

南开大学博士毕业（学位）论文

（匿名评阅论文封面）

论文题目（含英文题目）：

自由能计算方法的理论、软件实现及应用研究

Investigations of Free-Energy Calculations: Theories, Software
Implementations and Applications

一级学科：化学

二级学科：分析化学

论文编号：

摘要

近年来，分子动力学（molecular dynamics, MD）模拟被广泛应用于研究许多生物与化学过程，包括但不限于肽链和蛋白质的可逆折叠、离子跨膜和分子机器的复杂运动等。由于这些过程通常需要克服高能垒，传统的 MD 模拟在可接受的时间尺度内难以做到充分采样，进而准确地计算自由能变化。因此需要专门的自由能计算方法以增强采样，常用的自由能计算方法可以分为三大类：(1) 使用预先定义的集合变量（collective variable, CV）描述变化过程的重要性采样方法；(2) 无需定义 CV 的增强采样方法；(3) “炼金术”变换与自由能微扰方法。作为一种基于 CV 的方法，meta—扩展自适应偏置力（meta-extended adaptive biasing force, meta-eABF）方法尽管极大地增强了采样效率，但在自由能计算中依然存在收敛不稳定等问题。而且，它和所有基于 CV 的方法一样，在所选择 CV 的正交空间采样不足。除了理论问题之外，目前一些自由能算法在软件实现方面也存在不足，如不兼容部分主流 MD 引擎和计算性能低等问题，这严重阻碍了它们在实际模拟中的应用。

针对上述问题，本论文优化了 meta-eABF 方法并提高了其计算的准确性，并且无缝融合上述第（2）类方法来加速其正交空间的采样。为了进一步弥补理论与应用间的隔阂，基于 PLUMED 自由能插件，实现了 eABF 及其衍生方法的软件模块，使 eABF 及其衍生方法可以在多种 MD 引擎上使用。此外，通过移植“炼金术”变换和自由能微扰方法到图形处理器（graphical processing unit, GPU）中运行，提供了高性价比和高性能的自由能计算解决方案。最后，将自由能计算应用于揭示基于杯[6]芳烃轮烷的穿梭机理。论文主要内容如下：

(1) meta-eABF 算法从 eABF 中继承了扩展拉格朗日力学和基于梯度的自由能估计量（estimator），同时不断向扩展自由度的哈密顿量（Hamiltonian）中增加高斯峰形式的能量，从而提高了扩展自由度的扩散性并加速采样。然而，meta-eABF 与原始的 metadynamics (MtD) 方法一样，由于增加高斯峰的峰高是固定的，高斯峰的累积和不能收敛，因此扰动了自由能梯度的计算，使得最终的计算结果并不准确。为了让高斯峰的累积和稳定收敛，将 well-tempered 的策略引入 meta-eABF 方法中，提出了 WTM-eABF 方法。根据 well-tempered 策略，

摘要

新添加高斯峰的高度会根据历史累积的偏置势不断地降低。换句话说，随着模拟的进行，新添加的高斯峰的高度将逐步减为零，在时间足够长的情况下，WTM-eABF 能够衰减到正常的 eABF，从而减少了自由能梯度计算时的扰动，提高了收敛性和准确性。

(2) meta-eABF 和它的改进版 WTM-eABF 主要目标是提高 CV 空间的采样效率，尽管在一定程度上提高了正交空间的采样效率，但是，从方法的设计原理上看，它们并非直接增强正交空间采样。如果使用退化的反应坐标模型，它们依然无法克服正交自由度上的高能垒。为了解决这个问题，将高斯加速力学 (Gaussian-accelerated molecular dynamics, GaMD) 方法中独立于 CV 的增强势引入 WTM-eABF，提出了 GaWTM-eABF 方法。在 GaWTM-eABF 方法中，WTM-eABF 的偏置力克服 CV 空间主要的自由能能垒，同时，GaMD 的增强势平滑了正交空间的势能面。而且，提出的自由能估计量由自由能梯度的数值积分和再权重化 (reweighting) 过程组成，因此，WTM-eABF 和 GaMD 是无缝结合的，不会损失采样数据。更重要的是，这个自由能估计量可以扩展到任意偏置力方法和独立于 CV 的增强势结合的情形。另外，与 GaMD 相比，GaWTM-eABF 具有重要性采样方法的优点，即能够快速地跨越 CV 空间能垒，从而提高采样效率。本文的测试和应用结果表明：在选择了高度退化 CV 的情况下，GaWTM-eABF 不仅正确地恢复了无偏 PMF，而且减小了计算的不确定性，加速了收敛。另外，该方法已在基于 CV 的开源自由能计算插件 Colvars 中实现。

(3) eABF 类算法的软件实现存在一定的局限性，只能通过 Colvars 模块使用，而 Colvars 仅支持 NAMD、LAMMPS 和 GROMACS 这三个分子动力学模拟软件。为了将 eABF 类方法扩展到更多的分子动力学模拟平台，如常用的 OpenMM 和 AMBER，本文在 PLUMED 插件中实现了 ELF (extended-Lagrangian free energy calculation) 模块，使 eABF 类方法可在所有主流 MD 模拟软件中使用。此外，ELF 还可用于其它基于 CV 的采样方法中自由能梯度的计算，如温度加速分子动力学 (temperature accelerated molecular dynamics) 和扩展拉格朗日 metadynamics (extended-Lagrangian metadynamics)。基于扩展拉格朗日的采样方法，ELF 提供了一个方便使用的自由能计算软件模块，并且这一实现可以在更多的 MD 引擎上运行。

(4) 为了充分利用图形处理器 (graphics processing unit, GPU) 的性能，越来越多的 MD 引擎已经把它们受力计算和积分代码从中央处理器 (central

摘要

processing unit, CPU) 迁移到 GPU。然而, 目前 GPU 加速仍然主要应用于平衡和无偏模拟。在 MD 引擎的核心功能之外, 自由能计算方法作为模拟中计算量较大的任务, 为了获得更好的性能, 仍然处于向 GPU 迁移的阶段。NAMD 作为一个流行的开源 MD 引擎, 在本工作完成之前的版本中尚未实现 GPU 加速的 FEP 计算。本文通过调用了 NAMD 原有的 CUDA 核函数, 在 NAMD 3.0 中实现了 GPU 加速的“炼金术”变换与自由能微扰方法, 并在肽一蛋白质复合物丙氨酸扫描突变中测试。结果表明, 在保证准确性的前提下, 与 CPU 代码相比, 新的 GPU 实现性能提升约 30 倍。

(5) 调节轮烷的穿梭速率需要在原子水平上解析其穿梭机理, 这依然是材料科学的一大挑战。实验中已经观测到一种杯[6]芳烃作为大环分子的轮烷在穿梭过程中表现出锥对锥 (cone-to-cone) 的翻转现象, 但翻转的驱动力、具体过程和翻转与穿梭的联系尚不清楚。理论上来说, 大环存在两种可能的翻转模式: (a) 穿梭过后在轮烷的另一端结合位点发生完全的锥对锥翻转; (b) 芳环单元在穿梭过程逐步翻转。为了揭示翻转过程的细节, 本文精心构建并验证了反应坐标模型, 然后利用该模型对轮烷进行分子动力学模拟与自由能计算。结合对轨迹的统计分析和自由能图发现, 杯[6]芳烃大环的锥对锥翻转是穿梭过程中逐步发生的。通过计算最小自由能路径上的最短空腔直径, 分析穿梭过程的位阻, 发现大环上芳环单元的部分翻转可以降低位阻, 有利于穿梭。此外, 环和轴之间静电作用有利于促进了大环的锥对锥翻转。这项工作提出了一种潜在的调控基于杯[6]芳烃的轮烷穿梭速率的策略, 即通过调节大环的翻转来改变其穿梭速率。

关键词: 分子模拟; 自由能计算; 扩展自适应偏置力; 自由能微扰; 基于杯芳烃的轮烷

Abstract

Recent years have witnessed prevailing applications of molecular dynamics (MD) simulations in investigating a broad gamut of biophysical and biochemical processes, including but not limited to reversible folding of peptides and proteins, ion permeation through cell membrane and intricate movements of molecular machines. Hindered by high free-energy barriers, the sampling in traditional MD simulations is often non-ergodic, thus posing a significant challenge for accurately estimating the free-energy changes in these processes. To solve this issue, various free-energy methods have been proposed, and the common ones among them can be categorized into three major groups, namely (i) collective variable-based (CV-based) importance sampling methods, (ii) CV-independent enhanced-sampling methods and (iii) alchemical transformations and free-energy perturbation. As a CV-based one, the meta-extended adaptive biasing force (meta-eABF) method, albeit drastically improving the sampling efficiency, suffers from the loss of accuracy in the evaluation of the potential of mean force in a long-time limit. Moreover, it still shares the common drawback of all CV-based methods, that is, the inefficiency of sampling in the configuration space orthogonal to the selected CVs (orthogonal space). Aside from theoretical issues, a variety of free-energy calculation algorithms lack easy-to-use and high-performance software implementations. Moreover, some of them are not portable among popular MD engines, hindering their applications in practical simulations.

Regarding the aforementioned issues, the dissertation presented herein develops theoretical frameworks to improve the accuracy of meta-eABF, and seamlessly fuses methods from group (ii) to accelerate the sampling in orthogonal space. Furthermore, to bridge the gap between theories and applications, a software implementation of eABF and its variants is provided via PLUMED, a free-energy plugin portable to a variety of MD engines. Additionally, this dissertation presents a cost-effective and high-performance solution to perform free-energy calculations by porting alchemical

Abstract

transformations with free-energy perturbation (FEP), from running on central processing units (CPUs) to graphical processing units (GPUs). Last, the application of free-energy methods is demonstrated by unravelling the shuttling mechanism of a calix[6]arene-based rotaxane. The contents of this dissertation are summarized as following:

(1) The meta-eABF algorithm inherits the extended Lagrangian dynamics and gradient-based free-energy estimator from eABF, while continuously adding impulsive Gaussian potentials to the Hamiltonian of the extended degrees of freedom (DOFs) resembling to metadynamics (MtD), thus improving the diffusivities of extended DOFs and accelerating the sampling. The accumulation of Gaussian hills, however, as proved in the origin MtD method, does not converge stably due to the fixed height of newly added Gaussian hills, which in turn perturbing the estimation of free-energy gradients and generating inaccurate results. Consequently, to improve the accuracy, the well-tempered strategy, in which the heights of new Gaussian hills are scaled down according to the historic accumulated biasing potentials, is introduced into meta-eABF, yielding WTM-eABF. In other words, the heights of new Gaussian hills gradually decrease towards zero as the simulation proceeds, and WTM-eABF is decayed to a normal eABF process with an additional constant potential in the long-time limit, therefore reducing the perturbation of the measurement of free-energy gradients and improving convergence and accuracy.

(2) Meta-eABF and its successor, WTM-eABF are aimed at enhancing the sampling in CV space, despite improving the sampling efficiency in the configurational space orthogonal to CVs to a certain degree. However, as they are not designed to explicitly enhance the sampling in orthogonal space, they still fail to overcome high free-energy barriers along the orthogonal DOFs in the cases where a degenerated reaction coordinate model is used. To solve this issue, the CV-independent boost potential from Gaussian-accelerated molecular dynamics (GaMD) is introduced to WTM-eABF, yielding GaWTM-eABF. In GaWTM-eABF, the biasing force from WTM-eABF focuses on overcoming the major free-energy barriers in CV space, while the boost potential from GaMD smooths the potential energy landscape and improves the sampling in orthogonal space. Moreover, the

Abstract

proposed free-energy estimator, consisting of a numerical integration of free-energy gradients followed by a reweighting procedure, enables a seamless fusion of WTM-eABF and GaMD without data loss of sampling, and can be effortlessly extended to any biasing force method with a CV-independent boost potential. In addition, compared to GaMD, GaWTM-eABF shares the common merit with importance-sampling methods, that is, the ability of efficiently overcoming the free-energy barriers and improving the sampling in the CV space. As illustrated in numerical tests and simulations relevant to biologically processes, comparing to WTM-eABF, GaWTM-eABF not only recovers the correct unbiased potential of mean force (PMF), but also reduces the uncertainty and accelerates the convergence of free-energy calculations in cases of highly degenerated CVs. Additionally, the free-energy estimator has an on-the-fly implementation in Colvars, an open-source software plugin for CV-based free-energy calculations.

(3) The eABF algorithm and its derivatives, as newly developed free-energy methods, are limited to Colvars, which only supports three MD engines, namely NAMD, LAMMPS and experimentally GROMACS. To extend eABF and its successors to more MD platforms, such as OpenMM and AMBER, a module coined ELF (extended-Lagrangian free energy calculation) is implemented in the PLUMED free-energy plugin. In addition to performing the eABF method and its variants, ELF can be used as a standalone gradient-based free-energy estimator for other CV-based sampling algorithms, for example, temperature accelerated molecular dynamics (TAMD) and extended-Lagrangian metadynamics (MtD). Being not tied to a few specific MD engines, ELF contributes a convenient implementation of extended-Lagrangian-based sampling algorithms to MD user communities.

(4) To harness the increasing computational power of graphics processing units (GPUs), more and more MD engines have migrated their code of force evaluation and integration of motions from central processing units (CPUs) to GPUs. However, GPU acceleration are still mainly applied to equilibrium and unbiased simulations. In addition to these core functionalities of MD engines, free-energy calculations, as computationally extensive tasks in simulations, are still being adapted to GPUs for improved performance. Previously, NAMD, a popular and open-source MD engine,

Abstract

did not implement the GPU-accelerated free-energy perturbation. By calling the existing CUDA kernel functions in NAMD, the work presented herein implements the GPU-accelerated alchemical transformations and free-energy perturbation in NAMD 3.0, and demonstrates its usability in a real-world example, namely an in-silico alanine scanning mutagenesis of a peptide-protein complex. The results show that the novel GPU-accelerated implementation achieves about 30-fold speedup with respect to the old CPU code while preserving the accuracy.

(5) Tailoring the shuttling rate of rotaxanes, which in turn, requires to decode the underlying mechanism of shuttling in an atomistic level, is still one of the major challenges in materials science. It has been found experimentally that a rotaxane with a calix[6]arene wheel exhibits cone-to-cone inversion during shuttling, but the detailed process, the driving force of inversion and its link to the shuttling remain unknown. Theoretically, there are two possible pathways of the cone-to-cone inversion, namely (i) the six anisole units tumbled at once after the macrocycle translates to another station and (ii) a stepwise tumbling of the anisole units alongside with the translation. To elucidate the inversion process alongside with the shuttling, MD simulations with free-energy calculations along a meticulous designed and verified reaction coordinate model have been performed. Accompanied with statistical analyses along the trajectories, the free-energy landscape show that the cone-to-cone inversion of the calix[6]arene wheel happens in a stepwise manner during shuttling. By calculating the shortest cavity diameter along the minimum free-energy pathway, further analysis of the steric hindrance during shuttling indicates that the partial tumbling of anisole units of the wheel is beneficial to the shuttling process. Moreover, the favorable electrostatic interactions between the wheel and the axle facilitates the cone-to-cone inversion. The work presented herein proposes a potential way to regulate the shuttling rate of calix[6]arene-based rotaxanes by modulating the inversion of wheels.

Key Words: molecular simulations; free-energy calculations; extended adaptive biasing force; free-energy perturbation; calixarene-based rotaxanes

目 录

摘要	I
Abstract	IV
目录	VIII
第一章 综述	1
第一节 引言	1
第二节 分子力学	2
1.2.1 成键相互作用	2
1.2.2 非成键相互作用	3
第三节 分子动力学	5
1.3.1 动力学及运动学方程	5
1.3.2 数值积分与模拟	5
第四节 自由能计算	6
1.4.1 使用集合变量的重要性采样方法	6
1.4.2 修改体系势能面的增强采样方法	11
1.4.3 基于“炼金术”变换的自由能计算方法	14
1.4.4 广义系综方法	15
第五节 本论文的选题	16
参考文献	18
第二章 改善 meta-eABF 自由能计算的收敛性	26
第一节 引言	26
第二节 理论和方法	27
2.2.1 meta-eABF 方法的理论背景与局限性	27

目 录

2.2.2 使用 well-tempered 策略改善 meta-eABF 方法的收敛	28
第三节 结果与讨论	28
2.3.1 丙氨酸十肽的可逆螺旋形成.....	28
2.3.2 N-乙酰基-N'-甲基-L-丙氨酰胺水溶液中的异构化.....	30
第四节 结论	32
参考文献.....	33
第三章 加速 eABF 类方法在正交空间中的采样	36
第一节 引言	36
第二节 理论背景	37
3.2.1 用 GaMD 增强 WTM-eABF 方法的正交空间采样	37
3.2.2 计算自由能	38
3.2.3 GaWTM-eABF 算法的软件实现	39
第三节 结果与讨论	40
3.3.1 数值模拟与分析	40
3.3.2 Deca-alanine 的可逆折叠	42
3.3.3 Chignolin 的可逆折叠	43
第四节 结论	45
附录 A 累积量展开.....	47
附录 B GaWTM-eABF 方法的参数选择	49
B.1 eABF 参数	49
B.2 Metadynamics 参数	49
B.3 GaMD 参数.....	49
附录 C 本章涉及的程序代码获取途径及使用方法.....	50
参考文献.....	51
第四章 eABF 类方法在多个分子模拟平台上的实现	55
第一节 引言	55
第二节 理论背景	56

目 录

第三节 功能与性能	57
第四节 结果与讨论	59
4.4.1 eABF 方法.....	59
4.4.2 egABF 方法.....	60
4.4.3 TAMD 方法.....	61
第五节 结论	61
附录 A 本章涉及的程序代码获取途径及使用方法.....	62
参考文献.....	63
 第五章 利用图形处理器加速自由能微扰计算	66
第一节 引言	66
第二节 FEP 在 GPU 版本的 NAMD 中的实现	67
第三节 结果与讨论	69
5.3.1 可靠性与数值准确性	69
5.3.2 性能测试	69
5.3.3 在丙氨酸扫描中的应用	71
第四节 结论	73
参考文献.....	74
 第六章 自由能图揭示杯芳烃在穿梭过程中翻转的机理	78
第一节 引言	78
第二节 计算与分析方法.....	80
6.2.1 反应坐标模型的构建与自由能计算.....	80
6.2.2 构象统计方法	81
6.2.3 穿梭过程中位阻的分析方法.....	82
第三节 结果与讨论	83
6.3.1 反应坐标模型的验证	83
6.3.2 穿梭过程的自由能图	85
6.3.3 穿梭过程杯芳烃的构象变化.....	86

目 录

第四节 结论	88
附录 A 详细标注的自由能图及构象	89
附录 B 本章涉及的程序代码获取途径及使用方法	96
参考文献	97
第七章 总结与展望	100
第一节 总结	100
第二节 展望	101
附录 在读期间学术成果	103

第一章 综述

第一节 引言

尽管量子力学 (quantum mechanics) 可以较为精确地计算分子内原子间的相互作用，但其计算资源开销过大，故分子模拟 (molecular simulation)^[1, 2]通常使用分子力学 (molecular mechanics) 手段，即用经典力学来近似地描述原子间的相互作用，这些相互作用可以用一组以原子坐标为因变量的势能函数来表示，这些势能函数又称为力场 (force field)。分子动力学 (molecular dynamics)^[3]则可以进一步描述在给定力场下原子的运动，即原子的位置和速度在给定力场下随时间的演化情况。

近年来，随着计算机技术的进步和力场精确度的提升，在计算机上利用分子模拟技术来研究生物化学分子的运动已经成为获取这些分子物理化学性质的重要手段。在使用特制的计算机硬件时^[2, 4]，传统的分子模拟，即直接使用分子力场和分子动力学技术，可以做到以每天 $85 \mu\text{s}$ 的速度模拟约含两万三千个原子的体系，然而这对于一些含有成百上千万原子的生物大分子来说依然是杯水车薪。更为重要的是，这些生物大分子经历的生物物理或生物化学过程需要克服较大的自由能能垒，所需的时间往往为秒级^[5]。因此，简单地在现有的计算机技术水平上使用传统的分子动力学模拟手段来处理这些大分子，往往不能在可接受的时间内得到充分的采样。准确地计算依赖采样的热力学参数，如物理或化学变化过程的自由能变化，也就无从谈起。

自由能变化是连接分子微观和宏观性质的桥梁。为了克服传统分子模拟手段中的采样不充分导致无法准确地计算自由能变化的问题，一系列专门针对自由能问题的算法被相继开发出来^[6, 7]。这些算法包括使用集合变量的重要性采样方法^[8-11]、修改体系势能面的增强采样方法^[12-14]和基于“炼金术”变换的自由能微扰方法^[15-18]等。然而，现有的算法依然在适用条件、效率和软件实现等方面存在不足，因此新型的自由能计算方法以及它们在分子动力学模拟平台上的实现亟待开发。

本章首先综述了分子力学和分子动力学方法，然后重点讨论了前文所述的自由能计算方法的原理、优势与不足，最后展望了在其基础上的新型自由能计算方法的发展、软件实现及应用。

第二节 分子力学

分子力学使用经典力学来近似地表示原子间的相互作用。原子间的相互作用主要分为成键相互作用和非成键相互作用两部分。顾名思义，前者包括了形成化学键的原子之间的相互作用，后者包括了未形成化学键的原子之间的相互作用。这些相互作用通常使用一套以原子坐标为因变量，并对原子坐标可微分的势能函数（即分子力场）来表示。不同的课题组相继开发了不同的分子力场，流行的适用于生物大分子的分子力场主要有 CHARMM^[19-22]和 AMBER^[23, 24]等。近年来，随着基于神经网络与深度学习的人工智能技术（artificial neural network, ANN）的发展，一批基于 ANN 的力场也逐步发展起来^[25-27]，得到了广泛的关注。下文以 CHARMM 力场为例，简述各类相互作用的计算。

1.2.1 成键相互作用

CHARMM 力场中描述成键相互作用的势能函数包括了化学键伸缩项、化学键键角变化项、二面角变化项、离平面弯曲项和 Urey-Bradley 项。

化学键伸缩项表示两个原子之间化学键键长的伸缩，其能量可以用下式表示：

$$U_{bonds} = \sum_{i=1}^{N_{bonds}} k_{b,i} (b_i - b_{0,i})^2 \quad (1.1)$$

N_{bonds} 表示化学键的数量， $k_{b,i}$ 表示第 i 个化学键的力常数， b_i 表示第 i 个化学键的两端原子的距离， $b_{0,i}$ 表示第 i 个化学键的平衡长度。

化学键键角变化项表示两个化学键之间键角变化，其能量可以用下式表示：

$$U_{angles} = \sum_{i=1}^{N_{angles}} k_{\theta,i} (\theta_i - \theta_{0,i})^2 \quad (1.2)$$

其中， N_{angles} 表示键角项的数量， $k_{\theta,i}$ 表示第 i 个键角项的力常数， θ_i 表示第 i 个键角的角度， $\theta_{0,i}$ 表示第 i 个键角的平衡角度。

二面角变化项表示形成三个化学键的四个原子之间的二面角变化，其能量表示如下：

$$U_{dihedrals} = \sum_{i=1}^{N_{dihedrals}} k_{\varphi,i} [1 + \cos(n\varphi_i - \delta_i)] \quad (1.3)$$

$N_{dihedrals}$ 表示二面角项的数量， $k_{\varphi,i}$ 表示第 i 个二面角项的力常数， φ_i 表示第 i 个二面角的角度， n 为对称系数， δ_i 为相位角。

离平面弯曲项表示第四个原子离形成平面的三个原子的角度变化，其能量表示如下：

$$U_{impropers} = \sum_{i=1}^{N_{impropers}} k_{\omega,i} (\omega_i - \omega_{0,i})^2 \quad (1.4)$$

$N_{impropers}$ 表示离平面弯曲项的数量， $k_{\omega,i}$ 表示第 i 个离平面弯曲项的力常数， ω_i 表示第 i 个离平面弯曲项的角度， $\omega_{0,i}$ 表示第 i 个离平面弯曲项的平衡角度。

Urey-Bradley 项可以视作根据振动模式对键角变化项的一种校正，用键角两端原子的相互作用来表示：

$$U_{Urey-Bradley} = \sum_{i=1}^{N_{Urey-Bradley}} k_{u,i} (u_i - u_{0,i})^2 \quad (1.5)$$

$N_{Urey-Bradley}$ 表示 Urey-Bradley 项的数目， $k_{u,i}$ 表示第 i 个 Urey-Bradley 项的力常数， u_i 表示第 i 个 Urey-Bradley 项中键角两端原子的距离， $u_{0,i}$ 表示对应的平衡距离。

1.2.2 非成键相互作用

非成键相互作用包括除化学键外的静电力和范德华力。由于通常分子模拟中原子可被视作点电荷，而且电荷量在模拟过程中保持恒定，故前者对应的能量可以经由库仑定律求解：

$$U_{elec} = \sum_{i \neq j} \frac{q_i q_j}{4\pi \epsilon_{ij} r_{ij}^2} \quad (1.6)$$

其中， q_i 和 q_j 分别为第 i 和 j 个原子的电荷， ϵ_{ij} 为第 i 和 j 个原子之间的介电常数， r_{ij} 为第 i 和 j 个原子之间的距离。对于真空情况，式 (1.6) 是适用的，但分子模拟中对于溶剂盒子存在的情况，通常需要使用周期性镜像条件 (periodic

boundary condition)。考虑最简单的一维情形，周期性镜像的长度为 L ，上式演变为：

$$U_{elec} = \sum_{n=0}^{\infty} \sum_{i \neq j} \frac{q_i q_j}{4\pi \epsilon_{ij} (r_{ij} + nL)^2} \quad (1.7)$$

n 表示盒子的序号。式 (1.7) 是一个无穷级数和，不一定收敛，所以不能直接用来计算周期性镜像条件下的静电能。因此，周期性镜像条件下的静电相互作用需要使用 Ewald 求和^[1]来计算，即按照一个给定的截断距离(通常小于 $L/2$)，把静电能分成长距离相互作用能 U_k 、短距离相互作用能 U_r 和校正项 U_c ，这三项的计算是分别收敛的，然后求和：

$$\begin{cases} U_k = \frac{1}{2L^3} \sum_{k \neq 0} \frac{4\pi}{k^2} \exp\left(-\frac{k^2}{4\alpha}\right) \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N q_i q_j \exp(-ikr_{ij}) \\ U_r = \frac{1}{2} \sum_{i \neq j} \frac{q_i q_j \operatorname{erfc}(\sqrt{\alpha} r_{ij})}{r_{ij}} \\ U_c = -\sqrt{\frac{\alpha}{\pi}} \sum_{i=1}^N q_i^2 \end{cases} \quad (1.8)$$

上式中 α 是一个与截断距离有关的系数。可以看到， U_k 实际上是一个傅里叶变换。在计算机模拟中，通常使用粒子网格 Ewald (particle mesh Ewald, PME)^[28-30]方法把粒子的电荷插值到网格中，再使用快速傅里叶变换 (fast Fourier transform) 算法求解。 U_r 和 U_c 则使用直接求和的方式计算。

对于范德华力，CHARMM 力场使用 Lennard-Jones 势能：

$$U_{LJ} = \sum_{i \neq j} \epsilon \left[\left(\frac{R_{min,i,j}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{R_{min,i,j}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (1.9)$$

上式中 $R_{min,i,j}$ 为 U_{LJ} 为 0 时原子对之间的距离。同样的道理，Lennard-Jones (LJ) 势能也可以使用 PME 方法计算长距离相互作用，但根据实际计算精度的需要也可以忽略，只计算截断距离内的 LJ 相互作用。

体系总势能为上述成键相互作用能与非成键相互作用能的加和，即 $U(\mathbf{r}) = U_{bonds} + U_{angles} + U_{dihedrals} + U_{impropers} + U_{Urey-Bradley} + U_{elec} + U_{LJ}$ 。

第三节 分子动力学

在分子力学的基础上，分子动力学可以通过经典力学来计算出原子位置和速度随时间演化的轨迹。

1.3.1 动力学及运动学方程

大多数生物物理和生物化学过程都在恒温的条件下进行，为了尽可能地接近实验条件，控制模拟体系的温度，可以使用朗之万方程^[3, 31]来模拟体系的运动：

$$m_i \dot{v}_i = -\nabla_{r_i} U(\mathbf{r}) - \gamma m_i v_i + \sqrt{2m_i \gamma k_B T} \dot{W}(t) \quad (1.10)$$

$$\dot{r}_i = v_i \quad (1.11)$$

其中 γ 为摩擦系数， k_B 为玻尔兹曼常数， T 是体系模拟的温度， $W(t)$ 是维纳过程（Wiener process）。式（1.10）是体系的动力学方程，右边三项分别表示分子力场的力、粒子与恒温外部热源接触过程中动能的耗散，以及恒温外部热源无规则热运动对粒子的随机碰撞。式（1.11）是体系的运动学方程。

有时为了模拟压强恒定的实验条件，在式（1.10）的基础上可以附加使用朗之万活塞（Langevin piston）^[32]或蒙特卡洛恒压器^[33]等方法控制模拟体系的压强。

1.3.2 数值积分与模拟

实际计算中，对于给定的初始条件（初始位置、初始速度和时间间隔），式（1.10）和（1.11）无法直接得到解析解，因此需要对其进行数值积分求解。常见的数值积分方法有 Brünger-Brooks-Karplus 积分^[34]和 BAOAB 积分^[35]。Leimkuhler 和 Matthews 提出^[36]，如果把式（1.10）第一项记作 B，第二和第三项记作 O，式（1.11）的运动学积分记作 A，ABO 三项可以拆分，并单独进行数值积分后加和，而且有多种积分次序，其中由速度韦尔莱特（velocity Verlet）积分法发展而来的 BAOAB 积分法误差最小，还能保证采样分布符合正则系综。

BAOAB 积分过程如下：

$$\begin{aligned}
 v_i^{n+\frac{1}{2}} &= v_i^n - \frac{h}{2m_i} \nabla_{r_i^n} U(\mathbf{r}^n) \\
 r_i^{n+\frac{1}{2}} &= r_i^n + \frac{h}{2} v_i^{n+\frac{1}{2}} \\
 \hat{v}_i^{n+\frac{1}{2}} &= \exp(-h\gamma) v_i^{n+\frac{1}{2}} + \sqrt{\frac{k_B T(1 - \exp(-2\gamma h))}{m_i}} R \\
 r_i^{n+1} &= r_i^{n+\frac{1}{2}} + \frac{h}{2} \hat{v}_i^{n+\frac{1}{2}} \\
 v_i^{n+1} &= \hat{v}_i^{n+\frac{1}{2}} - \frac{h}{2m_i} \nabla_{r_i^{n+1}} U(\mathbf{r}^{n+1})
 \end{aligned} \tag{1.11}$$

其中,速度 v 和坐标 r 变量的上标表示积分的步数(如 $n+1$ 表示第 $n+1$ 步),
 h 为积分步长, R 为从标准正态分布, 即均值为 0 方差为 1 的正态分布中抽取的
随机数。

第四节 自由能计算

假设体系从状态 P 变化到状态 Q , 在达到平衡状态, 即 P 和 Q 的相对比例
(记作 p_P 和 p_Q) 不再变化时, 那么从 P 到 Q 的自由能变化可以表示如下:

$$\Delta A_{P \rightarrow Q} = -k_B T \ln \frac{p_Q}{p_P} \tag{1.12}$$

在实验中, 如果 P 和 Q 分别表示反应物和产物, p_P 和 p_Q 可以用平衡状态时
的浓度来表示。而在计算机模拟中, 由于计算和存储能力的限制, 难以做到如同
实验一样同时模拟大量分子(特别是生物大分子)并准确计算出 p_P 和 p_Q 。根据
系综理论, 物理量的系综平均值可以用其时间平均值来计算, 换而言之, 我们
依然可以使用动力学方程(1.11)对体系进行长时间模拟采样, 从模拟轨迹中
计算出 P 和 Q 的相对比例并按照式(1.12)计算自由能。然而, 这样做的时间
成本非常高, 特别是在 P 和 Q 之间有明显能垒的情况下。因此, 必须寻找替代
途径来加速自由能的计算。本节将重点综述常见的自由能计算方法。

1.4.1 使用集合变量的重要性采样方法

如果从 P 到 Q 的变化可以用少数集合变量(collective variable, CV)来表示,
那么可以使用这些 CV 建立反应坐标(reaction coordinate, RC)模型, 并沿
反应坐标模型增强采样。在这个过程中, CV 包含了人为地选择的一些重要的自

由度，因此这类方法也称为重要性采样方法^[7]。较为流行的使用 CV 的重要性采样方法包括伞状采样（umbrella sampling）^[37, 38]、meta 动力学（metadynamics, MtD）^[39-41]和自适应偏置力（adaptive biasing force, ABF）^[42-45]以及它们的衍生方法^[46-55]等。

1.4.1.1 伞状采样方法

设反应坐标模型中的 CV 为 z ，从原子坐标变换到 CV 的函数为 $z(\mathbf{r})$ ，伞状采样方法^[37]通过把体系沿 z 分割为数个窗口，给每个窗口内的势能加上一个弹性势能约束，从而增强在窗口内的采样。由于施加的弹性势能是 z 的函数，故又称为偏置势。设第 i 个窗口内原来的势能为 $U_i(\mathbf{r})$ ，修改后的势能为：

$$U'_i(\mathbf{r}) = U_i(\mathbf{r}) + \frac{1}{2}k(z(\mathbf{r}) - z_i)^2 \quad (1.13)$$

其中， k 为弹力常数， z_i 为窗口中心的 CV 的值。弹性势能像多把倒挂的伞覆盖在反应坐标空间上，因此该方法被称之为“伞状采样”。

在修改过势能 $U'_i(\mathbf{r})$ 的采样分布称为有偏采样分布，记作 $p_i^b(z(\mathbf{r}))$ 。该窗口内的自由能可以计算如下：

$$A_i(z) = -k_B T \ln p_i^b(z(\mathbf{r})) - \frac{1}{2}k(z(\mathbf{r}) - z_i)^2 + C_i \quad (1.14)$$

式 (1.14) 中 C_i 为一个与窗口有关的常数，每个窗口都不一样，为了合并窗口，需要进行后处理计算 C_i 。常见的后处理方法有加权直方图分析方法（weighted histogram analysis method, WHAM）^[48, 56, 57]、伞状积分（umbrella integration）^[51, 58, 59]和多状态 Bennett 接受比率（multistate Bennett acceptance ratio）^[60, 61]。

伞状采样方法是最早应用于分子模拟中计算自由能的重要性采样方法，迄今为止已经广泛应用于研究各种生物大分子体系^[62-67]，同时，它的计算结果也是新方法开发时的重要参考。然而，它也存在着明显的不足：需要手动设定 k 来调节偏置势的高低使得相邻窗口采样重叠，否则 WHAM 后处理无法合并窗口，伞状积分则要求相邻窗口采样至少相接。为了解决这个问题，一系列自适应偏置势方法被相继开发出来，下文介绍的 metadynamics 方法就是其中较为成功的一种。

1.4.1.2 Metadynamics 方法

Metadynamics (MtD) 方法^[39]也是一种偏置势方法，具体来说，MtD 方法认为在没有偏置势的推动时，体系容易陷入介稳态 (metastable state)，此时体系的自由能处于局部极小值，只要不断地沿反应坐标模型添加新的偏置势，就能把体系推出介稳态，从而达到增强采样的目的。换言之，与伞状采样方法不同的是，MtD 方法中的偏置势是自适应的，也是时间相关的。修改过后势能函数的数学表示如下：

$$U'(\mathbf{r}) = U(\mathbf{r}) + V_{bias}(z(\mathbf{r}), t) \quad (1.15)$$

偏置势 $V_{bias}(z(\mathbf{r}), t)$ 可以有多种选择，通常情况下， $V_{bias}(z(\mathbf{r}), t)$ 是一组随时间增加的高斯函数之和：

$$V_b(z(\mathbf{r}), t) = h \sum_{\substack{t_0=\tau_G, 2\tau_G, \dots \\ t_0 < t}} \exp \left[-\frac{(z(\mathbf{r}) - z_{t_0})^2}{2\sigma^2} \right] \quad (1.16)$$

