

**T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**VANKOMİSİNİN BAĞLANMA MODUNUN
TEORİK OLARAK HESAPLANMASI**

Mehmet AKDENİZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

**DİYARBAKIR
TEMMUZ 2009**

**T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**VANKOMİSİNİN BAĞLANMA MODUNUN
TEORİK OLARAK HESAPLANMASI**

Mehmet AKDENİZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN: Prof. Dr. Necmettin PİRİÇÇİOĞLU

KİMYA ANABİLİM DALI

**DİYARBAKIR
TEMMUZ 2009**

T.C
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
DİYARBAKIR

Mehmet AKDENİZ tarafından yapılan “Vankomisin Bağlanma Modunun Teorik Olarak Hesaplanması” konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Kimya Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyesinin

Ünvanı Adı Soyadı

Başkan	:Prof.Dr.	Necmettin PİRİNÇÇİOĞLU (Danışman)
Üye	:Prof.Dr.	İrfan AÇIKGÖZ
Üye	:Doç.Dr.	Mahmut TOĞRUL

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

...../...../.....

Prof.Dr.Hamdi TEMEL

ENSTİTÜ MÜDÜRÜ

(MÜHÜR)

TEŞEKKÜR

Bu çalışma esnasında büyük ilgi ve desteğini gördüğüm, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, gerek çalışma sırasındaki olumlu yönlendirmelerinden, gerekse tezimin yazım aşamasındaki katkılarından dolayı Sayın Hocam Prof. Dr. Necmettin PİRİNÇÇİOĞLU'na teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Dr. Şafak ÖZHAN KOCAKAYA ile Arş. Gör. Ahmet Cenk ANDAÇ' a ve emeği geçen tüm Hesaplamalı Kimya Araştırma Laboratuvarı çalışanlarına şükranlarımı sunarım.

Bu çalışma DÜAPK 02-FF-20 projesinden alınan bilgisayar ve donanımlarla yapıldı.

İÇİNDEKİLER

AMAÇ.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
1.1.GİRİŞ.....	1
1.2. KOVALENT OLMAYAN BAĞLANMA	4
1.2.1. Elektrostatik Etkileşim.....	4
1.2.2. Hidrojen Bağı.....	8
1.2.3. Hidrofobik Etkileşim.....	12
1.2.4. Van der Waals etkileşimleri.....	13
1.2.5. Yük-Transfer Etkileşimi.....	14
1.3.BİLGİSAYARLI KİMYA.....	14
1.3.1.Hesaplama Metotları.....	15
1.3.1.1. Moleküler Mekanik Metodu.....	16
1.3.1.2 Kuantum Mekanik Metodu.....	16
1.3.1.3 Yarı-Ampirik Metot.....	16
1.4.MOLEKÜLER DİNAMİK HESAPLAMALAR.....	17
1.5. MM/PBSA.....	18
2.MATERYAL VE METOT :.....	20
2.1. Moleküler Dinamik Simülasyonları:.....	20
2.2. MM/PBSA Hesaplamaları.....	21
3. SONUÇ VE TARTIŞMA	24
4. ŞEKİL VE TABLOLAR.....	27

4.1 Şekiller.....	27
4.2 Tablolar	32
5.KAYNAKLAR.....	36
6.ÖZGEÇMİŞ.....	41

AMAÇ

Bu çalışmada yoğun bir şekilde deneysel olarak çalışılan siklik glikopeptit antibiyotiklerin bir üyesi olan vankomisin *N*-Ac-*D*-Ala-*D*-Ala, *N*-Ac-*D*-Ala ve asetat ligantları ile oluşturduğu komplekslerin kararlılıklarını ve bağlanma modlarını teorik hesaplamalarla (moleküler dinamik simülasyonlarla desteklenmiş MM-PBSA) öngörülmesi ve böylelikle vankomisin gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal etkisinin mekanizmasının aydınlatılması hedeflendi. Elde edilen veriler deneysel verilerle mukayese edilerek yöntemin güvenilirliğinin test edilmesi amaçlanmıştır.

ÖZET

Moleküler dinamik simülasyonları (amber v9) ile vankomsinin *N*-Ac-*D*-Ala-*D*-Ala, *N*-Ac-*D*-Ala ve asetat ligantları ile oluşturdıkları komplekslerin bağlanma enerjileri ve moleküler tanıma özellikleri bulundu. Ayrıca moleküler dinamik simülasyon ile desteklenmiş MM-PBSA yardımıyla vankomsinin *N*-Ac-*D*-Ala-*D*-Ala, *N*-Ac-*D*-Ala ve asetat ligantları ile oluşturdıkları komplekslerin bağlanma serbest enerji değerleri sırasıyla -24.68 kcal mol⁻¹, -17.10 kcal mol⁻¹ ve -17.70 kcal mol⁻¹ olarak hesaplandı. Hesaplamalar sonucu elde edilen sonuçlar literatürdeki değerlerle mukayese edilebilir seviyede olup bu yöntemlerin bu tür sistemler için güvenilir neticeler verebileceğini göstermiştir.

ABSTRACT

The binding mode and the complex ability of vancomycin against the analogue of peptidoglycons, *N*-Ac-*D*-Ala-*D*-Ala, and *N*-Ac-*D*-Ala and acetate were studied by molecular dynamic calculations and MM-PBSA. The calculations produce similar binding mode and recognition cites for the complexes of vancomycin with ligands compared to the experimental results in literatures. The binding free energies (ΔG_{bind}) obtained from MM-PBSA calculations are $-24.68 \text{ kcal mol}^{-1}$, $-17.10 \text{ kcal mol}^{-1}$ and $-17.70 \text{ kcal mol}^{-1}$ for *N*-Ac-*D*-Ala-*D*-Ala, and *N*-Ac-*D*-Ala and acatate, respectively. These are quite comparable to experimental ones if one ignores the overestimation of binding energies of charged species by MM-PBSA since the method utilizes the continuum solvation model and ignores solute-solvent interactions . So the results prove that the method is reliable for predictions of binding energies of similar systems.

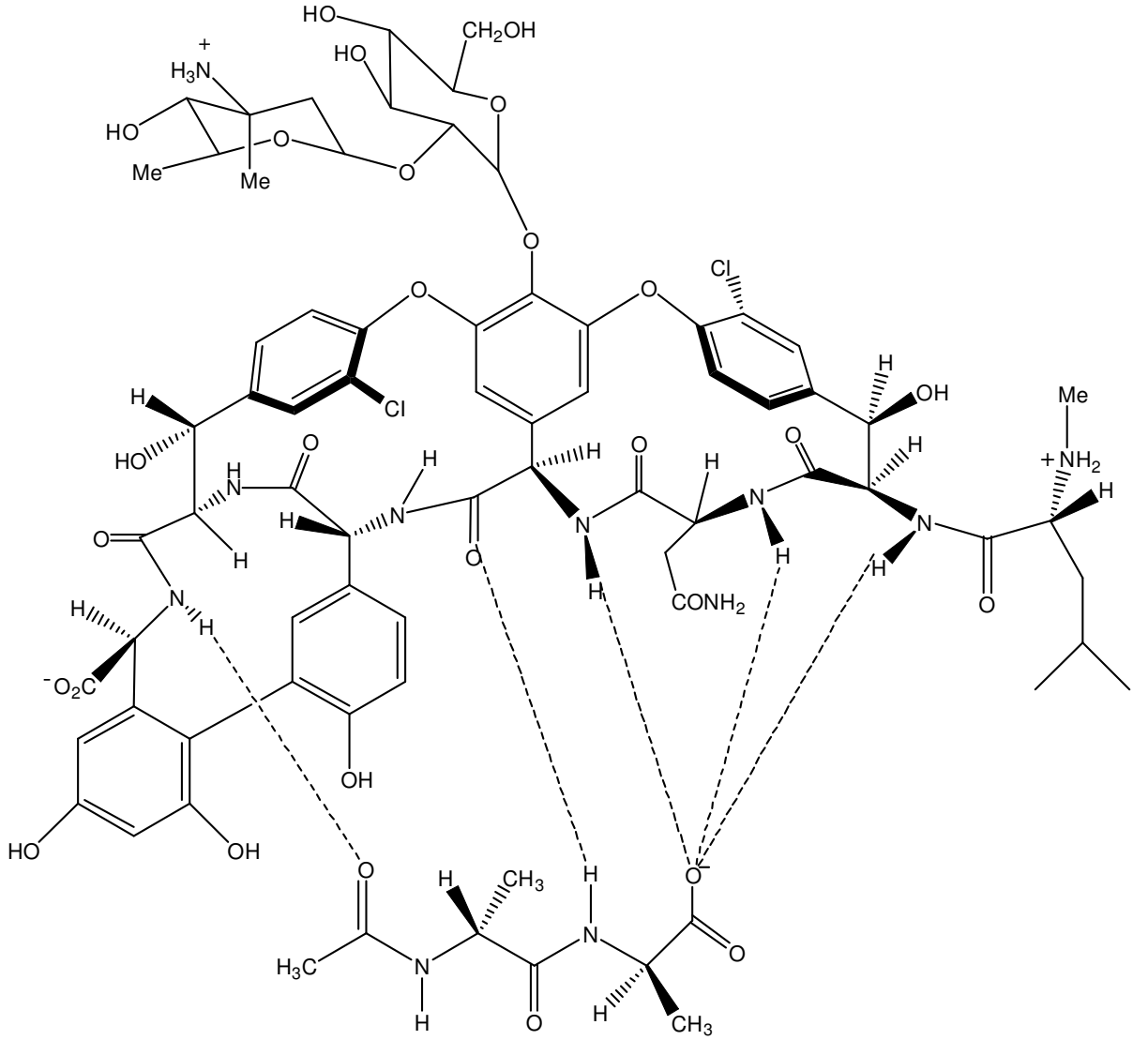
1.1. GİRİŞ

Vankomisin (Şekil 1.1), *Streptomyces orientalis*'ten izole edilen siklik glikopeptit antibiyotiklerinin bir üyesidir. Genellikle *D*-Ala-*D*-Ala artığıyla sonlanan mukopeptitlerden oluşan bakteriyel hücre duvarlarının biyosentezini önlediği bilinmektedir.¹ Yüzlercesi izole edilen glikopeptit antibiyotikleri olağandışı aromatik yan zincirlerle çapraz bağlı olan ortak bir heptapeptit gövdesine sahiptir.² Vankomisin ve Teikoplanin, β -laktam antibiyotiklere karşı direnç geliştiren bakterilere karşı kullanılabilen antibiyotiktir.³ Bu bileşikler terapötik tedavide antibiyotik olarak kullanılmalarının yanı sıra peptidlere bağlanmadaki seçiciliklerinden dolayı oldukça ilgi çekmiştir. Nispeten basit moleküler yapıya ve tanıma merkezine sahip oldukları için enzimler, ilaç reseptörleri ve protein-protein etkileşimleri için model olarak yaygın bir şekilde kullanılmıştır.

Vankomisinin ve onun asetil-*D*-Ala-*D*-Ala ve *N,N*-diasetil-*L*-Lys-*D*-Ala-*D*-Ala ile yaptıkları komplekslerin molekül yapıları moleküler temelde araştırılmış ve antibiyotik ile peptidin vankomisin ve peptitteki amit ve karbonil grupları arasındaki hidrojen bağları yoluyla birbirlerine bağlandığı görülmüştür (Şekil 1.1).^{4,5} Ayrıca vankomisindeki *N*-metil leusin ile peptitteki karboksilat grubu arasındaki elektrostatik etkileşim, kompleksin kararlılığı yönünden önemlidir.⁶

