

TOBB EKONOMİ VE TEKNOLOJİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**İLAÇ ADAYLARI İÇİN CHARMM UYUMLU
KUVVET ALANI GELİŞTİRME**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Emre GÜR SOY

Mikro ve Nanoteknoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Nurdan Demirci SANKIR

ARALIK 2018

Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı

.....
Prof. Dr. Osman EROĞUL
Müdür

Bu tezin Yüksek Lisans derecesinin tüm gereksinimlerini sağladığını onaylarım.

.....
Prof. Dr. Hamza KURT
Anabilimdalı Başkan V.

TOBB ETÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 161611016 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Emre GÜRSOY** 'un ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "**İLAC ADAYLARI İÇİN CHARMM UYUMLU KUVVET ALANI GELİŞTİRME**" başlıklı tezi **14.11.2018** tarihinde aşağıda imzaları olan jüri tarafından kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : **Doç. Dr. Nurdan Demirci SANKIR**
TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi

Eş Danışman : **Prof. Dr. Turgut BAŞTUĞ**
Hacettepe Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Dr. Ahmet Nuri AKAY**
TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi

Prof. Dr. Saleh Sultanov
TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi

Dr. Murat ÇAVUŞ
Yozgat BOZOK Üniversitesi

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, alıntı yapılan kaynaklara eksiksiz atıf yapıldığını, referansların tam olarak belirtildiğini ve ayrıca bu tezin TOBB ETÜ Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlandığını bildiririm.

Emre GÜRSOY

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

İLAÇ ADAYLARI İÇİN CHARMM UYUMLU

KUVVET ALANI GELİŞTİRME

Emre Gürsoy

TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Mikro ve Nanoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Nurdan Demirci Sankır

Tarih: Aralık 2018

Maliyetli ilaç geliştirme süreci ve bilgisayar teknolojisinin geliştirilmesi ile, bilgisayar destekli ilaç tasarımı, ilaç geliştirmede popüler hale gelmiştir. Moleküler modelleme, bilgisayar destekli ilaç tasarım sürecinde önemli bir rol oynar. Mevcut Kuvvet Alanları (CHARMM, AMBER, GROMACS, vb.) yeni geliştirilen / gelişen ilaç adaylarının fiziksel özellikleri hakkında bilgi içeren parametre dosyalarına sahip değildir, bu nedenle yeni geliştirilen ilaç adaylarının bilgisayar tabanlı Moleküler Dinamik simülasyonunu gerçekleştirmeleri mümkün değildir. Bu çalışmanın temel amacı, yeni bir ilacın potansiyelini araştırmak için yeni GST-P1 inhibitörü (C19H13N5O5) CHARMM uyumlu Kuvvet Alanı parametrelerini ve daha sonra Moleküler Dinamik Simülasyonunu tanımlamaktır. Enzim inhibitör molekülü kısmen geniş bir yapıya sahip olduğundan, parametrizasyon işleminin sonucu olarak fiziksel bir sonuç elde etmek mümkün değildir, bu nedenle molekül iki küçük (kimyasal olarak dengesiz) partiküllere ayrılır. Her iki molekülde de aynı prosedür tekrarlandı, başlangıç aşamasında moleküler geometri MP2 / 3-21G * seviyesine optimize edildi.

Bu bölümlerde HF / 3-21G * SP enerjisi optimize edilmiş optimizasyon geometrisi kullanılarak hesaplanmış ve molekül ve su molekülü ile etkileşime girebilen kısım hesaplanmış ve daha sonra optimal kısmi yük konfigürasyonu QM / MM fit işlemi ile hesaplanmıştır. Son olarak, bağ ve dihedral terimleri hesaplandı ve CHARMM uyumlu bir Kuvvet Alanı geliştirildi. Oluşturulan Kuvvet Alanının validasyonu Moleküler Dinamik simülasyonu ile elde edildi. Elde edilen kuvvet alanları parametreleri MD simülasyonunda uygulandı. Simülasyon sonuçlarından molekülün stabil olduğu ve RMSD değerinin kabul edilebilir ($<2.0 \text{ \AA}$) değerler içerisinde olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Moleküler dinamik simülasyonu, Kuantum kimyası, Elektronik yapı tayini, Parametrizasyon.



ABSTRACT

Master of Science

DEVELOPING CHARMM COMPATIBLE FORCE FIELDS FOR NOVEL DRUG

CANDIDATES

Emre Gürsoy

TOBB University of Economics and Technology
Institute of Natural and Applied Sciences
Micro and Nanotechnology Science Programme

Supervisor: Doç. Dr. Nurdan Demirci Sankır

Date: December 2018

With the costly drug development process and the development of computer technology, computer aided drug design has become popular in drug development. Molecular modeling plays a major role in the computer aided drug design process. Current Force Fields (CHARMM, AMBER, GROMACS, etc.) do not have parameter files containing information on the physical properties of newly developed / developing drug candidates, so it is not possible for newly developed drug candidates to perform computer based Molecular Dynamics simulation. The main objective of this work is to identify the novel GST-P1 inhibitor (C₁₉H₁₃N₅O₅) CHARMM compatible Force Field parameters, and then Molecular Dynamics Simulation to explore potential for a new drug. Since the enzyme inhibitor molecule has a large structure in part, it is not possible to obtain a physical result as a result of the parametrization process, so the molecule is divided into two small (chemically unbalanced) particles. The same procedure was repeated in both molecules, at the initial stage the molecular geometry was optimized to the MP2 / 3-21G * level.

HF / 3-21G * SP energy is calculated in these parts by using optimized optimizing geometry and the part that can interact with the molecule and water molecule is calculated and then the optimal partial load configuration is calculated by means of QM / MM fit process. Finally, the bond and dihedral terms were calculated and a CHARMM compatible Force Field was developed. The validation of the generated Force Field is achieved by Molecular Dynamics simulation. According to the acceptable RMSD value ($<2.0 \text{ \AA}$) obtained from simulation, it is seen that molecule is stable.

Keywords: Molecular dynamics, Quantum chemistry, Electronic structure calculations, Parametrisation.



TEŞEKKÜRLER

Tez çalışması sırasında beni yönlendiren, gerek akademik gerekse insani tecrübelerinden yararlanmama olanak sağlayan değerli tez danışmanım Prof. Dr. Turgut BAŞTUĞ'a, karşılaştığım sorunlarda tecrübeleri ile yardımlarını esirgemeyen Dr. Anna PAVLOVA'ya, güler yüzü ve desteği ile motivasyonumu yükselten Dr. Murat KILIÇ'a, çalışma sürecinde yardımlarını esirgemeyen çalışma grubumuzdan Dr. Murat ÇAVUŞ ve Esra KÖRPE' ye. Grup çalışması ve yardımlaşmanın en iyi örneğini sergileyen arkadaşlarım, Bilal CANTÜRK, Ali Can CANBAY, Dr. Bora KETENOĞLU, Ümit KAYA ve Furkan TÜRKER'e. Tez çalışması esnasında gereken desteği benden esirgemeyen değerli arkadaşlarım Çağrı KÖSE ve Baha BÖRÜ'e. Tüm desteği ile her zaman koşulsuz yanımda olan annem Güllizar, babam Mesut ve kardeşim Nazlı'ya. Kız arkadaşım Ceren'e ve son olarak da TOBB ETÜ'e burs sağlayıp bu araştırmaya olanak sağladığı için SONSUZ TEŞEKKÜRR.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜRLER.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ	x
TABLO LİSTESİ.....	xi
KISALTMALAR.....	xii
SEMBO LİSTESİ.....	xiii
1. GİRİŞ	1
2. MOLEKÜLER DİNAMİK.....	3
2.1 Teori	4
2.2 Kuvvet Alanları.....	4
2.3 Bağ Açısı ve Uzunluğu Terimi.....	6
2.4 Dihedral Terimi.....	6
2.5 Improper Terimi.....	7
2.6 Bağlı Olmayan Terimler.....	8
3. KUVVET ALANI PARAMETRİZASTONU	11
3.1 Eksik Parametrelerin Bulunması	13
3.2 Geometri Optimizasyonu	15
3.3 Yük Optimizasyonu	16
3.4 Bağ ve Açı Optimizasyonu.....	20
3.5 Dihedral Teriminin Optimizasyonu	22
4. KUVVET ALANI VALİDASYONU	25
5. SONUÇ VE TARTIŞMA.....	27
KAYNAKLAR.....	28
EKLER.....	30
ÖZGEÇMİŞ.....	42

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1 : Kuvvet Alanında bulunan bağlı terimler.....	5
Şekil 2.2 : Tek, çift ve üçlü bağa karşılık gelen potansiyel grafiği	6
Şekil 2.3 : n = 1, 2, 3 katlılığa sahip dihedral teriminin potansiyeli.....	7
Şekil 2.4 : Improper terimini oluşturan atomlar	8
Şekil 2.5 : Lennard-Jones Potansiyel.....	9
Şekil 3.1 : Parametrizasyon Akış Şeması	12
Şekil 3.2 : CRN molekülünün büyük kısmının geometri optimizasyonu öncesi ve sonrası	15
Şekil 3.3 : Bağlanma bölgesinde bulunan su molekülü	16
Şekil 3.4 : Fitting işleminde kullanılan objektif fonksiyonun bağ mesafesi (b) ve dipol teriminin (a) RMSD değerleri içeren şekil.....	19
Şekil 3.5: Fitting işleminde kullanılan objektif fonksiyonun sadece bağlanma enerjisi kısmının (a) ve tamamının (b) RMSD değerleri	19
Şekil 3.6 : Dihedral optimizasyonu sonucunda elde edilen konformasyon uzayına karşı potansiyel.....	24
Şekil 4.1 : Sistemin 1/yoğunluğunun zaman bağlı değişimi	26
Şekil 4.2 : CRN molekülünün constraintler kaldırıldıktan sonraki	26
ŞekilEk 1.1 : Modellenen molekülün 3B yapısı	31
ŞekilEk 1.2 : Molekülün CHARMM formatında isimlendirilmesi	31

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 3.1 : CRN molekülüne ait CGenFF çıktısı	14
Çizelge 3.2 : Moleküle ait farklı bağlanma bölgeleri için hesaplanmış bağlanma enerjisi ve bağ mesafesi	20
ÇizelgeEk 2 : Atomların CHARMM uyumlu atom tipleri ve yükleri	32
ÇizelgeEk 3.1 : Tekli bağ yapan atomlar	34
ÇizelgeEk 3.2 : Çift bağ yapan atomlar	34
ÇizelgeEk 3.3 : Improper bağ yapan atomlar	34
ÇizelgeEk 4 : Atomların bağ gerilmesi sabiti ve denge mesafesi	35
ÇizelgeEk 5 : Atomların bağ açısı sabiti ve denge açısı	36
ÇizelgeEk 6 : Atomların dihedral bağı sabiti, katlılık terimi ve faz açısı	38
ÇizelgeEk 7 : Atomların van der walls yarıçapları ve lennard-jones parametresi ...	41

KISALTMALAR

GST	: Glutatyon S-Transferaz
FF	: Force Field
CHARMM	: Chemistry at Harvard Macromolecular Mechanics
AMBER	: Assisted Model Building with Energy Refinement
GROMACS	: GRoningen Machine for Chemical Simulations
TIP3	: Transferable İntermolecular Potential with 3 points
NMR	: Nuclear Magnetic Resonance
MD	: Moleculer Dynamics
RESP	: Restirected Electrostatic Potential
MM	: Moleculer Mechanics
QM	: Quantum Mechanics
VMD	: Virtual Moleculer Dynamics
NAMD	: Nanosclae Moleculer Dynamics
HF	: Hartree Fock
MP2	: Moller Plesset 2
PES	: Potential Energy Surface
PED	: Potential Energy Distribution
SP	: Single Point
ffTK	: force field Tool Kit
GAFF	: General Amber Force Field
CGenFF	: CHARMM General Force Field
NPT	: Sabit parçacık sayısı, basınç ve sıcaklık
NVT	: Sabit parçacık sayısı, hacim ve sıcaklık
PDB	: Protein Data Bank
PSF	: Protein Structure File
RTF	: Residue Topology File
RMSD	: Root Mean Square Seviation
COM	: Center of Mass
LJ	: Lennard-Jones
CADD	: Computer Aided Drug Design

SEMBOL LİSTESİ

Bu çalışmada kullanılmış olan simgeler açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

m	Kütle
F	Kuvvet
a	İvme
r	Konum
t	Zaman
V	Potansiyel Enerji
k	Esneklik sabiti
θ, φ	Açı
q	Elektrik yükü
ϵ_0	Boşluğun elektriksel geçirgenliği
ϵ	Tam derinlik
P	Momentum
K_d	Bozunma Sabiti
R	Yarıçap
N_A	Avogadro Sayısı
T	Sıcaklık
k_B	Boltzmann sabiti

1. GİRİŞ

Glutasyon S-Transferazlar (GST) [1], insan vücudunda bulunan ve detoksifikasyon işleminde büyük bir rol oynayan enzim ailesidir. Birçok hidrofobik ve elektrofilik bileşiğin indirgenmiş glutasyon ile konjügasyonunu katalize ederek detoksifikasyon işlemini gerçekleştirirler. GST'ler umut verici bir terapötik hedef olarak ortaya çıkmıştır çünkü spesifik izozimler çok çeşitli tümörlerde aşırı derecede sentezlenmektedir ve nörodejeneratif hastalıklar, multipl-skleroz ve astım dahil olmak üzere hastalıklarda rol oynayabilirler. GST inhibitörleri, anti kanser ilaçları arasında direnç gelişimi için umut verici terapötik ajanlar olarak ortaya çıkmaktadır. Moleküler dinamik (MD) simülasyonu biyolojik sistemlerin yapısını incelemek için kullanılabilecek güçlü bir araç niteliği taşımaktadır [2]. Moleküler dinamik simülasyonunda sistem; onu oluşturan moleküllerin ampirik potansiyel enerjileri vasıtası ile tanımlanmaktadır, ampirik potansiyeller genelde kuantum kimyasal hesaplar yahut deneysel ölçüm metotları kullanılarak elde edilir. Sistemin fiziksel özelliklerini izah eden parametrelere genellikle kuvvet alanı (Force Field) denilmektedir. Bilinen biyolojik sistemlerin kuvvet alanları halihazırda bulunmaktadır: ör, AMBER [3], CHARMM [4], GROMOS [5] ancak yeni geliştirilen ilaç adayları için fiziksel özelliklerinin tanımlı olduğu kuvvet alanları hazırda bulunmamaktadır. Bu durumda kuvvet alanları mevcut olan kuvvet alanı parametrelerinden yahut ab-initio hesaplamalardan türetilmektedir. Kuvvet alanı oluşturmak karmaşık ve zaman alan bir işlem olup bu işlemi otomatik yapan bazı araçlar mevcuttur: örneğin CHARMM General FF (CGenFF) [6], General AMBER FF (GAFF) [7].