上式中， τ_G 是添加高斯峰的时间周期， h 是每次添加高斯峰的高度， σ 是控制高斯峰半高宽的变量。如果不添加高斯峰，直到体系沿反应坐标模型方向的运动完全弥散，即不再受到能垒阻碍时，那么可以说，自由能面上的极小值区域都被添加的高斯峰抹平了，这时就可以用下面的估计量 (estimator) 来计算沿反应坐标模型的自由能：

$$A(z) = - \lim_{t \rightarrow +\infty} V_{bias}(z(\mathbf{r}), t) \quad (1.17)$$

原始的 MtD 方法也有其不足之处，最明显的一点是式 (1.17) 仅仅是经验上成立，从数学角度看，偏置势是随时间不断增加的，极限显然并不收敛，而且根据式 (1.16) 和 (1.17) 计算出来的自由能数值总是不断在理论真值附近不断波动。为了克服这一缺陷，Barducci 等人提出了 well-tempered 策略^[68]，使每次添加的高斯峰的高度逐步减小，即第 k 次添加新的偏置势时，根据过往的 $k-1$ 次添加高斯峰的历史降低峰高。具体而言，添加的能量如下：

$$\Delta V_b(z(\mathbf{r}), k\tau_G) = h \exp \left(-\frac{\sum_{j=1}^{k-1} \Delta V_b(z(\mathbf{r}), j\tau_G)}{\Delta T} \right) \exp \left[-\frac{(z(\mathbf{r}) - z_{k\tau_G})^2}{2\sigma^2} \right] \quad (1.18)$$

ΔT 是一个具有温度量纲的可调节参数。这时总的偏置势可计算如下：

$$V_{bias}(z(\mathbf{r}), t) = \sum_{\substack{k=1, 2, \dots \\ k\tau_G < t}} \Delta V_{bias}(z(\mathbf{r}), k\tau_G) \quad (1.19)$$

与式 (1.16) 相比, 式 (1.19) 是可以被证明渐进收敛的^[69]。采用了 well-tempered 策略之后, 沿反应坐标模型的自由能可按下式计算:

$$A(z) = -\frac{T + \Delta T}{\Delta T} \lim_{t \rightarrow +\infty} V_{bias}(z(\mathbf{r}), t) \quad (1.20)$$

MtD 方法由于实现简单, 已经透过 Colvars^[70]、PLUMED^[71, 72]和 SSAGES^[73]等插件或模块被许多分子模拟软件支持, 因而在研究蛋白质—配体结合^[74, 75]和 RNA 折叠^[76, 77]等领域得到了广泛的使用。然而, 即使是用 well-tempered 改进后的 MtD 方法也存在不足之处, 最为明显的一点是可调节参数过多。如果使用了 well-tempered 策略, 除了 CV 的选择之外, 实际使用需要用户指定四个参数: 时间周期 τ_G , 高斯峰的高度 h , 控制半高宽的变量 σ , 还有偏置温度 ΔT 。这些参数对计算结果影响相当大, 需要依赖经验来调节, 也没有普适的选择方法。

1.4.1.3 自适应偏置力方法

与上述偏置势方法有所不同, 自适应偏置力 (adaptive biasing force, ABF) 方法则采用直接计算偏置力的思路^[42]。ABF 方法认为, 虽然自由能本身是一个与全局采样相关的物理量, 但它对反应坐标模型的梯度是可以局部计算的, 不需要依赖全局采样。如果把沿反应坐标模型各点的自由能梯度计算出来, 然后作数值积分, 就可以计算出全局的自由能了。更巧妙的是, 如果得到了某一点处的自由能梯度, 那么可以给体系施加一个负梯度方向的偏置力, 这个偏置力可以牵引体系跨越自由能垒。具体而言, 沿反应坐标模型梯度方向体系的力 (也称为瞬时力) 可以表达为:

$$F(z) = -\nabla_{\mathbf{r}} U(\mathbf{r}) \cdot \mathbf{v} + k_B T \nabla \cdot \mathbf{v} \quad (1.21)$$

其中, \mathbf{v} 是一个反梯度场, 在反应坐标模型里只有一个 CV 的条件下, 需要满足:

$$\mathbf{v} \cdot \nabla_{\mathbf{r}} z(\mathbf{r}) = 1 \quad (1.22)$$

ABF 方法首先把反应坐标模型离散化为网格, 接着对模拟过程中每一步都按照 (1.22) 和 (1.21) 计算瞬时力, 利用反应坐标模型网格和直方图计算平均力, 然后取负平均值作为沿反应坐标的偏置力, 最后按照链式法则修改积分器并施力到反应坐标模型中涉及的原子。相应原子上的偏置力为:

$$F_{bias}(r_i) = -\langle F_s(z) \rangle \cdot \nabla_{r_i} z(\mathbf{r}) \quad (1.23)$$

当直方图内平均力的计算收敛时, 可以使用下列数值积分计算反应坐标模型上任意两点的自由能之差:

$$\Delta A_{P \rightarrow Q} = \int_{z_P}^{z_Q} -\langle F_s(z) \rangle dz \quad (1.24)$$

ABF 方法已经被广泛用于研究分子机器运动^[78-80]和离子跨越细胞膜^[81, 82]等过程，但其理论上仍然存在着两点不足：（1）计算式（1.22）和（1.21）需要着对梯度场 $\nabla_r z(\mathbf{r})$ 求逆，之后再计算 \mathbf{v} 的散度，这通常意味着需要 $z(\mathbf{r})$ 对原子坐标 \mathbf{r} 的二阶导数；（2）在多维情形，也就是反应坐标模型包含多个 CV（假设有 N 个）时，式（1.22）的条件会演变为：

$$\mathbf{v}_k \cdot \nabla_r \mathbf{z}_j(\mathbf{r}) = \delta_{jk} \quad (0 < j, k < N) \quad (1.25)$$

δ_{jk} 是克罗内克符号。式（1.25）意味着第 j 维 CV 对应的反梯度场需要和其它维 CV 的梯度场正交，也就是说，第 k 维反梯度场具体的数学表达式并不固定。除此之外，如果体系存在其它约束，反梯度场也需要和约束正交。这些不足极大增加了 ABF 方法在分子模拟软件中实现的难度。

为了解决 ABF 方法存在的不足，Lelièvre 和 Yang 等人提出了扩展自适应偏置力（extended adaptive biasing force, eABF）^[52, 83]方法。在 eABF 方法中，反应坐标模型与一个附加的虚拟粒子^[84]通过弹簧相连，虚拟粒子也按照朗之万动力学方程运动，偏置力则不直接作用在反应坐标模型上，而是施加在虚拟粒子上。此时整个体系的动力学方程如下：

$$\begin{cases} U(s, \mathbf{r}) = U(\mathbf{r}) + \frac{1}{2}k(z(\mathbf{r}) - s)^2 + V_{bias}(s, t) \\ m_i \ddot{r}_i = -\nabla_{r_i} U(s, \mathbf{r}) - \gamma m_i \dot{r}_i + \sqrt{2m_i \gamma k_B T} \dot{W}(t) \\ m_s \ddot{s} = -\nabla_s U(s, \mathbf{r}) - \gamma m_s \dot{s} + \sqrt{2m_s \gamma k_B T} \dot{W}(t) \end{cases} \quad (1.26)$$

eABF 方法使用平均弹力来计算虚拟粒子的瞬时力，即：

$$F(s) = -k(z(\mathbf{r}) - s) \quad (1.27)$$

然后施加在虚拟粒子上的偏置力为：

$$-\nabla_s V_{bias}(s, t) = -\langle F(s) \rangle_s = \langle k(z(\mathbf{r}) - s) \rangle_s \quad (1.28)$$

如此一来，不仅不再需要计算原子坐标 \mathbf{r} 的二阶导数，也摆脱了式（1.25）对多维情形中反向量场正交条件的约束。

Zheng 和 Yang 注意到 eABF 方法与伞状采样方法的相似性，认为 eABF 方法可以视作一种参考点（即伞状采样中的窗口中心）自适应滑动的伞状采样方法，命名为动态参考约束（dynamic reference restraining）^[83]，借鉴了伞状积分（umbrella integration）^[58]的方法来计算沿反应坐标模型方向上的无偏自由能，这个方法由 Fu 等在流行的分子模拟软件 NAMD 中提供了实时实现^[53]。

Lesage 等提出了一种精确度更高、软件实现更加简单高效的无偏自由能计算方法，名为校正 z 平均约束（correct z -average restraint, CZAR）^[55]，其自由能梯度计算如下：

$$\frac{dA(z)}{dz} = -k_B T \frac{d \ln \tilde{\rho}(z)}{dz} + k(\langle s - z(\mathbf{r}) \rangle_z) \quad (1.29)$$

其中， $\tilde{\rho}(z)$ 为反应坐标模型在偏置力作用下的有偏概率分布。

为了进一步提高采样效率，Fu 等把 MtD 的偏置势，即式 (1.26)，也融合进式 (1.28) 的计算，提出了 meta-eABF 方法 (meta-extended adaptive biasing force, meta-eABF)^[85, 86]，meta-eABF 方法的偏置力为：

$$-\nabla_s V_{bias}(s, t) = \langle k(z(\mathbf{r}) - s) \rangle_s - h \sum_{\substack{t_0 = \tau_G, 2\tau_G, \dots \\ t_0 < t}} \nabla_s \exp \left[-\frac{(s - s_{t_0})^2}{2\sigma^2} \right] \quad (1.30)$$

meta-eABF 方法极大地提高了沿反应坐标模型方向采样的效率，然而，作为一种依赖 CV 的重要性采样方法，它仍然存在着这类方法固有的缺陷——CV 的选择往往依靠化学和物理直觉，不恰当的选择会产生错误的反应坐标模型，使得化学或物理变化过程中重要的自由度遗漏，导致采样的不收敛甚至得到不正确的自由能结果。另一方面，由于计算机硬件条件的限制，反应坐标模型中 CV 个数往往小于四个，过多的变量会导致“维数灾难”的问题。因此，在实际应用中，一些重要的自由度会不可避免地遗漏在正交空间（即构象空间正交于 CV 空间的部分），开发可以同时增强正交空间采样的算法是必要的。

除了理论上的不足之外，eABF 方法作为一种新型的重要性采样方法，除了透过 Colvars^[70]模块在 NAMD^[87, 88]、LAMMPS^[89]和 GROMACS^[90]（实验性支持）分子模拟引擎中得到实现以外，在其它流行的分子模拟平台，如 OpenMM^[91]和 AMBER^[92]，得不到实现，限制了其广泛应用。

1.4.2 修改体系势能面的增强采样方法

通常来说，许多化学或物理变化过程是焓变主导的，变化过程的自由能极小值区域和势能函数的极小值区域是相吻合的。针对这类变化过程，可以采用修改体系势能面的增强采样方法，这类方法和 1.3.1 中提到的有所不同，模拟计算过程不再依赖 CV 的选择。这类方法主要有温度积分采样 (integrated tempering

sampling) [13, 93] 和加速分子动力学 (accelerated molecular dynamics) [12] 以及它们的衍生方法 [94-96]，下面将对这两类方法进行综述。

1.4.2.1 温度积分采样方法

温度积分采样 (integrated tempering sampling, ITS) 方法 [13] 认为，在更为广阔的势能能量分布区域采样，可以使相空间采样更加充分。为了扩大采样的势能能量分布，ITS 方法利用多组不同温度下的采样轨迹与势能分布，构建出新的能垒更低的势能面。具体而言，假设有 N 个不同温度下的模拟副本，首先定义关于势能的广义能量分布函数：

$$p(U(\mathbf{r})) = \sum_{k=1}^N n_k \exp\left(-\frac{U(\mathbf{r})}{k_B T_k}\right) \quad (1.31)$$

其中 n_k 是待求解的加权系数。式 (1.31) 是多个模拟的加权平均，如果在一个温度恒定为 T_0 正则系综中模拟也期望得到相同的能量分布，那么新的势能面 U' 应该满足：

$$\exp\left(-\frac{U'(\mathbf{r})}{k_B T_k}\right) = p(U(\mathbf{r})) = \sum_{k=1}^N n_k \exp\left(-\frac{U(\mathbf{r})}{k_B T_k}\right) \quad (1.32)$$

换而言之，利用新的势能面 $U'(\mathbf{r})$ 及相应的力 $-\nabla_{\mathbf{r}} U'(\mathbf{r})$ 进行动力学模拟，新的采样分布相当于涵盖了温度从 T_1 到 T_N 采样的分布，从而达到了增强采样的目的。

一个重要的问题是如何求解系数 n_k ，ITS 方法采用迭代的过程使得不同温度的采样对下式定义的 P_k 相等：

$$P_k = n_k \sum_{t=\tau, 2\tau, \dots} \exp\left(-\frac{U(\mathbf{r}_t)}{k_B T_k}\right) \quad (1.33)$$

其中， τ 为更新系数 n_k 的周期， t 为迭代过程的运行时间。迭代的过程就是首先给出一系列 n_k 的初始值（如都设为 1），再按照式 (1.32) 计算 $U'(\mathbf{r})$ 进行动力学模拟，运行 τ 时间的模拟后按照式 (1.33) 计算新的 P'_k ，接着按照下式计算下一轮迭代的 n'_k ：

$$n'_k = n_k P_k / P'_k \quad (1.34)$$

迭代过程运行至 $n'_k = n_k$ 为止。此后，可以使用单个副本按照最后更新的 $U'(\mathbf{r})$ 进行动力学模拟。模拟完成后，如果需要像 1.3.1 节一样计算沿反应坐标模型的自由能变化，可以通过后处理选择 CV 方式进行：

$$A(z) = -k_B T \ln \left[\tilde{\rho}(z) \langle \exp \left(\frac{U'(\mathbf{r}) - U(\mathbf{r})}{k_B T} \right) \delta(z(\mathbf{r}) - z) \rangle \right] \quad (1.35)$$

其中， $\tilde{\rho}(z)$ 是通过模拟轨迹统计得到的反应坐标模型在 $U'(\mathbf{r})$ 下模拟的采样分布，按照上式计算 $A(z)$ 又称为再权重化（reweighting）过程。

与副本交换分子动力学（replica-exchange molecular dynamics）^[97, 98]方法相比，ITS 方法节省了大量计算资源，但也相应地存在不足。最主要的问题是在研究显性溶剂体系时， $U(\mathbf{r})$ 包含了溶剂的能量，直接使用温度积分采样相当于给溶剂升温，给体系相空间采样带来不必要的偏离。选择性温度积分采样方法（selective integrated tempering sampling, SITS）^[99] 通过分开计算溶剂和溶质的能量来从理论上解决这个问题，但是由于在现有的分子模拟程序中实现起来过于困难，使用并不广泛。

1.4.2.2 加速分子动力学

加速分子动力学（accelerated molecular dynamics, aMD）方法^[12] 通过平滑势能面来降低采样过程的能垒，达到增强采样的目的。和温度积分采样方法一样，加速分子动力学方法也是直接修改势能面，新的势能面 $U'(\mathbf{r})$ 定义如下：

$$U'(\mathbf{r}) = \begin{cases} U(\mathbf{r}), & U(\mathbf{r}) \geq E \\ U(\mathbf{r}) + \frac{(E - U(\mathbf{r}))^2}{\alpha + E - U(\mathbf{r})}, & U(\mathbf{r}) < E \end{cases} \quad (1.36)$$

其中， α 是控制加速程度的系数，越小表示加速程度越大， E 是势能面的修改阈值，当体系势能大于 E 时不会加速，换言之，加速仅在体系势能小于等于 E 时生效。这些参数是在运行模拟前指定的，不需要像 ITS 那样迭代计算。另外，与 ITS 方法类似，aMD 方法也可以通过式 (1.35) 计算自由能^[100]。

在实际应用中发现，使用式 (1.36) 修改势能面后再使用式 (1.35) 自由能在自由能图中引入大量噪声^[101]，而且这一问题的严重性依赖于 α 的人工选择， α 的选择又依赖于势能面的高度，必须反复尝试，非常不方便使用。为了解决这个问题，Miao 等提出了高斯加速分子动力学（Gaussian aMD, GaMD）方法^[102]，其修改过的势能面定义如下：

$$U'(\mathbf{r}) = \begin{cases} U(\mathbf{r}), & U(\mathbf{r}) \geq E \\ U(\mathbf{r}) + \frac{1}{2}k(U(\mathbf{r}) - E)^2, & U(\mathbf{r}) < E \end{cases} \quad (1.37)$$

其中 k 是弹力系数。GaMD 方法认为, 按照式 (1.37) 的势能面模拟, $U'(\mathbf{r}) - U(\mathbf{r})$ 会呈现正态分布, 因此式 (1.35) 的指数平均 (exponential average) 可以用累积量展开定理 (cumulant expansion theorem)^[100] 展开到二阶来降低再权重化过程的噪声, 即:

$$A(z) \approx -k_B T \ln \tilde{\rho}(z) - k_B T \ln \left[\exp \left(\sum_{k=1}^2 \frac{C_k}{k! (k_B T)^k} \right) \right] \quad (1.38)$$

其中, C_k 为随机变量 $U'(\mathbf{r}) - U(\mathbf{r})$ 的 k 阶累积量, C_1 为平均值, C_2 为方差。

为了确定弹力系数 k 和阈值 E , GaMD 通过短时间的探索性模拟确定势能面的最高点 U_{max} 、最低点 U_{min} 、平均值 U_{avg} 和方差 σ_u 等信息, 然后根据指定的控制正态分布方差的系数 σ_0 , 按照下式计算:

$$\begin{cases} E = U_{max} \\ k = \min \left(1, \frac{\sigma_0}{\sigma_u} \cdot \frac{U_{max} - U_{min}}{U_{max} - U_{avg}} \right) \end{cases} \quad (1.39)$$

与 aMD 相比, GaMD 大幅降低了自由能计算的噪声。然而, 它依然存在和 ITS 一样的不足, 因此也有人提出了选择性 (加速) 分子动力学方法, 但也一样囿于软件实现问题, 使用不广。

除了上述讨论的不足之处外, 和使用 CV 的重要性采样方法相比, 本小节综述的方法也存在其固有的缺陷, 如果某些自由度空间内存在很高的能垒, 也存在难以选择合适的参数修改势能面的问题。

1.4.3 基于“炼金术”变换的自由能计算方法

注意到自由能是状态函数, 式 (1.12) 实际上仅与 P 和 Q 所表示的热力学状态有关, 而与 P 是如何变化到 Q 的过程 (也就是 P 到 Q 的路径) 无关, 因此, 可以通过构建一系列物理世界中不存在的中间态, 使模拟体系从 P 逐步变化到 Q , 这就是所谓的“炼金术”变换 (alchemical transformation)。“炼金术”变换中的初末状态自由能差可以通过自由能微扰 (free-energy perturbation, FEP) 方法^[17, 18] 计算:

$$\Delta A_{0 \rightarrow 1} = -k_B T \ln \langle \exp \left(-\frac{U_1(\mathbf{r}) - U_0(\mathbf{r})}{k_B T} \right) \rangle_0 \quad (1.40)$$

其中，初始状态用 **0** 表示，终止状态用 **1** 表示。由于通常初末状态能量分布相差很大，直接使用式（1.40）计算系综平均收敛会非常困难。实际计算中，一般把从 **0** 到 **1** 的变化分割成 N 个窗口^[15, 16]，每个窗口内的自由能变化为：

$$\Delta A_{\lambda_i \rightarrow \lambda_{i+1}} = -k_B T \ln \langle \exp \left(-\frac{U_{\lambda_{i+1}}(\mathbf{r}) - U_{\lambda_i}(\mathbf{r})}{k_B T} \right) \rangle_{\lambda_i}, \quad 0 \leq i \leq N-1 \quad (1.41)$$

λ_i 表示第 i 个中间态， $\lambda_0 = 0$, $\lambda_N = 1$ 。其中，第 i 个中间态的势能为：

$$U_{\lambda_i}(\mathbf{r}) = \lambda_i U_1(\mathbf{r}) + (1 - \lambda_i) U_0(\mathbf{r}) \quad (1.42)$$

$\Delta A_{0 \rightarrow 1}$ 可以用式（1.41）累加得到：

$$\Delta A_{0 \rightarrow 1} = \sum_{i=0}^{N-1} \Delta A_{\lambda_i \rightarrow \lambda_{i+1}} \quad (1.43)$$

实际计算中，分子动力学模拟软件需要完成两部分工作：(1) 按照式（1.42）缩放体系的势能面和原子力，并在 $U_{\lambda_i}(\mathbf{r})$ 势能下执行动力学积分；(2) 收集计算式（1.41）所需要的 FEP 系综平均值。除了按照式（1.43）进行累加外，还可以采用简单重叠采样(simple overlapping sampling)^[103]或者 Bennett 接受比率(Bennett acceptance ratio, BAR)^[104]方法计算 $\Delta A_{0 \rightarrow 1}$ 和相应的误差。另外，热力学积分(thermodynamic integration, TI)也是一种可以从“炼金术”变换模拟中计算自由能的方法，只不过由于需要更细的窗口，所以应用不如 FEP 方法广泛。

自诞生以来，由于参数选择简单和理论严密，“炼金术”变换和 FEP 方法已经在计算机丙氨酸扫描^[105-107]和溶解自由能^[108, 109]计算上得到了广泛的应用。从理论上说，“炼金术”变换和自由能微扰方法最大的不足是难以获得关于能垒的信息，当然这也视乎具体应用而定，研究某些问题时并不一定需要知道能垒的高低。

1.4.4 广义系综方法

广义系综(generalized ensemble)^[110, 111]方法使用非玻尔兹曼权重因子采样，让体系在不同能量上的采样分布更加均匀。分子模拟中最常用的广义系综方法为副本交换分子动力学(replica-exchange molecular dynamics, REMD)方法。顾名思义，REMD 方法需要准备多个不同温度下的模拟副本，假设有 N 个副本，模拟时温度为 T_1, \dots, T_N ，按照 Metropolis 交换准则，按照如下概率对系综内任意两个副本(设序号为 i 和 j) 执行交换：

$$P(X_i \leftrightarrow X_j) = \begin{cases} 1, & \Delta \leq 0 \\ \exp(-\Delta), & \Delta > 0 \end{cases} \quad (1.44)$$

$$\Delta = \left(\frac{1}{k_B T_n} - \frac{1}{k_B T_m} \right) (U(\mathbf{r}_i) - U(\mathbf{r}_j)) \quad (1.45)$$

其中, T_m 和 T_n 分别为第 i 和第 j 个模拟副本的温度。要交换两个副本, 首先互换两个副本的原子位置信息, 假设 \mathbf{r}_i' 和 \mathbf{r}_j' 分别为交换后第 i 和第 j 个模拟副本的原子坐标, 则有 $\mathbf{r}_i' = \mathbf{r}_j$, $\mathbf{r}_j' = \mathbf{r}_i$ 。对于原子运动速度的交换, 则有:

$$\begin{cases} \mathbf{v}_i' = \sqrt{\frac{T_n}{T_m}} \mathbf{v}_i \\ \mathbf{v}_j' = \sqrt{\frac{T_m}{T_n}} \mathbf{v}_j \end{cases} \quad (1.46)$$

模拟结束后, 可以使用再权重化或加权直方图分析方法计算自由能。

REMD 方法已经在被广泛应用于研究蛋白质折叠^[98]、分子跨膜过程^[112]和药物对接^[113]等过程。然而, 其缺点也很明显—即需要多个副本, 消耗大量计算资源。

第五节 本论文的选题

综上所述, 自由能计算方法是分子模拟中研究体系热力学参数的重要手段, 上一节综述的方法虽然都得到了广泛的应用, 但是它们在理论乃至软件实现上均存在不足。1.3.1 小节中使用 CV 的 meta-eABF 方法有收敛不稳定、正交空间采样不好和支持的分子模拟软件程序不多的缺点, 1.3.2 小节中的高斯加速分子动力学方法对于某些特定自由度上存在高能垒的情况力不从心。1.3.3 小节中的“炼金术”变换方法虽然理论严谨, 但软件实现上存在不足以及性能问题。1.3.4 小节中的副本交换方法则需要消耗大量的计算资源。

为了在现有自由能计算方法的基础上改进其性能, 本论文的选题主要涵盖以下内容:

(1) 为了使 meta-eABF 方法可以稳定收敛, 本文使用 well-tempered 策略调整添加高斯峰的峰高, 形成 WTM-eABF (well-tempered meta-eABF) 方法。WTM-eABF 中高斯峰的峰高与已添加高斯峰的峰高历史有关, 反应坐标模型某处的历史峰高越高, 下一次添加的高斯峰峰高就越小。随着模拟时间的增长,

WTM-eABF 逐步趋近于传统的扩展自适应偏置力方法，弹力的测量不再容易受到不断添加的高斯峰的干扰，使用校正 z 平均约束计算的自由能梯度会逐步收敛。

(2) 将 GAMD 方法和上述的 WTM-eABF 方法结合，提出了 GaWTM-eABF 方法。GaWTM-eABF 方法使用 GaMD 中的与 CV 无关的增强势，加速了不在反应坐标模型中自由度的采样，极大地缓解了 WTM-eABF 正交空间采样困难的问题，并且这种 GaMD 与 WTM-eABF 方法结合的策略具有通用性，可以应用于结合基于梯度计算自由能的偏置力方法与任意修改体系势能面的增强采样方法。GaWTM-eABF 方法的采样效率和计算准确性在数值模拟和蛋白质折叠体系中得到了验证。

(3) 在流行的开源自由能计算插件 PLUMED^[71]中实现了 eABF 类方法，使 eABF 类方法在 OpenMM^[91]、AMBER^[92]和 GROMACS^[90]等分子模拟平台上得到良好的支持，eABF 类方法从而可以与这些分子模拟平台特有的功能联合使用。

(4) 在开源的分子动力学模拟软件 NAMD^[87, 88]中实现了使用图形处理器 (graphics processing unit, GPU) 加速的“炼金术”变换与 FEP 方法。在准确度几乎不受影响的情况下，新的 FEP 代码充分地利用了 GPU 的性能，计算速度比使用中央处理器 (central processing unit, CPU) 的代码快接近 30 倍。

(5) 使用自由能计算方法研究轮烷分子机器穿梭过程中杯芳烃的翻转机理。根据实验观测^[114]，一种使用杯芳烃作为大环的轮烷分子机器在穿梭时杯芳烃会发生构象翻转，但翻转机理和其对穿梭的影响尚不明确。采用精心构建并验证的反应坐标模型结合自由能计算方法进行模拟，并对模拟轨迹进行统计分析，发现锥形—锥形翻转过程是逐步发生的，即杯芳烃上芳环单元逐个翻转。进一步计算发现，翻转是静电力驱动的。从自由能图上可以看到，翻转过程也促进了穿梭。

参考文献

- [1] Frenkel D, Smit B. Understanding molecular simulation [M]. Elsevier, 2002.
- [2] Hollingsworth S A, Dror R O. Molecular dynamics simulation for all [J]. Neuron, 2018, 99(6): 1129-1143.
- [3] Leimkuhler B, Matthews C. Molecular dynamics [M]. Springer International Publishing, 2015.
- [4] Shaw D E, Deneroff M M, Dror R O, et al. Anton, a special-purpose machine for molecular dynamics simulation [J]. Communications of the ACM, 2008, 51(7): 91-97.
- [5] Cai W S, Chipot C. Frontiers in high-performance, large-scale molecular dynamics. 35 years of molecular-dynamics simulations of biological systems [J]. Acta Chimica Sinica, 2013, 71(2): 159-168.
- [6] Chipot C. Frontiers in free-energy calculations of biological systems [J]. Wiley Interdisciplinary Reviews-Computational Molecular Science, 2014, 4(1): 71-89.
- [7] Chipot C, Pohorille A. Free energy calculations [M]. Springer Berlin Heidelberg, 2007.
- [8] Abrams C, Bussi G. Enhanced sampling in molecular dynamics using metadynamics, replica-exchange, and temperature-acceleration [J]. Entropy, 2014, 16(1): 163-199.
- [9] Yang L J, Shao Q, Gao Y Q. Enhanced sampling method in molecular simulations [J]. Progress in Chemistry, 2012, 24(6): 1199-1213.
- [10] Spiwok V, Sucur Z, Hosek P. Enhanced sampling techniques in biomolecular simulations [J]. Biotechnology Advances, 2015, 33(6): 1130-1140.
- [11] Bernardi R C, Melo M C R, Schulten K. Enhanced sampling techniques in molecular dynamics simulations of biological systems [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2015, 1850(5): 872-877.
- [12] Voter A F. Hyperdynamics: Accelerated molecular dynamics of infrequent events [J]. Physical Review Letters, 1997, 78(20): 3908-3911.
- [13] Gao Y Q. An integrate-over-temperature approach for enhanced sampling [J]. The Journal of Chemical Physics, 2008, 128(6): 064105.
- [14] Miao Y, McCammon J A. Unconstrained enhanced sampling for free energy calculations of biomolecules: A review [J]. Molecular Simulation, 2016, 42(13): 1046-1055.
- [15] Jorgensen W L, Ravimohan C. Monte Carlo simulation of differences in free energies of hydration [J]. The Journal of Chemical Physics, 1985, 83(6): 3050-3054.
- [16] Jorgensen W L, Thomas L L. Perspective on free-energy perturbation calculations for chemical equilibria [J]. Journal of Chemical Theory and Computation, 2008, 4(6): 869-876.
- [17] Born M. Volumen und hydratationswärme der ionen [J]. Zeitschrift für Physik, 1920, 1(1): 45-48.

- [18] Zwanzig R W. High-temperature equation of state by a perturbation method. I. Nonpolar gases [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1954, 22(8): 1420-1426.
- [19] MacKerell Jr A D, Bashford D, Bellott M, et al. All-atom empirical potential for molecular modeling and dynamics studies of proteins [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 1998, 102(18): 3586-3616.
- [20] Vanommeslaeghe K, MacKerell Jr A D. CHARMM additive and polarizable force fields for biophysics and computer-aided drug design [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2015, 1850(5): 861-871.
- [21] Huang J, MacKerell Jr A D. CHARMM36 all-atom additive protein force field: Validation based on comparison to NMR data [J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2013, 34(25): 2135-2145.
- [22] Huang J, Rauscher S, Nawrocki G, et al. CHARMM36m: An improved force field for folded and intrinsically disordered proteins [J]. *Nature Methods*, 2017, 14(1): 71-73.
- [23] Maier J A, Martinez C, Kasavajhala K, et al. ff14SB: Improving the accuracy of protein side chain and backbone parameters from ff99SB [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2015, 11(8): 3696-3713.
- [24] Tian C, Kasavajhala K, Belfon K a A, et al. ff19SB: Amino-acid-specific protein backbone parameters trained against quantum mechanics energy surfaces in solution [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2020, 16(1): 528-552.
- [25] Smith J S, Isayev O, Roitberg A E. ANI-1: An extensible neural network potential with DFT accuracy at force field computational cost [J]. *Chemical Science*, 2017, 8(4): 3192-3203.
- [26] Lahey S L J, Rowley C N. Simulating protein-ligand binding with neural network potentials [J]. *Chemical Science*, 2020, 11(9): 2362-2368.
- [27] Jindal S, Bulusu S S. A transferable artificial neural network model for atomic forces in nanoparticles [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2018, 149(19): 194101.
- [28] Harvey M J, De Fabritiis G. An implementation of the smooth particle mesh Ewald method on GPU hardware [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2009, 5(9): 2371-2377.
- [29] Darden T, York D, Pedersen L. Particle mesh Ewald: An $N \cdot \log(N)$ method for Ewald sums in large systems [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1993, 98(12): 10089-10092.
- [30] Essmann U, Perera L, Berkowitz M L, et al. A smooth particle mesh Ewald method [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1995, 103(19): 8577-8593.
- [31] Leimkuhler B, Matthews C. The canonical distribution and stochastic differential equations [M]. *Molecular dynamics*. 2015: 211-260.
- [32] Feller S E, Zhang Y, Pastor R W, et al. Constant pressure molecular dynamics simulation: The Langevin piston method [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1995, 103(11): 4613-4621.

- [33] Åqvist J, Wennerström P, Nervall M, et al. Molecular dynamics simulations of water and biomolecules with a Monte Carlo constant pressure algorithm [J]. *Chemical Physics Letters*, 2004, 384(4-6): 288-294.
- [34] Brünger A, Brooks C L, Karplus M. Stochastic boundary conditions for molecular dynamics simulations of ST2 water [J]. *Chemical Physics Letters*, 1984, 105(5): 495-500.
- [35] Leimkuhler B, Matthews C. Numerical integrators [M]. *Molecular dynamics*. 2015: 53-96.
- [36] Leimkuhler B, Matthews C. Numerical methods for stochastic molecular dynamics [M]. *Molecular dynamics*. 2015: 261-328.
- [37] Torrie G M, Valleau J P. Nonphysical sampling distributions in Monte Carlo free-energy estimation: Umbrella sampling [J]. *Journal of Computational Physics*, 1977, 23(2): 187-199.
- [38] Kästner J. Umbrella sampling [J]. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science*, 2011, 1(6): 932-942.
- [39] Laio A, Parrinello M. Escaping free-energy minima [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(20): 12562-12566.
- [40] Barducci A, Bonomi M, Parrinello M. Metadynamics [J]. *Wiley Interdisciplinary Reviews-Computational Molecular Science*, 2011, 1(5): 826-843.
- [41] Laio A, Gervasio F L. Metadynamics: A method to simulate rare events and reconstruct the free energy in biophysics, chemistry and material science [J]. *Reports on Progress in Physics*, 2008, 71(12): 126601.
- [42] Darve E, Pohorille A. Calculating free energies using average force [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2001, 115(20): 9169-9183.
- [43] Comer J, Gumbart J C, Hénin J, et al. The adaptive biasing force method: Everything you always wanted to know but were afraid to ask [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2015, 119(3): 1129-1151.
- [44] Hénin J, Chipot C. Overcoming free energy barriers using unconstrained molecular dynamics simulations [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2004, 121(7): 2904-2914.
- [45] Darve E, Rodríguez-Gómez D, Pohorille A. Adaptive biasing force method for scalar and vector free energy calculations [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2008, 128(14): 144120.
- [46] Mezei M. Adaptive umbrella sampling: Self-consistent determination of the non-Boltzmann bias [J]. *Journal of Computational Physics*, 1987, 68(1): 237-248.
- [47] Babin V, Roland C, Sagui C. Adaptively biased molecular dynamics for free energy calculations [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2008, 128(13): 134101.
- [48] Souaille M, Roux B. Extension to the weighted histogram analysis method: Combining umbrella sampling with free energy calculations [J]. *Computer Physics Communications*, 2001, 135(1): 40-57.
- [49] Branduardi D, Bussi G, Parrinello M. Metadynamics with adaptive Gaussians [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2012, 8(7): 2247-2254.

- [50] Marsili S, Barducci A, Chelli R, et al. Self-healing umbrella sampling: A non-equilibrium approach for quantitative free energy calculations [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2006, 110(29): 14011-14013.
- [51] Kästner J. Umbrella integration in two or more reaction coordinates [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2009, 131(3): 034109.
- [52] Lelièvre T, Rousset M, Stoltz G. Computation of free energy profiles with parallel adaptive dynamics [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2007, 126(13): 134111.
- [53] Fu H, Shao X, Chipot C, et al. Extended adaptive biasing force algorithm. An on-the-fly implementation for accurate free-energy calculations [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2016, 12(8): 3506-3513.
- [54] Comer J, Phillips J C, Schulten K, et al. Multiple-replica strategies for free-energy calculations in NAMD: Multiple-walker adaptive biasing force and walker selection rules [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2014, 10(12): 5276-5285.
- [55] Lesage A, Lelièvre T, Stoltz G, et al. Smoothed biasing forces yield unbiased free energies with the extended-system adaptive biasing force method [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2017, 121(15): 3676-3685.
- [56] Roux B. The calculation of the potential of mean force using computer simulations [J]. *Computer Physics Communications*, 1995, 91(1-3): 275-282.
- [57] Kumar S, Rosenberg J M, Bouzida D, et al. The weighted histogram analysis method for free-energy calculations on biomolecules. I. The method [J]. *Journal of Computational Chemistry*, 1992, 13(8): 1011-1021.
- [58] Kästner J, Thiel W. Bridging the gap between thermodynamic integration and umbrella sampling provides a novel analysis method: "Umbrella integration" [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2005, 123(14): 144104.
- [59] Kästner J. Umbrella integration with higher-order correction terms [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2012, 136(23): 234102.
- [60] Kim I, Allen T W. Bennetts acceptance ratio and histogram analysis methods enhanced by umbrella sampling along a reaction coordinate in configurational space [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2012, 136(16): 164103.
- [61] Shirts M R, Chodera J D. Statistically optimal analysis of samples from multiple equilibrium states [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2008, 129(12): 124105.
- [62] Giudice E, Varnai P, Lavery R. Base pair opening within B-DNA: Free energy pathways for GC and AT pairs from umbrella sampling simulations [J]. *Nucleic Acids Research*, 2003, 31(5): 1434-1443.
- [63] Dickson A, Maienschein-Cline M, Tovo-Dwyer A, et al. Flow-dependent unfolding and refolding of an RNA by nonequilibrium umbrella sampling [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2011, 7(9): 2710-2720.