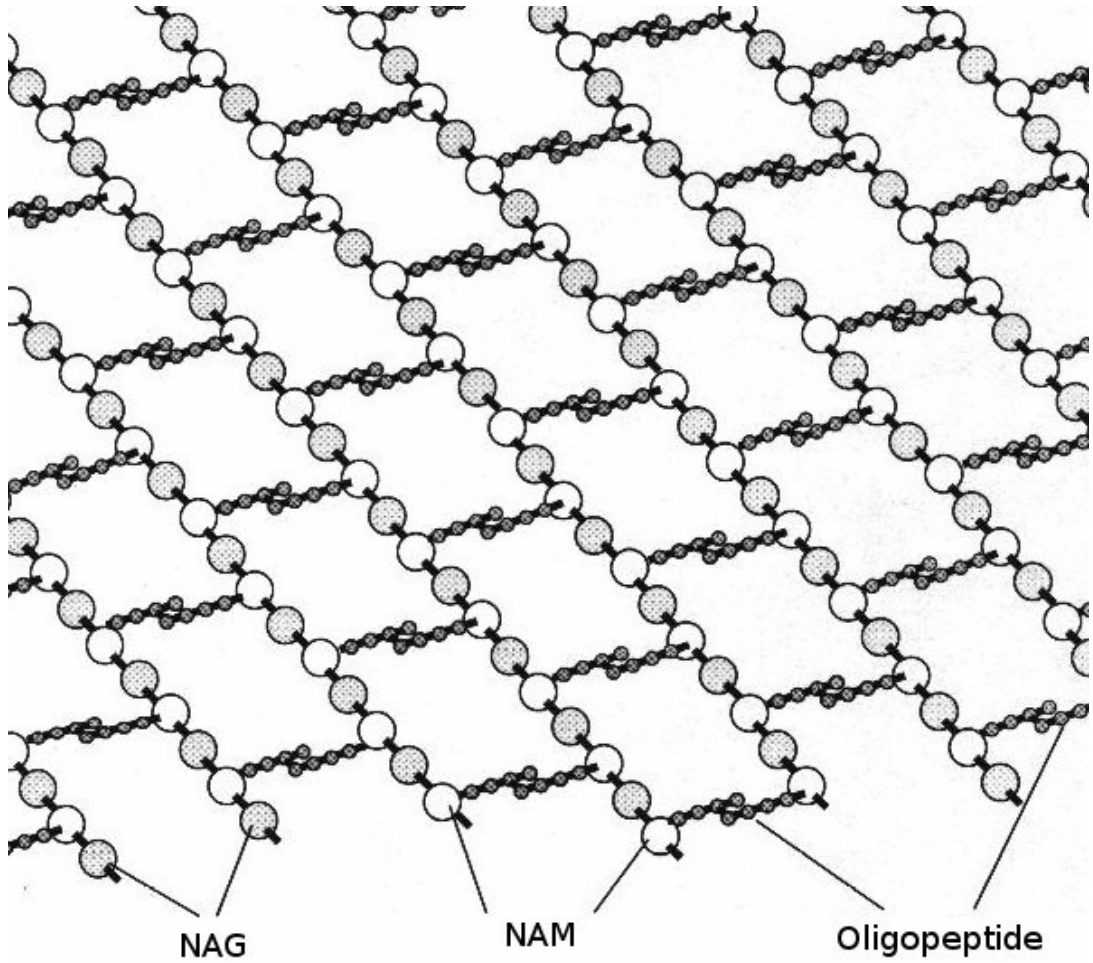
Kompleksleşme üzerine *pH*'nın etkisi; vankomisin ve peptidin karboksil gruplarının nötral olduğu *pH* 3'ün altında kompleksin kararlılığı azalırken terminal amino yada amino şekerlerin (belki de fenolik grupların) yüklü olduğu *pH* 8'in üstünde olduğunda kararlılığın yine azaldığı gözlemlenmiştir.⁷ Yakın zamanda yapılan gözlemler glikopeptit antibiyotiklerin substratlar ile etkileşmeye katılmayan

iki antibiyotik monomerinin arka yüzleri arasında hidrojen bağı içeren homo-dimerleri oluşturduğunu göstermiştir.⁸ Bu durum bu antibiyotiklerin etki şeklini daha da karmaşıktır. ⁹



Şekil 1.1: Vancomisinin Ac-D-Ala-D-Ala ile yaptığı kompleks. Kesikli çizgiler hidrojen bağlarını göstermektedir.

Vankomisin komplekslerinin modunu ve kararlılığını belirlemek için kullanılan en yaygın metot, vankomisin ile *N*-asetil-*D*-Ala-*D*-Ala'nın yüksek derişimlerini gerektiren nükleer manyetik rezonans tekniğidir. Bu durum da host-host ve ligand-ligand etkileşimlerinin olasılıklarını artıracığından etkileşen grupların mikro çevresinde değişikliğe neden olabilir ve dolayısıyla kompleksleşme kararlılığının yanlış ölçülmesine yol açabilir.



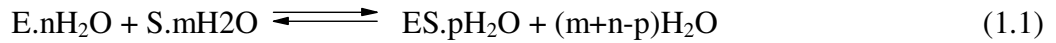
Şekil 1.2: Peptidoglikan yapısı NAG=*N*-asetilglukozamin, NAM=*N*-asetilmuramikasit.

Daha öncede belirtildiği gibi vankomisinin peptitlerle oluşturduğu komplekslerin model olarak çalışılması kovalent olmayan etkileşmelerin moleküler

tanımadaki rollerinin anlaşılmasında önemli bir yer tutar. Bu etkileşimlerin biyolojik sistemlerin moleküler tanımadaki bireysel katkılarını öngörmek oldukça zordur. Dolayısıyla kimyacılar bunları anlayabilmek için model çalışmalara başvurmuştur. Bu etkileşimlere aşağıda kısaca değinilecektir.

1.2. KOVALENT OLMAYAN BAĞLANMA

Enzim-substrat, DNA-protein, protein-protein, antikor-antijen, ilaç-reseptör etkileşimleri gibi birçok biyolojik sistem kovalent olmayan bağlanmalar içerir. Bu bağlanmalar hidrojen bağı, Kolombik, van der Waals, yük transfer ve hidrofobik etkileşimleri kapsar. Bu etkileşimler enzim katalizli reaksiyonlarda serbest aktivasyon enerjisini düşürür ve temel ve geçiş halinde enzim ve substrat arasındaki tanıma işlemlerini sağlar. İki molekül arasındaki etkileşimler eşitlikteki Eşitlik 1.1 gibidir.



1.2.1. Elektrostatik Etkileşim:

İki yüklü türün etkileşiminden oluşan enerji Eşitlik 1.2 'de gösterilmiştir ve bu enerji ortama bağlıdır.

$$E=e_1e_2/Dr. \quad (1.2)$$

E etkileşim enerjisi e_1 ve e_2 yüklerinin arasındaki mesafeye (r) ve ortamın dielektrik sabitine (D) bağlıdır.

Enzimatik reaksiyonlarda bu etkileşimin kantitatif katkısını hesaplamak zordur, çünkü enzimler homojen sistemler değildir ve bu yüzden sabit bir ortama sahip değildir. Enzimler oldukça değişen polaritede mikro çevrelere sahiptir.

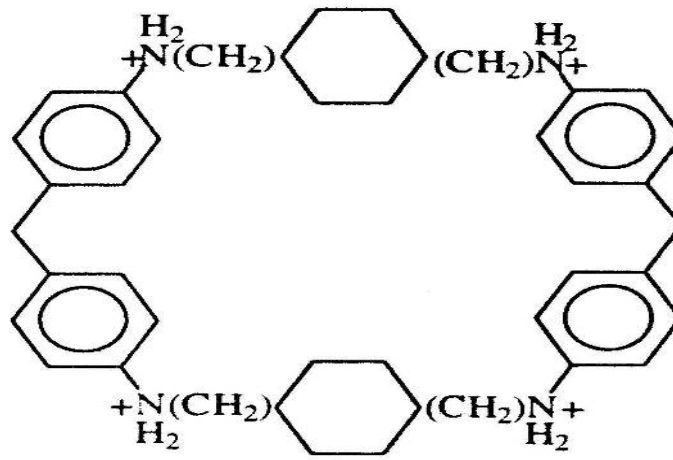
Enzimlerin yüzey çevresi çok polar olabildiği gibi hidrokarbon yan zincir bölgeleri çok hidrofobik olabilir.

Elektrostatik etkileşimlerin birkaç örneği tablo 1.1 ve 1.2’de gösterilmiştir. **1¹¹** ve **2¹²** molekülleri nötral moleküllerle karşılaştırıldığında yüklü ligadlarla daha kararlı kompleksler oluştururlar.

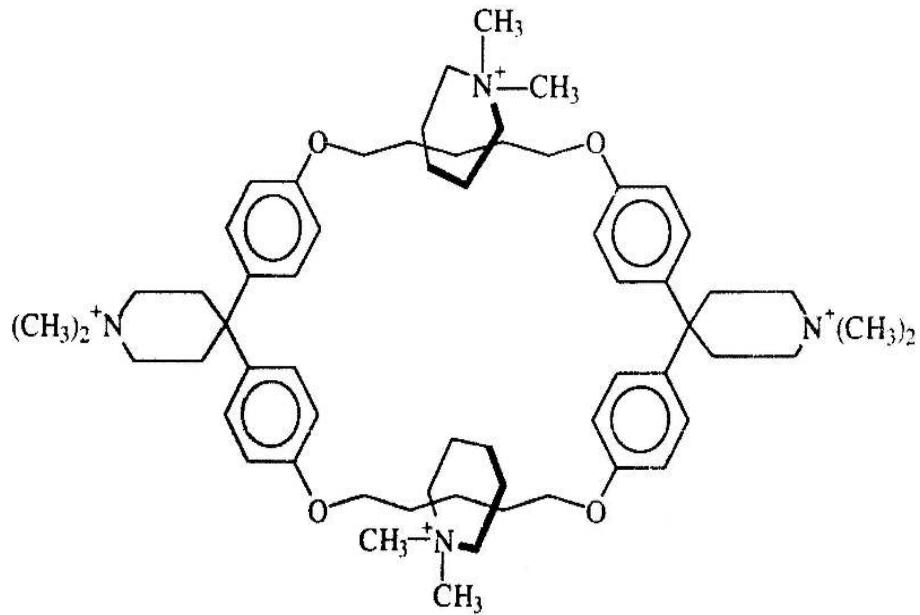
Tablo 1.1: Host 1 ve Host 2 ile yüklü ve nötral ligantlar arasındaki bağlanma sabitleri .

<i>p</i> H 1.9 (KCl-HCl) ve 298K’de kompleks 1	
Ligand	K_{ass}/M^{-1}
1,5-Naftalendisülfonat	1.4×10^6
2,6-Naftalendisülfonat	3.2×10^5
1-Naftalensülfonat	5.3×10^4
2-Naftalensülfonat	3.0×10^4
2,7-Naftalendiol	4.3×10^3
2,7-Bis(dimetilamonyum)naftalen	a
Su içerisinde 293K’de kompleks 2	
6-(4-metilfenil)amino-2-naftalensülfonat(2.6-TNS)	5.0×10^6
8-fenilamino-1-naftalensülfonat(1.8-ANS)	3.2×10^6
2,6-Naftalendisülfonat	$>10^6$
1,5-Naftalendisülfonat	4.4×10^5
Naftalen	1.2×10^4

a)ölçmek için oldukça küçük

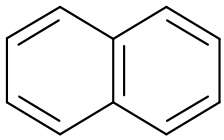
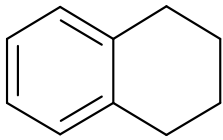
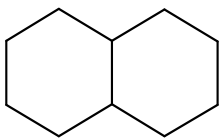
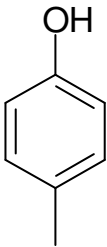
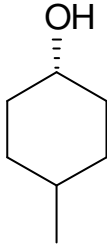
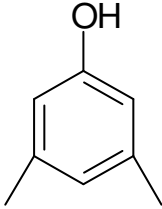
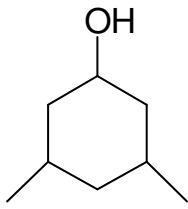
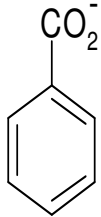
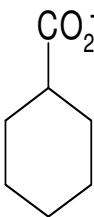
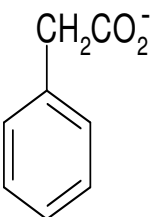
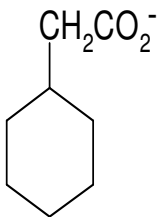


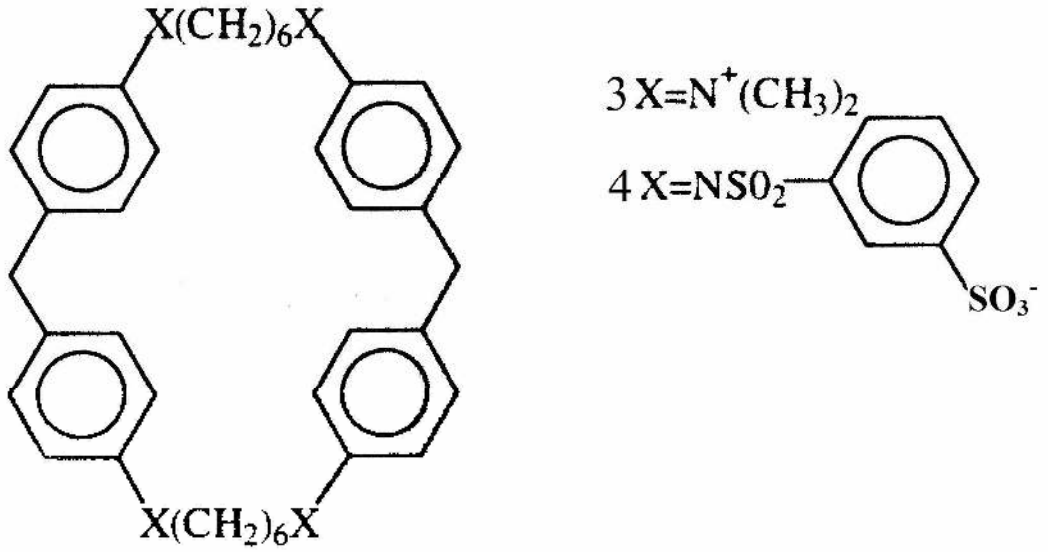
1



2

Tablo 1.2: Host 3 ve Host 4'ün yüklü ve nötral ligantlar ile etkileşmesi için 298K'de D₂O içinde kompleksleşme serbest enerjileri $-\Delta G^0$ (kcal/mol).¹³

				
Host3	4.0	2.7	1.6	
				
Host 3	2.4	0.8	2.7	0.5 -1.11
Host 4	1.8	1.0-1.7	1.6	0.9-1.5
				
Host 3	3.9	2.4	3.8	2.8

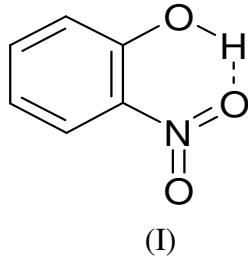


Tablo 1.2’de, naftalinin değeri iyon- π etkileşimlerinin önemini göstermektedir ve host 3’ün *p*-metilfenol ve benzoat anyonu ile etkileşimi arasındaki fark kolombik etkileşimden kaynaklanmaktadır.

