların dışında Yuang-Ping tarafından 1999 yılından beri geliştirilmekte olan, Amber paket içeriğinde daha sonradan yer alan ve kendi sitesinden indirilebilen "Zinc parametres" kuvvet alanı çinko simülasyonları için geliştirilmiştir. 2010 yılına kadar da parametrelere sürekli eklemeler yapılarak ZAFF (Zinc Amber Force Field) kuvvet alanı ortaya çıkmıştır (Peters ve ark. 2010).

2.7. Amber Protein Kuvvet Alanları

Amber'de proteinler için en çok kullanılan kuvvet alanı ilk olarak yine A.Kollman ve ekibi tarafından 1995 yılında geliştirilen (Cornell ve ark. 1995) ff94 kuvvet alanıdır. Zamanına göre oldukça iyiydi ve kuantum mekanik verileri yeniden üretme kabiliyeti oldukça yüksekti ancak kuantum verilerle önemli derecede eşleşmeyi sağlamasına karşın ilerleyen dönemlerde bu kuvvet alanının sarmal sistemleri aşırı stabilizasyona sürüklediği hatta deneysel olarak sarmal olmaması gerektiği bilinen protein sistemlerini de sarmal olmaya zorladığı (Wickstrom ve ark. 2009) anlaşılınca üzerinde optimizasyon çalışmaları başladı.

Ff94 kuvvet alanı optimize etme çalışmaları sonucunda Simmerling çalışma ekibi tarafından önce ff99 sonra ff99SB kuvvet alanı geliştirildi (Hornak ve ark. 2006). FF99'un ff94'ten farkı glisin için daha mantıklı konformasyonlar üretmesini sağlayan phi ve psi dihedral terimlerine yer vermesiydi. Ff99SB kuvvet alanı ise ff99 kuvvet alanında ortaya çıkan phi ve psi dihedral terimlerinin optimize edilmiş hali olup glisin ve alanin tetrapeptitlerinin çoklu konformasyonlarının enerjileri esas alıyor ve böylece ikincil yapı

dengesini daha iyi kurarak deneysel sonuçlarla ff94'e göre çok daha uyumlu yapılar üretiyordu.



Şekil 2.2. Phi, Psi ve Omega açıları

Yan zincirli rotamerler, yan zincir dihedral açı aralıklarının belirli bir kombinasyonu olarak tanımlanırlar (Gaudreault ve ark. 2012). Ff99SB'nin kullanılmasından birkaç yıl sonra bu kuvvet alanının ikinci yapıyı önceki kuvvet alanlarına göre daha iyi tahmin etmesine karşın yan zincir rotamerlerinde ve omurga ikincil yapı tercihlerinde bazı zayıflıklar olduğu tespit edildi. Bu nedenle bu dihedraller yeniden hesaplandı ve bu optimizasyon sonucunda Maier çalışma ekibi tarafından ff14SB (Maier ve ark. 2015) kuvvet alanı geliştirildi. Bu çalışmada ayrıca iyonize edilebilir yan zincirlerin protonasyonları için de parametreler üretildi ve konformasyon çiftlerinin göreceli enerjilerindeki farklılığın 1 kcal/mol'un altında kaldığı ve ff99SB'ye göre %35 oranında düzelme sağladığı tespit edildi. Ayrıca ff99SB'deki dihedral omurgası dihedralleri de yeniden ayarlandı ve ara kuvvet alanı olan ff12SB kuvvet alanı da daha üst bir versiyona taşınmış oldu. Protein kuvvet alanıyla ilgili son çalışma ise yine Simmerling grubu tarafından bu tezin yazılmaya başlandığı zamanlarda 2020 Ocak ayında yayınlandı. FF19SB kuvvet alanı (Tian ve ark. 2020) olarak tanıtılan yeni parametre seti, ff14SB'den farklı olarak omurga dihedralleri 20 aminoasit için ayrı ayrı hesaplandı ve sulu çözelti içindeki QM/MM parametre uyumlandırmadaki polarizasyon hataları düzeltildi ve TIP3P su modeli yerine OPC su modeli kullanılmasının daha doğru simülasyonlar ürettiği rapor edildi.

Polarize kuvvet alanları polarize olmayanlardan farklı olarak elektrostatik kuvvetleri sabit olarak kabul etmezler ve su ya da alkol gibi dielektrik katsayısı yüksek çözücülerde konum ve zamanla birlikte değişen polarizasyonu da belli zaman aralıkları içinde hesaba

katarlar ve bu işlem daha fazla işlemci ile zaman gerektirir. Proteinler için polarize kuvvet alanı üretme çalışmalarının başlangıcını Cerutti ve ekibi tarafından yapılan ve IPolQ ismini verdikleri bir metoda dayandırabiliriz (Cerutti ve ark. 2013). Bu yöntemde, moleküler dinamik simülasyonda ilgili bileşiğin etrafını saran çözücü moleküllerin yük yoğunlukları kuantum mekaniksel şekilde hesaplanarak güncellenmiştir. Ayrıca Amber ff99sb kuvvet alanında bulunan bağsız Lennard-Jones parametreleri de güncellenmiştir.

Yük modeli olarak ortaya çıkan IPolQ metodu daha da geliştirilerek polarize kuvvet alanı haline getirilmiş ve ff99sb ile birleştirilerek proteinler için ff14ipq polarize kuvvet alanı geliştirilmiştir. Bu çalışmada, önceki çalışmada yapılan yük türetme şeması güncellenmiş ve kuvvet alanının oligopeptit ve küresel proteinlerin mikrosaniyeye varan simülasyonlarında alfa-sarmal yapıları ile beta tabakaları üzerinde oldukça iyi bir performans sergilediği rapor edilmiştir (Cerutti ve ark. 2014).

ff14ipq kuvvet alanının başarısı görüldükten sonra aynı ekip tarafından yeni version ff15ipq yayınlanmıştır ve bu versiyonda 300'den fazla benzersiz atomik yük ile 900 benzersiz dihedral terimi ve 60 yeni açı parametresi ile polar hidrojenler için yeni atom çapları eklenerek neredeyse eksiksiz bir kuvvet alanı geliştirilmiştir. Geliştirilen yeni atomik yükler sayesinde, proteinlerin daha doğru rotasyonel difüzyonunun simülasyonu sağlanmıştır. Ayrıca mdgx isimli otomatik kuvvet alanı geliştiren bir parametrizasyon yazılımı sunularak AmberTools 16 paketi içine dahil edilmiştir (Debiec ve ark. 2016).

Protein kuvvet alanı çalışmalarının her zaman doğrusal bir şekilde gittiği söylenemez, birden fazla ekip tarafından çalışıldığı için aynı zaman içinde birden fazla kuvvet alanı üretildiği literatürden anlaşılmaktadır (Case ve ark. 2020). Örneğin yukarıda ff99 kuvvet alanı üzerinden yapılan çalışmalar dışında Duan ve araştırma ekibi tarafından geliştirilen ff03 kuvvet alanında yükler çözücü polarizasyonunu taklit edecek şekilde yeniden hesaplanmış, proteinlerle ilişkili torsiyon açıları yeniden düzenlenmiş ancak DNA ve RNA ile ilgili olan parametreler değiştirilmemiştir.

2.8. Amber Nükleik Asit Kuvvet Alanları

DNA ve RNA'ya özel kuvvet alanı çalışmaları 1990'lı yıllarda başlamış olup DNA için en çok kullanılan kuvvet alanları OL15 ve bsc1; RNA için en çok kullan kuvvet alanları ise OL3 ve bsc0 kuvvet alanlarıdır. 2007 yılında, Perez ve çalışma ekibi tarafından Amber parm99 kuvvet alanıyla yapılan uzun süreli simülasyonlardaki sorunları çözme odaklı modifikasyonlar ile elde edilen bsc0 (parmbsc0) kuvvet alanı ile DNA sarmalı için su içinde o tarihe kadar yapılan en uzun süreli simülasyon (200 ns) yapılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır. 2011 tarihinde, Zgarbova ekibi tarafından (Zgarbová ve ark. 2011) ff99 kuvvet alanında glikozid torsiyonları (χ) modifikasyonu ile RNA için üretilen sahte merdiven yapısını düzelten bir kuvvet alanı geliştirdi. B-DNA için kullanılması önerilmeyen bu kuvvet alanı, ffbsc0 ile birlikte kullanılabilir özellikteydi. Bu kuvvet alanı, OL3 adıyla bilinir.

2010 Mayıs ayında, Yıldırım ve ekibi tarafından Amber99 kuvvet alanındaki glikozid dihedral açısı (chi) için yapılan yeniden-parametrizasyon (bazen bir kuvvet alanı ile ilgili olarak "re-parametreization" ya da "re-optimization" olarak bilinen işlemler yapılarak parametreler güncellenir. Bu yapıldığında yeni bir makale ile parametreler duyurulabileceği gibi sadece github ya da program paket içeriği güncellemesi ile devam edilebilir) işlemi ile sulu çözelti içinde bulunan stidin, üridin, adenozin ve guanozin için 30 ns'lik 10 ayrı moleküler dinamik simülasyon gerçekleştirilmiş ve NMR sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır. Çalışmada ayrıca Amber99 ile bu kuvvet alanının yeniden parametrize edilmiş hali olan Amber99chi kuvvet alanları karşılaştırılmış ve Amber99chi'nin ribonükleositlerin yapısal özelliklerini Amber99'dan daha iyi tahmin ettiğini rapor edilmiştir. RNA için geliştirilen bu kuvvet alanı, tleap programı içinde bsc0 kuvvet alanı grubuna dahildir ve AmberTools 16 paketi içinde leaprc.RNA.YIL koduyla aktive edilir (Yildirim ve ark. 2010).

2.9. Amber Karbonhidrat Kuvvet Alanı

Kirschner ve çalışma grubu tarafından 2008 yılında karbonhidratları modellemek için GLYCAM06 kuvvet alanı geliştirildi (Kirschner ve ark. 2008). Bu kuvvet alanı artık herhangi bir biyomolekül sınıfıyla sınırlı değil, küçük moleküllü bir kuvvet alanı ruhu içinde bütün moleküler sınıflara genişletilebilir özellikteydi. Bütün parametreler doğrudan kuantum

mekaniği verilerinden üretilirken bu parametrelerin karbonhidratlar için hem alfa ve beta anomerlere (belirli atomlarda bulunan geometrik varyasyonlar) hem de halka boyutları ve biçimlerine uygulanabilir olduğu rapor edildi. Ayrıca, bu kuvvet alanı ile yapılan simülasyonlarda biyopolimer yapı blokları için doğru rotamer popülasyonları ve kafes yapıları ürettiği belirlenmiştir. Bu kuvvet alanının en güncel haline http://www.glycam.org adresinden ulaşılabilir. Sitede aynı zamanda, oligosakkaritleri inşa etmek için çeşitli araçlar da bulunmakta olup bu araçlar moleküler dinamik simülasyon dosyalarının hazırlanma işleminde kullanılırlar. Ayrıca dünya genelinde yayılan pandemi nedeniyle Sars-Cov-2'nin glikozillenmiş saçak proteinleri için de hazır pdb dosyaları mevcuttur. Dahası, bu web sitesi, www.functionalglycomics.org gibi glikomik veri tabanlarına da entegredir. http://www.glycam.org/params adresinden ise bütün karbonhidrat rezidüleri için kuvvet alanı indirilebilir. Şu anda GLYCAM tarafından desteklenen monossakkaridler şunlardır: Arabinoz, Liksoz, Riboz, Ksiloz, Aloz, Altroz, Galaktoz, Glikoz, Guloz, İdoz, Manoz, Taloz, Fruktoz, Psikoz, Sorboz, Tagatoz, Fukoz, Kinovoz, Ramnoz, Galakturonik, Asit, Glukuronik, Asit, İduronik, Asit N-Asetilgalaktozamin, N-Asetilglukozamin, N-Asetilmannosamin. Bunların dışında GLYCAM06'nın kullanıldığı en önemli çalışma olarak Woods ve ekibi tarafından yapılan araştırma gösterilebilir (DeMarco ve Woods 2008). Bu araştırmada, GLYCAM06 kuvvet alanı, ökaryotik hücre yüzeyinde bulunan ve diğer molekülleri tanımaya yarayan bazen de hücreyi istila edecek olan patojenler tarafından hedef olarak seçilen ganglosid adlı şeker zincirine bağlı bir veya daha fazla sialik asit içeren glikolipit alt türevinin çift katmanlı yağ ve harici çözücü içinde modellenmesinde kullanılmış ve simülasyon sonuçları NMR yapıları ve deneysel kristalografik veri ile desteklenmiştir.

2.10. Amber Lipit Kuvvet Alanları

Özellikle hücre zarlarının simüle edilebilmesi için ihtiyaç duyulan lipit kuvvet alanı lipitler için özel bir kuvvet alanı geliştirilmeden önce Gaff kuvvet alanı kullanılarak simüle ediliyorlar ve görece başarılı sonuçlar alınıyordu. 2012 ve 2013 yılında iki katmanlı zarların simülasyonu için diğer Amber kuvvet alanlarıyla uyumlu olacak iki ayrı çalışma yapıldı, bu çalışmalardan ilki GaffLipid kuvvet alanıydı. Bu çalışmada, (Dickson ve ark. 2012) Gaff'da bulunan Lennard-Jones parametreleri saf çift lipit katmanlarının doğru ve kararlı

simülasyonu için düzeltildi. Daha sona altı ayrı fosfolipit türünden oluşan lipit çift katmanı, sabit basınç altında 250 ns süreyle simüle edildi ve lipit başına alan, hacim, iki katman kalınlığı gibi yapısal özelliklerin deneysel verilerle uyumlu olduğu gözlendi. 2013 yılında, bu çalışmanın devamı olarak nitelendirebilecek LIPID11 (Skjevik ve ark. 2012) kuvvet alanı geliştirildi. Bu çalışma sırasında Gaff içinde bulunan bazı atom türleri ve yükleri de lipitlerle uyumlu olacak şekilde düzeltilmiş ve geliştirilen yeni kuvvet alanının fosfolipitler için uygun olduğu rapor edilmiştir. 2014 yılında geliştirilen Lipid14 (Dickson ve ark. 2014) kuvvet alanı, hücre zarındaki fosfolipit tabakalarında bulunan hidrofilik (zarın yüzeyine doğru olan baş kısım) ve hidrofobik (içe doğru olan kuyruk kısım) kombinasyonlarının farklı lipit türleri oluşturmasına izin verir. Bu kuvvet alanı geliştirilirken, fosfolipit tabakanın hem baş hem de kuyruk grupları için Lennard-Jones ve dihedral parametreleri revize edilmiş ve kısmi yükler güncellenmiştir. Kuvvet alanını doğrulamak için 6 farklı lipit türünün ikili katmanları 500 ns boyunca simüle edilmiş ve tıpkı daha önceki çalışmalarda olduğu gibi lipit başına alan, hacim, iki lipit arasındaki uzaklık gibi özelliklerin yanı sıra ayrıca, saçılma verileri, yanal difüzyon gibi özellikler de deneysel sonuçlar ile karşılaştırılmıştır. LIPID14 kuvvet alanı da önceki jenerasyonları gibi nükleik asit, karbonhidrat ve küçük molekül kuvvet alanlarıyla uyumludur.

2.11. Amber Çözücü ve İyon Kuvvet Alanları

En bilinen çözücü su olduğundan bu konuda yapılan çalışmalarda da su ile ilgili kuvvet alanları yoğunluktadır. Suyu modellemek için şu ana kadar yapılan çalışmalarda OPC3, TIP3P, SPC/Eb, POL3, TIP4PFB, TIP3P/F, OPC, TIP4P/Ew, TIP4P, TIP5P ile SPC, SPC/E ve TIP3PFB kuvvet alanları üretilmiştir (Case ve ark. 2016). Sadece su ile ilgili oldukları için bu kuvvet alanları su modelleri olarak da bilinirler.

1983 yılında, Jorgensen ve ekibi tarafından yapılan bir çalışmada (Jorgensen ve ark. 1983), 25°C sıcaklık ve 1 atm basınç altında su dimerleri için SPC, TIPS2, TIP3P, ST2, TIP4P ve Bernal–Fowler (BF) modelleri kullanılarak simülasyonlar gerçekleştirilmiş ve elde edilen veriler deneysel sonuçlarla karşılaştırarak kıyaslamalar yapılmıştır. Buna göre deneysel yoğunluğu olduğundan %18 daha fazla tahmin eden ve zayıf yapısal sonuçlar üreten BF modeli haricindeki modellerin deneysel verilerle oldukça uyumlu simülasyon sonuçları

verdikleri rapor edilmiştir. Buna karşın gelişen teknoloji ile yapılan daha uzun süreli simülasyonlar yeni ihtiyaçlar doğurmuştur ve 2004 yılına gelindiğinde, Price ve çalışma ekibi tarafından TIP3P modelinde bazı güncellemeler yapılarak (Price ve Brooks 2004), eski modeldeki Lennard Jones (LJ) parametreleri ve yükleri değiştirilmiş ve Hidrojen atomu için LJ parametreleri, yok sayılmış (yarıçap ve epsilon değerleri 0 kabul edilmiş) ve yeni parametrelerle 25 ℃ sıcaklık 1 atm basınç altında yapılan simülasyonlar sonucunda su yoğunluğu 0.997 g/cm^3; buharlaşma ısısı $\Delta H_{buharl.}$ = -10.53 kcal/mol ve su dielektrik sabiti 76 olarak deneysel değer olan 78.4'e (Case ve ark. 2016) yakın bulunmuştur.

Benzer modifiye çalışmaları diğer su modelleri için de yapıldı. 2004 yılında TIP4P su modeli yeniden-parametrize edilerek TIP4P-Ew su modeli (Horn ve ark. 2004) oluşturuldu. Simülasyon ortamında -38°C'den +127°C'ye kadar yapılan ısıtma işleminde buharlaşma ısısındaki ortalama hata payı %1'den az olarak bulundu. Ayrıca simüle edilen suyun yapısal özelliklerinin de X-ray yapısıyla oldukça uyumlu olduğu rapor edildi. Ayrıca çalışmada kullanılan ve "Ewald metodu" adı verilen yeni parametrizasyon tekniğinin termodinamik deneysel veriler üzerinden diğer su kuvvet alanlarına da uygulanabileceği vurgulandı.

2000 yılında, TIP5P kuvvet alanı geliştirildi (Mahoney ve Jorgensen 2000). Su üzerinde -37'den 100°C'ye kadar ve 1 atm den 10.000 atm basınca kadar yapılan simülasyonlarda su için doğru deneysel yoğunluğu oluşturup oluşturamadığı test edildi. Simülasyonlar sırasında yoğunluk için hata oranı sadece 0.006 g cm^{-3} oranında kaldı ve 1 atm'de 4°C'de maksimum yoğunluk değeri üretildi. Belirtilen sıcaklık aralığında dielektrik sabiti ise 81.5 ± 1.5 olarak bulundu. 25°C'de 1 atm'den 1000 atm'ye kadar yapılan simülasyonlarda ise hata oranı yoğunluk için %2 düzeyinde kaldı. Bu nedenle TIP5P modelinin, basınç işlevi olarak iyi performans gösterdiği rapor edildi. Ayrıca maksimum yoğunluk sıcaklığının (4°C) artan basınçla daha düşük sıcaklıklara kaydığı belirlendi.

2014 yılında, Izadi ve ekibi tarafından nokta yüklü su modeli OPC tanıtıldı (Izadi ve ark. 2014). Bu modelde, su geometrisi ve kuvvet sabitleri ya da LJ parametreleri üzerinde öncekilere göre hiçbir değişiklik yapılmadı (bu model, geometrik olarak TIP4P modeline benzemektedir). Bunun yerine, su molekülündeki nokta yükler gerçeğine en yakın

elektrostatik çekimi sağlayacak şekilde üç noktaya dağıtıldı. Bu dağılım, kuantum mekanik hesaplamalardan elde edildi. Oysaki önceki su modellerinde bütün yükün su molekülünün merkezinde toplandığı varsayılıyordu. Modelin başarısı takdire şayandı, öncekilere kıyasla hata oranı çok daha düşüktü ve su yoğunluğu için bu oran %0.76'ya kadar düştü. Hidrojen enerjileri için RMSD hata oranı 1 kcal/mol'un altına düştü. Bu model, su için dielektrik katsayısını 78.4±0.6 bularak en iyi tahmin eden model oldu (deneysel değer: 78.4).

Su ve organik moleküllerinin yanı sıra metal iyonlarının da biyolojik aktivitelerde önemli olduğu bilinmektedir. Bu nedenle 2013 senesinde Merz ve araştırma grubu tarafından (+2) yüklü metal iyonları için bağsız parametrelendirme çalışması yapıldı ve SPC/E, TIP3P, TIP4P-EW ve (TIP4P) gibi su modellerinin tamamıyla uyumlu olan 3 ayrı parametre seti geliştirildi ve değişik çözücülerde simüle edildi. Çalışmada, M^{+2} katyonlarının, aynı bağsız parametrelerle farklı su modelleri içinde farklı hidrasyon enerjisi (hidrasyon enerjisi, kısaca çözünen bir molekülün iyonlarının çözücü molekülleri tarafından sarılması sırasında harcanan enerjidir şeklinde tanımlanabilir) ürettiği ancak benzer yapısal özellikler elde edildiği rapor edildi (Li ve ark. 2013). Ancak bu çalışma bir başlangıç olsa da yeterli değildi. Hidrasyon enerjilerini deneysel sonuçlara daha fazla yaklaştırmak için yeni bir yaklaşım uygulandı: 2014 yılında Li ve Merz tarafından 6-12 LJ parametrelerinin aslında nötral sistemler için çok iyi sonuç verdiği ancak net yükü nötrden farklı olan moleküllerin simülasyonunda bu denkleme göre parametre üretilmesinin aşırı derecede zor olduğunu belirttiler ve bu nedenle parametrizasyon optimizasyonu yerine bizzat Lennard Jones 12-6 denklemine katkıda bulundular. Çalışmada, (Li ve Merz 2014) denkleme sadece metal iyonları için geçerli olmak üzere r ¼ terimi eklendi ortaya çıkan yeni denkleme 12-6-4 LJ (Lennard Jones) parametresi adı verildi. Bu kez yeni parametre ve denklemlerle 18 metal iyonunun simülasyonunu gerçekleştirilerek yeni parametrelerle hidrasyon serbest enerjileri (HSE), iyon-oksijen uzaklığı (İOU) hesaplandı. Sonuçlar, deneysel verilere önceki çalışmalara göre daha yakındı. Li ve Merz, bu makalede ürettikleri verilerin Charmm, Opls-AA ve Amber kuvvet alanları için uyumlu olduklarını da rapor ettiler (Li ve Merz 2014). Çalışmada ayrıca değişik derişimlerdeki $MgCl_2$ çözeltisi ve Mg^{+2} -nükleik asit sistemleri de simüle edildi ve parametrelerin karmaşık sistemlerde de çalıştığı vurgulandı. Ayrıca okuyuculara bu parametreler hesaplanırken yük-transfer etkilerinin ihmal edildiği ve bu

nedenle bu parametrelerin yük-transfer sistemlerinin simülasyonunda kullanılmasının uygun olamayabileceği bilgisi de verildi. Yeni çalışmada ayrıca, önceki çalışmanın aksine her su tipi için ayrı bir 12-6 LJ parametresi kullanmak gerekmiyordu bunun yerine bütün çözücüler için aynı 12-6-4 LJ parametresi kullanmak yeterliydi.

Bağsız bir kuvvet alanı parametresinin en önemli özelliği, "transferability" olarak bilinen farklı kuvvet alanları arasında "taşınabilir" olma yeteneğidir. Yukarıda bahsedilen çalışmada üretilen parametrelerin bu açıdan da oldukça iyi sonuç verdikleri yani bu parametrelerin sadece Amber kuvvet alanında değil aynı zamanda Charmm ve Opls-AA kuvvet alanında da kullanıldığında da oldukça iyi sonuçlar vermektedir.

2.12. Yarı-Ampirik (Yarı Deneysel) Kuvvet Alanları AM1 ve PM3

Protein gibi makro moleküllerin, molekülün büyüklüğü nedeniyle, X-ray yapısının simüle edilmesindeki zorlukların üstesinden gelebilmek için Wollacott ve Merz tarafından 2006 yılında, yarı-ampirik seviyede kuantum mekanik hesaplamalarla üretilen minimize edilmiş geometrilerin moleküler dinamikle üretilmesi için yeni bir kuvvet alanı geliştirildi (Wollacott ve Merz 2006). Özellikle proteinler gibi büyük moleküllerin X-ray yapısı hakkında kısa sürede fikir verebilecek simülasyonları üreten bu parametre dosyalarına parmAM1 ve parmPM3 kuvvet alanı isimleri verildi. Bu dosyalar ile isimlerinden de anlaşılabileceği gibi kuantum mekanikte yapılan AM1 (Austion Model 1) ve PM3 (Parametric Model 3) düzeyindeki yarı-deneysel hesaplamalar moleküler dinamik programla yapılabiliyordu. İlgili çalışmada, bu parametrelerin çok büyük biyolojik sistemlerin simülasyonuna yardımcı olabileceği rapor edildi.

2.13. Diğer Çalışmalar

Metal-su yüzeyleri arasındaki ilişkinin korozyon, atmosferik ve çevre kimyasındaki önemi nedeniyle 2017 yılında, Stephan ve ekibi tarafından su ve Platin (Pt) metali etkileşimlerini simüle etmek için parametrizasyon çalışması yapıldı (Steinmann ve ark. 2018). GAL17 adı verilen yeni kuvvet alanı, 3 terim üzerine inşa edildi:

(i) yüzey ve su arasındaki bağlanma etkileşimi için standard bir Lennard-Jones potansiyeli,

(ii) yüzey ondülasyonunu (yüzeydeki dalgalanmalar ya da buruşukluklar) iyileştirmek için bir Gauss terimi ve

(iii) etkileşimin açısal bağımlılığını tanımlayan iki terimli enerji fonksiyonu.

Kuvvet alanında bulunan 12 parametre, su üzerindeki 210 farklı Platin geometrisine karşı uyumlandırılmıştır ve sonuç olarak yeni kuvvet alanının metal/su etkileşimlerinin simülasyonunda oldukça başarılı olduğu katı/sıvı yüzeylerde çözünme enerjisi tahmininde kullanılabileceği rapor edilmiştir.

Yeni kuvvet alanı GAL17, AmberTools paketi içinde olsa da yukarıda anlatıldığı gibi Amber'in genel enerji denklemine göre bazı farklılıklara sahiptir. Toplam enerji ilgili çalışmada şu şekilde tanımlanmıştır (Steinmann ve ark. 2018):

$$\boldsymbol{V}_{\boldsymbol{gal17(Platin,\ Su)}} = \boldsymbol{V_{gauss}} + \boldsymbol{V_{açı}} + \boldsymbol{V_{LJ}}$$

Burada, V_{LJ}, oksijen atomu ile yüzey arasındaki Lennard-Jones parametrelerini, V_{gauss}, Yüzey ondülasyon potansiyelini, V_{ang} ise su ile yüzey arasındaki etkileşim simetrik olmadığı için eklenen açı potansiyelini ifade eder. Bu durumda Amber fonksiyonundan farklı olarak Lennard Jones Parametresi şu hale gelir (Steinmann ve ark. 2018):

$$\boldsymbol{V_{gauss}} + \boldsymbol{V_{LJ}} = -\sum_{n\in[Oks.]}\sum_{m\in[Plt.]} \boldsymbol{\varepsilon}_{çek}\, e^{-b_i\left((X_m-x_n)^2+(y_m-y_n)^2\right)}\, e^{-b_j(zm-zn)^2} + \sum_{n\in[Oks.]}\sum_{m\in[Plt.]} \boldsymbol{\varepsilon}_{nm}\left[\left(\frac{r_{min.}}{r_{nm}}\right)^{12} - 2\left(\frac{r_{min.}}{r_{nm}}\right)^{6}\right]$$

Bu eşitlike, r_{nm}, n ve m atomları arasındaki uzaklık, $\varepsilon_{nm,}$ r_{mn} uzaklığındaki atomlar için LJ parametreleri, $\varepsilon_{çek}$ Gaussian çekim gücünün büyüklüğü, b_i ve b_j ise Gaussian çekim gücünün düzlem içi ve düzlem dışı kuvvet sabitlerini gösterir. İlgili çalışmada kuvvet alanınında açılarla illgili eklenen formül ise şu şekildedir (Steinmann ve ark. 2018):

$$V_{açı} = \sum_{i=1}^{2} \frac{N_{H_{yüz.}}}{r_{Hm}^{5}} + \sum_{n=1}^{4} b_x \cos(x\theta)\left(1 - \frac{1}{e^{-s_{açı}\left(r_{Oks}/r_{açı}-1\right)+1}}\right)$$

Bu denklemde de r_{oks} ve H_m sırasıyla oksijen atomları ve hidrojen atomlarının Platin yüzeyine olan uzaklığını, $S_{açı}$, açısal diklik oranını, $N_{Hyüz}$ hidrojen atomları ile platin yüzey

arasındaki itmeyi, r_{ang} , fermi fonksiyonunun orta noktasını, b_x fermi fonksiyonunda bulunan katsayıyı belirtir. Formüllerden anlaşılacağı üzere, Stephan ve ekibi, çalışmalarında sadece yeni bir parametre üretmekle kalmamış aynı zamanda metal-su yüzeyi etkileşimleri için yeni bir kuvvet alanı denklemi de tanımlamışlardır. Bu nedenle çalışma Amber kuvvet alanıyla ilgili olarak literatürdeki önemli çalışmalardan birisidir.

2.14. Amber Dışındaki Kuvvet Alanları

Literatürdeki çalışmalar, Amber kuvvet alanından ibaret değildir. 1992 yılında, W.A Goddard ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, UFF (orjinal adıyla Universal Force Field, türkçesiyle Evrensel Kuvvet Alanı) periyodik cetvelde bulunan bütün atomlar için potansiyelleri içeren bir kuvvet alanı yayınlandı (Rappe ve ark. 1992). Çalışmada bağ, açı ve diheral parametreleri bulunmamaktadır ve çalışma tamamen bağsız parametreler üzerine yapılmıştır. Bu açıdan bu kuvvet alanı "non-reactive" (tepkime içermeyen / etkileşimsiz) kuvvet alanıdır ve kovalent bağ oluşumu, kırınımı gibi etikleşimlerin simülasyonunda kullanılamaz. Ancak yerleştirme (docking) çalışmalarında yeteri kadar parametre bulunmadığında zaman zaman kullanılmaktadır (Kurt ve ark. 2020). Bu kuvvet alanına 2017 yılında Lenoard Jaillet ve arkadaşları tarafından "interactive modelling" (etkileşimli modelleme) adıyla bir uzantı geliştirilmiş olup IM-UFF adı verilen bu yöntem simülasyonun her adımında ağırlıklandırılmış atom türü ve bağları dikkate alarak topoloji dosyasını günceller (Jaillet ve ark. 2017). Böylece, Lenoard ve arkadaşlarının geliştirdiği yöntem sayesinde UFF ile etkileşimli simülasyonlar yapılması mümkün hale gelmiştir.