- [64] Lee J, Kim Y G, Kim K K, et al. Transition between B-DNA and Z-DNA: Free energy landscape for the B-Z junction propagation [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2010, 114(30): 9872-9881.
- [65] Brooks C L, 3rd, Gruebele M, Onuchic J N, et al. Chemical physics of protein folding [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998, 95(19): 11037-11038.
- [66] Wang J, Shao Q, Xu Z, et al. Exploring transition pathway and free-energy profile of large-scale protein conformational change by combining normal mode analysis and umbrella sampling molecular dynamics [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2014, 118(1): 134-143.
- [67] Meshkin H, Zhu F. Thermodynamics of protein folding studied by umbrella sampling along a reaction coordinate of native contacts [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2017, 13(5): 2086-2097.
- [68] Barducci A, Bussi G, Parrinello M. Well-tempered metadynamics: A smoothly converging and tunable free-energy method [J]. *Physical Review Letters*, 2008, 100(2): 020603.
- [69] Dama J F, Parrinello M, Voth G A. Well-tempered metadynamics converges asymptotically [J]. *Physical Review Letters*, 2014, 112(24): 240602.
- [70] Fiorin G, Klein M L, Hénin J. Using collective variables to drive molecular dynamics simulations [J]. *Molecular Physics*, 2013, 111(22-23): 3345-3362.
- [71] Tribello G A, Bonomi M, Branduardi D, et al. PLUMED 2: New feathers for an old bird [J]. *Computer Physics Communications*, 2014, 185(2): 604-613.
- [72] Bonomi M, Branduardi D, Bussi G, et al. PLUMED: A portable plugin for free-energy calculations with molecular dynamics [J]. *Computer Physics Communications*, 2009, 180(10): 1961-1972.
- [73] Sidky H, Coln Y J, Helfferich J, et al. SSAGES: Software suite for advanced general ensemble simulations [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2018, 148(4): 44104.
- [74] Limongelli V, Bonomi M, Parrinello M. Funnel metadynamics as accurate binding free-energy method [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(16): 6358-6363.
- [75] Masetti M, Cavalli A, Recanatini M, et al. Exploring complex protein-ligand recognition mechanisms with coarse metadynamics [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2009, 113(14): 4807-4816.
- [76] Haldar S, Kuhrova P, Banas P, et al. Insights into stability and folding of GNRA and UNCG tetraloops revealed by microsecond molecular dynamics and well-tempered metadynamics [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2015, 11(8): 3866-3877.
- [77] Bottaro S, Banas P, Sponer J, et al. Free energy landscape of GAGA and UUCG RNA tetraloops [J]. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 2016, 7(20): 4032-4038.
- [78] Du S L, Fu H H, Shao X G, et al. Water-controlled switching in rotaxanes [J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2018, 122(16): 9229-9234.

- [79] Liu P, Cai W S, Chipot C, et al. Thermodynamic insights into the dynamic switching of a cyclodextrin in a bistable molecular shuttle [J]. *Journal of Physical Chemistry Letters*, 2010, 1(12): 1776-1780.
- [80] Liu Y, Chipot C, Shao X, et al. Threading or tumbling? Insight into the self-inclusion mechanism of an altro- α -cyclodextrin derivative [J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2014, 118(33): 19380-19386.
- [81] Tse C H, Comer J, Wang Y, et al. Link between membrane composition and permeability to drugs [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2018, 14(6): 2895-2909.
- [82] Lee C T, Comer J, Herndon C, et al. Simulation-based approaches for determining membrane permeability of small compounds [J]. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2016, 56(4): 721-733.
- [83] Zheng L, Yang W. Practically efficient and robust free energy calculations: Double-integration orthogonal space tempering [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2012, 8(3): 810-823.
- [84] Iannuzzi M, Laio A, Parrinello M. Efficient exploration of reactive potential energy surfaces using Car-Parrinello molecular dynamics [J]. *Physical Review Letters*, 2003, 90(23): 4.
- [85] Fu H, Zhang H, Chen H, et al. Zooming across the free-energy landscape: Shaving barriers, and flooding valleys [J]. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 2018, 9(16): 4738-4745.
- [86] Fu H, Shao X, Cai W, et al. Taming rugged free energy landscapes using an average force [J]. *Accounts of Chemical Research*, 2019, 52(11): 3254-3264.
- [87] Phillips J C, Hardy D J, Maia J D C, et al. Scalable molecular dynamics on CPU and GPU architectures with NAMD [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2020, 153(4): 044130.
- [88] Phillips J C, Braun R, Wang W, et al. Scalable molecular dynamics with NAMD [J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2005, 26(16): 1781-1802.
- [89] Plimpton S. Fast parallel algorithms for short-range molecular dynamics [J]. *Journal of Computational Physics*, 1995, 117(1): 1-19.
- [90] Abraham M J, Murtola T, Schulz R, et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers [J]. *SoftwareX*, 2015, 1-2: 19-25.
- [91] Eastman P, Swails J, Chodera J D, et al. OpenMM 7: Rapid development of high performance algorithms for molecular dynamics [J]. *PLoS Computational Biology*, 2017, 13(7): e1005659.
- [92] Case D A, Cheatham T E, 3rd, Darden T, et al. The AMBER biomolecular simulation programs [J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2005, 26(16): 1668-1688.
- [93] Zhao P, Yang L J, Gao Y Q, et al. Facile implementation of integrated tempering sampling method to enhance the sampling over a broad range of temperatures [J]. *Chemical Physics*, 2013, 415: 98-105.

- [94] Miao Y, Bhattacharai A, Wang J. Ligand Gaussian accelerated molecular dynamics (LiGaMD): Characterization of ligand binding thermodynamics and kinetics [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2020, 16(9): 5526-5547.
- [95] Sinko W, De Oliveira C A, Pierce L C, et al. Protecting high energy barriers: A new equation to regulate boost energy in accelerated molecular dynamics simulations [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2012, 8(1): 17-23.
- [96] Wereszczynski J, McCammon J A. Using selectively applied accelerated molecular dynamics to enhance free energy calculations [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2010, 6(11): 3285-3292.
- [97] Sugita Y, Okamoto Y. Replica-exchange multicanonical algorithm and multicanonical replica-exchange method for simulating systems with rough energy landscape [J]. *Chemical Physics Letters*, 2000, 329(3-4): 261-270.
- [98] Sugita Y, Okamoto Y. Replica-exchange molecular dynamics method for protein folding [J]. *Chemical Physics Letters*, 1999, 314(1-2): 141-151.
- [99] Yang L J, Gao Y Q. A selective integrated tempering method [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2009, 131(21): 214109.
- [100] Miao Y, Sinko W, Pierce L, et al. Improved reweighting of accelerated molecular dynamics simulations for free energy calculation [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2014, 10(7): 2677-2689.
- [101] Hamelberg D, Mongan J, McCammon J A. Accelerated molecular dynamics: A promising and efficient simulation method for biomolecules [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2004, 120(24): 11919-11929.
- [102] Miao Y, Feher V A, McCammon J A. Gaussian accelerated molecular dynamics: Unconstrained enhanced sampling and free energy calculation [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2015, 11(8): 3584-3595.
- [103] Lu N, Kofke D A, Woolf T B. Improving the efficiency and reliability of free energy perturbation calculations using overlap sampling methods [J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2004, 25(1): 28-39.
- [104] Bennett C H. Efficient estimation of free energy differences from Monte Carlo data [J]. *Journal of Computational Physics*, 1976, 22(2): 245-268.
- [105] Ramadoss V, Dehez F, Chipot C. AlaScan: A graphical user interface for alanine scanning free-energy calculations [J]. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2016, 56(6): 1122-1126.
- [106] Moreira I S, Fernandes P A, Ramos M J. Computational alanine scanning mutagenesis-an improved methodological approach [J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2007, 28(3): 644-654.
- [107] Massova I, Kollman P A. Computational alanine scanning to probe protein-protein interactions: A novel approach to evaluate binding free energies [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1999, 121(36): 8133-8143.

第一章 综述

- [108] Dang L X, Kollman P A. Free energy of association of the 18-crown-6:K⁺ complex in water: A molecular dynamics simulation [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1990, 112(15): 5716-5720.
- [109] Dang L X, Kollman P A. Free energy of association of the K⁺:18-crown-6 complex in water: A new molecular dynamics study [J]. *The Journal of Physical Chemistry*, 1995, 99(1): 55-58.
- [110] Mitsutake A, Sugita Y, Okamoto Y. Generalized-ensemble algorithms for molecular simulations of biopolymers [J]. *Biopolymers*, 2001, 60(2): 96-123.
- [111] Okamoto Y. Generalized-ensemble algorithms: Enhanced sampling techniques for Monte Carlo and molecular dynamics simulations [J]. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 2004, 22(5): 425-439.
- [112] Riccardi E, Krämer A, Van Erp T S, et al. Permeation rates of oxygen through a lipid bilayer using replica exchange transition interface sampling [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2021, 125(1): 193-201.
- [113] Zhang Z, Ehmann U, Zacharias M. Monte Carlo replica-exchange based ensemble docking of protein conformations [J]. *Proteins*, 2017, 85(5): 924-937.
- [114] Pierro T, Gaeta C, Talotta C, et al. Fixed or invertible calixarene-based directional shuttles [J]. *Organic Letters*, 2011, 13(10): 2650-2653.

第二章 改善 meta-eABF 自由能计算的收敛性

第一节 引言

通过分子动力学（molecular dynamics, MD）模拟探索复杂的化学和生物过程时，需要适当的采样手段来分离时间尺度，捕捉在运动过程中发挥作用的慢自由度^[1]。为了在通常可用的计算资源下（如商用计算机集群）达成这一目标，伞状采样（umbrella sampling, US）^[2, 3]、metadynamics（MtD）^[4, 5]和自适应偏置力（adaptive biasing force, ABF）^[6, 7]以及它们的变种方法被广泛地应用于增强崎岖自由能面上的探索。这些基于重要性采样的方法已经被成功地应用于研究许多化学和生物过程，如蛋白质折叠^[8-10]、蛋白质配体结合^[11-13]、跨膜过程^[14, 15]和分子机器运动^[16, 17]等。

为了发展具有通用性，即普适于各种体系的重要性采样方法，Fu 等结合 MtD 和扩展 ABF（extended ABF, eABF）两者的优势，提出了 meta-eABF 方法^[18]。然而在使用中发现，虽然 meta-eABF 对于研究 N-乙酰基-N'-甲基-L-丙氨酰胺（N-acetyl-N'-methyl-L-alanyl amide, NANMA）异构化时非常有效，但是在研究 2'-3'-双脱氧腺苷（2'-3'-dideoxyadenosine, DDA）小分子跨越细胞膜时发现^[19]，meta-eABF 不能随着模拟时间的增长而稳定收敛，而且收敛性对峰高非常敏感，对体系的普适性不强。本章研究发现，高斯峰势能的添加是影响梯度计算收敛性的主要原因，并引入了 well-tempered 策略来在模拟过程中逐步降低高斯峰的高度，提出了 well-tempered meta-eABF（WTM-eABF）方法。

WTM-eABF 方法由付浩浩提出，本论文作者完成了理论分析和参数选择工作，并论证了校正 z 平均约束（correct z-average restraint, CZAR）在 WTM-eABF 方法上的适用性，相关工作以共同第一作者身份发表。

第二节 理论和方法

2.2.1 meta-eABF 方法的理论背景与局限性

作为重要性采样方法，eABF 类方法^[20, 21]增强采样的基本策略是首先选择 CV 构建反应坐标模型，然后把反应坐标模型视作独立的运动自由度，并向模拟体系中引入附加的自由度，附加的自由度与反应坐标模型通过硬弹簧（高弹性系数的弹簧）相连^[22]，最后对附加的自由度施力，带动体系沿反应坐标模型的采样。具体而言，其体系的势能可以表达如下：

$$U(s, \mathbf{r}) = U(\mathbf{r}) + \frac{1}{2} k(z(\mathbf{r}) - s)^2 + V_{bias}(s) \quad (2.1)$$

上式中，虽然 $V_{bias}(s)$ 写成偏置势形式，但作为偏置力方法，eABF 类方法并不直接计算 $V_{bias}(s)$ ，而是计算其对附加自由度 s 的负梯度并直接进行运动积分^[7]。在传统的 eABF 方法中，附加自由度 s 对应的偏置力为弹簧平均弹力的相反数，即：

$$F_{bias}(s) = -\nabla_s V_{bias}(s) = -\langle F(s) \rangle_s = \langle k(z(\mathbf{r}) - s) \rangle_s \quad (2.2)$$

在实际实现中，平均弹力的计算通过对变量 s 的取值范围划分直方图，然后按照每一步 s 在直方图内的位置，计算弹力的平均值。要想准确地按照式 (2.2) 计算平均值，直方图内相应的格点就需要有足够的采样，然而，遇到高能垒的时候，格点内的采样不充分。这就遇到了死循环：增强采样方法要求直方图格点有充足采样，充足采样又依赖增强采样方法本身。这就导致了传统 eABF 采样慢的问题。为了打破这个死循环并提高采样效率，meta-eABF 引入了 MtD^[4]方法中按照模拟时间添加的高斯峰对应的偏置力，这时，总的偏置力变为：

$$F_{bias}(s) = \langle k(z(\mathbf{r}) - s) \rangle_s + h \sum_{\substack{t_0=\tau_G, 2\tau_G, \dots \\ t_0 < t}} \frac{1}{\sigma^2} (s - s_{t_0}) \exp \left[-\frac{(s - s_{t_0})^2}{2\sigma^2} \right] \quad (2.3)$$

这时，偏置力的计算就不必完全等待直方图中平均力的充足采样，在模拟早期可以大幅度地提高了采样效率。另外，根据 Zheng 和 Yang 对 eABF 方法的分析^[21]，体系引入附加自由度之后，eABF 方法可以视作自适应伞状采样的推广，附加自由度 s 的特定取值可以视作伞状采样中一个窗口的中心参考点，只不过和伞状采样相比，eABF 中的“窗口中心”是在偏置力的作用下自适应移动的。根据同样的道理，meta-eABF 的“窗口中心”也是自适应移动的，只不过换了一种

偏置力而已。因此，原先 eABF 方法中使用 CZAR^[23]作为自由能梯度估计量的策略，即式 (1.29) 依然适用。

虽然 meta-eABF 在 NANMA 模型分子测试中收敛良好，但在用于研究 DDA 小分子跨膜时发现，能垒收敛不如预期^[19]。进一步研究发现，如果添加的高斯峰高度过高，则会扰动平均力的测量，使得式 (1.29) 中后面一项 $k(\langle s - z(\mathbf{r}) \rangle_z)$ 在模拟中方差的波动过大。

2.2.2 使用 well-tempered 策略改善 meta-eABF 方法的收敛

为了修正 2.2.1 小节中 meta-eABF 的缺陷，本章融合了 well-tempered MtD 方法中的 well-tempered 策略^[24]，随着模拟时间的增长逐步降低高斯峰的高度，提出了 WTM-eABF 方法。WTM-eABF 方法中偏置力如下：

$$\begin{cases} F_{bias}(s) = -\frac{\partial}{\partial s} V_{bias}(s, t) = \langle k(z(\mathbf{r}) - s) \rangle_s - \frac{\partial}{\partial s} V_m(s, t) \\ V_{bias}(s, t) = h_0 \sum_{\substack{t_0=\tau_G, 2\tau_G, \dots \\ t_0 < t}} \exp\left(-\frac{V_{bias}(s, t - \tau_G)}{k_B \Delta T}\right) \exp\left[-\frac{(s - s_{t_0})^2}{2\sigma^2}\right] \end{cases} \quad (2.4)$$

按照式 (2.4) 更新偏置势 $V_{bias}(s, t)$ ，新增的偏置势大小将会随着历史偏置势的增长而降低。在 well-tempered MtD 方法中已经证明^[25]，随着模拟时间的增长 $V_{bias}(s, t)$ 将趋近于一个定值。在 WTM-eABF 中也应该如此，因此，式 (1.29) 中平均弹力的估计量会趋于稳定。WTM-eABF 有四个特性：(1) 使用了 MtD 的记忆内核；(2) 使用来自 eABF 的梯度信息；(3) 使用 well-tempered 的渐进收敛策略；(4) 具有无偏的自由能估计量。在下一节的测试例子中将会证明，WTM-eABF 提高了采样的稳定性，并且降低了对参数选择的依赖。

第三节 结果与讨论

本节将分别借助两个例子，即丙氨酸十肽（deca-alanine）的可逆螺旋形成以及 NANMA 异构化，来分别讨论 WTM-eABF 的优势：偏置力的稳定性以及参数选择的健壮性。

2.3.1 丙氨酸十肽的可逆螺旋形成

丙氨酸十肽的结构如图 2.1 所示，其中，两端的距离被选择为采样以及自由能计算的 CV。模拟使用分子动力学模拟软件 NAMD 2.13^[26]进行，含氢原子的共价键使用 SHAKE/RATTLE^[27]算法限制在它们的平衡长度。r-RESPA^[28]方法被用来对短距离相互作用和长距离相互作用分开积分，两者分别使用 2 fs 和 4 fs 的积分步长。丙氨酸十肽使用 CHARMM 力场^[29]建模。

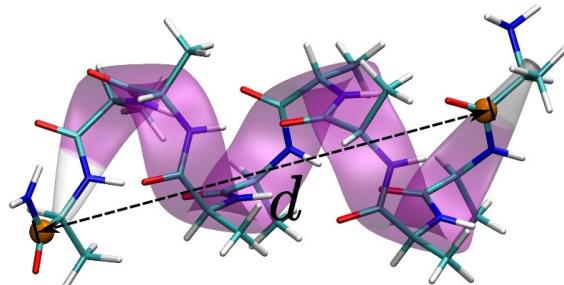


图 2.1 丙氨酸十肽的结构图。其中首尾两端选作测量两端距离的碳原子标记为棕色，这两个碳原子之间的距离为 d ，被用作采样与自由能计算的 CV

两端距离 d 的采样范围为 12 到 32 Å，使用了四种采样方法作为对比测试：ABF、eABF、meta-eABF 和 WTM-eABF。图 2.2 中展示了 d 随采样时间的变化情况，从图中可以看到，ABF 和 eABF 的采样效率相差不大，meta-eABF 探索相同的空间快了很多。然而，取决于高斯峰的参数，meta-eABF 这种高效性非常容易引起离平衡态的失真，这也降低了自由能计算的可靠性。

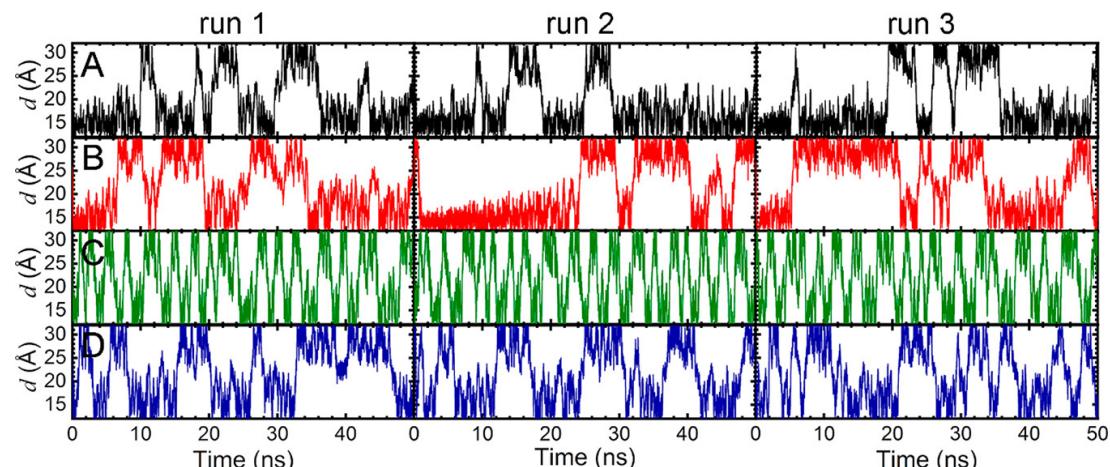


图 2.2 表示丙氨酸十肽可逆螺旋形成的两端距离 d ，在 12 到 32 Å 随时间的变化趋势。(A)、(B)、(C) 和 (D) 图分别表示 ABF、eABF、meta-eABF 和 WTM-eABF 模拟的结果。三次运行分别开始于不同的初始结构和初始速度 (Reproduced in part with permission from *J. Chem. Inf. Model.* 2020, 60, 5366-5374 Copyright [2020] American Chemical Society.)

为了进一步说明偏置力的稳定性，可以考察上述四种方法在直方图内一个网格的偏置力随时间变化的情况，如图 2.3 所示，meta-eABF 方法的偏置力并没有随着时间的增长而逐渐趋于平稳，依然在不断波动，这也是 meta-eABF 中自由能计算结果不能稳定收敛的原因。相反，尽管 WTM-eABF 从采样上看没有 meta-eABF 那么高效，但偏置力保持了稳定，随着时间的增长越来越接近于 eABF。而且，在下一个例子将可以观察到，WTM-eABF 相对 meta-eABF 而言略微损失的采样效率并不影响其收敛速率。

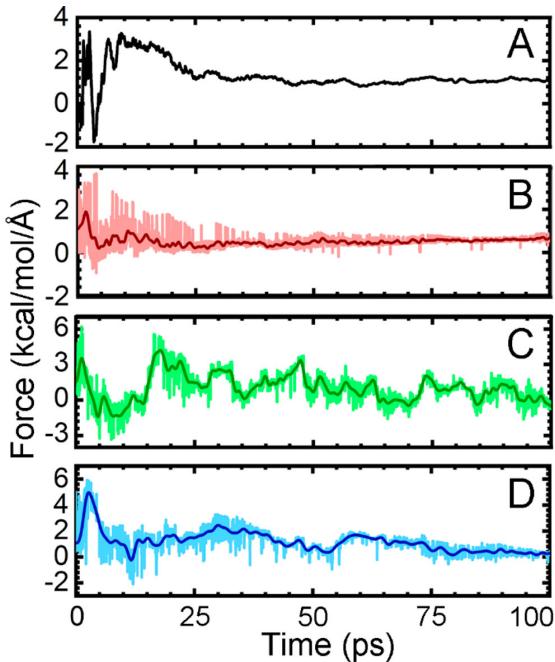


图 2.3 图 (A)、(B)、(C) 和 (D) 分别表示 ABF、eABF、meta-eABF 和 WTM-eABF 四种方法在 50 ns 模拟内一个网格中 ($24.3\text{-}24.4\text{ \AA}$) 的偏置力随模拟时间的变化情况。在 (B)、(C) 和 (D) 中亮色阴影和暗色曲线分别表示平滑过的曲线以及原始的曲线 (Reproduced in part with permission from *J. Chem. Inf. Model.* **2020**, 60, 5366-5374 Copyright [2020] American Chemical Society.)

2.3.2 N-乙酰基-N'-甲基-L-丙氨酰胺水溶液中的异构化

结合了 well-tempered 策略之后，WTM-eABF 将有两类可调节参数：(1)eABF 有关的参数，如给定附加自由度的值对应的 CV 采样分布的标准差 σ_e ($\sigma_e^2 = k_B T/k$) 和振动时间周期 τ ($\tau = 2\pi(m/k)^{-1}$, m 为附加自由度的质量)；(2) WT-MtD 高斯峰有关的参数，如控制高斯峰半高宽的 σ 、高斯峰初始高度 h 、添加新高斯峰的周期 τ_G 以及控制高斯峰高度衰减的偏置温度 ΔT 。前一类已经在

eABF 相关文献^[23, 30]中讨论过了，而另一类虽然在 MtD 相关文献^[5]中有所讨论，但在 WTM-eABF 中由于自由能估计量不再是式 (1.17) 和 (1.20)，因此这些参数的选择需要重新考察。本小节使用控制变量法，选择水溶液中的 NANMA 分子作为模型分子讨论第 (2) 类参数的选择对 WTM-eABF 收敛的影响。

体系结构示意图如图 2.4 (A) 所示，反应坐标模型由两个 CV 组成，即 NANMA 肽链的扭转角 φ 和 ψ ，模拟分为三组进行：(1) 选择不同的偏置 ΔT ，同时 σ 和 h 分别保持为 5.0° 和 0.1 kcal/mol ；(2) 根据 (1) 中选择出最佳的 ΔT ，固定 σ 为 5.0° ，考察不同峰高对收敛的影响；(3) 根据 (1) 和 (2) 固定 ΔT 和 h ，考察不同 σ 对收敛的影响。

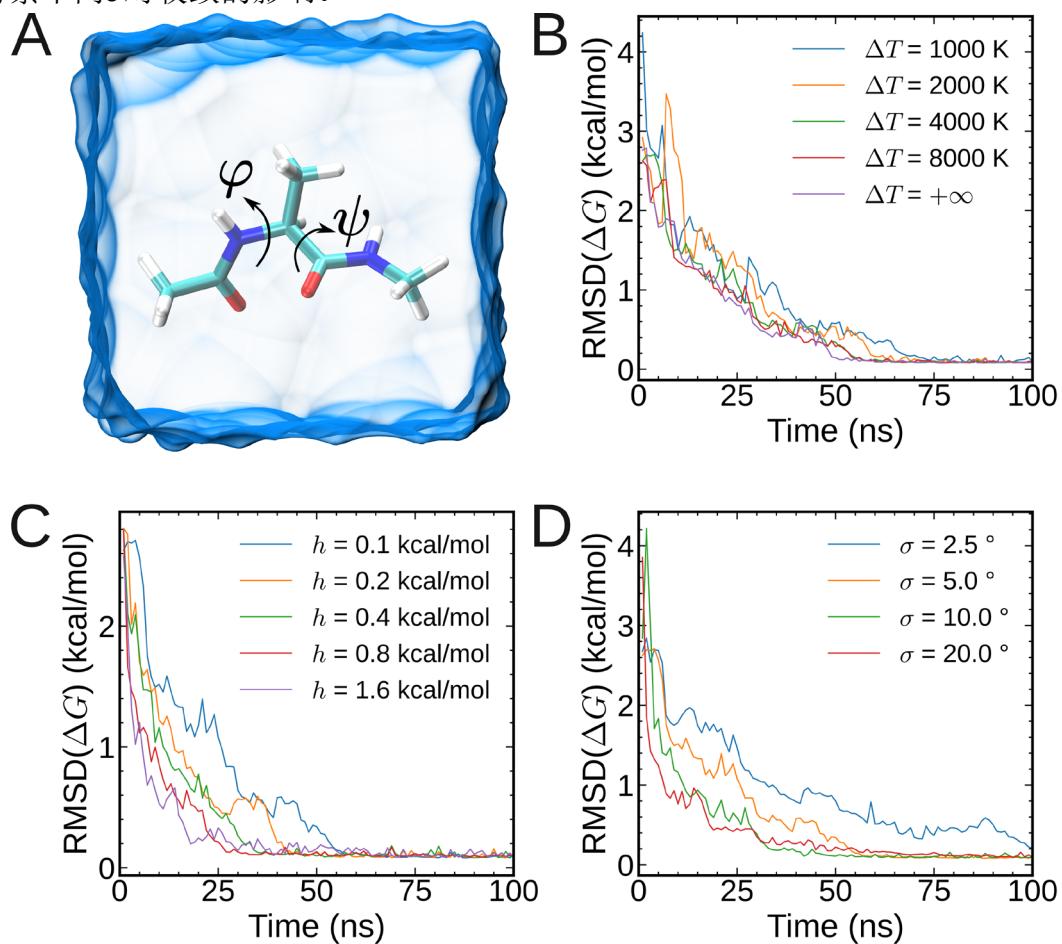


图 2.4 (A) NANMA 水溶液体系结构示意图；(B) 不同 ΔT 对收敛的影响， $\Delta T = +\infty$ 表示 meta-eABF 模拟的结果；(C) 不同初始峰高度 h 对收敛的影响；(D) 不同 σ 对收敛的影响
(Reproduced in part with permission from *J. Chem. Inf. Model.* **2020**, 60, 5366-5374 Copyright [2020] American Chemical Society.)

模拟完成后，以 500-ns ABF 模拟的结果作为参考计算这三组模拟的结果相对参考值的均方根偏离（root mean square deviation, RMSD）分别如图 2.4 (B)、(C) 和 (D) 所示，这三张图分别对应上述的 (1) — (3) 组模拟。从图 2.4 (B) 中可以看到，增大偏置温度可以略微加快收敛速度，然而，如同前文所讨论的，使用非回火（non-tempered）或 meta-eABF，即 $\Delta T = +\infty$ 的参数是不推荐的，因此 ΔT 的最佳选择可以是 4000 K 或 8000 K，而且可以看到，使用 well-tempered 策略之后对收敛速度的影响不大。在第 (2) 和第 (3) 组模拟中， ΔT 选择为 4000 K。从图 2.4 (C) 和 (D) 中也可以看到，增大 h 和 σ 也有利于收敛，然而过大的 h （如 1.6 kcal/mol）和 σ （如 20.0°）有可能因为干扰平均力测量，导致最后的结果难以收敛。总体来说， $\Delta T = 4000$ K, $h = 0.8$ kcal/mol, $\sigma = 10.0$ ° 是计算 NANMA 体系沿 Ramachandran 二面角自由能良好的参数选择，对于一般的体系来说，可以保持 ΔT 和 h 不变， σ 设置为直方图网格宽度的五倍。

第四节 结论

本章通过引入 well-tempered 策略，发展了 WTM-eABF 方法，解决了 meta-eABF 收敛不稳定问题的方法。上述丙氨酸十肽的例子表明，与 meta-eABF 相比，WTM-eABF 由于新增的高斯峰不会不断干扰平均力的测量，因此施加的偏置力收敛更加稳定。NANMA 的例子则表明，使用 well-tempered 策略不会明显降低收敛速度，而且存在较为普适的参数选择。总而言之，WTM-eABF 可以看作是一种通用的基于反应坐标模型的重要性采样方法。

然而，WTM-eABF 也有固有的缺点，即它并没有专门增强正交空间的采样，如果反应坐标模型构建不当，采样收敛会非常困难，这一问题将会在第三章中解决。另外，在软件实现上，WTM-eABF 重用了 eABF 的代码路径，主要在 Colvars^[31]中有实现，而在除了 NAMD^[26, 32]、LAMMPS^[33]和 GROMACS^[34]之外的分子动力学模拟软件上并没有相应的软件实现，这一问题将在第四章中予以解决。

参考文献

- [1] Chipot C. Frontiers in free-energy calculations of biological systems [J]. Wiley Interdisciplinary Reviews-Computational Molecular Science, 2014, 4(1): 71-89.
- [2] Torrie G M, Valleau J P. Nonphysical sampling distributions in Monte Carlo free-energy estimation: Umbrella sampling [J]. Journal of Computational Physics, 1977, 23(2): 187-199.
- [3] Kästner J. Umbrella sampling [J]. Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science, 2011, 1(6): 932-942.
- [4] Laio A, Parrinello M. Escaping free-energy minima [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2002, 99(20): 12562-12566.
- [5] Laio A, Gervasio F L. Metadynamics: A method to simulate rare events and reconstruct the free energy in biophysics, chemistry and material science [J]. Reports on Progress in Physics, 2008, 71(12): 126601.
- [6] Darve E, Pohorille A. Calculating free energies using average force [J]. The Journal of Chemical Physics, 2001, 115(20): 9169-9183.
- [7] Comer J, Gumbart J C, Hénin J, et al. The adaptive biasing force method: Everything you always wanted to know but were afraid to ask [J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2015, 119(3): 1129-1151.
- [8] Meshkin H, Zhu F. Thermodynamics of protein folding studied by umbrella sampling along a reaction coordinate of native contacts [J]. Journal of Chemical Theory and Computation, 2017, 13(5): 2086-2097.
- [9] Hazel A J, Walters E T, Rowley C N, et al. Folding free energy landscapes of beta-sheets with non-polarizable and polarizable CHARMM force fields [J]. The Journal of Chemical Physics, 2018, 149(7): 072317.
- [10] Chong S H, Im H, Ham S. Explicit characterization of the free energy landscape of pKID-KIX coupled folding and binding [J]. ACS Central Science, 2019, 5(8): 1342-1351.
- [11] Capelli R, Bochicchio A, Piccini G, et al. Chasing the full free energy landscape of neuropeptidergic receptor/ligand unbinding by metadynamics simulations [J]. Journal of Chemical Theory and Computation, 2019, 15(5): 3354-3361.
- [12] Fu H, Cai W, Hénin J, et al. New coarse variables for the accurate determination of standard binding free energies [J]. Journal of Chemical Theory and Computation, 2017, 13(11): 5173-5178.
- [13] Gumbart J C, Roux B, Chipot C. Standard binding free energies from computer simulations: What is the best strategy? [J]. Journal of Chemical Theory and Computation, 2013, 9(1): 794-802.

- [14] Lu W, Schafer N P, Wolynes P G. Energy landscape underlying spontaneous insertion and folding of an alpha-helical transmembrane protein into a bilayer [J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 4949.
- [15] Jambeck J P, Lyubartsev A P. Exploring the free energy landscape of solutes embedded in lipid bilayers [J]. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 2013, 4(11): 1781-1787.
- [16] Chen H C, Zhang H, Shao X G, et al. Tumbling of anisole units in calixarene promotes its shuttling in rotaxanes [J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2019, 123(29): 18050-18055.
- [17] Fu H, Shao X, Chipot C, et al. The lubricating role of water in the shuttling of rotaxanes [J]. *Chemical Science*, 2017, 8(7): 5087-5094.
- [18] Fu H, Zhang H, Chen H, et al. Zooming across the free-energy landscape: Shaving barriers, and flooding valleys [J]. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 2018, 9(16): 4738-4745.
- [19] Fu H, Shao X, Cai W, et al. Taming rugged free energy landscapes using an average force [J]. *Accounts of Chemical Research*, 2019, 52(11): 3254-3264.
- [20] Lelièvre T, Rousset M, Stoltz G. Computation of free energy profiles with parallel adaptive dynamics [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2007, 126(13): 134111.
- [21] Zheng L, Yang W. Practically efficient and robust free energy calculations: Double-integration orthogonal space tempering [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2012, 8(3): 810-823.
- [22] Iannuzzi M, Laio A, Parrinello M. Efficient exploration of reactive potential energy surfaces using Car-Parrinello molecular dynamics [J]. *Physical Review Letters*, 2003, 90(23): 4.
- [23] Lesage A, Lelièvre T, Stoltz G, et al. Smoothed biasing forces yield unbiased free energies with the extended-system adaptive biasing force method [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2017, 121(15): 3676-3685.
- [24] Barducci A, Bussi G, Parrinello M. Well-tempered metadynamics: A smoothly converging and tunable free-energy method [J]. *Physical Review Letters*, 2008, 100(2): 020603.
- [25] Dama J F, Parrinello M, Voth G A. Well-tempered metadynamics converges asymptotically [J]. *Physical Review Letters*, 2014, 112(24): 240602.
- [26] Phillips J C, Braun R, Wang W, et al. Scalable molecular dynamics with NAMD [J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2005, 26(16): 1781-1802.
- [27] Andersen H C. Rattle: A “velocity” version of the shake algorithm for molecular dynamics calculations [J]. *Journal of Computational Physics*, 1983, 52(1): 24-34.
- [28] Tuckerman M, Berne B J, Martyna G J. Reversible multiple time scale molecular dynamics [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1992, 97(3): 1990-2001.
- [29] MacKerell Jr A D, Bashford D, Bellott M, et al. All-atom empirical potential for molecular modeling and dynamics studies of proteins [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 1998, 102(18): 3586-3616.