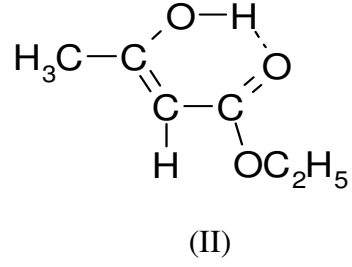
1.2.2. Hidrojen Bağı:

Hidrojen bağı gibi etkileşimler, proteinlerin üç boyutlu yapısı ve DNA’nın çift sarmalının korunmasına yardım ettikleri için oldukça önemlidir. Hidrojen bağı, bir yüke sahip kovalent bağlı hidrojen atomu ile diğer bir atom üzerinde bulunan ortaklanmamış elektron çifti arasındaki zayıf elektrostatik etkileşim olarak tanımlanabilir. Hidrojen bağı oluşturabilen atomlar, en az bir tane ortaklanmamış elektron çiftine sahiptir. Bu atomların elektronegatiflik sıralanışı F, O, N, Cl ve S şeklindedir.

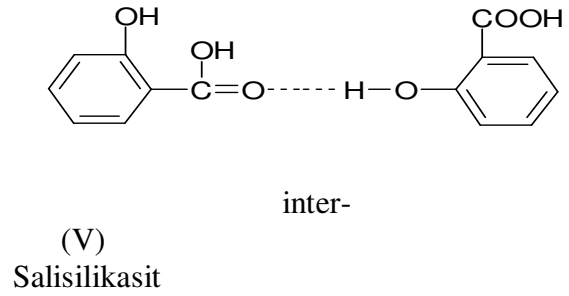
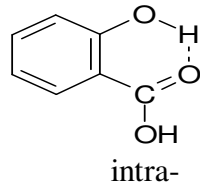
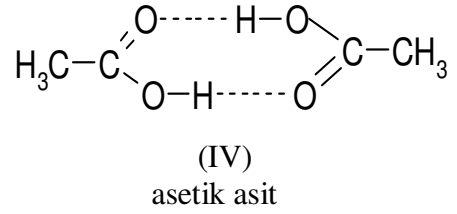
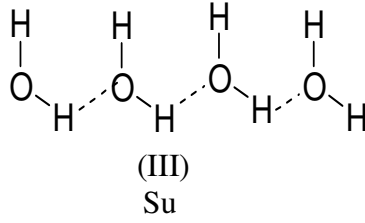
X-H - - A sisteminde hidrojen, X atomuna kovalent, A atomuna ise bir tür iyonik bağla bağlanmıştır. Hidrojen bağları molekül içi (intramoleküler:I,II), moleküller arası (intermoleküler:III,IV) veya her ikisini kapsayacak şekilde (V) meydana gelebilmektedir.



o-nitrofenol



etil asetoasetat



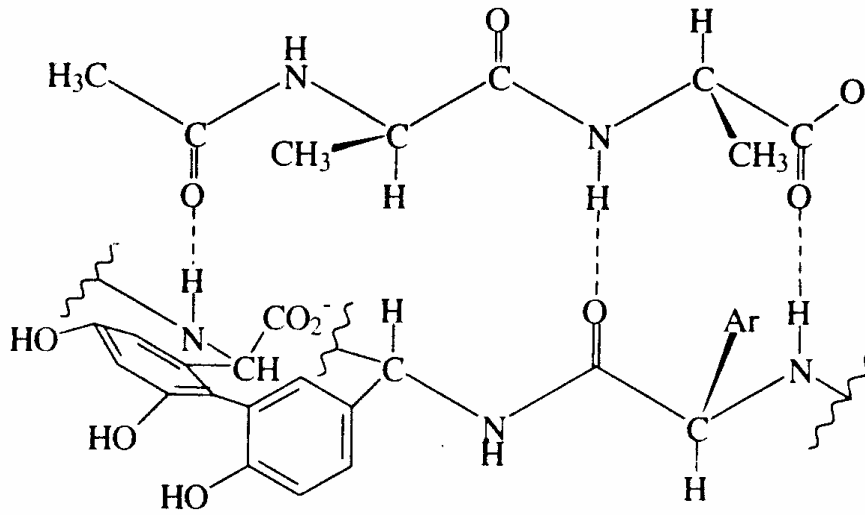
Kimyasal yapılarda en çok rastlanan hidrojen bağları O-H---O, N-H---O, N-H---N, F-H---F, O-H---N ve N-H---F vb.dir. Bu hidrojen bağlarının bağ kuvveti, kovalent bağın yaklaşık onda biri kadardır. İntermoleküler hidrojen bağları ile intramoleküler hidrojen bağlarının dayanıklılığı aynı olmayıp intermoleküler bağlar çok daha zayıftır.¹⁴

Hidrojen bağı, bir bileşiğin kimyasal ve fiziksel özelliklerini belirgin bir şekilde değiştirebilmektedir. Biyolojik sistemlerde en çok rastlanan hidrojen bağları,

hidroksil (OH) ve amino (NH) grupları tarafından meydana getirilir. Bunlarda azalan stabilite sırası $O-H---N > O-H---O > N-H---N >$ şeklindedir.

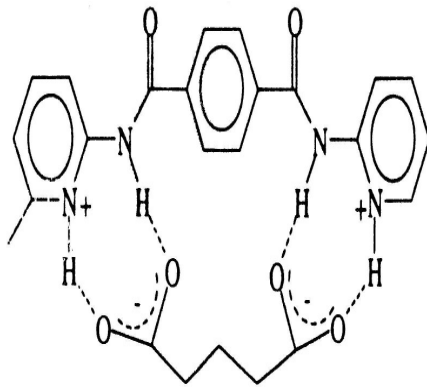
Hidrojen bağları, ilacın reseptöre bağlanmasında önemli rol oynamaktadır. Reseptör proteinini oluşturan amino asitlerin bazıları sadece proton verici (donör), bazıları sadece proton alıcı (akseptör), bazıları da hem proton verici hem proton alıcı özelliktedir. Reseptör proteinlerdeki bu amino asitlerin yardımıyla donör ya da akseptör özelliklerine göre, ilaç moleküllerindeki hidroksil (OH), karboksil (COOH), keton (C=O), amino (NH), sülfhidril (SH) gibi donör akseptör gruplarla hidrojen bağları oluşturmakta ve böylece ilaç-reseptör etkileşimini sağlamaktadır. Hidrojen bağı aracılığı ile ilaç-reseptör etkileşimi bağlamında bilinmesi gereken bir husus, hem ilacın hem de reseptörün canlı sistemlerdeki su ile de hidrojen bağı yapabilmesidir. İlaç-reseptör hidrojen bağları ile ilaç-su ve reseptör-su hidrojen bağlarının bağ kuvvetleri arasında pek büyük bir fark bulunmadığından, ilacın hidrojen bağı ile reseptöre bağlanması, öncelikli bir durum değildir. Bu da ilaç-reseptör kompleksinin oluşmasında hidrojen bağının etkisini belirlemeyi oldukça güçleştirmektedir.¹⁴ Burada ilaç-su ve reseptör-su sistemlerindeki hidrojen bağlarının kopup ilaç-reseptör arası hidrojen bağlarının oluşmasını sağlayan mekanizmanın, muhtemelen hidrojen bağı değişimi reaksiyonunun yönlendirme gücü olduğu kabul edilmektedir.

Bir glikopeptit antibiyotik olan vankomisin *N*-Ac-*D*-Ala-*D*-Ala ile etkileşimi (Şekil 1.3) biyokimyasal bir işlemdeki hidrojen bağının mükemmel bir modelidir. Vankomisin gibi antibiyotikler hücre duvarlarının yapı taşlarını oluşturan glikopeptitlerin *D*-Ala-*D*-Ala artıkları ile birleşerek hücre duvarının biyosentezini önler ve transpeptidaz tarafından katalizlenen çapraz bağı işlemi tamamıyla inhibe eder.⁴

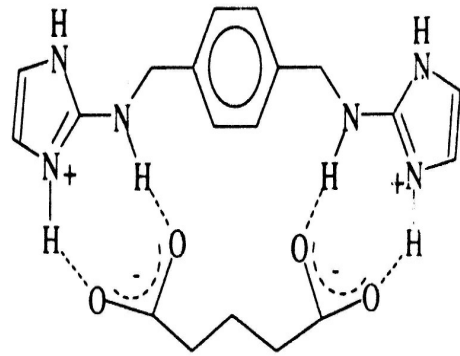


Şekil 1.3: Vankomisinin *N*-Ac-D-Ala-D-Ala ile etkileşimi; kesikli çizgiler hidrojen bağlarını göstermektedir.

Hamilton ve çalışma arkadaşları hidrojen bağı etkileşimlerine dayalı olan değişik çözücü sistemleri içindeki **5**¹⁵ ve **6**¹⁶ gibi moleküllerle birçok tanıma modelleri çalıştılar.



5



6

Örneğin, **5**'in CHCl_3 'teki bağlanma sabiti $6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ iken %5'lik THF ilave edildiğinde 640 M^{-1} olur ve DMSO'da ise bağlanma hiç gerçekleşmez. **6**'nın %5'lik THF katılmış DMSO'da bağlanma sabiti 5×10^4 iken buna %25'lik D_2O ilave edildiğinde 480 M^{-1} olur.

1.2.3. Hidrofobik Etkileşim:

Pek çok ilacın reseptörlerle birleşip biyolojik etki gösterebilmesinde ve ayrıca proteinlerin normal konfigürasyonlarını koruyabilmesinde yardımcı olan en önemli etmenlerden biri de hidrofobik etkileşimlerdir. Bir hidrofobik etkileşim, bir molekülün sulu fazdan organik faza geçme eğilimi olarak tanımlanır. Hansh ve çalışma arkadaşları Hammet'in σ sabitine benzer olan X substitüenti için n-oktanol-su sisteminde dağılıma uğratarak dağılım katsayılarını saptadılar ve bunu

$$\pi = \log(P/P_0) \quad (1.3)$$

Eşitliğindeki gibi formüle ettiler.¹⁷ Burada, P ve P₀ sırasıyla organik faz ve sulu faz içindeki ana (süstitue olmayan) molekülün çözünürlüğüdür. Bağlanma ya da hız parametreleri (*k* veya *K*) eşitlik 1,4'deki gibi lineer serbest enerji bağıntılarına uyar.

$$\text{Log } k \text{ veya } \text{Log } K = \rho \pi + c_1 \quad (1.4)$$

ρ ve β (Hammet ve Brönshted) değerleri gibi P'nin büyüklüğü bir reaksiyonun hassaslığının ölçüsüdür. Hidrofobik etkileşimleri tercih eden iki faktör vardır. Bunlar pozitif entropi ve negatif entalpidir. Enzim-substrat kompleksinde substratı çevreleyen ve sıralı su moleküllerinin çözücüye dağılması nedeniyle enzim-substrat kompleksleşmesinin entropisi artar. Hidrofobik bağlanmayı tercih eden ikinci bileşen suyun OH artıkları ile karşılaştırıldığında CH₂ birimlerinin polarlığının artmasıdır.

Hidrofobik etkileşimlerin model çalışmaları üzerine birçok araştırma yapılmıştır. Siklofanların aromatik ligantlarla olan kompleksleri hidrofobik etkileşimlerin ünlü örnekleridir.^{12, 18-22}

1.2.4. Van der Waals etkileşimleri:

İlaçlar apolar grupları aracılığı ile de reseptörlere bağlanabilmekte ve bu bağlanma van der Waals kuvvetleri aracılığı ile sağlanmaktadır. Van der Waals veya

dispersiyon kuvvetleri, yüksüz ve polar olmayan (dipolsüz) moleküllerde ortaya çıktıkları halde, elektrostatik bir karaktere sahiptir. Bunun nedeni, elektronların çekirdek etrafında devamlı yer değiştirmesi ve moleküldeki atomların vibrasyonel hareketi sonucunda yakın orbitallerde zayıf, kararsız (değişken), ve kısa ömürlü (geçici) dipol momentlerin meydana gelmiş olmasıdır. Van der Waals kuvvetleri değişken ve geçici oldukları için kısa bir süre sonra kaybolmakta, ancak bu arada komşu atom polarizlenmiş olduğundan moleküllerin bağlanma olayı gerçekleşebilmektedir. Buradaki bağlanma büyük ölçüde moleküller arası mesafeye bağlıdır. En iyi bağlanma 4-6 Å'lık bir yakınlıkta meydana gelmekte, moleküllerin gereğinden fazla birbirlerine yaklaşmaları durumunda elektron ve çekirdek bulutları birbirlerini iteceğinden moleküllerin bağlanması gerçekleşmemektedir. Van der Waals çekim kuvveti iki molekülün ortalama etkileşim alanının büyüklüğüne de bağlı olduğundan etkileşim alanı ne kadar büyük ise van der Waals çekim kuvveti o kadar büyük olmaktadır. Apolar moleküller arasındaki büyük alanlı etkileşimlerin sayısı fazladır ve bunların toplamından kaynaklanan bağ faktörü ilaç-reseptör kompleksinin oluşumunda diğer bağ türleri ile birlikte önemli bir katkı sağlamaktadır.¹⁴