Kuvvet Alanları, bağlı ve bağlı olmayan parametrelerin hesaplanma prosedürlerine göre farklılık göstermektedir. Değişik kuvvet alanları arasındaki önemli farklılıklardan biri, atomların yükünü tahin etmek için kullanılan metotlardır. AMBER kuvvet alanında (FF) [8] sistemin elektrostatik yüzey potansiyeli vasıtasıyla hesaplanırken CHARMM kuvvet alanında (FF) yük parametrizasyon işlemi incelenen molekülün

TIP3P su molekülüyle kuantum kimyasal etkileşim enerjisinden elde edilmektedir. Bu tez çalışmasında kuvvet alanı parametreleri bilinmeyen ilaç adayı olabilecek bir kimyasal N-[(8E)-7-hydroxy- 2H,3H,8H-[1,4]dioxino[2,3-f]indol-8-ylidene]-4-oxo-3,4-dihydrophthalazine-1carbohydrazide (C₁₉H₁₃N₅O₅) için CHARMM kuvvet alanı parametrelerine uyumlu kuvvet alanı parametreleri geliştirilmiştir.

Bu kimyasal Hacettepe Üniversitesi TIP Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında gerçekleştirilen Dr. Deniz CEYLAN 'ın “Yapı-temelli ilaç tasarım yöntemleriyle glutatyon S-trasferaz P1 spesifik özgün inhibitörlerinin geliştirilmesi ve kinetik çalışması” başlıklı doktora tez çalışmasından elde edilmiştir. Bu tezin ana hatları, Moleküler Dinamik (MD) simülasyonlar ve MD simülasyonlarında kullanılan kuvvet alanı parametrelerinin tanıtılması; eksik kuvvet alanı parametrelerinin (kısmi yükler, bağ, açı ve dihedral) kuantum kimyasal yöntemler kullanılarak CHARMM kuvvet alanı parametrelerine uygun şekilde türetilmesinin izahı şeklindedir. Bu tezde üretilen kuvvet alanları GSTP-1 inhibitörü olarak seçilen “N-[(8E)-7-hydroxy- 2H,3H,8H-[1,4]dioxino[2,3-f]indol-8-ylidene]-4-oxo-3,4-dihydrophthalazine-1carbohydrazide” C₁₉H₁₃N₅O₅ kimyasalı içindir.

2. MOLEKÜLER DİNAMİK

Bir proteinin fonksiyonları, en genel anlamda üç boyutlu (3B) yapısıyla ilişkilidir. Her ne kadar üç boyutlu yapı bilgisini veren çok sayıda metot bulunsada biyolojik moleküllerin üç boyutlu yapısı yüksek çözünürlükle üç temel yolla tayin edilebilir: X ışınları kristalografisi ve Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Spektroskopisi. Bunun yanında son yıllarda geliştirilen “Cryogenic electron microscopy” (Cryo-EM) [9] yöntemi de sıklıkla kullanılan yapı tayin yöntemleri arasındadır. Üç boyutlu (3B) yapısı elde edilen proteinler, protein veri bankasına aktarılarak araştırmacılarla paylaşılır. Üç boyutlu yapısı olan biyomoleküller moleküler dinamik simülasyonları gibi tekniklerle dinamik bir şekilde incelenerek yapıların fonksiyonel özellikleri araştırılabilir.

Moleküler sistemlerin simülasyonları, atomistik etkileşimlerin tanımlanmasına göre iki temel sınıfta incelenebilir. Birinci sınıfta kuantum mekaniksel (QM) simülasyonlar vardır. Bu sınıfta hesaplamalara elektronlarda dahil edilir ve sistemin enerjisi Schrodinger denklemi çözülerek elde edilir. İkinci sınıfta moleküler mekanik (MM) vardır. Bu sınıfta sadece atom çekirdeği göz önüne alınarak, hareket ve atomların etkileşimleri klasik fizik çerçevesinde incelenir. Biyolojik makromoleküller ile çalışıldığında atom sayılarının artması beraberinde hesaplama gücünün de artması gerekliliğini doğurur. Bu tür sistemlerin kuantum mekaniksel hesaplamaları mevcut bilgisayar teknolojisi ile mümkün değildir. Bu tür sistemleri incelemek için klasik fizik çerçevesiyle gerçekleştirilen moleküler dinamik simülasyonları yapılmaktadır.

Moleküler Dinamik (MD), atomların hareketlerini inceleyen bir simülasyon türüdür. Bu teknikte başlangıçta belirli konumlarda bulunan atomların etkileşimine izin verilip, Newton hareket denklemleri çözülerek belirli bir zaman dilimi sonrasında atomların yeni koordinatları hesaplanır. Böylece atomların davranışları zamana bağlı olarak görülebilir. Bu tür bir simülasyonu gerçekleştirmek için ilk gerekli bilgi atomların ilk konumları yani kristal yapısıdır. Eğer ilk başlangıç yapısı mevcut ise sonraki gereklilik bir etkileşim potansiyelidir. Bu potansiyel atomların hangi etkileşimler göz önüne

alınarak hareket ettiğini belirler. Etkileşim potansiyelini tanımladıktan sonra son gereklilik oluşan yeni durumları üretecek bir algoritmadır. Newton hareket denklemleri her bir atom için çözülür ve yeni konumlarının belirlenmesiyle moleküler dinamik simülasyonları gerçekleştirilir. Burada tanımlanan etkileşim potansiyeli genellikle kuvvet alanı olarak isimlendirilir.

2.1 Teori

Moleküler dinamik simülasyonlarında, N tane atomun zaman içerisinde devinimini incelemek için Newton'ın ikinci hareket yasasının her bir atom için çözülmesi gerekir (Denklem 1). Bu yasa sistemde bulunan herhangi bir atom için,

$$\mathbf{F}_i = m_i \cdot \mathbf{a}_i = m_i \frac{d^2 \mathbf{r}_i}{dt^2} \quad (2.1)$$

şeklinde yazılabilir. Bu ifadede i numaralı atoma etki eden net kuvvet (\mathbf{F}_i), şeklinde tanımlanabilir. Denklem 2.2, sistemin toplam potansiyel enerji fonksiyonunun (V) atomların konumuna göre değişiminden, atomlara etki eden kuvvetin tayin edilebileceğini söylenir.

$$\mathbf{F}_i = -\nabla_i V(\mathbf{r}_1, \dots, \mathbf{r}_N) \quad (2.2)$$

Bu nedenle sistemin toplam potansiyel enerji fonksiyonu tanımlanırsa herhangi bir t anında konumu bilinen bir atomun Δt kadarlık bir süre sonra nerede olacağı hesaplanabilir. Atomistik bir simülasyonda en hızlı hareket modu hidrojenin bağ titreşim hareketidir. Bu nedenle hidrojenin hareketini de simülasyona dahil etmek için Δt zaman aralığı 1 - 2 femtosaniye (fs) olarak sınırlıdır.

2.2 Kuvvet Alanları

Bir sistemin zaman içerisindeki değişimini atomik çözünürlükte incelemek için o sisteme ait toplam potansiyel enerji fonksiyonuna ihtiyaç duyulmaktadır. Bu tez çalışmasında sadece 1'nci dereceden etkileşimleri içeren ve polarizasyon terimi bulundurmeyen "Class-1 kuvvet alanı kullanıldı. Class-1 [10] kuvvet alanlarında 1-3 etkileşimleri ve çapraz terimler bulunmamaktadır. Class-1 kuvvet alanlarında bulunan

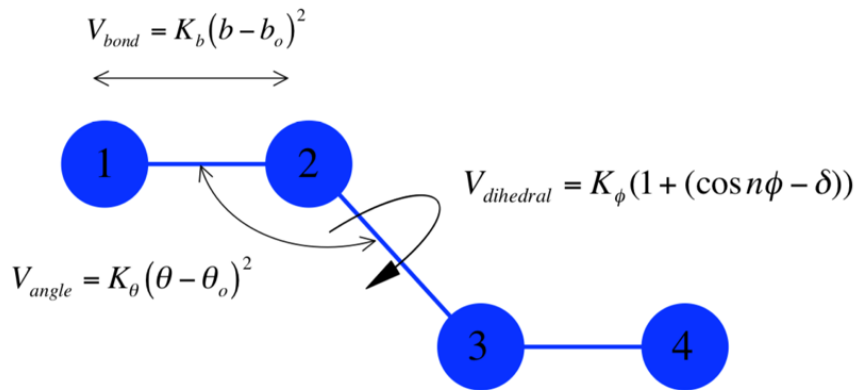
etkileşme terimleri Denklem 2.3 ve Şekil 2.1 de verilmiştir. Bu kuvvet alanı bağlı (1-5. Terim) ve bağlı olmayan (6 ve 7. Terim) etkileşimlerden oluşmaktadır.

Bağlı etkileşimlerde harmonik yaklaşımlar kullanılırken bağlı olmayan etkileşimler van-der Waals ve elektrostatik etkileşimlerinden oluşmaktadır.

Denklemden ilk beş terimde verilen K_b , K_θ , K_ϕ ve K_ω kuvvet sabitleri sırasıyla bağ gerilmesi, bağ açısı esnemesi, dihedral açısı, improper açısına karşılık gelen terimlerdir. Denge değerleri ise sırasıyla b_0 , θ_0 , ω_0 terimlerinden oluşmaktadır.

$$V = \sum_{\text{bonds}} K_b (b - b_0)^2 + \sum_{\text{angles}} K_\theta (\theta - \theta_0)^2 + \sum_{\text{dihedrals}} K_\phi (1 + \cos(n\phi - \delta)) + \sum_{\text{impropers}} K_\omega (\omega - \omega_0)^2 + \sum_{\text{nonbonded}} \epsilon \left[\left(\frac{R_{\text{min},ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - 2 \left(\frac{R_{\text{min},ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \quad (2.3)$$

Şekil 2.1 de bağlı etkileşimler: bağlar (1-2), bağ açıları (1-3), dihedral açıları (1-4) ve improper açıları içeren terimlerden oluşmaktadır. Bağlar, bağ açıları ve improper terimleri harmonik yaklaşım ile hesaplanırken dihedral terimi çok katlı simetrik yapısından ötürü trigonometrik bir fonksiyon olarak tanımlanmıştır. Aşağıdaki bölümlerde her bir potansiyel terimi ve bu terimlere ait parametrelerin elde edilmiş yöntemleri açıklanacaktır.

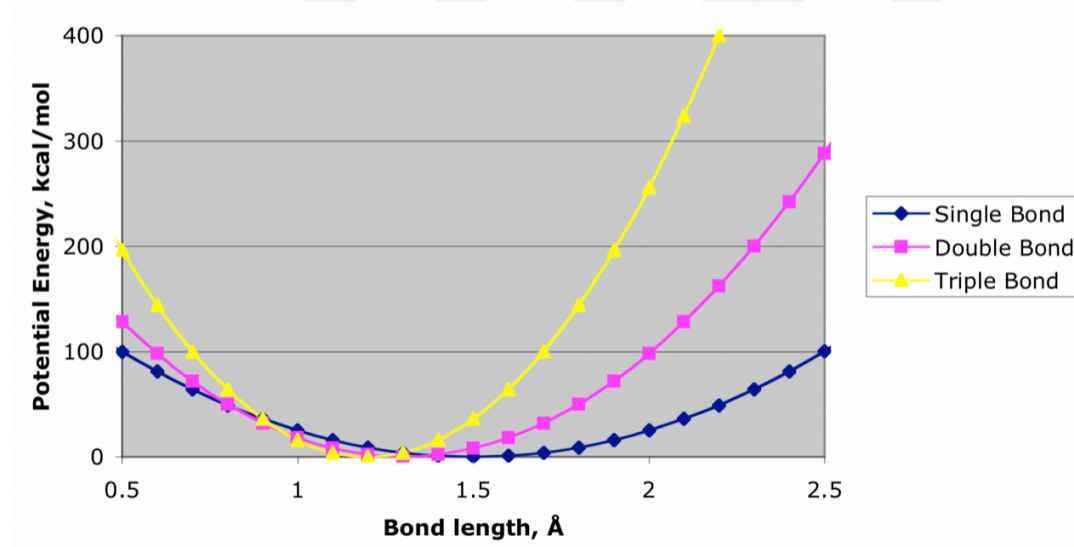


Şekil 2.1 : Kuvvet Alanında bulunan bağlı terimler

2.3 Bağ Açısı ve Uzunluğu Terimi

Kuvvet alanında bulunan bağ uzunluğu ve bağ açısı terimleri Denklem 2.4 tekrar verilmiştir. Burada K_b , K_θ sırasıyla bağ uzamasına ve bağ açısı bükülmesine karşılık gelen kuvvet sabitleridir; b_0 , θ_0 ise diğer etkileşimler sıfırlandığı takdirde bağ uzunluğu ve bağ açısına karşılık gelen sabitlerdir. Bu noktada dikkat edilmesi gereken husus bu sabitlerin varsayımsal olduğudur ve minimum potansiyel enerjiye karşılık gelen bağ uzunluğu ve bağ açısı olma zorunluluğu yoktur. Kuvvet alanlarında bağlı terimlerde en yüksek katkı bağ uzunluğundadır. Şekil 2.2 de tek, çift ve üç bağ yapan iki atom için bağlanma potansiyelleri verilmiş olup bu potansiyeller farklılıklar gösterirken (C-C bağı 100 kcal/mol/A², 1.5Å; C=C bond 200 kcal/mol/A², 1.3Å, C=C 400 kcal/mol/A²) bağlanma minimumunda her biri için harmonik yaklaşım rahatlıkla kullanılabilir.

$$V_{\text{bonds}} = K_b (b - b_0)^2 ; V_{\text{angles}} = K_\theta \quad (2.4)$$