- [30] Fu H, Shao X, Chipot C, et al. Extended adaptive biasing force algorithm. An on-the-fly implementation for accurate free-energy calculations [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2016, 12(8): 3506-3513.
- [31] Fiorin G, Klein M L, Hénin J. Using collective variables to drive molecular dynamics simulations [J]. *Molecular Physics*, 2013, 111(22-23): 3345-3362.
- [32] Phillips J C, Hardy D J, Maia J D C, et al. Scalable molecular dynamics on CPU and GPU architectures with NAMD [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2020, 153(4): 044130.
- [33] Plimpton S. Fast parallel algorithms for short-range molecular dynamics [J]. *Journal of Computational Physics*, 1995, 117(1): 1-19.
- [34] Abraham M J, Murtola T, Schulz R, et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers [J]. *SoftwareX*, 2015, 1-2: 19-25.

第三章 加速 eABF 类方法在正交空间中的采样

第一节 引言

为了克服复杂生物物理过程中因高自由能能垒分隔造成的热力学状态采样困难^[1, 2]，并缓和非遍历性的情况，许多重要性采样方法^[3-11]被开发出来。在这些可以提高采样效率的方法中，一种近期提出的 WTM-eABF 方法^[12, 13]，它混合了扩展自适应偏置力（extended adaptive biasing force, eABF）和 well-tempered metadynamics（WT-MtD）的方法，被证明能够有效地沿着预先选择的集合变量（collective variable, CV）探索多维自由能图。然而，作为一种基于 CV 的采样方法，WTM-eABF 严重依赖精心选择的 CV，这些 CV 包含了少数通过最佳的时间尺度分离，并能够捕捉所有哈密顿（Hamiltonian）系统慢运动模式的自由度。CV 的选择本身已经是一个很难处理的问题了，尽管近期机器学习技术在这方面取得了可观的进展^[14-16]。在实际应用中，WTM-eABF 经常不得不用于退化的 CV 的情况，而在退化的 CV 中，慢自由度是缺失的。因此，和许多基于 CV 的方法一样，WTM-eABF 依然为正交于 CV 的空间中隐藏的能垒所阻碍，并在跨越这些能垒时存在固有的困难^[17-19]。

一种理想的增强采样方法应该不仅能够跨越 CV 空间的自由能能垒，而且能够跨越正交空间的能垒。近年来，研究者们在这方面做了大量的工作，具体而言有两种解决思路：(1) 寻找能够表示正交空间中慢自由度的通用的反应坐标^[18-20]；(2) 把基于 CV 的方法与那些独立于 CV 的算法相结合，比如说副本交换分子动力学（replica-exchange molecular dynamics, REMD）^[21]、加速分子动力学（accelerated molecular dynamics, aMD）^[22]、温度积分采样（integrated tempering sampling, ITS）^[23]以及它们不同的变种^[24-31]。这些独立于 CV 的算法要么通过利用多副本策略在温度空间随机游走，要么通过各种增强势来平滑势能面进而增强采样。由于第 (2) 类方法能够增强整个构象空间，而不仅是 CV 空间的采样^[17]，它们与基于 CV 的采样方法的结合可以加速正交空间的采样，从而改善沿 CV 的平均力势（potential of mean force, PMF）的计算的收敛。有许多 REMD 或 aMD 变种与基于 CV 的算法结合的例子，特别是基于 CV 的偏置势算法，比

如说，并行退火（parallel-tempering，PT）MtD^[28]和高斯加速副本交换伞状采样（Gaussian-accelerated replica-exchange umbrella sampling，GaREUS）^[30]。

在偏置力方法方面，近期 Fu 等提出了一种结合 REMD 与 WTM-eABF 的方法，名为 REX-WTM-eABF^[12]。虽然 REX-WTM-eABF 可以有效地增强正交空间的采样，但是它依然需要大量使用计算资源，这是多副本策略的一个缺点。本章提出一种结合了高斯加速分子动力学（Gaussian-accelerated molecular dynamics，GaMD）^[32]和 WTM-eABF^[13]的方法，即为 GaWTM-eABF 方法，它保持了继承自 WTM-eABF 在 CV 空间的高采样效率，并受益于 GaMD 的计算效率以及它正交空间的采样能力。简单地说，GaWTM-eABF 算法在一个 GaMD 平滑过的势能面上用 WTM-eABF 方法采样，因此不需要多个副本。这种策略事实上允许任意偏置力方法与 GaMD 无缝结合，不需要中断瞬时力的收集，故与依赖非平衡切换的混合策略^[31]本质上是不同的，后者中部分数据点会丢弃。

WTM-eABF 和 GaMD 的基本原理已经在第一章和第二章中有所论述，因此本章将首先重点讨论两者的结合，即 GaWTM-eABF，接下来使用数学构造的势能面进行数值测试，本章将展示 GaWTM-eABF 如何成功地在高度退化的 CV 的情况下恢复无偏自由能面，而对于同样的情况 WTM-eABF 难以做到这一点，最后本章对比了 GaWTM-eABF 和 WTM-eABF 在两个生物物理过程，即丙氨酸十肽和 Chignolin 肽链的可逆折叠中的性能，结果表明，GaWTM-eABF 提高了自由能计算的准确性并加速收敛。

第二节 理论背景

3.2.1 用 GaMD 增强 WTM-eABF 方法的正交空间采样

运行 WTM-eABF 模拟需要用直方图来存储平均力以及偏置势，而直方图的大小是随着 CV 的数量指数级增长的，这意味着对 CV 空间采样的模拟时间也需要相应地增长，导致模拟无法用主流的硬件配置在可接受的时间尺度内完成。更糟糕的是，高维的直方图也对通常学术环境可用的计算机内存空间构成挑战。因此，在实际应用中，CV 的数量通常小于等于 3。有人会说可以粗粒化地离散 CV 来回避这个限制，但是这会牺牲自由能计算的准确性。因此，在复杂的生物分子中，那些正交于被选择的 CV 的自由度上很可能存在显著的自由能垒。因

而如果一种重要性采样方法仅仅在构成反应坐标模型的 CV 上施加偏置势或偏置力，正交空间的采样可能会依然被自由能能垒阻挡。

为了加速正交空间的采样，GaWTM-eABF 把式 (1.37) 中的独立于 CV 的增强势结合进式 (1.26)。换而言之，体系的势能面首先被 GaMD 增强势修改，降低了所有自由度上的能垒，然后 WTM-eABF 算法针对性地加速沿选择的 CV 的采样。此时，式 (1.37) 动力学方程被修改如下：

$$\begin{cases} U'(s, \mathbf{r}) = U'(\mathbf{r}) + \frac{1}{2}k(z(\mathbf{r}) - s)^2 + V_{bias}(s, t) \\ m_i \ddot{r}_i = -\nabla_{r_i} U'(s, \mathbf{r}) - \gamma m_i \dot{r}_i + \sqrt{2m_i \gamma k_B T} \dot{W}(t) \\ m_s \ddot{s} = -\nabla_s U'(s, \mathbf{r}) - \gamma m_s \dot{s} + \sqrt{2m_s \gamma k_B T} \dot{W}(t) \end{cases} \quad (3.1)$$

具体而言，上式中， $U'(\mathbf{r})$ 按照式 (1.37) 计算，至于 $V_{bias}(s, t)$ ，运动积分中只需要其负梯度，可以按照式 (2.5) 计算。

3.2.2 计算自由能

按照式 (3.1) 进行动力学模拟之后，为了从 GaWTM-eABF 中恢复无偏的自由能图，首先 z 仅受 GaMD 增强势影响的概率分布 $\rho^*(z)$ ，可以由类似式 (1.29) 的校正 z 平均约束 (correct z-average restraint, CZAR) [8] 计算：

$$\begin{aligned} \rho^*(z) &= \exp(-\beta A^*(z)) \\ &= \exp\left\{-\beta \int \left[-\frac{1}{\beta} \frac{d \ln \tilde{\rho}^*(z)}{dz} + \langle k(s - z(\mathbf{r})) \rangle_z\right] dz\right\} \end{aligned} \quad (3.2)$$

其中， $\beta = 1/(k_B T)$ ，采样分布 $\tilde{\rho}^*(z)$ 是关于 z 在 GaMD 增强势以及弹簧弹力双重作用下边缘概率分布。计算 $\rho^*(z)$ 之后，无偏概率分布 $\rho(z)$ 可以按照下式的再权重化 (reweighting) [33] 过程计算：

$$\rho(z) = \rho^*(z) \frac{\langle \exp\left(\frac{U'(\mathbf{r}) - U(\mathbf{r})}{k_B T}\right) \delta(z(\mathbf{r}) - z) \rangle}{\int \langle \exp\left(\frac{U'(\mathbf{r}) - U(\mathbf{r})}{k_B T}\right) \delta(z(\mathbf{r}) - z) \rangle dz} \quad (3.3)$$

与式 (1.38) 类似地，由于增强势 $U'(\mathbf{r}) - U(\mathbf{r})$ 遵循高斯分布，可以对上式用累积量展开 (cumulant expansion) 方法展开到二阶 [32, 34, 35]（关于该方法的详细证明与讨论参见本章附录 A），降低再权重化的噪声：

$$\rho(z) \approx \frac{1}{Z} \rho^*(z) \exp\left(\sum_{k=1}^2 \frac{\beta^k}{k!} C_k\right) \quad (3.4)$$

上式中 Z 为配分函数，即式 (3.3) 中的分母， C_k 的定义与式 (1.38) 中的相同。把式 (3.2) 代入式 (3.4)，并根据无偏自由能的定义，有：

$$\begin{aligned} A(z) &= -\frac{1}{\beta} \ln \rho(z) \\ &\approx -\frac{1}{\beta} \ln \left[\frac{1}{Z} \rho^*(z) \exp \left(\sum_{k=1}^2 \frac{\beta^k C_k}{k!} \right) \right] \\ &\approx -\frac{1}{\beta} \ln \tilde{\rho}^*(z) + \int \langle k(s - z(\mathbf{r})) \rangle_z dz - C_1 - \frac{1}{2} \beta C_2 \end{aligned} \quad (3.5)$$

式 (3.5) 即为无缝结合 GaMD 与 WTM-eABF 的基础，右侧所有的变量，即有偏采样 $\tilde{\rho}^*$ 、瞬时力 $k(s - z(\mathbf{r}))$ 、累积量 C_1 和 C_2 ，都是每一步收集与计算的，这与在偏置力方法与独立于 CV 的增强势方法（如 aMD）使用非平衡切换的混合传播函数（hybrid propagator）^[31]不同。GaWTM-eABF 方法的具体参数选择可以参见附录 B。

3.2.3 GaWTM-eABF 算法的软件实现

GaWTM-eABF 的实现是基于 NAMD^[36, 37]中的 GaMD 实现^[38]引入的，NAMD 中的 GaMD 有三种加速策略：(1) 仅加速二面角势能项；(2) 仅加速总势能；(3) 同时加速二面角项和总势能。对于在水溶液中进行的生物物理过程而言，总能量函数包含了溶剂分子之间的相互作用能，如果采用第 (2) 和第 (3) 种加速策略，那么溶剂分子相当于被加热，这会对再权重化过程引入过量的噪声。事实上，选择性地应用增强势，可以提高通过再权重化后处理方式计算的自由能的收敛性和准确度。因此，为了避免再权重化过程中过量的噪声，本章在 GaWTM-eABF 中仅选择使用加速策略 (1)，尽管相应的软件实现可以很容易地应用到其它的加速策略。

为了进一步降低 GaWTM-eABF 再权重化过程的噪声，可以采用一种实时策略，在模拟期间收集 $(U'(\mathbf{r}) - U(\mathbf{r}))\delta(z(\mathbf{r}) - z)$ ，之后计算 C_1 和 C_2 。换而言之，首先使用直方图策略对 z 离散化，每一时间步 $U'(\mathbf{r}) - U(\mathbf{r})$ 的平均值与方差根据 z 收集在网格内。与需要把增强势存储到磁盘的后处理再权重化方式^[33]相比，在 Colvars 模块^[39]中实现的实时策略可以充分利用所有模拟数据，不会耗尽磁盘空间以及输入/输出资源。相应程序的获取途径及使用说明见附录 C。

第三节 结果与讨论

在应用于真正的生物化学体系之前，本节通过一系列在数学构造的势能面上的数值测试，对比了 GaWTM-eABF 以及 WTM-eABF，展示 GaWTM-eABF 跨越正交空间能垒并正确地通过式（3.5）恢复无偏自由能的能力。然后，通过将 GaWTM-eABF 应用于两个生物相关的例子，即丙氨酸十肽(deca-alanine)^[40-42]在真空中折叠以及 Chignolin^[43-45]在水溶液中的折叠并计算自由能图，本节验证了 GaWTM-eABF 计算准确性以及效率的提高。丙氨酸十肽和 Chignolin 体系的结构示意图及选择的 CV 如图 3.1 所示

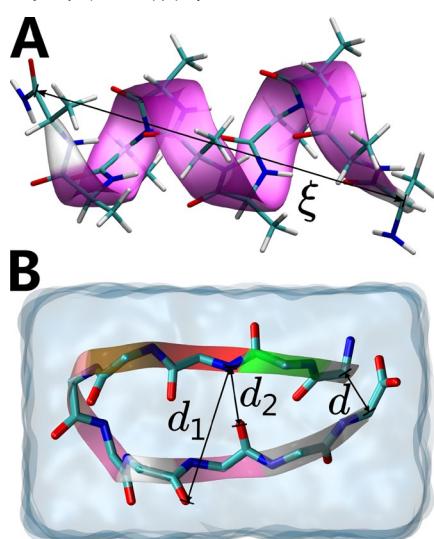


图 3.1 本工作中探究的分子对象以及用于自由能计算的 CV 的示意图。(A) 丙氨酸十肽折叠， ξ 是十肽链的端对端距离。(B) Chignolin 在水溶液中的折叠， d 是肽链的端对端距离， d_1 是 Asp³ 残基上氮原子 (Asp3N) 与 Gly⁷ 上氧原子 (Gly7O) 的距离， d_2 是 Asp3N 与 Thr⁸ 残基上的氧原子 (Thr8O) 的距离 (Reproduced with permission from *J. Chem. Theory Comput.*, submitted for publication. Unpublished work copyright [2021] American Chemical Society.)

3.3.1 数值模拟与分析

本例子中，一个碳原子在数学构造的势能面 $U(x, y)$ 中作朗之万动力学，温度保持在 300 K， $U(x, y)$ 由一系列以 X 轴和 Y 轴距离为因变量（分别为 x 和 y ）的高斯函数组成。其具体数学形式如下：

$$\begin{aligned}
 U(x, y) = & -3.5 \exp\left[-\frac{(x-6)^2}{8} - \frac{(y-6)^2}{8}\right] - 5 \exp\left[-\frac{(x+4)^2}{8} - \frac{(y+6)^2}{8}\right] \\
 & + 12 \exp\left[-\frac{(x+8)^2}{12.5} - \frac{(y+8)^2}{12.5}\right] + 4 \exp\left[-\frac{(x+5)^2}{32} - \frac{(y-5)^2}{32}\right] \\
 & + 4 \exp\left[-\frac{(x+5)^2}{32} - \frac{(y-3)^2}{72}\right] + 10 \exp\left[-\frac{(x-8)^2}{12.5} - \frac{(y+8)^2}{12.5}\right] \\
 & + 7 \exp\left[-\frac{(x-4)^2}{50} - \frac{(y+4)^2}{50}\right] + 4 \exp\left[-\frac{(x-2)^2}{32} - \frac{(y+2)^2}{32}\right] \\
 & + 3 \exp\left[-\frac{x^2}{18} - \frac{y^2}{18}\right]
 \end{aligned} \quad (3.6)$$

为了寻找一组合适的 GaMD 参数，即式 (1.39) 中的 E 和 k ， $U(x, y)$ 被离散化到一个 200×200 的网格中， $U(x, y)$ 的最大值 U_{max} 和标准差 σ_u 通过对网格的统计得到，分别为 15.22 kcal/mol 和 4.29 kcal/mol。碳原子的运动被用弹性势能约束在 $-9.5 < x < 9.5 \text{ \AA}$ 和 $-9.5 < y < 9.5 \text{ \AA}$ 的范围内。另外，由于整个系统只有一个粒子，也就只有一个微观状态，因此两个状态之间的熵变为 0， XY 平面上两点的自由能差等于势能差。

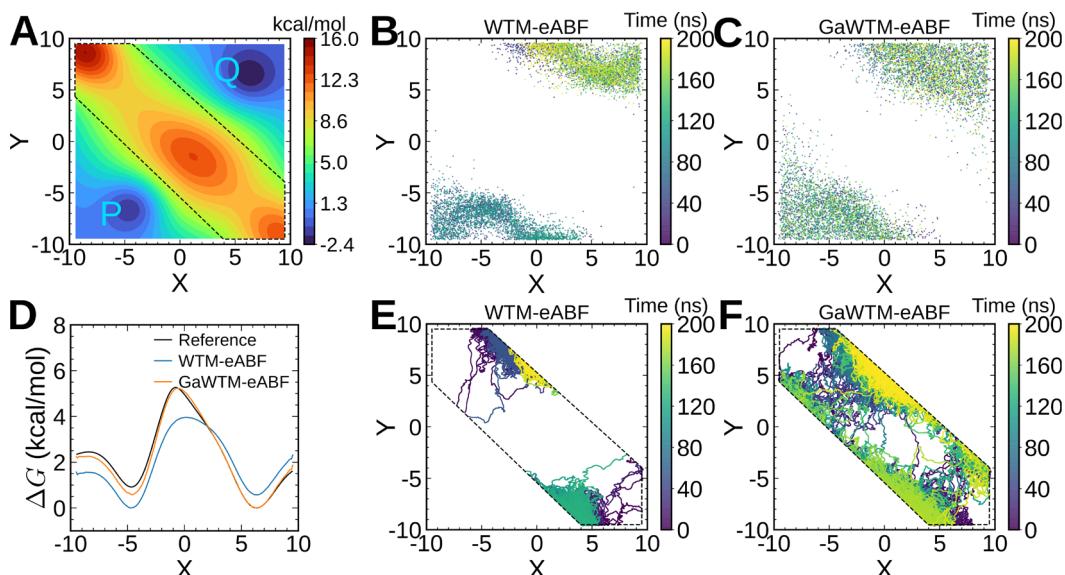


图 3.2 (A) 数学构造的势能面，两个极小值分别被标记为 P 和 Q，势能面的脊用虚线框标注出来。(B) 和 (C) 分别为 WTM-eABF 和 GaWTM-eABF 的 X 和 Y 的时间序列，数据点为间隔 50 ps 绘制。(D) 0.2 μ s 的 GaWTM-eABF (蓝线) 和 WTM-eABF (橙线) 模拟得到沿 X 的自由能变化，黑线是从势能面解析得到的参考自由能面投影到 X 轴的结果。(E) 和 (F) 分别为 WTM-eABF 和 GaWTM-eABF 脊部的时间序列，数据点为每步绘制。(B)、(C)、(E) 和 (F) 中颜色从深到浅表示模拟的进度 (Reproduced with permission from *J. Chem. Theory Comput.*, submitted for publication. Unpublished work copyright [2021] American Chemical Society.)

势能函数如图 3.2 (A) 所示，其有两个极小值，分别标记为 P 和 Q，坐落在势能图的对角线位置，并被一系列高能垒所分割。能垒是特意沿对角方向分布的，可以同时影响原子的 X 和 Y 方向的运动。为了对比正交空间采样的表现，仅选择了 X 方向的距离（原子的 X 坐标与原点的距离）作为 CV，并且同时运行了 200 ns 的 GaWTM-eABF 和 WTM-eABF 模拟。在两个模拟中，沿 X 方向的瞬时力被收集到 0.1 Å 宽的采样网格中，沿 X 方向的高斯峰的初始峰高为 0.1 kcal/mol，标准差为 0.25 Å，每 0.5 ps 添加一次高斯峰。GaMD 的 σ_0 参数设置为 2.0 kcal/mol。能量图沿 X 轴的投影被用作参考自由能变化曲线。

如图 3.2 (D) 所示，GaWTM-eABF 得到的自由能结果与参考值非常相似，而 WTM-eABF 的则与参考值偏离。本节做了进一步的分析来揭示为什么 GaWTM-eABF 比它的先驱 WTM-eABF 要好。如图 3.2 (C) 所示，GaWTM-eABF 模拟的采样沿 Y 轴更加分散。而且，从图 3.2 (E) 和 3.2 (F) 可知，统计在由多个自由能能垒构成的脊部区域（在图 3.2 (A) 中用虚线框出）的采样数发现，在这一区域 GaWTM-eABF 模拟的采样数是 WTM-eABF 的两倍。这些证据表明，GaWTM-eABF 中额外的增强势确实增强了正交空间，即沿 Y 轴的采样，因此提高了跨越能垒的可能性，也解释了为什么 GaWTM-eABF 的采样比 WTM-eABF 更加均匀。与此相对的，如图 3.2 (B) 所示，WTM-eABF 仅使用依赖于 CV 的偏置力，体系容易陷入其中一个极小值 P 或 Q，跨越能垒不够频繁，导致了不分散的轨迹，这一点从图 3.2 (E) 中也可以看出来。因此，在相同的模拟时间下，与 WTM-eABF 相比，GaWTM-eABF 提供了对沿选择的 CV，即 X 的更好的自由能估计量。

3.3.2 Deca-alanine 的可逆折叠

丙氨酸十肽的可逆折叠已经被广泛应用于测试新型增强采样方法，因而本节选它作为测试 GaWTM-eABF 的准确性的例子之一。CHARMM22^[46]蛋白质力场被用来描述丙氨酸十肽的成键与非成键相互作用。体系的温度由朗之万恒温器保持在 300 K。 σ_0 参数设置为 8.0 kcal/mol。1 ns 的传统动力学阶段和 1 ns 的平衡模拟阶段被运行以决定最佳的 GaMD 参数，即 k 和 E 。之后，运行了六次 GaWTM-eABF 模拟来探索丙氨酸十肽沿端对端距离（图 3.1 (A) 中的 ξ ）的自

由能变化。六次 WTM-eABF 模拟和一次 $20\ \mu\text{s}$ 多步行者 (multiple-walker) ABF^[47, 48] 参考模拟也用同样的体系运行，结果作为对比。

已有文献报道了丙氨酸十肽的端对端距离是一个高度退化的反应坐标模型^[41, 49]，特别是在 4 到 $12\ \text{\AA}$ 的范围内，这个范围的肽链结构是高度压缩的，骨架在空间上会有明显的不同，意味着有显著的构象熵。换句话说，更低的 ζ 值意味着正交于 ζ 的自由度上有更多的亚稳态，这对基于 CV 的采样算法来说是一种在正交空间采样的挑战。

从图 3.3 (A) 的结果可以看出，尽管 WTM-eABF 和 GaWTM-eABF 自由能曲线的平均值都和参考值非常相似，但与 GaWTM-eABF 的结果相比，WTM-eABF 的结果有着更大的标准差，特别是在 4 到 $12\ \text{\AA}$ 的范围内。这个现象可以归因于 GaWTM-eABF 在正交空间有更好的采样效率，即使反应坐标模型是高度退化的，因此 GaWTM-eABF 对应的不确定性就小了。而且，从图 3.3 (B) 可以看出，GaWTM-eABF 比 WTM-eABF 收敛更快。总而言之，GaWTM-eABF 中独立于 CV 的增强势加速了正交空间的采样，也就减小了沿高度退化的反应坐标模型的自由能计算的不确定性，并提高了准确性。

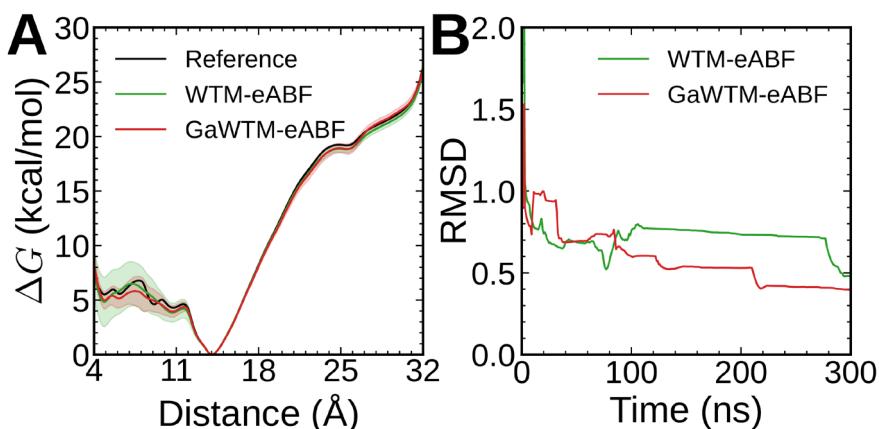


图 3.3 (A) 丙氨酸十肽沿端对端距离的一维自由能曲线。黑线表示 $20\ \mu\text{s}$ 的多步行者 ABF 方法得到的参考结果。绿线与红线分别表示六次 $0.1\ \mu\text{s}$ 的 WTM-eABF 和六次 $0.1\ \mu\text{s}$ 的 GaWTM-eABF 的平均值。阴影部分表示误差（按六次模拟相对参考值的标准差计）。(B) WTM-eABF 方法与 GaWTM-eABF 方法计算的梯度相对参考值的 RMSD (Reproduced with permission from *J. Chem. Theory Comput.*, submitted for publication. Unpublished work copyright [2021] American Chemical Society.)

3.3.3 Chignolin 的可逆折叠

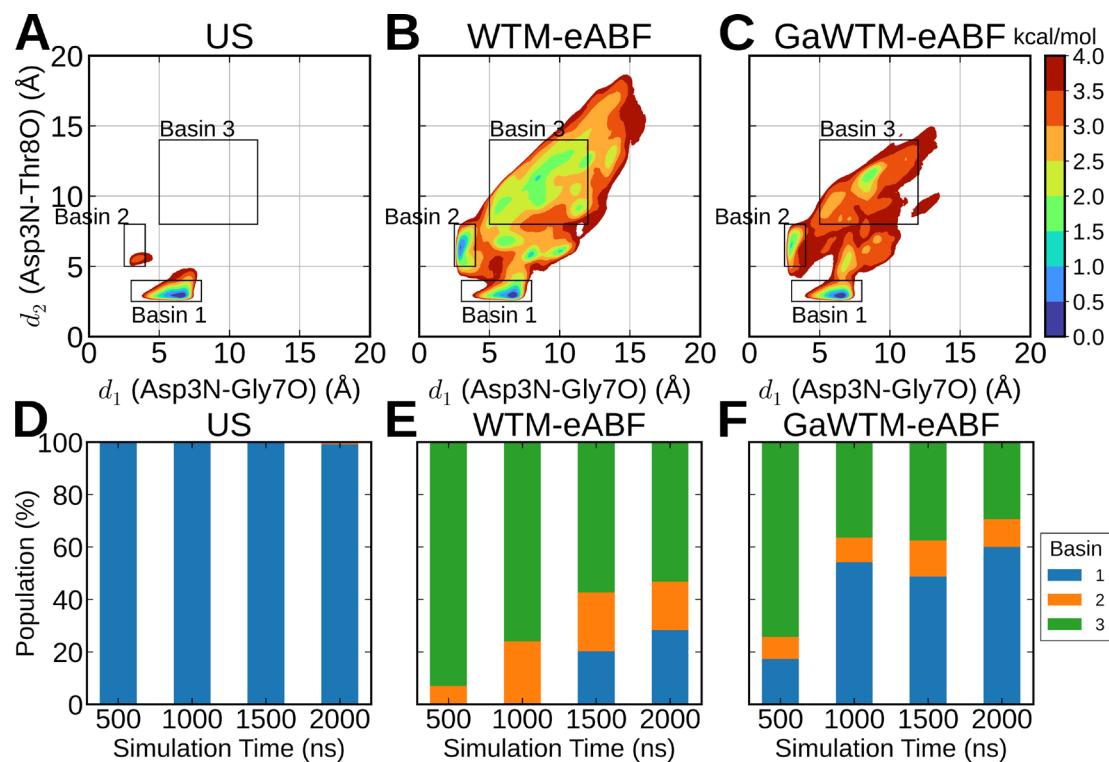


图 3.4 沿 d_1 (Asp3N-Gly7O) 和 d_2 (Asp3N-Thr8O) 的自由能图, (A) 为 $2 \mu\text{s}$ 的 US 模拟, (B) 为 $2 \mu\text{s}$ 的 WTM-eABF 模拟, (C) 为 $2 \mu\text{s}$ 的 GaWTM-eABF 模拟, 选择的 CV 为 chignolin 肽链的两端距离。从 US、WTM-eABF 和 GaWTM-eABF 模拟推导出的盆地 1、2 和 3 的含量随时间的变化, 结果分别在 (D)、(E) 和 (F) 中展示 (Reproduced with permission from *J. Chem. Theory Comput.*, submitted for publication. Unpublished work copyright [2021] American Chemical Society.)

Chignolin 的 β 发夹折叠已经在“暴力”模拟（不使用任何增强采样方法的模拟）中得到了很好的研究^[45, 50], 因此被作为测试各种增强采样方法的测试例子。在本节的测试中, chignolin 和水分子分别用 AMBER ff14SB^[51]力场和 TIP3P 水模型^[52]建模。Chignolin 的初始构型从晶体结果中获得 (PDB: 1UAO)^[43]。体系的温度保持在 300 K。6 ns 的传统动力学阶段和 6 ns 的平衡模拟阶段被运行以决定最佳的 GaMD 参数, 即 k 和 E 。在 12 ns 的 GaMD 参数探索阶段之后, 进行了 $2 \mu\text{s}$ 的 GaWTM-eABF 模拟。模拟过程中选择了 chignolin 的端对端距离 (Gly¹ 的 α 碳原子和 Gly¹⁰ 的 α 碳原子之间的距离) 作为 CV。另外, 采用了 Oshima 等人提出^[30]的再权重化过程恢复沿两个氢键距离的自由能图, 这两个氢键距离分别为 Asp³ 氮原子 (Asp3N) 和 Gly⁷ 的羰基氧原子 (Gly7O) 的距离, 以及 Asp3N 和 Thr⁸ 的羰基氧原子 (Thr8O) 的距离。同时, 为了对比 GaWTM-eABF、

WTM-eABF 和流行的伞状采样 (Umbrella Sampling, US) 的性能, 用相同的体系分别进行了 WTM-eABF 和 US 模拟。在 US 模拟中, 反应坐标被分割为 20 个窗口, 所有的窗口的弹性力常数设置为 $0.5 \text{ kcal/mol}/\text{\AA}^2$ 。

从长时间模拟的研究结果来看, 使用 AMBER ff14SB 力场, chignolin 折叠态的含量要比非折叠态和错误折叠态的含量更高, 这也与实验相吻合。所以, 在本节的测试中, 预期的结果是采样方法可以正确地复现对折叠态偏好。

表示 chignolin 构象变化的自由能图呈现在图 3.4 中。盆地 1、2 和 3 用方框标出, 分别表示折叠态、错误折叠态和非折叠态。如图 3.4 (B) 和 3.4 (C) 所示, WTM-eABF 和 GaWTM-eABF 两者的 $2 \mu\text{s}$ 模拟都在三个盆地区域找到了相同的极小值点, 但是使用 US 的 $2 \mu\text{s}$ 模拟 (图 3.4 (A)) 并没有完全找到三个极小值点。然而, 如图 3.4 (E) 所示, 分析了 WTM-eABF 模拟中三个盆地在 0.5 、 1.0 和 $1.5 \mu\text{s}$ 的相对比例后发现, 在 $1.0 \mu\text{s}$ 后盆地 3 的比例依然是最高的, 这意味着 WTM-eABF 无法在 μs 级的模拟里面恢复折叠态的无偏概率, 因此, 非折叠态的比例依然是最高的。相反地, 如图 3.4 (F) 所示, 在早至 $0.5 \mu\text{s}$ 的时候, GaWTM-eABF 已经开始探索到相当一部分盆地 1 的采样了, 在 $1.0 \mu\text{s}$ 之后, 盆地 1 的比例占据主导地位。更进一步地, 在一些起伏之后, GaWTM-eABF 模拟中三个盆地的相对比例在最后 $1 \mu\text{s}$ 中稳定。这说明随着 GaMD 增强势的引入, GaWTM-eABF 可以比 WTM-eABF 更快地探索 chignolin 的构象变化, 或者说, 加速了构象采样以及模拟的收敛。

第四节 结论

本章开发了一种新的增强采样方法, 名为 GaWTM-eABF, 其无缝地结合了基于 CV 的算法 WTM-eABF, 以及独立于 CV 的算法 GaMD。GaWTM-eABF 继承了 WTM-eABF 在 CV 空间中强大的采样能力, 同时也通过 GaMD 的简谐增强势具有克服正交空间中隐藏能垒的能力。而且, 本章提出了一种实时的无偏自由能估计量 (free-energy estimator), 它先计算梯度的积分, 后用累积量展开作再权重化过程。两种算法无缝地结合, 提出的估计量以用户友好的方式实现在 Colvars 模块里。另外, 和广义系综方法相比, GaWTM-eABF 方法不需要依赖高负荷的对同一个模拟的多副本策略, 性价比更高。通过在数值测试中评估 GaWTM-eABF 和 WTM-eABF, 本章展示了 GaWTM-eABF 可以增强正交空间的

采样，并更好地估计沿选择的 CV 的自由能。进一步地，在两个生物相关的过程中，即丙氨酸十肽和 chignolin 的可逆折叠中，GaWTM-eABF 减小了自由能图计算的不确定性，并改善了计算的收敛。

总而言之，GaWTM-eABF 是一种针对生物分子构象变化的强大且高性价比的增强采样方法。虽然如此，在本工作测试的生物相关的例子中，WTM-eABF 方法仅与 GaMD 的二面角加速变种结合，由于其它两个变种（总能量加速或双加速）不能分离溶质和溶剂的能量项，从而在实际应用中非自然地加热了溶剂，导致再权重化过程出现过多的噪声。这个限制的结果就是，现在版本的 GaWTM-eABF 可能会难以克服正交空间中由非键相互作用导致的自由能能垒。要解决这个限制，就需要实现并测试可以选择性地应用于特定分子的独立于 CV 的算法，比如说溶质退火^[25, 53]、选择性 ITS^[54]以及其它的 aMD 变种^[26, 29, 55]，这些努力依然是正在进行中。幸运的是，本章提出的这种无缝结合策略为结合前述可替代的方法与任何使用梯度的偏置力方法的结合打下了基础。

附录 A 累积量展开

对于一个随机变量 X , 累积量展开有如下结论:

$$\langle \exp(tX) \rangle = \exp \left[\sum_{n=1}^{\infty} \frac{t^n}{n!} C_n(X) \right] \quad (3A.1)$$

其中, 尖角括号 $\langle \cdots \rangle$ 表示数学期望, t 是任意常数, $C_n(X)$ 是变量 X 的 n 阶累积量。累积量展开的具体证明可以参见馬上庚所著的《統計力學》^[56]一书 (对应的定理名称为“連接值展開定理”)。为了论文的完整性, 这里附上简单的数学论证。

累积量生成函数 $K(t)$ 可以定义如下:

$$K(t) = \ln \langle \exp(tX) \rangle \quad (3A.2)$$

并可以进一步用泰勒公式展开到幂级数:

$$K(t) = K(a) + \frac{K'(a)}{1!}(t-a) + \cdots + \frac{K''(a)}{n!}(t-a)^n + \cdots \quad (3A.3)$$

变量 X 的 n 阶累积量定义为:

$$C_n(X) = K^{(n)}(0) \quad (3A.4)$$

进一步, 如果 $K(t)$ 在零附近展开, 即 a 取 0 时, 并注意到 $K(0) = 0$, 可得:

$$\begin{aligned} K(t) &= K(0) + \frac{K'(0)}{1!}t + \frac{K''(0)}{2!}t^2 + \cdots + \frac{K''(0)}{n!}t^n + \cdots \\ &= \sum_{n=1}^{\infty} \frac{t^n}{n!} K^{(n)}(0) = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{t^n}{n!} C_n(X) \end{aligned} \quad (3A.5)$$

最后, 将式 (3A.5) 代入式 (3A.2), 有:

$$\sum_{n=1}^{\infty} \frac{t^n}{n!} C_n(X) = \ln \langle \exp(tX) \rangle \quad (3A.6)$$

对上式两边取自然对数, 即可得到式 (3A.1)。

如果 X 是遵循正态分布的连续随机变量, 即 $X \sim N(\mu, \sigma^2)$, 那么式 (3A.1) 的数学期望可以重新写成:

$$\begin{aligned} \langle \exp(tX) \rangle &= \int_{-\infty}^{+\infty} p(X) \exp(tX) dX \\ &= \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left[-\frac{(X-\mu)^2}{2\sigma^2}\right] \exp(tX) dX \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
&= \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left(\mu t + \frac{1}{2}\sigma^2 t^2\right) \int_{-\infty}^{+\infty} \exp\left(-\frac{1}{2}z^2\right) \sigma dz, z : \\
&= \frac{1}{\sigma}(x - \mu - \sigma^2 t) \\
&= \exp\left(\mu t + \frac{1}{2}\sigma^2 t^2\right)
\end{aligned} \tag{3A.7}$$

显然，由上式可得：

$$K(t) = \mu t + \frac{1}{2}\sigma^2 t^2 \tag{3A.8}$$

因此，连续随机变量 X 的累积量为：

$$\begin{aligned}
C_1(X) &= K'(0) = \mu \\
C_2(X) &= K''(0) = \sigma^2 \\
C_3(X) &= K'''(0) = 0 \\
C_n(X) &= K^{(n)}(0) = 0, n > 3
\end{aligned} \tag{3A.9}$$

总而言之，我们可以得到这样的结论：如果一个随机变量遵循正态分布，那么式 (3A.5) 中级数的高阶项可以略去^[57]，即：

$$\langle \exp(tX) \rangle = \exp\left[\sum_{n=1}^2 \frac{t^n}{n!} C_n(X)\right] \tag{3A.10}$$

另外，随机变量 X 是否符合正态分布可以用如下变量 α 来检验：

$$\alpha = \frac{1}{2} \ln(2\pi e \sigma^2) + \int_0^{+\infty} p(X) \ln(p(X)) dX \tag{3A.11}$$

其中， σ 是 X 的标准差， $p(X)$ 是 X 的概率密度。 α 越接近于零，说明随机变量 X 越符合正态分布。利用式 (3A.11) 可以检验 GaWTM-eABF 的增强势 ΔV 是否符合正态分布，正文中的例子对应的 α 值如图 (3A.1) 所示：

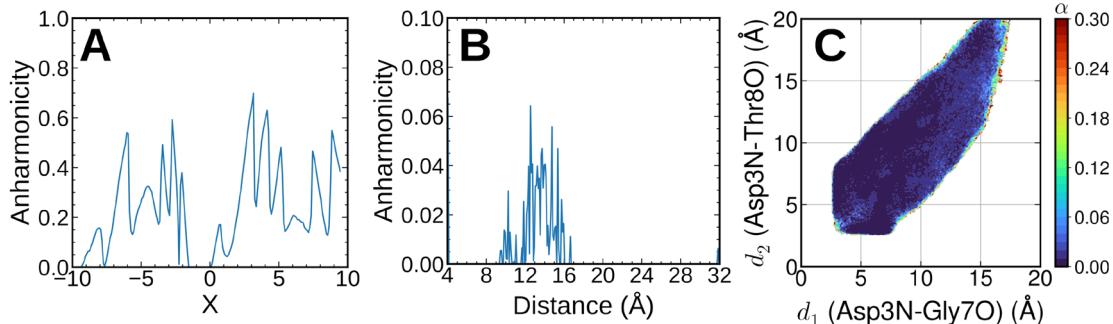


图 3A.1 正文中的 GaWTM-eABF 例子沿 CV 的 α 值：(A) 数值测试；(B) 丙氨酸十肽模拟；(C) chignolin 模拟 (Reproduced with permission from *J. Chem. Theory Comput.*, submitted for publication. Unpublished work copyright [2021] American Chemical Society.)