1994 yılında, Merck Moleküler Kuvvet Alanı-94 (MMFF94) (Halgren 1996) yayınlandı. 1400'den fazla molekül üzerinde yapılan ileri düzey kuantum mekanik hesaplamalarla oluşturulan bu kuvvet alanı oldukça geniş bir parametre kütüphanesine sahiptir ve tıbbi kimyagerlerle organik kimyagerlerin ihtiyaç duyacağı neredeyse bütün parametreleri barındırmaktadır. Çalışmada, kuvvet alanının deneysel geometrik yapıyı yeniden üretme özelliği test edilmiş ve oldukça başarılı sonuçlar alınmıştır: Bağ uzunlukları, bağ açıları, titreşim frekansları ile konformasyonel enerjileri ile dönme bariyerlerini sırasıyla 0.014 Å, 1.2°, 61 cm^{-1}, 0.38 kcal/mol ve 0.39 kcal/mol kök ortalama kare sapma değeri (RMSD) ile hesaplamayı başarmıştır.

2.14.1. Dreiding

Mayo ve çalışma arkadaşları tarafından, 1990 yılında Dreiding adında yeni bir kuvvet alanı geliştirildi (Mayo ve ark. 1990). Bu kuvvet alanında her bağ ve açı için ayrı ayrı parametreler kullanmak yerine, hibritleşme temelinde bağ, açı ve dihedrallere dahil olan atomların özel bir kombinasyonuna göre parametrelendirme işlemi yapıldı ve bu nedenle bağ uzunlukları atom çaplarından elde edildi.Bu kuvvet alanı, metal-olmayan B, C, N, O, F, C, Si, Ge, Sn ile H ve Na, Ca, Zn, Fe atomlarından oluşuyordu. Kuvvet alanının deneysel veriyi yeniden üretebilme gücü 76 adet bileşikle test edidi ve başarılı sonuçlar alındı.

2.14.2. Opls (Optimized Potentials For Liquid Simulations)

1987 yılında, Jorgensen ve Tiravo-Rives tarafından Opls (orjinal adıyla "optimized potentials for liquid simulations", türkçesiyle "sıvı simülasyonları için optimize edilmiş potansiyeller") adındaki kuvvet alanı geliştirildi (Jorgensen ve Tirado-Rives 1988). Kuvvet alanının inşaasındaki amaç, proteinlerin doğal ortamları olan su içindeki simülasyonlarını gerçekleştirmek için potansiyel fonksiyonları geliştirmekti. Çalışmada, 25 peptit rezidüsünün yanı sıra ortak nötr ve yüklü gruplar için de parametreler geliştirildi. Potansiyel fonksiyonlar, tıpkı Amber'deki gibi basitçe Coulomb ve Lennard-Jones enerjilerinin toplamı şeklinde ifade ediliyordu ve bu potansiyel fonksiyonu, TIP4P, SPC ve TIP3P su modelleri ile uyumluydu. Parametreler esas olarak, 36 saf organik sıvının Monte Carlo istatistiksel mekanik simülasyonları ve proteinlerin yan zincirlerindeki ve omurgalarındaki alt birimleri temsil eden organik iyonların çok sayıda sulu çözeltisi ile birlikte elde edildi ve test edildi. Bağ, açı ve dihedral parametreleri için ise Amber'den alınan parametreler kullanıldı. Kuvvet alanı, deneysel X-Ray geometrisini üretme kabiliyetine göre test edildi ve oldukça başarılı sonuçlar alındı. Böylece, Amber kuvvet alanı proteinlerin su içindeki simülasyonları için daha gelişmiş ve optimize edilmiş bir hale getirilmiş oldu.

Yakın bir tarihte, Opls kuvvet alanında RNA modellemesi için bazı iyileştirilmeler yapıldı. Yeni dihedral parametreleri için kuantum mekanik düzeyde ωB97X-D / 6-311 ++ G (d, p) seviyesinde DFT taramalarına göre hesaplamalar yapıldı ve omurga dihedraller

parametreleri bu sonuca göre değiştirildi. Daha sonra parametreler, sulu çözeltideki RNA'lar için çeşitli moleküler dinamik simülasyonlar ile doğrulandı (Robertson ve ark. 2019).

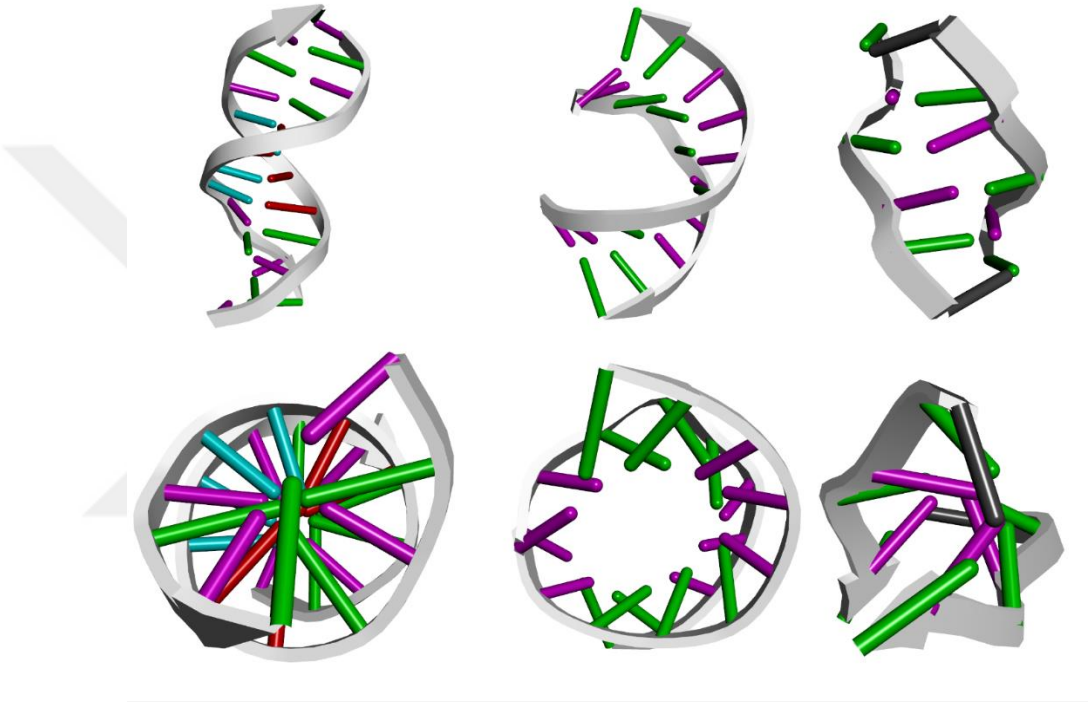
2.14.3. Charmm

Charmm kuvvet alanı, karbonhidratlar, proteinler, lipitler ve nükleik asitler için parametreleri içeriyordu ancak tıpkı Amber'de olduğu gibi bu kuvvet alanına zamanla eklemeler yapıldı, 2009 yılında heterosiklik yapılar da dahil olmak üzere ilaç etkisi gösteren çeşitli kimyasal grupları da içeren yeni bir kuvvet alanı yayınlandı. Charmm Genel Kuvvet Alanı (CgenFF) adı verilen bu yeni kuvvet alanında Amber'den ve Charmm'dan farklı olarak kullanıcılar tarafından genişletilebilme ve aktarabilme özelliği konuldu (Vanommeslaeghe ve ark. 2009). Böylece doğrudan CgenFF içinde bulunmasa bile kullanıcılar, mevcut moleküllere işlevsel grupları bağlayarak yeni parametreler elde edebilecekti. CgenFF sayesinde ilaç-hedef simülasyonlarının Charmm içinde daha sorunsuz ve daha geniş bir kütüphane ile yapılması sağlandı. Bu açıdan Gaff, Amber için ne kadar önemliyse CGenFF de Charmm için o kadar önemlidir.

2012 yılında, CgenFF içinde bulunan bazı parametreler kuantum mekaniksel hesaplama sonuçları ve deneysel sonuçlara göre optimize edildi (Yu ve ark. 2012). Sülfonil grubu içeren bileşiklerin, özellikle de sülfonamit temelli peptit sistemlerinin simülasyonunun daha isabetli yapılması için sülfamat, sülfonat sülfon ile sülfonamid molekülleri üzerinden parametrizasyon çalışması yapıldı ve yeni parametrelerle yapılan simülasyonlar sonucunda elde edilen IR/NMR datalarının deneysel verilerle uyumlu olduğu saptandı ve minimizasyon sonucunda elde edilen denge geometrilerinin X-ray yapısıyla uyuştuğu görüldü. Parametrelerin ayrıca dihedral potansiyel taramalarında ve su ile gaz fazındaki etkileşimlerde de deneysel veriye çok yakın sonuçlar bulduğu saptandı.

Yine 2012 yılında, Charmm'ın DNA simülasyonları için yeni bir kuvvet alanı yayınlandı (Hart ve ark. 2012). DNA'nın B formundaki moleküllerin daha isabetli simülasyonunu hedefleyen çalışmada DNA'nın A formunun da örneklendirilmesini kolaylaştırmak için şeker parametrelerinde bazı değişiklikler yapıldı. Parametrizasyon işlemi, kuantum mekanik hesaplamalar ve ardından yoğun çözeltideki DNA simülasyonları

ile yapıldı ve bir dizi DNA çift sarmalına karşı doğrulandı. Seçilen optimize edilmiş parametreler daha sonra Amber, Parm99 ve bsc0 kuvvet alanlarıyla kıyaslandı ve sonuçların başarılı olduğu, kuvvet alanının özellikle B-DNA'yı deneysele daha yakın şekilde ürettiği görüldü. Modelin ayrıca, 1ZF1 kodlu DNA'nın A formunu yeniden oluşturduğu ancak kristal ortamda bu dubleksin stabil bir Z-DNA'ya dönüştüğü gözlenmiştir.



Şekil 2.3 Sağdan sola doğru sırasıyla B-DNA (PDB ID:1BNA), A-DNA (PDB ID: 1ZF1) Z-DNA (PDB ID: 3QBA) çeşitlerinin önden ve üstten görünüşleri.

DNA çeşitlerini etkileyen pek çok faktör vardır: tuz yoğunluğu, DNA diziliminin kendisi, süper-sarmalın dönüş yönü ve sayısı, DNA'yı oluşturan bazların kimyasal değişiklikleri, farklı türlerdeki metal iyonları, bunların türleri ve çözeltideki yoğunlukları, çözelti içindeki poliamin yoğunluğu. (EBC. 2021) Bu faktörlerin tamamının simülasyon içinde doğru şekilde yer almaması halinde simülasyon sonucu DNA'nın deneysel yapısıyla uyumsuz olacaktır. Örneğin A-DNA, dehidrasyon koşulları altında B-DNA'dan oluşur ve B-DNA'ya göre çok daha geniş ve düzdür (her iki DNA türü de Z-DNA'nın aksine sağ-el sarmalına sahiptir). Watson-Crick modeli olarak da bilinen B-DNA türü hücrelerdeki en yaygın DNA türü olup hücredeki doğal fizyolojik koşullar altında (pH ve tuz

konsantrasyonu) DNA molekülü bu konformasyonda bulunmayı tercih eder, aşırı tuz ortamında ise DNA diğer şartlar da varsa zikzak model olan Z-DNA'yı tercih eder bu nedenle simülasyonun hızlanması için ortamdan suyun ve iyonların çıkarılması B-DNA yerine A-DNA sarmalıyla ya da simülasyon sırasında ortama aşırı tuz eklenmesi B-DNA yerine Z-DNA sarmalıyla yani deneysel sonuçtan tamamen farklı bir DNA türüyle karşılaşılmasına sebep olabilir. Özetlemek gerekirse DNA simülasyonları diğer moleküllere göre daha hassas simülasyon parametreleri ve prosesi gerektirmektedir, ayrıca yukarıda bahsedildiği gibi sürekli olarak kuvvet alanlarının optimize edilmesi bu kuvvet alanlarıyla DNA yapısının gerçekten de tam olarak üretilip üretilmediği konusunda soru işaretlerine yol açmıştır. Bu şüpheler nedeniyle 2017 yılında yapılan bir çalışmada (Dans ve ark. 2017), değişik kuvvet alanlarının DNA'nın deneysel yapısını üretirken başlangıç koordinatları olarak yine deneysel yapının kullanıldığı ve bu tür testlerin güvenilir olamayabileceğini iddia eden Pablo ve çalışma arkadaşları çeşitli kuvvet alanlarının DNA'nın deneysel yapıyı yeniden üretme gücünü test etmek için daha önce deneysel yapısı bilinmeyen B-DNA çift sarmallarını çeşitli kuvvet alanları kullanarak minimize etmiş ve sonuçları NMR sonuçlarıyla karşılaştırmış, sonuç olarak B-DNA'nın yapısını yeniden üretme konusunda bütün kuvvet alanlarının eşit ölçüde güvenilir olmadığını ancak Amber'e ait bsc1 ve OL15 kuvvet alanlarının multi-mikrosaniye süren simülasyonlar sonucunda görece iyi sonuçlar elde ettiğini açıklamıştır. Bu nedenle literatürde DNA kuvvet alanı ile ilgili çalışmalar hâlâ mükemmele ulaşmış değildir.

2016 yılında, CgenFF'e halojen bağları ile ilgili parametreler eklendi. Bir halojen atomu ile başka bir elektronegatif arasında kovalent olmayan etkileşimler de mevcuttur. Bu etkileşimler, deneysel kuvvet alanlarında atom merkezli nokta yükleriyle temsil edildiklerinden dolayı bu etkiyi tam olarak hesaplayamazlar çünkü halojen atomları genellikle negatif yük taşır ve diğer atomlarla olumsuz etkileşime girer. Bu sorunun üstesinden gelmek için halojene sanal bir pozitif yük eklenir. Söz konusu çalışmada, X = Cl, Br, I olmak üzere ikili ve üçlü halojenlenmiş fenil-X modelindeki bileşikleri de kapsayacak şekilde CgenFF genişletilmiştir. Lennard-Jones parametreleri, yükler, sanal halojen parçacık mesafeleri, bileşiklerin su, asteton ve N-metilasetemit ile girdiği kuantum mekanik etkileşimlerini ve hidrasyon enerjilerini simüle edebilmek için yapılan çalışmada elde edilen parametreler, küçük moleküllü kristallerin yüzeyindeki moleküler dinamik simülasyonlarda

ve halojenli bileşikler içeren çözünmüş protein-ligand kompleksinde doğrulanmıştır. Sanal pozitif parçacıkların parametreye dahil edilmesi, hidrojen bağının gelişmiş bir versiyonudur ve ligand-bağlanma pozlarının korunması dahil olmak üzere deneysel gözlemlenebilir sonuçlarla daha iyi bir uyuşmaya neden olur (Soteras Gutiérrez ve ark. 2016).

Yine 2016'nın sonlarına doğru, Charmm protein simülasyonları için Charmm36m adındaki kuvvet alanı yayınlandı. Bu çalışmadaki amaç, önceden proteinlerde sağ alfa sarmalı için deneysel uzunluğu tam olarak üretemeyen protein parametrelerinin bunu sağlayacak şekilde değiştirilmesiydi. Bu amaçla belli rezidülerde bulunan beta karbonlarının van der waals parametreleri değiştirildi. Sonuç olarak deneysel olarak sağ alfa sarmalındaki uzunluğa çok daha yakın yapılar elde edildi (Huang ve ark. 2017).

2.15. Yapılan Çalışmalar Kapsamında Üretilen Sunucular ve Programlar

Çalışmalar sadece yeni kuvvet alanı parametreleri üretmekle sınırlı kalmamış 2001 yılında Wang ve arkadaşları ilk defa force field geliştirmede genetik algoritma kullanmışlar ve bu amaçla parmscan adlı yazılımı geliştirmişlerdir (Wang ve Kollman 2001). İlgili programın kodlarının ulaşılabilir olmaması bu çalışmanın yararını sadece Amber geliştiricileriyle sınırlamış olsa da ilerleyen yıllarda Gaff kuvvet alanı üretilirken dihedral parametreleri bu yazılımla hesaplanmıştır. Parmscan, sadece dihedral parametrizasyonu yapabilen bir programdı Oysa kuvvet alanı geliştirme işi çok daha fazlasını gerektirir; bir kuvvet alanı geliştirilirken bağsız, bağ, açı, dihedral parametreleri ile yüklerin hesaplanması şarttır, bu nedenle farklı programlar üretilmiştir. Ghosh ve arkadaşları tarafından geliştirilen ParamChem (Ghosh ve ark. 2011), açı ve bağ parametrelerini hesaplayabilirken dihedral parametrelerini hesaplayamamaktadır. Charmm programı için kuvvet alanı geliştiren ve VMD görselleyici programının eklentisi şeklinde gelen ParaTool yazılımının geliştirilmesine ise son verilmiştir ve bu nedenle şu anda kullanılabilir değildir. 2013 yılında Mayne ve arkadaşları tarafından kullanıcı dostu sayılabilecek fftk (force field developer kit) geliştirilmiştir (Mayne ve ark. 2013). Bu yazılım, kuantum mekanik datadan kuvvet alanı geliştirebilmekte ancak dihedraller için sadece bir adet kuvvet sabiti üretmekte ve bu da dihedrallerin tek kosinus fonksiyonuyla ifade edilemediği karmaşık durumlarda yeterli olamamaktadır. Paramfit ise 2014 yılında Robin Betz ve Ross Walker tarafından

geliştirilmiştir (Betz ve Walker 2015). Bu program, dihedral, açı ve bağ parametrelerinin tamamı için kuantum mekanik/moleküler dinamik uyumlandırması yaparak çalışmaktadır ancak görece başarılı olmakla birlikte karmaşık tleap komutlarını yeni konformasyon üretmek için kullanmakta ancak bor gibi Amberde doğrudan tanımlanmayan moleküllerde tleap yeni konformasyon üretemediği için bu konformasyonların harici bir programla elde edilmesi gerekmektedir ve bu nedenle özellikle açı ve bağ parametrelerinin elde edilmesi gereken durumlarda hiç pratik değildir. Buna rağmen bu tezde yapılan çalışmalarda hem genetik hem de simplex algoritma kullanması nedeniyle tercih edilmiştir.

Yapılan çalışmalar, internetin yaygınlaşması ve internet teknolojilerinin daha da gelişmesiyle birlikte sunucu alanına doğru da genişletilmiştir. ATB Server, R.E.D Server, SwissParam, Ligparpen, CCGENFF, MATCH, CHARM-GUI gibi sunucular oluşturulmuştur ve literatürde en çok atıf alan makaleler de bu sunucuları tanıtan makaleler olmuştur. Detaya inmek gerekirse, GROMACS simülasyon programı için sadece organik moleküllerle sınırlı kalmak kaydıyla full parametrizasyon işlemi gerçekleştiren (kuantum mekanik datadan parametre üreten) ATB sunucusu (Malde ve ark. 2011) kurulmuştur ve sunucu kendi içinde gromos topoloji dosyalarını Amber'e çevirme kabiliyetine de sahiptir (Koziara ve ark. 2014) ancak Amber kullananlar için genellikle Amber içinde bulunan Gaff kuvvet alanı simülasyonlar için yeterli olmaktadır. Ayrıca organik moleküllerin dışına çıkıldığında parametrizasyon işlemi yapsa da bağsız parametreleri üretemediği tespit edilmiştir. Buna rağmen, GROMACS kullananlar için ATB server en çok kullanılan sunucuların başında gelir. Sunucudaki kuantum mekanik hesaplamalar GAMESS-US programı ile yapılmakta ve molekülün büyüklüğüne göre sunucu tarafından yapılacak hesap düzeyi otomatik olarak seçilmektedir. Örneğin atom sayısı fazla olan bileşikler için sadece yarı-deneysel hesaplamalara dayalı parametrizasyon işlemi yapılmaktadır. Sunucunun kullanımı oldukça basittir, siteye kaydolduktan sonra organik molekülünüzü yüklersiniz ve birkaç saat içinde gerekli parametreler üretilip indirilebilir hale gelir. Ayrıca yüklenen her molekül için üretilen parametreler sunucu kütüphanesinde saklanır ve böylece aynı molekülün defalarca hesaplanmasına gerek kalmaz. Şu ana dek kütüphanesinde yüzbinlerce molekül için parametre mevcuttur.

R.E.D server, (Vanquelef ve ark. 2011) Amber için hem RESP yükleri hem de parametre kütüphanesi üretmektedir ancak bu tezin yazıldığı zaman içerisinde aylarca servis dışı olması sebebiyle kullanılamamıştır. Çalıştığı dönem içinde, sunucunun Amber ile tam uyumlu "kuvvet alanı modifikasyon dosyaları" (*.frcmod uzantılı dosyalar) üretebildiği bilinmektedir. Ayrıca sunucu aktifken, yüklenen molekülün RESP yüklerini de otomatik olarak hesaplamaktaydı.

Zoete ve arkadaşları tarafından geliştirilen SwissParam (Zoete ve ark. 2011) web sunucusu hem Charmm hem de GROMACS için parametre üretse de bu parametreler sadece organik moleküller için geçerli olmakta ve örneğin bor içeren bileşikler için parametre üretememektedir. Sunucu, benzerlerinden farklı olarak çok amaçlı bir araç şeklinde tasarlanmıştır. Örneğin, sunucunun SwissDock kısmı docking işlemleri için de kullanılabilmektedir. SwissTargetPrediction ise aynı sunucu üzerinde biyoaktif olduğu düşünülen küçük bir molekülün olası makromoleküler hedeflerini tahmin eder. Tahmin, üç farklı türden 3000'den fazla protein üzerinde bilinen 370.000 aktif maddeden oluşan bir kütüphane ile 2D ve 3D benzerliğin bir kombinasyonuna dayanır. Aynı sunucu üzerinde bundan başka değiştirilen fonksiyonel grupların ilaç etkisi hakkında arama yapan SwissBioisostere ve yeni bir bileşiğin ADME hesaplarını yapan SwissADME bölümleri de mevcuttur. SwissSimilarity ise şekli verilen bir molekülün var olan ilaçlara benzerliği hakkında bilgi araması yapar. Tüm bu hizmetler ücretsizdir ve referans verilen makaledeki web sitesi üzerinden ulaşılabilir.

Dodda ve arkadaşları tarafından yazılan LigparPen, (Dodda ve ark. 2017) hem sunucu olarak hem de kullanıcının kendi bilgisayarında komut-satırı yazılımı olarak organik moleküller için Opls-AA kuvvet alanına uygun parametrizasyon işlemi yapmaktadır ve CM1A yük modelini kullanmaktadır. Yazılım tarafından üretilen çıktı dosyaları, TINKER, Charmm, BOSS, Gromacs, NAMD, OpenMM, LAMMPS için de uyumludur.

CGenFF, aynı isimdeki Charmm uyumlu kuvvet alanına ait parametrizasyon programıdır (Vanommeslaeghe ve ark. 2012) ve Charmm kuvvet alanlarının karbonhidratlar için yetersiz kalışı sebebiyle benzerleri gibi sadece organik moleküller için parametrizasyon yapar. CGenFF, kuantum mekanik verilere dayanarak kuvvet alanı parametresi üretir.

Hesaplamalar, şekerler ve nükleik asitler için deneysel verilerle oldukça uyumlu değerler üreten MP2/6-31G(d) ya da MP2/6-31G+(d) düzeyinde yapılır. Ardından frekans hesabıyla elde edilen veriler 0.943 düzeltme katsayısı ile çarpılır. Dihedrallerin potansiyel enerji taramaları ise Charmm içinde bulunan MOLVIB modülü ile yapılır. Tek nokta enerji hesaplamaları ise MP2/6-31G(d) düzeyinde optimize edilmiş geometri üzerinden RIMP2/cc-pVTZ düzeyinde hesaplanır. Yük olarak Merz-Kollman yüklerini kullanır.

Michigan Üniversitesi, Brooks Laboratuvarlarında 2011 senesinde üretilen MATCH, (Yesselman ve ark. 2012) da diğer benzerleri gibi Charmm kuvvet alanına uygun olacak şekilde organik moleküller için parametre atama işlemi yapar ve yükleri hesaplar ancak bu parametrelendirme işlemi bu tezde yapıldığı gibi kuantum mekanik hesaplamadan yapılmaz sadece Charmm içinde zaten var olan bağ, açı ve dihedraller programa yüklenen organik moleküllerinkiyle eşleştirilir ("matching" işlemi yapılır). AmberTools paketi içinde de buna benzer işlemleri gerçekleştiren programlar vardır bunlar parmchk ve parmchk2 programlarıdır. Bu nedenle Amber kullananlar genellikle bu sunucudan yararlanmak yerine parmchk ya da parmchk2 programları ile eşleştirme yapıp sonrasında bu parametreleri Charmm kuvvet alanına dönüştürürler. Amber içinde yük atama işlemi ise antechamber programı ile yapılır. Bu iki işlem sonrasında topoloji ve koordinat dosyaları da yine aynı paket içinde yer alan tleap programı ile yapılabilir. Bu şekilde düşünülünce MATCH sunucusu, AmberTools Paketinin mini bir Charmm sunucu versiyonu gibi düşünülebilir.

Charmm-GUI, (Jo ve ark. 2008) 2008 senesinden beri http://www.charmm-gui.org adresi üzerinden hizmet vermektedir. Charmm uyumlu topoloji dosyaları üretmekle kalmaz, modellemesi hayli zor olan hücre zarı, DNA-protein kompleksleri gibi dev moleküllerin pdb dosyalarının da hazırlanmasını sağlayarak moleküler dinamik simülasyona hazırlık işlemini oldukça kolaylaştırır. Hazırlanan pdb dosyaları Amber için de kullanılabilir. Oldukça kullanıcı dostu bir ara yüze sahiptir ve kullanıcıların siteyi verimli bir şekilde kullanabilmeleri için video öğreticileri bulundurur.

SWISSMODEL, İsviçre'deki Basil Üniversitesi'nde Biasini ve ekibi tarafından (Biasini ve ark. 2014) üretilen bir sunucu olup, protein diziliminden üç boyutlu protein yapılarını modelleyebilmektedir. Sunucu tarafından üretilen üç boyutlu protein dosyaları,

moleküler dinamik simülasyonlarda rahatça kullanılabilmektedir. Bu açıdan, parametrizasyon sonunda ligandın protein ile etkileşimi deneysel olarak biliniyorsa, bu sunucu ile hazırlanan dosyalar simülasyon işini oldukça kolaylaştırmaktadır.

Piyasadaki sunucu ve programlar sadece bunlarla sınırlı değildir. Moleküler dinamik simülasyonların ilaç geliştirmede kullanıldığı düşünüldüğünde yük hesaplama, protein ve ligand modelleme, yerleştirme (docking), hedefleme, reaksiyon yolu aydınlatma, kuantum mekanik hesaplamalar, bilgi bankalarında karşılaştırmalar yapma ve arama, dosyaları birbirine dönüştürme v.s. gibi birçok işlemi de kapsadığı düşünüldüğünde sayılan bütün işlemler için de ayrı ayrı programlar üretilmiş olduğu görülecektir. Bu alanda kullanılan programların oldukça uzun bir listesine https://www.click2drug.org adresinden ulaşılabilir (sunucunun kullanım dışı olma ihtimaline karşın web arşiv linki: http://web.archive.org/web/2020*/https://www.click2drug.org).

2.16. Bor Kuvvet Alanları İle İlgili Çalışmalar

Bor bileşikleri, biyolojik koşullar altındaki yüksek kararlılıkları ve düşük toksisiteleri ile ilaç tasarımında oldukça önemlidirler. Potansiyel hidroksil çekici molekül olmaları ve bu grupların organik bileşikleriyle reaksiyonları bor bileşiklerini biyolojik olarak aktif moleküller haline getirir (Samman ve ark. 1998), (Yang ve ark. 2018). Örneğin, borik asit ve boratlar, cis-hidroksil grupları içeren riboflavin, pirodoksin, adenozin monofosfat, pirimidin nükleotidleri askorbik asit, riboz ve polissakkaritlerle tersinir reaksiyona girerler (Naghii ve Samman, 1997), (Temel 2020). Ayrıca, bazı çalışmalar, bor bileşiklerinin kandaki kolestrol, trigeliserit, ve HDL-kolestrol seviyelerini düşürdüğünü göstermiştir. Bazı çalışmalarda da bor bileşikleri DNA hedefleme için kullanılmışlardır (Sjöberg ve ark. 1997).

Bor parametrelendirmesiyle ilgili, o zamana göre en geniş kapsamlı çalışma ise Otkidatch ve Pletnev tarafından yapılmıştır (Otkidach ve Pletnev 2001). Bu çalışmada, henüz Seminario yöntemi bilinmediğinden bor için Charmm parametreleri Gillespie-Kepert adı verilen matemetiksel bir yöntemle hesaplanmış ve bu parametreler kullanılarak yapılan minimizasyon işlemi sonrasında elde edilen minimize edilmiş geometriler deneysel X-ray

yapılarıyla karşılaştırılmıştır. Çalışmada o zamanın parametrizasyon tekniğine göre makul sonuçlar alınmıştır.

Literatürde, bor ile ilgili kuvvet alanı geliştirme çalışmaları oldukça sınırlıdır. Konuyla ilgili en önemli makale, Tafi ve arkadaşları tarafından yazılmış olup bu makalede (Tafi ve ark. 2005), B-O bağı için 1345 cm^{-1}, B-C bağı için 930 cm^{-1} olarak kabul edilen IR frekans değerleri üzerinden şu formülle bağ kuvvet sabitleri hesaplanmıştır:

$$K_{(gerilme)} = 3.0\times 10^{-5} f^2 M_1 x M_2/(M_1 + M_2) \quad (1)$$

Burada K, bağ kuvvet sabiti, f, FTIR değeri, M_1, birinci atomun kütlesi, M_2 ikinci atomun kütlesini ifade eder. Alkil boronatlar için yapılan bu hesaplamada, diğer parametreler için MacroModel 5.5 yazılımı kullanılmış yükler ise HF/6-31G** düzeyinde hesaplanmıştır. Elde edilen parametrelerle yapılan simülasyonda, modellenen boronik asit türevinin, deneysel verilerle uyumlu bir şekilde beta-lakmatamazları inhibe ettiği rapor edilmiştir.