1.2.5. Yük-Transfer Etkileşimi:

Moleküler tanımda rol oynayan faktörlerden biri de yük-transfer kompleksleridir. Yük-transfer etkileşimlerinin temel dayanağı elektronca zengin bir donör grup ile elektronca fakir bir akseptör grup arasındaki elektrostatik çekimdir. Donör-akseptör parçalar hem reseptör ve enzim proteinlerindeki amino asitlerde hem de bir çok ligantın yapısında bulunmakta, dolayısıyla bunlar yük-transfer etkileşimleri oluşturabilmektedir.¹⁴

1.3. BİLGİSAYARLI KİMYA

Bilgisayarlı kimya; kimyasal problemlerin çözümüne yardım etmek için bilgisayar programları kullanan kimyanın bir dalıdır. Bilgisayarlı kimya teorik kimyanın sonuçlarını etkili bilgisayar programlarına dahil ederek molekül ve katıların özellik ve yapılarını hesaplamak için kullanılır. Bunların sonucu kimyasal deneylerle sağlanan bilgileri çoğunlukla tamamlarken, bazı durumlarda o zamana kadar gözlemlenememiş kimyasal sonuçlar öngörebilir. Bilgisayarlı kimya yeni bir bilim dalı olup gelişim ve popülerliği son yıllarda teknolojiye paralel olarak artmıştır. Kimyadaki diğer anabilim dalları gibi bilgisayarlı kimya, kimyasal işlem ve reaksiyonları anlayabilmek ve kimyasal bilgileri geliştirmek için kullanılır. Bilgisayarlı kimyanın hedefi; kimyasal sistemlerin kararlılığını ve yapılarını tahmin edip karakterize etmek, farklı fiziksel haller arasındaki enerji farklılıklarını tahmin etmek, atomik seviyedeki mekanizmaları ve izlenen reaksiyonların hangi yol üzerinden yürüdüğünü açıklamaktır.²³ Bilgisayarlı kimya için bilgisayar yazılım ve donanımlarının temeli genellikle deneysel bilgilere dayanmaktadır. Bu yazılım ve donanımları kullanmak için gerekli veritabanlarını bilmek gerekmektedir.²⁴ Her bir çalışma için en uygun yazılım ve donanım belirlenerek bilinen veri tabanlarından faydalanılabilir. Hesaplamalı kimyada maddelerin yapı (Atomların var olduğu sanılan pozisyonlar gibi), Mutlak ve kısmi etkileşim enerjileri, elektronik yük dağılımları, dipoller ve yüksek multipol momentler, titreşim frekansları ve reaksiyona girme kabiliyetleri gibi özellikler ön plana çıkar. Hesaplamalı Kimya yaygın olarak yeni ilaçların ve materyallerin tasarımında da kullanılır. Bilgisayarlı kimyanın doğru şekilde ilerlediğinden emin olmak için araştırmacılar genellikle diğer araştırmacıların üretebildiği ve sonuçları analiz edebildikleri konuları çalışmışlardır.

1.3.1.Hesaplama Metotları

Temel olarak iki tip hesaplama metodu vardır. Birincisi moleküler mekanik diğeri de kuantum mekaniğidir. Kuantum mekaniği *ab initio*, yarı-ampirik kuantum mekaniği ve DFT (Density Functional Theory) metotlarını içerir. Moleküler mekaniğin ve yarı-ampirik kuantum mekaniğinin DFT ve *ab initio* metotlarından bazı avantajları vardır. En önemli avantajı bu metotların hızlı bir şekilde hesaplama yapmalarıdır. Hesaplamaların hızlı olması da büyük biyokimyasal moleküller için önemlidir. Bir başka avantajı ise spesifik ve iyi parametrize olmuş moleküler sistemler için *ab initio* ve DFT'ye göre deneysel verilere daha yakın değerler vermesidir.

Moleküler mekanik veya yarı-ampirik kuantum mekanik metotlarının doğruluğu veri tabanında kullanılan metot ve parametrelere bağlıdır. Bu kimyasal ve fiziksel bilgilerin kullanıldığı molekül çeşitleri için doğrudur. Büyük bir oranda bu metotlar belirli parametrelerle sınırlandırılmış molekül sınıfları için en iyi sonucu verir. Bu metotların dezavantajı ise hesaplama yapmadan önce uygun parametrelere sahip olmak gerekmektedir. Bu da zaman kaybına neden olur. *ab initio* veya DFT bu sorunu çözmesine rağmen moleküler mekanik ve yarı-ampirik metotlardan daha yavaştır.

1.3.1.1. Moleküler Mekanik Metodu

Moleküller arasındaki atom veya fonksiyonel grupların etkileşimi sonucu potansiyel enerjideki değişimlere bağlı olarak geliştirilen bir hesaplama metodudur. Fonksiyonel grupların etkileşimim sonucu bağlardaki esneme ve bükülmeden dolayı enerji artar.

1.3.1.2 Kuantum Mekanik Metodu

ab initio kuantum mekanik metotlarının geliştirilmesi uzun yıllar almıştır. DFT ise yeni bir metottur. *ab initio* metodu ile ortak birçok yönü vardır. DFT dalga fonksiyonundan ziyade enerjinin yoğunluğa nasıl bağlı olduğuna dair tahmin yürütmekte kullanılan bir metottur. Bu gibi metotlar *ab initio* metodundaki Hartree Fock potansiyelinin yerine elektron yoğunluğunun bir fonksiyonu olan Değişim-korelasyon potansiyelini kullanır. Temel olarak bunlar Hartree Fock hesaplamalarından daha geçerlidir. Elde edilen sonuçlar *ab initio* Hartree Fock ve MP2 (Møller Plesset perturbation theory) hesaplamaları ile karşılaştırılabilir. Yarı-ampirik kuantum mekanik metotları son 30 yılda geliştirilmiştir. Bu günkü bilgisayar teknolojisi kullanılarak büyük moleküler sistemler için daha anlamlı, daha kantitatif sonuçlar önerilebilmektedir.

1.3.1.3 Yarı-Ampirik Metot

Yarı-ampirik hesaplamaları Hartree-Fock (HF) hesaplamaları gibi aynı genel yapılar için kullanılır. İki elektron integrali gibi bilgilerin bir kısmı tahmin edilebilir veya tamamen ihmal edilir. Hesaplamanın bir kısmı ihmal edildiğinde hataları düzeltmek için metot parametrize edilir. Yarı-ampirik hesaplamaların iyi tarafı *ab initio* hesaplamalarından daha hızlı olmasıdır. Yarı-ampirik hesaplamaların dezavantajı ise sonuçların değişken olabileceğidir. Eğer molekül parametrize metotta kullanılan moleküle benzerse sonuçlar çok iyi olabilir, eğer hesaplanan molekül parametrize edilen molekülden farklı ise sonuçlar iyi olmayabilir. Yarı-ampirik hesaplamalar organik kimyada yaygın olarak kullanılan birkaç elementten oluşan ve uygun boyutta olan moleküllerin tanımlanmasında çok başarılıdır. Bununla birlikte yarı ampirik metotlar anorganik kimyadaki bazı spesifik moleküllerin tanımlanmasında da başarılıdır.

1.4. MOLEKÜLER DİNAMİK HESAPLAMALAR

Bilgisayar simülasyonları, moleküllerin kendi yapılarına ve kendi aralarındaki mikroskobik etkileşimlerine dayanarak, toplanma özelliklerinin anlaşılması umularak icra edilmektedir. Moleküler dinamik (MD) simülasyonları 1957'ye dayanır, hızlı bir şekilde kompleks sıvıların, erimiş tuzların, kristallerin, ve proteinlerin çözeltideki yapısal ve termodinamik özelliklerini hesaplayan güçlü bir araç olarak meydana çıkmıştır. Moleküler Dinamikteki bu gelişmeler sonucu, 3000 su molekülü tarafından sarılmış bir enzim kadar büyük sistemlerin gerçekçi simülasyonlarını icra etmemizi sağlayan, bilgisayar donanım ve yazılımının her ikisinde de son zamanlarda harikulade ilerlemeler gözlenmiştir. Bu olay, diğer yollardan bulunamayan bir şeylerin öğrenilmesini mümkün kılarak, geleneksel deneyleri tamamlayıcı olarak hizmet eder. İki ana simülasyon tekniği Moleküler Dinamik (MD) ve Monte Carlo (MC)'dur; buna ilaveten her iki yöntemin özelliklerini birleştiren çok sayıda melez teknik vardır.²⁵

Moleküler Dinamik atom ve moleküllerin bilinen fizik kuralları altında belli bir süre etkileştiği bilgisayar simülasyonu şeklindedir. Moleküler sistemler genellikle çok sayıda parçacıktan oluştukları için bu kompleks sistemlerin özelliklerini analitik olarak incelemek mümkün değildir. Moleküler Dinamik simülasyonları bu sorunu sayısal metotlar kullanarak halleder. Laboratuvar deneyleri ile teori arasında bağlantı kurarak gerçek bir deney olarak anlaşılabilir. Moleküler Dinamik multidisipliner bir alandır. Yasa ve teorileri matematik, fizik ve kimyadan gelir. Moleküler dinamik ilk olarak 1950'lerde teorik fizikte kullanılmıştır. Ancak günümüzde yaygın olarak biyomoleküllere uygulanır. MD moleküler yapı, hareket ve fonksiyon arasındaki ilişkileri araştırır.

1.5. MM/PBSA

MM-PBSA metodu Srinivasan ve arkadaşları tarafından bulunmuştur.²⁶ MM-PBSA bağlanma enerjilerini hesaplamak için moleküler mekanik ve sürekli çözücü (continuum solvent) yaklaşımlarını birleştirmektedir. Açık çözücüdeki bir başlangıç MD simülasyonu yapının termal olarak grup ortalamalarını bulmaktadır. Bir kaç işleme tabi tutulmaktadır, bütün suların ve ters yüklü moleküllerin kaldırılması gibi, ve sistemin toplam bağlanma serbest enerjisini hesaplamak için aşağıdaki eşitlikle kullanılmaktadır.²⁷

$$\Delta G_{\text{bind}} = G_{\text{kompleks}} - [G_{\text{protein}} + G_{\text{ligand}}] \quad (2.1)$$

MM-PBSA/GBSA (Molecular Mechanics-Poisson Boltzmann Surface Area/ Generalized Born Surface Area) yaklaşımı çözültideki moleküllerin bağlanma serbest enerjilerini değerlendirmek veya mutlak serbest enerjilerini hesaplamak için son işleme metodunu gösterir. Yapı serileri genellikle moleküler dinamik veya Monte Carlo metotları ile toplanmaktadır. Bununla beraber, yapı koleksiyonlarının bir AMBER yörünge (trajectory) dosyası formatında kaydedilmesi gerekmektedir. Moleküler mekanikte enerjiler AMBER program ile bulunmaktadır ve iç enerjilerini (bağ, açı, dihedral), van der Waals ve elektrostatik etkileşimleri göstermektedir. Bütün etkileşimler için bir sonsuz sınırlayıcı (cutoff) kullanılmaktadır. Çözünme serbest enerjisine elektrostatik katkı Poisson- Delphi programında tamamlanmış Boltzmann metodu ile hesaplanmaktadır.²⁸

Bu çalışmanın amacı; çok yoğun bir şekilde deneysel olarak çalışılan vankomisini ve *D*-Ala-*D*-Ala dipeptit ve analoglarının bağlanma modunun teorik olarak çalışmaktır. Her ne kadar bununla ilgili bazı çalışmalar²⁹⁻³² varsa da bu konuda moleküler dinamik hesaplamalar ve özellikle MM-PBSA konusunda detaylı bilgi yoktur.³³⁻³⁵ Bu çalışmada *D*-Ala-*D*-Ala üzerinde çeşitli yapısal değişiklikler

yaparak bunların vankomisin ile olan komplekslerinin bağlanma enerjilerini moleküler dinamik hesaplamalarla desteklenmiş MM-PBSA metoduyla öngörmeyi hedefledik. Elde edilen veriler deneysel verilerle mukayese edilerek yöntemin güvenilirliği test edilecektir.

2. MATERYAL VE METOT :

2.1. Moleküler Dinamik Simülasyonları:

Moleküler Dinamik(MD) simülasyon hesaplamaları bir Linux işletim sisteminde yürütüldü. Tüm simülasyonlar Amber (Version-9.0)³⁶ kullanılarak yapıldı.

Vankomisinin *N*-Ac-*D*-Ala-*D*-Ala ile oluşturduğu kompleksin başlangıç koordinatları Amber programı içindeki örnek dosyalardan temin edildi. Bu yapının içinden *N*-Ac-*D*-Ala-*D*-Ala silinerek vankomisin tek başına pdb olarak kayıt edildi. Çalışmamızda kullandığımız ligandlar ise *N*-Ac-*D*-Ala-*D*-Ala koordinatları baz alınarak Gauss View 3.09³⁷ programı ile dizayn edildi. Sonra bu ligandlar yarı ampirik AM1 metodu yardımıyla Gaussain 03³⁸ ile optimize edildi. AM1-Bcc (Bağ ve yük düzeltmeli Austian modeli)³⁹ vankomisin ve ligandların kısmi atomik yükleri Amber (Version-9.0) programına işlenmiş antechamber modülü ile belirlendi ve her bir bileşik ve kompleks için topoloji ve koordinat dosyaları hazırlamak için xleap programı kullanıldı. İyonlaşabilen artıkların yükleri nötral pH'da sabitlendi. Kompleks 10 Å çapındaki bir TIP3PBOX⁴⁰ su kutusu içerisinde çözüldü. Kompleks ile çözücü arasında temas yüzey uzaklığı 0.4 Å' dur. Klor iyonları kompleks sistemlerini nötralize etmek için kullanıldı. Simülasyonda küçük organik moleküller için uygun olan General AMBER Force Field (GAFF) ⁴¹ kullanıldı.