附录 B GaWTM-eABF 方法的参数选择

作为一种混合方法，GaWTM-eABF 有多个可调节参数，这些参数可以分为三组，分别为：(1) 控制扩展自由度的动力学行为以及自适应算法的 eABF 参数；(2) 控制新添加的高斯峰的形状与增加速率的 metadynamics 参数；(3) 控制 CV 无关的增强势的 GaMD 参数。为了达到最佳的采样性能，并避免自由能面结果失真，这些参数设置的原则可以归纳如下：

B.1 eABF 参数

在 eABF 中，自适应参数的选择以及 \mathbf{z} 的离散程度 $\delta\mathbf{z}$ ，遵循和 ABF 一样的规则，这些规则已经在 Comer 等的工作中作了详细的说明^[58]。作为经验法则，弹性常数 k 通常设置为 $1/(\beta(\delta\mathbf{z})^2)$ ，摩擦系数 γ 设置为一个较小但大于零的值，例如 1.0 ps^{-1} 。扩展自由度的质量与谐振子的振动周期成正比，不过如之前的研究显示^[6,7]，谐振子的振动周期对自由能计算的收敛性几乎没有任何影响。

B.2 Metadynamics 参数

如同 Fu 等之前的讨论^[12,13]，WTM-eABF 中的高斯偏置势主要用于增强扩展自由度的扩散性，特别是采样早期的扩散性。因此，高斯峰的初始高度一般不超过 0.1 kcal/mol ，并且高斯函数的标准差取值范围为 $3\delta\mathbf{z}$ 到 $5\delta\mathbf{z}$ 。 4000 K 的偏置温度可以在采样效率和准确性上达到良好的平衡。关于 WTM-eABF 参数的详细讨论可以参考以前的工作^[13]。

B.3 GaMD 参数

一套合适的 GaMD 参数，如 σ_0 和确定 V_{max} 以及 σ_V 准备阶段的模拟时间，对降低“非和谐性”（即式 (3A.11) 中的 α ）至关重要，并能够提高通过累积量展开进行再权重化的准确性。一般而言， σ_0 大约为 $10k_{\text{B}}T$ ，并且估计 V_{max} 以及 σ_V 的测试模拟时间与模拟体系的自由度数量成正比。总而言之，GaWTM-eABF 在调节增强势的参数上采用和 GaMD 相同的原则，这些原则已经在 Miao 等的工作中作了详细的讨论^[32]。

附录 C 本章涉及的程序代码获取途径及使用方法

本章通过修改 NAMD 中的 Colvars 模块实现了当 CV 可以在模拟之前确定时，GaMD 的实时再权重化。程序的源代码可以在 https://github.com/HanatoK/dissertation_code/raw/main/GaWTM-eABF/SI.zip 中获得，需要和 NAMD 2.14 一起使用。在 GaWTM-eABF 中 CV 总是预先定义的，所以该实现可以被利用来直接计算指数平均和累积量展开，避免将 GaMD 增强势存在大日志文件中并再次读取，从而提升再权重化过程的准确性和效率。本附录提供该源代码的简单编译说明：

1. 从 NAMD 的官方网站 (<https://www.ks.uiuc.edu/Development/Download/download.cgi?PackageName=NAMD>) 上下载 2.14 版本的源代码并运行 `tar xvf NAMD_2.14_Source.tar.gz` 解压 tarball，加压后源代码的目录应该在 `NAMD_2.14_Source/`；
2. 解压缩修改过的 Colvars 源代码 (`colvars_amdrewighting.zip`)。源代码应该位于 `colvars/`；
3. 假设 Colvars 和 NAMD 位于同一个父目录下，运行 `cd NAMD_2.14_Source/` 进入 NAMD 的源代码目录，然后运行下列命令来更新原来 NAMD 捆绑的 Colvars: `../colvars/update-colvars-code.sh ./`；
4. 按照 `NAMD_2.14_Source/notes.txt` 中的说明编译 NAMD，注意需要在运行最后一步 `make` 之前运行 `make depends`。

参考文献

- [1] Chipot C. Frontiers in free-energy calculations of biological systems [J]. Wiley Interdisciplinary Reviews-Computational Molecular Science, 2014, 4(1): 71-89.
- [2] Henzler-Wildman K, Kern D. Dynamic personalities of proteins [J]. Nature, 2007, 450(7172): 964-972.
- [3] Torrie G M, Valleau J P. Nonphysical sampling distributions in Monte Carlo free-energy estimation: Umbrella sampling [J]. Journal of Computational Physics, 1977, 23(2): 187-199.
- [4] Darve E, Pohorille A. Calculating free energies using average force [J]. The Journal of Chemical Physics, 2001, 115(20): 9169-9183.
- [5] Laio A, Parrinello M. Escaping free-energy minima [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2002, 99(20): 12562-12566.
- [6] Fu H, Shao X, Chipot C, et al. Extended adaptive biasing force algorithm. An on-the-fly implementation for accurate free-energy calculations [J]. Journal of Chemical Theory and Computation, 2016, 12(8): 3506-3513.
- [7] Zhao T, Fu H, Lelièvre T, et al. The extended generalized adaptive biasing force algorithm for multidimensional free-energy calculations [J]. Journal of Chemical Theory and Computation, 2017, 13(4): 1566-1576.
- [8] Lesage A, Lelièvre T, Stoltz G, et al. Smoothed biasing forces yield unbiased free energies with the extended-system adaptive biasing force method [J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2017, 121(15): 3676-3685.
- [9] Abrams C, Bussi G. Enhanced sampling in molecular dynamics using metadynamics, replica-exchange, and temperature-acceleration [J]. Entropy, 2014, 16(1): 163-199.
- [10] Spiwok V, Sucur Z, Hosek P. Enhanced sampling techniques in biomolecular simulations [J]. Biotechnology Advances, 2015, 33(6 Pt 2): 1130-1140.
- [11] Valsson O, Tiwary P, Parrinello M. Enhancing important fluctuations: Rare events and metadynamics from a conceptual viewpoint [J]. Annual Review of Physical Chemistry, 2016, 67(1): 159-184.
- [12] Fu H, Shao X, Cai W, et al. Taming rugged free energy landscapes using an average force [J]. Accounts of Chemical Research, 2019, 52(11): 3254-3264.
- [13] Fu H, Chen H, Wang X, et al. Finding an optimal pathway on a multidimensional free-energy landscape [J]. Journal of Chemical Information and Modeling, 2020, 60(11): 5366-5374.
- [14] Sidky H, Chen W, Ferguson A L. Machine learning for collective variable discovery and enhanced sampling in biomolecular simulation [J]. Molecular Physics, 2020, 118(5): e1737742.

- [15] Noé F, Tkatchenko A, Muller K R, et al. Machine learning for molecular simulation [J]. *Annual Review of Physical Chemistry*, 2020, 71: 361-390.
- [16] Zhang J, Lei Y K, Zhang Z, et al. A perspective on deep learning for molecular modeling and simulations [J]. *The Journal of Physical Chemistry A*, 2020, 124(34): 6745-6763.
- [17] Miao Y, McCammon J A. Unconstrained enhanced sampling for free energy calculations of biomolecules: A review [J]. *Molecular Simulation*, 2016, 42(13): 1046-1055.
- [18] Zheng L, Chen M, Yang W. Simultaneous escaping of explicit and hidden free energy barriers: Application of the orthogonal space random walk strategy in generalized ensemble based conformational sampling [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2009, 130(23): 234105.
- [19] Zheng L, Chen M, Yang W. Random walk in orthogonal space to achieve efficient free-energy simulation of complex systems [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(51): 20227-20232.
- [20] Elber R, Bello-Rivas J M, Ma P, et al. Calculating iso-committor surfaces as optimal reaction coordinates with milestoning [J]. *Entropy*, 2017, 19(5): 219-236.
- [21] Sugita Y, Okamoto Y. Replica-exchange molecular dynamics method for protein folding [J]. *Chemical Physics Letters*, 1999, 314(1-2): 141-151.
- [22] Hamelberg D, Mongan J, McCammon J A. Accelerated molecular dynamics: A promising and efficient simulation method for biomolecules [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2004, 120(24): 11919-11929.
- [23] Gao Y Q. An integrate-over-temperature approach for enhanced sampling [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2008, 128(6): 064105.
- [24] Liu P, Kim B, Friesner R A, et al. Replica exchange with solute tempering: A method for sampling biological systems in explicit water [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(39): 13749-13754.
- [25] Wang L, Friesner R A, Berne B J. Replica exchange with solute scaling: A more efficient version of replica exchange with solute tempering (REST2) [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2011, 115(30): 9431-9438.
- [26] Sinko W, De Oliveira C A, Pierce L C, et al. Protecting high energy barriers: A new equation to regulate boost energy in accelerated molecular dynamics simulations [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2012, 8(1): 17-23.
- [27] Zhao P, Yang L J, Gao Y Q, et al. Facile implementation of integrated tempering sampling method to enhance the sampling over a broad range of temperatures [J]. *Chemical Physics*, 2013, 415: 98-105.
- [28] Bussi G, Gervasio F L, Laio A, et al. Free-energy landscape for beta hairpin folding from combined parallel tempering and metadynamics [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2006, 128(41): 13435-13441.

- [29] Peng X, Zhang Y, Li Y, et al. Integrating multiple accelerated molecular dynamics to improve accuracy of free energy calculations [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2018, 14(3): 1216-1227.
- [30] Oshima H, Re S, Sugita Y. Replica-exchange umbrella sampling combined with Gaussian accelerated molecular dynamics for free-energy calculation of biomolecules [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2019, 15(10): 5199-5208.
- [31] Suh D, Radak B K, Chipot C, et al. Enhanced configurational sampling with hybrid non-equilibrium molecular dynamics-Monte Carlo propagator [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2018, 148(1): 014101.
- [32] Miao Y, Feher V A, McCammon J A. Gaussian accelerated molecular dynamics: Unconstrained enhanced sampling and free energy calculation [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2015, 11(8): 3584-3595.
- [33] Miao Y, Sinko W, Pierce L, et al. Improved reweighting of accelerated molecular dynamics simulations for free energy calculation [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2014, 10(7): 2677-2689.
- [34] Eastwood M P, Hardin C, Luthey-Schulten Z, et al. Statistical mechanical refinement of protein structure prediction schemes: Cumulant expansion approach [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2002, 117(9): 4602-4615.
- [35] Shen T, Hamelberg D. A statistical analysis of the precision of reweighting-based simulations [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2008, 129(3): 034103.
- [36] Phillips J C, Braun R, Wang W, et al. Scalable molecular dynamics with NAMD [J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2005, 26(16): 1781-1802.
- [37] Phillips J C, Hardy D J, Maia J D C, et al. Scalable molecular dynamics on CPU and GPU architectures with NAMD [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2020, 153(4): 044130.
- [38] Pang Y T, Miao Y, Wang Y, et al. Gaussian accelerated molecular dynamics in NAMD [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2017, 13(1): 9-19.
- [39] Fiorin G, Klein M L, Hénin J. Using collective variables to drive molecular dynamics simulations [J]. *Molecular Physics*, 2013, 111(22-23): 3345-3362.
- [40] Park S, Khalili-Araghi F, Tajkhorshid E, et al. Free energy calculation from steered molecular dynamics simulations using Jarzynski's equality [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2003, 119(6): 3559-3566.
- [41] Chipot C, Hénin J. Exploring the free-energy landscape of a short peptide using an average force [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2005, 123(24): 244906.
- [42] Galvelis R, Sugita Y. Neural network and nearest neighbor algorithms for enhancing sampling of molecular dynamics [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2017, 13(6): 2489-2500.
- [43] Honda S, Yamasaki K, Sawada Y, et al. 10 residue folded peptide designed by segment statistics [J]. *Structure*, 2004, 12(8): 1507-1518.

- [44] Suenaga A, Narumi T, Futatsugi N, et al. Folding dynamics of 10-residue beta-hairpin peptide chignolin [J]. *Chemistry: an Asian Journal*, 2007, 2(5): 591-598.
- [45] Satoh D, Shimizu K, Nakamura S, et al. Folding free-energy landscape of a 10-residue mini-protein, chignolin [J]. *FEBS Letters*, 2006, 580(14): 3422-3426.
- [46] MacKerell Jr A D, Bashford D, Bellott M, et al. All-atom empirical potential for molecular modeling and dynamics studies of proteins [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 1998, 102(18): 3586-3616.
- [47] Comer J, Phillips J C, Schulten K, et al. Multiple-replica strategies for free-energy calculations in NAMD: Multiple-walker adaptive biasing force and walker selection rules [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2014, 10(12): 5276-5285.
- [48] Minoukadeh K, Chipot C, Lelièvre T. Potential of mean force calculations: A multiple-walker adaptive biasing force approach [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2010, 6(4): 1008-1017.
- [49] Comer J, Roux B, Chipot C. Achieving ergodic sampling using replica-exchange free-energy calculations [J]. *Molecular Simulation*, 2013, 40(1-3): 218-228.
- [50] Kamenik A S, Handle P H, Hofer F, et al. Polarizable and non-polarizable force fields: Protein folding, unfolding, and misfolding [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2020, 153(18): 185102.
- [51] Maier J A, Martinez C, Kasavajhala K, et al. ff14SB: Improving the accuracy of protein side chain and backbone parameters from ff99SB [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2015, 11(8): 3696-3713.
- [52] Jorgensen W L, Chandrasekhar J, Madura J D, et al. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1983, 79(2): 926-935.
- [53] Jo S, Jiang W. A generic implementation of replica exchange with solute tempering (REST2) algorithm in NAMD for complex biophysical simulations [J]. *Computer Physics Communications*, 2015, 197: 304-311.
- [54] Yang L J, Gao Y Q. A selective integrated tempering method [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2009, 131(21): 214109.
- [55] Wereszczynski J, McCammon J A. Using selectively applied accelerated molecular dynamics to enhance free energy calculations [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2010, 6(11): 3285-3292.
- [56] 馬上庚. 統計力學 [M]. 台北: 環華出版事業股份有限公司, 1982: 210.
- [57] Marcinkiewicz J. Sur une propriété de la loi de Gauß [J]. *Mathematische Zeitschrift*, 1939, 44: 612-618.

第四章 eABF 类方法在多个分子模拟平台上的实现

第一节 引言

基于集合变量 (collective variable, CV) 的重要性采样方法^[1], 包括伞状采样(umbrella sampling, US)^[2, 3]、metadynamics (MtD)^[4, 5]、自适应偏置力 (adaptive biasing force, ABF)^[6, 7]和温度加速分子动力学 (temperature-accelerated molecular dynamics, TAMD)^[8], 已经被广泛地应用于解决一系列化学与生物学相关的问题。这些方法使用偏置势、偏置力或高温来加速 CV 空间内的采样。US、MtD 和 TAMD 已经透过诸如 Colvars^[9]和 PLUMED^[10]这些 CV 计算和加偏模块在许多分子动力学 (molecular dynamics, MD) 引擎上得以实现。然而, 作为一种高效的重要性采样方法, 原始的 ABF 方法仅局限于 Colvars, 而 Colvars 仅对流行的平台如 NAMD^[11, 12]和 LAMMPS^[13]提供完整的支持, 对 GROMACS^[14]的支持则尚处于开发阶段。可能阻碍 ABF 在其它 MD 引擎上实现的原因是它需要 CV 的二阶导数以及正交性, 解析形式不方便编程。对此, 有两种解决方案: 使用对时间的导数的 ABF 算法^[15]和扩展 ABF (extended ABF, eABF)^[16, 17]算法。前者通过类似于使用运动学的方式来测量 CV 的加速度, 从而得到 CV 的瞬时力, 避免了对 CV 对原子坐标的二阶导数。后者则使用了对 CV 附加的自由度, 利用附加自由度来估算瞬时力, 不需要二阶导数, 也不需要 CV 所包含的原子的受力, 从而方便了它的实现。然而当前 eABF 仅在 Colvars 中可用, 为了把 eABF 拓展到其它的 MD 平台, 本章展现了一个新的基于 PLUMED 的模块, 名为扩展拉格朗日自由能计算 (extended-Lagrangian free energy calculation, ELF)。ELF 模块使 eABF 和它的通用性变种 (extended generalized ABF, egABF) 在更多的 MD 引擎, 如 GROMACS^[14]、AMBER^[18]、CP2K^[19]和 OpenMM^[20]上可用。除了实现了 eABF 中的无偏自由能估计量, 即伞状积分 (umbrella integration, UI)^[17, 21, 22]和校正 z 平均约束 (corrected z-averaged average, CZAR)^[23]以外, ELF 模块还可以用作 TAMD^[8, 24]、扩展通用 ABF (extended generalized ABF, egABF)^[25]、扩展拉格朗日 MtD^[26]以及它们的结合——统一自由能动力学 (unified free energy dynamics, UFED)^[27]的平均力估计量。

第二节 理论背景

扩展拉格朗日动力学 (extended-Lagrangian dynamics) 最初在 Car-Parrinello MtD (也被称为 extended-Lagrangian MtD) [26] 中引入，其中每一个 CV 都与一个附加的自由度，即虚拟粒子，通过硬弹簧相连接。如果弹簧常数足够大，CV 的运动和连接的虚拟粒子的就几乎同步。eABF、egABF 和 TAMD 都是基于扩展拉格朗日动力学的采样策略。自由能估计量 (free-energy estimator) 和简单的一维反应坐标情形，即只有一个 CV 的情况，已经在第一章作了综述，这里只讨论多维情形下 eABF^[16, 17]、egABF^[25] 和 TAMD 偏置力^[8, 24]的计算。

假设存在一个势能为 $U(\mathbf{r})$ 的正则系综体系，并选择了 m 个 CV 变量，每一个 CV 变量 z_i 均与一个附加自由度 s_i 通过弹簧常数为 k_i 的弹簧相连， $z_i(\mathbf{r})$ 表示对应的原子坐标到第 i 个 CV 的坐标变换。此时，体系总的势能为：

$$U(\mathbf{r}, \mathbf{s}) = U(\mathbf{r}) + \frac{1}{2} \sum_{i=1}^m k_i (z_i(\mathbf{r}) - s_i)^2 \quad (4.1)$$

这里， \mathbf{s} 为向量 $[s_1, \dots, s_m]$ 。每个虚拟粒子都按照下列朗之万动力学 (Langevin dynamics) 进行运动积分：

$$m_{s,i} \ddot{s}_i = k_i (z_i(\mathbf{r}) - s_i) - \gamma_i m_{s,i} \dot{s}_i + \sqrt{2m_{s,i}\gamma_i k_B T} \dot{W}(t) \quad (4.2)$$

$m_{s,i}$ 为第 i 个虚拟粒子的质量， γ_i 为第 i 个虚拟粒子对应的摩擦系数。

在 eABF 中，每个虚拟粒子都加上一个偏置力 $F_i(\mathbf{s})$ ，偏置力由负平均弹力计算得到，即：

$$\begin{aligned} m_{s,i} \ddot{s}_i &= k_i (z_i(\mathbf{r}) - s_i) - \gamma_i m_{s,i} \dot{s}_i + \sqrt{2m_{s,i}\gamma_i k_B T} \dot{W}(t) + F_i(\mathbf{s}) \\ F_i(\mathbf{s}) &= -k_i \langle z_i(\mathbf{r}) - s_i \rangle_s \end{aligned} \quad (4.3)$$

eABF 中的平均力是用多维直方图方法计算得到的。egABF 则略有不同，它的偏置力是多个一维的，每一维的偏置力 $F_i(s_i)$ 仅与这一维的坐标有关，其表示与动力学方程如下：

$$m_{s,i} \ddot{s}_i = k_i (z_i(\mathbf{r}) - s_i) - \gamma_i m_{s,i} \dot{s}_i + \sqrt{2m_{s,i}\gamma_i k_B T} \dot{W}(t) + F_i(s_i) \quad (4.4)$$

$$F_i(s_i) = -k_i \langle z_i(\mathbf{r}) - s_i \rangle_{s_i}$$

TAMD 方法则不施加额外的偏置力，而是修改虚拟粒子朗之万动力学中的温度项，通常而言修改后的温度比原先体系的温度更高，从而达到增强采样的目的，其动力学方程如下：

$$m_{s,i} \ddot{s}_i = k_i (z_i(\mathbf{r}) - s_i) - \gamma_i m_{s,i} \dot{s}_i + \sqrt{2m_{s,i}\gamma_i k_B T_{s,i}} \dot{W}(t) \quad (4.5)$$

其中 $T_{s,i}$ 是第 i 个虚拟粒子运动时需要保持的温度，往往被设置为远高于真实体系的温度以增强采样。

按照式 (4.3)、(4.4) 或 (4.5) 采样之后，可以用 CZAR^[23]，即式 (1.29)，或 UI^[17, 21, 22]计算自由能对 CV 的梯度场，最后进行数值积分即可得到沿反应坐标模型的自由能。

第三节 功能与性能

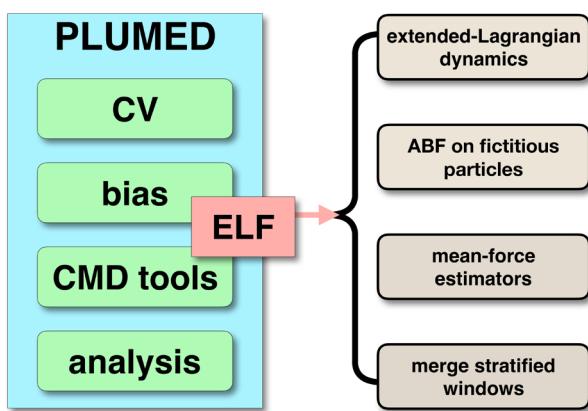


图 4.1 PLUMED 功能与 ELF 模块的示意图。ELF 新实现的功能展示在右侧。PLUMED 原先的功能展示在左侧绿色方框内 (Reproduced in part with permission from *J. Chem. Inf. Model.* 2018, 58, 1315-1318 Copyright [2018] American Chemical Society.)

ELF 模块使用 C++语言，作为附加模块在 PLUMED^[10]自由能计算插件中实现，模块功能如图 4.1 所示。ELF 包含两个部分，一个用来在模拟中实时施加偏置力子模块和一个对输出文件进行后处理的命令行工具。其中的施加偏置力的模块计算虚拟粒子每一步的弹力，并计算负平均力作为偏置力，工作流程如图 4.2 所示。输出文件通过 Boost 序列化库以用户指定的频率存储到二进制格式。命令行工具有两个功能，把二进制输出文件转化到文本格式以及在使用分窗口策略之后合并窗口。

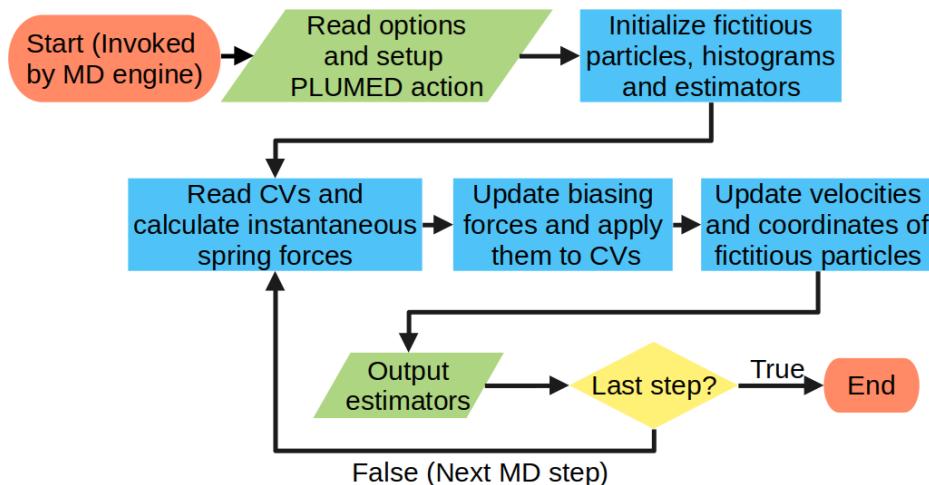


图 4.2 ELF 中偏置力子模块运行流程图（Reproduced in part with permission from *J. Chem. Inf. Model.* **2018**, 58, 1315-1318 Copyright [2018] American Chemical Society.)

本节使用两个骨架二面角作为 CV 模拟 300 ns N-乙酰基-N'-甲基-L-丙氨酰胺 (N-acetyl-N'-methylalanyl amide, NANMA) 异构化作为性能测试，参考的基准为没有使用 eABF，仅计算二面角时的真实世界耗时 (69,828 s)。性能测试的结果如表 4.1 所示，ELF 展现了与 Colvars^[9]中 eABF 实现几乎相同的性能，并且与没有自由能计算的平衡模拟相比，额外的性能开销是非常少的。另外，对于 NAMD^[11, 12]，由于 Colvars 较好地支持其消息传递接口 (message passing interface, MPI)，本节也测试了 MPI 版本 NAMD 中两个 eABF 实现的效率，参考基准的真实世界耗时为 36,810 s，结果如表 4.2 所示。ELF 与 Colvars 相比依然有较大的差距，这是与 PLUMED 相比，Colvars 能更好地利用 NAMD 的并行模式所致。而对于其它 Colvars 不能支持的但 PLUMED 支持的 MD 引擎来说，ELF 依然是运行 eABF 类方法的唯一可用的选择。

表 4.1 运行 300 ns eABF 模拟 NANMA 异构化需要的计算机时间。使用单节点 NAMD 版本对比在 PLUMED 中的 ELF 与 Colvars 的性能

eABF 实现与不同的估计量	真实世界耗时 (s)	CPU 耗时 (s)	额外开销
PLUMED+ELF, UI	74,558	71,025	6.8%
PLUMED+ELF, CZAR	72,612	69,819	4.0%
Colvars, UI	73,921	70,653	5.9%
Colvars, CZAR	72,248	69,506	3.5%

表 4.1 运行 300 ns eABF 模拟 NANMA 异构化需要的计算机时间。使用单节点 NAMD 版本对比在 PLUMED 中的 ELF 与 Colvars 的性能

eABF 实现与不同的估计量	真实世界耗时 (s)	CPU 耗时 (s)	额外开销
PLUMED+ELF	44,286	39,146	20.3%
Colvars, SMP 并行	39,146	39,146	6.3%

第四节 结果与讨论

4.4.1 eABF 方法

两个例子被用来测试 ELF 模块中 eABF 的可用性：(1) 丙氨酸十肽的可逆折叠^[28]；(2) 氯离子通过跨膜肽纳米管^[29]。例子(1)中 CV 的选择为肽链首位两端碳原子的距离，模拟时间为 40 ns。例子(2)中则使用了两维 CV，分别是离子到肽纳米管距离的纵向与横向的投影，模拟时间为 130 ns。使用的 MD 引擎为 GROMACS。计算结果如图 4.3 和 4.4 所示，与相关文献的计算结果^[28-30]对比，表明 ELF 确实可以准确地复现自由能图。

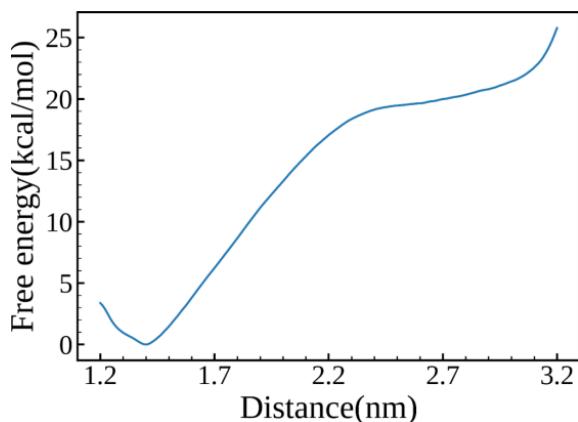


图 4.3 ELF 计算的丙氨酸十肽可逆折叠的自由能图(Reproduced in part with permission from *J. Chem. Inf. Model.* **2018**, 58, 1315-1318 Copyright [2018] American Chemical Society.)

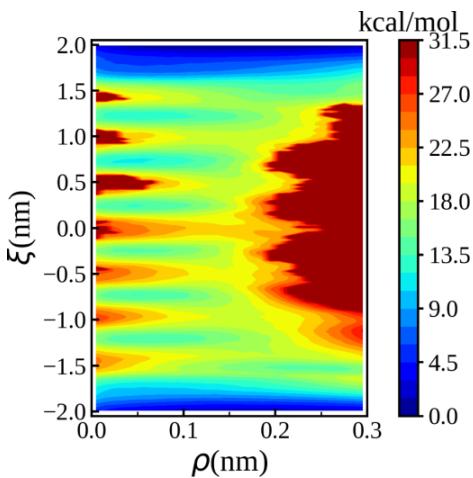


图 4.4 ELF 计算的氯离子通过跨膜肽纳米管的自由能面。两个 CV 分别为氯离子到纳米管质心在纵向 (ξ) 和横向 (ρ) 上的投影 (Reproduced in part with permission from *J. Chem. Inf. Model.* **2018**, 58, 1315-1318 Copyright [2018] American Chemical Society.)

4.4.2 egABF 方法

NANMA 的异构化被用来测试 ELF 模块中 egABF^[25]方法的可用性。使用的力场为有 CMAP^[31, 32]校正项的 CHARMM22^[33]力场, 水模型为 TIP3P^[34]。NANMA 的两个骨架二面角 ϕ 和 ψ 被用作 CV, 计算时间为 300 ns。在 egABF 中, 两个 eABF 偏置力分别被单独地应用于两个二面角, 最后由一个二维的估计量输出计算结果。计算结果如图 4.5 所示, 与相关文献的结果^[35]相吻合, 表明 ELF 也准确地实现了 egABF 方法。

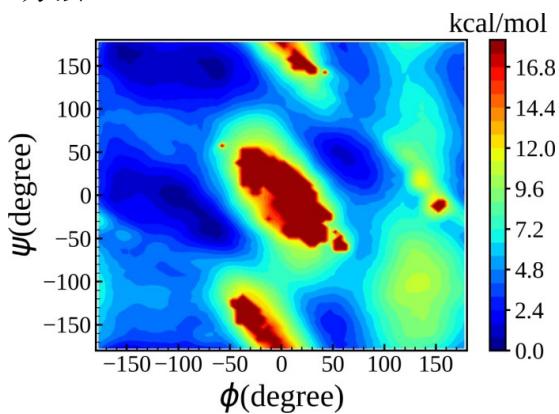


图 4.5 300 ns 的 egABF 模拟得到的 NANMA 异构化自由能图。 ϕ 和 ψ 表示 NANMA 骨架扭转的二面角 (Reproduced in part with permission from *J. Chem. Inf. Model.* **2018**, 58, 1315-1318 Copyright [2018] American Chemical Society.)

4.4.3 TAMD 方法

ELF 也可以计算 TAMD^[8]、UFED^[27]和扩展 MtD 方法^[26]的自由能梯度估计量。在使用这些方法时, 用户需要修改虚拟粒子的温度或偏置势。同样的 NANMA 例子被用来测试 TAMD 方法的可用性, 本例中虚拟粒子的温度和摩擦系数分别被设置为 1000 K 和 50.0, 结果如图 4.6 所示, 也与相关文献的结果相吻合, 表明 ELF 准确地实现了 TAMD 方法。

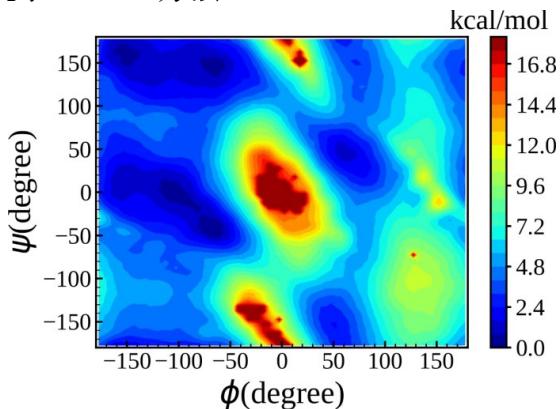


图 4.6 300 ns 的 TAMD 模拟得到的 NANMA 异构化自由能图。力场选择和 CV 设置与 egABF 模拟相同 (Reproduced in part with permission from *J. Chem. Inf. Model.* **2018**, 58, 1315-1318 Copyright [2018] American Chemical Society.)