Hilder ve arkadaşları, bor-azot nano tüpleri simülasyonu için yaptıkları çalışmada (Hilder ve ark. 2010), bor ve azot için hem Van der Waals parametrelerini hem de elektrik yüklerini su içinde vakum ortamında hesaplamışlar ve yaptıkları NAMD simülasyonlarında bor-nitrit nano partikülleri için bor ile azot atomları arasındaki kısmi yük hareketlerinin su ortamında dramatik şekilde arttığını bu nedenle kuvvet alanının bor-azot yük atamalarında başarısız kaldığını ileri sürmüşler ve bunun için önerdikleri "onarılmış yüklerin" bu sorunu çözdüğünü rapor etmişlerdir.

James ve Whiting, alkil ve aril-boronatlar ile bunların karbonil Lewis asit kompleksleri için MM2 kuvvet alanı parametrizasyonunu gerçekleştirmişler (Oliver 2013) ve işlem sırasında bükülme kuvvet sabitleri için şu formülü kullanmışlardır:

$$K\sim = 3.0 \times 10^{-7} \times f^2 \times (M_1 \times M_3 / M_1 + M_3)\ (mydn\ rad^{-2}) \quad (2)$$

Formüldeki K, M_1 ve M_3 değerleri yukarıda verilen (2) eşitliğindeki gibi olup burada K bükülme kuvvet sabitini göstermektedir. Ayrıca bu çalışmada simetrik ve asimetrik gerilmeler için de birbirinden farklı formüller uygulanmıştır:

$$K_{(simetrik)} = 5.3 \times 10^{-7} \times f^2 \times [1/(1/M_1 - 1/M_2 + 1/M_3)]\ (mydn Å^{-1}) \quad (3)$$

$$K_{(asimetrik)} = 5.3 \times 10^{-7} \times f^2 \times [1/(1/M_1 + 1/M_2 + 1/M_3)] \ (mydn\text{Å}^{-1}) \quad (4)$$

Formüldeki K, M_1 ve M_3 değerleri yukarıda verilen (1) eşitliğindeki gibi olup burada K simetrik ve asimetrik kuvvet sabitini göstermektedir. Dihedral parametrizasyonu sırasında kullanılan formül ise şudur:

$$E_{dihedral} = [(V_1/2)(1+\cos\theta)] + [(V_2/2)(1-\cos 2\theta)] + [(V_3/2)(1-\cos 3\theta)] \quad (5)$$

Formüldeki V_1, V_2 ve V_3 değerleri dihedral potansiyelleridir. Bu formüller, hızlı parametrizasyon açısından önemlidir ancak dihedral potansiyelinin Amber'in (6) eşitliğindeki dihedral potansiyelinden bir miktar farklı olması nedeniyle Amber içinde kullanmak denklem eşitsizliğine yol açabilir.

Görüldüğü üzere, literatürde özellikle organik moleküller için pek çok kuvvet alanı parametresi olmakla beraber bor için yapılmış çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Bir ilaç tasarımında, üretilecek olan ilacın hedef moleküle bağlanmasıyla ilgili binlerce molekülün denenmesi gerekmektedir. Kraljevic ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmaya göre her 5000 ilaç adayından yalnızca beş tanesi ön klinik testleri geçebilmekte ve sadece bir tanesi istenilen miktarda etkinlik göstermektedir (Kraljevic ve ark. 2004). Bu kadar fazla denemenin laboratuvar ortamında yapılması hem zaman ve hem de maliyet açısından oldukça fazla yük getireceği açıktır. Bu nedenlerle, moleküler dinamik simülasyonlar ilaç tasarımı için, özellikle de bor bileşikleri gibi deneysel olarak az çalışılmış bileşikler açısından en ucuz ve en hızlı metottur (Hu ve Ryde 2011), (Temel 2020). Amber, yukarıda anlatıldığı üzere dünyada en yaygın kullanılan moleküler dinamik simülasyon programıdır. Bor bileşiklerinin biyolojik aktiviteleri üzerine deneysel çalışmalardaki seyreklik onları simülasyonların ana hedefi haline getirir ancak ilginç bir şekilde bor bileşikleriyle ilgili simülasyon parametrelerini bulmak da oldukça güçtür. Bu nedenle bor bileşiklerinin simülasyon parametrelerini üretmek literatüre katkı açısından oldukça önemlidir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kullanılan Donanımlar:

Yapılan hesaplamalarda G33579 sistem modeli (1.4.0 BIOS), i7-8750H CPU 2.2GHz (Turbo: 4.1GHz) 6 çekirdek, 12 thread işlemci, 16384MB DDR2 RAM, NVIDIA GeFORCE GTX 1060 16GB Paylaşımlı ve INTEL(R) UHD 8GB paylaşımlı çift anakarta sahip, Dell Marka G315 model laptop kullanılmıştır.

3.2. Bu Çalışmada Kullanılan Yazılımlar ve Kullanım Amaçları

1. Amber yazılımı Linux OS altında çalıştığından ve henüz docker programı içinde çalıştırılamadığından dolayı programın kurulabilmesi için işletim sistemi olarak WSL Linux Ubuntu 16.04 OS Windows 10 Pro 64-bit işletim sistemi içinde kullanılmıştır.

Bunun dışında;

2. Amber'in simülasyon sırasında ihtiyaç duyduğu parametrelerin belirlenmesi için parmchk ve parmchk2 programları,

3. Amber için standart olmayan bor molekülünün kaynak kodda (parmchk2) gereken satırlara eklenmesi için Sublim Text 3.0 düzenleyicisi

4. Dihedral parametrelerinin üretilmesi için paramfit programı,

4. Mol2 dosyalarının Gaff atom türüne çevrilmesi ve yük hesabı için antechamber programı (Wang ve ark. 2001),

6. Simülasyona tuz ve su eklenmesi için aynı zamanda oluşturulan yeni kuvvet alanı parametreleri ve RESP yüklerinden Amber'in tanıyabileceği *.lib uzantılı yeni bir kütüphane oluşturulması için ve organik moleküllere ait diğer kütüphanelerin eklenebilmesi için xleap ve tleap programları

7. Tleap programının wsl (windows subsystem) altında görsel özelliklerinden faydalanabilmek için Xming programı,

8. Molekülün minimizasyonu, ısıtılması ve moleküler dinamik simülasyonu için sander programı,

9. Simülasyona ait RMSD ve enerji analizleri için, CPPTRAJ (Roe ve Cheatham, 2013) programı

10. Ön denemeler sırasında elde edilen parametrelerin yöntemin sağlamasının yapılması amacıyla GROMACS ve Charmm ile karşılaştırılmasını için parmed programı (bu program aynı zamanda diğer kuvvet alanlarından alınan parametrelerin Amber'e aktarılması için de kullanılmıştır).

Ayrıca;

11. Yine ön denemeler sırasında metal parametrizasyonları da yapılmış ve mdgx programı da bu amaçla dihedral parametre kontrolü için kullanılmıştır (Case ve ark. 2016)

12. Optimizasyon ve dihedral enerji taramaları için psi4Numpy (Smith ve ark. 2018)

13. Frekans hesaplamaları için GAMESS-US (Schmidt ve ark. 1993)

14. Çıktı dosyalarının düzenlenmesi için linux içinde varsayılan olarak gelen awk, sed ve grep yazılımları

15. Sander taramaları sırasında input dosya içeriklerinin hızlıca değiştirilmesi için python programlama dili ve bazen de yukarıda sayılan Sublime Text 3.0 yazılımı,

16. RESP yükü hesaplamaları için multiwfn (Lu ve Chen 2012),

17. Kuantum mekanikle elde edilen frekans verilerine seminario matriksi uygulamak için VFFDT (Zheng ve ark. 2016),

18. DNA molekülünün modellenmesi için nab programı,

19. DNA-Ligand kompleksinin docking işlemlerine hazırlanması için MGL TOOLS 1.4.2 (Morris ve ark. 2009),

20. Yerleştirme (docking) işlemi sırasında grid dosyalarını ve haritalandırmayı oluşturmak için autogrid4.exe (Morris ve ark. 2009),

21. Yerleştirme işlemi sonucunda bağlanma skorlarını elde etmek için autodock4.exe (Morris ve ark. 2009),

22. Dosyaların ayrı ayrı analizi için vinasplit.exe (Morris ve ark. 2009),

23. Yerleştirme (docking) dosyalarının görselleştirilmesi için ve ayrıca moleküler mekanik optimizasyon sonucu elde edilen geometrilerin deneysel datalarla karşılaştırılması sırasındaki RMSD değerlerini hesaplamak ve süper-impoz geometrilerini görselleştirmek için Discovery Studio Visualiser (BIOVIA 2019),

24. Formal yüklerin kontrolü ve zaman zaman görselleştirme için Avogadro moleküler editör programları,

25. Psi4numpy tarafından üretilen tarama dosyalarının paramfit'in kullanabileceği dosyalar haline getirilmesi için ayrı ayrı pdb dosyalarının üretilmesinde PyMol moleküler düzenleme programından,

26. Sander ile minimizasyonu yapılan molekül geometrilerinin deneysel sonuçlarla karşılaştırılabilmeleri için gerekli üç boyutlu molekül koordinatları The Cambridge Crystallographic Data Centre (CCDC 2003) sunucusundan,

27. Moleküler dinamik simülasyonun film halinde izlenerek sorun olup olmadığının belirlenmesi ve hareketli molekülün RMSD değerlerinin ön denemeler sırasındaki kontrolleri için Chimera programından yararlanılmıştır.

3.3. Dosya Türleri:

Hesaplamalı kimyada kullanılan dosya türleri kullanılan programlara göre değişiklik gösterir. Burada en çok kullanılan dosya türleri üzerinde durulacaktır. Hesaplamalı kimyadaki hesaplamaların sağlıklı yapılabilmesi için molekülü oluşturan atomların uzaydaki konumları ile birbirleriyle yaptıkları bağlar, atom (ya da bazen kütle) numaraları, varsa bağlı oldukları ana zincir ve yüklerinin yazılı olduğu bir dosyaya ihtiyaç vardır. Genellikle küçük moleküller için sybyl mol ya da mol2 adı verilen dosyalar kullanılır. Proteinler gibi makro moleküller için pdb (protein database) dosyaları kullanılır. Ortalama bir hesaplamalı kimya kullanıcısı için bu dosyaların içinde ne yazdığını bilmek gerekli değildir ancak iş Amber ile simülasyon ve özellikle de parametrizasyon yapmaya gelince bu dosyalarda düzenlemeler yapmak elzem hale gelir çünkü Amber, Charmm ve diğer moleküler dinamik programlarda atom tipleri, periyodik cetvelde gösterilen simgelerden farklı olmak zorundadır. Bunun nedeni bu programların çalışırken bir atomun komşu atomlarıyla olan ilişkisini de göz

önünde bulundurması gerekliliğidir. Örnek olarak oksijen atomu tek başına iken Amber içinde "o" (küçük harfle) ile gösterilirken, hidroksit grubu içinde yer alan oksijen atomu "oh", eter ve ester grubu içinde yer alan oksijen atomu is "os" şeklinde ifade edilir. Aşağıda buna örnek olarak Amber içinde kullanılan Gaff kuvvet alanına ilişkin atom türleri çizelgesi (Çizelge 3.1 ve devamı olan Çizelge 3.2 ile Çizelge 3.3) görülmektedir. Bu tez çalışmasında da ileride anlatacağı üzere yeni bir atom türü eklenmiştir. Bu nedenle çizelgenin dikkatle incelenmesi bu tezdeki materyal ve metod bölümünde neden yeni bir atom türü eklendiğine dair fikir verecektir.

Çizelge 3.1. C ve H için Gaff Atom Tipleri (Wang ve ark. 2004)

c	sp^2 karbon atomu (karbonil grubunda)
c1	sp karbon atomu
c2	sp^2 karbon atomu
c3	sp^3 karbon atomu
ca	tam aromatik sistemler için sp^2 karbon atomu
cp	Bifenil sistemi içindeki ikili halkaya bağlı baş sp^2 karbon atomu
cq	cp atom türüyle eşlenik
cc	Tamamen saf olmayan aromatik sistemlerdeki sp^2 karbon atomu
cd	cc atom türüyle özdeş
ce	Konjuge sistemlerdeki dahili sp^2 karbon atomu
cf	ce ile özdeş
cg	Konjuge sistemlerdeki dahili sp karbon atomu
ch	cg ile özdeş
cx	Üçgen sistemlerdeki sp^3 karbon atomu
cy	Kare sistemlerdeki sp^3 karbon atomu
cu	Üçgen sistemlerdeki sp^2 karbon atomu
cv	Kare sistemlerdeki sp^2 karbon atomu
cz	Guanidin grubundaki sp^2 karbon atomu
h1	Alifatik karbona 1 elektron-çekici grupla bağlı Hidrojen atomu
h2	Alifatik karbona 2 elektron-çekici grupla bağlı Hidrojen atomu
h3	Alifatik karbona 3 elektron-çekici grupla bağlı Hidrojen atomu
h4	sp^3 hibritleşmemiş karbona 1 elekron-çekici grupla bağlı Hidrojen atomu
h5	sp^3 hibritleşmemiş karbona 2 elekron-çekici grupla bağlı Hidrojen atomu
ha	Aromatik karbona bağlı Hidrojen atomu
hc	Alifatik karbona electron çekici grup olmaksızın bağlı Hidrojen atomu
hn	Azot atomuna bağlı Hidrojen atomu
ho	Hidroksit grup

Çizelge 3.2. H, F, Cl, Br, I, N,O,P İçin Gaff Atom Tipleri (Wang ve ark. 2004)

hp	Fosfat grubuna bağlı Hidrojen atomu
hs	Sülfür'e bağlı Hidrojen atomu
hw	Su içindeki Hidrojen atomu
hx	Bir sonraki pozitif yüklü grup içeren karbona bağlı Hidrojen atomu
f	Flor atomu
cl	Klor atomu
br	Brom atomu
i	İyot atomu
n	Amit grubu içindeki sp^2 Azot atomu
n1	sp azot atomu
n2	alifatik sp^2 Azot atomu (iki atoma bağlı)
n3	sp^3 Azot atomu (üç atoma bağlı)
n4	sp^3 Azot atomu (dört atoma bağlı)
na	sp^2 Azot, 3 atom ile bağlı
nb	Saf aromatik sistem içindeki sp^2 Azot atomu
nc	Aromatik olmayan sistemlerdeki sp^2 Azot atomu
nd	nc atom türü ile özdeş
ne	Konjuge sistemlerdeki dahili sp^2 Azot atomu
nf	ne atom türüyle özdeş
nh	Bir ya da daha fazla aromatic gruba bağlı Amin Azotu
no	Nitro Azotu
o	Tek atoma bağlı oksijen
oh	Hidroksil grubundaki Oksijen atomu
os	Eter ve ester oksijeni
ow	Su oksijeni
p2	2 atoma bağlı Fosfor
p3	3 atoma bağlı Fosfor (PH_3 gibi moleküllerde)
p4	3 atoma bağlı Fosfor ($O=P(CH_3)_2$ gibi moleküllerde)
p5	4 atoma bağlı Fosfor ($O=P(OH)_3$) gibi moleküllerde)
pb	Saf aromatik sistemlerde sp^2 Fosfor atomu
pc	Saf aromatic olmayan sistemlerde sp^2 Fosfor atomu
pd	pc atom türüyle özdeş
pe	Konjuge sistemdeki dahili sp^2 hibritleşmiş P atomu
pf	Atom tipi pe ile özdeş
px	Konjuge sistemlerdeki özel p4 atom tipi

Çizelge 3.3. P ve S İçin Gaff Atom Tipleri (Wang ve ark. 2004)

py	Konjuge sistemlerdeki özel p5 atom tipi
s	Tek atoma bağlı Kükürt atomu
s2	En az bir tanesi çift bağ olmak üzere iki atoma bağlı Kükürt atomu
s4	Üç atoma bağlı Kükürt atomu
s6	Dört atoma bağlı Kükürt atomu
sh	Hidrojene bağlı Sp3 Kükürt atomu
ss	Tiyo-ester ve tiyo-eterdeki Sp3 Kükürt atomu S
sx	Konjuge sistemlerdeki özel s4 atom tipi
sy	Konjuge sistemlerdeki özel s6 atom tipi

Bu atom tiplerinin mol2 dosyasında yanlış ifade edilmesi halinde simülasyon başlatılamayacaktır. Örneğin yukarıdaki mol2 dosyasında C.3 ve H atom türlerinin Gaff tablosunda yer almadığı görülüyor. Böyle bir durumda simülasyona başlamadan önce bu atom türleri Gaff atom türlerine dönüştürülmelidir. Bu nedenle, Amber'de simülasyona başlamadan önce genellikle mol2 dosyasındaki atom türleri antechamber programı ile dönüştürülür. Elde edilen dosya türünün simülasyon ya da hesaplamayı yapacak programın ihtiyaç duyduğu programdan faklı olması halinde, ayrıca bu tür dosya dönüştürmelerini yapan programlar da kullanılabilir.

Aşağıda görülen örnek bir mol2 dosyası üzerinde inceleme yapılacak olursa @<TRIPOS>ATOM etiketinin hemen altındaki sayılar şunları ifade etmektedir: ilk sütun atom sırası, ikinci sütun atomların periyodik cetveldeki simgeleri, üç-dört ve beşinci sütunlar atomların bulunduğu konumların sırasıyla x, y ve z koordinatlarını, 6'cı sütun atom tipleri (Amber için bu kısım önemlidir), son sütun her atom için yük miktarını ve sondan ikinci ve üçüncü sütunlar ise atomun varsa içinde bulunduğu zincir ile bu zincire verilen ismi tanımlamaktadır.

```
@<TRIPOS>MOLECULE
*****
 8 7 0 0 0
SMALL
GASTEIGER

@<TRIPOS>ATOM
      1 C          -3.4321    2.1615    0.0000 C.3     1  UNL1       -0.0681
      2 C          -2.2908    4.0446    0.0000 C.3     1  UNL1       -0.0681
      3 H          -4.2192    2.2215   -0.7223 H       1  UNL1        0.0227
      4 H          -3.8508    1.9982    0.9710 H       1  UNL1        0.0227
      5 H          -2.7809    1.3497   -0.2487 H       1  UNL1        0.0227
      6 H          -2.9420    4.8564    0.2487 H       1  UNL1        0.0227
      7 H          -1.8721    4.2079   -0.9710 H       1  UNL1        0.0227
      8 H          -1.5037    3.9846    0.7223 H       1  UNL1        0.0227
@<TRIPOS>BOND
     1     1     2    1
     2     1     3    1
     3     1     4    1
     4     1     5    1
     5     2     6    1
     6     2     7    1
     7     2     8    1
```

Şekil 3.1. sybyl mol2 dosya formatı

Dosya türleri sadece *.pdb ve *.mol2 den ibaret değildir, bunların dışında sadece koordinatları ve atom türlerini içeren xyz dosyaları, hesaplama sonuçlarını içeren log ya da out dosyaları, neyin nasıl hesaplanacağını (hesaplamada kullanılacak temel set ya da kuvvet alanları, hesaplamanın QM, MM ya da QM/MM şeklinde mi yapılacağı, yük hesabı ve bu hesap yapılırken dikkate alıncak yük türleri, dihedral tarama, spektrum hesaplamaları v.s..) içeren input dosyaları, kuvvet alanı dosyaları olarak bilinen *.frcmod (“force field modification”) dosyaları, moleküler dinamik simülasyona özel koordinat ve topoloji dosyaları, birden fazla ard arda yapılacak hesaplama türlerini komutlar halinde içeren *.sh shell komut dosyaları gibi pekçok dosya türü mevcuttur ancak moleküler dinamik simülasyon sözkonusu olduğunda simülasyonu başlatabilmek için yük içeren mol2 dosyaları ile frcmod dosyaları genellikle minimum ihtiyaç olarak yeterli olmakta daha sonra programın ihtiyaç duyduğu koordinat ve topoloji dosyaları bu dosyalar üzerinden üretilebilmektedir.

3.4. Moleküler Dinamik Tasarım ve Algoritmalar:

Bir moleküler dinamik simülasyon tasarlanırken, eldeki hesaplama gücü, simüle edilecek bileşiklerin tanecik sayıları, çözelti, pH, zaman aralığı, RESP yükleri gibi faktörler göz önünde bulundurulmalıdır. Simülasyon zamanı, eldeki hesaplama kaynaklarını zorlamayacak kadar kısa ama simüle edilen olay hakkında yeterli bilgi verecek kadar da uzun olmalıdır. Genellikle literatürdeki simülasyonlar nanosaniye – mikrosaniye arasında değişmektedir. İşlemler sırasında paralel algoritmalar kullanılması, eldeki kaynakların özellikle zaman açısından verimini arttırır, CPU yerine GPU kullanılması, bu verimi daha da katlar. Hidrojenlerin sabit tutulması da hesaplama yöntemini kısaltır bu yöntem SHAKE algoritması diye bilinir (Elber ve ark. 2011). Bazen bu algoritmaya oldukça benzeyen RATTLE algoritması da kullanılır ancak SHAKE daha yaygındır (Hutter ve Curioni 2005), (Hilder ve ark. 2010). Son zamanlarda Hidrojen Kütlesinin Yeniden Bölümlendirilmesi "Hydrogen Mass Repartitioning" (kısaca HMR) olarak bilinen algoritma uygulanarak simülasyon sonucu nerdeyse hiç değişmeden simülasyon zaman adımının 4 fs'ye (1 fs = 10^{-15}s) kadar genişlemesine olanak vermek suretiyle hesaplama süresi yarıya indirilmektedir (Case ve ark. 2016).

Moleküler dinamik simülasyonları, içinde birden fazla algoritma seçeneği bulunduran bir program şeklinde düşünebiliriz. Yani algoritmalardan hangilerinin kullanılacağı konusunda kullanıcıya esneklik tanınmıştır. SHAKE algoritmasına yukarıda kısaca değinilmişti, kullanıcının, bu algoritmanın simülasyon sırasında hidrojen bağlarının oynaklıklarına sınırlamalar getirerek ortaya çıkacak karmaşık hareket denklemlerini engellediğini ve simülasyonu hızlandırdığını bilmesi yeterlidir (Kräutler ve ark. 2001). Ancak SHAKE algoritması her zaman yarar sağlamayabilir, yüksek RMSD değerlerinin elde edildiği başarısız simülasyonlarda SHAKE algoritmasını kapatmak ve hesaba katılmayan hidrojen bağı serbestliklerini bu şekilde hesaba katmak RMSD değerini düşürerek simülasyonun yeniden normalleşmesini sağlayabilir. Buna rağmen, istisnai durumlar dışında SHAKE algoritması kullanmak simülasyon sonunda hidrojen bağlarının ayrıntılı şekilde hesaplaması (bağ uzunluğu ve enerji) ya da üretilen simülasyon dosyası üzerinden frekans hesaplaması yapılması söz konusu olmadığı sürece çoğu zaman soruna neden olmaz.

Simülasyon yöntemlerinde karşılaşılan bir başka yöntem de “Partical Ewald Mesh” (PME) yöntemidir. Simülasyon süresince CPU’ya binen iş yükünün çoğunu yakın ve uzak mesafelerdeki elektrostatik etkileşimler oluşturur. PME metodu, bu yükü azaltan bir yöntemdir. Bu yöntemde, elektrostatik etkileşimler, uzun ve kısa mesafeli olarak ikiye ayrılır ve kısa mesafeli etkileşimler olması gerektiği gibi zamanla değişen koordinatlara göre anlık olarak hesaplanır. Uzun mesafeli etkileşimler ise simülasyon süresince gerçek zamanlı olarak değişen mesafeye göre her defasında ayrı ayrı hesaplanmak yerine Fourier Dönüşümü kullanılarak frekansa çevrilir ve frekans şeklinde hesaplamaya dahil edilir. Böylece hesaplama sırasında harcanan kaynak büyük oranda ($n^2 \rightarrow n\log n$) düşürülmüş olur. NaCl kullanılarak yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada (Petersen 1995), bu yöntemin doğruluk ve hız açısından son derece güvenilir olduğu raporlanmıştır.

PME metodu uzak etkileşimlerde başarılı bir yaklaşım kullansa da bu yöntemin kullanılmasından bağımsız olarak simülasyonun kesme değeri (“cut off”), yani etkileşimleri hesaba katacağı maksimum uzaklık değeri ve simülasyonun yapılacağı kutu boyutu daima yeterince büyük seçilmelidir.

Simülasyonun harcadığı kaynakları etkileyen bir başka etmen ise zaman adımıdır. Zaman adımını büyütmek simülasyonu hızlandırabilir ancak molekülün simülasyon boyunca sürekli titreştiği unutulmamalıdır. Bu nedenle zaman adımı kesinlikle sistemdeki en küçük titreşim frekansından daha küçük olacak şekilde seçilmelidir. Bunun yapılmaması halinde zaten simülasyon genellikle hata verir, hata vermemesi halinde bile aşırı saçma sonuçlar ürettiği ya da molekülün simülasyon sırasında patladığı (bağların koptuğu ve hidrojen atomlarının çok uzaklara gittiği) ve aşırı derecede yüksek RMSD değerlerinin elde edildiği (bizzat yapılan denemede 400 Å’a kadar çıktığı tespit edildi) görülecektir.

Bir çözücü ortamı simüle ediliyorsa, seçilecek çözücünün açık (explicit) ya da kapalı (implicit) mı olacağına da karar verilmelidir. İki yöntemin de birbirine göre üstünlükleri ve eksiklikleri vardır. Bu nedenle seçim simülasyonun amacına göre değişir. Açık solvent kullanmak simülasyona yaklaşık 10 kat daha fazla parçacık ekler ve simülasyonda çözücü moleküllerinin her biri ayrı ayrı kuvvet alanı tarafından hesaba katılır. Bu yaklaşım elbette çok büyük zaman kaybına yol açacaktır ancak çözücüyle ilgili viskozite, kimyasal kinetik,

çözünen moleküle has termodinamik özellikler yeniden üretilecekse bu yöntemin kullanılması şarttır. Kapalı çözücü yönteminde ise çözücüye has ortalama bir alan yöntemi kullanılır, diğer yönteme göre oldukça hızlıdır ancak viskozite, kimyasal kinetik gibi değerler üretmez.

Simülasyon yapılırken, partikül sayısı, basınç, sıcaklık, hacim gibi değerlerin sabit tutulup tutulmamasına göre de yaklaşımlar geliştirilmiştir. Kanonik topluluk olarak da bilinen NVT seçildiğinde, adından da anlaşılacağı gibi partikül sayısı (N), hacim (V) ve sıcaklık (T) korunur. Bu yaklaşımda, Berendsen termostatı Andersen termostatı ve Langvein Dinamikleri gibi algoritmalar bulunur. Berendsen termostatı kullanıldığında (Berendsen ve ark. 1984), simülasyondaki atom ya da moleküllerin hızları belirli bir hız limitini aştığında hızları belirli bir faktörle çarpılarak yeniden ölçeklendirilir ve sıcaklık artışı durdurulur. Andersen termostatında ise, hızların belirlenmesi için sisteme Maxwell–Boltzmann istatisiği uygulanır. Langvein Dinamikleri (Shang ve Kröger 2020) uygulandığında, stokastik diferansiyel denklemler kullanılır ve atlanan serbestlik derecelerini hesaba katmış olur: Gerçek dünyada moleküler sistemin dışsal etkilerden hiç etkilenmemesi mümkün değildir, ortamda bulunan diğer moleküller sürtünmeye neden olur ve bazen yüksek hızlı çarpışmalar gerçekleşir. Langevin dinamikleri hem bu etkilere izin vererek simülasyonu gerçek hayata yaklaştırır hem de sıcaklık kontrolü sağlar. Ancak bu yaklaşım çözücü viskozitesini taklit ettiği için yukarıda anlatılan kapalı çözücü sistemlerinde kullanılamaz. Ayrıca hidrofobik etkiyi modelleyemez ve aşırı yoğun çözeltileri hesaplayamaz.

Mikrokanonik topluluk ise NVE olarak da bilinir ve yine adından da anlaşılacağı gibi partikül sayısı (N), hacim (V) ve Toplam Enerji (E) değişikliklerden izole edilir. Toplam enerji korunsa bile potansiyel enerji ve kinetik enerjinin değişimine izin verir. Potansiyel enerji, doğrudan parçacıkların konumu ile ilişkilidir. Her zaman adımında, parçacıkların hız ve konumları Verlet integrasyonuna göre hesaplanır. Konum (X) ve Hız (V)'ın zamanla değişimine ise "trajectory" (yörünge) adı verilir. NPT ya da izotermal-izobarik topluluk seçildiğinde partikül sayısı (N) basınç (P) ve sıcaklık (T) muhafaza edilir ve termostata ilaveten barostat da kullanılır. Böylece toplam enerji ile hacim dalgalanmalarına izin verilir (Case ve ark. 2016).

Aynı başlangıç koordinatlarını kullanarak farklı sıcaklıklarda paralel simülasyon yapılarak simülasyon süresinin azaltıldığı "Kopya Değişimi Moleküler Dinamik" olarak Türkçeye çevirebileceğimiz REMD (Replica Exchange Molecular Dynamics), (Qi ve ark. 2018) Ağırlıklı Histogram Analiz Yöntemi olarak türkçeye çevirebileceğimiz Weighted Histogram Analysis Methodu (WHAM) moleküler dinamiğe uygulayan ve sistemin yerel minimuma takılı kalmasını engellemeye yönelik kullanılan "Umbrella Sampling" (Şemsiye Örnekleme) şeklinde bilinen yöntemler de mevcuttur. Bunların dışında da pek çok algoritma, yaklaşım, denklem ve metod bulunmaktadır ve bu yöntemlerin Amber içinde nasıl kullanılacağına dair en iyi kaynak Amber kullanıcı kılavuzudur. Moleküler dinamik simülasyon tasarlanırken bunlardan hangilerinin ne zaman kullanılacağı dikkatli bir şekilde düşünülmelidir.