Hem vankomisin hem de kompleksler için sistem önce yeterince minimize edildi , sonra 10 ps'de 0 K'den 300 K'e kadar ısıtıldı, daha sonra 8 ns'de MD hesaplamaları gerçekleştirildi ve tüm MD çalışmalarındaki her bir adım için 2 fs'lik bir zaman aralığı kullanıldı. Uzun mesafe elektrostatik hesaplamaları yapmak için Partical Mesh Ewald (PME)⁴² metodu uygulandı. Hidrojen atomları içeren tüm kovalent bağları sıkıştırmak için SHAKE⁴³ metodu kullanıldı.

Kompleks sisteminin ortalama karekök sapma (RMSD) analizi, AMBER (v9)'ın içine işlenmiş ptraj modülü ile koordinat dosyaları kullanılarak yapıldı.

Üç boyutlu yapıları Chimera (UCSF)⁴⁴ kullanılarak görüntülendi. RMSD grafikleri XMGRACE paket programı ile gösterildi.

2.2. MM/PBSA Hesaplamaları

Bu çalışmada su içerisindeki reseptör-ligand komplekslerinin bağlanma reaksiyonlarını analiz etmek için M2 denilen Mining Minima⁴⁵⁻⁴⁶ algoritması uygulandı. AMBER(v9)'ın MM-PB/SA modülü her kompleksin bağlanma serbest enerjisini (ΔG_{bind}) hesaplamak için MM/PBSA metodu kullanılarak yapıldı. Her kompleks için kompleks koordinat dosyalarının son 2 ns'de toplam 100 tane anlık görüntü (snapshot) alındı.

Titreşim entropi terimi (TS) amber programındaki NMODE (Normal mod analizi) modülü kullanılarak hesaplandı. Yapısal minimizasyonların yanında normal mod analizleri de çözücü etkisini taklit etmek için mesafeye bağlı bir dielektrik fonksiyonu ile yürütüldü. ($\epsilon=80$ Rij)

Konformasyonel araştırma ve konfigürasyon integrallerinin değerlendirilmesi sırasında Welec basitleştirilmiş ama hızlı genel Born⁴⁷ modeli ile kullanıldı. Her bir enerji kaynağının elektrostatik çözünme enerjisi daha doğru ama zaman alıcı olan Poisson denkleminin sınırlı-farklı çözümü ile doğrulandı. Her bir atomun dielektrik yarıçapı su için 1.4 Å'luk çözücü probe yarıçapının ortalamasına ayarlandı ve atomların van der Waals yarıçapı ve molekül ile çözücü arasındaki dielektrik sınır çözücünün erişebildiği moleküler yüzeyi olarak belirlendi, suyun dielektrik sabiti 80 olarak alındı.

MM/PBSA metodu kavramsal olarak şöyle özetlenebilir:

$$\Delta G_{\text{bağlanma}} = G_{\text{kompleks}} - [G_{\text{reseptör}} + G_{\text{ligand}}] \quad (2.1)$$

$$G = E_{\text{gaz}} + G_{\text{çözünme}} - TS \quad (2.2)$$

$$E_{\text{gaz}} = E_{\text{bond}} + E_{\text{açı}} + E_{\text{bük}} + E_{\text{vdw}} + E_{\text{ele}} \quad (2.3)$$

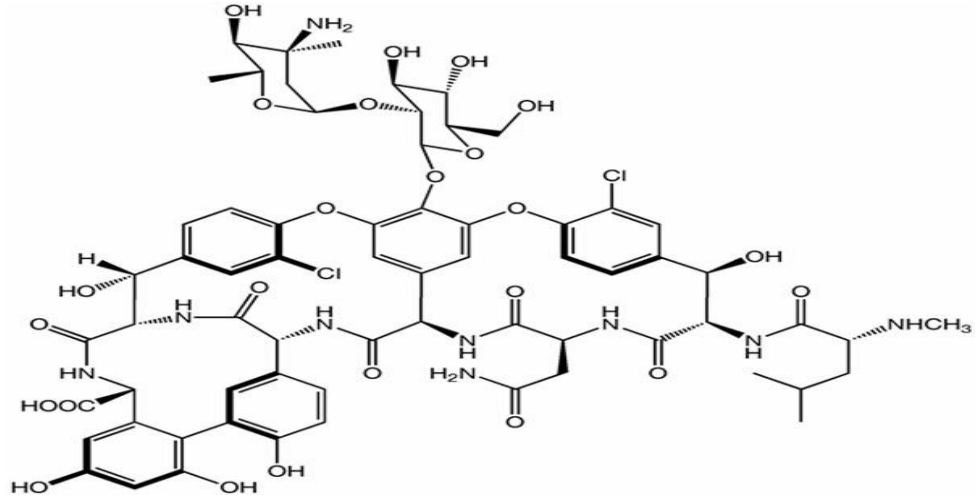
$$G_{\text{çözünme}} = G_{\text{PB}} + G_{\text{SA}} \quad (2.4)$$

$$H = E_{\text{gaz}} + G_{\text{çözünme}} \quad (2.5)$$

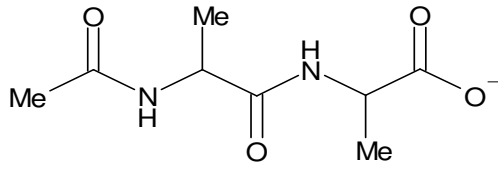
$$S_{\text{toplam}} = S_{\text{tit}} + S_{\text{tran}} + S_{\text{dön}} \quad (2.6)$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (2.7)$$

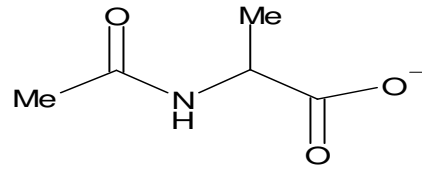
Burada G_{kompleks} , $G_{\text{reseptör}}$ ve G_{ligand} Eşitlik (2.1) de görüldüğü gibi sırasıyla kompleks, reseptör ve ligandın mutlak serbest enerjisidir. Bunların hepsi gaz fazındaki iç enerji (E_{gaz}), çözünme serbest enerjisi ($G_{\text{çözünme}}$) ve titreşim entropi terimi toplanarak hesaplanır (Eşitlik 2.2). E_{gaz} kovalent bağların gerilme enerjileri, bükülme açıları ve kovalent olmayan van der Waals ve elektrostatik enerjileri içeren Standard force field enerjisidir (Eşitlik 2.3). Çözünme serbest enerjisi ($G_{\text{çözünme}}$) çözünmenin serbest enerjisini (Eşitlik 2.4) gösterildiği gibi bir elektrostatik bileşen (GPB) ve bir polar olmayan bileşenin (GSA) toplamı olarak parçalara ayıran bir PB/SA modeli ile hesaplandı. S_{toplam} gaz fazındaki her bir madde için translational (S_{trans}), titreşim (S_{tit}) ve dönme ($S_{\text{dön}}$) entropilerinin toplamıdır (Eşitlik 2.6).



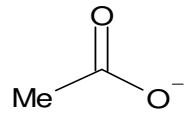
Vankomisin



N-Ac-*D*-Ala-*D*-Ala



N-Ac-*D*-Ala



Asetat

Şema 2.1. Çalışmamızda kullanılan Vankomisin (Reseptör) ve ligandlar,

3. SONUÇ VE TARTIŞMA

Vankomisinin *N*-Ac-*D*-Ala-*D*-Ala ile yaptığı kompleksin enerji ve RMSD değişiklikleri şekil 4.4'te verilmiştir. MD hesaplamaları kompleksin 8 ns zaman aralığında kararlı bir yapı verdiği ve daha önce bu modele ilişkin önerilen etkileşimlere benzer bağlanma özellikleri gösteren sonuçları ürettiğini göstermektedir. Bu komplekse ilişkin yüzey ve çubuk modelleri şekil 4.1'de verilmiştir. Komplekste karboksilat grubu “karboksilat cep” olarak bilinen bölgeye yerleşmiş ve protonlanmış *N*-metil leusin dahil buradaki akseptör gruplarla hidrojen bağı yaptığı görülmektedir. İki amino asit arasındaki peptit grubu ile asetildeki karbonil grupları beklenen bölgelerle hidrojen bağı yaparak toplamda bu kompleksleşmede 5 hidrojen bağı mevcut olup, bunlar hem moleküler tanımaya hem de kararlılığa önemli katkılar sağlamaktadır. Yan zincirdeki metil gruplara gelince birinci artıdaki metil grubu vankomisindeki aromatik halkayla, ikincisi ise bir nevi “hidrofob cep” e yerleşerek van der Waals tipi etkileşimleri vasıtasıyla kompleksleşmeye ve dolayısıyla moleküler tanımaya katkı sunmaktadır. Kompleksleşmeyi dolayısıyla moleküler tanımayı iyi anlamak için ligand olarak *N*-Ac-*D*-Ala ve Asetat kullanıldı. Bu ligadların vankomisin ile oluşturdukları komplekslere dair moleküler dinamik hesaplar ile üretilen enerji ve RMSD değişiklikleri şekil 4.5 ve şekil 4.6'te verilmiştir. Şekil 4.2 ve şekil 4.3'te görüldüğü gibi vankomisin bu iki ligantla kararlı kompleksler vermekte ve her iki liganttaki karboksilat grubu, vankomisindeki karboksilat cebine yerleşmiştir. *N*-Ac-*D*-Ala ligandındaki karboksilatın vankomisin ile yaptığı hidrojen bağları yanında karbonil grubunun hidrojen bağı ve metil yan zincirinin van der Waals etkileşimlerinin kompleksleşmeye katkı yaptığı aşikârdır.

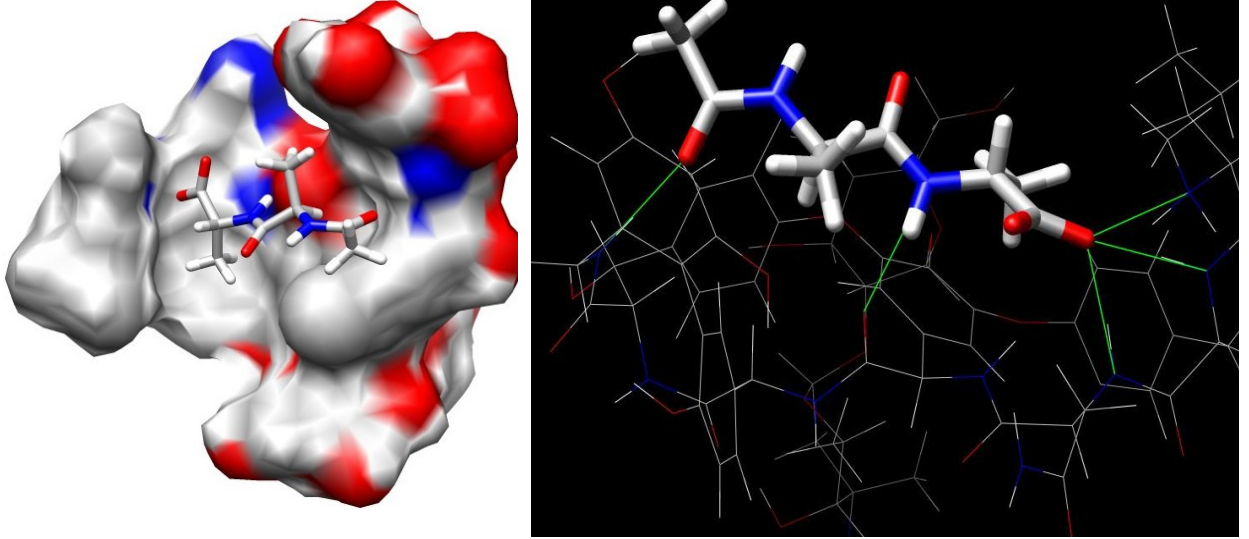
MM-PBSA sonucu vankomisinin çalışılan ligantlarla oluşturduğu komplekslere ilişkin termodinamik parametreler tablo 4.1’de verilmiştir. Bu komplekslere ilişkin MM-PBSA’dan elde edilen sonuçlar tablo 4.3 , tablo 4.4 ve tablo 4.5’te verilmiştir. Tablo 4.1’de görüldüğü gibi ligantlar içinde vankomisin ile en iyi kompleksi *N-Ac-D-Ala-D-Ala* vermektedir. Kompleksleşme serbest enerjisi ΔG_{bind} -24.68 kcal mol⁻¹ olarak hesaplanan bu değer bu ligant için deneysel olarak hesaplanan değerlerden (-6.16 kcal mol⁻¹ ve -5.84 kcal mol⁻¹)^{48,49} çok daha büyüktür. Bu fark muhtemelen MM-PBSA hesaplamalarında sürekli çözücü (continuum solvent) modeli kullanıldığında, burada solut-çözücü etkileşimleri ihmal edilmesinden dolayı yüklü türler arasındaki etkileşimlerden kaynaklanan enerji değişimleri abartılı gösterilmesinden kaynaklanabilir. Vankomisin *N-Ac-D-Ala* ile yaptığı kompleksin bağlanma serbest enerjisi ΔG_{bind} -17.10 kcal mol⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Bu ligant için deneysel olarak ölçülen değer (-3.34 kcal mol⁻¹)⁴⁸ dür. Böylelikle MM-PBSA hesaplamalarında karboksilattan kaynaklanan aşırı enerji hesaplamansı göz ardı edilirse, bu tür sistemlerdeki bağlanma enerjilerini öngörmede kayda değer sonuçlar üretebileceği düşünülmektedir. Çünkü deneysel sonuçlarda vankomisin *N-Ac-D-Ala-D-Ala*’yı *N-Ac-D-Ala*’ya göre 1.84 kat daha iyi bağladığı görülmüştür. MM-PBSA sonuçlarına göre bu değer 1.44’tür. Bu farkın sebebi elektrostatik ve van der Waals etkileşimlerinin kompleksleşmeye katkılarının görüldüğü tablo 4.2’den açıkça anlaşılmaktadır. *N-Ac-D-Ala-D-Ala* hem ekstra bir *D-Ala* artığından kaynaklanan van der Waals etkisi hem de *N-Ac*’deki karbonil grubunun bir fazla hidrojen bağı yapmasından kaynaklanan ekstra bir elektrostatik etkiden kaynaklanabilir. Asetatın *N-Ac-D-Ala* ile aynı oranda vankomisine bağlanması (Tablo 4.1) şaşırtıcıdır. Burada asetat anyonunun vankomisin ile oluşturduğu kompleksin elektrostatik enerji değeri *N-Ac-D-Ala*’ ya yakın olmasına