第五节 结论

本章呈现了一个扩展拉格朗日自由能计算模块 ELF 的算法、功能和使用。ELF 不仅可以运行 eABF 和 egABF 模拟, 也能在其它方法中, 比如 TAMD、UFED 和 MtD, 计算自由能梯度。通过使 eABF 和 egABF 方法在一系列 MD 引擎中可用, ELF 搭起了扩展拉格朗日自由能计算与这些 MD 引擎中特有的功能的桥梁, 比如与 OpenMM 中的 AMOEBA 力场联用^[36]。与现有在 Colvars 中的 eABF 实现相比, ELF 仍然缺少对一些新发展的 ABF 变种的支持, 比如多步行者策略^[37, 38]和投影 ABF^[39]。由于 PLUMED 也支持与 MPI 或其它外部库的链接, 实现这些方法并没有技术上的障碍。后续的开发将会支持这些 ABF 变种和其它的技术, 比如可以提高采样效率和达到更好收敛性的无格点算法^[40]和稀疏格点策略。

附录 A 本章涉及的程序代码获取途径及使用方法

本章涉及的全部源代码已经被合并在 PLUMED 官方版本中，具体的地址为 <https://github.com/plumed/plumed2/tree/master/src/drr>。可以访问 <https://github.com/plumed/plumed2> 获取 PLUMED 的源代码，并按照下述方式编译开启 ELF 模块（又称为 DRR 模块）：

1. 根据所使用的 Linux 发行版说明安装 boost 库的开发头文件和库文件，其它的操作系统也可以使用相应的包管理器安装或者直接获取 boost 的源代码 (<https://www.boost.org/>) 编译；
2. 使用如下命令配置 PLUMED: `./configure --enable-boost_serialization --enable-modules=drr`，如果 boost 库除了 /usr 和 /usr/local 外的其它位置，则需要在 `./configure` 之前设置对应的 CXXFLAGS 和 LIBS 变量。
3. 运行 `make` 命令编译，然后运行 `make install` 安装，安装之后使用 `ldconfig` 刷新系统库缓存。最后可以运行 `plumed help` 检查，如果看到 `plumed drr_tool` 则说明编译成功。

参考文献

- [1] Abrams C, Bussi G. Enhanced sampling in molecular dynamics using metadynamics, replica-exchange, and temperature-acceleration [J]. Entropy, 2014, 16(1): 163-199.
- [2] Torrie G M, Valleau J P. Nonphysical sampling distributions in Monte Carlo free-energy estimation: Umbrella sampling [J]. Journal of Computational Physics, 1977, 23(2): 187-199.
- [3] Kästner J. Umbrella sampling [J]. Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Molecular Science, 2011, 1(6): 932-942.
- [4] Laio A, Parrinello M. Escaping free-energy minima [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2002, 99(20): 12562-12566.
- [5] Laio A, Gervasio F L. Metadynamics: A method to simulate rare events and reconstruct the free energy in biophysics, chemistry and material science [J]. Reports on Progress in Physics, 2008, 71(12): 126601.
- [6] Darve E, Pohorille A. Calculating free energies using average force [J]. The Journal of Chemical Physics, 2001, 115(20): 9169-9183.
- [7] Comer J, Gumbart J C, Hénin J, et al. The adaptive biasing force method: Everything you always wanted to know but were afraid to ask [J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2015, 119(3): 1129-1151.
- [8] Maragliano L, Vanden-Eijnden E. A temperature accelerated method for sampling free energy and determining reaction pathways in rare events simulations [J]. Chemical Physics Letters, 2006, 426(1-3): 168-175.
- [9] Fiorin G, Klein M L, Hénin J. Using collective variables to drive molecular dynamics simulations [J]. Molecular Physics, 2013, 111(22-23): 3345-3362.
- [10] Tribello G A, Bonomi M, Branduardi D, et al. PLUMED 2: New feathers for an old bird [J]. Computer Physics Communications, 2014, 185(2): 604-613.
- [11] Phillips J C, Hardy D J, Maia J D C, et al. Scalable molecular dynamics on CPU and GPU architectures with NAMD [J]. The Journal of Chemical Physics, 2020, 153(4): 044130.
- [12] Phillips J C, Braun R, Wang W, et al. Scalable molecular dynamics with NAMD [J]. Journal of Computational Chemistry, 2005, 26(16): 1781-1802.
- [13] Plimpton S. Fast parallel algorithms for short-range molecular dynamics [J]. Journal of Computational Physics, 1995, 117(1): 1-19.
- [14] Abraham M J, Murtola T, Schulz R, et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers [J]. SoftwareX, 2015, 1-2: 19-25.

- [15] Darve E, Rodríguez-Gómez D, Pohorille A. Adaptive biasing force method for scalar and vector free energy calculations [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2008, 128(14): 144120.
- [16] Lelièvre T, Rousset M, Stoltz G. Computation of free energy profiles with parallel adaptive dynamics [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2007, 126(13): 134111.
- [17] Zheng L, Yang W. Practically efficient and robust free energy calculations: Double-integration orthogonal space tempering [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2012, 8(3): 810-823.
- [18] Case D A, Cheatham T E, 3rd, Darden T, et al. The AMBER biomolecular simulation programs [J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2005, 26(16): 1668-1688.
- [19] Hutter J, Iannuzzi M, Schiffmann F, et al. CP2K: Atomistic simulations of condensed matter systems [J]. *Wiley Interdisciplinary Reviews-Computational Molecular Science*, 2014, 4(1): 15-25.
- [20] Eastman P, Swails J, Chodera J D, et al. OpenMM 7: Rapid development of high performance algorithms for molecular dynamics [J]. *PLoS Computational Biology*, 2017, 13(7): e1005659.
- [21] Kästner J, Thiel W. Bridging the gap between thermodynamic integration and umbrella sampling provides a novel analysis method: "Umbrella integration" [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2005, 123(14): 144104.
- [22] Fu H, Shao X, Chipot C, et al. Extended adaptive biasing force algorithm. An on-the-fly implementation for accurate free-energy calculations [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2016, 12(8): 3506-3513.
- [23] Lesage A, Lelièvre T, Stoltz G, et al. Smoothed biasing forces yield unbiased free energies with the extended-system adaptive biasing force method [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2017, 121(15): 3676-3685.
- [24] Abrams J B, Tuckerman M E. Efficient and direct generation of multidimensional free energy surfaces via adiabatic dynamics without coordinate transformations [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2008, 112(49): 15742-15757.
- [25] Zhao T, Fu H, Lelièvre T, et al. The extended generalized adaptive biasing force algorithm for multidimensional free-energy calculations [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2017, 13(4): 1566-1576.
- [26] Iannuzzi M, Laio A, Parrinello M. Efficient exploration of reactive potential energy surfaces using Car-Parrinello molecular dynamics [J]. *Physical Review Letters*, 2003, 90(23): 4.
- [27] Chen M, Cuendet M A, Tuckerman M E. Heating and flooding: A unified approach for rapid generation of free energy surfaces [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2012, 137(2): 024102.
- [28] Hénin J, Chipot C. Overcoming free energy barriers using unconstrained molecular dynamics simulations [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2004, 121(7): 2904-2914.

- [29] Hénin J, Fiorin G, Chipot C, et al. Exploring multidimensional free energy landscapes using time-dependent biases on collective variables [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2010, 6(1): 35-47.
- [30] Chipot C, Hénin J. Exploring the free-energy landscape of a short peptide using an average force [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2005, 123(24): 244906.
- [31] MacKerell Jr A D, Feig M, Brooks C L, 3rd. Extending the treatment of backbone energetics in protein force fields: Limitations of gas-phase quantum mechanics in reproducing protein conformational distributions in molecular dynamics simulations [J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2004, 25(11): 1400-1415.
- [32] Buck M, Bouquet-Bonnet S, Pastor R W, et al. Importance of the CMAP correction to the CHARMM22 protein force field: Dynamics of hen lysozyme [J]. *Biophysical Journal*, 2006, 90(4): L36-38.
- [33] MacKerell Jr A D, Bashford D, Bellott M, et al. All-atom empirical potential for molecular modeling and dynamics studies of proteins [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 1998, 102(18): 3586-3616.
- [34] Jorgensen W L, Chandrasekhar J, Madura J D, et al. Comparison of simple potential functions for simulating liquid water [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1983, 79(2): 926-935.
- [35] Faller C E, Reilly K A, Hills Jr R D, et al. Peptide backbone sampling convergence with the adaptive biasing force algorithm [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2013, 117(2): 518-526.
- [36] Shi Y, Xia Z, Zhang J, et al. The polarizable atomic multipole-based AMOEBA force field for proteins [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2013, 9(9): 4046-4063.
- [37] Comer J, Phillips J C, Schulten K, et al. Multiple-replica strategies for free-energy calculations in NAMD: Multiple-walker adaptive biasing force and walker selection rules [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2014, 10(12): 5276-5285.
- [38] Minoukadeh K, Chipot C, Lelièvre T. Potential of mean force calculations: A multiple-walker adaptive biasing force approach [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2010, 6(4): 1008-1017.
- [39] Alrachid H, Lelièvre T. Long-time convergence of an adaptive biasing force method: Variance reduction by Helmholtz projection [J]. *SMAI Journal of Computational Mathematics*, 2015, 1: 55-82.
- [40] Tan Z, Gallicchio E, Lapelosa M, et al. Theory of binless multi-state free energy estimation with applications to protein-ligand binding [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2012, 136(14): 04B608.

第五章 利用图形处理器加速自由能微扰计算

第一节 引言

自由能计算方法大致可以分为两类^[1-3]：炼金术变换（alchemical transformation）和几何变换（geometrical transformation）。自由能微扰（free-energy perturbation, FEP）^[4]方法是最早使用的把一种化学物质变换到另一种的“炼金术”变换的方法之一。通过与分子动力学（molecular dynamics, MD）或蒙特卡洛（Monte Carlo, MC）模拟联合使用，FEP 已经被广泛地应用于计算生物相关的过程和体系，比如加速药物的研发^[5-10]。FEP 最早的明确的化学相关的应用可追溯到上世纪八十年代中期计算乙烷和甲醇的水合自由能^[11]。基于早期的成功案例^[12-16]，FEP 随后被广泛地应用于一系列研究，包括但不限于蛋白质—配体结合自由能^[17-19]的计算、计算机丙氨酸扫描突变^[20, 21]、溶解自由能计算^[5, 22]等。FEP 已经在许多流行的 MD 引擎，如 GROMACS^[23]、AMBER^[24]、OpenMM^[25]和 NAMD^[26, 27]中得到实现。

近年来，MD 引擎充分利用图形处理器（graphics processing units）的加速并把它们的核心功能代码，特别是成键相互作用和非成键相互作用的计算，从中央处理器（central processing units, CPU）转移到了 GPU，这是因为 CPU 到 GPU 的迁移可以使用适度的开支取得可观的性能。然而到目前为止，GPU 加速主要应用于平衡和无偏模拟。在 MD 引擎的核心功能之外，一系列的重要性采样和自由能计算方法，包括 FEP 在内，为了取得可观的性能提升，仍然处于向 GPU 迁移的过程中。虽然 FEP 在 GPU 加速版本的 AMBER^[28, 29]、OpenMM^[30]和 Desmond^[31]中可用，但 NAMD 仍然缺少运行 GPU 加速的 FEP 的支持。本工作首先在 NAMD 中实现 GPU 加速的 FEP，接着该实现的数值准确性通过四个例子来验证，然后对比测试 FEP 实现在传统 GPU 代码、常驻 GPU 代码（GPU-resident code）和 CPU 代码路径的性能，最后通过在肽链—蛋白质复合物中运行计算机丙氨酸扫描突变，展现了 GPU 加速 FEP 在真实生物过程的可用性。

第二节 FEP 在 GPU 版本的 NAMD 中的实现

FEP 的基本原理已经在第一章中作了综述，本节将重点阐述 FEP 在 GPU 版本的 NAMD 中的实现。

通过面向对象的设计，GPU 加速的 NAMD 版本把成键相互作用、非成键的 Lennard-Jones (LJ) 相互作用和静电力组织成计算对象 (compute object)，然后属于同一个 C++类的计算对象的数据被聚集起来，作为工作负载输送到统一计算架构 (compute unified device architecture, CUDA) 内核 (kernel)，这种设计可以为新的 FEP 提供可重用的代码。NAMD 中有两条代码路径^[27]来执行 CUDA 内核函数：(1) 传统 GPU 代码路径，使用 CHARM++^[32]并行计算框架来把计算对象分布到计算单元；(2) 新开发的为单节点优化的代码路径，通过函数直接调用计算对象并整合了新开发的 GPU 加速的恒温器 (thermostat) 和恒压器 (barostat) 以及运动积分，也就是说，除了输入输出 (即文件读写) 之外，原子坐标、速度和受力等数据的计算不再需要依赖 CPU 的参与。为了讨论更加清晰，下文将把 (1) 称为“传统 GPU 代码”，把 (2) 称为“常驻 GPU 代码”。截至本章撰写时，常驻 GPU 代码依然处于开发状态，NAMD 中一些流行的特性与模块，比如 Colvars^[33]，还没有迁移到常驻 GPU 代码。而且，根据测试发现，依赖 CHARM++的传统 GPU 代码路径依然适合用于几百万原子以上的大型体系。因此，本文推荐使用传统 GPU 代码在生产模拟中作 FEP 计算。

本章在 CUDA 内核中的 FEP 实现可以同时应用于两条代码路径。这个新的实现使用了与 CPU 代码^[34]相同的双拓扑 (dual-topology) 方案^[35]，忽略了参考态和目标态原子之间的相互作用。FEP 模拟中，所有的势能函数的贡献，即成键项、非成键 LJ 项和静电相互作用，都按照以下规则缩放：

(1) 成键相互作用：假设一个炼金术变换发生在第 i 个窗口 (分窗口策略详见式 (1.41))，窗口内成键能量的变化由相邻中间态的线性组合计算：

$$\begin{aligned}\Delta U_{\lambda_i \rightarrow \lambda_{i+1}}^{bonded}(\mathbf{r}) &= U_{\lambda_{i+1}}(\mathbf{r}) - U_{\lambda_i}(\mathbf{r}) \\ &= (\lambda_{i+1} - \lambda_i)U_1^{bonded}(\mathbf{r}) - (\lambda_{i+1} - \lambda_i)U_0^{bonded}(\mathbf{r})\end{aligned}\quad (5.1)$$

(2) 非成键 LJ 相互作用：对于每一对在原子对列表 (pair list) 的两个原子，在 GPU 执行的内核函数计算软核势 (soft-core potential)^[36]来避免端点灾难 (end-point catastrophe)，即由于粒子在已经占据的位置中出现而导致的范德华势的奇异点，并根据对应的耦合参数 λ 缩放这些能量项：

$$\Delta U_{\lambda_i \rightarrow \lambda_{i+1}}^{LJ} = U_{\lambda_{i+1}}^{LJ}(\mathbf{r}_p, \mathbf{r}_q) - U_{\lambda_i}^{LJ}(\mathbf{r}_p, \mathbf{r}_q) \quad (5.2)$$

$$U_{\lambda_k}^{LJ}(\mathbf{r}_p, \mathbf{r}_q) = \lambda_k \left[\frac{A}{(r_{pq}^2 + \delta(1 - \lambda_k))^6} - \frac{B}{(r_{pq}^2 + \delta(1 - \lambda_k))^3} \right] \forall k = i, i+1 \quad (5.3)$$

上式中， \mathbf{r}_p 和 \mathbf{r}_q 表示原子对的坐标， r_{pq} 表示这对原子之间的距离， A 和 B 是表示排斥和吸引的 LJ 参数， δ 是软核势的偏移参数。LJ 与炼金术变换的参数，即 λ 和 δ ，在窗口中保持不变，这可以让它们存储在 GPU 的常量内存区域而不是寄存器区域，使得通过缓存的内存访问更加快捷，并高效地广播到一个一组 warp (CUDA 中线程的最小调度单位) 内的每一个线程。核函数通过实时的方式计算能量并应用耦合参数。核函数还可以以很少的计算开销处理边角情况 (corner case)，比如需要忽略在同一个状态中原子相互作用的缩放 (去耦合)。

(3) 长距离静电相互作用：在双拓扑方案^[35]中，参考态和目标态是共存的，尽管它们之间没有成键和非成键相互作用，这意味着生长和消失的原子之间的静电相互作用需要忽略。因此，为了在粒子网格 Ewald (particle-mesh Ewald, PME)^[37]方法中计算长距离静电相互作用，本章在 GPU 加速的 FEP 实现中使用了多个网格。这种策略把消失的、生长的和不变的原子分配到不同的 PME 网格中，然后对每个网格进行独立的 PME 计算。计算过程如图 (5.1) 所示。两个网格对应的静电势能由 PME 求解器计算得到。如果耦合参数 λ 需要与成键相互作用不同步缩放 (在 NAMD 选项中 alchElecLambdaStart 设置为大于 0 的值)，或者生长的或消失的原子间相互作用需要忽略 (在 NAMD 选项中开启了 alchDecouple)，则需要额外的 PME 网格。

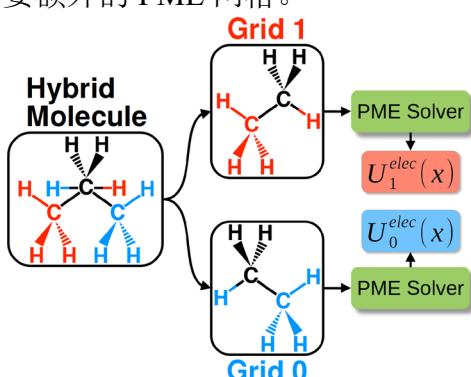


图 5.1 NAMD GPU 加速的 FEP 计算中的多网格策略示意图，例子为零和乙烷—乙烷“炼金术”变换。使用双拓扑策略构建的混合丙烷分子被分割在两个网格 0 和 1 内。消失的、生长的和不变的原子分别标记成蓝色、红色和黑色。网格 0 和 1 的长距离静电能分别被计算为 $U_0^{elec}(x)$ 和 $U_1^{elec}(x)$ (Reproduced in part with permission from *J. Chem. Inf. Model.* **2020**, 60, 11, 5301-5307 Copyright [2020] American Chemical Society.)

第三节 结果与讨论

5.3.1 可靠性与数值准确性

保证新实现的 GPU 加速 FEP 代码的准确性非常重要，为了验证 GPU 加速 FEP 实现的可靠性和数值准确性，本节使用新代码运行了 NAMD FEP 教程^[38]里的四个典型例子，并把结果与原 CPU 代码运行的作了对比。这四个例子分别是：(1) 真空中零和乙烷—乙烷变换^[39, 40]；(2) 把水中一个电中性粒子充电到钠离子；(3) 把丙氨酸—酪氨酸—丙氨酸肽链的酪氨酸置换成丙氨酸^[41]；(4) 结合一个钾离子到一个冠醚分子中^[42, 43]。在每个例子中，本节重复了正向模拟（即 λ 从 0 变化到 1）和反向模拟（ λ 从 1 变化到 0）各五次，从而提供了模拟准确性的测量。读者可以从 NAMD FEP 教程中找到所有的模拟细节。结果（展现在图 5.2）使用了 VMD^[44]的 ParseFEP^[45]插件后处理合并窗口并计算误差。

从图 5.2 中可以看出，与 CPU 代码计算结果（图 5.2 的 (A)、(C)、(E) 和 (G)）相比，GPU 计算结果（图 5.2 的 (B)、(D)、(F) 和 (H)）的误差并没有明显的增长，而且使用 GPU 加速计算的从 $\lambda=0$ 到 1 的自由能变化也与标准 CPU 模拟的相吻合。因此可以认为，本章展现的启用了 FEP 的传统 GPU 代码与原来 NAMD 中的 CPU 代码具有同样的可靠性和数值准确性。

5.3.2 性能测试

提高计算效率是本工作的主要目标。为了评估新实现在典型的计算环境下的性能，水溶液中乙烷—乙烷变换（98,320 原子）被用来测试 FEP 计算分别在 CPU 代码、传统 GPU 代码以及常驻 GPU 代码的性能。测试在两个不同的环境下进行：(1) 服务器环境，主要配置为双路 24 核 Intel Xeon 8168 处理器、1.5 TB 内存以及一块 NVIDIA Tesla V100 的 GPU；(2) 笔记本环境，主要配置为 4 核 Intel i7-7700HQ 处理器、16 GB 内存以及一块 NVIDIA GTX1060 的 GPU。为了解耦合而单独修改静电相互作用的 λ 参数导致的 PME 网格增加的副作用也被考虑到了性能测试内。

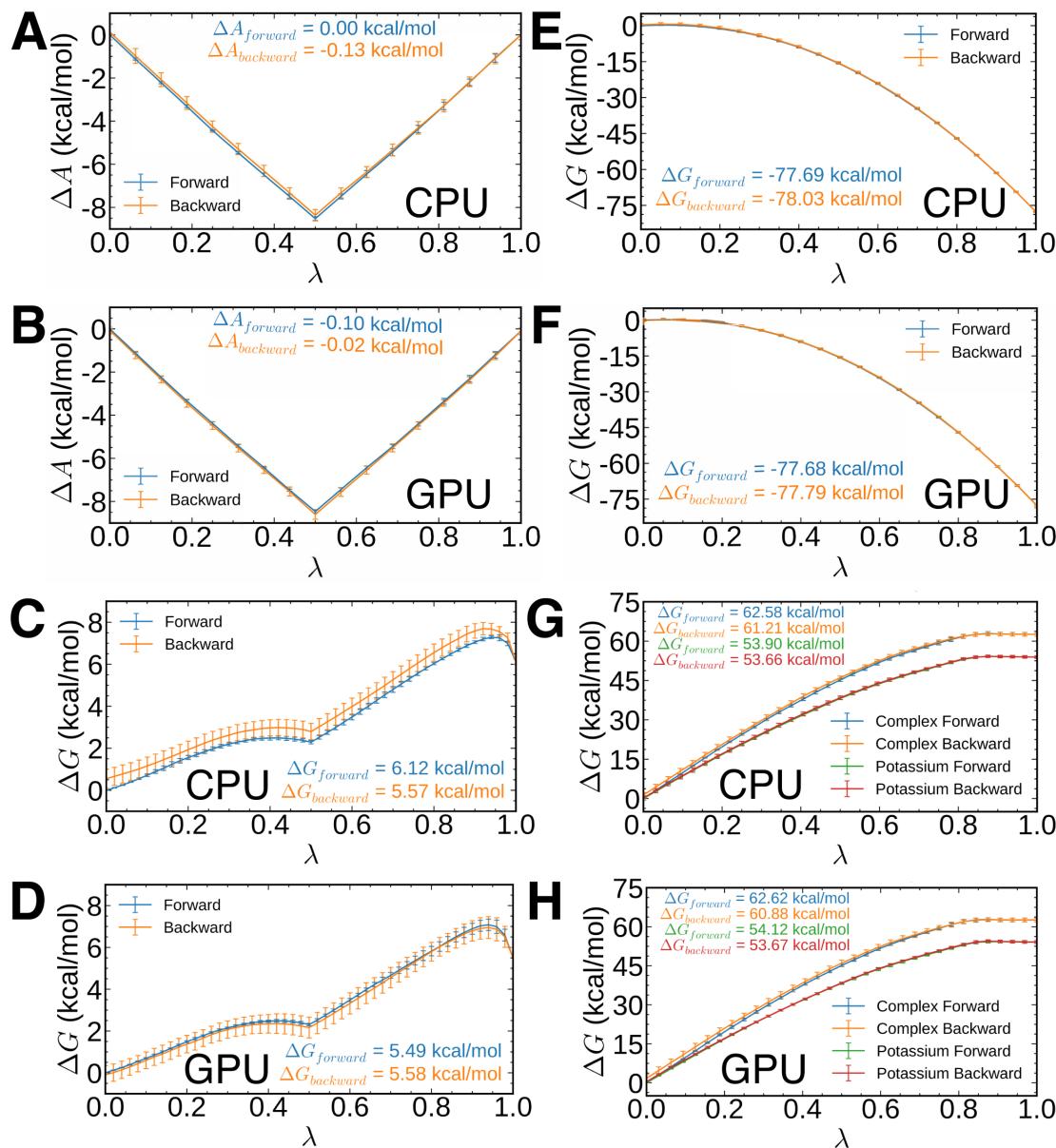


图 5.2 以 λ 为自变量的自由能变化: (A) 和 (B) 是真空中零和乙烷—乙烷变换, (C) 和 (D) 是丙氨酸—酪氨酸—丙氨酸肽链变化为丙氨酸—丙氨酸—丙氨酸的变换, (E) 和 (F) 是中性 LJ 粒子在水溶液中充电到钠离子, (G) 和 (H) 是水溶液中钾离子结合到 18-冠-6 的过程。(G) 和 (H) 中标记为“complex”和“potassium”的曲线分别表示钾离子在与 18-冠-6 结合态的自由能和在自由态的自由能。在 (A)、(C)、(E) 和 (G) 中的结果由 FEP 加速的传统 GPU 代码路径获得, 而 (B)、(D)、(F) 和 (H) 的结果由 CPU 代码路径获得。

由于模拟的参数设置得并非最佳, (C) 和 (D) 中的的误差以及正反向的偏离较为明显

(Reproduced in part with permission from *J. Chem. Inf. Model.* **2020**, 60, 11, 5301-5307)

Copyright [2020] American Chemical Society.)

性能测试的结果如图 5.3 (A) 和 (B) 所示, 表明即使是在有因解耦合策略而存在的额外 PME 网格的情况下, 传统 GPU 代码和常驻 GPU 代码仍旧要比 CPU 代码快 4-12 倍。而且, 在笔记本电脑和服务器两种不同的硬件环境下都观测到了性能的提升。考虑到服务器中两个 CPU (Intel Xeon Platinum 8168) 和 GPU 卡 (NVIDIA Tesla V100) 的市场价格相近, 本章新的代码可以让 NAMD 用户在相同的开支下更快地运行 FEP 计算。

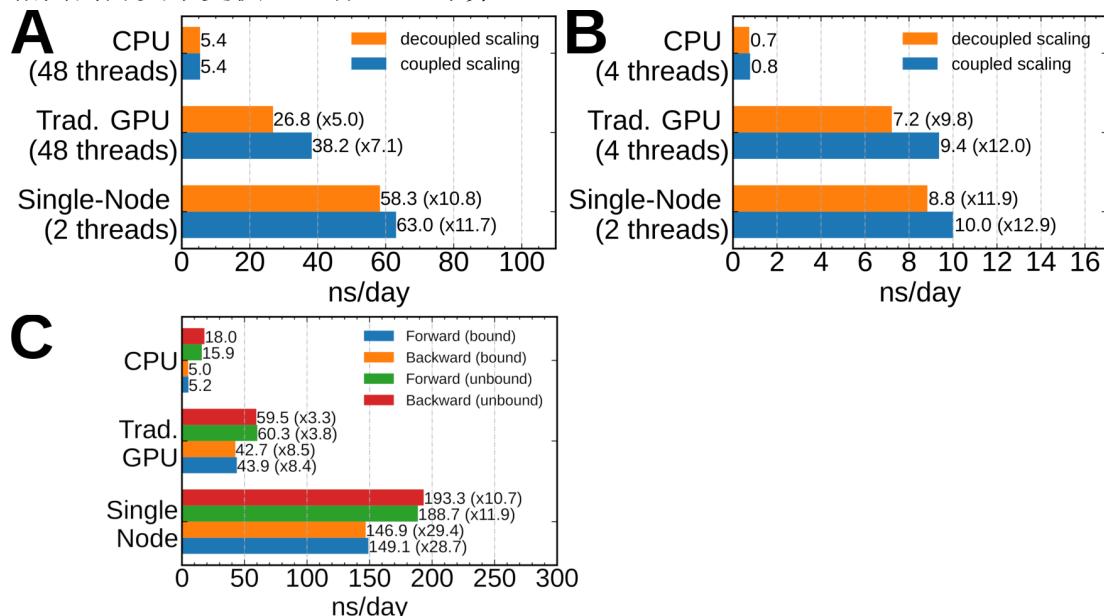


图 5.3 CPU 代码、传统 GPU 代码以及常驻 GPU 代码的性能对比。GPU 代码性能相对 CPU 代码提升的倍率在图内括号表示。(A) 和 (B) 分别表示在服务器和笔记本电脑环境中运行显性水溶剂中零和乙烷—乙烷变换的性能, 其中使用去耦合策略 (需要额外的 PME 网格) 时的性能显示在橙色柱, 而不使用去耦合策略的显示在蓝色柱。(C) 天冬酰胺—丙氨酸变换的模拟速度, 包括在结合态 (PMI-MDM2 主客体复合物) 和非结合态 (只有 PMI 主体)

(Reproduced in part with permission from *J. Chem. Inf. Model.* **2020**, 60, 11, 5301-5307

Copyright [2020] American Chemical Society.)

5.3.3 在丙氨酸扫描中的应用

除了上述的测试例子之外, 为了展现 GPU 加速的 FEP 代码在真实世界问题里的可用性, 本节使用三条 FEP 代码路径计算了在一个由高亲和性蛋白质抑制剂十二肽 PMI 和泛素连接酶 MDM2^[46]形成的复合物中, PMI 的天冬酰胺转化为丙氨酸的突变自由能, 模拟在一台配置为八核 Intel i7-9800X CPU 和 NVIDIA Quadro RTX 6000 GPU 的工作站进行。PMI-MDM2 复合物的结构从 RCSB 数据

库中获得 (PDB: 3EQS^[47])，并使用 CHARMM36^[48, 49]力场建模，模拟的设置使用 CHARMM-GUI^[50]服务器完成。混合分子的双拓扑文件使用 VMD 中的 AlaScan^[51]插件完成。模拟在恒温恒压的条件下进行，温度和压力分别使用朗之万动力学和朗之万活塞方法^[52]控制在 300 K 和 1 个标准大气压。范德华相互作用和短距离静电相互作用在 10 到 12 Å 的范围内平滑地截断到零。为了避免“炼金术”变换在端点处的数值不稳定性，范德华相互作用的计算使用了软核势^[36]。原子空间分解的格点大小增补了 8 Å 的余地使得原子重新排列之间的步数增加到 400 步。非成键相互作用的原子列表每 10 步重新生成一次。“炼金术”变换双向执行^[2]以降低方差并提高准确性。两个方向的反应路径均分割为 50 个窗口，每个窗口内分子复合物首先平衡 20 ps，然后运行 100 ps 以收集计算式 (1.41) 中的系综平均。ParseFEP^[45]中的 BAR 自由能估计量^[53]被用来从双向变换中计算自由能差以及相应的误差。

表 5.1 三种代码路径使用 BAR 自由能估计量计算在 PMI-MDM2 复合物中结合态与非结合态的天冬酰胺—丙氨酸突变的自由能差与误差。 $\Delta\Delta G^\circ$ 表示相对结合自由能。

代码路径	ΔG_{bound}^{BAR} (kcal/mol)	$\Delta G_{unbound}^{BAR}$ (kcal/mol)	$\Delta\Delta G^\circ$ (kcal/mol)
CPU	77.6 ± 0.1	78.0 ± 0.1	-0.4
传统 GPU	77.8 ± 0.1	78.0 ± 0.1	-0.2
常驻 GPU	77.6 ± 0.1	78.1 ± 0.1	-0.5
实验 ^[46]			-1.1

如图 5.3 (C) 和表 5.1 所示，在这个真实世界的应用中，把迄今由 CPU 完成的计算负担转移到 GPU 上，可以得到巨大的性能提升，并且不会牺牲数值准确度。由于本节的模拟是为了展现新的 GPU 实现的可用性，而非寻找用于重复实验中相对自由能的最佳参数，后者不仅依赖充分的采样，还依赖其它因素，比如力场本身的精确度。在本例丙氨酸突变的模拟中，与 CPU 代码路径相比，传统 GPU 代码的速度提升了 8 倍，常驻 GPU 代码的速度提升了 29 倍。常驻 GPU 代码速度提升更多的原因有：(1) 在单个 GPU 节点上绕过了 CHARMM++ 框架多余的函数调用；(2) 把运动方程的积分部分转移到了 GPU 上运行从而减少了主机内存和 GPU 显存之间的数据传输。

第四节 结论

本章在 NAMD^[27]中实现了新的 GPU 加速的 FEP，这一实现囊括了传统 GPU 和常驻 GPU 代码路径，并运行了一系列数值测试来验证代码的可靠性和性能。测试结果表明，与原来的 CPU 代码相比，GPU 实现可以达到 4-30 倍的加速，并且不会损失精确度。而且，在带有 GPU 的笔记本电脑和专门的 GPU 服务器上都有加速效果。进一步地，水溶液中 PMI-MDM2 肽链—蛋白质复合物的计算机丙氨酸替换展示了新实现在解决生物分子问题上的力量、可用性与数值效率。总而言之，本章开发了健壮、可靠和高性价比的实行 FEP 计算的工作流。传统 GPU 和常驻 GPU 代码已经随着 NAMD 3.0 的发行释出。后续进一步的开发包括把更多的 FEP 特有的功能从 CPU 迁移到 GPU，比如交替双宽采样（interleaved double-wide sampling）^[54]、Weeks-Chandler-Andersen 分解^[55]和为并行多窗口运行而重新设计的输出格式文件。

NAMD 3.0 的代码可以通过访问 <https://gitlab.com/tcbgUIUC/namd> 获得。

参考文献

- [1] Chipot C, Pohorille A. Free energy calculations [M]. Springer Berlin Heidelberg, 2007.
- [2] Pohorille A, Jarzynski C, Chipot C. Good practices in free-energy calculations [J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2010, 114(32): 10235-10253.
- [3] Chipot C. Frontiers in free-energy calculations of biological systems [J]. Wiley Interdisciplinary Reviews-Computational Molecular Science, 2014, 4(1): 71-89.
- [4] Zwanzig R W. High-temperature equation of state by a perturbation method. I. Nonpolar gases [J]. The Journal of Chemical Physics, 1954, 22(8): 1420-1426.
- [5] Shivakumar D, Williams J, Wu Y, et al. Prediction of absolute solvation free energies using molecular dynamics free energy perturbation and the OPLS force field [J]. Journal of Chemical Theory and Computation, 2010, 6(5): 1509-1519.
- [6] Lenselink E B, Louvel J, Forti A F, et al. Predicting binding affinities for GPCR ligands using free-energy perturbation [J]. ACS Omega, 2016, 1(2): 293-304.
- [7] Keränen H, Pérez-Benito L, Ciordia M, et al. Acylguanidine beta secretase 1 inhibitors: A combined experimental and free energy perturbation study [J]. Journal of Chemical Theory and Computation, 2017, 13(3): 1439-1453.
- [8] Pérez-Benito L, Casajuana-Martin N, Jiménez-Rosés M, et al. Predicting activity cliffs with free-energy perturbation [J]. Journal of Chemical Theory and Computation, 2019, 15(3): 1884-1895.
- [9] Wang L, Wu Y, Deng Y, et al. Accurate and reliable prediction of relative ligand binding potency in prospective drug discovery by way of a modern free-energy calculation protocol and force field [J]. Journal of the American Chemical Society, 2015, 137(7): 2695-2703.
- [10] Abel R, Wang L, Harder E D, et al. Advancing drug discovery through enhanced free energy calculations [J]. Accounts of Chemical Research, 2017, 50(7): 1625-1632.
- [11] Jorgensen W L, Ravimohan C. Monte Carlo simulation of differences in free energies of hydration [J]. The Journal of Chemical Physics, 1985, 83(6): 3050-3054.
- [12] Lybrand T P, McCammon J A, Wipff G. Theoretical calculation of relative binding affinity in host-guest systems [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1986, 83(4): 833-835.
- [13] Bash P A, Singh U C, Brown F K, et al. Calculation of the relative change in binding free energy of a protein-inhibitor complex [J]. Science, 1987, 235(4788): 574-576.
- [14] Bash P A, Singh U C, Langridge R, et al. Free energy calculations by computer simulation [J]. Science, 1987, 236(4801): 564-568.
- [15] Jorgensen W L. Free energy calculations: A breakthrough for modeling organic chemistry in solution [J]. Accounts of Chemical Research, 1989, 22(5): 184-189.