3.5. Genel Parametrizasyon İşlemi:

Bir sistemin potansiyellerini hesaplamak için gerekli matematiksel polinomlar ve/veya parametre setlerinin tamamına kuvvet alanı adı verilir. Aslında kuvvet alanı oluşturma işlemi bir çeşit basitleştirmedir ve oldukça karmaşık, çözümü uzun süren denklemleri her defasında tek tek çözmek yerine bir kere çözdükten sonra bu denklemlerin sonuçlarını (yani parametreleri) kullanarak çok daha basit bir denklem üretmekten ibarettir. Bu parametreler; deneysel sonuçlardan, kuantum mekanik hesaplamalardan ya da her ikisinden elde edilebilir. Böylece her defasında örneğin optimizasyon, frekans/yük/potansiyel enerji yüzeyi hesabı yapmak yerine bu hesaplamalardan elde edilen sonuçlar kullanılır: Optimizasyon hesabından optimum bağ uzunlukları ve açılar, frekans hesabından bu bağ ve açıların kuvvet sabitleri, potansiyel enerji taramasından dihedral parametreler ve yük hesabından elektrostatik etkileşimler ile deneysel verilerden atom çapı ve enerjisi elde edilir. Bu işleme "parametrizasyon" işlemi adı verilir ve parametreler kuvvet alanı denkleminde yerine konulmak üzere kullanılan moleküler dinamik simülasyon programına uygun bir şekilde bir dosyaya kaydedilir, bu dosyaya da "kuvvet alanı dosyası" adı verilir. Bundan sonra, moleküle ait atomların yüklerini ve üç boyutlu koordinatlarını içeren bir dosya ile kuvvet alanı dosyası birlikte kullanılarak simülasyon başlatılabilir.

Kuvvet alanları sadece moleküler dinamik simülasyon yazılımlarında kullanılmaz yerleştirme (docking) yazılımları da kuvvet alanı dosyaları kullanırlar. Ancak bu yazılımların kullandığı kuvvet alanları genellikle sadece molekülün yarı çapı ve enerjisinden ibarettir. Örneğin AutoDock4.0 programı da tıpkı moleküler dinamik simülasyon gibi varsayılan (default) olarak kendi kütüphanesinde bulunmayan molekülleri hesaplayamaz. Buna ilişkin katsayılar kuvvet alanı dosyasına eklendiği zaman molekülü tanıyabilir hale gelir. Bu konuda yaptığımız bir çalışma sci dergide yayınlanmış olup, ayrıntılı bilgiye buradan ulaşılabilir (Kurt ve ark. 2020).

3.6. Parametrizasyon Sırasında Kullanılan Yaklaşımlar:

Organik ligandlar için kullanılan yaklaşımlar Gaff (General Amber Force Field), türkçesiyle Genel Amber Kuvvet Alanı makalesindeki yaklaşımlardan çok da farklılık göstermemektedir. Kuvvet alanı yaklaşımlarındaki asıl farklılık metal kompleksleri ve metal iyonlarında ortaya çıkmaktadır. Metal katyonlarına ligand koordinasyonunu tanımlamak için yaygın olarak çeşitli yaklaşımlar kullanılır bunlar: bağlı model (bonded model), bağlı olmayan model (non-bonded model), katyonik kukla atom modeli (Catioanic Dummy Atom Model) ve Ligand Alanı Moleküler Mekaniği (Ligand Field Molecular Mechanics, LFMM) olarak sıralanabilir (Pavlova ve ark. 2018).

Her yaklaşımın kendi içinde olumlu ve olumsuz yanları mevcut olup yapılacak çalışmaya göre hangisinin seçileceği belirlenmelidir. Bağlı modelde, metal atomu ile koordine edilmiş ligandlar arasındaki etkileşimleri tanımlamak için açık bağ ve açı terimleri kullanılır. Aslında bu yöntem zaten gaff, parm99 gibi metal içermeyen ligandlar için geliştirilen kuvvet alanı modellerinde kullanılan modeldir. Bağsız modelde, metal atomu ve koordine edilmiş ligand etkileşimleri sadece Lennard-Jones (LJ) potansiyeli ve elektrostatik terimler kullanılarak açıklanmaktadır (Pavlova ve ark. 2018). Katyonik kukla model, değerlik elektronlarını taklit etmek için metal merkezin çevresinde kesirli yükler kullanır. Bağsız modelde hesaplanması gereken bağlı parametreler azalmasına ve ligandların metal merkezinden birleşmesine ve ayrılmasına izin verilmesine rağmen bu tür simülasyonlar sırasında genellikle metaller koordinasyon kabuğunu kaybeder. Katyonik kukla modeli, bağlanmamış modele kıyasla metal-ligand koordinasyonunun kararlılığını geliştirir.

Bağlanmamış ve katyonik kukla modeller, LJ parametrelerinin ve kısmi yüklerin, ligand ayrılması sırasında önemli ölçüde değişmediğini ve bunları değişen metal oksidasyon durumları için daha az uygun hale getirdiğini varsayar. Bağlı modeller kararlı metal ligand kompleksleri ile sonuçlanır, ancak bu modellerle ligand ayrışması incelenemez.

Genellikle Amber'e dayalı kuvvet alanları metaller için dahi bağlı modele sadık kaldığından bu çalışmada da bu geleneğe uyulmuştur. Elbette bağlı modelin seçilmesinin tek nedeni bu değildir. Amber kuvvet alanlarının bağlı modele sadık kalmasının belki de en önemli sebebi bu yöntemle elde edilen simülasyonların daha stabil ve uzun süre devam ettirilebilir olmasıdır. Gerçekten de literatür incelendiğinde bağlı olmayan model ve bağlı model karşılaştırılmalarında bağlı modelin istatisiksel olarak bağlı olmayan modele göre oldukça büyük bir üstünlük sağladığı görülebilir. Bağsız modelde RMSD değeri 20'nin üzerine çıkarken bağlı modelde bu miktar çok aşağıdadır (Haghshenas ve ark. 2020). Bu da simülasyonun bağlı modelde çok daha kararlı devam ettiğini gösterir. RMSD değeri, atomların birbirinden başlangıçtaki durumlarına göre ne kadar uzaklaştığını ortalama olarak gösterir, bağsız modelde bu değerin aşırı artması, metal iyonunun beklenen bağları yapmadan ortamdan uzaklaştığını gösterir ve simülasyonun güvenilirliğini olumsuz yönde etkiler.

Literatürde, moleküler dinamik simülasyonların yerleştirme işlemi birlikte yapıldığı görülür. Docking programları, iki bileşik arasındaki geometrik büyüklük, uyum ve elektrostatik etkileşimler ile vdw çapları ve enerjilerini (bunlar moleküler yüzeyin hesaplanmasını sağlar) kullanarak iki bileşik arasındaki anahtar-kilit uyumunu bulur ve bir bileşiğin diğeriyle nereden bağlanıp ne derece kararlı bir kompleks oluşturacağına dair tahminlerde bulunur. Bu tahmini yaparken skorlama fonksiyonlarını kullanır ve genetik algoritmalardan ya da sistematik arama algoritmalarından yararlanır. Genellikle en iyi skoru alan kompleks ile moleküler dinamik başlatılır ve simülasyonun devamında da kompleks kararlığının ne kadar dayandığı test edilir. Yerleştirme işlemi olmadan da moleküler dinamik simülasyon yapılabilir, bu durumda bir bileşiğin diğerine nereden bağlanacağını moleküler dinamik program kendisi bulur ancak bu işlem oldukça fazla zaman alabilir. Bu nedenle hesaplama kaynaklarının sınırlı olduğu durumlarda moleküler dinamik simülasyon yerleştirme işleminden sonra bu işlemin sonucu kullanılarak yapılır.

3.6.1. Yerleştirme (Docking) Programları

Piyasada hem yerleştirme hem de moleküler dinamik simülasyonları gerçekleştirmek için çok sayıda program bulunur. Bu programlardan bir kısmı tamamen ücretli, bir kısmı tamamen bedava, bir kısmı da belli özellikler paralı olmak kaydıyla ücretsizdir. Piyasada en çok kullanılan yerleştirme programları AutoDock Vina, AutoDock, FlexX, GOLD, Surflex, Glide, Docker, LigandFit, MCDock şeklinde sayılabilir. Piyasada bu şekilde 60'tan fazla yerleştirme programı bulunmaktadır. Programlar, ligand yerleştirme için şekil uyumluluğu, stokastik (olasılıksal) Monte Carlo, parça tabanlı yaklaşım, evrim modeli gibi değişik stratejiler üzerine kuruludurlar. **GOLD** yazılımı, genetik algoritma kullanır ve içinde dört ayrı puanlama fonksiyonu barındırır. Bunlar, kuvvet alanı tabanlı GoldScore, parçalı doğrusal potansiyel (PLP), deneysel tabanlı ChemScore ve bilgi tabanlı Astex istatisiksel potansiyeli (ASP) şeklinde isimlendirilmişlerdir. **AutoDock** ise genetik algoritma (GA) kullanarak proteinin aktif bölgesi içinde liganda değişik pozisyonlar vererek bunları skorlar. Ligandın konformasyon değişikliklerini bulmak için ise genetik algoritmanın Lamarckian versiyonunu kullanır. **Ligandfit**, oyuk bulma algoritması ile proteindeki oyukları yani aktif merkezleri bulur ve ligandı bu oyuklara koymak için Monte Carlo konformasyonel eşleşmesini kullanır. Eşleşmeleri DockScore enerji fonksiyonu ile puanlar ve en iyi bağlanma konformasyonunu bulmaya çalışır. **Glide**, yerleştirme sürecinde dört adım uygular. Bu adımlarda, sırasıyla proteinin aktif merkezleri bulunur ve ligandın olası konumları araştırılır. Ardından ligandın proteine sterik tamamlayıcılığı ChemScore puanlama fonksiyonunun değiştirilmiş bir versiyonu olan GlideScore tarafından puanlanır. Daha sonra, ilk tarama tarafından seçilen ligand bağlanma pozları Opls-AA kuvvet alanı kullanılarak en aza indirilir ve elde edilen ligand bağlanma pozları GlideScore'un verdiği puanlar dikkate alınarak sıralanır. **EHiTS** programı, fragment-based yani parça tabanlı algoritmaların aksine ligandın yeni parçalar eklenerek genişletildiği artımlı modeli kullanmaz. Bunun yerine tek tek yerleştirilmiş parçalara göre genel bir optimum bulmaya çalışır. Bunu yapmak için de başlangıçta 0.5A eşit aralıklarla proteinin aktif merkezleri üzerinde bir ızgara oluşturur ve ligand esnek bağlayıcılara bağlanan bir dizi rijid parçaya bölünür, parçaların her biri aktif sahadaki olası yerlere kenetlenir. Her kenetlenmiş parça için puanlama yapılır ardından hipergrafik algılama ("hyper-graph detection") algoritması, uyumlu katı parçaları eşleştirir

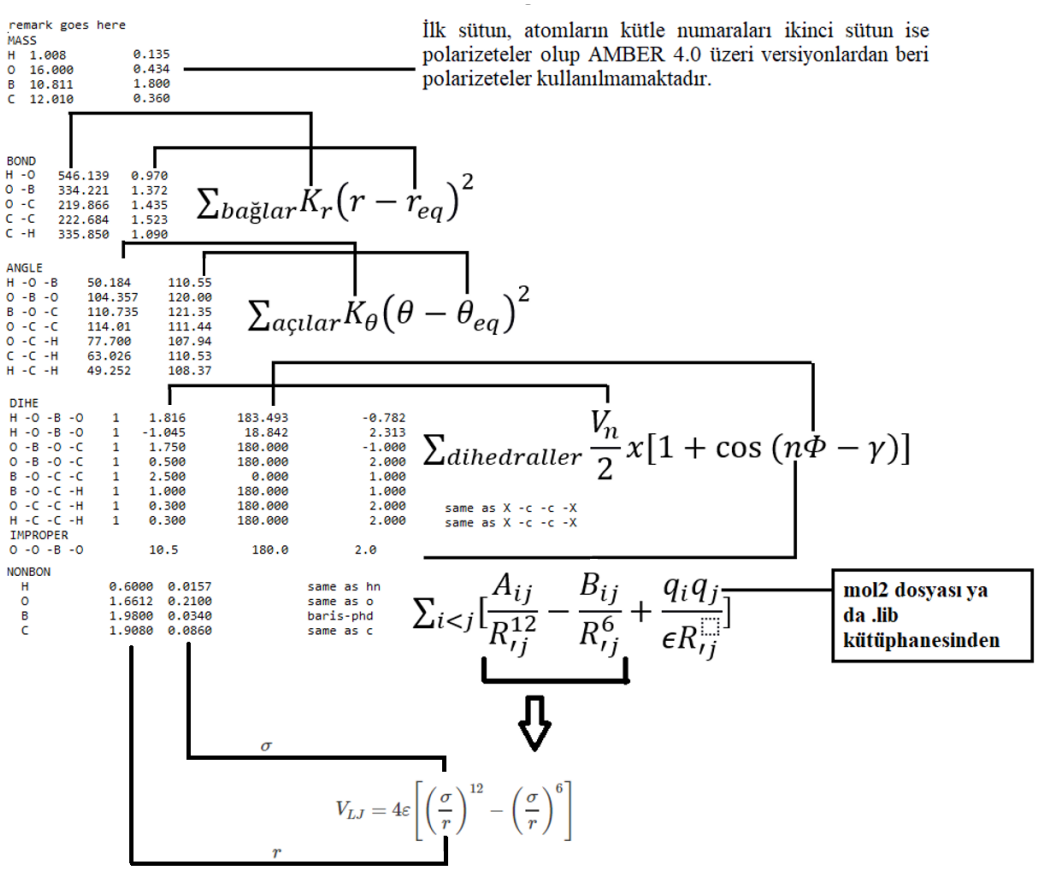
ve en uygun parça kombinasyonlarını bulur ve ligand parçalarını esnek parçalarla birleştirerek ligand yapısını yeniden oluşturur. Son aşamada, enerji minimizasyonu gerçekleştirilir. Görüldüğü gibi piyasadaki her yazılımın kendine özgü bir yerleştirme metodu vardır. (Plewczynski ve ark. 2011)

3.6.2. Moleküler Dinamik Programları ve Kuvvet Alanları

Literatürde genellikle bir simülasyonu çalıştıran genel kuvvet alanı denklemi ile o kuvvet alanı denklemine uygun bağsız, bağ, açı, dihedral parametreleri içeren dosyaların ikisine de kuvvet alanı denilmektedir. Normalde soruna yol açmayan bu durum, ikisi arasındaki farklar anlatıldığında soruna yol açabilmektedir. Bu nedenle bu tezde, anlam ayrımı sağlamak için ilkine genel kuvvet alanı denklemi, ikincisine parametre dosyası ya da kuvvet alanı dosyası şeklinde kullanılacaktır. Kuvvet alanı genel denklemi, içinde bağsız, bağ, açı, dihedral ve elektrostatik etkileşimleri içeren bir toplam fonksiyonudur. Amber şu şekilde ifade edilir (Wang ve ark. 2004):

$$E_{top.(kuv.alanı)} = \sum_{bağlar} K_r\left(r - r_{eq}\right)^2 + \sum_{açılar} K_\theta\left(\theta - \theta_{eq}\right)^2 + \sum_{dihedraller} \frac{V_n}{2} x[1 + cos\,(n\Phi - \gamma)] + \sum_{i<j}[\frac{A_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{R_{ij}^{6}} + \frac{q_i q_j}{\epsilon R_{ij}}] \qquad (6)$$

Burada q, A, ve B bağsız parametreler, K_r ve K_θ bağ ve açı kuvvet sabitleri, n ve γ are the çokluk (multiplicity) adı verilen bir katsayı ile faz açısını, θ_{eq} r_{eq} ise denge açısı ve uzunluğunu ifade eder. İşte bu denklem Amber'in genel kuvvet alanı denklemidir. Genel kuvvet alanı denkleminin kullanacağı parametreleri sağlayan dosya ise kabaca aşağıdaki gibidir:



Şekil 3.2 Kuvvet Alanı Dosyası ve Kuvvet Alanı Denklemi Arasındaki İlişki

Şekil 3.2'de, kuvvet alanı denklemi ile kuvvet alanı dosyası arasındaki ilişki net bir şekilde görülmektedir. Lennard Jones için A ve B katsayıları kuyu potansiyeli ile atom yarıçapından otomatik olarak hesaplanmaktadır.

Orijinal adıyla nonbond olarak bilinen bağsız parametreler, atomun çapı ve potansiyel kuyu enerjisini, bağ parametreleri iki atom arasındaki gerilme kuuvet sabitini, açı parametreleri üç atom arasındaki açısal kuvvet sabitini, dihedral parametreler ise 4 atom arasındaki kuvvet sabitini gösterir.

Piyasadaki programların en ünlüleri, Amber, GROMACS, Charmm, Opls, NAMD, Tinker şeklinde sayılabilir. Programlar arasındaki farklar çok büyük olmayıp genellikle yukarıda moleküler dinamik simülasyonun tasarımı bölümünde anlatılan algoritma ve yaklaşımlara sahiptirler. Birbirlerinden kuvvet alanın genel denklemi konusunda küçük

farklılık gösterirler. Yine de örneğin Amber için üretilen ff99SB kuvvet alanı dosyası Charmm içinde kullanılabilir ya da Amber'e özel üretilmiş Gaff kuvvet alanı dosyası, bağsız (non-bond) parametrelerini Opls'den ödünç alabilir. Yani birbirlerinden farklı kuvvet alanı denklemlerine sahip olsalar bile biri için kullanılan kuvvet alanı dosyası diğeri için uygun hale çevrilebilir. Bu işleme genellikle literatürde "parametre(s) transferablity" yani parametre taşınabilirliği denilir. Piyasada ayrıca bu iş için yani bir yazılıma özel yazılmış kuvvet alanı dosyalarını diğerine çeviren programlar vardır. Bu konuda Amber adeta bir amiral gemi olduğundan genellikle Amber için üretilmiş kuvvet alanlarını özellikle Charmm ve GROMACS ile uyumlu hale getirmek oldukça kolaydır. Bu işlemin tersi için de programlar mevcuttur.

Proteinler, yağlar, karbonhidratlar, nükleik asitler ve küçük ligandlar için ayrı ayrı yazılmış kuvvet alanı dosyaları mevcuttur. Her kuvvet alanı dosyasının kendi alanında kullanılması simülasyonun daha isabetli sonuçlar vermesini sağlayacaktır. Değişik programlar için bu kuvvet alanları arasında bazı farklar bulunabilir.

3.7. Polarize Edilebilir Kuvvet Alanı

Yukarıda anlatılan kuvvet alanları standart kuvvet alanlarıdır; elektrostatik etkileşimleri sabit kabul ederler ve atom merkezli yükler şeklinde tanımlarlar bunlardan farklı olarak polarize edilebilir kuvvet alanları (polarizable force fields) da geliştirilmiştir. Çünkü simüle edilmek istenen fiziksel sistemler, gerçek hayatta, su ya da alkol gibi yüksek dielektrikli çözücü ortamı içine konulduklarında veya çok fazla yüklenmiş bir sistem gaz fazında bulunan nötr bir cisme yaklaştığında büyük ölçüde yüklerin yeri değişerek nötr sistemi polarize eder ve bu nedenle polarizasyon, molekülün geometrisini ve enerjisini oldukça kesin bir şekilde etkiler, değiştirir. 1980'li yıllarda ortaya çıkan polarize kuvvet alanları, dielektrik ortam içindeki yük dağılım değişikliklerini hesaba katmaya çalışır. 1990'lı yılların sonlarından bugüne değin, sıvı sudan metaloenzimlere kadar değişen sistemlerde bu tür kuvvet alanlarının formülasyonlarında hızlı bir gelişme yaşanmıştır (Halgren ve Damm 2001).

3.8. Amber Kuvvet Alanı Dosyaları

3.8.1. FF14SB Kuvvet Alanı Dosyası

Stony Brook Üniversitesi Simmerling grubu tarafından geliştirilen ff99SB kuvvet alanının sürekli güncellenmiş ve genişletilmiş halidir. Bazı gruplar ff94 ve ff99 parametre setlerinin peptit ve protein omurgalarının sarmal ve genişletilmiş bölgeleri arasında iyi bir enerji dengesi sağlayamadığını farketti. Diğer bir sorun da ff94 çeşitlerinin çoğunun glisin omurgaları için yanlış sonuçlar üretmesiydi. Ff99SB, ff99'da omurga burulma davranışlarını dihedral parametrelerini glisin ve alanin tetrapeptilerinin çoklu konformasyonlarına göre yeniden üreterek düzeltmeyi başardı. Ek olarak glisin örneklenmesiyle ilgili hatayı düzeltti. 2006 yılına gelindiğinde, ff99SB kuvvet alanının da bazı sınırlamalara yol açtığı belirlendi. Örneğin bu kuvvet alanı izolösin, lösin, aspartat ve asparagin gibi rezidülerin deneylerden farklı konformasyonlar üretiyordu ve parametreler yeniden optimize edildi. Bu optimizasyon sırasında yan zincirlere ait dihedral parametreleri deneysel skaler birleştirme verileri kullanılarak yenilendi ve amino asit yan zincirlerinin iki yüzlü düzeltmeleri ab initio kuantum mekanik enerji yüzeylerine göre yeniden kalibre edildi. Optimizasyon öncesi parametreler ise gaz fazında kuantum mekanik hesaplamalarla elde edilmişti. Optimizasyon sonrasında sarmal peptitlerin kararlılıklarının arttığı gözlemlendi, glisin ile ilgili hatalar düzeltildi ve deneysel değerlere daha yakın beta-dönüş yapıları elde edildi. Parametre güncellemeleri lizin, arginin, glutamat, glutamin, metiyonin, serin, treonin, valin, triptofan, sistein, fenilalanin, tirozin için devam ettirildi ve sonuçta ortaya ff14SB kuvvet alanı çıktı. Bu kuvvet alanı AmberTools içindeki tleap programı tarafından çağrıldığında şu dosyaları da otomatik olarak yükler ve onlarla birlikte çalışır: parm10.dat → ff10 kuvvet alanı parametreleri, frcmod.ff14SB → parm10.dat üzerinde yapılan ff14SB modifikasyonları (bazı değerler parm10.dat dosyasının üzerine yazılır ve parm10.dat içindeki bazı parametreler iptal edilir), amino12.lib, amino12ct.lib ve amino12nt.lib → amino asitler için yük ve topoloji dosyaları bunlardan ct dosyası C terminal, nt dosyası N terminal için parametreleri içerir. leaprc.protein.ff14SBonly → ff14SB kuvvet alanıdır ve frcmod.ff99SB14 dosyasını yanında getirir bu dosya da ff14Sb atom tiplerinde ff99SB omurga parametrelerini içerir (Case ve ark. 2016).

3.8.2. FF15IPQ Kuvvet Alanı Dosyası:

Bu modelin arkasındaki fiziksel varsayımlar, ff99SB ile aynıdır ve gaz fazı dihedral parametrelerini çözelti fazı IPolQ yükleriyle uyumlu hale getirmenin bir yolu sunulmuştur. Bu kuvvet alanındaki sorun, polar grupların simülasyon sırasında birbirine yapışmasıdır. Bu problemin kaynağı, bu kuvvet alanındaki çiftlere özel Lennard-Jones parametreleriydi ve protein-su protein-protein etkileşimlerinde dengesizliğe yol açıyordu. Bu hata, polar hidrojen yarı çaplarının diğer Amber versiyonlarında olduğu gibi Lorentz-Berthlot kombinasyon kuralına göre değiştirildi. Bunun sonucunda bütün yük seti hafifçe değişirken dihedral parametreler de buna göre yeniden türetildi ve dahili potansiyel enerji yüzey düzeltmeleri için protein omurgasına dahil olan bütün açı parametreleri yeniden uyumlandırıldı. Yeni versiyon 1200 yeni parametre içeriyordu bu nedenle eski versiyon arşive kaldırıldı ancak tleap programı içinden oldff/leaprc.ff14ipq şeklinde yüklenerek hâlâ kullanılabilir.

Genişletilmiş IPolQ yükü türetme, modelin sudaki polarizasyon molekülleri deneyimiyle kabaca tutarlı yüklere sahip olması gereken bir iş akışını ve aynı zamanda vakumda sistemin kuantum mekanik ile elde edilen burulma parametrelerini kabaca öngörür. Genişletilmiş metodolojide, iki çeşit yük uyumlandırılması yapılır, birisi vakum içindeki bir sistem için diğeri yoğun faz içinde bulunan sistemler için. Orijinal metotta ise, polarize ve apolarize olmuş moleküllerin ortalama elektrostatik potansiyellerinin uyumlandırılmasıyla uygun yoğun faz yüklerini elde ederdi. Bu kuvvet alanına dair parametrizasyon işlemi MP2/cc-pVTZ seviyesinde yapılan tek nokta enerji hesaplamalarına dayanır ve çözelti-fazında yükleri de bu seviyede hesaplar. Yeni bir yaklaşım olsa da bu yöntemle üretilen yükler HF/6-31G* seviyesinde hesaplanan RESP yüklerine oldukça benzerler.

3.8.3. Diğer Amber Protein Kuvvet Alan Dosyaları

Yukarıda sayılanlardan başka çok sayıda protein kuvvet alanı mevcuttur. Bunlardan birisi fb15 protein kuvvet alanı olup bu parametreler, protein-su simülasyonlarını “kuvvet-dengesi” denilen bir yaklaşıma göre hesaplar. Alkaliler ve halojen iyonları için bu yöntem kullanılırken TIP3P ya da TIP4PEW su molekülleri içinde simülasyonun yapılması tavsiye edilir. Ff03 kuvvet alanı, ff99’un modifiye edilmiş halidir. “Continuum dielectric” denilen

ve solvent polarizasyonunu taklit eden bir yöntem kullanır. Ayrıca sarmal konformasyonları daha iyi hesaplaması için omurga torsion açıları modifiye edilmiştir. Değişiklikler sadece proteinler için yapılmış olup nükleik asitler için ff99'da bulunan parametreler aynen kullanılmıştır. Kuvvet alanının eski versiyonu oldff/leaprc.ff03 olarak arşivlenmiş olup yeni versiyonu leaprc.protein.ff03.r1. şeklinde aktive edilip kullanılabilir.

3.8.4. BSC OL15 Kuvvet Alanı Dosyaları

Bu alandaki geliştirme, 2000'li yılların başlarına dayanıyor. 100 ns'ye kadar uzanan simülasyonlarda nükleik asitlerin trans omurga geometrilerinde hata olduğu farkedildi ve sonunda şeker-fosfat, şeker-fosfat-şeker modeli üzerine yapılan kuantum hesaplamalar sonucunda ff99-bsc0 kuvvet alanı ortaya çıktı. DNA ve RNA'nın kanonial grup simülasyonlarında ff99-bsc0 kuvvet alanının başarılı olduğu görülürken kanonial olmayan grup simülasyonlarında ise ilmek-çıkıntı ve kıvrımlar için bazı hatalar tespit edildi ve ff99 için bazı modifikasyonlar yayınlandı. Bunlar içinde en çok test edilenleri "OL" modifikasyonlarıdır ve bu modifikasyonların da geliştirilmesi gerekmektedir. Eskiden DNA ve RNA için ortak kuvvet alanları kullanılırken son zamanlarda bundan vazgeçilmiştir. Çünkü DNA ile RNA arasında ya da pürinler ile primidinler arasında parametre aktarılmasının bazı sorunlara yol açtığı görülmüştür. Örneğin, ff99-OL modifikasyonları (ff99-bsc0 ile veya ff99-bsc0 olmadan) RNA'nın modellemesini geliştirir, ancak DNA ile, özellikle dörtlü yapılarda sorunlara yol açar. Amber içinde kullanılan DNA kuvvet alanları: DNA.OL15 ile DNA.bsc1 dosyalarıdır. RNA için ise, RNA.OL3, RNA.YIL, ff99bsc0, modrna08 şeklinde sayılabilir.

3.8.5. GLYCAM Kuvvet Alanı Dosyaları

Bu fonksiyonel grup için en çok kullanılan ve taşınabilir parametre özelliğine sahip olan kuvvet alanı GLYCAM06'dır. Bu kuvvet alanı, Amber'de diğer kuvvet alanlarıyla birlikte biomoleküler modelleme için kullanıldığında, GLYCAM için benzersiz atom türleri kullanılarak parametre uyumu sağlanır. Bu nedenle, GLYCAM'daki atom tipleri Amber'de kullanılırken iki büyük harf yerine bir büyük bir küçük harf ya da bir numara sistemi kullanılmıştır: CG → Cg , HO→Ho v.s. şeklinde. GLYCAM06'da ise hidrojen atomlarıyla

ilgili önemli bir güncelleme yapıldı. Bazı karbonhidrat gruplarında, bir hidroksil protonu, yapısal olarak karboksilat grubuna çok yakın olabilir. Böyle bir durum simüle edildiğinde, hidroksil protonu ile negatif yük arasında bir salınım hareketi başlayabilir ve bu salınım, simülasyonun dağılmasına neden olabilir. Hidrojenlere daha küçük bir van der waals (vdw) terimi eklemek (R= 0.200 Å ve ε= 0.0300 $kcalmol^{-1}$) yeterli itme sağlayacak kadar büyük ancak hidrojen bağlarını bozmayacak kadar da küçük bir etki sağladığından, bütün Ho parametreleri bu şekilde modifiye edilmiştir. GLYCAM06, karbonhidrat simülasyonlarında oldukça yaygın kullanılan bir kuvvet alanıdır.