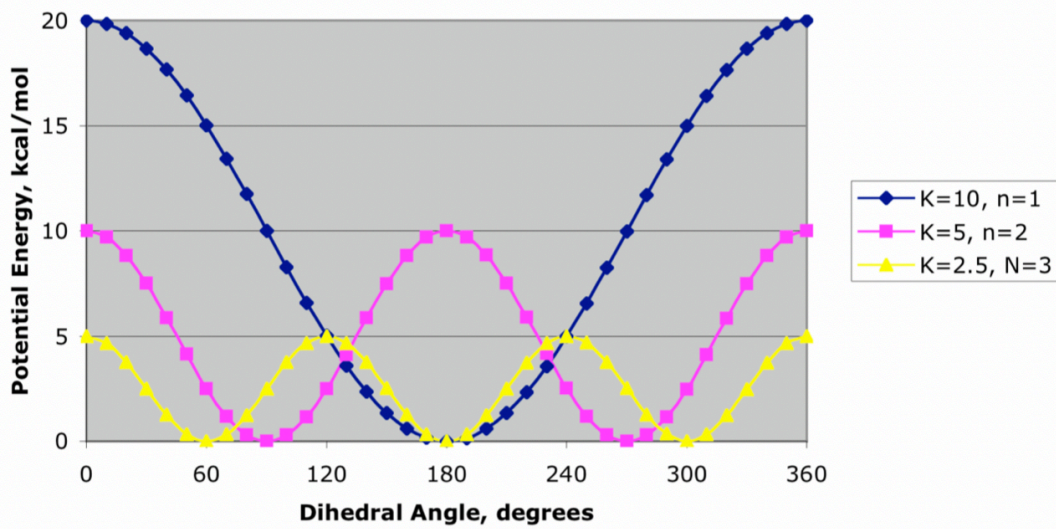
Şekil 2.2 : Tek, çift ve üçlü bağa karşılık gelen potansiyel grafiği

2.4 Dihedral Terimi

Kuvvet alanlarındaki bağlı terimlerden dihedral terimi Denklem 2.5 de tekrar verilmiştir. Bu denklemde ϕ torsiyon dönme açısı, n çok katlılık, δ ise faz sabitidir. K_ϕ kuvvet sabiti ise incelenen çok katlılıkta ait torsiyon TIP3P su molekülüyle kuantum

kimyasal etkileşim enerjisinden elde edilmektedir. on profilinde bariyer yüksekliğinin yarısı olarak hesaplanmaktadır. Çok katlılık, dihedral açısının 360° dönmesi halinde oluşacak potansiyel minimumu sayısına karşılık gelmektedir. Faz sabiti torsiyonel minimum noktasının hangi açı değerinde gerçekleştiği bilgisini verir. Şekil 2.3 n=1, 2 ve 3 katlı dihedral potansiyeller farklı kuvvet sabitleri için gösterilmiştir. Örneğin, tek bağ yapmış iki adet sp^3 karbon atomunun torsiyon profilini incelediğimizde $n = 3$ ve $\delta = 0^\circ$ alındığında 3 adet simetrik potansiyel minimumu bulunmaktadır ve potansiyel minimumlar $+60^\circ$, -60° ve 180° de bulunmaktadır (Şekil 2.3 sarı eğri).

$$V_{\text{dihedral}} = K_{\phi} (1 + \cos(n\phi - \delta)), \quad K_{\phi} = \frac{V_n}{2}$$



Şekil 2.3 : n = 1, 2, 3 katlılığa sahip dihedral teriminin potansiyeli

Çift bağ yapan iki adet sp^2 atomu arasında $n = 2$ ve $\delta = 180^\circ$ olduğu takdirde potansiyel minimumlar, 0° ve 180° de bulunmaktadır (Şekil 2.3 pembe eğri). Çift bağ yapmış olmaları potansiyel bariyeri yüksekliğini de arttırmaktadır ve daha yüksek bir K_{ϕ} değerine sahip olacakları anlamına gelmektedir. Kompleks torsiyonel potansiyeller basit torsiyon terimlerin süper pozisyonları alınarak hesaplanabilir.

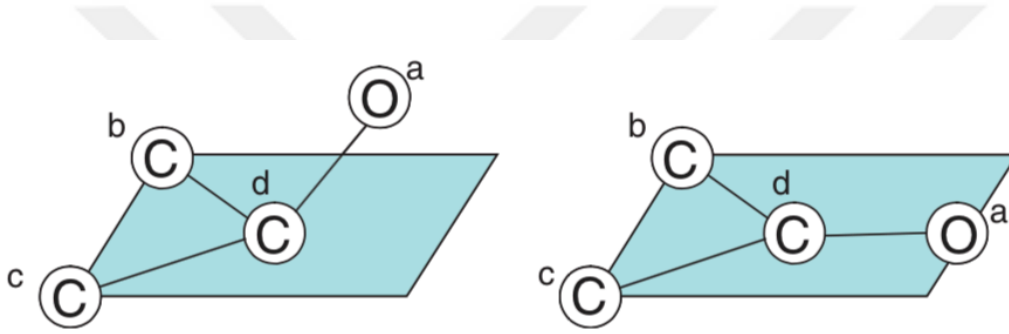
2.5 Improper Terimi

Kuvvet alanında bulunan düzlem dışı burulma (Improper) terimi (Denklem 2.6) molekülün gerçek geometri yada atomların kiralite (chirality) simetrisini seçmek için kullanılır. Improper etkileşmenin olduğu dörtlü sistemde atomlardan biri diğer üç

atomla kovalent etkileşim içindedir. Improper terimini Şekil 2.4 kullanarak açıklayabiliriz.

$$V_{\text{improper}} = K_w (w - w_0)^2 \quad (2.6)$$

Şekil 2.4'de, C₄H₆O (cyclobutanone) hidrojenleri çıkarılmış hali bulunmaktadır. Burada düzlemde d numarası ile verilen C atomu düzlemdeki diğer iki C atomu ve düzlem dışındaki O atomu ile kovalent etkileşimdedir. C-C-O bağının 120° olması gerekmektedir, bu açı değerine dihedral potansiyel terimi ile ulaşılamaz. Bunun nedeni atomların sıralı halde olmamasıdır. O halde istenilen sonuca ulaşmak adına bu 4 atomu de içeren zahiri bir dihedral terimi ekleyebiliriz (d-c-b-a). Dihedralin faz açısını $\delta = 0^\circ$ aldığımız takdirde düzlemselliği yakalamış oluruz.



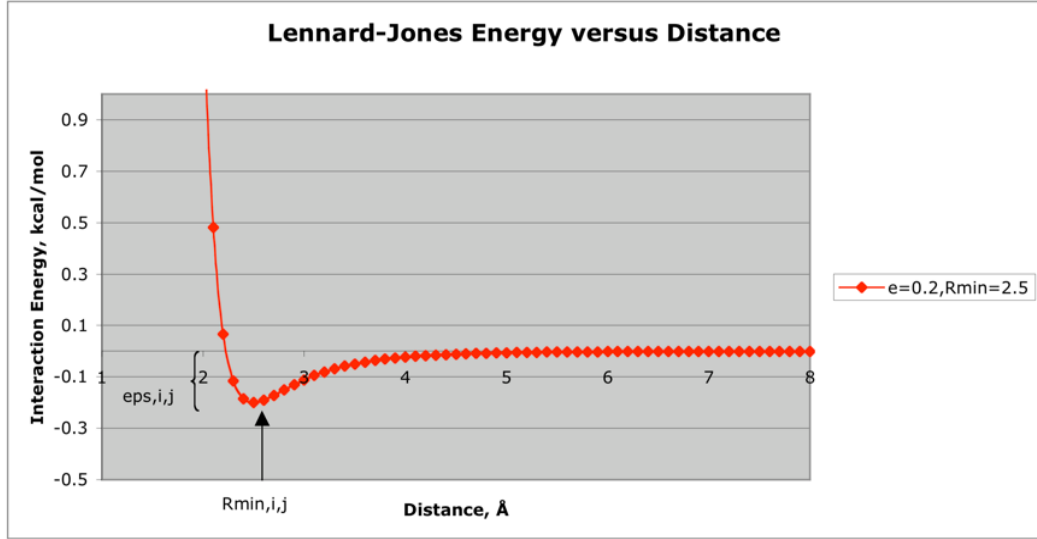
Şekil 2.4 : Improper terimini oluşturan atomlar

Düzlemsel yapıyı elde etmenin bir başka yolu ise d-c-b atomların oluşturduğu düzlem ile d-a bağı arasında bulunan açının değiştirmek vasıtası ile yapılabilir, harmonik bir yaklaşım altında düzlem dışı burulmayı eklemek istediğimiz takdirde kuvvet alanına yeni bir terim eklemek gerekmektedir ve bu durum tercih edilmemektedir

2.6 Bağlı Olmayan Terimler

Bağlı olmayan etkileşimlerde atomlar arası oluşan elektrostatik etkileşimlerden ve Lennard-Jones teriminden gelir. Lennard-Jones terimi düşük basınçlardaki gaz modeli için tanımlanabilir. Atomlar arasında oluşan çekme ve itme kuvvetinin bütünüdür. Çekme kuvveti London Dispersion bağıntısından gelmektedir, elektron dağılımındaki dalgalanmalar nedeniyle atomlardaki karşı atomda bir dipol indükler ve bu sayede dipol-dipol çekimi oluşur. İtme kuvveti ise elektronların orbital örtüşmesi nedeni ile birbirini itmesinden kaynaklanır.

Pauli dışarlama ilkesi. Bu iki kuvvetin birleşimi ile oluşan potansiyele Lennard-Jones potansiyeli denir Şekil 2.5. Yüklü iki parçacık arasındaki etkileşimler ise yüklerinden dolayı kuvvet alanına elektrostatik etkileşim şeklinde aktarılır.



$$\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{R_{\min,ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - 2 \left(\frac{R_{\min,ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right]$$

Şekil 2.5 : Lennard-Jones Potansiyel



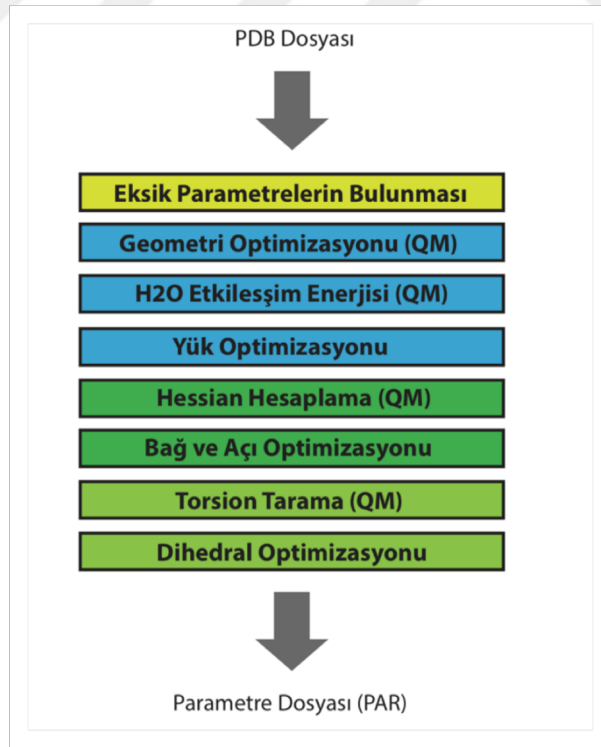
3. KUVVET ALANI PARAMETRİZASTONU

Biyolojik sistemler dinamik olarak incelenmek istenildiğinde moleküler dinamik simülasyonun tutarlı sonuç vermesi için birkaç temel niteliğe sahip olması gerekmektedir. Bu temel gereksinimler, zaman aralığının kısıtlı olması, incelenen sistemin çok büyük olmaması ve biyolojik sistemin moleküler yapısının düzgün çıkarılması. İlk iki özellik kullanılan bilgisayar sisteminin donanımsal özellikleri ve yazılıma bağlı ilken sonucusu biyolojik sistemin moleküler tanımının hassasiyetine bağlıdır. Moleküler tanımın doğru olması düzgün bir kuvvet alanını ile ilişkilidir. Günümüzde kuvvet alanı geliştirmeye çalışanların odak noktalarından biri polarizasyonu eklemektir [11].

Moleküler Dinamik simülasyonun temel kısıtlarından biride yeni geliştirilen ilaç adayları için otomatik hassas ve uygulanabilir bir kuvvet alanı geliştirme prosedürünün olmamasıdır. Küçük moleküller, büyük biyomoleküllerin aksine kimyasal ve yapısal özellikleri açısından çok büyük farklılık göstermektedir. Örneğin insan genomu ~ 25,000 civarında protein kodlamaktadır, tek bir parametre setinin bütün sistemi nitelendirmesi mümkün değildir. Parametrizasyon sıkıntısını aşmanın bir yolu spesifik moleküllere ilişkin bir kuvvet alanı oluşturma sistemi kurmaktır. General Amber Force Field (GAFF) ve CHARMM General Force Field (CGenFF) sadece küçük biyolojik moleküllerin kuvvet alanını geliştirmek için oluşturulmuş yazılımlardır. Geliştirilmiş olan bu araçlar incelenen biyomolekülün eksik parametrelerini hali hazırda bulunan kuvvet alanlarından çekerek bulmaktadır. Büyük moleküller için genellikle doğru sonuç veren bir prosedür değildir. Ab-initio metotlardan faydalanılarak molekül spesifik kuvvet alanı oluşturan bazı paket programlar mevcuttur; bunlardan en çok kullanılanı Amber FF uyumlu Antechamber ve CHARMM FF uyumlu ParamChem [12] serveridir. ParamChem serveri makromoleküllerin FF tayin etmek için kullanılabilir bir kaynak değildir.