- [16] Jorgensen W L, Buckner J K, Boudon S, et al. Efficient computation of absolute free energies of binding by computer simulations. Application to the methane dimer in water [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1988, 89(6): 3742-3746.
- [17] Wang J, Deng Y, Roux B. Absolute binding free energy calculations using molecular dynamics simulations with restraining potentials [J]. *Biophysical Journal*, 2006, 91(8): 2798-2814.
- [18] Gumbart J C, Roux B, Chipot C. Standard binding free energies from computer simulations: What is the best strategy? [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2013, 9(1): 794-802.
- [19] Wang L, Chambers J, Abel R. Protein-ligand binding free energy calculations with FEP [J]. *Methods in Molecular Biology*, 2019, 2022: 201-232.
- [20] Massova I, Kollman P A. Computational alanine scanning to probe protein-protein interactions: A novel approach to evaluate binding free energies [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1999, 121(36): 8133-8143.
- [21] Moreira I S, Fernandes P A, Ramos M J. Computational alanine scanning mutagenesis—an improved methodological approach [J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2007, 28(3): 644-654.
- [22] Sun Y, Kollman P A. Determination of solvation free energy using molecular dynamics with solute cartesian mapping: An application to the solvation of 18-crown-6 [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1992, 97(7): 5108-5112.
- [23] Abraham M J, Murtola T, Schulz R, et al. GROMACS: High performance molecular simulations through multi-level parallelism from laptops to supercomputers [J]. *SoftwareX*, 2015, 1-2: 19-25.
- [24] Case D A, Cheatham T E, 3rd, Darden T, et al. The AMBER biomolecular simulation programs [J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2005, 26(16): 1668-1688.
- [25] Eastman P, Swails J, Chodera J D, et al. OpenMM 7: Rapid development of high performance algorithms for molecular dynamics [J]. *PLoS Computational Biology*, 2017, 13(7): e1005659.
- [26] Phillips J C, Braun R, Wang W, et al. Scalable molecular dynamics with NAMD [J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2005, 26(16): 1781-1802.
- [27] Phillips J C, Hardy D J, Maia J D C, et al. Scalable molecular dynamics on CPU and GPU architectures with NAMD [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 2020, 153(4): 044130.
- [28] Lee T S, Cerutti D S, Mermelstein D, et al. GPU-accelerated molecular dynamics and free energy methods in AMBER18: Performance enhancements and new features [J]. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2018, 58(10): 2043-2050.
- [29] Lee T S, Hu Y, Sherborne B, et al. Toward fast and accurate binding affinity prediction with pmemdgti: An efficient implementation of GPU-accelerated thermodynamic integration [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2017, 13(7): 3077-3084.

- [30] Harger M, Li D, Wang Z, et al. Tinker-openmm: Absolute and relative alchemical free energies using AMOEBA on GPUs [J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2017, 38(23): 2047-2055.
- [31] Bergdorf M, Baxter S, Rendleman C A, et al. Desmond/GPU performance as of November 2016 [J/OL] 2015, 1-11. <http://www.desmondmd.com/publications/Desmond-GPU%20Performance%20as%20of%20November%202016.pdf>.
- [32] Kale L V, Krishnan S. Charm++ [J]. *ACM SIGPLAN Notices*, 1993, 28(10): 91-108.
- [33] Fiorin G, Klein M L, Hénin J. Using collective variables to drive molecular dynamics simulations [J]. *Molecular Physics*, 2013, 111(22-23): 3345-3362.
- [34] Dixit S B, Chipot C. Can absolute free energies of association be estimated from molecular mechanical simulations? The biotin-streptavidin system revisited [J]. *The Journal of Physical Chemistry A*, 2001, 105(42): 9795-9799.
- [35] Gao J, Kuczera K, Tidor B, et al. Hidden thermodynamics of mutant proteins: A molecular dynamics analysis [J]. *Science*, 1989, 244(4908): 1069-1072.
- [36] Zacharias M, Straatsma T P, McCammon J A. Separation-shifted scaling, a new scaling method for Lennard-Jones interactions in thermodynamic integration [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1994, 100(12): 9025-9031.
- [37] York D, Yang W. The fast Fourier Poisson method for calculating Ewald sums [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1994, 101(4): 3298-3300.
- [38] Chipot C. In silico alchemy : A tutorial for alchemical FEP in NAMD [J/OL]. 2008: <https://www.ks.uiuc.edu/Training/Tutorials/namd/FEP/tutorial-FEP.pdf>.
- [39] Pearlman D A. A comparison of alternative approaches to free energy calculations [J]. *The Journal of Physical Chemistry*, 1994, 98(5): 1487-1493.
- [40] Pearlman D A, Kollman P A. The overlooked bond-stretching contribution in free energy perturbation calculations [J]. *The Journal of Chemical Physics*, 1991, 94(6): 4532-4545.
- [41] Kollman P. Free energy calculations: Applications to chemical and biochemical phenomena [J]. *Chemical Reviews*, 2002, 93(7): 2395-2417.
- [42] Dang L X, Kollman P A. Free energy of association of the K⁺:18-crown-6 complex in water: A new molecular dynamics study [J]. *The Journal of Physical Chemistry*, 1995, 99(1): 55-58.
- [43] Dang L X, Kollman P A. Free energy of association of the 18-crown-6:K⁺ complex in water: A molecular dynamics simulation [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1990, 112(15): 5716-5720.
- [44] Humphrey W, Dalke A, Schulten K. VMD: Visual molecular dynamics [J]. *Journal of Molecular Graphics*, 1996, 14(1): 33-38.
- [45] Liu P, Dehez F, Cai W, et al. A toolkit for the analysis of free-energy perturbation calculations [J]. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 2012, 8(8): 2606-2616.
- [46] Li C, Pazgier M, Li C, et al. Systematic mutational analysis of peptide inhibition of the p53-MDM2/MDMX interactions [J]. *Journal of Molecular Biology*, 2010, 398(2): 200-213.

- [47] Pazgier M, Liu M, Zou G, et al. Structural basis for high-affinity peptide inhibition of p53 interactions with MDM2 and MDMX [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, 106(12): 4665-4670.
- [48] Huang J, MacKerell Jr A D. CHARMM36 all-atom additive protein force field: Validation based on comparison to NMR data [J]. Journal of Computational Chemistry, 2013, 34(25): 2135-2145.
- [49] Huang J, Rauscher S, Nawrocki G, et al. CHARMM36m: An improved force field for folded and intrinsically disordered proteins [J]. Nature Methods, 2017, 14(1): 71-73.
- [50] Jo S, Kim T, Iyer V G, et al. CHARMM-GUI: A web-based graphical user interface for CHARMM [J]. Journal of Computational Chemistry, 2008, 29(11): 1859-1865.
- [51] Ramadoss V, Dehez F, Chipot C. AlaScan: A graphical user interface for alanine scanning free-energy calculations [J]. Journal of Chemical Information and Modeling, 2016, 56(6): 1122-1126.
- [52] Feller S E, Zhang Y, Pastor R W, et al. Constant pressure molecular dynamics simulation: The Langevin piston method [J]. The Journal of Chemical Physics, 1995, 103(11): 4613-4621.
- [53] Bennett C H. Efficient estimation of free energy differences from Monte Carlo data [J]. Journal of Computational Physics, 1976, 22(2): 245-268.
- [54] Jorgensen W L, Thomas L L. Perspective on free-energy perturbation calculations for chemical equilibria [J]. Journal of Chemical Theory and Computation, 2008, 4(6): 869-876.
- [55] Weeks J D, Chandler D, Andersen H C. Perturbation theory of the thermodynamic properties of simple liquids [J]. The Journal of Chemical Physics, 1971, 55(11): 5422-5423.

第六章 自由能图揭示杯芳烃在穿梭过程中翻转的机理

第一节 引言

虽然最近几十年来有许多轮烷被设计、合成与研究，但调控轮烷的性质仍然是材料学领域的主要挑战之一^[1, 2]。pH、溶质以及温度的变化是调节轮烷中大环分子的穿梭速率的主要方式^[3-5]。除此之外，大环分子的构象与柔性的改变也与轮烷的性质相关^[6, 7]，比如，环糊精（cyclodextrin, CD）构象的变化可以调控轮烷的穿梭方向，并用来设计分子筛^[8, 9]。Harada 等人发现连接了金刚烷基的阿卓- α -环糊精（*alstro- α -CD*）在大环分子的柔性下可以通过自包结形成轮烷^[10, 11]。

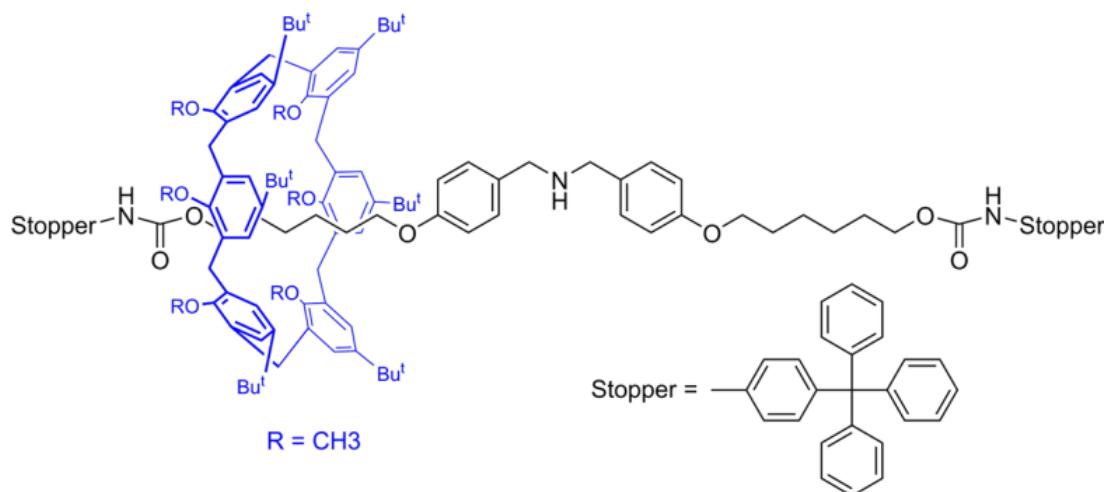


图 6.1 本章所研究的基于杯[6]芳烃的[2]轮烷分子结构示意图，其中 Bu^t 是叔丁基

(Reproduced in part with permission from *J. Phys. Chem. C* **2019**, 123, 11, 18050-18055

Copyright [2020] American Chemical Society.)

杯芳烃作为一种超分子化学和药物传输领域常用的大环分子，柔性比环糊精更好^[12, 13]。一系列基于杯芳烃的分子机器被设计与合成，包括但不限于离子控制的和 pH 控制的分子梭^[14, 15]，其中值得关注的是一种由 Pierro 等人合成的六甲氧基杯[6]芳烃穿越双烷基铵轴（结构见图 6.1），并由两个三苯甲基封端基团组成的轮烷^[15]。他们认为这种轮烷在两端的结合位点之间穿梭时，会发生锥对锥（cone-to-cone）的翻转，并改变朝向，因为在每个结合位点处，杯芳烃下端

的甲氧基总是朝向结合位点相邻的封端基团。然而，这种翻转过程是如何发生的并不清楚。从原理上说，有两种可能的路径：(1) 从一个结合位点穿梭到另一个结合位点之后发生完全的锥对锥构象翻转；(2) 穿梭过程伴随着逐步翻转。本工作的要点在于揭示构象翻转的路径，并探究它对穿梭速率的影响。

近年来，使用建模、采样和后处理等计算技术研究分子机器已经取得了可观的进展^[16, 17]。例如，Raker 等人使用了混合量子力学/分子力学 (hybrid quantum mechanics/molecular mechanics, hybrid QM/MM) 对可以输送粒子的偶氮苯衍生物^[18]在激发态下的异构化进行了建模^[19]，Raiteri 等人使用伞状采样 (umbrella sampling)^[20]计算了一种有两个稳定态的轮烷的穿梭过程的自由能^[21]，Mancini 等人使用了重要动力学 (essential dynamics)^[22]对一种基于轮烷的分子梭的构象变化进行了后处理分析^[23]，重要动力学可以把包含非简谐 (anharmonic) 运动的重要自由度从构象空间中分离出来。在他们以及 Cai 课题组以前工作^[5, 9, 11]的启发之下，本章对前述的基于杯[6]芳烃的[2]轮烷进行了微秒级别的全原子分子动力学和自由能计算，并定义了新的集合变量 (collective variable, CV) 来描述大环中芳环单元的翻转过程，同时找到了描述穿梭伴随翻转过程的最小自由能路径，揭示了翻转的具体过程以及它对穿梭过程自由能能垒的影响。

本工作由本人和张宏共同完成，其中体系建模和静电力的计算以及相关期刊论文中引言和结论部分由张宏完成，并在张宏的学位论文中详述。本人主要完成了本工作中反应坐标模型的构建、构象统计以及位阻分析等，自由能计算部分由两人共同完成。相关工作已经以共同第一作者身份发表。

第二节 计算与分析方法

6.2.1 反应坐标模型的构建与自由能计算

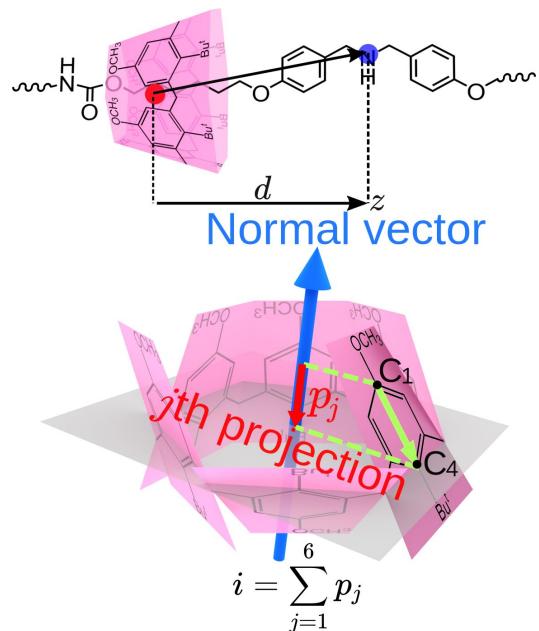


图 6.2 变量 d 和 i 的示意图分别在上半部分和下半部分。上半部分的红点与蓝点分别表示六个芳环的质心与轴中间的 N 原子 (Reproduced in part with permission from *J. Phys. Chem. C* 2019, 123, 11, 18050-18055 Copyright [2020] American Chemical Society.)

一个有两个 CV 的反应坐标模型被构建来表现大环分子的平移与翻转，两个 CV 分别为 d 和 i 。如图 6.2 所示，变量 d 被定义为大环上六个芳环单元质心与轴中间 N 原子的 z 轴方向距离^[24]，范围为 -16.0 到 16.0 Å。变量 i 被定义为每个芳环上连接 C_1 到 C_4 的向量到大环中心平面的法向量的投影之和，而大环中心平面的定义为用最小二乘法拟合六个芳环质心得到的平面。更具体地说，由于模拟中对轮烷分子整体的约束，大环中心平面不可能平行于 z 轴，可以设它的方程为 $k_0x + k_1y + z + k_2 = 0$ ，使用最小二乘法，有如下方程：

$$\begin{cases} \tilde{z}_j = -k_0x_j - k_1y_j - k_2 \\ \frac{\partial}{\partial k_0} \sum_j (\tilde{z}_j - z_j)^2 = 0 \\ \frac{\partial}{\partial k_1} \sum_j (\tilde{z}_j - z_j)^2 = 0 \\ \frac{\partial}{\partial k_2} \sum_j (\tilde{z}_j - z_j)^2 = 0 \end{cases} \quad (6.1)$$

其中, (x_j, y_j, z_j) 是第 j 个芳环单元的质心, 求解上式, 有:

$$\left\{ \begin{array}{l} k_0 = \frac{\sum x_j z_j ((\sum y_j)^2 - n \sum y_j^2) + \sum y_j z_j (n \sum x_j y_j - \sum x_j \sum y_j)}{\sum x_j^2 (n \sum y_j^2 - (\sum y_j)^2) - \sum x_j y_j (n \sum x_j y_j - \sum x_j \sum y_j)} \\ \quad + \sum z_j (\sum x_j \sum y_j^2 - \sum y_j \sum x_j y_j) \\ k_1 = \frac{\sum x_j z_j (n \sum x_j y_j - \sum x_j \sum y_j) + \sum y_j z_j ((\sum x_j)^2 - n \sum x_j^2)}{\sum x_j^2 (n \sum y_j^2 - (\sum y_j)^2) - \sum x_j y_j (n \sum x_j y_j - \sum x_j \sum y_j)} \\ \quad + \sum z_j (\sum x_j^2 \sum y_j - \sum x_j \sum x_j y_j) \\ \quad + \sum x_j (\sum x_j y_j \sum y_j - \sum x_j \sum y_j^2) \\ k_2 = \frac{\sum x_j z_j (\sum y_j^2 \sum x_j - \sum y_j \sum x_j y_j) + \sum y_j z_j (\sum x_j^2 \sum y_j - \sum x_j \sum x_j y_j)}{\sum x_j^2 (n \sum y_j^2 - (\sum y_j)^2) - \sum x_j y_j (n \sum x_j y_j - \sum x_j \sum y_j)} \\ \quad + \sum z_j ((\sum x_j y_j)^2 - \sum x_j^2 y_j^2) \end{array} \right. \quad (6.2)$$

其中, n 是杯芳烃中芳香环的数量, 中心平面的法向量 \mathbf{o} 可以表达如下:

$$\mathbf{o} = \left(\frac{k_0}{\sqrt{k_0^2 + k_1^2 + 1}}, \frac{k_1}{\sqrt{k_0^2 + k_1^2 + 1}}, \frac{1}{\sqrt{k_0^2 + k_1^2 + 1}} \right) \quad (6.3)$$

六个芳香环的投影之和 i 计算如下:

$$i = \sum_{j=1}^6 p_j = \sum_{j=1}^6 (\mathbf{R}_j^{C_4} - \mathbf{R}_j^{C_1}) \cdot \mathbf{o} \quad (6.4)$$

其中, $\mathbf{R}_j^{C_4}$ 为 C_4 原子的笛卡尔坐标, $\mathbf{R}_j^{C_1}$ 为 C_1 原子的笛卡尔坐标。

为了计算沿反应坐标模型的自由能图, 运行了 $4 \mu\text{s}$ 的 meta-eABF^[25-27] 模拟。由于在 $-8.0 \leq d \leq 8.0 \text{ \AA}$ 和 $-16.8 \leq i \leq 16.8 \text{ \AA}$ 能垒区域的采样不足, 这部分被进一步沿 d 分割为两个相同大小的窗口。因此总的模拟时间达到了 $11 \mu\text{s}$ 。由于自由能图上中心对称处的构象是相同的, 因此为了降低计算误差, 最终的自由能图通过围绕原点 ($d = 0 \text{ \AA}$, $i = 0 \text{ \AA}$) 处取平均值。最小自由能路径使用 MESPA 工具^[28]找到。

6.2.2 构象统计方法

上述的变量 i 实际上综合了多个芳环单元的翻转情况，也就是说，一个 i 的取值可能会对应多种不同的翻转情形，比如说杯芳烃 1,2-交替、1,3-交替和 1,4-交替的 i 值是一样的。为了进一步分析模拟轨迹中翻转的详细情形，可以定义并计算如下变量 S :

$$S = \sum_{j=1}^6 \frac{2^{j-1}}{1 + \exp(-100p_j)} \quad (6.5)$$

S 的一个近似值可以唯一地映射到杯[6]芳烃的任意一种构象，比如说假设 $S = 5$ ，那么意味着大环上的第一个和第三个芳环单元发生了翻转，杯[6]芳烃的构象即为 1,3-交替。 S 和芳环单元翻转数的对应关系如表 6.1 所示。

表 6.1 芳环单元的翻转个数、杯[6]芳烃的构象以及 S 的近似值之间的关系

翻转的芳环单元个数	构象	S 的近似值
0	0 (杯式)	0
1	1 (1-交替)	1,2,4,8,16,32
2	2a (1,2-交替)	3,6,12,24,33,48
	2b (1,3-交替)	5,10,17,20,34,40
	2c (1,4-交替)	9,8,36
3	3a (1,2,3-交替)	7,14,28,35,56,49
	3b (1,2,4-交替)	11,13,19,22,25,26,37,38,41,44,50,52
	3c (1,3,5-交替)	21,42
4	4a (1,2,3,4-交替)	15,30,39,51,57,60
	4b (1,2,3,5-交替)	23,29,43,46,53,58
	4c (1,2,4,5-交替)	27,45,54
5	5 (翻转 1-交替)	31,47,55,59,61,62
6	6 (翻转杯式)	63

6.2.3 穿梭过程中位阻的分析方法

计算杯[6]芳烃的最短空腔直径 (shortest cavity diameter, SCD) 可以分析穿梭过程中的位阻。注意到杯[6]芳烃是一个对称的大环分子，并且拥有偶数个芳环单元，对位的芳环单元的最短距离 $d_{i,j}^{min}$ 可以用来计算杯[6]芳烃骨架的 SCD。更具体地说，假设六个芳环单元的编号为 1 到 6，首先分别计算 $d_{1,4}^{min}$ 、 $d_{2,5}^{min}$ 和 $d_{3,6}^{min}$ ，即第一个芳环和第四个芳环之间、第二个芳环和第五个芳环之间和第三个芳环和第六个芳环之间最接近原子的距离。然后，杯芳烃的狭窄程度可以用 d_{min} 来衡量，即 $d_{min} = \min(d_{1,4}^{min}, d_{2,5}^{min}, d_{3,6}^{min})$ 。

第三节 结果与讨论

6.3.1 反应坐标模型的验证

如同之前的研究表明^[24], z 轴向距离 d 可以有效地表示大环相对轴的平移运动。与 d 相比, 式 (6.4) 中用来表示杯[6]芳烃锥对锥构象翻转的 i 是一个新的变量, 几何上并不直观。为了验证 i 用来表示翻转运动的能力, 本节构建了一个简化的模型, 即杯[6]芳烃分子穿在一个伸展的十二烷基链上, 然后计算了表示翻转的自由能, 即沿 i 的平均势力 (potential of mean force, PMF)。计算结果如图 6.3 所示。考虑到环翻转的对称性, 结果的自由能曲线围绕 $i = 0$ 作对称平均。

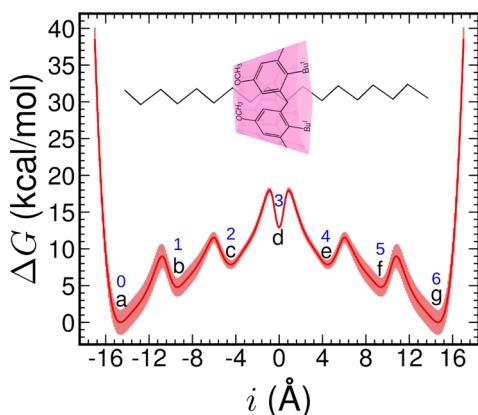


图 6.3 由 $1.47 \mu\text{s}$ meta-eABF 模拟得到的描述杯[6]芳烃穿在十二烷基链上翻转过程的自由能图 (体系见小图)。七个极小值分别标记为 a、b、c、d、e、f 和 g, 字母上方的数字表示极小值对应结构中翻转的芳环单元个数。标记为红色阴影部分的误差柱表示了自由能的不确定性 (Reproduced in part with permission from *J. Phys. Chem. C* **2019**, 123, 11, 18050-18055)

Copyright [2020] American Chemical Society.)

图 6.3 可以清晰地分辨出 PMF 的七个极小值区域。为了进一步分析极小值区域的构象, 本节计算了极小值附近的 S 值 (见式 (6.5)) 并按照表 6.1 进行分类, 结果如表 6.2 所示, 表明 i 确实可以区分芳环单元的翻转个数。换而言之, 不同翻转数量的芳环单元的构象对应不同的 i 值。从 MD 轨迹中可以发现, 极小值或极大值处的结构对应着不同的构象, 但杯芳烃翻转的个数是一致的, 这意味着不同的构象可以有相同的 i 值。例如, 在图 6.3 谷点 c 处 (在 $i = -4.5 \text{ \AA}$ 附近) 包含了大环的 1,2-交替、1,3-交替和 1,4-交替构象。总而言之, 虽然 i 的一个值不能指示大环的单一构象, 但它能够有效地区分芳环单元的翻转个数, 从而描

述锥对锥的翻转过程。因此，集合变量 i 可以构成描述穿梭过程中大环翻转过程的合理的反应坐标模型。

表 6.2 杯[6]芳烃穿过十二烷模型的构象统计结果

极小值点	构象的百分比 (%)											
			2		3		4					
	0	1	2a	2b	2c	3a	3b	3c	4a	4b	4c	5
a	100	0		0			0		0	0	0	0
b	0	100		0			0		0	0	0	0
c	0	0	0	99.54	0.39		0.06		0	0	0	0
d	0	0		0.04		9.28	9.57	81.09		0	0	0
e	0	0		0			0.48		11.00	87.80	0.66	0.06
f	0	0		0			0			0.16		99.78
g	0	0		0			0		0	0	100	0.05

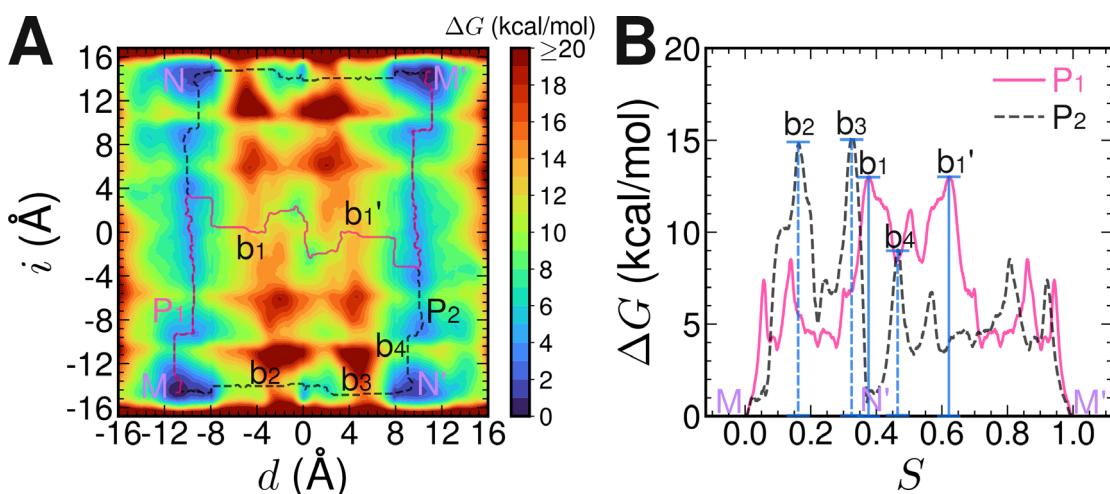


图 6.4 (A) 描述大环分子平移与翻转过程的自由能图。两个全局最小值分别标记为 M 和 M' 。两个第二最小值分别标记为 N 和 N' 。最小自由能路径标记为 P_1 (粉红色实线)，连接 M 、 N 和 M' 的路径标记为 P_2 (黑色虚线)，反方向的路径 $M-N-M'$ 也标记为黑色虚线。两个 P_1 上相等的能垒标记为 b_1 和 b_1' ，高度为 13.0 kcal/mol。 P_2 上两个显著的能垒标记为 b_2 和 b_3 ，高度分别为 14.8 kcal/mol 和 15.2 kcal/mol。在一个结合位点处不穿梭而翻转的能垒(从 N' 到 M') 标记为 b_4 ，高度为 9.0 kcal/mol。(B) 沿 P_1 和 P_2 的 PMF，横坐标 S 表示穿梭的过程 (Reproduced in part with permission from *J. Phys. Chem. C* 2019, 123, 11, 18050-18055)

Copyright [2020] American Chemical Society.)

6.3.2 穿梭过程的自由能图

图 6.4 表示了基于杯[6]芳烃的[2]轮烷平移和翻转运动的自由能变化。两个相同的能量最小值点 M 和 M' 可以在 $d = -10.8 \text{ \AA}$, $i = -14.5 \text{ \AA}$ (M) 和 $d = +10.8 \text{ \AA}$, $i = +14.5 \text{ \AA}$ (M') 处找到, 对应着实验中观测到的最稳定结构, 此时大环的空腔把轴的烷基部分包含在内, 上端对着轴的中心, 并且轴上氨基上的 NH 和环下端的 O 原子形成了氢键。两个相同的第二最小值对应的介稳态结构, 即大环位于结合位点但下端对着轴的中心的结构, 在自由能图中标记为 N ($d = -10.4 \text{ \AA}$, $i = +14.5 \text{ \AA}$) 和 N' ($d = +10.4 \text{ \AA}$, $i = -14.5 \text{ \AA}$)。通过 MEPSA^[28]找到的连接 M 和 M' 的最小自由能路径也标记在自由能图上 (粉红色实线)。

从实验的研究^[15]可以得知, 大环的下端在穿梭前后都是朝向最近的封端基团的, 因此提出了大环的穿梭过程是平移复合翻转的运动。然而, 平移和翻转是如何发生的依然没有定论。从自由能图 6.4 (A) 中可以看到, 从 M 到 M' 有三条可能的路径, 分别是 P₁、P₂ 以及 P₂ 的反向路径 (中心对称于 P₂)。在 P₂ 路径中, 杯芳烃环首先从左边的结合位点平移到右边的结合位点, 然后在后一个结合位点发生一个完整的锥对锥翻转, 即先翻转后穿梭。尽管如此, 最低自由能路径 P₁ 表示另一条转变路径, 即平移与翻转是耦合的。更准确地说, 穿梭过程首先开始于在左侧结合位点处翻转三个芳环单元, 接着大环平移, 最后另外三个芳环单元在右侧结合位点翻转。沿 P₁ 和 P₂ 的自由能曲线和对应的能垒画在了图 6.4 (B)。从图中可知, P₁ 对应的自由能能垒 b₁ 比 P₂ 的自由能能垒 b₂ 和 b₃ 低了 1.8 kcal/mol。这个结果表明, 杯芳烃的锥对锥翻转很可能是在平移过程中发生的, 并且逐步的构象翻转有利于穿梭的过程。

P₁ 和 P₂ 的能垒对应着大环通过轴中间的双烷基铵基团的构象。为了进一步揭示为什么 P₁ 的能垒要比 P₂ 低, 本节对平移过程的位阻进行了分析。6.2.3 小节中的 d_{min} 被用来计算 P₁ 和 P₂ 能垒处杯[6]芳烃的 SCD。如图 6.5 所示, P₁ 能垒处的 SCD 是 7.0, 明显比 P₂ 处的要大, 这意味着 P₂ 能垒处的位阻要比 P₁ 的大。换而言之, 大环部分翻转的构象有利于穿越中间的连接基团。

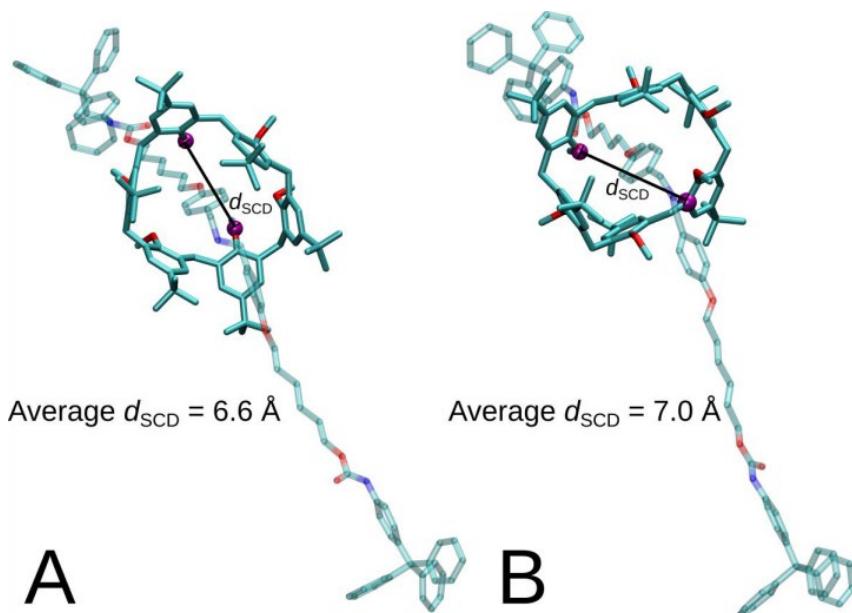


图 6.5 (A) 和 (B) 分别表示 P_2 和 P_1 路径能垒处的典型构象和 SCD (Reproduced in part with permission from *J. Phys. Chem. C* 2019, 123, 11, 18050-18055 Copyright [2020] American Chemical Society.)

6.3.3 穿梭过程杯芳烃的构象变化

为了进一步探究大环穿梭过程中的柔性和构象变化，本节使用 6.2.2 节中的方法与式 6.5 统计分析了轨迹中的每一帧，然后把 S 值按照表 6.1 进行分组。从杯[6]芳烃的上端或者下端看过去，大环可以抽象地视为一个正六边形，每一条边表示一个芳环单元，如图 6.6 (A) 所示。杯[6]芳烃在翻转的芳环单元个数 N 为 2、3 和 4 时，可以有多种构象，这些构象在路径 P_1 的比例如图 6.7 所示。统计结果表明，沿最低自由能路径 P_1 的最有利构象 ($N=2, 3, 4$) 分别是 1,3-交替、1,2,3-交替和 1,2,3,5-交替。穿梭过程的示意图如图 6.6 (B) 所示。

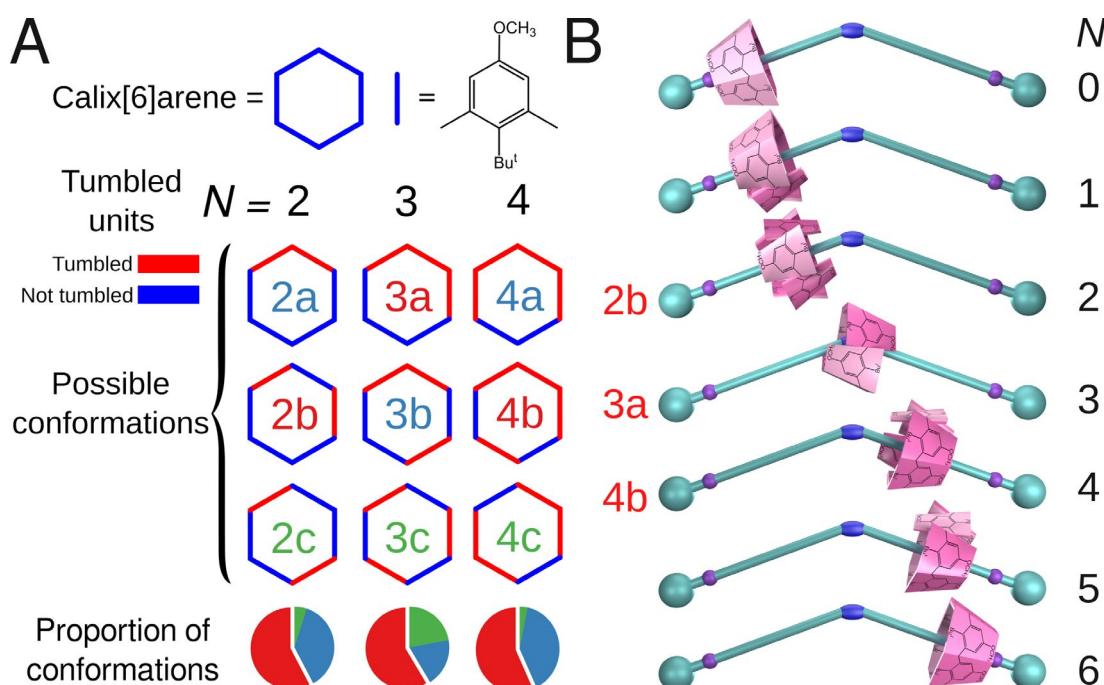


图 6.6 (A) 杯[6]芳烃大环在 2、3 或 4 个芳环单元翻转时可能的构象示意图。下方的饼状图表示了 P_1 对应能垒处各种构象的比例，其中最可能的路径是 2b (1,3-交替)、3a (1,2,3-交替) 和 4b (1,2,3,5-交替)。(B) 穿梭过程中分步翻转与平移的示意图 (Reproduced in part with permission from *J. Phys. Chem. C* 2019, 123, 11, 18050-18055 Copyright [2020] American Chemical Society.)