3.8.6. LPID11-14 Kuvvet Alanı Dosyaları

Biyolojik zarlar, lipitler ya da proteinler tarafından oluşturulan karmaşık yapılardır. Dahası, hücrede bulunan proteinlerin yarısı bir şekilde hücre zarı ile etkileşirler. Zara gömülü G proteinine bağlı reseptörler, günümüz ilaç hedeflemesinin %50'sinden fazlasını, bütün zar proteinlerine bağlı hedeflemeler ise %70'ini oluştururlar. Buna rağmen, Protein Veri Tabanın'nda bulunan proteinlerin çok küçük bir kısmını zar proteinleri oluşturur. Bu, zar proteinlerini deneysel olarak incelemenin zorluğundan kaynaklanır ve onları simülasyonlar için en önemli hedef haline getirir. 2012 yılına kadar, Amber için lipit protein kuvvet alanı sadece GLYCAM kuvvet alanının bir parçasıydı ve oldukça sınırlıydı. Geleneksel olarak Amber, lipit simülasyonları Charmm kuvvet alanlarını kullanarak ya da Gaff kuvvet alanını uyarlayarak çok sınırlı bir başarıyla kullandı. 2012 yılında, Amber lipit simülasyon desteğini oldukça fazla genişletti Gaff kuvet alanı içindeki bağsız parametreleri ile dihedral parametreleri modifiye etti. GaffLipit, çift katmanlı zarları NPT grubunda simüle etmek için oluşturulan ilk lipit kuvvet alanıydı. LIPID11, amino ve nükleik asite benzer lipit simülasyonları oluşturmak için ilk modüler çerçeveyi sağladı. 2014'te LIPID14 kuvvet alanı oluşturuldu. Bu kuvvet alanı, LIPID11'in modüler çerçevesi ile GaffLipid'in bir dizi iyileştirmesini aynı çatı altında topladı. Bu kuvvet alanı, lipit baş ve kuyruk grupları içi yapılan pek çok iyileştirmeyi içerir. Ayrıca bu gruplar için yeni yükler de türetilmiştir. Kuvvet alanının doğruluğu pek çok çalışma tarafından onaylandı. LIPID11, diğer Amber kuvvet alanlarıyla birlikte kolayca aktive edilip kullanılabilir.

3.8.7. Diğer Amber Kuvvet Alan Dosyaları

Yukarıda sayılanlardan başka Amber içinde, iyonlar ve çözeltiler için de kuvvet alanları bulunur. Örneğin su için TIP3P, TIP4P, TIP4EW, TIP5P, OPC (apolorize, rijit su molekülleri), POL3 gibi parametreler geliştirilmiştir. Bunlardan en ünlüsü TIP3P'dir. Bunun dışında, metanol için frcmod.meoh, kloroform için frcmod.chc13, N-metil asetamit için frcmod.nma, üre için frcmod.urea bulunur. Genellikle çözücüler söz konusuysa tleap programı içinde solvents.lib dosyası çağrıldığında bu sayılan kuvvet alanlarının tamamını ve fazlasını içeren bir kütüphane aktif hale gelmiş olur. Bunun dışında Amber'in iyonlar için de kuvvet alanları mevcuttur, Bu kuvvet alanlarının bir kısmı iyonize su molekülleri içindir. Örneğin, ionsjc_tip3p dosyası, Joung ve Chetham tarafından hazırlanmış olup TIP3P türündeki su molekülleri için iyon parametrelerini içerir. Benzer şekilde, ionsjc_spce, ionsjc_tip4ew dosyaları da sırasıyla SPC/E ve tip4/EW su molekülleri için iyon parametrelerini içerir. Bunun dışında ions94.lib ve atomic_ions.lib gibi hazır topolojiler de mevcuttur. Li ve Merz'in oluşturduğu iyon dosyaları da hem değişik türlerdeki su molekülleri için iyon parametrelerini bulundururlar ve Joung/Cheatham tarafından oluşturulan parametre setlerine göre daha geniştirler. Amino asit ve nükleik asitlerle ilgili kuvvet alanlarına yukarıda değinilmişti. Fosforillenmiş amino asitler için ayrıca leaprc.phophaa10 parametre seti bulunur. Bunlardan başka AmberTools içinde yer almayan ancak makalelerde üretilen parametre setleri de simülasyon sırasında simülasyona dahil edilebilir. Örneğim HEM için kullanılan parametre setleri doğrudan AmberTools paketi içinde yer almaz ancak bunlar indirilerek kullanılabilirler. Bunların dışında yarı-deneysel kuvvet alanları da mevcuttur öreğin ParmAM1 ve parmPM3 kuvvet alanları ise yarı-deneysel AM1 ve PM3 düzeyindeki hesaplamalarla aynı verileri üreten kuvvet alanlarıdır (Case ve ark. 2016).

3.9. Amber Tools 16 Paket Programı:

Yukarıda sayılan programlardan parmchk, parmch2, parmed, paramfit, sander, antechamber, nab, xleap, tleap, sander, mdgx ve cpptraj programları Amber Tools 16 yazılım paketi içinde yer almaktadır. Bu nedenle bu programların tek tek ismini saymak yerine bu programların kullanıldığını belirtmek için kısaca Amber Tools 16 ismi kullanılacaktır. Simülasyonu gerçekleştiren program bu paket içinde yer alan sander programıdır. Sander

programı ücretsiz olup CPU üzerinden işlem yapmasıyla nedeniyle yeterince hızlı değildir. Bu nedenle proje destekli araştırmalarda sander yerine hesaplamalar için grafik kartı kullanan ve bu nedenle çok daha hızlı simülasyonlar yapabilen pmemd kullanır ve bunu kapsayan paket de Amber Tools yerine Amber adını alır.

3.10. İşlem Basamakları:

Bu tez kapsamında aşağıdaki işlemler iki ayrı kuvvet alanı için yapılmıştır. İlk kuvvet alanı BAFF-1 olup boronatlar için üretilen parametreleri kapsamakta, ikinci kuvvet alanı ise BAFF-2 olup dioksoborollar için üretilen parametreleri kapsamaktadır. Bu çerçevede benzer işlemler iki kez tekrarlanmış olsa da, BAFF-2 için, elde karşılaştırılacak deneysel veri de bulunduğu için DNA-Ligand simülasyonu su ortamında pH 7 ortamında yapılırken BAFF-1 için moleküller vakum içinde ısıtılarak RMSD değerleri hesaplanmıştır. BAFF-2, BAFF-1 parametrelerini de içerdiğinden, DNA-Ligand simülasyonu yapılırken BAFF-2 ile birlikte BAFF-1 parametreleri de vakumda ısıtılmanın ardından ikinci kez ve bu kez su içinde test edilmiştir. BAFF-1 ve BAFF-2'ye dair ayrıntılar dördüncü bölümde açıklanmıştır.

1. Parametrizasyon ve Test İşlemi: Bu basamakta simülasyon için gerekli parametreler üretilmiştir. Bu basamak kendi içinde molekülün modellemesi, simülasyon programı için gerekli parametrelerin belirlenmesi, yük hesapları, spektral kuantum mekanik hesaplama, kuantum mekanik tarama, spektrum sonuçlarının moleküler mekanik parametreye dönüştürülmesi, parametrelerin test edilmesi gibi adımlardan oluşur. Bu basamaklar da kendi içinde alt basamaklardan oluşabilir. Örneğin molekülün modellenmesi sadece molekülün çizilmesinden ibaret bir basamak olmayıp molekülün hesaplama öncesinde deneysel veriye olabilecek en yakın geometriyle üretilmesini hedefler bu nedenle optimizasyonun her aşamasında spektral kontrol de yapılır.

2. Yük Hesaplamaları: Normalde moleküler dinamik simülasyon hedefleyen durumlarda yük hesaplamaları antechamber ile yapılabilir fakat bor atomu Amber için standart atom olmadığından, yükler kuantum mekanik hesaplama ile hesaplanmış ve ardından antechamber ve multiwfn ile Amber'in standartı olan RESP haline getirilmiştir.

3. Kenetleme (Docking) işlemi: Parametrelerin güvenilirliğinden emin olunduktan

sonra moleküler dinamik simülasyona hazırlamak amacıyla DNA ile bor içeren bir bileşik üzerinde kenetleme (docking) işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu aşama kendi içinde DNA molekülünün modellenmesi, AutoDock4.0 programına bor parametrelerinin eklenmesi, yüklerin eklenmesi, haritalandırma gibi işlemleri içermektedir.

4. Moleküler Dinamik (MD) Simülasyon: Kenetleme işleminin ardından moleküler dinamik simülasyon gerçekleştirilmiştir. Bu basamak da kendi içinde molekülün parametre dosyasının hazırlanması, kenetlenmiş kompleksin dosyalarında gerekli değişikliklerin yapılması, parametre ve topoloji dosyalarının hazırlanması, minimizasyon, ısıtma ve gibi hazırlıklar gerektirir ve son aşamada simülasyon başlatılır.

5. MD Sonuçlarının Analizi: Bu basamakta simülasyon sırasında ligandın hareketleri nedeniyle oluşan RMSD, potansiyel enerji grafiği, yörünge analizi gibi basamaklar vardır. Tüm analizlerin ardından moleküler dinamik simülasyonun başarıyla gerçekleştirilip gerçekleştirilmediğine karar verilir.

3.11. Molekülün Modellenmesi

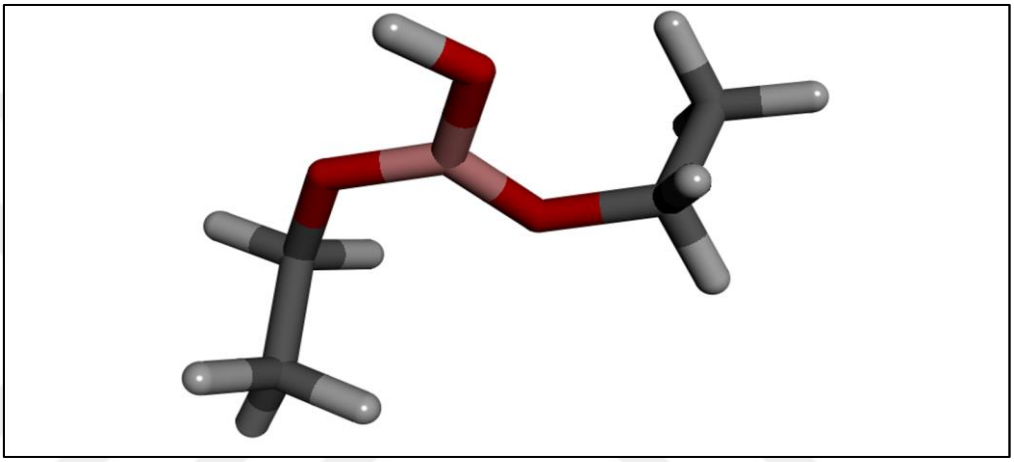
Parametrizasyon işlemi birbirine bağlı adımlardan oluşan bir süreçtir. Süreç, ilk olarak molekülün tasarlanması ve üç boyutlu halinin modellenmesi ile başlar. Hangi bağ ve açılara ait parametrelerin hesaplanması isteniyorsa o bağ ve açıları içeren bir molekül tasarlanarak üç boyutlu çizilir ve ardından bu molekül uygun temel set ile optimize edilir. Optimizasyonun yeterli olup olmadığı ise frekans hesabı ile denetlenir, frekans hesabında imajiner pikler görülmesi halinde bu piklerin işaret ettiği bağ ve açılar yeniden düzenlenerek optimizasyon işlemi yenilenmelidir. Optimizasyon işlemine frekans hesabında imajiner pik görülmeyinceye kadar devam edilmelidir.

Bu çalışmada parametrizasyon işlemi iki ayrı molekül üzerinden yürütülmüştür. İlk aşamada boronatların ikinci aşamada ise dioksoborol bileşiklerinin parametrizasyonu yapılmıştır.

3.12. Kuantum Mekanik Optimizasyon:

Molekül, avogadro programında elle çizildikten sonra psi4numpy programı ile

optimize edildi ve FTIR spektrumu hesaplandı ardından bu işleme düşük temel setlerden başlanılarak yüksek temel setlere doğru devam edildi ve B3LYP/6,311++G (2d, 2p) baz setinde molekül son kez optimize edilerek FTIR spektrumu üzerinden bu optimizasyonun doğru olup olmadığı kontrol edildi. Molekülün ilk optimizasyonun tamamlanmasından sonra şekil 3.3'de görülen geometri elde edildi. Optimizasyonun tamamlanmasını ardından yük hesabına geçildi.



Şekil 3.3 Dietoksiboronik Asit molekülünün B3LYP/6,311++G (2d, 2p) seviyesinde optimize edilmiş geometrisi

3.13. ESP ve RESP Yükleri

Moleküler Dinamik çalışmaları sırasında yük hesaplarının optimize geometri üzerinden yapılması önemlidir bu nedenle yukarıda optimizasyon işlemi oldukça dikkatli bir şekilde yapıldı. Yükleri belirlemenin en basit yolu Mulliken Popülasyon Analizi (Mulliken Population Analysis) olsa da orbital-tabanlı bu yöntemde atom tipleri ve elektronegativite gibi faktörler dikkate alınmaz ve sonuç olarak bu yöntemde elektrostatik momentler oldukça zayıf bir şekilde ve kullanılan temel sete göre çok büyük değişiklik gösterecek şekilde yeniden üretilir (Kar ve Sannigrahi 1988). Olumsuz yönlerine rağmen oldukça basit bir şekilde uygulanabilir olması nedeniyle bu yöntem hâlâ azımsanmayacak ölçüde kullanılır. Atomik yüklerin hesabında yaygın kullanılan bir diğer yöntem potansiyel tabanlı bir metod olan ESP (Electrostatic Potential) yöntemidir. Merz-Kollman, CHELP (CHarges from ELectrostatic Potentials) ve CHELPG (CHarges from ELectrostatic Potentials using a Grid-

based method) gibi yöntemler de birer ESP yöntemidirler (Sigfridsson ve Ryde, 1998). Genellikle kullanılan moleküler dinamik simülasyonuna göre yük elde etme yöntemi de değişiklik gösterir. Bu çalışmada, Amber moleküler dinamik programı için parametre üretildiğinden bu program için standart yük üretme metodu olan RESP metodu kullanılmış (Bayly ve ark. 1993) olup yükler B3LYP/ 6,311++G (2d,2p) ile optimize edilmiş geometri üzerinden HF/6-31G* baz seti kullanılarak psi4 (Smith ve ark. 2018) ve multiwfn (Lu ve Chen 2012) programları kullanılarak elde edilmiştir. Bu metot, ESP yüklerinin gömülü atomlar için aşırı değerler vermesinden ötürü bu yüklerin bir sınırlama fonksiyonu ile azaltılması esasına dayanır (Bayly ve ark. 1993), (Cieplak ve ark. 1995). Hesaplanan yükler ile atom tipleri şekil 3.5 ve 4.3'de görülmektedir. Yeni atom tipleri olan Bor'u simgeleyen "B" ile bu atoma doğrudan bağlı oksijen atomu "ob" atomu haricinde kalan bütün atomlar için gaff atom türleri kullanılmıştır.

3.14. Boş Parametre Dosyasının Oluşturulması:

Moleküler dinamik simülasyonun yapılması için Amber programının hangi parametrelere ihtiyaç duyduğunun belirlenmesi için molekül çizildikten sonra atom türleri antechamber programı ile gaff atom türüne dönüştürülmüş ardından parmchk ve parmchk2 programları ile hangi parametrelerin simülasyonda istenildiği tespit edilmiştir. Bu aşamada, parmchk2 programı normalde Amber içinde standart olmayan bor atomunu tanımadığından SublimText editörü ile ilgili Amber dosyasına "b" ve "ob" olmak üzere iki yeni atom türü eklenmiş işlem sonucunda "a.frcmod" dosyası elde edilmiştir. Aşağıda yapılacak işlemlerden sonra elde edilen bu dosyaya gerekli parametreler sonraki aşamalarda eklenerek kuvvet alanı oluşturulmuştur.

3.15. Bağsız Parametrelerin Elde Edilmesi:

Minimize edilmiş geometrinin elde edilmesi, yük hesaplaması ile frekans hesaplamasının tamamlanmasının ardından parametrizasyon işlemine geçildi. Bağsız ya da Lennard-Jones parametresi de olarak bilinen parametrelerin elde edilmesi için literatürde genellikle deneysel verilerden bu olmadığında ise kuantum mekanik hesaplamalardan yararlanılmaktadır. Bu yöntemlerden birisi de "Helyum atomu yaklaştırma" metodudur

(Pavlova ve ark. 2018), soy gazlar dipol moment içermediğinden ve nötr olduklarından, kuantum mekanik hesaplamalarından vander waals etkileşimlerinin tahminini basitleştirir. Bu nedenle bu yöntemde sözgelimi kobalt'ın Lennard-Jones parametreleri hesaplanırken kobalt ile helyum arasındaki etkileşimden yararlanılır ancak varsa, vdw çapı hakkında deneysel veriden yararlanmak en güveniliridir. Parametrizasyon işlemi yapılırken bağsız parametreler başka kuvvet alanlarından da taşınabilir. Amber içinde bulunan gaff kuvvet alanı, pek çok atom tipi için bağsız parametreler, Opls'den alınmıştır (Wang ve ark. 2004). Bor atomu için literatürde bu parametreler zaten var olduğundan ve bunlarla Amber'de başarılı simülasyonlar yapıldığından önceki çalışmalardan alınarak kuvvet alanına eklenmesi yeterli olacaktır. Bu çalışmada, sp^2 hibritleşmiş bor atomuna doğrudan bağlı olan oksijen atomu için yeni bir atom tipi tanımlanmış ve "ob" ismi verilmiştir, ob atom türü için kullanılan parametreler, gaff'dan alınmıştır.

Çizelge 3.4. sp^2 hibritlenmiş Bor atomu (B) ve ona doğrudan bağlı oksijen atomu (ob) için literatürden alınan bağsız parametreler

Atom tipi	Epsilon (kcal/mol)	r (Å)	Kaynak
B	1.9800	0.0340	(Otkidach ve Pletnev 2001), (Tafi ve ark. 2005)
ob	1.6612	0.2100	(Wang ve ark. 2004) *Gaff os atom türü ile özdeş

3.16. Bağ ve Açı Parametrelerinin Elde Edilmesi:

Literatür araştırması bölümünde, önceki kuvvet alanlarında bağ ve açı parametrelerinin frekans verileri üzerinden hangi formüllerle hesaplanabildiğine yer verilmişti. Son zamanlarda bağ ve açı parametrelerini hesaplamak için önerilen en yaygın yöntem Seminario Metotu'dur. Bu nedenle bu çalışmada da bağ ve açı parametrelerini bulmak için bu yöntemden yararlanıldı. Bu amaçla, optimize edilmiş geometri üzerinden GAMESS-US ile frekans hesabı yapıldıktan sonra vffdt yardımıyla Seminario Matriksi elde edilen frekans verilerine uygulandı ve bağ-açı parametreleri elde edildi. Elde edilen veriler daha önce elde edilen a.frcmod parametre dosyasına eklendi.

3.17. Dihedral Parametrelerinin Elde Edilmesi:

Yukarıda elde edilen a.frcmod parametre dosyasında gösterilen dihedrallerin

parametelerin elde edilmesi için öncelikle bu dihedrallerin her biri ayrı ayrı daha önce optimize edilmiş geometri üzerinden psi4numpy programı ile 0-360 derece arsında B3LYP/ 6,311++G (2d,2p) temel seti kullanılarak kuantum mekanik tarama işlemi gerçekleştirildi. Böylece bütün dihedraller için enerji profilleri oluşturulmuş oldu. Ardından a.frcmod dosyasına elde edilen enerji profilleri, Amber kullanım kılavuzunda yer aldığı şekilde kesik integral yöntemine göre yerine konuldu ve öncü parametre dosyası ilk.frcmod oluşturulmuş oldu.

Eğer molekülümüzde Amber için standart olmayan bor atomu bulunmamış olsaydı sonraki aşamada elde edilen dosyaları paramfit programına gönderip doğrudan dihedral parametrelerini almak mümkün olabilirdi, ancak yapılan ön denemde beklendiği üzere paramfiti çalıştıran shell script dosyasında, tleap programının bor ile ilişkili dihedralleri döndüremediği ve bu nedenle molekülün rasgele konformasyonlarını elde edemediği ve bunun da paramfitin çalışmasını engellediği anlaşıldı bu nedenle sonraki aşamada paramfite molekülün tarama sırasında oluşan konformasyonlarını tanıtabilmek için pymol moleküler editör programı, phyton programlama dili (awk, sed grep komutlarıyla birlikte cpptraj programının pdb den mol2 dosyasına dönüştürme özellikleri) kullanılarak her diheral için 0-180 derece arasında 5'er derecelik açılarla ayrı ayrı atomların RESP yüklerinin de dahil edildiği mol2 konformasyon dosyaları oluşturuldu. Ardından her konformasyon için gerekli enerjileri içeren quantum_A.dat dosyası oluşturuldu ve en son aşamada paramfit programında SEARCH_SPACE=-1 seçilerek yani olabildiğine geniş alanda paramfitin quantum mekaniğe uygun parametreleri aramasını sağlayarak program çalıştırıldı. Başarılı bir şekilde çalıştırılan paramfit programından çıktı olarak hem moleküler mekanik tarama sonuçları hem de dihedral parametreleri alındı ve bu parametreler ilk.frcmod dosyasında önceki değerlerin üzerine yazılarak yeni bir kuvvet alanı oluşturuldu.

Paramfit, genetik algoritma kullandığı için, çözüm kümesi zaman zaman yerel minimumda sıkışıp kalabilmekte ve bulması gerekenden daha kötü bir çözüm üretebilmektedir. Bu durumun üstesinden gelebilmenin yollarından birisi de paramfite başlangıç parametrelerinin gerçeğe olabildiğince yakın verilmesidir. Böylece çözüm kümesi yerel minimuma sıkışsa bile başlangıç parametreleri iyi olduğundan paramfit tarafından

üretilen çözüm makul sınırlar içinde kalacaktır. Yine de bu çalışmada, paramfitin ürettiği parametrelerin sağlamasını yapmak amacıyla sander programı kullanılarak modifiye edilmiş ilk.frcmod dosyası üzerinden dihedraller için moleküler mekanik tarama gerçekleştirildi. Sonuçta kuantum mekanik ve moleküler mekanik taramanın birbirine oldukça yakın olduğu görüldü ve parametreler bu açından da onaylandı. Moleküler mekanik tarama yapılmadan önce sander programının ihtiyaç duyduğu atom yüklerini de içeren mol2 dosyası ile kuvvet alanını içeren ilk.frcmod dosyası dışında koordinat ve topoloji dosyalarının üretilebilmesi için tleap ve xleap programları kullanıldı.

İki ayrı kuvvet alanı üretildiğinden ilk kuvvet alanına BAFF-1 (Bor Amber Force Field) ikincisine BAFF-2 adı verildi. BAFF-1, boronatlar için üretilen kuvvet alanı, BAFF-2 ise dioksoborol bileşikleri için üretilen kuvvet alanı dosyasını ifade etmektedir.

3.18. Parametrelerin Test Edilmesi:

Önceki bölümlerde anlatıldığı üzere, bir kuvvet alanı dosyasının gücü, deneysel veriyi yeniden üretme kabiliyeti ile ölçülür. Bu nedenle parametreler iki şekilde test edildi. BAFF-1 olarak tarafımızdan adlandırılan parametrelerin test edilmesi için, BAFF-1 parametrelerinin hesaplayabileceği moleküllerin gerçek X-ray yapıları (CDCC 2003)'den indirildi, yapılar elle bozularak gerçek yapılarından uzaklaştırıldı. Böylece başlangıç geometrisi X-ray yapısından çok farklı bir hale getirildikten sonra sander programı ve üretilen parametreler kullanılarak moleküller minimize edildi. Ardından minimize edilmiş geometriler gerçek x-ray yapılarıyla kıyaslandı ve RMSD değerleri hesaplandı, ileriki bölümlerde tartışılıp değerlendirileceği üzere son derece başarılı sonuçlar elde edildi. BAFF-2 parametreleri de benzer şekilde aromatik yapı içeren bor bileşiklerinin X-ray yapılarıyla karşılaştırıldı ve başarılı sonuçlar alındı. İkinci aşamada ise, X-ray yapısı alınan minimize edilmiş moleküller BAFF-1 parametreleri kullanılarak sander programı ile ısıtıldı ve sıcaklık artışı sırasında molekülün dağılıp dağılmadığına ilişkin RMSD hesaplamaları cpptraj programı ile yapıldı, burada da molekülün son derece dengeli bir şekilde hareket ettiği gözlendi. Böylece BAFF-1 parametrelerinin kontrolü tamamlanmış oldu ve BAFF-2 parametrelerinin ikinci testine sıra geldi. BAFF-2 parametreleriyle ilgili olarak, daha önce literatürde kanser çalışması yapıldığından, BAFF-2'nin ikinci testi için DNA simülasyonu kullanıldı. Literatürden alınan

ve anti-kanser özelliği bilinen bir ligand ile DNA kompleksi kenetleme işlemi ile oluşturuldu. Ardından ortama su ve sodyum iyonları eklendi ve önce su molekülleri ardından kompleks öne minimize edildi ardından ısıtılma ve moleküler dinamik simülasyon işlemi başlatıldı. Daha sonra simülasyon sırasındaki enerji grafiği ile ligand, DNA ve komplekse ait RMSD grafikleri elde edildi ve sonuçların hem istatisiksel açıdan başarılı olduğu hem de deneysel verileri desteklediği görüldü.

3.19. Kenetleme (Docking) İşlemi:

Bu işlem için autodock4.0 programı kullanıldı. İşlem öncesinde bor atomu, tıpkı Amber'de olduğu gibi autodock4.0 için de standart olmayan bir atom olduğundan programın veritabanına bununla ilgili veriler eklendi. Ardından nab programı kullanılarak DNA molekülü üretildi ve MGL Tools programı ile kenetleme işleminin yapılacağı kutu bütün DNA'yı içine alacak şekilde 0.5Å boşluk olacak şekilde çizildi. Ardından önce autogrid4.exe programı ile haritalandırma ve autodock4.exe programı ile kenetleme işlemi başlatıldı. Dosyaların görüntülenmesi için DSV ve vinasplit.exe programları kullanıldı. Autodock'ın ürettiği sonuçlardan en düşük bağlanma enerjisine sahip kompleks seçilerek moleküler dinamik simülasyon işlemine geçildi.

3.20. Kuantum Mekanik Hesaplamalar:

Kuantum mekanik hesaplamaların genellikle yüksek oranda doğruluğa sahip sonuçlar ürettiği deneysel verilerle desteklenmiştir. Bu veriler öylesine güvenlidir ki, örneğin moleküler dinamik simülasyon sonuçlarının başarısı ölçülürken, deneysel verilerin elde edilemediği durumlarda sonuçlar deneysel veriler yerine kuantum mekanikle kıyaslanır. Kuantum mekanik ile ilgilenilen molekülün enerjsi, minimize edilmiş geometrisi, frekansı, NMR ve UV gibi spektroskopik özellikleri, humo-lumosuyla bağlantılı özellikleri, dihedral dönme açısına karşılık gelen enerjileri, kuantum kuyu çapı v.s. gibi pek çok özelliği hesaplanabilir.

Hesaplamalar sırasında çeşitli temel setler kullanılır. Hesaplamalı ve teorik kimyada, temel setler, moleküler orbitalleri hesapsal şekilde tanımlayabilmek ve dalga fonksiyonunu temsil etmek için kullanılan bir fonksiyonlar kümesidir. Temel setler ya atomik orbitallerden

oluşurlar ki kuantum kimyası topluluğu tarafından bu daha çok kullanılır ya da düzlemsel dalgalardan oluşular ki bu da katı-hal kimyası topluluğu tarafından tercih edilir. Çeşitli orbital türleri tanımlanabilir. Bunlar: Slater-türü Orbital, Gaussian-türü Orbital veya sayısal orbitaller şeklinde sayılabilir. Bunların içinde Gaussian-türü orbitaller açık ara en çok kullanılan orbitallerdir ve Post-Hartree-Fock metoduyla etkili şekilde kullanılabilirler. Sayılan bu yöntemlerin tamamı sadece Schrödinger denkleminin yaklaşık çözümleridir ve literatürde düzinelerce temel set bulmak mümkündür. Temel setlere esneklik kazandırmak için polarizasyon fonksiyonları da eklenebilir, bu fonksiyonlar atomlardaki elektron yoğunluğunun polarizasyonunu tanımlarlar. Kimyasal bağlar genellikle polarize olduklarından bu tür bir esneklik temel setler açısından oldukça önemlidir. Bunlardan başka, anyonları ve dipol momentleri tanımlamak için genişletilmiş gaussian temel fonksiyonları da var olup bunlara da difüzyon fonksiyonları adı verilir. Temel setlere difüzyon fonksiyonu dahil edildiğinde yanına "+" işareti, polarizasyon fonksiyonu dahil edildiğinde yanına "*" işareti eklenir. Örneğin 3-21++G* temel setinde hem + hem de * işareti mevcuttur. Bu da, bu temel setin polarizasyon ve difüzyon fonksiyonuyla birlikte kullanıldığı anlamına gelir.

3.21. Moleküler Dinamik Simülasyon

3.21.1. Hazırlık İşlemleri:

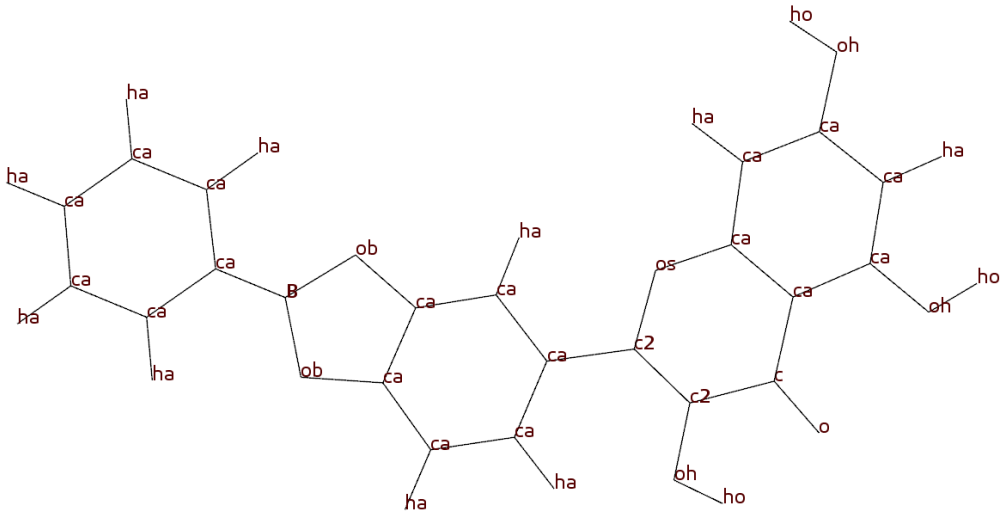
Kenetleme işleminden kalan bir DNA-ligand kompleksi mol2 dosyası üzerinden Amber'de doğrudan işlem yapmak, bor atomunu Amber'in tanımaması sebebiyle oldukça zor olduğundan dosyanın Amber'e tanıtılması için DNA-ligand kompleskinin olduğu complex.mol2 dosyasındaki DNA ve ligand koordinatları değiştirilmeden DNA.mol2 ve ligand.mol2 olarak ayrıldı. Bu işlem sublimetext editörü ile yapıldı. Ardından antechamber programı ile mol2 dosyasyı gaff atom türüne dönüştürüldü ve yeniden sublimetext editörü ile mol2 dosyasına ait rezidü isimleri değiştirildi ("BOR" adı verildi) ve ligand.mol2 dosyasının üzerine kaydedildi, ardından bu dosya, yine antechamber programı kullanılarak (bor atomunu antechamber tanımadığı için "–dr no" bayrağı ile işlem gerçekleştirildi) pdb dosyasına dönüştürüldü böylece hem antechamber gaff dan zaten tanıdığı atom türlerini çevirdiği için ileride sorun çıkmasının önü alındı hem de pdb dosyasında bu ligand baştan

sonra BOR rezidüsü olarak işaretlendi. Böylece birbiriyle tamamen özdeş ligand.mol2 ve ligand.pdb dosyaları elde edilmiş oldu. Bu dosyalardan ligand.mol2 dosyası tleap ve xleap programları (görselleştirme gerektiği zamanlarda windows altında bunu sağlamak için xming programının da yardımıyla) kullanılarak daha önce oluşturduğumuz parametreler için bor.lib adında bir kütüphane oluşturuldu. Böylece, parametre dosyası artık pdb dosyalarını da simüle edebilecek hale getirilmiş oldu. Ardından tleap programı yeniden açılarak bor.lib adındaki daha önce elde ettiğimiz parametre kütüphanesi yüklendi. Sonra ligand.pdb dosyası tleap programına tanıtıldı ve tleap programının başarılı bir şekilde koordinat ve topoloji dosyalarını ürettiği görüldü. Böylece artık elimizde DNA-ligand kompleksinin ihtiyaç duyduğu bütün simülasyon parametreleri olduğundan ikinci aşamaya geçildi.