Bunun nedeni makromoleküllerin kompleks yapısıdır. Çizelge 2.1 de ParamChem çıktısı verilmiştir. Burada büyük biyomoleküllerin yüksek hata skoruna sahip olduğu

gözükmektedir. Ayrıca CHARMM uyumlu moleküler kuvvet alanının yük terimini tayini için kullanılacak moleküler geometriye ait kısıtlanmış elektrostatik potansiyel veya yük teriminin direk QM hesaplarından (Millikan yükü) çıkarılmasının doğru sonuç vermediği gözlenmiştir. Gerek AMBER [13] gerekse CHARMM kuvvet alanlarında otomatize edilmiş prosedürler bulunsa da bunların kullanılması doğru sonuçlar vermeyebilir. Yukarıda belirtilen nedenlerden ötürü, FF oluşmak için otomatize edilmiş yazılım kullanmak yerine kuantum kimyası kullanılarak her sistem için özel FF geliştirmek daha sağlıklı sonuç vermektedir. FF geliştirme için kullanılan metodoloji ve izlenecek adımları Şekil 2.5’de gözükmektedir. MD simülasyonlarımızda NAMD kodunu kullanmaktayız ve bu kod CHARMM kuvvet alanını kullanmaktadır. Bu çalışmada NAMD [14] grubunun geliştirdiği CHARMM uyumlu ffTK eklentisi kullanılarak kuvvet alanı parametreleri geliştirilmiştir. ffTK [15], [16] eklentisinde Şekil 2.5 te verilen şemaya uygun yol izlenmektedir. Parametrizasyon işlemi mevcut kuvvet alanlarından faydalanma vasıtası ile değil ab-initio QM hesaplamalar ile elde edilmektedir. Bu tezde CHARMM uyumlu kuvvet alanı geliştirmek için kullandığım prosedür ffTK olmuştur. Şekilde verilen izlencenin her basamağı aşağıda açıklanmaktadır.



Şekil 3.1 : Parametrizasyon Akış Şeması

3.1 Eksik Parametrelerin Bulunması

Şekil 2.6 da verilen C₁₉H₁₃N₅O₅ molekülüne ait atomların buldukları yerleri içeren pdb dosyası PubChem Data Banktan [17] indirildi. Molekölü izah eden başlangıç parametre ve topoloji dosyasını elde etmek için CGenFF den faydalanıldı. CGenFF serveri input olarak mol2 dosyası istediğinden dolayı Avagadro [18] yazılımı vasıtası ile pdb dosyası .mol2 dosyasına çevrildi. CGenFF çıktısı olan residue string file (.rtf) topoloji ve parametre dosyaları olarak ayrıldı. CGenFF çıktısına ait atomların yükleri ve hata skorları Tablo 3.1 de gösterilmiştir. CGenFF vasıtası ile oluşturulmuş olan moleküler topoloji ve parametre dosyasındaki hata skoru görüldüğü üzere CHARMM tarafından kabul edilebilir aralık olan 10 – 50 değerlerinin çok üzerindedir bunun nedeni molekülün büyük yapısıdır.

CGenFF çıktısı elde edildikten sonra eksik olan çift bağlar ve Improper terimleri elle topoloji ve parametre dosyasına eklenmiştir. fTK yazılımı Lenard-Jones ve improper terimlerinin parametrizasyon işlemini yapmamaktadır, başlangıçta eksik olan Lennard-Jones parametreleri hali hazırda bulunan CHARMM36ALL [19] parametre dosyasındaki atom tipleri baz alınarak parametre dosyasına eklenmiştir.

Moleküle ait temel parametre ve topoloji dosyası elde edildikten sonra moleküle ait olan pdb dosyası ve topoloji dosyası yardımı ile psf dosyası oluşturulmuştur. Bu dosyalar kullanılarak MD simülasyonu çalıştırmak suretiyle eksik olan kuvvet parametreleri tespit edilmiştir. Eksik olan parametreler kuantum kimyasal hesaplar yapmak suretiyle elde edilmiştir. Kuantum kimyasal hesaplar GAUSSIAN kodu kullanarak yapılmıştır. GAUSSIAN09 [20] kodu Gazi Üniversitesi kimya bölümünden Dr. Yavuz DEDE tarafından sağlanmıştır. Aşağıdaki bölümlerde eksik olan her bir parametrenin QM hesaplarından nasıl elde edildiği açıklanmıştır.

Çizelge 3.1 : CRN molekülüne ait CGenFF çıktısı

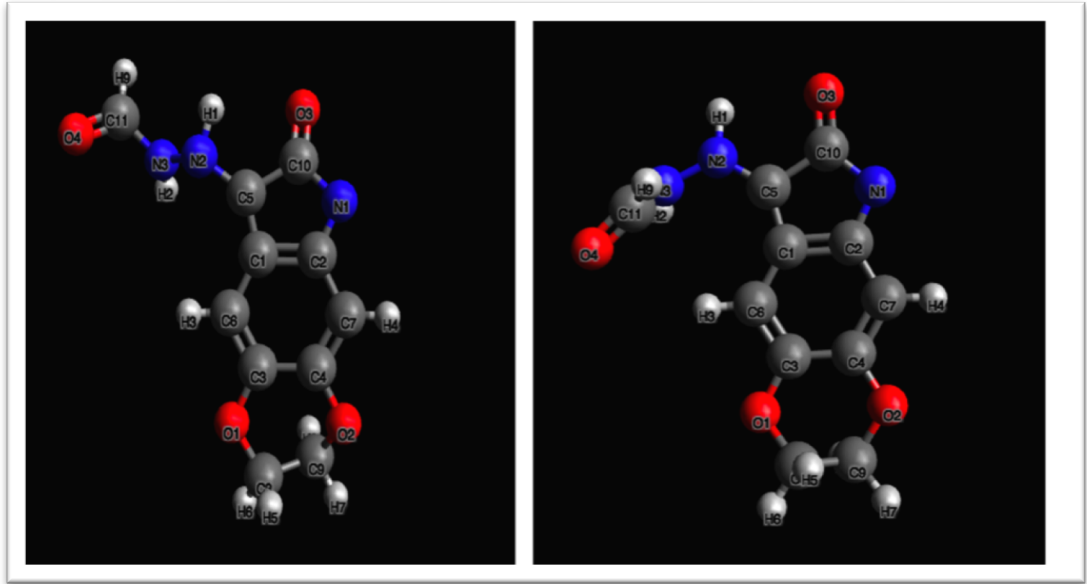
Atom Numarası	Atom Tipi	Yük	Hata Skoru
ATOM O1	OG3C61	-0.314	27.149
ATOM O2	OG3C61	-0.314	27.149
ATOM O3	OG2D4	-0.339	9.754
ATOM O4	OG2D1	-0.440	18.392
ATOM O5	OG2D4	-0.596	22.548
ATOM N1	NG2R50	-0.544	16.682
ATOM N2	NG3N1	-0.218	289.649
ATOM N3	NG3N1	-0.218	279.533
ATOM N4	NG2R62	-0.383	181.062
ATOM N5	NG2R61	-0.113	184.869
ATOM C1	CG2R51	0.042	86.081
ATOM C2	CG2R52	0.161	93.628
ATOM C3	CG2D1O	-0.161	46.978
ATOM C4	CG2D2O	-0.161	46.978
ATOM C5	CG2R51	0.587	83.728
ATOM C6	CG2R61	-0.385	67.977
ATOM C7	CG2R61	-0.311	89.709
ATOM C8	CG321	0.236	4.152
ATOM C9	CG321	0.236	4.152
ATOM C10	CG2R63	-0.024	30.911
ATOM C11	CG2R62	-0.330	11.543
ATOM C12	CG2R62	0.700	28.495
ATOM C13	CG2R62	-0.329	14.708
ATOM C14	CG2O1	0.227	27.551
ATOM C15	CG2R61	0.107	0.000
ATOM C16	CG2R61	0.233	0.000
ATOM C17	CG2R63	0.760	46.050
ATOM C18	CG2R61	0.037	0.000
ATOM C19	CG2R61	-0.216	0.000
ATOM H1	HGP1	0.384	32.535
ATOM H2	HGP1	0.344	20.684
ATOM H3	HGP1	0.300	19.840
ATOM H4	HGR61	0.115	4.048
ATOM H5	HGR61	0.090	4.048
ATOM H6	HGA2	0.090	0.035
ATOM H7	HGA2	0.090	0.035
ATOM H8	HGA2	0.090	0.035
ATOM H9	HGA2	0.090	0.035
ATOM H10	HGR61	0.115	0.000
ATOM H11	HGR61	0.115	0.000
ATOM H12	HGR61	0.115	0.000
ATOM H13	HGR61	0.115	0.000

3.2 Geometri Optimizasyonu

Parametrizasyon işlemlerinde kullanılan kuantum kimyasal metotlar ve baz kümeleri CHARMM parametrizasyon prosedürüne uygun olacak biçimde seçilmiştir. Kullanılan kuantum kimyasal metotlar ve baz fonksiyonları her aşamada farklılık gösterdiğinden hangi metotların kullanıldığı ilgili aşamalarda aşağıda verilmiştir. Burada önemle vurgulanması gerekli husus daha hassas sonuç verebilecek metot ve baz fonksiyonları olsa bile CHARMM uyumlu olmayacağından kullanılmamıştır.

Yük optimizasyonu sırasında molekülün büyük yapısından ötürü yük tayini yapmak mümkün olmamıştır [16]. Bu yüzden molekül kimyasal olarak tutarlı olacak biçimde iki küçük parçaya ayrılmıştır, kırılmış olan bağ hidrojen atomu eklenerek doyurulmuştur ve yeni yapılar içinde geometri optimizasyonu yapılmıştır. Şekil 3.1 de bölünmüş yapılardan birine ait geometri optimizasyonu öncesi ve sonrasının görselleri bulunmaktadır. MP2/3-61G* seviyesinde geometri optimizasyonu yapılmıştır.

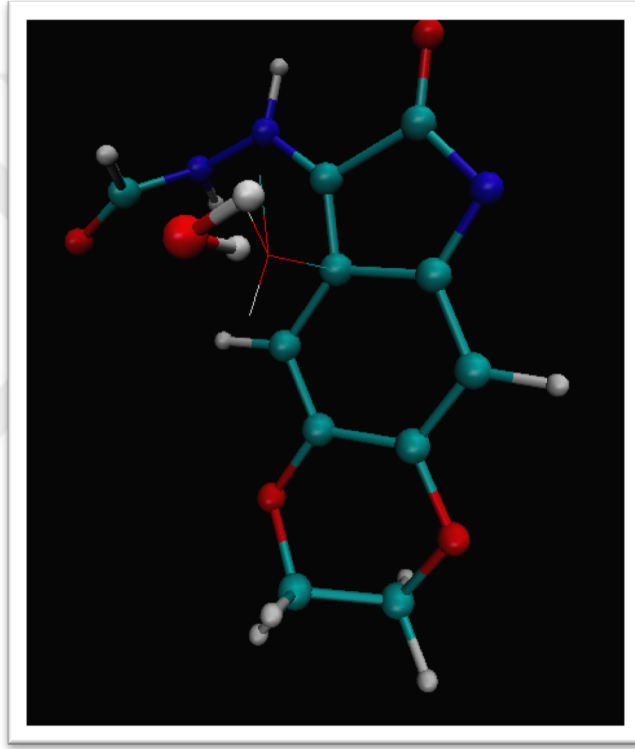
Şekil 3.1 de görüldüğü üzere geometri optimizasyon işlemi sonrasında N2-N3 azot bağından molekülün katlanmış.



Şekil 3.2 : CRN molekülünün büyük kısmının geometri optimizasyonu öncesi ve sonrası

3.3 Yük Optimizasyonu

Geometri optimizasyonu sonrasında elde edilen yapıda bulunan atomların hepsi hidrojen bağı alıcısı (acceptor) veya vericisi (donor) olarak nitelendirilip listelenir. Listede bulunan her bir atoma karşılık TIP3 su molekülü hidrojen bağı yapabilecek bir mesafeye konular Şekil 3.2. Bağlanma bölgesindeki atoma kovalent bağlı diğer atomlar ile TIP3 su molekülünün oluşturduğu siterik itmenin minimum olduğu moleküler geometri fTK eklentisiyle oluşturulur. Oluşturulan moleküler geometri su molekülünün başlangıç konumunu belirler.



Şekil 3.3 : Bağlanma bölgesinde bulunan su molekülü

Listede bulunan her bir atoma ait TIP3 su – molekül kompleksi için HF/6-31G* seviyesinde geometri optimizasyonu yapılmıştır. TIP3 su molekülünün ve sistemin HF ve MP2 hesapları 6-31G* seviyesinde ayrı ayrı yapılmıştır. TIP3 su molekülüne ait H-O bağı uzunluğu 0.9572 Å ve H-OH bağı açısı 104.52° değerlerinde sabitlenmiştir.

Su molekülünün bağı uzunluğu ve bağı açısı sabitlendikten sonra sadece iki değişken üzerinden geometri optimizasyonu yapılmıştır. Su molekülü ile hedef atom arasındaki mesafe ve su molekülü ile hedef atomun bulunduğu eksen üzerindeki dönme açısı.

Gaussian09 yardımı ile kuantum kimyasal hesaplamalar yapılmış ve sonuçlar ffTK eklentisine yüklenmiştir. Gaussian çıktısı kullanılarak her bir su molekülü ile bağ yaptığı hedef atom arasındaki mesafe hesaplanmıştır. TIP3 su – molekül kompleksinin Single Point (SP) enerjisinden bütün molekülün SP enerjisi ve TIP3 su molekülünün SP enerjisinin toplamı çıkartılıp her bir bağlanma bölgesine ait bağlanma enerjisi hesaplanmıştır. Burada hesaplanan bağlanma enerjisi aslında 2 boyutlu bir potansiyel enerji yüzeyidir.

Hassas bir sonuç elde etmek adına QM olarak hesaplanan bağ mesafesi -0.2 Å kaydırılmış ve bağlanma enerjisi 1.16 oranında azaltılmıştır. Molekülün QM hesaplaması sonrasında elde edilen dipol momentini ise 1.2 – 1.5 oranında azaltılmıştır.

QM kullanılarak elde edilen her bir su – molekül kompleksine karşılık gelen MM bağlanma enerjisi, bağ mesafesinin bir fonksiyonu olarak hesaplanmıştır. MM bağlanma enerjisinde kullanılan başlangıç yük değerleri mevcut CHARMM36 kütüphanesinden alınmıştır. MM bağlanma enerjisi ffTK eklentisinde bulunan enerji fonksiyonları vasıtası ile hesaplanmıştır.