karşın van der Waals etkileşimi daha küçüktür (yarıdan biraz fazla). Bunun nedeni tablo 4.1’de görüldüğü gibi entropiden kaynaklanabilir. *N-Ac-D-Ala* kompleksleşmeyle bir hidrojen bağı yapacağı için bir dönme serbestliği kaybedecektir. Elektrostatik enerjilerinin aynı olması asetat anyonunun “karboksilik cep”e daha iyi yerleşerek daha fazla etkileşme pozisyonu elde edebilme yeteneğinden kaynaklanıyor olabilir.

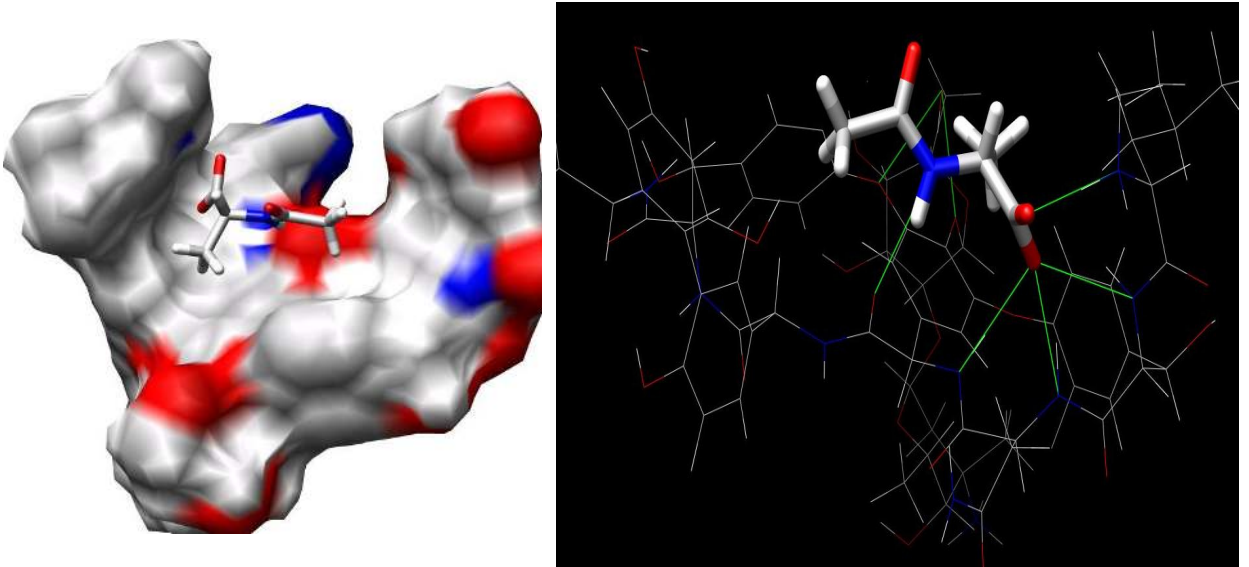
Sonuç olarak; vankomisin *N-Ac-D-Ala-D-Ala*, *N-Ac-D-Ala* ve Asetat ile oluşturdukları komplekslerin enerjileri ve bağlanma modları moleküler dinamik ve MM-PBSA hesaplamalarından öngörüldü. Sonuçlar literatürdeki değerlerle mukayese edilebilir seviyede olup bu yöntemlerin bu tür sistemler için güvenilir neticeler verebileceğini söyleyebiliriz.

4. ŞEKİL VE TABLOLAR

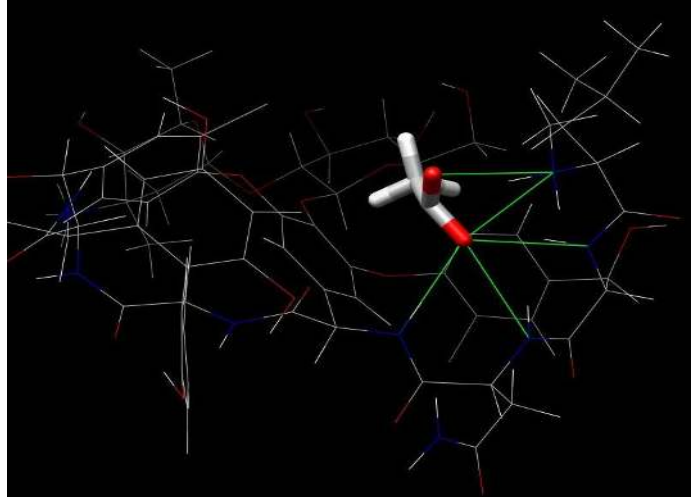
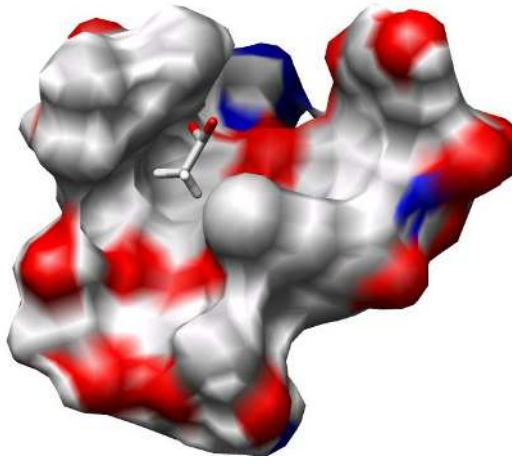
4.1 Şekiller



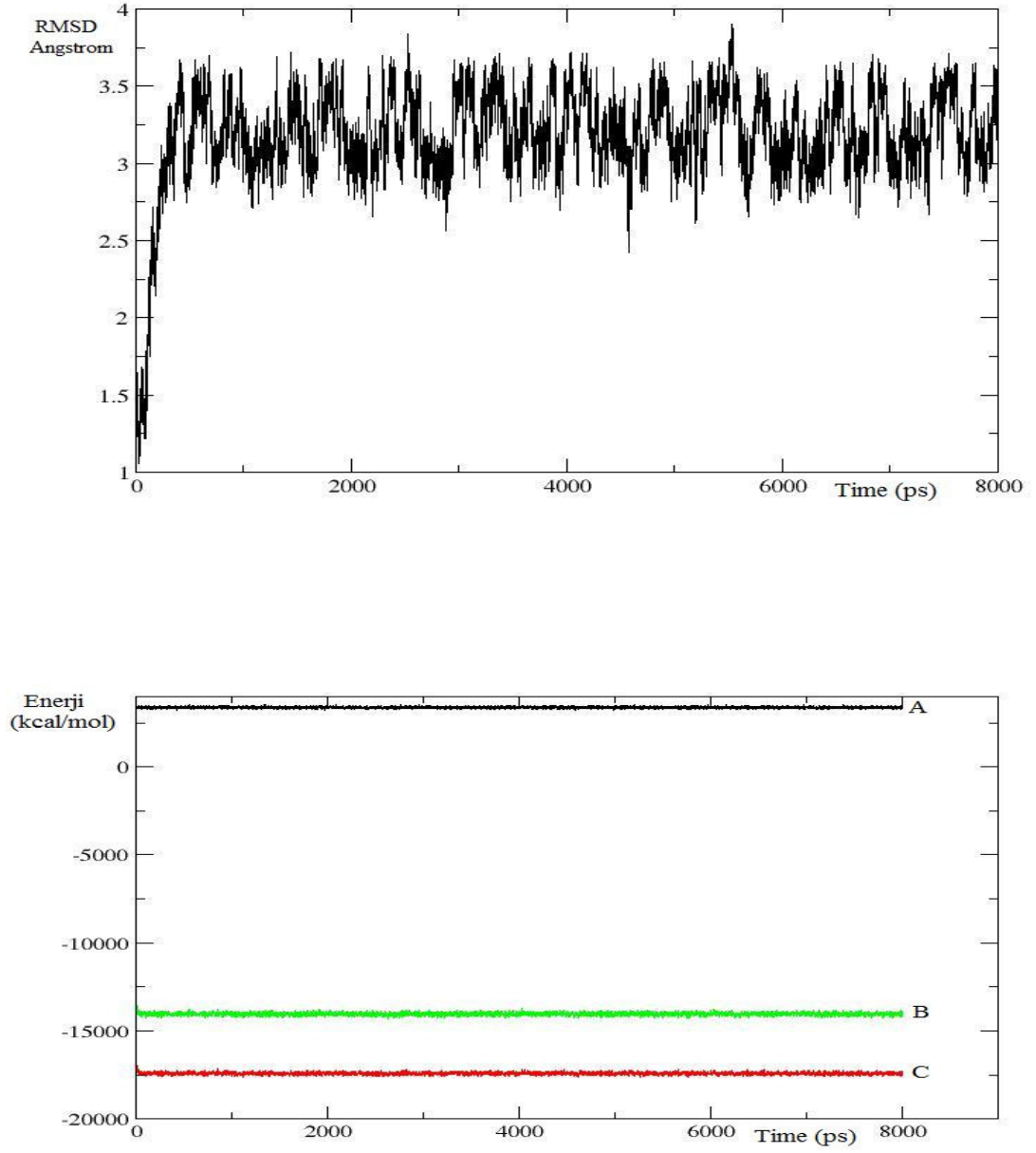
Şekil 4. 1. Vankomisinin *N*-Ac-D-Ala-D-Ala ile yaptığı kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen yapısı.



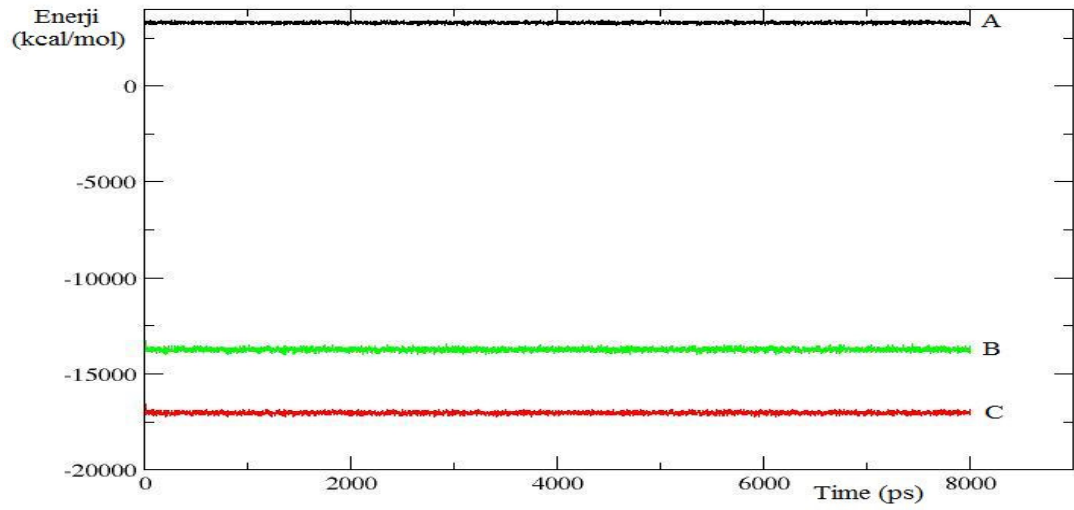
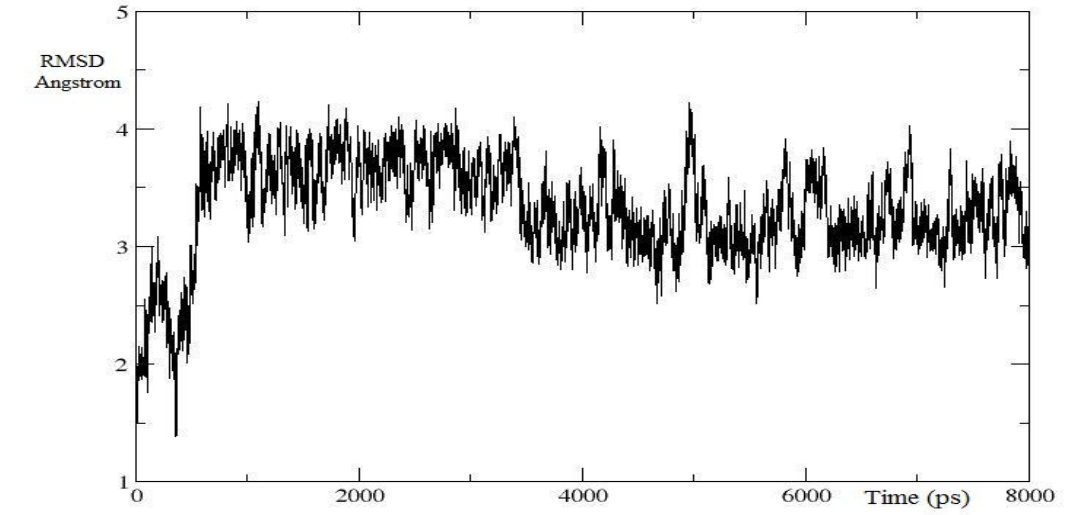
Şekil 4.2. Vankomisinin *N*-Ac-D-Ala ile yaptığı kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen yapısı.