İkinci aşamada, ilk aşamada üretilen ve parametre dosyalarını içeren bor.lib kütüphanesi ile DNA-ligand kompleksi, DNA.bsc1 DNA kuvvet alanıyla birlikte tleap programına yüklendi. Ardından ortama TIP3P su tipi ve sodyum iyonları eklendi, kutu büyüklüğü 12Å olarak seçildi ve kompleks hem yük hem de parametre açısından check komutu ile kontrol edildi. Sorun olmadığı görülünce DNA-ligand kompleksine ait parametre ve koordinat dosyaları oluşturuldu. Hata olup olmadığını kontrol etmek için ambpdb komutuyla koordinat ve parametre dosyası yeniden pdb dosyasına dönüştürülerek DSV ile görselleştirildi, yapıda herhangi bir sorun olmadığı görüldü. Böylece, sistem simülasyona hazır hale getirildi.

3.21.2. Simülasyonun Gerçekleştirilmesi

Simülasyon öncesinde literatürden alınan B1 ((7- (2-fenilbenzo [d] [1,3,2] dioksaborol-5-il) -5,6,7,8-tetrahidronaftalin-1,3,6-triol)) bileşiği simülasyona hazırlandı ve optimize edilerek yukarıda anlatılan işlemler uygulanıp RESP yükleri hesaplandı. Moleküle ait atom tipleri ile hesaplanan yükler aşağıda görülmektedir. Ardından bu yükler kenetleme işlemi sonucunda elde edilen kompleks dosyasında koordinatlar değiştirilmeden sublimtext editörü ile her atom tipinin karşısına ayrı ayrı yazıldı ve simülasyon işlemi için hazırlıklar başlatıldı.


ho
oh
ha
ca
ha
ca
ha
ca
ha
ca
ca
ha
ca
ca
ha
ca

Minimizasyon işleminin bitirilmesinin ardından ısıtılma işlemine başlandı. Bu aşamada hidrojenleri sınırlamak için SHAKE algoritması (NTC=2 komutuyla); sıcaklığı korumak için Langvein metodu (NTT=3 komutuyla) kullanıldı ve DNA'yı sabitlemek için hafif bir kuvvet sabiti bütün DNA'ya 25 kcal $mol^{-1}angstrom^{-2}$ olarak uygulandı. Kesme değeri de 10 Angstrom olarak ayarlandı ve sıcaklık 10'ar derecelik adımlarla 300 K'ya kadar yükseltildi.

Sıcaklık 300 K'ye geldiğinde ise DNA'ya uygulanan hafif kuvvet sabiti kaldırıldı, basınç 1 atm olacak şekilde ayarlandı (PRES0 = 1.0), ısıtmada yapılan işleme benzer şekilde SHAKE Algoritması, Langvein Metodu ve cutoff=10 değeri kullanıldı. Ayrıca relaxation time 2ps olarak kullanıldı (TAUP=2.0) ve 20 ns süreyle Moleküler Dinamik Simülasyon gerçekleştirildi. Simülasyondan sonra RMSD değeri cpptraj ile hesaplandı . Chimera ve Discovery Studio Visualiser moleküler editor programları ile görselleştirme yapıldı. Isıtma ve moleküler dinamik işlemlerinin tamamı tıpkı minimizasyonda olduğu gibi Amber16 içinde bulunan "sander" programı ile gerçekleştirildi.

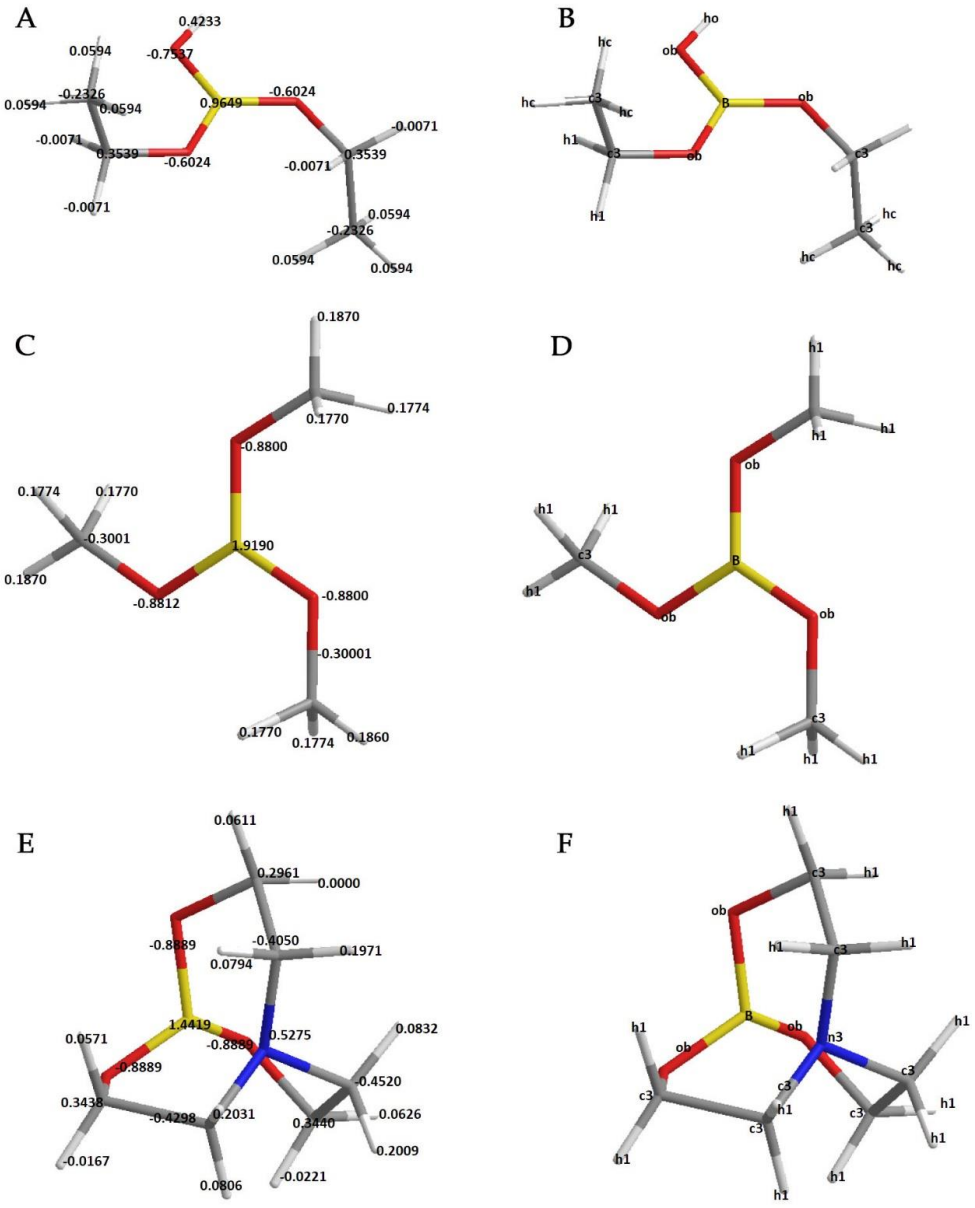
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Yükler ve Atom Tipleri

BAFF-1 kuvvet alanı, boronatların simülasyonu için üretilmiş bir kuvvet alanı olup dietoksi boronik asit molekülü üzerinden yapılan kuantum mekanik hesaplamalarla üretildi. Optimize edilmiş geometri üzerinden hesaplanan ESP yükleri işle bu moleküller için simülasyon sırasında kullanılacak olan atom tipleri şekilde görülmektedir.

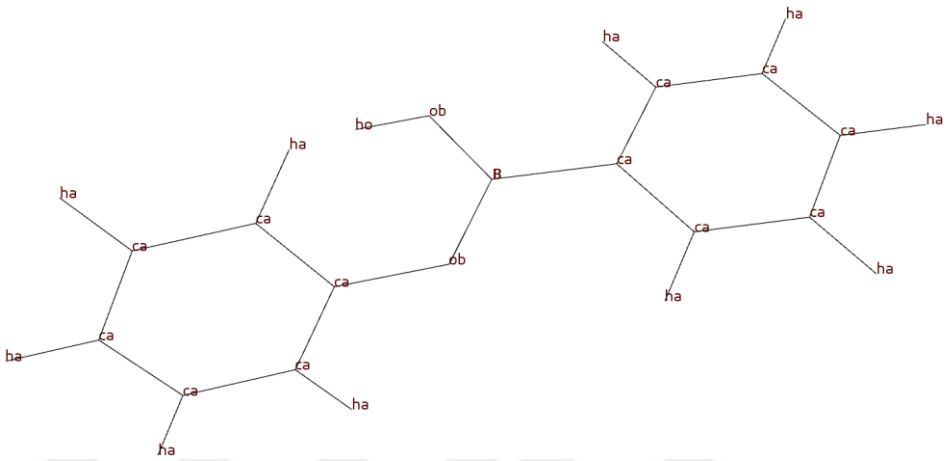
Atom tiplerine dikkat edilecek olursa küçük harflerden oluşmuştur, bu gaff kuvvet alanının tipik özelliğidir. Bu çalışmada üretilen parametreler gaff2 kuvvet alanıyla birlikte kullanılmıştır. Bu nedenle üretilen parametrelerin de gaff ve gaff2 ile uyumlu olması için bu atom tipleri kullanılmıştır. Gaff atom türünde varsayılan olarak bor atomu ile ona bağlı olan oksijen atomu bulunmamaktadır. Bu nedenle sp^2 hibritleşmiş Bor atomu için B, bu atoma doğrudan bağlı olan oksijen atomuna ise ob adı verilerek iki yeni atom tipi oluşturulmuştur.

Yüklere dikkat edilecek olursa, dietoksi boronik asitte oksijenlere bağlı iki $-C_2H_5$ grubu ile bir adet hidrojen atomu bulunmaktadır. Yani bor atomuna 120 derece açıyla bağlı olduğu halde üç oksijen atomunun ikisi birbiriyle eş diğeri ise farklıdır. Aslında bu nedenle bile burada farklı olan oksijen atomu için de farklı bir atom tipi kullanılabilirdi ve bunun yapılması kuvvet alanının isabet oranını arttırabilirdi ancak çok fazla atom türü kullanmak kuvvet alanının taşınabilirliğini azaltır ve kullanımı zorlaştırır. Bu nedenle olabildiğince az ama olması gerekenden daha az atom tipi kullanmamak adına her üç atom türüne de ob atom türü atandı. Ayrıca zaten IVEKAW02 ve TEAMBO04 moleküllerinde oksijen yükü farklılığının neredeyse ortadan kalktığı görülüyor.

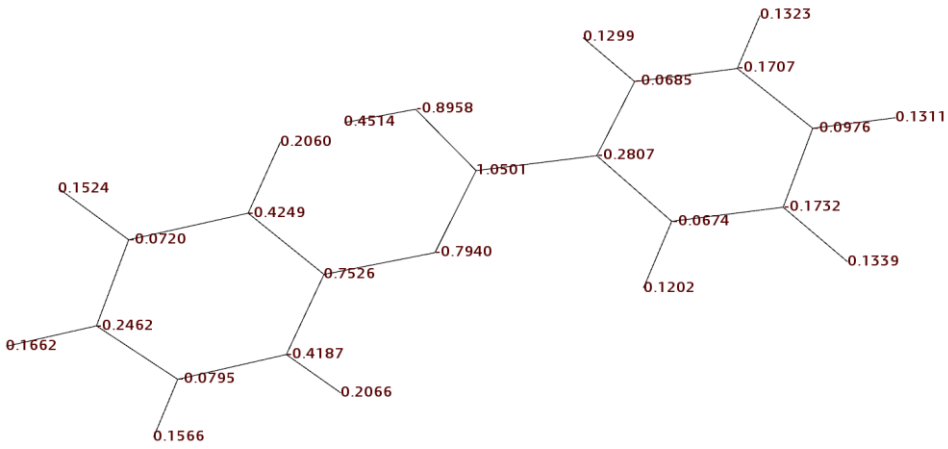


Şekil 4.1 Moleküller için hesaplanan ESP yükleri ve atom tipleri. A, C ve E sırasıyla dietoksiboronik asit, IVEKAW02 ve TEAMBO04 için ESP yüklerini, B,D ve F ise aynı sırayla atanmış atom tiplerini gösterir.

Tasarlanan fenil hidrojen fenilboronat bileşiği için ise hesaplanan yükler ve atanan atom tipleri şekil 4.2'de görülmektedir. "ca" atom tipi daha çizelge 3.1'de görüldüğü üzere aromatik karbonu simgelemektedir ve yine gaff atom tipleri ile ob ve B yeni atom tipleri kullanılmıştır.



Şekil 4.2 Tasarlanan (fenil hidrojen fenilboronat) bileşiği için atom tipleri



Şekil 4.3 Tasarlanan (fenil hidrojen fenilboronat) ait RESP yükleri

4.2. Bağ, Açı ve Dihedral Parametreleri

Dietoksiboronik asite uygulanan Seminario metodu sonucunda elde edilen bağ ve açı parametreleri Çizelge 4.1 ve 4.2'de görülmektedir. Mol2 dosyasının gaff atom türüne çevrilmesi antechamber programı ile yapıldığı için kullanılan algoritma gereği alifatik karbona bağlı hidrojen atomuna h1 atom tipi atanması gerekirken bağın kendisinden (h1-ob

bağı) oksijene bağlı hidrojene bu atom türü ataması yapıldığı görülüyor. Bunun nedeni, ob atomuna bağlandıktan sonra hidrojen atomunun türünün artık öneminin kalmamasıdır yani tablodaki h1-ob değeri yerine ho-ob değeri de kolayca kullanılabilir.

Çizelge 4.1. Optimize edilmiş dietoksi boronik asit üzerinden elde edilen bağ ve açı parametreleri (Tamamı BAFF-1 parametresidir)

Bağ	**K_r (kcal(mol·Å^2)$^{-1}$**	**r_{eq} (Å)**
h1-ob	546.139	0.970
ob-B	350.221	1.372
ob-c3	219.866	1.435
Açı	**K_θ (kcal/(mol·radian^2)**	**θ_{eq} (°)**
h1–ob–B	50.184	110.55
ob–B –ob	104.357	120.00
B –ob–c3	110.735	121.35
ob–c3–c3	114.01	111.44
ob–c3–h1	77.700	107.94

Fenil hidrojen fenilboronat bileşiğine ait aynı yöntemle elde edilen bağ ve açı parametreleri ise aşağıda görülmektedir:

Çizelge 4.2. Tasarlanan fenil hidrojen fenilboronat için VFFDT ile elde edilen bağ ve açı parametreleri (** : BAFF-2 parametrelerini *: BAFF-1 ile ortak parametreleri gösterir)

Bağ	**K_r (kcal(mol·Å^2)$^{-1}$**	**r_{eq} (Å)**	**Kaynak**
B -ca	218.951	1.559	**
ho-ob	546.139	0.970	*
ob-B	350.221	1.372	*
ob-c3	219.866	1.435	*
ca-ob	376.600	1.3696	**
Angle	**K_θ (kcal/(mol·radian^2)**	**θ_{eq} (°)**	**Kaynak**
h1–ob–B	50.184	110.55	*
ob–B –ob	99.046	122.40	*
B –ob–c3	110.74	121.35	*
ob–c3–c3	114.01	111.44	*
ob–c3–h1	77.700	107.94	*
B -ob-ca	95.305	123.07	**
B -ca-ca	127.38	120.97	**
ca-ca-ob	69.580	119.20	**
ca-ob-B	98.500	118.50	**
ob-B-ca	89.005	118.10	**

Çizelge 4.2'de öncekiyle bire bir aynı parametrelerin değişik atom tiplerinde kullanıldığı rahat bir şekilde görülebilir. Örneğin ho-ob için kullanılan parametreler çizelge 4.1'de h1-ob atom türü için de kullanılmıştır. Bu şekilde birbirine benzeyen parametreler

yeniden kuantum mekanik hesaplama yapılmasına gerek kalmaksızın diğerinden alınabilir. Aslında Amber Tools içinde bulunan parmchk ve parmchk2 programlarının yaptığı iş tam olarak böyledir. Birbirine benzeyen bağ ve açılar için benzer parametrelerin verilen komuta göre istenilen kuvvet alanından (ff99Sb, gaff v.s..) alarak kuvvet alanı dosyasını bu şekilde yazar. İstenilen parametreye benzer parametreyi bulamaz ise parametrenin revizyona ihtiyacı olduğunu belirten bir yorum satırı ekleyerek parametreye 0 değerini atar.

Benzerlikten kasıt aynı atomlardan oluşmasıdır. Örneğin çizelge 4.1'de de görülen h1-ob bağı sonuç itibariyle bir hidrojen-oksijen bağıdır ve Çizelge 4.2'deki ho-ob bağı da bu açıdan bakıldığında bu bağ ile özdeş olması sebebiyle aynı parametre kullanılabilir. Çizelge 4.2'de bu şekilde önceki parametre dosyasından taşınan parametreler "*" işareti ile gösterilmiştir. Aynı durum dihedrallere de uygulanabilir. çizelge 4.3'de elde edilen dihedral parametreler görülmektedir. Çizelgedeki semboller ve sırasıyla şöyledir: $\boldsymbol{\gamma}$ maximum enerji değerinin denk geldiği açıyı, n maximum enerjinin tam bir tur içinde kaç kez görüldüğünü (negatif değer birden fazla terimin olacağını gösterir), Vn dihedral poansiyel enerjisini divider ise, terimin tam olarak ifadesi halinde 1 olarak alınan ve Vn enerjsinin kaça bölünerek denkleme gireceğini gösteren bir sayıdır.

Çizelge 4.3. Dietoksi boronik asit üzerinden üretilen dihedral parametreler (Tamamı BAFF1 parametresidir)

Açı	Divider	Vn(Kcal/mol)	$\boldsymbol{\gamma}$	n	Açıklama
h1-ob-B -ob	1	2.350	180.000	-1.000	
h1-ob-B -ob	1	1.654	180.000	2.000	
ob-B -ob-c3	1	1.980	180.000	-1.000	
ob-B -ob-c3	1	1.472	180.000	2.000	
B -ob-c3-c3	2	5.400	180.000	2.000	gaff X -c -os-X ile özdeş (Wang ve ark. 2004)
B -ob-c3-h1	1	5.400	180.000	2.000	gaff X -c -os-X ile özdeş
ob-c3-c3-h1	1	0.300	180.000	2.000	gaff X -c -c -X ile özdeş

Burada da, B -ob-c3-c3, B -ob-c3-h1 ve ob-c3-c3-h1 dihedralleri için ayrıca kuantum mekanik hesaplama yapılmamıştır. Bunun yerine, gaff kuvvet alanında bulunan X -c -os-X ve X -c -c-X dihedralleri için önerilen parametreler kullanılmıştır. Gaff için X atomu joker karakteri yerindedir. Yani X istenilen herhangi bir atom için kullanılabilir "c" ve "os" atomlarının da "c3" ve "ob" atomlarına benzediği düşünülünce bu dihedraller için gaff'da önceden bulunan joker parametreler kullanılabilir. Ayrıca yine tabloda bazı dihedrallerin iki

kez tekrar ettiği ve n değerinin negafif olduğu görülür. Bunun nedeni, bazen bir dihedralin tek bir fonksiyonla ifade edilmemesidir. Böyle durumlarda aynı dihedralden birisinin n değeri negatif değer alır.

Çalışma iki bölüm halinde uygulandığından; dioksoborol grubu bileşikleri için de aynı yol izlenerek dihedral parametreler üretilmiştir. Üretilen parametreler çizelge 4.4'de görülmektedir

Çizelge 4.4. Diokso borol bileşikleri için üretilen dihedraller (tamamı BAFF2 parametresi)

Dihedral	Divider	Vn (kcal/mol)	γ	n	Kaynak
ca-ca-B -ob	1	0.500	180.000	2.000	Bu çalışma
X -ob-ca-X	2	1.800	180.000	2.000	GAFF X-os-ca-X ile özdeş (Wang ve ark. 2004)
X-ob-B -X	1	2.700	180.000	2.000	Bu çalışma
X-c3-ob-X	2	5.400	180.000	2.000	GAFF as X -c3-os-X ile özdeş (Wang ve ark. 2004)

Burada, bizzat bu kez bizzat bizim tarafımızdan "X" joker atomu kullanılmıştır. Ortadaki iki atom aynı kalmak kaydıyla X yerine herhangi bir atom konulması durumunda bu parametreler rahat bir şekilde kullanılabilir. Gaff'da önceden bulunan X-os-ca-X ve X-c3-os-X dihedralleri yeni atom tiplerine göre uyarlanmış, diğer dihedraller ise kuantum mekanik tarama ile elde edilmiştir. Elde edilen sonuçların grafikleri şekilde görülmektedir. X-c3-ob-X dihedrali tamamıyla gaff'dan alındığından buna ait enerji grafiği taramasına gerek görülmemiştir (Wang ve ark. 2004).

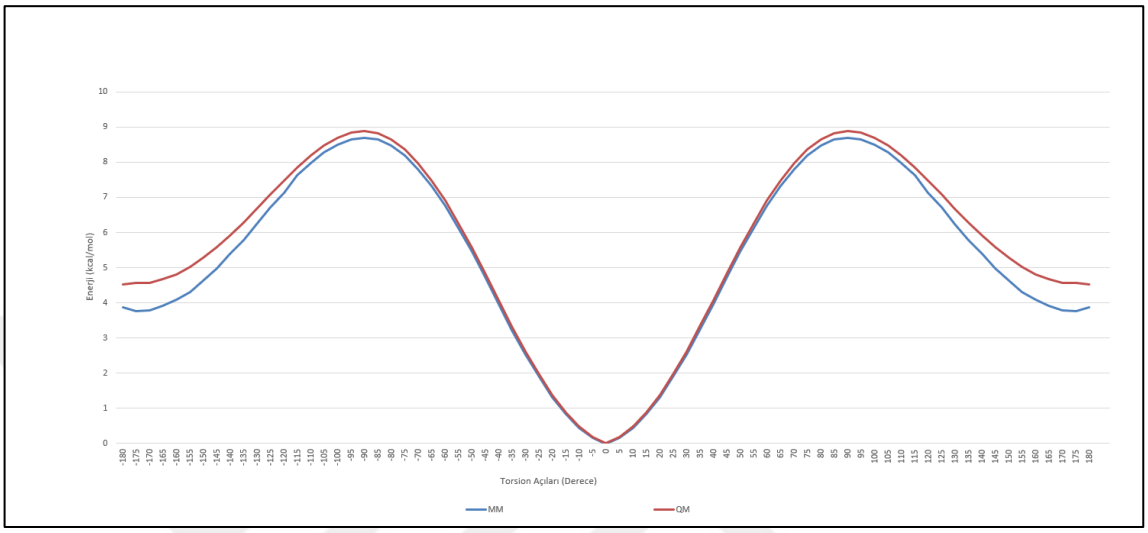
Amberde düzlem dışı dihedraller, her zaman istenmez. Yine de gerekli olması ihtimaline karşın ilgili molekül için önerilen düzlem dışı dihedraller de çizelge 4.5'de görülmektedir. Düzlem dışı dihedraller için açı daima 180 derece ve periyodite daima 2'dir (n=2).

Çizelge 4.5. Düzlem dışı dihedraller (BAFF1 ve BAFF2 için ortak parametre)

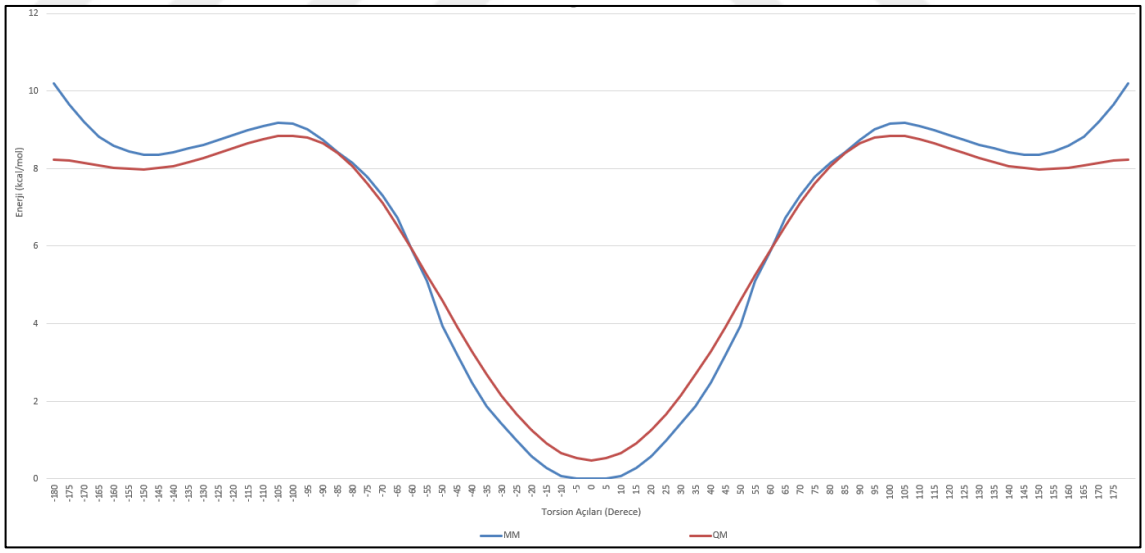
Düzlem Dışı	Vn(Kcal/mol)	γ	n
ob-ob-B -ob	40.5	180.0	2.0

Dihedrallere ait enerji tarama grafikleri şekil 4.4 -4.5-4.6-4.7 ve 4.8'de görülmektedir. Kuantum mekanik tarama ile moleküler mekanik tarama değerlerinin birbirine uyması

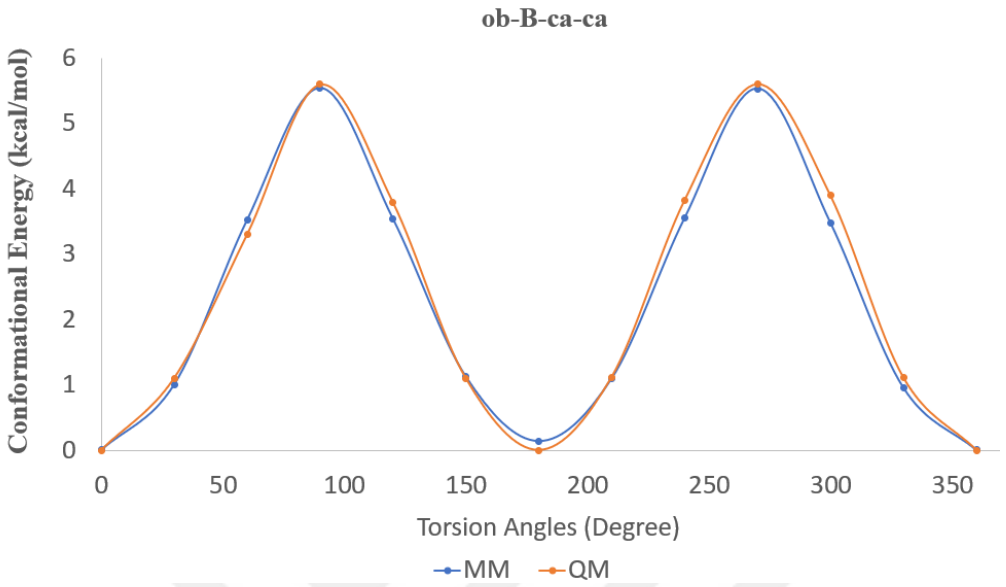
aslında parametre kontrolü için önemli bir ön test aşamasıdır ve parametreler bu test aşamasını geçmiştir.