CHARMM uyumlu yük değerleri atayabilmek adına QM/MM fit işlemlerinde fit edilecek değerler, bağ mesafesi, bağlanma enerjisi ve sistemin dipol momentinden oluşmaktadır. Bu değişkenleri içeren bir fonksiyon Denklem 3.1 verilmiştir. Bu fonksiyon objektif fonksiyon olarak adlandırılır, bağlanma ve dipol terimleri içerir.

$$\Psi_{\text{yük}} = \Psi_{\text{bağlanma}} + \Psi_{\text{dipol}} \quad (3.1)$$

Her bir atomun QM hesabı ile MM hesabı arasındaki farka karşılık gelen minimum bağlanma enerjisi, bağlanma mesafesi içeren $\Psi_{\text{bağlanma}}$ terimi (Denklem 3.2) ve moleküler dipol momentini (Denklem 2.8) içeren Ψ_{dipol} terimi minimizasyon işleminde kullanacağımız objektif fonksiyonunu oluşturmaktadır.

$$\Psi_{\text{bağlanma}} = \sum_{\text{bağlanma}} w_i \left[\left(\frac{E^{\text{QM}} - E^{\text{MM}}}{E_{\text{ölçek}}} \right)^2 + w_{\text{mesafe}} \left(\frac{d^{\text{QM}} - d^{\text{MM}}}{d_{\text{ölçek}}} \right)^2 \right] \quad (3.2)$$

Objektif fonksiyonunda bulunan $E_{\text{ölçek}} = 0.1 \text{Å}$ ve $d_{\text{ölçek}} = 0.2 \text{ kcal/mol}$ alınmıştır bunun, bu sayede objektif fonksiyonu birimsiz hale dönüştürülmüştür. w_i ve w_{mesafe} ağırlık fonksiyonları her bir bağlanma bölgesine göre değiştirilebilir bu nokta dikkat edilmesi gereken w_{mesafe} fonksiyonu diğerlerine göre daha küçük olmalıdır nedeni ise

bağlanma enerjisi ve moleküler dipol momentini bağ mesafesinin bir fonksiyonu olmasıdır.

$$\Psi_{\text{dipol}} = N_{\text{yük}} W_{\text{dipol}} \left[\left(\left(\frac{P^{\text{MM}}}{P^{\text{QM}} - 1.2} \right)^2 \text{ if } \frac{P^{\text{MM}}}{P^{\text{QM}}} < 1.2 \right. \right. + \left. \left. \left(\frac{P^{\text{MM}}}{P^{\text{QM}} - 1.5} \right)^2 \text{ if } \frac{P^{\text{MM}}}{P^{\text{QM}}} < 1.5 \right) \right. \\ \left. \left. \left\{ \begin{array}{l} 0 \text{ if } \Delta\theta < 30^\circ \\ P^{\text{QM}} \left(\frac{\Delta\theta - 30}{5} \right)^2 \text{ if } \Delta\theta > 30^\circ \end{array} \right\} \right] \quad (3.3)$$

Yukarıdaki denklem moleküler dipol momentine ait objektif fonksiyonudur. $\Delta\theta$ açısı P^{QM} ve P^{MM} dipol momentleri arasındaki açıdır, $N_{\text{yük}}$ incelediğimiz sistemde bulunan atom sayısı ve w_{dipol} dipol momentine ait rölative ağırlık fonksiyonudur.

Yük optimizasyonu işleminde, her bir yük grubu için başlangıç değeri ve sınırı belirlenmelidir, kimyasal olarak eş yapıya sahip olan atomlar aynı yük değerine sahip olmalıdır.

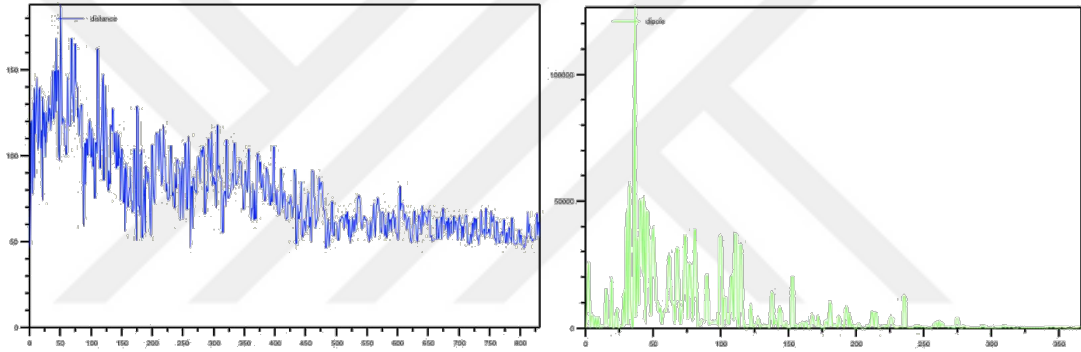
FFTK eklentisi vasıtasıyla yük optimizasyonu işlemi yapıldığında çok fazla QM verisi olması halinde yük-fit işlemi çalışmamaktadır ve fiziksel sonuçlara ulaşmak pek mümkün olmamaktadır. Bu yüzden aynı kimyasal özelliklere sahip atomların bulunduğu yük gruplarında, gruptan sadece bir adet atomun QM verisi kullanmakta fayda vardır ayrıca CHARMM kuvvet alanlarında alifatik hidrojenin yükü +0.09 ve polar olmayan aromatik hidrojenlerin yükü +0.115 olarak alınmaktadır. Bu değerleri optimize etmek hatalı bir yaklaşım olur.

Her bir bağlanma bölgesinde yapılan kuantum kimyasal hesaplamalardan faydalanılarak ilgili bölgeye ait, su molekülünün bağ enerjisi, su molekülü ile incelediğimiz bağlanma bölgesi arasındaki mesafe ve su-molekül kompleksine ait dipol momentini elde edilmiştir.

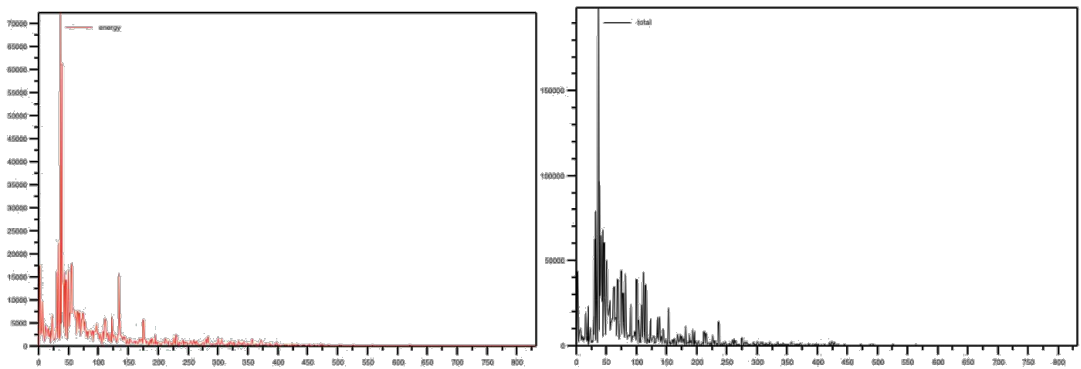
Daha sonra yukarıda bahsettiğimiz değerler Moleküler Mekanik parametre seti ile elde edilmiştir. QM ile MM değerleri arasındaki farkı minimize etmek adına simulated annealing metodu kullanılmıştır.

QM/MM fitting işlemi sırasında her bir adımda ΔE_{QM-MM} , ΔR_{QM-MM} ve dipol momentine ilişkin RMSD hesaplanmıştır. Şekil 2.9 (A) da ΔE_{QM-MM} , bağ mesafesi RMSD si (B) de dipol RMSD si ve Şekil 2.10 (A) da bağlanma enerjisi RMSD si ve (B) de toplam objektif fonksiyona ait RMSD derilmiştir. RMSD değerini sabitletmesi aranan parametre değerlerinde değişiklik olmadığını göstermek olup aynı zamanda fit adımında yakınsadığını göstermektedir.

Tablo 3.2’de Bölünmüş moleküle (küçük olan kısım) ait kuantum kimyasal yöntemle hesaplanan QM bağlanma enerjisi, fit işlemi sonrasında hesaplanan MM bağlanma enerjisi aralarındaki fark, kuantum kimyasal yöntemle hesaplanan QM enerjisini minimum yapan bağ mesafesi ve MM enerjisini minimum yapan bağ mesafesi arasındaki fark çizelgede gösterilmiştir.



Şekil 3.4 : Fitting işleminde kullanılan objektif fonksiyonun bağ mesafesi (b) ve dipol teriminin (a) RMSD değerleri içeren şekil



Şekil 3.5: Fitting işleminde kullanılan objektif fonksiyonun sadece bağlanma enerjisi kısmının (a) ve tamamının (b) RMSD değerleri

Çizelge 3.2 : Moleküle ait farklı bağlanma bölgeleri için hesaplanmış bağlanma enerjisi ve bağ mesafesi

Bağlanma Bölgesi	ΔE_{QM}	ΔE_{QM-MM}	R_{QM}	ΔR_{QM-MM}
CG2R51	-1.594	-0.213	3.654	0.100
CG2R52	-2.225	-0.083	3.769	-0.100
CG2R51	-0.473	-0.166	4.212	0.250
CG312	0.162	-0.322	6.123	0.400
NG2R50	-8.683	0.465	3.051	0.000
NG3N1	-0.659	-0.140	3.406	0.300
CG2R51	-1.946	0.126	3.504	0.050
CG2R52	-0.232	-0.467	3.499	0.050
OG2D4	-7.487	-0.042	3.021	-0.050
OG2D4	-6.403	0.018	2.998	-0.050

3.4 Bağ ve Açılı Optimizasyonu

Parametrizasyon işleminin bir sonraki adımını molekülü oluşturan bağ ve bağ açlarına ilişkin kuvvet sabitlerinin ve denge değerlerinin hesaplanması. Moleküler yapıya ait kuvvet sabitleri ve denge konumları genellikle molekülün minimum enerjide bulunduğu konformasyona ait moleküler titreşim spektrumundan elde edilmektedir. Moleküler titreşim spektrumu genellikle kuantum mekaniksel metotlar vasıtası ile hesaplanmakta ve parametrizasyon işlemi bu şekilde başlamaktadır.

CHARMM uyumlu kuvvet alanlarında bağ ve açılı optimizasyonu, yük optimizasyonu işleminde QM ve MM değerlerinin karşılaştırılması gibi basit değildir. Zorluğun nedeni, moleküler titreşim spektrumu izahında kullanılan koordinat sistemi ile FF'de kullanılan koordinat sisteminin farklı olmasından kaynaklanmaktadır [21]. Moleküler titreşim spektrumu normal modlar üzerinden izah edilirken, CHARMM uyumlu kuvvet alanlarında bağlar, bağ açılı, dihedral ve improper terimleri genelde harmonik potansiyel terimlerini içeren internal koordinatlardan oluşmaktadır. Molekülün geometrisine bağlı olarak titreşime ait normal modlar bazı durumlarda kuvvet alanına

ait sadece bir bağ yahut açığa katkı yaparken bazı durumlardan birden fazla bağ ya da açığa katkı yapabilir.

CHARMM uyumlu kuvvet alanlarında koordinat uzayını seçimden kaynaklanacak sıkıntıyı bertaraf etmek adına deneme parametreleri ile elde edilen MM Hessian ile kuantum kimyasal QM Hessiani hesaplanır.

Bağ ve bağ açılarının ilişkin kuvvet sabitleri ve denge değerleri hesaplanması QM ve MM PES'lerinin internal koordinatlarda karşılaştırılması vasıtası ile yapılır. Her bir bağ ve bağ açısı zıt iki yönde uyarılır ve uyarılma sonucunda potansiyel enerjideki artış uyarılmamış konformasyona ait potansiyel enerji ile kıyaslanır. Zıt yönde uyarılmış iki duruma ait konformasyon ve uyarılmamış konformasyona ait potansiyel, moleküler PES tanımlamada kullanılır.

MM hesaplarında uyarılma sonucu oluşan farklı konformasyonların enerji hesabı mevcut da bulunan bağ ve bağ açısı terimlerinin denemesi ile yapılır. Bu hesaplamalarda fTK eklentisi, VMD [22] yazılımındaki NAMD enerji eklentisinden faydalanmaktadır. Minimize olmuş moleküler geometriye ait titreşim hareketinin PES'i Hessian matrisinin harmonik yaklaşımı altında izah edilebileceğinden ötürü aynı zamanda küçük uyarılmalarından dolayı kaynaklanan enerji değişimlerinin hesabında da kullanılabilir.

$$\Delta E = \sum_j \frac{1}{2} \frac{\partial^2 E}{\partial q_i \partial q_j} \delta q_i \delta q_j \quad (3.4)$$

fTK eklentisi her bir internal koordinatta uyarılmadan kaynaklanan enerji farklarını alıp toplamaktadır Denklem 3.4 q_i terimi uyarılan internal koordinatı belirtmektedir. Enerji teriminin türevi QM Hessian matrisine karşılık gelmektedir. QM Hessian matrisi MP2/6-31G (d) seviyesinde hesaplanmıştır ve 0.89 oranında azaltılmıştır. Azaltılmasının nedeni titreşim frekansının sistematik hatadan kaynaklanmaktadır.

Yük optimizasyonu işleminde olduğu gibi kuvvet alanı parametrisasyonu yapmak adına deneme bağ ve bağ açısı değerlerine ilişkin kuvvet sabitleri ve denge konumları fTK eklentisine yüklenir. Her bir adımda, bağ ve bağ açıları uyarılır ve uyarılmaya karşılık gelen MM ve QM enerji farklı hesaplanıp objektif fonksiyona yazılır ve aralarında fark minimize edilir Denklem 3.5. Bu hesapta önemli olan, uyarılmış

moleküler geometriye ait olan farklı konformasyonların enerji ile QM hesaplanmış kararlı geometrisinden faydalanılarak MM geometrisinin oluşturulması.

Bağ ve bağ açılarına ilişkin parametrelerin optimizasyonu işleminde, kuvvet sabitleri ve denge konumları eş zamanlı olarak optimize edilmektedir. Objektif fonksiyonunda hedef QM yapılarak optimize edilmiş geometri ve uyarılmalara (0.1 Å bağlar, 5° açılar) karşı enerji değişimleri. Deneme değerleri ile objektif fonksiyonunun her bir adımında MM enerji optimizasyonu yapılmaktadır. (3.5)

$$\Psi_{\text{bağlı}} = \sum_{\text{bağlar, bağ açıları}} \left(\frac{q^{\text{QM}} - q^{\text{MM}}}{q_{\text{ölçek}}} \right)^2 + w_E (E_{\text{saptırma}}^{\text{QM}} - E_{\text{saptırma}}^{\text{MM}})^2$$

Denklem 2.10 da q her bir bağ ve bağ açısının minimum değerini oluşturmaktadır, bağlar için $q_{\text{ölçek}}$ 0.003 Å ve açılar için $q_{\text{ölçek}}$ 3° alınmıştır. w_E sabiti objektif fonksiyonun enerji değerinin ağırlık fonksiyonudur ve genellikle 1 kcal/mol alınır.