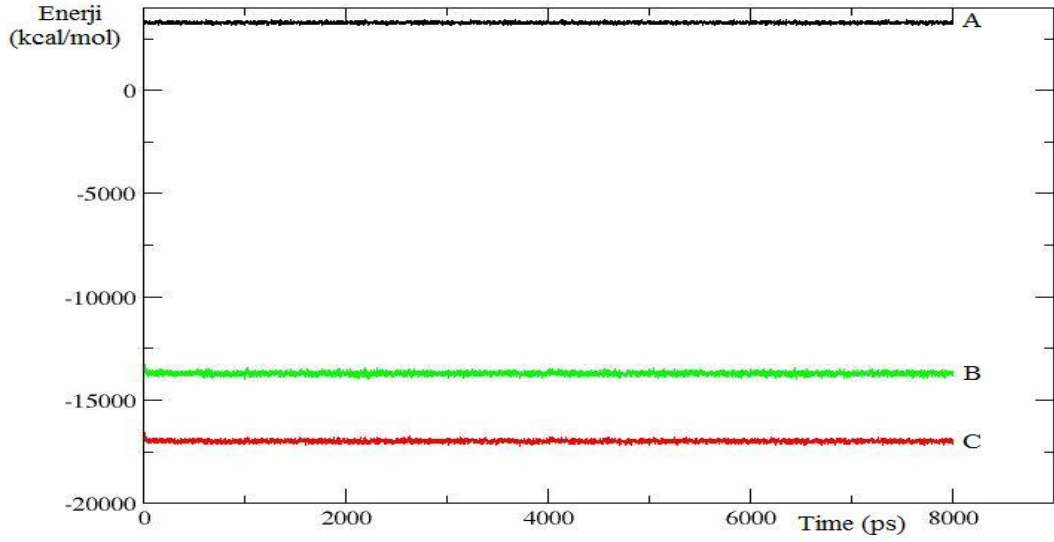
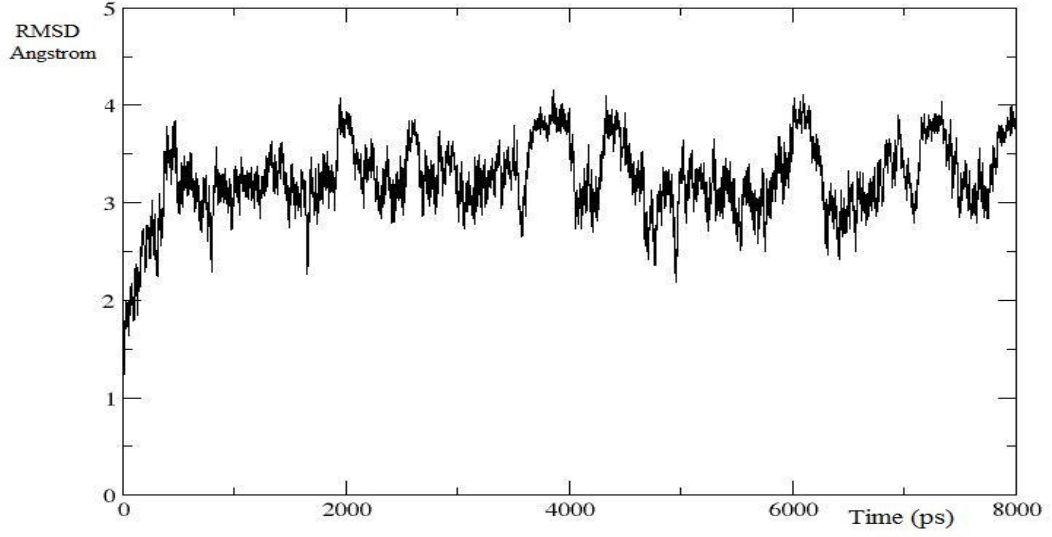
Şekil 4.3 : Vankomisinin Asetat ile yaptığı kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen yapısı.



Şekil 4.4. Vankomisinin *N*-Ac-*D*-Ala-*D*-Ala ile yaptığı kompleksin Moleküler Dinamik (MD) simülasyonları sonucunda elde edilen ve başlangıç koordinatlarına göre alınan RMSD (Root-mean square deviations) ve enerji değişim grafikleri; **A** kinetik enerjiyi, **B** toplam enerjiyi ve **C** potansiyel enerjiyi göstermektedir.



Şekil 4.5. Vankomisinin *N*-Ac-*D*-Ala ile yaptığı kompleksin Moleküler Dinamik (MD) simülasyonları sonucunda elde edilen ve başlangıç koordinatlarına göre alınan RMSD (Root-mean square deviations) ve enerji değişim grafikleri; **A** kinetik enerjiyi, **B** toplam enerjiyi ve **C** potansiyel enerjiyi göstermektedir.



Şekil 4.6. Vankomisinin Asetat ile yaptığı kompleksin Moleküler Dinamik (MD) simülasyonları sonucunda elde edilen ve başlangıç koordinatlarına göre alınan RMSD (Root-mean square deviations) ve enerji değişim grafikleri; **A** kinetik enerjiyi **B** toplam enerjiyi ve **C** potansiyel enerjiyi göstermektedir.

4.2 Tablolar

Tablo 4.1 Vankomisinin ligandlarla bağlanması sonucu teorik hesaplamalarla elde edilen çeşitli termodinamik parametreler.

Ligand	MD ^a (kcal/mol)	ΔH^b (kcal/mol)	$T\Delta S^c$ (kcal/mol)	ΔG^d (kcal/mol)
<i>N</i> -Ac- <i>D</i> -Ala- <i>D</i> -Ala	-17415	-42.09	-17.41	-24.68
<i>N</i> -Ac- <i>D</i> -Ala	-17027	-31.64	-14.54	-17.10
Asetat	-16989	-29.26	-11.56	-17.70

a-) Çözücü içerisinde 8 ns'lık Moleküler Dinamik (MD) sonucu elde edilen ortalama potansiyel enerji değeri (kcal mol⁻¹)

b-) MM/PBSA metoduyla hesaplanan bağlanma entalpisi (kcal mol⁻¹)

c-) MM/PBSA metodu ile hesaplanan bağlanma entropisinin 300 (Sıcaklık, Kelvin) ile çarpımı sonucu elde edilen değer. (kcal mol⁻¹)

d-) $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ formülü ile elde edilen serbest bağlanma enerjisi (kcal mol⁻¹)

Tablo 4.2 MM/PBSA ile hesaplanan vankomisin ve ligandlar arasındaki bağlanma enerjisine van der Waals ve elektrostatik etkileşimlerin katkısı (kcal mol⁻¹)

	<i>N</i> -Ac- <i>D</i> -Ala- <i>D</i> -Ala	<i>N</i> -Ac- <i>D</i> -Ala	Asetat
ELE	-169.74	-159.28	-161.76
VDW	-14.53	-8.97	-3.59

Tablo 4.3

	Kompleks		Vankomisin		<i>N</i> -Ac- <i>D</i> -Ala- <i>D</i> -Ala		Delta	
	Mean	STD	Mean	STD	Mean	STD	Mean	STD
ELE	-204.22	9.86	-30.35	8.73	-4.12	1.61	-169.74	5.69
VDW	-0.67	5.11	11.58	4.34	2.27	1.01	-14.53	2.75
INT	291.36	9.54	257.38	9.26	33.98	3.95	0.00	0.01
GAS	86.47	12.69	238.61	12.02	32.13	4.20	-184.26	4.97
PBSUR	10.97	0.15	11.14	0.14	3.05	0.02	-3.21	0.07
PBCAL	-261.93	8.25	-316.19	7.70	-91.13	1.54	145.39	4.13
PBSOL	-250.95	8.19	-305.05	7.65	-88.08	1.53	142.18	4.12
PBELE	-466.14	5.31	-346.54	4.40	-95.25	1.31	-24.35	3.76
PBTOT	-164.48	9.34	-66.44	8.30	-55.95	3.49	-42.09	2.90
GBSUR	10.97	0.15	11.14	0.14	3.05	0.02	-3.21	0.07
GB	-257.94	7.88	-313.25	7.49	-94.71	1.62	150.02	4.14
GBSOL	-246.97	7.82	-302.11	7.45	-91.67	1.61	146.81	4.13
GBELE	-462.16	5.09	-343.60	4.09	-98.84	1.43	-19.72	3.19
GBTOT	-160.50	9.45	-63.50	8.60	-59.54	3.56	-37.46	2.46
TSTRA	14.41	0.00	14.30	0.00	12.53	0.00	-12.42	0.00
TSROT	13.01	0.00	12.86	0.01	9.68	0.00	-9.53	0.01
TSVIB	142.48	0.43	121.25	0.35	16.70	0.00	4.53	0.54
TSTOT	169.91	0.43	148.41	0.35	38.91	0.00	-17.41	0.54

Tablo 4.4

	Kompleks		Vankomisin		<i>N</i> -Ac- <i>D</i> -Ala		Delta	
	Mean	STD	Mean	STD	Mean	STD	Mean	STD
ELE	-186.30	10.66	-30.79	10.57	3.77	1.99	-159.28	7.64
VDW	3.97	5.75	11.52	4.94	1.42	0.87	-8.97	2.91
INT	279.77	11.10	258.93	10.69	20.84	3.04	0.00	0.01
GAS	97.44	15.02	239.67	14.72	26.02	3.63	-168.25	6.61
PBSUR	10.86	0.19	11.10	0.18	2.25	0.02	-2.49	0.07
PBCAL	-262.81	9.44	-315.18	9.68	-86.74	1.97	139.10	5.50
PBSOL	-251.95	9.38	-304.08	9.65	-84.49	1.96	136.61	5.51
PBELE	-449.12	4.95	-345.97	4.43	-82.97	1.27	-20.18	4.16
PBTOT	-154.51	10.87	-64.41	10.07	-58.46	2.74	-31.64	3.08
GBSUR	10.86	0.19	11.10	0.18	2.25	0.02	-2.49	0.07
GB	-259.31	9.12	-312.45	9.50	-90.00	1.97	143.14	5.52
GBSOL	-248.45	9.06	-301.35	9.47	-87.75	1.96	140.66	5.52
GBELE	-445.62	4.65	-343.24	4.02	-86.23	1.42	-16.14	3.73
GBTOT	-151.01	11.26	-61.69	10.56	-61.73	2.84	-27.60	2.50
TSTRA	14.37	0.00	14.30	0.00	12.14	0.00	-12.07	0.00
TSROT	12.97	0.01	12.86	0.02	8.78	0.00	-8.66	0.02
TSVIB	136.12	0.64	121.06	0.64	8.87	0.00	6.19	0.78
TSTOT	163.47	0.65	148.22	0.66	29.79	00.0	-14.54	0.79

Tablo 4.5

	Kompleks		Vankomisin		Asetat		Delta	
	Mean	STD	Mean	STD	Mean	STD	Mean	STD
ELE	-191.07	10.79	-25.85	10.45	-3.46	0.06	-161.76	8.06
VDW	8.95	5.18	12.24	4.56	0.30	0.20	-3.59	2.65
INT	266.71	10.23	254.84	10.11	11.87	2.21	0.00	0.01
GAS	84.59	12.57	241.23	13.33	8.71	2.23	-165.35	6.95
PBSUR	10.91	0.20	11.13	0.20	1.39	0.01	-1.61	0.04
PBCAL	-265.79	8.12	-317.42	9.61	-86.06	0.93	137.69	6.56
PBSOL	-254.87	8.10	-306.29	9.56	-84.67	0.93	136.08	6.55
PBELE	-456.86	5.80	-343.27	4.77	-89.52	0.92	-24.07	4.15
PBTOT	-170.28	9.70	-65.06	10.09	-75.96	1.56	-29.26	3.01
GBSUR	10.91	0.20	11.13	0.20	1.39	0.01	-1.61	0.04
GB	-259.61	8.15	-314.41	9.29	-89.07	1.01	143.86	6.26
GBSOL	-248.70	8.15	-303.28	9.25	-87.68	1.01	142.26	6.26
GBELE	-450.68	5.37	-340.26	4.09	-92.53	0.98	-17.89	3.52
GBTOT	-164.10	9.67	-62.05	9.88	-78.96	1.65	-23.09	2.32
TSTRA	14.33	0.00	14.30	0.00	11.44	0.00	-11.40	0.00
TSROT	12.98	0.01	12.90	0.02	7.07	0.00	-6.99	0.02
TSVIB	131.31	0.66	121.83	0.59	2.65	0.01	6.83	0.95
TSTOT	158.63	0.66	149.03	0.61	21.16	0.01	-11.56	0.97

ELE = MM force field ile hesaplanan elektrostatik enerji.