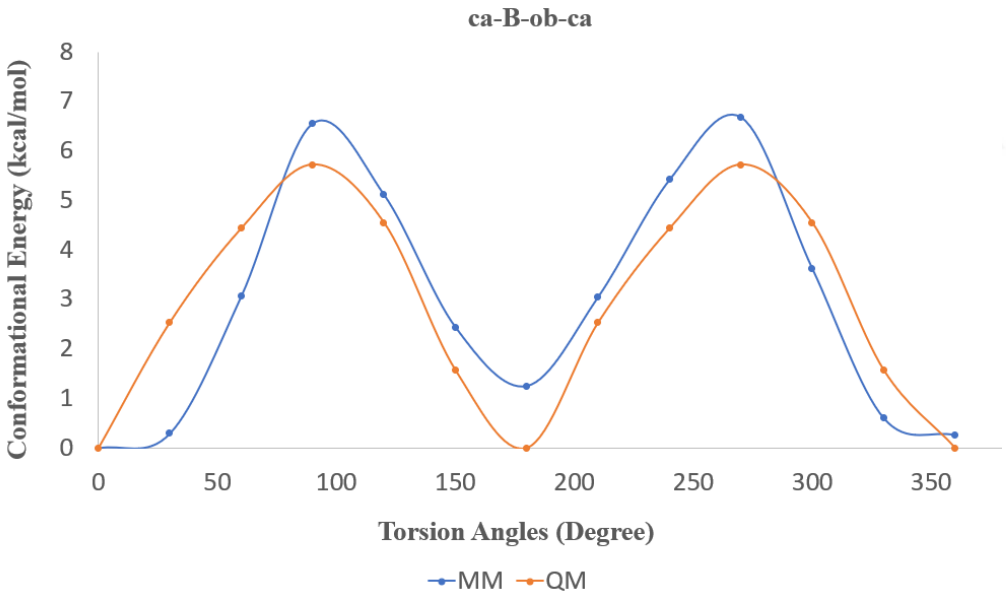
Şekil 4.4 h1-ob-b-ob dihedrali için kuantum mekanik ve moleküler mekanik tarama



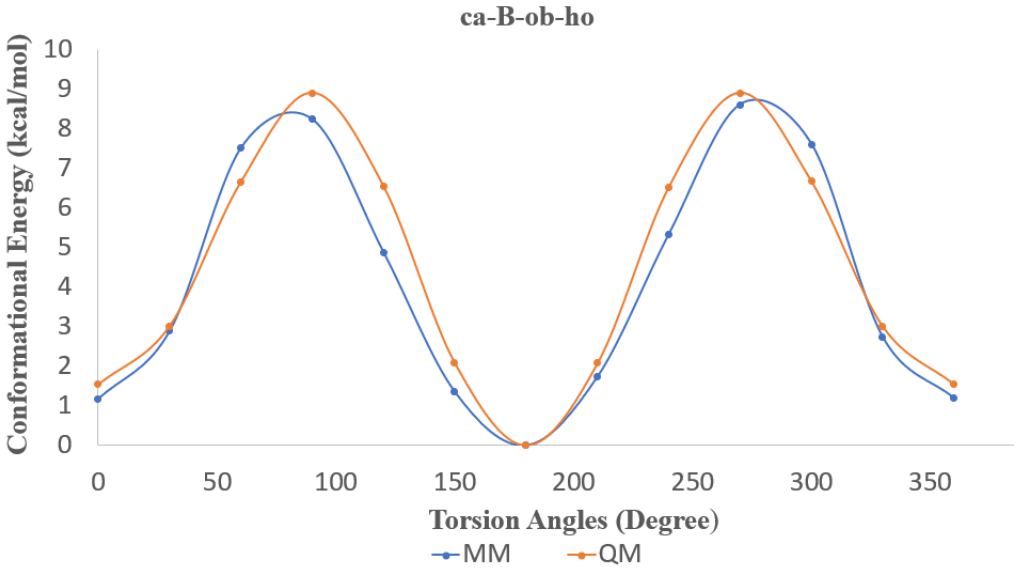
Şekil 4.5 ob-B-ob-c3 dihedrali için kuantum mekanik ve moleküler mekanik tarama



Şekil 4.6 ob-B-ca-ca (ca-ca-B-ob) için kuantum mekanik ve moleküler mekanik tarama



Şekil 4.7 ca-B-ob-ca (X-ob-ca-ca) için kuantum mekanik ve moleküler mekanik tarama



Şekil 4.8 ca-B-ob-ho (X-ob-B-x) için kuantum mekanik ve moleküler mekanik tarama

4.3. Parametrelerinin Test Sonuçları

4.3.1. BAFF-1 Parametreleri İle İlgili Sonuçlar

Parametrelerin doğruluğunun teyidi için 3 aşamada yapılan test sonuçları aşağıda açıklanmıştır.

Aşama-1 ve 2:

Aşama-1 aslında dihedral parametrelerinin eldesi sırasında gerçekleştirilmiştir. Grafiklerden görüldüğü üzere moleküler mekanik ile kuantum mekanik arasındaki fark oldukça azdır. Dihedral parametreler taranırken sadece tek dihedral taranmış olsa da paramfite verilen dosyada bağ, açı ve bağsız parametreler de yer almaktadır. Bu sebeple, dihedral parametre kontrolü sırasında aslında bütün kuvvet alanı da dolaylı yoldan test edilmiş olmaktadır.

Aşama-2'de üretilen kuvvet alanının deneysel datayı ne derece doğru üretebildiği test edildi. Bu amaçla deneysel datalar Cambridge Kristalografik Veri Tabanı'ndan (CCDC) indirildikten sonra moleküllerin tam benzeri elle çizildi. Avogadro yazılımı ile (Hanwell ve

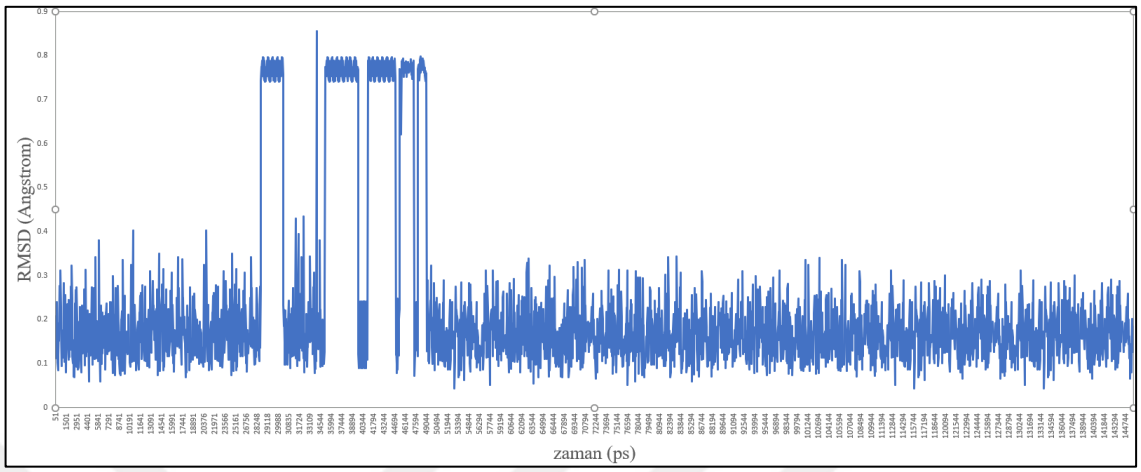
ark. 2012) çizilen moleküller BAFF-1 parametreleri kullanılarak vakum ortamında sander programı ile minimize edildi. Daha sonra minimize edilen geometriler ile deneysel yapılar arasındaki RMSD değerleri hesaplandı. Çizelge 4.6'da deneysel X-ray yapısı ile minimize edilmiş geometri arasındaki RMSD-AY (Atomik yer değişirme için hesaplanan RMSD), RMSD-B (Bağ uzunluğu için hesaplanan RMSD), RMSD-A (Açılar için hesaplanan RMSD) değerleri görülmektedir. Çizelge 4.6'daki değerlerin ne anlama geldiğini literatürdeki çalışmalara göre değerlendirilecek olursa, MM2X kuvvet alanı için RMSD-AY, RMSD-B ve RMSD-A değerlerinin sırasıyla 0.992, 0.0477 ve 4.12 olduğu görülür, çizelge 4.6'da bu değerlerin 0.206 ve 4.077 arasında olduğu ve literatürdeki sınırlar içinde kaldığı ve kuvvet alanının deneysel değerleri oldukça makul sınırlar içinde ürettiği görülmektedir.

Çizelge 4.6. BAFF-1 için Kristallografik data ile minimize edilmiş geometri arasındaki farklar

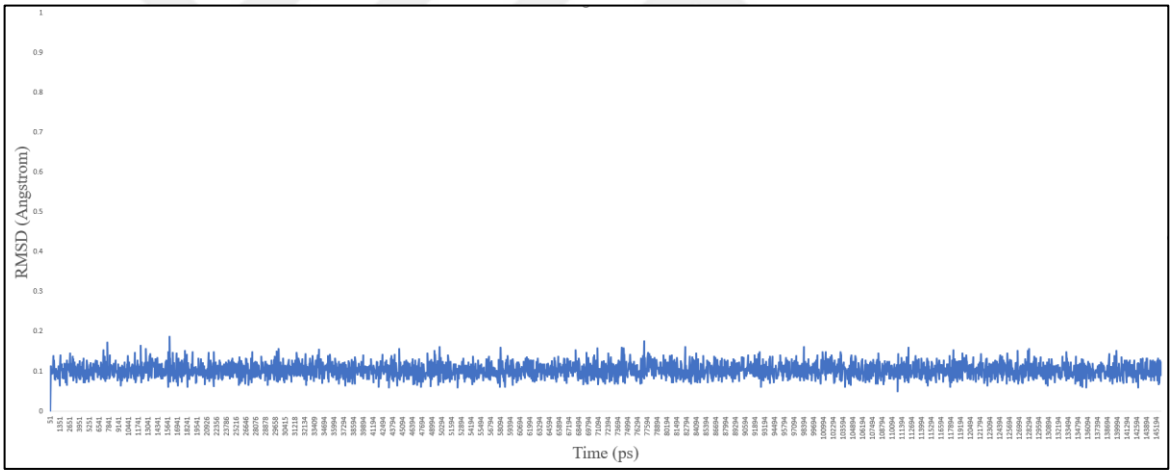
Molekül	**RMSD-AY**	**RMSD-B**	**RMSD-A**
IVEKAW02	0.206	0.0468	2.179
TEAMBO04	0.212	0.0765	5.976
*Ortalama	0.209	0.0617	4.077

Aşama-3:

Bu aşamada, minimize edilmiş moleküller ısıtıldı ve ardından moleküler dinamik simülasyon başlatıldı. Hem ısıtma hem de simülasyon işlemlerinde SHAKE algoritması kullanıldı (ntc=2) böylece hidrojen atomları simülasyon boyunca sabit tutuldu. Bu algoritma kullanıldığında Amber, sadece hidrojen bağlarının enerjilerini sıfır olarak kabul eder ve diğer bağlarla simülasyonu sürdürür. Sıcaklık kontrolü için Brendensen termostat kullanıldı, rahatlama süresini gösteren değer 0.5ps olarak kullanıldı (TAUP=0.5) ve 20 ns süreyle Moleküler Dinamik Simülasyon gerçekleştirildi, simülasyon vakum ortamında gerçekleştiriğinden kesme değeri 999A olarak belirlendi. Zaman adımı her dosya için 2,500,000 × 0.002 = 5ns üzerinden 145 ns boyunca gerçekleştirildi. Gerçekleştirilen moleküler dinamik simülasyona ait RMSD verileri aşağıda görülmektedir.



Şekil 4.9 IVEKAW02 moleküler dinamik sırasında elde edilen RMSD



Şekil 4.10 TEAMBO04 moleküler dinamik simülasyon sırasında elde edilen RMSD

Üretilen kuvvet alanının moleküler dinamik simülasyon sırasında konformasyon değişimlerinin kararlı olması, parametrelerin sağlıklı olduğunun göstergesidir. Gerçekten de yapılan ön denemelerde, yanlış atom tipleri atanmasının ya da optimize geometriyle uyumsuz bağ uzunluklarının/açıların ya da kuvvet sabitlerinin atanması durumunda molekülün atomlarının simülasyon sırasında birbiriyle çakıştığı ve bunun neden olduğu enerji değerindeki aşırı yükseliş nedeniyle molekülün dağıldığı görülmüştür. Literatürde de bu nedenle parametrelerin istatisiksel açıdan tutarlı olup olmadığının kontrolü için moleküler dinamik simülasyon sırasındaki RMSD grafiği kontrol edilir. Şekil 4.10'daki RMSD grafiklerine bakılacak olursa, TEAMBO04'ün simülasyonun başından sonuna kadar dengeli

olduğu görülüyor. IWEKAW02 molekülünün ise 28 nanosaniyeden sonra RMSD değerinde artış görülse de simülasyon 45 ns'ye kadar sürdürüldüğü halde molekülün RMSD değerinin stabilitesini koruduğu görülmüştür. Bu açıdan da parametrelerin dengeli ve atom tiplerinin doğru olarak atandığı kanıtlanmıştır.

4.3.2. BAFF-2 Parametreleri İle İlgili Sonuçlar

Aşama-1 ve Aşama-2:

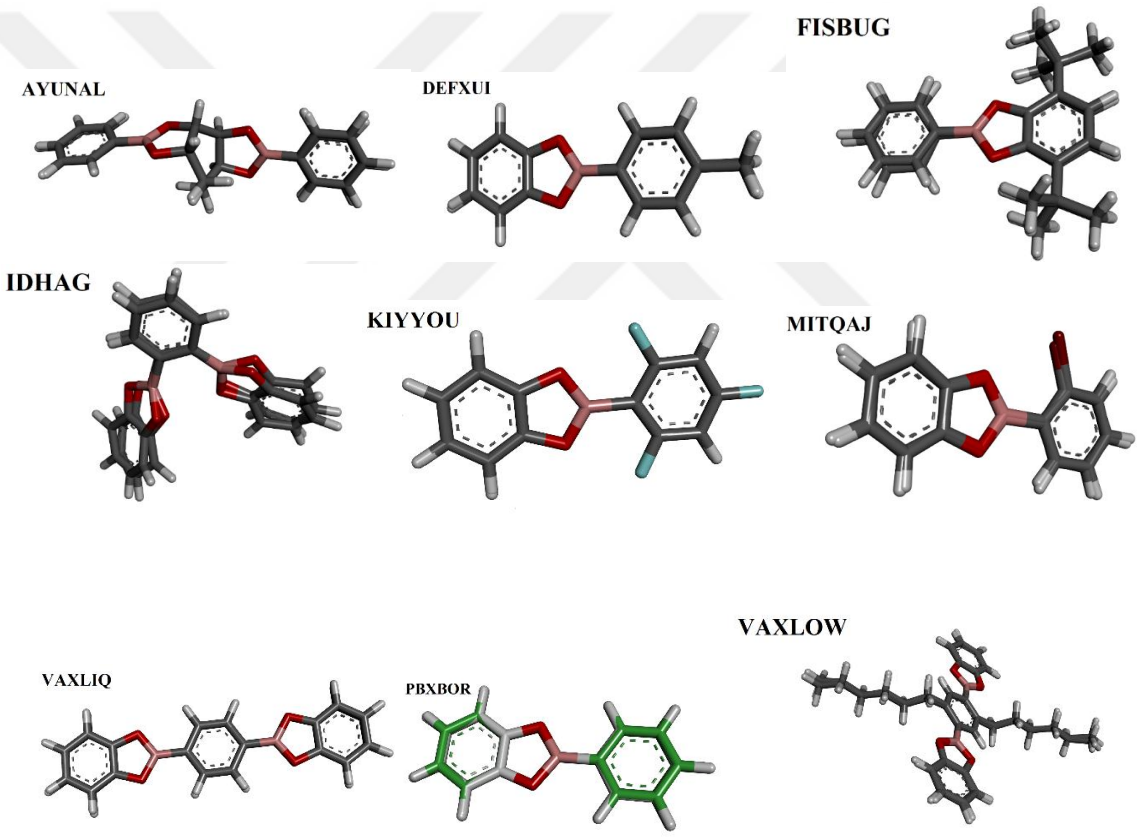
Yukarıda BAFF-1 için yapılan ilk aşama BAFF-1 parametresi için yapılan metodla bire bir aynıdır ve dihedrallerin enerji profilleri yukarıda görülmektedir. Aşama-2'de ise bu kez elimizde BAFF-1'e göre çok daha fazla deneysel data olduğundan doğrudan bu datalarla minimize edilmiş geometriler üstüste çakıştırılarak ortalama RMSD değeri hesaplanmıştır. (CDCC 2003)'den alınan deneysel veriler ile minimize edilmiş geometriler arasındaki RMSD farkları hem görsel hem de tablo halinde aşağıda sunulmuştur. Bu kez sadece kristalografik veri ile kuvvet alanının sağladığı minimize edilmiş geometri arasındaki fark hesaplanmamış aynı zamanda B3LYP/6-311G ve B3LYP/6-311++G(2d,2p) temel setleri ile minimize edilmiş geometrilerin de deneysel dataya ne kadar yaklaştığı ölçülmüş ve bu değerlere RMSD-II ve RMSD-III isimleri verilmiştir. Buna göre, RMSD-1 değerinin yani BAFF-2 kullanılarak moleküler dinamik ile elde edilen minimize geometri ile deneysel data arasındaki farkın B3LYP/6-311G temel setinden bile daha başarılı olduğu ve sonuçların kalitesinin neredeyse B3LYP/6-311++G(2d,2p) temel setini yakaladığı görülmektedir (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.11). Çizelge 4.7.'de, RMSD-I Moleküler Mekanik ile X-ray geometrisi arasındaki farkı, RMSD-II ve RMSD-III sırasıyla B3LYP/6-311++G ve B3LYP/6-311++G (2d,2p) ile minimize edilmiş geometri ile X-ray geometrisi arasındaki farkı göstermektedir. Sonuçlar makale olarak yayınlanmıştır (Kurt ve Temel 2021).

Çizelge 4.7. Minimize edilmiş geometriler ile X-ray yapıları arasındaki farklar.

Molekül adı	RMSD-I (MM / X-ray)	RMSD-II (QM / X-ray)	RMSD-III (QM / X-ray)
AYUNAL	0.1463	0.1684	0.1513
DEFXUI	0.0598	0.0790	0.0718
FISBUG	0.1765	0.2970	0.2959

Çizelge 4.7. (Devamı) Minimize edilmiş geometriler ile X-ray yapıları arasındaki farklar

Molekül adı	RMSD-I (MM / X-ray)	RMSD-II (QM / X-ray)	RMSD-III (QM / X-ray)
KIYYOU	0.0555	0.0539	0.0221
MITQAJ	0.2984	0.1506	0.1360
PBXBOR	0.0333	0.0358	0.0330
VAXLIQ	0.0555	0.0743	0.0744
VAXLOW	0.4055	0.8722	0.1214
IDIHAG	0.2230	0.4423	0.4142

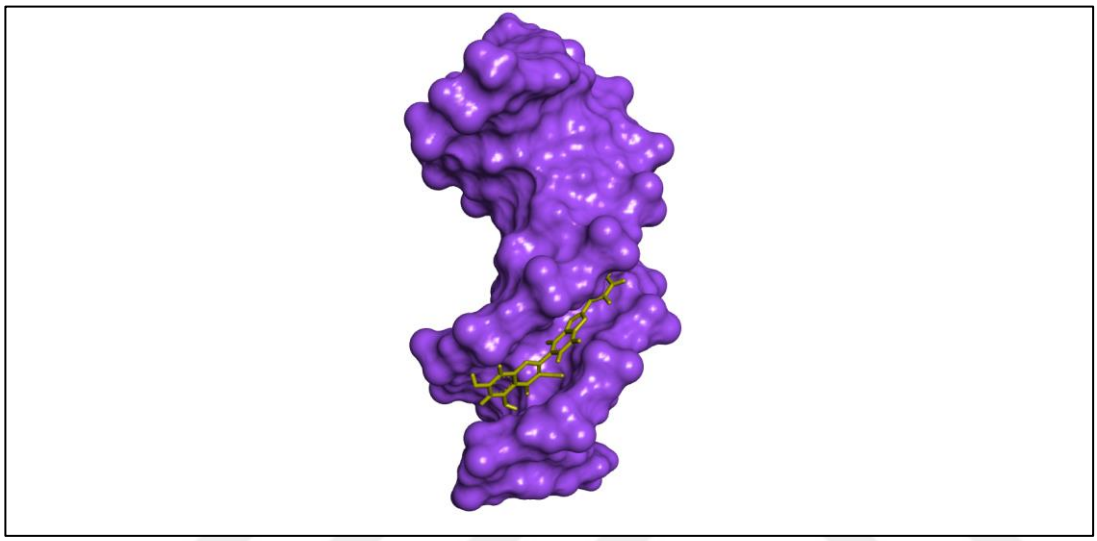


Şekil 4.11: BAFF-2 ile minimize edilmiş geometriler ve X-ray yapıları arasındaki farklar

Aşama-3:

BAFF-2'de BAFF-1'deki parametreler de kullanıldığından oldukça geniş bir kuvvet alanı elde edilmiştir. Bu nedenle bu kuvvet alanının testinin vakum ortamında değil su içinde yapılması uygun görülmüştür. Bu amaçla literatürden meme kanserine karşı özelliği bilinen

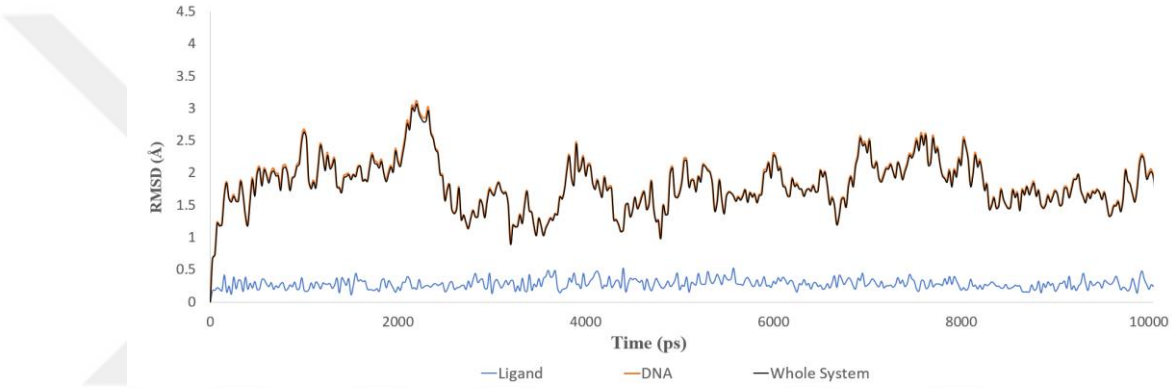
bir bileşik alınarak DNA ile bağlanması simüle edilmiştir. Simülasyon ve öncesindeki hazırlık işlemleri ile kenetleme işlemlerinin teknik ayrıntıları materyal ve metot bölümünde bulunabilir. Kenetleme işlemi sonrasında ligandın DNA'ya minör oluktan bağlandığı ve -9.46 kcal/mol gibi oldukça yüksek bir AutoDock skoru verdiği görülmüştür.



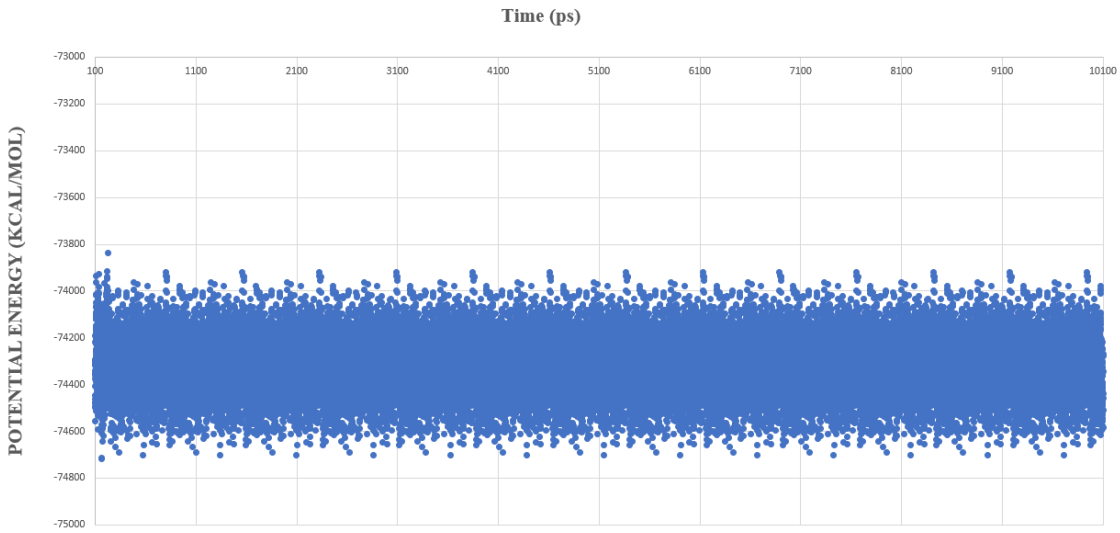
Şekil 4.12 DNA ile bor bileşiğinin minor oyuk bağlanması (Kb= -9.46 kcal/mol)

Daha sonra su içinde DNA-Ligand kompleksi önce iki aşamalı olarak minimize edilmiş ardından ısıtılmış ve 10 nanosaniye boyunca moleküler dinamik simülasyon başlatılmıştır. Simülasyon süresince elde edilen RMSD grafiği ile enerji grafikleri şekilde görülmektedir. DNA, ligand ve DNA-ligand kompleksine ait RMSD grafiklerinden simülasyonun başından sonuna kadar ligandın DNA'ya kenetlenen bölge içinde kaldığı ve bu bölgeden çok uzaklaşmayarak kenetleme işleminin sonucunu onayladığı görülmektedir. Ligandın tek başına RMSD değeri oldukça düşük ve stabil değerdedir. Bu durum yukarıda BAFF-1 için yapılan testin benzeri şekilde parametrelerin atom tipleri ve kuvvet sabitlerinin doğruluğunu onaylamaktadır. DNA'ait RMSD grafiği de sarmalın bütünlüğünü simülasyon süresince koruduğunu göstermektedir. Gerçekten de sonuçlar görselleştirildiğinde hem DNA'nın hem ligandın hem de bir bütün olarak DNA-ligand kompleksinin simülasyon süresince kararlılıklarını koruduğu gözlemiştir. Sistemin toplam enerji grafiğinin kararlı olması da simülasyonun sağlıklı ilerlediğini göstermesi açısından oldukça önemlidir, grafikten görüleceği üzere sistemin potansiyel enerjisi simülasyon süresince neredeyse hiç değişmemiştir. Böylece kenetleme işlemi ile DNA'ya bağlandığı görülen ligandla ilgili bu

sonuç, moleküler dinamik simülasyon tarafından da onaylanmıştır. Deneysel olarak kanser karşıtı özellik gösteren bu molekülün DNA ile nötral pH ve su ortamında kararlı bir kompleks oluşturması beklenmekteydi ve gerçekten de hem kenetleme işlemi hem de moleküler dinamik simülasyonu bu deneysel veriyi desteklemiştir. Böylece parametrelerin doğruluğu hem istatisiksel kararlılık açısından hem de su içindeki deney sonuçlarını desteklemesi açısından kanıtlanmıştır.



Şekil 4.13 DNA, ligand ve DNA-Ligand kompleksi için simülasyon boyunca üretilen RMSD



Şekil 4.14 DNA-Ligand moleküler dinamik simülasyonu için Potansiyel Enerji Grafiği

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Moleküler dinamik simülasyon, bilimsel araştırmalarda son zamanlarda giderek artan bir ilgiye maruz kalmış, özellikle yüz yüze çalışmayı engelleyen pandeminin de etkisiyle bir zorunluluk haline gelmiştir. Dahası ilaç geliştirme çalışmaları için araştırmacılara en ucuz yolu sağlamaktadır. Bununla birlikte, 1970'li yıllardan beri sürekli gelişmesine rağmen hâlâ gelişimini tamamlayamıştır: İyi bilinen organik moleküllerin simülasyonunda oldukça iyi sonuçlar alınmasına karşın yarı metal ve metallerin simülasyonlarında parametre kütüphanesinin azlığından dolayı kullanıcılar sorun yaşamakta ve bu nedenle istenilen verim elde edilememektedir.

Bu çalışma sonucunda daha önce literatürde bulunmayan Amber bor parametreleri, boronatları ve dioksoborolları kapsayacak şekilde iki ayrı kuvvet alanı olarak üretilmiştir. Kuvvet alanlarının hem deneysel yapıları yeniden üretme gücü, hem ısıtma ve simülasyon sırasındaki konformasyonlarının istatisiksel değerleri hem de sulu ortamda DNA ile reaksiyonların simülasyonu sırasındaki enerji kararlılığı test edilmiş ve testler sonucunda başarılı sonuçlar alınmıştır. Her iki kuvvet alanı da rasgele yapılar şeklinde verilen bor bileşiklerini deneysel yapılara oldukça yakın şekilde minimize etmeyi başarmış, ısıtılma işlemi sırasında RMSD değerinin 45 nanosaniye sonunda kararlı bir değere ulaştığı görülmüş, DNA ile yapılan simülasyonlarda ise enerji grafiğinin simülasyon boyunca sabit kaldığı, DNA, ligand ve kompleksin konformasyonlarına ait RMSD grafiklerinin de oldukça stabil olduğu görülmüştür. Kenetleme işlemleri sonrasında başlatılan DNA-ligand simülasyonu sonucunda ligandın DNA içine Autodock4.0 programının önerdiği yerden çok uzaklaşmadan bağlandığı ve deneysel olarak ön görülen sonucu da desteklediği görülmüştür. Tüm bu açılardan üretilen kuvvet alanlarının simülasyonlarda kullanılması halinde başarılı sonuçlar alınacağı, deneysel değerleri oldukça yüksek doğruluk oranıyla tahmin edeceği öngörülmekte ve bu nedenle özellikle bora dayalı ilaç tasarımı konusundaki çalışmalarda ilaç adaylarıyla ilgili çokça seçeneğin varlığı halinde seçenekleri en hızlı ve en ucuz şekilde elemek için burada üretilen kuvvet alanlarının kullanılması tarafımızdan önerilmektedir.

Çalışmanın konusu sadece parametre üretmekle sınırlı kalmamış aynı zamanda literatürde gerçekten çok az bilinen "standart olmayan atomlar için yeni parametre üretme

tekniği" üzerine de Amber kullanıcılarına bilgi kaynağı sağlamıştır. Genel olarak literatürdeki parametre geliştirme aşamaları karbonhidratlar, proteinler, nükleik asitler, lipitler, küçük organik moleküller gibi zaten kuvvet alanı parametrelerine sahip olan ve yükleri bilinen C, H, O, N, S, P atomlardan oluşmuş olup genellikle bunlar üzerine yeniden parametrelendirme ya da optimizasyon çalışmaları yapılmaktadır. Gaff kuvvet alanı çalışmasında bu atom grubu biraz daha genişletilmiş olsa da yeterli değildir. Genellikle standart parametrelendirme işlemlerinde Amber'in kendi içinde varsayılan programlar kullanılmakta olduğundan Amber için standart olmayan bor gibi yarı-metal atom içeren moleküllerin parametrizasyonu konusu ileri düzeydeki kullanıcılar için ile büyük bir problemdir. Örnek vermek gerekirse, standart olan atomlar için RESP yükü hesaplamaları antechamber ya da Chimera gibi programlar üzerinden otomatik olarak yapılmakta, tleap programı da bu tür moleküllerin parametrizasyonu sırasında herhangi bir sorun çıkarmamaktadır. Ancak metaller ya da yarı metaller işin içine girdiğinde standart yollarla parametre üretmek, programların bu atomları tanımamasından ötürü oldukça zor hale gelmektedir. Bununla ilgili olarak literatürde bilgi bulmak da oldukça zordur genellikle metal atomları için yapılan çalışmalarda bağ, açı ve dihedral parametreleri üretmek yerine Lennard-Jones parametreleri tek başına kullanılır. Bu durumda, daha önce yukarıda da anlatıldığı gibi RMSD değerleri aşırı derecede artar ve bu da simülasyonun güvenilirliğinin sorgulanmasına neden olur. Bu nedenle çalışma, standart olmayan atom parametrelerinin nasıl üretileceği konusunda da literatüre önemli bir kaynak sağlamıştır.