3.5 Dihedral Teriminin Optimizasyonu

Dihedral optimizasyonu, dihedral teriminin dönme eksenini etrafındaki açısı ve kuvvet sabitinin tayininden oluşmaktadır. Dihedral terimine ait kuvvet sabiti ve denge açısının bulunması için kullanılacak bir metot bağ optimizasyonu sırasında elde edilen Hessian matrisinden titreşim spektrumdan türetmektir. Ancak dihedral terimi harmonik bir fonksiyon olmamasından ötürü bu metot kullanılmamıştır.

Parametrizasyon işleminin bu aşamada QM hesabı ile edilen PES üzerinden gitmektedir, incelenen dihedral MP2/ 6-31G(d) işlemine tabi tutulmaktadır. Dihedral taraması sırasında incelenen dihedral terimi sabit tutulmaktadır, geri kalan molekül ise serbest halde bulunmaktadır bu vesile ile sadece incelenen dihedrallerden gelen katkıyı görmek mümkün hale gelmiştir.

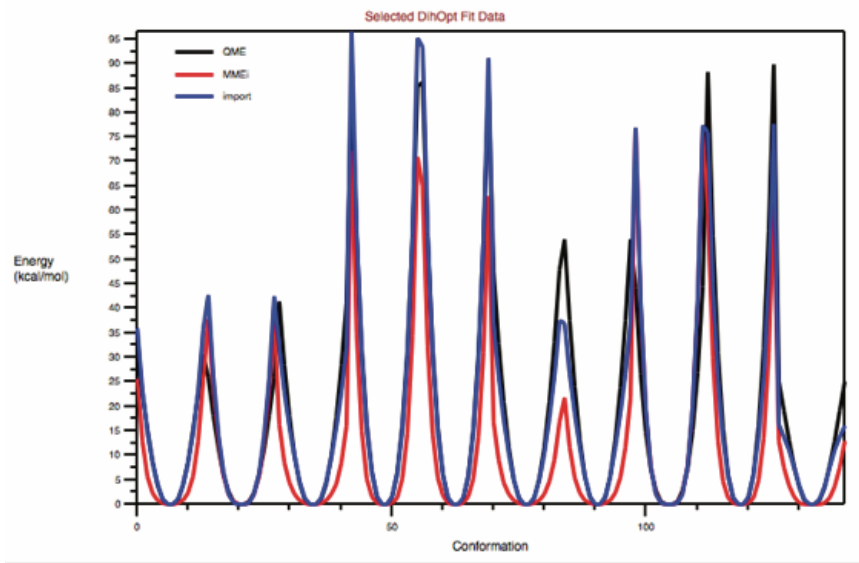
ffTK eklentisi bu işlem sırasında seçilen dihedrallerin açısına ilişkin çift yönlü tarama yapmaktadır. Tarama işlemi geometrisi optimize edilmiş molekülün seçilen dihedral bağının +90 ve -90 derece enerji hesabı yapılması ile elde edilir. Çift yönlü taramanın nedeni yüksek enerjili konformasyonlardan oluşabilecek problemleri elimine etmektir. Her iki yönlü tarama işlemi yaptıktan sonra elde edilen QM sonuçları birleştirilip potansiyel grafiği oluşturulur.

QM dihedral taraması sonrasında elde edilen optimum konformasyon ve enerji değerine karşı MM enerjisi hesaplanır. QM dadasından faydalanılarak MM bağ ve bağ açılılarına ilişkin parametreler daha önceden optimize edilmesine rağmen, QM ve MM modelleri arasında uyumsuzluklar olması mümkündür. Bağ ve bağ açılarından dolayı oluşabilecek kirlilikten kurtulmak adına dihedral enerjisi optimizasyonu işleminde öncelikli olarak MM geometrisi optimize edilir ve sonrasında MM enerjisi ile QM enerjisi kıyaslanır. Torsion potansiyellerinin karşılaştırılmasının tutarlı sonuç vermesi adına, incelenen dihedral geometri optimizasyonu işlemi sırasında sabit tutulmaktadır.

Simulated Annealing metodu kullanılarak taranan dihedraller için MM ve QM PES arasındaki fark minimize edilmiştir. Parametrize edilmemiş dihedrallerin MM enerjisine katkısı minimizasyon sürecinde ayrıca CHARMM dihedral enerji fonksiyonundan elde edilerek MM enerjisine eklenir ve bu sayede MM PES eksiksiz olarak bulunabilir. Optimizasyon süresince dihedral enerji fonksiyonunda k kuvvet sabiti düzenli olarak yenilenmektedir, geriye çok katlılık sabiti n ve faz açısı δ değerinin parametrizasyonu kalmaktadır. Çok katlılık kullanıcı tarafından girilmektedir, tek bir dihedral için birden fazla çok katlılık olması mümkündür $n = 1, 2, 3, 4$ ve 6 rotasyon hareketini tanımlamak için yeterlidir. Faz açısı δ teorik olarak CHARMM kuvvet alanında her türlü değeri alabilir lakin 0 ve 180 dışındaki değerler molekülün enerjisi için asimetric değerler oluşturacağından dolayı genelde kullanılmaz. Bu yüzden dihedral terimleri parametrizasyon işleminde δ izinli açı değeri sadece 0 yahut 180 olarak alınır.

$$\Psi_{\text{dihedral}} = \sum_{\text{konformasyon}} w_i (E^{\text{QM}} - E^{\text{MM}} + c)^2 \quad (3.6)$$

Dihedral parametrelerinin optimizasyonu işleminde minimize edilmek istenilen objektif fonksiyon Denklem 3.6 de verilmiştir. Objektif fonksiyonu QM PES ve MM PES arasındaki farkı minimize etmeye çalışmaktadır. c katsayısı normalizasyon katsayısı olarak alınıp $\partial\Psi_{\text{dihedral}}/\partial c = 0$ yapan değerdir.



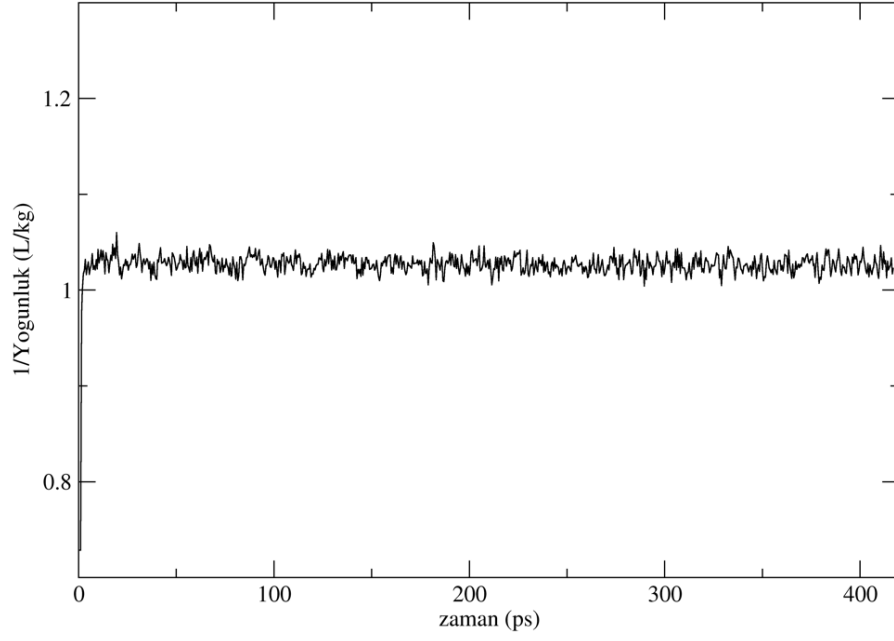
Şekil 3.6 : Dihedral optimizasyonu sonucunda elde edilen konformasyon uzayına karşı potansiyel

4. KUVVET ALANI VALİDASYONU

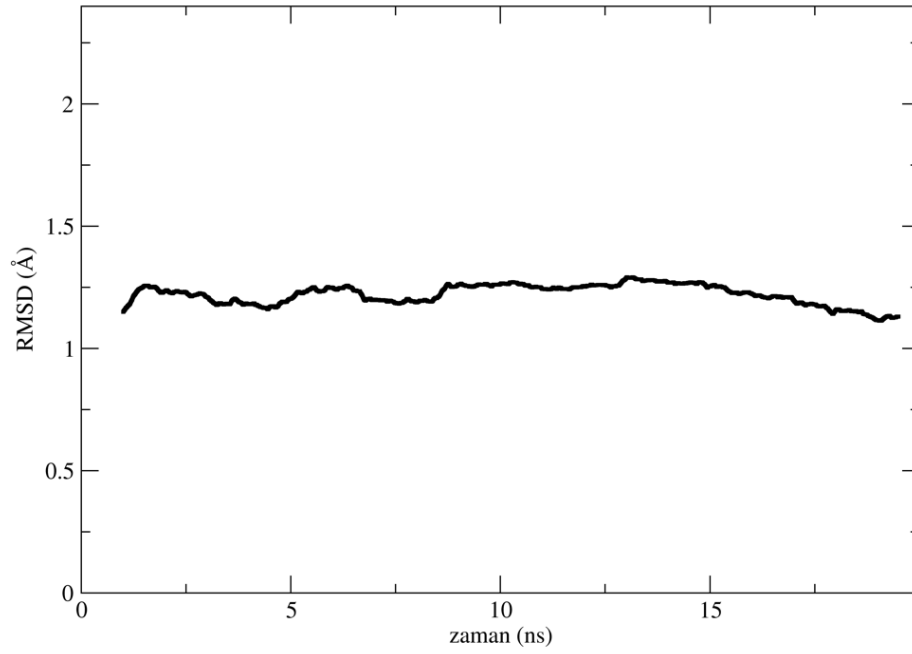
CHARMM uyumlu kuvvet alanı parametrizasyonu işlemi sonrasında incelenen molekülün validasyonu amacı ile 30x30x30 Å³ büyüklüğünde bir su kutusu içinde MD simülasyonu yapıldı. Moleküler dinamik yöntem bölüm 2’de verildi. Moleküler dinamik simülasyonları için kullanılan prosedür ve parametreler ise bu bölümde verilmiştir.

Gerçekleştirilen MD simülasyonlarında, CHARMM36 kuvvet alanı ve NAMD simülasyon paketi kullanılmıştır. Simülasyonlar NPT kümesi altında periyodik sınır koşullarıyla gerçekleştirilmiştir. NPT kümesinin kullanılması, sabit parçacık sayısı, sabit basınç ve sabit sıcaklık kullanılarak gerçekleştirildiği anlamına gelir. Basınç ve sıcaklık, sönüm katsayısı 5 ps⁻¹ olmak üzere Langevin eşleştirmesi kullanılarak sabit tutulmuştur. Sıcaklık değeri 300K ve basınç 1 atm’dir. Lennard-Jones etkileşimleri 12 Å uzaklığında keskin bir şekilde bitirilmiştir. Elektrostatik etkileşimler particle-mesh Ewald algoritması kullanılarak hesaplanmıştır. Her bir MD adımı 2 fs seçilmiştir. MD simülasyonu başlangıcında CRN molekülünde bulunan hidrojen dışındaki atomlara harmonik konstraintler konulmuş ve bu konstraintler 500 ps adımlarla 20 Kcal/mol × Å² den 0.1 Kcal/mol × Å² değerine indirilmiştir. Bu sayede sistem NPT dengesine ulaştığını yoğunluğun zamana göre değişiminden gözlemekteyiz. Şekil 12’de ilk 400 ps de sistemin NPT dengesine geldiği görülmektedir.

NPT dengesi sonrasında CRN molekülünde 0.1 Kcal/mol × Å² lik konstraint molekülün su içinde sabit kalması için tutulmuş ve 10 ns simülasyon yapılmıştır. Bu zaman içinde yapının sağlam kaldığı görülmüş ve elde edilen RMSD eğrisi Şekil 13’de verilmiştir. RMSD eğrisi molekülün stabilizesinin bir ölçüsü olarak okunmalıdır. Bu simülasyonda RMSD eğrisi 1 Å değeri civarında sabitlenmiştir. RMSD deki değişim ± 0.3 Å kadardır. Buradan oluşturulan kuvvet alanının satabil olduğunu söylememiz mümkündür.



Şekil 4.1 : Sistemin I/yoğunluğunun zaman bağlı değişimi



Şekil 4.2 : CRN molekülünün constraintler kaldırıldıktan sonraki aşamadaki RMSD değeri

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Tez çalışmasının başında sunulan tez önerisinde, geliştirilen ilaç adayları için CHARMM uyumlu kuvvet alanı oluşturmak amaçlanmıştır. GST-P1 enziminin inhibisyonunu sağlayacak anti-kanser ilacının kuvvet alanı parametreleri tez çalışması kapsamında bulunmuştur. CHARMM uyumlu kuvvet alanı geliştirme işlemi kuantum kimyasal hesaplamalar ve moleküler modelleme ile sağlanmıştır. İlaç adayının kararlı geometrisi bulunmuş ve sonrasında o geometriye ait parametreler hesaplanmıştır. Parametrizasyonun her adımında, incelenen parametreye özgü RMSD değerine bakılmış ve istenilen değere ulaşıncaya kadar model değiştirilmiştir. Molekülün parametre ve topoloji dosyaları oluşturulduktan sonra validasyonu amacı ile MD simülasyonu yapıp tekrardan RMSD değerine bakılmıştır. RMSD değeri kabul edilebilir bir değerdir. Yukarıdaki bilgiler ışığında ilaç adayının CHARMM uyumlu kuvvet alanının geliştirildiği ve tez çalışmasının amacına ulaştığı söylenebilir.

Burada dikkat edilmesi gereken husus, moleküle özgü CHARMM uyumlu kuvvet alanının oluşturulmasında bu tez bir kaynak niteliği taşımaktadır.