VDW = MM'de van der Waals katkısı.

INT = MM force field'de bağ,açı ve dihedral ile ortaya çıkan enerjidir.

GAS = Toplam gaz fazı enerjisi (ELE,VDW ve INT toplamı)

PBSUR/GBSUR = Bir deneysel model tarafından hesaplanan çözünme serbest enerjisine apolar katkı.

PBCAL/GB = Sırasıyla PB ve GB tarafından hesaplanan çözünme serbest enerjisine elektrostatik katkılar.

PBSOL/GBSOL = Çözünme için polar ve apolar katkıların toplamı.

PBELE/GBELE = MM'de ve çözünme serbest enerjisine elektrostatik enerjilerin toplamı.

PBTOT/GBTOT= Yukarıda geçen terimlerden hesaplanan bağlanma serbest enerjisi (kcal/mol)

KAYNAKLAR:

1. a) Jersay, J.de.; Kort, A. A. ; Zerner, B., *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, **1966**, 23, 974 .
b) Reynolds, P.E., *Biochem.Biophys.Acta*, **1961**, 52, 403.
c) Jordon, D.C., *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, **1961**, 6, 167.
2. Nagarajan, R.J. , *J.Antibiotics*, **1993**, 46, 1181.
3. Aoki, Y. ; Kashiwagi, H. , *Chemoterapy (Tokyo)*, **1992**, 40, 997.
4. Barna, J. C. J.; Williams, H. D., *Annu.Rev.Microbiol.*, **1984**, 38, 339
5. a)Shedrick,G.M.; Jones,P.G.; Kenard,O.; Williams,D.H.; Smith,G.A., *Nature*, **1978**, 271, 223
b) Williams, D. H.; Williamson, M. P.; Butcher D.W.; Hammon, S. J., *J.Am.Chem.Soc.*, **1983**, 105,1332.
6. a) Williamson, M. P.; Williams, D. H.; Hammond,S.,*Tetrahedron*, **1984**, 40, 569.
b) Barna, J. C. J.; Williams, D. H.; Williamson, M. P., *J.Chem.Soc.Chem.Comm.*, **1985**, 254
7. a) Nieto, M.; Perkins, H. R., *Biochem.J.*, **1971**, 123, 773.
b) Brown, J. P.; Feeney, J.; Bergen, A. S. V., *Mol.Pharmacol.*, **1975**, 11, 119.
c) Brown, J. P.; Terenius, L., Feeney, J.; Bergen, A. S. V., *Mol.Pharmacol.*, **1975**,11,126.
d) Convert, O.; Bongoni ,A.; Feeney, J., *J.Chem.Soc.Perkin Trans 2*, **1980**, 1262.
8. a) Waltho, J. P.; Williams, D. H., *J.Am.Chem.Soc.*, **1989**, 111, 2475.
b) Gerhard,U.; Mackay, J. P.; Maplestone, R. A.; Williams, D. H., *J.Am.Chem.Soc.*, **1993**, 115, 232.
c) Mackay, J. P.; Gerhard, U.; Beauregard, D. A.; Weswell, M. S.; Williams, D. H., *J.Am.Chem.Soc.*, **1994**, 116, 4581.

- d) Grovws, P.; Searle, M. S.; Chicarelli-Robinson; Williams, D. H., *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1*, **1994**, 659.
- e) Grovws, P.; Searle, M. S.; Waltho, J. P.; Williams, D. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **1995**, *117*, 7958.
- 9.** Mackay, J. P.; Gerhard, U.; Beauregard, D. A.; Beauregard, D. A.; Maplestone, R. A.; Williams, D. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116*, 4573.
- 10.** Piriñcioğlu, N., *Modification of Reactivity by Supramolecular Complex Formation*, Doktora Tezi, University of Kent at Canterbury, **1996**, 51-73, 6-13.
- 11.** a) Odishima, K.; Suga, T.; Kuga, K., *Tetrahedron Lett.*, **1981**, *22*, 5311.
b) Odishima, K.; Kuga, K., *Heterocycles*, **1981**, *15*, 1151.
- 12.** Diederich, F., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **1988**, *26*, 362.
- 13.** Schneider, H. J.; Blatter, T.; Simova, S.; Theis, I., *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1989**, 580.
- 14.** Ergenç, N.; Gürsoy, A.; Ateş, Ö., *Farmasötik Kimya Ders Kitabı (Cilt 1)*, İstanbul, **1997**.
- 15.** Tellado, F. G.; Goswami, S.; Chang, S. K.; Geib, S. J.; Hamilton, A. D., *J. Am. Chem. Soc.*, **1990**, *112*, 7393.
- 16.** Fan, E.; Van Arman, S. A.; Kincaid, S.; Hamilton, A. D., *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, *115*, 369.
- 17.** a) Fujita, T.; Iwasa, J.; Hansch, C., *J. Am. Chem. Soc.*, **1964**, *86*, 5175.
b) Hansh, C., *Acc. Chem. Res.*, 1969, *2*, 232.
c) Leo, A.; Hansh, C.; Elkins, D., *Chem. Rev.*, **1971**, *71*, 525.
- 18.** Tabushi, I.; Kuroda, Y.; Kimura, Y., *Tetrahedron Lett.*, **1976**, 3327.
- 19.** Tabushi, I.; Sasaki, S.; Kuroda, Y., *J. Am. Chem. Soc.*, **1976**, *98*, 5727.
- 20.** Odishima, K.; Itai, A.; Itaka, Y.; Koga, K., *J. Am. Chem. Soc.*, **1980**, *102*, 2504.

21. Adams, S. P.; Whitlock, H. W., *J.Am.Chem.Soc.*, **1982**, *104*,1602.
22. Diederich,F., Dick,K., *Tetrahedron Lett.*, **1982**, *23*, 3167.
- 23.Varhan, E.,Aren *Hidrat ve Oksitlerinin Asit Katalizli Dehidrasyon Mekanizmalarının Teorik (Yarı-Ampirik ve DFT) Olarak Çalışılması*,Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, **2004**, 5-10.
24. Dearing, A., *J.Computer-Aided Molecular Design*, **1988**, *2*:179-189.
25. Allen,M.P.; *Introduction to Molecular Dynamics Simulation, John von Neumann Institute for Computing, Jülich, NIC Series*,**2004**, *23*, 1-28.
26. Srinivasan, J.; Cheatham, T. E.; Cieplak, P.; Kollman, P. A.; Case, D. A. *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 9401–9409.
27. Alonso,H.; Bliznyuk,A. A.; Gready,J. E., *Combining Docking and Molecular Dynamic Simulations in Drug Design, Medicinal Research Reviews*, **2006**, *26*, 5, 531-568
28. Honig, B.; Nicholls, A., *Science*, **1995**, *268*, 1144-1149.
29. Yang, Z.; Vorpagel, E. R.; Laskin, J., *J.Am.Chem.Soc.*, **2008**, *130*,13013.
30. Lee, J. G.; Sagui, C.; Roland, C.; *J.Am.Chem.Soc.*, **2005**, *109*,20588.
31. Lee, J. G.; Sagui, C.; Roland, C.; *J.Am.Chem.Soc.*, **2004**, *126*,8384.
32. Fesik, S. W.; O'Donnell, T. J.; Gampe, R. T.; Olejniczak E. T. , *J.Am.Chem.Soc.*, **1986**, *108*,3165.
33. Leung, S. F. S. ; Tirado-Rives, J.; Jorgensen, W. L., *Bioorganic Med. Chem. Let.*, **2009**, *19*, 1236.
34. Jusuf, S. ; Axelsen, P. H.; *Biochemistry* , **2004**, *43*, 15446.
35. Jusuf, S.; Loll, P. J.; Axelsen, P.H., *J.Am.Chem.Soc.*, **2003**, *125*,3988.
36. Case, D.A.; Darden, T.A.; Cheatham, T.E. , Simmerling, C.L.; Wang, J.; Duke, R.E.; Luo, R.; Merz, K.M.; Pearlman, D.A.; Crowley, M.; Walker, R.C.; Zhang, W.; Wang,B.;

Hayik, S.; Roitberg, A.; Seabra, G.; Wong, K.F.; Paesani, F.; Wu, X.; Brozell, S.; Tsui, V. Gohlke, H.; Yang, L.; Tan, C.; Mongan, J.; Hornak, V.; Cui, G.; Beroza, P.; Mathews, D.H.; Schafmeister, C.; Ross, W.S.; Kollman, P.A., (2006), *AMBER 9, University of California, San Francisco*.

37. Dennington II, R. ; Keith, T. ; Millam, J. ; Eppinnett, K. ; Hovell, W. L.; and Gilliland, R. ; Semichem, Inc., Shawnee Mission, KS, 2003 GaussView, Version 3.09.

38. Frisch, M.J.; Trucks, G.W.; Schlegel, H.B.; Scuseria, G.E.; Robb, M.A.; Cheeseman, J.R.; Zakrzewski, V.G.; Montgomery, J.A.; Jr. Stratmann, R.E.; Burant, J.C.; Dapprich, S.; Millam, J.M.; Daniels, A.C.; Kudin, N.K., Strain, M.C.; Farkas, O.; Tomasi, J.; Barone, V., Cossi, M.; Cammi, R.; Mennucci, B.; Pomelli, C.; Adamo, C.; Clifford, S.; Ochterski, J.; Petersson, G.A.; Ayala, P.Y.; Cui, Q.; Morokuma, K.; Malick, D.K.; Rabuck, A.D.; Raghavachari, K.; Foresman, J.B.; Cioslowski, J.; Rotiz, J.V.; Stefanov, B.B.; Liu, G.; Liashenko, A.; Piskora, P.; Komaromi, I.; Gomperts, R.; Martin, R.L.; Fox, D.J.; Keith, T.; Al-Laham, M.A.; Peng, C.Y.; Nanayakkara, A.; Gonzalez, C.; Challacombe, M.; Gill, P.M.W.; Johnson, B.; Chen, W.; Wong, M.W.; Andres, J.L.; Gonzalez, C. Head-Gordon M.; Replogle, E.S.; Pople, J.A.; Pittsburgh, PA: *Gaussian, Inc.*; **1998**.

39. Jakalian, A.; Jack, D.B. ; Bayly, C.I.:. *Journal of computational chemistry*. **2002** , 23, 1623-1641.

40. Kollman, P.A; Massova, I.; Reyes, C.; Kuhn, B.; Huo, S.; Lee, M.; Duan T. Y.; Wang, W.; Donini, O.; Cieplak, P.; Srinivasan, J.; Case, D.A., *Acc Chem Res*, **2000**; 33,889–897.

41. Wang, J.; Wolf, R.M.; Caldwell, J.W.; Kollman, P.A.; Case, D.A., *J. Comput Chem* , **2004**, 25,1157–1174

42. Darden. T.; York, D.; Pedersen, L.; *Particle mesh Ewald: an $N\log(N)$ method for Ewald sums in large systems. J Chem Phys* 1993;98: 10089–10092.
43. Ryckaert, J.P.; Ciccotti, G.; Berendsen, H.J.C.; *Numerical integration of the Cartesian equation of motion of a system with constraints: molecular dynamics of n-alkanes., J Chem Phys*, **1977**; 23 ,327–341.
44. Pettersen, E.F.; Goddard, T.D.; Huang, C.C.; Couch, G.S.; Greenblatt, D.M.; Meng, E.C.; Ferin, T.E. , *J Comput Chem*. **2004** ,Oct;25(13):1605-1612.
45. Gouda, H.; Kuntz, I.D.; Case, D.A.; Kollman, P.A, *Biopolymers* **2003**; 68:16–34.
46. Lee, M.R.; Duan, Y.; Kollman, P.A., *Proteins: Struct. Funct., Genet.* **2000**, 39, 309–316.
47. Srinivasan, J.; Cheatham, T.E.; Cieplak, P.; Kollman, P.A.; Case, D.A., *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 9401–9409.
48. Tebar , A. R.; Vazoquez, D.; Velazoquez, J. L. P.; Laynez, J.; Wadso, I., *The Journal of Antibiotik*, **1986**, 11,1578.
49. Nieto, M.; Perkins, H. R., *Biochem*, **1971**,123,789.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mehmet AKDENİZ

Doğum Yeri : Kulp

Doğum Tarihi : 18.12.1980

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

E-Mail : mehmetakdeniz21@hotmail.com

Eğitim Durumu :

İlk, Orta ve Lise öğrenimimi Diyarbakır'da tamamladım. 2005 yılında Dicle Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünden mezun oldum. 2006 yılında Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalında Prof.Dr.Necmettin PİRİNÇÇİOĞLU danışmanlığında Yüksek Lisans öğrenimine başladım.

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

Diyarbakır Adli Tıp Grup Başkanlığı : 2000-2007

Adana Adli Tıp Grup Başkanlığı Kimya İhtisas Dairesi : 2007-