Sonuç olarak, bu çalışmada üretilen kuvvet alanları sayesinde flavonoid ile bor bileşiklerinin sentezinden elde edilen dioksoborolların ve doğada bulunan boronatların simülasyonu mümkün hale gelmiştir. Amber için üretilen parametreler daha sonra GROMACS ve Charmm ile uyumlu olacak şekilde yeniden çevrilebileceğinden Amber dışında bu programları kullanan araştırmacıların da parametrelerin bir kısmını ya da kuvvet alanının tamamını kullanabilmeleri mümkündür. Parametreler yalnızca biyolojik simülasyonlar için değil aynı zamanda malzeme bilimi, nano teknoloji simülasyonları da dahil moleküler dinamik simülasyonların kullanıldığı bütün alanlarda kullanılabilir. Hücre içinde borun aldığı görevler aydınlatılabilir ya da tasarlanan yeni bir malzeme ile ilgili erime sıcaklığı, dayanaklılık gibi özellikler de bu parametrelerle modellenebilir.

6. KAYNAKLAR

Albert, D. Z. 1994. Bohm's Alternative to Quantum Mechanics. ***Scientific American***, 270(5), pp. 58–67.

Alder, B. J. ve Wainwright, T. E. 1959. Studies in Molecular Dynamics. I. General Method. ***The Journal of Chemical Physics***, 31(2), pp. 459–466.

Bayly, C. I., Cieplak, P., Cornell, W. ve Kollman, P. A. 1993. A well-behaved electrostatic potential based method using charge restraints for deriving atomic charges: the RESP model. ***The Journal of Physical Chemistry***, 97(40), pp. 10269–10280.

Berendsen, H. J. C., Postma, J. P. M., van Gunsteren, W. F., DiNola, A.,ve Haak, J. R. 1984. Molecular dynamics with coupling to an external bath. ***The Journal of Chemical Physics***, 81(8), pp. 3684–3690.

Betz, R. M. ve Walker, R. C. 2015. Paramfit: Automated optimization of force field parameters for molecular dynamics simulations. ***Journal of Computational Chemistry***, 36(2), pp. 79–87.

Biasini, M., Bienert, S., Waterhouse, A., Arnold, K., Studer, G., Schmidt, T., Kiefer, F. ve ark. 2014. SWISS-MODEL: modelling protein tertiary and quaternary structure using evolutionary information. ***Nucleic Acids Research***, 42(W1), pp. W252–W258.

BIOVIA, D. S. 2019. DS Visualizer 2019. San Diego: Dassault Systèmes.

Born, M. 1926. Zur Quantenmechanik der Stoßvorgänge. ***Zeitschrift für Physik***, 37(12), pp. 863–867.

Case, D.A., Betz, R., Botello-Smith, W., Cerutti, D. S., Cheatham, T. E., Darden, T. A., Duke, R. E. ve ark. 2016. ***Amber 2016***. University of California, San Francisco.

Cerutti, D. S., Rice, J. E., Swope, W. C., Case, D. A. 2013. Derivation of Fixed Partial Charges for Amino Acids Accommodating a Specific Water Model and Implicit Polarization. ***The Journal of Physical Chemistry B***, 117(8), pp. 2328–2338.

Cerutti, D. S., Swope, W. C., Rice, J. E. ve Case, D. A. 2014. ff14ipq: A Self-Consistent Force Field for Condensed-Phase Simulations of Proteins. ***Journal of Chemical Theory and Computation***, 10(10), pp. 4515–4534.

Chen, S., Avakian, H., Burkert, V. D., Eugenio, P., Adams, G., Amarian, M., Ambrozewicz, P. ve

ark. 2006. Measurement of Deeply Virtual Compton Scattering with a Polarized-Proton Target. ***Physical Review Letters***, 97(7), p. 072002.

Christensen, A. S., Kubař, T., Cui, Q. ve Elstner, M. 2016. Semiempirical Quantum Mechanical Methods for Noncovalent Interactions for Chemical and Biochemical Applications. ***Chemical Reviews***, 116(9), pp. 5301–5337.

Cieplak, P., Cornell, W. D., Bayly, C. ve Kollman, P. A. 1995. Application of the multimolecule and multiconformational RESP methodology to biopolymers: Charge derivation for DNA, RNA ve proteins. ***Journal of Computational Chemistry***, 16(11), pp. 1357–1377.

Cornell, W. D., Cieplak, P., Bayly, C. I., Gould, I. R., Merz, K. M., Ferguson, D. M., Spellmeyer, D. C. ve ark. 1995. A Second Generation Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids and Organic Molecules. ***Journal of the American Chemical Society***, 117(19), pp. 5179–5197.

Dans, P. D., Ivani, I., Hospital, A., Portella, G., González, C. ve Orozco, M. 2017. How accurate are accurate force-fields for B-DNA?. ***Nucleic Acids Research***, 45(7), pp. 4217–4230.

Debiec, K. T., Cerutti, D. S., Baker, L. R., Gronenborn, A. M., Case, D. A. ve Chong, L. T. 2016. Further along the Road Less Traveled: AMBER ff15ipq, an Original Protein Force Field Built on a Self-Consistent Physical Model. ***Journal of Chemical Theory and Computation,*** 12(8), pp. 3926–3947.

DeMarco, M. L. ve Woods, R. J. 2008. Atomic-resolution conformational analysis of the GM3 ganglioside in a lipid bilayer and its implications for ganglioside-protein recognition at membrane surfaces. ***Glycobiology***, 19(4), pp. 344–355.

Dickson, C. J., Madej, B. D., Skjevik, Å. A., Betz, R. M., Teigen, K., Gould, I. R. ve Walker, R. C. 2014. Lipid14: The Amber Lipid Force Field. ***Journal of Chemical Theory and Computation,*** 10(2), pp. 865–879.

Dickson, C. J., Rosso, L., Betz, R. M., Walker, R. C. ve Gould, I. R. 2012. GAFFlipid: a General Amber Force Field for the accurate molecular dynamics simulation of phospholipid. Soft Matter, 8(37), p. 9617.

(EBC) EASY BIOLOGY CLASS Different Forms of DNA (A-DNA, B-DNA and Z-DNA) A Comprasion Table With PPT. 2021. Erişim [https://www.easybiologyclass.com/different-forms-of-dna-a-dna-b-dna-and-z-dna-a-comparison-table-with-ppt] Erişim Tarihi: 01.02.2021

Dodda, L. S., Cabeza de Vaca, I., Tirado-Rives, J.ve Jorgensen, W. L. 2017. LigParGen web server: an automatic OPLS-AA parameter generator for organic ligands. Nucleic Acids Research, 45(W1), pp. W331–W336.

Elber, R., Ruymgaart, A. P. ve Hess, B. 2011. SHAKE parallelization. ***The European Physical Journal Special Topics,*** 200(1), pp. 211–223.

Elion, W. J., Matters, M., Geigenmüller, U. ve Mooij, J. E. 1994. Direct demonstration of Heisenberg's uncertainty principle in a superconductor. ***Nature***, 371(6498), pp. 594–595.

Encyclopædia Britannica. 2021. Erişim: [https://www.britannica.com] Erişim Tarihi: 01.01.2021

Fermi E., Pasta J., U. S. 1955. ***Los Alamos Report***. LA-1940.

Gaudreault, F., Chartier, M. ve Najmanovich, R. 2012. Side-chain rotamer changes upon ligand binding: common, crucial, correlate with entropy and rearrange hydrogen bonding. ***Bioinformatics***, 28(18), pp. i423–i430.

Ghosh, J., Marru, S., Singh, N., Vanomesslaeghe, K., Fan, Y. ve Pamidighantam, S. 2011. Molecular parameter optimization gateway (ParamChem). ***Proceedings of the 2011 TeraGrid Conference on Extreme Digital Discovery*** - TG '11 içinde (p. 1). New York, New York, USA: ACM Press.

Gianni Ciofani, V. M. 2016. Boron Nitride Nanotubes in Nanomedicine. Elsevier.

Gibson, J. B., Goland, A. N., Milgram, M. ve Vineyard, G. H. 1960. Dynamics of Radiation Damage. ***Physical Review***, 120(4), pp. 1229–1253.

Haghshenas, H., Tavakol, H., Kaviani, B. ve Mohammadnezhad, G. 2020. AMBER Force Field Parameters for Cobalt-Containing Biological Systems: A Systematic Derivation Study. ***The Journal of Physical Chemistry B*** (Vol. 124).

Halgren, T. A. 1996. Merck molecular force field. I. Basis, form, scope, parameterization ve performance of MMFF94. ***Journal of Computational Chemistry***, 17(5–6), pp. 490–519.

Halgren, T. A. ve Damm, W. 2001. Polarizable force fields. Current Opinion in ***Structural Biology,*** 11(2), pp. 236–242.

Hanwell, M. D., Curtis, D. E., Lonie, D. C., Vandermeersch, T., Zurek, E. ve Hutchison, G. R. 2012. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization and analysis platform. ***Journal of Cheminformatics***, 4(1), p. 17.

Hart, K., Foloppe, N., Baker, C. M., Denning, E. J., Nilsson, L. ve MacKerell, A. D. 2012. Optimization of the CHARMM Additive Force Field for DNA: Improved Treatment of the BI/BII Conformational Equilibrium. ***Journal of Chemical Theory and Computation***, 8(1), pp. 348–362.

Hilder, T. A., Yang, R., Ganesh, V., Gordon, D., Bliznyuk, A., Rendell, A. P. ve Chung, S. H. 2010. Validity of current force fields for simulations on boron nitride nanotubes. Micro and Nano Letters, 5(2), pp. 150–156.

Horn, H. W., Swope, W. C., Pitera, J. W., Madura, J. D., Dick, T. J., Hura, G. L. ve Head-Gordon, T. 2004. Development of an improved four-site water model for biomolecular simulations: TIP4P-Ew. ***The Journal of Chemical Physics***, 120(20), pp. 9665–9678.

Hornak, V., Abel, R., Okur, A., Strockbine, B., Roitberg, A. ve Simmerling, C. 2006. Comparison of multiple Amber force fields and development of improved protein backbone parameters. ***Proteins: Structure, Function ve Bioinformatics***, 65(3), pp. 712–725.

Hu, L., ve Ryde, U. 2011. Comparison of methods to obtain force-field parameters for metal sites. ***Journal of Chemical Theory and Computation***, 7(8), pp. 2452–2463.

Huang, J., Rauscher, S., Nawrocki, G., Ran, T., Feig, M., de Groot, B. L., Grubmüller, H., et al. 2017. CHARMM36m: an improved force field for folded and intrinsically disordered proteins. ***Nature Methods***, 14(1), pp. 71–73.

Hutter, J. ve Curioni, A. 2005. Car-Parrinello Molecular Dynamics on Massively Parallel Computers. ***Chem Phys Chem***, 6(9), pp. 1788–1793.

Izadi, S., Anandakrishnan, R. ve Onufriev, A. V. 2014. Building Water Models: A Different Approach. The Journal of Physical Chemistry Letters, 5(21), pp. 3863–3871.

J.D., B. 1964. The Bakerian Lecture, 1962 The structure of liquids. ***Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences***, 280 (1382), pp. 299–322.

Jaillet, L., Artemova, S. ve Redon, S. 2017. IM-UFF: Extending the universal force field for interactive molecular modeling. ***Journal of Molecular Graphics and Modelling***, 77, pp. 350–362.

Jo, S., Kim, T., Iyer, V. G. ve Im, W. 2008. CHARMM-GUI: A web-based graphical user interface for CHARMM. Journal of Computational Chemistry, 29(11), pp. 1859–1865.

Jorgensen, W. L., Chandrasekhar, J., Madura, J. D., Impey, R. W. ve Klein, M. L. 1983. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. ***The Journal of Chemical Physics,*** 79(2),

pp. 926–935.

Jorgensen, W. L. ve Tirado-Rives, J. 1988. The OPLS [optimized potentials for liquid simulations] potential functions for proteins, energy minimizations for crystals of cyclic peptides and crambin. ***Journal of the American Chemical Society***, 110(6), pp. 1657–1666.

Kar, T. ve Sannigrahi, A. B. 1988. Effect of basis set on Mulliken and Löwdin atomic charges, bond orders and valencies of some polar molecules. ***Journal of Molecular Structure: THEOCHEM***, 165(1–2), pp. 47–54.

Kirschner, K. N., Yongye, A. B., Tschampel, S. M., González-Outeiriño, J., Daniels, C. R., Foley, B. L. ve Woods, R. J. 2008. GLYCAM06: A generalizable biomolecular force field. Carbohydrates. ***Journal of Computational Chemistry***, 29(4), pp. 622–655.

Koziara, K. B., Stroet, M., Malde, A. K. ve Mark, A. E. 2014. Testing and validation of the Automated Topology Builder (ATB) version 2.0: prediction of hydration free enthalpies. ***Journal of Computer-Aided Molecular Design***, 28(3), pp. 221–233.

Kraljevic, S., Stambrook, P. J. ve Pavelic, K. (2004). Accelerating drug discovery. ***EMBO Reports***, 5(9), pp. 837–42.

Kräutler, V., van Gunsteren, W. F. ve Hünenberger, P. H. 2001. A fast SHAKE algorithm to solve distance constraint equations for small molecules in molecular dynamics simulations. ***Journal of Computational Chemistry***, 22(5), pp. 501–508.

Kurt, B. ve Temel, H. 2020. Parameterization of Boronates Using VFFDT and Paramfit for Molecular Dynamics Simulation. ***Molecules***, 25(9), p. 2196.

Kurt, B. ve Temel, H. 2021. Development Of AMBER Parameters For Molecular Dynamics Simulations Of Boron Compounds Containing Aromatic Structure. ***Chemical Physics Letters***,775, p. 138656.

Kurt, B., Temel, H., Atlan, M. ve Kaya, S. 2020. Synthesis, characterization, DNA interaction and docking studies of novel Schiff base ligand derived from 2,6-diaminopyridine and its complexes. ***Journal of Molecular Structure***, 1209, p. 127928.

Larder, B., Gericke, D. O., Richardson, S., Mabey, P., White, T. G. ve Gregori, G. 2019. Fast nonadiabatic dynamics of many-body quantum systems. ***Science Advances***, 5(11), p. eaaw1634.

Li, P. ve Merz, K. M. 2014. Taking into Account the Ion-Induced Dipole Interaction in the

Nonbonded Model of Ions. ***Journal of Chemical Theory and Computation***, 10(1), pp. 289–297.

Li, P., Roberts, B. P., Chakravorty, D. K. ve Merz, K. M. 2013. Rational Design of Particle Mesh Ewald Compatible Lennard-Jones Parameters for +2 Metal Cations in Explicit Solvent. ***Journal of Chemical Theory and Computation***, 9(6), pp. 2733–2748.

Lu, T. ve Chen, F. 2012. Multiwfn: A multifunctional wavefunction analyzer. ***Journal of Computational Chemistry***, 33(5), pp. 580–592.

Mahoney, M. W. ve Jorgensen, W. L. 2000. A five-site model for liquid water and the reproduction of the density anomaly by rigid, nonpolarizable potential functions. ***The Journal of Chemical Physics,*** 112(20), pp. 8910–8922.

Maier, J. A., Martinez, C., Kasavajhala, K., Wickstrom, L., Hauser, K. E. ve Simmerling, C. 2015. ff14SB: Improving the Accuracy of Protein Side Chain and Backbone Parameters from ff99SB. ***Journal of Chemical Theory and Computation***, 11(8), pp. 3696–3713.

Malde, A. K., Zuo, L., Breeze, M., Stroet, M., Poger, D., Nair, P. C., Oostenbrink, C., ve ark. 2011. An Automated Force Field Topology Builder (ATB) and Repository: Version 1.0. ***Journal of Chemical Theory and Computation***, 7(12), pp. 4026–4037.

Marques, H. M., Ngoma, B., Egan, T. J. ve Brown, K. L. 2001. Parameters for the amber force field for the molecular mechanics modeling of the cobalt corrinoids. ***Journal of Molecular Structure***, 561(1–3), pp. 71–91.

Mayne, C. G., Saam, J., Schulten, K., Tajkhorshid, E. ve Gumbart, J. C. 2013. Rapid parameterization of small molecules using the force field toolkit. ***Journal of Computational Chemistry***, 34(32), pp. 2757–2770.

Mayo, S. L., Olafson, B. D. ve Goddard, W. A. 1990. DREIDING: a generic force field for molecular simulations. The Journal of Physical Chemistry, 94(26), pp. 8897–8909.

Michael P. Allen, D. J. T. 2017. ***Computer Simulation of Liquids***. Oxford University Press.

Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S. ve Olson, A. J. 2009. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. ***Journal of Computational Chemistry***, 30(16), pp. 2785–2791.

Naghii, M. R. ve Samman, S. 1997. The effect of boron supplementation on its urinary excretion and selected cardiovascular risk factors in healthy male subjects. ***Biological trace Element Research***,

56(3), pp. 273–86.

Oliver, J. 2013. Force field parameters for the boronate function and their carbonyl complexes and application to modelling boronate esters. ***Journal of Chemical Information and Modeling***, 53(9), pp. 1689–1699.

Otkidach, D. S. Pletnev, I. V. 2001. Conformational analysis of boron-containing compounds using Gillespie - Kepert version of molecular mechanics. ***Journal of Molecular Structure: THEOCHEM***, 536(1), pp. 65–72.

Pande, V. 2013. Protein Folding Studied with Molecular Dynamics Simulation. Encyclopedia of Biophysics. Berlin, Heidelberg: ***Springer Berlin Heidelberg***. pp. 2016–2020

Pavlova, A., Parks, J. M. ve Gumbart, J. C. 2018. Development of CHARMM-Compatible Force-Field Parameters for Cobalamin and Related Cofactors from Quantum Mechanical Calculations. ***Journal of Chemical Theory and Computation***, 14(2), pp. 784–798.

Peters, M. B., Yang, Y., Wang, B., Füsti-Molnár, L., Weaver, M. N. ve Merz, K. M. 2010. Structural Survey of Zinc-Containing Proteins and Development of the Zinc AMBER Force Field (ZAFF). Journal of Chemical Theory and Computation, 6(9), pp. 2935–2947.

Petersen, H. G. 1995. Accuracy and efficiency of the particle mesh Ewald method. ***The Journal of Chemical Physics,*** 103(9), pp. 3668–3679.

Plewczynski, D., Łaźniewski, M., Augustyniak, R. ve Ginalski, K. 2011. Can we trust docking results? Evaluation of seven commonly used programs on PDBbind database. ***Journal of Computational Chemistry,*** 32(4), pp. 742–755.

Price, D. J. ve Brooks, C. L. 2004. A modified TIP3P water potential for simulation with Ewald summation. ***The Journal of Chemical Physics***, 121(20), pp. 10096–10103.

Qi, R., Wei, G., Ma, B. ve Nussinov, R. 2018. Replica Exchange Molecular Dynamics: A Practical Application Protocol with Solutions to Common Problems and a Peptide Aggregation and Self-Assembly Example. ***Methods Mol Biol***., (pp. 101–119).

Rahman, A. 1964. Correlations in the Motion of Atoms in Liquid Argon. ***Physical Review***, 136(2A), pp. A405–A411.

Rappe, A. K., Casewit, C. J., Colwell, K. S., Goddard, W. A., Skiff, W. M. 1992. UFF, a full periodic table force field for molecular mechanics and molecular dynamics simulations. ***Journal of the***

American Chemical Society, 114(25), pp. 10024–10035.

Robertson, M. J., Qian, Y., Robinson, M. C., Tirado-Rives, J., Jorgensen, W. L. 2019. Development and Testing of the OPLS-AA/M Force Field for RNA. ***Journal of Chemical Theory and Computation***, 15(4), pp. 2734–2742.

Roe, D. R., Cheatham, T. E. 2013. PTRAJ and CPPTRAJ: Software for Processing and Analysis of Molecular Dynamics Trajectory Data. ***Journal of Chemical Theory and Computation***, 9(7), pp. 3084–3095.

Samman, S., Naghii, M. R., Wall, P. M. L. ve Verus, A. P. 1998. The nutritional and metabolic effects of boron in humans and animals. ***Biological Trace Element Research***, 66(1–3), pp. 227–235..

Schmidt, M. W., Baldridge, K. K., Boatz, J. A., Elbert, S. T., Gordon, M. S., Jensen, J. H., Koseki, S., ve ark. 1993. General atomic and molecular electronic structure system. Journal of Computational Chemistry, 14(11), pp. 1347–1363.

Shang, X. ve Kröger, M. 2020. Time Correlation Functions of Equilibrium and Nonequilibrium Langevin Dynamics: Derivations and Numerics Using Random Numbers. ***SIAM Review***, 62(4), pp. 901–935.

Sigfridsson, E. ve Ryde, U. 1998. Comparison of methods for deriving atomic charges from the electrostatic potential and moments. ***Journal of Computational Chemistry***, 19(4), pp. 377–395.

Sjöberg, S., Carlsson, J., Ghaneolhosseini, H., Gedda, L., Hartman, T., Malmquist, J., Naeslund, C., ve ark. 1997. Chemistry and biology of some low molecular weight boron compounds for boron neutron capture therapy. ***Journal of Neuro-oncology***, 33(1–2), pp. 41–52.

Skjevik, Å. A., Madej, B. D., Walker, R. C. ve Teigen, K. 2012. LIPID11: A Modular Framework for Lipid Simulations Using Amber. ***The Journal of Physical Chemistry B***, 116(36), pp. 11124–11136.

Smith, D. G. A., Burns, L. A., Sirianni, D. A., Nascimento, D. R., Kumar, A., James, A. M., Schriber, J. B., ve ark. 2018. Psi4NumPy: An Interactive Quantum Chemistry Programming Environment for Reference Implementations and Rapid Development. ***Journal of Chemical Theory and Computation***, 14(7), pp. 3504–3511.

Soteras Gutiérrez, I., Lin, F.-Y., Vanommeslaeghe, K., Lemkul, J. A., Armacost, K. A., Brooks, C. L., MacKerell, A. D. 2016. Parametrization of halogen bonds in the CHARMM general force field:

Improved treatment of ligand–protein interactions. ***Bioorganic & Medicinal Chemistry***, 24(20), pp. 4812–4825.

Steinmann, S. N., Ferreira De Morais, R., Götz, A. W., Fleurat-Lessard, P., Iannuzzi, M., Sautet, P., Michel, C. 2018. Force Field for Water over Pt (111): Development, Assessment ve Comparison. ***Journal of Chemical Theory and Computation***, 14(6), pp. 3238–3251.

Stone, J. E., Phillips, J. C., Freddolino, P. L., Hardy, D. J., Trabuco, L. G., Schulten, K. 2007. Accelerating molecular modeling applications with graphics processors. ***Journal of Computational Chemistry***, 28(16), pp. 2618–2640.

Tafi, A., Agamennone, M., Tortorella, P., Alcaro, S., Gallina, C., Botta, M. 2005. AMBER force field implementation of the boronate function to simulate the inhibition of β-lactamases by alkyl and aryl boronic acids. ***European Journal of Medicinal Chemistry***, 40(11), pp. 1134–1142.

Temel, H. 2020. Investigation of in vitro antioxidant, anticholinesterase, antiurease, antithyrosinase and cytotoxic activities of novel boron containing compounds obtained from 3-methoxy catechol and boronic acid derivatives. phd Thesis, ***Ankara University***, Ankara. 155.

The Cambridge Crystallographic Data Centre (CDCC). 2003. Erişim: [https://www.ccdc.cam.ac.uk] Erişim Tarihi: 05.12.2020

Tian, C., Kasavajhala, K., Belfon, K. A. A., Raguette, L., Huang, H., Migues, A. N., Bickel, J. ve ark. 2020. ff19SB: Amino-Acid-Specific Protein Backbone Parameters Trained against Quantum Mechanics Energy Surfaces in Solution. ***Journal of Chemical Theory and Computation***, 16(1), pp. 528–552.

Vanommeslaeghe, K., Hatcher, E., Acharya, C., Kundu, S., Zhong, S., Shim, J., Darian, E. ve ark. 2009. CHARMM general force field: A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields. ***Journal of Computational Chemistry***, p. NA-NA.

Vanommeslaeghe, K., Raman, E. P. ve MacKerell, A. D. 2012. Automation of the CHARMM General Force Field (CGenFF) II: Assignment of Bonded Parameters and Partial Atomic Charges. ***Journal of Chemical Information and Modeling***, 52(12), pp. 3155–3168.

Vanquelef, E., Simon, S., Marquant, G., Garcia, E., Klimerak, G., Delepine, J. C., Cieplak, P. ve ark. (2011). R.E.D. Server: a web service for deriving RESP and ESP charges and building force field libraries for new molecules and molecular fragments. ***Nucleic Acids Research***, 39 (suppl_2), pp.

W511–W517.

Wang, J. ve Kollman, P. A. 2001. Automatic parameterization of force field by systematic search and genetic algorithms. Journal of Computational Chemistry, 22(12), pp. 1219–1228.

Wang, J., Wang, W., Kollman, P. a ve Case, D. 2001. Antechamber, An Accessory Software Package For Molecular Mechanical Calculations. ***J. Am. Chem. Soc***, 222(2), p. U403.

Wang, J., Wolf, R. M., Caldwell, J. W., Kollman, P. A. ve Case, D. A. 2004. Development and testing of a general amber force field. ***Journal of Computational Chemistry***, 25(9), pp. 1157–1174.

Weiner, P. K. ve Kollman, P. A. 1981. AMBER: Assisted model building with energy refinement. A general program for modeling molecules and their interactions. ***Journal of Computational Chemistry***, 2(3), pp. 287–303.

Wickstrom, L., Okur, A. ve Simmerling, C. 2009. Evaluating the Performance of the ff99SB Force Field Based on NMR Scalar Coupling Data. ***Biophysical Journal***, 97(3), pp. 853–856.

Wollacott, A. M. ve Merz, K. M. 2006. Development of a Parametrized Force Field To Reproduce Semiempirical Geometries. ***Journal of Chemical Theory and Computation***, 2(4), pp. 1070–1077.

Yang, F., Zhu, M., Zhang, J., Zhou, H. 2018. Synthesis of biologically active boron-containing compounds. ***Med.Chem. Comm***, 9(2), pp. 201–211.

Yesselman, J. D., Price, D. J., Knight, J. L., ve Brooks, C. L. 2012. MATCH: An atom-typing toolset for molecular mechanics force fields. ***Journal of Computational Chemistry***, 33(2), pp. 189–202.

Yildirim, I., Stern, H. A., Kennedy, S. D., Tubbs, J. D. ve Turner, D. H. 2010. Reparameterization of RNA χ Torsion Parameters for the AMBER Force Field and Comparison to NMR Spectra for Cytidine and Uridine. ***Journal of Chemical Theory and Computation***, 6(5), pp. 1520–1531.

Yu, W., He, X., Vanommeslaeghe, K. ve MacKerell, A. D. (2012). Extension of the CHARMM general force field to sulfonyl-containing compounds and its utility in biomolecular simulations. ***Journal of Computational Chemistry***, 33(31), pp. 2451–2468.

Zgarbová, M., Otyepka, M., Šponer, J., Mládek, A., Banáš, P., Cheatham, T. E. ve Jurečka, P. 2011. Refinement of the Cornell et al. Nucleic Acids Force Field Based on Reference Quantum Chemical Calculations of Glycosidic Torsion Profiles. ***Journal of Chemical Theory and Computation***, 7(9), pp. 2886–2902.

Zheng, S., Tang, Q., He, J., Du, S., Xu, S., Wang, C., Xu, Y. ve ark. 2016. VFFDT: A New Software

for Preparing AMBER Force Field Parameters for Metal-Containing Molecular Systems. ***Journal of Chemical Information and Modeling***, 56(4), pp. 811–818. Zoete, V., Cuendet, M. A., Grosdidier, A. ve Michielin, O. 2011. SwissParam: A fast force field generation tool for small organic molecules. ***Journal of Computational Chemistry***, 32(11), pp. 2359–23.

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ İNTİHAL FORMU

ÖĞRENCİ BİLGİLERİ	
ADI VE SOYADI	Barış Kurt
ÖĞRENCİ NO	17803501
EĞİTİM – ÖĞRETİM YILI	2020-2021
YARIYIL	☐ Güz ☒ Bahar
ANABİLİM DALI	KİMYA
PROGRAM	Doktora
TEZ KONUSU	Bor Bileşiklerinin İlaç Tasarımı ve Moleküler Modellemesi
İNTİHAL RAPORU BİLGİLERİ	
RAPOR TÜRÜ	Tez Savunma Sınavı Sonrası
SAYFA SAYISI	112
BENZERLİK ORANI	%15
RAPORLAMA TARİHİ	21/05/2021

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın kapak sayfası, giriş, ana bölümler, sonuç ve tartışma kısımlarından oluşan toplam 112 sayfalık kısmına ilişkin, 21/05/2021 tarihinde tez danışmanım tarafından TURNİTİN adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı %15'dir.

Uygulanan filtrelemeler:

☐ Kabul/Onay sayfaları hariç,
☐ Kaynakça hariç
☐ Alıntılar hariç/dâhil
☐ Diğer

Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Programlarda Tez Çalışması İntihal Raporu Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edilmesi durumunda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

(Öğrencinin Adı Soyadı)
Barış KURT (İMZA/TARİH)

Prof. Dr. Hamdi TEMEL **Tez Danışmanı** (İMZA/TARİH)	Prof. Dr. Sait ERDOĞAN **Anabilim Dalı Başkanı** (İMZA/TARİH)

Formdaki bilgiler bilgisayar ortamında doldurulmalıdır. El yazısı ile doldurulan formlar geçersiz sayılmaktadır.