Çalışmanın devamında kuvvet alanı geliştirilmiş molekülün GSTP-1 enzimi ile MD çalışması yapılacak olup elde edilen sonuçlar in-vitro deney sonuçları ile karşılaştırılacaktır. Olası diğer ilaç adayı bileşikleri içinde kuvvet alanı geliştirilip MD çalışması yapılması planlanmaktadır.

KAYNAKLAR

- N. Allocati, M. Masulli, C. Di Ilio, and L. Federici**, 2018. "Glutathione transferases: substrates, inhibitors and pro-drugs in cancer and neurodegenerative diseases," *Oncogenesis*, vol. 7, no. 1, p. 8.
- S. A. Adcock and J. A. McCammon**, 2006. "Molecular dynamics: survey of methods for simulating the activity of proteins," *Chem Rev*, vol. 106.
- D. A. Case et al.**, 2005. "The AMBER biomolecular simulation programs," *J Comput Chem*, vol. 26.
- B. R. Brooks, R. E. Bruccoleri, B. D. Olafson, D. J. States, S. Swaminathan, and M. Karplus**, 1983. "CHARMM - a program for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations," *J Comput Chem*, vol. 4,.
- M. Christen et al.**, 2005. "The GROMOS software for biomolecular simulation: GROMOS05," *J Comput Chem*, vol. 26.
- K. Vanommeslaeghe et al.**, 2010. "CHARMM general force field: A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields," *J. Comput. Chem.*, vol. 31, no. 4, pp. 671–690, Mar.
- K. G. Sprenger, V. W. Jaeger, and J. Pfaendtner**, 2015. "The General AMBER Force Field (GAFF) Can Accurately Predict Thermodynamic and Transport Properties of Many Ionic Liquids," *J. Phys. Chem. B*, vol. 119, no. 18, pp. 5882–5895, May.
- J. Wang, R. M. Wolf, J. W. Caldwell, P. A. Kollman, and D. A. Case**, 2004. "Development and testing of a general amber force field," *J Comput Chem*, vol. 25.
- R. Henderson and P. N. T. Unwin**, 1975. "Three-dimensional model of purple membrane [from *Halobacterium halobium*] obtained by electron microscopy," *Nature*, vol. 257, p. 28, Sep. 1975.
- C. S. Ewig, T. S. Thacher, and A. T. Hagler**, 1999. "Derivation of Class II Force Fields. 7. Nonbonded Force Field Parameters for Organic Compounds," *J. Phys. Chem. B*, vol. 103, no. 33, pp. 6998–7014, Aug.
- A. Warshel, M. Kato, and A. V. Pisliakov**, 2007. "Polarizable force fields: History, test cases, and prospects," *J. Chem. Theory Comput.*, vol. 3, no. 6, pp. 2034–2045, Nov.
- T. J. Kawecki and D. Ebert**, 2004. "Conceptual issues in local adaptation," *Ecol. Lett.*, vol. 7, no. 12, pp. 1225–1241, Dec.

- J. Wang, W. Wang, P. A. Kollman, and D. A. Case**, 2006. Automatic atom type and bond type perception in molecular mechanical calculations, vol. 25, no. 2.
- L. Kalé, et al.**, 1999. "NAMD2: Greater Scalability for Parallel Molecular Dynamics," *J. Comput. Phys.*, vol. 151, no. 1, pp. 283–312, 1999.
- C. G. Mayne, J. Saam, K. Schulten, E. Tajkhorshid, and J. C. Gumbart**, 2013. "Rapid parameterization of small molecules using the force field toolkit," *J. Comput. Chem.*, vol. 34, no. 32, pp. 2757–2770, Sep.
- A. Pavlova and J. C. Gumbart**, 2015. "Parametrization of macrolide antibiotics using the force field toolkit," *J. Comput. Chem.*, vol. 36, no. 27, pp. 2052–2063, Aug.
- B. E. E., Y. Wang, P. A. Thiessen, and S. H. Bryant**, 2010. "PubChem: Integrated Platform of Small Molecules and Biological Activities," in *Annual Reports in Computational Chemistry, Vol 4*, vol. 4, R. A. Wheeler and D. C. B. T.-A. R. in C. C. Spellmeyer, Eds. Elsevier, 2010, pp. 217–241.
- M. D. Hanwell, D. E. Curtis, D. C. Lonie**, 2012. T. Vandermeersch, E. Zurek, and G. R. Hutchison, "Avogadro: An advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform," *J. Cheminform.*, vol. 4, no. 8, p. 17.
- J. Huang and A. D. Mackerell**, 2013. "CHARMM36 all-atom additive protein force field: Validation based on comparison to NMR data," *J. Comput. Chem.*, vol. 34, no. 25, pp. 2135–2145, Jul.
- G. M. J. Frisch et al.**, 2009. Gaussian 09, Revision D.01. Wallingford CT: Gaussian Inc.
- K. Vanommeslaeghe, E. P. Raman, and A. D. MacKerell**, 2012. Automation of the CHARMM General Force Field (CGenFF) II: Assignment of Bonded Parameters and Partial Atomic Charges, vol. 52, no. 12.
- W. Humphrey, A. Dalke, and K. Schulten**, 1996. "VMD: Visual molecular dynamics," *J. Mol. Graph.*, vol. 14, no. 1, pp. 33–38.

EKLER

EK 1: Molekölün 3B yapısı ve atomların isimlendirilmesi

EK 2: Topoloji dosyasının atom tiplerini ve yüklerini içeren kısım

EK 3: Topoloji dosyasının bağ yapısını içeren kısmı

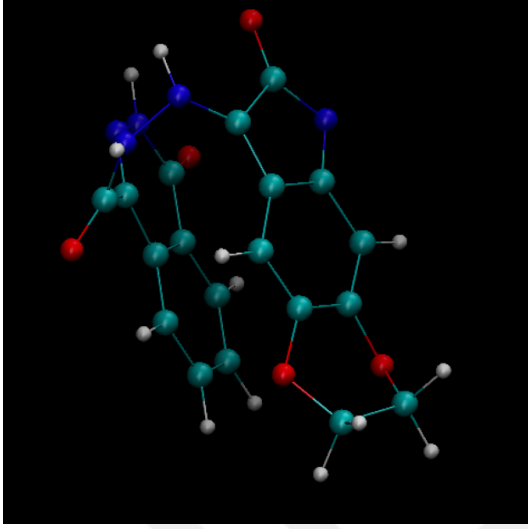
EK 4: Bağ parametreleri

EK 5: Bağ açısı parametreleri

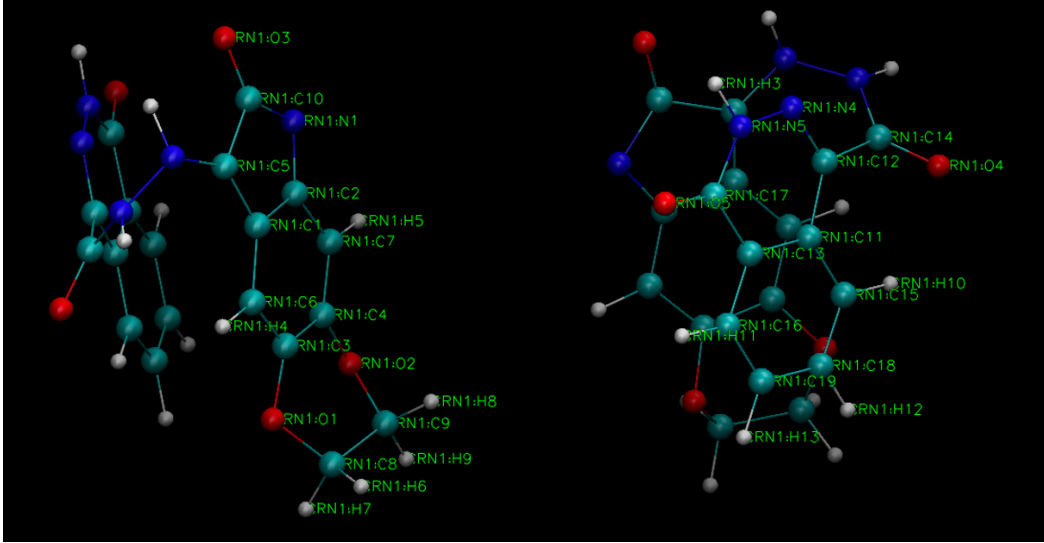
EK 6: Dihedral parametreleri

EK 7: Lennard-Jones parametreleri

EK 1



ŞekilEk 1.1 : Modellenen molekülün 3B yapısı



ŞekilEk 1.2 : Molekülün CHARMM formatında isimlendirilmesi

EK2

ÇizelgeEk 2 : Atomların CHARMM uyumlu atom tipleri ve yükleri

Tipi	Atom İsmi	Atom Tipi	Yük
ATOM	O1	OG3C61	-0.314
ATOM	O2	OG3C61	-0.314
ATOM	O3	OG2D4	-0.339
ATOM	O4	OG2D1	-0.440
ATOM	O5	OG2D4	-0.596
ATOM	N1	NG2R50	-0.544
ATOM	N2	NG3N1	-0.218
ATOM	N3	NG3N1	-0.218
ATOM	N4	NG2R62	-0.383
ATOM	N5	NG2R61	-0.113
ATOM	C1	CG2R51	0.042
ATOM	C2	CG2R52	0.161
ATOM	C3	CG2D10	-0.161
ATOM	C4	CG2D20	-0.161
ATOM	C5	CG2R51	0.587
ATOM	C6	CG2R61	-0.385
ATOM	C7	CG2R61	-0.311
ATOM	C8	CG321	0.236
ATOM	C9	CG321	0.236
ATOM	C10	CG2R63	-0.024
ATOM	C11	CG2R62	-0.330
ATOM	C12	CG2R62	0.700
ATOM	C13	CG2R62	-0.329
ATOM	C14	CG2O1	0.227
ATOM	C15	CG2R61	0.107
ATOM	C16	CG2R61	0.233
ATOM	C17	CG2R63	0.760
ATOM	C18	CG2R61	0.037
ATOM	C19	CG2R61	-0.216
ATOM	H1	HGP1	0.384
ATOM	H2	HGP1	0.344
ATOM	H3	HGP1	0.300
ATOM	H4	HGR61	0.115
ATOM	H5	HGR61	0.090
ATOM	H6	HGA2	0.090

EK 2

ÇizelgeEk 2 (devam): Atomların CHARMM uyumlu atom tipleri ve yükleri

Tipi	Atom İsmi	Atom Tipi	Yük
ATOM	H6	HGA2	0.090
ATOM	H7	HGA2	0.090
ATOM	H8	HGA2	0.090
ATOM	H9	HGA2	0.090
ATOM	H10	HGR61	0.115
ATOM	H11	HGR61	0.115
ATOM	H12	HGR61	0.115
ATOM	H13	HGR61	0.115

EK 3

ÇizelgeEk 3.1 : Tekli bağ yapan atomlar

Tipi	Atom İsmi
BOND	O2 C9
BOND	O2 C4
BOND	C9 C8
BOND	C8 O1
BOND	C4 C3
BOND	O1 C3
BOND	C7 C2
BOND	C2 C1
BOND	C6 C1
BOND	N1 C1
BOND	C5 C1
BOND	C5 N2
BOND	N2 N3
BOND	N3 C1
BOND	N2 H1
BOND	N3 H2
BOND	C6 H4
BOND	C7 H5
BOND	C8 H6
BOND	C8 H7
BOND	C9 H8
BOND	C9 H9
BOND	C15 C11
BOND	C18 C19
BOND	C12 C11
BOND	N4 N5
BOND	C13 C16
BOND	C13 C17
BOND	N5 C17
BOND	N5 H3
BOND	C12 C14
BOND	C15 H10
BOND	C16 H11
BOND	C18 H12
BOND	C19 H13

ÇizelgeEk 3.2 : Çift bağ yapan atomlar

Tipi	Atom İsmi
DOUBLE	O3 C10
DOUBLE	O4 C14
DOUBLE	C1 C5
DOUBLE	N1 C2
DOUBLE	C3 C6
DOUBLE	C4 C7
DOUBLE	C16 C19
DOUBLE	C12 N4
DOUBLE	C18 C15
DOUBLE	C11 C13
DOUBLE	C17 O5

ÇizelgeEk 3.3 : Improper bağ yapan atomlar

Tipi	Atom İsmi
IMPROPER	C10 C5 N1 O3
IMPROPER	C14 N3 O4 C12
IMPROPER	C17 C13 N5 O5

EK 4

ÇizelgeEk 4 : Atomların bağ gerilmesi sabiti ve denge mesafesi

Atom Tipi		$K_b \left(\frac{\text{kcal}}{\text{mol}} \right)$	$b_0 (\text{Å})$
OG3C61	CG2D1O	389.433	1.361
OG3C61	CG321	317.138	1.445
OG3C61	CG2D2O	415.065	1.345
OG2D4	CG2R63	750.472	1.228
OG2D1	CG2O1	739.990	1.237
NG2R50	CG2R63	370.791	1.377
NG2R50	CG2R52	452.600	1.334
NG3N1	NG3N1	450.924	1.376
NG3N1	HGP1	457.813	1.013
NG3N1	CG2R51	460.388	1.347
NG3N1	CG2O1	421.146	1.376
NG2R62	NG2R61	467.424	1.319
NG2R62	CG2R62	530.111	1.319
NG2R61	CG2R63	372.546	1.381
NG2R61	HGP1	454.226	1.014
CG2R51	CG2R51	95.895	1.371
CG2R51	CG2R52	294.367	1.510
CG2R51	CG2R61	438.091	1.420
CG2R52	CG2R61	479.906	1.423
CG2D1O	CG2R61	528.552	1.361
CG2D1O	CG2D2O	400.418	1.291
CG2D2O	CG2R61	492.716	1.377
CG2R51	CG2R63	313.594	1.551
CG2R61	HGR61	337.774	1.088
CG321	HGA2	415.046	1.094
CG321	CG321	314.163	1.520
CG2R62	CG2R62	420.511	1.426
CG2R62	CG2R61	409.148	1.403
CG2R62	CG2O1	353.649	1.467
CG2R62	CG2R63	379.206	1.466
CG2R61	CG2R61	457.384	1.385