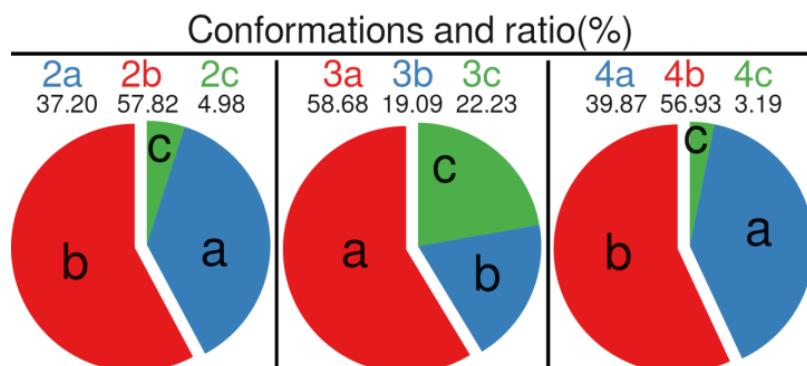


图 6.7 P_1 对应能垒处各种构象的具体比例(对应图 6.6(A)中的饼状图)(Reproduced in part with permission from *J. Phys. Chem. C* 2019, 123, 11, 18050-18055 Copyright [2020] American Chemical Society.)

另外,出乎意料的是,图 6.3 翻转的能垒要显著高于图 6.4 中翻转的能垒(b_4)。在轮烷中不穿梭时锥对锥翻转的能垒是 9.0 kcal/mol,但在图 6.3 中对应的在十二烷基链上翻转能垒是 17.9 kcal/mol。因此,可以推测轴的组成也会对环的翻转有显著的影响。为了研究导致能垒不同的原因,本章分析了环和轴之间沿反应

坐标模型的静电相互作用，发现与十二烷基链相比，轮烷中的轴和杯芳烃之间形成了：(1) 芳环单元中的氧与轴上中心 N 原子之间的氢键；(2) 弱 C-H···O 相互作用，这两种相互作用是静电驱动的，可以降低翻转的能量。

第四节 结论

杯芳烃的芳环单元非常容易绕着亚甲基桥翻转，在合成中，相关产物的结果通常是混合态^[29]。为了获得纯净的异构体，许多研究致力于约束芳环单元的翻转^[30]。然而，很少有关于如何利用这一柔性的研究。本章呈现了一种新的视角—利用这一柔性来促进轮烷的穿梭。通过探究两种可能的锥对锥翻转运动的路径，本章发现芳环翻转是伴随着穿梭过程逐步发生的。大环的部分翻转降低了穿梭过程通过位阻基团的能量，并提高了穿梭速率。而且，本章还发现构象变化按照一个固定的顺序进行，即依次为杯式，1-交替，1,3-交替，1,2,3-交替，1,2,3,5-交替，1,2,3,4,5-交替，到最后的翻转杯式。另外，链的组成也会显著地影响翻转运动。本章研究的轮烷的翻转运动就由环与轴之间的静电相互作用加速。在这些条件下，翻转运动可以被用来调节轮烷的穿梭速率。

附录 A 详细标注的自由能图及构象

本附录提供正文中图 6.4 (A) 的详细标注, 以及重要的极小值点以及能垒处的构象。

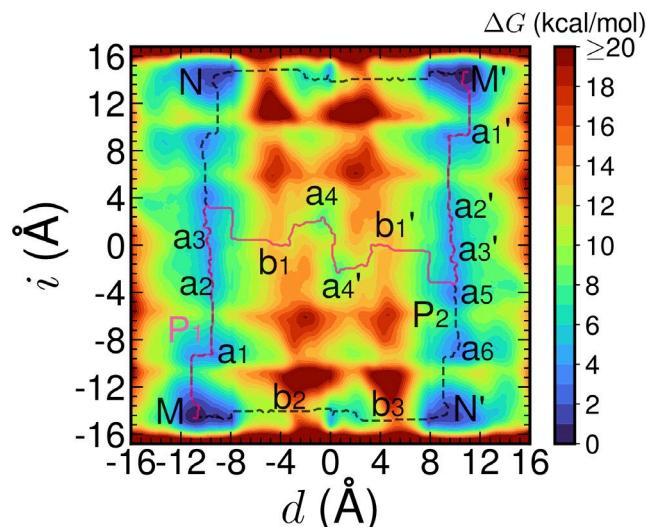


图 6.A1 自由能路径 P_1 和 P_2 。 P_1 从 M 出发, 经过 a_1 、 a_2 、 a_3 、 b_1 、 a_4 、 O 、 a_4' 、 b_1' 、 a_3' 、 a_2' 和 a_1' 到达 M' , P_2 则经过 b_2 、 b_3 、 N' 、 a_6 、 a_5 、 a_3' 、 a_2' 和 a_1' 。在各点处大环上芳环单元的翻转个数如下: M 、 b_2 、 b_3 和 N' 点没有翻转; a_1 和 a_6 有一个芳环单元翻转; a_2 和 a_5 有两个芳环单元翻转; a_3 、 b_1 、 O 、 b_1' 和 a_3' 有三个芳环单元翻转, 其中 b_1 和 b_1' 表示 P_1 路径的能量; a_4 有两个芳环单元翻转以及一个正在翻转; a_4' 有三个芳环单元翻转以及一个正在翻转; a_2' 四个芳环单元翻转; a_1' 五个芳环单元翻转; M' 六个芳环单元完全翻转 (Reproduced in part with permission from *J. Phys. Chem. C* 2019, 123, 11, 18050-18055 Copyright [2020] American Chemical Society.)

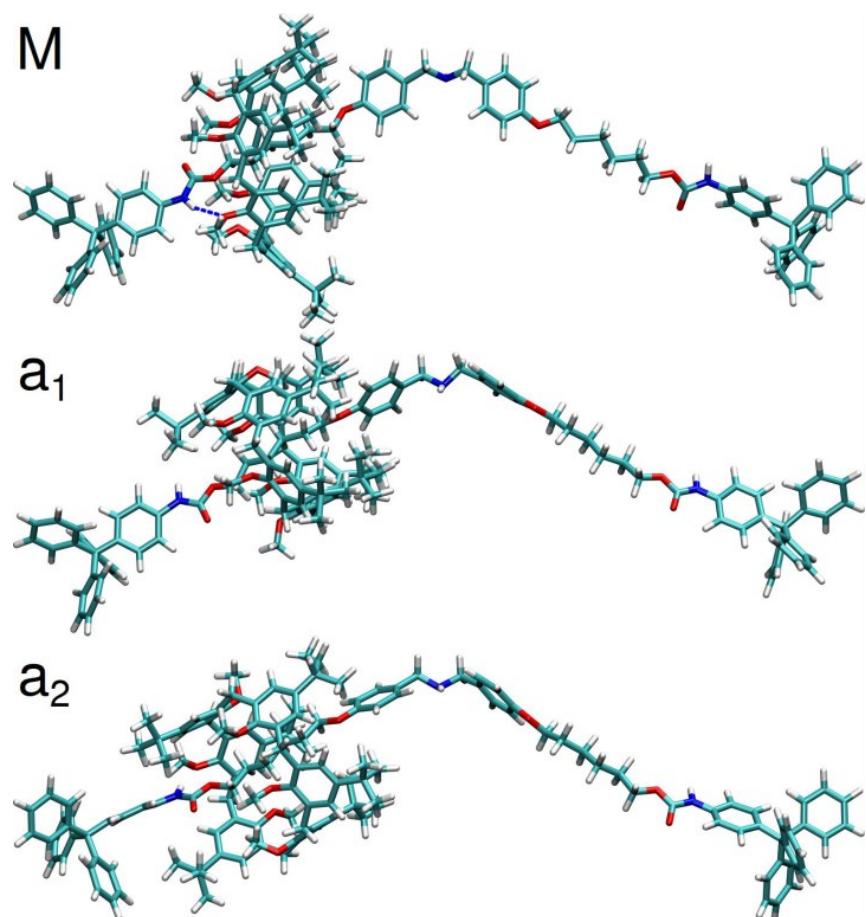


图 6.A2 M、a₁ 和 a₂ 处的代表性结构。杯[6]芳烃大环的构象分别为：M（杯式）；a₁（1-交替）；a₂（1,3-交替）(Reproduced in part with permission from *J. Phys. Chem. C* **2019**, 123, 11, 18050-18055 Copyright [2020] American Chemical Society.)

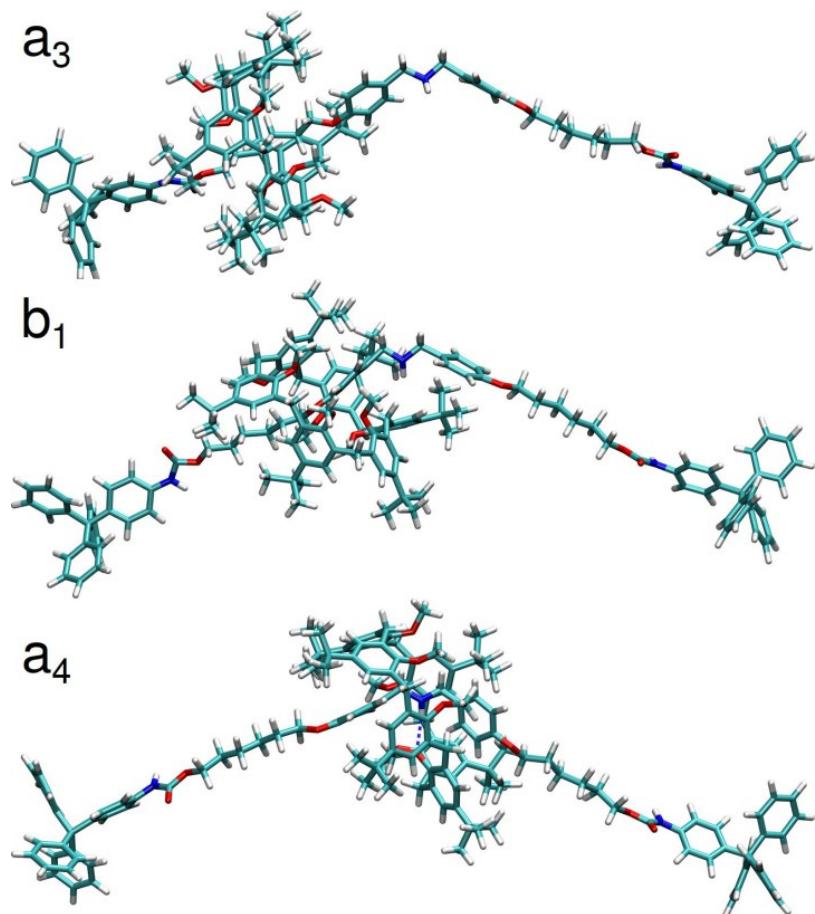


图 6.A3 a₃、b₁ 和 a₄ 处的代表性结构。杯[6]芳烃大环的构象分别为: a₃ (1,2,3-交替); b₁ (1,2,3-交替); a₄ (部分 1,2,3-交替) (Reproduced in part with permission from *J. Phys. Chem. C* 2019, 123, 11, 18050-18055 Copyright [2020] American Chemical Society.)

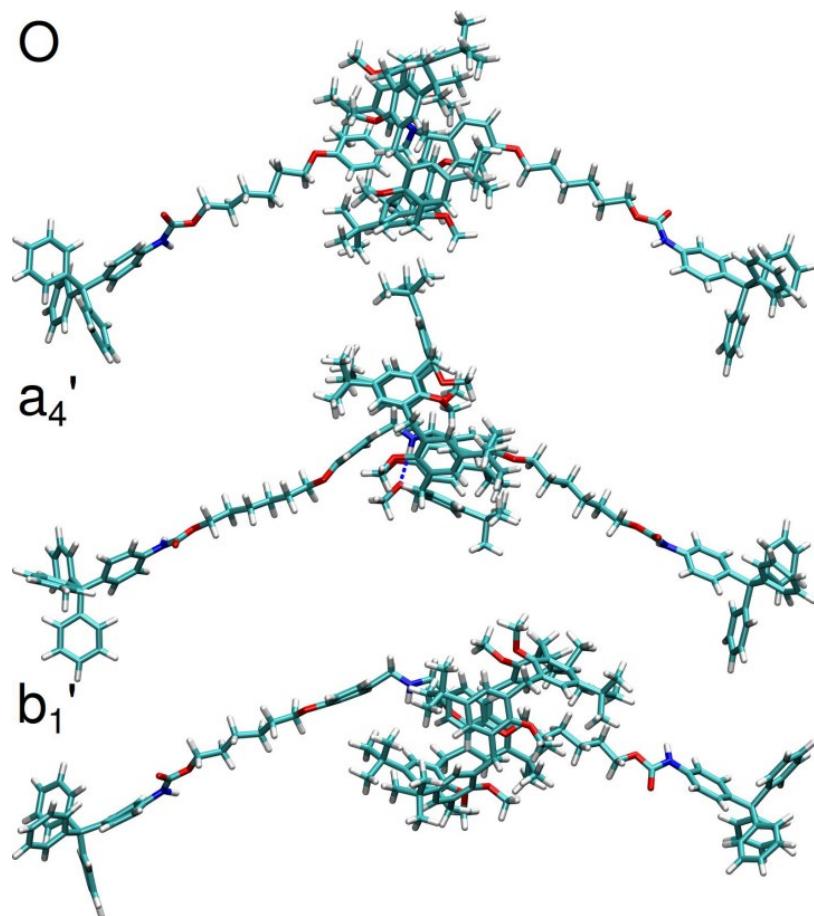


图 6.A4 O、 b_1' 和 a_4' 处的代表性结构。杯[6]芳烃大环的构象分别为：O（1,2,3-交替）； b_1' （1,2,3-交替）； a_4' （部分 1,2,3-交替）(Reproduced in part with permission from *J. Phys. Chem. C* 2019, 123, 11, 18050-18055 Copyright [2020] American Chemical Society.)

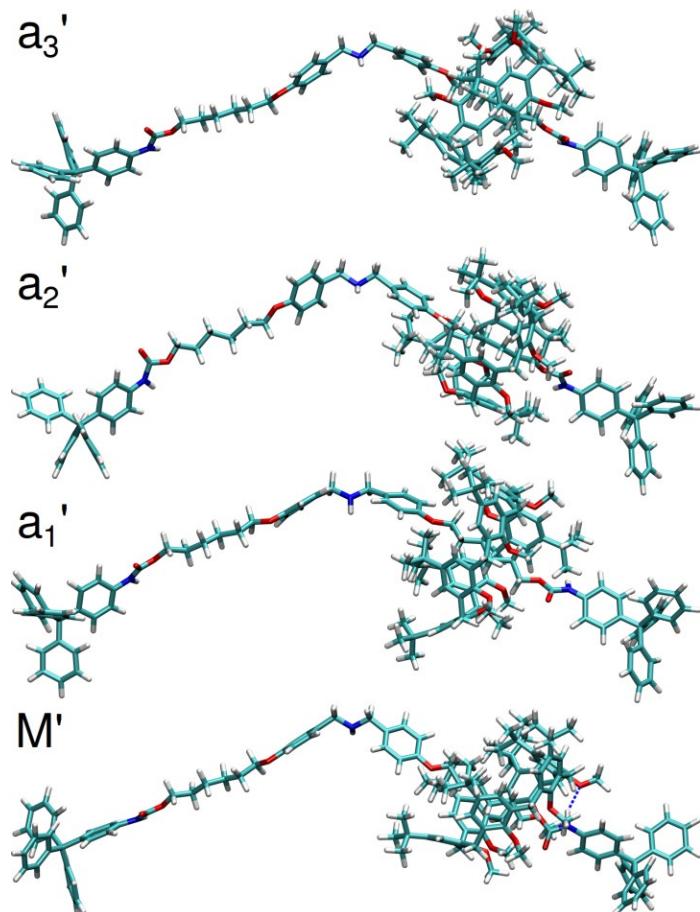


图 6.A5 a_3' 、 a_2' 、 a_1' 和 M' 处的代表性结构。杯[6]芳烃大环的构象分别为: a_3' (1,2,3-交替); a_2' (1,2,3,5-交替); a_1' (部分 1,2,3,4,5-交替); M' (反杯式) (Reproduced in part with permission from *J. Phys. Chem. C* 2019, 123, 11, 18050-18055 Copyright [2020] American Chemical Society.)

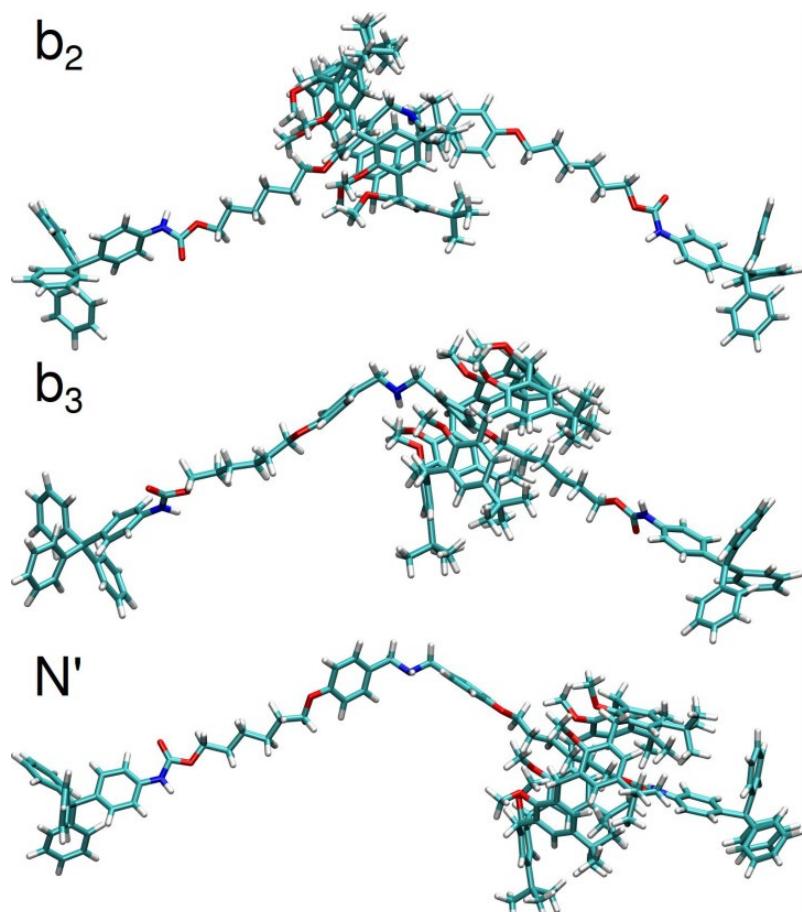


图 6.A6 b_3 、 b_2 和 N' 处的代表性结构。杯[6]芳烃大环的构象均为杯式 (Reproduced in part with permission from *J. Phys. Chem. C* 2019, 123, 11, 18050-18055 Copyright [2020] American Chemical Society.)

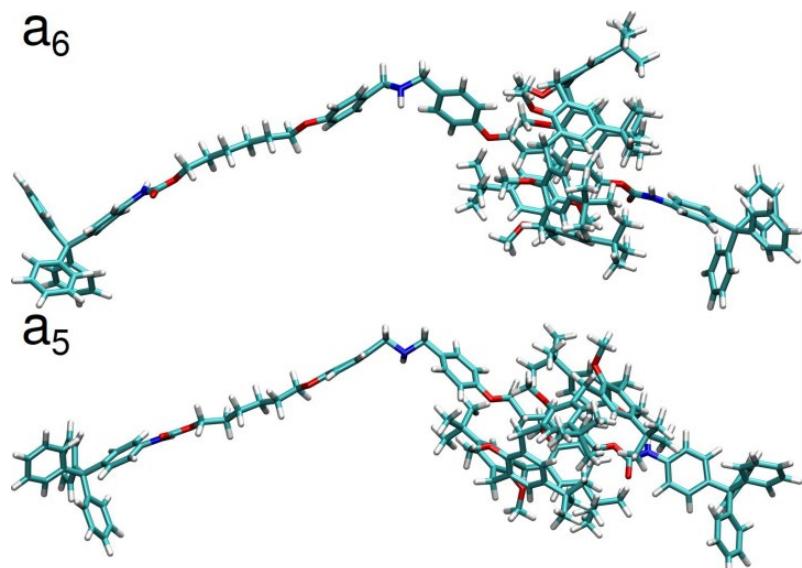


图 6.A7 a_6 和 a_5 处的代表性结构。杯[6]芳烃大环的构象分别为: a_6 (1-交替); a_5 (1,3-交替) (Reproduced in part with permission from *J. Phys. Chem. C* 2019, 123, 11, 18050-18055

Copyright [2020] American Chemical Society.)

附录 B 本章涉及的程序代码获取途径及使用方法

本章利用 NAMD 中的 Colvars 模块实现了表示杯[6]芳烃锥对坠翻转的变量 i , 相应的程序代码以补丁的形式发布, 补丁对应 NAMD 2.13 版本, 可以通过访问以下链接获得: http://pubs.acs.org/doi/suppl/10.1021/acs.jpcc.9b03870/suppl_file/jp9b03870_si_002.zip。使用方式如下:

1. 从 NAMD 官方网站上下载 NAMD 2.13 版本: <https://www.ks.uiuc.edu/Development/Download/download.cgi?PackageName=NAMD> 并解压 NAMD 源代码;
2. 解压前述 `jp9b03870_si_002.zip` 文件, 找到 `fit_plane.patch` 文件, 并将其移动到 NAMD 源代码的根目录下;
3. 在 NAMD 源代码的根目录下运行命令: `patch -Np1 -i fit_plane.patch`;
4. 按照 NAMD 源代码的编译说明 (`notes.txt`) 配置 NAMD, 并在最后一步 `make` 之前运行 `make depends` 命令。

对应的 Colvars 配置文件可以参见 `jp9b03870_si_002.zip` 中的 `SI/calix[6]arene_real/projection.in`。

参考文献

- [1] Coskun A, Banaszak M, Astumian R D, et al. Great expectations: Can artificial molecular machines deliver on their promise? [J]. *Chemical Society Reviews*, 2012, 41(1): 19-30.
- [2] Erbas-Cakmak S, Leigh D A, McTernan C T, et al. Artificial molecular machines [J]. *Chemical Reviews*, 2015, 115(18): 10081-10206.
- [3] Dong S, Yuan J, Huang F. A pillar[5]arene/imidazolium [2]rotaxane: Solvent-and thermo-driven molecular motions and supramolecular gel formation [J]. *Chemical Science*, 2014, 5(1): 247-252.
- [4] Zhang Z B, Han C Y, Yu G C, et al. A solvent-driven molecular spring [J]. *Chemical Science*, 2012, 3(10): 3026-3031.
- [5] Fu H, Shao X, Chipot C, et al. The lubricating role of water in the shuttling of rotaxanes [J]. *Chemical Science*, 2017, 8(7): 5087-5094.
- [6] Ogoshi T, Kitajima K, Aoki T, et al. Synthesis and conformational characteristics of alkyl-substituted pillar[5]arenes [J]. *The Journal of organic chemistry*, 2010, 75(10): 3268-3273.
- [7] Ogoshi T, Kitajima K, Aoki T, et al. Effect of an intramolecular hydrogen bond belt and complexation with the guest on the rotation behavior of phenolic units in pillar[5]arenes [J]. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 2010, 1(5): 817-821.
- [8] Oshikiri T, Yamaguchi H, Takashima Y, et al. Face selective translation of a cyclodextrin ring along an axle [J]. *Chemical Communications*, 2009, (37): 5515-5517.
- [9] Wang S, Zhao T, Shao X, et al. Complex movements in rotaxanes: Shutting coupled with conformational transition of cyclodextrins [J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2016, 120(34): 19479-19486.
- [10] Yamauchi K, Miyawaki A, Takashima Y, et al. Switching from altro- α -cyclodextrin dimer to pseudo[1]rotaxane dimer through tumbling [J]. *Organic Letters*, 2010, 12(6): 1284-1286.
- [11] Liu Y, Chipot C, Shao X, et al. Threading or tumbling? Insight into the self-inclusion mechanism of an altro- α -cyclodextrin derivative [J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2014, 118(33): 19380-19386.
- [12] Gutsche C D. *The calixarenes* [M]. Springer. 1984: 1-47.
- [13] Böhmer V. Calixarenes, macrocycles with(almost) unlimited possibilities [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 1995, 34(7): 713-745.
- [14] Xue M, Yang Y, Chi X, et al. Development of pseudorotaxanes and rotaxanes: From synthesis to stimuli-responsive motions to applications [J]. *Chemical Reviews*, 2015, 115(15): 7398-7501.
- [15] Pierro T, Gaeta C, Talotta C, et al. Fixed or invertible calixarene-based directional shuttles [J]. *Organic Letters*, 2011, 13(10): 2650-2653.

- [16] Bazargan G, Sohlberg K. Advances in modelling switchable mechanically interlocked molecular architectures [J]. International Reviews in Physical Chemistry, 2018, 37(1): 1-82.
- [17] Sohlberg K, Lee K-H. An introduction to modeling interlocked molecule systems and application to a "molecular elevator" [J]. Journal of Computational and Theoretical Nanoscience, 2006, 3(6): 865-873.
- [18] Warshel A, Levitt M. Theoretical studies of enzymic reactions: Dielectric, electrostatic and steric stabilization of the carbonium ion in the reaction of lysozyme [J]. Journal of Molecular Biology, 1976, 103(2): 227-249.
- [19] Raeker T, Jansen B, Behrens D, et al. Simulations of optically switchable molecular machines for particle transport [J]. Journal of Computational Chemistry, 2018, 39(20): 1433-1443.
- [20] Torrie G M, Valleau J P. Nonphysical sampling distributions in Monte Carlo free-energy estimation: Umbrella sampling [J]. Journal of Computational Physics, 1977, 23(2): 187-199.
- [21] Raiteri P, Bussi G, Cucinotta C S, et al. Unravelling the shuttling mechanism in a photoswitchable multicomponent bistable rotaxane [J]. Angewandte Chemie International Edition, 2008, 47(19): 3536-3539.
- [22] Amadei A, Linssen A B, Berendsen H J. Essential dynamics of proteins [J]. Proteins, 1993, 17(4): 412-425.
- [23] Mancini G, Zazza C, Aschi M, et al. Conformational analysis and UV/Vis spectroscopic properties of a rotaxane-based molecular machine in acetonitrile dilute solution: When simulations meet experiments [J]. Physical Chemistry Chemical Physics, 2011, 13(6): 2342-2349.
- [24] Wang S, Shao X, Cai W. Solvent and structure effects on the shuttling in pillar[5]arene/triazole rotaxanes [J]. The Journal of Physical Chemistry C, 2017, 121(45): 25547-25553.
- [25] Fu H, Zhang H, Chen H, et al. Zooming across the free-energy landscape: Shaving barriers, and flooding valleys [J]. The Journal of Physical Chemistry Letters, 2018, 9(16): 4738-4745.
- [26] Fu H, Shao X, Chipot C, et al. Extended adaptive biasing force algorithm. An on-the-fly implementation for accurate free-energy calculations [J]. Journal of Chemical Theory and Computation, 2016, 12(8): 3506-3513.
- [27] Lesage A, Lelièvre T, Stoltz G, et al. Smoothed biasing forces yield unbiased free energies with the extended-system adaptive biasing force method [J]. The Journal of Physical Chemistry B, 2017, 121(15): 3676-3685.
- [28] Marcos-Alcalde I, Setoain J, Mendieta-Moreno J I, et al. MEPSA: Minimum energy pathway analysis for energy landscapes [J]. Bioinformatics, 2015, 31(23): 3853-3855.
- [29] Kanamathareddy S, Gutsche C D. Calixarenes. 29. Aroylation and arylmethylation of calix[6]arenes [J]. The Journal of Organic Chemistry, 1992, 57(11): 3160-3166.

第六章 自由能图揭示杯芳烃在穿梭过程中翻转的机理

- [30] Matthews S E, Cecioni S, O'brien J E, et al. Fixing the conformation of calix[4]arenes: When are three carbons not enough? [J]. Chemistry-A European Journal, 2018, 24(17): 4436-4444.

第七章 总结与展望

第一节 总结

本论文以分子动力学模拟中的自由能计算方法为主要课题，探究了自由能计算的理论、软件实现以及在分子机器体系中的应用，形成了以下主要结论：

(1) Well-tempered 策略可以应用于 meta-eABF 中，形成 WTM-eABF 方法。WTM-eABF 方法逐步削减添加高斯峰的高度，使动力学过程逐步退化到 eABF 外加一个固定的偏置势。与 meta-eABF 相比，WTM-eABF 有效地改善在计算沿反应坐标模型的自由能时的收敛性，并且和 eABF 方法一样可以使用 CZAR 估计量计算自由能梯度。此外，虽然 WTM-eABF 引入了一个新的参数偏置温度 ΔT ，但这个参数有一个很宽的安全选择范围，对自由能计算收敛速度影响不大。

(2) GaMD 中与 CV 无关的增强势可以引入 WTM-eABF，形成能够增强正交空间采样效率的 GaWTM-eABF 方法。而且，本论文提出了先使用 CZAR 估计量后再权重化的自由能梯度计算方法，理论上可以使任意基于 CV 无关的增强势的方法与基于梯度的偏置力方法无缝结合，并在 Colvars 插件中提供了软件实现。通过一系列数值测试与生物分子模拟，结果表明，GaWTM-eABF 方法与 WTM-eABF 方法相比，提高了正交空间的采样效率，减小了自由能计算的误差并加速了收敛。

(3) 实现了基于 PLUMED 插件的 eABF 模块 ELF，使得 eABF 方法能够在多种流行的 MD 平台上运行，如 OpenMM、AMBER 和 GROMACS 等。ELF 不仅支持 eABF 方法，还能够支持 egABF、meta-eABF 和 WTM-eABF 等衍生方法。除此之外，ELF 中基于自由能梯度的估计量还能计算扩展 MtD 和 TAMD 等基于扩展拉格朗日方程的算法的自由能梯度。

(4) 虽然分子动力学模拟软件的核心功能，如力的计算与运动积分，已经逐步迁移至 GPU 并获得巨大的性能提升，但是基于 GPU 的自由能计算的软件实现依然有待开发。本论文在 NAMD 中实现了使用 GPU 加速的 FEP 计算。一个丙氨酸扫描突变的例子被用来测试新的软件实现，测试结果表明，在不损失

计算精确度的情况下，新的基于 GPU 的 FEP 软件实现能够提供至多 30 倍的性能提升。

(5) 实验中发现的一种基于杯[6]芳烃的轮烷分子在穿梭中大环分子会发生构象翻转，这一特点有可能被利用于调控轮烷的穿梭速率，然而构象翻转的机理及翻转与平移运动的关系尚不清楚。本论文提出了新的可以表示大环中芳环单元翻转的变量以及一系列构象统计分析方法，利用原子水平的动力学模拟和自由能计算发现，杯[6]芳烃大环的构象翻转在穿梭过程中是分步进行的，在穿过轴中心的位阻基团时，部分翻转的构象可以降低平移运动的能垒，从而促进整个穿梭过程，并且，大环与轴之间的静电相互作用有利于环的翻转。这一发现为设计可调控的分子机器提供了理性指导。

第二节 展望

本论文在自由能计算的理论、软件实现以及应用方面都取得了一定的进展。然而自由能计算本身是一个跨学科与跨领域，同时又与基础理论和工业实践紧密相连的前沿课题，许多工作有待进一步深入与开拓：

(1) 应用数学、理论物理与计算机科学的进步，给自由能计算的理论研究带来了新的突破口。一方面，利用传统的研究思路解决正交空间采样问题依然有待深入。另一方面，近年来，在基于 CV 的自由能计算方法中，深度学习与神经网络已经被开始研究用来搜寻 CV 和构建偏置势或偏置力，甚至是直接生成自由能面，同时，这些技术也有可能被用来增强正交空间的采样。另外，量子计算已经被开始用来进行分子模拟研究了，然而量子计算中自由能计算该如何高效地进行，以及是否需要增强采样算法依然是个未知数。

(2) 自由能计算方法日趋复杂，给分子模拟的软件工程实践带来挑战。分子模拟软件不仅需要高效地完成力的计算与运动积分，还要灵活地实现纷繁复杂的增强采样算法，而后者必然要求对前面力的计算与运动积分的修改。保持性能不变的同时兼顾软件架构的灵活性是困难的。一个可能的解决办法是把分子模拟引擎彻底转化为一个提前编译器 (ahead-of-time compiler)，根据选择的自由能计算方法按需嵌入到力的计算与运动学积分，然后优化编译到不同架构的目标代码再执行。当然，这在实现上要求对分子模拟软件作出根本性的变革，

工程量庞大。所幸的是，以 LLVM 为代表的模块化编译器工具链也许能让这些工作变得简单。

(3) 在与分析化学等领域的应用上，自由能计算也有许多课题尚待探索。比如，许多检测手段，如光谱学，给出的是体系的系综平均信息，这与自由能的定义不谋而合，然而，直接关联自由能计算与光谱学的研究尚少，如果可以使用光谱学结果校正自由能计算理论甚至是力场上的缺陷，将会进一步推动分子模拟的发展。另一方面，随着磁镊、光镊和原子力显微镜等微操纵技术的发展，便捷地操控行单个分子甚至原子已经逐步成为现实，这与计算机中有偏采样的思路有很大的相似之处，前述的自由能计算方法也可以研究是否能够绕开计算机中的分子模拟，在物理世界中直接进行。

(4) 在具体的体系研究方面，本论文所提出的 GaWTM-eABF 方法有待进一步研究在蛋白质-配体结合自由能计算领域中的应用。除此之外，近年来兴起的量子力学/分子力学 (quantum mechanics/molecular mechanics, QM/MM) 是研究涉及化学反应的体系的有力手段，而本文尚不涉及这一领域，后续的工作可以考虑把自由能计算与 QM/MM 结合起来，更方便地研究涉及化学反应的体系。

附录 在读期间学术成果

攻读博士学位期间的科研成果

第一作者论文（含共同第一作者）

1. 以第一作者身份在《化学进展》上发表 1 篇论文；
2. 以第一作者身份在《Journal of Chemical Information and Modeling》上发表 2 篇论文；
3. 以共同第一作者身份在《The Journal of Physical Chemistry C》上发表 1 篇论文；
4. 以共同第一作者身份在《Journal of Chemical Information and Modeling》上发表 1 篇论文；
5. 以第一作者身份在《Journal of Chemical Theory and Computation》上发表 1 篇论文。

其它合作论文

1. 以第三作者身份在《Journal of Chemical Information and Modeling》上发表 1 篇论文；
2. 以第三作者身份在《The Journal of Physical Chemistry Letters》上发表 1 篇论文；
3. 以第二作者身份在《化学学报》上发表 1 篇论文；
4. 以共同体作者（consortium authorship）身份在《Nature Methods》上发表 1 篇论文；
5. 以第二作者身份在《Journal of Chemical Information and Modeling》上发表 1 篇论文。

会议论文

1. 以第一作者身份在中国化学会第十四届全国计算（机）化学学术会议上发表一篇论文。