EK 5

ÇizelgeEk 5 : Atomların bağ açısı sabiti ve denge açısı

Atom Tipi			K_{θ} ($\frac{\text{kcal}}{\text{mol}}$)	$\theta_0(^{\circ})$
OG3C61	CG321	HGA2	264.375	106.931
OG3C61	CG2D1O	CG2R61	257.748	119.776
OG3C61	CG321	CG321	260.559	109.517
OG3C61	CG2D2O	CG2R61	249.320	117.388
OG3C61	CG2D2O	CG2D1O	259.437	119.318
OG2D4	CG2R63	NG2R50	120.831	130.253
NG2R50	CG2R63	CG2R51	243.466	109.539
NG3N1	CG2R51	CG2R51	128.987	136.694
NG3N1	NG3N1	HGP1	94.107	115.778
NG3N1	NG3N1	CG2O1	156.081	124.006
OG2D1	CG2O1	NG3N1	144.671	120.547
NG3N1	CG2O1	CG2R62	172.347	116.371
NG2R62	NG2R61	HGP1	83.267	114.924
NG2R62	NG2R61	CG2R63	264.921	128.202
OG2D4	CG2R63	NG2R61	140.238	120.678
NG2R61	NG2R62	CG2R62	203.716	117.167
CG2R51	CG2R61	CG2D1O	240.730	117.563
CG2R51	CG2R61	HGR61	74.739	122.305
NG2R50	CG2R52	CG2R51	267.095	116.868
CG2R52	CG2R61	CG2D2O	239.746	119.670
CG2R52	CG2R61	HGR61	80.666	120.515
CG2R52	CG2R51	CG2R51	274.204	103.552
CG2R52	CG2R51	CG2R61	279.268	122.151
CG2D1O	CG2D2O	CG2R61	259.574	121.322
CG2D2O	CG2D1O	CG2R61	266.448	120.425
OG3C61	CG2D1O	CG2D2O	246.164	119.731
OG2D4	CG2R63	CG2R51	121.737	121.009
CG2R51	NG3N1	HGP1	82.477	113.504
NG3N1	NG3N1	CG2R51	146.980	120.097
CG2R51	CG2R51	CG2R61	261.519	134.827
NG2R50	CG2R52	CG2R61	267.404	123.316
CG2R51	CG2R52	CG2R61	256.392	118.106
CG321	CG321	HGA2	263.161	110.839
CG2D1O	OG3C61	CG321	197.983	112.534
CG2D2O	OG3C61	CG321	207.925	114.570

ÇizelgeEk 5 (devam) : Atomların bağ açısı sabiti ve denge açısı

Atom Tipi			K_{θ} ($\frac{\text{kcal}}{\text{mol}}$)	$\theta_0(^{\circ})$
CG2R51	CG2R51	CG2R63	275.569	107.587
NG3N1	CG2R51	CG2R63	123.488	117.918
CG2R52	NG2R50	CG2R63	253.869	103.809
CG2R62	CG2R61	CG2R61	254.787	120.270
CG2R62	CG2R61	HGR61	65.367	117.073
NG2R62	CG2R62	CG2R62	262.646	123.755
CG2R62	CG2R62	CG2O1	137.694	121.382
OG2D1	CG2O1	CG2R62	126.671	122.860
CG2R62	CG2R62	CG2R62	251.617	117.162
OG2D4	CG2R63	CG2R62	152.483	126.281
NG2R61	CG2R63	CG2R62	261.883	113.571
NG2R62	CG2R62	CG2O1	166.304	114.913
CG2O1	NG3N1	HGP1	85.342	115.614
CG2R62	CG2R62	CG2R61	88.722	121.493
CG2R61	CG2R62	CG2R63	237.454	117.496
CG2R62	CG2R62	CG2R63	261.052	120.257
CG2R63	NG2R61	HGP1	91.867	117.595
CG2R61	CG2R61	CG2R61	254.166	121.168
CG2R61	CG2R61	HGR61	60.562	119.915
CG2D10	CG2R61	HGR61	236.848	118.558
CG2D20	CG2R61	HGR61	256.573	119.608
HGA2	CG321	HGA2	82.370	110.331

EK 6

ÇizelgeEk 6 : Atomların dihedral bağı sabiti, katlılık terimi ve faz açısı.

Atom Tipi				$K\phi$ ($\frac{\text{kcal}}{\text{mol}}$)	n	δ (°)
CG2R62	CG2R61	CG2R61	HGR61	24.870	2	0.00
NG2R62	CG2R62	CG2O1	NG3N1	29.700	1	180.00
CG2R61	CG2R51	CG2R51	NG3N1	12.600	2	0.00
CG2R51	CG2R51	CG2R61	HGR61	14.350	2	0.00
CG2D2O	OG3C61	CG321	HGA2	12.760	1	180.00
NG3N1	NG3N1	CG2O1	CG2R62	19.540	2	0.00
NG2R62	NG2R61	CG2R63	OG2D4	0.4200	3	0.00
CG321	OG3C61	CG2D1O	CG2R61	0.9430	1	0.00
NG2R50	CG2R52	CG2R61	CG2D2O	0.4780	2	0.00
CG321	OG3C61	CG2D2O	CG2R61	13.820	1	0.00
HGP1	NG3N1	NG3N1	CG2O1	17.410	1	0.00
CG2R63	CG2R62	CG2R61	HGR61	0.2000	2	180.00
CG2R61	CG2R62	CG2R63	NG2R61	11.870	2	0.00
CG321	OG3C61	CG2D2O	CG2D1O	0.6650	1	0.00
CG2R62	CG2R61	CG2R61	CG2R61	0.7110	1	0.00
NG2R62	NG2R61	CG2R63	CG2R62	12.570	2	0.00
CG2R63	NG2R50	CG2R52	CG2R51	0.5120	2	0.00
CG2R51	NG3N1	NG3N1	CG2O1	25.590	3	180.00
CG2R61	CG2R62	CG2R62	CG2R61	0.9860	1	0.00
CG2R61	CG2R62	CG2R62	CG2R63	23.810	3	0.00
OG3C61	CG2D2O	CG2R61	HGR61	18.050	3	0.00
HGP1	NG3N1	CG2O1	CG2R62	10.010	1	0.00
CG2R61	CG2R62	CG2R62	NG2R62	0.7010	2	0.00
CG2R62	CG2R62	CG2R63	OG2D4	0.3040	2	180.00
CG321	OG3C61	CG2D1O	CG2D2O	0.1230	1	0.00
CG2D2O	OG3C61	CG321	CG321	12.960	1	0.00
OG3C61	CG321	CG321	HGA2	13.920	1	0.00
HGP1	NG2R61	CG2R63	CG2R62	14.870	2	0.00
CG2R61	CG2R62	CG2R62	CG2O1	0.3500	2	0.00
NG3N1	NG3N1	CG2R51	CG2R51	0.5620	1	0.00
HGP1	NG2R61	CG2R63	OG2D4	10.790	2	0.00
CG2R63	NG2R50	CG2R52	CG2R61	16.440	2	0.00
OG3C61	CG2D1O	CG2D2O	CG2R61	0.2530	2	0.00
NG3N1	CG2R51	CG2R63	OG2D4	0.9040	1	0.00
CG2D2O	CG2D1O	CG2R61	CG2R51	0.8720	2	0.00

ÇizelgeEk 6 (devam) : Atomların dihedral bağı sabiti, katlılık terimi ve faz açısı.

Atom Tipi				$K\phi$ ($\frac{\text{kcal}}{\text{mol}}$)	n	δ (°)
CG2R61	CG2R51	CG2R52	NG2R50	17.070	1	0.00
NG2R61	NG2R62	CG2R62	CG2R62	18.590	1	0.00
OG3C61	CG321	CG321	OG3C61	12.240	1	0.00
OG3C61	CG2D20	CG2R61	CG2R52	13.930	2	0.00
OG3C61	CG2D10	CG2D20	OG3C61	23.480	1	0.00
CG2R61	CG2R61	CG2R61	HGR61	11.180	2	0.00
OG3C61	CG2D10	CG2R61	HGR61	0.7260	2	0.00
NG3N1	NG3N1	CG2R51	CG2R63	0.5140	2	0.00
CG2R51	NG3N1	NG3N1	HGP1	24.890	1	180.00
CG2R52	NG2R50	CG2R63	OG2D4	10.370	2	0.00
CG2D10	CG2D20	CG2R61	CG2R52	0.5760	2	0.00
CG2R61	CG2D10	CG2D20	CG2R61	0.7720	2	0.00
CG2R61	CG2R51	CG2R52	CG2R61	0.4570	2	0.00
OG3C61	CG2D10	CG2R61	CG2R51	10.580	1	0.00
CG2R52	CG2R51	CG2R51	CG2R63	11.460	2	0.00
CG2R61	CG2R61	CG2R61	CG2R61	0.1740	2	0.00
CG2R51	CG2R51	CG2R63	NG2R50	0.8040	2	0.00
CG2D20	CG2D10	CG2R61	HGR61	0.6800	2	0.00
CG2R52	CG2R51	CG2R61	CG2D10	17.660	2	0.00
CG2R52	CG2R51	CG2R61	HGR61	15.970	2	0.00
HGP1	NG3N1	CG2R51	CG2R51	0.8140	2	0.00
CG2R63	CG2R62	CG2R61	CG2R61	0.3560	2	0.00
NG3N1	CG2R51	CG2R63	NG2R50	17.020	1	0.00
CG2R61	CG2D10	CG2D20	OG3C61	13.650	1	0.00
CG2R62	CG2R62	CG2R61	HGR61	19.500	2	0.00
CG2R51	CG2R51	CG2R52	NG2R50	0.9880	2	0.00
CG2R61	CG2R51	CG2R51	CG2R63	0.8840	2	0.00
CG2D10	OG3C61	CG321	HGA2	15.860	2	0.00
CG2R62	CG2R62	CG2O1	OG2D1	13.490	1	180.00
CG2D10	CG2D20	CG2R61	HGR61	26.630	2	0.00
CG2R51	CG2R52	CG2R61	HGR61	16.470	2	0.00
CG2R52	NG2R50	CG2R63	CG2R51	15.900	2	0.00
NG3N1	NG3N1	CG2O1	OG2D1	0.5860	1	0.00
CG2R51	CG2R51	CG2R63	OG2D4	0.9060	2	0.00
NG2R50	CG2R52	CG2R61	HGR61	0.0920	2	0.00
HGP1	NG3N1	CG2O1	OG2D1	0.8110	1	0.00
HGR61	CG2R61	CG2R61	HGR61	14.520	2	0.00

ÇizelgeEk 6 (devam) : Atomların dihedral bağı sabiti, katlılık terimi ve faz açısı.

Atom Tipi				$K\phi$ ($\frac{\text{kcal}}{\text{mol}}$)	n	$\delta(^{\circ})$
CG2R51	CG2R51	CG2R52	CG2R61	15.180	1	0.00
CG2R61	CG2R62	CG2R63	OG2D4	0.6600	3	0.00
NG2R61	NG2R62	CG2R62	CG2O1	13.270	3	0.00
CG2R62	CG2R62	CG2R63	NG2R61	11.220	2	0.00
CG2D1O	OG3C61	CG321	CG321	0.8830	1	0.00
HGA2	CG321	CG321	HGA2	14.200	1	0.00
CG2R62	CG2R62	CG2R62	CG2O1	0.7890	2	0.00
CG2R51	CG2R52	CG2R61	CG2D2O	0.7770	3	180.00
CG2R62	CG2R62	CG2O1	NG3N1	29.620	1	0.00
CG2R62	CG2R62	CG2R62	CG2R61	0.7930	2	0.00
NG2R62	CG2R62	CG2O1	OG2D1	27.620	1	0.00
CG2R62	CG2R62	CG2R62	CG2R63	0.7880	3	0.00
CG2R62	CG2R62	CG2R62	NG2R62	12.310	2	0.00
CG2R52	CG2R51	CG2R51	NG3N1	14.600	1	0.00
CG2R51	CG2R51	CG2R61	CG2D1O	13.320	2	0.00
HGP1	NG3N1	NG3N1	HGP1	26.840	1	0.00
CG2R62	NG2R62	NG2R61	CG2R63	0.3640	1	0.00
CG2R62	CG2R62	CG2R61	CG2R61	0.4160	1	0.00
CG2R62	NG2R62	NG2R61	HGP1	0.8390	1	0.00
HGP1	NG3N1	CG2R51	CG2R63	0.7650	3	0.00

EK 7

ÇizelgeEk 7 : Atomların van der walls yarıçapları ve lennard-jones parametresi

Atom Tipi	$\epsilon \left(\frac{\text{kcal}}{\text{mol}} \right)$	$R_{\text{min,ij}}/2 \text{ (Å)}$
CG2D1O	-0.068000	2.090.000
CG2D2O	-0.064000	2.080.000
CG2O1	-0.110000	2.000.000
CG2R51	-0.050000	2.100.000
CG2R52	-0.020000	2.200.000
CG2R61	-0.070000	1.992.400
CG2R62	-0.090000	1.900.000
CG2R63	-0.100000	1.900.000
CG321	-0.056000	2.010.000
HGA2	-0.035000	1.340.000
HGP1	-0.046000	0.224500
HGR61	-0.030000	1.358.200
NG2R50	-0.200000	1.850.000
NG2R61	-0.200000	1.850.000
NG2R62	-0.050000	2.060.000
NG3N1	-0.060000	2.050.000
OG2D1	-0.200000	3.400.000
OG2D4	-0.120000	1.700.000
OG3C61	-0.100000	1.650.000

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Emre GÜRSOY
Uyruğu : TC
Doğum Tarihi ve Yeri : 1991 / Ankara
E-posta : emre@ophth.com.tr

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2016, Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi , Fizik Mühendisliği
- **Yükseklisans** : 2018, TOBB ETÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Mikro ve Nanoteknoloji Mühendisliği

YABANCI DİL: İngilizce

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- **Emre Gürsoy**, Mehmet Özcan, Yasemin Aksoy, Turgut Baştuğ, 2017. “Developing Force Field for Drug Candidates”, Computational Chemistry Congress”, Poster Presentation.
- **Emre Gürsoy**, Turgut Baştuğ, 2018. “CHARMM Compatible Force Field for New Molecules”, Workshop on Protein Structure, Function and Dynamics, Oral Presentation
- **Emre Gürsoy**, Turgut Baştuğ, 2018. “Develeloping Force Field for Novel Drug Candidates Using QM” 12’th Chemical Phyiscs Congress, Oral Presentation